

RĪGAS STRADIŅA UNIVERSITĀTE

IVETA JANKOVSKA

**Reģenerācijas/augšanas, deģenerācijas faktoru un apoptozes raksturojums
žokļu kaulos un smaganu audos pacientiem ar Angle II un III klases
dentofaciālām deformācijām**

(specialitāte – ortodontija)

Promocijas darbs

Darba zinātniskie vadītāji:

Habilitēta medicīnas doktore
profesore Māra Pilmane

Medicīnas doktore
profesore Ilga Urtāne

Promocijas darbs veikts ar ESF projekta „Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” atbalstu



Rīga, 2011

1. SATURA RĀDĪTĀJS

1. SATURA RĀDĪTĀJS.....	2
2. DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI.....	5
3. IEVADS.....	6
3.1. Darba aktualitāte	6
3.2. Darba novitāte	7
3.3. Darba mērķis	7
3.4. Darba uzdevumi	7
3.5. Darba hipotēze.....	8
4. LITERATŪRAS APSKATS	9
4.1. Skeletālās Angle II un Angle III klases raksturojums.....	9
4.2. Kraniofaciālā skeleta augšana	10
4.3. Kaula remodelācija.....	12
4.4. Augšanas faktoru nozīme kraniofaciālā skeleta augšanā	16
4.4.1. Transformējošais augšanas faktors β (TGF- β)	17
4.4.2. Kaula morfoģenētiskais proteīns (BMP)	18
4.4.3. Fibroblastu augšanas faktors (FGF)	19
4.4.4. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF)	20
4.5. Kaula ekstracelulārās matricas (ECM) nozīme kaulaudu remodelācijā.....	21
4.5.1. Osteokalcīns (OC)	22
4.5.2. Osteopontīns (OP)	22
4.6. Matricas metaloproteināzes (MMP).....	23
4.7. Barx1, Msx2 un Wnt1 gēnu nozīme kraniofaciālā skeleta augšanā un attīstībā	24
4.8. Apoptozes procesa raksturojums.....	25
5. MATERIĀLI UN METODES.....	28
5.1. Pētījuma grupa.....	28
5.2. Kontroles grupa	30
5.2.1. Pētījuma grupas rentģenoloģiskie izmeklējumi.....	31
5.3. Metode un reaktīvi	32
5.3.1. Morfoloģiskā metode.....	32

5.3.2. Slīpēto preparātu pagatavošana, pielietojot EXACT <i>grinding</i> tehnoloģiju.....	32
5.3.3. Imūnhistoķīmija.....	33
5.3.3.1. Biotīna–streptavidīna metodes apraksts.....	33
5.3.3.2. Imūnhistoķīmiski noteikto augšanas faktoru, gēnu proteīnu, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu un deģenerācijas enzīmu relatīvā biežuma apzīmēšana.....	34
5.3.4. TUNEL metode apoptozes noteikšanai	35
5.4. Datu apstrādes statistiskās metodes.....	36
6.1. Cefalometrisko mērījumu vispārējs raksturojums	37
6.2. Morfoloģiskā atradne kaulaudos un gļotādā	38
6.3. Imūnhistoķīmijas atradnes	39
6.3.1. Augšanas faktoru un to receptoru ekspresija.....	39
6.3.1.1. Transformējošais augšanas faktors β (TGF- β).....	39
6.3.1.2. Kaula morfoģenētiskais proteīns 2/4 (BMP2/4)	44
6.3.1.3. Fibroblastu augšanas faktora receptors 1 (FGFR1)	48
6.3.1.4. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF).....	52
6.3.2. Kaula ekstracelulārās matricas (ECM) proteīnu ekspresija.....	52
6.3.2.1. Osteokalcīns (OC).....	52
6.3.2.2. Osteopontīns (OP).....	55
6.3.3. Matricas metaloproteināzes 2 (MMP2) ekspresija	58
6.3.4. Barx1, msx2 un wnt1 gēnu proteīnu ekspresija.....	61
6.3.5. Apoptozes atradne	71
6.3.6. Imūnhistoķīmisko rezultātu savstarpējās korelācijas	73
7. DISKUSIJA	78
7.1. Morfoloģiskās izmaiņas audos	78
7.2. Augšanas faktori.....	79
7.3. Kaula ekstracelulārās matricas proteīni.....	83
7.4. Matricas metaloproteināzes.....	84
7.5. Gēnu proteīni.....	85
7.6. Apoptoze	88

8. KOPSAVILKUMS	
9. SECINĀJUMI.....	91
10. LITERATŪRA	92
11. PUBLIKĀCIJAS UN ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU	108
11.1. Publikācijas (zinātniskie raksti) par pētījuma tēmu	108
11.2. Konferenču tēzes par pētījuma tēmu	108
11.3. Ziņojumi kongresos un konferencēs	110
12. PATEICĪBAS	112
13. PIELIKUMI	112

2. DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

Saīsinājums	Angliskais nosaukums	Latviskais skaidrojums
ANOVA	Analysis of Variance	Dispersiju analīze
BMP	Bone morphogenetic protein	Kaula morfoģenētiskais proteīns
BMP2/4	Bone morphogenetic protein 2/4	Kaula morfoģenētiskais proteīns 2/4
BMU	Basic multicellular unit	Daudzšūnu pamatvienība
DR	Death receptors	Nāves receptori
ECM	Extracellular matrix	Ekstracelulārā matrice
EGF	Epidermal growth factor	Epidermas augšanas faktors
FGF	Fibroblast growth factor	Fibroblastu augšanas faktors
FGFR1	Fibroblast growth factor receptor 1	Fibroblastu augšanas faktora receptors 1
GF	Growth factor	Augšanas faktors
HGF	Hepatocyte growth factor	Hepatocītu augšanas faktors
IGF	Insuline-like growth factor	Insulīnam līdzīgais augšanas faktors
MMP	Matrix metalloproteinase	Matrices metalproteināze
MMP2	Matrix metalloproteinase 2	Matrices metalproteināze 2
NF-κB	Nuclear factor-kappa B	Nukleārais faktors kapa B
NGF	Nerve growth factor	Nervu augšanas faktors
OC	Osteocalcin	Osteokalcīns
OP	Osteopontin	Osteopontīns
p	Statistical significance	būtiskuma (nozīmības) līmenis – varbūtība, ka ir spēkā statistiskajā testā izvirzītā nulles hipotēze
PDGF	Platelet-derived growth factor	Trombocitārais augšanas faktors
RANK	Receptor activator of NF-kappaB	NF-kappaB receptora aktivators
RANKL	Receptor activator of NF-kappaB ligand	NF-kappaB liganda receptora aktivators
TGF-β	Transforming growth factor β	Transformējošais augšanas faktors β
TNF-α	Tumor necrosis factor α	Tumora nekrozes faktors α
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase – mediated dUTP nick – end labeling	Tdt – gala dezoksিনukleotīdtransferāze un digoksigēna–marķēti nukleotīdi
VEGF	Vascular endothelial growth factor	Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors

3. IEVADS

3.1. Darba aktualitāte

Dentofaciālās anomālijas ar izteiktu smaguma pakāpi Latvijas populācijā 18 gadu vecumā atrodamas 5 – 7% gadījumu (Urtāne, 2006) un rada funkcionālus, estētiskus, kā arī psiholoģiskus traucējumus. To veidošanās saistīta ar atipisku žokļu augšanu un audu remodelācijas traucējumiem, kas var būt ģenētiski noteikti un/vai postnatālās attīstības faktoru ietekmēti, un var radīt žokļu hipoplāzijas vai hiperplāzijas, kas ir skeletālo dentofaciālo anomāliju pamatā. Kaula kā orgāna forma un izmēri veidojas pastāvīgi noritošas kaulaudu remodelēšanās procesā, kur šūnu līmenī savstarpēji saskaņoti funkcionē osteoklastu un osteoblastu līniju šūnas. Šo šūnu līniju aktivitātes izmaiņas noved pie kaula formas un izmēra novirzēm no pieņemtās normas. Molekulārās bioloģijas līmenī šūnu aktivitāti ierosina un uztur augšanas faktori. Kaulaudu struktūrā nozīmīgs ir starpšūnu vielas jeb ekstracelulārās matricēs sastāvs, tā veidošanās un degradācija. Svarīga ir arī šūnu nāve, jo fizioloģiskos apstākļos šūnas savu dzīves ciklu parasti beidz apoptozes ceļā.

Dentofaciālo anomāliju ārstēšana ir kombinēta un interdisciplināra. Tā sastāv no ortodontiskās ārstēšanas ar fiksēto brekešu sistēmu un ortognātiskās ķirurģijas operācijas. Ortodontisko ārstēšanu parasti uzsāk 17 – 18 gadu vecumā, kad ir beigusies intensīvā žokļu kaulu augšana un to pozīcijas plānošanas rezultāti ir prognozējami. Pacients tiek sagatavots ortognātiskai operācijai, veicot zobu rindu izlīdzināšanu un to pārvietošanu tādā pozīcijā, kas atbilstu vēlamām žokļu attiecībām. Ortognātiskās operācijas laikā tiek veikta žokļu kaulu osteotomija ar fragmentu pārvietošanu, fiksāciju pareizās skeletālās un dentālās attiecībās, kam seko ilgstošs konsolidācijas un remodelācijas process. Tomēr arī uz modernām ortognātisko operāciju plānošanas, ortodontiskās un ķirurģiskās tehnoloģijas metodēm balstīta kombinēta ārstēšana neizslēdz deformāciju recidīvus kaulaudu remodelēšanās traucējumu rezultātā, kas prasa atkārtotu ārstēšanu ar lielām papildus izmaksām. Atkarībā no veiktās osteotomijas veida recidīvu var novērot 10 – 30 % pacientu (Mobarak, 2000).

Visbiežāk dentofaciālo deformāciju skeletālā morfoloģija saistās ar žokļu hipoplāziju vai hiperplāciju, kas atbilst Angla II vai III klasei. Klīniski žokļu deformāciju izpausmes ir līdzīgas, taču pēc rentgenoloģiskās cefalometrijas datiem konstatēts, ka šīm anomālijām ir individuāli atšķirīga skeletālā morfoloģija, kas liecina par šo anomāliju daudzveidīgo etiopatoģenēzi. Līdz ar to augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricēs proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes noteikšana žokļu kaulos pacientiem ar dentofaciālām anomālijām dotu papildus informāciju par anomāliju patoģenēzi un pacientu individuālo kaula struktūru morfoģenēzi.

3.2. Darba novitāte

1. Iegūta jauna informācija par augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes klātbūtni žokļu kaulu augšanas zonās un pieguļošajos mīkstajos audos pacientiem ar Angle II un III klases dentofaciālām deformācijām un kontroles grupas pacientiem.
2. Noteiktas augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu ekspresijas un apoptozes, t.i. kaulu augšanas un remodelēšanās rādītāju, atšķirības dažādu žokļu kaulu deformāciju grupās, kā arī kontroles grupas pacientiem dažādās žokļu kaulu augšanas zonās.

3.3. Darba mērķis

Promocijas darba mērķis bija izpētīt kaulaudu remodelēšanās procesam svarīgo un žokļu deformāciju patoģenēzē iesaistīto audu augšanas faktoru, ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes īpatnības žokļu kaulu augšanas zonās un pieguļošajos mīkstajos audos Angle II un III klases pacientiem ar dentofaciālām deformācijām un salīdzināt ar kontroles grupu.

3.4. Darba uzdevumi

1. Izmantojot histoloģisko krāsojumu ar hematoksilīnu un eozīnu, noteikt histoloģiskās kaulaudu un pieguļošo mīksto audu izmaiņas skeletālās Angle II un III klases pacientiem.
2. Noteikt reģenerācijas/augšanas, deģenerācijas faktoru ekspresijas specifisku izdali žokļu kaulu augšanas zonās un smaganu audos pacientiem ar Angle II un III klases dentofaciālām deformācijām.
 - 2.1. Izmantojot imūnhistoķīmijas metodi, noteikt augšanas faktoru un to receptoru (TGF- β , BMP2/4, FGFR1 un VEGF) ekspresiju kaulaudu un pieguļošo mīksto audu paraugos pacientiem ar skeletālu Angle II un Angle III klasi.
 - 2.2. Pielietojot imūnhistoķīmijas metodi, kaulaudos un mīkstajos audos noteikt kaula ekstracelulārās matricas proteīnu (OP un OC) un ekstracelulārās matricas degradācijas enzīmu (MMP-2) ekspresiju pacientiem ar Angle II un Angle III klases dentofaciālām deformācijām.
 - 2.3. Pielietojot imūnhistoķīmijas metodi, noteikt gēnu proteīnu (barx1, msx2 un wnt1) ekspresiju pacientiem ar Angle II un III klases dentofaciālām deformācijām.

3. Izmantojot TUNEL metodi, noteikt apoptozes biežumu audu paraugos pacientiem ar Angle II un Angle III klases dentofaciālām deformācijām.
4. Noteikt korelācijas starp augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes ekspresiju un dentofaciālo deformāciju veidiem.
5. Salīdzināt iegūtos datus ar kontroles grupas pacientu atradnēm.

3.5. Darba hipotēze

Kaulaudu morfoģenēzē svarīgo augšanas faktoru un to receptoru (TGF- β , BMP2/4, FGFR1 un VEGF), kaula ekstracelulārās matricas proteīnu (OC, OP), deģenerācijas enzīmu (MMP2), gēnu proteīnu (barx1, msx2, wnt1) un apoptozes rādītāji ir atšķirīgi žokļu kaulu augšanas zonās un pieguļošajos mīkstajos audos dažādās dentofaciālo deformāciju grupās.

4. LITERATŪRAS APSKATS

4.1. Skeletālās Angle II un Angle III klases raksturojums

Edward H. Angle ap 1890. gadu izveidoja klasifikāciju, kas balstījās uz zobu rindu attiecībām sagitālā plaknē, par atskaites punktu ņemot augšžokļa pirmā pastāvīgā molāra pozīciju pret apakšžokļa pirmā pastāvīgā molāra bukālo rievu. Angle klasifikācijā ietilpst trīs klases:

- Angle I klase jeb meziodistāla oklūzija;
- Angle II klase jeb distāla oklūzija;
- Angle III klase jeb meziāla oklūzija.

Šo klasifikāciju var attiecināt arī uz dentofaciālām anomālijām un to visbiežāk izmanto klīniskā praksē vispārīgi novērtējot skeletālo deformāciju veidu.

Ortognātiskajā ķirurģijā diagnozei izmanto Starptautisko statistisko slimību un veselības problēmu klasifikāciju (Latvijas Republikas Labklājības ministrija, 1996), lai novērtētu žokļu pozīciju vienam pret otru un pret galvaskusu (K07.1 Žokļu un galvaskausa pamatnes attiecību anomālijas – prognātija (mandibulārā/maksilārā) un retrognātija (mandibulārā/maksilārā)), kā arī, lai novērtētu žokļu izmēru anomālijas (K07.0 – mandibulārā un/vai hiperplāzija vai hipoplāzija; makrognātija (mandibulārā/maksilārā) un mikrognātija (mandibulārā/maksilārā)).

Precīzi dati par skeletālās Angle II un Angle III klases pacientu prevalenci populācijā nav definēti, bet priekšstatu par smagām dentofaciālām anomālijām var gūt no dažādiem epidemioloģiskiem pētījumiem par dentālo oklūziju. Proffit ar līdzautoriem (1998) secina, ka 4% ASV populācijas novēro izteiktu apakšžokļa deficītu (horizontālais pārkodiens > 10 mm – 0.3%, 7-10 mm – 3.8%), kam būtu indicēta ortognātiskā ķirurģija, bet 0,5% novēro izvirzītu apakšžokli un/vai augšžokļa deficītu (0,2% - negatīvs horizontālais pārkodiens > -4 mm un 0,3% - negatīvs horizontālais pārkodiens -3 līdz -4 mm). Citi autori atzīmē Angle III klases sakodienu 1-10% gadījumu atkarībā no etniskās piederības, dzimuma, vecuma un lietotajiem diagnostiskajiem kritērijiem (Staud, 2009).

Skeletālās Angle II klases gadījumos visbiežāk novēro neitrālu augšžokļa pozīciju attiecībā pret galvaskausa pamatni (47-65%) vai izvirzītu augšžokli (10-15%), bet 23-39% pacientu augšžoklis novietots uz aizmuguri (retruzīvi) attiecībā pret kraniālo bāzi (McNamara, 1981). Lielākai daļai skeletālās Angle II klases pacientu konstatē mazu apakšžokli (mikrognātiju) un retruzīvu tā pozīciju. Skeletālās Angle II klases pacientiem var novērot horizontālu augšanas tipu, kas parasti asociējas ar dziļu sakodienu, samazinātu

apakšējo sejas augstumu, samazinātu apakšžokļa plaknes leņķi, bet pacientiem ar vertikālu augšanu ir palielināts apakšējais sejas augstums, palielināts apakšžokļa plaknes leņķis un uz aizmuguri novietots apakšžoklis ar neizteiktu zodu un hiperaktīvu mentālo muskuli.

Guyer ar līdzautoriem (1986), pētot Angle III klases skeletālos komponentus, izvirzītu apakšžokli kombinācijā ar normālu augšžokļa sagitālo pozīciju novēroja mazāk nekā 20% gadījumu. 25% pētījuma grupas dalībnieku bija skeletāla augšžokļa retrūzija savienojumā ar normālu apakšžokļa sagitālo pozīciju. Augšžokļa distālu pozīciju kombinācijā ar skeletāli izvirzītu apakšžokli novēro 22%. Tātad kopumā 47% no pētījuma grupas bija augšžokļa retrūzīva pozīcija un 42% - dažādas pakāpes apakšžokļa izvirzīšanās uz priekšu (prognatism). Staud (2009) pētot 57 jaunus indivīdus ar Angle III klases sakodienu, secināja, ka 75,4% ir skeletāla Angle III klase, bet 24,6% - dentoalveolāra. Skeletālās Angle III klases gadījumos 47,4% novēroja izvirzītu un palielinātu apakšžokli vai abu kombināciju, bet 19,3% novēroja mazu un uz aizmuguri novietotu augšžokli. 8,7% konstatēja traucējumus gan augšžokļa, gan apakšžokļa augšanā.

Cefalometriski Angle III klases pacientiem novēro lielāku apakšžokļa plaknes leņķi, kā arī kompensatoras dentālas izmaiņas, piemēram, uz aizmuguri noliektus (retroinklinētus) apakšžokļa incisīvus un izvirzītus (proinklinētus) augšžokļa incisīvus.

4.2. Kraniofaciālā skeleta augšana

Dentofaciālās skeletālās deformācijas veidojas kraniofaciālā skeleta augšanas ārēju vai ģenētiski determinētu traucējumu rezultātā un jau kopš pagājušā gadsimta sākuma zinātnieki ir pētījuši kraniofaciālā skeleta augšanas mehānismus un to ietekmējošos faktorus. Gadu gaitā ir postulētas vairākas kraniofaciālā skeleta augšanas teorijas, taču līdz pat mūsu dienām turpinās pētījumi, lai šos procesus izprastu dziļākā šūnu un molekulārā līmenī.

Jau 1830. gadā Goodsirs, atklājot osteoblastus, liek pamatus kaula augšanas pētījumiem un dažas desmitgades vēlāk fiziologi ir atklājuši, ka osteoblasti veido kaulu, bet osteoklasti to noārda (Wahl, 2005).

1892. gadā Jūliuss Volfs (Julius Wolff) nāca klajā ar domu, ka pastāv saistība starp kaula formēšanos un mehānisku stresu. Viņa teorija, kas pašreiz ir zināma kā Volfa likums, bija balstīta uz uzskatu, ka kauls remodelējas atbilstoši mehāniskai slodzei, – kad slodze ir liela, kauls formējas un tā struktūra remodelējas, lai atbilstu funkcijām (Pearson, 2004; Alaqeel, 2006). Volfs konstatē - jebkuras izmaiņas kaula formā un/vai funkcijā rada

konkrētas izmaiņas tā iekšējā arhitektūrā un sekojošas sekundāras izmaiņas arī kaula ārējā reljefā, atbilstoši matemātikas likumiem (Dibbets, 1992).

Brash pagājušā gadsimta 30. gados (Brash, 1934) izstrādāja kraniofaciālās augšanas teoriju, kuras pamatā ir kaula remodelēšanās. Brash uzskatīja, ka kaula augšana notiek vienīgi ar uzslāņošanos un rezorbciju uz kaula virsmas, bet šuvēm un skrimslim nav, vai ir tikai neliela loma augšanas procesos (Carlson, 2005). Autors secina, ka augšžoklis un apakšžoklis aug, kaulam uzslāņojoties mugurējās virsmās, savukārt galvaskauss aug ar kaula veidošanos ārējās virsmās un kaula rezorbciju endokraniāli.

Sicher (1947), pamatojoties uz vairākiem pētījumiem, secināja, ka kraniofaciālā skeleta saistaudi un šuves ir primārās augšanas vietas. Autors uzskatīja, ka saistaudi deguna-augšžokļa (nazomaksilārā) kompleksā un velvē rada spēkus, kas atdala kaulus, līdzīgi kā sinhondrozes izpleš kraniālo bāzi un epifīzes plāksnītes pagarina garos stobra kaulus. Šuvju teorijā skrimslis, šuves un periosts ir atbildīgi par augšanu un šis process ir pakļauts ģenētiskai kontrolei.

Scott (1953), galvenokārt analizējot histoloģiskos rezultātus, secināja, ka deguna starpsienas ir galvenais kraniofaciālā skeleta augšanas centrs. Deguna starpsienas skrimšļa augšana priekšpusēs-mugurpusēs virzienā „pārvieto” sejas vidusdaļu uz leju un priekšu, savukārt apakšžokļa zara locītavas izauguma (*processus condylaris*) skrimslis nosaka apakšžokļa augšanu. Lai gan nevar noliegt deguna starpsienas nozīmi sejas vidusdaļas augšanā, tomēr pēc dažu pētnieku domām (Moss, 1976) eksperimentālais pētījumu dizains, kas galvenokārt ietvēra deguna starpsienas skrimšļa ekscīziju, ļāva izdarīt kļūdainus secinājumus, jo, iespējams, tieši ķirurģiskā trauma rada kavētu sejas un žokļu attīstību.

Moss (1960) nāca klajā ar fundamentāli jaunu kraniofaciālā skeleta augšanas teoriju – funkcionālās matricēs teoriju. Moss uzskatīja, ka galvenā nozīme ir apkārtējiem audiem, bet kauls un skrimslis paši tikai nedaudz ietekmē augšanu. Apkārtējos audus viņš apzīmēja kā *funkcionālo matricu*, ko veido mīkstie audi ar savām funkcijām – elpošanu, košļāšanu, runāšanu, savukārt skeleta audi kalpo kā funkcionālo audu atbalsts. Moss secina, ka skeleta kauli aug kā atbilde mīksto audu funkcijai un atkarībā no kaula un mīksto audu funkcionālā un mehāniskā līdzsvara līmeņa, mīkstie audi kavē vai paātrina sekojošā kaula augšanas intensitāti. Tomēr šī teorija neizskaidro regulējošo procesu celulārā un molekulārā līmenī (Proffit, 2007).

Pēdējā no galvenajām kraniofaciālā skeleta augšanas teorijām ir servosistēmas teorija (Petrovic, 1974), kas balstīta uz to, ka kraniofaciālā reģiona augšana ir saistīta ar cēloņu sēriju un to mehānismu savstarpējo mijiedarbību, attiecinot kibernetikas teoriju uz sejas augšanu.

Sejas vidusdaļai augot uz priekšu, rodas neliela sakodiena atšķirība starp augšžokli un apakšžokli. Proprioreceptori, uztverot šīs sakodiena izmaiņas, izraisa apakšžokļa muskuļu tonusa palielināšanos un pārvieto apakšžokli nedaudz uz priekšu.

Postnatāli augšžoklis attīstās tikai ar intramembranālās osifikācijas palīdzību. Augšžokļa augšana notiek:

- kaulam uzslāņojoties šuvēs, kas savieno augšžokli ar galvaskausu un galvaskausa pamatni;
- kaula virsmai remodelējoties.

Visas augšanas laikā augšžoklis, augot pārvietojas uz leju un priekšu, kas notiek, pateicoties augšanai šuvēs un spiediena ietekmē no augošas galvaskausa pamatnes. Augšžokļa garums palielinās, uzslāņojoties kaulam *tuber maxillae* rajonā un aukslēju kaulu šuvju augšanas uz priekšu dēļ. Augšžokļa kaula priekšējā daļā noris kaula rezorbcija (Proffit, 2007).

Apakšžoklis aug gan endohondrālās, gan intramembranālās augšanas ietekmē. Apakšžokļa zara locītavas izaugumā (*processus condylaris*) ir skrimslis, kas nedaudz atšķiras no sinhondrozēm vai epifizārās plātnītes, tomēr tajā notiek hiperplāzija, hipertrofija un endohondrālā augšana. Visi citi apakšžokļa rajoni aug virsmas uzslāņošanās un remodelācijas rezultātā. Galvenās apakšžokļa augšanas vietas ir apakšžokļa zara locītavas izaugums (*processus condylaris*), apakšžokļa zara vainagizaugums jeb priekšējais izaugums (*processus coronoideus*) un apakšžokļa zara mugurējās virsmas. Apakšžokļa zara pārvietošanu kopumā un apakšžokļa ķermeņa pagarināšanu nodrošina:

- apakšžokļa zara priekšējās malas rezorbcija un aizmugurējās malas depoziācija;
- apakšžokļa pārvietošanās uz priekšu;
- vertikāla apakšžokļa zara pagarināšanās (Enlow, 1990).

Neskatoties uz daudzajiem gadu gaitā veiktajiem pētījumiem, joprojām nav vienas augšanas teorijas, kas dominētu pār citām, tomēr, ņemot vērā pēdējos gados veiktos pētījumus, arvien lielāku nozīmi iegūst dažādu šūnu morfoģenētisko faktoru ietekme kraniofaciālajā augšanā, kaula remodelācijā, homeostāzes nodrošināšanā un brūču dzīšanā.

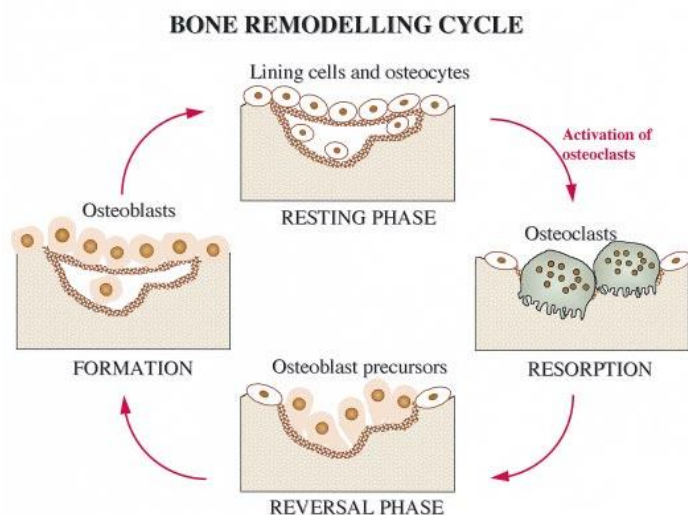
4.3. Kaula remodelācija

Pēdējās divās dekādēs strauji pieaugošā kaula bioloģijas izpēte ir vairojusi izpratni par kaula remodelāciju un ļauj mums šo procesu izprast dziļākā līmenī. Kauls ir dinamiska struktūra, kur pastāvīgi notiek remodelācija pat pēc skeleta izveidošanās un aktīvās augšanas

beigām. Kaula remodelācija ir divpusējs process, kurā notiek mineralizēto audu lokāla pārbūve - vecā kaula noārdīšanās (rezorbēcija) un jauna kaula formēšanās (Sims, 2008; Seeman, 2009) jeb specifisks, pārbūves process ($A \rightarrow R \rightarrow F$), kas sastāv no šūnu aktivācijas (A - activation), kaula rezorbēcijas (R - resorption) un aizvietošanas (F - formation) ar jaunveidotu kaulu (Roberts, 2006; skatīt 1. attēlu). Šis process ir ļoti sarežģīts un tam ir nepieciešama cieša mijiedarbība starp šūnām ar dažādu fenotipu, kas tiek regulēta ar daudzveidīgiem bioķīmiskiem un mehāniskiem procesiem (Roberts, 2006).

Tomēr daudzviet literatūrā tiek minēts arī termins *modelācija*, kas apzīmē kaula formas, lieluma un/vai pozīcijas izmaiņas mehāniskas slodzes (piemēram, ortodontiskas zobu pārvietošanas) vai dzīšanas rezultātā, savukārt remodelācija ir kaula pārbūve, kas saistīta ar kaula nobriešanu, minerālvielu metabolismu un pastāvīgu kaulaudu atjaunošanos visas dzīves laikā (Roberts, 2004).

Kauls ir specializēti saistaudi ar organisko un minerālo komponenti, kas ir radīti kā slodzi nesošas struktūras organismā (Judex, 2009). Lai spētu izturēt slodzi, kauls ir veidots no ārējā kompaktā kaula, kam ir maz poru, bet liels stiprums, un spongiozās jeb porainās kaulvielas (Roberts, 2004). Kaula minerālā komponente (neorganiskā fāze) sastāda aptuveni divas trešdaļas no skeleta svara. Atlikusī 1/3 ir organiskā daļa, kas galvenokārt sastāv no I tipa kolagēna un nelielas daļas nekologēno proteīnu (Sluckis, 2006).



1. att. Kaula remodelācijas stadijas. Rezorbēcijas fāze (resorption): aktivētie daudzkodolainie osteoklasti, kas cēlušies no kaula smadzeņu monocītiem, rezorbē atsevišķu mineralizētās kaula matricē rajonu. Maiņas fāze (reversal phase): osteoprogenitorās šūnas (osteoblastu priekšteči), kas var lokāli proliferēties un diferencēties osteoblastos, migrē uz rezorbēto lakūnu un tām parādās osteoblastiska aktivitāte. Formējošā fāze (formation): osteoblasti nogulsnē jaunu kaula matrici, kas aizpilda rezorbēto lakūnu. Miera fāze (resting phase): Osteoblasti nobriest par osteocītiem (Hill P, Br J Orthod, 1998).

Galvenie šūnu tipi, kas atrodami kaulā, ir osteoblasti, osteoklasti un osteocīti. Osteoblasti veido kaula matrici, kas pakāpeniski mineralizējas un tie ir novietoti augoša kaula ārējā virsmā vienā kārtā. Osteoblasti, izdalot šūnstarpas vielu, pakāpeniski tajā iemūrējās, līdz ar to samazinās to funkcionālā aktivitāte, kā arī tiem rodas tievi izaugumi (Clarke, 2008). Rezultātā osteoblasti pāriet diferenciācijas gala stadijā un pārvēršas par osteocītiem (Roberts, 2004; Henriksen, 2009). Daļa osteoblastu, samazinot savu bioloģisko aktivitāti, tiek pakļauta apoptozei, kuru regulē dažādi biomolekulārie marķieri, piemēram, *msx2*. Līdz ar to osteoblastu populācijas lielumu nosaka balanss starp osteoblastu proliferāciju un apoptozi (Palumbo, 2003; Chau, 2009).

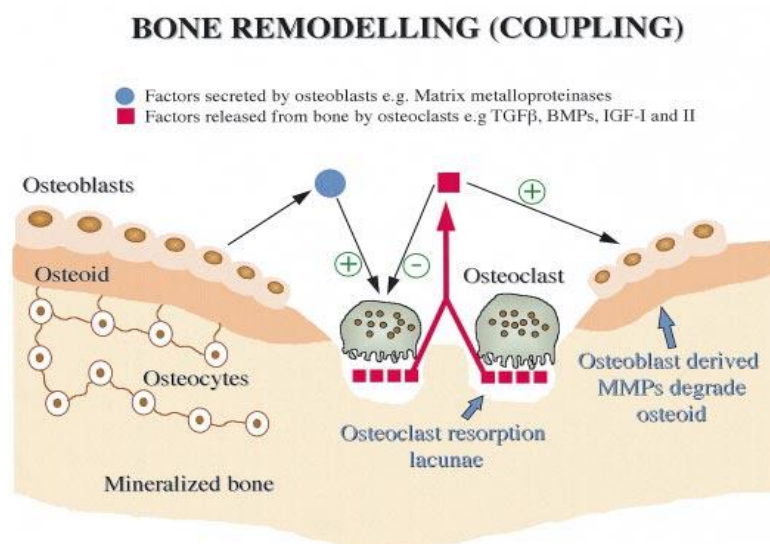
Osteoklasti ir specializētas daudzkodolainas lielas (līdz 100 μm) šūnas, kas attīstījušās no hemopoētiskām šūnām (Masella, 2008). Osteoklasti spēj saistīties pie kaula matricē un, izdalot enzīmus, noārdīt minerālās un proteīnu struktūras (Cohen, 2006; Teitelbaum, 2007). Lai asins monocīti spētu diferencēties par osteoklastiem, ir nepieciešams makrofāgu koloniju stimulējošais faktors (M-CSF) vai granulocītu un monocītu koloniju stimulējošais faktors (GM-CSF), kuri pieder pie citokīniem (Yavropoulou, 2008). Osteoklastu diferenciāciju var ietekmēt arī tumora nekrozes faktora (TNF) saimes locekļi un to receptori (Boyce, 2007). Boyce (2008) konstatē, ka šis sekretējamais faktors atrodas uz osteoblastu membrānas un nosaukts par RANKL (RANKligand, NF-kappaB liganda receptora aktivators), jo tas var saistīties ar monocītu transmembrānas receptoriem RANK (NF-kappaB receptora aktivators). Pretēja darbība uz osteoklastu šūnām piemīt osteoproteģerīnam, kas, saistoties ar RANKL, bloķē osteoklastoģenēzi (Roberts, 2004).

Kauls nepārtraukti atrodas dinamiskā līdzsvarā, kas ir sarežģīts noārdīšanās un atjaunošanās process. Veselā pieauguša cilvēka kaulā ir balanss starp osteoklastu rezorbēto un osteoblastu jaunveidoto kaulu (Frost, 1969; Matsuo, 2008). Kaula remodelācija notiek daudzšūnu pamatvienībā (*basic multicellular units*, BMU). Vienlaicīgi ap 20% no kortikālā kaula virsmām notiek kaula remodelācija jeb pastāvīgi darbojas 2 miljoni BMU. Katra BMU darbojas ģeogrāfiski un hronoloģiski atsevišķi, kas norāda uz šo šūnu lokāli kontrolētu aktivāciju (Hill, 1998).

Pašreizējā kaula remodelācijas koncepcija ir balstīta uz hipotēzi, ka osteoklastu priekšgājēji tiek aktivēti un diferencēti par osteoklastiem, kas nosaka kaula rezorbcijas sākumu (skat. 2. att).

Rezorbcijas laikā osteoklasti atbrīvo no kaula lokālos faktorus, kuriem ir divi efekti: osteoklastu aktivitātes inhibēšana un osteoblastu aktivitātes stimulēšana. Nākošais solis ir kaula virsmas sagatavošana, noārdot nemineralizēto osteoīda slāni, ko nodrošina osteoblasti,

kas izklāj kaula virsmu, jo tie sekretē dažādus proteolītiskos enzīmus, piemēram, matricas metaloproteināzes (MMP) un kolagenāzes (Meikle, 1992). Pēc tam aktivētie osteoklasti rezorbē kaulu producējot ūdeņraža jonus (minerālu šķīšanai) un proteolītiskos enzīmus (organiskās matricas degradācijai). Beigās osteoklasti iziet apoptozi jeb ieprogrammētu šūnu nāvi, ko raksturo kodola un citoplazmas kondensācija (Hill, 1998; Blair, 2002).



2. att. Kaula remodelācijas shematisks attēlojums. Osteoklastiskai kaula rezorbcijai seko osteoblastiska kaula formēšanās. Sākuma fāzē osteoblasti sintezē un izdala matricas metaloproteināzes (MMP), kas ir atbildīgas par oseoīda degradāciju, atsedzot mineralizēto matrici, kas var piesaistīt osteoklastus. Osteoblasti tieši stimulē osteoklastu aktivitāti. Rezorbcijas procesa laikā tiek izdalīti augšanas faktori, kas aktivē osteoprogenitorās šūnas, kuras nobriest par osteoklastiem un aizvieto rezorbēto kaulu. TGF-β un BMP regulē procesu, kad osteoblasti veido jauno kaulu tikai rezorbētās lakūnās (Hill P, Br J Orthod, 1998).

Kaula veidošanās sastāv no kompleksas notikumu kaskādes, kas ietver primitīvu mezenhimālo šūnu proliferāciju un diferenciāciju par osteoblastu priekštečiem (preosteoblastiem), osteoblastu nobriešanas, matricas veidošanās un beigās mineralizācijas posmus (Eriksen, 1984).

Kaula remodelāciju regulē sistēmiskie faktori (hipofizārais augšanas hormons, parathormons, kalcitonīns un steroīdie dzimumhormoni) un lokālie faktori (citokīni, augšanas faktori un prostaglandīni, kurus sintezē skeleta šūnas), kas ietekmē gan osteoklastu, gan osteoblastu šūnu līnijas un iedarbojas uz nediferencēto šūnu dalīšanos, šūnu saistīšanu un funkcijām (Hill, 1998).

Osteoblastus aktivējošie lokālie faktori ir TGF- β (transformējošais augšanas faktors β), BMP (kaula morfoģenētiskais proteīns), IGF (insulīnam līdzīgais augšanas faktors) un FGF (fibroblastu augšanas faktors), (Hill, 1998, Meikle, 2007).

4.4 Augšanas faktoru nozīme kraniofaciālā skeleta augšanā

Zinātniskajā literatūrā kaula remodelācijas procesā svarīga loma tiek piešķirta augšanas faktoriem (GF), kas ir ūdenī šķīstoši polipeptīdi ar molekulmasu 6-45 kDa un kas embriogēzes, postnatālās augšanas un pieauguša cilvēka dzīves laikā ir iesaistīti šūnu proliferācijā un diferenciācijā, audu un orgānu morfoģenēzē (Zhang, 2005).

To pētījumi pēdējās dekādēs aktivizējas galvenokārt saistībā ar implantoloģijas, audu vadāmās reģenerācijas un distrakcijas osteogēzes attīstību (Okubo, 2002; Knabe, 2005; Westerhuis, 2005). GF ir nozīme kaula un skrimšļa formēšanās procesā, lūzumu dzīšanā, kā arī muskuļu un kaulaudu reģenerācijas gadījumos (Yamamoto, 2003; Lieberman, 2002). Tomēr dentofaciālo anomāliju gadījumos augšanas faktori *in vivo* ir maz pētīti, kā arī nav noteikta precīza to vieta skeletālo anomāliju patoģenēzē, jo augšanas faktoru darbība ir ļoti sarežģīta. Katram augšanas faktoram ir atšķirīgi efekti dažādos audos, tāpat kā dažādu faktoru mijiedarbība vienam uz otru var būt atšķirīga (Spears, 2005).

Daudz augšanas faktori atrodas ekstracelulārajā matricē, kur tie tiek atbrīvoti matricēs degradācijas laikā un darbojas kā daļa no sarežģītas signālu sistēmas (Solheim, 1998; Schliephake, 2002). Augšanas faktori darbojas kā starpnieki caur virsmas receptoriem uz mērķa šūnām, aktivizējot intracelulāros fosforilējošos enzīmus, kas inducē intracelulāro signālu ceļu, lai sakopotu dažādus specifiskus enzīmus, kas migrē uz šūnas kodolu. Kopā ar citiem transkripcijas faktoriem tie aktivē gēnus, kas vēlāk rada specifiskas izmaiņas fenotipā vai celulārajā aktivitātē (Abe, 2006). Šīs izmaiņas var būt dažādas, un GF iedarbība uz šūnām var būt gan aktivizējoša, gan nomācoša. Augšanas faktoru mērķi galvenokārt ir šūnas, kam nav sakara ar hemopoēzi, un tas atšķir augšanas faktorus no citokīniem (Sluckis, 2006).

Augšanas faktora saistīšanās ar receptoru ir zināma kā liganda–receptora mijiedarbība (Lieberman, 2002). Šī mijiedarbība var būt vienkārša, kad specifiskais augšanas faktors (ligands) saistās ar vienu šūnas receptoru vai arī sarežģīta, kad viens vai vairāki augšanas faktori saistās pie viena vai vairākiem receptoriem (Massagué, 1996).

Augšanas faktori darbojas kā mitogēni, veicinot noteiktu šūnu tipu proliferāciju, bet ir arī augšanas faktori ar morfoģenētiskām īpašībām, kam piemīt spēja mainīt mērķa šūnu fenotipu (Carlson, 2005). Augšanas faktoru darbība var būt gan autokrīna, kad darbība tiek

vērsta uz to pašu šūnu, kas producē konkrēto faktoru, gan parakrīna, kad tiek ietekmēta tuvumā esoša šūna, gan endokrīna, kad augšanas faktori tiek izplatīti uz tālākiem audiem un orgāniem ar asins straumes palīdzību (Baylink, 1993; Lieberman, 2002; Schliephake, 2002), tomēr lokālas iedarbības faktoriem ir tiešāka ietekme uz šūnu augšanu un funkciju (Hill, 1998).

Pētot augšanas faktorus, ir atklātas strukturālas līdzības starp faktoriem, tāpēc tie tiek klasificēti dažādās lielās saimēs. Galvenās no tām ir TGF- β , FGF, IGF, PDGF un EGF saimes (Milos, 1992) un kraniofaciālajā attīstībā un kaula remodelācijas procesos nozīmīga loma varētu būt transformējošam augšanas faktoram β (TGF- β), kaula morfoģenētiskajam proteīnam (BMP), fibroblastu augšanas faktoram (FGF) un epidermālam augšanas faktoram (Spears, 2005).

4.4.1. Transformējošais augšanas faktors β (TGF- β)

TGF saime pieder pie plaši izplatītiem augšanas faktoriem un iekļauj sevī piecas TGF- β izoformas (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3, TGF- β 4, TGF- β 5), kaula morfoģenētiskos proteīnus (BMP2, BMP3, BMP4, BMP5, BMP6, BMP7), inhibīnus, aktivīnus, augšanas diferenciācijas faktorus (GDF) un Millera vielu (Linkhart, 1996).

TGF- β atrod dažādos audos, bet visvairāk kaulaudos, trombocītos un skrimšļaudos (Lieberman, 2002). TGF- β sākotnēji izdalīja no audzēja šūnu līnijām un tas tika raksturots kā proteīns, kas spēj inducēt fenotipa transformāciju netumora šūnu kultūrās, no kā arī radies augšanas faktora nosaukums (Sporn, 1992; Schliephake, 2002).

TGF- β galvenokārt stimulē mezenhimālas izcelsmes šūnas, bet inhibē ektodermālas izcelsmes šūnas. *In vivo* TGF- β darbojas inhibējoši uz daudziem šūnu tipiem, piemēram, epiteliālām, endoteliālām, hemopoētiskām šūnām un limfocītiem (Miyazono, 1994). TGF- β ietekmē audu embriogēzi, šūnu normālo fizioloģiju, apoptozi, iekaisuma procesus un audu reģenerāciju (Hughes, 2000; Schliephake, 2002; Oka, 2007). Šis augšanas faktors darbojas arī mezenhimālo šūnu un osteoblastu proliferācijā kaulu lūzumu gadījumos un lielu kaulaudu defektu gadījumā (Solheim, 1998). Tiek uzskatīts, ka TGF- β tiek atbrīvots no trombocītiem pēc recekļa veidošanās lūzuma vai kaula defekta vietā un TGF- β 1 izdale ir saistīta ar periostālo audu proliferāciju, jo novēro izteiktu imūnhistoķīmisku TGF- β reakciju agrīnā lūzuma periodā. Visizteiktāko krāsojumu novēro skrimšļa šūnu proliferācijas un endohondrālās osifikācijas laikā (Rosier, 1998), līdz ar to autori uzskata, ka TGF- β izdale ir cieši saistīta ar kaulaudu reģenerāciju. Arī osteoblastiem un hondroblastiem ir daudz

receptoru, kas saistās ar TGF- β 1, liecinot par šī GF nozīmīgumu kaulaudu reģenerācijā (Robey, 1987).

TGF- β nozīme kraniofaciālajā augšanā ir daudz pētīta dzīvniekiem. Piemēram, Maroco ar līdzautoriem (1997) atrada TGF- β 1, TGF- β 2 un TGF- β 3 cūku apakšžokļa galviņas laterālā gala (kondiļa) skrimslī postnatālās attīstības laikā. Arī peļu embrijos novēroja TGF- β imūnreaktivitāti kraniofaciālajos audos, kas attīstījušies no nervu kores mezenhīmas, piemēram, aukslējās, zobos, deguna dobuma sienās, sejas daļas mezenhīmā un balsenē (Heine, 1987). Sawada (1996), pētot žurkas, secina, ka TGF- β ir nozīmīgs aukslēju šuvē kaula formēšanās laikā pēc ātrās aukslēju paplašināšanas, bet pelēm bez TGF- β 3 gēna 100 % gadījumu attīstās aukslēju šķeltne (Proetzel, 1995). Oka (2007) ar līdzautoriem uzrāda TGF- β nozīmi apakšžokļa attīstībā, jo TGF- β signālkaskāde kontrolē gēna Msx1 ekspresiju, tādējādi regulējot apakšžokļa osteogēnēzi un hondrogēnēzi.

Sanford (1997) novēroja kraniofaciālā, ass un papildus skeleta defektus pelēm ar TGF- β 2 gēna deficītu, savukārt grauzējiem ar traucētu TGF- β ekspresiju novēro disbalansu starp osteoblastu un osteoklastu aktivitāti, un rodas jauns fenotips, ko raksturo kaulaudu zudums, kas līdzinās osteoporozes vai hiperparatireoīdisma gadījumiem. Autori atzīmē arī kavētu kaulu osifikāciju un šuvju mineralizāciju (Erlebacher, 1998; Massagué, 2000).

4.4.2. Kaula morfogēnētiskais proteīns (BMP)

BMP pieder pie TGF- β saimes un tā osteoinduktīvo aktivitāti identificēja pagājušā gadsimta 60. gados, kad M. Urist pirmais ziņoja par proteīnu ekstraktu no demineralizēta kaula matrices. BMP bija spējīgs grauzējiem inducēt kaula formēšanos ectopiskās vietās un šim procesam bija liela līdzība ar celulāriem procesiem, kādi notiek endohondrālās kaula formēšanās un lūzumu dzīšanas laikā (Urist, 1965; Rosen, 2006), jo osteogēno aģentu implantējot intramuskulāri vai subkutāni, tas izraisa nediferencēto mezenhīmas šūnu hemotaksi uz implantācijas vietu un šūnu diferenciāciju hondroblastos vai osteoblastos (Reddi, 1988; Wozney, 1998). Šo fenomenu sauc par osteoindukciju, kas nozīmē kvalitatīvas šūnu fenotipa izmaiņas (Sluckis, 2006).

BMP ir nozīmīga loma daudzās svarīgās organisma norisēs, piemēram, apoptozē, embriogēnēzē, mezodermas indukcijā, šūnu proliferācijā (Ducy, 2000), nieru, acu, smadzeņu, ādas, sirds un zobu attīstībā. BMP inducē arī nenobriedušo mezenhimālo šūnu diferenciāciju par fibroblastiem, osteoblastiem un hondroblastiem (Canalis, 2003; Cheng, 2003; Roberts, 2004; Reddi, 2001).

BMP iedarbojas uz šūnām kā komplicēts ekstracelulāras un intracelulāras mijiedarbības faktors. Intracelulāri šī GF iedarbība uz šūnām notiek ar serīnkināzes un treonīnkināzes receptoru palīdzību (Zhang, 2005), kas sekojoši aktivē citoplazmatiskos Smad proteīnus. Smad1 un Smad5 aktivē Smad4 signālolbaltumu, kas iekļūst kodolā, kur tas ietekmē BMP – reaģējošos gēnus (Reddi, 2001; Bubnoff, 2001).

BMP aktivitāti ietekmē arī dažādi ekstracelulārie olbaltumi, kas ir BMP antagonisti, piemēram, nogīns, hordīns, gremlīns, folistatīns un ventropīns (Rosen, 2006). Nogīns bloķē BMP iedarbību uz diferencētām un nediferencētām osteoblastiskām šūnām (Canalis, 2003), kontrolē apoptozi un regulē hondroģenēzi (Blair, 2002), savukārt gremlīns un hordīns spēj saistīties ar BMP, neļaujot tam kontaktēties ar šūnu receptoriem (Yanagita, 2005; Abe, 2006). Pelēm bez folistatīna gēna ir novērojamas skeletālas deformācijas un zobu attīstības traucējumi (Baleman, 2002).

Pie BMP ar vislielāko osteogēno kapacitāti pieder BMP-2, -4, -5, -6, -7 un -9 (Xiao, 2007). Cheng ar līdzautoriem (2003), analizējot 14 BMP tipus, konstatēja, ka BMP-2, BMP-6 un BMP-9 inducē osteoblastu diferenciāciju no mezenhīmas šūnām, bet gandrīz visi BMP tipi ir spējīgi stimulēt osteoblastu osteogēnēzi. Schmitt (1999) savā pētījumā atzīmē, ka pelēm ar BMP-2, -4 un -7 deficītu novēro smagus embrionālās attīstības traucējumus un tās iet bojā agri embrionālās attīstības laikā vai tūlīt pēc dzimšanas.

Pašreiz zinātniskie pētījumi ir apstiprinājuši cilvēka rekombinētā BMP efektivitāti lielu kaulu defektu dzīšanā, izmantojot pētījumos galvenokārt grauzējus un citus nelielus zīdītājus (Gerhart, 1993; Westerhuis, 2005). Tomēr klīniskie pētījumi ar pacientiem uzrāda atšķirīgus un neviennozīmīgus rezultātus (Geesink, 1999; Maniscalco, 2002). Galvenās problēmas saistāmas ar iespēju, ka kaula reģenerācijas procesi ir atšķirīgi grauzējiem, nelieliem zīdītājiem, piemēram, suņiem un cilvēkam. Tāpat arī nav pietiekošu zināšanu par rekombinētā BMP dozēšanu un optimālāko aplikācijas veidu (Westerhuis, 2005).

4.4.3. Fibroblastu augšanas faktors (FGF)

FGF ir liela augšanas faktoru grupa, kurā ietilpst 22 polipeptīdi, kuri sadalās pēc tipiskām strukturālām pazīmēm un tiem ir nepieciešams heparīna sulfāts, lai aktivētu šūnu virsmas receptorus. Ir atklāti 4 tirozīnkināzes receptoru tipi – FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, kuri ir nepieciešami augšanas faktoru darbībai. FGF ligandu signāls, kas caur FGFR tiek nodots mērķšūnai, atkarībā no šūnas tipa izraisa atšķirīgas bioloģiskās atbildes reakcijas.

FGF inducē mezodermālas un neuroektodermālas izcelsmes šūnu mitogēno un

angiogēno aktivitāti (Powers, 2000). Embrionālās attīstības laikā FGF regulē šūnu proliferāciju, migrāciju, diferenciāciju un tādejādi ietekmē organoģenēzi (Steiling, 2003). Pieaugušā organismā FGF ir nozīme audu homeostāzes nodrošināšanā un tam ir svarīga loma arī brūču dzīšanā un audu reģenerācijā (Ornitz, 2001; Mohammadi, 2005).

Dažādi eksperimentālie pētījumi ar dzīvniekiem pierāda FGF lielo nozīmi skeleta un agrīnā nervu sistēmas attīstībā (Goldfarb, 1996; Eswarakumar, 2005; Ornitz, 2005), no kuriem nozīmīgākie ir FGF1 un FGF2, kas tiek ekspresēti kaulu lūzumu dzīšanas agrīnās stadijās.

Tiek pētīta šo augšanas faktoru spēja stimulēt kaulaudu reģenerācijas procesus (Schmid, 2009). FGF1 un FGF2 ietekmē dažādu šūnu, piemēram, epiteliocītu, osteoblastu un hondrocītu augšanu un diferenciāciju (Powers, 2000). Kato (1998) eksperimentālā pētījumā ar trušiem konstatēja, ka FGF2 lokāla aplikācija uzlabo kaula formēšanos lielajā liela kaulā pie lieliem kaula defektiem. Tomēr Källicke (2007) pēc lokālas rekombinantā bāziskā fibroblastu augšanas faktora aplikācijas trušiem lūzuma vietā konstatēja samazinātu rezistenci pret iekaisumu.

Translokācijas, mutācijas un traucēta FGFR ekspresija ir saistīta ar dažādu audzēju attīstību. Yoshimura ar līdzautoriem (1998) atzīmē FGFR1 saistību ar krūts vēzi, bet Kwabbi-Addo (2001) konstatē FGFR nozīmi prostatas audzēju gadījumos (Itoh, 2007).

FGFR1, FGFR2, FGFR3 saistīto mutāciju rezultātā rodas dažādas skeletālas patoloģijas (Naski, 1998). Šos traucējumus var iedalīt divās grupās – hondrodisplāziju sindromos (hipohondroplāzija, ahondroplāzija) un kraniosinostozēs (Aperta sindroms, Kruzona sindroms, Feifera sindroms, Jakson-Weiss sindroms un nesindromiskās kraniosinostozes). Visas šīs mutācijas ir autosomāli dominantas un galvenokārt sporādiskas (Ornitz, 2005).

4.4.4. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF)

Histoloģiskās atradnes uzrāda, ka jaunveidotā kaulā osteoblasti un to priekšteči vienmēr attīstās līdztekus endoteliālām šūnām, bet kapilāru endoteliālās šūnas nodrošina mikroapasiņošanu kaula remodelācijas laikā, līdz ar to angiogēnēzei ir nozīmīga loma kaulu, it īpaši, endohondrālā kaula attīstībā un augšanā, jo abi šie bioloģiskie procesi darbojas ciešā saistībā un tiem ir kopēji mediatori (Dai, 2007). Angiogēnēzē ir iesaistīti dažādi augšanas faktori, piemēram, TGF- β , FGF, hepatocītu augšanas faktors (HGF) un tumora nekrozes faktors α (TNF- α), bet galvenā nozīme tiek piešķirta vaskulārajam endoteliālajam augšanas

faktoram (VEGF) (Carano, 2003).

Pirmo reizi šo GF izdalīja Ferrara un Hanzel kā endotēlija specifisku augšanas faktoru no vērša hipofīzes folikulu šūnām, bet šo faktoru spēj izdalīt arī fibroblasti, gludo muskuļu šūnas, hipertrofiski hondrocīti un osteoblasti (Gerber, 2003). Zelzer (2005) atzīmē, ka VEGF ir nozīme ne tikai embrionālajā angiogēnēzē, bet arī hondrocītu un osteoblastu diferenciācijā, migrācijā un osteoklastu saistīšanā, imūno un iekaisuma šūnu multifunkcionālā regulācijā un koagulācijā. Ja VEGF ekspresija ir traucēta, var attīstīties daži intraokulārie sindromi, kā arī audzēji, kur VEGF piedalās audzēja skarto audu neovaskularizācijā (Toi, 2001).

Šī augšanas faktoru saime ietver vairākus GF – pašu VEGF jeb VEGF-A, placentas augšanas faktoru, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E un VEGF-F. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors aizsāk intracelulāro signālu kaskādi caur diviem tirozīnkināzes receptoriem (VEGFR1 un VEGFR2), kas ir lokalizēti galvenokārt uz vaskulāro endoteliālo šūnu virsmas (Ferrara, 2000).

VEGF-A ir svarīgs angiogēnēzē (iedarbojas uz endoteliālo šūnu migrāciju un mitozī), makrofāgu un granulocītu hemotaksē. VEGF-B piedalās embrionālajā angiogēnēzē un to bagātīgi atrod sirdī, aizkuņģa dziedzerī un skeleta muskuļos, it īpaši vaskularizācijas laikā. VEGF-C ietekmē limfangiogēnēzi, kā arī endoteliālo šūnu proliferāciju un migrāciju, tomēr ne tik lielā mērā, kā VEGF-A. VEGF-D atrod zobos, aknās, sirdī, nieru un plaušu mezenhīmā. Līdzīgi kā VEGF-A, arī VEGF-E ir potenciāls angiogēnēzes stimulators, un var inducēt vaskulāro endoteliālo šūnu proliferāciju, migrāciju un mitotisko aktivitāti (Dai, 2007).

4.5. Kaula ekstracelulārās matricēs (ECM) nozīme kaulaudu remodelācijā

Daudzus gadus kaula ekstracelulārās matricēs nozīme skeleta attīstībā netika pienācīgi novērtēta. Tikai pēdējās dekādēs, uzlabojoties, piemēram, rekombinantā DNS tehnoloģiskām iespējām un dažādu struktūru ekstrakcijas procedūrām, pētnieki ir pievērsušies ECM pētījumiem un dziļāk izpratuši tās nozīmi. Pirms šiem tehnoloģiskiem uzlabojumiem tika uzskatīts, ka ECM ir strukturāla matrice, kurā atrodas kolagēns un glikozaminoglikāni. Pēc definīcijas ECM bija statiska struktūra ar minimālām iespējām ietekmēt audu struktūru, funkciju, attīstību vai gēnu ekspresiju. Tagad ir zināms, ka ECM nav statiska struktūra, bet gan dinamisks šūnu sekretētu molekulu tīkls. ECM ne tikai veido kompleksu arhitektūru ap šūnām, bet ECM molekulas arī regulē šūnu darbību, modulējot šūnu proliferāciju un diferenciāciju, ietekmē atbildi uz augšanas faktoriem un signāltransdukcijas ceļu (Velleman, 2000).

Kaula matrice sastāv no organiskās un minerālās komponentes. I tipa kolagēns ir visvairāk pārstāvētais olbaltums kaula organiskā ekstracelulārā matricē un sastāda vismaz 85-90% no kopējās kaula organiskās komponentes (Sasano, 2000). Nekolagēnie kaula ekstracelulārās matricē proteīni ir otra lielākā ECM komponentu grupa, kuriem ir nozīme osifikācijas regulācijā un kaula remodelācijā. Pie šiem ECM proteīniem pieder, piemēram, osteonektīns, osteopontīns, kaulu sialoproteīns II, biglikāns un osteokalcīns (Gundberg, 2003).

4.5.1. Osteokalcīns (OC)

Osteokalcīns (OC) jeb kaula gamma-karboksilglutamīnskābi saturošs proteīns (BGP) pieder pie nekolagēniem kaula matricē proteīniem un to uzskata par kaula formēšanās marķieri (Lee, 2000). Neskatoties uz daudziem pētījumiem par osteokalcīnu, vēl joprojām nav precīzi definēta tā bioloģiskā funkcija kaula formēšanās un remodelācijas procesos (Gundberg, 2003). Tas ir K un D vitamīnu atkarīgs olbaltums, ko sekretē osteoblasti un tas saistās ar kalciju un hidroksiapatītu (Desbois, 1995).

Ohta (1989), imūnhistoķīmiski izmeklējot osteokalcīna lokalizāciju cilvēka kaulos, konstatēja, ka tas visaktīvāk tiek ekspresēts augļa 12 attīstības nedēļā. Arī vēlākās attīstības laikā un pieauguša cilvēka kaulos var konstatēt OC, bet tas lokalizējas vairāk osteoīdā.

Price (1981) atzīmē, ka ārstēšana ar K vitamīna antagonistu varfarīnu samazina osteokalcīna līmeni kaulā. Ducey (1996), pētot peles ar ģenētisku osteokalcīna deficītu, novēro palielinātu kaulaudu masu, labāku kaula biomehānisko kvalitāti, osteoklastu skaita palielināšanos un pieaugošu kaula formēšanās ātrumu, kad tomēr netiek ietekmēta kaula rezorbcija.

4.5.2. Osteopontīns (OP)

Osteopontīns ir multifunkcionāls fosfoproteīns, kas sastāv no aptuveni 30 aminoskābju atlikumiem, ar izteiktu skābju raksturu, ko sekretē aktivēti makrofāgi, leukocīti un T limfocīti, un tas atrodas ekstracelulārā šķīdumā iekaisuma vietā, kā arī mineralizēto audu ekstracelulārajā matricē (Denhardt, 2001).

Imūnajā sistēmā OP ir svarīga loma hemotaksē, jo tas izraisa makrofāgu un dendrītisko šūnu migrāciju uz hroniska vai akūta iekaisuma skarto audu rajonu (Gravallese, 2003). Ņemot vērā proteīna nozīmi gan imūnajā sistēmā, gan kaulaudos, Yamamoto (2003) secina, ka OP ir saistība ar reimatoīdā artrīta un locītavu destrukciju patoģenēzi. OP

ekspresiju saista ar citiem patoloģiskiem procesiem, piemēram, audzējiem, nierakmeņiem, aortas stenozi, asinsvadu aterosklerotiskiem bojājumiem (Giachelli, 1995), multiplo sklerozi un osteoporozi (Altintas, 2009). Pacientiem ar krūts karcinomu palielināta OP ekspresija bija saistīta ar samazinātu dzīvildzi un paaugstinātu metastāžu izplatīšanos (Tuck, 1998).

OP regulē fizioloģisku un patoloģisku kaula mineralizāciju. Osteopontīnu sintezē osteoblasti un osteoklasti kaulu veidošanās un mineralizācijas procesā - osteoblasti izdala osteopontīnu ekstracelulārajā matricē, kur tas ar integrīnu starpniecību saistās pie citiem osteoblastiem, lai tos aktivētu (autokrīna aktivācija). Savukārt osteoklasti atpazīst OP makromolekulu, piestiprinās pie kaula virsmas un rezorbē kaula matrici (parakrīna aktivācija). Šī autokrīnā un parakrīnā mijiedarbība starp šūnām kontrolē balansu starp osteoklastu un osteoblastu funkcijām. OP varētu būt signālmolekula, kas iesaistīta osteoklastu-osteoblastu lokālā komunikācijā (Uemura, 2001). Pelēm ar izslēgtu OP gēnu novēro histoloģiski un radioloģiski normāli attīstītu skeletu, bet vecākiem dzīvniekiem palielinās trabekulārā kaula tilpums (Rittling, 1998). OP atrod smaganu rievās šķidrumā, kur tas varētu nokļūt no blakus esošā alveolārā kaula, zoba cementa, dentīna, periodonta audu makrofāgiem, asinīm un siekalu dziedzeriem (George, 2009).

OP var aizsargāt šūnu no apoptozes, saistoties ar endoteliālo šūnu $\alpha_v\beta_3$ integrīnu un aktivējot transkripcijas faktoru NF κ B (nukleārais faktors kapa B), kas nodrošina anti-apoptotisko efektu. OP nodrošina arī hemopoētisko un asinsvadu gludās muskulatūras šūnu aizsardzību pret apoptozi (Mazzali, 2002).

Ir atzīmēta OP nozīme audu reģenerācijā, jo pelēm ar izslēgtu OP gēnu novēro traucētu griezta ādas brūces dzīšanu ar atipisku kolagēna fibrillogēnēzi (Liaw, 1998), tomēr mehānisms, kas ir šī defekta pamatā, vēl pilnībā nav izzināts.

4.6. Matrices metaloproteināzes (MMP)

Matrices metaloproteināzes pieder pie plaši izplatītas enzīmu grupas un tās ir nozīmīgas audu remodelācijā un šūnu migrācijā ekstracelulārās matricēs degradācijas laikā. Patreiz ir zināmi vismaz 26 MMP veidi, kurus var iedalīt vairākās grupās.

Pie kolagenāzēm pieder MMP-1, MMP-8, MMP-13 un MMP-18, kurām piemīt spēja šķelt intersticiālo I, II un III tipa kolagēnu, savukārt želatināzes (MMP-2 un MMP-9) šķel denaturētus kolagēnus, bet MMP-2 šķel arī I, II un III tipa kolagēnu. Peles ar nulles MMP-2 gēnu attīstās bez jebkādam redzamām anomālijām, tādēļ tas varētu norādīt uz efektīvu kompensācijas mehānismu. Cilvēkam ar MMP-2 saistītu mutāciju attīstās reta autosomāli

recesīva saslimšana ar multicentrisko osteolīzi, kas raksturojas ar kaulu destrukciju un rezorbciju, tātad MMP-2 ir nozīmīga loma cilvēka osteogēnēzē (Visse, 2003).

Stromelizīni (MMP-3, MMP-10 un MMP-11) ir MMP grupa, kas šķel proteoglikānus, fibronektīnu, IV, IX, un X tipa kolagēnu, bet matrilizīni (MMP-7 un MMP-26) siekalu dziedzeru epiteliālās šūnās fizioloģiskos apstākļos sekretē MMP-7 un aktivē defensīnus (dabīgos antimikrobus proteīnus), savukārt MMP-26 tiek ekspresēts placentas un nieru audos, kā arī plaušu un endometrija audzēja gadījumos (Visse, 2003).

Membrānas tipa MMP ir MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24 un MMP-25. Pelēm bez gēna, kas nosaka MMP-14 darbību, postnatālās attīstības laikā novēro skeleta anomālijas, kas rodas traucētas kolagenolītiskās aktivitātes rezultātā.

Citas MMP, kas neietilpst iepriekšējās grupās ir MMP-11, MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-22 un MMP-23 (Lemaitre, 2006).

MMP piedalās orgānu attīstībā, iekaisuma, dzīšanas, metastazēšanās un citos fizioloģiskos un patoloģiskos procesos (Verma, 2007). Lemaitre (2006) norāda uz MMP svarīgo lomu šūnu proliferācijā, diferenciācijā, apoptozē, kā arī augšanas faktoru, to receptoru, citokīnu, un plaša spektra enzīmu bioloģiskās aktivitātes regulēšanā. MMP izdala dažādi saistaudi un pro-inflamatoras šūnas, piemēram, fibroblasti, osteoblasti, endoteliālās šūnas, makrofāgi, limfocīti un neitrofilie leukocīti (Haeusler, 2005).

4.7. Barx1, Msx2 un Wnt1 gēnu nozīme kraniofaciālā skeleta augšanā un attīstībā

Kaulaudu un mīksto audu šūnu *in vitro* molekulārie un bioķīmiskie pētījumi, kā arī to gēnu identifikācija un inaktivācija, kas atbildīgi par dzīvnieku un cilvēku skeletālām anomālijām, uzrāda specifisku augšanas un diferenciācijas faktoru, ekstracelulārās matricas proteīnu, signalizējošo mediatoru un transkripcijas faktoru nozīmi kaula un skrimšļa attīstībā (Erlebacher, 1995).

Daudzi gēni, it īpaši no homebox gēnu saimes, piemēram, Barx, Msx, Wnt un Shh, ir iesaistīti kraniofaciālā attīstībā, un tie kontrolē dentofaciālo struktūru veidošanos (Morgan, 1993; Barlow, 1999; Chai, 2006).

Homebox saimes Barx1 gēna ekspresiju novēro kraniofaciālajā mezenhīmā, kā arī augšžokļa un apakšžokļa aizmetņu epitēlijā un frontonazālajā rajonā (Gould, 2000). Jones ar līdzautoriem (1997) konstatē Barx1 ekspresiju gan centrālās, gan perifērās nervu sistēmas attīstības laikā. Church (2005), izmeklējot cāļa embrijus, identificē Barx1 ekspresiju locītavās un locītavu skrimslī. Dentālā aspektā embrionālās attīstības periodā Barx1 atrod molāru

mezenhīmā (Miletich, 2005), bet nekad Barx1 ekspresiju nenovēro incisiviem (Tissier-Seta, 1995). Barx1 mezenhimāla ekspresija, iespējams, tiek regulēta ar BMP/FGF antagonisku signālu darbību (Barlow, 1999).

Msx2 pieder pie homeobox gēnu saimes un ir plaši izplatīts daudzos orgānos (Alappat, 2003), bet galvenokārt tajos, kur attīstības procesos notiek epitēlija-mezenhīmas savstarpējā mijiedarbība, un tie kontrolē šūnu proliferāciju un diferenciāciju (Orestes-Cardoso, 2001; Ishii, 2005). Msx2 nozīme osteoblastu funkciju regulācijā vēl līdz galam nav izziņāta. Liu (1999) savā pētījumā atzīmē, ka Msx2 inhibē osteoblastu priekštečus un nenobriedušos osteoblastus, tādējādi samazinot osteoblastu šūnu daudzumu, bet Ishii ar līdzautoriem (2003) konstatē, ka Msx2 veicina osteoblastu diferenciāciju un/vai proliferāciju.

Msx2 gēna mutācija rada Bostonas-tipa kraniosinostozi, ko raksturo pāragra galvaskausa šuvju saplūšana un sejas kaulu anomālijas (Cohen, 2000). Satokata (2000) pelēm ar mutācijām gan Msx1, gan Msx2 gēnos novēro smagas kraniofaciālas deformācijas un apakšžokļa morfoģenēzes defektus, piemēram, zobu trūkumu, aukslēju šķeltnes un daļēji nepārkaulotu galvaskausa kaulu, un peļu embriji iet bojā vēlīnā grūtniecības periodā, bet Han (2007) atzīmē Msx gēnu nozīmi frontālo kaulu morfoģenēzē.

Līdz šim ir zināmi vismaz 19 Wnt cilvēka gēni. Wnt gēni kodē ekstracelulārās matricē saistošos proteīnus, kas kontrolē daudzus attīstības procesus, ieskaitot šūnu bojāejas specifiskāciju un cilmes šūnu atjaunošanu (Huang, 2005).

Wnt gēniem ir nozīmīga loma embriogēnēzes laikā, it īpaši šūnu proliferācijā, migrācijā, polaritātē un bojāejā, bet pieaugušā organismā tie ir aktīvi arī audu reģenerācijas procesos, kā arī homeostāzes nodrošināšanā (Miller, 2001). Tas piedalās kaulu masas regulācijā un ir nepieciešams, lai kauls spētu atbīdēt uz mehānisku slodzi (Johnson, 2007; Krishnan, 2006; Westendorf, 2004). Huang ar līdzautoriem (2005) secina, ka Wnt gēnu mutācijas var radīt audzējus.

4.8. Apoptozes procesa raksturojums

1885. gadā W.Flemings, pētīt zīdītāju olnīcu folikulus, ievēroja sadalījušos šūnu kodolus un nosauca šo procesu par hromatolīzi (Majno, 1995), taču tikai 1972. gadā Kerr ieviesa terminu „apoptoze”, kas radies no antīka grieķu vārda, apzīmējot „krišanu” (lapu krišanu no kokiem vai ziedlapiņu izkrišanu no puķēm), lai aprakstītu šūnu nāves tipu, ko novēroja histoloģiskos audu griezumos bez patoloģiskām izmaiņām (Uren, 1996).

Apoptoze ir programmēta šūnu nāve, ko realizē pati šūna noteiktu ārēju vai iekšēju faktoru ietekmē, kas raksturojas ar specifiskām morfoloģiskām pārmaiņām - šūnas tilpuma samazināšanos, kodola kondensāciju, šūnas plazmatiskās membrānas sakrokošanos un kodola fragmentēšanos (Jilka, 1998). Apoptozei progresējot, fragmentējās arī pati šūna un veidojas apoptotiskie ķermenīši, kas tiek eliminēti ar fagocitozes palīdzību. Apoptozes procesa laikā šūnas membrāna netiek pārrauta, tāpēc nenotiek citoplazmas vielu nokļūšana starpšūnu vidē un neattīstās iekaisums (Saikumar, 1999; Maslinska 2003).

Apoptozes molekulāros mehānismos ir nozīme proteolītisko fermentu saimei, kas pazīstamas ar nosaukumu kaspāzes un to darbība noris intracelulāri (Xing, 2004). Apoptozes ierosināšana var notikt divos veidos. Pirmkārt, ārēji izraisītā vai ar receptoriem saistītā apoptoze, kad notiek liganda saistīšanās ar nāves receptoru (DR – death receptors) uz šūnas virsmas. Ārējie signāli var būt citokīni, piemēram, tumora nekrozes faktors α (TNF- α), savukārt šūnai ir nāves receptori (Fas, TNFR1), kas uztver šos signālus. Šie transmembrānas receptori aktivē kaspāzi-8, kas aizsāk proteāžu kaskādi, kuras rezultātā notiek apoptoze (Kiechle, 2002). Otrkārt, iekšēji izraisītā apoptoze, ko regulē Bcl-2 saimes proteīni un apoptozes procesā notiek citohroma c mitohondrālā izdalīšana (Osella-Abate, 2001).

Pretēji apoptozei, nekroze ir deģeneratīvs process, kas var notikt toksīnu, išēmijas, traumas vai citu patoloģisku stimulu rezultātā. Nekrozi raksturo organelļu destrukcija un šūnu membrānas pārrāvumi, kā rezultātā izdalās intracelulārais saturs un veidojas iekaisums (Manjo, 1995).

Apoptozei ir kritiski svarīga loma embrionālās attīstības laikā un morfoģenēzē, taču tai ir nozīme arī vēlākos dzīves periodos, jo apoptoze nodrošina visa organisma līdzsvarotību. Ar apoptozes palīdzību, neietekmējot audu funkcijas, tiek eliminētas ģenētiski defektīvas, novecojošas vai patoloģisku procesu skartas šūnas (Kiechle, 2002). Traucējumi apoptozē embrionālās attīstības laikā rada defektus morfoģenēzē un dažādas iedzimtas anomālijas, piemēram, sindaktīliju, *spina bifida*, aukslēju šķeltni un sirds anomālijas (Saikumar, 1999). Apoptozes pastiprināšanās notiek vīrusu infekciju laikā, audiem atbildot uz bakteriālo toksīnu darbību (Uren, 1996). Savukārt Saikumar (1999) apraksta dažādus vīrusus, kas ir spējīgi novērst saimnieka šūnas apoptozi, ekspresējot kaspāzes inhibitorus. Apoptozes procesu traucējumu rezultātā, kad palielinās vai samazinās apoptotiskā aktivitāte, rodas dažādas patoloģiskas saslimšanas, piemēram, audzēji, autoimūnās vai neirodeģeneratīvās slimības un hematopoētiskie traucējumi (Kiechle, 2002).

Programmētu šūnu nāvi var novērot visās skeletoģenēzes stadijās un kaula remodelācijas procesā, jo, lai nodrošinātu normālu kaula histoloģisko uzbūvi, ir nepieciešams

balanss starp šūnu proliferāciju, diferenciāciju un apoptozi (Xing, 2002). Apoptoze kaulaudu metabolismā nodrošina funkciju beigušo osteoklastu un osteoblastu nomaiņu. Augšanas faktori un citokīni, kas stimulē osteoklastu un osteoblastu attīstību, var ietekmēt arī šo šūnu apoptozi. Piemēram, TGF- β ir duāla nozīme, jo tas nodrošina osteoklastu apoptozi, tajā pašā laikā inhibējot osteoblastu apoptozi (Manolagas, 2000).

Apoptozi var noteikt ar dažādām metodēm – gaismas mikroskopiju, elektronmikroskopiju, lāzera skenējošo mikroskopiju, gēnu ekspresijas analīzi, vai nosakot ar apoptozi saistītos proteīnus, piemēram, ELISA, Western blot (Kiechle, 2002), tomēr visbiežāk izmanto TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase – mediated dUTP nick - end labeling jeb Tdt – gala dezoksinukleotīdtransferāzes un digoksigēna–marķēti nukleotīdi) metodi (Labat – Moleur, 1998), jo šī metode ļoti efektīvi identificē kodola DNS fragmentāciju, kas saistīta ar apoptozi (Liu, 2005).

Apkopojot literatūras datus par augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricē proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes struktūru darbības mehānismiem, to lomu fizioloģiskos un patoloģiskos procesos, varam secināt, ka attiecībā uz ortodontiskām dentofaciālām deformācijām šie faktori ir maz pētīti, kā arī nav atrasti ziņojumi par žokļu kaulaudu un mutes dobuma mīksto audu funkcionālo morfoloģiju ortognātiskās ķirurģijas pacientiem.

5. MATERIĀLI UN METODES

5.1. Pētījuma grupa

Pētījuma grupās tika iekļauti 20 skeletālas Angle II klases pacienti un 20 skeletālas Angle III klases pacienti, kuriem tika diagnosticētas dentofaciālas deformācijas un bija nepieciešama kombinēta ortodontiska un ortognātiskās ķirurģijas ārstēšana. Pacientu vidējais vecums bija $20,64 \pm 3,27$ gadi un pēc neatkarīgu izlašu t testa vīriešu un sieviešu vidējie vecumi statistiski ticami neatšķīrās ($t = 0,520$; $p = 0,606$). Dispersiju analīze (ANOVA) parāda, ka arī klasēs pacientu vidējie vecumi statistiski ticami neatšķīrās ($F = 1,975$; $p = 0,151$). Angle II klases grupā bija 13 sievietes un 7 vīrieši (skat. 1. un 2. tabulu), bet Angle III klases grupā 14 sievietes un 6 vīrieši (skat. 1. un 3. tabulu). Pēc hī kvadrāta testa vīriešu un sieviešu sadalījumi pa klasēm statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,225$; $df = 2$; $p = 0,894$).

1. tabula. Pacientu absolūtais un relatīvais sadalījums pa pētījuma klasēm saistībā ar dzimumu.

Klase	Dzimums				Kopā	
	Vīrietis		Sieviete		Skaits	Procenti
	Skaits	Procenti	Skaits	Procenti		
Kontrole	2	13,3	3	10,0	5	11,1
Angle II klase	7	46,7	13	43,3	20	44,4
Angle III klase	6	40,0	14	46,7	20	44,4
Kopā	15	100,0	30	100,0	45	100,0

Pētījumā netika iekļauti pacienti ar:

- smagām vispārējām saslimšanām operācijas laikā;
- smagām vispārējām saslimšanām anamnēzē;
- lūpu un/vai aukslēju šķeltni;
- dentofaciāliem sindromiem;
- skeletālām asimetrijām.

Rīgas Stradiņa Universitātes Stomatoloģijas institūta Mutes, sejas un žokļu ķirurģijas klīnikā no 2005. gada decembra līdz 2009. gada augustam ortognātiskās ķirurģijas laikā tika ņemti audu paraugi no pacientu žokļu osteotomiju vietām augšžoklī - *tuber maxillae*, apakšžoklī - *ramus mandibulae* priekšējās un mugurējās daļas, kā arī no apakšžokļa smaganu pārejas krokas otro molāru rajonā. Ortognātiskās operācijas veica trīs sertificēti mutes, sejas

un žokļu ķirurgi, pielietojot augšžoklī Le Fort I osteotomiju, bet apakšžoklī sagitālās plāksnes vai vertikālo zara osteotomiju. Adu materiāls uzreiz pēc iegūšanas no osteotomijas vietas tika fiksēts Stefanini šķīdumā un nogādāts Anatomijas un Antropoloģijas institūtā tālākai apstrādei.

2. tabula. Pētījumā iekļauto Angle II klases pacientu apraksts (V- vīrietis, S – sieviete, Le Fort I osteotomija, BSSO – bilaterāla sagitālās plāksnes osteotomija).

Nr.	Dzimums	Vecums	Diagnoze	Operācijas veids
1.	V	20	Augšžokļa prognātija, apakšžokļa retrognātija	BSSO
2.	S	19	Augšžokļa prognātija	BSSO
3.	V	20	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
4.	S	19	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
5.	S	33	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
6.	S	19	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
7.	V	18	Augšžokļa prognātija, apakšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
8.	S	20	Augšžokļa prognātija, apakšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
9.	S	18	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
10.	S	17	Augšžokļa prognātija, apakšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
11.	S	19	Augšžokļa prognātija, apakšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
12.	S	21	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
13.	S	20	Augšžokļa prognātija, apakšžokļa retrognātija	BSSO, zoda plastika
14.	S	22	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
15.	V	19	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
16.	S	20	Augšžokļa prognātija, apakšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
17.	S	24	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
18.	V	22	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
19.	V	19	Apakšžokļa retrognātija	BSSO
20.	V	17	Apakšžokļa retrognātija	BSSO

No žokļu audu paraugiem tika pagatavoti griezumī, kurus krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu gaismas mikroskopijai, bet biotīna–streptavidīna metodi lietoja TGF- β , BMP2/4, FGFR1, VEGF, OC, OP, MMP2, barx1, msx2, wnt1 imūnhistoķīmiskai noteikšanai. Izmantojot TUNEL metodi, audu materiālā tika noteiktas apoptotiskās šūnas.

3. tabula. Pētījumā iekļauto Angle III klases pacientu apraksts (V – vīrietis, S – sieviete, Le Fort I osteotomija, BSSO – bilaterāla sagitālās plāksnes osteotomija, VRO - vertikālā zara osteotomija).

Nr.	Dzimums	Vecums	Diagnoze	Operācijas veids
1.	S	19	Apakšžokļa prognātija	Le Fort I, VRO
2.	S	18	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
3.	V	22	Apakšžokļa prognātija	Le Fort I, BSSO
4.	S	20	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
5.	S	30	Augšžokļa retrognātija	Le Fort I
6.	S	19	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, VRO
7.	S	19	Apakšžokļa prognātija	Le Fort I, BSSO
8.	V	19	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
9.	S	18	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
10.	V	20	Augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
11.	S	20	Apakšžokļa prognātija	Le Fort I, BSSO
12.	V	21	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
13.	V	22	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
14.	V	21	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
15.	S	19	Apakšžokļa prognātija	BSSO
16.	S	18	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
17.	S	19	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
18.	S	20	Apakšžokļa prognātija	Le Fort I, BSSO
19.	S	22	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO
20.	S	23	Apakšžokļa prognātija, augšžokļa retrognātija	Le Fort I, BSSO

Audu paraugi pētījumam tika izmantoti saskaņā ar Rīgas Stradiņa Universitātes Ētikas komitejas atļauju (lēmums pieņemts 09.11.2006; skat. pielikumu).

5.2. Kontroles grupa

Kontroles grupā tika iekļauti 5 pacienti, kuriem Rīgas Stradiņa Universitātes Stomatoloģijas institūta Mutes, sejas un žokļu ķirurģijas klīnikā veica augšžokļa un apakšžokļa retinētu trešo molāru ekstrakcijas.

Iekļaušanas kritēriji kontroles grupā bija sekojoši:

- skeletāla un dentoalveolāra Angle I klase;
- līdzenas zobu rindas bez atsevišķu zobu un zobu rindas anomālijām;
- pacientu vecums robežās no 17 līdz 21 gadam;

- nav bijusi ortodontiska ārstēšana;
- netika novērotas smagas vispārējas sasilšanas ekstrakcijas laikā un anamnēzē, lūpas un /vai auklēju šķeltnes un dentofaciāli sindromi;
- nenovēro klīniskas iekaisuma pazīmes vai sāpes pirms ekstrakcijas.

Pacientu vidējais vecums bija $19,4 \pm 2,7$ gadi, no tiem 3 bija sievietes, bet 2 vīrieši (skat. 4. tabulu). Trešo molāru ekstrakcijas laikā tika ņemti audu paraugi no *tuber maxillae* un *ramus mandibulae* priekšējās daļas, bet ņemot vērā ekstrakcijas tehniku un, lai pacientam neradītu papildus audu bojājumus operācijas laikā, netika iegūti paraugi no *ramus mandibulae* mugurējās daļas.

4. tabula. Pētījumā iekļauto kontroles grupas pacientu apraksts (V- vīrietis, S – sieviete).

Nr.	Dzimums	Vecums	Diagnoze	Operācijas veids
1.	S	18	Skeletāla un dentoalveolāra Angle I klase	Augšžokļa trešā molāra ekstrakcija
2.	S	20	Skeletāla un dentoalveolāra Angle I klase	Augšžokļa un apakšžokļa trešā molāra ekstrakcija
3.	V	18	Skeletāla un dentoalveolāra Angle I klase	Augšžokļa un apakšžokļa trešā molāra ekstrakcija
4.	V	17	Skeletāla un dentoalveolāra Angle I klase	Augšžokļa trešā molāra ekstrakcija
5.	S	17	Skeletāla un dentoalveolāra Angle I klase	Augšžokļa un apakšžokļa trešā molāra ekstrakcija

5.2.1. Pētījuma grupas rentgenoloģiskie izmeklējumi

Sejas un dentoskeletālo attiecību novērtēšanai pirms ārstēšanas tika izmantots digitālās laterālās cefalometrijas izmeklējums RSU Stomatoloģijas institūtā ar *Trophy, Trophypan C* digitālo rentgena iekārtu. Tā ir rentgenogramma laterālajā projekcijā, kad pacients tiek novietots standartizētā pozīcijā – skatiens tālumā ar dabīgu galvas pozīciju. Attēlu novērtēšana tika veikta ar cefalometriskās analīzes programmas *Dolphyn Imaging 10.5* palīdzību. Tika atzīmēti šādi anatomiskie punkti – *Sella* (S), *Nasion* (N), *A* (A), *B* (B), *Anterior nasal spine* (ANS), *Posterior nasal spine* (PNS), *Condylus* (Co), *Gonion* (Go), *Gnathion* (Gn), skat. 5. tabulu, un analizēti 3 angulārie mērījumi (SNA, SNB, ANB) un 5 lineārie mērījumi (ANS-PNS, Co-Go, Co-Gn, AFH, PFH) un aprēķināta attiecība starp sejas

mugurējo augstumu (PFH) un sejas priekšējo augstumu (AFH), kas izteikta procentos (PFH:AFH), skat. 24. att. pielikumā.

5. tabula. Cefalometriskajā analīzē izmantotie anatomiskie punkti, apzīmējumi un apraksts.

Cefalometrijas anatomisko punktu apzīmējumi	Cefalometrijas anatomiskie punkti	Cefalometrijas punktu apraksts
S	<i>Sella</i>	<i>Sella turcica</i> viduspunkts
N	<i>Nasion</i>	Frontonazālās šuves priekšējais punkts
A	<i>A</i>	Augšžokļa priekšējās kontūras ieliekuma viskaudālākais punkts
B	<i>B</i>	Apakšžokļa priekšējās kontūras ieliekuma viskaudālākais punkts
ANS	<i>Anterior nasal spine</i>	Deguna dobuma apakšējās sienas priekšējais punkts
PNS	<i>Posterior nasal spine</i>	Deguna dobuma apakšējās sienas mugurējais punkts
Co	<i>Condylus</i>	Viskaudālākais kondilārā izauguma punkts
Go	<i>Gonion</i>	Apakšžokļa leņķa punkts (krustpunkts starp apakšžokļa mugurējās malas pieskari un apakšžokļa apakšējās malas pieskari)
Gn	<i>Gnathion</i>	Zemākais apakšžokļa simfīzes punkts

5.3. Metode un reaktīvi

5.3.1. Morfoloģiskā metode

No pacientu un kontroles grupas iegūtais audu materiāls 24 stundas tika fiksēts Stefanini šķīdumā (2% formaldehīda un 0.2% pikrīnskābes 0.1 M fosfātu buferi), vēlāk atūdeņots un ieguldīts parafīnā. No iegūtajiem parafīna blokiem tika pagatavoti 5 – 8 µm biezi griezumī, kas krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu (Лилли, 1969).

Gaismas mikroskopēšanai tika lietots Leica DM vai Leica DC300F mikroskops ar 200x vai 400x palielinājumu.

5.3.2. Slīpēto preparātu pagatavošana, pielietojot EXACT *grinding* tehnoloģiju

Slīpētā preparāta sagatavošana izmeklēšanai ar EXACT *grinding* aparātu sākas ar preparāta bloka – „sendviča” iegūšanu. Sākotnējo preparātu sagrieza gabalos atbilstoši izvēlētajai lējuma formai ar EXACT griešanas mašīnu. Kad ieguva preparāta gabalu, to

dehidratēja, pēc tam preparātu ielika polimerizācijas formā, iepriekš pieliekot dažus pilienus Tehnovit 7200. Pēc tam formu piepildīja ar Tehnovit 7200 līdz tas pārklāja visu preparātu. Polimerizācija notika divās stadijās – sākumā četras stundas ar zemas intensitātes dzelteno gaismu, vēlāk 2 stundas ar augstas intensitātes zilo gaismu.

Pēc sešām stundām ieguva bloku, kas bija iegremdēts plastmasā. Bloka ieliektajā daļā ievietoja Tehnovit 4000 maisījumu, tad pielīmēja bloku pie stikliņa. Bloka slīpēšanai paraugu piestiprināja vakuuma galviņā, uzlika 200 g atsvaru un slīpēja ar 500 smilšpapīru, tad ar 800, 1200, 4000.

Vēlāk paraugu žāvēja, kam sekoja „sendviča” sagriešana ar EXACT griešanas mašīnu 300 µm bieza preparāta iegūšanai. Turpināja bloka slīpēšanu ar dažādiem smilšpapīriem, sākot ar 800 līdz 4000, līdz ieguva 13 µm plānu preparātu.

5.3.3. Imūnhistoķīmija

Operācijās iegūtais audu materiāls tika fiksēts 4 - 8 stundas maisījumā, kurš saturēja 2% formaldehīda un 0.2% pikrīnskābes 0.1 M fosfātu buferi (pH 7,2). Pēc tam audu gabaliņus skaloja 12 stundas tiroīda buferī, kas saturēja 10% saharozes, tad audus ieguldīja parafīnā un ar mikrotomu sagrieza 3 - 5 µm biezus griezumus.

5.3.3.1. Biotīna–streptavidīna metodes apraksts

Sagrieztos 3 - 5 µm biezus griezumus skaloja fosfātu buferšķīdumā 10 min. Pēc tam griezumus inkubēja ar dabīgo kazas, peles un truša 10% serumu 20 minūtes, lai mazinātu fona nokrāsošanos, un turpināja inkubāciju ar primārām antivielām mitrā kamerā istabas temperatūrā 60 minūtes (Hsu, 1981), (skat. 6. tabulu).

Griezumus skaloja ar fosfātu buferšķīdumu un inkubēja ar sekundāro antivielu – DAKO LSAB + KIT peroxidase (EURO-DIAGNOSTICA, Dako, Dānija) 30 minūtes ūdens vannā. Griezumus gatavoja, lai ar biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmisko metodi noteiktu TGF-β (transformējošais augšanas faktors β, kods 1279, darba atšķaidījums 1:1000, *Cambridge Science Park*, UK), BMP2/4 (kaula morfoģenētiskais proteīns 2/4, kods AV1024011, darba atšķaidījums 1:100, *RD Systems*, UK), FGFR1 (fibroblastu augšanas faktora receptors 1, kods 10646, darba atšķaidījums 1:100, *Abcam*, UK), VEGF (vaskulārais endoteliālais augšanas faktors, kods M7272, darba atšķaidījums 1:50, *Dako*, Dānija), OC (osteokalcīns, kods ab13418, darba atšķaidījums 1:100, *Abcam*, UK), OP (osteopontīns, kods ab 8448, darba atšķaidījums 1:100, *Abcam*, UK), MMP2 (matrices metaloproteināze 2, kods

AF902, darba atšķaidījums 1:50, *RD Systems*, UK), barx1 (kods ab26156, darba atšķaidījums 1:250, *Abcam*, UK), msx2 (peļu monoklonālā antiviela pret MSH2/Hox8, kods ab 22601, darba atšķaidījums 1:400, *Abcam*, UK) un wnt1 (kods ab15251, darba atšķaidījums 1:100, *Abcam*, UK).

6. tabula. Informācija par ar biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmisko metodi noteiktiem augšanas faktoriem, to receptoriem, audu ECM degradācijas marķieriem, gēnu proteīniem.

Faktors	Avots	Kods	Darba atšķaidījums	Ražotājfirma un valsts
TGF-β	pele	1279	1: 1000	<i>Cambridge Science Park</i> , UK
BMP2/4	kaza	av1024011	1:100	<i>RD Systems</i> , UK
FGFR1	trusis	ab10646	1:100	<i>Abcam</i> , UK
VEGF	pele	M7273	1:50	<i>Dako</i> , Dānija
MMP2	kaza	AF902	1:50	<i>RD Systems</i> , UK
OC	pele	ab 13418	1:100	<i>Abcam</i> , UK
OP	trusis	ab 8448	1:100	<i>Abcam</i> , UK
barx1	trusis	ab 26156	1:250	<i>Abcam</i> , UK
msx2	pele	ab 22601	1:400	<i>Abcam</i> , UK
wnt1	trusis	ab15251	1:100	<i>Abcam</i> , UK

5.3.3.2. Imūnhistoķīmiski noteikto augšanas faktoru, gēnu proteīnu, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu un deģenerācijas enzīmu relatīvā biežuma apzīmēšana

Imūnhistoķīmiski noteikto augšanas faktoru, gēnu proteīnu, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu un deģenerācijas enzīmu relatīvā biežuma apzīmēšanai iegūtajā audu materiālā tika izmantota literatūrā plaši pielietotā puskvantitatīvā skaitīšanas metode (Pilmane, 1998; Knabe, 2005). Augšanas faktoru, gēnu proteīnu, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu un deģenerācijas enzīmu daudzums tika analizēts viena griezuma trīs redzes laukos. Lietotie apzīmējumi apkopoti 7. tabulā. Lai iegūtos datus apstrādātu statistiski, mikroskopa redzes laukā novēroto šūnu skaits tika kodēts (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, (1) 0/+ - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, (2) + - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, (3) +/+ - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru

redzes laukā, (4) ++ - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, (5) ++/+++ - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, (6) +++ - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

7. tabula. Imūnhistoķīmiski noteikto augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu un gēnu proteīnu puskvantitatīvās metodes relatīvā biežuma apzīmēšana.

Lietotie apzīmējumi	Paskaidrojumi
0	Netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā
0/+	Dažas pozitīvās struktūras redzes laukā
+	Neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā
+/++	Maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā
++	Vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā
++/+++	Vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā
+++	Ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā

5.3.4. TUNEL metode apoptozes noteikšanai

TUNEL metodei pielietoja apoptozes kitu: *In situ* Cell Death Detection, POD Cat no.1 684 817, Roche Diagnostics DNase I (Roche) pēc Negoescu et al. (1998) aprakstītās tehnikas. Griezumi tika inkubēti 10 minūtes istabas temperatūrā fosfātu bufera šķīdumā (PBS), kurš saturēja 0,25 % TritonX-100. Endogēnās peroksidāzes aktivitātes bloķēšanai griezumus ievietoja 30 min. 50 ml PBS + 500 µl 30% H₂O₂ un novietoja uz RT (vibratora). Sekojoši griezumus skaloja (3 x 5 min.) fosfātu bufera šķīdumā. Antigēnu atbrīvošanai preparātus ievietoja citrāta buferī un 10 min. vārīja 700W mikroviļņu krāsnī, kam sekoja skalošana ar PBS 5 minūtes. Pēc tam griezumus atdzesēja destilētā ūdenī, krāsoja ar dezoksīnukleotidāzi (DNase I) 1 mg/ml 10 min., lai inducētu saišu pārrāvumu, atkārtoti skaloja fosfātu buferī un bloķēja 0,1 % vērša seruma albumīnā un fosfātu buferu šķīdumā. Griezumu inkubēja ar TUNEL mix (Tdt–gala dezoksīnukleotīdtransferāze un digoksigēna–marķēti nukleotīdi) 60 min. 37⁰ C mitrā kamerā. Pēc skalošanas ar PBS griezumus inkubēja POD 30 min. 37⁰ C. Peroksidāzes iezīmēšanai griezumi tika noklāti ar diaminobenzidīnu hromogēnā šķīdumā (Vector, kataloga nr. SK 4100) 7 min., pēc tam atkārtoti skaloti destilētā ūdenī un kodoli kontrkrāsoti ar *Harris* hematoksilīnu aptuveni 20 sekundes.

Histoloģiskie griezumti tika mikroskopēti ar *Leica DM RB* gaismas mikroskopu 400x palielinājumā. Apoptotisko šūnu skaita novērtēšanai ar puskvantitatīvo metodi nejauši izvēlētos 3 redzes laukos, kas savstarpēji nepārklājās, histoloģiskajā preparātā tika skaitītas apoptotiskās šūnas (Itoh, 2001).

5.4. Datu apstrādes statistiskās metodes

Datu statistiskās apstrādes mērķis bija izvērtēt dažādu šūnu ekspresiju pacientu grupās un ar statistiskām metodēm pārbaudīt darbā izvirzīto hipotēžu pieņemšanas vai noraidīšanas pamatotību. Mikroskopa redzes laukā novēroto šūnu skaitu kodēja un ievadīja MS Excel tabulā, kuru pēc tam konvertēja statistiskajā paketē PASW (SPSS Inc., USA) Statistics 18. versijas datu tabulā. Šajā programmā arī veica visus aprēķinus.

Pētījuma un kontroles grupu raksturošanai tika lietotas aprakstošās statistikas metodes (Altman, 2000). Atkarībā no mainīgā lieluma veida aprēķināja centrālās tendences rādītājus (vidējo aritmētisko) un izkliedes rādītājus (standartnovirzi un standartklūdu).

Hipotēžu pārbaudei izmantoja parametriskās (t-testu un dispersiju analīzi (ANOVA)) un neparametriskās (Kruskal-Wallis un Mann-Whitney) metodes. Kruskal-Wallis (Kruskela-Valisa) testu lietojām gadījumos, kad jāsalīdzina vairākas neatkarīgas izlases, piemēram kontroles grupu, Angle II un Angle III grupu, bet Mann-Whitney (Manna-Vitnija) testu izmantojām divu neatkarīgu izlašu salīdzināšanai. Nulles hipotēzes noraidīšanai un alternatīvās hipotēzes pieņemšanai visos gadījumos izmantoja būtiskuma (nozīmības) līmeni $p \leq 0,05$. Parametru puskvantitatīvai novērtēšanai izmantojām rangus. Rangu vai kārtas skalas dati ir kārtas skaitļi, kas var noteikt kādas pazīmes izteiktību. Šo datu galvenā atšķirība no attiecību un intervālu skalas datiem ir tā, ka kārtas skala nav proporcionāla, t. i., starp kārtas skaitļiem nav vienādas atstarpes.

Gadījumos, kad nevarēja izmantot parametriskās datu statistiskās apstrādes metodes, izmantoja neparametriskās metodes. Divu vai vairāku mainīgo lielumu savstarpējai salīdzināšanai tika lietotas korelācijas analīzes metodes. Korelācijas koeficientu, kā sakarības ciešuma kvantitatīvu rādītāju starp diviem vai vairākiem mainīgajiem lielumiem, aprēķināja ar rangu skalas lielumiem – Spīrmena rangu korelācijas koeficientu, bet ar mērītiem lielumiem – Pīrsona korelācijas koeficientu (Teibe, 2001). Pētījumā kvalitatīvo sakarības ciešumu starp mainīgajiem, balstoties uz korelācijas koeficienta r lielumu, vērtēja kā vidēju vai ciešu. Kā kritēriju izmantoja šādas vērtības: ja $r = 0,4 - 0,7$, tad sakarību vērtē kā vidēji ciešu, bet, ja r sasniedz $0,7 - 0,9$, tad sakarību vērtē kā ciešu.

6. REZULTĀTI

6.1. Cefalometrisko mērījumu vispārējs raksturojums

Analizējot vidējos rādītājus pacientiem ar skeletālu un dentoalveolāru Angle II klasi, novēroja samazinātu SNB leņķi ($74,4^\circ$), palielinātu ANB leņķi ($6,5^\circ$), bet normai atbilstošu SNA leņķi, kas kopumā norāda uz apakšžokļa retrognātiju. Vidējais lielums starp sejas mugurējo augstumu un priekšējo augstumu, kas izteikts procentos (PFH:AFH), bija palielināts, uzrādot tendenci uz horizontālu sejas augšanas tipu, tomēr pacientu grupā bija arī pacienti ar izteiktu vertikālo augšanu, uz ko norāda mērījuma minimālā vērtība (56,9 %) un pacienti ar izteiktu horizontālo augšanu (81,2 %). Angle II klases pacientiem novēroja arī samazinātu sejas priekšējo augstumu un palielinātu sejas mugurējo augstumu, kas sasaucas ar PFH:AFH attiecību un norāda uz horizontālu augšanas tipu (skat. 8. tabulu).

8. tabula. Informācija par Angle II klases pacientu cefalometrisko parametru mērījumiem (vidējais lielums (mean), standartnovirze (SD), minimālā vērtība (Min), maksimālā vērtība (Max)).

Mērījumi	Mean	SD	Min	Max
SNA ($^\circ$)	81,3	4,2	74,1	89,6
SNB ($^\circ$)	74,4	3,3	70	82,7
ANB ($^\circ$)	6,5	2,1	3,7	9,7
PFH (mm)	78,4	8,9	62,2	93,8
AFH (mm)	111,5	7,2	97,5	128,8
PFH:AFH (%)	70,4	6,9	56,9	81,2
ANS-PNS (mm)	53,2	4,3	45	59,9
Co-Gn (mm)	111	8,5	96,7	124,8
Co-Go (mm)	58,7	7,5	47,2	69,8

Pacientiem ar skeletālu un dentoalveolāru Angle III klasi novērojām palielinātu SNB leņķa vidējo rādītāju un ANB leņķa vidējā vērtība bija $-3,8^\circ$, bet SNA leņķa vidējais rādītājs atbilda normai, norādot uz prognatisku apakšžokļa novietojumu. Tomēr bija pacienti ar samazinātu SNA leņķi ($74,1^\circ$), kas atbilst augšžokļa retrognātijai. PFH:AFH vidējais lielums

bija 65,5 %, norādot uz normai atbilstošu augšanas tipu, bet analizējot mērījuma minimālās un maksimālās vērtības, varam redzēt, ka grupā ir pacienti gan ar izteikti vertikālu (55,5 %), gan horizontālu (73,2 %) sejas augšanas tipu (skat. 9. tabulu).

9. tabula. Informācija par Angle III klases pacientu cefalometrisku parametru mērījumiem (vidējais lielums (mean), standartnovirze (SD), minimālā vērtība (Min), maksimālā vērtība (Max)).

Mērījumi	Mean	SD	Min	Max
SNA (°)	80,7	3,3	74,1	87,8
SNB (°)	84,6	3,6	78,1	91,3
ANB (°)	-3,8	3,14	1,5	-11
PFH (mm)	79,4	6,4	72,1	95
AFH (mm)	121,6	11	99,8	140,3
PFH:AFH (%)	65,5	5	55,5	73,2
ANS-PNS (mm)	52,8	3,5	47,5	59,3
Co-Gn (mm)	129,8	9	109,9	147,1
Co-Go (mm)	62,8	4,8	56,9	74,4

Angle III klases pacientiem novērojām ļoti lielu starpību starp minimālo (99,8 mm) un maksimālo (140,3 mm) sejas priekšējā augstumu vērtību, norādot uz to, ka pētījuma grupā iekļauti pacienti ar izteikti dažādu augšanas tipu. Starp mugurējo sejas augstuma minimālo un maksimālo vērtību tik lielas atšķirības nenovērojām.

6.2. Morfoloģiskā atradne kaulaudos un gļotādā

Analizējot pārskata preparātus rutīnas histoloģiskajā krāsojumā ar hematoksilīnu un eozīnu, mīksto audu materiālā no apakšžokļa smaganām pārejas krokas otro molāru rajonā gan Angle II, gan Angle III klases pacientiem novērojām sekojošas pārmaiņas: epitēlija virsējos slāņos tika konstatēta polimorfo epiteliocītu nevienmērīga vakuolizācija un

perēklveida bazālo šūnu hiperplāzija, bet saistaudos novērojām iekaisuma šūnu infiltrāciju (skat. 1. mikrofotogrāfiju pielikumā). Dažos preparātos bija atrodama nevienmērīgi sabiezēta bazālā membrāna (skat. 2. mikrofotogrāfiju pielikumā).

Kontroles jeb Angle I klases grupas pacientu gļotādas histoloģiskajos preparātos, kas krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu, gaismas mikroskopijā novērojām smaganu gļotādas struktūru, kas atbilda vispārpieņemtajai normai.

Kaula materiālā no *ramus mandibulae* priekšējās un mugurējās daļas trabekulas saturēja haotiski lokalizētas kolagēnās šķiedras un nevienmērīgi izvietotas osteonu struktūras (skat. 3. mikrofotogrāfiju pielikumā). Osteonu kanālos novērojām nevienmērīgu saistaudu ieaugšanu un asinsvadu sklerotizāciju (skat. 4. mikrofotogrāfiju pielikumā).

Tuber maxillae kaulaudos arī bija nevienmērīga kaula mineralizācija, kā arī tika konstatēta osteonu kanālu obliterācija un saistaudu proliferācija (skat. 5. mikrofotogrāfiju pielikumā).

Kontroles grupas pacientu kaulaudi audu materiālā no *tuber maxillae*, *ramus mandibulae* priekšējās un mugurējās daļas bija bez izteiktām struktūras izmaiņām un ar vispārējai normai atbilstošu histoloģisko ainu (skat. 6. mikrofotogrāfiju pielikumā).

6.3. Imūnhistoķīmijas atradnes

6.3.1. Augšanas faktoru un to receptoru ekspresija

6.3.1.1. Transformējošais augšanas faktors β (TGF- β)

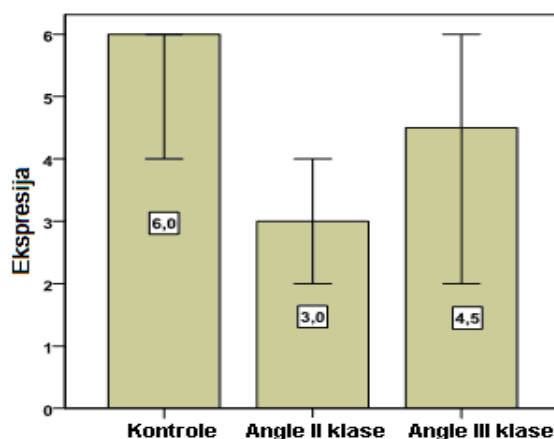
TGF- β ekspresija *tuber maxillae* Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas (Angle I klase) pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem (vidējām vietām pieaugošā kārtībā sakārtotā datu rindā): kontroles grupas vidējais rangs – 19,50, Angle II klases – 9,75 un Angle III klases – 14,93, kas nozīmē, ka visizteiktāko TGF- β ekspresiju *tuber maxillae* novērojām kontroles grupas pacientiem (+++ jeb ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, skat. 7. mikrofotogrāfiju pielikumā). Angle III klasei novēroja nedaudz mazāku ekspresiju jeb vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (++/+++, skat. 8. mikrofotogrāfiju pielikumā), bet Angle II klasei maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru (+/++). Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa pacientu grupās TGF- β ekspresija kaulaudos no *tuber maxillae* statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 3,218$; $df = 2$; $p = 0,200$).

Transformējošā augšanas faktora beta (TGF- β) ekspresijas sadalījums audu materiālā no *tuber maxillae* pacientu grupās redzams 10. tabulā.

10. tabula. TGF-β ekspresijas sadalījums pacientu grupās kaulaudos no *tuber maxillae*.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	—	—	1
0/+	—	—	1
+	—	2	5
+/++	—	—	1
++	2	2	2
++/+++	—	—	1
+++	3	—	9

TGF-β ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 3. attēlā.



3. attēls. TGF-β ekspresija *tuber maxillae* saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+)- neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++/+++)- vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (++++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Analizējot TGF-β ekspresiju *ramus mandibulae* priekšējā daļā redzējām, ka visizteiktākā augšanas faktora ekspresija bija kontroles grupā (skat. 9. mikrofotogrāfiju pielikumā) jeb vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (++/+++), bet Angle III (skat. 10. mikrofotogrāfiju pielikumā) un Angle II klases pacientiem konstatējām nelielu daudzumu pozitīvu šūnu redzes laukā (+ - +/++). To apstiprina rangu analīze, jo audu materiālā no *ramus mandibulae* priekšējās daļas TGF-β ekspresija pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupas vidējais rangs – 30,10, Angle II klases – 19,86 un Angle III klases – 18,35. Angle II, Angle III un kontroles grupas pacientu TGF-β ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās redzama 11. tabulā.

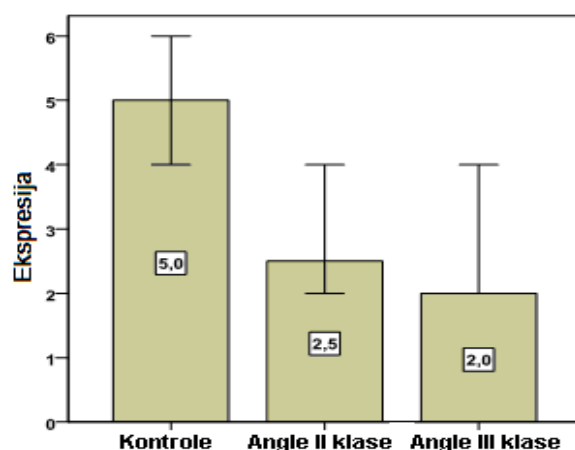
Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa pacientu grupās TGF-β ekspresija *ramus mandibulae* priekšējās daļas kaulaudos statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 =$

4,156; df = 2; p = 0,125).

11. tabula. TGF- β ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	—	2	4
0/+	—	2	—
+	—	5	6
+/++	—	1	2
++	2	4	1
++/+++	2	1	—
+++	1	3	4

TGF- β ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 4. attēlā.



4. attēls. TGF- β ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++/++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Ramus mandibulae mugurējā daļā Angle II un Angle III klases grupās konstatējām nelielu daudzumu pozitīvo struktūru redzes laukā (+), bet dažos gadījumos nenovērojām nevienu pozitīvu šūnu redzes laukā (0) un pacientu grupās TGF- β ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupas pacientu nebija, Angle II klases – 7,18 un Angle III klases – 8,67, tas nozīmē, ka Angle III klases pacientiem TGF- β ekspresija ir nedaudz lielāka, salīdzinot ar Angle II klasi.

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa TGF- β ekspresija *ramus*

mandibulae mugurējā daļā starp pacientu grupām statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,340$; df = 1; p = 0,560).

TGF- β ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās redzams 12. tabulā.

12. tabula. TGF- β ekspresijas sadalījums Angle II un Angle III klases pacientu grupās audu materiālā no *ramus mandibulae* mugurējās daļas.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	—	1	—
0/+	—	—	—
+	—	6	1
+/++	—	1	1
++	—	1	1
++/+++	—	1	—
+++	—	1	—

TGF- β ekspresija epitēlijā bija ļoti izteikta, jo praktiski visos audu paraugos konstatējām ļoti daudz pozitīvu šūnu redzes laukā un TGF- β ekspresija gļotādas epitēlijā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupas vidējais rangs – 23,50, Angle II klases – 19,75 un Angle III klases – 14,85. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa TGF- β ekspresija epitēlijā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 4,749$; df = 2; p = 0,093). Visām grupām mediāna bija 6 (+++) – ļoti daudz šūnu.

Transformējošā augšanas faktora β ekspresijas sadalījums epitēlijā pacientu grupās redzams 13. tabulā.

13. tabula. TGF- β ekspresija gļotādas epitēlijā pacientu grupās.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	—	1	3
0/+	—	—	—
+	—	—	1
+/++	—	—	—
++	—	3	2
++/+++	—	—	—
+++	5	14	7

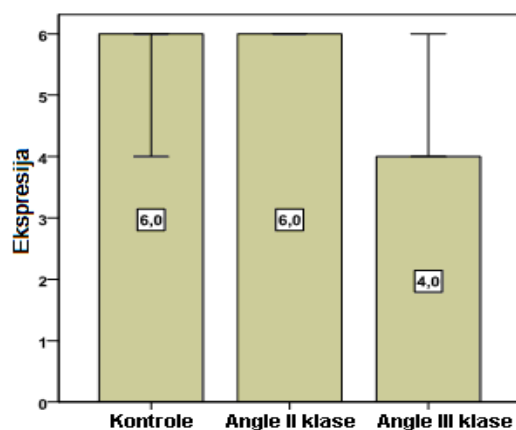
TGF- β ekspresijas sadalījums saistaudu preparātos Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem redzams 14. tabulā.

Audu materiālā no apakšžokļa pārejas krokas otro molāru rajonā transformējošā augšanas faktora β ekspresija saistaudos pacientu grupās bija sekojoša: vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā Angle III klases grupā (++), bet ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā redzējām Angle II klases (skat. 11. mikrofotogrāfiju pielikumā) un kontroles pacientu (skat. 12. mikrofotogrāfiju pielikumā) grupās (+++) un TGF- β ekspresija saistaudos pētījuma grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupas vidējais rangs – 23,20, Angle II klases – 22,11 un Angle III klases – 15,13.

14. tabula. TGF- β ekspresijas sadalījums saistaudos pacientu grupās.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	–	–	1
0/+	–	–	–
+	–	2	2
+/++	–	–	–
++	1	2	6
++/+++	–	–	–
+++	4	14	6

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa TGF- β ekspresija saistaudos pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 5,263$; $df = 2$; $p = 0,072$). TGF- β ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 5. attēlā.



5. attēls. TGF- β ekspresija saistaudos saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++/+++)- vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

6.3.1.2. Kaula morfoģenētiskais proteīns 2/4 (BMP2/4)

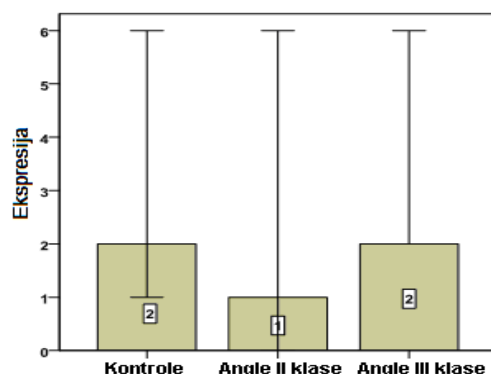
Gan kontroles grupas pacientiem (skat. 13. mikrofotogrāfiju pielikumā), gan Angle III klases pacientiem (skat. 14. mikrofotogrāfiju pielikumā) BMP2/4 ekspresija audu materiālā no *tuber maxillae* bija līdzīga (+ jeb neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā). Angle II klasei novērojām mazāku ekspresiju jeb dažas pozitīvas struktūras redzes laukā (0/+) un līdz ar to Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4 ekspresija *tuber maxillae* bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupas vidējais rangs – 14,30, Angle II klases – 8,63 un Angle III klases – 14,41.

Kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4 (BMP2/4) ekspresijas sadalījums *tuber maxillae* pacientu grupās redzams 15. tabulā.

15. tabula. BMP2/4 ekspresijas sadalījums pacientu grupās kaulaudos no *tuber maxillae*.

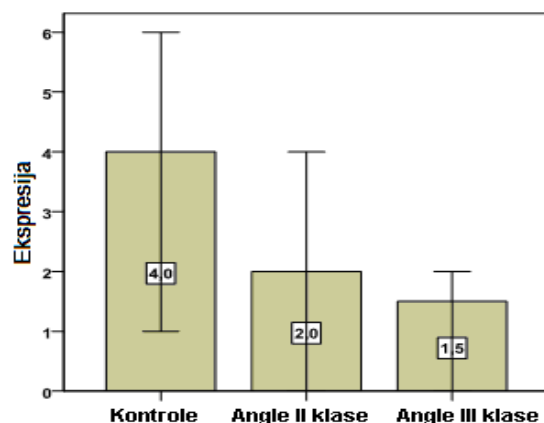
Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	1	1
0/+	1	2	2
+	2	-	8
+/++	-	-	-
++	1	-	1
++/+++	-	-	-
+++	1	1	5

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa BMP2/4 ekspresija kaula preparātos no *tuber maxillae* Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 2,095$; $df = 2$; $p = 0,351$). BMP2/4 ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 6. attēlā.



6. attēls. BMP2/4 ekspresija *tuber maxillae* saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+)- neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++/+++)- vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Visizteiktāko BMP2/4 ekspresiju *ramus mandibulae* priekšējā daļā novērojām kontroles grupas pacientiem (++) jeb vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā). Angle II klases grupai novēroja mazāku BMP2/4 ekspresiju (+ jeb nelielu daudzumu pozitīvu struktūru redzes laukā), bet Angle III klasei konstatējām nedaudz mazāku BMP2/4 ekspresiju (0/+ - + jeb no dažām pozitīvām struktūrām līdz nelielam daudzumam pozitīvu struktūru redzes laukā) un BMP2/4 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupas vidējais rangs – 26,40, Angle II klases – 20,47 un Angle III klases – 16,31. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa BMP2/4 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 3,640$; $df = 2$; $p = 0,162$). BMP2/4 ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 7. attēlā.



7. attēls. BMP2/4 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4 (BMP2/4) ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās redzams 16. tabulā.

16. tabula. BMP2/4 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	5	5
0/+	1	-	3
+	1	7	6
+/++	-	-	-
++	2	2	1

++/+++	-	-	-
+++	1	3	1

BMP2/4 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā Angle II un Angle III klases grupās bija ar nelielu daudzumu pozitīvu struktūru redzes laukā (+), bet dažos gadījumos novērojām arī ļoti daudz pozitīvu šūnu redzes laukā (+++, skat. 15. mikrofotogrāfiju pielikumā) un *ramus mandibulae* mugurējā daļā kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4 ekspresija pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupas pacientiem nav datu, Angle II klases – 8,35 un Angle III klases – 9,93.

Pacientu grupās pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa BMP2/4 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,556$; $df = 2$; $p = 0,456$).

Kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4 (BMP2/4) ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās redzams 17. tabulā.

17. tabula. BMP2/4 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā Angle II klases un Angle III klases pētījuma grupas pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	2	1
0/+	-	-	-
+	-	7	4
+/++	-	-	-
++	-	-	1
++/+++	-	-	-
+++	-	1	1

BMP2/4 ekspresija gļotādas epitēlijā netika novērota ne kontroles, ne Angle II klases pacientiem, ne vairumam Angle III klases pacientiem. Tikai 2 Angle III klases pacientiem konstatējām ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (+++, skat. 16. mikrofotogrāfiju pielikumā) un kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4 (BMP2/4) ekspresija epitēlijā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupas vidējais rangs – 12,50, Angle II klases – 12,50 un Angle III klases – 16,21.

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa BMP2/4 ekspresija gļotādas epitēlijā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 5,655$; $df = 2$; $p = 0,059$).

Kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4 (BMP2/4) ekspresijas sadalījums gļotādas epitēlijā pacientu grupās redzams 18. tabulā.

18. tabula. BMP2/4 ekspresija gļotādas epitēlijā Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	5	14	5
0/+	-	-	-
+	-	-	-
+/++	-	-	-
++	-	-	-
++/+++	-	-	-
+++	-	-	2

Neliela BMP2/4 izdale gļotādas saistaudos tika novērota kontroles grupā (0 - 0/+). Arī Angle II un Angle III klases grupās galvenokārt nekonstatējām nevienu pozitīvu šūnu redzes laukā (0), tomēr dažiem Angle II un III klases pacientiem atklājām ļoti daudz pozitīvu šūnu redzes laukā (+++), bet 3 Angle III klases pacientiem arī vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (++) un kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4 (BMP2/4) ekspresija saistaudos pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupas vidējais rangs – 14,90, Angle II klases – 12,86 un Angle III klases – 16,83.

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa BMP2/4 ekspresija saistaudos pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 2,043$; $df = 2$; $p = 0,360$). Kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4 ekspresijas sadalījums gļotādas saistaudos saistaudos pacientu grupās redzams 19. tabulā.

19. tabula. BMP2/4 ekspresija gļotādas saistaudos Angle II, Angle III un kontroles grupas pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	3	12	5
0/+	2	-	-
+	-	-	-
+/++	-	-	-
++	-	-	3
++/+++	-	-	-
+++	-	2	1

6.3.1.3. Fibroblastu augšanas faktora receptors 1 (FGFR1)

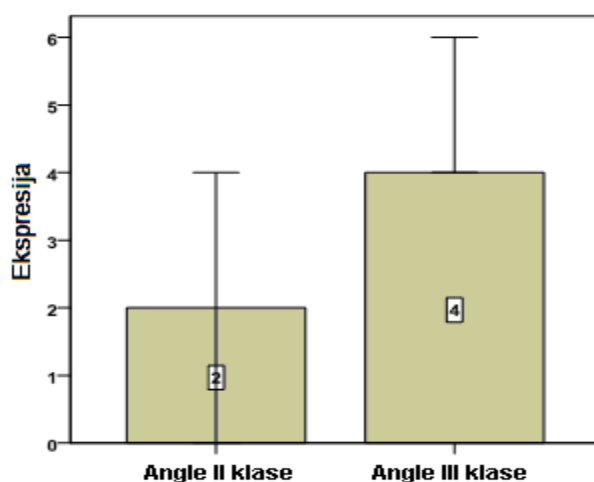
Analizējot FGFR1 saturošo struktūru relatīvo daudzumu kaulaudos no *tuber maxillae* konstatējām, ka Angle III klases pacientiem bija vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (++), bet Angle II klases grupai atradām nelielu daudzumu (+) pozitīvu struktūru redzes laukā un kaulaudos no *tuber maxillae* fibroblastu augšanas faktora receptora 1 (FGFR1) ekspresija pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai nebija datu, Angle II klases – 4,75 un Angle III klases – 12,47.

Angle II klases un Angle III klases grupu pacientiem fibroblastu augšanas faktora receptora 1 ekspresija audu materiālā no *tuber maxillae* redzama 20. tabulā.

20. tabula. FGFR1 ekspresijas sadalījums pacientu grupās audu materiālā no *tuber maxillae*.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	1	-
0/+	-	-	1
+	-	2	1
+/++	-	-	1
++	-	1	6
++/+++	-	-	2
+++	-	-	6

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa FGFR1 ekspresija *tuber maxillae* Angle II klases un Angles III klases grupas pacientiem atšķīrās statistiski ticami ($\chi^2 = 5,347$; df = 1; p = 0,021). FGFR1 ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 8. attēlā.



8. attēls. FGFR1 ekspresija *tuber maxillae* saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+)- neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

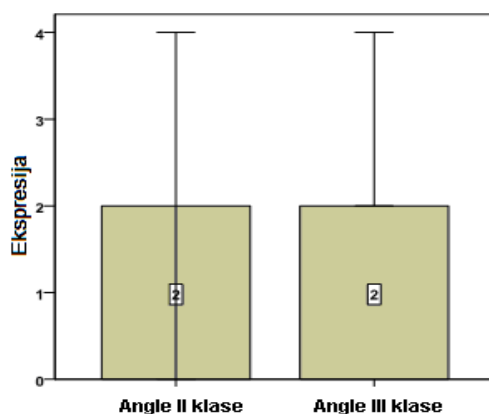
laukā, 5 (++)/+++ - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Analizējot FGFR1 ekspresiju kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas, konstatējām vienādu šī augšanas faktora receptora ekspresiju gan Angle II, gan Angle III klases grupās (+ jeb neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā). Fibroblastu augšanas faktora receptora 1 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai nebija datu, Angle II klases – 15,11 un Angle III klases – 21,06. Fibroblastu augšanas faktora receptora 1 (FGFR1) ekspresijas sadalījums kaulaudos, kas iegūti no *ramus mandibulae* priekšējās daļas Angle II klases, Angle III klases (skat. 17. mikrofotogrāfiju pielikumā) pacientu grupās, redzams 21. tabulā.

21. tabula. FGFR1 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā Angle II klases un Angle III klases grupās pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	6	-
0/+	-	1	-
+	-	5	10
+/++	-	1	-
++	-	4	5
++/+++	-	-	-
+++	-	1	2

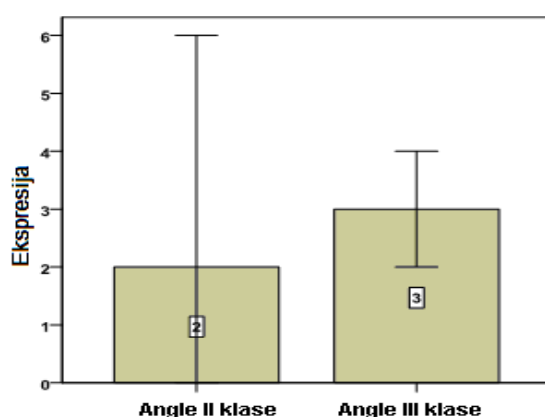
Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa FGFR1 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 3,275$; $df = 1$; $p = 0,070$). FGFR1 ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 9. attēlā.



9. attēls. FGFR1 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji

daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

FGFR1 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā Angle II klases pacientu grupā bija ar nelielu daudzumu pozitīvu struktūru redzes laukā (+), bet Angle III klases gadījumos novērojām maz līdz vidēji daudz pozitīvu šūnu redzes laukā (+/++) un pacientu grupās FGFR1 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai nebija datu, Angle II klases – 7,73 un Angle III klases – 10,20. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa FGFR1 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 1,025$; df = 1; p = 0,311). FGFR1 ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 10. attēlā.



10. attēls. FGFR1 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

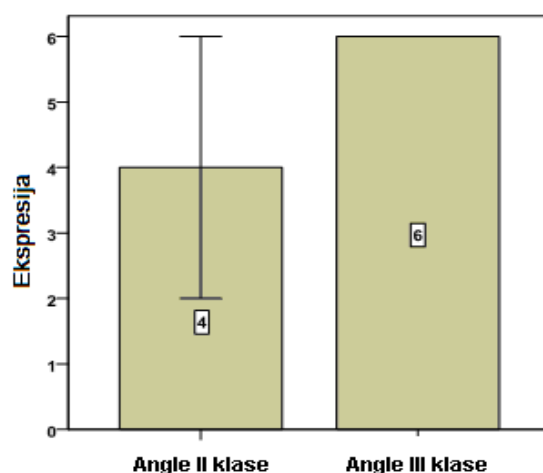
FGFR1 ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* mugurējā daļā Angle II klases, Angle III klases pacientu grupās redzams 22. tabulā.

22. tabula. Fibroblastu augšanas faktora receptora 1 (FGFR1) ekspresijas sadalījums pacientu grupās audu materiālā no *ramus mandibulae* mugurējās daļas.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	3	-
0/+	-	-	-
+	-	5	2
+/++	-	-	1
++	-	1	2
++/+++	-	-	-
+++	-	2	-

Visizteiktāko fibroblastu augšanas faktora receptora 1 (FGFR1) ekspresiju audu materiāla epitēlijā no apakšžokļa pārejas krokas otro molāru rajonā novērojām Angle III klases grupas pacientiem, jo visos analizētajos paraugos konstatējām ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (+++). Angle II klases grupai novēroja nedaudz mazāku FGFR1 izdali (++ jeb vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā). Divos Angle II klases gadījumos netika konstatēta neviena (0) pozitīva struktūra redzes laukā. FGFR1 ekspresija epitēlijā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai nebija datu, Angle II klases – 11,59 un Angle III klases – 19,00.

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa FGFR1 ekspresija epitēlijā pacientu grupās atšķīrās statistiski ticami ($\chi^2 = 7,950$; $df = 1$; $p = 0,005$). FGFR1 ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 11. attēlā.



11. attēls. FGFR1 ekspresija gļotādas epitēlijā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++/+++ - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

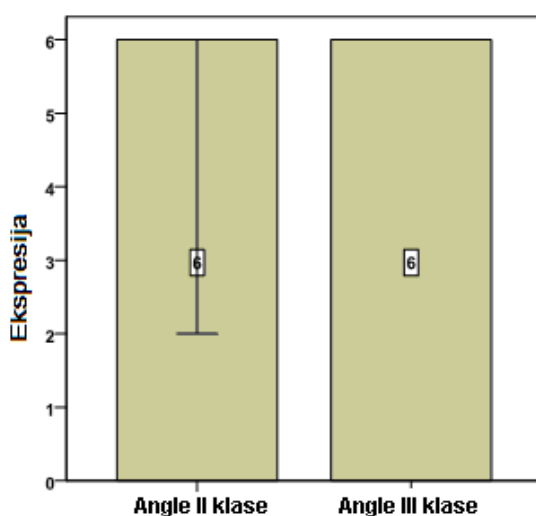
FGFR1 ekspresijas sadalījums gļotādas epitēlijā pacientu grupās redzams 23. tabulā.

23. tabula. Fibroblastu augšanas faktora receptora 1 (FGFR1) ekspresija epitēlijā Angle II klases un Angle III klases grupas pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	2	-
0/+	-	-	-
+	-	5	-
+/++	-	-	-
++	-	2	-
++/+++	-	-	-

+++	-	8	11
-----	---	---	----

Angle II (skat. 18. mikrofotogrāfiju pielikumā) un Angle III klases grupās konstatējām izteiktu FGFR1 izdali saistaudos, jo praktiski visos analizējamajos paraugos atradām ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā. Fibroblastu augšanas faktora receptora 1 (FGFR1) ekspresija saistaudos pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai nebija datu, Angle II klases – 13,53 un Angle III klases – 18,08. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa FGFR1 ekspresija saistaudos pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 3,592$; $df = 1$; $p = 0,058$). FGFR1 ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 12. attēlā.



12. attēls. FGFR1 ekspresija saistaudos saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

6.3.1.4. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF)

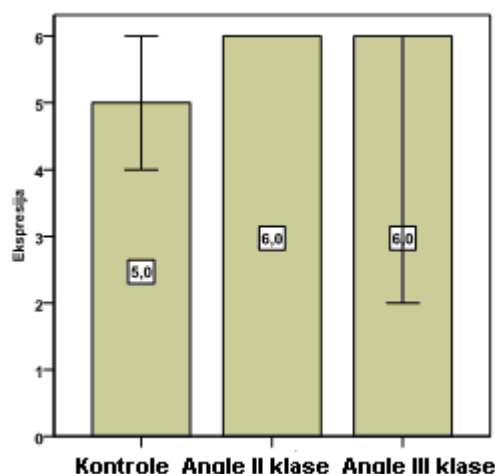
Vaskulārā endoteliālā augšanas faktora (VEGF) ekspresija bija pavisam noteikta 38 paraugos, galvenokārt epitēlijā un saistaudos, un tikai vienā paraugā epitēlijā tika novērots neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā (+). Pārējos gadījumos šī faktora ekspresija netika novērota (skat. 19. mikrofotogrāfiju pielikumā).

6.3.2. Kaula ekstracelulārās matricas (ECM) proteīnu ekspresija

6.3.2.1. Osteokalcīns (OC)

Analizējot audu materiālu no *tuber maxillae*, konstatējām izteiktu osteokalcīna izdali

Angle II klases un Angle III klases (skat. 20. mikrofotogrāfiju pielikumā) pacientu grupā (+++ jeb ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā), bet nedaudz mazāku OC ekspresiju kontroles pacientu grupā (++/+++ jeb vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā) un osteokalcīna ekspresija *tuber maxillae* pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 8,25, Angle II klases – 12,00 un Angle III klases – 8,40. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa osteokalcīna ekspresija audos no *tuber maxillae* pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 1,797$; $df = 2$; $p = 0,407$). Osteokalcīna ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 13. attēlā.



13. attēls. Osteokalcīna ekspresija *tuber maxillae* saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++/+++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

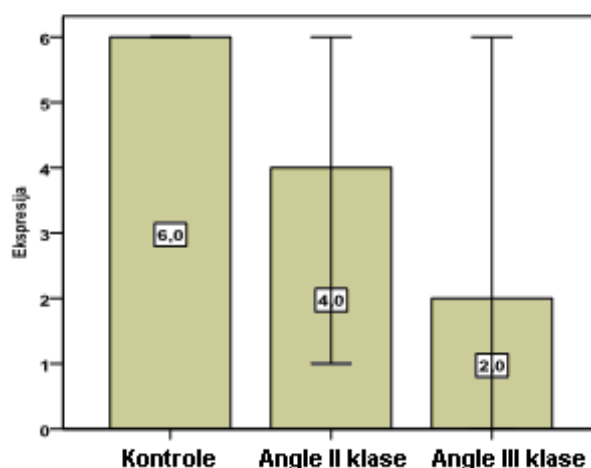
Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientu audu materiālā no *tuber maxillae* osteokalcīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās redzams 24. tabulā.

24. tabula. Osteokalcīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās audu materiālā no *tuber maxillae*.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	-	-
0/+	-	-	-
+	-	-	2
+/++	-	-	-
++	2	-	2
++/+++	-	-	-
+++	2	3	6

Visizteiktāko OC ekspresiju kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas konstatējām kontroles grupā (+++). Angle III klases grupā novērojām vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (++), bet Angle II klases grupā – galvenokārt nelielu daudzumu pozitīvu šūnu (+) redzes laukā ar dažiem izņēmumiem, kad to bija daudz (skat. 21. un 22. mikrofotogrāfiju pielikumā). Osteokalcīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 17,00, Angle II klases – 10,12 un Angle III klases – 7,88.

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa osteokalcīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 5,517$; $df = 2$; $p = 0,063$). Osteokalcīna ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 14. attēlā.



14. attēls. Osteokalcīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++/++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Osteokalcīna ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās redzams 25. tabulā.

25. tabula. Osteokalcīna ekspresija kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas pacientu grupās.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	1	2
0/+	-	2	-
+	-	3	-
+/++	-	-	-

++	-	3	1
++/+++	-	-	-
+++	4	4	1

OC ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā noteikta tikai Angle II klases pacientu grupai. Izdarīti 5 mērījumi un tika konstatēts, ka 2 pacientiem ekspresijas vērtējums bija 0 (netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā), vienam – + (neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā) un diviem – +++ (ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

OC ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās redzams 26. tabulā.

26. tabula. Osteokalcīna ekspresija audu materiālā no *ramus mandibulae* mugurējās daļas.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	2	-
0/+	-	-	-
+	-	1	-
+/+++	-	-	-
++	-	-	-
++/+++	-	-	-
+++	-	2	-

6.3.2.2. Osteopontīns (OP)

Analizējot OP ekspresiju kaulaudos no *tuber maxillae*, konstatējām ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā kontroles grupas pacientiem (+++ , skat. 23. mikrofotogrāfiju pielikumā). Salīdzinot ar kontroles grupu, Angle II un Angle III klases pacientu grupās OP izdale bija mazāk izteikta (skat. 24. mikrofotogrāfiju pielikumā) - Angle II klases grupā konstatējām maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, bet Angle III klases grupā vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā.

Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientu audu materiālā no *tuber maxillae* osteopontīna ekspresija pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 15,00, Angle II klases – 6,75 un Angle III klases – 8,13.

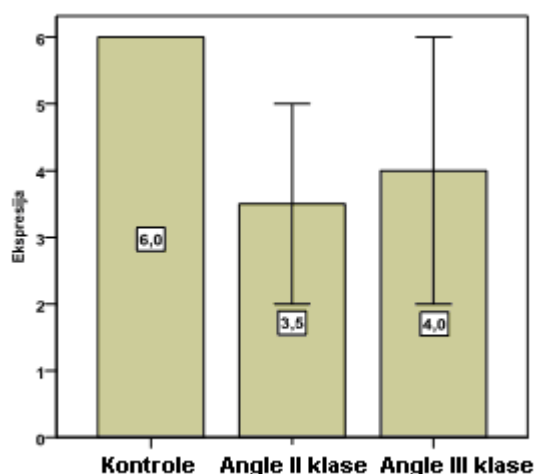
Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa osteopontīna ekspresija *tuber maxillae* pacientu grupās atšķīrās statistiski ticami ($\chi^2 = 5,980$; $df = 2$; $p = 0,050$).

Osteopontīna ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzamas 15. attēlā.

Osteopontīna ekspresijas sadalījums *tuber maxillae* pacientu grupās redzams 27. tabulā.

27. tabula. Osteopontīna ekspresija *tuber maxillae* pacientu grupās.

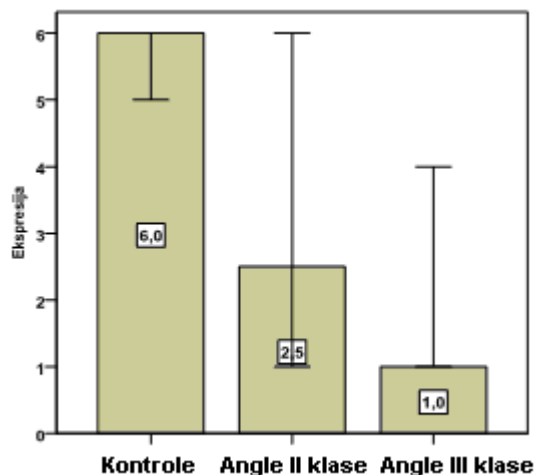
Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	-	-
0/+	-	-	2
+	-	1	1
+/++	-	-	1
++	-	-	3
++/+++	-	1	2
+++	4	-	3



15. attēls. Osteopontīna ekspresija *tuber maxillae* saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (+++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++/+++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Audu materiālā no *ramus mandibulae* priekšējās daļas osteopontīna ekspresija kontroles pacientu grupā bija visizteiktākā (+++ jeb ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, skat. 25. mikrofotogrāfiju pielikumā), bet nelielu daudzumu pozitīvu struktūru redzes laukā konstatējām Angle II klases grupā (+ - +/++) un Angle III klases grupā (0/+), skat. 26. mikrofotogrāfiju pielikumā. Osteopontīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 15,63, Angle II klases – 9,04 un Angle III klases – 6,33.

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa osteopontīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās statistiski ticami atšķīrās ($\chi^2 = 5,865$; $df = 2$; $p = 0,053$). Osteopontīna ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzamas 16. attēlā.



16. attēls. Osteopontīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Osteopontīna ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās redzams 28. tabulā.

28. tabula. Osteopontīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas.

Ekspresija	Kontrolē	Angle II klase	Angle III klase
0	-	2	-
0/+	-	1	2
+	-	3	-
+/++	-	1	-
++	-	2	1
++/+++	1	-	-
+++	3	3	-

Osteopontīna ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā tika noteikta Angle II klases pacientu grupai. Izdarīti 8 mērījumi un konstatējām, ka vienam pacientam ekspresijas vērtējums bija 0 (netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā), trīs pacientiem – + (neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā), vienam – +/++ (maz līdz vidēji daudz

pozitīvu struktūru redzes laukā), vienam – ++ (vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā) un diviem pacientiem – +++ (ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Osteopontīna ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās redzams 29. tabulā.

29. tabula. Osteopontīna ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā Angle II klases un Angle III klases pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	1	-
0/+	-	-	-
+	-	3	-
+/++	-	1	-
++	-	1	-
++/+++	-	-	-
+++	-	2	-

6.3.3. Matrices metaloproteināzes 2 (MMP2) ekspresija

Analizējot MMP2 ekspresiju *tuber maxillae* konstatējām, ka tikai diviem Angle III klases grupas pacientiem bija neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, bet visos pārējos gadījumos netika atrasta neviena pozitīva struktūra redzes laukā (skat. 27. mikrofotogrāfiju pielikumā). MMP2 ekspresija *tuber maxillae* pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 10,50, Angle II klases – 10,50 un Angle III klases – 11,79. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa MMP2 ekspresija *tuber maxillae* pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,618$; $df = 2$; $p = 0,734$).

Matrices metaloproteināzes 2 (MMP2) ekspresijas sadalījums *tuber maxillae* pacientu grupās redzams 30. tabulā.

30. tabula. MMP2 ekspresijas sadalījums pacientu grupās audu materiālā no *tuber maxillae* Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	4	1	15
0/+	-	-	-
+	-	-	2
+/++	-	-	-
++	-	-	-
++/+++	-	-	-
+++	-	-	-

Līdzīgi kā audu paraugos no *tuber maxillae*, arī kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas bija konstatējama vāji izteikta MMP2 ekspresija, jo visos Angle III klases pacientu paraugos netika atrasta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, bet Angle II klases grupā vienā gadījumā atradām dažas pozitīvas struktūras un vienā paraugā vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (skat. 28. mikrofotogrāfiju pielikumā). Pacientu grupās MMP2 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai 11,50, Angle II klases – 16,30 un Angle III klases – 11,50. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa MMP2 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās atšķīrās statistiski ticami ($\chi^2 = 7,930$; $df = 2$; $p = 0,019$).

MMP2 ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās redzams 31. tabulā.

31. tabula. MMP2 ekspresija Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientu audu materiālā no *ramus mandibulae* priekšējās daļas.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	3	15
0/+	-	1	-
+	-	-	-
+/++	-	-	-
++	-	1	-
++/+++	-	-	-
+++	-	-	-

Matrices metaloproteināzes 2 (MMP2) ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās redzams 32. tabulā. Nevienā no analizētajiem paraugiem netika konstatēta MMP2 ekspresija audu materiālā no *ramus mandibulae* mugurējās daļas.

32. tabula. MMP2 ekspresijas sadalījums pacientu grupās audu materiālā no *ramus mandibulae* mugurējās daļas.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	4	6
0/+	-	-	-
+	-	-	-
+/++	-	-	-
++	-	-	-
++/+++	-	-	-
+++	-	-	-

Tā kā abās klasēs mediānas bija vienādas, tad neveica datu statistisko analīzi.

MMP2 ekspresija gļotādas epitēlijā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 9,00, Angle II klases – 9,00 un Angle III klases – 10,00. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa MMP2 ekspresija gļotādas epitēlijā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 1,000$; $df = 2$; $p = 0,607$). Matrices metaloproteināzes 2 (MMP2) ekspresijas sadalījums epitēlijā pacientu grupās redzams 33. tabulā (skat. 29. mikrofotogrāfiju pielikumā).

33. tabula. MMP2 ekspresija epitēlijā pacientu grupās.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	4	5	8
0/+	-	-	-
+	-	-	-
+/++	-	-	-
++	-	-	-
++/+++	-	-	-
+++	-	-	1

Matrices metaloproteināzes 2 (MMP2) ekspresijas sadalījums gļotādas saistaudos pacientu grupās redzams 34. tabulā.

34. tabula. MMP2 ekspresija saistaudos Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem.

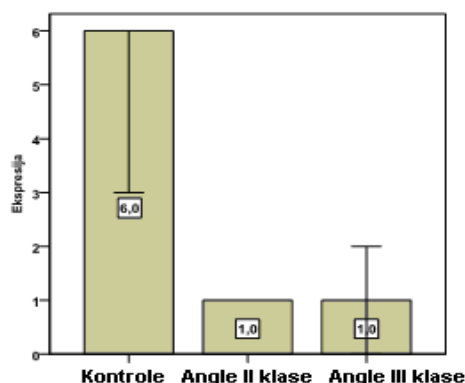
Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	4	5	8
0/+	-	-	-
+	-	-	2
+/++	-	-	-
++	-	-	-
++/+++	-	-	-
+++	-	-	-

Matrices metaloproteināzes 2 (MMP2) ekspresija saistaudos pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 9,00, Angle II klases – 9,00 un Angle III klases – 10,90. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa MMP2 ekspresija saistaudos pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 1,906$; $df = 2$; $p = 0,386$).

Gan gļotādas epitēlijā, gan saistaudos visās pacientu grupās konstatējām vāji izteiktu MMP2 ekspresiju.

6.3.4. Barx1, Msx2 un Wnt1 gēnu proteīnu ekspresija

Analizējot barx1 gēna proteīnu imūnreaktivitāti audu paraugos no *tuber maxillae* varam konstatēt, ka bagātīga barx1 gēna proteīna ekspresija redzama kontroles grupas pacientu grupā (+++ jeb ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, skat. 30. mikrofotogrāfiju pielikumā), bet Angle II un Angle III klases pacientu grupās šī gēnu proteīna izdales intensitāte bija daudz vājāka (0/+ jeb dažas pozitīvas struktūras redzes laukā). *Tuber maxillae* audu materiālā Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem barx1 gēnu proteīna ekspresija bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 19,67, Angle II klases grupai – 10,50, bet Angle III klases grupai – 9,50. Barx1 ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzamas 17. attēlā.



17. attēls. Barx1 gēnu proteīna ekspresija *tuber maxillae* saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++/+++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

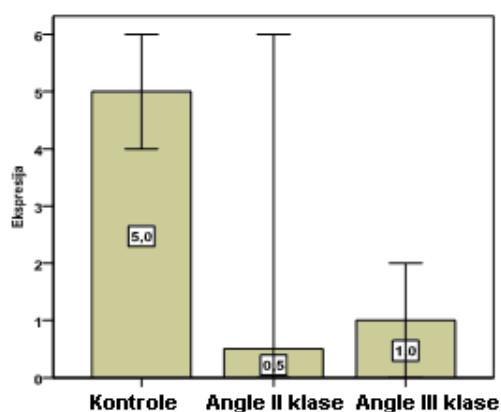
Barx1 gēna proteīna ekspresijas sadalījums *tuber maxillae* Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem redzams 35. tabulā.

35. tabula. Barx1 gēnu proteīnu ekspresijas sadalījums pacientu grupās audos no *tuber maxillae*.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	-	8
0/+	-	1	3
+	-	-	5
+/++	1	-	-
++	-	-	1
++/+++	-	-	-
+++	2	-	-

Barx1 gēnu proteīnu visizteiktākā ekspresija audu paraugos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas bija kontroles grupā (+++ jeb ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, skat. 31. mikrofotogrāfiju pielikumā). Angle II un Angle III klases pacientu grupās barx1 gēnu proteīnu ekspresija bija mazāk izteikta (0/+ jeb dažas pozitīvas struktūras redzes laukā). Barx1 gēnu proteīna ekspresija Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem no *ramus mandibulae* priekšējās daļas pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 20,17, Angle II klases grupai – 9,50 un Angle III klases grupai – 10,42. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa barx1 izdale *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās atšķīrās statistiski ticami ($\chi^2 = 6,747$; $df = 2$; $p = 0,034$).

Barx1 ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzamas 18. attēlā.



18. attēls. Barx1 gēnu proteīnu ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 4 (++) - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 5 (++) - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, 6 (+++) - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Barx1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums audu materiālā no *ramus mandibulae* priekšējās daļas pētījuma grupās redzams 36. tabulā.

36. tabula. Barx1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās *ramus mandibulae* priekšējās daļas kaulaudos.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	3	5
0/+	-	2	3
+	-	-	5
+/++	-	-	-
++	1	-	-
++/+++	1	-	-

+++	1	1	-
-----	---	---	---

Analizējot barx1 gēnu proteīnu ekspresiju *ramus mandibulae* mugurējā daļā, konstatējām, ka gan Angle II, gan Angle III klases grupas pacientiem lielākajā daļā gadījumu netika atrasta neviena pozitīva struktūra redzes laukā un tikai vienā Angle II klases pacienta audu paraugā atradām ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (+++). Barx1 gēnu proteīna ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai nebija dati, Angle II klases – 5,00 un Angle III klases – 3,60. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa barx1 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,933$; $df = 1$; $p = 0,334$). Barx1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās redzams 37. tabulā.

37. tabula. Barx1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās kaulaudos no *ramus mandibulae* mugurējās daļas.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	1	4
0/+	-	-	1
+	-	-	-
+/+++	-	-	-
++	-	-	-
++/+++	-	-	-
+++	-	1	-

Konstatējām, ka barx1 gēnu proteīnu ekspresija gļotādas epitēlijā un saistaudos kontroles grupā, kā arī Angle II (skat. 32. mikrofotogrāfiju pielikumā) un III klases pacientu grupā variēja no 0 (neviena pozitīva struktūra redzes laukā) līdz +++ (ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā), bet + (neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā) tika atrasts vairākumā gadījumu.

38. tabula. Barx1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās gļotādas epitēlijā Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	1	1	-
0/+	-	-	2
+	1	3	6
+/+++	-	-	-
++	-	-	1

++/+++	-	-	-
+++	1	2	-

Barx1 gēnu proteīna ekspresija epitēlijā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 9,33, Angle II klases grupai – 10,67 un Angle III klases grupai – 8,78. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa barx1 ekspresija gļotādas epitēlijā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,552$; $df = 2$; $p = 0,759$). Barx1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums gļotādas epitēlijā pacientu grupās redzams 38. tabulā.

Barx1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums smaganas saistaudos pacientu grupās redzams 39. tabulā. Barx1 gēnu proteīna ekspresija saistaudos pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 5,00, Angle II klases – 13,08, bet Angle II klases – 10,59. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa barx1 ekspresija saistaudos pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 4,542$; $df = 2$; $p = 0,103$).

39. tabula. Barx1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientu smaganas saistaudos.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	2	1	1
0/+	-	-	-
+	1	2	8
+/++	-	-	-
++	-	1	2
++/+++	-	-	-
+++	-	2	-

Analizējot msx2 gēnu proteīna ekspresija *tuber maxillae*, atklājām, ka vairumā gadījumu nenovēroja nevienu pozitīvu struktūru redzes laukā (0) un tikai četru Angle III klases pacientu audu paraugos konstatējām dažas pozitīvas struktūras redzes laukā (0/+). Msx2 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums *tuber maxillae* pacientu grupās redzams 40. tabulā.

40. tabula. Msx2 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās audu materiālā no *tuber maxillae*.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	3	1	13
0/+	-	-	4
+	-	-	-
+/++	-	-	-
++	-	-	-

++/+++	-	-	-
+++	-	-	-

Msx2 gēnu proteīna ekspresija *tuber maxillae* pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 9,00, Angle II klases – 9,00 un Angle III klases – 11,47.

Ramus mandibulae priekšējā daļā msx2 gēnu proteīnu ekspresiju konstatējām Angle III klases grupā 5 pacientiem, bet kontroles un Angle II klases grupā tikai vienam pacientam no grupas. Msx2 gēnu proteīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 11,17, Angle II klases grupai – 10,17 un Angle III klases grupai – 12,19. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa msx2 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,605$; $df = 2$; $p = 0,739$).

Msx2 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās redzams 41. tabulā.

41. tabula. Msx2 gēnu proteīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	2	5	8
0/+	1	-	3
+	-	1	2
+/++	-	-	-
++	-	-	-
++/+++	-	-	-
+++	-	-	-

Nevienā no analizētajiem paraugiem ne Angle II, ne Angle III, ne arī kontroles grupā Msx2 gēnu proteīna ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā netika konstatēta. *Ramus mandibulae* mugurējā daļā msx2 gēnu proteīna ekspresija pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai nebija dati, Angle II klases grupai – 5,00 un Angle III klases grupai – 5,00. Tā kā abās klasēs mediānas bija vienādas, tad neveica datu statistisko analīzi.

Epitēlijā msx2 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās redzams 42. tabulā. Analizējot msx2 gēnu proteīnu ekspresiju gļotādas epitēlijā, nekonstatējām nevienu pozitīvu struktūru redzes laukā kontroles grupas pacientiem (0). Salīdzinot ar kontroles grupu, Angle II un Angle III klases pacientu grupās msx2 gēnu proteīnu izdale bija vairāk izteikta

(skat. 33. mikrofotogrāfiju pielikumā), jo msx2 gēnu proteīnu ekspresija variēja no 0 (neviens pozitīva struktūra) līdz +++ (ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, skat. 34. mikrofotogrāfiju pielikumā), bet 4 Angle III klases pacientiem konstatējām + jeb nelielu daudzumu pozitīvu struktūru redzes laukā. Msx2 gēnu proteīna izdale gļotādas epitēlijā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 4,00, Angle II klases – 11,50 un Angle III klases – 10,00. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa msx2 ekspresija epitēlijā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 4,475$; $df = 2$; $p = 0,107$).

42. tabula. Msx2 gēnu proteīna ekspresija Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem smaganas epitēlijā.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	3	2	2
0/+	-	-	-
+	-	2	4
+/+++	-	-	-
++	-	2	2
++/+++	-	-	-
+++	-	-	1

Līdzīgi kā gļotādas epitēlijā, arī saistaudos msx2 gēnu proteīnu ekspresiju kontroles grupā nekonstatējām (0), bet Angle II un Angle III klases pacientu grupās msx2 gēnu proteīnu izdale bija vidēji + (neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā). Msx2 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums saistaudos pacientu grupās redzams 43. tabulā.

43. tabula. Msx2 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās gļotādas saistaudos.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	3	4	3
0/+	-	-	1
+	-	2	5
+/+++	-	-	-
++	-	-	2
++/+++	-	-	-
+++	-	-	-

Msx2 gēnu proteīna ekspresija saistaudos pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 5,50, Angle II klases – 8,67 un Angle III klases – 12,86. Msx2 ekspresija saistaudos pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa pacientu grupās statistiski

ticami neatšķirās ($\chi^2 = 5,371$; $df = 2$; $p = 0,068$).

Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem *wnt1* gēnu proteīna ekspresijas sadalījums *tuber maxillae* pacientu grupās redzams 44. tabulā. Nevienā no Angle II un Angle III klases pacientu analizētajiem paraugiem nekonstatējām *wnt1* gēnu proteīnu ekspresiju kaulaudos no *tuber maxillae*, bet kontroles grupā ekspresija variēja no 0/+ (dažas pozitīvas struktūras redzes laukā) līdz ++/+++ (vidēji daudz līdz daudz pozitīvas struktūras redzes laukā, skat. 35. mikrofotogrāfiju pielikumā). *Wnt1* gēnu proteīna ekspresija *tuber maxillae* pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 20,00, Angle II klases – 9,50 un Angle III klases – 9,50.

44. tabula. *Wnt1* gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās kaulaudos no *tuber maxillae*.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	1	17
0/+	1	-	-
+	-	-	-
+/++	1	-	-
++	-	-	-
++/+++	1	-	-
+++	-	-	-

Kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas nevienā no analizētajiem paraugiem netika konstatēta *wnt1* gēnu proteīna ekspresija. *Wnt1* gēnu proteīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 22,00, Angle II klases – 10,50 un Angle III klases – 10,50.

Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem *wnt1* gēnu proteīna ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā tikai vienā gadījumā konstatējām dažas pozitīvas struktūras redzes laukā (skat. 36. mikrofotogrāfiju pielikumā), bet visos pārējos gadījumos netika atrasta neviena pozitīva struktūra redzes laukā (skat. 45. tabulu).

45. tabula. *Wnt1* gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās materiālā no *ramus mandibulae* mugurējās daļas.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	3	5
0/+	-	1	-
+	-	-	-
+/++	-	-	-

++	-	-	-
++/+++	-	-	-
+++	-	-	-

Wnt1 gēnu proteīna ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai nebija dati, Angle II klases – 5,63 un Angle III klases – 4,50.

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa wnt1 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 1,250$; df = 1; p = 0,264).

Smaganas epitēlijā wnt1 gēnu proteīna ekspresija Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 16,67, Angle II klases – 6,67 un Angle III klases – 10,91. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa wnt1 izdales intensitāte epitēlijā pacientu grupās atšķīrās statistiski ticami ($\chi^2 = 6,744$; df = 2; p = 0,034). Wnt1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientu smaganas epitēlijā pacientu grupās redzams 46. tabulā.

46. tabula. Wnt1 gēnu proteīna ekspresija epitēlijā pacientu grupās.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	4	3
0/+	-	-	-
+	1	2	6
+/++	-	-	-
++	1	-	2
++/+++	-	-	-
+++	1	-	-

Ģlotādas saistaudos wnt1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās redzams 47. tabulā (skat. kontroles grupas pacienta 37. mikrofotogrāfiju pielikumā).

Wnt1 gēnu proteīna ekspresija saistaudos pacientu grupās bija ar sekojošiem vidējiem rangiem: kontroles grupai – 13,50, Angle II klases – 8,50 un Angle III klases – 10,77.

Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa wnt1 izdales intensitāte saistaudos pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 2,344$; df = 2; p = 0,310).

Analizējot wnt1 gēnu proteīnu ekspresiju konstatējām, ka gan ģlotādas epitēlijā, gan saistaudos Angle III klases un kontroles grupas pacientu audu paraugos vidēji bija neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā (+). Angle II klases pacientu paraugos tikai divos gadījumos atradām nelielu daudzumu pozitīvu struktūru, bet visos pārējos gadījumos netika konstatēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā.

47. tabula. Wnt1 gēnu proteīna ekspresijas sadalījums pacientu grupās Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientu smaganas saistaudos.

Ekspresija	Kontrole	Angle II klase	Angle III klase
0	-	3	3
0/+	-	-	-
+	3	-	7
+/++	-	-	-
++	-	-	-
++/+++	-	-	-
+++	-	-	1

Apkopojot pētīto augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu un gēnu proteīnu ekspresiju žokļu kaulos un tiem pieguļošajos mīkstajos audos augšžoklī un apakšžoklī Angle II, Angle III un kontroles pacientu grupās varam redzēt, ka šo bioloģisko marķieru ekspresija ir samērā variabla, tomēr visās pētījuma grupās visizteiktākā ir to marķieru ekspresija, kas pēc literatūrā pieejamām ziņām galvenokārt atbild par kaula pārbūvi (skat. 48. tab.). Novērojām bagātīgu transformējošā augšanas faktora β , kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4, osteokalcīna un osteopontīna ekspresiju pētījuma grupas kaulaudos no *tuber maxillae*, kā arī no *ramus mandibulae* priekšējās un mugurējās daļas. Analizējot FGFR1 varam redzēt, ka šī augšanas faktora receptora ekspresija ir izteiktāka tieši mīkstajos audos no apakšžokļa smaganu pārejas krokas otro molāru rajonā, salīdzinot ar ekspresiju kaulaudos. Mazāk izteikta ir *barx1*, *msx2* un *wnt1* gēnu proteīnu ekspresija, savukārt vaskulāro endoteliālo augšanas faktoru un deģenerācijas enzīmu MMP2 konstatējām tikai dažos audu paraugos, kas iegūti no pacientiem ar Angle II un Angle III klases dentofaciālām deformācijām, bet kontroles grupā nevienā audu paraugā neatradām VEGF un MMP2 pozitīvas struktūras.

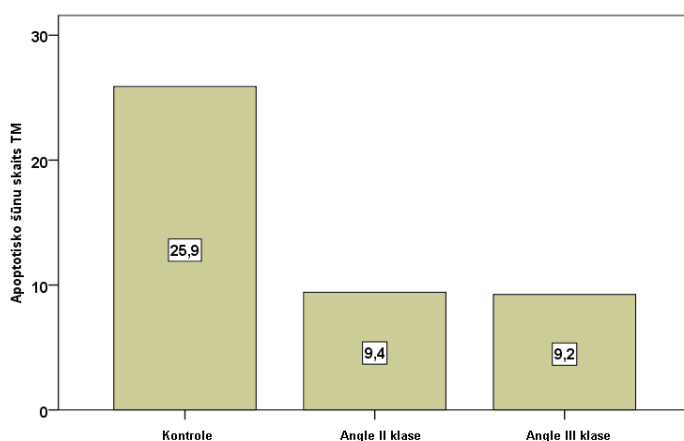
Varam redzēt, ka kontroles grupā bioloģisko marķieru ekspresija *tuber maxillae* un *ramus mandibulae* priekšējā daļā ir samērā līdzīga, bet Angle III klases pacientu grupā bagātīgāka ekspresija ir novērojama tieši kaulaudos no *tuber maxillae* un *ramus mandibulae* mugurējās daļas, savukārt Angle II klases grupā audu paraugos, kas iegūti no *tuber maxillae* un *ramus mandibulae* priekšējā daļas.

48. tabula. Augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu un gēnu proteīnu ekspresijas vidējie rādītāji žokļu kaulos pacientu grupās (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 0/+ - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, + - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, +/+ - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, ++ - vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, ++/+++ - vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, +++ - ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, TM – *tuber maxillae*, RMPD – *ramus mandibulae* priekšējā daļa, RMMD – *ramus mandibulae* mugurējā daļa). Ar sarkanu izcelti marķieri, kuru ekspresija statistiski ticami atšķīrās.

	Angle II klase					Angle III klase					Kontrole				
	TM	RMPD	RMMD	Gļotāda		TM	RMPD	RMMD	Gļotāda		TM	RMPD	RMMD	Gļotāda	
				Epitēlijs	Saistaudi				Epitēlijs	Saistaudi				Epitēlijs	Saistaudi
TGF-β	+++	+++	+	+++	+++	++/+++	+	+++	+++	++	+++	++/+++	-	+++	+++
BMP2/4	0/+	+	+	0	+	+	+	+++	+	+/+	+	++	-	0	0/+
FGFR1	+	+	+	++	+++	++	+	+++	+++	+++	-	-	-	-	-
VEGF	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0
OC	+++	++	+	-	-	+++	+	-	-	-	++/+++	+++	-	-	-
OP	+/+	+/+	+/+	-	-	++	0/+	-	-	-	+++	+++	-	-	-
MMP2	0	0/+	0	0	0	0/+	0	0	0	0/+	0	0	-	0	0
barx1	0/+	0/+	+	+/+	+	0/+	0/+	0/+	+	+	+++	++/+++	-	+	0/+
msx2	0	0/+	0	+	0/+	0/+	0/+	0	+	+	0	0/+	-	0	0
wnt1	0	0	0/+	+	0	0	0	0	0/+	+	+/+	0	-	++	+

6.3.5. Apoptozes atradne

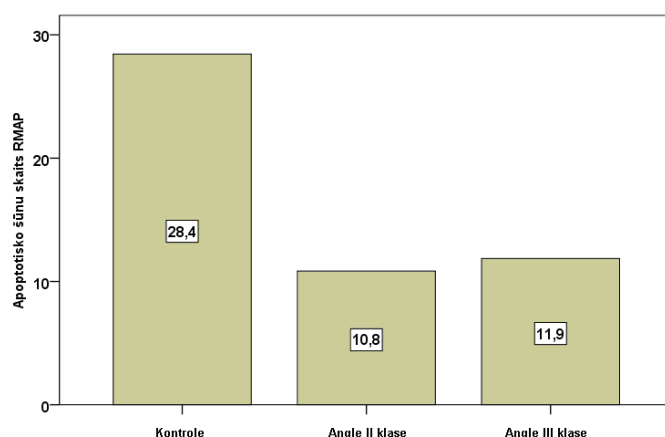
Analizējot vidējo apoptotisko šūnu skaitu kaulaudos no *tuber maxillae* Angle II, Angle III (skat. 38. mikrofotogrāfiju pielikumā) un kontroles pacientu grupās konstatējām, ka lielāks apoptotisko šūnu skaits bija kontroles grupā (vidējā vērtība $25,89 \pm 11,34$). Angle II un Angle III klases pacientiem apoptotisko šūnu skaits bija praktiski vienāds un mazāks nekā kontroles grupā (vidējās vērtības attiecīgi $9,42 \pm 19,56$ un $9,25 \pm 9,53$, skat. 39. mikrofotogrāfiju pielikumā). Pārbaudot statistisko hipotēzi par vidējā šūnu skaita vienādību pacientu grupās ar dispersiju analīzi ieguvām, ka vidējās vērtības grupās ir statistiski būtiski atšķirīgas audos no *tuber maxillae* ($F = 3,784$; $p = 0,038$). Apoptozes šūnu skaits, kas noteikts ar TUNEL metodi, kaulaudos no *tuber maxillae* Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupās redzams 19. attēlā.



19. attēls. Vidējais apoptotisko šūnu skaits audos no *tuber maxillae* Angle II, Angle III un kontroles pacientu grupās.

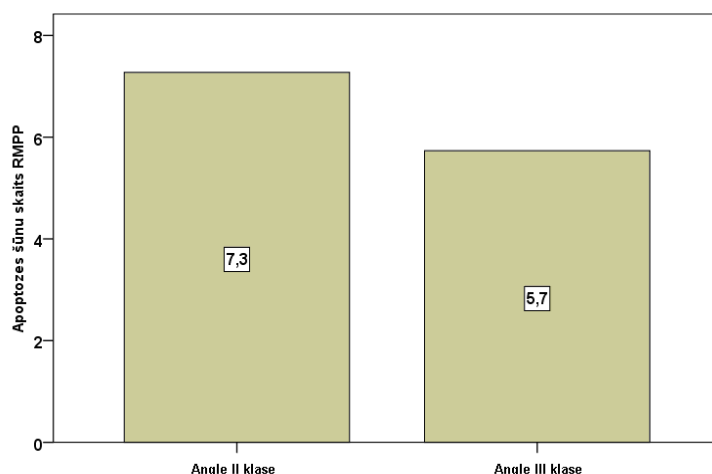
Arī audu materiālā no *ramus mandibulae* priekšējās daļas apoptotisko šūnu skaits kontroles grupā bija vislielākais (vidējā vērtība $28,44 \pm 6,45$, skat. 40. mikrofotogrāfiju pielikumā), bet Angle III (skat. 41. mikrofotogrāfiju pielikumā) un Angle II klases pacientiem apoptotiskās šūnas novērojām mazākā apjomā. Līdzīgi kā audos no *tuber maxillae*, arī *ramus mandibulae* priekšējā daļā, salīdzinot vidējo apoptotisko šūnu skaitu Angle II un Angle III klases pacientu grupās, konstatējām, ka rezultāti bija līdzīgi (vidējās vērtības attiecīgi $10,84 \pm 10,52$ un $11,86 \pm 13,38$). Apoptozes šūnu skaits, kas noteikts ar TUNEL metodi, kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas redzams 20. attēlā.

Pārbaudot statistisko hipotēzi par vidējā šūnu skaita vienādību pacientu grupās ar dispersiju analīzi ieguvām, ka vidējo vērtību atšķirības grupās nav statistiski būtiskas ($F = 2,933$; $p = 0,067$). Redzams arī, ka atšķirās tikai kontroles grupas vidējā vērtība.



20. attēls. Vidējais apoptotisko šūnu skaits *ramus mandibulae* priekšējā daļā Angle II, Angle III un kontroles pacientu grupās.

Apoptotisko šūnu skaits *ramus mandibulae* mugurējā daļā bija noteikts tikai Angle II klases un Angle III klases pacientu grupās (vidējās vērtības attiecīgi bija $7,27 \pm 11,74$ un $5,73 \pm 5,19$ šūnas).

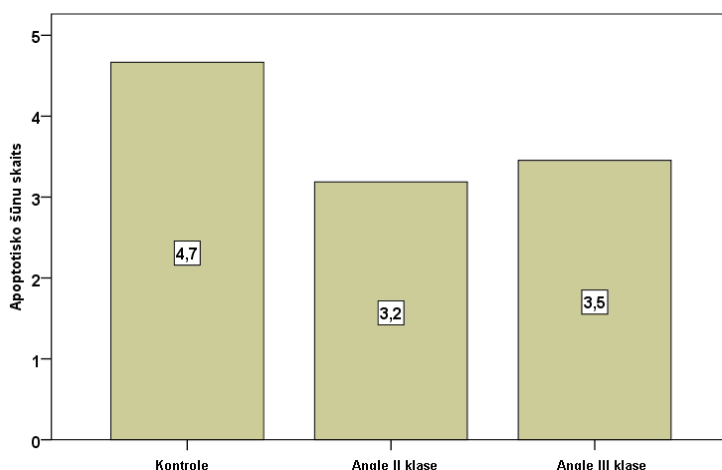


21. attēls. Vidējais apoptotisko šūnu skaits *ramus mandibulae* mugurējā daļā Angle II un Angle III klases grupās.

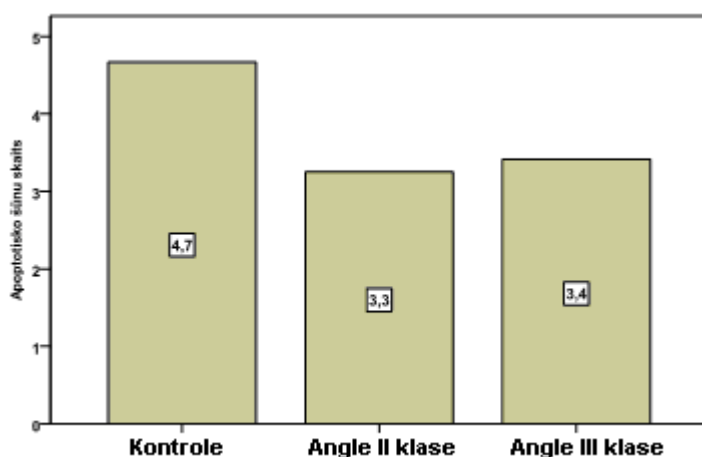
21. attēlā varam redzēt, ka nedaudz mazāks apoptotisko šūnu skaits bija Angle III klases pacientu grupā. Pēc neatkarīgu izlašu t testa vidējais šūnu skaits grupās statistiski ticami neatšķīrās ($t = 0,277$; $df = 14$; $p = 0,786$). Tā kā izlasēm standartnovirzes ir salīdzināmas ar vidējo vērtību, kas ir pazīme, ka datu sadalījums neatbilst normālajam varbūtību sadalījumam, tad veica arī neparametrisko analīzi.

Divu neatkarīgu izlašu vidējo rangu salīdzināšanai izmantojām Manna-Vitnija (Mann-Whitney) testu un ieguvām, ka Angle II klases un Angle III klases pacientu grupās vidējie

rangi bija attiecīgi 7,68 un 10,30 un tie statistiski ticami neatšķiras ($Z = 1,026$; $p = 0,305$).



22. attēls. Vidējais apoptotisko šūnu skaits gļotādas epitēlijā Angle II, Angle III un kontroles pacientu grupās.



23. attēls. Vidējais apoptotisko šūnu skaits gļotādas saistaudos Angle II, Angle III un kontroles pacientu grupās.

Analizējot vidējo apoptotisko šūnu skaitu konstatējām, ka gan gļotādas epitēlijā (skat. 42. mikrofotogrāfiju pielikumā), gan saistaudos Angle III klases un Angle II klases grupas pacientu audu paraugos apoptozes skarto šūnu skaits bija aptuveni vienāds, bet nedaudz mazāks nekā kontroles grupā (skat. 22. un 23. att.).

6.3.6. Imūnhistoķīmisko rezultātu savstarpējās korelācijas

Iegūtie imūnhistoķīmisko pētījumu rezultāti, apvienojot visu pētījuma grupu pacientu datus, tika analizēti, lai noteiktu savstarpējās korelācijas, un tika konstatētas vairākas morfoloģisko rādītāju relatīvā daudzuma savstarpējās saistības.

Kaulaudu materiālā no *tuber maxillae* korelēja vairāki rādītāji (skat. 49. tabulu). Statistiski ticamu **ciešu pozitīvu korelāciju konstatējām starp wnt1 gēnu proteīnu un barx1 gēnu proteīnu ekspresiju** ($p = 0,001$; $r = 0,665$).

Tāpat konstatējām statistiski ticamu **ciešu pozitīvu korelāciju starp wnt1 gēnu proteīnu ekspresiju un apoptozi** ($p = 0,001$; $r = 0,845$). Konstatējām, ka **palielinoties wnt1 gēnu proteīnu pozitīvo struktūru daudzumam audos no *tuber maxillae*, pieaug arī barx1 gēnu proteīnu ekspresija un tiek novērots lielāks apoptotisko šūnu skaits**.

49. tabula. Augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes savstarpējo korelāciju koeficienti (r) un būtiskuma (nozīmības) līmeņi (p) audos no *tuber maxillae* (TM), kur (*), ja $p \leq 0,05$, (**), ja $p \leq 0,001$.

		TGF- β TM	BMP2/4 TM	FGFR1 TM	OC TM	MMP2 TM	barx1 TM	msx2 TM	wnt1 TM	TUNEL TM
BMP2/4 TM	r	0,415	1							
	p	*0,035								
FGFR1 TM	r	-0,070	0,077	1						
	p	0,764	0,748							
OC TM	r	0,512	0,288	-0,449	1					
	p	*0,036	0,279	0,166						
MMP2 TM	r	0,087	0,308	-0,309	0,270	1				
	p	0,701	0,175	0,213	0,397					
barx1 TM	r	0,227	0,187	0,033	0,379	0,255	1			
	p	0,323	0,429	0,897	0,251	0,264				
msx2 TM	r	-0,108	-0,158	0,321	0,083	-0,157	-0,286	1		
	p	0,642	0,506	0,194	0,808	0,496	0,208			
wnt1 TM	r	0,239	0,306		0,203	-0,114	0,665	-0,171	1	
	p	0,297	0,190		0,550	0,622	**0,001	0,459		
TUNEL TM	r	0,287	0,249	0,615	0,272	-0,296	0,736	-0,082	0,845	1
	p	0,249	0,352	*0,025	0,393	0,325	**0,004	0,790	**0,001	

Analizējot savstarpējās korelācijas, konstatējām arī, ka pastāv **vidēji cieša statistiski ticama pozitīva korelācija starp transformējošo augšanas faktoru β (TGF- β) un kaula morfoģenētisko proteīnu 2/4 (BMP2/4) ekspresiju** ($p = 0,035$; $r = 0,415$), kā arī starp **TGF- β un osteokalcīna izdali** ($p = 0,036$; $r = 0,512$).

Palielinoties apoptotisko šūnu skaitam *tuber maxillae* kaulaudos, paralēli pieaug arī fibroblastu augšanas faktora receptora 1 (FGFR1) daudzums audos, kas uzrāda vidēji ciešu statistiski ticamu pozitīvu korelāciju ($p = 0,025$; $r = 0,615$).

Analizējot korelācijas audu materiālā no *ramus mandibulae* priekšējās daļas (skatīt 50. tabulu) atradām statistiski ticamu **ciešu pozitīvu korelāciju starp TGF-β un BMP2/4** ($p = 0,008$; $r = 0,427$), kā arī TGF-β un Barx1 ($p = 0,001$; $r = 0,663$).

50. tabula. Augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricē proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes savstarpējo korelāciju koeficienti (r) un būtiskuma (nozīmības) līmeņi (p) audos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas (RMPD), kur (*), ja $p \leq 0,05$, (**), ja $p \leq 0,001$.

		TGF-β RMPD	BMP2/4 RMPD	FGFR1 RMPD	OC RMPD	MMP2 RMPD	barx1 RMPD	msx2 RMPD	wnt1 RMPD	TUNEL RMPD
BMP2/4 RMPD	r	0,427	1							
	p	**0,008								
FGFR1 RMPD	r	-0,037	-0,073	1						
	p	0,836	0,691							
OC RMPD	r	0,522	0,246	-0,057	1					
	p	*0,018	0,309	0,835						
MMP2 RMPD	r	0,083	0,486	-0,064		1				
	p	0,708	*0,019	0,794	,000					
barx1 RMPD	r	0,663	0,280	-0,175	0,874	-0,103	1			
	p	**0,001	0,207	0,488	*0,023	0,658				
msx2 RMPD	r	-0,093	-0,161	-0,141	0,000	-0,029	-0,157	1		
	p	0,680	0,475	0,577	1,000	0,902	0,497			
wnt1 RMPD	r	0,466	0,444		0,603	-0,106	0,705	-0,067	1	
	p	*0,025	*0,034	0,000	0,205	0,638	**0,001	0,768		
TUNEL RMPD	r	0,548	0,502	0,036	0,130	-0,251	0,897	-0,337	0,719	1
	p	**0,003	**0,009	0,865	0,595	0,387	**0,001	0,239	**0,003	

Palielinoties TGF-β izdālei, pieaug apoptotisko šūnu skaits, jo šie abi rādītāji korelēja savā starpā ar statistiski ticamu ciešu pozitīvu korelāciju ($p = 0,003$; $r = 0,548$). Konstatējām arī, ka audos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas pastāv statistiski ticama **cieša pozitīva korelācija starp apoptotisko šūnu skaitu un BMP2/4 ekspresiju** ($p = 0,009$; $r = 0,502$). Statistiski ticamu **ciešu pozitīvu korelāciju atradām starp gēnu proteīniem barx1 un wnt1** ($p = 0,001$; $r = 0,705$), kā arī **pieaugot apoptotisko šūnu skaitam, palielinās barx1** ($p = 0,001$; $r = 0,897$) un **wnt1 ekspresija** ($p = 0,003$; $r = 0,719$).

Starp dažiem rādītājiem *ramus mandibulae* priekšējās daļas kaulaudos konstatējām statistiski ticamu **vidēji ciešu pozitīvu korelāciju, piemēram, starp TGF-β un osteokalcīna**

ekspresiju ($p = 0,018$; $r = 0,522$), kā arī starp augšanas faktoru **TGF- β un wnt1 gēnu proteīnu** ($p = 0,025$; $r = 0,466$). Tāpat **korelē wnt1 gēnu proteīns ar BMP2/4** pozitīvo struktūru daudzumu ($p = 0,034$; $r = 0,444$) un **BMP2/4 izdale ar MMP2** ekspresiju ($p = 0,019$; $r = 0,486$).

51. tabula. Augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, gēnu proteīnu un apoptozes savstarpējo korelāciju koeficienti (r) un būtiskuma (nozīmības) līmeņi (p) audos no *ramus mandibulae* mugurējās daļas (RMMD), kur (*), ja $p \leq 0,05$, (**), ja $p \leq 0,001$.

		TGF- β RMMD	BMP2/4 RMMD	FGFR1 RMMD	OC RMMD	barx1 RMMD	wnt1 RMMD	TUNEL RMMD
BMP2/4	r	0,121	1					
RMMD	p	0,694						
FGFR1	r	0,595	0,052	1				
RMMD	p	*0,041	0,867					
OC	r	0,943	0,500	0,866	1			
RMMD	p	0,057	0,667	0,333				
barx1	r	0,229	0,111	0,424		1		
RMMD	p	0,710	0,813	0,402				
wnt1	r	0,624	0,000			0,764	1	
RMMD	p	0,135	1,000			*0,046		
TUNEL	r	0,045	0,515	-0,136	0,730	0,918	0,635	1
RMMD	p	0,890	0,105	0,674	0,161	*0,028	0,125	

Augšanas faktora **TGF- β daudzums** pētāmo pacientu kaulaudos **no *ramus mandibulae* mugurējās daļas statistiski ticami vidēji cieši pozitīvi korelē ar FGFR1 ekspresiju** ($p = 0,041$; $r = 0,595$). Angle II, Angle III un kontroles grupas pacientiem, kuriem novēroja **lielāku barx1 gēnu proteīna ekspresiju, lielāka bija arī wnt1 izdale** ($p = 0,046$; $r = 0,746$), salīdzinot ar pacientiem, kuriem barx1 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā bija pozitīva reti vai maz. **Vidēji cieša statistiski ticama korelācija bija konstatējama arī starp barx1 un apoptotisko šūnu skaitu** ($p = 0,028$; $r = 0,918$), skat. 51. tabulu.

Pētītajos morfoloģiskajos parametros neatradām ne statistiski ticamas ciešas, ne vidēji ciešas pozitīvas korelācijas gļotādas epitēlijā, kas iegūts no apakšžokļa otro molāru rajona (skat. 52. tabulu).

Arī gļotādas saistaudos (skat. 53. tabulu) pastāv vidēji **cieša statistiski ticama pozitīva korelācija starp apoptotisko šūnu skaitu un wnt1 gēnu proteīna ekspresiju** ($p = 0,025$; $r = 0,542$), kā arī **vidēji cieša statistiski ticama negatīva korelācija starp MMP2**

ekspresiju un wnt1 gēnu proteīna izdali ($p = 0,014$; $r = -0,570$), kur samazinoties MMP ekspresijai, pieaug wnt1 pozitīvo struktūru relatīvais skaits un otrādi.

52. tabula. Augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes savstarpējo korelāciju koeficienti (r) un būtiskuma (nozīmības) līmeņi (p) gļotādas epitēlijā, kur (*), ja $p \leq 0,05$, (**), ja $p \leq 0,001$.

		TGF- β Epitēlijs	BMP2/4 Epitēlijs	FGFR1 Epitēlijs	MMP2 Epitēlijs	barx1 Epitēlijs	msx2 Epitēlijs	wnt1 Epitēlijs	VEGF Epitēlijs
FGFR1 Epitēlijs	r	-0,164	0,288	1					
	p	0,404	0,219						
MMP2 Epitēlijs	r	0,202			1				
	p	0,438							
barx1 Epitēlijs	r	0,297			0,291	1			
	p	0,231			0,275				
msx2 Epitēlijs	r	0,351			-0,029	0,332	1		
	p	0,153			0,915	0,179			
wnt1 Epitēlijs	r	0,058			-0,329	0,040	-0,206	1	
	p	0,819			0,198	0,876	0,413		
VEGF Epitēlijs	r	-0,102			-0,071	0,001	-0,096	0,083	1
	p	0,718			0,800	1,000	0,734	0,751	
TUNEL Epitēlijs	r	-0,172	0,195	-0,144	-0,266	0,168	-0,099	0,599	-0,289
	p	0,390	0,423	0,523	0,337	0,534	0,715	0,014	0,338

53. tabula. Augšanas faktoru, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes savstarpējo korelāciju koeficienti (r) un būtiskuma (nozīmības) līmeņi (p) gļotādas saistaudos, kur (*), ja $p \leq 0,05$, (**), ja $p \leq 0,001$.

		TGF β Saistaudi	BMP2/4 Saistaudi	FGFR1 Saistaudi	MMP2 Saistaudi	barx1 Saistaudi	msx2 Saistaudi	wnt1 Saistaudi
BMP2/4 Saistaudi	r	0,327	1					
	p	0,090						
FGFR1 Saistaudi	r	-0,170	0,272	1				
	p	0,370	0,221					
MMP2 Saistaudi	r	-0,206	0,524	-0,679	1			
	p	0,398	0,098	0,008				
barx1 Saistaudi	r	0,277	0,244	0,140	0,214	1		
	p	0,238	0,470	0,618	0,394			
msx2 Saistaudi	r	0,185	0,422	-0,203	-0,019	0,194	1	
	p	0,435	0,196	0,469	0,942	0,413		
wnt1 Saistaudi	r	0,192	-0,038	0,378	-0,570	0,031	0,228	1
	p	0,417	0,913	0,165	*0,014	0,896	0,334	
TUNEL Saistaudi	r	-0,182	-0,061	0,117	-0,401	0,227	0,173	0,542
	p	0,353	0,797	0,596	0,124	0,381	0,507	*0,025

7. DISKUSIJA

Žokļu morfoloģija literatūrā parasti aprakstīta vispārējā veidā, galvenokārt pievēršot uzmanību embriogēzei un postnatālai attīstībai vecuma aspektā. Ir iezīmētas arī aktīvākas un mazāk aktīvas žokļu augšanas zonas. Aktīvās augšanas vietas ir sejas un galvaskausa šuves, apakšžokļa locītavas izaugums, *tuber maxillae*, galvaskausa pamatnes sinhondrozes un alveolārais kauls (Moyers, 1988). Jauniem cilvēkiem, kādi ir mūsu pētījuma un kontroles grupā, remodelēšanās laikā kaula uzslāņošanās (depozīcija) parasti nedaudz pārsniedz noārdīšanos (rezorbciju), tādējādi remodelēšanās laikā kauls pakāpeniski palielinās. Apakšžoklī rezorbcija pārsvarā notiek *ramus mandibulae* priekšējā malā, bet depozīcija – *ramus mandibulae* mugurējā daļā, savukārt augšžokļa priekšējā virsmā norit rezorbcija, bet *tuber maxillae* rajonā – uzslāņošanās (Enlow, 1990). Mūsu pētījuma dati vēlreiz apstiprina šīs pamatnostādnes, tomēr no jauna dod daudz detalizētāku individuālu augšanas un remodelēšanās faktoru ainu, kuru mēģināsim salīdzināt ar pieejamām publikācijām individualizētas, vairāk lokalizētas funkcionālās morfoloģijas jomā par žokļu kauliem un tos sedzošajiem mīkstajiem audiem ortognātiskās ķirurģijas pacientiem, kurus analizējam pa deformāciju grupām (Angle II un Angle III klases deformācijas) un žokļu augšanas zonām (augšžoklī - *tuber maxillae*, apakšžoklī – *ramus mandibulae* priekšējā daļa un *ramus mandibulae* mugurējā daļa).

7.1. Morfoloģiskās izmaiņas audos

Pētījumā analizējot kaulaudu un mīksto audu preparātus, kas krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu, gaismas mikroskopijā konstatējām vairākas pārmaiņas Angle II un Angle III klases grupās.

Smaganu epitēlija virsējos slāņos atradām epiteliocītu perēkļveidīgu vakuolizāciju un šūnu hiperplāziju. Dažos preparātos konstatējām izmaiņas arī bazālajā membrānā, kas bija nevienmērīgi sabiezēta, bet saistaudos bija neliela iekaisuma šūnu infiltrācija. Visiem Angle II un Angle III klases grupas pacientiem tika veikta ārstēšana ar fiksēto brekešu sistēmu un šīs pētījumā atrastās izmaiņas varētu būt saistītas ar apgrūtinātu mutes dobuma higiēnu. Mūsu atrastās izmaiņas gļotādas epitēlijā līdzīgi raksturotas arī citu autoru pētījumos. Kurol (1982) atrada smaganas hiperplāziju un šūnu proliferāciju, kas izzūd dažu mēnešu laikā pēc ortodontiskās regulācijas, kā arī kolagēna zudumu saistaudos. Pērtiķiem pēc 3 – 4 mēnešus ilga ortodontiskā spēka uz zobiem atrada iekaisuma pazīmes smaganās (Wennström, 1987). Savukārt Ristic (2007) atzīmē, ka pieaugušie pacienti ārstēšana ar fiksētām aparatūrām

var palielināt visu periodontoloģisko indeksu vērtības un stimulēt patoloģisko gram–negatīvo baktēriju vairošanos, bet bez destruktīva efekta uz dziļajiem periodonta audiem. Lauriņa, (2009) analizējot morfoloģiskās izmaiņas periodonta audos, konstatē mūsu atradnēm līdzīgas izmaiņas pētījuma grupā, kā arī lielākajā daļā kontroles grupas – smaganas epitēlija hiperplāziju, epiteliālo šūnu vakuolizāciju un iekaisuma šūnu infiltrāciju.

Kontroles grupas pacientu smaganu histoloģiskajos preparātos, kas krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu, gaismas mikroskopijā vairumā gadījumu novērojām smaganu gļotādu bez patoloģiskām izmaiņām.

Tuber maxillae kaulaudi bija ar nevienmērīgu kaula mineralizāciju un konstatējām saistaudu proliferāciju osteonu kanālos. *Ramus mandibulae* priekšējās un mugurējās daļas kaulaudu trabekulas saturēja galvenokārt paralēli lokalizētas kolagēnās šķiedras un haotiski izvietotas osteonu struktūras. Tika arī konstatēta nevienmērīga kaulaudu mineralizācija un asinsvadu sklerotizācija osteonu kanālos. Dažos gadījumos tika atrasta arī normai atbilstoša histoloģiskā aina. Mūsu atradne saistāma ar samazinātu kaulaudu apasiņošanu, kas tādējādi, iespējams, ietekmē augšžokļa un apakšžokļa augšanu pacientiem ar dentofaciālām deformācijām.

Kontroles grupas pacientu kaulaudi audu materiālā no *tuber maxillae*, *ramus mandibulae* priekšējās un mugurējās daļas bija bez izteiktām struktūras izmaiņām un ar normai atbilstošu histoloģisko ainu.

7.2. Augšanas faktori

Literatūrā nav gandrīz nekādu datu par pētīto augšanas faktoru klātbūtni to pacientu kaulaudos, kuriem novēro izteiktas skeletālas disgnātijas, tomēr mūsu iegūtie rezultāti uzrāda dažādu augšanas faktoru atšķirīgu ekspresiju *tuber maxillae*, *ramus mandibulae* priekšējā un mugurējā daļā.

TGF-β lielāka ekspresija mūsu pētījumā bija tieši kontroles grupas pacientiem, norādot uz to, ka Angle II un Angle III klases grupas pacientiem ir novērojama traucēta intramembranozā kaula formēšanās, salīdzinot ar kontroles grupu. Šo secinājumu varētu apstiprināt arī Sporn (1992) atziņa, ka TGF-β spēj nodrošināt līdzsvaru starp kaula rezorbciju un sekojošu kaula jaunveidošanos, bet pacientiem ar dentofaciālajām deformācijām varam novērot zaudētu līdzsvaru starp augšžokļa un apakšžokļa augšanu.

Oka ar līdzautoriem (2008) atzīmē TGF-β svarīgo nozīmi apakšžokļa attīstībā, jo tikai apakšžokļa proksimālās daļas attīstās endohondrālās osifikācijas ceļā, bet viss pārējais

apakšžoklis – intramembranozās osifikācijas ceļā. Pie līdzīgiem secinājumiem nonāk arī Iwata (2010), kas pētīja TGF- β signālu ceļu nozīmi kraniofaciālā attīstībā un atzīmēja, ka traucēts šis signālu ceļš rada defektus kraniālajās nervu kores šūnās. Noslēgumā autors secina, ka TGF- β regulē mehānismus, kas kontrolē intramembranozā kaula attīstību, kā arī regulē osteoprogenitoro šūnu proliferāciju un diferenciāciju intramembranozā kaula formēšanās laikā.

Kaula morfoģenētiskais proteīns (BMP) pēc daudzu autoru domām ir viens no galvenajiem augšanas faktoriem kaula metabolismā (Reddi, 2001; Canalis, 2003; Cheng, 2003; Roberts, 2004; Xiao, 2007) un vislielākā osteogēnā kapacitāte ir BMP-2, -4, -5, -6, -7 un -9 (Xiao, 2007). Cheng (2003), atzīmē, ka gandrīz visi BMP tipi stimulē osteogēni nobriedušiem osteoblastiem, bet BMP-2, BMP-6 un BMP-9 veicina osteoblastu diferenciāciju no mezenhīmas šūnām.

BMP ir nozīmīgs kraniofaciālā skeleta attīstībā gan endohondrālā, gan intramembranozā osifikācijā (Nie, 2006), tomēr cilvēka endohondrālajā un intramembranozajā kaulā atšķirās ekspresētā kaula morfoģenētiskā proteīna izoformas, ko apliecina Suttapreyasri (2006) pētījums, analizējot cilvēka intramembranozo kaulu, kas ņemts no ortognātisko pacientu apakšžokļa (11 pacienti vecumā no 21 līdz 42 gadiem) un salīdzinot ar endohondrālo kaulu no pacientu iegurņa kaula. Autori konstatē, ka cilvēka intramembranozā kaulā vislielāko ekspresiju uzrāda BMP6 (18,1 %), BMP2, -5, -6 un -7 katrs uzrādīja 15-18 % un kopā tas sastādīja 60 % no kopējās BMP ekspresijas. BMP3, -4, -8 un -9 katrs uzrādīja tikai 6 -9 %, savukārt endohondrālā kaulā BMP2 uzrādīja visaugstāko ekspresijas līmeni (27 %), BMP2, -5 un -6 katrs ekspresējās 24 -25 %. Suttapreyasri (2006) iegūtie rezultāti parāda, ka BMP4 ekspresija ir ļoti izteikta intramembranozā kaulā, līdz ar to šie rezultāti saskan ar mūsu pētījuma atradnēm, jo paraugi ņemti no kaula augšanas zonām, kas attīstījušās intramembranozās osifikācijas ceļā.

Daži autori (Zimmerman, 1996; Urist, 1997, Schliephake, 2002) secina, ka BMP savu aktivitāti regulē balstoties uz ekstracelulāro koncentrācijas gradientu. Piemēram, zemā koncentrācijā tas sekmē hemotaksi un šūnu proliferāciju, turpretim augstā koncentrācijā tas veicina šūnu diferenciāciju un kaula formēšanos. Arī Barlow (1997) konstatē, ka BMP2 spēja inducēt gan šūnu proliferāciju, gan šūnu nāvi agrīnos sejas attīstības posmos, un norāda uz šī augšanas faktora dažādiem efektiem dažādās koncentrācijās – lielā koncentrācijā BMP var būt teratogēns, bet zemā – mitogēns. Šo atziņu apstiprina arī Kim (2006), norādot uz BMP regulējošo ietekmi uz apoptozi embrionālās attīstības laikā un spēju lielā koncentrācijā kopā ar MMP izraisīt šūnu nāvi.

Mīkstajos audos konstatējām vāju BMP2/4 ekspresiju, kas apstiprina Ripamonti (2000) atziņu, ka BMP2 ir lokalizēts galvenokārt tikai alveolārajā kaulā, bet tam pieguļošajos mīkstajos audos BMP2 nekonstatē. Autors secina, ka, iespējams, šajos audos ekspresējas citas BMP izoformas.

Gan TGF-β, gan BMP2/4 atradām samērā līdzīgā daudzumā, ar nelielu TGF-β prevalenci, ko varētu izskaidrot ar to, ka abi šie augšanas faktori pieder pie vienas TGF-β supersaimes, kas ietver pašu TGF-β, dažādus kaula morfoģenētiskos proteīnus un aktivīnus. To apstiprina arī mūsu atradne, ka pastāv korelācija starp TGF-β un BMP2/4 ekspresiju – palielinoties transformējošā augšanas faktora β ekspresijai, pieaug arī BMP2/4 ekspresija.

Lielākā daļa pētījumi TGF-β un BMP jomā ir attiecināmi uz distrakcijas osteoģenēzi (Cheung, 2006; Knabe, 2005; Sojo, 2005; Yonezawa, 2006) un autori secina, ka kaulu augšanas faktoru klātbūtne veicina kaula reģenerāciju un remodelāciju, taču nesniedz precīzu atbildi par BMP2/4 un TGF-β nozīmi kaula attīstības procesā.

Marukawa (2006) savā pētījumā, analizējot BMP2 ekspresiju distrakcijas osteoģenēzes laikā trušu apakšžoklī, konstatē, ka šī augšanas faktora ekspresija 7. dienā pēc distrakcijas ir visaugstākā, bet ar tendenci samazināties pēc 14. dienas. 28. dienā BMP2 ekspresija bija vismazākā un autors secina, ka BMP2 ir svarīga loma nenobriedušu osteoblastu un hondrocītu nobriešanā, kā arī kaulaudu reģenerācijā. Arī Knabe (2005) konstatēja BMP 2, -4, -7, TGF-β un citus augšanas faktorus distrakcijas osteoģenēzes zonā cilvēka kaulā.

Jāatzīmē, ka TGF-β un BMP2/4 lielāka ekspresija tika konstatēta Angle III klases pacientiem augšžoklī *tuber maxillae* rajonā, kas it kā ir pretrunā ar klīnisko ainu, jo Angle III klases pacientiem biežāk novēro apakšžokļa prognātiju jeb makromandibulismu pēc Obwegeser (1993).

Mūsu pētījumā Angle III klases grupā no 20 pacientiem 6 pacientiem žokļu attiecību novirzi radīja apakšžokļa prognātija un 2 pacientiem – augšžokļa retrognātija, bet 12 pacientiem apakšžokļa prognātija un augšžokļa retrognātija kopā. Līdzīgi ir arī Angle II klases pacientiem, kuriem ir traucēta apakšžokļa augšana kombinējoties ar normālu vai pastiprinātu augšžokļa augšanu, taču mēs varam novērot, ka kaulu augšanu stimulējošie faktori uzrāda lielāku ekspresiju tieši apakšžoklī pie Angle II klases. Šo parādību varētu izskaidrot ar traucējumiem attiecīgo augšanas faktoru receptoros, bet, lai varētu apstiprināt šo hipotēzi, nepieciešams veikt arī attiecīgo augšanas faktoru receptoru imunohistoķīmisko reakciju analīzi.

Fibroblastu augšanas faktoram (FGF) un tā receptoriem (**FGFR**) ir nozīme dažādos atšķirīgos šūnu procesos, piemēram, hemotaksē, šūnu migrācijā, diferenciācijā un apoptozē (Böttcher, 2005). Mūsu pētījumā mēs atradām bagātīgu FGFR1 ekspresiju tieši mutes dobuma gļotādā – gan epitēlijā, gan saistaudos. Funato (1997) savā pētījumā konstatē, ka bFGF ir iespējamais miofibroblastu apoptozes ierosinātājs žurku aukslējās rētu formēšanās laikā un FGFR ir atbildīgs par apoptozes indukciju. Šī atradne saskan ar Krivickas – Uzkuřeles (2008) atziņu, jo, pētot audus bērniem ar aukslēju šķeltnēm, tika konstatēta bagātīga FGFR1 ekspresija gan cietajās, gan mīkstajās aukslējās, kas norāda uz FGF lomu audu reģenerācijas procesos. Vairāki autori ziņo par fibroblastu augšanas faktora nozīmi angioģenēzē, stimulējot endoteliālo šūnu proliferāciju (Folkman, 1992; Powers, 2000). Līdz ar to mēs varam secināt, ka mūsu pētījumā iesaistīto pacientu mutes dobuma gļotādai raksturīgs pietiekošs reģenerācijas potenciāls.

Mūsu pētījumā FGFR1 ekspresija kaulaudos no *tuber maxillae*, *ramus mandibulae* priekšējās un mugurējās daļas ir relatīvi vienāda Angle II un Angle III klases grupās ar maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā. Ornitz (2007) atzīmē, ka intramembranozā kaula formēšanās laikā, kāds ir arī apakšžoklis un augšžoklis, FGFR1 ekspresija tiek novērota galvaskausa mezenhīmā un vēlākā periodā arī osteoblastos, savukārt, analizējot endohondrālās izcelsmes kaulaudus, Ornitz norāda uz FGFR1 ekspresiju hipertrofiskos hondrocītos un šī augšanas faktora receptora lomu hondrocītu diferenciācijā. Jacob ar līdzautoriem (2006), analizējot FGFR1 konstatē, ka šim augšanas faktora receptoram ir nozīme balansa saglabāšanā starp kaulaudu formēšanos un remodelāciju, ietekmējot šo līdzsvaru caur osteoblastu nobriešanu - nenobriedušiem osteoblastiem FGFR1 deficīts palielina šūnu proliferāciju un aizkavē diferenciāciju, bet diferencētiem osteoblastiem FGFR1 trūkums stimulē kaula mineralizāciju, tādējādi kaulā tiek samazināta anaboliskā aktivitāte un palēnināta diferenciācija (mineralizācija). Tā kā minētā augšanas faktoru receptoru ekspresija mūsu pētījumā ir nedaudz samazināta Angle II klases pacientiem kaulaudos no *tuber maxillae* un *ramus mandibulae* mugurējā daļā, salīdzinot ar Angle III klases grupu, domājams, ka dentofaciālo deformāciju gadījumos novērojams traucēts kaulaudu remodelācijas potenciāls.

Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF) ir spējīgs stimulēt vaskularizāciju (Carano, 2003) un daži autori uzrāda arī šī faktora nozīmi osifikācijā, it īpaši endohondrālā kaula formēšanās laikā (Carlevaro, 2000; Ferrara, 2000; Street, 2002; Shum, 2004; Dai, 2007). Apakšžokļa locītavas izaugumā hipertrofiskie hondrocīti sekretē VEGF, kas regulē jauno asinsvadu invāziju. Pa šiem asinsvadiem uz mineralizācijas vietu tiek

piegādātas progenitorās mezenhimālās šūnas, kas vēlāk diferenciējas par osteoblastiem un osteoklastiem, kuri ir iesaistīti endohondrālā osifikācijā (Rabie, 2002). Līdzīgus rezultātus uzrāda Sojo (2005) pētījums, kurā tika analizēta VEGF ekspresija žurku augšstilba kaulā pēc distrakcijas. Audu paraugi, kas ņemti distraktora ievietošanas laikā, neuzrādīja VEGF ekspresiju, bet piektajā distrakcijas dienā VEGF ekspresiju uzrādīja endoteliālās šūnas, hipertrofiskie hondrocīti un fibroblasti, tomēr 14. dienā VEGF izdale samazinājās.

Deckers (2000) ziņo, ka histoloģiski izmeklējot jaunveidotu kaulu, osteoblasti un to priekšteči vienmēr attīstās kopā ar endoteliālām šūnām jaunveidotos asinsvados. Šī atziņa savukārt saskan ar Erlebacher (1995) secinājumu, ka kapilāru endoteliālās šūnas nodrošina mikrovaskularizāciju kaula formēšanās laikā.

Analizējot mūsu pētījuma audu paraugus, VEGF atradām tikai vienā no 38 paraugiem un konstatējām nelielu daudzumu pozitīvo struktūru redzes laukā, bet visos pārējos paraugos no *tuber maxillae*, *ramus mandibulae* priekšējās un mugurējās daļas, kā arī mutes dobuma gļotādas epitēlijā un saistaudos netika atrasta neviena pozitīva struktūra redzes laukā. Ņemot vērā to, ka tikai vienā audu paraugā konstatējām vāju šī faktora ekspresiju, netika veikta pilnīgi visu audu paraugu imunohistoķīmiskā apstrāde.

Iespējams, šim augšanas faktoram nav regulatoras nozīmes žokļu kaulu remodelēšanās procesā skeletālas Angle II un Angle III klases pacientiem pētītajā vecuma grupā. Vairāki autori atzīmē VEGF nozīmi endohondrālā kaula osifikācijā (Carlevaro, 2000; Kleinheinz, 2005; Sajo, 2005), ar ko varētu būt izskaidrojams VEGF ekspresijas trūkums audos no *tuber maxillae* un *ramus mandibulae* priekšējās un mugurējās daļas, jo mūsu pētījumā izmantotie kaulaudi no *tuber maxillae* augšžoklī un *ramus mandibulae* priekšējā un mugurējā daļa apakšžoklī attīstās intramembranozās osifikācijas ceļā.

7.3. Kaula ekstracelulārās matricē proteīni

Embriogēnēzē un cilvēka dzīves laikā nekolagēniem ekstracelulārās matricē proteīniem ir svarīga nozīme kaula metabolismā, tomēr to ekspresija nobriedušā cilvēka kaulā nav plaši pētīta. Mūsu pētījumā osteopontīna un osteokalcīna bagātīgu ekspresiju konstatējām kaulaudos no *tuber maxillae*, bet neredzējām vājāku izdali *ramus mandibulae* priekšējā un mugurējā daļā.

Osteopontīns tiek uzskatīts par kaula matricē formēšanās agrīnu marķieri, bet osteocalcīns par vēlīnu marķieri (Butler, 1989). George (2009), analizējot pacientus ar dažādas pakāpes sakņu reorbciju, atklāj osteopontīna klātbūtni smaganu rievās šķīdumā, kā

arī ziņo, ka osteopontīnu izdala osteoblasti, odontoblasti, osteoklasti un makrofāgi. Sasano ar līdzautoriem (2000) atzīmē, ka kaula matrices proteīni turpina akumulēties kaula matricē pēc embrionālās osteoģenēzes un, kaulam arviem izplešoties, osteopontīns uzkrājas vairāk kaula perifērijā, kas sastāv no nenobriedušiem matrices komponentiem, bet kaula centrālā daļā, kas ir vairāk nobriedusi, novēro mazāk intensīvu proteīna klātbūtni. Šie dati sasaucas ar mūsu pētījuma atradnēm, jo osteopontīna izdales intensitāte bija relatīvi vienmērīga visā kaulā ar nedaudz izteiktāku ekspresiju periosta tuvumā. Kaut gan nav noliedzama OP loma kaula formēšanās laikā, osteopontīns tiek ekspresēts arī hipertrofiskos hondrocītos un Hinton (2009) ar imūnhistoķīmisko reakciju tehniku identificē OP peļu apakšžokļa locītavas izauguma skrimsli.

Osteokalcīnu izdala nobrieduši osteoblasti, odontoblasti un hondrocīti. Chenu ar līdzautoriem (1994) norāda, ka osteokalcīns darbojas kā kaula matrices specifisks signāls un stimulē cilvēka osteoklastu migrāciju un adhēziju. Autori secina, ka osteokalcīnam, kas ir specifisks kaula matrices proteīns, ir nozīme rezorbcijas procesā.

Mūsu rezultāti uzrāda bagātīgu osteokalcīna ekspresiju kaulā no *tuber maxillae* Angle III klases pacientiem, bet mazāk izteiktu OC izdales intensitāti *ramus mandibulae* priekšējā un mugurējā daļā un tas sasaucas ar šo pacientu klīniskām pazīmēm, jo tiem novēro palielinātu apakšžokļa augšanu un/vai normai atbilstošu vai aizkavētu augšžokļa augšanu, norādot, ka šiem pacientiem varētu būt traucējumi osteokalcīna signālu ceļā kaula remodelēšanās procesā. Ducey ar līdzautoriem (1996) savā pētījumā ar pelēm bez aktīva osteokalcīna gēna atzīmēja lielāku kaula masu un uzlabotu funkcionālo kvalitāti, kā arī palielinātu osteoklastu skaitu, norādot uz iespējamu vāju osteoklastu funkcionālo aktivitāti.

7.4. Matrices metaloproteināzes

Mūsu pētījumā audu paraugos no *tuber maxillae*, kā arī kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas, bija konstatējama vāji izteikta MMP2 ekspresija, jo Angle III klases pacientu grupā tikai divos paraugos tika atrastas dažas pozitīvas struktūras redzes laukā. Arī Angle II klases pacientu grupā MMP2 ekspresija bija vāji izteikta ar dažām pozitīvām struktūrām redzes laukā. Kontroles grupā nevienā audu paraugā nekonstatējām MMP2 ekspresiju.

MMP ir enzīmi, kas pieder pie degradācijas faktoriem un spēj šķelt dažādus ekstracelulārās matrices komponentus (Verma, 2007), līdz ar to MMP piedalās daudzos bioloģiskos procesos, kā, piemēram, angioģenēzē (George, 2004), audu reģenerācijā un

apoptozē (Lemaitre, 2006). Ganea ar līdzautoriem (2007) analizējot MMP secina, ka MMP ekspresija un aktivitāte pieaugušo cilvēku audos normā ir samērā zema, bet ievērojami palielinās dažādu patoloģisku procesu gadījumos, kas rada audu destruktiju, piemēram, iekaisuma slimībās, audzēju attīstībā un metastāžu izplatībā.

Haeusler ar līdzautoriem (2005), analizējot MMP ekspresiju bērnu un jauniešu lielā liela kaula epifizārā skrimšļa augšanas zonā, konstatē dažādas MMP izoformas gan osteoblastos un osteoklastos, gan hipertrofiskos hondrocītos un secina, ka matrices metaloproteināzes ekspresija, it īpaši MMP14, augšanas zonās ir atrodamā fizioloģiskos apstākļos. To apstiprina arī Alvarez (2005), kurš savā pētījumā, analizējot žurku lielā liela kaula proksimālās daļas, kuras aug endohondrālās osifikācijas ceļā, konstatē matrices metaloproteināžu ekspresiju dažādās epifizārā skrimšļa attīstības stadijās. Breckon (1994) pētot MMP imūnreaktivitāti trušu apakšžokļa locītavas izaugumā, atrod dažādu MMP izoformu ekspresiju gan embrionālās, gan agrīnās postnatālās attīstības laikā.

Visse (2003) un Page-McCaw (2007) atzīmē tieši MMP2 nozīmi osteogēnēzē, jo mutācijas cilvēka gēnos, kas rada aktīvo enzīmu trūkumu, rada retu autosomāli recesīvu saslimšanu – multicentrisko osteolīzi, kurai raksturīga progresējoša skarto kaulu destruktija, rezorbcija un artrīts. Līdz ar to varam secināt, ka mūsu pētījumā konstatētā vāji izteiktā MMP2 ekspresija Angle II klases grupas pacientiem *ramus mandibulae* priekšējā daļā un Angle III klases pacientu grupā *tuber maxillae*, norāda nelielu tendenci uz pastiprinātu kaulu rezorbciju salīdzinot ar kontroles grupu.

Gan mutes dobuma gļotādas epitēlijā, gan saistaudos visās pacientu grupās konstatējām vāji izteiktu MMP2 ekspresiju. Mutes dobuma slimībās MMP izteikta ekspresija novērojama periodonta audu saslimšanās, kariozos bojājumos un periapikālos patoloģiskos procesos (Sorsa, 2004).

7.5. Gēnu proteīni

Barx1 gēnu nozīme kraniofaciālajā attīstībā līdz galam vēl nav izprasta, tomēr ir pētījumi, kas parāda, ka Barx1 gēna ekspresiju attīstības laikā novēro kraniofaciālajā rajonā, it īpaši mezenhīmā (Barlow, 1999).

Audu paraugos no *tuber maxillae* un *ramus mandibulae* priekšējās daļas konstatējām, ka bagātīga barx1 gēna proteīna ekspresija redzama kontroles grupas pacientu kaulaudos, bet Angle II un Angle III klases pacientu grupās šī gēnu proteīna izdale bija daudz vājāka. Analizējot barx1 gēnu proteīnu ekspresiju *ramus mandibulae* mugurējā daļā, konstatējām, ka

gan Angle II, gan Angle III klases grupas pacientiem lielākajā daļā gadījumu *barx1* gēnu proteīnu ekspresija ir vērtējama kā zema, savukārt, analizējot *barx1* gēnu proteīnu ekspresiju gļotādas epitēlijā un saistaudos, galvenokārt atradām nelielu daudzumu pozitīvu struktūru redzes laukā kontroles, Angle II un III klases pacientu grupās.

Barlow ar līdzautoriem (1999) atrod, ka pelēm *Barx1* ekspresija ir novērojama mezenhīmas kondensācijas vietās, piemēram, ožas epitēlijā, ekstremitāšu aizmetņos, molāru mezenhīmā un locītavās, kas atrodas attīstības stadijā. Arī Church (2005) atzīmē *Barx1* ekspresiju cāļu artikulārajā skrimslī, epifizālā augšanas plātnītē, kā arī sejas aizmetņu epitēlijā un mezenhīmā, savukārt ektopiska *Barx1* gēna ekspresija peļu apakšžokļa audos rada apakšžokļa incīsiņu formas izmaiņas (Miletich, 2005). Cilvēkiem *Barx1* gēna plecu (lokusu) dubultošanās vai izžušana, rada kraniofaciālas un locītavu anomālijas, tomēr līdz šim neviena saslimšanu izraisoša gēna mutācija nav identificēta tieši saistībā ar ar šo gēnu (Gould, 2004).

Vairāki autori (Ornitz, 2005; Nie, 2006) uzskata, ka hondroģenēzes laikā FGF un BMP darbojas kā antagonisti, līdzsvarojot šūnu proliferāciju un galējo diferenciāciju. Mugurkaulniekiem FGF8 un BMP2/4 ietekmē *barx1* ekspresiju augšžokļa un apakšžokļa aizmetņos (Barlow, 1999). Sperber (2008) analizējot zebrzivju *viscerocranium* secina, ka iespējams FGF ir nepieciešami, lai regulētu un nodrošinātu *barx1* ekspresiju, bet BMP, ietekmējot *barx1* ekspresiju, ir svarīgs šūnu proliferācijā un agrīnās hondroģenēzes stadijās galvaskausa sejas daļas attīstībā. Šīs atradnes sasaucas ar mūsu konstatēto *barx1* nelielo ekspresiju pacientu ar dentofaciālām deformācijām kaulaudos, salīdzinot ar kontroles grupu, un iespējams norādot uz šī gēnu proteīna nozīmi augšžokļa un apakšžokļa attīstībā.

Msx gēni ir starpnieki epitēlija – mezenhīmas savstarpējā mijiedarbībā. Lallemand ar līdzautoriem (2005), analizējot peles ar *Msx1* un *Msx2* mutācijām, konstatē ekstremitāšu attīstības traucējumus – tās ir īsākas un tām trūkst dažu kaulu, piemēram lielais liela kauls un īkšķi. *Msx* saimes gēniem ir svarīga nozīme arī kraniofaciālo struktūru pareizā attīstībā, jo cilvēkiem un pelēm ar mutācijām *Msx2* gēnos novēro dažādas dentofaciālas anomālijas, piemēram, kraniosinostozes - pāragru galvaskausa šuvju slēgšanos (Barlow, 1997), sejas un aukslēju šķeltnes, apakšžokļa hipoplāziju (Winograd, 1997), kas ir vieni no biežākajiem iedzimtajiem attīstības traucējumiem. Šī atziņa saskan ar Alappat (2003) atradni, jo *Msx1* un *Msx2* tiek ekspresēti galvaskausa, kas vēl atrodas attīstības stadijā, šuvju mezenhīmā, kā arī tā cietajā apvalkā (*dura mater*) un, kamēr *Msx1* ekspresija tiek konstatēta galvaskausa morfoģenēzes postnatālās stadijās, *Msx2* izdale krasī samazinās pēc dzimšanas. Berdal (2009), analizējot *Msx1* un *Msx2* ekspresiju pelēm un konstatē, ka šo gēnu ekspresijas profili

daļēji sakrīt embrionālās attīstības laikā, bet vēlākā periodā parādās atšķirības. Msx1 ekspresiju atrod bazālā kaulā postnatālās attīstības laikā, savukārt vēlākos attīstības posmos Msx2 ekspresija bija spēcīga alveolārā kaulā un epifizālā augšanas skrimslī, bet Msx1 ekspresiju nekonstatēja.

Msx2 ietekme uz osteoblastiem nav līdz galam izpētīta. Ir pētījumi, kas atzīmē, ka Msx2 nomāc nenobriedušu osteoblastu un to priekšteču šūnu diferenciāciju (Liu, 1999), bet citi pētījumi (Ishii, 2003; Ichida, 2004) uzrāda, ka Msx2 veicina osteoblastu diferenciāciju un/vai proliferāciju. Dodig (1999) atzīmē, ka Msx2 tiek ekspresēts mezenhīmā un inhibējoši iedarbojas uz galvaskausa osteoblastu diferenciāciju. Savukārt Berdal (2009) atzīmē Msx gēnu saistību ar osteoblastiem un osteoklastiem, tomēr norāda, ka ietekmes veids ir atkarīgs no anatomiskās lokalizācijas. BMP4 aplikācija var stimulēt Msx1 un Msx2 ekspresiju šuvju mezenhīmā, tādējādi palielinot audu biezumu un iespējams BMP4-Msx signālu ceļš regulē līdzsvaru starp osteogēnām šūnām šuvēs.

Msx2 gēnu proteīnu ekspresija, salīdzinot ar barx1 bija mazāk izteikta un nelielu msx2 gēnu proteīnu ekspresiju konstatējām Angle II klases grupā audos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas un mutes dobuma gļotādas epitēlijā un saistaudos, Angle III klases grupā - *tuber maxillae*, *ramus mandibulae* priekšējā daļā un gļotādā, savukārt kontroles grupā nevienā no analizētajiem paraugiem nekonstatējām msx2 ekspresiju, izņemot dažas pozitīvas struktūras kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas. Ņemot vērā to, ka audu paraugos konstatējām vāju šī faktora ekspresiju, netika veikta pilnīgi visu audu paraugu imunohistoķīmiskā apstrāde.

Apkopojot iegūtos rezultātus, varam secināt, ka msx2 ekspresija iespējams ir vairāk izteikta embriogēnēzē un agrīnos postnatālās attīstības posmos, bet mūsu pētījuma pacientu kaulaudos, kuru vidējais vecums ir $20,64 \pm 3,27$ gadi, kad aktīvā augšana jau ir beigusies, šī gēnu proteīnu ekspresija ir neliela.

Wnt1 gēns pieder pie lielas Wnt gēnu saimes un līdz šim ir atrasti 19 šīs saimes gēni, kas piedalās dažādos bioloģiskos procesos, piemēram, embriogēnēzē, organogēnēzē un audzēju attīstībā (Miller, 2001).

Vairāki autori atzīmē šī gēna proteīnu nozīmi kaula metabolismā. Bodine (2008) konstatē, ka pelēm ar Wnt gēnu darbības traucējumiem tiek ietekmēta osteoblastu proliferācija, diferenciācija, funkcionālā aktivitāte un apoptoze. Issack (2008) savā publikācijā apraksta Wnt signālu ceļu nozīmi kaula masas veidošanā un lūzumu dzīšanā. Daži autori (Hu, 2005; Rodda, 2006) norāda, ka Wnt signālu ceļš vairo kaula formēšanos regulējot

osteoblastu un osteoklastu diferenciāciju un proliferāciju. Rauner (2008), izdalot kaulu smadzeņu šūnas pelēm un inducējot osteogēno diferenciāciju, konstatēja, ka Wnt ekspresija ir dažāda atkarībā no peļu vecuma. Palielinoties vecumam, samazinās Wnt izdale – visaktīvākā tā ir jaunām pelēm (6 nedēļu vecumā), nedaudz mazāka pieaugušām pelēm (6 mēnešu vecumā), bet vismazākā 18 mēnešu vecām pelēm. Tas daļēji sasaucas ar mūsu konstatēto nelielo wnt1 gēnu proteīnu izdali, jo kaulaudos no *tuber maxillae* un *ramus mandibulae* priekšējās daļas, kā arī *ramus mandibulae* mugurejās daļās wnt1 pozitīvas struktūras nekonstatējām nevienā no Angle II un Angle III klases pacientu analizētajiem paraugiem, bet kontroles grupā ekspresija bija vidēja audos no *tuber maxillae*. Visi pētījumā iesaistītie pacienti bija vecumā no 17 līdz 30 gadiem, bet, lai pilnībā apstiprinātu tēzi, ka wnt1 ekspresiju ietekmē vecums, nepieciešams izvērtēt arī jaunāku un vecāku pacientu kaulaudus. Ņemot vērā to, ka audu paraugos konstatējām vāju šī faktora ekspresiju, netika veikta pilnīgi visu audu paraugu imunohistoķīmiskā apstrāde.

Bodine (2008), apkopojot vairāku autoru pētījumu datus, konstatē, ka Wnt ir nozīmīgs kaula šūnu apoptozē, tomēr līdz galam nav noskaidrots kādā apjomā Wnt ietekmē osteoblastus un osteocītu apoptozi, un tādējādi atstāj ietekmi uz kaula pārbūvi. Veicot imunohistoķīmisko rezultātu savstarpējo rezultātu analīzi konstatējām, ka pastāv statistiski ticama cieša korelācija starp wnt1 un apoptotisko šūnu skaitu kaulaudos no *tuber maxillae* un *ramus mandibulae* priekšējā daļā, tādējādi apstiprinot Bodine secinājumu.

7.6. Apoptoze

Pēc piedalīšanās remodelācijas ciklā nobriedušiem osteoblastiem ir trīs dažādi tālākie attīstības ceļi: kļūt par osteocītiem mineralizētā kaula matricē, kļūt par šūnām, kas novietotas augoša kaula ārējā virsmā vienā kārtā un pasargā kaula matrici no osteoklastiem, bet 80% no šūnām kļūst apoptotiskas. Visu šo procesu līdzsvarota darbība nodrošina kaula remodelāciju un pārbūvi (Bodine, 2008). Patreiz ir noskaidrots, ka kaula metabolisma galvenie regulatori, piemēram, TGF- β , BMP, citi augšanas faktori un citokīni, integrīni, estrogēni, glikokortikoloīdi un parathormons, modulējot apoptozes procesu, regulē osteoblastu un osteocītu dzīves ilgumu (Jilka, 2007).

Mūsu pētījumā lielāks apoptotisko šūnu skaits bija kontroles grupas pacientiem gan kaulaudos, gan mutes dobuma gļotādā, salīdzinot ar Angle II un Angle III klases grupām, kurām apoptozes iezīmētās šūnas bija mazāk, bet aptuveni līdzīgā daudzumā. Tas varētu norādīt uz atšķirīgu kaula šūnu dzīves ilgumu pētījuma grupās. Kontroles grupā, iespējams,

kaula pārbūve notiek ātrāk un intensīvāk, bet pacientiem ar dentofaciālām deformācijām, kur apoptozes skarto šūnu bija mazāk, ir traucēti apoptozes procesi un kaula remodelācija noris lēnāk. Jilka (2007) atzīmē, ka apoptozes skarto osteoblastu pelēm ir vairāk nekā cilvēku audu paraugos un izskaidro to ar atšķirīgu osteoblastu dzīves ilgumu. Pelēm vidējais osteoblastu dzīves ilgums ir ~ 12 dienas, bet cilvēka osteoblastiem – apmēram 150 dienas. Tajā pašā laikā autors šo parādību saista arī ar osteoblastu skaitu – jo lielāks ir osteoblastu skaits konkrētā paraugā, jo lielāka iespēja konstatēt apoptotiskas šūnas un pamato to ar Weinstein (2003) pētījumu, kurš atzīmē, ka cilvēkam biopsijas materiālā ir apmēram 20-50 osteoblasti, salīdzinot ar 800-1200 osteoblastiem grauzēju kaulā. Analizējot iegūto rezultātu korelācijas, konstatējām, ka pastāv statistiski ticama cieša korelācija starp TGF- β , BMP2/4 un apoptozes šūnu skaitu – palielinoties TGF- β un BMP2/4 ekspresijai, pieaug arī apoptotisko šūnu skaits audos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas. To varētu apstiprināt Jilka (1998) atziņa, ka TGF- β var ietekmēt ne tikai osteoblastoģenēzi, bet arī osteoblastu dzīves ilgumu un tādējādi arī osteoblastu skaitu metaboliskā pamatvienībā. Arī pašam TGF- β ir divejāda ietekme uz apoptozi. Jilka (1998) un Xing (2005) atzīmē, ka TGF- β aizsargā osteoblastus no apoptozes, samazinot antiapoptisko proteīnu Bcl-2/Bax attiecību, bet Sanchez-Capelo (2005) konstatē, ka TGF- β 1 ietekmētā apoptoze ir atkarīga no šūnu tipa un signālu ceļa. Iespējams TGF- β var inducēt apoptozi, tādējādi eliminējot šūnas, kas nav nobriedušas. Arī Hay (2001) norāda, ka, kaut gan BMP piemīt kaulu formējošas īpašības, tas var veicināt osteoblastu bojāeju, veicinot mitohondriālā citohroma c un kazpāzes -9, -3, -6, un -7 ekspresiju.

8. KOPSAVILKUMS

Apkopojot mūsu pētījuma rezultātus, redzam, ka kaulaudu morfoģenēzē svarīgo augšanas faktoru un to receptoru (TGF- β , BMP2/4, FGFR1 un VEGF), kaula ekstracelulārās matricas proteīnu (OC, OP), deģenerācijas enzīmu (MMP2), gēnu proteīnu (barx1, msx2, wnt1) un apoptozes rādītāji ir atšķirīgi žokļu kaulu augšanas zonās dažādās dentofaciālo deformāciju grupās, kā arī ir izmainīta skeletālas Angle II un Angle III klases pacientu kaulaudu un tiem pieguļošo mīksto audu morfoloģiskā struktūra.

Skeletālas Angle II un Angle III klases pacientu gļotādā atrastās izmaiņas, kas raksturojas ar epiteliocītu perēkļveida vakuolizāciju, šūnu hiperplāziju, bazālās membrānas izmaiņām un iekaisuma šūnu infiltrāciju, norāda uz, iespējams, apgrūtinātu mutes dobuma higiēnu, savukārt pētījuma grupas pacientu kaulaudos novērojamā nevienmērīgā mineralizācija, asinsvadu skleroze un saistaudu proliferācija osteonu kanālos, var norādīt uz

nepietiekošu žokļu kaulu asins apgādi, tādējādi ietekmējot augšžokļa un apakšžokļa augšanu pacientiem ar dentofaciālām deformācijām.

Mūsu pētījuma rezultāti liecina, ka pacientiem ar skeletālām dentofaciālām deformācijām lielāks relatīvais pozitīvo struktūru daudzums ir vispāratzītiem kaulaudu morfoģenēzē nozīmīgiem augšanas faktoriem, kā piemēram, TGF- β un BMP2/4, un kaula ekstracelulārās matricas proteīniem (OP un OC) ar nelielām atšķirībām starp klasēm, norādot uz šo morfoloģisko marķieru specifisku nozīmi balstaudu remodelācijā un pacientu ar dentofaciālām deformācijām kaulaudu attīstībā. FGFR1 līdzīgā un izteiktā izdale mutes dobuma gļotādā visu grupu audu paraugos liecina par šī augšanas faktora receptora nozīmi tieši mīkstajos audos un līdz ar to mēs varam secināt, ka mutes dobuma gļotādai kopumā raksturīgs pietiekošs reģenerācijas potenciāls, kas vērtējams, kā pozitīvs faktors, jo skeletālas Angle II un Angle III klases pacientiem tiek veikta ortognātiskā operācija ar intraorālām ķirurģiskām pieejām un šī faktora izteiktā ekspresija sekmēs ātru mutes dobuma gļotādas atveseļošanos pēc operācijas. Neizteiktā MMP2 ekspresija un praktisks VEGF ekspresijas trūkums norāda, ka izmeklētās vecuma grupas pacientiem abiem šiem faktoriem nav nozīmīga loma skeletālas Angle II un Angle III klasespacientu žokļu kaulu remodelēšanās procesā. Savukārt, apkopojot datus par gēnu proteīnu relatīvo pozitīvo struktūru daudzumu kaulaudos un mīkstajos audos, jāsecina, ka visizteiktākā Barx1 gēnu proteīnu ekspresija, ir pārsvarā gļotādā Angle II un Angle III klases pacientiem, norādot uz to kompensatoro un stimulējošo lomu kaulaudu attīstības veicināšanā. Kaut gan Msx saimes gēnu nozīme ir plaši aprakstīta dažādu sejas un žokļu iedzimtu patoloģiju attīstībā, tomēr mūsu pētījumā šī gēnu proteīnu ekspresija bija samērā neliela un līdzīga ar Wnt1 gēnu proteīnu izdali, kas norāda ka skeletālas Angle II un Angle III klases dentofaciālo deformāciju morfoģenēzē šiem marķieriem ir nebūtiska nozīme pētītās vecuma grupas pacientiem. Vislielākais apoptotisko šūnu skaits kontroles grupas pacientu kaulaudos un mīkstajos audos, bet mazāks un relatīvi vienāds apoptozes iezīmēto šūnu skaits skeletālas Angle II un Angle III klases pacientiem liecina par izjauktu balansu starp šūnu proliferāciju, diferenciāciju un apoptozi pacientiem ar dentofaciālām Angle II un Angle III klases deformācijām.

Kopumā pētījuma rezultāti liecina par morfoloģiski variablu un atšķirīgu augšžokļa un apakšžokļa augšanas zonu un mīksto audu struktūru pacientiem ar Angle II un Angle III klases dentofaciālām deformācijām. Tas klīniski varētu liecināt par žokļu audu reģenerācijas, augšanas faktoru, deģenerācijas faktoru un apoptozes individuāli atšķirīgu atbildes reakciju uz ortodontiskās ārstēšanas mehānisko spēku iedarbību atkarībā no dentofaciālo deformāciju veida un audu remodelācijas potenciāla īpatnību daudzveidības.

9. SECINĀJUMI

1. Saskaņā ar cefalometrijas datiem skeletālas Angle II un Angle III klases pacientu dentofaciālo deformāciju žokļu morfoloģiskā aina ir variabla.
2. Skeletālās Angle II un Angle III klases pacientiem, kuriem tiek veikta ortodontiskā ārstēšana, uz ortognātiskās operācijas laiku smaganu epitēliju raksturo epiteliocītu perēklveida vakuolizācija, šūnu hiperplāzija, bazālās membrānas izmaiņas un iekaisuma šūnu infiltrācija zemepitēlija kārpīņu slānī.
3. Angle II un Angle III klases pacientu kaulaudus raksturo nevienmērīga mineralizācija, asinsvadu skleroze un saistaudu proliferācija osteonu kanālos.
4. Pacientiem ar skeletālām dentofaciālām deformācijām lielāks relatīvais pozitīvo struktūru daudzums ir kaulaudu morfoģenēzē nozīmīgiem augšanas faktoriem, t.i., TGF- β un BMP2/4, ar nelielām atšķirībām starp Angle II un Angle III klasi.
5. No kaulaudiem tuber maxillae rajonā lielāka TGF- β un BMP2/4 ekspresija novērojama Angle III klases un kontroles grupās, salīdzinot ar Angle II klasi, kas, iespējams, liecina par potenciāli iespējamu, bet neizpaukušos kaula augšanu šajā rajonā.
6. Ramus mandibulae priekšējā daļā kaulaudu augšanā svarīgo faktoru (TGF- β un BMP2/4) ekspresija ir augstāka kontroles grupā un Angle II klases pacientiem, savukārt ramus mandibulae mugurējā daļā lielāka TGF- β un BMP2/4 ekspresija ir Angle III klases pacientiem, salīdzinot ar Angle II klasi, kas liecina par saglabātu augšanas potenciālu šajos žokļu kaulu rajonos.
7. FGFR1 līdzīgā izdale un praktisks VEGF ekspresijas trūkums pētītās vecuma grupas pacientu kaulaudos apstiprina abus kā nebūtiskus faktorus skeletālas Angle II un Angle III klases deformāciju skarto žokļu audu remodelēšanās procesā. Tas pats attiecināms arī uz MMP2 neizteikto ekspresiju pacientu un kontroles grupās.
8. Aktīvāka kaula ekstracelulārās matricas proteīnu (osteokalcīna un osteopontīna) ekspresija tuber maxillae rajonā gan Angle II, gan Angle III klases pacientu grupās un atšķirīga ekspresija ramus mandibulae priekšējā daļā, liecina par kaula mineralizācijas un metabolisma aktivitātes izmaiņām, kas, iespējams, raksturo tieši šīs dentofaciālās deformācijas.
9. Barx1 ekspresija pārsvarā gļotādā Angle II un Angle III klases pacientiem, kas atšķiras no kontroles grupā dominējošās ekspresijas kaulaudos, norāda uz iespējamo mīksto audu izdalīto faktoru ietekmi uz kaulaudiem.
10. Apoptotisko šūnu skaita samazinātais un līdzīgais daudzums Angle II un Angle III klases pacientiem liecina par apoptozes procesa traucējumiem ortognātiskās ķirurģijas pacientiem.

10. LITERATŪRA

1. Abe E. Function of BMPs and BMP antagonists in adult bone // *Ann N Y Acad Sci*, 2006; 1068:41-53.
2. Alappat S, Zhang ZY, Chen YP. *Msx* homeobox gene family and craniofacial development // *Cell Research*, 2003; 13(6):429-442.
3. Alaqeel SM, Hinton RJ, Opperman LA. Cellular response to force application at craniofacial sutures // *Orthod Craniofac Res*, 2006; 9:111-122.
4. Altintas A, Saruhan-Direskeneli G, Benbir G, Demir M, Purisa S. The role of osteopontin: A shared pathway in the pathogenesis of multiple sclerosis and osteoporosis // *J Neurol Sciences*, 2009; 276:41-44.
5. Altman DG. Statistics in medical journals: some recent trends // *Stat Med*, 2000; 19(23):3275-89.
6. Alvarez J, Costales L, Serra R, Balbin M, Lopez J. Expression patterns of matrix metalloproteinases and vascular endothelial growth factor during epiphyseal ossification // *J Bone Miner Res*, 2005; 20:1011-1021.
7. Baleman W, Van Hul W. Extracellular regulation of BMP signaling in vertebrates: a cocktail of modulators // *Dev Biol*, 2002; 250(2):231-250.
8. Barlow AJ, Bogardi JP, Ladher R, Francis-West P. Expression of chick *Barx1* and its differential regulation by FGF-8 and BMP signaling in the maxillary primordia // *Developmental Dynamics*, 1999; 214: 291-302.
9. Barlow AJ, Francis – West PH. Ectopic application of recombinant BMP-2 and BMP-4 can change patterning of developing chick facial primordia // *Development*, 1997; 124(2):391-398.
10. Baylink D, Finkelman R, Mohan S. Growth factors to stimulate bone formation // *J of Bone & Mineral Res*, 1993; 8(2):565-572.
11. Berdal A, Molla M, Hotton D, Aïoub M, Lezot F, Nefussi J, Goubin G. Differential impact of *Msx1* and *Msx2* homeogenes on mouse maxillofacial skeleton // *Cells Tissues Organs*, 2009; 189(1-4):126-132.
12. Blair HC, Zaidi M, Schlesinger PH. Mechanisms balancing skeletal matrix synthesis and degradation // *Biochem*, 2002; 364(Pt 2):329-341.
13. Bodine P. Wnt signaling control of bone cell apoptosis // *Cell Res*, 2008; 18:248-253.
14. Boyce BF, Xing L. The RANKL/RANK/OPG pathway // *Curr Osteoporos Rep*, 2007; 5(3):98-104.

15. Brash JC. Some problems in the growth and developmental mechanics of bone // *Edinburgh Med Jour*, 1934; 41(5):305-387.
16. Breckon J, Hembry R, Reynolds J, Meikle M. Regional and temporal changes in the synthesis of matrix metalloproteinases and TIMP-1 during development of the rabbit mandibular condyle // *J Anat*, 1994; 184:99-110.
17. Bubnoff A, Cho K. Intracellular BMP signaling regulation in vertebrates: pathway or network? // *Dev Biol*, 2001; 239:1-14.
18. Butler WT. The nature and significance of osteopontin. *Connect Tissue Res* 1989; 23:123-136.
19. Böttcher R, Niehrs C. Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development // *Endocrine Review*, 2005; 26:63-77.
20. Canalis E, Economides A, Gasser E. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton // *Endocrine Reviews*, 2003; 24(2):218-235.
21. Carano R, Filvaroff. Angiogenesis and bone repair // *DDT*, 2003; 8(21):980-989.
22. Carlevaro M, Cermelli S, Cancedda R, Descalzi Cancedda F. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in cartilage neovascularization and chondrocytes differentiation: autocrine role during endochondral bone formation // *J Cell Sci*, 2000; 113:59-69.
23. Carlson D. Theories of craniofacial growth in the postgenomic era // *Seminars in Orthodontics*, 2005; 11:172-183.
24. Chai Y, Maxson RE Jr. Recent advances in craniofacial morphogenesis // *Dev Dyn*, 2006; 235(9):2353-75.
25. Chau JF, Leong WF, Li B. Signaling pathways governing osteoblast proliferation, differentiation and function // *Histol Histopathol*, 2009; 24(12):1593-1606.
26. Chen YP, Bei M, Woo I, Satokata I, Maas R. Msx1 controls inductive signaling in mammalian tooth morphogenesis // *Development*, 1996; 122:3035 – 3044.
27. Cheng H, Jiang W, Phillips F, Haydon R, Peng Y, Zhou L. Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs) // *J Bone Joint Surg Am*, 2003; 85A(8):1544-1552.
28. Chenu C, Colucci S, Grano M, Zigrino P, Barattolo R, Zamboni G, Baldini N, Vergnaud P, Delmas P, Zallone A. Osteocalcin induces chemotaxis, secretion of matrix proteins and calcium-mediated intracellular signaling in human osteoclast-like cells // *J Cell Biol*, 1994; 127(4):1149-1158.
29. Cheung L, Zheng L, Ma L. Effect of distraction rates on expression of bone

- morphogenetic proteins in rabbit mandibular distraction osteogenesis // *Journal of Cranio-Maxillofacial Surg*, 2006; 34:263- 269.
30. Church V, Yamaguchi K, Tsang P, Akita K, Logan C, Francis-West P. Expression and function of Bapx1 during chick limb development // *Anat Embryol*, 2005; 209:461-469.
 31. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology // *Clinical J of the Am Soc of Nephrology*, 2008; 3:131-139.
 32. Cohen MM Jr. The new bone biology: pathologic, molecular, and clinical correlates // *Am J Med Genet Part A*, 2006; 140A:2646-2706.
 33. Dai J, Rabie A. VEGF: an essential mediator of both angiogenesis and endochondral ossification // *J Dent Res*, 2007; 86(10):937-950.
 34. Deckers M, Karperien M, van der Bent, Yamashita T, Papapoulos S, Lowik C. Expression of vascular endothelial growth factors and their receptors during osteoblast differentiation // *Endocrinology*, 2000; 141:1667-1674.
 35. Denhardt D, Noda M, O'Regan W, Pavlin D, Berman J. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival // *J Clin Invest*, 2001; 107(9):105-1061.
 36. Desbois C, Karsenty G. Osteocalcin cluster: implications for functional studies // *J Cell Biochem* 1995; 57:379-383.
 37. Dibbets J. One Century of Wolff's Law. In Carlson D, Goldstein S. Bone biodynamics in orthodontic and orthopedic treatment. Craniofacial Growth Series, Vol. 27, Center for Human Growth and Development, The University of Michigan, 1992.
 38. Dodig M, Tadic T, Kronenberg MS, Dacic S, Liu YH, Maxson R, Rowc DW, Lichtler AC. Ectopic Msx2 overexpression inhibits and Msx2 antisense stimulates calvarial osteoblast differentiation // *Dev Biol*, 1999; 209:298-307.
 39. Ducy P, Desboise C, Boyce B, Pinero G, Story B, Dunstan C, Smith E, Bonadio J, Goldstein S, Gundberg C, Bradley A, Karnesty G. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice // *Nature*, 1996; 382:448-452.
 40. Ducy P, Karsenty G. The family of bone morphogenetic proteins // *Kidney International*, 2000; 57:2207-2214.
 41. Enlow D. Facial growth. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1990.
 42. Eriksen EF, Melsen F, Mosekilde L. Reconstruction of the resorptive site in iliac trabecular bone: a kinetic model for bone resorption in 20 normal individuals // *Metab Bone Dis Relat Res*, 1984; 5(5):235-42.

43. Erlebacher A, Filvaroff E, Ye JQ, Derynck R. Osteoblastic responses to TGF- β during bone remodeling // *Molecular Biology*, 1998; 9:1903-1918.
44. Eswarakumar V, Lax I, Schlessinger J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors // *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2005; 16:139-149.
45. Eugene W, Hartsfield J. Bone development and function: genetic and environmental mechanisms // *Semin Orthod*, 2004; 10:100-122.
46. Ferrara N. VEGF: an update on biological and therapeutic aspects // *Current Opinion in Biotechnology*, 2000; 11:617-624.
47. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis // *J Biol Chem*, 1992; 267:10931-10934.
48. Frost HM. Tetracycline – based histological analysis of bone remodelling // *Calcif Tissue Res*, 1969; 3:211-237.
49. Funato N, Moriyama K, Shimokawa H, Kuroda T. Basic fibroblast growth factor induces apoptosis in myofibroblastic cells isolated from rat palatal mucosa // *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 1997; 240:21-26.
50. Ganea E, Trifan M, Laslo AC, Putina G, Cristescu C. Matrix metalloproteinases: useful and deleterious // *Biochem Soc Trans*, 2007; 35(4):689-691.
51. Geesink RG, Hoefnagels NH, Bulstra SK. Osteogenic activity of OP-1 bone morphogenetic protein (BMP-7) in a human fibular defect // *J Bone Joint Surg Br*, 1999; 81(4):710-718.
52. George A, Evans CA. Detection of root resorption using dentin and bone markers // *Orthod Craniofac Res*, 2009; 12:229-235.
53. George S, Dwivedi A. MMP's, Cadherins, and Cell Proliferation // *Trends Cardiovasc Med*, 2004; 14:100-105.
54. Gerber HP, Ferrara N. The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis // *J Mol Med*, 2003; 81:20-31.
55. Gerhart TN, Kirker-Head CA, Kriz MJ, Holtrop ME, Hennig GE, Hipp J, Schelling SH, Wang E. Healing segmental femoral defects in sheep using recombinant human bone morphogenetic protein // *Clin Orthop Relat Res*, 1993; 293:317-26.
56. Giachelli C, Schwartz S, Liaw L. Molecular and cellular biology of osteopontin // *Trends Cardiovasc Med*, 1995; 5:88-95.
57. Goldfarb M. Functions of fibroblast growth factors in vertebrate development // *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 1996; 7:311-325.
58. Gould D, Walter M. Cloning, characterization, localization, and mutational screening of the human Barx1 gene // *Genomics*, 2000; 68; 336-342.

59. Gould D, Walter M. Mutational analysis of BARHL1 and BARX1 in three new patients with Joubert syndrome // *Am J Med Genet A*, 2004; 131:205-208.
60. Gravallese E. Osteopontin: a bridge between bone and the immune system // *J Clin Invest*, 2003; 112:147-149.
61. Gundberg C. Matrix proteins // *Osteoporos Int*, 2003; 14(5):37-42.
62. Guyer EC, Ellis E, McNamara JA, Behrents RG. Components of Class III malocclusion in juveniles and adolescents // *Angle Orthod*, 1986; 56:7-30.
63. Haeusler G, Walter M, Helmreich M, Egebacher M. Localization of matrix metalloproteinases (MMP`s), their tissue inhibitors, and vascular endothelial growth factor (VEGF) in growth plates of children and adolescents indicates a role for MMPs in human postnatal growth and skeletal maturation // *Calcif Tissue Int*, 2005; 76:326-335.
64. Han J, Ishii M, Bringas P Jr, Maas RL, Maxson RE Jr, Chai Y. Concerted action of Msx1 and Msx2 in regulating cranial neural crest cell differentiation during frontal bone development // *Mech Dev*, 2007; 124(9-10):729-45.
65. Hay E, Lemonnier O, Fromigue P. Bone morphogenetic protein-2 promotes osteoblast apoptosis through a Smad-independent, protein kinase C-dependent signaling pathway // *J Biol Chem*, 2001; 276:29028-29036.
66. Heine U, Munoz EF, Flanders KC, Ellingsworth LR, Lam HY, Thompson NL, Roberts AB, Sporn MB. Role of transforming growth factor-beta in the development of the mouse embryo // *J Cell Biol*, 1987; 105(6 Pt 2):2861-76.
67. Henriksen K, Neutzsky – Wulff AV, Bonewald LF, Karsdal MA. Local communication on and within bone controls bone remodeling // *Bone*, 2009; 44(6):1026-1033.
68. Hill P. Bone remodelling // *British Journal of Orthodontics*, 1998; 25:101-107.
69. Hinton R, Serrano M, So S. Differential gene expression in the perichondrium and cartilage of the neonatal mouse temporomandibular joint // *Orthod Craniofac Res*, 2009; 12:168-177.
70. Hsu S, Raine L, Fanger H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin peroxidase complex in immunoperoxidase technics // *Am J Clin Pathol*, 1981; 75:816-821.
71. Huang S, Li Y, Chen Y, Podsypanina K, Chamorro M, Olshen AB, Desai KV, Tann A, Petersen D, Green JE, Varmus HE. Changes in gene expression during the development of mammary tumors in MMTV-Wnt-1 transgenic mice // *Genome Biol*,

2005; 6(10):R84.

72. Hughes F, Turner W, Belibasakis G, Martuscelli G. Effects of growth factors and cytokines on osteoblast differentiation // *Periodontology*, 2000; 41:48-72.
73. Ichida F, Nishimura R, Hata K, Matsubara T, Ikeda F, Hisada K, Yatani H, Cao X, Komori T, Yamaguchi A, Yoneda T. Reciprocal roles of MSX2 in regulation of osteoblast and adipocyte differentiation // *J Biol Chem*, 2004; 279:34015-34022.
74. Ishii M, Han J, Yen HY, Sucov HM, Chai Y, Maxson RE Jr. Combined deficiencies of Msx1 and Msx2 cause impaired patterning and survival of the cranial neural crest // *Development*, 2005; 132(22):4937-50.
75. Ishii M, Merrill A, Chan Y, Gitelman I, Rice D, Sucov H, Maxson R. Msx2 and Twist cooperatively control the development of the neural crest-derived skeletogenic mesenchyme of the murine skull vault // *Development*, 2003; 130:6131-6142.
76. Issack P, Helfet D, Lane J. Role of Wnt signalling in bone remodelling and repair // *HSSJ*, 2008; 4:66-70.
77. Itoh N. The fgf families in humans, mice and zebrafish: their evolutionary processes and roles in development, metabolism and disease // *Biol Pharm Bull*, 2007; 10:1819-1825.
78. Iwata J, Hosokawa R, Sanchez-Lara PA, Urata M, Slavkin H, Chai Y. Transforming growth factor-beta regulates basal transcriptional regulatory machinery to control cell proliferation and differentiation in cranial neural crest-derived osteoprogenitor cells // *J Biol Chem*, 2010; 285(7):4975-82.
79. Jacob A, Smith C, Partanen J, Ornitz D. Fibroblast growth factor receptor 1 signaling in the osteo-chondrogenic cell lineage regulates sequential steps of osteoblast maturation // *Dev Biol*, 2006; 296(2):315-328.
80. Jilka R, Weinstein R, Bellido T, Parfitt M, Manolagas S. Osteoblast programmed cell death (apoptosis): modulation by growth factors and cytokines // *J Bone & Mineral Res*, 1998; 13(5):793-802.
81. Jilka R, Weinstein R, Parfitt M, Manolagas S. Quantifying osteoblast and osteocyte apoptosis: challenges and rewards // *J Bone Miner Res*, 2007; 22(10):1492-1501.
82. Johnson M, Kamel M. The Wnt signalling pathway and bone metabolism // *Current Opinion in Rheumatology*, 2007; 19:376-382.
83. Jones F, Kioussi C, Copertino D, Kallunki P, Holst, Edelman G. Barx2, a new homeobox gene of the Bar class, is expressed in neural and craniofacial structures during development // *Proc Nat Acad Sci*, 1997; 94:2632-2637.

84. Judex S, Gupta S, Rubin C. Regulation of mechanical signals in bone // *Orthod Craniofac Res*, 2009; 12(2):94-104.
85. Källicke T, Köller M, Frangen TM, Schlegel U, Sprutacz O, Printzen G, Muhr G, Arens S. Local application of basic fibroblast growth factor increases the risk of local infection after trauma: an in-vitro and in-vivo study in rats // *Acta Orthop*, 2007; 78(1):63-73.
86. Kato T, Kawaguchi H, Hanada K, Aoyama I, Hiyama Y, Nakamura T, Kuzutani K, Tamura M, Kurokawa T, Nakamura K. Single local injection of recombinant fibroblast growth factor-2 stimulates healing of segmental bone defects in rabbits // *J Orthop Res*, 1998; 16(6):654-9.
87. Kiechle F, Zhang X. Apoptosis: biochemical aspects and clinical implication // *Clinica Chimica Acta*, 2002; 326:27-45.
88. Kim S, Chae C, Cho B, Kim H. Apoptosis of oral epithelial cells in oral lichen planus caused by upregulation of BMP-4 // *J Oral Pathology & Medicine*, 2006; 35(1):37-45.
89. Kleinheiz J, Stratmann U, Joos U, Wiesmann HP, VEGF-activated angiogenesis during bone regeneration // *J Oral Maxillofac Surg*, 2005; 63:1310-1316.
90. Knabe C, Nicklin S, Yu Y, Walsh W, Radlinski R, Marks C. Growth factor expression following clinical mandibular distraction osteogenesis in humans and its comparison with existing animal studies // *J of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 2005; 33:361-369.
91. Krishan V, Bryant H, MacDouglas O. Regulation of bone mass by Wnt signalling // *J Clin Invest*, 2006; 116(5):1202-1209.
92. Krivicka-Uzkurele B, Pilmane M, Akota I. Barx1, growth factors and apoptosis in facial tissue of children with clefts // *Stomatologija*, 2008; 10:62-65.
93. Kurol J, Rönnerman A, Heyden G. Long-term gingival conditions after orthodontic closure of extraction sites. Histological and histochemical studies // *Eur J Orthod*, 1982; 4(2):87-92.
94. Kwabi-Addo B, Ropiquet F, Giri D, Ittman M. Alternative splicing of fibroblast growth factor receptors in humane prostate cancer // *Prostate*, 2001; 46:163-172.
95. Labat-Moleur F, Guillermat C, Lorimier P, Robert C, Lantuejoul S, Brambilla E, Negoescu A. TUNEL apoptotic cell detection in tissue sections: critical evaluation and improvement // *J Histochemistry & Cytochemistry*, 1998; 46(3): 327-334.
96. Lallemand Y, Nicola M, Ramos C, Bach A, Cloment C, Robert B. Analysis of Msx1; Msx2 double mutants reveals multiple roles for Msx genes in limb development //

- Development, 2005; 132:3003-3014.
97. Laurina Z, Pilmane M, Care R. Growth factors / cytokines / defensins and apoptosis in periodontal pathologies // *Stomatologija*, 2009; 11(2):48-54.
 98. Lee AJ, Hodges S, Eastell R. Measurement of osteocalcin // *Ann Clin Biochem* 2000; 37:432-446.
 99. Lemaitre V, D'Armiento J. Matrix metalloproteinases in development and disease // *Birth Defects Research*, 2006; 78:1-10.
 100. Liaw L, Birk DE, Ballas CB, Whitsitt JS, Davidson JM, Hogan BL. Altered wound healing in mice lacking a functional osteopontin gene // *J Clin Invest*, 1998, 103:1468-1478.
 101. Lieberman J, Daluiski A, Einhorn T. The role of growth factors in the repair of bone // *J Bone Joint Surg*, 2002; 84A(6):1032-1044.
 102. Linkhart TA, Mohan S, Baylink DJ. Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF beta and BMP // *Bone*, 1996; 19(1 Suppl):1S-12S.
 103. Liu ZJ, Anderson MW, Gu GM, King GJ. Apoptosis in the regenerate produced by mandibular osteodistracton in the mature rat // *Orthod Craniofac Res*, 2005; 8:41-51.
 104. Liu Y, Tang Z, Kundu R, Wu L, Luo W, Zhu D, Sangiorgi F, Snead M, Maxson R. Msx2 gene dosage influences the number of proliferative osteogenic cells in growth centers of the developing murine skull // *Dev Biol*, 1999; 205:260-274.
 105. Maniscalco P, Gambera D, Bertone C, Rivera F, Crainz E, Urgelli S. Healing of fresh tibial fractures with OP-1. A preliminary report // *Acta Biomed*, 2002; 73(1-2):27-33.
 106. Manjo G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis // *Am J Pathol*, 1995; 146(1):3-15.
 107. Manolagas S. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis // *Endocrine Reviews*, 2000; 21(2):115-137.
 108. Marukawa K, Ueki K, Alam S, Shimada M, Nakagawa K, Yamamoto E. Expression of BMP-2 and proliferating cell nuclear antigen during distraction osteogenesis in the mandible in rabbits // *Br J Oral Maxillofac Surg*, 2006; 44:141-145.
 109. Masella R, Chung P. Thinking beyond the wire: emerging biologic relationships in orthodontics and periodontology // *Semin Ortho*, 2008; 14(4):290-304.
 110. Maslinska D. Apoptosis: physiological cell death and its role in pathogenesis of diseases // *Neurol Neurochir Pol*, 2003; 37(2):315-326.
 111. Massagué J, Blain SW, Lo RS. TGFbeta signaling in growth control, cancer, and heritable disorders // *Cell*, 2000; 103(2):295-309.

112. Massagué J. TGFbeta signaling: receptors, transducers, and Mad proteins // *Cell*, 1996; 85(7):947-50.
113. Matsuo K, Irie N. Osteoclast-osteoblast communication // *Arch Biochem Biophys*, 2008; 473(2):201-209.
114. Mazzali M, Kipari T, Ophascharoensuk V, Wesson J, Johnson R, Hughes J. Osteopontin – a molecule for all seasons // *Q J Med*, 2002; 95:3-13.
115. McNamara JA, Jr. Components of Class II malocclusion in children 8-10 years of age // *Angle Orthod*, 1981; 51:177-202.
116. Meikle M. On the transplantation, regeneration and induction of bone: The path to bone morphogenetic proteins and other skeletal growth factors // *The Surgeon*, 2007; 5(4):232-243.
117. Meikle M. Remodeling the dentofacial skeleton: The biological basis of orthodontics and dentofacial orthopedics // *J Dent Res*, 2007; 86(1):12-24.
118. Meikle M. The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt // *Eur J Ortho*, 2006; 28:221-240.
119. Meikle MC, Bord S, Hembry RM, Compston J, Croucher PI, Reynolds JJ. Human osteoblasts in culture synthesize collagenase and other matrix metalloproteinases in response to osteotropic hormones and cytokines // *J Cell Sci*, 1992; 103(Pt 4):1093-1099.
120. Miletich I., Buchner G., Sharpe P.T. Barx1 and evolutionary changes in feeding // *J.Anat.*, 2005; 207: 619 – 622.
121. Miller JR. The Wnts // *Genome Biol*, 2002; 3(1):3001.
122. Milos N. Mesoderm and jaw development in vertebrates: the role of growth factors // *Crit Rev Oral Biol Med*, 1992; 4(1):73-91.
123. Mina M, Havens B. FGF signaling in mandibular skeletogenesis // *Orthod Craniofacial Res*, 2007; 10:59-66.
124. Miyazono K, Ten Dijke P, Ichijo H, Heldin CH. Receptors for transforming growth factor-beta // *Adv Immunol*, 1994; 55:181-220.
125. Mobarak K, Krogstad O, Espeland L, Lyberg T. Long – term stability of mandibular setback surgery: a follow-up of 80 bilateral sagittal split osteotomy patients // *Int J Adult Orthodon Orthognath Surg*, 2000; 15(2):83-95
126. Mohammadi M, Olsen SH, Ibrahimi OA. Structural basis for fibroblast growth factor receptor activation // *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2005; 16:107-137.
127. Morgan B.A, Tabin C.J. The role of homeobox genes in limb development // *Curr*

- Opin.Genet. Dev, 1993; 3:668 – 674.
128. Moss ML, Young R. A functional approach to craniology // *Am J Phys Anthropol*, 1960; 18:281-292.
 129. Moss ML. The role of the nasal septal cartilage in midfacial growth // *Ann Arbor*, 1976; 6:169-204.
 130. Moyers R. Handbook of orthodontics. Year Book Medical Publishers, Inc., 1988.
 131. Naski M, Ornitz D. FGF signaling in skeletal development // *Frontiers in Bioscience*, 1998; 3:d781-794.
 132. Negoescu A, Guillermet Ch, Lorimer Ph. TUNEL apoptotic cell detection in archived paraffin-embedded tissues // *Biochemica*, 1998; 3:36-41.
 133. Nie X, Luukko K, Kettunen P. BMP signalling in craniofacial development // *Int J Dev Biol*, 2006; 50:511-521.
 134. Obwegeser H. Descriptive terminology for jaw anomalies // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1993; 75:138-140.
 135. Ohta T, Mori M, Ogawa K, Matsuyama T, Ishii S. Immunocytochemical localization of BGP in human bones in various developmental stages and pathological conditions // *Virchows Arch Pathol Anat Histochem*, 1989; 415(5):459-466.
 136. Oka K, Oka S, Hosokawa R, Bringas P Jr, Brockhoff HC, Nonaka K, Chai Y. TGF-beta mediated Dlx5 signaling plays a crucial role in osteo-chondroprogenitor cell lineage determination during mandible development // *Dev Biol*, 2008; 321(2):303-9.
 137. Oka K, Oka S, Sasaki T, Ito Y, Bringas P Jr, Nonaka K, Chai Y. The role of TGF-beta signaling in regulating chondrogenesis and osteogenesis during mandibular development // *Dev Biol*, 2007; 303(1):391-404.
 138. Okubo Y, Bessho K, Fujimura K, Kusumoto K, Ogawa Y, Iizuka T. Expression of bone morphogenetic protein in the course of osteoinduction by recombinant human bone morphogenetic protein-2 // *Clin Oral Implants Res*, 2002; 13(1):80-5.
 139. Orestes-Cardoso S.M., Nefussi J.R., Hotton D, Mesbah M, Orestes-Cordoso M, Robert B. Postnatal Msx1 expression pattern in craniofacial, axial, and appendicular skeleton of transgenic mice from the first week until the second year // *Developmental Dynamics*, 2001; 221:1-13.
 140. Ornitz D, Itoh N. Fibroblast growth factors // *Genome Biology*, 2001; 2(3):reviews3005.1-3005.12.
 141. Ornitz D, Marie P. FGF signaling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease // *Genes & Development*, 2002;

- 16:1446-1465.
142. Ornitz D. FGF signaling in the developing endochondral skeleton // *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2005; 16:205-213.
 143. Osella-Abate S, Zaccagna A, Savoia P, Quaglino P, Salomone B, Bernengo MG. Expression of apoptosis markers on peripheral blood lymphocytes from patients with cutaneous T –cell lymphoma during extracorporeal photochemotherapy // *J Am Acad Dermatol*, 2001; 44:40-47.
 144. Page-McCaw A, Ewald A, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling // *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007; 8(3):221-233.
 145. Palumbo C, Ferretti M, Pol A. Apoptosis during intramembranous ossification // *J Anat*, 2003; 203:589-598.
 146. Pearson OM, Lieberman DE. The aging of Wolff's „law”: ontogeny and responses to mechanical loading in cortical bone // *Am J Phys Anthropol*, 2004; 39:63-99.
 147. Petrovic A. Control of postnatal growth of secondary cartilages of the mandible by mechanisms regulating occlusion. Cybernetic model // *Trans Eur Orthod Soc*, 1974; 69-75.
 148. Pilmane M, Rumba I, Sundler F, Luts A. Patterns of distribution and occurrence of neuroendocrine elements in lungs of humans with chronic lung diseases // *Proc Latvian Academy of Sciences, Section B*, 1998; 53:144-152.
 149. Powers C, McLeskey S, Wellstein A. Fibroblast growth factors, their receptors and signaling // *Endocrine-Related Cancer*, 2000; 7:165-197.
 150. Price P, Williamson M. Effects of warfarin on bone: studies on the vitamin K-dependent protein in rat bone // *J Biol Chem*, 1981; 256:12754-12759.
 151. Price PA, Williamson MK, Lothringen JW. Origin of the bone vitamin K-containing protein found in plasma and its clearance by kidney and bone. *J Biol Chem* 1981; 256:12760-12766.
 152. Proetzel G, Pawlowski SA, Wiles MV, Yin M, Boivin GP, Howles PN, Ding J, Ferguson MW, Doetschman T. Transforming growth factor-beta 3 is required for secondary palate fusion // *Nat Genet*, 1995; 11(4):409-14.
 153. Proffit WR, Fields H. Jr., Sarver D. *Contemporary Orthodontics*. 4th – ed. Mosby, Elsevier, 2007.
 154. Proffit WR, Fields HW, Moray LJ. Prevalence of malocclusion and orthodontic treatment need in the United States: Estimates from the NHANES – III survey // *Int J Adult Orthod Orthogn Surg*, 1998; 13:97-106.

155. Rabie A, Hagg U. Factors regulating mandibular condylar growth // *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2002; 122:401-409.
156. Rauner M, Sipos W. Age-dependent Wnt gene expression in bone and during the course of osteoblast differentiation // *Age*, 2008; 30:273-282.
157. Reddi AH, Ma SS, Cunningham NS. Induction and maintenance of new bone formation by growth and differentiation factors // *Ann Chir Gynaecol*, 1988; 77(5-6):189-92.
158. Reddi AH. Bone morphogenetic proteins: from basic science to clinical applications // *J Bone Joint Surg Am*, 2001; 83:1-6.
159. Ripamonti U, Renton L. Bone morphogenetic proteins and the induction of periodontal tissue regeneration // *Periodontology*, 2000; 41:73-87.
160. Ristic M, Vlahovic Svabic M, Sasic M, Zelic O. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances on periodontal tissues in adolescents // *Orthod Craniofac Res*, 2007; 10(4):187-95.
161. Rittling SR, Matsumoto HN, McKee MD. Mice lacking osteopontin show normal development and bone structure but display altered osteoclast formation in vitro // *J Bone Miner Res*, 1998; 13:1101-1111.
162. Roberts E, Epker B, Burr D, Hartsfield J. Jr., Roberts J. Remodeling of mineralized tissues, part II: control and pathophysiology // *Seminars in Orthodontics*, 2006; 12(4):238-253.
163. Roberts E, Hartsfield J. Jr. Bone development and function: genetic and environmental mechanisms // *Seminars in Orthodontics*, 2004; 10(2):100-122.
164. Roberts E, Huja S, Roberts J. Bone modeling: biomechanics, molecular mechanisms, and clinical perspectives // *Seminars in Orthodontics*, 2004; 10(2):123-161.
165. Roberts E, Roberts J, Epker B, Burr D, Hartsfield J. Jr. Remodeling of mineralized tissues, part I: The Frost legacy // *Seminars in Orthodontics*, 2006; 12(4):216-237.
166. Robey PG, Young MF, Flanders KC, Roche NS, Kondaiah P, Reddi AH, Termine JD, Sporn MB, Roberts AB. Osteoblasts synthesize and respond to transforming growth factor-type beta (TGF-beta) in vitro // *J Cell Biol*, 1987; 105(1):457-63.
167. Rosen V. BMP and BMP Inhibitors in bone // *Ann N Y Acad Sci*, 2006; 1068:19-25.
168. Rosier RN, O'Keefe RJ, Hicks DG. The potential role of transforming growth factor beta in fracture healing // *Clin Orthop Relat Res*, 1998; 355 Suppl:S294-300.
169. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, Denton M, Weinberg J, Venkatachalam M. Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease // *Am J Med*, 1999; 107:

489-506.

170. Sanchez-Capelo A. Dual role for TFG- β 1 in apoptosis // *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2005; 16:15-34.
171. Sanford LP, Ormsby I, Gittenberger-de Groot AC, Sariola H, Friedman R, Boivin GP, Cardell EL, Doetschman T. TGF β 2 knockout mice have multiple developmental defects that are non-overlapping with other TGF β knockout phenotypes // *Development*, 1997; 124(13):2659-70.
172. Sasano Y, Zhu J, Kamakura S, Kusunoki S, Mizoguchi I, Kagayama M. Expression of major bone extracellular matrix proteins during embryonic osteogenesis in rat mandibles // *Anat Embryol*, 2000; 202:31-37.
173. 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, Maas R. Msx2 deficiency in mice causes pleiotropic defects in bone growth and ectodermal organ formation // *Nat Genet*, 2000; 24(4):391-5.
174. Sawada M, Shimizu N. Stimulation of bone formation in the expanding mid-palatal suture by transforming growth factor-beta 1 in the rat // *Eur J Orthod*, 1996; 18(2):169-79.
175. Schliephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction // *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2002; 31:469-484.
176. Schmid GJ, Kobayashi C, Sandell LJ, Ornitz DM. Fibroblast growth factor expression during skeletal fracture healing in mice // *Dev Dyn*, 2009; 238(3):766-74.
177. Schmitt JM, Hwang K, Winn SR, Hollinger JO. Bone morphogenetic proteins: an update on basic biology and clinical relevance // *J Orthop Res*, 1999; 17(2):269-278.
178. Scott JH. The cartilage of the nasal septum: a contribution to the study of facial growth // *Br Dent J*, 1953; 95:37-43.
179. Seeman E. Bone modeling and remodeling // *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2009; 19(3):219-233.
180. Shum L, Rabie A.B. M, Hägg U. Vascular endothelial growth factor expression and bone formation in posterior glenoid fossa during stepwise mandibular advancement // *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2004; 125:185-190.
181. Sicher H. The growth of the mandible // *Am J Orthod*, 1947; 33:30-35.
182. Sims NA, Gooi JH. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption // *Semin Cell Dev Biol*, 2008; 19(5):444-451.

183. Sluckis L. Balstaudi un locītava – bioķīmija un funkcijas. LU Akadēmiskais apgāds, Rīga, 2006.
184. Sojo K, Sawaki Y, Hattori H, Mizutani H, Ueda M. Immunohistochemical study of VEGF and BMP2/4 on lengthened rat femurs // J of Cranio-Maxillofacial Surgery, 2005; 33:238-245.
185. Solheim E. Growth factors in bone // International Orthopaedics, 1998; 22:410-416.
186. Solheim E. Osteoinduction by demineralised bone // Int Orthop, 1998; 22(5):335-42.
187. Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases // Oral Diseases, 2004; 10:311-318.
188. Spears R, Svoboda K. Growth factors and signaling protein in craniofacial development // Semin Orthod, 2005; 11:184-198.
189. Sperber S, Dawid I. Barx1 is necessary for ectomesenchyme proliferation and osteochondroprogenitor condensation in the zebrafish pharyngeal arches // Dev Biol, 2008; 321:101-110.
190. Sporn MB, Roberts AB. Transforming growth factor-beta: recent progress and new challenges // J Cell Biol, 1992; 119(5):1017-21.
191. Starptautiskā statistiskā slimību un veselības problēmu klasifikācija. 10. redakcija, 1.sējums, LR Labklājības ministrija, Veselības statistikas, informācijas un medicīnas tehnoloģiju centrs, Rīga, 1996.
192. Staud B, Kiliaridis S. Different skeletal types underlying Class III malocclusion in a random population // Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2009; 136:715-721.
193. Steiling H, Werner S. Fibroblast growth factors: key players in epithelial morphogenesis, repair and cytoprotection // Curr Opin Biotechnol, 2003; 14(5):533-7.
194. Street J, Bao M, deGuzman L, Bunting S, Peale Jr. FV, Ferrara N, Steinmetz H, Hoeffel J, Cleland J, Daugherty A, van Bruggen N, Redmond H, Carano R. Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover // Proc Natl Acad Sci USA, 2002; 99:9656-9661.
195. Suttapreyasri S, Koontongkaew S, Phongdara A, Leggat U. Expression of bone morphogenetic proteins in normal human intramembranous and endochondral bones // Int J Oral Maxillofac Surg, 2006; 35:444-452.
196. Teibe U, Berķis U. Varbūtību teorijas un matemātiskās statistikas elementi medicīnas studentiem. AML/RSU, Rīga, 2001.
197. Teitelbaum SL. Osteoclasts: What do they do and how do they do it? // The American Journal of Pathology, 2007; 170(2):427-435.

198. Tissier-Seta JP, Mucchielli ML, Mark M, Mattei M, Goridis C, Brunet J. *Barx1*, a new mouse homeodomain transcription factor expressed in cranio-facial ectomesenchyme and the stomach // *Mechanisms of Development*, 1995; 51:3-15.
199. Toi M, Matsumoto T, Bando H. Vascular endothelial growth factor: its prognostic, predictive, and therapeutic implications // *Lancet Oncol*, 2001; 2:667-673.
200. Tuck AB, O'Malley FP, Singhal H, Harris JF, Tonkin KS, Kerkvliet N, Saad Z, Doig GS, Chambers AF. Osteopontin expression in a group of lymph node negative breast cancer patients // *Int J Cancer*, 1998; 79(5):502-8.
201. Uemura T, Nemoto A, Liu Y, Kojima H, Dong J, Yabe T, Yoshikawa T, Ohgushi H, Ushida T, Tateishi T. Osteopontin involvement in bone remodeling and its effects on in vivo osteogenic potential of bone marrow-derived osteoblasts / porous hydroxyapatite constructs // *Materials Science Engineering C*, 2001; 17:33-36.
202. Uren A, Vaux D. Molecular and clinical aspects of apoptosis // *Pharmacol Ther*, 1996; 72(1): 37-50.
203. Urist M. Bone morphogenetic protein: the molecularization of skeletal system development // *J Bone Miner Res*, 1997; 12:343-346.
204. Urist M. Bone: formation by autoinduction // *Science*, 1965; 150:893-899.
205. Urtane I, Pugaca J, Liepa A, Rogovska I. The severity of malocclusion and need for orthodontic treatment in correspondence with the age // *Stomatologija*, 2006; 8(2):35-38.
206. Velleman S. The role of the extracellular matrix in skeletal development // *Poultry Science*, 2000; 79:985-989.
207. Verma R, Hansch C. Matrix metalloproteinases (MMP's): Chemical-biological functions and (Q)SARs // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2007; 15:2223-2268.
208. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases // *Circulation Research*, 2003; 92:827-839.
209. Wahl N. Orthodontics in 3 millennia. Chapter 4: the professionalization of orthodontics (concluded) // *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2005; 128(2):252-7.
210. Weinstein S, Michael P, Robert M, Muchmore B. Effects of raloxifene, hormone replacement therapy, and placebo on bone turnover in postmenopausal women // *Osteoporos Int*, 2003; 14:814-822.
211. Wennström JL, Lindhe J, Sinclair F, Thilander B. Some periodontal tissue reactions to orthodontic tooth movement in monkeys // *J Clin Periodontol*, 1987; 14(3):121-9.
212. Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone

- diseases // *Gene*, 2004; 341:19- 39.
213. Westerhuis R, Bezooijen R, Kijloen P. Use of bone morphogenetic proteins in traumatology // *Injury, Int. J. Care Injured*, 2005; 36:1405-1412.
 214. Winograd J, Reilly M, Roe R, Lutz J, Laughner E, Xu X, Hu L, Asakura T, van der Kolk C, Strandberg J, Semenza G. Perinatal lethality and multiple craniofacial malformations in MSX2 transgenic mice // *Hum Mol Genet*, 1997; 6(3):369-79.
 215. Wozney J, Rosen V. Bone morphogenetic protein and bone morphogenetic protein gene family in bone formation and repair // *Clin Orthopaedics and Related Research*, 1998; 346:26-37.
 216. Xiao Y, Xiang L, Shao J. Bone morphogenetic protein // *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 2007; 362:550-553.
 217. Xing L, Boyce B. Regulation of apoptosis in osteoblasts and osteoblastic cells // *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004; 328:709-70.
 218. Yamamoto N. Essential role of the cryptic epitope SLAYGLR within osteopontin in a murine model of rheumatoid arthritis // *J Clin Invest*, 2003; 112:181-188.
 219. Yanagita M. BMP antagonists: Their roles in development and involvement in pathophysiology // *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2005; 16:309-317.
 220. Yavropoulou MP, Yovos JG. Osteoclastogenesis – current knowledge and future perspectives // *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2008; 8(3):204-216.
 221. Yonezawa H, Harada K, Ikebe T, Shinohara M. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein -2 (rhBMP-2) on bone consolidation on distraction osteogenesis: a preliminary study in rabbit mandibles // *Journal of Cranio-Maxillofacial Surg*, 2006; 34: 270-276.
 222. Yoshimura N, Sano H, Hashiramoto A, Yamada R, Nakajama H, Kodo M. The expression and localization of fibroblast growth factor-1 (FGFR1) and FGF receptor - 1 (FGFR-1) in human breast cancer // *Clin Immunol Immunopathol*, 1998; 89:28-34.
 223. Zelzer E, Olsen BR. Multiple roles of vascular endothelial growth factor (VEGF) in skeletal development, growth, and repair // *Curr Top Dev Biol*, 2005; 65:169-187.
 224. Zhang J, Linheng Li. BMP signalling and stem cell regulation // *Developmental Biology*, 2005; 284:1-11.
 225. Zimmerman L, De Jesus-Escobar J, Harland R. The Spemann organizer signal noggin binds and inactivates bone morphogenetic protein 4 // *Cell*, 1996; 86:599-606.
 226. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистология // М. Мир, 1969; 645с.

11. PUBLIKĀCIJAS UN ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU

11.1. Publikācijas (zinātniskie raksti) par pētījuma tēmu

1. G. Jākobsone, I. Jankovska. Augšējo elpošanas ceļu traucējumi ortodontiskajā patoloģijā // Zobārstniecības raksti, Nr.1, 2003; 22. - 26. lpp.
2. Ģ. Šalms, A. Ābeltiņš, I. Jankovska. Okluzālā un vertikālā stabilitāte Angle III klases pacientiem pēc vertikālās zara osteotomijas // RSU Zinātniskie raksti, 2004; 323. - 325. lpp.
3. **I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Growth factors, apoptotic cells and barx1 gene in bone and soft tissue of skeletal class III patients // Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal, vol. 9, N2, 2007; p. 40 – 46.**
4. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Barx1, Msx2 and Wnt1 genes in bones and the soft tissue of patients with skeletal malocclusions // Latvijas Ķirurģijas Žurnāls Acta Chirurgica Latviensis, Nr. 8, 2008; 18. - 22. lpp.
5. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane, Ģ. Šalms, A. Bigestāns, G. Lauskis. Transformējošais augšanas faktors β un kaulu morfoģenētiskais proteīns 2/4 ortognātiskās ķirurģijas pacientu kaulos un mīkstajos audos // Zinātniskie raksti: 2008.g. medicīnas nozares pētnieciskā darba publikācijas, Rīga, 403. – 407. lpp.
6. **I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane. Osteopontin and osteocalcin in maxilla tissue of skeletal class III patients // Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal, vol. 11, 2009, p. 125-128.**

11.2. Konferenču tēzes par pētījuma tēmu

1. G. Salms, A. Skagers, A. Abeltins, I. Jankovska. Occlusal and skeletal stability in class III dysgnathias after vertical ramus osteotomies. Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, vol.32, suppl. 1, 2004, 151.p.
2. G. Salms, A. Abeltins, I. Jankovska. Occlusal and skeletal stability in class III dysgnathias after vertical ramus osteotomies, BOA congress, Thesis, Rīga, 2004, 24.p.
3. Ģ. Šalms, A. Skagers, A. Bigestāns, G. Lauskis, A. Ābeltiņš, I. Jankovska. Apakšžokļa zara vertikālā osteotomija II klases disgnātijā ķirurģijā: vēlīnie rezultāti. Latvijas Ārstu

kongress, tēzes, Rīga, 2005, 43.lpp.

4. J. Pugaca, I. Jankovska, A. Abeltins, I. Urtane. The severity of malocclusion and need for orthodontic treatment in age aspect and periodontal status. 5th Congress of the Baltic Orthodontic Association, Thesis, Tallinn, 2006, p.19.

5. J. Pugača, A. Ābeltiņš, I. Jankovska, I. Urtāne. Dentofaciālo anomāliju smaguma pakāpes un ortodontiskās ārstēšanas nepieciešamība un komplikētība Latvijas populācijā. RSU Zinātniskā konference, tēzes, Rīga, 2006, 124.lpp.

6. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Growth factors in bone and soft tissues of orthognathic surgery patients. The 1st Baltic Scientific Conference in Dentistry, Thesis, Pärnu, 2006, 12.lpp.

7. I. Jankovska, I. Urtane, M. Pilmane. Bone morphogenetic proteins in bone and soft tissue of orthognathic surgery patients. 8th Joint Symposium Rostock – Riga, Thesis, Rīga, 2006, p. 28.

8. I. Jankovska, I. Urtāne, M. Pilmane. Augšanas faktoru, apoptotisko šūnu un Barx1 gēna noteikšana ortognātiskās ķirurģijas pacientiem. RSU Zinātniskā konference, tēzes, Rīga, 2007, 206. lpp.

9. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Growth factors and apoptotic cells in bone and soft tissue of orthognathic surgery skeletal class III patients. IV Tissue Engineering Symposium, Tampere, Thesis, 2007, p. 34.

10. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne, G. Šalms, A. Bigestāns, G. Lauskis. Barx1, Msx2 un Wnt1 gēni ortognātiskās ķirurģijas pacientu žokļu kaulos un mīkstajos audos. RSU Zinātniskā konference, tēzes, Rīga, 2008, 245. lpp.

11. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Barx1, Msx2 and Wnt1 genes in bones and soft tissue of orthognathic surgery patients. 6th Congress of the Baltic Orthodontic Association, Thesis, Riga, 2008, p. 10.

12. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Barx1, Msx2 and Wnt1 genes in bones and soft tissues of orthognathic surgery patients. V Tissue Engineering Symposium, Proceedings of the 5th Tampere Engineering Symposium, Tampere, 2008, in CD.

13. I. Jankovska, I. Urtāne, M. Pilmane, G. Šalms, A. Bigerstāns, G. Lauskis. Osteopontīna un osteokalcīna ekspresija ortognātiskās ķirurģijas pacientu žokļu kaulos. RSU Zinātniskā konference, tēzes, Rīga, 2009, 204. lpp.
14. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne. Augšanas faktoru un kaula ekstracelulārās matricē proteīnu izdales intensitāte ortognātiskās ķirurģijas pacientu žokļu kaulos. 6. Latvijas Ārstu kongress, tēzes, Rīga, 2009, 32. lpp.
15. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne. Osteopontin and osteocalcin in jaw bone tissues of skeletal class III patients. 10th Joint Symposium Rostock – Riga, Thesis, Rīga, 2009, p. 37.
16. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne. Transformējošā augšanas faktora β ekspresija pacientiem ar Angle II un Angle III klases dentofaciālām deformācijām. RSU Zinātniskā konference, tēzes, Rīga, 2010, 297. lpp.
17. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne. Osteopontin and osteocalcin in maxillae tissue in skeletal class III patients. 110th Annual Session of American Association of Orthodontists, Thesis, Washington DC, 2010
18. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Osteopontin and osteocalcin in bone of skeletal class III patients. Baltijas Sejas, žokļu un plastiskās ķirurģijas asociācijas 7. kongress, tēzes, Rīga, 2010.

11.3. Zinojumi kongresos un konferencēs

1. I. Jankovska, I. Urtāne, M. Pilmane. Bone morphogenetic proteins in bone and soft tissue of orthognathic surgery patients. 8th Joint Symposium Rostock – Riga, Rīga, 2006, stenda referāts.
2. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Growth factors in bone and soft tissues of orthognathic surgery patients. The 1st Baltic Scientific Conference in Dentistry, Pärnu, 2006, **mutisks referāts**.
3. I. Jankovska, I. Urtāne, M. Pilmane. Augšanas faktoru, apoptotisko šūnu un Barx1 gēna noteikšana ortognātiskās ķirurģijas pacientiem. RSU Zinātniskā konference, Rīga, 2007, **mutisks referāts**.
4. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Growth factors

and apoptotic cells in bone and soft tissue of orthognathic surgery skeletal class III patients. IV Tissue Engineering Symposium, Tampere, 2007, stenda referāts.

5. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne, Ģ. Šalms, A. Bigestāns, G. Lauskis. Barx1, Msx2 un Wnt1 gēni ortognātiskās ķirurģijas pacientu žokļu kaulos un mīkstajos audos. RSU Zinātniskā konference, Rīga, 2008, **mutisks referāts**.

6. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Barx1, Msx2 and Wnt1 genes in bones and soft tissue of orthognathic surgery patients. Starptautiskā konference 6th Congress of the Baltic Orthodontic Association, Riga, 2008, **mutisks referāts**.

7. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Barx1, Msx2 and Wnt1 genes in bones and soft tissues of orthognathic surgery patients. V Tissue Engineering Symposium, Tampere, 2008, stenda referāts.

8. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane. Osteopontin and osteocalcin in jaw bone tissues of skeletal class III patients. 10th Joint Symposium Rostock – Riga, Rīga, 2009, stenda referāts.

9. I. Jankovska, I. Urtāne, M. Pilmane, Ģ. Šalms, A. Bigestāns, G. Lauskis. Osteopontīna un osteokalcīna ekspresija ortognātiskās ķirurģijas pacientu žokļu kaulos. RSU Zinātniskā konference, Rīga, 2009, **mutisks referāts**.

10. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne. Augšanas faktoru un kaula ekstracelulārās matricas proteīnu izdales intensitāte ortognātiskās ķirurģijas pacientu žokļu kaulos. 6. Latvijas Ārstu kongress, Rīga, 2009, stenda referāts.

11. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtāne. Transformējošā augšanas faktora β ekspresija pacientiem ar Angle II un Angle III klases dentofaciālām deformācijām. RSU Zinātniskā konference, Rīga, 2010, **mutisks referāts**.

12. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane. Osteopontin and osteocalcin in maxilla tissue in skeletal class III patients. 110th Annual Session of American Association of Orthodontists, Washington DC, 2010, stenda referāts.

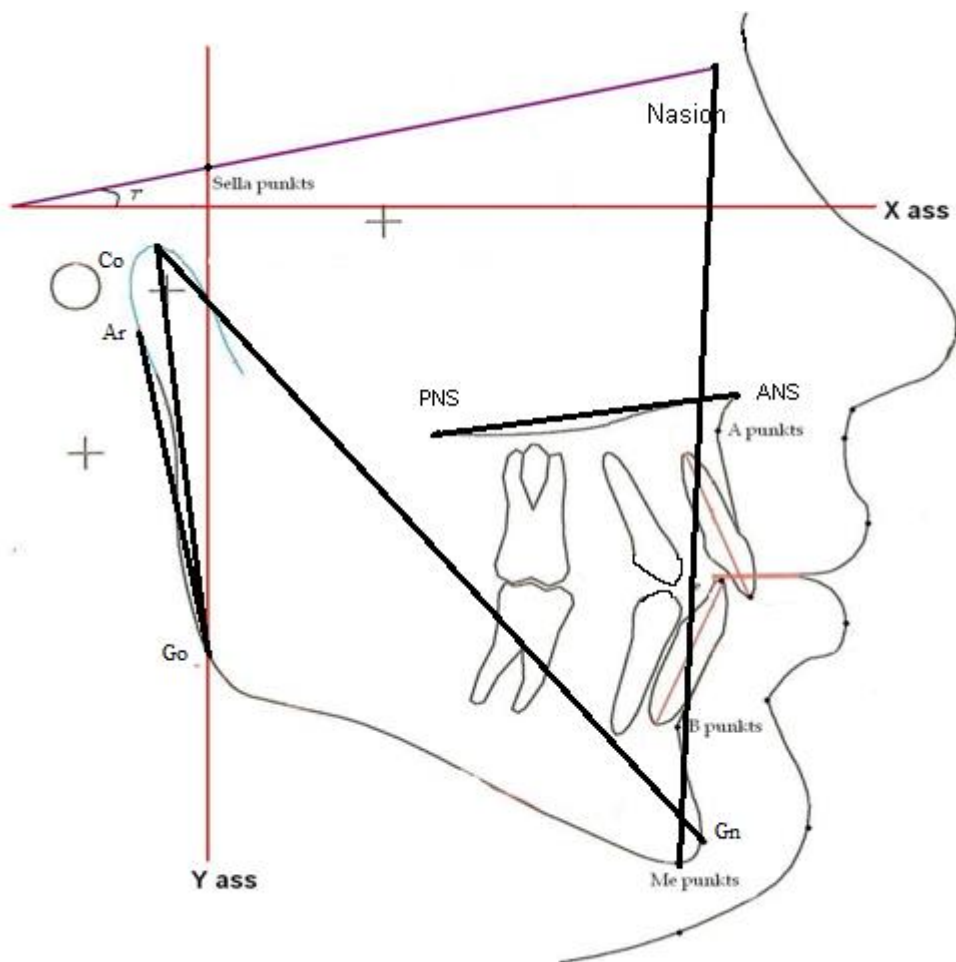
13. I. Jankovska, M. Pilmane, I. Urtane, A. Bigestans, G. Salms, G. Lauskis. Osteopontin and osteocalcin in bone of skeletal class III patients. Baltijas Sejas, žokļu un plastiskās ķirurģijas asociācijas 7. kongress, 2010, Rīga, stenda referāts.

12. PATEICĪBAS

- Izsaku lielu pateicību zinātniskā darba vadītājām Dr. habil. med., profesorei Mārai Pilmanei un Dr. med., profesorei Ilgai Urtānei par darba vadīšanu, konsultācijām, atbalstu un lielo pacietību darba tapšanā.
- Pateicos RSU zinātniskajai prodekānei asociētajai profesorei Ivetai Ozolantai un zinātniskajai sekretārei Ingridai Kreilei par sniegtajiem padomiem doktorantūras laikā.
- Pateicos mutes, sejas un žokļu ķirurgiem Ģirtam Šalmam, Andrim Bīgestānam, Gunāram Lauskim un Kasparam Stāmeram par palīdzību audu materiāla iegūšanā.
- Paldies RSU Anatomijas un antropoloģijas institūta darbiniekiem, it īpaši laborantei Natālijai Morozai, par lielo praktisko palīdzību darba morfoloģiskās sadaļas realizēšanā un inženierim Jānim Brēdem par palīdzību mikrofotogrāfiju fotogrāfēšanā.
- Liels paldies profesoram Uldim Teibem par palīdzību un konsultācijām darba rezultātu statistiskajā apstrādē un izvērtēšanā.
- Paldies profesorei Gundegai Jākobsonei par padomiem cefalomertijas datu analīzē.
- Sirsnīgs paldies maniem jaukajiem kolēģiem Jolantai, Andrim, Zanei un Katrīnai par palīdzību un uzmundrinājumiem.
- Īpašs paldies tētim par neatsveramo palīdzību, konsultācijām un patiesu ieinteresētību promocijas darbā. Mīļš paldies manai mammai par atbalstu un visa veida palīdzību jebkurā laikā.

13. PIELIKUMI

24.att. Cefalometrijas punkti un līnijas (zīm. autors dr. A. Ābeltiņš).



RSU ĒTIKAS KOMITEJAS LĒMUMS

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

Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1. Prof. L.AberbergaAugškalne	Dr. habil.med.	fiziologs
2. Asoc. prof.A.Skutelis	Dr. med.	farmakologs
3. Prof. J. Baltkājs	Dr. habil.med.	farmakologs
4. Prof. U. Teibe	Dr. biol.	fiziķis
5. Prof. L. Feldmane	Dr. habil. med.	patologs

Pieteikuma iesniedzējs: I. Jankovska
RSU Stomatoloģijas institūts

Pētījuma nosaukums: Augšanas faktoru saistība ar dentofaciālo anomāliju patoģenēzi un remodelēšanas procesu pēc žokļa osteotomijām.
Iesniegšanas datums: 09.11.06.

Izskatītie dokumenti :

(X) Pētījuma protokols:

(X) Pētījuma populācija: 60 pacienti no 18 g.v.

(X) Informācija par pētījumu:

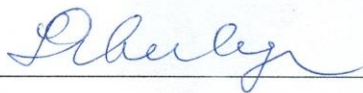
(X) Piekrišana dalībai pētījumā:

Citi dokumenti : RSU Stomatoloģijas institūta Valdes priekšsēdētājas piekrišana.

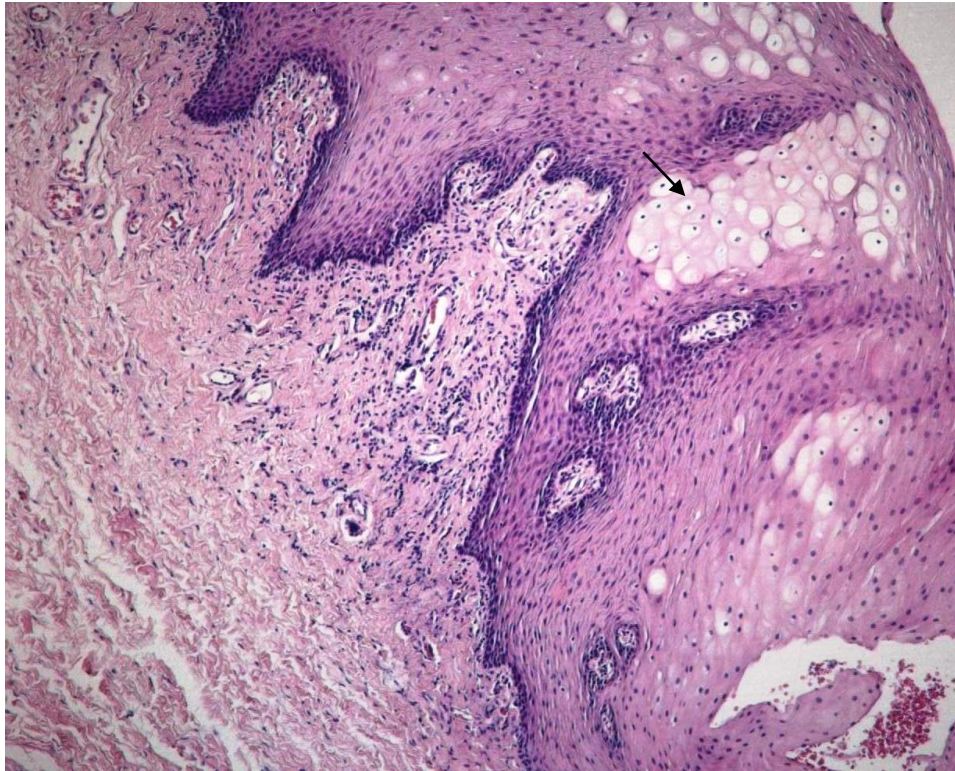
Lēmums: piekrist biomedicīniskajam pētījumam.

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

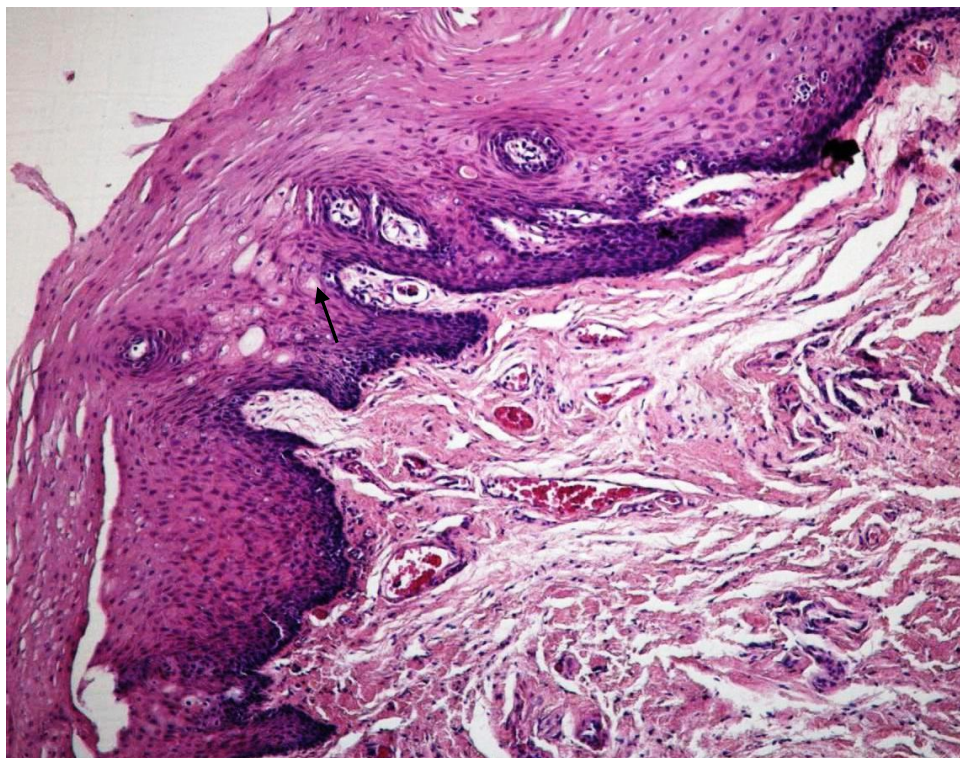
Paraksts



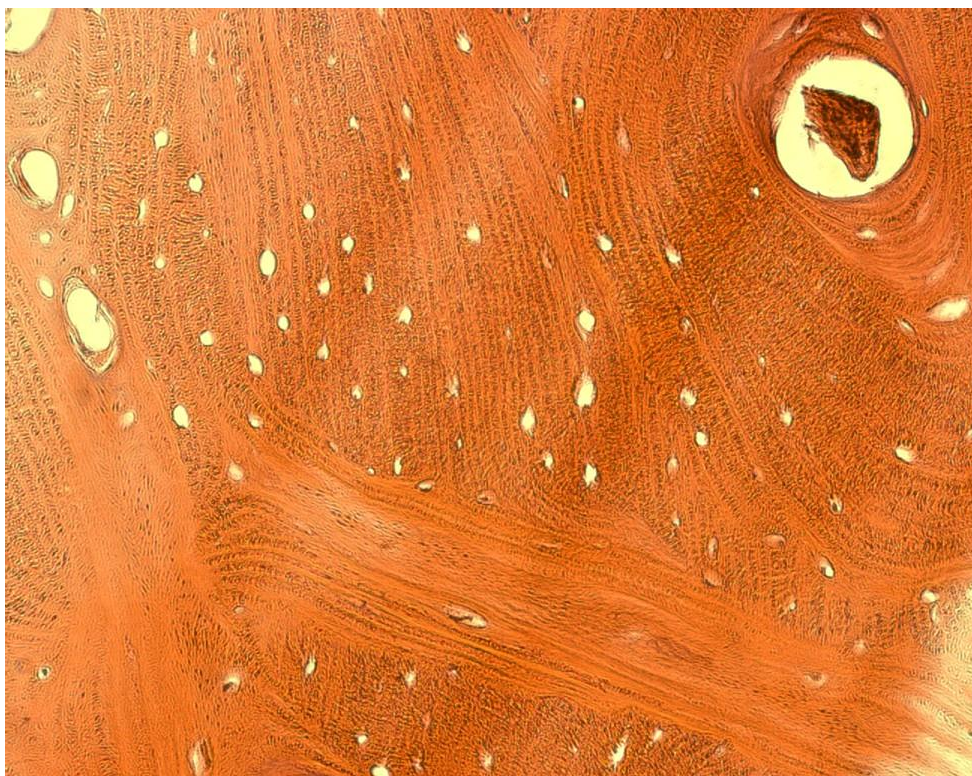
Ētikas komitejas sēdes datums: 09.11.2006.



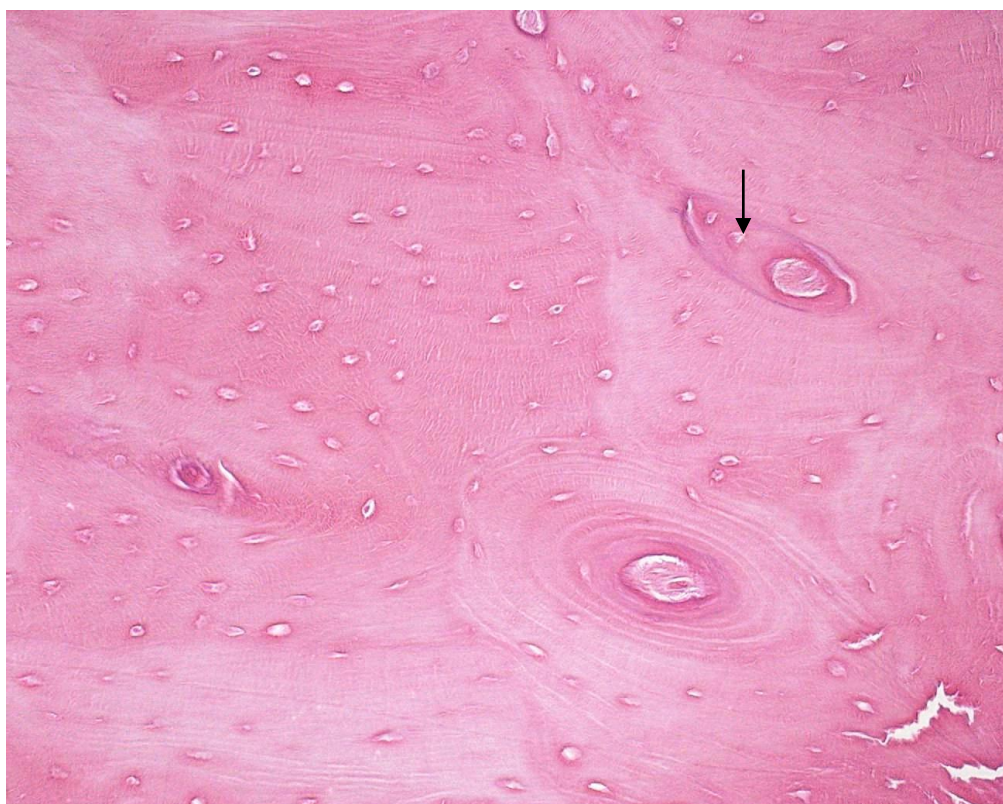
1. mikrofotogrāfija. Mutes dobuma gļotāda ar epiteliocītu vakuolizāciju (bultiņa) un iekaisuma šūnu infiltrāciju zemgļotādas kārpīņu slānī (Angle III klases pacients, hem/eo., X 100).



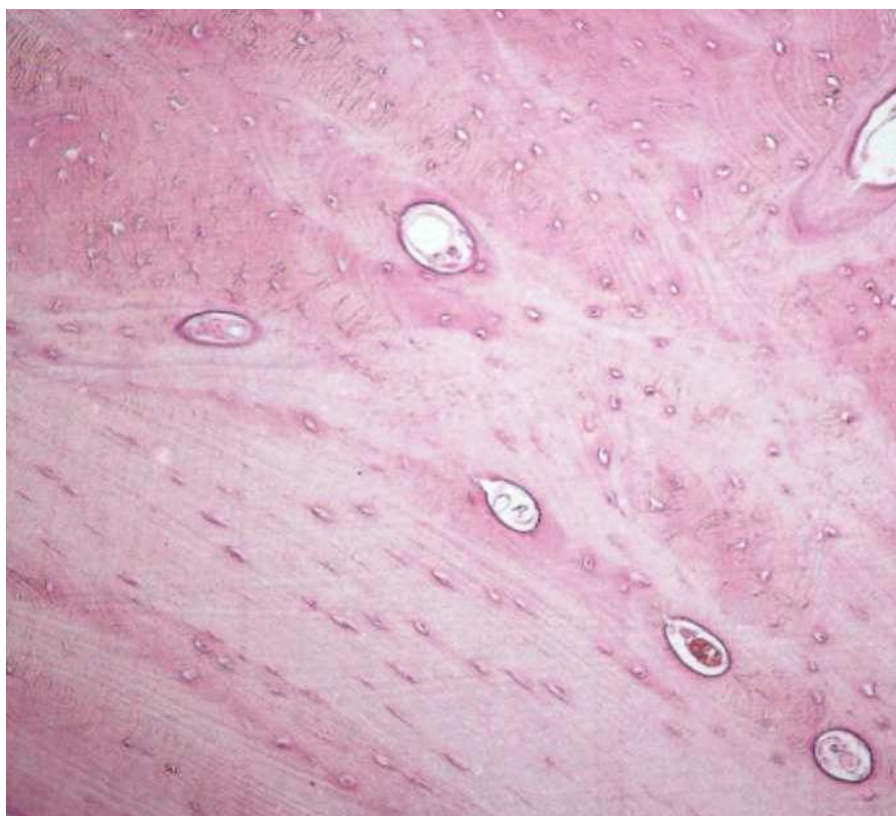
2. mikrofotogrāfija. Mutes dobuma gļotāda ar perēkļveida polimorfo epiteliocītu vakuolizāciju, nevienmērīgi sabiezētu bazālo membrānu un saistaudu kārpīņām (bultiņa), kas dziļi iespiežas epitēlijā (Angle III klases pacients, hem/eo., X 100).



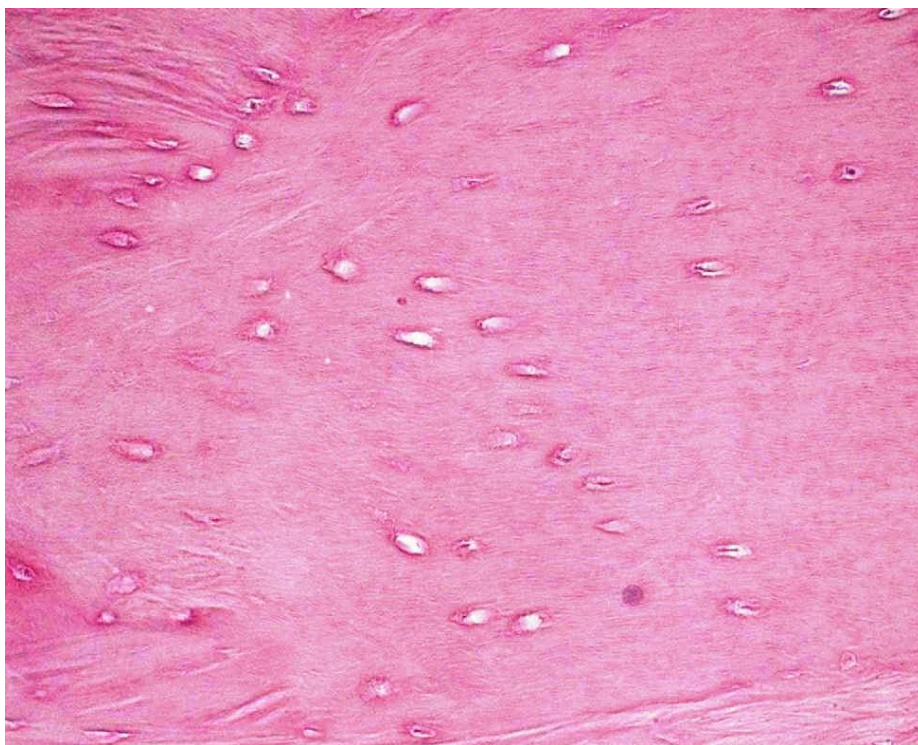
3. mikrofotogrāfija. *Ramus mandibulae* mugurējās daļas kaula trabekulas ar haotiski lokalizētām kolagēnām šķiedrām (Angle III klases pacients, hem/eo., X 200).



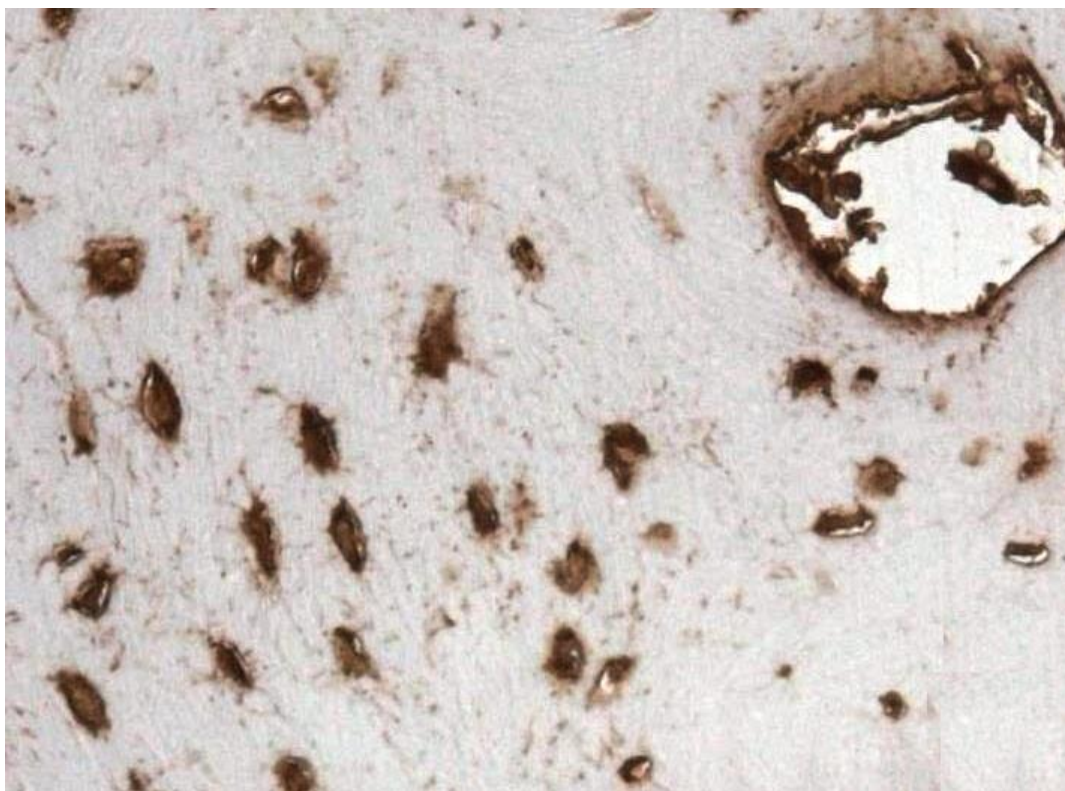
4. mikrofotogrāfija. *Ramus mandibulae* priekšējās daļas kaulaudi ar saistaudu proliferāciju (bultiņa) osteonu kanālos (Angle II klases pacients, hem/eo., X 200).



5. mikrofotogrāfija. Irregulāras osteonu struktūras kaulaudos no *tuber maxillae* (Angle III klases pacients, hem/eo., X 200).



6. mikrofotogrāfija. Kontroles grupas pacienta kaulaudu mikrofotogrāfija no *ramus mandibulae* priekšējās daļas (hem/eo., X 200).



7. mikrofotogrāfija. Bagātīga TGF- β ekspresija *tuber maxillae* kaulaudu šūnās (kontroles grupas pacients, TGF- β IMH, X 250).



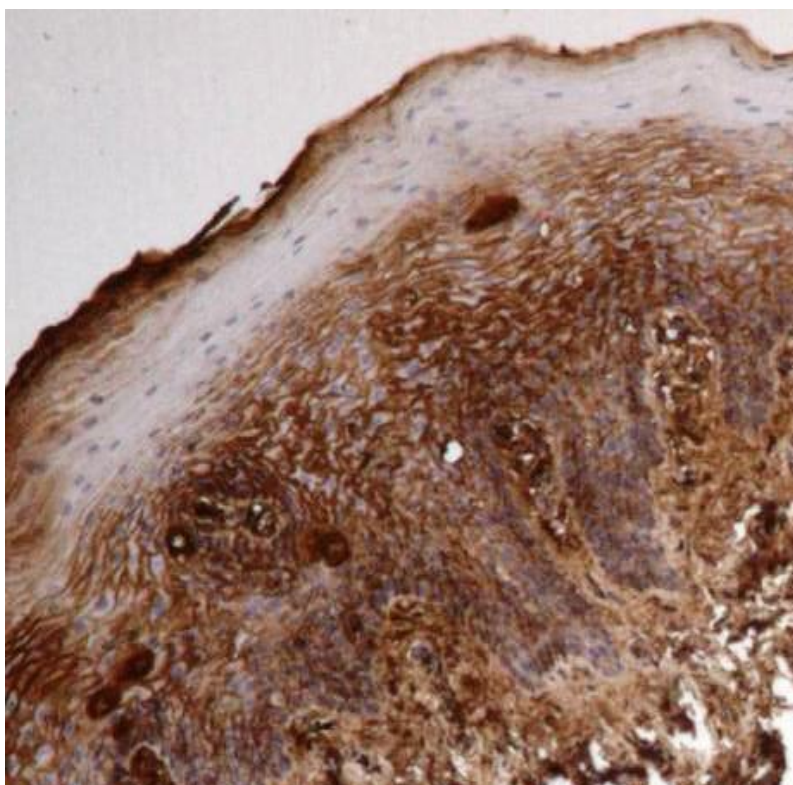
8. mikrofotogrāfija. Redzama vienmērīgi izteikta TGF- β ekspresija audos no *tuber maxillae* (Angle III klases pacients, TGF- β IMH, X 200).



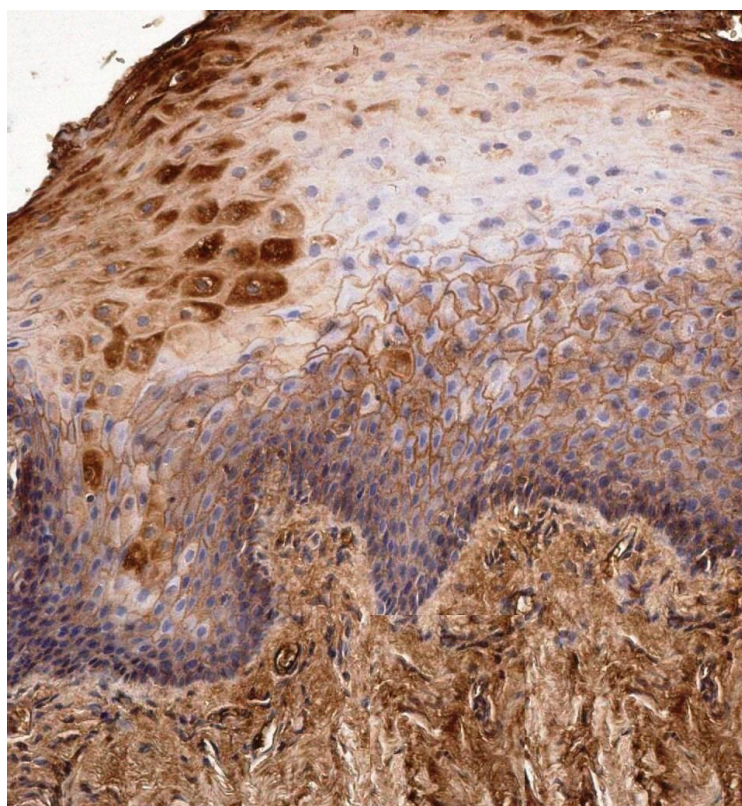
9. mikrofotogrāfija. Novērojama ļoti izteikta TGF- β ekspresija kaulaudu šūnās no *ramus mandibulae* priekšējās daļas (kontroles grupas pacients, TGF- β IMH, X 200).



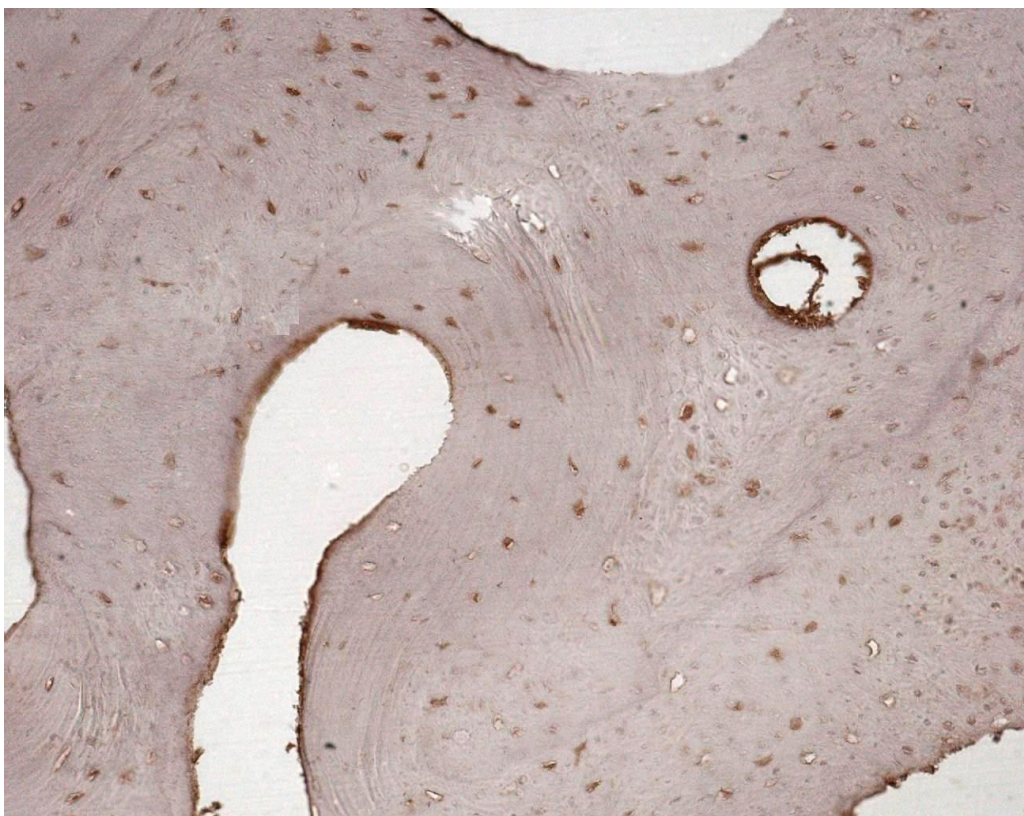
10. mikrofotogrāfija. TGF- β ekspresiju uzrāda vidēji daudz *ramus mandibulae* priekšējās daļas kaula šūnu (Angle III klases pacients, TGF- β IMH, X 200).



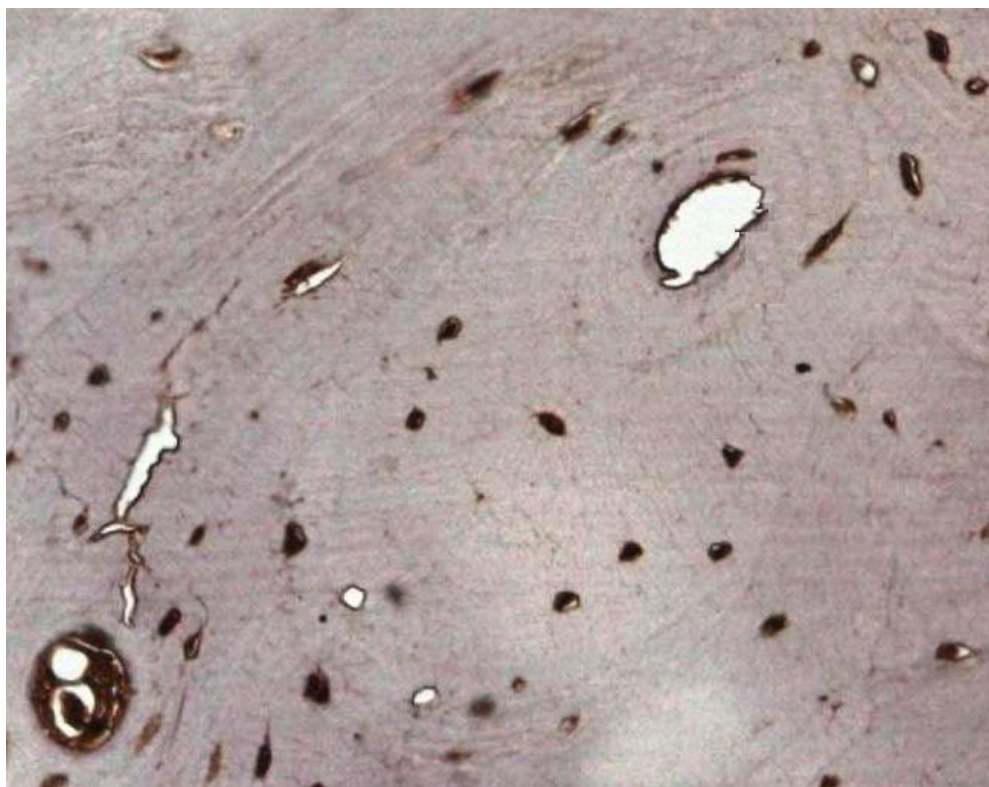
11. mikrofotogrāfija. Bagātīga TGF- β ekspresija mutes dobula gļotādas epitēlijā un saistaudos (Angle II klases pacients, TGF- β IMH, X 100).



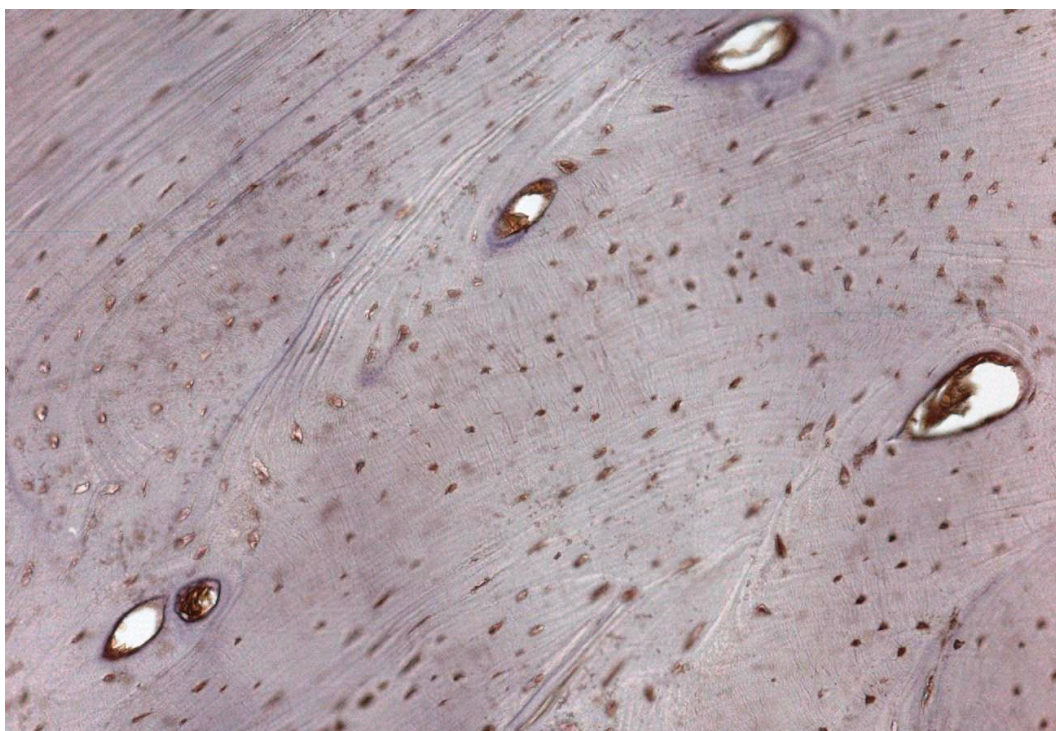
12. mikrofotogrāfija. Bagātīga TGF- β ekspresija mutes dobuma gļotādas epitēlijā un saistaudos pie bazālās membrānas (kontroles grupas pacients, TGF- β IMH, X 100).



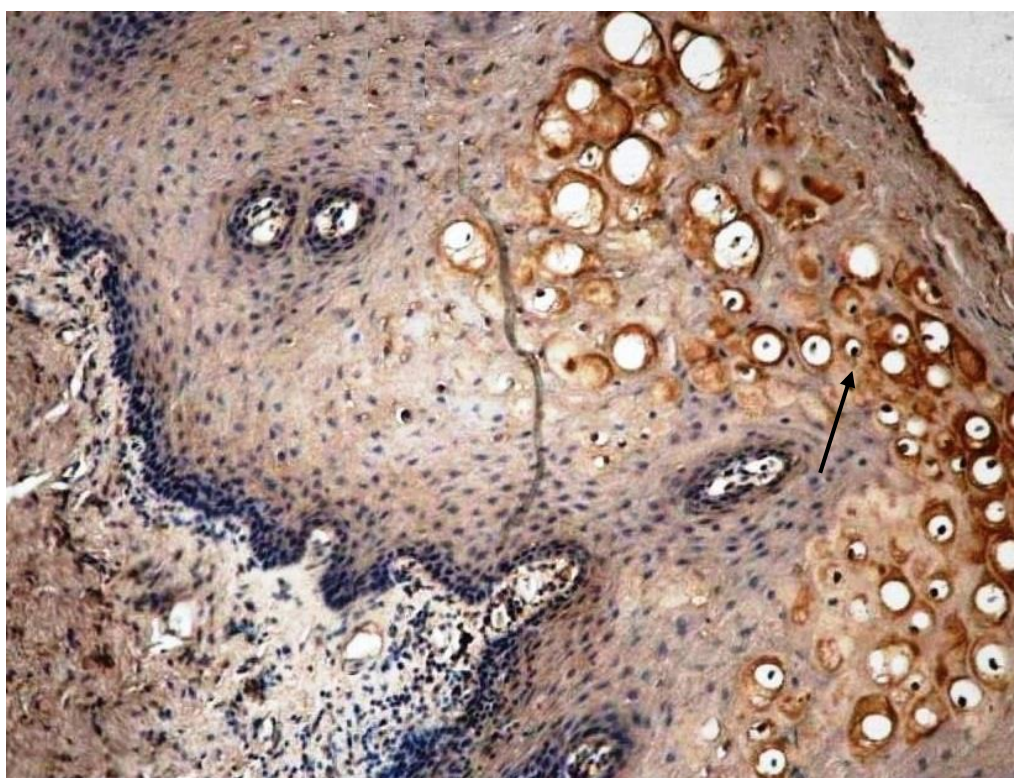
13. mikrofotogrāfija. Vidēji daudz osteocītu, kas uzrāda BMP2/4 ekspresiju *tuber maxillae* (kontroles grupas pacients, BMP2/4 IMH, X 200).



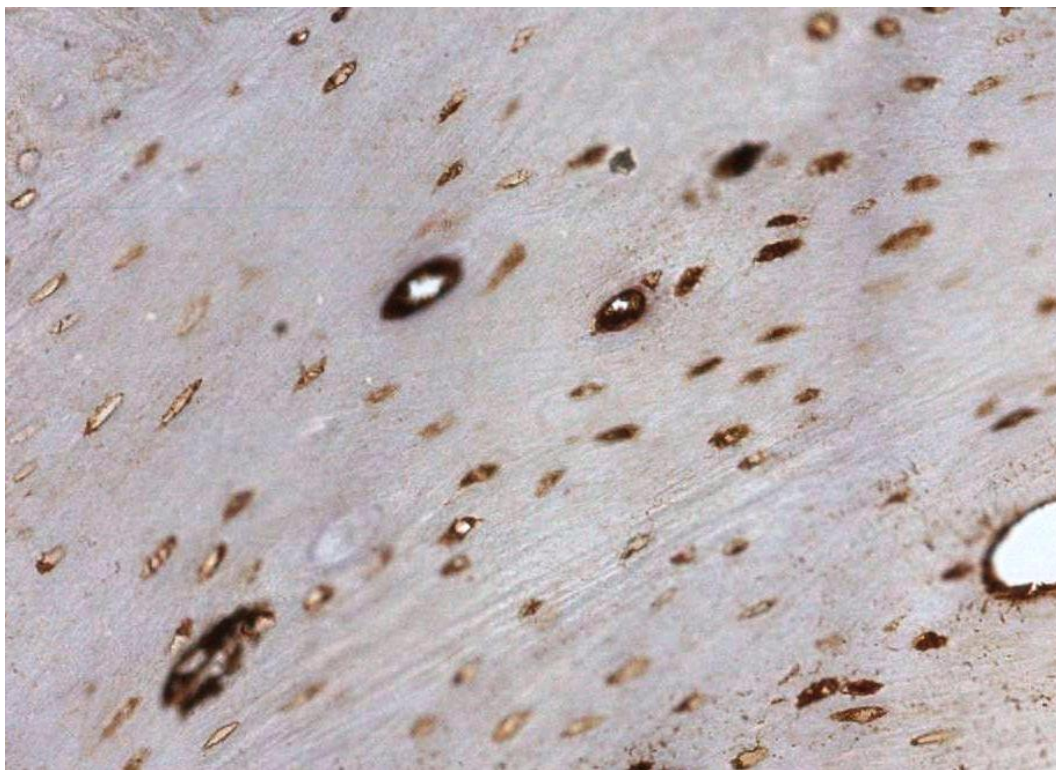
14. mikrofotogrāfija. Redzamas daudz BMP2/4 saturošas šūnas *tuber maxillae* kaulaudos (Angle III klases pacients, BMP2/4 IMH, X 250).



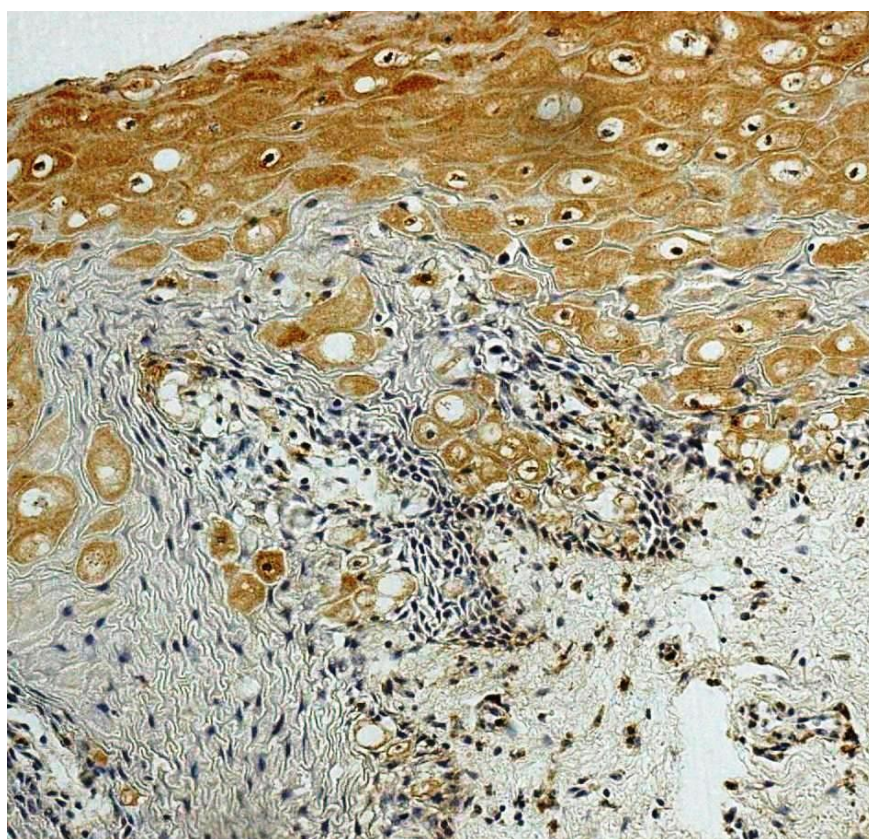
15. mikrofotogrāfija. *Ramus mandibulae* mugurējās daļas kaulaudos redzamas ļoti daudz BMP2/4 pozitīvas struktūru redzes laukā (Angle II klases pacients, BMP2/4 IMH, X 200).



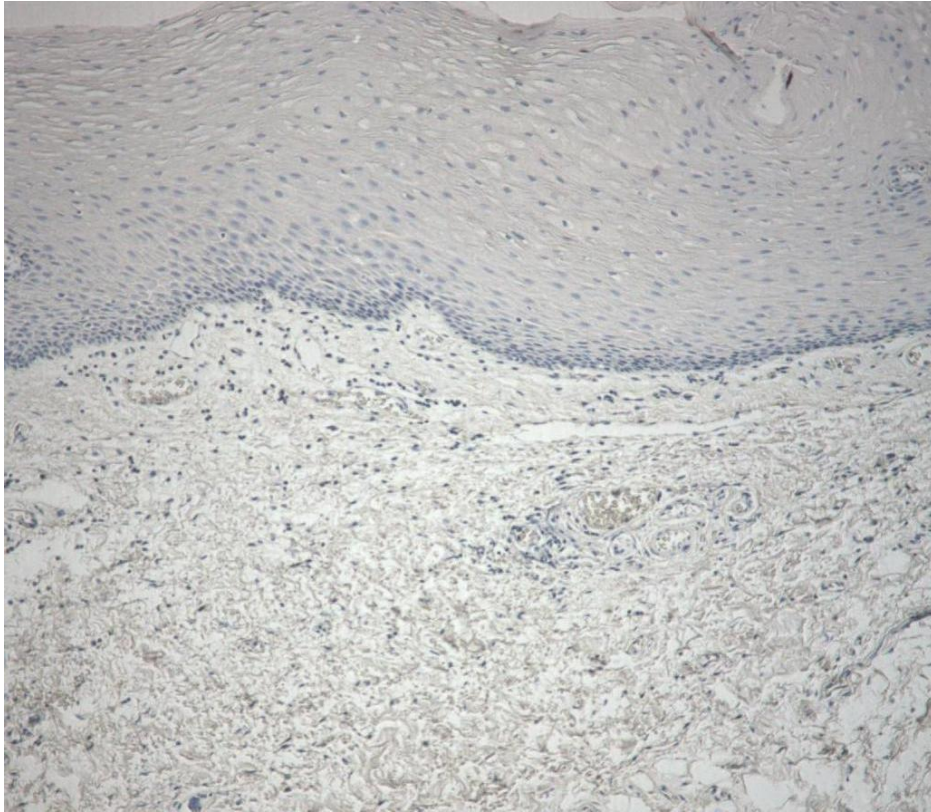
16. mikrofotogrāfija. Izteikta BMP2/4 ekspresija mutes dobuma gļotādas vakuolizētos epitelociētos (bultiņa) un saistaudos (Angle III klases pacients, BMP2/4 IMH, X 100).



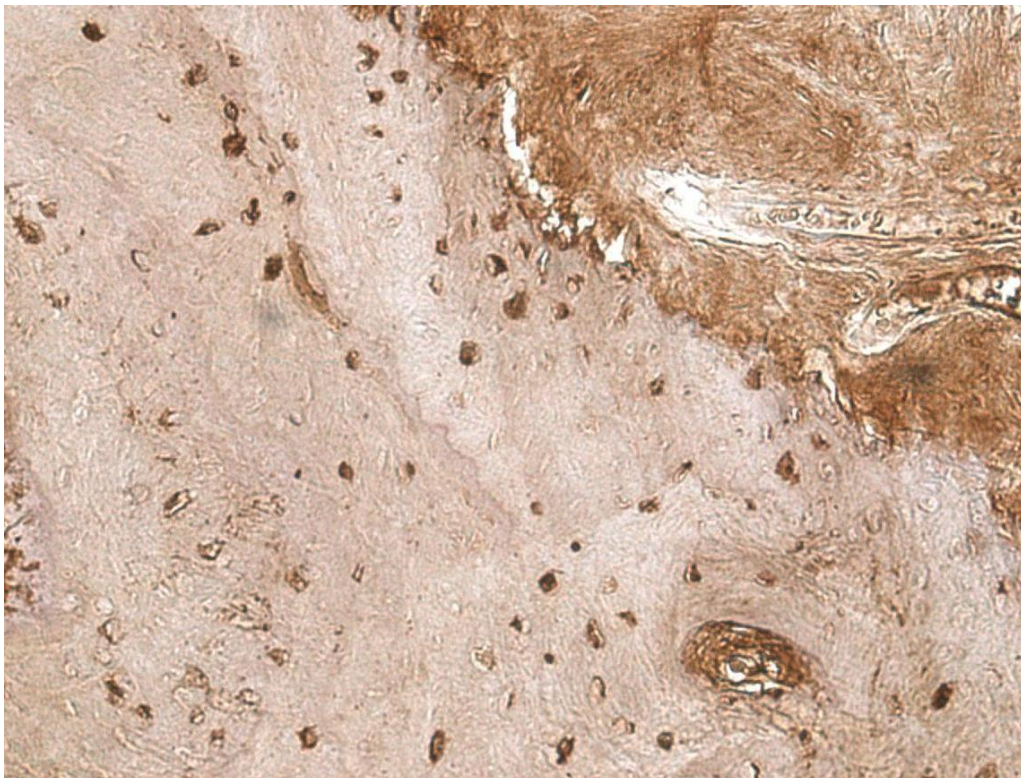
17. mikrofotogrāfija. Kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas konstatējām daudz FGFR1 saturošas struktūras (Angle III klases pacients, FGFR1 IMH, X 200).



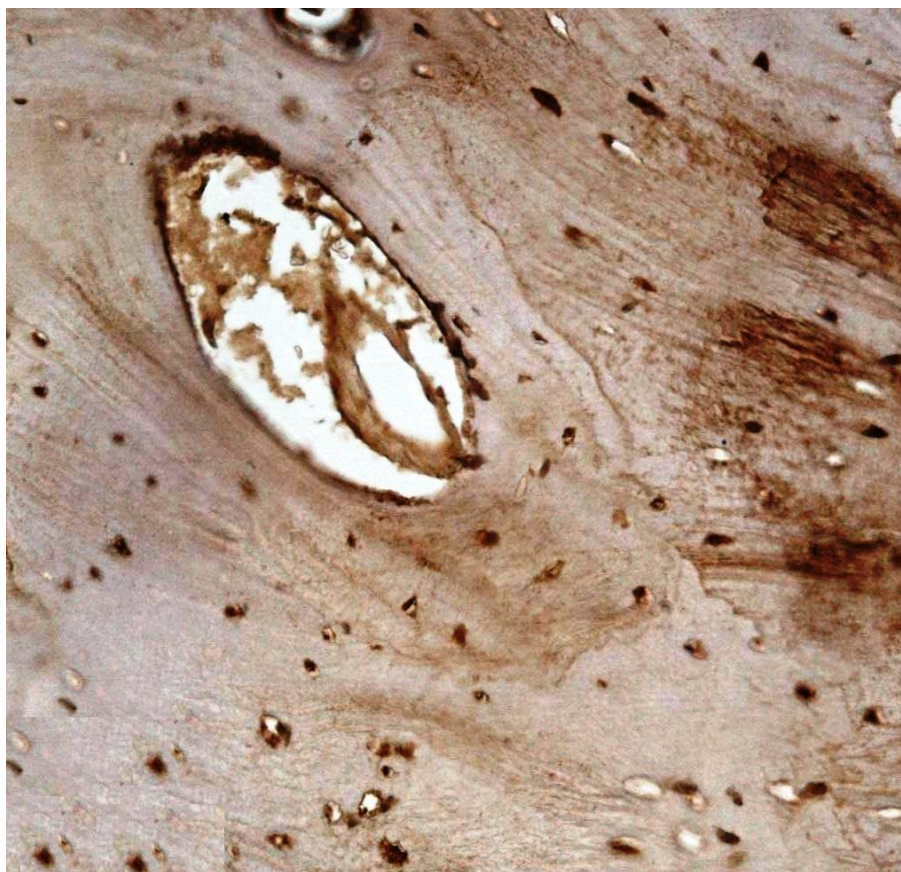
18. mikrofotogrāfija. Bagātīga FGFR1 ekspresija mutes dobuma gļotādas epitēlijā un saistaudos (Angle II klases pacients, FGFR1 IMH, X 100).



19. mikrofotogrāfija. Pilnīgs VEGF ekspresijas trūkums mutes dobuma gļotādā (Angle II klases pacients, VEGF IMH, X 100).



20. mikrofotogrāfija. Daudz osteokalcīnu saturošas šūnas *tuber maxillae* (Angle III klases pacients, OC IMH, X 200).



21. mikrofotogrāfija. Izteikta osteokalcīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā (kontroles grupas pacients, OC IMH, X 250).



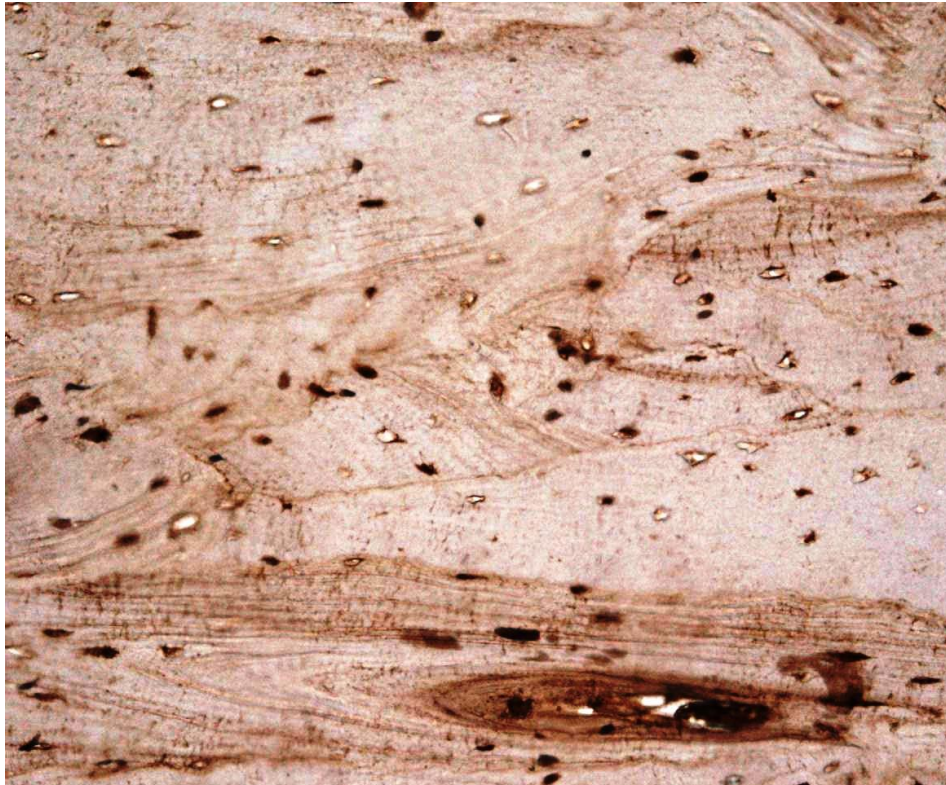
22. mikrofotogrāfija. Praktiski visas kaulaudu šūnas ekspresē OC kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas (Angle II klases pacients, OC IMH, X 200).



23. mikrofotogrāfija. Izteikta osteopontīna ekspresija *tuber maxillae* kaulaudos (kontroles grupas pacients, OP IMH, X 250).



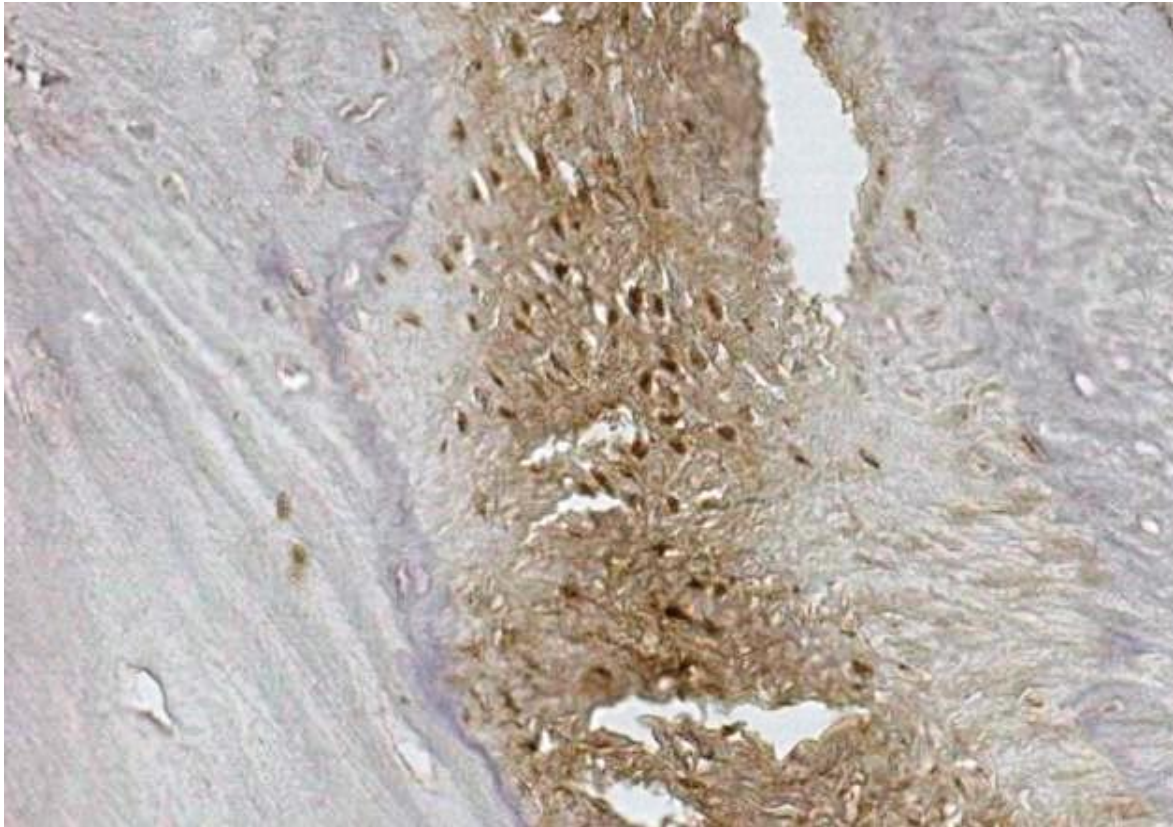
24. mikrofotogrāfija. Kaulaudos no *tuber maxillae* novērojām vidēji daudz osteopontīnu saturošas šūnas (Angle III klases pacients, OP IMH, X 200).



25. mikrofotogrāfija. Bagātīga osteopontīna ekspresija audu materiālā no *ramus mandibulae* priekšējās daļas (kontroles grupas pacients, OP IMH, X 250).



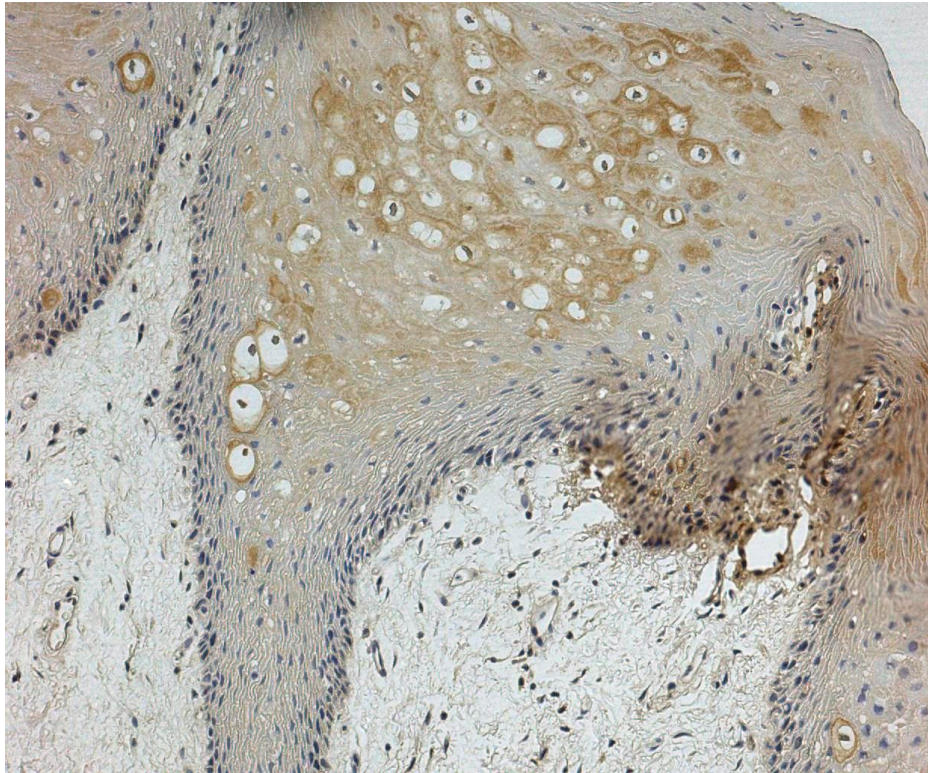
26. mikrofotogrāfija. Neliela osteopontīna ekspresija (bultiņa) kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas (Angle III klases pacients, OP IMH, X 200).



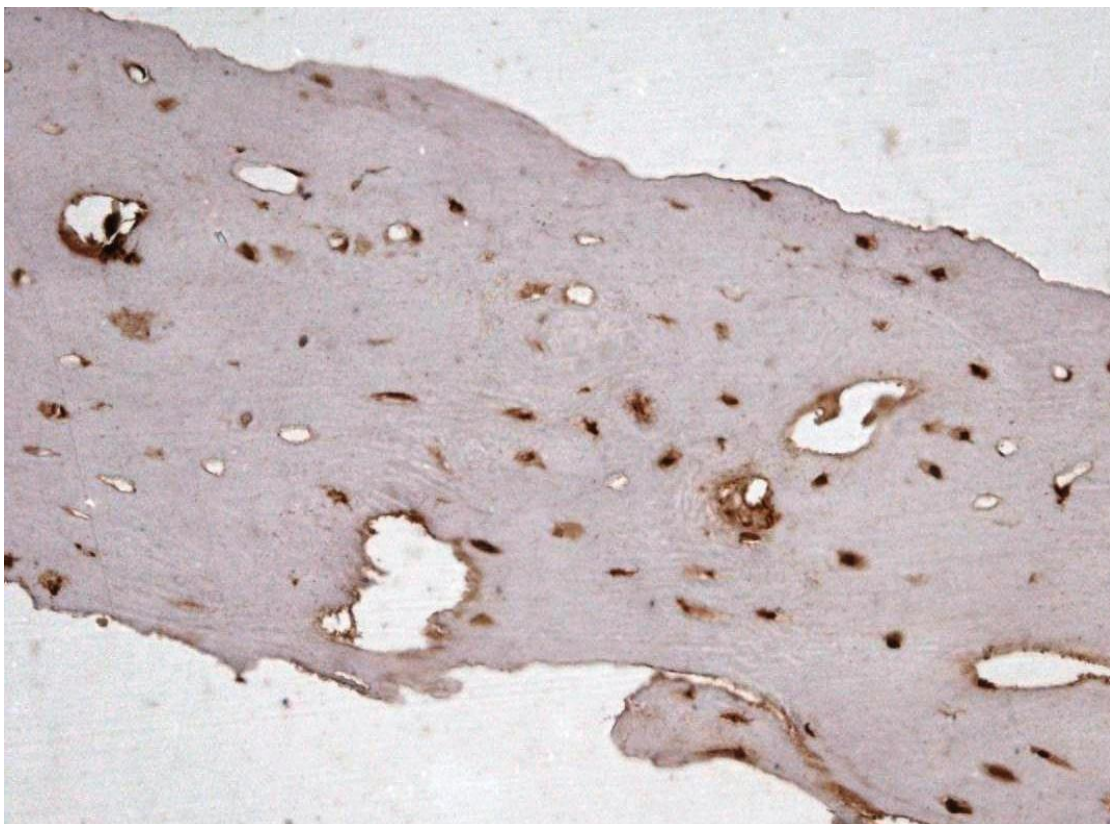
27. mikrofotogrāfija. Dažas pozitīvas šūnas kaulaudos no *tuber maxillae*, bet izteikta MMP2 ekspresija tiem pieguļošajos saistaudos (Angle III klases pacients, MMP2 IMH, X 200).



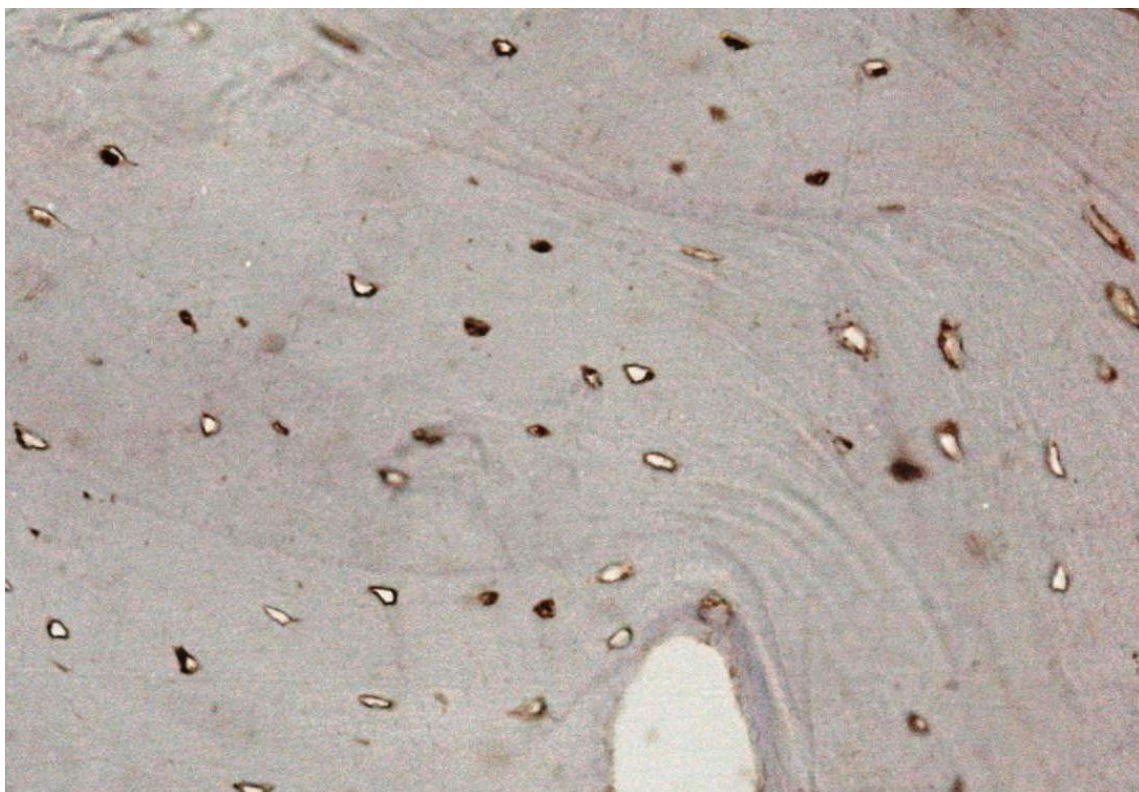
28. mikrofotogrāfija. Daži MMP2 saturoši osteocīti (bultiņa) *ramus mandibulae* priekšējā daļā (Angle II klases pacients, MMP2 IMH, X 200).



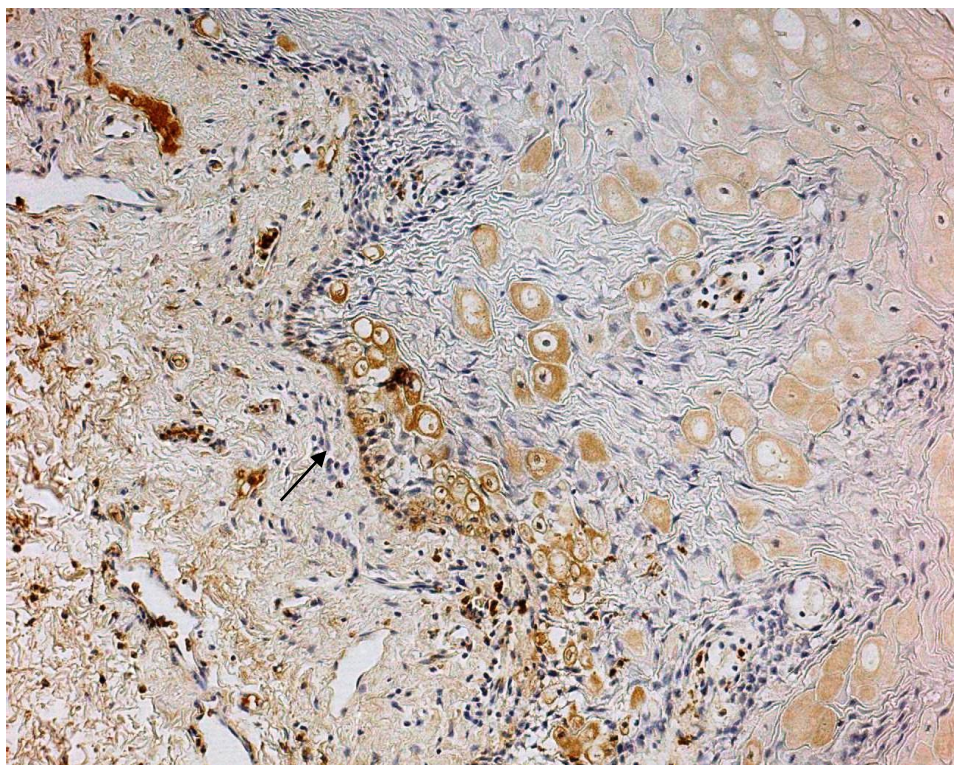
29. mikrofotogrāfija. Bagātīga MMP2 izdale mutes dobuma gļotādas epiteliocītos un perēkļveidīgi bazālajā membrānā (Angle III klases pacients, MMP2 IMH, X 200).



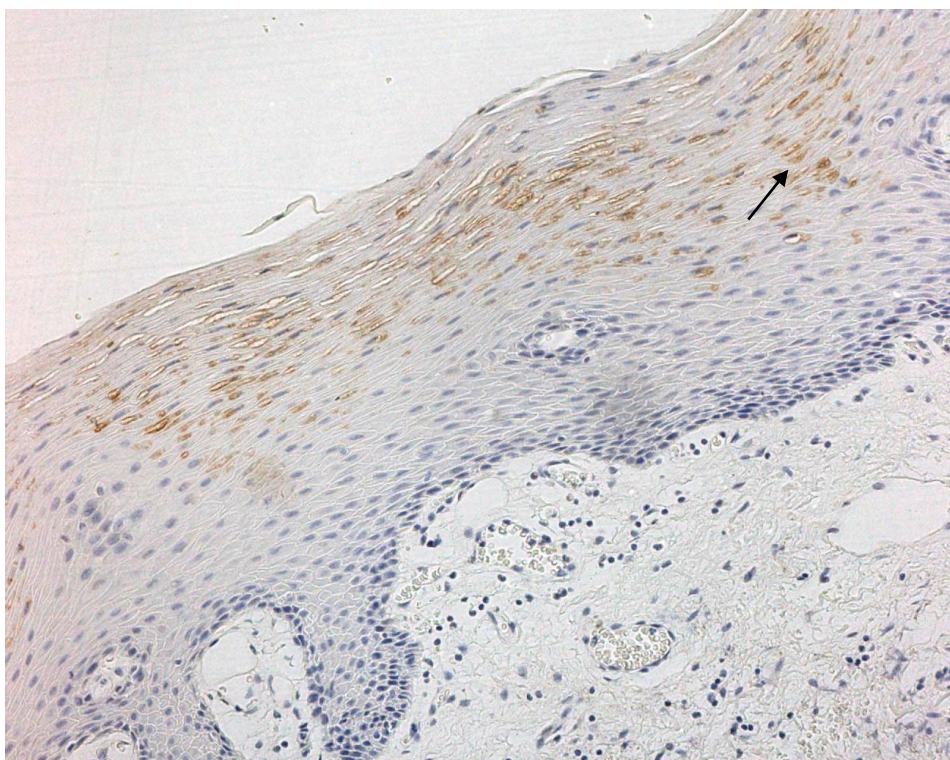
30. mikrofotogrāfija. Daudz barx1 gēna proteīnu saturošas šūnas *tuber maxillae* kaulaudos (kontroles grupas pacients, barx1 IMH, X 250).



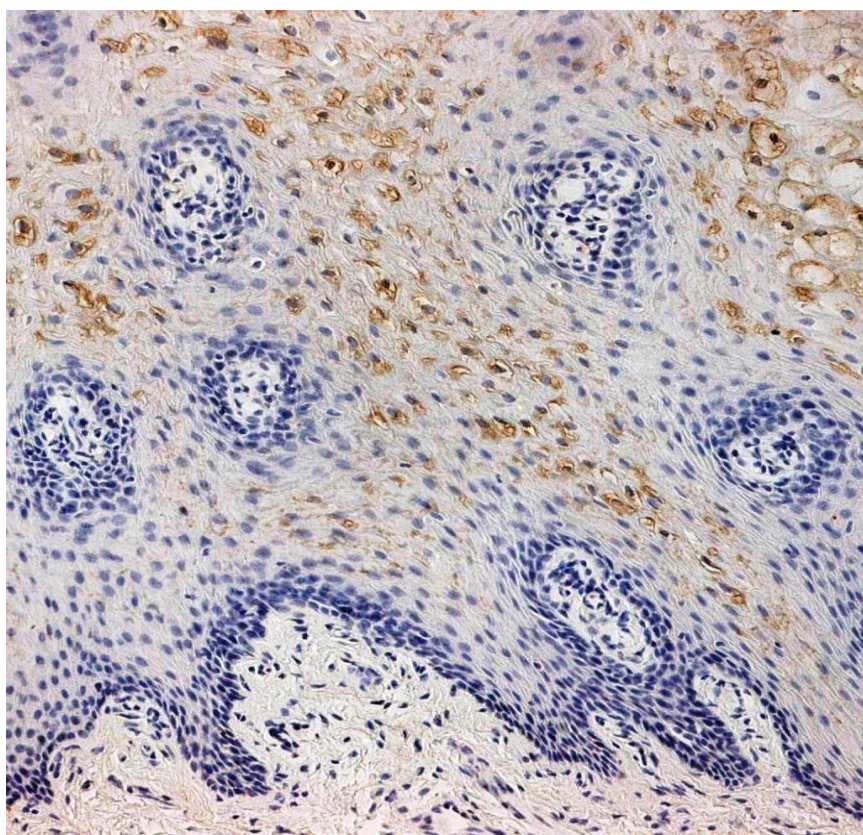
31. mikrofotogrāfija. Ļoti daudz barx1 gēnu proteīnu saturošu osteocītu *ramus mandibulae* priekšējā daļā (kontroles grupas pacients, barx1 IMH, X 400).



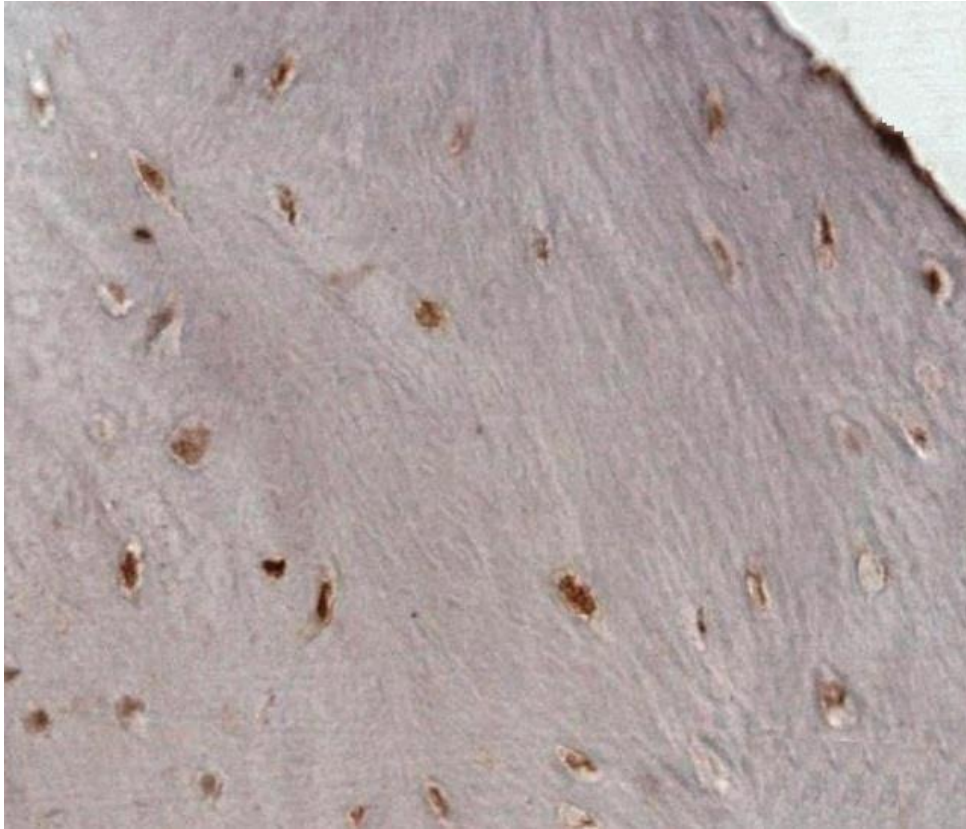
32. mikrofotogrāfija. Bagātīga barx1 gēnu proteīna ekspresija mutes dobuma gļotādas epitēlijā, īpaši bazālajās šūnās (bultiņa) un saistaudos (Angle II klases pacients, barx1 IMH, X 200).



33. mikrofotogrāfija. Msx2 gēnu proteīnu ekspresija mutes dobuma gļotādas epitēlija viršējos slāņos (bultiņa, Angle II klases pacients, msx2 IMH, X 200).



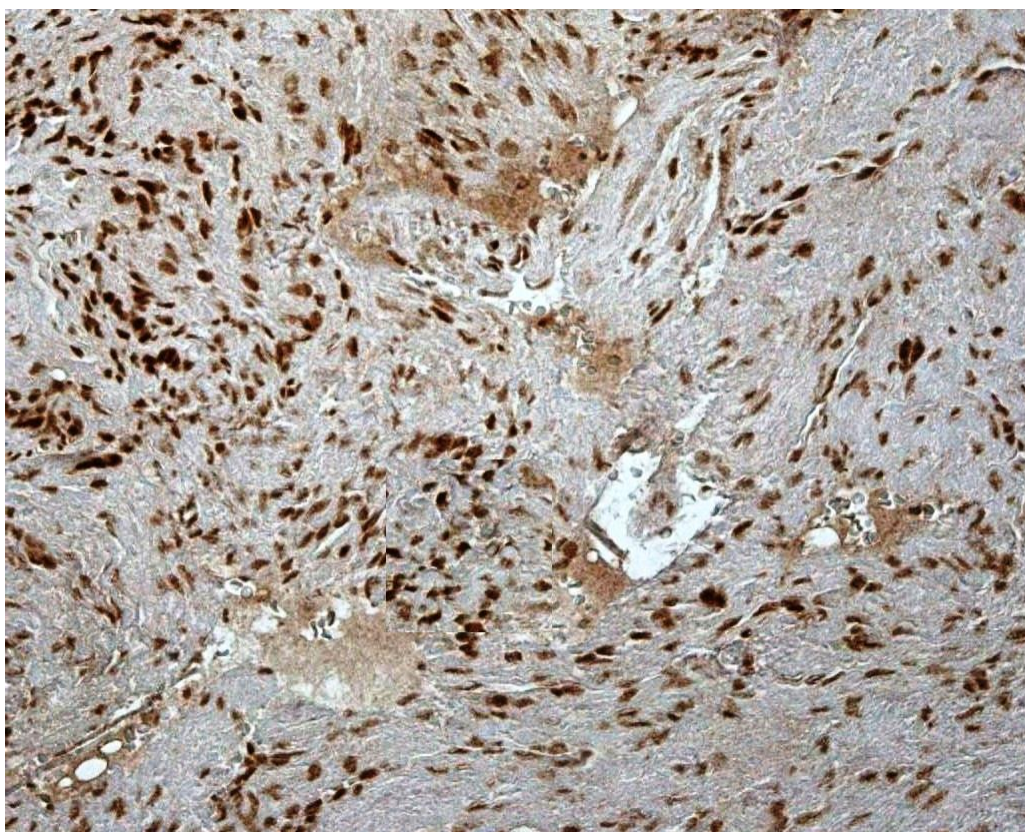
34. mikrofotogrāfija. Izteikta msx2 gēnu proteīna ekspresija mutes dobuma gļotādas epiteliocītos (Angle II klases pacients, msx2 IMH, X 250).



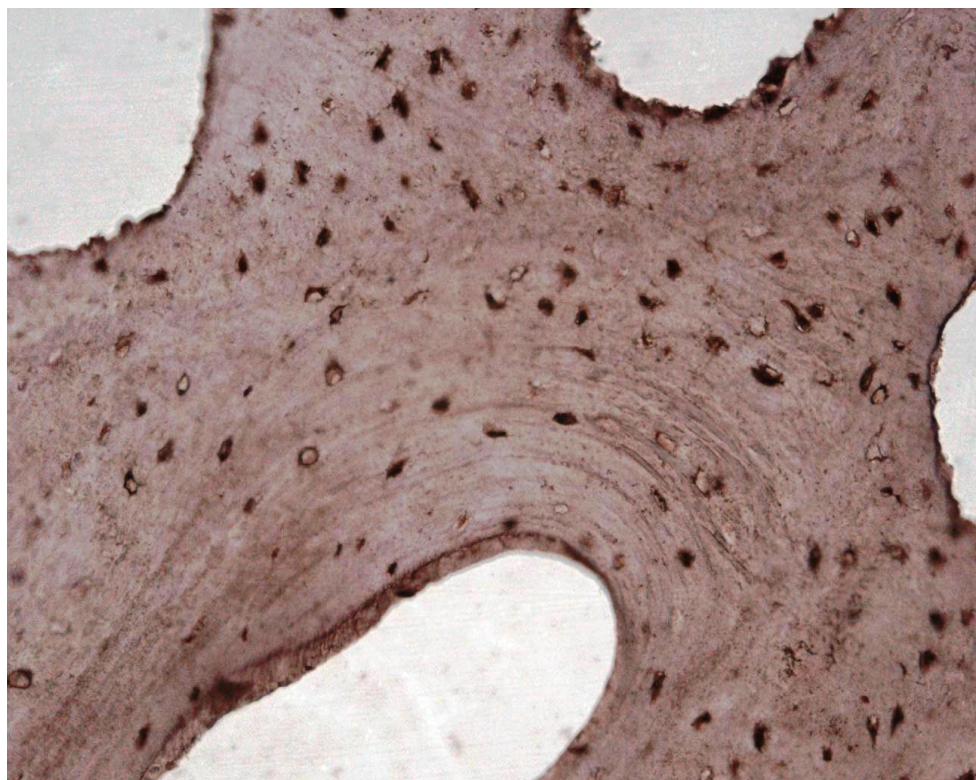
35. mikrofotogrāfija. Vidēji daudz wnt1 saturošas struktūras *tuber maxillae* kaulaudos (kontroles grupas pacients, wnt1 IMH, X 250).



36. mikrofotogrāfija. Vidēji daudz wnt1gēnu proteīnu saturošas struktūras kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas (Angle II klases pacients, wnt1 IMH, X 250).



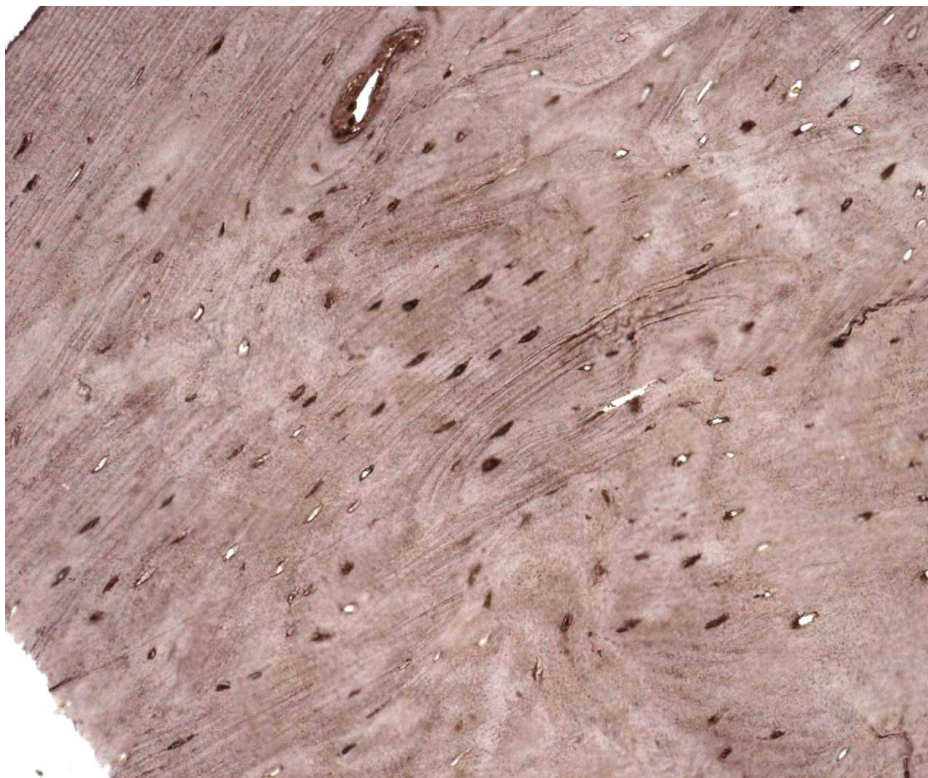
37. mikrofotogrāfija. Ļoti izteikta wnt1 ekspresija mutes dobuma gļotādas saistaudos (kontroles grupas pacients, wnt1 IMH, X 250).



38. mikrofotogrāfija. Ļoti daudz apoptotisko osteocītu kaulaudos un tam pieguļošajās periosta šūnās *tuber maxillae* (kontroles grupas pacients, TUNEL, X 250).



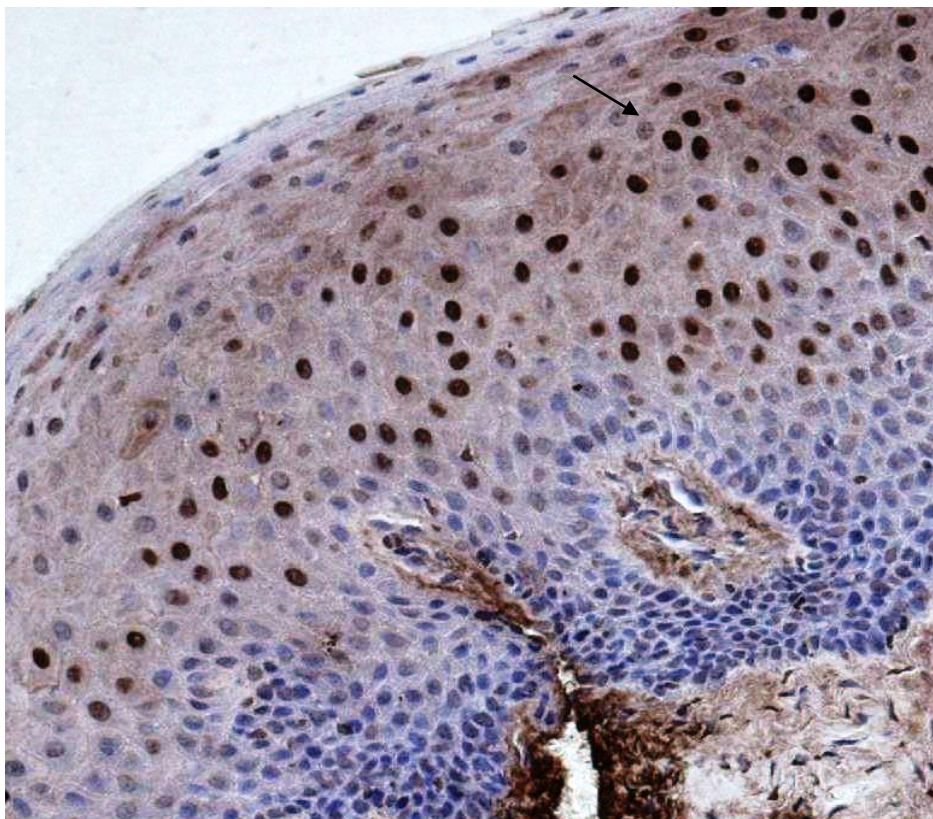
39. mikrofotogrāfija. Totāla apoptoze kaulaudos no *tuber maxillae* (Angle III klases patients, TUNEL, X 100).



40. mikrofotogrāfija. Apoptotiskās šūnas *ramus mandibulae* priekšējās daļas kaulaudos (kontroles grupas patients, TUNEL, X 200).



41. mikrofotogrāfija. Redzami daudz apoptotiski osteocīti kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas (Angle III klases pacients, TUNEL, X 200).



42. mikrofotogrāfija. Daudz apoptozes skartu kodolu (bultiņa) mutes dobuma gļotādas epiteliocītos (kontroles grupas pacients, TUNEL, X 200).