

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 darba kopsavilkums

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. habil. med., profesore Māra Pilmane

Dr. med., profesore Ilga Urtāne

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



Rīga, 2011

Promocijas darbs veikts:

Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūtā

Rīgas Stradiņa universitātes Stomatoloģijas institūtā

Darba zinātniskie vadītāji:

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

Dr. med., profesore **Ilga Urtāne**

Oficiālie recenzenti:

Dr. habil. med., profesore **Ingrīda Čēma** (Rīgas Stradiņa universitāte)

Dr. med., asoc. profesore **Marina Aunapuu** (Tartu universitāte)

Dr. med., asoc. profesors **Antanas Šidlauskas** (Lietuvas Veselības Zinātņu universitāte)

Promocijas darba aizstāvēšana notiks Rīgas Stradiņa universitātes Stomatoloģisko disciplīnu promocijas padomes sēdē RSU Hipokrāta auditorijā, Rīgā, Dzirciema ielā 16.

Ar promocijas darbu var iepazīties Rīgas Stradiņa universitātes bibliotēkā

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. habil. med., profesore **Ingrīda Čēma**

PĒTĪJUMA 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 koriģēto audu 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.

DARBA MĒRĶIS

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

DARBA UZDEVUMI

1. Izmantojot histoloģisko krāsojumu ar hematoksilīnu un eozīnu, noteikt histoloģiskās kaulaudu izmaiņas skeletālās Angle II un III klases pacientiem.
2. Izmantojot imūnhistoķīmijas metodi, noteikt augšanas faktoru un to receptoru (transformējošā augšanas faktora β (TGF- β), kaula morfoģenētiskā proteīna 2/4 (BMP2/4), fibroblastu augšanas faktora receptora 1 (FGFR1) un vaskulārā endoteliālā augšanas faktora (VEGF)) ekspresiju kaulaudu un pieguļošo mīksto audu paraugos pacientiem ar skeletālu Angle II un Angle III klasi.
3. Pielietojot imūnhistoķīmijas metodi, kaulaudos un mīkstajos audos noteikt kaula ekstracelulārās matricē proteīnu (osteopontīna (OP) un osteokalcīna (OC)) un ekstracelulārās matricē degradācijas enzīmu (matricē metaloproteināzes 2 (MMP2)) ekspresiju pacientiem ar Angle II un Angle III klases dentofaciālām deformācijām.
4. Pielietojot imūnhistoķīmijas metodi, noteikt gēnu proteīnu (barx1, msx2 un wnt1) ekspresiju pacientiem ar Angle II un III klases dentofaciālām deformācijām.
5. Izmantojot TUNEL metodi, noteikt apoptozes biežumu audu paraugos pacientiem ar Angle II un Angle III klases dentofaciālām deformācijām.
6. Noteikt korelācijas starp augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricē proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes ekspresiju un dentofaciālo deformāciju veidiem.
7. Salīdzināt iegūtos datus ar kontroles grupas pacientu atradnēm.

DARBA HIPOTĒZE

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

DARBA ZINĀTNISKĀ NOVITĀTE

1. Iegūta jauna informācija par augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu, gēnu proteīnu un apoptozes klātbūtni žokļu kaulu augšanas zonās 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.

DARBA STRUKTŪRA UN APJOMS

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā. Tas sastāv no 13 nodaļām: ievada, literatūras apskata, materiāliem un metodēm, rezultātiem, diskusijas, kopsavilkuma, secinājumiem, literatūras saraksta, publikāciju par pētījuma tēmu saraksta un pielikuma. Ievadā atspoguļots darba mērķis un uzdevumi, aktualitāte, kā arī darba hipotēze. Kopējais darba apjoms ir 136 lapaspuses, to skaitā 53 tabulas un 24 attēli. Pielikumā ir 42. mikrofotogrāfiju attēli. Literatūras sarakstā ietverti 226 izmantoto darbu nosaukumi.

MATERIĀLI UN METODE

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 ($t = 0,520$; $p = 0,606$). Angle II klases grupā bija 13 sievietes un 7 vīrieši, bet Angle III klases grupā 14 sievietes un 6 vīrieši.

Pētījumā netika iekļauti pacienti ar smagām vispārējām saslimšanām operācijas laikā un anamnēzē, lūpu un/vai aukslēju šķeltni, dentofaciāliem sindromiem un skeletālām asimetrijām.

Rīgas Stradiņa universitātes Stomatoloģijas institūta Mutes, sejas un žokļu ķirurģijas klīnikā 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 smaganas pārejas krokas otro molāru rajonā.

Audu materiāls uzreiz pēc iegūšanas no osteotomijas vietas tika fiksēts Stefanini šķīdumā un nogādāts Anatomijas un Antropoloģijas institūtā tālākai apstrādei.

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

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

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.

Kontroles grupā tika iekļauti pacienti ar skeletālu un dentoalveolāru Angle I klasi, līdzinām zobu rindām 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, kā arī nenovēroja 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. 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.

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 naturālu 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), 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).

Metodes un reaktīvi

Pārskata ainas iegūšanai tika pielietota rutīnā histoloģijas metode, paraugi krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu (Лилли, 1969) un mikroskopēti ar Leica BME mikroskopu.

Biotīna un streptovīdīna imūnhistoķīmisko metodi pielietoja augšanas faktoru un to receptoru, kaula ekstracelulārās matricē proteīnu, ekstracelulārās matricē degradācijas enzīmu un gēnu proteīnu ekspresijas noteikšanai (1. tabula).

1. tabula. Informācija par ar biotīna-streptovīdīna imūnhistoķīmisko metodi noteiktiem augšanas faktoriem, to receptoriem, kaula ekstracelulārās matricē proteīniem, ekstracelulārās matricē degradācijas marķieriem un gēnu proteīniem.

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

Imūnhistoķīmiski noteikto rādītāju relatīvā biežuma atzīmēšanai tika pielietota literatūrā plaši pielietotā puskvantitatīvā skaitīšanas metode (Tobin *et al*, 1990; Pilmane, 1997; 2. tabula). Faktoru ekspresijas biežums tika analizēts viena griezuma trīs redzes laukos. 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).

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

Lietotie apzīmējumi	Paskaidrojumi
0	Netika redzēta neviens 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

Apoptozes relatīvā biežuma noteikšanai tika izmantota TUNEL metode (Negoescu *et al.*, 1998).

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 standartkļūdu).

Hipotēžu pārbaudei izmantoja adekvātas parametriskās (t testu un dispersiju analīzi (ANOVA)) un neparametriskās (Kruskela-Valisa un Manna-Vitnija) metodes. Nulles hipotēzes noraidīšanai un alternatīvās hipotēzes pieņemšanai visos gadījumos izmantoja būtiskuma (nozīmības) līmeni $p \leq 0,05$.

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 (Christensen, 1996; Teibe, 2001). Pētījumā

kvalitatīvo sakarības ciešumu starp mainīgajiem, balstoties uz korelācijas koeficienta r lielumu, vērtēja kā vāju, vidēju vai ciešu. Kā kritēriju izmantoja šādas vērtības: ja $r = 0 - 0,4$, tad sakarība vērtējama kā vāja, 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.

REZULTĀTI

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 sasauca ar PFH:AFH un norāda uz horizontālu augšanas tipu (skat. 3. tabulu).

3.tabula. Informācija par Angle II klases pacientu cefalometrisko parametru vispārējiem 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°), 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. 4. tabulu).

Angle III klases pacientiem novērojām ļoti lielu starpību starp minimālo (99,8) un maksimālo (140,3) 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.

4.tabula. Informācija par Angle III klases pacientu cefalometrisko parametru vispārējiem 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

Morfoloģiskā atradne kaulaudos un gļotādā

Analizējot pārskata preparātus rutīnas histoloģiskajā krāsojumā ar hematoksilīnu un eozīnu, mīksto audu materiālā no apakšžokļa smaganas 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 perēkļveida bazālo šūnu hiperplāzija, bet saistaudos novērojām iekaisuma šūnu infiltrāciju. Dažos preparātos bija atrodama nevienmērīgi sabiezēta bazālā membrāna.

Kontroles jeb Angle I klases grupas pacientu gļotādas histoloģiskajos preparātos, kas krāsoti ar hematoksilīnu un eozīnu, gaismas mikroskopijā novērojām smaganas 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. Osteonu kanālos novērojām nevienmērīgu saistaudu ieaugšanu un asinsvadu sklerotizāciju. *Tuber maxillae* kaulaudos arī bija nevienmērīga kaula mineralizācija, kā arī tika konstatēta osteonu kanālu obliterācija un saistaudu proliferācija.

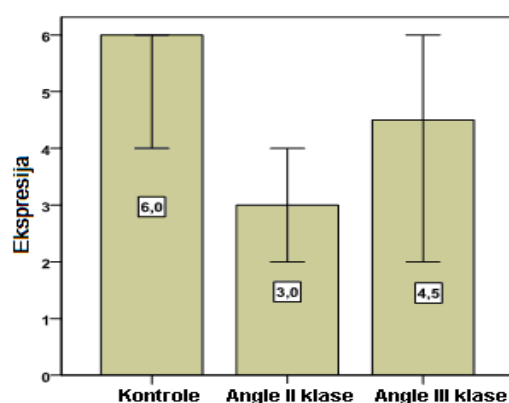
Kontroles grupas pacientu kaulaudi audu materiālā no *tuber maxillae*, *ramus mandibulae* priekšējās un mugurējās daļas bija bez izteiktām struktūras izmaiņām un ar vispārējai normai atbilstošu histoloģisko ainu.

Imūnhistoķīmijas atradnes

Augšanas faktoru un to receptoru ekspresija

Transformējošais augšanas faktors β (TGF- β)

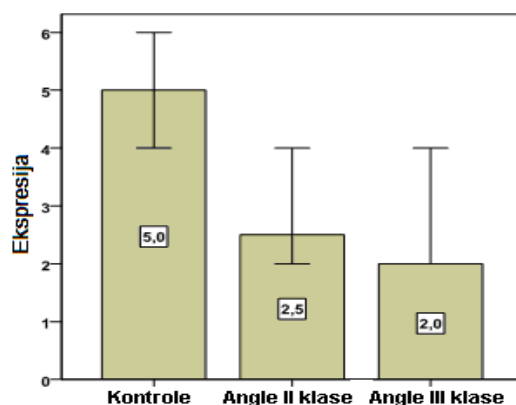
Visizteiktāko TGF- β ekspresiju *tuber maxillae* novērojām kontroles grupas pacientiem (+++ jeb ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā). Angle III klasei novēroja nedaudz mazāku ekspresiju jeb vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (+/+++), bet Angle II klasei maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru (+/+). Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa pacientu grupās TGF- β ekspresija kaulaudos no *tuber maxillae* statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 3,218$; $df = 2$; $p = 0,200$). TGF- β ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 1. attēlā.



1.attēls. TGF- β ekspresija *tuber maxillae* (0 - netika redzēta nevienu 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 jeb vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā (+/+++), bet Angle II un III klases pacientiem konstatējām

nelielu daudzumu pozitīvu šūnu redzes laukā (+ - +/+++). Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa pacientu grupās TGF-β ekspresija *ramus mandibulae* priekšējās daļas kaulaudos statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 4,156$; $df = 2$; $p = 0,125$). TGF-β ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzams 2. attēlā.

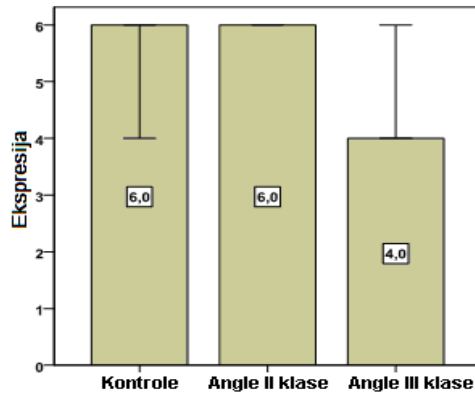


2. attēls. TGF-β ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviens pozitīvs struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu 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 visās pētījuma grupās konstatējām nelielu daudzumu pozitīvo struktūru redzes laukā (+), bet dažos gadījumos nenovērojām nevienu pozitīvu šūnu redzes laukā (0). 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 ekspresija epitēlijā bija ļoti izteikta, jo praktiski visos audu paraugos konstatējām ļoti daudz pozitīvu šūnu redzes laukā. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa TGF-β ekspresija epitēlijā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 4,749$; $df = 2$; $p = 0,093$) un visām grupām mediāna bija 6 (+++) – ļoti daudz šūnu.

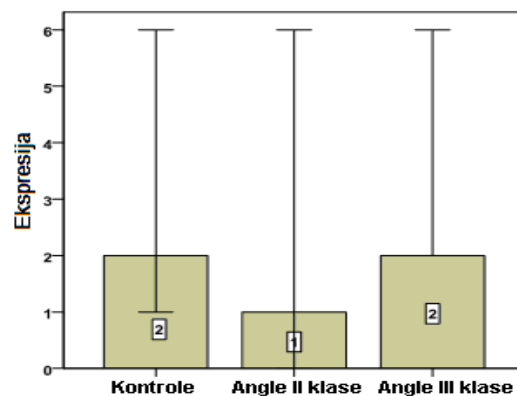
Audu materiālā no apakšžokļa pārejas krokas otro molāru rajonā transformējošā augšanas faktora β ekspresija saistaudos pacientu grupās bija vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā Angle III klases grupā (++) , bet ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā redzējām Angle II un kontroles grupās (+++). 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 3. attēlā.



3. 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).

Kaula morfoģenētiskas proteīns 2/4 (BMP2/4)

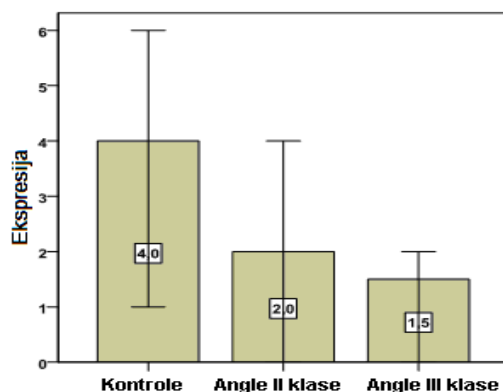
Gan kontroles grupas pacientiem, gan Angle III klases pacientiem BMP2/4 ekspresija audu materiālā no *tuber maxillae* bija līdzīga (+ jeb neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā). Angle II klasei novērojām mazāku ekspresiju jeb dažas pozitīvas struktūras redzes laukā (0/+). Pēc neatkarīgu izlašu 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 4. attēlā.



4. 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 novērojām mazāku BMP2/4 izdales intensitāti (+ 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). 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 5. attēlā.



5. attēls. BMP2/4 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta nevienu 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).

BMP2/4 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā Angle II un Angle III klases grupās bija ar nelielu daudzumu pozitīvo struktūru redzes laukā (+), bet dažos gadījumos novērojām arī ļoti daudz pozitīvu šūnu redzes laukā (+++). Pacientu grupās pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) testa BMP2/4 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,556$; $df = 2$; $p = 0,456$).

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 (+++).

Neliela BMP2/4 izdala 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 (++)

Fibroblastu augšanas faktora receptors 1 (FGFR1)

Analizējot FGFR1 saturošo struktūru relatīvo daudzumu kaulaudos no *tuber maxillae* konstatējām, ka Angle III klases pacientiem novērojām vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes

laukā (++)), bet Angle II klases grupai atradām nelielu daudzumu (+) pozitīvo struktūru redzes laikā. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa **testa FGFR1 ekspresija *tuber maxillae* Angle II klases, Angles III klases un kontroles grupas pacientiem atšķīrās statistiski ticami** ($\chi^2 = 5,347$; $df = 1$; $p = 0,021$).

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). 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 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 (+/+++). Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa FGFR1 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 1,025$; $df = 1$; $p = 0,311$).

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 izdales intensitāti (++ jeb vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā). Divos Angle II klases gadījumos netika konstatēta neviena (0) pozitīva struktūra redzes laukā. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa (Kruskal-Wallis) **testa FGFR1 ekspresija epitēlijā pacientu grupās atšķīrās statistiski ticami** ($\chi^2 = 7,950$; $df = 1$; $p = 0,005$).

Analizējot FGFR1 ekspresiju gļotādas saistaudos Angle II un Angle III klases grupās, konstatējām izteiktu FGFR1 izdali, jo praktiski visos analizējamajos paraugos atradām ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa FGFR1 ekspresija saistaudos pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 3,592$; $df = 1$; $p = 0,058$).

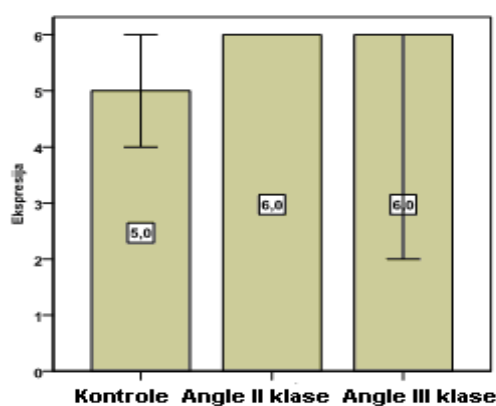
Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF)

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.

Kaula ekstracelulārās matricas proteīnu ekspresija

Osteokalcīns (OC)

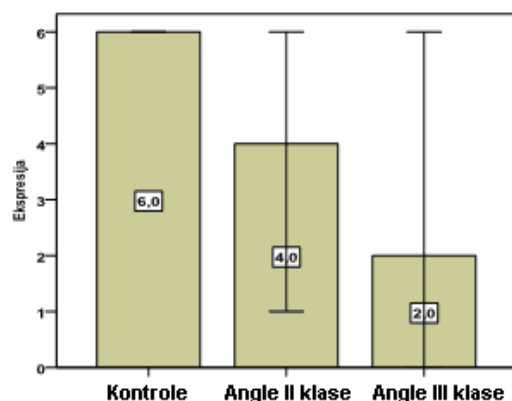
Analizējot audu materiālu no *tuber maxillae*, konstatējām izteiktu osteokalcīna izdali Angle II klases un Angle III klases pacientu grupā (+++ jeb ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā), bet nedaudz mazāku OC ekspresiju kontroles pacientu grupā (+/+++ jeb vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru redzes laukā). 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 6. attēlā.



6. attēls. Osteokalcīna ekspresija *tuber maxillae* saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviens 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 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 – nelielu daudzumu pozitīvu šūnu (+) redzes laukā. 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 7. attēlā.

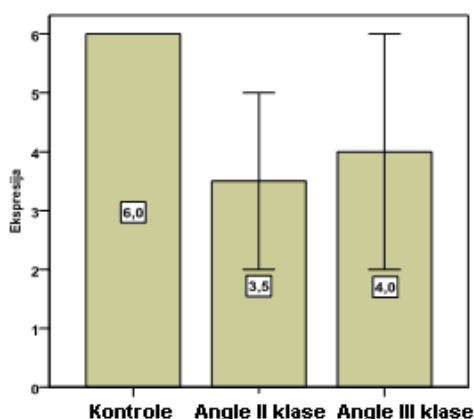
OC ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā noteikta tikai Angle II klases pacientu grupai. Izdarīti 5 mērījumi un tika konstatēts, ka 2 pacientiem ekspresijas vērtējums bija 0 (netika redzēta neviens pozitīva struktūra redzes laukā), vienam – + (neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā) un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



7. attēls. Osteokalcīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviens pozitīvs struktūras 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).

Osteopontīns (OP)

Analizējot OP ekspresiju kaulaudos no *tuber maxillae*, konstatējām ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā kontroles grupas pacientiem (+++). Salīdzinot ar kontroles grupu, Angle II un Angle III klases pacientu grupās OP ekspresija bija mazāk izteikta - Angle II klases grupā konstatējām maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā, bet Angle III klases grupā vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā. 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 8. attēlā.

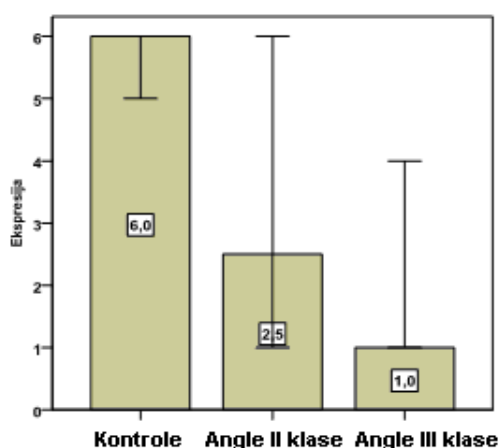


8. attēls. Osteopontīna ekspresija *tuber maxillae* saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviens pozitīvs struktūras redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+)- neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru 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), bet nelielu daudzumu pozitīvu struktūru redzes laukā konstatējām Angle II klases grupā (+ - +/++) un Angle III klases grupā (0/+). Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa osteopontīna ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 5,865$; $df = 2$; $p = 0,053$). Osteopontīna ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzamas 9. attēlā.

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).



9. 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).

Matricēs 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. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa MMP2 ekspresija *tuber maxillae* pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,618$; $df = 2$; $p = 0,734$).

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

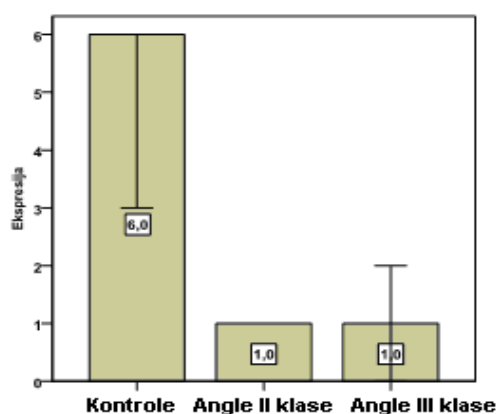
pacientu paraugos netika atrasta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, bet Angle II klases grupā tikai divos gadījumos atradām dažas pozitīvas struktūras un vienā paraugā vidēji daudz pozitīvu struktūru redzes laukā. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa **MMP2 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās atšķirās statistiski ticami** ($\chi^2 = 7,930$; $df = 2$; $p = 0,019$).

Nevienā no analizētajiem paraugiem netika konstatēta MMP2 ekspresija audu materiālā no *ramus mandibulae* mugurējās daļas.

Gan gļotādas epitēlijā, gan saistaudos visās pacientu grupās konstatējām vāji izteiktu MMP2 ekspresiju. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa MMP2 ekspresija gļotādas epitēlijā ($\chi^2 = 1,000$; $df = 2$; $p = 0,607$) un saistaudos ($\chi^2 = 1,906$; $df = 2$; $p = 0,386$) pacientu grupās statistiski ticami neatšķirās.

Barx1, msx2 un wnt1 gēnu proteīnu ekspresija

Analizējot *barx1* gēna proteīnu imūnreaktivitāti audu paraugos no *tuber maxillae* varējām konstatēt, ka bagātīga *barx1* gēna proteīna ekspresija bija redzama kontroles grupas pacientu grupā (+++ jeb ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā), bet Angle II un Angle III klases pacientu grupās šī gēnu proteīna izdales bija daudz vājāka (0/+ jeb dažas pozitīvas struktūras redzes laukā). Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa ***barx1* izdale *tuber maxillae* pacientu grupās atšķirās statistiski ticami** ($\chi^2 = 7,406$; $df = 2$; $p = 0,025$). *Barx1* ekspresijas mediānas vērtības un 95% ticamības intervāls pacientu grupās redzamas 10. attēlā.

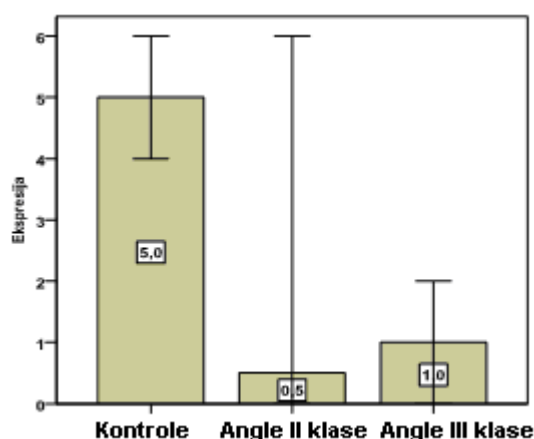


10. attēls. *Barx1* gēnu proteīna ekspresija *tuber maxillae* saistībā ar pacientu grupu (0 - netika redzēta neviena pozitīva struktūra redzes laukā, 1 (0/+) - dažas pozitīvās struktūras redzes laukā, 2 (+) - neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā, 3 (+/++) - maz līdz vidēji daudz pozitīvu 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 gēnu proteīnu visizteiktākā ekspresija audu paraugos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas bija kontroles grupā (+++ jeb ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā).

Angle II un Angle III klases pacientu grupās barx1 gēnu proteīnu ekspresija bija mazāk izteikta (0/+ jeb dažas pozitīvas struktūras redzes laukā). 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 11. attēlā.

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 (+++). Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa barx1 ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,933$; $df = 1$; $p = 0,334$).



11. 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).

Konstatējām, ka barx1 gēnu proteīnu ekspresija gļotādas epitēlijā un saistaudos kontroles grupā, kā arī Angle II 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. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa barx1 ekspresija gļotādas epitēlijā ($\chi^2 = 0,552$; $df = 2$; $p = 0,759$) un saistaudos ($\chi^2 = 4,542$; $df = 2$; $p = 0,103$) pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās.

Analizējot msx2 gēnu proteīna ekspresiju *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/+). Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa msx2 ekspresija *tuber maxillae* pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 1,107$; $df = 2$; $p = 0,575$).

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. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa msx2 ekspresija *ramus mandibulae* priekšējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 0,605$; $df = 2$; $p = 0,739$).

Nevienā no analizētajiem paraugiem ne Angle II, ne Angle III, ne arī kontroles grupā msx2 gēnu proteīna ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā netika konstatēta.

Analizējot msx2 gēnu proteīnu ekspresiju gļotādas epitēlijā, nekonstatējām nevienu pozitīvu struktūru redzes laukā kontroles grupas pacientiem. Salīdzinot ar kontroles grupu, Angle II un Angle III klases pacientu grupās msx2 gēnu proteīnu ekspresija bija vairāk izteikta, jo msx2 gēnu proteīnu ekspresija variēja no +++ (ļoti daudz pozitīvu struktūru redzes laukā) līdz 0 (neviens pozitīva struktūra), bet 4 Angle III klases pacientiem konstatējām + jeb nelielu daudzumu pozitīvu struktūru redzes laukā. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa msx2 ekspresija epitēlijā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 4,475$; $df = 2$; $p = 0,107$).

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 izdāle bija vidēji + (neliels daudzums pozitīvu struktūru redzes laukā). Msx2 ekspresija saistaudos pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 5,371$; $df = 2$; $p = 0,068$).

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). Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa **wnt1 izdāle *tuber maxillae* pacientu grupās atšķīrās statistiski ticami** ($\chi^2 = 19,860$; $df = 2$; $p = 0,001$).

Kaulaudos no *ramus mandibulae* priekšējās daļas nevienā no analizētajiem paraugiem netika konstatēta wnt1 gēnu proteīna ekspresija.

Angle II klases, Angle III klases un kontroles grupas pacientiem wnt1 gēnu proteīna ekspresiju *ramus mandibulae* mugurējā daļā konstatējām tikai vienā gadījumā - dažas

pozitīvas struktūras redzes laukā, bet visos pārējos gadījumos netika atrasta neviena pozitīva struktūra redzes laukā. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa *wnt1* ekspresija *ramus mandibulae* mugurējā daļā pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 1,250$; $df = 1$; $p = 0,264$).

Analizējot *wnt1* gēnu proteīnu ekspresiju konstatējām, ka gan gļotādas 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. Pēc neatkarīgu izlašu Kraskela-Volisa testa ***wnt1* ekspresija epitēlijā pacientu grupās atšķīrās statistiski ticami** ($\chi^2 = 6,744$; $df = 2$; $p = 0,034$), bet *wnt1* ekspresija saistaudos pacientu grupās statistiski ticami neatšķīrās ($\chi^2 = 2,344$; $df = 2$; $p = 0,310$).

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 (skat. 5. tabulu) 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. 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 smaganas 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 dentofaciālā deformācijām, bet kontroles grupā nevienā audu paraugā neatradām pret VEGF un MMP2 pozitīvas struktūras. Varam arī 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.

5. tabula. Augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricas proteīnu, deģenerācijas enzīmu un gēnu proteīnu ekspresijas vidējie rādītāji žokļu kaulos pacientu grupās (0 - netika redzēta neviens 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 faktori, 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	-	++	+

Apoptozes atradne

Analizējot vidējo apoptotisko šūnu skaitu kaulaudos no *tuber maxillae* Angle II, Angle III un kontroles pacientu grupās konstatējām, ka lielāks apoptotisko šūnu skaits ir kontroles grupā (vidējā vērtība $25,89 \pm 11,34$ šūnas redzes laukā). Angle II un Angle III klases pacientiem apoptotisko šūnu skaits ir praktiski vienāds un mazāks nekā kontroles grupā (vidējās vērtības attiecīgi $9,42 \pm 19,56$ un $9,25 \pm 9,53$). Pārbaudot statistisko hipotēzi par vidējā šūnu skaita vienādību pacientu grupās ar dispersiju analīzi ieguva, ka vidējās vērtības grupās ir statistiski būtiski atšķirīgas ($F = 3,784$; $p = 0,038$).

Arī audu materiālā no *ramus mandibulae* priekšējās daļas apoptotisko šūnu skaits kontroles grupā ir vislielākais (vidējā vērtība $28,44 \pm 6,45$), bet Angle II un Angle III 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 ir līdzīgi (vidējās vērtības attiecīgi $10,84 \pm 10,52$ un $11,86 \pm 13,38$). Pārbaudot statistisko hipotēzi par vidējā šūnu skaita vienādību pacientu grupās ar dispersiju analīzi ieguva, ka vidējo vērtību atšķirības grupās nav statistiski būtiskas ($F = 2,933$; $p = 0,067$).

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). Nedaudz mazāks apoptotisko šūnu skaits ir Angle III klases pacientu grupā. Pēc neatkarīgu izlašu t testa vidējais šūnu skaits grupās statistiski ticami neatšķirās ($t = 0,277$; $df = 14$; $p = 0,786$). 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 rangū salīdzināšanai izmantoja Manna-Vitnija (Mann-Whitney) testu un ieguva, ka Angle II klases un Angle III klases pacientu grupās vidējie rangi ir attiecīgi 7,68 un 10,30 un tie statistiski ticami neatšķiras ($Z = 1,026$; $p = 0,305$).

Analizējot vidējo apoptotisko šūnu skaitu konstatējām, ka gan gļotādas epitēlijā, gan saitaudos Angle III klases un Angle II klases grupas pacientu audu paraugos apoptozes skarto šūnu skaits bija aptuveni vienāds, bet nedaudz mazāks nekā kontroles grupā.

6.3.6. Imūnhistoķīmisko rezultātu savstarpējās korelācijas

Iegūtie imūnhistoķīmisko pētījumu rezultāti 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. 6. 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 ekspresijai audos no *tuber maxillae*, pieaug arī *barx1* gēnu proteīnu ekspresija un tiek novērots lielāks apoptotisko šūnu skaits.

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 ekspresiju ($p = 0,036$; $r = 0,512$). 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 ($p = 0,025$; $r = 0,615$).

6. tabula. Augšanas faktoru, kaula ekstracelulārās matricē 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 korelācijas audu materiālā no *ramus mandibulae* priekšējās daļas (skat.7. 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* ($p = 0,001$; $r = 0,663$). Palielinoties TGF- β ekspresijai, 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 ($p = 0,003$; $r = 0,719$).

7. 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	<i>barx1</i> RMPD	<i>msx2</i> RMPD	<i>wnt1</i> 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					
<i>barx1</i> RMPD	r	0,663	0,280	-0,175	0,874	-0,103	1			
	p	**0,001	0,207	0,488	*0,023	0,658				
<i>msx2</i> 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			
<i>wnt1</i> 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	

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 izdala ar MMP2 ekspresiju ($p = 0,019$; $r = 0,486$).

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 ($p = 0,028$; $r = 0,918$).

Nevienā no pētītajiem morfoloģiskajiem parametriem neatradām ne statistiski ticamas ciešas, ne vidēji ciešas pozitīvas korelācijas gļotādas epitēlijā, kas iegūts no apakšžokļa otro molāru rajona.

Arī gļotādas saistaudos atradām tikai vidēji ciešu statistiski ticamu pozitīvu korelāciju starp apoptotisko šūnu skaitu un *wnt1* gēnu proteīna ekspresiju ($p = 0,025$; $r = 0,542$), kā arī vidēji ciešu statistiski ticamu negatīvu korelāciju starp MMP2 ekspresiju un *wnt1* gēnu proteīna ekspresiju ($p = 0,014$; $r = -0,570$), kur samazinoties MMP ekspresijai, pieaug *wnt1* ekspresija un otrādi.

KOPSAVILKUMS

Apkopojot mūsu pētījuma rezultātus, jāsecina, 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, nenodrošina žokļu kaulus ar pietiekošu 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, piemēram, TGF- β un BMP2/4, un kaula ekstracelulārās

matrices proteīniem (OP un OC) ar nelielām atšķirībām starp klasēm, norādot uz šo morfoloģisko marķieru 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 incīzijām un šī faktora izteiktā ekspresija nodrošinās ātru mutes dobuma gļotādas atvēršanos pēc operācijas.

Neizteiktā MMP2 ekspresija un praktisks VEGF ekspresijas trūkums pacientu audos norāda, ka abiem ir nenozīmīga loma skeletālas Angle II un Angle III klases deformāciju patoģenēzē, 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 morfopatoģenēzē šiem marķieriem ir nebūtiska nozīme.

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, diferenciaciju un apoptozi pacientiem ar dentofaciālām Angle II un Angle III klases deformācijām.

8. 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 arī ortodontiskā ārstēšana, uz ortognātiskās operācijas laiku smaganu epitēliju raksturo epiteliocītu perēkļveida vakuolizācija, šūnu hiperplāzija, bazālās membrānas izmaiņas un iekaisuma šūnu infiltrācija zemepitēlija kārpiņu 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 neizpaudušos 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 pacientu kaulaudos apstiprina abus kā nebūtiskus faktorus skeletālas Angle II un Angle III klases deformāciju patoģenēzē. 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, iespējams, mīksto audu izdalīto faktoru stimulējošo 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.

PUBLIKĀCIJAS UN ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU

10.1. 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.**

10.2. 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. Skaģers, A. Bīgestāns, G. Lauskis, A. Ābeltiņš, I. Jankovska. Apakšžokļa zara vertikālā osteotomija II klases disgnātiju 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, Ģ. 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, Ģ. 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. Urtane. 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. Urtane. 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. 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, tēzes, Rīga, 2010.

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

Saīsinājums	Angliskais nosaukums	Latviskais skaidrojums
ANOVA	Analysis of Variance	Dispersiju analīze
BMP2/4	Bone morphogenetic protein 2/4	Kaula morfoģenētiskais proteīns 2/4
FGFR1	Fibroblast growth factor receptor 1	Fibroblastu augšanas faktora receptors 1
MMP2	Matrix metalloproteinase 2	Matrices metalproteināze 2
OC	Osteocalcin	Osteokalcīns
OP	Osteopontin	Osteopontīns
p	Statistical significance	būtiskuma (nozīmības) līmenis – varbūtība, ka ir spēkā statistiskajā testā izvirzītā nulles hipotēze
RMPD	<i>Ramus mandibulae</i> anterior part	<i>Ramus mandibulae</i> priekšējā daļa
RMMD	<i>Ramus mandibulae</i> posterior part	<i>Ramus mandibulae</i> mugurējā daļa
TGF-β	Transforming growth factor β	Transformējošais augšanas faktors β
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase – mediated dUTP nick – end labeling	Tdt – gala dezoksīnukleotīdtransferāze un digoksigēna–marķēti nukleotīdi
VEGF	Vascular endothelial growth factor	Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors