



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Kristaps Dambergs

ORCID 0000-0001-7012-6512

Cilvēka iegūtas
holesteatomas audu pārmaiņu
ontogēnētiskais raksturojums

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

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – otorinolaringoloģija

Promocijas darba vadītājas:

Dr. med. docente **Gunta Segliņa**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

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

Rīga, 2024

Anotācija

Holesteatoma ir labdabīgs, bet lokāli agresīvs veidojums vidusausī. Cilvēka holesteatoma var būt iedzimta vai iegūta. Cilvēka iegūta holesteatoma rodas, ādas epitēlijam iemigrējot vidusausī, kur tas pārveidojas par holesteatomas audiem. Holesteatomas audi ir hiperproliferatīvi, un tie erodē apkārtējos audus vidusausī. Biežākās pacienta sūdzības ir pasliktināta dzirde un strutaini izdalījumi no auss, kas bieži atkārtojas. Tomēr holesteatoma var radīt tādas komplikācijas kā meningīts, smadzeņu abscess, sejas nerva paralīze un S veida sinusa tromboze. Holesteatomas morfofopatoģenēze ir komplekss process un tiek raksturots ar proliferāciju, iekaisuma klātbūtni un apkārtējo audu remodelāciju.

Pētījuma mērķis bija noteikt un aprakstīt holesteatomas morfofopatoģenētisko procesu raksturojošo audu faktoru relatīvo daudzumu un to savstarpējo mijiedarbību cilvēka iegūtas holesteatomas audos ontogēnētiskā aspektā.

Pētījumā tika iekļauti 50 pacientu holesteatomas audi. Pacienti tika sadalīti divās grupās atkarībā no vecuma – bērnu un pieaugušo grupas. Katrā pacientu grupā bija 25 pacienti. Kontroles grupu veidoja septiņu dažādu mirušu cilvēku neizmainīta āda, kas tika iegūta no ārējās auss ejas.

Ar imūnhistoķīmijas metodi tika izvērtēts matricē metaloproteināzes 2 (MMP-2), matricē metaloproteināzes 9 (MMP-9), matricē metaloproteināzes audu inhibitora 2 (TIMP-2), matricē metaloproteināzes audu inhibitora 4 (TIMP-4), proliferācijas marķiera Ki-67, nukleārā faktora kapa beta (NF- κ B), interleikīna 1 alfa (IL-1 α), interleikīna 10 (IL-10), cilvēka beta defensīna 2 (H β D-2), cilvēka beta defensīna 4 (H β D-4), vaskulārā endoteliālā augšanas faktora (VEGF) un *Sonic hedgehog* (SHH) gēna proteīna imūnpozitīvo struktūru relatīvais daudzums gan holesteatomas, gan kontroles audos.

Veselos audos raksturoja remodelācijas faktoru (MMP/TIMP) un iekaisuma veicinošo un nomācošo citokīnu (IL-1 α /IL-10) kompleksu stabils relatīvais līdzsvars, kas nepieciešams normālas ādas funkcijai.

Holesteatomas audos tika novērota palielināta Ki-67 ekspresija, kas raksturo šī veidojuma šūnu hiperproliferāciju. Arī palielinātā NF- κ B ekspresija raksturo šī faktora iesaisti šūnu proliferācijas un iekaisuma procesos, pastiprinot šo procesu aktivitāti. Savukārt palielinātais H β D-2 daudzums norāda uz lokālu audu aizsardzības intensifikāciju. Palielinātais SHH relatīvais daudzums holesteatomas perimatriksā atklāj šī gēna proteīna intensifikāciju audzēja augšanā. Variablā remodelācijas faktoru ekspresija holesteatomas audos norāda uz šo faktoru disbalansu, savukārt IL-1 α pozitīvo struktūru skaita palielināšanās un IL-10 pozitīvo šūnu skaita samazināšanās tendence holesteatomas audos – uz iekaisuma veicinošo un

nomācošo citokīnu savstarpējā līdzsvara izmaiņām. Visu šo faktoru daudzuma izmaiņas ir ar vecumu nesaistītas.

Atslēgvārdi: holesteatoma, metaloproteināzes, Ki-67, transkripcijas faktors, defensīni, citokīni, vaskulārais endoteliālais augšanas faktors, *sonic hedgehog*, zinātnes nozare – medicīna, apakšnozare – otorinolaringoloģija.

Abstract

Characterisation of Human Acquired Cholesteatoma in Ontogenetic Aspect

Cholesteatoma is a benign, but locally aggressive formation in the middle ear. Human cholesteatoma may be congenital or acquired. Acquired cholesteatoma occurs when skin epithelium migrates into the middle ear where it transforms into cholesteatoma tissue. Cholesteatoma tissue is hyperproliferative and erodes surrounding tissue in the middle ear. The most common patient complaints are impaired hearing and frequent otorrhoea. However, a cholesteatoma can cause complications such as meningitis, brain abscess, facial nerve palsy and sigmoid sinus thrombosis. The morphopatogenesis of cholesteatoma is a complex process characterised by proliferation, the presence of inflammation and remodelling of surrounding tissue.

The aim of the study was to determine and describe the relative amount of tissue factors that characterise the morphopatogenetic processes of acquired cholesteatoma and their interaction with each other in the ontogenetic aspect.

The study included cholesteatoma tissue from 50 patients. The patients were divided into two groups according to their age, a group of children and a group of adults. Each group consisted of 25 patients. The control group consisted of unaltered skin of seven different deceased people taken from the outer ear meatus.

The immunohistochemical method was used to assess the relative amount of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2), matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 2 (TIMP-2), tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 4 (TIMP-4), proliferation marker Ki-67, nuclear factor kappa beta (NF- κ), interleukin 1 alpha (IL-1 α), interleukin 10 (IL-10), human beta defensin 2 (H β D-2), human beta defensin 4 (H β D-4), vascular endothelial growth factor (VEGF) and *Sonic hedgehog* (SHH) gene protein in both cholesteatoma and control tissues.

Healthy tissues were characterised by a stable relative balance of remodelling factors (MMP/TIMP) and pro- and anti-inflammatory cytokine complexes (IL-1 α /IL-10), required for normal skin function.

In cholesteatoma tissue, an increased expression of Ki-67 was observed, which characterises the hyperproliferation of cells in this formation. Increased expression of NF- κ also shows the involvement of this factor in cell proliferation and inflammatory processes by enhancing their activity. The overexpression of H β D-2 indicates an intensification of local tissue protection. And the increased number of SHH-positive

cells in the perimatrix of the cholesteatoma indicates the intensification of this gene protein in tumour growth. The variable expression of remodelling factors in cholesteatoma tissue indicates an imbalance between remodelling factors. The increase in the number of IL-1 α positive structures and the decrease in the number of IL-10 positive cells in cholesteatoma tissue indicate a change in the balance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. Changes in the levels of all these factors are not age-related.

Keywords: cholesteatoma, metalloproteinases, Ki-67, transcription factor, defensins, cytokines, vascular endothelial growth factor, *sonic hedgehog*, Sector – Medicine, Sub-Sector – Otorhinolaryngology.

Satura rādītājs

Anotācija	3
Abstract	5
Darbā izmantotie saīsinājumi	9
Ievads	10
Darba aktualitāte.....	10
Darba mērķis.....	11
Darba uzdevumi.....	11
Darba hipotēze.....	12
Darba novitāte.....	12
Mērķa populācija	12
Sadarbības partneri	13
Materiāli tehniskais nodrošinājums.....	13
Personīgais ieguldījums.....	13
1. Literatūras apskats.....	14
1.1. Ārējās auss ejas, bungplēvītes un vidusauss anatomiskā un histoloģiskā uzbūve	14
1.2. Cilvēka iegūta holesteatoma, problēmas aktualitāte.....	16
1.3. Audu remodelācija	18
1.3.1. Matrices metaloproteināzes	19
1.3.2. Matrices metaloproteināzes audu inhibitori	20
1.4. Holesteatomas audu proliferācija.....	21
1.5. Transkripcijas proteīna raksturojums holesteatomas gadījumā	21
1.6. Iekaisumu veicinošo un nomācošo citokīnu raksturojums holesteatomas gadījumā..	22
1.7. Cilvēka beta defensīnu raksturojums holesteatomas gadījumā.....	23
1.8. Vaskulārā endoteliālā augšanas faktora raksturojums holesteatomas gadījumā.....	25
1.9. <i>Sonic hedgehog</i> gēna proteīna nozīme holesteatomas gadījumā	25
2. Materiāls un metodes.....	27
2.1. Pētāmais materiāls un pacientu iedalījums grupās.....	27
2.1.1. Kontroles grupa	27
2.1.2. Bērnu pacientu grupa.....	27
2.1.3. Pieaugušo pacientu grupa	30
2.2. Izmeklēšanas metodes.....	32
2.2.1. Audu iegūšana un sagatavošana krāsošanai	32
2.2.2. Rutīnas histoloģijas krāsošanas metode	33
2.2.3. Imūnhistoķīmiskā (biotīna-streptavidīna) izmeklēšanas metode un reaģenti...	33
2.3. Datu uzskaites un apstrādes metodes.....	35
2.3.1. Datu vizuālais izvērtējums.....	35
2.3.2. Datu statistiskās apstrādes metodes.....	36
3. Rezultāti.....	37
3.1. Rutīnas histoloģiskā atrade	37
3.1.1. Rutīnas histoloģiskā atrade kontroles grupā.....	37
3.1.2. Rutīnas histoloģiskā atrade pacientiem ar holesteatomu.....	37
3.2. Imūnhistoķīmisko marķieru raksturojums kontroles un pacientu grupās	38
3.2.1. Matrices metaloproteināzes un matricas metaloproteināžu audu inhibitori	38
3.2.2. Proliferācijas marķieris Ki-67	45
3.2.3. Nukleārais faktors kapa beta.....	47
3.2.4. Iekaisumu veicinošie un nomācošie citokīni	50
3.2.5. Cilvēka beta defensīni	54
3.2.6. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors.....	57

3.2.7. <i>Sonic hedgehog</i> gēna proteīns	59
3.3. Datu statistiskās atšķirības starp pētījuma grupām	61
3.3.1. Datu statistiskās atšķirības starp kontroles un bērnu holesteatomas grupām	61
3.3.2. Datu statistiskās atšķirības starp kontroles un pieaugušo holesteatomas grupām	63
3.3.3. Datu statistiskās atšķirības starp bērnu un pieaugušo holesteatomas grupām	64
3.4. Datu statistiskās korelācijas	65
3.4.1. Datu statistiskās korelācijas kontroles grupā.....	65
3.4.2. Datu statistiskās korelācijas bērnu pacientu grupā.....	66
3.4.3. Datu statistiskās korelācijas pieaugušo pacientu grupā.....	71
4. Diskusija	74
4.1. Audu remodelācija	75
4.2. Holesteatomas audu proliferācija.....	77
4.3. Transkripcijas faktors.....	78
4.4. Iekaisumu veicinošie un nomācošie citokīni	80
4.5. Cilvēka beta defensīni	81
4.6. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors	83
4.7. <i>Sonic hedgehog</i> gēna proteīns.....	84
Secinājumi	86
Priekšlikumi	87
Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu	88
Literatūras saraksts.....	88
Pateicības.....	102
Pielikumi	103
1. pielikums	104
2. pielikums	125
3. pielikums	126
4. pielikums	128
5. pielikums	129

Darbā izmantotie saīsinājumi

AAI	Anatomijas un antropoloģijas institūts
BKUS	Bērnu klīniskā universitātes slimnīca
DWI	difūzijas svērto attēlu programma
ECM	ekstracelulārā matrice
HβD-2	cilvēka beta defensīns 2
HβD-4	cilvēka beta defensīns 4
IL-1α	interleikīns 1 alfa
IL-10	interleikīns 10
Ki-67	proliferācijas marķieris <i>Kiel 67</i>
MMPs	matrices metaloproteināzes
MMP-2	matrices metaloproteināze 2
MMP-9	matrices metaloproteināze 9
NF-κβ	nukleārais faktors kapa beta
PĶR	polimerāzes ķēdes reakcija
PSKUS	Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca
RSU	Rīgas Stradiņa universitāte
SHH	<i>Sonic hedgehog</i>
TIMPs	matrices metaloproteināzes audu inhibitori
TIMP-2	matrices metaloproteināzes audu inhibitors 2
TIMP-4	matrices metaloproteināzes audu inhibitors 4
VEGF	vaskulārais endoteliālais augšanas faktors
VSIA	valsts sabiedrība ar ierobežotu atbildību

Ievads

Darba aktualitāte

Iegūta holesteatoma ir labdabīgs, bet lokāli agresīvs veidojums vidusausī. Tas sastāv no hiperproliferatīvām keratinizēta plakanā epitēlija šūnām (Bhutta et al., 2011). Lai arī veidojums ir rets, ar vidējo incidenci Eiropā 7 uz 100 000 cilvēku gadā, tomēr tās pilnīga izārstēšana ir sarežģīta un nereti ir sagaidāms holesteatomas recidīvs (Britze et al., 2017). Biežākās sūdzības ir konduktīvs vai jaukts (konduktīvs un sensoneirāls) dzirdes zudums, strutaini izdalījumi no auss, retāk arī auss sāpes. Holesteatoma var radīt potenciāli dzīvībai bīstamas un dzīves kvalitāti ietekmējošas komplikācijas, kā meningīts, smadzeņu abscess, sejas nerva paralīze un S veida sinusa tromboze (Kuo et al., 2015). Iegūtu holesteatomu raksturo hronisks iekaisums, ātra augšana un apkārtējo audu destrukcija, tādēļ mūsu darbā tika izvēlēti šos procesus raksturojoši audu faktori: matricēs metaloproteināzes 2 un 9, matricēs metaloproteināzes audu inhibitori 2 un 4, proliferācijas marķieris Ki-67, nukleārais faktors kapa beta, interleikīni 1 un 10, cilvēka beta defensīni 2 un 4, vaskulārais endoteliālais augšanas faktors un *Sonic hedgehog* gēna proteīns.

Biežāk pētītie audu faktori holesteatomas gadījumā ir matricēs metaloproteināzes (MMPs), jo ir atrasta saistība starp MMP-2 un MMP-9 un kaula destrukciju vidusausī (Morales et al., 2007; Juhász et al., 2009).

Matricēs metaloproteināzes audu inhibitors 2 (TIMP-2) un matricēs metaloproteināzes audu inhibitors 4 (TIMP-4) ierobežo MMP-2 un MMP-9 darbību (Givvimani et al., 2010). Izpētīts, ka nevienmērīga MMPs un TIMPs darbība var radīt audu degradāciju holesteatomas gadījumā (Schönermark et al., 1996; Suchozebrska-Jesionek et al., 2008). Tomēr līdz šim nav analizēta TIMP-4 ietekme holesteatomas audos.

Viena no holesteatomas audu raksturīgākajām pazīmēm ir to ātrā augšana un nepārtrauktā šūnu proliferācija (Yeşilova et al., 2017). Ki-67 ir visbiežāk lietotais proliferācijas marķieris pētījumos ar holesteatomu.

Nukleārais faktors kapa beta (NF- κ B) cilvēka organismā piedalās daudzos procesos, galvenokārt regulējot gēnus, kuri saistīti ar iekaisumu, šūnu proliferāciju un apoptozi (Giuliani et al., 2018). Holesteatomas patoģenēzē NF- κ B regulē šūnu proliferāciju un iekaisuma procesus (Schürmann et al., 2022; Byun et al., 2010). Tomēr pētījumos trūkst kompleksa skatījuma uz NF- κ B ietekmi uz dažādiem šīs patoloģijas procesiem.

Holesteatomu raksturo konstants hronisks iekaisums, kā arī pacientiem veidojas recidivējoši strutaini iekaisumi vidusausī (Schürmann et al., 2022). Interleikīns 1 alfa (IL-1 α) ir spēcīgs iekaisumu veicinošs citokīns, kas ir saistīts ar holesteatomas agresivitāti (Bujía et al., 1996). Interleikīns 10 (IL-10) ir viens no aktīvākajiem iekaisumu nomācošiem citokīniem

(Mosser and Zhang, 2008). Uzskata, ka regulācijas traucējumi starp iekaisumu veicinošiem un nomācošiem citokīniem varētu izskaidrot holesteatomas vietējo agresivitāti (Kuczkowski et al., 2011). Cilvēka beta defensīns 2 un 4 (HβD-2; HβD-4) ir vietējas nozīmes antimikrobiāli peptīdi, kas ir efektīvi cīņā ar baktērijām, kuras rada iekaisumu holesteatomas gadījumā (Harder et al., 1997; García et al., 2001). Tomēr ir maz informācijas par defensīnu aktivitāti holesteatomas audos, kā arī to mijiedarbību ar citokīniem. Šajā pētījumā pirmo reizi tika raksturots HβD-4 holesteatomas audos.

Holesteatomas palielināšanās izmēros ir saistīta ar pastiprināto angiogēneses procesu, un kā viens no aktīvākajiem angiogēnēzi veicinošiem faktoriem ir vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF) (Fukudome et al., 2013). Tomēr vēl joprojām VEGF ietekme uz holesteatomas audiem ir maz pētīta un neskaidra.

Mūsdienās aktuāli ir gēnu pētījumi, šajā pētījumā tika apskatīta *Sonic hedgehog* (SHH) gēna proteīna saistība ar holesteatomas audiem ontogēnētiskā aspektā. Lai arī šis ir viens no pirmajiem pētījumiem par SHH holesteatomas audos un informācijas ir maz, tomēr zināms, ka SHH gēna darbības traucējumi var radīt ārējās, iekšējās un vidusauss patoloģijas (Chiang et al., 1996).

Jāatzīmē, ka līdz šim pētījumi galvenokārt ir veikti vienā vecumgrupā, kura salīdzināta ar kontroles grupas audiem, kā arī pētījumi skāruši konkrētu procesu. Šis ir viens no nedaudziem pētījumiem, kur salīdzināta bērnu un pieaugušo populācija, kā arī tās salīdzinātas ar kontroles grupu un vienkopus apskatīti vairāki audu faktori, kas mērķēti raksturo dažādus patofizioloģiskus procesus holesteatomas audos, un šāda pieeja dod pilnīgāku ieskatu slimības attīstībā.

Darba mērķis

Komplekss holesteatomas audu remodelācijas, proliferācijas, iekaisuma, vietējās aizsardzības, angiogēneses, kā arī gēnu proteīna relatīvā daudzuma un izplatības raksturojums ontogēnētiskajā aspektā.

Darba uzdevumi

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Noteikt audu remodelācijas marķieru (MMP-2, MMP-9, TIMP-2, TIMP-4) ekspresiju dažāda vecuma pacientu holesteatomas audos.
2. Noteikt šūnu proliferācijas marķiera (Ki-67) ekspresiju dažāda vecuma pacientu holesteatomas audos.
3. Noteikt transkripcijas faktora NF-κβ ekspresiju dažāda vecuma pacientu holesteatomas audos.

4. Noteikt ar iekaisuma regulāciju saistīto citokīnu (IL-1 α , IL-10) ekspresiju dažāda vecuma pacientu holesteatomas audos.
5. Noteikt audu vietējās aizsardzības marķieru (H β D-2 un H β D-4) ekspresiju dažāda vecuma pacientu holesteatomas audos.
6. Noteikt angiogēnēzi ietekmējošo (VEGF) faktoru ekspresiju dažāda vecuma pacientu holesteatomas audos.
7. Noteikt *Sonic hedgehog* (SHH) gēna proteīna ekspresiju dažāda vecuma pacientu holesteatomas audos.
8. Noteikt iepriekš minētos marķierus kontroles grupas pacientu materiālā.
9. Veikt datu statistisko apstrādi, salīdzināt pētāmās grupas un noteikt audu faktoru iespējamo savstarpējo korelāciju dažāda vecuma pacientu holesteatomas audos un kontroles grupas pacientu materiālā.

Darba hipotēze

Pastāv atšķirības bērnu un pieaugušo holesteatomas remodelācijas, proliferācijas, iekaisuma, vietējās aizsardzības, angiogēnēzes faktoru un *Sonic hedgehog* gēna proteīna ekspresijā.

Darba novitāte

Līdz šim pacientiem ar holesteatomu sporādiski un nesaistīti tika pētītas tādas selektīvas audu pārmaiņas kā remodelācija, proliferācija, iekaisums, vietējā audu aizsardzība. Šajā pētījumā šīs audu pārmaiņas tiek skatītas **kompleksi**. Pētījumā tiek izmantoti divpadsmit dažādi audu faktori, kas, pēc mums pieejamās informācijas, ir **lielākais audu faktoru daudzums**, kurš tiek izmantots **bērnu un pieaugušo** holesteatomas izpētē viena pētījuma ietvaros. Šajā pētījumā izmantoti tādi holesteatomas gadījumā iepriekš nepētīti audu faktori kā TIMP-4, H β D-4 un SHH. Kombinējot šos dažādos audu faktorus, analizējot korelācijas starp tiem, tiek iegūts daudz plašāks ieskats par holesteatomas audu kopīgajām un atšķirīgajām morfoloģiskajām norisēm bērniem un pieaugušajiem, kā trūkst pētījumos, kuros šīs audu pārmaiņas pētītas atsevišķi un iepriekš.

Mērķa populācija

Pacientu grupa sastāvēja no piecdesmit pacientiem, kuriem bija diagnosticēta iegūta holesteatoma. Divdesmit pieci pacienti bija vecumā līdz 18 gadiem un veidoja bērnu vecumgrupu, holesteatomas materiāls tika iegūts VSIA “Bērnu klīniskā universitātes slimnīca” (BKUS) laika posmā no 2019. līdz 2023. gadam. Divdesmit pieci pacienti, kas iekļauti pieaugušo grupā, visi bija vecāki par 18 gadiem, holesteatomas materiāls tika iegūts

VSIA “Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca” (PSKUS) laika posmā no 2019. līdz 2023. gadam.

Kontroles grupas audi tika iegūti no Rīgas Stradiņa universitātes (RSU) Anatomijas un antropoloģijas institūta (AAI) vēsturiskās kolekcijas. Kontroles grupu veidoja ārējās auss ejas āda, kas tika iegūta no septiņiem dažādiem mirušu cilvēku ķermeņiem.

Sadarbības partneri

BKUS un PSKUS tika veiktas holestatomas audu biopsijas. RSU AAI tika veiktas kontroles grupas audu nekropsijas.

Visu iegūto audu apstrāde un analizēšana notika RSU AAI Morfoloģijas laboratorijā.

Materiāli tehniskais nodrošinājums

BKUS un PSKUS nodrošināja aparatūru pacientu grupas audu materiāla ieguvei. RSU AAI nodrošināja audu savākšanas konteinerus un *Stefanini* fiksācijas šķīdumu, kā arī aprīkojumu imūnhistoķīmisko preparātu izgatavošanai un analizēšanai.

Personīgais ieguldījums

Darba autors ir ieguvis pētāmos audus, veicis operācijas bērnu vecumgrupā, analizējis katru audu paraugu gaismas mikroskopā, veicis datu uzskaiti un analīzi, piedalījies visu pētnieciskā darba sadaļu izstrādē, kā arī ir visu mikrofotogrāfiju autors. Analizēts 741 audu paraugs. Autors ir visu ar pētījumu saistīto publikāciju pirmais korespondējošais autors, kā arī bijis kā prezentētājs visos norādītajos kongresos un konferencēs. Autors ir sarakstījis šo darbu.

1. Literatūras apskats

1.1. Ārējās auss ejas, bungplēvītes un vidusauss anatomiskā un histoloģiskā uzbūve

Ārējā auss eja

Ārējās auss ejas garums cilvēkam vidēji ir 25 milimetri. Tai anatomiski izdala divas daļas – ārējā 1/3 ir skrimšļainā daļa un iekšējās 2/3 ir kaulainā daļa, kas ir daļa no deniņu kaula. Skrimšļainā daļa ir pārklāta ar relatīvi biezu ādas kārtu (0,5–1,0 mm bieza), tā turpinās no auss gliemežnīcas, un tajā atrodas tauku dziedzeri, sēra dziedzeri un matu folikuli (Lucente, 1995). Kaulainā ārējās auss ejas ādas daļa ir relatīvi plāna (0,2 mm bieza), tā turpinās no ārējās (skrimšļainās) daļas līdz bungplēvītei, veidojot arī bungplēvītes ārējo slāni (Maroonroge et al., 2009). Šajā daļā nav ne matu folikulu, ne sekrētu producējošu dziedzeru (Klein, 2015).

Auss ejas ādas virskārta jeb epiderma sastāv no daudzkārtaina plakana pārragota epitēlija, kuram var izdalīt piecus slāņus – bazālais, dzeloņainais, graudainais, spīdošais un raga slānis (Hentzer, 1970).

Svarīgi, ka ārējās auss ejas un bungplēvītes epitēlijs migrē virzienā no bungplēvītes uz ārpusi (Litton et al., 1963). Šāda epitēlija šūnu kustība nodrošina auss ejas pašattīrīšanos, un tas samazina infekciju un patoloģiju attīstību ārējā auss ejā (Guest et al., 2004).

Bungplēvīte

Bungplēvīte ir daļēji caurspīdīga, ovāla struktūra, kas diametrā ir apmēram 1 cm. Tā atdala ārējās auss eju no vidusauss (O'Neill et al., 2023; Searight et al., 2023). Bungplēvīte sastāv no trim slāņiem: ārējais slānis ir daudzkārtains, plakans pārragots epitēlijs, kas turpinās no auss ejas; vidējais slānis jeb fibrozais slānis sastāv no fibroelastīgajiem saistaudiem, un šajā slānī ir nervi un asinsvadi; iekšējais slānis veidots no kubiska un plakana epitēlija, kas ir vidusauss gļotādas epitēlija turpinājums (Hentzer et al., 1970; Mozaffari et al., 2020). Bungplēvīte sastāv no divām daļām – iestieptās (*pars tensa*) un mazāk iestieptās (*pars flaccida*) daļas. Iestieptā daļa veido lielāko bungplēvītes virsmas laukumu, un tajā vidējais slānis ir precīzi organizēts ar radiālām un cirkulārām kolagēna šķiedrām, turpretim mazāk iestieptajā daļā vidējais slānis ir sliktāk attīstīts un šķiedras ir organizētas vaļīgāk, kā arī šajā daļā ir vairāk asinsvadu un tuklo šūnu (Hellström et al., 2003; Mozaffari et al., 2020).

Vidusauss

Vidusauss sastāv no trim daļām: bungdobuma, Eistahija kanāla, kas savieno bungdobumu ar aizdeguni, kā arī no aizauss paugura dobuma, kas savienojas ar bungdobumu (Flohr and Schultz, 2009). Bungdobums ir ar gaisu pildīta telpa starp bungplēvīti un iekšējo ausi. Tas ir izklāts ar kubisko epitēliju. Attālums starp visām nozīmīgajām struktūrām vidusausi

ir < 10 mm, tādēļ operāciju laikā mikroskopa lietošana ir neatņemama sastāvdaļa (Wysocki and Skarzyński, 1988; Luers and Hüttenbrink, 2016).

Bungdobums ir kubveida un sastāv no sešām skaldnēm. **Augšējā** jeb jumta siena (*tegmen tympani*) atdala bungdobumu no vidējās smadzeņu bedres. Šī kaula sieniņa ir ļoti plāna, to viegli var erodēt gan holesteatoma, gan arī viegli bojāt operācijas laikā, un caur šo bojājumu infekcija no vidusauss var izplatīties uz smadzeņu bedri (Sinha et al., 2014). **Priekšējā** jeb miega artērijas siena nodala bungdobumu no iekšējās miega artērijas. Nedaudz virs un laterāli no miega artērijas ir Eistahija kanāla atvere, kas savieno bungdobumu ar aizdeguni (Skrzat et al., 2015). **Mugurējā** siena savieno bungdobumu ar aizauss paugura dobumu caur atveri (*aditus ad antrum*) (Mansour et al., 2013). **Apakšējā** jeb jūga bedres siena atdala bungdobumu no iekšējās jūga vēnas (Wojciechowski, 2022). **Mediālā** jeb labirinta siena šķir bungdobumu no iekšējās auss. Svarīgākās struktūras ir ovālais lodziņš, pie kura atrodas kāpslītis, kas pārnes skaņas izraisīto vibrāciju uz iekšējo ausi. Apaļais lodziņš, kas ir ar membrānu pārklāta atvere, nāk no iekšējās auss bungdobuma kāpnēm (*scala tympani*). Traumējot šo lodziņu, var radīt dzirdes zudumu pacientam. Virs ovālā lodziņa stiepjas sejas nervs, kas inervē sejas mīmikas muskuļus. Starp ovālo un apaļo lodziņu iegriežas viens no gliemeža pagriezieniem, izveidojot izvirzījumu bungdobumā, to sauc par *promontorium* jeb kaula pārkari (Luers and Hüttenbrink, 2016). Un **laterālā** siena ir bungplēvīte (Isaacson, 2014).

Vidusausī ir trīs dzirdes kauliņi: āmuriņš, kas piestiprinās pie bungplēvītes; laktiņa, kas ir vidējais kauliņš; kāpslītis, kas ir savienots ar ovālo lodziņu. Skaņas vibrācija no bungplēvītes nonāk līdz iekšējai ausij caur visiem trim dzirdes kauliņiem. Kauliņu vibrāciju spēcīga trokšņa gadījumā samazina divu muskuļu kontrakcija. *M. tensor tympani* sākas pie Eistahija kanāla un piestiprinās pie āmuriņa rokturiša (Mills et al., 2006). *M. stapedius* sākas bungdobuma mugurējā sienā zem sejas nerva mastoidālās daļas un piestiprinās pie kāpslīša galviņas. Holesteatomas gadījumā kauliņu ķēde bieži ir erodēta un operācijas laikā nereti nepieciešams atjaunot dzirdes kauliņu ķēdi, lietojot dzirdes kauliņu protēzes vai rekonstrukciju veicot ar autologiem materiāliem (Mohammadi et al., 2012).

Eistahija kanāls jeb dzirdes kanāls ir cauruļveida struktūra, kas savieno bungdobumu ar aizdeguni. To izklāj daudzrindīgs epitēlijs ar skropstiņām vai bez tām, tajā ir izkaisītas kausveida šūnas (Massa et al., 2015). Tas sastāv no divām daļām: kaulainās daļas, kas ir tuvāk bungdobumam; skrimšļainās daļas, kas ir tuvāk aizdegunei. Skrimšļainā daļa sastāv no fibroelastīga skrimšļa un ir daļēji aizvērta. Tā atveras, kad tiek sasprindzināti muskuļi, kas piesaistās pie skrimšļainās daļas, piemēram, rijot vai žāvājoties. Dzirdes kanāla galvenās funkcijas ir bungdobuma spiediena izlīdzināšana, skābekļa apgāde un drenāža. Bērniem Eistahija kanāls ir īsāks un novietots vairāk horizontāli nekā pieaugušajiem (10° pret 35°

attiecībā pret horizontālo plakni), kas tiek minēts kā viens no iemesliem, kādēļ pediatrikajā populācijā biežāk attīstās vidusauss problēmas, salīdzinot ar pieaugušo populāciju. Dzirdes kanāla disfunkcija ir minēta kā galvenais iemesls dažādu vidusauss patoloģiju attīstībā (Tysome and Sudhoff, 2018).

Aizauss paugura dobums ir izklāts ar plakanu vai kubisku epitēliju (Hentzer et al., 1970). Kaula struktūra ir pneimatizēta un sastāv no “šūnām”, pildītām ar gaisu (*Cellulae mastoidea*). Šūnu daudzums ir variabls – jo veselāka auss, jo vairāk šūnu, un pretēji, ja pacients slimo ar hronisku vidusauss iekaisumu, tad aizauss paugurs būs sklerotizētāks (Rajati et al., 2013). Dobums robežojas ar vairākām nozīmīgām anatomiskajām struktūrām: sejas nervu, pusloka kanāliem, S veida sinusu, kā arī vidējo un mugurējo smadzeņu bedri. Mastoidantrtomijas laikā jāapzinās šo anatomisko struktūru klātbūtne un jāizvairās no to traumēšanas (Açar and Çiçekcibaşı, 2021).

1.2. Cilvēka iegūta holesteatoma, problēmas aktualitāte

Cilvēka iegūta holesteatoma ir labdabīgs, bet lokāli agresīvs veidojums vidusausī. Tā tiek iedalīta iedzimtā un iegūtā holesteatomā. Bērniem tā atrodama no 3 līdz 15 uz 100 000 cilvēku, pieaugušajiem – 9 uz 100 000 gadā. Vidēji Eiropā tā sastopama 7 uz 100 000 cilvēku gadā (Britze et al., 2017; Olszewska et al., 2004).

Holesteatoma sastāv no hiperproliferētām pārragota epitēlija šūnām (Bhutta et al., 2011). Histoloģiski tai izšķir trīs daļas: cistiskais slānis, matrikss un perimatrikss. Iekšējā daļa jeb cistiskais slānis sastāv no bezkodolu keratīna masas, kas sajaukta ar nekrotiskām, strutainām un taukainām masām. Vidējais slānis jeb matrikss sastāv no hiperproliferatīva daudzkārtaina plakanā epitēlija, kuram ir tādi paši slāņi kā neizmainītai epidermai, tomēr atšķirība ir šo slāņu hiperplāzijā. Ārējais slānis jeb perimatrikss ir iekaisuši subepitēliāli saistaudi jeb granulācijas audi, kas sastāv no kolagēna šķiedrām, fibroblastiem un iekaisuma šūnām – neitrofilajiem leukocītiem, limfocītiem, plazmas šūnām un histiocītiem (Asher et al., 2016; Lim et al., 1972).

Iedzimta holesteatoma veidojas aiz neskartas bungplēvītes, kur daudzkārtainais plakanais epitēlijs izteikti pārragojas un proliferē. Vienā no teorijām norādīts, ka epitēlija šūnas kā patoloģiskas paliekas vēl no embriogēnēzes laika paliek vidusausī un veido holesteatomu. Iedzimta holesteatoma sastopama retāk nekā iegūta (Persaud et al., 2007).

Iegūtu holesteatomu iedala primārā un sekundārā. Primāri iegūta veidojas neskartas bungplēvītes retrakcijas kabatā, kurā sakrājas nolobījušās epitēlija keratīna masas. Tālāk bungplēvītē veidojas plīsums, caur kuru epitēlijs iemigrē vidusausī un pārveidojas par holesteatomu. Parasti retrakcija veidojas bungplēvītes augšējā mazāk iestieptajā daļā jeb epitimpaniskajā daļā (Semaan and Megerian, 2006; Dornelles et al., 2005). Eistahija jeb dzirdes

kanāla disfunkcija ir viens no galvenajiem retrakcijas kabatu veidošanās iemesliem (Kuo et al., 2015). Sekundāri iegūta holesteatoma izveidojas, kad epitēlijs iemigrē vidusausī jau caur esošu bungplēvītes perforāciju, kas izveidojusies iekaisuma, traumas vai jatrogēnā ceļā (Semaan and Megerian, 2006; Baráth et al., 2011).

Lai arī iegūta holesteatoma ir labdabīgs veidojums, tomēr vidusausī tā var būt lokāli agresīva. Tā rada ne tikai dzīves kvalitāti samazinošas, bet retāk arī dzīvībai bīstamas komplikācijas. Holesteatomas gadījumā nereti tiek bojāti dzirdes kauliņi, bojājuma dēļ rodas konduktīva vājdzirdība. Holesteatoma var sagraut kaulu iekšējā ausī, tādēļ var rasties līdzsvara traucējumi un sensoneirāla vājdzirdība un var veidoties sejas nerva bojājums, kā dēļ var tikt traucēta mīmikas muskuļu darbība ietekmētajā pusē. Holesteatomas darbības ietekmē var tikt erodēts kauls uz galvaskausa bedrēm, un caur šiem defektiem infekcija var izplatīties uz smadzeņu audiem un radīt meningītu vai smadzeņu abscesu, kā arī smadzeņu sinusu (biežāk S veida sinusa) trombozes (Kuo et al., 2015).

Biežākās sūdzības par audzēju ir pasliktināta dzirde, ilgstoši un recidivējoši strutaini izdalījumi no auss, ko grūti ārstēt, retāk mēdz būt arī auss sāpes, troksnis ausīs un reibonis (Bhutta et al., 2011). Slimības diagnostiku pamato pacienta sūdzības un otoskopiskā aina. Otoskopiski var redzēt strutainus izdalījumus, galvenokārt epitimpaniskajā daļā, granulācijas audus un baltas masas, kas ir pati holesteatoma (Dannatt and Jassar, 2013). Ļoti svarīgi bungplēvīti izvērtēt pilnīgi – iztīrīt auss eju no sēra un izdalījumiem, ja tādi ir, kā arī lietot attēlu palielinošu tehniku, kā otomikroskops vai endoskops (Pachpande and Singh, 2022). Tomēr ne vienmēr pacienta auss ainu izvērtēt ir viegli, īpaši tas attiecināms uz bērniem. Tādēļ, ja ir pamatotas aizdomas par holesteatomu, jāveic radioloģiski izmeklējumi. Biežāk veiktie ir datortomogrāfija un magnētiskās rezonanses izmeklējumi (Corrales and Blevins, 2013).

Datortomogrāfijai ir lielākā nozīme, izvērtējot anatomiskās struktūras un plānojot operācijas apjomu. Holesteatomas pierādīšanā to izmanto reti, jo tā tieši neparāda holesteatomu un signāls, ko rada audzējs, datortomogrāfijā ir līdzīgs citu mīksto audu radītam signālam, piemēram, granulācijas audiem vai saistaudiem. Izvēles datortomogrāfiskais izmeklējums holesteatomas gadījumā ir augstas izšķirtspējas datortomogrāfija ar griezumam < 1 mm. Tā palīdz ieraudzīt dažādu kaulaudu struktūru destrukcijas un to anatomisko novietojumu, kas ir svarīgi, plānojot operācijas apjomu un lai izvairītos no nevēlamām ķirurģiskām komplikācijām operācijas laikā (Gulati et al., 2019).

Magnētiskās rezonanses standarta sekvencēs signāla intensitāte nav specifiska holesteatomai. Tiek izmantota difūzijas svērto attēlu (DWI) programma, kas uzrāda augstu signāla intensitāti holesteatomas gadījumā. Magnētiskā rezonanse ir nozīmīgāka holesteatomas

diagnostikas un arī recidīvu izvērtēšanas gadījumā. Bet tā ir mazāk nozīmīga, lai izvērtētu holesteatomas radītos bojājumus vidusausī (Henninger et al., 2017).

Mūsdienās izmanto šos abus radioloģiskos izmeklējumus, kas viens otru papildina un nodrošina labāku holesteatomas attīstības gaitas kontroli.

Šobrīd vienīgā efektīvā ārstēšana ir ķirurģiska holesteatomas ekscīzija. Lai gan holesteatoma ir labdabīgs veidojums, to raksturo augsts recidīva risks, ko skaidro ar apgrūtināto piekļuvi veidojuma lokalizācijai un sarežģīto vidusausis anatomisko uzbūvi, jo ausī ir neskaitāmas mazas spraugas, kur holesteatomas šūnām “paslēpties”, kā arī recidīva biežums atkarīgs no ķirurga pieredzes un prasmēm (Bovi et al., 2023). Nesenā pētījumā tika salīdzināts bērnu un pieaugušo holesteatomas piecu gadu recidīvisms, kurā noskaidroja, ka bērniem tas ir 2,6 reizes lielāks (38 % pret 14 %) (Møller et al., 2020). Ir veikti vairāki pētījumi, kur izvērtēja pieaugušo un bērnu pacientu audzēja klīnisko gaitu, radioloģisko izmeklējumu un ķirurģisko atradi, kā arī holesteatomas molekulāro un šūnu marķieru atradi. Tomēr eksistē dažādi viedokļi par to, vai ir atšķirība starp bērnu un pieaugušo holesteatomu (Lima et al., 2020).

1.3. Audu remodelācija

Ekstracelulārās matrices (ECM) galvenās funkcijas ir audu un orgānu balstīšana, šūnu darbības regulācija, šūnu kustības, izdzīvošanas un apoptozes regulēšana, kā arī dažādu signālu un augšanas faktoru novadīšana līdz šūnām (Hynes, 2009; Discher et al., 2005; Pelham and Wang, 1997; Rolfe and Grobbelaar, 2012). ECM sastāv no dažādām molekulām, no kurām galvenās ir proteoglikāni, glikozaminoglikāni, kolagēns, elastīns, fibronektīns un laminīns (Kular et al., 2014).

Matrices metaloproteināzes pieder endopeptidāžu ģimenei, kas sastāv no 23 faktoriem. Tās tiek iedalītas šādās grupās: kolagenāzes, želatināzes, stromelizīni, matrilizīni, membrānas tipa matrices metaloproteināzes. MMPs ir spējīgas degradēt ECM. Tām ir nozīmīga loma cilvēka organisma fizioloģiskajos procesos, tādos kā kaulaudu remodelācija, brūču dzīšana, angiogēnēze, embriogēnēze, apoptoze un orgānu morfoģenēze (Cui et al., 2017; Cabral-Pacheco et al., 2020). MMPs ir nozīmīgas arī tādos patoloģiskos procesos kā artrīts, neiroloģiskas un kardiovaskulāras alimības, kā arī dažādu audzēju attīstībā (Nagase and Woessner, 1999).

Ir četri matrices metaloproteināzes audu inhibitori (TIMPs) – TIMP 1, 2, 3, 4. To galvenā loma ir inhibēt MMPs šķēlējenzīmu darbību. Starp MMPs un TIMPs normālos apstākļos pastāv stehiometriskā (1:1) attiecība (Jackson et al., 2017). Tomēr patoloģiskos apstākļos šī attiecība var būt izmainīta, kas ir viens no faktoriem, kādēļ veidojas iekaisuma

process, audzēju attīstība, izmainās angiogēnēze, rodas fibroze, audu destrukcija, autoimūnas slimības un arī attīstās holesteatoma (Amalinei et al., 2010; Kaya et al., 2020).

1.3.1. Matrices metaloproteināzes

Matrices metaloproteināze 2

Matrices metaloproteināze 2 (MMP-2) ir zināma arī kā želatināze A, IV tipa kolagenāze un 72 kDa želatināze (Huhtala et al., 1990). MMP-2 tiek sekretēta 72-kDa neaktīvā formā (pro-MMP-2) un aktivēta 64-kDa aktīvā formā. To aktivē membrānu tipa 1 matrices metaloproteināze (MT-1MMP) (Valacca et al., 2015). MMP-2 var sašķelt želatīnu (denaturēts kolagēns), kolagēnu I, IV un V, elastīnu, laminīnu un vitronektīnu (Chakrabarti and Patel, 2005). MMP-2, tieši degradējot bazālo membrānu, atvieglo šūnu migrāciju, ļaujot neitrofilajiem leikocītiem un limfocītiem migrēt audos. MMP-2 iesaistīta gan iekaisuma veicināšanā, gan nomākšanā. Tā veicina interleikīna 1 (IL-1) izdali un arī angiogēnēzi (Nikolov et al., 2021). Par galveno MMP-2 inhibitoru tiek uzskatīts matrices metaloproteināzes audu inhibitors 2 (TIMP-2) (Crocker et al., 2004).

Holesteatomas audos MMP-2 ir saistīta ar audzēja agresivitāti, respektīvi, spēju destruēt apkārtējā vidusaus kaula struktūras. Ir pierādīts, ka holesteatomas audos ir MMP-2, tomēr eksistē pretrunas dažādu autoru pētījumos, proti, vai MMP-2 ir pastiprināti ekspresēta holesteatomas audos, salīdzinot ar kontroles ādas audiem (Morales et al., 2007; Banerjee et al., 1998; Suchozebrska-Jesionek et al., 2008). Pētījumā, ko veica *Morales*, secināts, ka paaugstināts MMP-2 līmenis, salīdzinot ar kontroles audiem, ir tikai tiem pacientiem, kuriem holesteatoma norit ar aktīvu iekaisumu (Morales et al., 2007).

Pētījumā, kurā tika salīdzināta bērnu un pieaugušo holesteatoma, secināts, ka bērnu holesteatomā MMP-2 ir vairāk izdalīta (Dornelles et al., 2009), tomēr šādu salīdzinošu pētījumu ir ļoti maz.

Matrices metaloproteināze 9

Matrices metaloproteināze 9 (MMP-9) jeb želatināze B, IV tipa kolagenāze, ir enzīms ar 83-kDa molekulāro svaru, kas tiek aktivēts no 92-kDa neaktīvās formas. To aktivē MMP-2, 3, 7, 9, 13 katepsīns G un urokināze (Christensen and Shastri, 2015). Tā šķel kolagēnu IV, V, VII, X, XIV, fibronektīnu un laminīnu (Bergers et al., 2000). Svarīgākā funkcija, ko veic MMP-9, ir angiogēnēzes stimulācija. Tā tieši veicina vaskulārā endoteliālā augšanas faktora (VEGF) aktīvas formas izdali (Ezhilarasan et al., 2009). TIMP-1 ir nozīmīgākais MMP-9 inhibitors (Crocker et al., 2004).

Tāpat kā MMP-2, arī MMP-9 holesteatomas audos saistās ar audzēja agresivitāti (Rezende, et al., 2012; Olszewska et al., 2016). Vairāki autori pierādījuši tās palielinātu

ekspresiju holesteatomas audos, salīdzinot ar kontroles audiem (Olszewska et al., 2016; Juhász et al., 2009), tomēr citi autori savos pētījumos atšķirību neatrod (Rezende, et al., 2012; Banerjee et al., 1998).

Pieejamajā zinātniskajā literatūrā ir iegūti atšķirīgi rezultāti, salīdzinot MMP-9 ekspresiju bērnu un pieaugušo pacientu holesteatomā. Vienā no pētījumiem tika pierādīts, ka MMP-9 ekspresija bērnu holesteatomā ir lielāka nekā pieaugušo pacientu grupas holesteatomā (Dornelles et al., 2009), tomēr citā pētījumā atšķirības starp grupām nebija vērojamas (Palkó et al., 2018). Atšķirīgie rezultāti starp pētījumiem, kā arī to nelielais skaits pamato nepieciešamību pēc tālākiem pētījumiem.

1.3.2. Matrices metaloproteināzes audu inhibitori

Matrices metaloproteināzes audu inhibitors 2

Matrices metaloproteināzes audu inhibitors 2 (TIMP-2) ir relatīvi neliels proteīns ar 21- kDa molekulāro masu (Sheu et al., 2003). Tas atrodams gandrīz visos šūnu tipos cilvēka ķermenī (Brew and Nagase, 2010). TIMP-2 inhibē vairākas MMPs, tai skaitā MMP-2 un MMP-9 (Costanzo et al., 2022). Interesanti, ka TIMP-2 iesaistās ne tikai MMP-2 inhibēšanā, bet arī aktivizēšanā, to darot kopā ar MMP-14 (Jezierska and Motyl, 2009). Viena no galvenajām TIMP-2 funkcijām ir kavēt ECM proteolīzi.

Precīza TIMP-2 loma holesteatomas patoģenēzē nav zināma, tomēr tiek uzskatīts, ka, samazinoties TIMP-2 daudzumam, tiek izjaukts līdzsvars starp TIMPs un MMPs un tiek aktivizēta proteolīze, kas rada kaulaudu destrukciju vidusauss struktūrās (Kaya et al., 2020). Pēc mums pieejamās informācijas, pētījumi, kuros tiku salīdzināts TIMP-2 bērnu un pieaugušo holesteatomas audos, nav publicēti.

Matrices metaloproteināzes audu inhibitors 4

Matrices metaloproteināzes audu inhibitors 4 (TIMP-4) ir nesen atklātais un vismazāk pētītais no TIMPs grupas. Tas ir ar vislielāko molekulāro svaru no visiem TIMPs – 23-kDa. TIMP-4 un TIMP-2 sastāda 51 % līdzību pēc aminoskābju sastāva (Greene et al., 1996). TIMP-4 kavē lielāko daļu no MMPs, tai skaitā MMP-2 un MMP-9 (Melendez-Zajgla et al., 2008), kā arī kavē vairāku audzēju augšanu cilvēka organismā (Liu et al., 1997). TIMP-4 pierādīta nozīme ECM aizsardzībā pret proteolīzi, un tas ierobežo fibrozes veidošanos audos (Shynlova et al., 2013; Takawale et al., 2014).

Zināms, ka palielināta TIMP-4 koncentrācija dažādu audzēju audos saistāma ar to sliktāku prognozi un agresīvāku augšanu (Coates-Park et al., 2024). Piemēram, krūts vēža gadījumā to var izmantot kā vienu no biomarķieriem, kas norāda uz agresīvāku tā norisi

(Liss et al., 2009). Arī pulmonālās hipertensijas gadījumā pārliecinoši novēro TIMP-4 palielinātu koncentrāciju plazmā (Marc et al., 2021).

Holesteatomas audos TIMP-4 līdz šim nav pētīts un tā nozīme ir neskaidra.

1.4. Holesteatomas audu proliferācija

Viena no holesteatomas svarīgākajām pazīmēm ir audzēja šūnu spēja nepārtraukti proliferēt (Yeşilova et al., 2017), un visbiežāk lietotais marķieris, lai izvērtētu holesteatomas šūnu proliferāciju, ir Ki-67 (Araz et al., 2019).

Tas atrodams šūnu kodolā G₁, S un G₂ šūnas dalīšanās fāzēs, bet nav atrodams, kad šūnas dalīšanās nenotiek jeb G₀ fāzē (Gerdes et al., 1984). Tādēļ Ki-67 plaši lieto klīniskajā medicīnā. Šobrīd šo proliferācijas marķieri izmanto ļoti daudzu audzēju šūnu dalīšanās spēju noteikšanā, jo tas netieši var norādīt uz audzēja agresivitāti (Kontzoglou et al., 2013).

Atsevišķos pētījumos pierādīts, ka Ki-67 holesteatomas audu šūnās ir vairāk izdalīts nekā kontroles audos. Pārsvarā pētījumos holesteatomas matrikss tiek salīdzināts ar neizmainītas ādas epidermas slāni (Chung et al., 2015; Akdogan et al., 2013). Ki-67 tiek minēts arī kā marķieris, kas var norādīt uz holesteatomas agresivitāti. *Mallet* et al. savā pētījumā pierādīja, ka pacientiem ar lielāku kaula eroziju vidusausī bija arī izteiktāka šūnu proliferācija (Mallet et al., 2003).

Pētījumos, kur tiek salīdzināta bērnu un pieaugušo holesteatoma, atrodami dažādi rezultāti. Tā, piemēram, *Sikka* et al. pētījumā secinājis, ka šūnu proliferācija nav atkarīga no pacienta vecuma, tomēr *Bujía* et al. pētījuma rezultāti parāda, ka bērnu holesteatomas šūnu proliferācija ir izteiktāka, nekā tā ir pieaugušajiem (Sikka et al., 2012; Bujía et al., 1996).

1.5. Transkripcijas proteīna raksturojums holesteatomas gadījumā

Nukleārais faktors kapa beta (NF- κ B) pirmo reizi tika atklāts aktivētu B limfocītu kodolā (Sen and Baltimore, 1986). Pārsvarā šūnā tas atrodas neaktīvā formā citoplazmā, un to inaktivē kapa beta inhibitors (I κ B). NF- κ B var aktivēt citokīni, dažādas baktērijas un vīrusi, šūnu stress, dažādi augšanas faktori un arī medikamenti. Aktivācija notiek caur citoplazmas kināzes kompleksu, tad aktivēts NF- κ B var nonākt šūnas kodolā un iedarbināt mērķa gēnus (Gilmore, 2013). Transkripcijas proteīna galvenā funkcija ir imūnās atbildes un iekaisuma regulācija, tomēr tas piedalās arī šūnu stresa, apoptozes, proliferācijas un zīdītāju ekstremitāšu attīstības regulācijā (Giuliani et al., 2018).

Ir pierādīta palielināta NF- κ B ekspresija holesteatomas audos, salīdzinot ar neizmainītu ādu. NF- κ B nozīme un funkcija holesteatomas audos ir mazāk skaidri definētas, tomēr pētījumi norāda, ka NF- κ B caur signālu ceļu, kurā piedalās arī Ki-67, veicina holesteatomas epitēlija šūnu proliferāciju (Byun et al., 2010; Hamajima et al., 2010; Liu et al., 2014). NF- κ B piedalās

arī angiogēnēzes pastiprināšanā holesteatomas audos kā viens no VEGF inducētājiem (Fukudome et al., 2013). Visbeidzot, tam ir nozīme iekaisuma veicināšanā holesteatomas gadījumā (Schürmann et al., 2020).

1.6. Iekaisumu veicinošo un nomācošo citokīnu raksturojums holesteatomas gadījumā

Cilvēka iegūtu holesteatomu raksturo hronisks iekaisums. Iekaisuma patoģenēzē svarīgi ir iekaisuma veicinošie un nomācošie citokīni un to savstarpējā saistība (Kuo et al., 2015).

Interleikīns 1 α

Interleikīns 1 (IL-1) ir iekaisumu veicinošs citokīns. IL-1 saime sastāv no 11 citokīniem. IL-1 un šie citokīni sadalīti trijās subgroupās. IL-1 subgroupā ietilpst trīs agonisti IL-1 α , IL-1 β , IL-33, kā arī viens receptoru antagonists IL-1Ra (Garlanda et al., 2013; Towne et al., 2011).

Interleikīns 1 α (IL-1 α) ir duālas darbības citokīns, tas atrodams šūnas kodolā, kur saistās ar DNS un ierosina gēnu ekspresiju, kā arī saistās ar šūnas membrānu receptoru, ierosinot signālu pārvadi (Werman et al., 2004). To izdala dažādi šūnu tipi, kā endoteliocīti, keratinocīti, neitrofilie leikocīti, limfocīti, epitēlija, stromas un mezenhīmas šūnas. Atšķirībā no citiem IL-1 subgroupas citokīniem IL-1 α izdala arī veselos audos, ne tikai slimības gadījumā (Berda-Haddad et al., 2011). Šī citokīna izdali stimulē citi citokīni, oksidatīvais stress un dažādi hormoni (Malik and Kanneganti, 2018). IL-1 α ir nozīme gan akūtu, gan hronisku iekaisumu gadījumā, kā arī dažādu audzēju attīstībā (Kaneko et al., 2019).

IL-1 α ierosina keratinocītu proliferāciju holesteatomas matricā, kas ir viena no galvenajām holesteatomu raksturojošām pazīmēm (Bujía et al., 1996). Holesteatomas audos IL-1 α saista ar tās augšanu un tai apkārt esošā kaula osteolīzi (Bujía et al., 1996; Kuczkowski et al., 2011). Zināms, ka IL-1 α ierosina osteoklastu darbību un palielina kaula matrices degradāciju (Artono et al., 2020), kā arī inducē MMP-2 un MMP-9 darbību, kas savukārt ierosina kaulaudu osteolīzi (Kusano et al., 1998). Lai arī holesteatomas audos tieša IL-1 α regulatora ietekme uz MMP-2 un MMP-9 darbību nav aprakstīta, tomēr ir pierādīta visu trīs šo audu faktoru ietekme uz kaulaudu ECM degradāciju šī audzēja audos (Hamed et al., 2016).

Vairākos pētījumos pierādīta IL-1 α palielināta ekspresija holesteatomas audos, salīdzinot ar kontroles grupas neizmainītu ādu (Bujía et al., 1996; Kuczkowski et al., 2011; Yetiser et al., 2002). Šobrīd trūkst datu par šī citokīna ekspresijas atšķirībām bērnu un pieaugušo holesteatomā.

Interleikīns 10

Interleikīns 10 (IL-10) ir viens no aktīvākajiem iekaisumu nomācošajiem citokīniem, kam ir plaša ietekme gan uz specifisko, gan nespecifisko imunitāti (Dai et al., 1997). IL-10 saime sastāv no deviņiem savstarpēji saistītiem citokīniem, kas iedalīti trijā grupās: (1) apakšgrupa, ko pārstāv IL-10; (2) IL-20 apakšgrupa, kas aizsargā pret baktērijām; (3) III tipa interferoni, kas rada pretvīrusu aizsardzību (Sziksz et al., 2015).

Sākotnēji tika uzskatīts, ka IL-10 izdala tikai 2. tipa T palīgšūnas (Kuhn et al., 1993), tomēr to izdala arī tādas šūnas kā monocīti, makrofāgi, dendrītiskās šūnas, B limfocīti, dabiskās galētājšūnas un tuklās šūnas, neitrofilie un eozinofilie leukocīti. Atbildot audu bojājumam, arī epitēlija šūnas, keratinocīti un audzēju šūnas var izdalīt IL-10 (Maynard, 2009; Maloy et al., 2001; Ouyang et al., 2011; Jung et al., 2004).

Aktīvi regulējot monocītu un makrofāgu darbību, IL-10 nomāc dažādu iekaisuma veicinošo citokīnu darbību, tai skaitā IL-1 α , kā arī kavē alerģiskas reakcijas (Iyer and Cheng, 2012; Barrat, 2002). IL-10 aktivē tādas šūnas kā tuklās, B un T šūnas, kā arī dabiskās galētājšūnas, kuru tālāka darbība samazina dažādus iekaisuma procesus cilvēka organismā (Shibata et al., 1998; Go et al., 1990). Samazināts IL-10 daudzums vai izmainīta iekaisumu veicinošo un nomācošo citokīnu savstarpējā attiecība ir saistīta ar dažādu hronisku iekaisumu, audzēju un arī bakteriālu infekciju attīstību. Piemēram, tā svarīga *Pseudomona aeruginosa* izplatībā, kas ir nozīmīga holesteatomas patoģenēzē (Iyer and Cheng, 2012; Belo et al., 2021; Ricciardiello et al., 2009).

IL-10 regulācija holesteatomas audos ir maz pētīta, bet atsevišķos pētījumos konstatēts, ka IL-10 daudzums nebija statistiski nozīmīgi izmainīts, salīdzinot ar kontroles audiem, kamēr IL-1 α bija nozīmīgi paaugstināts. Tika secināts, ka iespējama IL-10 un IL-1 α normāla līdzsvara izmaiņas audos varētu pastiprināt iekaisuma procesu un kaulaudu remodelāciju pacientiem ar holesteatomu (Kuczkowski et al., 2011). Tomēr trūkst pētījumu par to, vai eksistē atšķirība starp IL-10 ekspresiju bērnu un pieaugušo holesteatomas audos.

1.7. Cilvēka beta defensīnu raksturojums holesteatomas gadījumā

Viens no svarīgākajiem nespecifiskās imunitātes komponentiem ir spēja sintezēt un izdalīt mazus antimikrobiālus peptīdus, kuriem piemīt spēja aizsargāt organismu pret dažādiem patogēniem, kā grampozitīvām un gramnegatīvām baktērijām, vīrusiem, sēnītēm un arī parazītiem. Cilvēka organismā vieni no šādiem peptīdiem ir cilvēka defensīni (Deptuła et al., 2019). Zīdītājiem ir atrasti trīs defensīnu veidi – α , β un θ -defensīni –, tomēr cilvēku organismā ir atrodami tikai α un β defensīni (Xu and Lu, 2020). Ir zināmi seši cilvēka alfa defensīni un aprakstīti seši cilvēka beta defensīni (H β D) 1–6, tomēr gēnu pētījumi rāda, ka vajadzētu būt vēl vismaz 28 H β D (Fruitwala et al., 2019). Cilvēka alfa defensīnus pārsvarā producē leukocīti,

turpretim cilvēka beta defensīni ir atrodamī galvenokārt ādas keratinocītos un epitēlija šūnās (Pazgier et al., 2006; Shah et al., 2012).

Cilvēka beta defensīns 2

Cilvēka beta defensīns 2 (HβD-2) ir maza molekulārā svara ar cisteīnu bagāts katjonu peptīds (Schröder and Harder, 1999), kas pirmo reizi atklāts 1997. gadā cilvēka ādā. Tas tiek saukts arī par ādas pretmikrobu peptīdu (Harder et al., 1997). HβD-2 primārā struktūra uztur pozitīvu lādiņu, kas tiek raksturots ar +6, augstāks ir HβD-3 (+11), bet zemāks HβD-1 (+4) (Taylor et al., 2008). Šis fenomens, iespējams, raksturo HβD antimikrobiālo aktivitāti un spēju piesaistīties negatīvi lādētajām baktēriju molekulām, piemēram, siālskābes (Huang et al., 2007).

Dažādi epitēlija šūnu veidi var izdalīt HβD-2 galvenokārt pēc epitēlija šūnu kontakta ar mikroorganismiem vai iekaisumu veicinošo citokīnu stimulācijas (Schröder and Harder, 1999). Kā ļoti nozīmīgi HβD-2 darbības ierosinātāji tiek minēti NF-κβ un aktivatorproteīns 1, kas, piesaistoties pie HβD-2 promotera, aktivizē gēna ekspresiju. Ir audi, kuros šie abi HβD-2 darbības ierosinātāji darbojas arī kā inhibitori (Wehkamp et al., 2006). Zināms, ka dažādos audos viens no spēcīgiem HβD-2 darbības ierosinātājiem ir arī iekaisumu veicinošais citokīns IL-1α (Ciešlik et al., 2021). Galvenā HβD-2 funkcija ir spēcīgā antimikrobiālā aktivitāte dažādos epitēlija audos, tomēr pētījumi liecina, ka HβD-2 ir iesaistīts arī imūno šūnu hemotaksē un signālu (*Toll-like*) receptoru aktivizācijā uz to virsmas (Seo et al., 2010).

Iegūtas cilvēka holesteatomas gadījumā viena no biežākajām baktērijām, kas ierosina iekaisumu, ir *Pseudomona aeruginosa* (Ricciardiello et al., 2009). Zināms, ka HβD-2 ir svarīgs peptīds cīņā ar šo baktēriju (Harder et al., 2000). Ir pāris pētījumu, kur pierādīts paaugstināts HβD-2 līmenis holesteatomas audos salīdzinājumā ar kontroles ādu, kā arī atrasta augstāka HβD-2 aktivitāte salīdzinājumā ar HβD-3 un HβD-1 (Park et al., 2003; Song et al., 2007). Tomēr pētījumu daudzums par HβD-2 izpausmi holesteatomas audos ir neliels, kā arī nav salīdzināta pieaugošo un bērnu holesteatoma.

Cilvēka beta defensīns 4

Cilvēka beta defensīns 4 (HβD-4) tika atklāts, veicot genoma analīzi. Cilvēka organismā to visvairāk izdala kuņģī un sēkliniekos, bet mazāk – neitrofilajos leukocītos, vairogdziedzera epitēlijā, plaušās, dzemdē un nierēs. No visiem defensīniem tam ir visaugstākā aktivitāte pret *Pseudomona aeruginosa*, bet vāja aktivitāte pret *Staphylococcus aureus* un *Streptococcus pneumoniae* (García et al., 2001). Tāpat kā HβD-2, arī HβD-4 pozitīvais lādiņš ir +6 (Prah et al., 2016), kas raksturo antimikrobiālo aktivitāti audos (Huang et al., 2007).

Zinātniskajā literatūrā informācijas par H β D-4 ir ļoti maz, tāpēc tā ietekme uz dažādu slimību un infekciju izpausmi organismā ir neskaidra (Prahl et al., 2016). Pēc mums pieejamās informācijas, H β D-4 holesteatomas audos līdz šim nav pētīts.

1.8. Vaskulārā endoteliālā augšanas faktora raksturojums holesteatomas gadījumā

Viens no svarīgākajiem procesiem, kas stimulē holesteatomas augšanu, ir angiogēnēze. Tā visvairāk noris holesteatomas ārējā slānī jeb perimatriksā, kas ir irdeni, subepiteliāli saistaudi, kurus dēvē arī par granulācijas audiem (Bujía et al., 1996; Olszewska et al., 2004).

Spēcīgs, angiogēnēzi ierosinošs audu faktors ir vaskulārais endoteliālais augšanas faktors (VEGF). Tas sākotnēji tika saistīts tikai ar endotēlija šūnām (Ferrara et al., 1992), tomēr zināms, ka VEGF ir atrodams arī keratinocītos, makrofāgos un audzēja šūnās (Frank et al., 1995; Sunderkotter et al., 1994; Itakura et al., 2000). VEGF ģimene sastāv no četrām tā izoformām: VEGF A–D (Shavell et al., 2009). VEGF ir nozīmīga loma tādos bioloģiskos procesos kā kaulu veidošanās, hematopoēze, brūču dzīšana un cilvēka attīstība (Gerber et al., 1999; Ferrara et al., 1998; Chintalgattu et al., 2003; Reichardt and Tomaselli, 1991). Fizioloģiskos apstākļos nozīmīgs VEGF darbības ierosinātājs ir hipoksija (Shweiki et al., 1992), kā arī dažādi augšanas faktori un citokīni, tai skaitā IL-1, kuri darbojas sinerģiski hipoksijai (Ferrara et al., 2003). Hipoksijai ir nozīmīga loma gan holesteatomas veidošanās procesā, gan arī progresēšanā (Adunka et al., 2003; Shih et al., 2018).

Holesteatomas audos ir pierādīta palielināta VEGF izdale, salīdzinot ar neizmainītu ādu, tomēr pētījumā apskatīts mazs pacientu skaits (n = 8). Svarīgs novērojums ir, ka VEGF holesteatomas audos var sekretēt keratinocīti (matriksā) un tas var ierosināt angiogēnēzi perimatriksā jau parakrīnā veidā. Pētījumā secināts arī, ka NF- κ B ir saistīts ar VEGF regulācijas mehānismu (Fukudome et al., 2013). Tomēr informācijas daudzums par VEGF ietekmi holesteatomā ir neliels, kā arī nav salīdzinājumu par tā izdali pacientiem dažādās vecumgrupās.

1.9. *Sonic hedgehog* gēna proteīna nozīme holesteatomas gadījumā

Hedgehog gēnu saimē ir trīs gēni – *Sonic hedgehog* (SHH), *Indian hedgehog* un *Desert hedgehog*. Tiem ir relatīvi līdzīgs darbības mehānisms un funkcijas (Ingham and McMahon, 2001). *Hedgehog* gēnus ekspresē dažādi audi, un tie ir ļoti būtiski kā embriogēnēzē, tā arī postnatālajā periodā, nodrošinot audu un orgānu homeostāzi un normālu attīstību (Petrova and Joyner, 2014). SHH darbība ir svarīga pieaugušo vecumā, jo pierādīts, ka šī gēna ekspresijas traucējumi pieaugušo vecumā var veicināt dažādu audzēju attīstību (Rimkus et al., 2016). SHH gēns vairāk ir saistīts ar nervu sistēmas un ekstremitāšu attīstību; *Indian Hedgehog* atbild par skeleta attīstību, galvenokārt endohondrālo attīstību; *Desert Hedgehog* atbild par reproduktīvās sistēmas attīstību (Carballo et al., 2018).

SHH gēns ir nozīmīgs jau pašā embriogēneses sākumā, un tas ir visvairāk pētītais no visiem *Hedgehog* ģimenes gēniem (Sasai et al., 2019). Zināms, ka jau 7,5. embriogēneses dienā SHH atrodams ass mezodermā galvas un kaudālajā embrija daļā (Echelard et al., 1993; Marti et al., 1995; Blaess et al., 2014), kā arī 8,5. dienā tas atrodams nervu caurulē un 9,5. dienā to atrod ekstremitāšu aizmetņos. Gēna ekspresija saglabājas augsta līdz pat vēlai embriogēneses stadijai (Echelard et al., 1993). Svarīgi, ka SHH ietekme uz audiem ir atkarīga no tā koncentrācijas, piemēram, ja SHH gēna proteīnam noteiktā embriogēneses periodā ir lielāka koncentrācija priekšējā rokas aizmetņa rajonā, attīstās polidaktīlija (Tickle and Towers, 2017). SHH ir ekspresēts arī distālajā epitēlijā no 10,5. līdz 16,5. embriogēneses dienai, kā arī atrodams elpceļu epitēlijā (Miller et al., 2001).

SHH gēna proteīna ietekme holesteatomas attīstībā līdz šim nav pētīta. Zināms, ka SHH piedalās iekšējās un vidusauss attīstībā (Shin et al., 2017). Lai gan ārējā auss eja veidojas no pirmā žaunu loka rievās (Anthwal and Thompson, 2016), tieša saistība starp ārējās auss ejas attīstību un SHH gēnu nav aprakstīta vai pētīta. Tā kā SHH ietekmē žaunu loku attīstību, tas varētu ietekmēt arī ārējās auss ejas attīstību, tādēļ tas ir interesants arī mūsu pētījumā.

2. Materiāls un metodes

2.1. Pētāmais materiāls un pacientu iedalījums grupās

2.1.1. Kontroles grupa

Kontroles grupas audi tika iegūti no Rīgas Stradiņa universitātes (RSU) Anatomijas un antropoloģijas institūta (AAI) vēsturiskās kolekcijas. Kontroles grupu veidoja ārējās auss ejas āda, kas tika iegūta no septiņu mirušu cilvēku ķermeņiem.

Kontroles audu izvēli ietekmēja ētiskie apsvērumi, kas neļāva veikt biopsiju no veselu pacientu ārējās auss ejas ādas, jo tas pacientiem varētu radīt komplikāciju risku dzīšanas periodā.

Ārējās auss ejas audi tika nogādāti RSU AAI Morfoloģijas laboratorijā, kur veikta rutīnas histoloģiskā izmeklēšana. Pēc audu primāras izmeklēšanas septiņu pacientu audi tika iekļauti pētījumā un trīs pacienti no pētījuma izslēgti. Iekļaušanas kritēriji: pacienti bez zināmas ādas saslimšanas; pacienti bez zināma hroniska vidusauss iekaisuma. Izslēgšanas kritēriji: nepietiekams ārējās auss ejas audu materiāls (pēc rutīnas histoloģiskās izmeklēšanas trūkst epidermas vai dermas slāņa), iekaisuma pazīmes.

Kontroles audu izmantošanai pētījumā saņemta atļauja no RSU Ētikas komitejas (Nr. 2- PĒK-4/475/2022; 29.10.2022.) (skatīt 3. pielikumu).

Kontroles grupas pacientu raksturojums

Kontroles grupas veidošanai tika izmantots septiņu mirušu cilvēku ķermeņu materiāls – ārējā auss ejas āda. Grupā bija trīs sievietes un četri vīrieši vecumā no 35 līdz 50 gadiem, ar maņu orgānu un ādu nesaistītām patoloģijām.

Kontroles grupa salīdzināšanai derīga gan bērnu, gan pieaugušo grupām, jo bērna āda pēc sešu gadu vecuma līdzinās pieaugušo ādai (Stamatas et al., 2023). Tādēļ no mirušu cilvēku ķermeņiem iegūtā āda ir atbilstoša izmantošanai kā kontroles grupa.

2.1.2. Bērnu pacientu grupa

Materiāls bērnu pacientu grupai tika iegūts VSIA “Bērnu klīniskā universitātes slimnīca” (BKUS) laika posmā no 2019. gada novembra līdz 2023. gada jūnijam. Pētāmie audi iegūti no pacientiem auss holesteatomu operāciju laikā. Tika iegūti paraugi no 37 unikāliem pacientiem vecumposmā no 5 līdz 17 gadiem. Morfoloģiski tika apstiprināta holesteatoma.

Audus tālāk nogādāja RSU AAI Morfoloģijas laboratorijā, kur tika veikta rutīnas histoloģiskā izvērtēšana. Pēc audu primārās izvērtēšanas (rutīnas histoloģiskā atrade) 25 (15 zēni; 10 meitenes) pacientu audi tika novērtēti kā atbilstoši pētījumam.

Iekļaušanas kritēriji: bērna vecums (0–18 gadi); iegūta holesteatoma. Izslēgšanas kritēriji: nepietiekams holesteatomas audu materiāls, kas nav piemērots imūnhistoķīmiskai apstrādei (rutīnas histoloģiskajā atradē trūkst holesteatomas matriksa vai perimatriksa).

Holesteatomas audu materiāla iegūšanas laikā netika radīts kaitējums pacientu veselībai, jo tika veikta operācija holesteatomas ekscīzijai. Pētījums veikts saskaņā ar 2013. gada Helsinku deklarāciju. Pētījums apstiprināts RSU Ētikas komitejā (Nr. 6-2/7/4; 05.09.2019.). Tika saņemta atļauja no BKUS Izglītības un zinātnes departamenta (skatīt 2. un 4. pielikumu). Pētījuma būtība tika izstāstīta pacientiem un pacienta vecākiem, tika iegūta rakstiska piekrišana no pacienta vecākiem par piedalīšanos pētījumā.

Bērnu grupa tika definēta pēc Latvijas likumdošanas “Bērnu tiesību aizsardzības likuma” 3. panta 1. daļas: “*Bērns ir persona, kas nav sasniegusi 18 gadu vecumu, izņemot tās personas, kuras saskaņā ar likumu izsludinātas par pilngadīgām vai stājušās laulībā pirms 18 gadu vecuma sasniegšanas.*”

Bērnu grupas pacientu raksturojums apskatāms 2.1. tabulā.

2.1. tabula

Bērnu grupas pacientu raksturojums

Nr.	Šifrs	Dzimums	Vecums (gadi)	Diagnoze; ārstēšana
1.	BH 24	Meitene	5	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
2.	BH 25	Zēns	5	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
3.	BH 23	Zēns	6	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
4.	BH 19	Zēns	6	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
5.	BH 21	Meitene	8	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
6.	BH 3	Meitene	9	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
7.	BH 6	Zēns	10	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
8.	BH 1	Zēns	11	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika

2.1. tabulas turpinājums

Nr.	Šifrs	Dzimums	Vecums (gadi)	Diagnoze; ārstēšana
9.	BH 11	Meitene	12	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
10.	BH 10	Zēns	13	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
11.	BH 32	Meitene	13	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
12.	BH 30	Zēns	14	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
13.	BH 34	Zēns	14	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
14.	BH 12	Meitene	15	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
15.	BH 14	Meitene	15	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
16.	BH 18	Zēns	15	Abpusējs hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika kreisajā pusē
17.	BH 27	Zēns	15	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
18.	BH 2	Zēns	16	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
19.	BH 7	Meitene	16	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
20.	BH 8	Meitene	16	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
21.	BH 20	Meitene	16	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
22.	BH 5	Zēns	17	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
23.	BH 29	Zēns	17	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
24.	BH 35	Zēns	17	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; <i>Canal wall-up</i> operācija, timpanoplastika
25.	BH 37	Zēns	17	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika

2.1.3. Pieaugušo pacientu grupa

Materiāls pieaugušo pacientu grupai tika iegūts VSIA "Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca" (PSKUS) laika posmā no 2019. gada novembra līdz 2023. gada jūnijam. Pētāmie audi iegūti no pacientiem auss holesteatomu operāciju laikā. Iegūti paraugi no 35 unikāliem pacientiem vecumposmā no 19 līdz 75 gadiem. Morfoloģiski tika apstiprināta holesteatoma.

Audus tālāk nogādāja RSU AAI Morfoloģijas laboratorijā, kur veikta rutīnas histoloģiskā izvērtēšana. Pēc audu primārās izvērtēšanas (rutīnas histoloģiskā atrade) 25 (11 vīrieši; 14 sievietes) pacientu audi tika novērtēti kā atbilstoši pētījumam.

Iekļaušanas kritēriji: pieaugušā vecums (> 18 gadiem); iegūta holesteatoma. Izslēgšanas kritēriji: nepietiekams holesteatomas audu materiāls, kas nav piemērots imūnhistoķīmiskai apstrādei (rutīnas histoloģiskajā atradē trūkst holesteatomas matriksa vai perimatriksa).

Holesteatomas audu materiāla iegūšanas laikā netika radīts kaitējums pacientu veselībai. Pētījums veikts saskaņā ar 2013. gada Helsinku deklarāciju. Pētījums apstiprināts RSU Ētikas komitejā (Nr. 6-2/7/4; 05.09.2019.). Tika saņemta atļauja no PSKUS Izglītības un zinātnes departamenta (skatīt 2. un 5. pielikumu). Pētījuma būtība izstāstīta pacientiem, iegūta rakstiska piekrišana no pacienta par piedalīšanos pētījumā. Lai nodrošinātu pacientu datu aizsardzību, pacienti tika šifrēti. Pieaugušo grupas pacientu raksturojums apskatāms 2.2. tabulā.

2.2. tabula

Pieaugušo grupas pacientu raksturojums

Nr.	Šifrs	Dzimums	Vecums (gadi)	Diagnoze; ārstēšana
1.	PH 16	Vīrietis	19	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
2.	PH 15	Sieviete	22	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
3.	PH 3	Vīrietis	23	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
4.	PH 18	Sieviete	24	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
5.	PH 12	Vīrietis	26	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
6.	PH 30	Vīrietis	26	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
7.	PH 23	Sieviete	27	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika

Nr.	Šifrs	Dzimums	Vecums (gadi)	Diagnoze; ārstēšana
8.	PH 6	Sieviete	28	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
9.	PH 7	Sieviete	31	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu, pārējoša <i>n. facialis dxt</i> parēze; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
10.	PH 25	Sieviete	32	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
11.	PH 35	Sieviete	34	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
12.	PH 4	Vīrietis	38	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
13.	PH 8	Vīrietis	38	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
14.	PH 13	Vīrietis	39	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
15.	PH 20	Vīrietis	39	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
16.	PH 22	Sieviete	40	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
17.	PH 24	Sieviete	41	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
18.	PH 28	Vīrietis	41	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
19.	PH 17	Sieviete	45	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
20.	PH 2	Vīrietis	46	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
21.	PH 31	Vīrietis	50	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
22.	PH 1	Sieviete	58	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
23.	PH 33	Sieviete	70	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika
24.	PH 29	Sieviete	74	Kreisās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika

Nr.	Šifrs	Dzimums	Vecums (gadi)	Diagnoze; ārstēšana
25.	PH 5	Sieviete	75	Labās puses hronisks vidusauss iekaisums ar holesteatomu; radikāla vidusauss operācija, timpanoplastika

2.2. Izmeklēšanas metodes

2.2.1. Audu iegūšana un sagatavošana krāsošanai

Kontroles audu ieguve

Kontroles audi, ārējās auss ejas āda, tika iegūti no mirušu cilvēku audiem. Ar mazajām lodziņstangām tika veikta audu nekropsija no dziļākā ārējās auss ejas rajona. Tika iegūti apmēram 3×3 mm lieli audu paraugi, kas ievietoti *Stefanini* šķīdumā un nogādāti RSU AAI Morfoloģijas laboratorijā.

Bērnu un pieaugušo holesteatomas audu ieguve

Bērnu un pieaugušo holesteatomas audus ieguva holesteatomas operāciju laikā BKUS un PSKUS. Operācijas laikā evakuētos holesteatomas audus (pēc iespējas lielāku audu materiālu vai vismaz 5 mm diametrā) nekavējoties ievietoja *Stefanini* šķīdumā. Operāciju laikā pacientiem netika veiktas nekādas papildu manipulācijas. Netika nodarīts arī nekāds papildu kaitējums pacientiem, kuri piedalījās pētījumā, – visiem pacientiem veikta tāda paša apjoma operācija, kā jebkuras holesteatomas operācijas gadījumā.

Audu fiksācija un sagatavošana krāsošanai

Biopsijā iegūtos audus nekavējoties fiksēja *Stefanini* šķīdumā (Stefanini et al., 1967). Fiksējošo šķīdumu pagatavo no 20 g paraformaldehīda, 150 ml pikrīnskābes, 425 ml Sorensena fosfātu bufera (pH 7,2) un 425 ml destilēta ūdens. Paraformaldehīds tika izšķīdināts destilētā ūdenī, tam pievienoja buferšķīdumu un pikrīnskābi. Šo šķīdumu iepildīja Eendorfa tipa mēģenēs, kurās ievietoja biopsijas audu materiālu. Biopsijas materiāls tika glabāts ledusskapī (+4 °C), līdz tika nogādāts RSU AAI Morfoloģijas laboratorijā, kur veikta tālāka audu apstrāde.

Pēc nogādāšanas RSU Morfoloģijas laboratorijā audu materiāls 24 h tika skalots ar *Tyrode's* šķīdumu (136,9 mM NaCl, 2,68 nM KCl, 1,8 mM CaCl₂ 2H₂O, 1,05 mmol/l MgCl₂ 6H₂O, 11,9 mM NaHCO₃, 0,42 mM NaH₂PO₄ H₂O, 5,5 mM glikoze destilētā ūdenī). Fiksētais materiāls tika dehidrēts, lietojot spirta šķīdumus pēc attiecīgas shēmas: 70° spirta šķīdums 30 minūtes, 80° spirta šķīdums 1–2 stundas, 96° spirta šķīdums 3–4 stundas, 96° spirta šķīdums 24 stundas. Audu paraugu attaukošana tika veikta 30 minūtes ksilolā I un 30 min. ksilolā II, tad noturēja vienu stundu parafīnā I un divas stundas parafīnā II. Pēc tam tos ieguldīja izkausētā parafīnā, izveidojot parafīna blokus. No parafīna blokiem ar pusautomātisko rotācijas

mikrotomu (*Leica RM2245, Leica Biosystems Richmond Inc., Amerikas Savienotās Valstis*) izgatavoja 3–4 µm plānus audu griezumus un novietoja uz priekšmetstikliņiem (*HistoBond®+, Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Vācija*). Pēc tam priekšmetstikliņus ievietoja žāvēšanai termostatā 56 °C 20–60 minūtes. Tālākā apstrāde tika veikta atbilstoši rutīnas histoloģiskās krāsošanas vai imūnhistoķīmijas metodei.

2.2.2. Rutīnas histoloģijas krāsošanas metode

Rutīnas audu histoloģiskā krāsošana notika ar hematoksilīnu un eozīnu. Termostatā izžāvētie audu griezumi tika deparafinizēti ksilolā I (5 minūtes) un ksilolā II (5 minūtes). Tālāk veica audu rehidratāciju ar dažādas koncentrācijas spirtiem pēc shēmas: 96° spirta šķīdums 3 minūtes; 96° spirta šķīdums 3 minūtes; 70° spirta šķīdums 3 minūtes. Tālāk audu griezumi tika krāsoti ar hematoksilīnu (kods 05-M06002, *Mayer's Hematoxylin, Bio Optica Milano S.p.A., Itālija*) un eozīnu (kods 05-B10003, *Eosin Y alcoholic solution, Bio Optica Milano S.p.A., Itālija*). Pēc krāsošanas sekoja skalošana ar tekošu ūdeni, dehidratācija ar dažādas koncentrācijas spirtiem: 70° spirta šķīdums 3 minūtes; 96° spirta šķīdums 3 minūtes; 96° spirta šķīdums 3 minūtes. Un dzidrīnāšana ar karboksilolu un ksilolu. Preparātu sagatave tika pabeigta, uzpilot histoloģisko līmi (kods 6900002, *Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Vācija*) un paraugus pārklājot ar segstikliņiem (*Carl Roth GmbH + Co, Vācija*). Mikropreparātos acidofilās struktūras krāsojās sārtā, bet bazofilās – zili violetā tonī (Lillie et al., 1976; Fischer et al., 2008).

Mikropreparāti tika analizēti ar gaismas mikroskopu (*Leica DM500RB, Leica Biosystems Richmond Inc., Amerikas Savienotās Valstis*) un mikrofotogrāfijas fiksētas ar digitālo kameru (*Leica DC 300F, Leica Microsystem AG, Vācija*).

2.2.3. Imūnhistoķīmiskā (biotīna-streptavidīna) izmeklēšanas metode un reaģenti

Audu griezumus krāsoja pēc biotīna-streptavidīna metodes (Ozola and Pilmane, 2023). Audu paraugu fiksācija, materiāla sagatavošana ieguldīšanai parafīna blokos un griezumu sagatavošana uz priekšmetstikliņiem tika veikta pēc iepriekšējā nodaļā aprakstītās shēmas (skat. 2.2.2. nodaļu). Termostatā izžāvētie audu griezumi tika deparafinizēti ksilolā I (5 minūtes) un ksilolā II (5 minūtes). Tad veikta audu dehidratācija ar dažādas koncentrācijas spirtiem pēc shēmas: 96° spirta šķīdums 3 minūtes; 96° spirta šķīdums 3 minūtes; 70° spirta šķīdums 3 minūtes. Deparafinizētie audi tika ielikti turētājā un divas reizes pa 5 minūtēm skaloti ar TRIS bufera šķīdumu (kods 2022X02692, *Diapath S.p.A., Itālija*), tad tie vārīti EDTA bufera šķīdumā (kods 2020X19334, *Diapath S.p.A., Itālija*) mikroviļņu krāsnī 20 minūtes. Tos atdzesēja līdz 65° C un divas reizes pa 5 minūtēm mazgāja TRIS bufera šķīdumā, un ar 3 % peroksīda šķīdumu (kods 925B-02, *Cell Marque™, Amerikas Savienotās Valstis*) 10

minūtes tika bloķēta endogēnās peroksidāzes aktivitāte. Tālāk tika veikta skalošana ar TRIS bufera šķīdumu divas reizes pa 5 minūtēm. Fona krāsojuma mazināšanai tika lietots bloķējošais serums 20 minūtes. Visi analizējamie audu paraugi vienu stundu tika apstrādāti ar primāro antivielu (informācija par antivielām redzama 2.3. tabulā). Visas pētījumā lietotās antivielas tika atšķaidītas ar *Antibody Diluent* (kods 938B-05, *Cell Marque*TM, Amerikas Savienotās Valstis).

Antivielām (iegūtas no peles vai truša) tika lietota *HiDef Detection*TM *HRP Polymer* (kods 954D-30, *Cell Marque*TM, Amerikas Savienotās Valstis) krāsošanas sistēma. Pēc primārās antivielas inkubācijas un audu paraugu skalošanas TRIS buferī (trīs reizes pa 5 minūtēm) tika izmantots *HiDef Detection*TM reakcijas amplifikators (kods 954D-31, *Cell Marque*TM, Amerikas Savienotās Valstis) istabas temperatūrā 10 minūtes. Tad preparātus skaloja ar TRIS bufera šķīdumu (trīs reizes pa 5 minūtēm), pēc kā tika pievienots *HiDef Detection*TM *HRP* polimēra iezīmētājs (kods 954D-32, *Cell Marque*TM, Amerikas Savienotās Valstis) un veikta inkubācija istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas paraugi tika atkārtoti skaloti ar TRIS bufera šķīdumu (trīs reizes pa 5 minūtēm). Pēc tam audus apstrādāja ar *DAB* substrāta hromogēno sistēmu (kods 957D-30, *Cell Marque*TM, Amerikas Savienotās Valstis) un veica audu inkubāciju istabas temperatūrā līdz 10 minūtēm, lai panāktu pozitīvo struktūru krāsojumu brūnā krāsā. Tālāk veica paraugu skalošanu tekošā ūdenī un krāsošanu ar hematoksilīnu (kods 05-M06002, *Mayer's Hematoxylin, Bio Optica Milano S.p.A.*, Itālija) 2 minūtes. Noslēgumā preparāti tika atūdeņoti ar pieaugošas koncentrācijas (70–96°) spirtu un dzidrināti ar karboksilolu un ksilolu. Pēc tam tika uzpilināta histoloģiskā līme *Pertex*[®] (kods 00801-EX, *HistoLab*, Zviedrija) un paraugi pārklāti ar segstikliņiem.

Mikropreparāti tika analizēti ar gaismas mikroskopu (*Leica DM500RB, Leica Biosystems Richmond Inc.*, Amerikas Savienotās Valstis) un mikrofotogrāfijas fiksētas ar digitālo kameru (*Leica DC 300F, Leica Microsystem AG*, Vācija).

Pozitīvā kontrole tika veikta antivielu ražotājfirmu norādītajos audos, kuros vienmēr novērojama pozitīva reakcija. Negatīvā kontrole tika panākta, izslēdzot primāro antivielu un to aizstājot ar *Antibody Diluent* antivielu atšķaidītāju.

2.3. tabula

Pētījumā izmantotās antivielas

Nr.	Antiviela	Kods	Izcelsme	Darba atšķaidījums	Ražotājs
1.	MMP-2	sc-53630	Pele, monoklonāla	1:100	<i>Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, ASV</i>
2.	MMP-9	sc-10737	Trusis, poliklonāls	1:100	<i>Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, ASV</i>

Nr.	Antiviela	Kods	Izcelsme	Darba atšķaidījums	Ražotājs
3.	TIMP-2	sc-21735	Pele, monoklonāla	1:100	<i>Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, ASV</i>
4.	TIMP-4	sc-30076	Trusis, poliklonāls	1:100	<i>Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, ASV</i>
5.	Ki-67	1325506A	Trusis, poliklonāls	1:100	<i>Cell Marque, Rocklin, CA, ASV</i>
6.	NF-κβ	Sc-109	Trusis, poliklonāls	1:200	<i>Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, ASV</i>
7.	IL-1α	sc-9983	Pele, monoklonāla	1:50	<i>Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, ASV</i>
8.	IL-10	ab34843	Trusis, poliklonāls	1:400	<i>Abcam, Cambridge, Lielbritānija</i>
9.	HβD-2	sc-20798	Trusis, poliklonāls	1:200	<i>Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, ASV</i>
10.	HβD-4	sc-59496	Pele, monoklonāla	1:50	<i>Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, ASV</i>
11.	VEGF	orb191500	Trusis, poliklonāls	1:100	<i>Biorbyt Ltd., Lielbritānija</i>
12.	SHH	LS-C49806	Trusis, poliklonāls	1:100	<i>LifeSpan BioSciences, Inc., Seattle, WA, ASV</i>

Saīsinājumi: MMP-2 – matricē metaloproteināze 2; MMP-9 – matricē metaloproteināze 9; TIMP-2 – matricē metaloproteināzes audu inhibitoru 2; TIMP-4 – matricē metaloproteināzes audu inhibitoru 4; Ki-67 – *Kiel-67*; NF-κβ – nukleārais faktors kapa beta; IL-1α – interleikīns 1 alfa; IL-10 – interleikīns 10; HβD-2 – cilvēka beta defensīns 2; HβD-4 – cilvēka beta defensīns 4; VEGF – naskulārais endoteliālais augšanas faktors; SHH – *Sonic hedgehog* gēna proteīns.

2.3. Datu uzskaites un apstrādes metodes

2.3.1. Datu vizuālais izvērtējums

Imūnhistoķīmiskajā audu analīzē, lai izvērtētu faktorpozitīvo šūnu relatīvo daudzumu, tika izmantota puskvantitatīvā skaitīšanas metode (Pilmāne et al., 2021). Pozitīvo struktūru relatīvais biežums tika noteikts piecos nejaušos redzes laukos un kā galējais rezultāts izmantots vidējais biežums no šiem redzes laukiem. Mikropreparātu izvērtēšanu veica divi neatkarīgi morfoloģi. Puskvantitatīvās skaitīšanas metodes apzīmējumi un skaidrojumi atrodami 2.4. tabulā.

2.4. tabula

Imūnhistoķīmiski faktorpozitīvo struktūru uzskaitīšanas kritēriji

Apzīmējums	Pārveide skaitļos – statistiskai analīzei	Skaidrojums
0	0	Redzes laukā nav atrodama neviena pozitīva struktūra
0/+	0,5	Redzes laukā retas pozitīvas struktūras
+	1	Redzes laukā maz pozitīvu struktūru
+/++	1,5	Redzes laukā maz līdz vidēji daudz pozitīvu struktūru
++	2	Redzes laukā vidēji daudz pozitīvu struktūru
++/+++	2,5	Redzes laukā vidēji daudz līdz daudz pozitīvu struktūru

Apzīmējums	Pārveide skaitļos – statistiskai analīzei	Skaidrojums
+++	3	Redzes laukā daudz pozitīvu struktūru
+++/++++	3,5	Redzes laukā daudz līdz ļoti daudz pozitīvu struktūru
++++	4	Redzes laukā ļoti daudz pozitīvu struktūru

2.3.2. Datu statistiskās apstrādes metodes

Pētījuma dati tika analizēti, izmantojot aprakstošās statistikas metodes (Teibe, 2007). Tā kā faktoru novērtējums ir ordinālas mērskalas dati un neatbilst normālsadalījumam (pēc *Shapiro-Wilk* testa un histogrammu vizuālā novērtējuma), aprēķinos tika izmantoti neparametriskie testi.

Statistiskās atšķirības starp pētāmajām grupām (bērnu, pieaugušo un kontroles) tika noteikta ar *Kruskal-Wallis* testu (Barton and Peat, 2014), kas tika izvēlēts, jo ietver *Bonferroni* korekciju, kas neļauj pārsniegt alfa kļūdu 5 %, ja aprēķinos tiek izmantotas trīs un vairāk salīdzināmās grupas.

Lai izvērtētu divu dažādu faktoru savstarpējās korelācijas vienas grupas ietvaros, tika lietots *Spearman* rangu korelācijas koeficients (Forthofer et al., 2007). Aprēķināto korelāciju interpretācija aplūkojama 2.5. tabulā.

Rezultāti tika uzskatīti par statistiski nozīmīgiem, ja p vērtība bija $< 0,05$. Datu statistiskā analīze tika veikta ar statistikas programmatūras IBM SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) 25.0 versijas palīdzību (*IBM Company, Chicago, Illinois, Amerikas Savienotās Valstis*).

2.5. tabula

Spearman ranga korelāciju skaidrojums

r_s (<i>Spearman's rho</i>)	Skaidrojums
0,0–0,2	ļoti vāja korelācija
0,2–0,4	vāja korelācija
0,4–0,6	vidēji cieša korelācija
0,6–0,8	cieša korelācija
0,8–1,0	ļoti cieša korelācija

3. Rezultāti

3.1. Rutīnas histoloģiskā atrade

3.1.1. Rutīnas histoloģiskā atrade kontroles grupā

Kontroles grupas audi – ārējās auss ejas āda no septiņiem mirušiem cilvēkiem – uzrādīja neizmainītu un bez iekaisuma infiltrācijas esošu epidermu un tādus pašus subepitēlija saistaudus.

Epitēlijs bija daudzkārtains, plakans un pārragots, ar pieciem slāņiem – bazālo, dzeloņaino, graudaino, spīdošo un raga slāni. Visi slāņi bija atbilstoši vispārpieņemtajai normai.

Dermā jeb saistaudu slānī, kārpiņu slānī bija vērojami kapilāri, irdenie nenoformētie saistaudi un šūnas (fibroblasti, makrofāgi, ekstravaskulāri leukocīti), bet tīklainajā slānī šūnu un asinsvadu bija mazāk un saistaudi bija blīvāki (3.1. attēls pielikumā).

3.1.2. Rutīnas histoloģiskā atrade pacientiem ar holesteatomu

Bērnu holesteatoma

Visiem pētījumā iekļautajiem bērnu holesteatomas audu paraugiem bija izšķirami visi trīs slāņi:

- Cistiskais slānis bija apjomīga bezkodolu keratinocītu masa, ko parasti var pielīdzināt neizmainītas ādas raga slānim. Holesteatomas gadījumā šis slānis ir izteiktāks.
- Matrikss – daudzkārtains, plakans pārragots epitēlijs, iespējams izšķirt tos pašus slāņus kā neizmainītas ādas epitēlijam kontroles grupā, atšķirība ir tā, ka holesteatomas gadījumā šie epitēlija slāņi ir hiperplazēti.
- Perimatrikss – subepitēlija saistaudi jeb granulācijas audi, kas satur daudz iekaisuma šūnu (leukocītus, limfocītus, plazmocītus, gigantsūnas), kolagēnās šķiedras un fibroblastus. Preparātos bija novērojami daudz mazo asinsvadu. Visus preparātus raksturoja izteikta iekaisuma šūnu infiltrācija. Šo slāni var salīdzināt ar neizmainītas ādas dermas slāni. Holesteatomas gadījumā atšķirībā no neizmainītas ādas saistaudi ir irdenāki, ar izteiktu iekaisuma šūnu infiltrāciju un vairāk vaskularizēti (3.2. attēls pielikumā).

Pieaugušo holesteatoma

Tāpat kā bērnu holesteatomas gadījumā, arī te bija izšķirami trīs slāņi – cistiskais, matrikss un perimatrikss. Būtiskas atšķirības starp bērnu un pieaugušo holesteatomas audu materiāliem rutīnas histoloģijas izmeklējumos netika novērotas (3.3. attēls pielikumā).

3.2. Imūnhistoķīmisko marķieru raksturojums kontroles un pacientu grupās

3.2.1. Matrices metaloproteināzes un matrices metaloproteināžu audu inhibitori

Matrices metaloproteināze 2

Kontroles grupa

Divu pacientu **epitēlijā** netika novērotas MMP-2 pozitīvas šūnas (0), diviem pacientiem redzes laukā bija vērojams rets (0/+) MMP-2 pozitīvu šūnu daudzums, vienam pacientam bija maz (+) un diviem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++ un daudz (+++)) MMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Saistaudos vienam pacientam bija retas (0/+), bet pārējiem sešiem pacientiem maz (+) faktorpozitīvas šūnas redzes laukā. Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.1. tabula un 3.4. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Diviem pacientiem holesteatomas epitēlijā jeb **matriksā** nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), astoņiem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Vienpadsmit pacientiem tās bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) , trim pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++ un vienam pacientam daudz (+++)) MMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Holesteatomas saistaudos jeb **perimatriksā** diviem pacientiem (tiem pašiem, kuriem nebija epitēlijā) nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0). Trīspadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā. Septiņiem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) faktorpozitīvu šūnu redzes laukā. Diviem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++ un vienam pacientam daudz (+++)) MMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.1. tabula un 3.5. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Vienam pacientam holesteatomas epitēlijā jeb **matriksā** nebija atrodama neviena MMP-2 pozitīva šūna, sešiem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Trīspadsmit pacientiem tās bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) , trim pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++ un vienam pacientam daudz līdz ļoti daudz (+++/++++)) MMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Saistaudos jeb **perimatriksā** vienam pacientam MMP-2 pozitīvas šūnas bija mazāk nekā retas (0-0/+), vienpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Divpadsmit pacientiem tās bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) , un vienam pacientam bija daudz (+++) MMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā (3.1. tabula un 3.6. attēls pielikumā).

3.1. tabula

MMP-2 relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa			
Nr.	Šifrs	MMP-2		Nr.	Šifrs	MMP-2		Šifrs	MMP-2		
		E	S			M	P		M	P	
1.	K1	0/+	+	1.	BH 24	0	0	PH 16	+/+++	+/+++	
2.	K2	0	+	2.	BH 25	+/+++	+/+++	PH 15	++	++	
3.	K3	0	0/+	3.	BH 23	++/+++	++/+++	PH 3	0	+	
4.	K4	+++	+	4.	BH 19	0/+	0/+	PH 18	++	+/+++	
5.	K5	++/+++	+	5.	BH 21	++	++	PH 12	+	+/+++	
6.	K6	+	+	6.	BH 3	0	0	PH 30	+/+++	0/+	
7.	K7	0/+	+	7.	BH 6	++	++	PH 23	+++/>++++	+++	
Mediāna		0,50	1,00	8.	BH 1	+/+++	+	PH 6	0/+	+	
25. procentile		0,00	1,00	9.	BH 11	++	+/+++	PH 7	+	0/+	
75. procentile		2,50	1,00	10.	BH 10	+/+++	++	PH 25	+/+++	+	
				11.	BH 32	0/+	0/+	PH 35	+	+/+++	
				12.	BH 30	+++	++/+++	PH 4	+/+++	0/+	
				13.	BH 34	+/+++	0/+	PH 8	+/+++	+	
				14.	BH 12	+/+++	+	PH 13	0-0/+	0-0/+	
				15.	BH 14	+	0/+	PH 20	++/+++	+/+++	
				16.	BH 18	+/+++	0/+	PH 22	++	+/+++	
				17.	BH 27	0/+	0/+	PH 24	++	+	
				18.	BH 2	+	0/+	PH 28	++/+++	+/+++	
				19.	BH 7	+/+++	+/+++	PH 17	++	++	
				20.	BH 8	+	+	PH 2	+/+++	+/+++	
				21.	BH 20	++/+++	+++	PH 31	0/+	0/+	
				22.	BH 5	0/+	0/+	PH 1	++/+++	+/+++	
				23.	BH 29	++	+/+++	PH 33	+/+++	0/+	
				24.	BH 35	+	0/+	PH 29	+/+++	+	
				25.	BH 37	++/+++	0/+	PH 5	0/+	+/+++	
Mediāna		1,50	1,00	Mediāna		1,50	1,00	Mediāna		1,50	1,50
25. procentile		1,00	0,50	25. procentile		1,00	0,50	25. procentile		1,00	1,00
75. procentile		2,00	1,50	75. procentile		2,00	1,50	75. procentile		2,00	1,50

Sāsinājumi: MMP-2 – matricē metaloproteināze 2; E – epitēlijs; S – saistaudi; M – matrikss; P – perimatrikss.
 Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0-0/+ = mazāk nekā retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/+ = maz līdz vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++/+++ = vidēji daudz līdz daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++ = daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++/++++ = daudz līdz ļoti daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā.

Matrices metaloproteināze 9

Kontroles grupa

Četrus pacientus **epitēlijā** bija vērojams rets (0/+) vai mazs (+) MMP-9 pozitīvu šūnu daudzums, un trim pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) MMP-9 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Saistaudos vienam pacientam bija mazāk par retām (0-0/+), četriem pacientiem bija retas (0/+) faktorpozitīvas šūnas redzes laukā un pa vienam pacientam bija maz (+) vai maz līdz vidēji daudz (+/++) MMP-9 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.2. tabula un 3.7. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Deviņiem pacientiem **matriksā** nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vienpadsmit pacientiem tās bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Pieciem pacientiem MMP-9 pozitīvo šūnu relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++)vai vidēji daudz (++) redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Perimatriksā četrpadsmit pacientiem vai nu nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Astoņiem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā, trim pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) MMP-9 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazāk nekā rets (0-0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.2. tabula un 3.8. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Desmit pacientiem **matriksā** vai nu nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā rets (0-0/+), vienpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā, un četriem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) MMP-9 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Perimatriksā septiņiem pacientiem vai nu nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Astoņpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) MMP-9 pozitīvas šūnas redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.2. tabula un 3.9. attēls pielikumā).

MMP-9 relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa		
Nr.	Šifrs	MMP-9		Nr.	Šifrs	MMP-9		Šifrs	MMP-9	
		E	S			M	P		M	P
1.	K1	0/+	0/+	1.	BH 24	0	0	PH 16	+	0/+
2.	K2	+ /++	+	2.	BH 25	0	0-0/+	PH 15	+	+
3.	K3	0/+	0/+	3.	BH 23	0	0/+	PH 3	0/+	0/+
4.	K4	+ /++	0-0/+	4.	BH 19	+	+	PH 18	0	0
5.	K5	+ /++	+ /++	5.	BH 21	+	0-0/+	PH 12	0/+	+
6.	K6	+	0/+	6.	BH 3	0	0	PH 30	+ /++	0/+
7.	K7	+	0/+	7.	BH 6	0/+	0/+	PH 23	0	0/+
Mediāna		1,00	0,50	8.	BH 1	0/+	0/+	PH 6	+	+
25. procentile		0,50	0,50	9.	BH 11	0	0	PH 7	+ /++	0/+ - +
75. procentile		1,50	1,00	10.	BH 10	++	+ /++	PH 25	0/+	0/+
				11.	BH 32	0/+	0-0/+	PH 35	+	0/+
				12.	BH 30	+ /++	++	PH 4	0/+	0/+
				13.	BH 34	+	0-0/+	PH 8	0	0/+
				14.	BH 12	0	0-0/+	PH 13	0	0
				15.	BH 14	0	0-0/+	PH 20	0	0-0/+
				16.	BH 18	+	0/+	PH 22	0	0/+
				17.	BH 27	0	0-0/+	PH 24	0/+	0-0/+
				18.	BH 2	0/+	0-0/+	PH 28	+ /++	0-0/+
				19.	BH 7	++	+ /++	PH 17	0	0-0/+
				20.	BH 8	++	0/+	PH 2	0/+	0/+
				21.	BH 20	0/+	0-0/+	PH 31	0-0/+	0
				22.	BH 5	0	0-0/+	PH 1	0	0/+ - +
				23.	BH 29	0/+	0/+	PH 33	+	0/+
				24.	BH 35	0/+	0-0/+	PH 29	+ /++	0/+
				25.	BH 37	++	0/+	PH 5	0	0/+ - +
Mediāna		0,50	0,25	Mediāna		0,50	0,50			
25. procentile		0,00	0,25	25. procentile		0,00	0,25			
75. procentile		1,00	0,50	75. procentile		1,00	0,50			

Sāisīnājumi: MMP-9 – matricē metaloproteināze 9; E – epitēlijs; S – saistaudi; M – matricē; P – perimatricē.

Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0-0/+ = mazāk nekā retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ - + = retas līdz maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + /++ = maz līdz vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā.

Matricē metaloproteināžu audu inhibitori 2

Kontroles grupa

Triju pacientu **epitēlijā** bija vērojams rets (0/+) vai mazs (+) TIMP-2 pozitīvu šūnu daudzums, pa vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+ /++) un vidēji daudz (++) un diviem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (+ /+++) TIMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+ /++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Saistaudos vienam pacientam nebija atrodamas (0) TIMP-2 pozitīvas šūnas, diviem pacientiem bija retas (0/+) faktorpozitīvas šūnas redzes laukā un četriem pacientiem bija maz (+) TIMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.3. tabula un 3.10. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Desmit pacientiem **matriksā** nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0) vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Astoņiem pacientiem tās bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā, pieciem pacientiem to relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) un diviem pacientiem bija daudz līdz ļoti daudz (++++/++++) TIMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Perimatriksā vienpadsmit pacientiem vai nu nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Divpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā, un pa vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) TIMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.3. tabula un 3.11. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Astoņiem pacientiem **matriksā** vai nu nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā rets (0-0/+), deviņiem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā, sešiem pacientiem tās bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) un diviem pacientiem bija daudz līdz ļoti daudz (++++/++++) TIMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Perimatriksā desmit pacientiem vai nu nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Divpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Trim pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) TIMP-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.3. tabula un 3.12. attēls pielikumā).

TIMP-2 relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa			
Nr.	Šifrs	TIMP-2		Nr.	Šifrs	TIMP-2		Šifrs	TIMP-2		
		E	S			M	P		M	P	
1.	K1	0/+	+	1.	BH 24	0	0	PH 16	++	++	
2.	K2	+	+	2.	BH 25	0	0	PH 15	++	++	
3.	K3	+	0	3.	BH 23	+++/>++++	++	PH 3	0/+	+/>++	
4.	K4	++/>+++	+	4.	BH 19	0/+	0/+	PH 18	0	0-0/+	
5.	K5	++/>+++	+	5.	BH 21	0	0	PH 12	0/+	0/+	
6.	K6	++	0/+	6.	BH 3	0	0	PH 30	+/>++	+	
7.	K7	+/>++	0/+	7.	BH 6	0	0/+	PH 23	++/>+++	0/+	
Mediāna		1,50	1,00	8.	BH 1	+/>++	0/+	PH 6	0-0/+	0-0/+	
25. procentile		1,00	0,50	9.	BH 11	+/>++	0-0/+	PH 7	0-0/+	0-0/+	
75. procentile		2,50	1,00	10.	BH 10	0/+	0/+	PH 25	0	0-0/+	
				11.	BH 32	0/+	0/+	PH 35	0/+	0/+	
				12.	BH 30	++	0/+	PH 4	0/+	0/+	
				13.	BH 34	+	0-0/+	PH 8	+/>++	0/+	
				14.	BH 12	0-0/+	0/+	PH 13	0	0	
				15.	BH 14	0	0	PH 20	0/+	0-0/+	
				16.	BH 18	0/+	0	PH 22	+/>++	0-0/+	
				17.	BH 27	0	0-0/+	PH 24	+	0-0/+	
				18.	BH 2	0	0/+	PH 28	++	0/+	
				19.	BH 7	+	0/+	PH 17	0	0	
				20.	BH 8	+/>++	0/+	PH 2	0	0	
				21.	BH 20	+++/>++++	+/>++	PH 31	+	+	
				22.	BH 5	0	0	PH 1	+++	+	
				23.	BH 29	+	+	PH 33	0/>+-	0/+	
				24.	BH 35	0/+	0	PH 29	+	0/+	
				25.	BH 37	++	+	PH 5	0	0/+	
Mediāna		0,50	0,50	Mediāna		0,50	0,50	Mediāna		0,50	0,50
25. procentile		0,00	0,00	25. procentile		0,25	0,25	25. procentile		0,25	0,25
75. procentile		1,50	0,50	75. procentile		1,50	0,50	75. procentile		1,50	0,50

Sāsinājumi: TIMP-2 – matricē metaloproteināzes audu inhibitoru 2; E – epitēlijs; S – saistaudi; M – matricē; P – perimatricē. Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0-0/+ = mazāk nekā retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ + = retas līdz maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/+ = maz līdz vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++/+++ = vidēji daudz līdz daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++ = daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++/++++ = daudz līdz ļoti daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā.

Matricē metaloproteināžu audu inhibitoru 4

Kontroles grupa

Viena pacienta **epitēlijā** bija vērojams mazs (+) TIMP-4 pozitīvu šūnu daudzums, pa vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++), trim pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++ un vienam daudz (+++) TIMP-4 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz līdz daudz (++/+++ pozitīvo šūnu redzes laukā.

Saistaudos diviem pacientiem bija vērojams mazs (+) TIMP-4 pozitīvu šūnu daudzums, pieciem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) faktorpozitīvas šūnas redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz (++) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.4. tabula un 3.13. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Vienam pacientam **matriksā** nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0). Vienam pacientam bija maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā, astoņiem pacientiem to relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) , astoņiem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++) TIMP-4 pozitīvu šūnu redzes laukā, kā arī septiņiem pacientiem relatīvais TIMP-4 faktorpozitīvo šūnu daudzums redzes laukā bija no daudz līdz ļoti daudz (+++/++++). Grupas mediāna – vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ pozitīvo šūnu redzes laukā.

Perimatriksā vienam pacientiem nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0) (tam pašam pacientam, kuram arī epitēlijā nebija pozitīvu šūnu). Diviem pacientiem bija maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā, trīspadsmit pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) TIMP-4 pozitīvu šūnu redzes laukā. Astoņiem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++) un vienam pacientam bija no daudz līdz ļoti daudz (++++/++++) faktorpozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz (++) pozitīvo šūnu redzes laukā (3.4. tabula un 3.14. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Vienam pacientam **matriksā** nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0). Vienam pacientam bija maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā, pieciem pacientiem TIMP-4 relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) , sešpadsmit pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++) TIMP-4 pozitīvu šūnu redzes laukā. Diviem pacientiem relatīvais TIMP-4 pozitīvo šūnu daudzums redzes laukā bija no daudz līdz ļoti daudz (++++/++++). Grupas mediāna – vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ pozitīvo šūnu redzes laukā.

Perimatriksā vienam pacientiem nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0) (tam pašam pacientam, kuram arī epitēlijā nebija pozitīvu šūnu). Septiņpadsmit pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) TIMP-4 pozitīvu šūnu redzes laukā. Septiņiem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++) faktorpozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz (++) pozitīvo šūnu redzes laukā (3.4. tabula un 3.15. attēls pielikumā).

TIMP-4 relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa			
Nr.	Šifrs	TIMP-4		Nr.	Šifrs	TIMP-4		Šifrs	TIMP-4		
		E	S			M	P		M	P	
1.	K1	++	+	1.	BH 24	+/++	+/++	PH 16	+++	++	
2.	K2	++/++++	++	2.	BH 25	++/++++	+/++	PH 15	++/++++	++	
3.	K3	+/++	+/++	3.	BH 23	+++	++/++++	PH 3	++/++++	++/++++	
4.	K4	++/++++	++	4.	BH 19	+/++	+	PH 18	++/++++	+/++	
5.	K5	+++	++	5.	BH 21	+++/++++	++/+++	PH 12	++/++++	+++	
6.	K6	++/++++	++	6.	BH 3	+	+/++	PH 30	++/++++	++	
7.	K7	+	+	7.	BH 6	+++/++++	+++/++++	PH 23	+++/++++	++	
Mediāna		2,50	2,00	8.	BH 1	++/+++	++	PH 6	+++	+++	
25. procentile		1,50	1,00	9.	BH 11	++/+++	++	PH 7	+++/++++	+++	
75. procentile		2,50	2,00	10.	BH 10	+++/++++	+++	PH 25	+++	++	
				11.	BH 32	++	++	PH 35	+/++	++	
				12.	BH 30	+++/++++	++/+++	PH 4	++/+++	++/+++	
				13.	BH 34	++	++	PH 8	++/+++	++	
				14.	BH 12	+++/++++	++	PH 13	++	+/++	
				15.	BH 14	+/++	+	PH 20	+++	++	
				16.	BH 18	++/+++	++	PH 22	+++	+/++	
				17.	BH 27	+/++	+/++	PH 24	+++	++	
				18.	BH 2	++/+++	++/+++	PH 28	++/+++	++	
				19.	BH 7	+++/++++	+++	PH 17	0	0	
				20.	BH 8	+++/++++	+++	PH 2	+/++	+/++	
				21.	BH 20	0	0	PH 31	+	+/++	
				22.	BH 5	++	++	PH 1	+/++	+++	
				23.	BH 29	+++	+/++	PH 33	+/++	+/++	
				24.	BH 35	+/++	+/++	PH 29	+++	++/+++	
				25.	BH 37	+++	++/+++	PH 5	++/+++	++	
Mediāna		2,50	2,00	Mediāna		2,50	2,00	Mediāna		2,50	2,00
25. procentile		1,50	1,50	25. procentile		2,00	1,50	25. procentile		2,00	1,50
75. procentile		3,50	2,50	75. procentile		3,00	2,50	75. procentile		3,00	2,50

Sāīsinājumi: TIMP-4 – matricēs metaloproteināzes audu inhibitoris 4; E – epitēlijs; S – saīstaudi; M – matricēss; P – perimatricēss.

Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; +/+ = maz līdz vidēji daudz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; ++/+++ = vidēji daudz līdz daudz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; +++ = daudz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; +++/++++ = daudz līdz ļoti daudz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā.

3.2.2. Proliferācijas marķieris Ki-67

Kontroles grupa

Divu pacientu **epitēlijā** bija vērojams mazāk nekā rets (0-0/+) Ki-67 pozitīīvu šūnu daudzums, un pieciem pacientiem nebija atrodama neviena (0) Ki-67 pozitīīva šūna redzes laukā. Grupas mediāna – nav atrodamas (0) faktorpozīīvas šūnas redzes laukā.

Saistaudos bija vērojama identiska aina kā epitēlijā (3.5. tabula un 3.16. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Vienpadsmit pacientiem **matriksā** nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0) vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Divpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā, un pa vienam pacientiem to relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++) un vidēji daudz (++) Ki-67 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Perimatriksā astoņpadsmit pacientiem vai nu nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Sešiem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā, un vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) Ki-67 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazāk nekā rets (0-0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.5. tabula un 3.17. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Septiņiem pacientiem Ki-67 pozitīvu šūnu relatīvais daudzums **matriksā** bija mazāks nekā rets (0-0/+), septiņpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā, un vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) Ki-67 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Perimatriksā trīspadsmit pacientiem vai nu nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Divpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) un vienam pacientam maz līdz vidēji daudz (+/++) Ki-67 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazāk nekā rets (0-0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.5. tabula un 3.18. attēls pielikumā).

Ki-67 relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa		
Nr.	Šifrs	Ki-67		Nr.	Šifrs	Ki-67		Šifrs	Ki-67	
		E	S			M	P		M	P
1.	K1	0	0	1.	BH 24	0	0-0/+	PH 16	0-0/+	0
2.	K2	0	0	2.	BH 25	0/+--+	0/+	PH 15	0-0/+	0/+
3.	K3	0	0	3.	BH 23	0/+	0-0/+	PH 3	0-0/+	0-0/+
4.	K4	0-0/+	0-0/+	4.	BH 19	0-0/+	0-0/+	PH 18	+	0
5.	K5	0	0	5.	BH 21	0/+	0-0/+	PH 12	+	+
6.	K6	0-0/+	0-0/+	6.	BH 3	0	0	PH 30	0-0/+	0
7.	K7	0	0	7.	BH 6	0-0/+	0-0/+	PH 23	+/++	+/++
Mediāna		0,00	0,00	8.	BH 1	+	+	PH 6	0/+	+/++
25. procentile		0,00	0,00	9.	BH 11	0-0/+	0	PH 7	+	0-0/+
75. procentile		0,25	0,25	10.	BH 10	++	0/+	PH 25	0-0/+	0/+
				11.	BH 32	0-0/+	0	PH 35	0-0/+	0/+
				12.	BH 30	+/++	+/++	PH 4	+	0/+--+
				13.	BH 34	0-0/+	0	PH 8	0/+	0/+
				14.	BH 12	0-0/+	0-0/+	PH 13	0/+	0
				15.	BH 14	0	0	PH 20	0/+--+	0-0/+
				16.	BH 18	0/+	0-0/+	PH 22	0-0/+	0/+
				17.	BH 27	0	0	PH 24	0/+	0-0/+
				18.	BH 2	+	0/+	PH 28	0/+	0-0/+
				19.	BH 7	+	0/+	PH 17	0/+	0
				20.	BH 8	0/+	0-0/+	PH 2	0/+	0-0/+
				21.	BH 20	0/+	0	PH 31	0-0/+	0
				22.	BH 5	0/+	0-0/+	PH 1	+	+
				23.	BH 29	+	0/+	PH 33	0/+	0
				24.	BH 35	0-0/+	0-0/+	PH 29	0/+--+	0/+
				25.	BH 37	0/+	0-0/+	PH 5	0/+	0/+
Mediāna						0,50	0,25	Mediāna	0,50	0,25
25. procentile						0,25	0,00	25. procentile	0,25	0,00
75. procentile						0,75	0,50	75. procentile	0,75	0,50

Sāisinājumi: Ki-67 – *Kiel-67*; E – epitēlijs; S – saistaudi; M – matrikss; P – perimatrikss.

Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0-0/+ = mazāk nekā retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorstruktūras redzes laukā; 0/+--+ = retas līdz maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/+ = maz līdz vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā.

3.2.3. Nukleārais faktors kapa beta

Kontroles grupa

Diviem pacientiem **epitēlijā** nebija atrodamas (0) NF- κ B pozitīvas šūnas, četriem pacientiem tās bija retas (0/+) vai maz (+), un vienam pacientam bija vidēji daudz (++) NF- κ B pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Saistaudos trim pacientiem vai nu nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Trim pacientiem bija vērojams rets (0/+) NF-κβ pozitīvu šūnu daudzums, vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) faktorpozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.6. tabula un 3.19. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Trim pacientiem **matriksā** nebija atrodama neviena NF-κβ pozitīva šūna (0) vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Trim pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Vienpadsmit pacientiem to relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++), un astoņiem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++) NF-κβ pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz (++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Perimatriksā pieciem pacientiem nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0) vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+) (tai skaitā tiem pašiem pacientiem, kuriem arī epitēlijā nebija pozitīvu šūnu). Deviņiem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Vienpadsmit pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) NF-κβ pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.6. tabula un 3.20. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Pieciem pacientam **matriksā** bija maz (+) NF-κβ pozitīvu šūnu redzes laukā, trīspadsmit pacientiem NF-κβ relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++), un septiņiem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++) NF-κβ pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz (++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Perimatriksā pieciem pacientiem nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0) vai to daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Vienpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Septiņiem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) NF-κβ pozitīvu šūnu redzes laukā. Un diviem pacientiem bija daudz (+++) faktorpozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.6. tabula un 3.21. attēls pielikumā).

NF-κβ relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa			
Nr.	Šifrs	NF-κβ		Nr.	Šifrs	NF-κβ		Šifrs	NF-κβ		
		E	S			M	P		M	P	
1.	K1	0	0-0/+	1.	BH 24	0	0	PH 16	++	+/>++	
2.	K2	0/+	0/+	2.	BH 25	++	0/+	PH 15	+++	++	
3.	K3	0	0	3.	BH 23	++	+/>++	PH 3	++	++	
4.	K4	+	0/+	4.	BH 19	+/>+++	+/>+++	PH 18	+/>+++	0/+	
5.	K5	++	+/>+++	5.	BH 21	++	++	PH 12	+	++	
6.	K6	+	0/+	6.	BH 3	0/+	0/+	PH 30	+/>+++	0/+	
7.	K7	0/+	0	7.	BH 6	+/>+++	+	PH 23	+++	0/+	
Mediāna		0,50	0,50	8.	BH 1	+/>+++	++	PH 6	++	++	
25. procentile		0,00	0,00	9.	BH 11	+/>+++	0/+	PH 7	+/>+++	++	
75. procentile		1,00	0,50	10.	BH 10	+++	++	PH 25	+/>++	+	
				11.	BH 32	++	0/+	PH 35	+/>++	+	
				12.	BH 30	+++	++	PH 4	+++	+++	
				13.	BH 34	+	0-0/+	PH 8	++	0/+	
				14.	BH 12	++	0/+	PH 13	+	0	
				15.	BH 14	0	0	PH 20	+/>+++	0/+	
				16.	BH 18	++	0/+	PH 22	++	0-0/+	
				17.	BH 27	0-0/+	0-0/+	PH 24	++	0-0/+	
				18.	BH 2	++	+	PH 28	+/>+++	0/+	
				19.	BH 7	+++	+/>++	PH 17	+	0	
				20.	BH 8	++	+/>++	PH 2	+/>+++	+	
				21.	BH 20	++	++	PH 31	+	0	
				22.	BH 5	++	+/>++	PH 1	++	+++	
				23.	BH 29	+/>+++	+	PH 33	+	0/+	
				24.	BH 35	0/+	0	PH 29	+/>++	0/+	
				25.	BH 37	+++	+/>++	PH 5	++	++	
Mediāna				Mediāna		2,00	1,00	Mediāna		2,00	0,50
25. procentile				25. procentile		1,50	0,50	25. procentile		1,50	0,50
75. procentile				75. procentile		2,50	1,50	75. procentile		2,50	2,00

Sāisinājumi: NF-κβ – nukleārais faktors kapa beta; E – epitēlijs; S – saistaudi; M – matrikss; P – perimatrikss.

Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0-0/+ = mazāk nekā retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/>++ = maz līdz vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/>+++ = vidēji daudz līdz daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++ = daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā.

3.2.4. Iekaisumu veicinošie un nomācošie citokīni

Interleikīns 1 α

Kontroles grupa

Divu pacientu **epitēlijā** nebija atrodama neviena (0) pozitīva IL-1 α šūna. Četriem pacientiem bija vērojams rets (0/+) vai mazs (+) pozitīvu šūnu daudzums, un vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) IL-1 α pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Saistaudos četriem pacientiem bija retas (0/+) un trim pacientiem mazs (+) IL-1 α faktorpozitīvas šūnas redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.7. tabula un 3.22. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Sešiem pacientiem **matriksā** nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), sešiem pacientiem bija retas (0/+) vai mazs (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Astoņiem pacientiem IL-1 α pozitīvo šūnu relatīvais daudzums bija mazs līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) un pieciem pacientiem IL-1 α pozitīvu šūnu daudzums redzes laukā bija vidēji daudz līdz daudz (++) vai daudz (+++). Grupas mediāna – mazs līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Perimatriksā vienam pacientam nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0) redzes laukā un vienam to bija mazāk nekā retas (0-0/+). Septiņpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai mazs (+) pozitīvas šūnas redzes laukā, pieciem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) IL-1 α pozitīvu šūnu redzes laukā. Un vienam pacientam to relatīvais daudzums bija vidēji daudz līdz daudz (++) vai daudz (+++). Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.7. tabula un 3.23. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Četriem pacientiem **matriksā** nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), pieciem pacientiem bija retas (0/+) vai mazs (+) pozitīvu šūnu redzes laukā. Četrpadsmit pacientiem tās bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) un pa vienam pacientam IL-1 α relatīvais daudzums bija vidēji daudz līdz daudz (++) un daudz (+++). Grupas mediāna – mazs līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Perimatriksā četriem pacientiem vai nu nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā rets (0-0/+). Trīspadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai mazs (+) IL-1 α pozitīvas šūnas redzes laukā. Septiņiem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) un vienam pacientam IL-1 α pozitīvo šūnu relatīvais daudzums

redzes laukā bija daudz (+++). Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.7. tabula un 3.24. un 3.25. attēls pielikumā).

3.7. tabula

IL-1 α relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa			
Nr.	Šifrs	IL-1 α		Nr.	Šifrs	IL-1 α		Šifrs	IL-1 α		
		E	S			M	P		M	P	
1.	K1	+	0/+	1.	BH 24	0	0-0/+	PH 16	++	+	
2.	K2	0	+	2.	BH 25	0/+	0/+	PH 15	++	+/>++	
3.	K3	0/+	+	3.	BH 23	+/>++	+	PH 3	+/>++	+++	
4.	K4	0/+	0/+	4.	BH 19	0/+	+/>++	PH 18	0	0	
5.	K5	0	0/+	5.	BH 21	0	0/+	PH 12	+/>++	++	
6.	K6	+	0/+	6.	BH 3	0	0/+	PH 30	+/>++	+	
7.	K7	+/>++	+	7.	BH 6	++	+	PH 23	0	+	
Mediāna		0,50	0,50	8.	BH 1	+++	+	PH 6	++	++	
25. procentile		0,00	0,50	9.	BH 11	+/>++	+	PH 7	0/+	0/+	
75. procentile		1,00	1,00	10.	BH 10	+++	++	PH 25	0	+/>++	
				11.	BH 32	+/>++	+	PH 35	+	0/+	
				12.	BH 30	+++	+/>++	PH 4	+++	+/>++	
				13.	BH 34	+/>++	0/+	PH 8	+/>++	+	
				14.	BH 12	+	0/+	PH 13	0/+	0-0/+	
				15.	BH 14	0	0/+	PH 20	0/+	+/>++	
				16.	BH 18	++	0/+	PH 22	+/>++	0/+	
				17.	BH 27	0	0/+	PH 24	+/>++	0-0/+	
				18.	BH 2	+	+	PH 28	++	+	
				19.	BH 7	++	+/>++	PH 17	0	0	
				20.	BH 8	++	+/>++	PH 2	+/>++	+	
				21.	BH 20	0	0	PH 31	0/+	0/+	
				22.	BH 5	+	0/+	PH 1	+/>++	+	
				23.	BH 29	++	0/+	PH 33	+/>++	0/+	
				24.	BH 35	+	0/+	PH 29	++	+	
				25.	BH 37	+++	+/>++	PH 5	++	+/>++	
Mediāna		1,50	0,50	Mediāna		1,50	1,00	Mediāna		1,50	1,00
25. procentile		0,50	0,50	25. procentile		0,50	0,50	25. procentile		0,50	0,50
75. procentile		2,00	1,00	75. procentile		2,00	1,50	75. procentile		2,00	1,50

Sāsinājumi: IL-1 α – interleikīns 1 alfa; E – epitēlijs; S – saistaudi; M – matrikss; P – perimatrikss.

Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0-0/+ = mazāk nekā retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/>++ = maz līdz vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/>++ = vidēji daudz līdz daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++ = daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā.

Interleikīns 10

Kontroles grupa

Diviem pacientiem **epitēlijā** bija maz (+) IL-10 pozitīvu šūnu redzes laukā, trim pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) IL-10 pozitīvu šūnu redzes laukā. Diviem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ faktorpozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz (++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Saistaudos vienam pacientiem bija vērojams rets (0/+) IL-10 pozitīvu šūnu daudzums, diviem pacientiem to bija maz (+) un četriem pacientiem IL-10 faktorpozitīvu šūnu redzes laukā bija vidēji daudz (++) . Grupas mediāna – vidēji daudz (++) pozitīvo šūnu redzes laukā (3.8. tabula un 3.26. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Četriem pacientiem **matriksā** nebija atrodama neviena (0) IL-10 pozitīva šūna. Četriem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Vienpadsmit pacientiem to relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) , un sešiem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (++) IL-10 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Perimatriksā četriem pacientiem nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0) vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā rets (0-0/+). Trīspadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Astoņiem pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) IL-10 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.8. tabula un 3.27. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Trim pacientiem **matriksā** nebija atrodama neviena (0) IL-10 pozitīva šūna. Sešiem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) faktorpozitīvas šūnas redzes laukā. Astoņiem pacientiem IL-10 relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) , un astoņiem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (++) IL-10 pozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Perimatriksā trim pacientiem nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0) vai to daudzums bija mazāks nekā retas (0-0/+). Vienpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Desmit pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) IL-10 pozitīvu šūnu redzes laukā. Un vienam pacientam bija daudz (++) faktorpozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz (+) pozitīvo šūnu redzes laukā (3.8. tabula un 3.28. un 3.29. attēls pielikumā).

IL-10 relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa			
Nr.	Šifrs	IL-10		Nr.	Šifrs	IL-10		Šifrs	IL-10		
		E	S			M	P		M	P	
1.	K1	+	+	1.	BH 24	0	0	PH 16	++/+++	++	
2.	K2	++	++	2.	BH 25	0	0/+	PH 15	++/+++	++	
3.	K3	++	++	3.	BH 23	++	+	PH 3	+++	+++	
4.	K4	++/+++	++	4.	BH 19	0/+	0/+	PH 18	+	0/+	
5.	K5	++/+++	++	5.	BH 21	+/>++	0-0/+	PH 12	+/>++	+/>++	
6.	K6	+	0/+	6.	BH 3	0	0/+	PH 30	++/+++	+	
7.	K7	+/>++	+	7.	BH 6	+/>++	++	PH 23	0	+	
Mediāna		2,00	2,00	8.	BH 1	+++	++	PH 6	+/>++	++	
25. procentile		1,00	1,00	9.	BH 11	++/+++	+	PH 7	+/>++	+	
75. procentile		2,50	2,00	10.	BH 10	+++	++	PH 25	0	0	
				11.	BH 32	+/>++	++	PH 35	+/>++	+	
				12.	BH 30	++/+++	+	PH 4	+++	++	
				13.	BH 34	+	0/+	PH 8	++/+++	+/>++	
				14.	BH 12	++	+/>++	PH 13	0/+	0/+	
				15.	BH 14	0/+	0/+	PH 20	0	0/+	
				16.	BH 18	+/>++	+	PH 22	0/+	0-0/+	
				17.	BH 27	0	0-0/+	PH 24	+	0-0/+	
				18.	BH 2	+++	+/>++	PH 28	+++	+/>++	
				19.	BH 7	++	+/>++	PH 17	0/+	0/+	
				20.	BH 8	++	++	PH 2	+	+	
				21.	BH 20	+/>++	0	PH 31	+	0/+	
				22.	BH 5	++	+	PH 1	++/+++	++	
				23.	BH 29	0/+	0/+	PH 33	+/>++	0/+	
				24.	BH 35	++	0/+	PH 29	++	+/>++	
				25.	BH 37	+++	+	PH 5	++	++	
Mediāna		1,50	1,00	Mediāna		1,50	1,00	Mediāna		1,50	1,00
25. procentile		0,50	0,50	25. procentile		1,00	0,50	25. procentile		1,00	0,50
75. procentile		2,00	1,50	75. procentile		2,50	2,00	75. procentile		2,50	2,00

Sāīsinājumi: IL-10 – interleikīns 10; E – epitēlijs; S – saīstaudi; M – matrikss; P – perimatrikss.

Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; 0-0/+ = mazāk nekā retas faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; +/>++ = maz līdz vidēji daudz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; ++/+++ = vidēji daudz līdz daudz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā; +++ = daudz faktorpozīīvas struktūras redzes laukā.

3.2.5. Cilvēka beta defensīni

Cilvēka beta defensīns 2

Kontroles grupa

Vienam pacientam **epitēlijā** bija mazāk nekā retas (0-0/+) HβD-2 pozitīvas šūnas redzes laukā. Četriem pacientiem bija retas (0/+) līdz maz (+) faktorpozitīvas šūnas redzes laukā. Diviem pacientiem bija vidēji daudz (++) HβD-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Saistaudos trim pacientiem nebija vērojama neviena (0) faktorpozitīva šūna, vienam pacientam tās bija mazāk nekā retas (0-0/+) un trim pacientiem bija rets (0/+) HβD-2 pozitīvu šūnu daudzums redzes laukā. Grupas mediāna – mazāk nekā rets (0-0/+) pozitīvo šūnu daudzums redzes laukā (3.9. tabula un 3.30. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Holesteatomas **matriksā** trim pacientiem nebija atrodama neviena pozitīva šūna (0), sešiem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Četrpadsmit pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) HβD-2 un diviem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ HβD-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Perimatriksā četriem pacientiem nebija atrodama neviena HβD-2 pozitīva šūna (0) vai to bija mazāk nekā retas (0-0/+), četrpadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Septiņiem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) HβD-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu daudzums redzes laukā (3.9. tabula un 3.31. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Deviņiem pacientiem holesteatomas **matriksā** bija retas (0/+) vai maz (+) faktorpozitīvas šūnas redzes laukā. Trīspadsmit pacientiem HβD-2 relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) un trim pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ HβD-2 pozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Holesteatomas **perimatriksā** pieciem pacientiem nebija atrodamas (0) vai bija mazāk nekā retas (0-0/+) HβD-2 pozitīvas šūnas redzes laukā. Trīspadsmit pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Septiņiem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) HβD-2 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu daudzums redzes laukā (3.9. tabula un 3.32. attēls pielikumā).

H β D-2 relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa		
Nr.	Šifrs	H β D-2		Nr.	Šifrs	H β D-2		Šifrs	H β D-2	
		E	S			M	P		M	P
1.	K1	+	0/+	1.	BH 24	0	0	PH 16	+/++	+
2.	K2	+	0	2.	BH 25	0/+	0/+	PH 15	+++/>+	+
3.	K3	0-0/+	0	3.	BH 23	+	0/+	PH 3	++	+/++
4.	K4	++	0/+	4.	BH 19	+/++	0/+	PH 18	+	+
5.	K5	++	0/+	5.	BH 21	+/++	+	PH 12	+/++	+/++
6.	K6	0/+	0	6.	BH 3	0	0	PH 30	++	0/+
7.	K7	0/+	0-0/+	7.	BH 6	+/++	0/+	PH 23	+	++
Mediāna		1,00	0,25	8.	BH 1	+++/>+	++	PH 6	+/++	+
25. procentile		0,50	0,00	9.	BH 11	++	+/++	PH 7	+	+
75. procentile		2,00	0,50	10.	BH 10	++	++	PH 25	+	0/+
				11.	BH 32	+	0/+	PH 35	+	+
				12.	BH 30	++	+	PH 4	+++/>+	++
				13.	BH 34	+/++	0-0/+	PH 8	++	+
				14.	BH 12	++	++	PH 13	+	0
				15.	BH 14	+	0/+	PH 20	+	0-0/+
				16.	BH 18	+	0/+	PH 22	+/++	0-0/+
				17.	BH 27	0	0/+	PH 24	+/++	0/+
				18.	BH 2	++	+/++	PH 28	++	0/+
				19.	BH 7	++	+	PH 17	0/+	0/+
				20.	BH 8	++	+/++	PH 2	++	++
				21.	BH 20	+/++	+/++	PH 31	+	0
				22.	BH 5	+/++	+	PH 1	+++/>+	++
				23.	BH 29	+/++	0/+	PH 33	+/++	0-0/+
				24.	BH 35	+	0-0/+	PH 29	++	+
				25.	BH 37	+++/>+	0/+	PH 5	++	+/++
Mediāna		1,50	0,50	Mediāna		1,50	1,00			
25. procentile		1,00	0,50	25. procentile		1,00	0,50			
75. procentile		2,00	1,50	75. procentile		2,00	1,50			

Sāisīnājumi: H β D-2 – cilvēka beta defēnsīns 2; E – epītēlijs; S – saistaudi; M – matrikss; P – perimatrikss.

Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0-0/+ = mazāk nekā retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/+ = maz līdz vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++/>+ = vidēji daudz līdz daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā.

Cīlvēka beta defēnsīns 4

Kontroles grupa

Pieciem pacientiem **epītēlijā** bija maz (+) faktorpozitīvu šūnu redzes laukā. Un pa vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/+) un vidēji daudz (++) H β D-4 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Ādas **saistaudos** vienam pacientam nebija vērojama neviena (0) H β D-4 pozitīva šūna, četriem pacientiem bija rets (0/+) H β D-4 pozitīvu šūnu daudzums redzes laukā un diviem

pacientiēm bija maz (+) faktorpozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.10. tabula un 3.33. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Holesteatomas **matriksā** trīspadsmit pacientiēm nebija atrodama neviena (0) HβD-4 pozitīva šūna vai to bija mazāk nekā retas (0-0/+), septiņiem pacientiēm bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Trim pacientiēm bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) HβD-4 un pa vienam pacientam bija ar vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ un daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) HβD-4 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazāk nekā rets (0-0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Perimatriksā astoņiem pacientiēm nebija atrodama neviena (0) HβD-4 pozitīva šūna vai to bija mazāk nekā retas (0-0/+), piecpadsmit pacientiēm bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Pa vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) un daudz (+++) HβD-4 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.10. tabula un 3.34. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Vienpadsmit pacientiēm holesteatomas **matriksā** nebija atrodama neviena (0) HβD-4 pozitīva šūna vai to bija mazāk nekā retas (0-0/+) faktorpozitīvas šūnas redzes laukā. Pieciem pacientiēm HβD-4 relatīvais daudzums bija rets (0/+) līdz maz (+). Astoņiem pacientiēm bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) un vienam pacientam daudz (+++) HβD-4 pozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā.

Holesteatomas **perimatriksā** divpadsmit pacientiēm nebija atrodamas (0) vai bija mazāk nekā retas (0-0/+) HβD-4 pozitīvas šūnas redzes laukā. Vienpadsmit pacientiēm bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Pa vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) HβD-4 pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.10. tabula un 3.35. attēls pielikumā).

3.10. tabula

HβD-4 relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa		
Nr.	Šifrs	HβD-4		Nr.	Šifrs	HβD-4		Šifrs	HβD-4	
		E	S			M	P		M	P
1.	K1	+	0/+	1.	BH 24	0-0/+	0-0/+	PH 16	0	0-0/+
2.	K2	+	0/+	2.	BH 25	++/+++	+/+	PH 15	0	0-0/+
3.	K3	+/+	+	3.	BH 23	0/+	0-0/+	PH 3	+	0/+
4.	K4	+	0/+	4.	BH 19	0-0/+	0/+	PH 18	+	+
5.	K5	++	+	5.	BH 21	0	0-0/+	PH 12	0	0-0/+

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa		
Nr.	Šifrs	HβD-4		Nr.	Šifrs	HβD-4		Šifrs	HβD-4	
		E	S			M	P		M	P
6.	K6	+	0/+	6.	BH 3	0	0/+	PH 30	+/++	0/+
7.	K7	+	0	7.	BH 6	0	0/+	PH 23	+++	+/++
Mediāna		1,00	0,50	8.	BH 1	+/++	0/+	PH 6	0	0-0/+
25. procentile		1,00	0,50	9.	BH 11	0	0-0/+	PH 7	0-0/+	0-0/+
75. procentile		1,50	1,00	10.	BH 10	0-0/+	0/+	PH 25	0	0-0/+
				11.	BH 32	0/+	0/+	PH 35	++	0/+
				12.	BH 30	+++/>++++	+++	PH 4	+/++	+
				13.	BH 34	+	0/+	PH 8	0	0-0/+
				14.	BH 12	0	0/+	PH 13	0	0
				15.	BH 14	0	0/+	PH 20	++	0/+
				16.	BH 18	0	0	PH 22	++	0/+
				17.	BH 27	0/+	0-0/+	PH 24	+/++	0-0/+
				18.	BH 2	0/+	+	PH 28	0-0/+	0-0/+
				19.	BH 7	0	0/+	PH 17	0	0
				20.	BH 8	0	0-0/+	PH 2	0	++
				21.	BH 20	+	0/+	PH 31	0/+	0-0/+
				22.	BH 5	0	+	PH 1	++	+
				23.	BH 29	+/++	0/+	PH 33	+/++	0/+
				24.	BH 35	0/+	0-0/+	PH 29	0/+	0/+
				25.	BH 37	++	0/+	PH 5	0/+	0/+
Mediāna						0,25	0,50	Mediāna	0,50	0,50
25. procentile						0,00	0,25	25.procentile	0,00	0,25
75. procentile						1,00	0,50	75.procentile	1,50	0,50

Saīsinājumi: HβD-4 – cilvēka beta defensīns 4; E – epitēlijs; S – saistaudi; M – matrikss; P – perimatrikss.

Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0-0/+ = mazāk nekā retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/+ = maz līdz vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/+ = vidēji daudz līdz daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++ = daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++/++++ = daudz līdz ļoti daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā.

3.2.6. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors

Kontroles grupa

Trim pacientiem **epitēlijā** bija vidēji daudz (++) VEGF pozitīvu šūnu redzes laukā. Diviem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (+++/>++) un diviem pacientiem daudz (+++) VEGF pozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz līdz daudz (+++/>++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Saistaudos vienam pacientam nebija atrodama neviena (0) pozitīva **endoteliocīta**. Diviem pacientiem bija vērojams rets (0/+) VEGF pozitīvu endoteliocītu daudzums. Trim pacientiem bija maz (+) faktorpozitīvo šūnu redzes laukā, un vienam pacientam bija maz līdz

vidēji daudz (+/++) VEGF pozitīvu endoteliocītu redzes laukā. Grupas mediāna – maz (+) pozitīvo šūnu redzes laukā (3.11. tabula un 3.36. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Diviem pacientiem holesteatomas **matriksā** nebija atrodama neviena (0) VEGF pozitīva šūna. Pieciem pacientam bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Vienpadsmit pacientiem to relatīvais daudzums bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++)). Sešiem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++ vai daudz (+++)) un vienam pacientam daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) VEGF pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz (++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Desmit pacientiem holesteatomas **perimatriksā** nebija atrodama neviena (0) VEGF pozitīva **endoteliocīta** vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā rets (0-0/+). Vienpadsmit pacientiem bija reti (0/+) vai maz (+) pozitīvi endoteliocīti redzes laukā. Trim pacientiem bija vidēji daudz (++) un vienam pacientam bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++)) VEGF pozitīvu endoteliocītu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu daudzums redzes laukā (3.11. tabula un 3.37. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Trim pacientiem holesteatomas **matriksā** bija atrodamas mazāk nekā retas (0-0/+) VEGF pozitīvas šūnas, septiņiem pacientiem VEGF relatīvais daudzums bija rets (0/+) vai mazs (+). Septiņiem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) un astoņiem pacientiem VEGF pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā bija vidēji daudz līdz daudz (++/+++)) vai daudz (+++)). Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Astoņiem pacientiem holesteatomas **perimatriksā** nebija atrodama neviena (0) VEGF pozitīva **endoteliocīta** vai to relatīvais daudzums bija mazāks nekā rets (0-0/+). Vienpadsmit pacientiem bija reti (0/+) vai maz (+) pozitīvi endoteliocīti redzes laukā. Sešiem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) VEGF pozitīvu endoteliocītu redzes laukā. Grupas mediāna – rets (0/+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.11. tabula un 3.38. attēls pielikumā).

3.11. tabula

VEGF relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa		
Nr.	Šifrs	VEGF		Nr.	Šifrs	VEGF		Šifrs	VEGF	
		E	S			M	P		M	P
1.	K1	++/+++	+	1.	BH 24	0	0	PH 16	++/+++	++
2.	K2	++/+++	+	2.	BH 25	0/+	0-0/+	PH 15	++/+++	+/++
3.	K3	++	0/+	3.	BH 23	++	0/+	PH 3	+/++	0/+
4.	K4	+++	+/++	4.	BH 19	++/+++	+	PH 18	++/+++	0/+

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa			
Nr.	Šifrs	VEGF		Nr.	Šifrs	VEGF		Šifrs	VEGF		
		E	S			M	P		M	P	
5.	K5	+++	+	5.	BH 21	++	0/+	PH 12	+	+	
6.	K6	++	0/+	6.	BH 3	++	0	PH 30	++	+/>+++	
7.	K7	++	0	7.	BH 6	+++	++	PH 23	+/>+++	+/>+++	
Mediāna		2,50	1,00	8.	BH 1	++/>+++	0/+	PH 6	+++	++	
25. procentile		2,00	0,50	9.	BH 11	++	0/+	PH 7	++/>+++	0/+	
75. procentile		3,00	1,00	10.	BH 10	+++	++	PH 25	0-0/+	0/+	
				11.	BH 32	++	+	PH 35	+/>+++	+	
				12.	BH 30	+/>+++	0/+	PH 4	++/>+++	0	
				13.	BH 34	+	0/+	PH 8	++/>+++	+/>+++	
				14.	BH 12	++	+	PH 13	+/>+++	0	
				15.	BH 14	+	0	PH 20	0-0/+	0-0/+	
				16.	BH 18	++	0	PH 22	0-0/+	0/+	
				17.	BH 27	0	0	PH 24	0/+	0-0/+	
				18.	BH 2	++	0	PH 28	++/>+++	+	
				19.	BH 7	++/>++++	++/>+++	PH 17	+/>+++	0	
				20.	BH 8	+++	++	PH 2	+	0	
				21.	BH 20	++	0	PH 31	+	0/+	
				22.	BH 5	++	0/+	PH 1	++/>+++	0/+	
				23.	BH 29	+	0-0/+	PH 33	+	0	
				24.	BH 35	+	0	PH 29	+/>+++	0/+	
				25.	BH 37	++/>+++	+	PH 5	++	0	
Mediāna				Mediāna		2,00	0,50	Mediāna		1,50	0,50
25. procentile				25. procentile		1,00	0,00	25. procentile		1,00	0,25
75. procentile				75. procentile		2,50	1,00	75. procentile		2,50	1,00

Sāisīnājumi: VEGF – vaskulārais endoteliālais augšanas faktors; E – epitēlijs; S – saistaudi; M – matrikss; P – perimatrikss.

Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0-0/+ = mazāk nekā retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/>+++ = maz līdz vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++/>+++ = vidēji daudz līdz daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++ = daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++/>++++ = daudz līdz ļoti daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā.

3.2.7. *Sonic hedgehog* gēna proteīns

Kontroles grupa

Vienam pacientam **epitēlijā** nebija atrodama neviena (0) faktorpozitīva šūna redzes laukā. Diviem pacientiem bija retas (0/+) SHH pozitīvas šūnas redzes laukā. Pa vienam pacientam bija maz līdz vidēji daudz (+/>+++) un vidēji daudz (++) un diviem pacientiem bija daudz līdz ļoti daudz (++/>++++) SHH pozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+/>+++) pozitīvo šūnu redzes laukā.

Ādas **saistaudos** diviem pacientiem nebija vērojama neviena (0) SHH pozitīva šūna, vienam pacientam bija rets (0/+) SHH pozitīvu šūnu daudzums redzes laukā un četriem pacientiem bija maz (+) faktorpozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – mazs (+) pozitīvo šūnu relatīvais daudzums redzes laukā (3.12. tabula un 3.39. attēls pielikumā).

Bērnu grupa

Holesteatomas **matriksā** vienam pacientam nebija atrodama neviena (0) SHH pozitīva šūna, trim pacientiem bija maz (+) pozitīvu šūnu redzes laukā. Astoņiem pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) faktorpozitīvu šūnu redzes laukā. Divpadsmit pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++) un vienam pacientam daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) SHH pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ pozitīvo šūnu redzes laukā.

Perimatriksā vienam pacientam nebija atrodama neviena (0) SHH pozitīva šūna (tas pats pacients, kuram matriksā nebija neviena pozitīva šūna), astoņiem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Divpadsmit pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) faktorpozitīvu šūnu redzes laukā. Četriem pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++) SHH pozitīvu šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – maz līdz vidēji daudz (+/++) pozitīvo šūnu redzes laukā (3.12. tabula un 3.40. attēls pielikumā).

Pieaugušo grupa

Vienam pacientam holesteatomas **matriksā** bija atrodams maz (+) SHH pozitīvu šūnu. Desmit pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) faktorpozitīvo šūnu redzes laukā. Trīspadsmit pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++) un vienam pacientam ļoti daudz (++++) SHH pozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ pozitīvo šūnu redzes laukā.

Holesteatomas **perimatriksā** sešiem pacientiem bija retas (0/+) vai maz (+) pozitīvas šūnas redzes laukā. Sešpadsmit pacientiem bija maz līdz vidēji daudz (+/++) vai vidēji daudz (++) faktorpozitīvo šūnu redzes laukā. Trim pacientiem bija vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ vai daudz (+++) SHH pozitīvo šūnu redzes laukā. Grupas mediāna – vidēji daudz (++) pozitīvo šūnu redzes laukā (3.12. tabula un 3.41. attēls pielikumā).

SHH relatīvais daudzums kontroles, bērnu un pieaugušo grupās

Kontroles grupa				Bērnu grupa				Pieaugušo grupa			
Nr.	Šifrs	SHH		Nr.	Šifrs	SHH		Šifrs	SHH		
		E	S			M	P		M	P	
1.	K1	0	0	1.	BH 24	+	+ / +++	PH 16	+++	+	
2.	K2	++	+	2.	BH 25	+++	+++	PH 15	++ / ++++	+ / ++	
3.	K3	0 / +	0	3.	BH 23	+++	++	PH 3	++	++	
4.	K4	+++ / +++++	+	4.	BH 19	+ / ++	+	PH 18	+++	++ / +++++	
5.	K5	+++ / +++++	+	5.	BH 21	+++	++	PH 12	++	++ / +++++	
6.	K6	+ / ++	0 / +	6.	BH 3	0	0	PH 30	++ / ++++	+ / ++	
7.	K7	0 / +	+	7.	BH 6	++	+ / ++	PH 23	++++	+++	
Mediāna		1,50	1,00	8.	BH 1	++ / ++++	++	PH 6	+ / ++	++	
25. procentile		0,50	0,00	9.	BH 11	++	+	PH 7	++	++	
75. procentile		3,50	1,00	10.	BH 10	+++	++	PH 25	+++	+ / ++	
				11.	BH 32	++	++	PH 35	++	+ / ++	
				12.	BH 30	+++ / +++++	++ / +++++	PH 4	++ / +++++	++	
				13.	BH 34	++	+	PH 8	+++	+	
				14.	BH 12	++ / +++++	+ / ++	PH 13	+	0 / +	
				15.	BH 14	+	0 / +	PH 20	+++	++	
				16.	BH 18	++	+ / ++	PH 22	+++	+ / ++	
				17.	BH 27	+ / ++	+	PH 24	++ / +++++	++	
				18.	BH 2	++ / +++++	++	PH 28	+++	++	
				19.	BH 7	+++	++ / +++++	PH 17	+ / ++	++	
				20.	BH 8	++ / +++++	++	PH 2	++ / +++++	++	
				21.	BH 20	+++	++	PH 31	+ / ++	0 / +	
				22.	BH 5	+ / ++	+	PH 1	+++	++	
				23.	BH 29	+++	++ / +++++	PH 33	+ / ++	0 / +	
				24.	BH 35	+	0 / +	PH 29	++	+	
				25.	BH 37	+++	+	PH 5	++	+ / ++	
Mediāna		2,50	1,50	Mediāna		2,50	1,50	Mediāna		2,50	2,00
25. procentile		1,50	1,00	25. procentile		2,00	1,50	25. procentile		2,00	1,50
75. procentile		3,00	2,00	75. procentile		3,00	2,00	75. procentile		3,00	2,00

Sāisīnājumi: SHH – *Sonic hedgehog* gēna proteīns; E – epitēlijs; S – saistaudi; M – matrikss; P – perimatrikss.

Apzīmējumi: 0 = nevienas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; 0/+ = retas faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; + = maz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +/+ = maz līdz vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++ = vidēji daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++/+++ = vidēji daudz līdz daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++ = daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; +++/++++ = daudz līdz ļoti daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā; ++++ = ļoti daudz faktorpozitīvas struktūras redzes laukā.

3.3. Datu statistiskās atšķirības starp pētījuma grupām

3.3.1. Datu statistiskās atšķirības starp kontroles un bērnu holesteatomas grupām

Statistiski nozīmīgas atšķirības starp kontroles grupu un bērnu grupu tika novērotas četros gadījumos: starp Ki-67 ādas epitēlijā un Ki-67 holesteatomas matriksā ($p = 0,006$); starp NF- κ B ādas epitēlijā un NF- κ B holesteatomas matriksā ($p = 0,011$); starp H β D-2 ādas saistaudos un H β D-2 holesteatomas perimatriksā ($p = 0,038$); starp SHH ādas saistaudos un SHH

holesteatomas perimatriksā ($p = 0,011$). Visos četros gadījumos relatīvais faktorpozitīvo šūnu daudzums bija lielāks bērnu holesteatomas grupā.

Divos gadījumos bija novērojama tendence uz statistiski nozīmīgu atšķirību: starp TIMP-2 ādas epitēlijā un TIMP-2 holesteatomas matriksā ($p = 0,082$) un starp H β D-4 ādas epitēlijā un H β D-4 holesteatomas matriksā ($p = 0,099$). Abos rādītājos relatīvais faktorpozitīvo šūnu daudzums bija lielāks kontroles grupā.

Pilnīga informācija par datu statistiskajām atšķirībām starp kontroles grupu un bērnu holesteatomas grupu aplūkojama 3.13. tabulā.

3.13. tabula

Datu statistiskās atšķirības starp kontroles un bērnu holesteatomas grupām

Audu faktors		Kruskal-Wallis	p vērtība
Kontroles grupa	Bērnu grupa		
MMP-2 epitēlijs	MMP-2 matrikss	1,005	0,945
MMP-2 saistaudi	MMP-2 perimatrikss	0,370	> 0,999
MMP-9 epitēlijs	MMP-9 matrikss	-1,761	0,235
MMP-9 saistaudi	MMP-9 perimatrikss	-1,713	0,260
TIMP-2 epitēlijs	TIMP-2 matrikss	-2,207	0,082^t
TIMP-2 saistaudi	TIMP-2 perimatrikss	-1,779	0,226
TIMP-4 epitēlijs	TIMP-4 matrikss	1,018	0,926
TIMP-4 saistaudi	TIMP-4 perimatrikss	1,354	0,527
Ki-67 epitēlijs	Ki-67 matrikss	3,110	0,006*
Ki-67 saistaudi	Ki-67 perimatrikss	1,977	0,144
NF- κ β epitēlijs	NF- κ β matrikss	2,915	0,011*
NF- κ β saistaudi	NF- κ β perimatrikss	1,779	0,226
IL-1 α epitēlijs	IL-1 α matrikss	1,773	0,229
IL-1 α saistaudi	IL-1 α perimatrikss	0,526	> 0,999
IL-10 epitēlijs	IL-10 matrikss	-0,456	> 0,999
IL-10 saistaudi	IL-10 perimatrikss	-1,780	0,225
H β D-2 epitēlijs	H β D-2 matrikss	1,339	0,542
H β D-2 saistaudi	H β D-2 perimatrikss	2,498	0,038*
H β D-4 epitēlijs	H β D-4 matrikss	-2,132	0,099^t
H β D-4 saistaudi	H β D-4 perimatrikss	-0,627	> 0,999
VEGF epitēlijs	VEGF matrikss	-1,687	0,275
VEGF saistaudi	VEGF perimatrikss	-0,973	0,991
SHH epitēlijs	SHH matrikss	0,999	0,954
SHH saistaudi	SHH perimatrikss	2,906	0,011*

Saīsinājumi: MMP-2 – matricē metaloproteināze 2; MMP-9 – matricē metaloproteināze 9; TIMP-2 – matricē metaloproteināzes audu inhibitors 2; TIMP-4 – matricē metaloproteināzes audu inhibitors 4; Ki-67 – *Kiel-67*; NF- κ β – nukleārais faktors kapa beta; IL-1 α – interleikīns 1 alfa; IL-10 – interleikīns 10; H β D-2 – cilvēka beta defensīns 2; H β D-4 – cilvēka beta defensīns 4; VEGF – vaskulārais endoteliālais augšanas faktors; SHH – *Sonic hedgehog* gēna proteīns.

Apzīmējumi: * – statistiski nozīmīga atšķirība; ^t – tendence būt statistiski nozīmīgai atšķirībai.

3.3.2. Datu statistiskās atšķirības starp kontroles un pieaugušo holesteatomas grupām

Statistiski nozīmīgas atšķirības starp kontroles grupu un pieaugušo holesteatomas grupu tika novērotas piecos gadījumos: starp Ki-67 ādas epitēlijā un Ki-67 holesteatomas matriksā ($p = 0,001$); starp Ki-67 ādas saistaudos un Ki-67 holesteatomas perimatriksā ($p = 0,030$); starp NF- κ B ādas epitēlijā un NF- κ B holesteatomas matriksā ($p = 0,013$); starp H β D-2 ādas saistaudos un H β D-2 holesteatomas perimatriksā ($p = 0,015$); starp SHH ādas saistaudos un SHH holesteatomas perimatriksā ($p = 0,005$). Visos piecos gadījumos relatīvais faktorpozitīvo šūnu daudzums bija lielāks pieaugušo holesteatomas grupā.

Tendence būt statistiski nozīmīgai atšķirībai tika novērota starp VEGF ādas epitēlijā un VEGF holesteatomas matriksā ($p = 0,096$), kur lielāks relatīvais faktorpozitīvo šūnu daudzums tika novērots kontroles grupā.

Pilnīga informācija par datu statistiskajām atšķirībām starp kontroles grupu un pieaugušo holesteatomas grupu aplūkojama 3.14. tabulā.

3.14. tabula

Datu statistiskās atšķirības starp kontroles un pieaugušo holesteatomas grupām

Audu faktors		Kruskal-Wallis	p vērtība
Kontroles grupa	Pieaugušo grupa		
MMP-2 epitēlijs	MMP-2 matrikss	1,280	0,602
MMP-2 saistaudi	MMP-2 perimatrikss	1,023	0,919
MMP-9 epitēlijs	MMP-9 matrikss	-2,002	0,136
MMP-9 saistaudi	MMP-9 perimatrikss	-0,860	> 0,999
TIMP-2 epitēlijs	TIMP-2 matrikss	-1,826	0,203
TIMP-2 saistaudi	TIMP-2 perimatrikss	-1,145	0,756
TIMP-4 epitēlijs	TIMP-4 matrikss	0,883	> 0,999
TIMP-4 saistaudi	TIMP-4 perimatrikss	1,460	0,433
Ki-67 epitēlijs	Ki-67 matrikss	3,697	0,001*
Ki-67 saistaudi	Ki-67 perimatrikss	2,577	0,030*
NF- κ B epitēlijs	NF- κ B matrikss	2,864	0,013*
NF- κ B saistaudi	NF- κ B perimatrikss	1,805	0,213
IL-1 α epitēlijs	IL-1 α matrikss	1,747	0,242
IL-1 α saistaudi	IL-1 α perimatrikss	1,000	0,952
IL-10 epitēlijs	IL-10 matrikss	-0,427	> 0,999
IL-10 saistaudi	IL-10 perimatrikss	-1,205	0,684
H β D-2 epitēlijs	H β D-2 matrikss	1,727	0,253
H β D-2 saistaudi	H β D-2 perimatrikss	2,815	0,015*
H β D-4 epitēlijs	H β D-4 matrikss	-1,558	0,358
H β D-4 saistaudi	H β D-4 perimatrikss	-1,103	0,811
VEGF epitēlijs	VEGF matrikss	-2,146	0,096^t
VEGF saistaudi	VEGF perimatrikss	-0,652	> 0,999

Audu faktors		Kruskal-Wallis	p vērtība
Kontroles grupa	Pieaugušo grupa		
SHH epitēlijs	SHH matrikss	1,318	0,563
SHH saistaudi	SHH perimatrikss	3,146	0,005*

Sāsinājumi: MMP-2 – matricē metaloproteināze 2; MMP-9 – matricē metaloproteināze 9; TIMP-2 – matricē metaloproteināzes audu inhibitors 2; TIMP-4 – matricē metaloproteināzes audu inhibitors 4; Ki-67 – *Kiel-67*; NF- κ B – nukleārais faktors kapa beta; IL-1 α – interleikīns 1 alfa; IL-10 – interleikīns 10; H β D-2 – cilvēka beta defensīns 2; H β D-4 – cilvēka beta defensīns 4; VEGF – vaskulārais endoteliālais augšanas faktors; SHH – *Sonic hedgehog* gēna proteīns.

Apzīmējumi: * – statistiski nozīmīga atšķirība; † – tendence būt statistiski nozīmīgai atšķirībai.

3.3.3. Datu statistiskās atšķirības starp bērnu un pieaugušo holesteatomas grupām

Netika novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības starp bērnu un pieaugušo holesteatomas grupām.

Pilnīga informācija par datu statistiskajām atšķirībām starp bērnu un pieaugušo holesteatomas grupām aplūkojama 3.15. tabulā.

3.15. tabula

Datu statistiskās atšķirības starp bērnu un pieaugušo holesteatomas grupām

Audu faktors		Kruskal-Wallis	p vērtība
Bērnu grupa	Pieaugušo grupa		
MMP-2 matrikss	MMP-2 matrikss	0,415	> 0,999
MMP-2 perimatrikss	MMP-2 perimatrikss	0,986	0,972
MMP-9 matrikss	MMP-9 matrikss	-0,365	> 0,999
MMP-9 perimatrikss	MMP-9 perimatrikss	1,290	0,591
TIMP-2 matrikss	TIMP-2 matrikss	0,576	> 0,999
TIMP-2 perimatrikss	TIMP-2 perimatrikss	0,958	> 0,999
TIMP-4 matrikss	TIMP-4 matrikss	-0,205	> 0,999
TIMP-4 perimatrikss	TIMP-4 perimatrikss	0,159	> 0,999
Ki-67 matrikss	Ki-67 matrikss	0,886	> 0,999
Ki-67 perimatrikss	Ki-67 perimatrikss	0,908	> 0,999
NF- κ B matrikss	NF- κ B matrikss	-0,079	> 0,999
NF- κ B perimatrikss	NF- κ B perimatrikss	0,039	> 0,999
IL-1 α matrikss	IL-1 α matrikss	-0,039	> 0,999
IL-1 α perimatrikss	IL-1 α perimatrikss	0,717	> 0,999
IL-10 matrikss	IL-10 matrikss	0,043	> 0,999
IL-10 perimatrikss	IL-10 perimatrikss	0,868	> 0,999
H β D-2 matrikss	H β D-2 matrikss	0,587	> 0,999
H β D-2 perimatrikss	H β D-2 perimatrikss	0,480	> 0,999
H β D-4 matrikss	H β D-4 matrikss	0,868	> 0,999
H β D-4 perimatrikss	H β D-4 perimatrikss	-0,719	> 0,999
VEGF matrikss	VEGF matrikss	-0,694	> 0,999
VEGF perimatrikss	VEGF perimatrikss	0,486	> 0,999

Audu faktors		Kruskal-Wallis	p vērtība
Bērnu grupa	Pieaugušo grupa		
SHH matrikss	SHH matrikss	0,482	> 0,999
SHH perimatrikss	SHH perimatrikss	0,363	> 0,999

Sāsinājumi: MMP-2 – matricē metaloproteināze 2; MMP-9 – matricē metaloproteināze 9; TIMP-2 – matricē metaloproteināzes audu inhibitori 2; TIMP-4 – matricē metaloproteināzes audu inhibitori 4; Ki-67 – *Kiel-67*; NF- κ β – nukleārais faktors kapa beta; IL-1 α – interleikīns 1 alfa; IL-10 – interleikīns 10; H β D-2 – cilvēka beta defensīns 2; H β D-4 – cilvēka beta defensīns 4; VEGF – vaskulārais endoteliālais augšanas faktors; SHH – *Sonic hedgehog* gēna proteīns.

3.4. Datu statistiskās korelācijas

3.4.1. Datu statistiskās korelācijas kontroles grupā

Kontroles grupā tika novērotas 29 statistiski nozīmīgas korelācijas.

No tām 20 statistiski nozīmīgas korelācijas bija **ļoti ciešas pozitīvas** ($r_s = 0,8-1,0$). Septiņās korelācijās bija iesaistīts SHH gēna proteīns epitēlijā vai saistaudos; TIMP-2 – 6 korelācijās, VEGF un NF- κ β – 5 korelācijās; TIMP-4 – 4 korelācijās; H β D-2 – 3 korelācijās; MMP-9 – 2 korelācijās, MMP-2, IL-10 un H β D-4 – pa vienai korelācijai katrs; Ki-67 un IL-1 α ļoti ciešas pozitīvās korelācijās nebija iesaistīti.

Divas statistiski ticamas korelācijas bija **ļoti ciešas negatīvas** ($r_s = -1,0 - -0,8$) starp IL-1 α un IL-10, kā arī starp MMP-2 un IL-1 α .

Septiņas statistiski nozīmīgas bija **ciešas pozitīvas korelācijas** ($r_s = 0,6-0,8$). No tām piecās korelācijās bija iesaistīts NF- κ β; trijās – MMP-9; divās – TIMP-4; pa vienai IL-10, SHH, H β D-2. H β D-4, VEGF, Ki-67 un TIMP2 nebija iesaistīti ciešas pozitīvās korelācijās.

Statistiski nozīmīgas korelācijas kontroles grupā ir apkopotas 3.16. tabulā.

3.16. tabula

Statistiski nozīmīgas korelācijas starp dažādiem audu faktoriem kontroles grupā

Nr.	Korelācijas ciešums	Audu faktori, starp kuriem noteikta korelācija	Spearman korelācijas koeficients	p vērtība
1.	Ļoti cieša pozitīva korelācija (0,8–1,0)	VEGF epitēlijs un H β D-2 epitēlijs	0,971	0,000
2.		TIMP-2 epitēlijs un NF- κ β epitēlijs	0,925	0,003
3.		MMP-9 epitēlijs un SHH epitēlijs	0,924	0,003
4.		TIMP-2 saistaudi un H β D-2 epitēlijs	0,921	0,003
5.		VEGF epitēlijs un VEGF saistaudi	0,911	0,004
6.		MMP-9 epitēlijs un SHH saistaudi	0,896	0,006
7.		IL-10 epitēlijs un IL-10 saistaudi	0,891	0,007
8.		TIMP-2 saistaudi un VEGF epitēlijs	0,885	0,008
9.		TIMP-4 saistaudi un SHH epitēlijs	0,882	0,009
10.		H β D-4 epitēlijs un H β D-4 saistaudi	0,870	0,011
11.		TIMP-4 epitēlijs un TIMP-4 saistaudi	0,868	0,011

Nr.	Korelācijas ciešums	Audu faktori, starp kuriem noteikta korelācija	<i>Spearman</i> korelācijas koeficients	p vērtība
12.	Ļoti cieša pozitīva korelācija (0,8–1,0)	VEGF saistaudi un HβD-2 epitēlijs	0,856	0,014
13.		SHH epitēlijs un NF-κβ epitēlijs	0,851	0,015
14.		TIMP-4 saistaudi un NF-κβ saistaudi	0,845	0,017
15.		TIMP-2 saistaudi un VEGF saistaudi	0,845	0,017
16.		MMP-2 epitēlijs un TIMP-2 epitēlijs	0,833	0,020
17.		NF-κβ epitēlijs un NF-κβ saistaudi	0,827	0,022
18.		TIMP-2 epitēlijs un SHH epitēlijs	0,824	0,023
19.		SHH epitēlijs un NF-κβ saistaudi	0,819	0,024
20.		TIMP-4 epitēlijs un SHH epitēlijs	0,811	0,027
21.	Ļoti cieša negatīva korelācija (-1,0 – -0,8)	IL-1α epitēlijs un IL-10 saistaudi	-0,829	0,021
22.		MMP-2 epitēlijs un IL-1α saistaudi	-0,808	0,028
23.	Cieša pozitīva korelācija (0,6–0,8)	SHH epitēlijs un IL-10 epitēlijs	0,794	0,033
24.		MMP-2 epitēlijs un NF-κβ epitēlijs	0,785	0,036
25.		TIMP-4 epitēlijs un NF-κβ epitēlijs	0,781	0,038
26.		MMP-9 epitēlijs un NF-κβ epitēlijs	0,777	0,040
27.		MMP-9 epitēlijs un NF-κβ saistaudi	0,772	0,042
28.		MMP-9 epitēlijs un TIMP-4 saistaudi	0,769	0,043
29.		NF-κβ saistaudi un HβD-2 epitēlijs	0,760	0,048

Saīsinājumi: MMP-2 – matricē metaloproteināze 2; MMP-9 – matricē metaloproteināze 9; TIMP-2 – matricē metaloproteināzes audu inhibitors 2; TIMP-4 – matricē metaloproteināzes audu inhibitors 4; NF-κβ – nukleārais faktors kapa beta; IL-1α – interleikīns 1 alfa; IL-10 – interleikīns 10; HβD-2 – cilvēka beta defensīns 2; HβD-4 – cilvēka beta defensīns 4; VEGF – vaskulārais endoteliālais augšanas faktors; SHH – *Sonic hedgehog* gēna proteīns.

3.4.2. Datu statistiskās korelācijas bērnu pacientu grupā

Bērnu holestatomas grupā kopumā tika novērotas 174 statistiski nozīmīgas ļoti ciešas, ciešas, vidēji ciešas un vājas pozitīvas korelācijas.

No visām statistiski nozīmīgajām korelācijām sešas bija **ļoti ciešas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,8–1,0$)**. Divās korelācijās tika novērota SHH gēna proteīna iesaiste. TIMP-4, IL-10, IL-1α, MMP-2, HβD-2, NF-κβ un Ki-67 bija iesaistīti vienā korelācijā katrs.

Bērnu holestatomas grupā tika novērotas 62 statistiski nozīmīgas **ciešas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,6–0,8$)**. Divdesmit korelācijās bija iesaistīts NF-κβ vai nu matriksā, vai perimatriksā. Sešpadsmit korelācijās bija iesaistīts IL-1α. Trīspadsmit korelācijās bija iesaistīts TIMP-4 un IL-10. Vienpadsmit korelācijās bija iesaistīts VEGF un desmit korelācijās – HβD-2. SHH gēna proteīns bija iesaistīts deviņās korelācijās. MMP-9 bija iesaistīts astoņās korelācijās, bet MMP-2 septiņās. Savukārt Ki-67 un TIMP-2 bija iesaistīti attiecīgi sešās un četrās korelācijās. HβD-4 nebija iesaistīts nevienā korelācijā.

Statistiski nozīmīgu **vidēji ciešu pozitīvu korelāciju ($r_s = 0,4–0,6$)** daudzums bija 104.

TIMP-2 matricēs vai perimatricēs bija iesaistīti 25 korelācijās; MMP-9 un Ki-67 – 23 korelācijās; HβD-2 – 20 korelācijās; TIMP-4 un NF-κβ – 19 korelācijās; IL-1α un SHH – 17 korelācijās; VEGF – 15 korelācijās; IL-10 – 13 korelācijās un HβD-4 – trijās korelācijās.

Statistiski nozīmīgas vājas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,2-0,4$) bija divas.

Statistiski nozīmīgas korelācijas bērnu holestatomas grupā apkopotas 3.17. tabulā.

3.17. tabula

Statistiski nozīmīgas korelācijas starp dažādiem audu faktoriem bērnu pacientu grupā

Nr.	Korelācijas ciešums	Audu faktori, starp kuriem noteikta korelācija	Spearman korelācijas koeficients	p vērtība
1.	Ļoti cieša pozitīva korelācija (0,8–1,0)	TIMP-4 matricss un TIMP-4 perimatricss	0,841	< 0,001
2.		IL-10 matricss un HβD-2 matricss	0,828	< 0,001
3.		IL-1α matricss un NF-κβ matricss	0,827	< 0,001
4.		SHH matricss un SHH perimatricss	0,813	< 0,001
5.		SHH matricss un Ki-67 matricss	0,803	< 0,001
6.		MMP-2 matricss un MMP-2 perimatricss	0,803	< 0,001
7.	Cieša pozitīva korelācija (0,6–0,8)	MMP-2 matricss un SHH matricss	0,786	< 0,001
8.		MMP-2 perimatricss un SHH matricss	0,786	< 0,001
9.		Ki-67 matricss un Ki-67 perimatricss	0,780	< 0,001
10.		SHH matricss un NF-κβ matricss	0,753	< 0,001
11.		NF-κβ matricss un HβD-2 matricss	0,750	< 0,001
12.		HβD-2 matricss un HβD-2 perimatricss	0,748	< 0,001
13.		SHH perimatricss un Ki-67 matricss	0,746	< 0,001
14.		VEGF matricss un VEGF perimatricss	0,745	< 0,001
15.		TIMP-4 matricss un NF-κβ matricss	0,738	< 0,001
16.		NF-κβ matricss un Ki-67 matricss	0,726	< 0,001
17.		TIMP-4 perimatricss un IL-10 perimatricss	0,721	< 0,001
18.		IL-1α matricss un IL-10 perimatricss	0,720	< 0,001
19.		IL-1α matricss un IL-1α perimatricss	0,716	< 0,001
20.		MMP-9 perimatricss un IL-1α perimatricss	0,714	< 0,001
21.		IL-1α perimatricss un VEGF perimatricss	0,714	< 0,001
22.		MMP-9 matricss un MMP-9 perimatricss	0,710	< 0,001
23.		IL-1α matricss un IL-10 matricss	0,709	< 0,001
24.		SHH matricss un NF-κβ perimatricss	0,702	< 0,001
25.		IL-1α matricss un HβD-2 matricss	0,700	< 0,001
26.		IL-10 perimatricss un VEGF matricss	0,696	< 0,001
27.		IL-1α perimatricss un IL-10 perimatricss	0,694	< 0,001
28.		TIMP-4 matricss un VEGF perimatricss	0,690	< 0,001
29.		TIMP-2 matricss un TIMP-2 perimatricss	0,685	< 0,001
30.		TIMP-4 matricss un SHH matricss	0,681	< 0,001
31.		NF-κβ matricss un NF-κβ perimatricss	0,680	< 0,001
32.		TIMP-4 perimatricss un VEGF perimatricss	0,678	< 0,001
33.		NF-κβ perimatricss un Ki-67 matricss	0,678	< 0,001
34.		IL-10 matricss un NF-κβ matricss	0,677	< 0,001
35.		IL-10 matricss un HβD-2 perimatricss	0,677	< 0,001
36.		MMP-2 matricss un NF-κβ matricss	0,677	< 0,001
37.		IL-10 perimatricss un VEGF perimatricss	0,674	< 0,001

Nr.	Korelācijas ciešums	Audu faktori, starp kuriem noteikta korelācija	Spearman korelācijas koeficients	p vērtība	
38.	Cieša pozitīva korelācija (0,6–0,8)	IL-10 matricss un IL-10 perimatricss	0,668	< 0,001	
39.		SHH perimatricss un Ki-67 perimatricss	0,667	< 0,001	
40.		IL-1 α perimatricss un VEGF matricss	0,664	< 0,001	
41.		TIMP-4 perimatricss un NF- κ B matricss	0,654	< 0,001	
42.		TIMP-4 perimatricss un IL-1 α perimatricss	0,663	< 0,001	
43.		MMP-2 perimatricss un SHH perimatricss	0,653	< 0,001	
44.		IL-1 α perimatricss un NF- κ B matricss	0,647	< 0,001	
45.		MMP-2 perimatricss un NF- κ B perimatricss	0,643	0,001	
46.		MMP-9 perimatricss un IL-1 α matricss	0,642	0,001	
47.		TIMP-4 perimatricss un IL-1 α matricss	0,641	0,001	
48.		VEGF matricss un H β D-2 matricss	0,639	0,001	
49.		TIMP-4 perimatricss un IL-10 matricss	0,638	0,001	
50.		NF- κ B perimatricss un VEGF matricss	0,637	0,001	
51.		NF- κ B perimatricss un H β D-2 perimatricss	0,635	0,001	
52.		TIMP-4 matricss un IL-1 α matricss	0,634	0,001	
53.		MMP-9 perimatricss un NF- κ B matricss	0,630	0,001	
54.		IL-1 α perimatricss un H β D-2 matricss	0,630	0,001	
55.		MMP-2 perimatricss un NF- κ B matricss	0,629	0,001	
56.		TIMP-4 perimatricss un VEGF matricss	0,628	0,001	
57.		MMP-9 perimatricss un Ki-67 perimatricss	0,624	0,001	
58.		MMP-9 perimatricss un Ki-67 matricss	0,623	0,001	
59.		MMP-2 matricss un TIMP-2 matricss	0,622	0,001	
60.		NF- κ B perimatricss un H β D-2 matricss	0,621	0,001	
61.		IL-1 α perimatricss un IL-10 matricss	0,620	0,001	
62.		MMP-9 perimatricss un NF- κ B perimatricss	0,614	0,001	
63.		NF- κ B matricss un VEGF perimatricss	0,614	0,001	
64.		TIMP-2 perimatricss un SHH matricss	0,613	0,001	
65.		TIMP-4 matricss un H β D-2 matricss	0,608	0,001	
66.		TIMP-4 matricss un IL-10 perimatricss	0,605	0,001	
67.		MMP-9 matricss un IL-1 α perimatricss	0,604	0,001	
68.		IL-10 perimatricss un NF- κ B matricss	0,602	0,001	
69.		Vidēji cieša pozitīva korelācija (0,4–0,6)	TIMP-2 matricss un IL-1 α matricss	0,597	0,002
70.			IL-1 α matricss un Ki-67 matricss	0,597	0,002
71.			VEGF perimatricss un H β D-2 matricss	0,595	0,002
72.	NF- κ B matricss un VEGF matricss		0,595	0,002	
73.	Ki-67 matricss un H β D-2 matricss		0,595	0,002	
74.	IL-10 perimatricss un H β D-2 matricss		0,592	0,002	
75.	TIMP-4 matricss un Ki-67 perimatricss		0,590	0,002	
76.	MMP-2 perimatricss un TIMP-4 matricss		0,589	0,002	
77.	NF- κ B matricss un Ki-67 perimatricss		0,588	0,002	
78.	MMP-9 perimatricss un TIMP-4 matricss		0,585	0,002	
79.	TIMP-4 matricss un IL-1 α perimatricss		0,575	0,003	
80.	SHH matricss un Ki-67 perimatricss		0,575	0,003	
81.	IL-1 α matricss un VEGF perimatricss		0,574	0,003	
82.	MMP-9 perimatricss un VEGF perimatricss		0,571	0,003	
83.	SHH perimatricss un NF- κ B matricss		0,570	0,003	
84.	NF- κ B matricss un H β D-2 perimatricss		0,570	0,003	
85.	TIMP-4 matricss un Ki-67 matricss		0,569	0,003	
86.	TIMP-4 perimatricss un H β D-2 matricss		0,568	0,003	
87.	TIMP-4 matricss un SHH perimatricss		0,566	0,003	

Nr.	Korelācijas ciešums	Audu faktori, starp kuriem noteikta korelācija	<i>Spearman</i> korelācijas koeficients	p vērtība
88.	Vidēji cieša pozitīva korelācija (0,4–0,6)	MMP-9 matrikss un HβD-2 matrikss	0,562	0,003
89.		MMP-9 matrikss un VEGF matrikss	0,561	0,004
90.		MMP-9 matrikss un Ki-67 matrikss	0,560	0,004
91.		TIMP-2 perimatrikss un NF-κβ matrikss	0,560	0,004
92.		IL-10 matrikss un VEGF matrikss	0,559	0,004
93.		MMP-9 perimatrikss un SHH matrikss	0,558	0,004
94.		IL-10 matrikss un Ki-67 matrikss	0,558	0,004
95.		MMP-9 perimatrikss un VEGF matrikss	0,550	0,004
96.		MMP-2 matrikss un TIMP-4 matrikss	0,550	0,004
97.		MMP-9 matrikss un IL-1α matrikss	0,549	0,004
98.		MMP-9 perimatrikss un TIMP-2 perimatrikss	0,549	0,005
99.		TIMP-2 perimatrikss un NF-κβ perimatrikss	0,548	0,005
100.		MMP-2 perimatrikss un Ki-67 matrikss	0,545	0,005
101.		MMP-2 perimatrikss un HβD-2 perimatrikss	0,539	0,005
102.		SHH matrikss un HβD-2 matrikss	0,539	0,005
103.		TIMP-2 matrikss un SHH matrikss	0,537	0,006
104.		IL-10 matrikss un NF-κβ perimatrikss	0,536	0,006
105.		MMP-2 matrikss un TIMP-2 perimatrikss	0,535	0,006
106.		MMP-9 matrikss un NF-κβ perimatrikss	0,531	0,006
107.		SHH perimatrikss un NF-κβ perimatrikss	0,530	0,006
108.		MMP-9 matrikss un TIMP-4 perimatrikss	0,528	0,007
109.		TIMP-2 perimatrikss un HβD-2 matrikss	0,526	0,007
110.		MMP-9 matrikss un VEGF perimatrikss	0,525	0,007
111.		MMP-9 matrikss un NF-κβ matrikss	0,522	0,007
112.		TIMP-4 matrikss un IL-10 matrikss	0,522	0,008
113.		Ki-67 matrikss un HβD-2 perimatrikss	0,520	0,008
114.		MMP-2 matrikss un Ki-67 matrikss	0,516	0,008
115.		IL-10 perimatrikss un HβD-2 perimatrikss	0,516	0,008
116.		SHH matrikss un HβD-2 perimatrikss	0,515	0,008
117.		MMP-2 matrikss un NF-κβ perimatrikss	0,510	0,009
118.		IL-1α perimatrikss un NF-κβ perimatrikss	0,510	0,009
119.		IL-1α matrikss un VEGF matrikss	0,510	0,009
120.		MMP-2 perimatrikss un TIMP-2 perimatrikss	0,509	0,009
121.		VEGF matrikss un HβD-2 perimatrikss	0,509	0,009
122.		TIMP-2 matrikss un HβD-2 matrikss	0,505	0,010
123.		TIMP-2 matrikss un NF-κβ matrikss	0,504	0,010
124.		TIMP-4 matrikss un HβD-2 perimatrikss	0,500	0,011
125.	MMP-2 matrikss un IL-1α matrikss	0,499	0,011	
126.	NF-κβ perimatrikss un Ki-67 perimatrikss	0,494	0,012	
127.	IL-1α matrikss un Ki-67 perimatrikss	0,493	0,012	
128.	TIMP-4 matrikss un VEGF matrikss	0,490	0,012	
129.	MMP-9 perimatrikss un TIMP-4 perimatrikss	0,490	0,013	
130.	TIMP-2 matrikss un IL-10 matrikss	0,488	0,013	
131.	MMP-9 perimatrikss un HβD-2 matrikss	0,487	0,014	
132.	TIMP-4 matrikss un NF-κβ perimatrikss	0,485	0,014	
133.	MMP-9 matrikss un TIMP-4 matrikss	0,481	0,015	
134.	TIMP-4 perimatrikss un Ki-67 matrikss	0,481	0,015	
135.	MMP-2 matrikss un HβD-2 matrikss	0,475	0,016	
136.	TIMP-4 perimatrikss un SHH matrikss	0,475	0,016	
137.	TIMP-2 perimatrikss un IL-1α perimatrikss	0,474	0,017	

Nr.	Korelācijas ciešums	Audu faktori, starp kuriem noteikta korelācija	<i>Spearman</i> korelācijas koeficients	p vērtība
138.	Vidēji cieša pozitīva korelācija (0,4–0,6)	MMP-9 matrikss un SHH matrikss	0,473	0,017
139.		NF-κβ perimatrikss un VEGF perimatrikss	0,473	0,017
140.		SHH matrikss un IL-1α matrikss	0,472	0,017
141.		MMP-9 perimatrikss un IL-10 perimatrikss	0,468	0,018
142.		MMP-9 perimatrikss un TIMP-2 matrikss	0,463	0,020
143.		TIMP-2 matrikss un NF-κβ perimatrikss	0,462	0,020
144.		MMP-9 perimatrikss un SHH perimatrikss	0,461	0,020
145.		Ki-67 perimatrikss un HβD-2 matrikss	0,461	0,020
146.		MMP-2 perimatrikss un TIMP-2 matrikss	0,459	0,021
147.		TIMP-2 perimatrikss un IL-1α matrikss	0,457	0,022
148.		TIMP-4 perimatrikss un NF-κβ perimatrikss	0,457	0,022
149.		TIMP-2 perimatrikss un VEGF matrikss	0,453	0,023
150.		MMP-2 perimatrikss un MMP-9 perimatrikss	0,451	0,024
151.		TIMP-2 perimatrikss un VEGF perimatrikss	0,445	0,026
152.		SHH matrikss un IL-1α matrikss	0,444	0,026
153.		TIMP-2 perimatrikss un SHH perimatrikss	0,442	0,027
154.		IL-1α perimatrikss un Ki-67 matrikss	0,442	0,027
155.		IL-1α perimatrikss un Ki-67 perimatrikss	0,441	0,027
156.		MMP-2 matrikss un SHH perimatrikss	0,439	0,028
157.		SHH matrikss un HβD-2 matrikss	0,437	0,029
158.		IL-10 matrikss un Ki-67 perimatrikss	0,437	0,029
159.		MMP-9 matrikss un TIMP-2 matrikss	0,436	0,029
160.		SHH perimatrikss un HβD-2 perimatrikss	0,428	0,033
161.		Ki-67 matrikss un HβD-4 matrikss	0,426	0,034
162.		Ki-67 matrikss un HβD-4 perimatrikss	0,426	0,034
163.		TIMP-2 perimatrikss un IL-10 matrikss	0,423	0,035
164.		IL-10 matrikss un VEGF perimatrikss	0,422	0,036
165.		TIMP-2 matrikss un Ki-67 matrikss	0,420	0,037
166.		MMP-2 matrikss un IL-10 matrikss	0,420	0,037
167.		MMP-9 matrikss un IL-10 matrikss	0,418	0,038
168.		TIMP-4 perimatrikss un Ki-67 perimatrikss	0,414	0,040
169.		TIMP-2 perimatrikss un Ki-67 matrikss	0,413	0,040
170.		TIMP-2 matrikss un HβD-4 matrikss	0,409	0,042
171.		TIMP-2 matrikss un IL-1α perimatrikss	0,407	0,044
172.	IL-1α matrikss un NF-κβ perimatrikss	0,406	0,044	
173.	Vāja pozitīva korelācija (0,2–0,4)	MMP-9 perimatrikss un IL-10 matrikss	0,397	0,050
174.		TIMP-4 perimatrikss un HβD-2 perimatrikss	0,397	0,049

Sāsinājumi: MMP-2 – matricē metaloproteināze 2; MMP-9 – matricē metaloproteināze 9; TIMP-2 – matricē metaloproteināzes audu inhibitori 2; TIMP-4 – matricē metaloproteināzes audu inhibitori 4; NF-κβ – nukleārais faktors kapa beta; IL-1α – interleikīns 1 alfa; IL-10 – interleikīns 10; HβD-2 – cilvēka beta defensīns 2; HβD-4 – cilvēka beta defensīns 4; VEGF – vaskulārais endoteliālais augšanas faktors; SHH – *Sonic hedgehog* gēna proteīns.

3.4.3. Datu statistiskās korelācijas pieaugušo pacientu grupā

Pieaugušo holesteatomas grupā kopumā tika novērotas 76 statistiski nozīmīgas korelācijas.

No tām četras bija ļoti ciešas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,8-1,0$). Trijās korelācijās iesaistīts bija IL-10 un pa divām korelācijām IL-1 α un H β D-2.

Tika novērotas 24 statistiski nozīmīgas ciešas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,6-0,8$). Vienpadsmit korelācijās bija iesaistīts IL-10 holesteatomas matriksā vai perimatriksā. Pa piecām korelācijām katrs bija iesaistīti MMP-9, TIMP-4, IL-1 α un NF- κ β . Pa trim korelācijām katrs bija iesaistīti TIMP-2, Ki-67 un H β D-2. Pa divām korelācijām katrs bija iesaistīts VEGF un SHH, bet pa vienai – H β D-4 un MMP-2.

Statistiski nozīmīgu vidēji ciešu pozitīvu korelāciju ($r_s = 0,4-0,6$) daudzums bija 46. H β D-2 matriksā vai perimatriksā bija iesaistīts 20 korelācijās; NF- κ β – 11 korelācijās; TIMP-4 un IL-1 α – 9 korelācijās; TIMP-2 – 8 korelācijās; VEGF, SHH un Ki-67 katrs bija iesaistīti sešās korelācijās; IL-10 un MMP-9 katrs bija iesaistīts piecās korelācijās; MMP-2 – četrās korelācijās un H β D-4 – vienā korelācijā.

Statistiski nozīmīgas vājas pozitīvas korelācijas ($r_s = 0,2-0,4$) bija divas.

Statistiski nozīmīgas korelācijas pieaugušo holesteatomas grupā apkopotas 3.18. tabulā.

3.18. tabula

Statistiski nozīmīgas korelācijas starp dažādiem audu faktoriem pieaugušo pacientu grupā

Nr.	Korelācijas ciešums	Audu faktori, starp kuriem noteikta korelācija	Spearman korelācijas koeficients	p vērtība
1.	Ļoti cieša pozitīva korelācija (0,8–1,0)	IL-10 matrikss un H β D-2 matrikss	0,841	< 0,001
2.		IL-1 α matrikss un H β D-2 matrikss	0,827	< 0,001
3.		IL-1 α matrikss un IL-10 matrikss	0,813	< 0,001
4.		IL-10 matrikss un IL-10 perimatrikss	0,801	< 0,001
5.	Cieša pozitīva korelācija (0,6–0,8)	MMP-9 perimatrikss un NF- κ β perimatrikss	0,790	< 0,001
6.		IL-1 α matrikss un IL-10 perimatrikss	0,762	< 0,001
7.		IL-10 perimatrikss un NF- κ β perimatrikss	0,751	< 0,001
8.		TIMP-4 perimatrikss un NF- κ β perimatrikss	0,749	< 0,001
9.		NF- κ β perimatrikss un H β D-2 perimatrikss	0,748	< 0,001
10.		MMP-2 matrikss un SHH matrikss	0,719	< 0,001
11.		IL-1 α perimatrikss un NF- κ β perimatrikss	0,692	< 0,001
12.		IL-10 perimatrikss un VEGF matrikss	0,687	< 0,001
13.		IL-10 perimatrikss un H β D-2 perimatrikss	0,687	< 0,001
14.		IL-10 perimatrikss un H β D-2 matrikss	0,686	< 0,001
15.		MMP-9 perimatrikss un Ki-67 perimatrikss	0,677	< 0,001
16.		TIMP-2 matrikss un TIMP-2 perimatrikss	0,676	< 0,001
17.		MMP-9 perimatrikss un TIMP-4 perimatrikss	0,664	< 0,001
18.		H β D-4 matrikss un H β D-4 perimatrikss	0,655	< 0,001

Nr.	Korelācijas ciešums	Audu faktori, starp kuriem noteikta korelācija	<i>Spearman</i> korelācijas koeficients	p vērtība
19.	Cieša pozitīva korelācija (0,6–0,8)	TIMP-4 perimatrikss un Ki-67 perimatrikss	0,651	< 0,001
20.		SHH perimatrikss un Ki-67 matrikss	0,646	< 0,001
21.		IL-1 α perimatrikss un IL-10 perimatrikss	0,640	0,001
22.		TIMP-4 perimatrikss un IL-10 perimatrikss	0,638	0,001
23.		TIMP-4 perimatrikss un IL-1 α perimatrikss	0,637	0,001
24.		TIMP-2 perimatrikss un IL-10 matrikss	0,630	0,001
25.		TIMP-2 perimatrikss un IL-10 perimatrikss	0,613	0,001
26.		IL-10 matrikss un VEGF matrikss	0,611	0,001
27.		MMP-9 perimatrikss un IL-1 α perimatrikss	0,608	0,001
28.		MMP-9 perimatrikss un IL-10 perimatrikss	0,601	0,001
29.		Vidēji cieša pozitīva korelācija (0,4–0,6)	Ki-67 perimatrikss un H β D-2 perimatrikss	0,592
30.	IL-1 α perimatrikss un Ki-67 perimatrikss		0,583	0,002
31.	MMP-9 perimatrikss un H β D-2 perimatrikss		0,576	0,003
32.	MMP-2 matrikss un MMP-2 perimatrikss		0,574	0,003
33.	NF- κ β perimatrikss un Ki-67 perimatrikss		0,571	0,003
34.	TIMP-2 matrikss un VEGF perimatrikss		0,563	0,003
35.	IL-1 α matrikss un IL-1 α perimatrikss		0,557	0,004
36.	IL-10 matrikss un NF- κ β perimatrikss		0,554	0,004
37.	SHH matrikss un NF- κ β matrikss		0,549	0,005
38.	TIMP-4 perimatrikss un H β D-2 perimatrikss		0,545	0,005
39.	TIMP-4 matrikss un NF- κ β matrikss		0,540	0,005
40.	H β D-2 perimatrikss un H β D-4 perimatrikss		0,537	0,006
41.	SHH perimatrikss un H β D-2 perimatrikss		0,527	0,007
42.	NF- κ β perimatrikss un H β D-2 matrikss		0,526	0,007
43.	TIMP-2 perimatrikss un H β D-2 matrikss		0,523	0,007
44.	IL-1 α matrikss un NF- κ β perimatrikss		0,519	0,008
45.	TIMP-2 perimatrikss un IL-1 α matrikss		0,505	0,010
46.	TIMP-2 perimatrikss un VEGF perimatrikss		0,503	0,010
47.	IL-1 α perimatrikss un H β D-2 matrikss		0,499	0,011
48.	Ki-67 matrikss un H β D-2 perimatrikss		0,498	0,011
49.	MMP-2 matrikss un TIMP-2 matrikss		0,484	0,014
50.	TIMP-2 matrikss un SHH matrikss		0,478	0,016
51.	H β D-2 matrikss un H β D-2 perimatrikss		0,477	0,016
52.	NF- κ β perimatrikss un VEGF matrikss		0,474	0,017
53.	TIMP-2 matrikss un NF- κ β matrikss		0,473	0,017
54.	IL-1 α perimatrikss un H β D-2 perimatrikss		0,466	0,019
55.	MMP-9 perimatrikss un H β D-2 matrikss		0,464	0,019
56.	IL-10 matrikss un H β D-2 perimatrikss		0,462	0,020
57.	MMP-2 perimatrikss un SHH perimatrikss		0,460	0,021
58.	MMP-9 matrikss un IL-10 matrikss		0,458	0,021
59.	TIMP-4 perimatrikss un IL-1 α matrikss		0,457	0,022
60.	MMP-2 perimatrikss un SHH matrikss		0,453	0,023
61.	TIMP-4 matrikss un SHH matrikss		0,436	0,029
62.	MMP-9 perimatrikss un IL-1 α matrikss		0,435	0,030
63.	TIMP-4 matrikss un TIMP-4 perimatrikss		0,431	0,031
64.	VEGF matrikss un VEGF perimatrikss		0,429	0,032
65.	MMP-9 matrikss un IL-1 α matrikss		0,426	0,034
66.	TIMP-4 perimatrikss un IL-10 matrikss		0,425	0,034
67.	TIMP-4 perimatrikss un NF- κ β matrikss	0,422	0,036	
68.	NF- κ β matrikss un H β D-2 matrikss	0,418	0,038	

Nr.	Korelācijas ciešums	Audu faktori, starp kuriem noteikta korelācija	<i>Spearman</i> korelācijas koeficients	p vērtība
69.	Vidēji cieša pozitīva korelācija (0,4–0,6)	IL-10 perimatrikss un Ki-67 perimatrikss	0,417	0,038
70.		TIMP-2 matrikss un HβD-2 matrikss	0,416	0,038
71.		NF-κβ matrikss un VEGF matrikss	0,414	0,039
72.		VEGF matrikss un HβD-2 perimatrikss	0,413	0,040
73.		TIMP-4 perimatrikss un HβD-2 matrikss	0,404	0,045
74.		TIMP-4 perimatrikss un Ki-67 matrikss	0,402	0,046
75.	Vāja pozitīva korelācija (0,2–0,4)	MMP-2 matrikss un NF-κβ matrikss	0,399	0,048
76.		IL-10 perimatrikss un NF-κβ matrikss	0,396	0,050

Saīsinājumi: MMP-2 – matricē metaloproteināze 2; MMP-9 – matricē metaloproteināze 9; TIMP-2 – matricē metaloproteināzes audu inhibitori 2; TIMP-4 – matricē metaloproteināzes audu inhibitori 4; NF-κβ – nukleārais faktors kapa beta; IL-1α – interleikīns 1 alfa; IL-10 – interleikīns 10; HβD-2 – cilvēka beta defensīns 2; HβD-4 – cilvēka beta defensīns 4; VEGF – vaskulārais endoteliālais augšanas faktors; SHH – *Sonic hedgehog* gēna proteīns.

4. Diskusija

Zinātniskajā literatūrā atrodams relatīvi plašs pētījumu klāsts, kas saistīts ar cilvēka iegūtu holesteatomu. Tomēr pētījumi pārsvarā balstās uz klīniskās un/vai radioloģiskās ainas izvērtēšanu, bet mazāk tiek pētīta morfoloģija. Vēl mazāk ir salīdzinošo pētījumu, kur tiek izvērtēta pieaugušo un bērnu iegūta holesteatoma. No šiem salīdzinošiem pētījumiem tikai daži salīdzina šīs divas grupas morfoloģiskā aspektā. Līdz ar to eksistē dažādi viedokļi, vai un kā bērnu un pieaugušo iegūta holesteatoma atšķiras.

Holesteatomas patoģenēze nav pilnībā izskaidrota, tomēr zināms, ka tā saistās ar kaulaudu destruktiju, iekaisumu, izteiktu šūnu proliferāciju un augšanu. Mūsu pētījumā tika izvērtēti MMP-2, MMP-9, TIMP-2, TIMP-4, Ki-67, NF- κ B, IL-1 α , IL-10, H β D-2, H β D-4, VEGF un SHH bērnu, pieaugušo cilvēka iegūtas holesteatomas audos un arī kontroles audos, kas ir ārējās auss ejas āda. Izvēlētie audu marķieri saistās ar holesteatomas klīnisko gaitu. Jāuzsver, ka šis ir viens no plašākajiem pētījumiem pēc audu marķieru skaita, kas atspoguļo dažādus holesteatomas raksturojošos morfofunkcionālos procesus, un tas padara mūsu pētījumu par vienu no detalizētākajiem, kas pieejams zinātniskajā literatūrā, salīdzinot bērnu un pieaugušo audzēja grupas. Pētījumā arī apskatīti vairāki audu marķieri, kas iepriekš holesteatomas audos nav pētīti, piemēram, TIMP-4, H β D-4 un SHH, līdz ar to šajos gadījumos nav iespējama iegūto rezultātu salīdzināšana ar citiem pētījumiem. Tomēr tas lika ieskatīties citu patoloģiju pētījumos, lai varētu veikt piesardzīgus secinājumus par iegūtajiem rezultātiem. Visbeidzot, izpētot dažādos audu faktorus, mēs parādījām komplekso holesteatomas patoģenēzi, izvērtējot un izskaidrojot, kā arī ar citu pētījumu palīdzību, pamatojot dažādās korelācijas starp audu faktoriem abu vecumu holesteatomas audos.

Rutinās mikroskopijas paraugos abās holesteatomas grupās tika novērota epitēlija slāņa jeb matricsa šūnu hiperproliferācija, salīdzinot ar kontroles grupas neizmainītu ārējās auss ejas ādas epitēliju. Holesteatomas matricss bija līdzīgs neizmainītas ādas epitēlijam, ar tiem pašiem slāņiem (bazālais, dzeloņainais, graudainais un spīdošais), tomēr holesteatomas gadījumā tie bija hiperproliferēti. Šie novērojumi sakrīt arī ar citu autoru aprakstītajiem datiem (Lim and Saunders, 1972). Abu pacientu grupās redzamu atšķirību nebija. To var izskaidrot ar faktu, ka holesteatomas rašanās iemesli un mehānisms visu vecumu pacientiem ir līdzīgs (Louw, 2010).

Izvērtējot zemepitēlija saistaudus jeb perimatricsu, izteiktas atšķirības starp bērnu un pieaugušo pacientu grupām netika novērotas. Tomēr katras pacientu grupas ietvaros bija novērojamas individuālas atšķirības. Proti, dažiem pacientiem perimatricss bija biežāks un izteikti infiltrētāks ar iekaisuma šūnām, tomēr citiem pacientiem perimatricss bija plānāks un iekaisuma šūnu infiltrācija mazāka. Šāda aina bija vērojama gan bērnu, gan pieaugušo grupās. Līdzīgus novērojumus publicējuši arī citi autori (Dornelles et al., 2006). Salīdzinot

holesteatomas perimatriksu ar kontroles ādas zemepitēlija saistaudiem, tika novērots, ka holesteatomas grupā saistaudi bija irdenāki un daudz vairāk infiltrēti ar iekaisuma šūnām, kā arī tika novērots izteikti lielāks mazo asinsvadu daudzums. Minētie dati liecina par kopēju audzēja ainu, kurā dominē iekaisums un neoangiogēnēze, kas veicina audzēja veidošanos, tomēr tās ir nespecifiskās pārmaiņas.

4.1. Audu remodelācija

Cilvēka iegūtas holesteatomas gadījumā remodelācijas faktoru darbība ierosina apkārtējo kaulaudu destrukciju (Morales et al., 2007; Juhász et al., 2009). Izvērtējot **MMP-2** relatīvo daudzumu, netika novērota statistiski ticama atšķirība starp bērnu un pieaugušo holesteatomas grupām. Iegūtie dati atšķiras no vienīgā cita autora pētījuma datiem, kas salīdzina MMP-2 ekspresiju bērnu un pieaugušo pacientu grupās. *Dornelles* et al. savā pētījumā parāda, ka MMP-2 holesteatomas audos ir statistiski ticami vairāk ekspresēti bērnu holesteatomas grupā, salīdzinot ar pieaugušajiem (*Dornelles* et al., 2009). Atšķirība starp pētījumiem ir tā, ka *Dornelles* et al. pētījumā skaitīšanas sistēma izmantoja tikai 4 vērtības (0–3), kas var radīt, iespējams, lielākas kļūdas iespēju statistiskajos aprēķinos. Tomēr šādu divu grupu salīdzinošo pētījumu skaits ir tik neliels, ka objektīva datu salīdzināšana starp pētījumiem ir apgrūtināta.

Salīdzinot MMP-2 ekspresiju abu holesteatomas pacientu grupas ar kontroles grupas ārējās auss ejas ādu, tika novērtots, ka pacientu grupā MMP-2 relatīvais daudzums bija lielāks nekā kontroles grupā, tomēr netika novērotas statistiski ticamas atšķirības. Arī *Banerjee* et al. savā pētījumā novēroja līdzīgus rezultātus (*Banerjee* et al., 1998). Šos rezultātus palīdz izskaidrot *Morales* et al., kuri savā pētījumā parāda, ka klīniski agresīvajām holesteatomām ir augstāka MMP-2 ekspresija, savukārt mazāk agresīvas holesteatomas MMP-2 relatīvais daudzums būs kā jebkuros citos bezpatoloģijas audos (*Morales* et al., 2007). Šā pētījuma autors neveica pacientu klīnisko datu korelāciju ar biomarkšiem, tomēr, izvērtējot katru pacientu individuāli, varēja redzēt, ka bija pacienti ar augstāku un pacienti ar zemāku MMP-2 ekspresiju audos un, ja izvērtētu klīnisko ainu, iespējams, tiktu atrastas MMP-2 ekspresijas korelācijas audzēja klīniskajai aintai. Tomēr šis ir perspektīvā pētījuma virziens.

MMP-9 relatīvais daudzums bērnu un pieaugušo holesteatomas audos bija līdzīgs un netika novērotas statistiski ticamas atšķirības starp šīm grupām. Līdzīgus datus iegūst arī *Palkó* et al., kuri savā pētījumā neatrod statistiski nozīmīgu atšķirību starp bērnu un pieaugušo grupām (*Palkó* et al., 2018), bet, izdalot pētāmās grupas sīkāk, tika novērots, ka pieaugušajiem ar atkārtotu holesteatomu MMP-9 rādītāji ir augstāki. Pretējus rezultātus ieguvusi *Dornelles* et al., kura savā pētījumā parāda, ka bērnu holesteatomas gadījumā MMP-9 relatīvais daudzums ir lielāks, nekā pieaugušo holesteatomas gadījumā (*Dornelles* et al., 2009). Jāuzsver, ka dažādos

iegūtos rezultātus var ietekmēt pacientu atlase, – jo lielāks iekaisums audu analizēšanas laikā, jo iespējami lielāka MMP-9 ekspresija audos. Turklāt *Juhász et al.* savā pētījumā parāda, ka antibakteriāla terapija var mazināt MMP-9 daudzumu audos (*Juhász et al.*, 2009). Kā zināms, bērnu populācijā vidusausis iekaisumu biežums ir ievērojami lielāks nekā pieaugušo populācijā (*Al-Shehri et al.*, 2021), kas var palīdzēt izskaidrot, kāpēc dažu autoru pētījumos bērnu grupā ir vērojama augstāka MMP-9 ekspresija holesteatomas audos, salīdzinot ar pieaugušo holesteatomu.

Salīdzinot abu grupu holesteatomas audus un kontroles grupas ādu un MMP-9 relatīvo daudzumu tajos, netika atrastas nozīmīgas atšķirības starp grupām. Tomēr kontroles grupā MMP-9 relatīvais daudzums bija nedaudz lielāks nekā abās holesteatomas grupās. Līdzīgus datus ieguvus arī *Banerjee et al.*, kurš savā pētījumā statistiski nozīmīgas atšķirības starp holesteatomu un kontroles ādu neatrod, tomēr holesteatomas grupā novēro nedaudz augstākus faktora rādītājus (*Banerjee et al.*, 1998). Arī *Rezende et al.* savā pētījumā parāda, ka holesteatomas audos MMP-9 signālu ar PCR metodi neatrod (*Rezende et al.*, 2012). Datus, ko iegūst *Rezende et al.*, daļēji var attiecināt arī uz mūsu iegūtajiem rezultātiem, jo daudzos mikropreparātos MMP-9 bija ļoti vāji ekspresēts vai nebija nemaz atrodamš. Savukārt pretējus rezultātus, kur MMP-9 ir statistiski nozīmīgi vairāk ekspresēts holesteatomas audos, salīdzinot ar kontroles grupu, ir ieguvuši vairāki autori (*Olszewska et al.*, 2016; *Juhász et al.*, 2009; *Suchozebrska-Jesionek et al.*, 2008; *Kaya et al.*, 2020). Šie autori arī korelē MMP-9 daudzumu ar klīnisko holesteatomas agresivitāti. Taču ir pētījumi, kuros tiek parādīts, ka samazināts MMP-9 daudzums pastiprina angiogēnēzi audzēja audos (*Pozzi et al.*, 2002). Lai arī šis pētījums bija dzīvnieku modelī un nesaistās ar holesteatomu, tomēr tas var izskaidrot, ka ne tikai paaugstināts, bet arī samazināts MMP-9 līmenis var pastiprināt angiogēnēzi audzējā, tostarp, iespējams, holesteatomas audos.

TIMP-2 relatīvais daudzums bērnu un pieaugušo holesteatomās bija līdzīgs, un šīm grupām netika novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības. Citu salīdzinošu pētījumu, kur izvērtēta TIMP-2 ekspresija bērnu un pieaugušo holesteatomā, mums pieejamajā zinātniskajā literatūrā atrast neizdevās. Ja salīdzina bērnu un pieaugušo holesteatomu ar kontroles grupu, redzama tendence, ka bērnu grupā TIMP-2 novērojama mazāka ekspresija nekā kontroles audos un atšķirība ir tuva statistiski nozīmīgai. Arī pieaugušo grupā TIMP-2 pozitīvo šūnu relatīvais daudzums bija zemāks nekā kontroles grupā, tomēr atšķirība nebija tik izteikta kā bērniem. Līdzīgus datus, lai arī pētījumā ar citādu dizainu, kur tika pētīts gēnu daudzums, ieguva *Kaya et al.*, parādot, ka TIMP-2 holesteatomas audos bija samazināts, salīdzinot ar kontroles ādas audiem (*Kaya et al.*, 2020).

TIMP-4 relatīvais daudzums bērnu un pieaugušo holesteatomās bija līdzīgs, un netika novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām. Arī, salīdzinot abu pacientu grupas ar kontroles grupu, netika novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības. Taču TIMP-4 ekspresija abu grupu holesteatomas audos bija lielāka nekā kontroles ādā. Pieejamajā zinātniskajā literatūrā pētījumi par TIMP-4 saistību ar holesteatomu nav atrodami. Tā kā TIMP-4 ir ievērojami vairāk ekspresēts holesteatomas audos nekā TIMP-2, varam secināt, ka neatkarīgi no pacienta vecuma tam ir nozīmīga loma holesteatomas patoģenēzē.

Izvērtējot mūsu iegūtos rezultātus par remodelācijas faktoriem, mēs novērojām, ka šo faktoru ekspresija holesteatomas audos ir variabla (MMP-2 ekspresijai bija palielināšanās tendence, MMP-9 bija tendence samazināties, TIMP-2 tendence bija samazināties, TIMP-4 tendence bija palielināties), salīdzinot ar kontroles grupu. Tas nozīmē, ka tik svarīgais līdzsvars starp MMP un TIMP holesteatomas audos ir izmainīts. Šī līdzsvara izmaiņu rezultātā pacientiem ar holesteatomu rodas audu remodelācija vidusausī. To pamato arī citi pētnieki, kuri izskaidro, ka disbalanss starp MMP un TIMP kompleksiem holesteatomas audos ierosina ECM proteolīzi, kas rada kaulaudu destrukciju pacientiem ar holesteatomu (Schönermark et al., 1996). Šīs izmaiņas ir novērojamas un ir līdzīgas neatkarīgi no pacienta vecuma, ko pierāda līdzīgie remodelācijas faktoru relatīvie daudzumi un līdzīgās savstarpējās korelācijas starp šiem audu marķieriem abu holesteatomas pacientu grupās. Šajā pētījumā novērojām ciešas pozitīvas korelācijas starp visiem remodelācijas faktoriem gan bērnu, gan pieaugušo holesteatomas grupās, kas norāda uz to, ka pastāv regulācija starp tiem.

4.2. Holesteatomas audu proliferācija

Pastiprināta šūnu proliferācija ir viena no galvenajām holesteatomas raksturojošām pazīmēm (Yeşilova et al., 2017). Mēs izmantojām proliferācijas marķieri **Ki-67**, kas ir viens no uzticamākajiem marķieriem, kurš parāda šūnu dalīšanos, kā arī onkoloģijā tiek izmantots, lai noteiktu audzēja agresivitāti (Petrelli et al., 2015). Salīdzinot Ki-67 ekspresiju bērnu un pieaugušo holesteatomas audos, netika novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām. Zinātniskajā literatūrā atrodami pētījumi, kuru rezultāti arī parāda, ka Ki-67 relatīvais daudzums ir līdzīgs gan bērnu, gan pieaugušo holesteatomas audos (Sikka et al., 2012; Mallet et al., 2003). Taču eksistē dažādi viedokļi, piemēram, *Bujía* et al. savā pētījumā uzrāda, ka bērnu holesteatomas šūnu proliferācijas indekss ir lielāks nekā pieaugušajiem (*Bujía* et al., 1996). Atšķirības starp pētījuma rezultātiem, protams, var meklēt arī pētījuma dizainos, tomēr, mūsaprāt, svarīgāks ir aspekts, ko minējuši citi autori. Proti, ne visas holesteatomas būs "aktīvas". *Mallet* et al. savā pētījumā holesteatomas iedalīja divās grupās – aktīvajās un neaktīvajās, kur aktīvajās Ki-67 pozitīvas šūnas būs vērojamas viscaur bazālajam slānim, bet

neaktīvos audzējos Ki-67 pozitīvās šūnas bija neregulāri izkaisītas pa bazālo slāni (Mallet et al., 2003). Neaktīvās holesteatomas uzrāda mazāku proliferācijas indeksu. Tas attiecināms gan bērnu, gan pieaugušo grupām. Arī mūsu pētījumā bija šīs “aktīvās” un “neaktīvās” holesteatomas abās pacientu grupās. Tas atbilst tam, ko piemin *Bujia* et al. savā pētījumā, proti, ka viena indivīda holesteatomas audi nevienādi ekspresē Ki-67 visos redzes laukos.

Mūsu iegūtie rezultāti parāda statistiski nozīmīgu palielinātu relatīvo Ki-67 pozitīvo šūnu daudzumu bērnu un pieaugušo holesteatomas audos, salīdzinot ar kontroles ārējās auss ejas ādu. Līdzīgus rezultātus iegūst arī citi pētnieki (Akdogan et al., 2013; Chung et al., 2015), proti, netika atrasti pētījumi, kuros rezultāti atšķirtos.

Izvērtējot mūsu iegūtos rezultātus, varam secināt, ka holesteatomas šūnu proliferācija nav atkarīga no pacienta vecuma. Mūsu pētījumā abas holesteatomas grupas bija homogēnas, kā arī abās grupās bija vērojamas līdzīgas individuālās izmaiņas starp pacientiem. Turklāt Ki-67 ir uzskatāms par ļoti ticamu proliferācijas marķieri, lai izvērtētu holesteatomas šūnu dalīšanās aktivitāti, un tas uzskatāmi parāda atšķirības starp salīdzināmajiem audiem. Ki-67 ir potenciāli nozīmīgs klīniskajā medicīnā, kur šo marķieri varētu izmantot, lai noteiktu, cik konkrētā pacienta holesteatomas audi spēj proliferēt, proti, izvērtēt šo audu proliferācijas indeksu, kas ļautu prognozēt iespējamo recidīva attīstības ātrumu, un pacientiem ar potenciāli augstāku holesteatomas proliferācijas indeksu atkārtota kontrole, magnētiskā rezonanse vai atkārtota operācija būtu plānojama ātrāk nekā pacientiem ar holesteatomu, kurai ir zems proliferācijas indekss.

4.3. Transkripcijas faktors

NF-κβ ir nozīmīgs šūnu regulējošs faktors. Galvenokārt tas regulē iekaisuma procesus organismā, bet ir saistīts arī ar šūnu proliferāciju un apoptozes procesiem (Schürmann et al., 2022; Giuliani et al., 2018). Salīdzinot bērnu holesteatomas ar pieaugušo holesteatomas audiem un NF-κβ ekspresiju tajos, netika novērotas statistiski ticamas atšķirības starp šīm grupām. No iegūtajiem rezultātiem varam secināt, ka procesi, ko regulē NF-κβ, nav atkarīgi no pacienta vecuma. *Jesic* et al. savā pētījumā arī neatrod atšķirības starp NF-κβ relatīvo daudzumu iegūtajos audos bērnu un pieaugušo hroniska vidusauss iekaisuma gadījumā (tai skaitā holesteatomas audos) (*Jesic* et al., 2014).

Ja salīdzina NF-κβ ekspresiju bērnu un pieaugušo holesteatomas audos ar kontroles ādu, tika novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības. NF-κβ bija statistiski ticami vairāk ekspresēts gan bērnu holesteatomas, gan pieaugušo holesteatomas matriksā, salīdzinot ar kontroles ādas epitēliju. Līdzīgus rezultātus, kur holesteatomas epitēlijā tiek novērota palielināta NF-κβ ekspresija, salīdzinot ar aizauss rajona ādu, pierāda arī citi autori (*Byun* et al., 2010; *Xu* et al.,

2009; Du et al., 2016; Liu et al., 2014). *Byun et al.* arī izvirza pieņēmumu, ka, aktivēts un palielināti izdalīts, NF- κ B ierobežo šūnu apoptozi, kā rezultātā rodas epitēlija šūnu hiperproliferācija, kas ir nozīmīga holestatomas patoģenēzē (*Byun et al.*, 2010). Arī *Liu et al.* savā pētījumā secina, ka palielinātais NF- κ B kopā ar citiem šūnu faktoriem signālu ceļā ierosina holestatomas šūnu hiperproliferāciju (*Liu et al.*, 2014). Mūsu pētījumā tika novērotas ciešas un vidēji ciešas korelācijas bērnu un pieaugušo holestatomas grupās starp NF- κ B un Ki-67. Šie rezultāti līdzinās abu iepriekšminēto autoru secinājumiem par NF- κ B iesaisti šūnu proliferācijas procesā holestatomas gadījumā.

Mūsu pētījumā atradām ciešas korelācijas starp MMP-2, MMP-9 un NF- κ B abu vecumu holestatomas audos. Šos rezultātus var izskaidrot ar citu autoru pētījumiem, kur pierādīts, ka gan holestatomā, gan citos audos NF- κ B ir viens no MMP-2 un MMP-9 regulatoriem (*Schürmann et al.*, 2022) un, aktivējot MMP darbību, tiek stimulēta audzēja augšana, īpaši angiogēze (*Shuman Moss et al.*, 2012). Mēs atradām arī vidēji ciešas un ciešas korelācijas starp NF- κ B un VEGF abās pacientu grupās, kas liecina, ka NF- κ B var ietekmēt angiogēzi holestatomas audos. Šo apgalvojumu apstiprina *Fukudome et al.*, kuri savā pētījumā parāda, ka NF- κ B ierosina VEGF aktivāciju (*Fukudome et al.*, 2013). Zināms, ka VEGF, MMP-2 un MMP-9 savā starpā ir saistīti un gan veicina, gan kavē angiogēzi dažādu audzēju audos (*Zhu et al.*, 2019), un mūsu pētījumā redzamās korelācijas starp šiem faktoriem liecina, ka arī holestatomas audos angiogēzes un audu remodelācijas mehānismi ir līdzīgi un ka viens no šo mehānismu regulatoriem ir NF- κ B. Svarīgi, ka mūsu pētījumā iegūtie rezultāti ir līdzīgi gan bērnu, gan pieaugušo grupās.

NF- κ B galvenokārt tiek minēts saistībā ar iekaisuma regulēšanu. Ir zināms, ka IL-1 dažādos audos aktivē NF- κ B. Aktivētais NF- κ B tālāk veicina iekaisuma gēnu regulāciju un iekaisuma šūnu piesaisti (*Guo et al.*, 2024). IL-10 savukārt caur signālu ceļiem vājina NF- κ B aktivāciju, ierobežojot iekaisuma attīstību (*Li et al.*, 2023). Eksperimentālā pētījumā tika pierādīts, ka pelēm, kurām inhibēta IL-10 darbība, paaugstinās NF- κ B, radot iekaisumu (*Saadane et al.*, 2005). Lai arī šādi pētījumi holestatomas audos nav veikti, tomēr arī mūsu pētījumā konstatējam iekaisuma pārkumu un novērojām samazinātu IL-10 relatīvo daudzumu, salīdzinot ar kontroles audiem. Līdz ar to varam piesardzīgi minēt, ka IL-10 vājinātā darbība holestatomas audos ietekmē to, ka NF- κ B ir palielināts un tas pastiprina iekaisuma procesus. Šo teoriju pastiprina arī ciešās korelācijas starp IL-1, IL-10 un NF- κ B gan bērnu, gan pieaugušo holestatomas audos.

NF- κ B ir iesaistīts ļoti dažādos procesos cilvēka organismā un slimību patoģenēzē (*Giuliani et al.*, 2018), ko novērojām arī mūsu pētījumā. Proti, atklājām šī faktora iesaisti iekaisuma, šūnu proliferācijas, angiogēzes, audu remodelācijas un pretiekaisuma procesos,

izskaidrojot korelācijas ar visiem šajā pētījumā apskatītajiem šūnu faktoriem. Tādējādi atkārtoti norādām uz NF- κ B komplekso un svarīgo darbību arī holesteatomas patoģenēzē.

4.4. Iekaisumu veicinošie un nomācošie citokīni

Netika novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības ne IL-1 α , ne IL-10 relatīvajā daudzumā holesteatomas audos starp bērnu un pieaugušo grupām. Iegūtie rezultāti liecina, ka iekaisumu veicinošo un nomācošo citokīnu darbība un iekaisuma procesa regulācija, ko pamato arī ciešās un ļoti ciešās korelācijas starp IL-1 α un IL-10 abu grupu holesteatomas audos, ir līdzīgas. Tomēr pieejamajā literatūrā trūkst salīdzinošu pētījumu starp bērnu un pieaugušo grupām.

Arī salīdzinot bērnu un pieaugušo grupas ar kontroles grupu, netika novērotas statistiski ticamas atšķirības abu citokīnu relatīvajā daudzumā. **IL-1 α** daudzums holesteatomas audos bija lielāks nekā kontroles grupā, bet ne statistiski ticami. Citu autoru pētījumos IL-1 α daudzums holesteatomas audos bija statistiski ticami palielināts, salīdzinot ar kontroles grupu (Bujía et al., 1996; Kuczkowski et al., 2011; Yetiser et al., 2002; Çandar et al., 2022). Tomēr šie pētījumi veikti ar kvantitatīvajām IL-1 α noteikšanas metodēm *western blot* un ELISA. Mūsu rezultāti ir līdzīgi citu autoru iegūtajiem rezultātiem, jo atradām lielu iekaisuma šūnu infiltrāciju holesteatomas perimatriksā, lai arī no šīm iekaisuma šūnām tikai daļa izdalīja IL-1 α . Tā absolūtais daudzums bija lielāks, nekā kontroles ādā, liecinot par šī citokīna iesaisti iekaisuma uzturēšanā.

Aprakstīts, ka IL-1 α ierosina holesteatomas augšanu un kaulaudu destrūkciju vidusausī pacientiem ar holesteatomu (Bujía et al., 1996; Lee et al., 2010). IL-1 α ierosina osteoklastu darbību un palielina kaula matricas degradāciju (Artono et al., 2020). Zināms, ka MMP-2 un MMP-9 arī ir tiešā veidā saistīti ar kaula matricas bojāšanu holesteatomas gadījumā (Morales et al., 2007; Juhász et al., 2009). Ir pierādīta IL-1 α loma kā MMP-2 un MMP-9 darbības ierosinātājam un sekojošai osteoklastu darbības ierosināšanai (Jia et al., 2021; Kusano et al., 1998). Šie pētījumi izskaidro arī mūsu iegūtos datus. Mūsu pētījumā redzējām korelācijas starp IL-1 α un MMP-2 un MMP-9. Pieņemam, ka holesteatomas audos IL-1 α ir nozīmīgs iekaisumu pastiprinošs faktors, kas var ietekmēt kaulaudu destrūkciju pacientiem ar holesteatomu neatkarīgi no viņu vecuma, jo iegūtās korelācijas bija vērojamas gan bērnu, gan pieaugušo grupās.

Izvērtējot **IL-10** relatīvo daudzumu abās pacientu grupās un kontroles grupā, tika novērots, ka pacientu grupās tas ir mazāks, nekā kontroles grupā, tomēr statistiski ticamas atšķirības starp grupām netika atklātas. Arī *Kuczkowski et al.* savā pētījumā statistiski nozīmīgu atšķirību starp holesteatomas grupu un kontroles grupu neatklāja (Kuczkowski et al., 2011). Citos pētījumos autori piemin, ka samazināts IL-10 daudzums var izraisīt hronisku vidusausu

iekaisumu un ka iekaisumu veicinošajiem un nomācošajiem faktoriem vajadzētu būt līdzsvarā (Juhn et al., 2008; Smirnova et al., 2004). Interesanti, ka mūsu pētījumā tika atrastas ciešas pozitīvas korelācijas starp IL-1 α un IL-10 abās pacientu grupās, taču kontroles grupā – ļoti ciešas, bet negatīvas korelācijas. Šīs atšķirības varētu skaidrot, ka holesteatomas audos starp iekaisumu veicinošajiem un nomācošajiem citokīniem veidojas disregulācija, kā rezultātā veidojas hroniskais iekaisums, radot tālākas izmaiņas audos un audu faktoru darbībā, piemēram, kaulaudu destrukcijā. Šādu pieņēmumu izsaka *Kuczkowski et al.* (Kuczkowski et al., 2011).

IL-10 kā iekaisumu nomācošam citokīnam ir pierādīta MMP-9 inhibējoša darbība, bet tas aktivē TIMP-2 darbību (Mertz et al., 1994; Lee and Kim, 2014). Šī IL-10 funkcija nav pierādīta holesteatomas audos, tomēr, tā kā pētījumu ar IL-10 un tā lomu holesteatomas patoģenēzē ir maz, tad skaidrojumi jāmeklē citur. Mūsu pētījumā atradām ciešas pozitīvas korelācijas starp IL-10 un MMP-9, TIMP-2, TIMP-4 gan bērnu, gan pieaugušo holesteatomas audos. Šie rezultāti varētu liecināt, ka IL-10 ir iesaistīts MMP un TIMP regulācijā arī holesteatomas gadījumā. Tā kā ir zināms, ka IL-1 α regulē MMP darbību, mēs pieņemam, ka jau pierādītā disregulācija starp IL-1 α un IL-10 var ietekmēt arī līdzsvaru starp MMP un TIMP kompleksiem, kas, iespējams, rada kaulu remodelāciju pacientiem ar holesteatomu.

4.5. Cilvēka beta defensīni

Cilvēka iegūto holesteatomu raksturo hronisks bakteriāls iekaisums. Viena no biežāk sastopamajām baktērijām hroniska vidusauss iekaisuma gadījumā ir *P. aeruginosa*, pret kuru **H β D-2** un **H β D-4** rada spēcīgu lokālu antibakteriālu iedarbību (Ricciardiello et al., 2009). Salīdzinot šo abu defensīnu relatīvo daudzumu, bērnu un pieaugušo holesteatomas audos netika novērotas statistiski ticamas atšķirības starp grupām. Pieejamā zinātniskajā literatūrā līdzīgus salīdzinošus pētījumus neizdevās atrast. Pēc mūsu iegūtajiem rezultātiem varam secināt, ka lokālā audu faktoru antimikrobiālā darbība pacientiem ar holesteatomu nav atkarīga no pacienta vecuma.

Ja salīdzina H β D-2 relatīvo daudzumu abu grupu pacientu holesteatomās un kontroles ādā, tika novērota statistiski nozīmīgi palielināta H β D-2 ekspresija holesteatomas perimatriksā. Arī epitēlija slānī holesteatomas gadījumā bija vērojams palielināts H β D-2 daudzums, tomēr tas nerasniedza statistiski ticamu daudzumu. Mūsu pētījuma dati sakrīt ar citu autoru rezultātiem, kur H β D-2 ir vairāk izdalīts holesteatomas grupā, salīdzinot ar kontroles audiem (Park et al., 2003; Ren et al., 2005; Song et al., 2007). Šos rezultātus pamato pētījumi, kur pierādīts, ka H β D-2 palielinātu ekspresiju audos ierosina citokīni un baktērijas (Meyer et al., 2000; Harder et al., 2000). Arī mūsu pētījumā atrodam līdzīgas ļoti ciešas un ciešas korelācijas

bērnu un pieaugušo holesteatomas gadījumā starp H β D-2 un IL-1 α , kā arī starp H β D-2 un NF- κ β un starp NF- κ β un IL-1 α . Šī saistība starp iepriekš uzskaitītajiem faktoriem nav nejauša un ir parādīta arī citos pētījumos, kur IL-1 α atklāts kā H β D-2 darbības ierosinātājs, bet NF- κ β ir šī procesa regulators (Moon et al., 2002; Wehkamp et al., 2006). Izvērtējot pretiekaisuma darbību holesteatomā, atradām līdzīgas korelācijas starp H β D-2 un IL-10 holesteatomas perimatriksā, kur ir daudz leukocītu gan bērnu, gan pieaugušo grupās, kas varētu nozīmēt, ka pretiekaisuma darbībā abi šie faktori palīdz viens otram. Mūsu iegūtos rezultātus palīdz izskaidrot *Kanda et al.*, kuri pierāda, ka H β D-2 stimulē IL-10 darbību T šūnās (*Kanda et al.*, 2011). No šiem rezultātiem varam secināt, ka H β D-2 ir nozīmīgs antimikrobiālais peptīds, kas iesaistīts iekaisuma veicinošā un nomācošā regulācijā, un tā darbība ir līdzīga visu vecumu pacientiem ar holesteatomu.

Interesantus rezultātus ieguvām, salīdzinot H β D-4 daudzumu abu pacientu un kontroles grupās. Lai arī tendence H β D-4 daudzumam samazināties novērojama tikai bērnu holesteatomas matriksā, salīdzinot ar kontroles grupas epitēliju, tomēr arī pieaugušo grupā H β D-4 relatīvais daudzums bija mazāks nekā kontroles grupā. Pēc mums pieejamās informācijas, mūsu pētījums ir vienīgais, kur ir izvērtēts H β D-4 holesteatomas audos un veikta salīdzināšana starp dažādu vecumu pacientu grupām un kontroles audiem. Tika gan atrasts pētījums, kur hroniska periodontīta gadījumā H β D-4 daudzums gļotādā nebija atšķirīgs no veselajiem audiem (*Li et al.*, 2016). Vēl citos pētījumos tika izanalizēts, ka tādi šūnu faktori kā IL-1, IL-6, INF- α , INF- γ nepalielina H β D-4 ekspresiju elpceļu epitēlijā, salīdzinot ar kontroles audiem, kā arī lipopolisaharīdu radītā ādas iekaisumā H β D-4 līmenis nepaaugstinās un ir līdzīgs kontroles audiem (*Poiraud et al.*, 2012; *García et al.* 2001). Balstoties uz šiem datiem, tika izvirzīta teorija, ka H β D-4 nepiedalās šūnu ierosinātā imūnā reakcijā (*Li et al.*, 2016). Mūsu pētījumā iegūtie rezultāti pamato šo teoriju, jo gan bērnu, gan pieaugušo holesteatomas audos korelācijas starp H β D-4 un, piemēram, IL-1, IL-10, NF- κ β vai remodelācijas faktoriem, nebija, kā arī kopējās korelācijas starp faktoriem bija vien ļoti nelielā apjomā (salīdzinot ar H β D-2).

Lai arī pētījumi par cilvēka beta defensīnu darbību holesteatomas audos ir ļoti maz, tomēr, izskatot visus pētījumus, var secināt, ka no pētītajiem cilvēka beta defensīniem tieši H β D-2 ir visaktīvāk ekspresētais holesteatomas audos. Tā, piemēram, *Song et al.* parāda H β D-2 lielāku aktivitāti holesteatomas audos, nekā tāda ir H β D-3, un *Park et al.* parāda, ka H β D-2 ir aktīvāks par H β D-1 (*Song et al.*, 2007; *Park et al.*, 2003). Visbeidzot, mūsu pētījumā iegūtie rezultāti pārliecinoši parāda, ka H β D-2 ir vairāk izdalīts abu vecumu holesteatomas audos, ja salīdzina ar H β D-4. Secinām, ka H β D-2 ir nozīmīgāks antimikrobiālais peptīds holesteatomas gadījumā nekā H β D-4, un to pamato ievērojami lielāks korelāciju daudzums starp H β D-2 un citiem audu faktoriem gan bērnu, gan pieaugušo holesteatomas gadījumā.

4.6. Vaskulārais endoteliālais augšanas faktors

Angioģenēze ir svarīga, lai holesteatoma varētu augt un izplatīties vidusausī (Hamed et al., 2019). Salīdzinot bērnu grupu ar pieaugušo grupu, netika novērotas statistiski nozīmīgas atšķirības VEGF ekspresijā. Līdz ar to varam secināt, ka angioģenēze bērnu un pieaugušo holesteatomas audos ir līdzīga un nav vecuma atkarīga.

Salīdzinot kontroles grupu ar abu pacientu grupām, statistiski nozīmīgas atšķirības nebija vērojamas. Tomēr tika novērota tendence, ka ārējās auss ejas ādas epitēlijā VEGF relatīvais daudzums bija lielāks, nekā pieaugušo pacientu holesteatomas matriksā. Bērniem šāda tendence nebija, taču VEGF pozitīvo šūnu daudzums bija mazāks nekā kontroles grupā. Šie rezultāti atšķiras no citu autoru pētījumiem, piemēram, Zang et al. savā pētījumā parāda, ka VEGF holesteatomas matriksā ir vairāk, nekā ādas epitēlijā (Zang et al., 2019). Rezultātu atšķirību varētu noteikt fakts, ka Zang et al. savā pētījumā izmantoja *western blot* metodi VEGF noteikšanai, kas parāda atšķirīgus no mūsu iegūtajiem faktoriem koncentrācijas rezultātus. Jāpiemin, ka mūsu iegūtos rezultātus varētu izskaidrot ar citu audzēju pētījumiem. Šeit jāmin bazālo šūnu karcinoma, kur epitēlija slānī VEGF daudzums ir samazināts, kā arī VEGF dažādu citu epiteliālu audzēju gadījumā tiek sekretēts ekstracelulārajā telpā. Zināms, ka VEGF tiek sekretēts parakrīni arī holesteatomas gadījumā, kur keratinocīti izdala VEGF, kas nonāk perimatriksā un ierosina angioģenēzi (Fukudome et al., 2013). Tas varētu izskaidrot, kāpēc mūsu pētījumā VEGF pozitīvo šūnu daudzums matriksā ir mazāk nekā kontroles ādas epitēlijā. Šo apstiprina arī mūsu pētījumā iegūtās ciešās korelācijas starp VEGF matriksā un VEGF perimatriksā abu vecumgrupu pacientu holesteatomas audos.

Ja salīdzina mūsu pētījumā aktuālo VEGF relatīvo daudzumu holesteatomas perimatriksā un kontroles zemādas saistaudos, arī šeit nevērojām statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām. Tomēr citos pētījumos rezultāti parāda VEGF izdales palielinājumu, salīdzinot ar kontroles grupu. Tā, piemēram, Fukudome et al. savā pētījumā parāda VEGF palielināto daudzumu perimatriksā, salīdzinot ar kontroles audiem (Fukudome et al., 2013). Šajā gadījumā pacientu skaits bija neliels, kas varētu ietekmēt rezultātus. Sudhoff et al. savā pētījumā parāda, ka asinsvadu daudzums un VEGF ekspresija holesteatomas gadījumā ir lielāka, nekā kontroles ādā (Sudhoff et al., 2000). Šīs atšķirības starp pētījumiem varam izskaidrot ar faktu, ka mūsu pētījumā perimatriksā skatījāmies tikai endoteliocītus. Asinsvadu daudzums, ja salīdzina ar kontroles grupas zemādu, holesteatomas gadījumā bija ievērojami lielāks, tomēr ne visi endoteliocīti šajos asinsvados izdalīja VEGF un tā relatīvais daudzums nebija lielāks kā kontroles zemādas pozitīvo endoteliocītu relatīvais daudzums. Pētot absolūto asinsvadu un VEGF pozitīvo šūnu daudzumu, iespējams, rezultāti ar citu autoru iegūtajiem datiem būtu līdzīgi. Tomēr savā pētījumā pieturējamies pie vienas izvērtēšanas sistēmas visiem marķieriem.

Būtiski, ka neoangiogēnēze holesteatomas gadījumā ir ievērojami izteiktāka holesteatomas audos, salīdzinot ar kontroles ādu (Olszewska et al., 2004).

Korelācijas starp VEGF un MMP-2, MMP-9 un NF- κ B norāda uz šī šūnu faktora nozīmi dažādos holesteatomas procesos, kā audu remodelācija un angiogēnēze (Fukudome et al., 2013; Zhu et al., 2019).

4.7. *Sonic hedgehog* gēna proteīns

SHH gēna proteīna relatīvais daudzums bērnu un pieaugušo holesteatomas audos bija līdzīgs un nerasniedza statistiski nozīmīgas atšķirības. Šis ir pirmais pētījums, kas izvērtē šī gēna proteīna daudzumu holesteatomas audos, un pirmo reizi tika veikta faktora atrades salīdzināšana starp dažāda vecuma pacientu grupām.

Salīdzinot SHH gēna proteīnu abās holesteatomas grupās un kontroles grupas ādā, ieguvām statistiski nozīmīgu palielinātu SHH relatīvo daudzumu abu grupu holesteatomas perimatriksā. Holesteatomas matriksā SHH relatīvais daudzums, salīdzinot ar ādas epitēliju, nerasniedza statistiski nozīmīgas atšķirības.

SHH gēns saistīts arī ar auss attīstību, tā, piemēram, SHH zudums ietekmē ārējās un vidusauss attīstību (Rees and Gillis, 2022; Grevellec et al., 2011). Pierādīts, ka SHH palielināts daudzums ir gan ļaundabīgos audzējos, gan arī priekšvēža stāvokļos mutes dobumā (Gonzalez et al., 2016; Takabatake et al., 2019). Arī citās orgānu sistēmās SHH daudzums audzēju šūnās ir palielināts, salīdzinot ar kontroles audiem, kā arī pierādīts, ka tas ir saistīts ar audzēja augšanu (Jing et al., 2023). Zināms, ka perimatriks holesteatomas gadījumā ir nozīmīgs holesteatomas agresivitātei un augšanai, tajā atrodas daudz iekaisuma šūnu, kā arī šis ir holesteatomas slānis, kas ir tiešā kontaktā ar apkārtējiem veselīgiem audiem (Dornelles et al., 2006). *Dornelles* et al. savā pētījumā korelēja perimatriksa biezumu ar holesteatomas agresivitāti, – jo biežāks perimatriks, jo lielāka iekaisuma šūnu infiltrācija un lielāka audzēja agresivitāte apkārtējiem audiem.

Novērojumi par perimatriksa nozīmi holesteatomas agresivitātē, kā arī pētījumi par SHH saistību ar audzēju augšanu un fakts, ka SHH ir palielināts gan ļaundabīgos, gan labdabīgos agresīvos veidojumos, piemēram, priekšvēža stāvokļos mutes dobumā un arī holesteatomas gadījumā, norāda, ka SHH ir nozīmīga loma holesteatomas patoģenēzē. Pieļaujam, ka SHH ietekmē perimatriksa augšanu, tādējādi pastiprinot arī pašas holesteatomas augšanu un tās destruktīvo ietekmi uz vidusauss apkārtējiem audiem. Svarīgi, ka šie procesi ir līdzīgi gan bērnu, gan pieaugušo holesteatomas audos.

Apkopojot mūsu iegūtos rezultātus, varam secināt, ka šī darba izvirzītā hipotēze neapstiprinās, proti, netika atrastas atšķirības starp audu remodelāciju, proliferāciju, iekaisuma

veicinošo un nomācošo darbību, kā arī regulāciju, audu vietējo aizsardzību, angiogēnēzi un *Sonic hedgehog* gēna proteīna ekspresiju holesteatomas audos **dažāda vecuma pacientiem. Tika uzskatāmi pierādīts, ka morfoloģiskā aina gan bērnu, gan pieaugušo holesteatomas audos ir līdzīga un dažādu audu faktoru izdale ir vairāk līdzīga nekā atšķirīga.** To pierāda līdzīgie audu marķieru relatīvie daudzumi, līdzīgās korelācijas starp audu faktoriem, kā arī to līdzīgās variācijas holesteatomas audos abās vecumgrupās. Secinājumus, ka bērnu un pieaugušo holesteatomas audi morfoloģiski nav atšķirīgi, ieguvuši arī citi pētnieki (Sikka et al., 2012; Welkoborsky et al., 2007; Dornelles et al., 2006). Tomēr eksistē arī atšķirīgi viedokļi, kad pētījumos atklātas atšķirības starp bērnu un pieaugušo grupām dažādiem audu marķieriem, secinot, ka bērnu holesteatoma ir agresīvāka nekā pieaugušo (Bujía et al., 1996; Dornelles et al., 2009). Nav noliedzams, ka bērniem šī slimība norit agresīvāk un ka ir biežāks recidīvu skaits, ko parāda arī daudzie klīniskie (salīdzinot ar mazo morfoloģisko pētījumu skaitu) un radioloģiskie pētījumi (Jackson et al., 2018; Kalia et al., 2022; Lima et al., 2020; Lynrah et al., 2013). Tomēr mēs morfoloģiskas atšķirības starp šīm grupām neatradām. Klīnisko slimības gaitu starp bērnu un pieaugušo grupām var ietekmēt tādas atšķirības kā daudz biežākas augšējo elpceļu saslīmšanas un vidusauss iekaisumi bērniem, atšķirības aizauss paugura pneimatizācijā un šūnu attīstībā, Eistahija kanāla anatomiskās atšķirības, kā arī hormonālās darbības variācijas (Preciado et al., 2012).

Salīdzinot abas pētāmās pacientu grupas, apzināmies, ka bērni (īpaši vecākie) fizioloģiski līdzinās pieaugušajiem (īpaši jaunākajiem) un, protams, korektāks būtu iedalījums pēc ādas nobriešanas, kas tāda kļūst apmēram septiņu gadu vecumā, taču mēs vadījāmies pēc valstī pieņemtās vecuma iedalījuma skalas.

Pētījumam ir arī savi ierobežojumi. Lai arī IHĶ un puskvantitatīvā audu izvērtēšanas metode ir precīza un plaši lietota pētniecībā, tomēr ar šīm metodēm nevaram noteikt marķieru koncentrācijas pētāmos audos, kas ļautu precīzāk salīdzināt grupas, īpaši pētāmās grupas ar kontroles grupu. Tādas metodes kā ELISA un *Western blot* būtu noderīgas vēl precīzāku rezultātu noteikšanai. Kā vēl viens ierobežojums jāmin relatīvi mazais kontroles grupas pacientu skaits, kā arī tas, ka audi ņemti no mirušu cilvēku ķermeņiem, tomēr ētiskie apstākļi nosaka tieši šīs grupas materiāla izvēli.

Secinājumi

1. Holesteatomas matricisa hiperproliferācija, variablais perimatrikss un neoangiogēnēze ar iekaisuma šūnu infiltrāciju ir ar vecumu nesaistītas holesteatomas nespecifiskās audu pārmaiņas.
2. Variablā remodelācijas faktoru ekspresija (MMP-2 un īpaši TIMP-4 pozitīvo struktūru palielināšanās tendence, bet MMP-9 un TIMP-2 samazināšanās tendence) holesteatomas audos norāda ar vecumu nesaistītu remodelācijas faktoru disbalansu ar specifisku, galvenokārt kompensatoru, TIMP-4 iesaisti.
3. Statistiski ticami palielinātais Ki-67 holesteatomas šūnu daudzums norāda audzēja agresivitāti, kas gan ir variabla pat viena veidojuma ietvaros un nekorelē ar vecumu.
4. NF- κ B izteiktā atrade holesteatomas epitēlijā un ciešās korelācijas ar Ki-67, IL-1 α , IL-10, MMPs un VEGF norāda uz iekaisuma modelētu epitēlija proliferāciju, saglabātu balansu starp iekaisuma veicinošajiem un nomācošajiem citokīniem, aktīvu remodelāciju išēmijas stimulētas neoangiogēnēzes apstākļos longitūdinālā aspektā.
5. IL-1 α pozitīvo struktūru skaita palielināšanās tendence un IL-10 pozitīvo šūnu skaita samazināšanās tendence holesteatomas audos norāda uz nelielu audzējam raksturīgu kopējo iekaisuma veicinošo un nomācošo citokīnu disbalansu.
6. Statistiski ticami palielinātais H β D-2 pozitīvo šūnu daudzums holesteatomas perimatriksā un tā palielināšanās tendence epitēlijā līdztekus ciešai korelācijai ar IL-10 norāda kopēju, no vecuma neatkarīgu lokālās audu aizsardzības faktoru intensifikāciju.
7. SHH pozitīvo šūnu statistiski ticami palielinātais daudzums holesteatomas perimatriksā norāda šī gēna proteīna intensifikāciju audzēja augšanā, lai gan ar vēl neskaidru morfopatogēnētisko iesaistes ceļu.
8. Bērnu un pieaugušo holesteatomas audos, bez nelielām individuālām variācijām, **praktiski neatšķiras audu remodelācijas, šūnu proliferācijas, iekaisuma veicinošo un nomācošo citokīnu un antimikrobo aizsardzības proteīnu izdale, angiogēnēzes procesi un SHH gēna proteīna stimulācija.**

Priekšlikumi

Cilvēka iegūta holesteatoma norit ar relatīvi agresīvu gaitu. Būtu nepieciešams vairāk pētījumu, kas izvērtē **slimības klīniskās gaitas un deniņu kaula individuālās anatomijas korelāciju ar dažādiem audu marķieriem**. Šādi pētījumi varētu palīdzēt labāk definēt audu marķierus, kurus varētu izmantot ikdienas praksē, tas palīdzētu labāk izprast un prognozēt slimības norisi konkrētam pacientam, kā arī nodrošinātu labāku slimības kontroli jau pēc operācijas.

Šobrīd strauji attīstās gēnu pētījumi, kas paver iespējas **izvērtēt dažādu gēnu iesaisti** arī holesteatomas attīstībā.

Visbeidzot, holesteatomas vienīgā ārstēšanas iespēja ir tās ķirurģiska ekscīzija, tomēr būtu nepieciešams **veikt tālākus pētījumus dažādu lokālu vai sistēmisku medikamentu izstrādē**, kas varētu samazināt holesteatomas recidīvu biežumu.

Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu

Publikācijas, kas iekļautas datu bāzēs (*Scopus, Web of Science, ERIH PLUS*):

1. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2024. Comparison of Tissue Factors in the Ontogenetic Aspects of Human Cholesteatoma. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 14(6), 662. doi:10.3390/diagnostics14060662
2. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2023. Morphopathogenesis of Adult Acquired Cholesteatoma. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 59(2), 306. doi:10.3390/medicina59020306
3. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2022. Remodeling Factors, Transcription Factors and Angiogenetic Factors in Cholesteatoma in Ontogenetic Aspect. *Iranian journal of otorhinolaryngology*, 34(121), 71–81. doi:10.22038/IJORL.2021.53716.2842
4. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2021. Complex Evaluation of Tissue Factors in Pediatric Cholesteatoma. *Children (Basel, Switzerland)*, 8(10), 926. doi:10.3390/children8100926

Ziņojumi un tēzes:

1. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2024. Morphological comparison of paediatric and adult acquired cholesteatoma. 11th Baltic Morphology Meeting. Riga, Latvia. Abstracts, 13.–15.11.2024., 25 (Mutiska prezentācija).
2. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2024. Comparison of Adult and Children Acquired Cholesteatoma. 7th Congress of European ORL-HNS. Dublin, Ireland. 15.–19.06.2024. (Mutiska prezentācija).
3. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2023. Morphological differences between an adult and pediatric acquired cholesteatoma. 8th Baltic ENT congress. Vilnius, Lithuania. 09.–10.06.2023. (Mutiska prezentācija).
4. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2023. Comparison of proliferation and remodeling markers in adult and pediatric cholesteatoma. 16th Congress of the European Society of Pediatric Otorhinolaryngology. Liverpool, United Kingdom. 20.–23.05.2023. (Mutiska prezentācija).
5. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2023. Morphological Characterisation of Paediatric and Adult Acquired Cholesteatoma. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice” 29.–31.03.2023. (Mutiska prezentācija).
6. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2023. Immunohistochemical comparison of adult and children cholesteatoma. International Practical Ophthalmology. Medical and Environmental Problems of our Days: Collection of Works International Scientific and Practical Interdisciplinary Conference. State Institution “National Research Center for Radiation medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”. Abstracts, 23.–24.02.2023., 31–33 (Mutiska prezentācija).
7. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2021. Transcription and remodelling factors in the development of cholesteatoma from an ontogenetic aspect compared to deep external ear skin controls. Rīga Stradiņš University International Research Conference on Medical and Health Care Sciences “Knowledge for Use in Practice”. Abstracts, 24.–26.03.2021., 430 (Stenda referāts).
8. **Damberg, K.**, Sumeraga, G., Pilmane, M. 2021. Proliferation markers, remodelling factors and antimicrobial peptides in cholesteatoma. The 15th Congress of the European Society of Pediatric Otorhinolaryngology. Marseille, France. 13.–16.02.2021. (Stenda referāts).

Literatūras saraksts

1. Açar, G. and Çiçekcibaşı, A. E. 2021. Surgical Anatomy of the Temporal Bone. *IntechOpen*. Iegūts no: doi: 10.5772/intechopen.93223 [skatīts 29.01.2024.]
2. Akdogan, V., Yilmaz, I., Canpolat, T. and Ozluoglu, L. N. 2013. Role of Langerhans cells, Ki-67 protein and apoptosis in acquired cholesteatoma: prospective clinical study. *The Journal of laryngology and otology*, 127(3), 252–259.
3. Al-Shehri, A. M., Sr, Al-Zomia, A. S., Alayash, A. F., M Al Hunaif, A., A Mansour, A., Alqahtani, M., A Asiri, O. and A Alserhan, S. 2021. Association Between Acute Otitis Media and Inner Ear Disorders Among Adults in Aseer Region. *Cureus*, 13(11), e19556.
4. Amălinei, C., Căruntu, I. D., Giuşcă, S. E. and Bălan, R. A. 2010. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions. *Romanian journal of morphology and embryology*, 51(2), 215–228.
5. Anthwal, N. and Thompson, H. 2016. The development of the mammalian outer and middle ear. *Journal of anatomy*, 228(2), 217–232.
6. Araz Server, E., Kalaycık Ertugay, Ç., Baykal Koca, S., Longur, E. S., Yiğit, Ö., Demirhan, H. and Çakır, Y. 2019. Predictive Role of Ki-67 and Proliferative-Cell Nuclear Antigen (PCNA) in Recurrent Cholesteatoma. *The journal of international advanced otology*, 15(1), 38–42.
7. Artono, Surarto, B., Purnami, N., Hutahaen, F. and Mahardhika, M. R. 2020. The Association of IL-1 Alpha Level and TNF Alpha Expressions on Bone Destruction in Chronic Suppurative Otitis Media and Cholesteatoma. *Indian journal of otolaryngology and head and neck surgery: official publication of the Association of Otolaryngologists of India*, 72(1), 1–7.
8. Aslier, M., Erdag, T. K., Sarioglu, S., Güneri, E. A., İkiz, A. O., Uzun, E. and Özer, E. 2016. Analysis of histopathological aspects and bone destruction characteristics in acquired middle ear cholesteatoma of pediatric and adult patients. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 82, 73–77.
9. Banerjee, A. R., James, R. and Narula, A. A. 1998. Matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in cholesteatoma and deep meatal skin. *Clinical otolaryngology and allied sciences*, 23(4), 345–347.
10. Baráth, K., Huber, A. M., Stämpfli, P., Varga, Z. and Kollias, S. 2011. Neuroradiology of cholesteatomas. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 32(2), 221–229.
11. Barrat, F. J., Cua, D. J., Boonstra, A., Richards, D. F., Crain, C., Savelkoul, H. F., de Waal-Malefyt, R., Coffman, R. L., Hawrylowicz, C. M. and O'Garra, A. 2002. In vitro generation of interleukin 10-producing regulatory CD4(+) T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1)- and Th2-inducing cytokines. *The Journal of experimental medicine*, 195(5), 603–616.
12. Barton, B. and Peat, J. K. 2014. *Medical statistics: a guide to SPSS, data analysis and critical appraisal / Belinda Barton, Jennifer Peat*. Chester, West Sussex; Hoboken, NJ: Wiley Blackwell/BMJ Books. Iegūts no: via GoogleBooks [skatīts: 15.03.2024]
13. Belo, V. A., Pereira, J. A., Souza, S. F. D., Tana, F. L., Pereira, B. P., Lopes, D. O., Ceron, C. S., Novaes, R. D., Corsetti, P. P. and de Almeida, L. A. 2021. The role of IL-10 in immune responses against *Pseudomonas aeruginosa* during acute lung infection. *Cell and tissue research*, 383(3), 1123–1133.
14. Berda-Haddad, Y., Robert, S., Salers, P., Zekraoui, L., Farnarier, C., Dinarello, C. A., Dignat-George, F. and Kaplanski, G. 2011. Sterile inflammation of endothelial cell-derived apoptotic bodies is mediated by interleukin-1 α . *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(51), 20684–20689.
15. Bergers, G., Brekken, R., McMahon, G., Vu, T. H., Itoh, T., Tamaki, K., Tanzawa, K., Thorpe, P., Itohara, S., Werb, Z. and Hanahan, D. 2000. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nature cell biology*, 2(10), 737–744.

16. Bhutta, M. F., Williamson, I. G. and Sudhoff, H. H. 2011. Cholesteatoma. *BMJ (Clinical research ed.)*, 342, d1088.
17. Byun, J. Y., Yune, T. Y., Lee, J. Y., Yeo, S. G. and Park, M. S. 2010. Expression of CYLD and NF-kappaB in human cholesteatoma epithelium. *Mediators of inflammation*, 2010, 796315.
18. Blaess, S., Szabó, N., Haddad-Tóvolli, R., Zhou, X. and Álvarez-Bolado, G. 2015. Sonic hedgehog signaling in the development of the mouse hypothalamus. *Frontiers in neuroanatomy*, 8, 156.
19. Bovi, C., Luchena, A., Bivona, R., Borsetto, D., Creber, N. and Danesi, G. 2023. Recurrence in cholesteatoma surgery: what have we learnt and where are we going? A narrative review. *Acta otorhinolaryngologica Italica : organo ufficiale della Societa italiana di otorinolaringologia e chirurgia cervico-facciale*, 43(Suppl 1), S48–S55.
20. Brew, K. and Nagase, H. 2010. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. *Biochimica et biophysica acta*, 1803(1), 55–71.
21. Britze, A., Møller, M. L. and Ovesen, T. 2017. Incidence, 10-year recidivism rate and prognostic factors for cholesteatoma. *The Journal of laryngology and otology*, 131(4), 319–328.
22. Bujía, J., Holly, A., Antolí-Candela, F., Tapia, M. G. and Kastenbauer, E. 1996. Immunobiological peculiarities of cholesteatoma in children: quantification of epithelial proliferation by MIB1. *The Laryngoscope*, 106(7), 865–868.
23. Bujía, J., Holly, A., Stammberger, M. and Sudhoff, H. 1996. Angiogenesis in cholesteatoma of the middle ear. *Acta otorrinolaringologica espanola*, 47(3), 187–192.
24. Bujía, J., Kim, C., Ostos, P., Sudhoff, H., Kastenbauer, E. and Hültner, L. 1996. Interleukin 1 (IL-1) and IL-1-receptor antagonist (IL-1-RA) in middle ear cholesteatoma: an analysis of protein production and biological activity. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 253(4-5), 252–255.
25. Cabral-Pacheco, G. A., Garza-Veloz, I., Castruita-De la Rosa, C., Ramirez-Acuña, J. M., Perez-Romero, B. A., Guerrero-Rodriguez, J. F., Martinez-Avila, N. and Martinez-Fierro, M. L. 2020. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. *International journal of molecular sciences*, 21(24), 9739.
26. Çandar, T., Baklaci, D., Bilgin, E., Erdem, D. and Dalgıç, M. 2022. Investigation of EGF, IL1- α and IL-6 levels and selected hematological parameters (NLR, MPV) in patients with the chronic cholesteatomatous otitis media. *Acta biochimica Polonica*, 69(3), 633–637.
27. Carballo, G. B., Honorato, J. R., de Lopes, G. P. F. and Spohr, T. C. L. S. E. 2018. A highlight on Sonic hedgehog pathway. *Cell communication and signaling : CCS*, 16(1), 11.
28. Chakrabarti, S. and Patel, K. D. 2005. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in pulmonary pathology. *Experimental lung research*, 31(6), 599–621.
29. Chiang, C., Litingtung, Y., Lee, E., Young, K. E., Corden, J. L., Westphal, H. and Beachy, P. A. 1996. Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function. *Nature*, 383(6599), 407–413.
30. Chintalgattu, V., Nair, D. M. and Katwa, L. C. 2003. Cardiac myofibroblasts: a novel source of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors Flt-1 and KDR. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 35(3), 277–286.
31. Christensen, J. and Shastri, V. P. 2015. Matrix-metalloproteinase-9 is cleaved and activated by cathepsin K. *BMC research notes*, 8, 322.
32. Chung, J. H., Lee, S. H., Park, C. W., Kim, K. R., Tae, K., Kang, S. H., Oh, Y. H. and Pyo, J. Y. 2015. Expression of Apoptotic vs Antiapoptotic Proteins in Middle Ear Cholesteatoma. *Otolaryngology--head and neck surgery*, 153(6), 1024–1030.
33. Cieřlik, M., Bagińska, N., Górski, A. and Jończyk-Matysiak, E. 2021. Human β -Defensin 2 and Its Postulated Role in Modulation of the Immune Response. *Cells*, 10(11), 2991.

34. Coates-Park, S., Rich, J. A., Stetler-Stevenson, W. G. and Peeney, D. 2024. The TIMP protein family: diverse roles in pathophysiology. *American journal of physiology. Cell physiology*, 326(3), C917–C934.
35. Corrales, C. E. and Blevins, N. H. 2013. Imaging for evaluation of cholesteatoma: current concepts and future directions. *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*, 21(5), 461–467.
36. Costanzo, L., Soto, B., Meier, R. and Geraghty, P. 2022. The Biology and Function of Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 2 in the Lungs. *Pulmonary medicine*, 2022, 3632764.
37. Crocker, S. J., Pagenstecher, A. and Campbell, I. L. 2004. The TIMPs tango with MMPs and more in the central nervous system. *Journal of neuroscience research*, 75(1), 1–11.
38. Cui, N., Hu, M. and Khalil, R. A. 2017. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Progress in molecular biology and translational science*, 147, 1–73.
39. Dai, W. J., Köhler, G. and Brombacher, F. 1997. Both innate and acquired immunity to *Listeria monocytogenes* infection are increased in IL-10-deficient mice. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 158(5), 2259–2267.
40. Dannatt, P. and Jassar, P. 2013. Management of patients presenting with otorrhoea: diagnostic and treatment factors. *The British journal of general practice: the journal of the Royal College of General Practitioners*, 63(607), e168–e170.
41. Deptuła, J., Tokarz-Deptuła, B., Deptuła W., et al. 2019. Defensins in humans and animals. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, 73(null), 152–158. Iegūts no: doi: 10.5604/01.3001.0013.1135 [skatīts 22.03.2024.]
42. Discher, D. E., Janmey, P. and Wang, Y. L. 2005. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. *Science (New York, N.Y.)*, 310(5751), 1139–1143.
43. Dornelles, C., Costa, S. S., Meurer, L. and Schweiger, C. 2005. Some considerations about acquired adult and pediatric cholesteatomas. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 71(4), 536–545.
44. Dornelles, C., Meurer, L., Selaimen da Costa, S. and Schweiger, C. 2006. Histologic description of acquired cholesteatomas: comparison between children and adults. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 72(5), 641–648.
45. Dornelles, C.deC., da Costa, S. S., Meurer, L., Rosito, L. P., da Silva, A. R. and Alves, S. L. 2009. Comparison of acquired cholesteatoma between pediatric and adult patients. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 266(10), 1553–1561.
46. Du, L., Xie, Y. D. and Liu, M. 2016. Expression and significance of PDK1 and NF-κB in the middle ear cholesteatoma. *Journal of clinical otorhinolaryngology, head, and neck surgery*, 30(10), 770–773.
47. Echelard, Y., Epstein, D. J., St-Jacques, B., Shen, L., Mohler, J., McMahon, J. A. and McMahon, A. P. 1993. Sonic hedgehog, a member of a family of putative signaling molecules, is implicated in the regulation of CNS polarity. *Cell*, 75(7), 1417–1430.
48. Ezhilarasan, R., Jadhav, U., Mohanam, I., Rao, J. S., Gujrati, M. and Mohanam, S. 2009. The hemopexin domain of MMP-9 inhibits angiogenesis and retards the growth of intracranial glioblastoma xenograft in nude mice. *International journal of cancer*, 124(2), 306–315.
49. Ferrara, N., Carver-Moore, K., Chen, H., Dowd, M., Lu, L., O'Shea, K. S., Powell-Braxton, L., Hillan, K. J. and Moore, M. W. 1996. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature*, 380(6573), 439–442.
50. Ferrara, N., Gerber, H. P. and LeCouter, J. 2003. The biology of VEGF and its receptors. *Nature medicine*, 9(6), 669–676.
51. Ferrara, N., Houck, K., Jakeman, L. and Leung, D. W. 1992. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocrine reviews*, 13(1), 18–32.
52. Fischer, A. H., Jacobson, K. A., Rose, J. and Zeller, R. 2008. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *CSH protocols*, 2008, pdb.prot4986.

53. Flohr, S. and Schultz, M. 2009. Mastoiditis – paleopathological evidence of a rarely reported disease. *American journal of physical anthropology*, 138(3), 266–273.
54. Fontes Lima, A., Carvalho Moreira, F., Sousa Menezes, A., Esteves Costa, I., Azevedo, C., Sá Breda, M. and Dias, L. 2020. Is pediatric cholesteatoma more aggressive in children than in adults? A comparative study using the EAONO/JOS classification. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 138, 110170.
55. Forthofer, R., Lee, E. S. and Hernandez, M. (Eds.). 2007. Descriptive methods. In: Forthofer, R., Lee, E. S. and Hernandez, M., ed. *Biostatistics (Second Edition)*. Academic Press, 21–69. Iegūts no doi.org/10.1016/B978-0-12-369492-8.50008-X. [skatīts 15.03.2024.]
56. Frank, S., Hübner, G., Breier, G., Longaker, M. T., Greenhalgh, D. G. and Werner, S. 1995. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing. *The Journal of biological chemistry*, 270(21), 12607–12613.
57. Fruitwala, S., El-Naccache, D. W. and Chang, T. L. 2019. Multifaceted immune functions of human defensins and underlying mechanisms. *Seminars in cell & developmental biology*, 88, 163–172.
58. Fukudome, S., Wang, C., Hamajima, Y., Ye, S., Zheng, Y., Narita, N., Sunaga, H., Fujieda, S., Hu, X., Feng, L. and Lin, J. 2013. Regulation of the angiogenesis of acquired middle ear cholesteatomas by inhibitor of DNA binding transcription factor. *JAMA otolaryngology – head & neck surgery*, 139(3), 273–278.
59. García, J. R., Krause, A., Schulz, S., Rodríguez-Jiménez, F. J., Klüver, E., Adermann, K., Forssmann, U., Frimpong-Boateng, A., Bals, R. and Forssmann, W. G. 2001. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *FASEB journal*, 15(10), 1819–1821.
60. Garlanda, C., Dinarello, C. A. and Mantovani, A. 2013. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity*, 39(6), 1003–1018.
61. Gerber, H. P., Vu, T. H., Ryan, A. M., Kowalski, J., Werb, Z. and Ferrara, N. 1999. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nature medicine*, 5(6), 623–628.
62. Gerdes, J., Lemke, H., Baisch, H., Wacker, H. H., Schwab, U. and Stein, H. 1984. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 133(4), 1710–1715.
63. Gilmore, T. D. 2013. Nuclear factor Kappa B. In: William, J. Lennarz, W. J. and Lane, D. M., eds. *Encyclopedia of Biological Chemistry: Second Edition*. Elsevier Inc. 302–305. Iegūts no: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378630-2.00335-2>. [skatīts 22.04.2024.]
64. Giuliani, C., Bucci, I. and Napolitano, G. 2018. The Role of the Transcription Factor Nuclear Factor-kappa B in Thyroid Autoimmunity and Cancer. *Frontiers in endocrinology*, 9, 471.
65. Givvimani, S., Tyagi, N., Sen, U., Mishra, P. K., Qipshidze, N., Munjal, C., Vacek, J. C., Abe, O. A. and Tyagi, S. C. 2010. MMP-2/TIMP-2/TIMP-4 versus MMP-9/TIMP-3 in transition from compensatory hypertrophy and angiogenesis to decompensatory heart failure. *Archives of physiology and biochemistry*, 116(2), 63–72.
66. Go, N. F., Castle, B. E., Barrett, R., Kastelein, R., Dang, W., Mosmann, T. R., Moore, K. W. and Howard, M. 1990. Interleukin 10, a novel B cell stimulatory factor: unresponsiveness of X chromosome-linked immunodeficiency B cells. *The Journal of experimental medicine*, 172(6), 1625–1631.
67. Gonzalez, A. C., Ferreira, M., Ariel, T., Reis, S. R., Andrade, Z. and Peixoto Medrado, A. 2016. Immunohistochemical evaluation of hedgehog signalling in epithelial/mesenchymal interactions in squamous cell carcinoma transformation: a pilot study. *Journal of oral pathology & medicine*, 45(3), 173–179.

68. Greene, J., Wang, M., Liu, Y. E., Raymond, L. A., Rosen, C. and Shi, Y. E. 1996. Molecular cloning and characterization of human tissue inhibitor of metalloproteinase 4. *The Journal of biological chemistry*, 271(48), 30375–30380.
69. Grevellec, A., Graham, A. and Tucker, A. S. 2011. Shh signalling restricts the expression of Gcm2 and controls the position of the developing parathyroids. *Developmental biology*, 353(2), 194–205.
70. Guest, J. F., Greener, M. J., Robinson, A. C. and Smith, A. F. 2004. Impacted cerumen: composition, production, epidemiology and management. *QJM: monthly journal of the Association of Physicians*, 97(8), 477–488.
71. Guo, Q., Jin, Y., Chen, X., Ye, X., Shen, X., Lin, M., Zeng, C., Zhou, T. and Zhang, J. 2024. NF- κ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications. *Signal transduction and targeted therapy*, 9(1), 53.
72. Hamajima, Y., Komori, M., Preciado, D. A., Choo, D. I., Moribe, K., Murakami, S., Ondrey, F. G. and Lin, J. 2010. The role of inhibitor of DNA-binding (Id1) in hyperproliferation of keratinocytes: the pathological basis for middle ear cholesteatoma from chronic otitis media. *Cell proliferation*, 43(5), 457–463.
73. Hamed, M. A., Nakata, S., Sayed, R. H., Ueda, H., Badawy, B. S., Nishimura, Y., Kojima, T., Iwata, N., Ahmed, A. R., Dahy, K., Kondo, N. and Suzuki, K. 2016. Pathogenesis and Bone Resorption in Acquired Cholesteatoma: Current Knowledge and Future Prospectives. *Clinical and experimental otorhinolaryngology*, 9(4), 298–308.
74. Hamed, M. A., Sayed, R. H., Shioyama, K., Eltahir, M. A., Suzuki, K. and Nakata, S. 2019. Localisation of basic fibroblast growth factor in cholesteatoma matrix: an immunochemical study. *The Journal of laryngology and otology*, 133(3), 183–186.
75. Harder, J., Bartels, J., Christophers, E. and Schröder, J. M. 1997. A peptide antibiotic from human skin. *Nature*, 387(6636), 861.
76. Harder, J., Meyer-Hoffert, U., Teran, L. M., Schwichtenberg, L., Bartels, J., Maune, S. and Schröder, J. M. 2000. Mucoïd *Pseudomonas aeruginosa*, TNF- α , and IL-1 β , but not IL-6, induce human beta-defensin-2 in respiratory epithelia. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 22(6), 714–721.
77. Hellström, S., Spratley, J., Eriksson, P. O. and Pais-Clemente, M. 2003. Tympanic membrane vessel revisited: a study in an animal model. *Otology & neurotology*, 24(3), 494–499.
78. Hentzer, E. 1970. Histologic studies of the normal mucosa in the middle ear, mastoid cavities and Eustachian tube. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*, 79(4), 825–833.
79. Hynes, R. O. 2009. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science (New York, N.Y.)*, 326(5957), 1216–1219.
80. Huang, L. C., Redfern, R. L., Narayanan, S., Reins, R. Y. and McDermott, A. M. 2007. In vitro activity of human beta-defensin 2 against *Pseudomonas aeruginosa* in the presence of tear fluid. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(11), 3853–3860.
81. Huhtala, P., Chow, L. T. and Tryggvason, K. 1990. Structure of the human type IV collagenase gene. *The Journal of biological chemistry*, 265(19), 11077–11082.
82. Iyer, S. S. and Cheng, G. 2012. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Critical reviews in immunology*, 32(1), 23–63.
83. Ingham, P. W. and McMahon, A. P. 2001. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles. *Genes & development*, 15(23), 3059–3087.
84. Isaacson, G. 2014. Endoscopic anatomy of the pediatric middle ear. *Otolaryngology – head and neck surgery*, 150(1), 6–15.
85. Itakura, J., Ishiwata, T., Shen, B., Kornmann, M. and Korc, M. 2000. Concomitant over-expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in pancreatic cancer. *International journal of cancer*, 85(1), 27–34.

86. Jackson, H. W., Defamie, V., Waterhouse, P. and Khokha, R. 2017. TIMPs: versatile extracellular regulators in cancer. *Nature reviews. Cancer*, 17(1), 38–53.
87. Jackson, R., Addison, A. B. and Prinsley, P. R. 2018. Cholesteatoma in children and adults: are there really any differences? *The Journal of laryngology and otology*, 132(7), 575–578.
88. Jesic, S., Jotic, A., Tomanovic, N. and Zivkovic, M. 2014. Expression of toll-like receptors 2, 4 and nuclear factor kappa B in mucosal lesions of human otitis: pattern and relationship in a clinical immunohistochemical study. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*, 123(6), 434–441.
89. Jezierska, A. and Motyl, T. 2009. Matrix metalloproteinase-2 involvement in breast cancer progression: a mini-review. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 15(2), RA32–RA40.
90. Jia, Y., Chen, X. and Sun, J. 2021. Apremilast ameliorates IL-1 α -induced dysfunction in epidermal stem cells. *Aging*, 13(15), 19293–19305.
91. Jing, J., Wu, Z., Wang, J., Luo, G., Lin, H., Fan, Y. and Zhou, C. 2023. Hedgehog signaling in tissue homeostasis, cancers, and targeted therapies. *Signal transduction and targeted therapy*, 8(1), 315.
92. Juhász, A., Sziklai, I., Rákossy, Z., Ecsedi, S., Adány, R. and Balázs, M. 2009. Elevated level of tenascin and matrix metalloproteinase 9 correlates with the bone destruction capacity of cholesteatomas. *Otology & neurotology*, 30(4), 559–565.
93. Juhn, S. K., Jung, M. K., Hoffman, M. D., Drew, B. R., Preciado, D. A., Sausen, N. J., Jung, T. T., Kim, B. H., Park, S. Y., Lin, J., Ondrey, F. G., Mains, D. R. and Huang, T. 2008. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of otitis media and sequelae. *Clinical and experimental otorhinolaryngology*, 1(3), 117–138.
94. Jung, M., Sabat, R., Krätzschar, J., Seidel, H., Wolk, K., Schönbein, C., Schütt, S., Friedrich, M., Döcke, W. D., Asadullah, K., Volk, H. D. and Grütz, G. 2004. Expression profiling of IL-10-regulated genes in human monocytes and peripheral blood mononuclear cells from psoriatic patients during IL-10 therapy. *European journal of immunology*, 34(2), 481–493.
95. Kaya, İ., Avcı, Ç. B., Şahin, F. F., Özateş, N. P., Sezgin, B., Kurt, C. Ç., Bilgen, C. and Kirazlı, T. 2020. Evaluation of significant gene expression changes in congenital and acquired cholesteatoma. *Molecular biology reports*, 47(8), 6127–6133.
96. Kalia, M., Dass, A., Singhal, S. K. and Gupta, N. 2022. Comparative study of cholesteatoma in paediatric and adult patients. *The Journal of laryngology and otology*, 136(8), 765–768.
97. Kanda, N., Kamata, M., Tada, Y., Ishikawa, T., Sato, S. and Watanabe, S. 2011. Human β -defensin-2 enhances IFN- γ and IL-10 production and suppresses IL-17 production in T cells. *Journal of leukocyte biology*, 89(6), 935–944.
98. Kaneko, N., Kurata, M., Yamamoto, T., Morikawa, S. and Masumoto, J. 2019. The role of interleukin-1 in general pathology. *Inflammation and regeneration*, 39, 12.
99. Klein, J. O. 2015. Otitis Externa, Otitis Media, and Mastoiditis. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 767–773.e1.
100. Kontzoglou, K., Palla, V., Karaolani, G., Karaiskos, I., Alexiou, I., Pateras, I., Konstantoudakis, K. and Stamatakis, M. 2013. Correlation between Ki67 and breast cancer prognosis. *Oncology*, 84(4), 219–225.
101. Kuczkowski, J., Sakowicz-Burkiewicz, M., Iżycka-Świeszewska, E., Mikaszewski, B. and Pawełczyk, T. 2011. Expression of tumor necrosis factor- α , interleukin-1 α , interleukin-6 and interleukin-10 in chronic otitis media with bone osteolysis. *ORL; journal for oto-rhino-laryngology and its related specialties*, 73(2), 93–99.
102. Kühn, R., Löhler, J., Rennick, D., Rajewsky, K. and Müller, W. 1993. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell*, 75(2), 263–274.
103. Kular, J. K., Basu, S. and Sharma, R. I. 2014. The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. *Journal of tissue engineering*, 5, 2041731414557112.

104. Kuo, C. L., Shiao, A. S., Yung, M., Sakagami, M., Sudhoff, H., Wang, C. H., Hsu, C. H. and Lien, C. F. 2015. Updates and knowledge gaps in cholesteatoma research. *BioMed research international*, 2015, 854024.
105. Kusano, K., Miyaura, C., Inada, M., Tamura, T., Ito, A., Nagase, H., Kamoi, K. and Suda, T. 1998. Regulation of matrix metalloproteinases (MMP-2, -3, -9, and -13) by interleukin-1 and interleukin-6 in mouse calvaria: association of MMP induction with bone resorption. *Endocrinology*, 139(3), 1338–1345.
106. Lee, E. J. and Kim, H. S. 2014. The anti-inflammatory role of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in lipopolysaccharide-stimulated microglia. *Journal of neuroinflammation*, 11, 116.
107. Lee, Y. M., Fujikado, N., Manaka, H., Yasuda, H. and Iwakura, Y. 2010. IL-1 plays an important role in the bone metabolism under physiological conditions. *International immunology*, 22(10), 805–816.
108. Li, K., Li, J., Wei, X., Wang, J., Geng, M., Ai, K., Liang, W., Zhang, J., Li, K., Gao, H. and Yang, J. 2023. IL-10 Negatively Controls the Primary T Cell Response of Tilapia by Triggering the JAK1/STAT3/SOCS3 Axis That Suppresses NF- κ B and MAPK/ERK Signaling. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 210(3), 229–244.
109. Li, X., Duan, D., Yang, J., Wang, P., Han, B., Zhao, L., Jepsen, S., Dommisch, H., Winter, J. and Xu, Y. 2016. The expression of human β -defensins (hBD-1, hBD-2, hBD-3, hBD-4) in gingival epithelia. *Archives of oral biology*, 66, 15–21.
110. Lillie, R. D., Pizzolato, P. and Donaldson, P. T. 1976. Hematoxylin substitutes: a survey of mordant dyes tested and consideration of the relation of their structure to performance as nuclear stains. *Stain technology*, 51(1), 25–41.
111. Lim, D. J. and Saunders, W. H. 1972. Acquired cholesteatoma: light and electron microscopic observations. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*, 81(1), 1–11.
112. Liss, M., Sreedhar, N., Keshgegian, A., Sauter, G., Chernick, M. R., Prendergast, G. C. and Wallon, U. M. 2009. Tissue inhibitor of metalloproteinase-4 is elevated in early-stage breast cancers with accelerated progression and poor clinical course. *The American journal of pathology*, 175(3), 940–946.
113. Litton, W. B. 1963. Epithelial migration over tympanic membrane and external canal. *Archives of otolaryngology*, 77, 254–257.
114. Liu, Y. E., Wang, M., Greene, J., Su, J., Ullrich, S., Li, H., Sheng, S., Alexander, P., Sang, Q. A. and Shi, Y. E. 1997. Preparation and characterization of recombinant tissue inhibitor of metalloproteinase 4 (TIMP-4). *The Journal of biological chemistry*, 272(33), 20479–20483.
115. Liu, W., Yin, T., Ren, J., Li, L., Xiao, Z., Chen, X. and Xie, D. 2014. Activation of the EGFR/Akt/NF- κ B/cyclinD1 survival signaling pathway in human cholesteatoma epithelium. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 271(2), 265–273.
116. Lynrah, Z. A., Bakshi, J., Panda, N. K. and Khandelwal, N. K. 2013. Aggressiveness of pediatric cholesteatoma. Do we have an evidence? *Indian journal of otolaryngology and head and neck surgery*, 65(3), 264–268.
117. Louw, L. 2010. Acquired cholesteatoma pathogenesis: stepwise explanations. *The Journal of laryngology and otology*, 124(6), 587–593.
118. Lucente, F. E. 1995. Anatomy, histology, and physiology. In: Lucente, F. E., Lawson, W., and Novick, N. L. (Eds.). *The External Ear*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
119. Luers, J. C. and Hüttenbrink, K. B. 2016. Surgical anatomy and pathology of the middle ear. *Journal of anatomy*, 228(2), 338–353.
120. Maynard, C. L., Hatton, R. D., Helms, W. S., Oliver, J. R., Stephensen, C. B. and Weaver, C. T. 2009. Contrasting roles for all-trans retinoic acid in TGF-beta-mediated induction of Foxp3 and Il10 genes in developing regulatory T cells. *The Journal of experimental medicine*, 206(2), 343–357.

121. Malik, A. and Kanneganti, T. D. 2018. Function and regulation of IL-1 α in inflammatory diseases and cancer. *Immunological reviews*, 281(1), 124–137.
122. Mallet, Y., Nouwen, J., Lecomte-Houcke, M. and Desautly, A. 2003. Aggressiveness and quantification of epithelial proliferation of middle ear cholesteatoma by MIB1. *The Laryngoscope*, 113(2), 328–331.
123. Mansour, S., Magnan, J., Haidar, H., Nicolas, K. and Louryan S. 2013. *Comprehensive and clinical anatomy of the middle ear*. Springer-Verlag Berlin/Heidelberg.
124. Marc, A., Pop, C., Sitar-Taut, A. V., Budisan, L., Berindan-Neagoe, I. and Pop, D. 2021. The role of matrix metalloproteinases in patients with pulmonary hypertension: data from a prospective study. *BMC cardiovascular disorders*, 21(1), 607.
125. Martí, E., Takada, R., Bumcrot, D. A., Sasaki, H. and McMahon, A. P. 1995. Distribution of Sonic hedgehog peptides in the developing chick and mouse embryo. *Development (Cambridge, England)*, 121(8), 2537–2547.
126. Massa, H. M., Lim, D. J., Kurono, Y. and Cripps, A. W. 2015. Middle Ear and Eustachian Tube Mucosal Immunology. *Mucosal Immunology*, 1923–1942.
127. Meyer, J. E., Harder, J., Görögh, T., Schröder, J. M. and Maune, S. 2000. hBD-2-Genexpression in nasaler Schleimhaut [hBD-2 gene expression in nasal mucosa]. *Laryngo- rhino- otologie*, 79(7), 400–403.
128. Melendez-Zajgla, J., Del Pozo, L., Ceballos, G. and Maldonado, V. 2008. Tissue inhibitor of metalloproteinases-4. The road less traveled. *Molecular cancer*, 7, 85.
129. Mertz, P. M., DeWitt, D. L., Stetler-Stevenson, W. G. and Wahl, L. M. 1994. Interleukin 10 suppression of monocyte prostaglandin H synthase-2. Mechanism of inhibition of prostaglandin-dependent matrix metalloproteinase production. *The Journal of biological chemistry*, 269(33), 21322–21329.
130. Miller, L. A., Wert, S. E. and Whitsett, J. A. 2001. Immunolocalization of sonic hedgehog (Shh) in developing mouse lung. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*, 49(12), 1593–1604.
131. Mills, J. H., Khariwala, S. S. and Weber, P. C. 2006. Anatomy and Physiology of Hearing In: Bailey, B. J., Johnson, J. T. and Newlands, S. D., Eds. *Head & Neck Surgery: Otolaryngology. 4th edn, vol. 2*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 1883–1903.
132. Mohammadi, G., Naderpour, M. and Mousaviagdas, M. 2012. Ossicular erosion in patients requiring surgery for cholesteatoma. *Iranian journal of otorhinolaryngology*, 24(68), 125–128.
133. Møller, P. R., Pedersen, C. N., Grosfjeld, L. R., Faber, C. E. and Djurhuus, B. D. 2020. Recurrence of Cholesteatoma – A Retrospective Study Including 1,006 Patients for More than 33 Years. *International archives of otorhinolaryngology*, 24(1), e18–e23.
134. Moon, S. K., Lee, H. Y., Li, J. D., Nagura, M., Kang, S. H., Chun, Y. M., Linthicum, F. H., Ganz, T., Andalibi, A. and Lim, D. J. 2002. Activation of a Src-dependent Raf-MEK1/2-ERK signaling pathway is required for IL-1 α -induced upregulation of beta-defensin 2 in human middle ear epithelial cells. *Biochimica et biophysica acta*, 1590(1-3), 41–51.
135. Morales, D. S., Penido, N.deO., da Silva, I. D., Stávale, J. N., Guilherme, A. and Fukuda, Y. 2007. Matrix metalloproteinase 2: an important genetic marker for cholesteatomas. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 73(1), 51–57.
136. Mosser, D. M. and Zhang, X. 2008. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunological reviews*, 226, 205–218.
137. Mozaffari, M., Jiang, D. and Tucker, A. S. 2020. Developmental aspects of the tympanic membrane: Shedding light on function and disease. *Genesis*, 58(3-4), e23348.

138. Maroonroge, S., Emanuel, D. C. and Letowski, T. R. 2009. Basic Anatomy of the Hearing System. In: Rash, C. E., Russo, M. B., Letowski, T. R. and Schmeisser, E. T., eds. *Helmet-Mounted Displays: Sensation, Perception, and Cognition Issues*. U.S. Army Aeromedical Research Laboratory, Fort Rucker, Alabama. 279–306.
139. Nagase, H. and Woessner, J. F., Jr. 1999. Matrix metalloproteinases. *The Journal of biological chemistry*, 274(31), 21491–21494.
140. Nikolov, A. and Popovski, N. 2021. Role of Gelatinases MMP-2 and MMP-9 in Healthy and Complicated Pregnancy and Their Future Potential as Preeclampsia Biomarkers. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(3), 480.
141. Olszewska, E., Chodyncki, S. and Chyczewski, L. 2004. Znaczenie angiogenezy w patogenezie perlaka ucha środkowego u dorosłych [Role of angiogenesis in the pathogenesis of cholesteatoma in adults]. *Otolaryngologia polska = The Polish otolaryngology*, 58(3), 559–563.
142. Olszewska, E., Matulka, M., Mroczko, B., Pryczynicz, A., Kemon, A., Szmitkowski, M., Mierzwiński, J. and Pietrewicz, T. 2016. Diagnostic value of matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 1 in cholesteatoma. *Histology and histopathology*, 31(3), 307–315.
143. Olszewska, E., Wagner, M., Bernal-Sprekelsen, M., Ebmeyer, J., Dazert, S., Hildmann, H. and Sudhoff, H. 2004. Etiopathogenesis of cholesteatoma. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 261(1), 6–24.
144. O'Neill, O. J., Brett, K. and Frank, A. J. 2023. Middle Ear Barotrauma. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls. Iegūts no: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499851/>. [skatīts 26.01.2024.]
145. Ouyang, W., Rutz, S., Crellin, N. K., Valdez, P. A. and Hymowitz, S. G. 2011. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual review of immunology*, 29, 71–109.
146. Ozola, L. and Pilmane, M. 2023. Local Defense Factors in Cleft-Affected Palate in Children before and during Milk Dentition Age: A Pilot Study. *Journal of personalized medicine*, 14(1), 27.
147. Pachpande, T. G. and Singh, C. V. 2022. Diagnosis and Treatment Modalities of Cholesteatomas: A Review. *Cureus*, 14(11), e31153.
148. Palkó, E., Pólska, S., Sziklai, I. and Penyige, A. 2018. Analysis of KRT1, KRT10, KRT19, TP53 and MMP9 expression in pediatric and adult cholesteatoma. *PloS one*, 13(7), e0200840.
149. Park, K., Moon, S. K., Choung, Y. H. and Choi, H. S. 2003. Expression of beta-defensins in human middle ear cholesteatoma. *Acta oto-laryngologica*, 123(2), 236–240.
150. Pazgier, M., Hoover, D. M., Yang, D., Lu, W. and Lubkowski, J. 2006. Human beta-defensins. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 63(11), 1294–1313.
151. Pelham, R. J. Jr and Wang, Y. 1997. Cell locomotion and focal adhesions are regulated by substrate flexibility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(25), 13661–13665.
152. Persaud, R., Hajioff, D., Trinidade, A., Khemani, S., Bhattacharyya, M. N., Papadimitriou, N., Kalan, A. and Bhattacharyya, A. K. 2007. Evidence-based review of aetiopathogenic theories of congenital and acquired cholesteatoma. *The Journal of laryngology and otology*, 121(11), 1013–1019.
153. Petrelli, F., Viale, G., Cabiddu, M. and Barni, S. 2015. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients. *Breast cancer research and treatment*, 153(3), 477–491.
154. Petrova, R. and Joyner, A. L. 2014. Roles for Hedgehog signaling in adult organ homeostasis and repair. *Development (Cambridge, England)*, 141(18), 3445–3457.

155. Pilmane, M., Jain, N. and Vitenberga-Verza, Z. 2021. Expression Analysis of *FGF/FGFR* and *FOX* Family Proteins in Mucosal Tissue Obtained from Orofacial Cleft-Affected Children. *Biology*, 10(5), 423.
156. Poiraud, C., Quereux, G., Knol, A. C., Zuliani, T., Allix, R., Khammari, A. and Dreno, B. 2012. Human β -defensin-2 and psoriasin, two new innate immunity targets of zinc gluconate. *European journal of dermatology: EJD*, 22(5), 634–639.
157. Pozzi, A., LeVine, W. F. and Gardner, H. A. 2002. Low plasma levels of matrix metalloproteinase 9 permit increased tumor angiogenesis. *Oncogene*, 21(2), 272–281.
158. Prah, A., Pazgier, M., Alexandratos, J. and Lubkowski, J. 2016. Human β -defensin 4 - defensin without the “twist”. Ludzka β -defenzyna 4 - defenzyna bez “ \acute{s} ruby”. *Postepy biochemii*, 62(3), 349–361.
159. Preciado D. A. 2012. Biology of cholesteatoma: special considerations in pediatric patients. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 76(3), 319–321.
160. Rajati, M., Shahabi, A., Haghiri, H. and Afzalaghaye, M. 2013. The distance of the sigmoid sinus and the middle fossa dura from the external auditory canal in chronic otitis media. *Surgical and radiologic anatomy: SRA*, 35(6), 477–480.
161. Rees, J. M. and Gillis, J. A. 2022. Distinct proliferative and middle ear skeletal-patterning functions for SHH-expressing epithelia in the chick hyoid arch. *Developmental biology*, 489, 98–108.
162. Reichardt, L. F. and Tomaselli, K. J. 1991. Extracellular matrix molecules and their receptors: functions in neural development. *Annual review of neuroscience*, 14, 531–570.
163. Ren, X., Cui, P., Chen, W. and Xu, M. 2005. The expression and significance of human beta-defensin 2 in middle ear cholesteatoma epithelium. *Journal of clinical otorhinolaryngology*, 19(7), 313–314.
164. Rezende, C. E., Souto, R. P., Rapoport, P. B., Campos, L.d, and Generato, M. B. 2012. Cholesteatoma gene expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors by RT-PCR. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 78(3), 116–121.
165. Ricciardiello, F., Cavaliere, M., Mesolella, M. and Iengo, M. 2009. Notes on the microbiology of cholesteatoma: clinical findings and treatment. *Acta otorhinolaryngologica Italica: organo ufficiale della Societa italiana di otorinolaringologia e chirurgia cervico-facciale*, 29(4), 197–202.
166. Rimkus, T. K., Carpenter, R. L., Qasem, S., Chan, M. and Lo, H. W. 2016. Targeting the Sonic Hedgehog Signaling Pathway: Review of Smoothed and GLI Inhibitors. *Cancers*, 8(2), 22.
167. Rolfe, K. J. and Grobelaar, A. O. 2012. A review of fetal scarless healing. *ISRN dermatology*, 2012, 698034.
168. Saadane, A., Soltys, J. and Berger, M. 2005. Role of IL-10 deficiency in excessive nuclear factor-kappaB activation and lung inflammation in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator knockout mice. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 115(2), 405–411.
169. Sasai, N., Toriyama, M. and Kondo, T. 2019. Hedgehog Signal and Genetic Disorders. *Frontiers in genetics*, 10, 1103.
170. Schönermark, M., Mester, B., Kempf, H. G., Bläser, J., Tschesche, H. and Lenarz, T. 1996. Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in human cholesteatomas. *Acta oto-laryngologica*, 116(3), 451–456.
171. Schröder, J. M. and Harder, J. 1999. Human beta-defensin-2. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 31(6), 645–651.
172. Schürmann, M., Goon, P. and Sudhoff, H. 2022. Review of potential medical treatments for middle ear cholesteatoma. *Cell communication and signaling: CCS*, 20(1), 148.
173. Schürmann, M., Greiner, J. F. W., Volland-Thurn, V., Oppel, F., Kaltschmidt, C., Sudhoff, H. and Kaltschmidt, B. 2020. Stem Cell-Induced Inflammation in Cholesteatoma is Inhibited by the TLR4 Antagonist LPS-RS. *Cells*, 9(1), 199.

174. Searight, F. T., Singh, R. and Peterson, D. C. 2023. Otitis Media With Effusion. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Iegūts no: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538293/> [skatīts 26.01.2024.]
175. Semaan, M. T. and Megerian, C. A. 2006. The pathophysiology of cholesteatoma. *Otolaryngologic clinics of North America*, 39(6), 1143–1159.
176. Sen, R. and Baltimore, D. 1986. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell*, 46(5), 705–716.
177. Seo, E. S., Blaum, B. S., Vargues, T., De Cecco, M., Deakin, J. A., Lyon, M., Barran, P. E., Campopiano, D. J. and Uhrin, D. 2010. Interaction of human β -defensin 2 (HBD2) with glycosaminoglycans. *Biochemistry*, 49(49), 10486–10495.
178. Shah, R. and Chang, T. L. 2012. Defensins in viral infection. In: Rajasekaran, K., Cary, J. W., Jaynes, J. M. and Montesinos, E., eds. *Small Wonder: Peptides for Disease Control*. American Chemical Society, vol. 1095. 137–171.
179. Shavell, V. I., Saed, G. M. and Diamond, M. P. 2009. Review: cellular metabolism: contribution to postoperative adhesion development. *Reproductive sciences*, 16(7), 627–634.
180. Sheu, B. C., Lien, H. C., Ho, H. N., Lin, H. H., Chow, S. N., Huang, S. C. and Hsu, S. M. 2003. Increased expression and activation of gelatinolytic matrix metalloproteinases is associated with the progression and recurrence of human cervical cancer. *Cancer research*, 63(19), 6537–6542.
181. Shibata, Y., Foster, L. A., Kurimoto, M., Okamura, H., Nakamura, R. M., Kawajiri, K., Justice, J. P., Van Scott, M. R., Myrvik, Q. N. and Metzger, W. J. 1998. Immunoregulatory roles of IL-10 in innate immunity: IL-10 inhibits macrophage production of IFN-gamma-inducing factors but enhances NK cell production of IFN-gamma. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 161(8), 4283–4288.
182. Shih, C. P., Lee, J. T., Chen, H. K., Lin, Y. C., Chen, H. C., Lin, Y. Y., Kuo, C. Y., Chen, Y. T. and Wang, C. H. 2018. Comparison of changes in mitochondrial bioenergetics between keratinocytes in human external auditory canal skin and cholesteatomas from normoxia to hypoxia. *Scientific reports*, 8(1), 125.
183. Shin, J. O., Ankamreddy, H., Jakka, N. M., Lee, S., Kim, U. K. and Bok, J. 2017. Temporal and spatial expression patterns of Hedgehog receptors in the developing inner and middle ear. *The International journal of developmental biology*, 61(8-9), 557–563.
184. Shynlova, O., Bortolini, M. A. and Alarab, M. 2013. Genes responsible for vaginal extracellular matrix metabolism are modulated by women's reproductive cycle and menopause. *International braz j urol*, 39(2), 257–267.
185. Shuman Moss, L. A., Jensen-Taubman, S. and Stetler-Stevenson, W. G. 2012. Matrix metalloproteinases: changing roles in tumor progression and metastasis. *The American journal of pathology*, 181(6), 1895–1899.
186. Shweiki, D., Itin, A., Soffer, D. and Keshet, E. 1992. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature*, 359(6398), 843–845.
187. Sikka, K., Sharma, S. C., Thakar, A. and Dattagupta, S. 2012. Evaluation of epithelial proliferation in paediatric and adult cholesteatomas using the Ki-67 proliferation marker. *The Journal of laryngology and otology*, 126(5), 460–463.
188. Sinha, A. K., Kumar, A., Raushan, E. A. and Kumar, G. 2014. Bone resorption in chronic otitis media. *Intern. J. Sci. Study*, 2, 82-85.
189. Skrzat, J., Kozerska, M., Wroński, S., Tarasiu, J. and Walocha, J. 2015. Volume rendering of the tympanic cavity from micro-CT data. *Folia medica Cracoviensia*, 55(4), 81–89.
190. Smirnova, M. G., Birchall, J. P. and Pearson, J. P. 2004. The immunoregulatory and allergy-associated cytokines in the aetiology of the otitis media with effusion. *Mediators of inflammation*, 13(2), 75–88.

191. Song, J. J., Chae, S. W., Woo, J. S., Lee, H. M., Jung, H. H. and Hwang, S. J. 2007. Differential expression of human beta defensin 2 and human beta defensin 3 in human middle ear cholesteatoma. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*, 116(3), 235–240.
192. Stamatas, G. N., Roux, P. F., Boireau-Adamezyk, E., Lboukili, I. and Oddos, T. 2023. Skin maturation from birth to 10 years of age: Structure, function, composition and microbiome. *Experimental dermatology*, 32(9), 1420–1429.
193. Stefanini, M., De Martino, C. and Zamboni, L. 1967. Fixation of ejaculated spermatozoa for electron microscopy. *Nature*, 216(5111), 173–174.
194. Suchozebrska-Jesionek, D., Szymański, M., Kurzepa, J., Gołabek, W. and Stryjecka-Zimmer, M. 2008. Gelatinolytic activity of matrix metalloproteinases 2 and 9 in middle ear cholesteatoma. *Journal of otolaryngology - head & neck surgery*, 37(5), 628–632.
195. Sudhoff, H., Dazert, S., Gonzales, A. M., Borkowski, G., Park, S. Y., Baird, A., Hildmann, H. and Ryan, A. F. 2000. Angiogenesis and angiogenic growth factors in middle ear cholesteatoma. *The American journal of otology*, 21(6), 793–798.
196. Sunderkötter, C., Steinbrink, K., Goebeler, M., Bhardwaj, R. and Sorg, C. 1994. Macrophages and angiogenesis. *Journal of leukocyte biology*, 55(3), 410–422.
197. Sziksz, E., Pap, D., Lippai, R., Béres, N. J., Fekete, A., Szabó, A. J. and Vannay, Á. 2015. Fibrosis Related Inflammatory Mediators: Role of the IL-10 Cytokine Family. *Mediators of inflammation*, 2015, 764641.
198. Taylor, K., Barran, P. E. and Dorin, J. R. 2008. Structure-activity relationships in beta-defensin peptides. *Biopolymers*, 90(1), 1–7.
199. Takabatake, K., Shimo, T., Murakami, J., Anqi, C., Kawai, H., Yoshida, S., Wathone, O. M., Haruka, O., Sukegawa, S., Tsujigiwa, H., Nakano, K. and Nagatsuka, H. 2019. The Role of Sonic Hedgehog Signaling in the Tumor Microenvironment of Oral Squamous Cell Carcinoma. *International journal of molecular sciences*, 20(22), 5779.
200. Takawale, A., Fan, D., Basu, R., Shen, M., Parajuli, N., Wang, W., Wang, X., Oudit, G. Y. and Kassiri, Z. 2014. Myocardial recovery from ischemia-reperfusion is compromised in the absence of tissue inhibitor of metalloproteinase 4. *Circulation. Heart failure*, 7(4), 652–662.
201. Teibe, U. 2007. Biologiskā statistika. LU
202. Tickle, C. and Towers, M. 2017. Sonic Hedgehog Signaling in Limb Development. *Frontiers in cell and developmental biology*, 5, 14.
203. Tysome, J. R. and Sudhoff, H. 2018. The Role of the Eustachian Tube in Middle Ear Disease. *Advances in oto-rhino-laryngology*, 81, 146–152.
204. Towne, J. E., Renshaw, B. R., Douangpanya, J., Lipsky, B. P., Shen, M., Gabel, C. A. and Sims, J. E. 2011. Interleukin-36 (IL-36) ligands require processing for full agonist (IL-36 α , IL-36 β , and IL-36 γ) or antagonist (IL-36Ra) activity. *The Journal of biological chemistry*, 286(49), 42594–42602.
205. Valacca, C., Tassone, E. and Mignatti, P. 2015. TIMP-2 Interaction with MT1-MMP Activates the AKT Pathway and Protects Tumor Cells from Apoptosis. *PloS one*, 10(9), e0136797.
206. Wehkamp, K., Schwichtenberg, L., Schröder, J. M. and Harder, J. 2006. Pseudomonas aeruginosa and IL-1beta-mediated induction of human beta-defensin-2 in keratinocytes is controlled by NF-kappaB and AP-1. *The Journal of investigative dermatology*, 126(1), 121–127.
207. Welkoborsky, H. J., Jacob, R. S. and Hinni, M. L. 2007. Comparative analysis of the epithelium stroma interaction of acquired middle ear cholesteatoma in children and adults. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 264(8), 841–848.
208. Werman, A., Werman-Venkert, R., White, R., Lee, J. K., Werman, B., Krelin, Y., Voronov, E., Dinarello, C. A. and Apte, R. N. 2004. The precursor form of IL-1alpha is an intracrine proinflammatory activator of transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(8), 2434–2439.

209. Wysocki, J. and Skarzyński, H. 1998. Distances between the cochlea and adjacent structures related to cochlear implant surgery. *Surgical and radiologic anatomy: SRA*, 20(4), 267–271.
210. Wojciechowski, T. 2022. Radiologic anatomy of the middle ear and internal ear in computed tomography images. *Pol Otorhino Rev*, 11(4), 30–41.
211. Xu, D and Lu, W. 2020. Defensins: A Double-Edged Sword in Host Immunity. *Frontiers in immunology*, 11, 764.
212. Xu, Y., Tao, Z. Z., Hua, Q. Q., Wang, X. C., Xiao, B. K. and Chen, S. M. 2009. Activation of nuclear factor-kappaB and aberrant gene expression of interleukin 6 in middle ear cholesteatoma. *Chinese journal of otorhinolaryngology head and neck surgery*, 44(3), 192–196.
213. Yeşilova, M., Görür, K., Ismi, O., Özcan, C. and Büyükaşar, K. 2017. The Role of Rho/Rho-Kinase Pathway in the Pathogenesis of Cholesteatoma. *Otology & neurotology*, 38(4), 516–520.
214. Yetiser, S., Satar, B. and Aydin, N. 2002. Expression of epidermal growth factor, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-1alpha in chronic otitis media with or without cholesteatoma. *Otology & neurotology*, 23(5), 647–652.
215. Zang, J., Yang, B., Feng, S. and Jiang, X. 2019. Low expression of microRNA-125b enhances the expression of STAT3 and contributes to cholesteatoma growth. *Archives of medical science: AMS*, 18(6), 1596–1606.
216. Zhu, J., Zhang, X., Ai, L., Yuan, R. and Ye, J. 2019. Clinicohistopathological implications of MMP/VEGF expression in retinoblastoma: a combined meta-analysis and bioinformatics analysis. *Journal of translational medicine*, 17(1), 226.

Pateicības

Vislielākā pateicība mana promocijas darba vadītājai *Dr. med., Dr. habil. med.* profesorei Mārai Pilmanei par palīdzību, sniegtajiem padomiem, profesionālismu, nenovērtējamo atbalstu grūtākos brīžos un ārkārtīgi lielo ieguldījumu šī darba tapšanas laikā. Kā arī visvairāk novērtēju spēju motivēt mani promocijas darba izstrādes laikā.

Izsaku lielu pateicību otrai promocijas darba vadītājai *Dr. med.* docentei Guntai Segliņai par manis uzrunāšanu un virzīšanu promocijas darba veikšanai, konstruktīviem padomiem un ieguldīto darbu šī darba tapšanas laikā.

Izsaku pateicību visiem RSU Anatomijas un antropoloģijas institūta darbiniekiem par iespēju izmantot darba telpas un inventāru, kā arī palīdzību, ja radās jautājumi. Īpaša pateicība RSU AAI Morfoloģijas laboratorijas laborantei Natālijai Morozai par sniegtajām zināšanām un palīdzību preparātu tapšanā.

Pateicos Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas un Bērnu klīniskās universitātes slimnīcas Izglītības un zinātnes departamentiem par iespēju un atbalstu promocijas darba izstrādē.

Pateicos RSU Statistikas laboratorijai, īpaši lektorei Mārai Grēvei, par palīdzību statistikas aprēķinos.

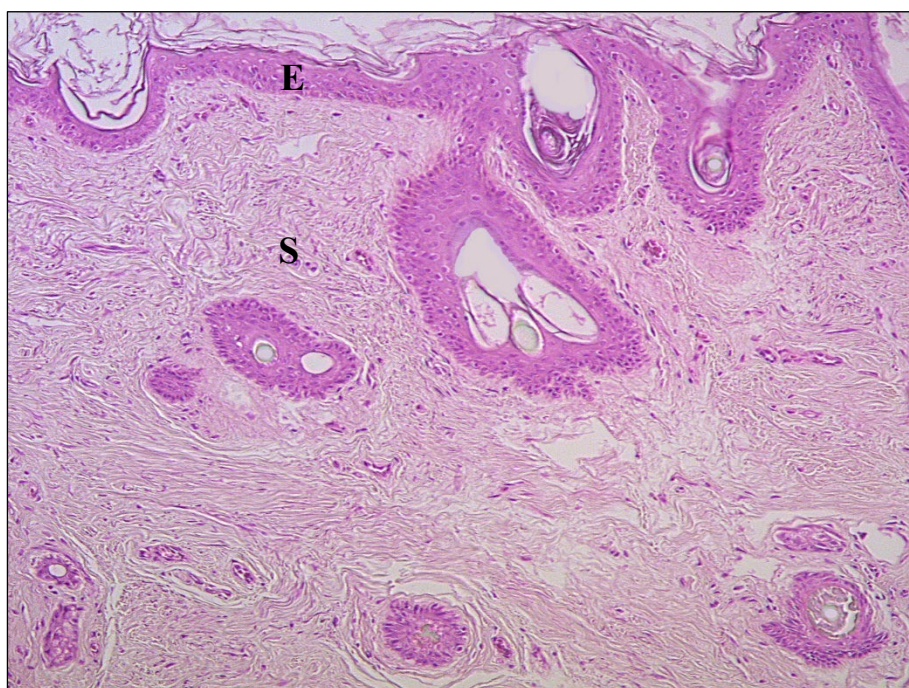
Pateicos RSU par atbalstu publikāciju tapšanā un iespēju publicēt darbus zinātniskajos žurnālos.

Paldies Bērnu klīniskās universitātes slimnīcas Ausu, kakla, deguna slimību klīnikas kolēģiem par atbalstu un sapratni promocijas darba izstrādes laikā.

Vissirsnīgākais paldies par atbalstu un uzmundrinājumiem manai ģimenei, īpaši sievai Lienei un dēlam Bruno.

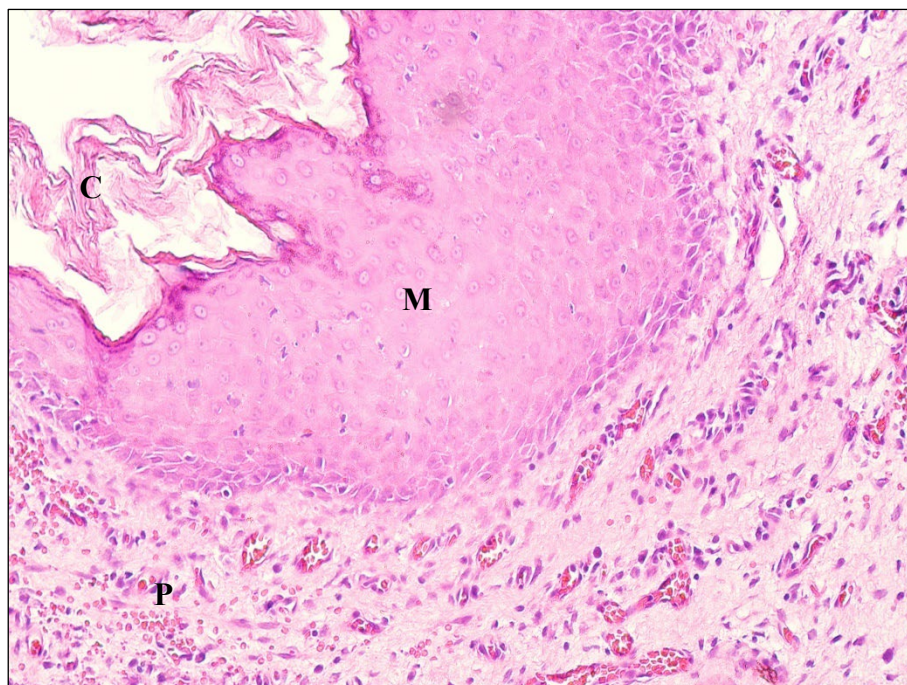
Pielikumi

Mikrofotogrāfijas un to apraksti



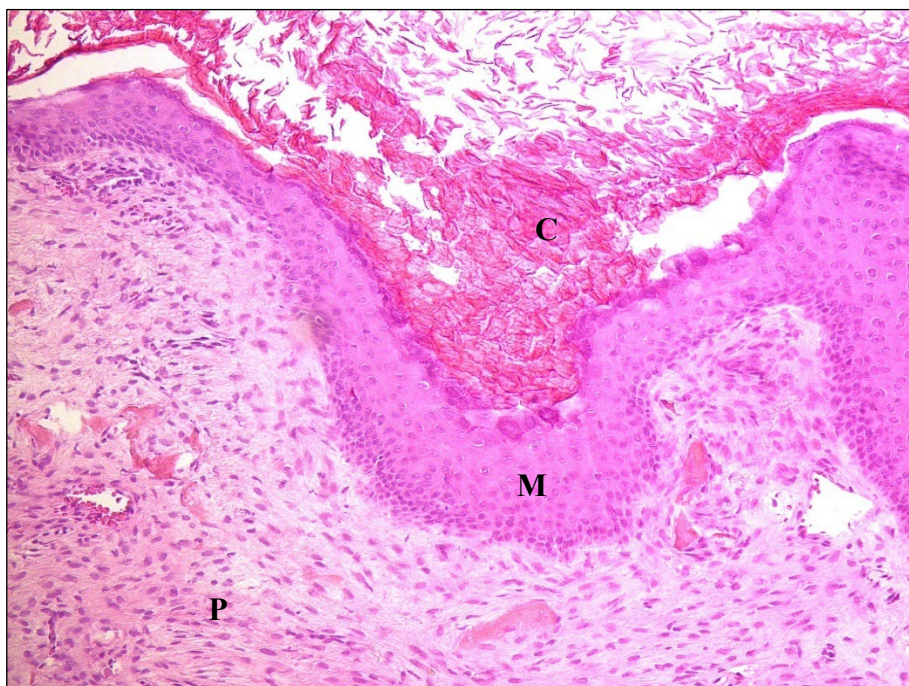
3.1. attēls. Cilvēka neizmainīta ārējās auss eja āda, kontroles audi

E – daudzkārtains, plakans pārragots epitēlijs, virs kura redzams arī raga slānis;
S – saistaudi bez iekaisuma pazīmēm, kas atrodas zem epitēlija.
Hematoksilīns un eozīns, $\times 200$



3.2. attēls. Bērna holesteatoma

C – cistiskais slānis, kas sastāv no bezkodola epitēlija šūnām; M – matrikss, kas ir hiperproliferatīvs daudzkārtains, plakans pārragots epitēlijs; P – perimatrikss, kas ir zemepitēlija saistaudi jeb granulācijas audi un sastāv no dažādām iekaisuma šūnām un irdeniem nenoformētiem saistaudiem.
Materiāls iegūts no 13 gadu vecas meitenes.
Hematoksilīns un eozīns, $\times 250$

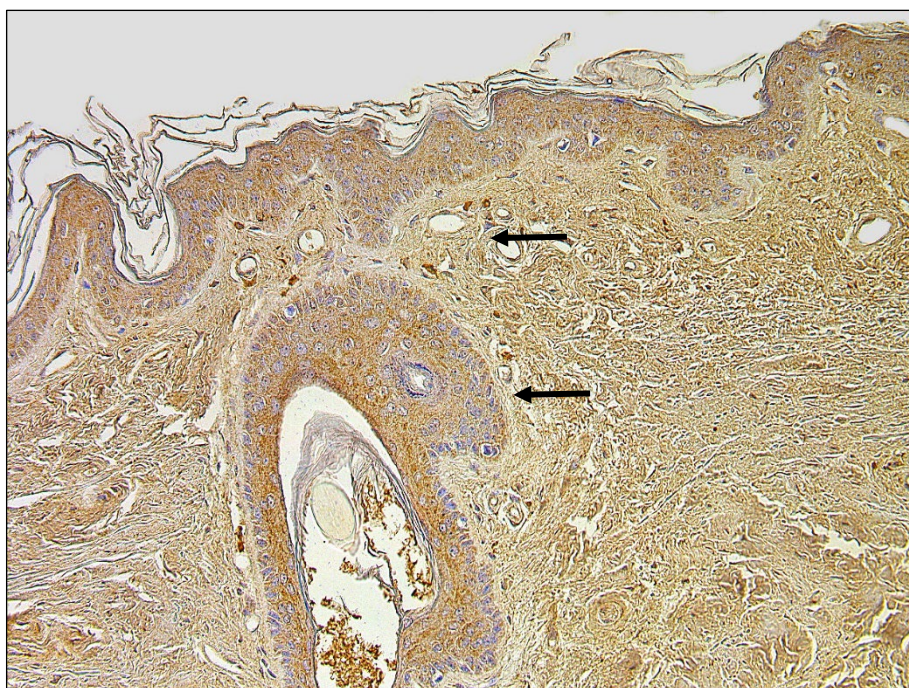


3.3. attēls. **Pieauguša cilvēka holesteatoma**

C – cistiskais slānis, kas sastāv no bezkodola epitēlija šūnām; M – matrikss, kas ir hiperproliferatīvs daudzkārtains, plakans pāragots epitēlijs; P – perimatrikss, kas ir zemepitēlija saistaudi jeb granulācijas audi un sastāv no dažādām iekaisuma šūnām un irdeniem nenoformētiem saistaudiem.

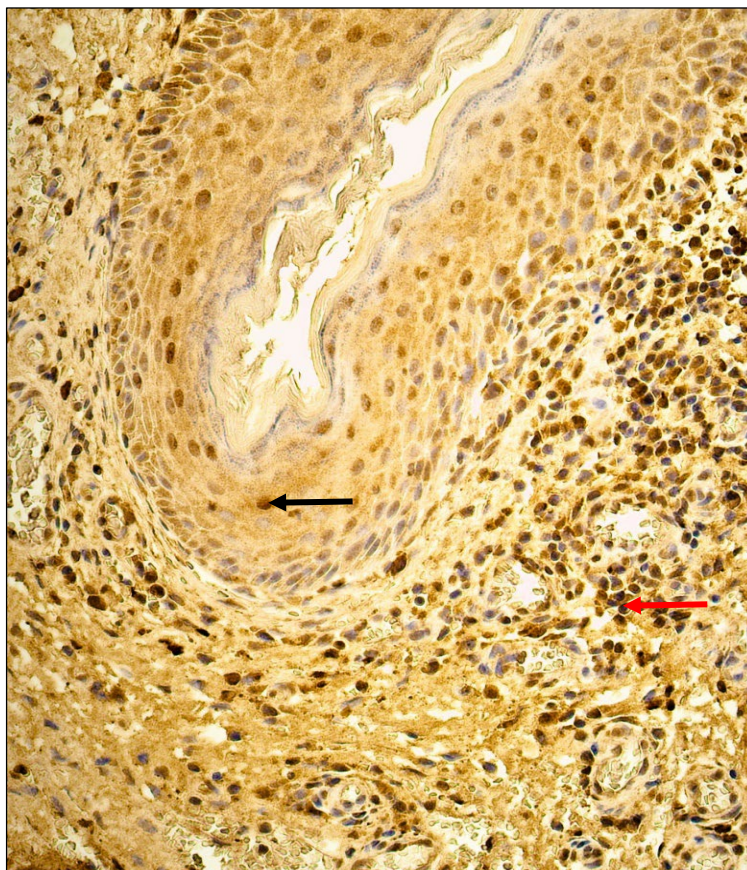
Materiāls iegūts no 58 gadus vecas sievietes.

Hematoksilīns un eozīns, × 200



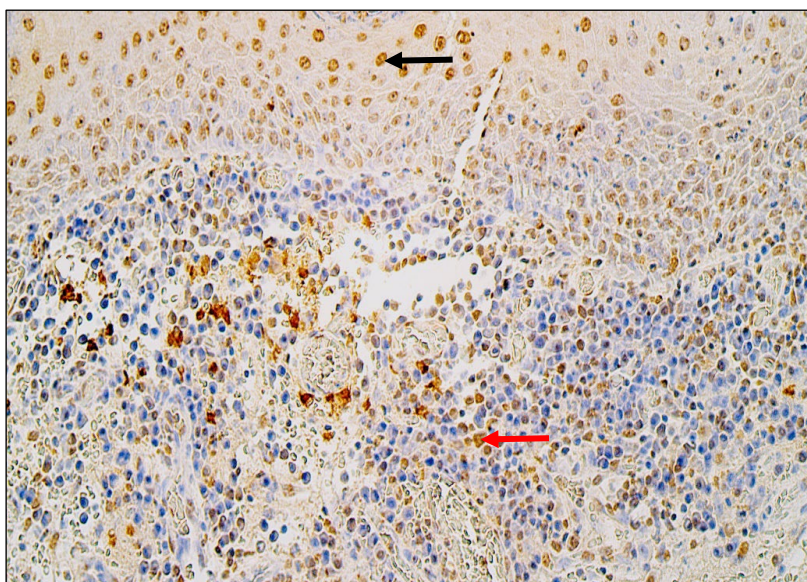
3.4. attēls. **Daudz (+++) MMP-2 pozitīvu šūnu ādas epitēlijā un maz (+) pozitīvu šūnu saistaudos (bultiņas). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa**

MMP-2 IHĶ, ×200



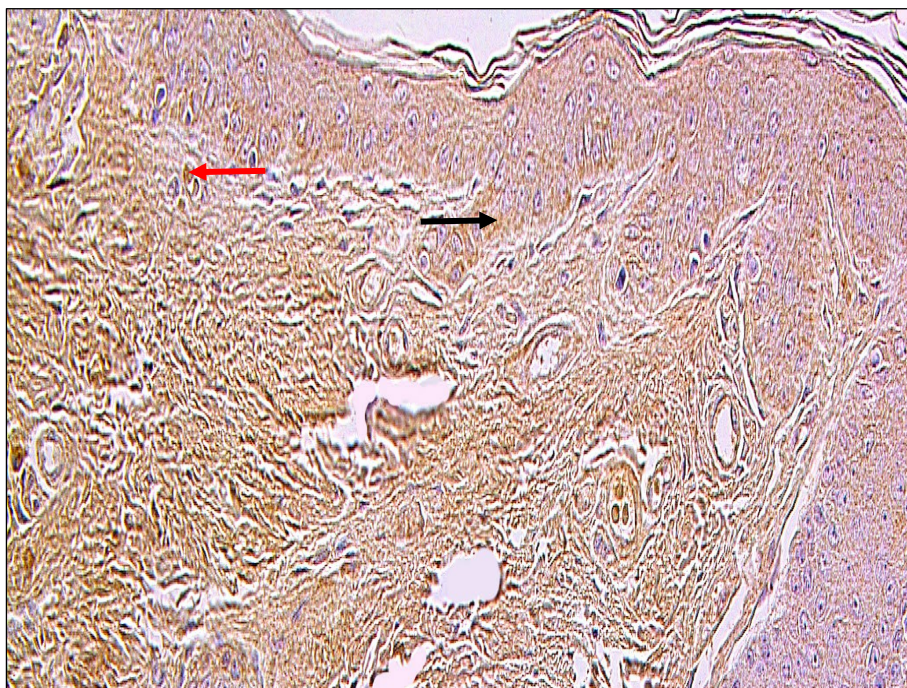
3.5. attēls. Vidēji daudz (++) MMP-2 pozitīvu šūnu matriksā (melna bultiņa) un vidēji daudz līdz daudz (++/+++)
faktora pozitīvu šūnu perimatriksā (sarkana bultiņa)

Bērna holesteatoma. Materiāls iegūts no
13 gadu veca zēna holesteatomas. MMP-2 IHĶ, × 250



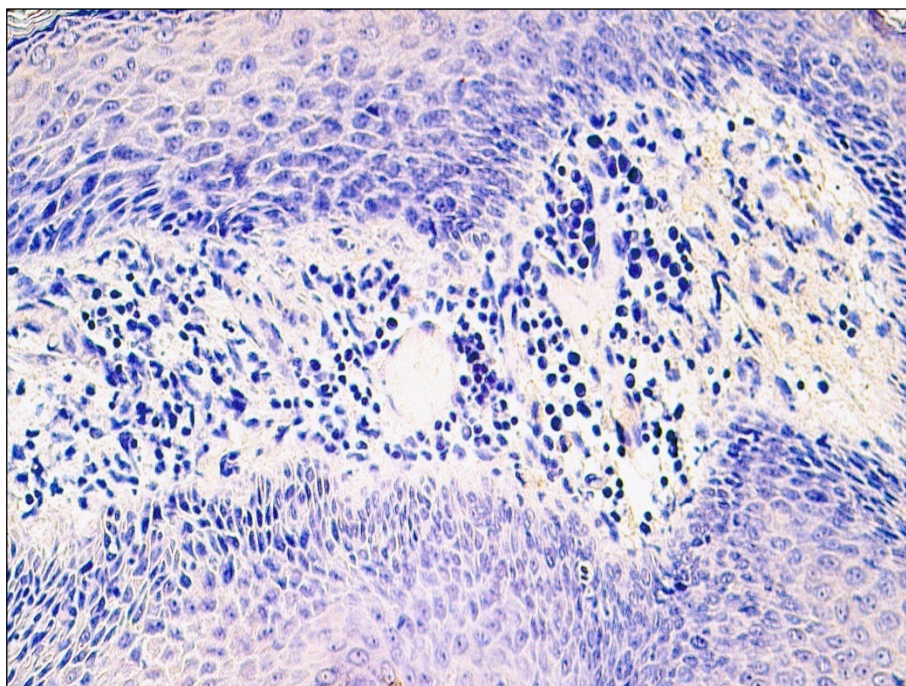
3.6. attēls. Vidēji daudz (++) MMP-2 pozitīvu šūnu matriksā (melna bultiņa) un maz līdz vidēji daudz (+/++)
faktora pozitīvu šūnu perimatriksā (sarkana bultiņa)

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts
no 27 gadus vecas sievietes holesteatomas.
MMP-2 IHĶ, × 250



3.7. attēls. Vidēji daudz (++) MMP-9 pozitīvu šūnu ādas epitēlijā (melna bultiņa) un maz līdz vidēji daudz (+/++) faktora pozitīvu šūnu saistaudos (sarkana bultiņa). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa

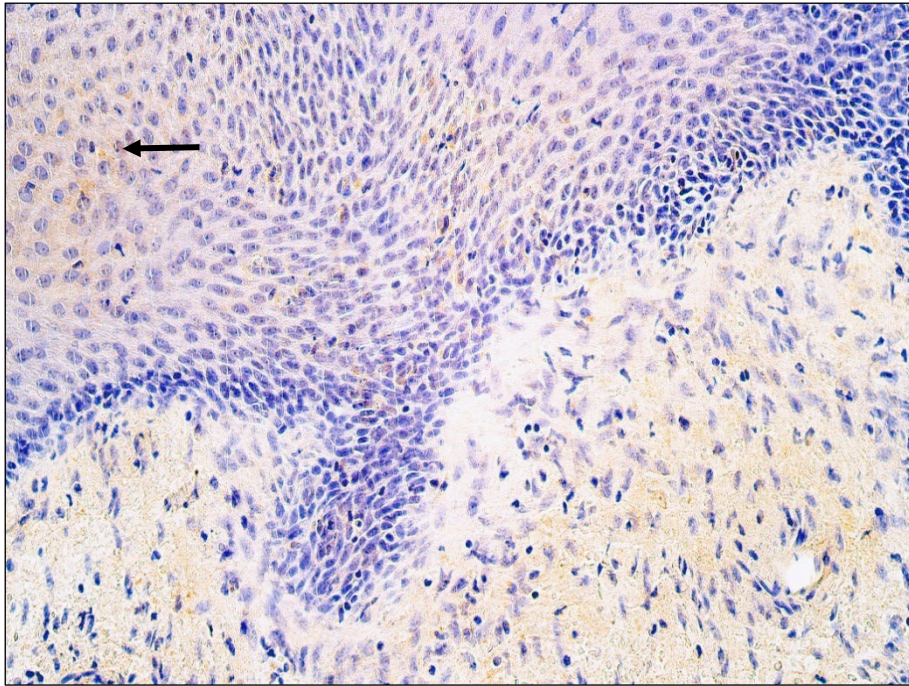
MMP-9 IHĶ, × 250



3.8. attēls. MMP-9 pozitīvo šūnu trūkums (0) matiksā un perimatriksā

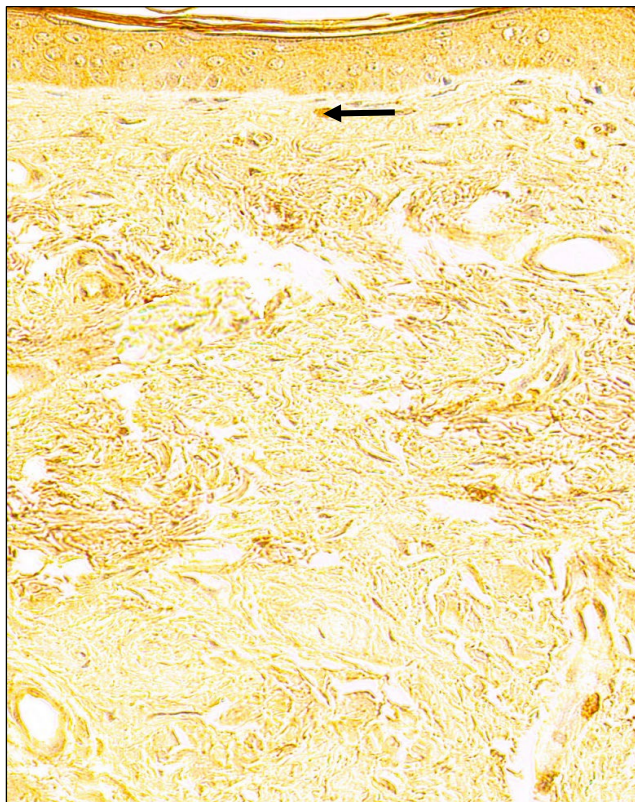
Bērna holesteatoma. Materiāls iegūts no 14 gadu veca zēna holesteatomas.

MMP-9 IHĶ, × 250



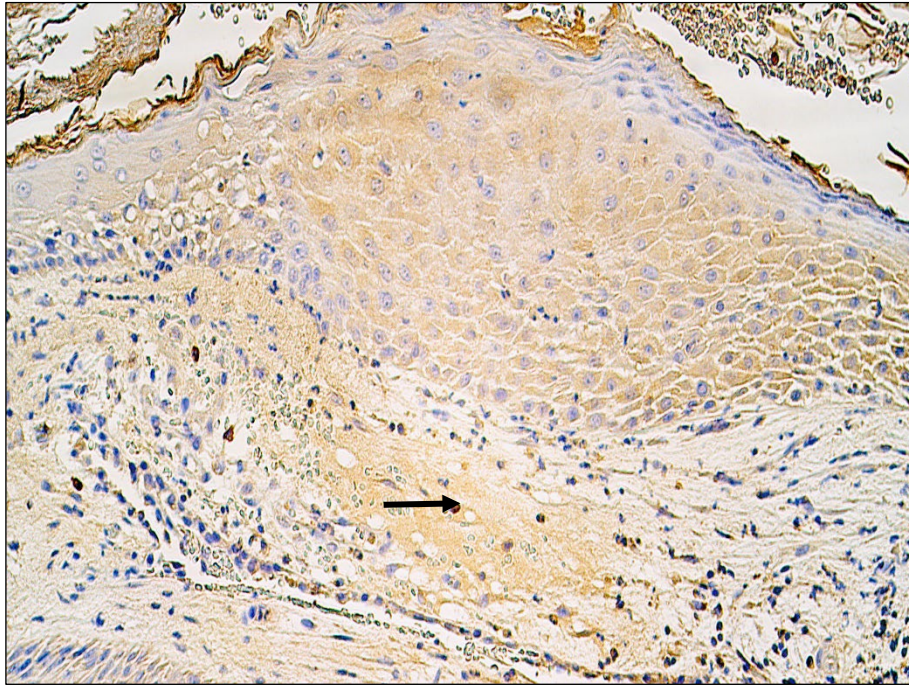
3.9. attēls. **Retas (0/+) MMP-9 vāji pozitīvas šūnas matriksā (bultiņa) un pozitīvo šūnu trūkums (0) perimatriksā**

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 70 gadu vecas sievietes holesteatomas.
MMP-9 IHĶ, × 250



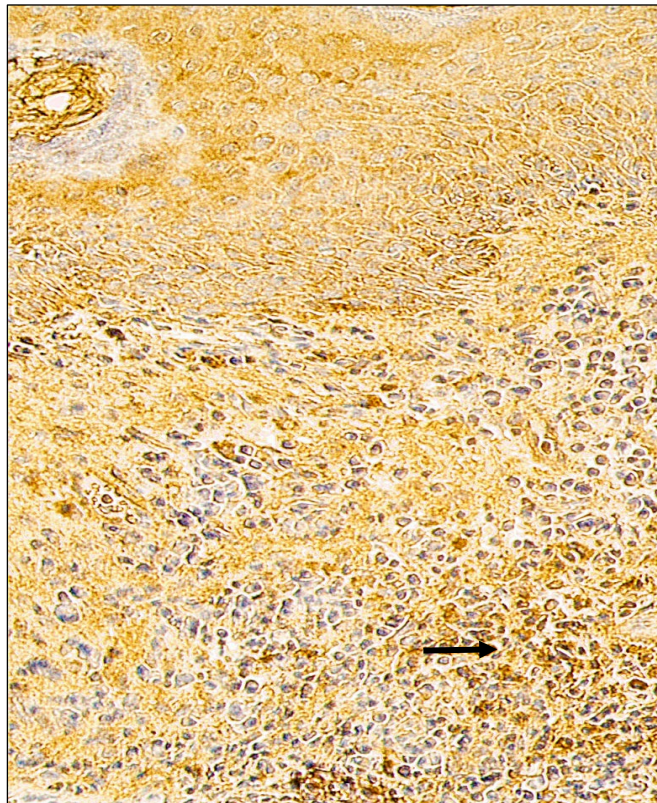
3.10. attēls. **Daudz (+++) TIMP-2 pozitīvu šūnu ādas epitelijā un maz (+) faktora pozitīvu šūnu saistaudos (bultiņa). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa**

TIMP-2 IHĶ, × 200



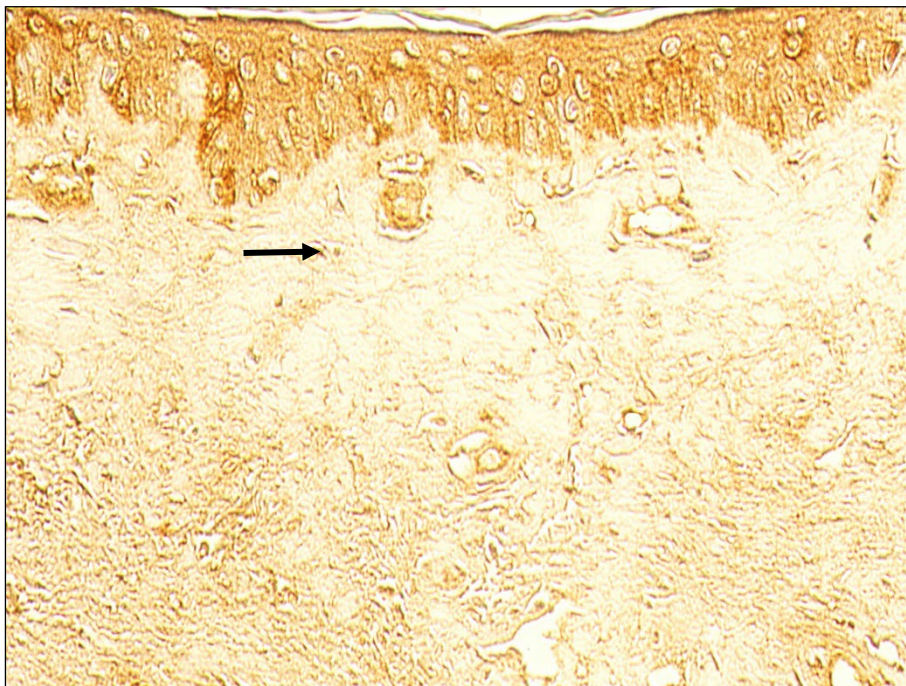
3.11. attēls. Vidēji daudz (++) TIMP-2 pozitīvu šūnu matriksā un maz (+) faktora pozitīvu šūnu perimatriksā (bultiņa)

Bērna holesteatoma. Materiāls iegūts no 14 gadu veca zēna holesteatomas.
TIMP-2 IHĶ, × 250



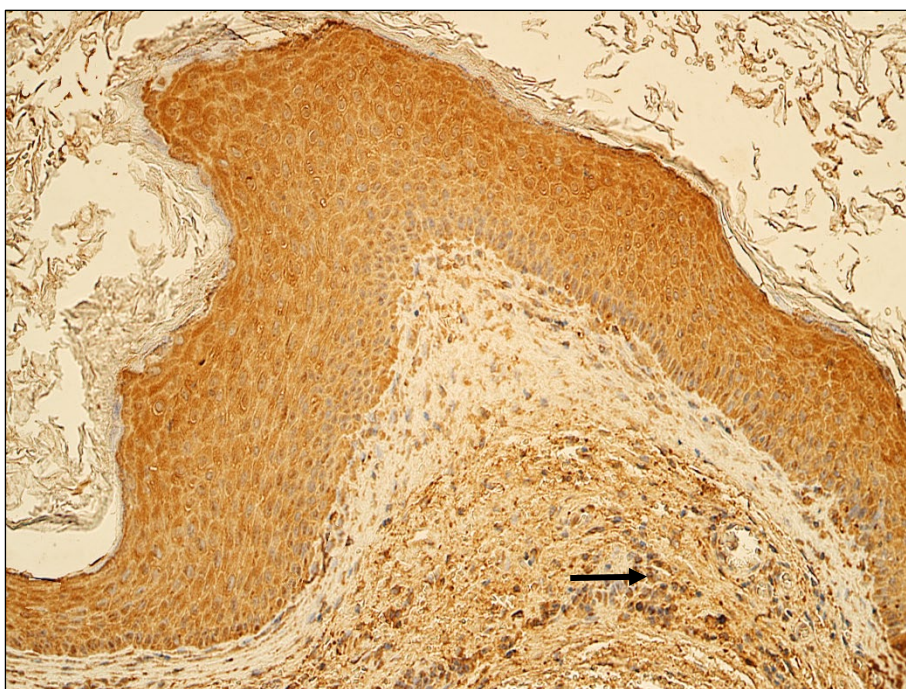
3.12. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (+++/+++++) TIMP-2 pozitīvu šūnu matriksā un vidēji daudz (++) faktora pozitīvu šūnu (bultiņa) perimatriksā

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 19 gadu veca vīrieša holesteatomas.
TIMP-2 IHĶ, × 250



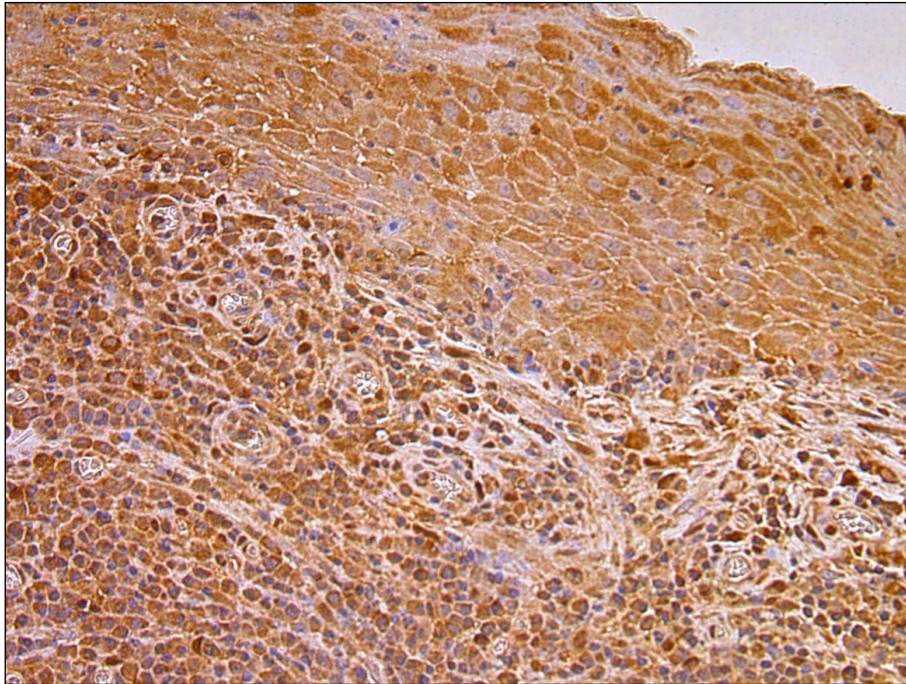
3.13. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ TIMP-4 pozitīvu šūnu ādas epitelijā un maz (+) faktora pozitīvu šūnu saistaudos (bultiņa). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa

TIMP-4 IHĶ, × 250



3.14. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) TIMP-4 pozitīvu šūnu matiksā un vidēji daudz (++) faktora pozitīvu šūnu (bultiņa) perimatriksā

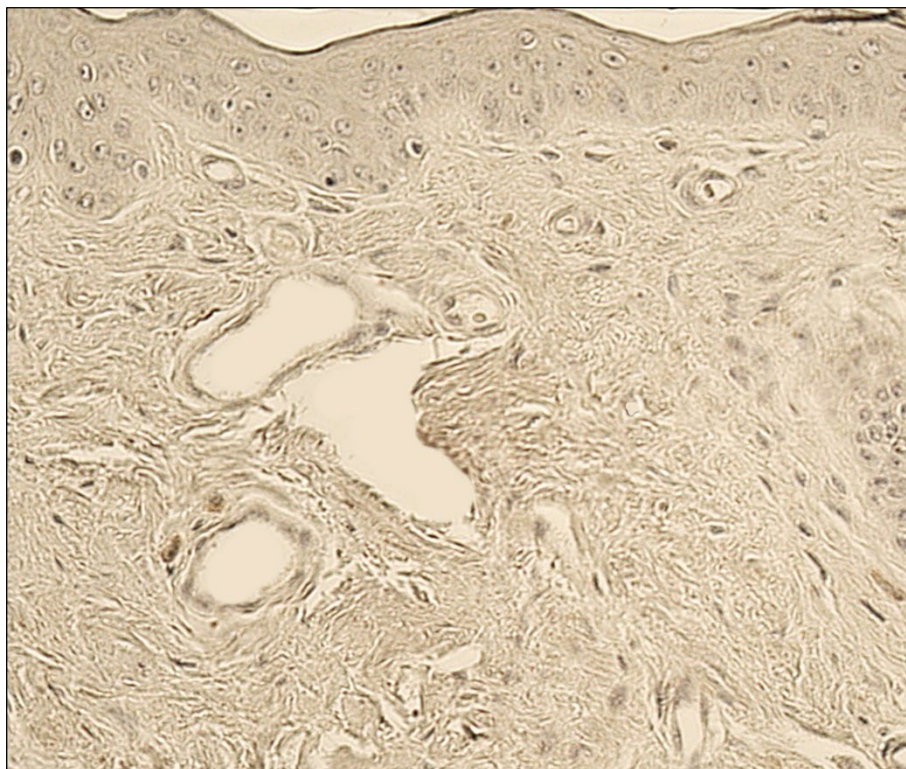
Bērna holesteatoma. Materiāls iegūts no 13 gadu veca zēna holesteatomas.
TIMP-4 IHĶ, × 200



3.15. attēls. **Daudz (+++) TIMP-4 pozitīvu šūnu matriksā, daudz (+++) faktora pozitīvu šūnu perimatriksā**

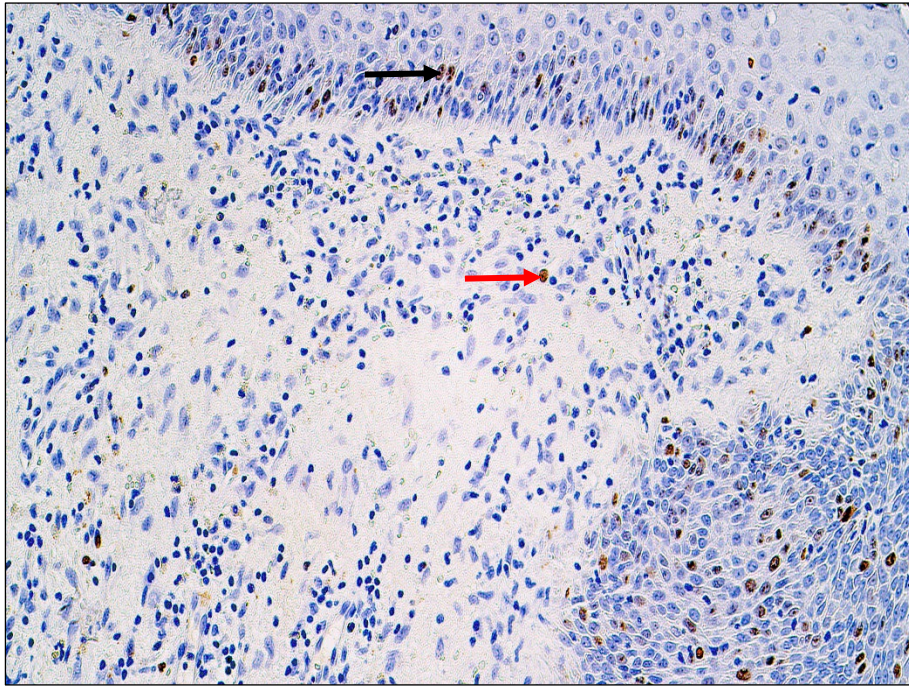
Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 28 gadus vecas sievietes holesteatomas.

TIMP-4 IHĶ, × 250



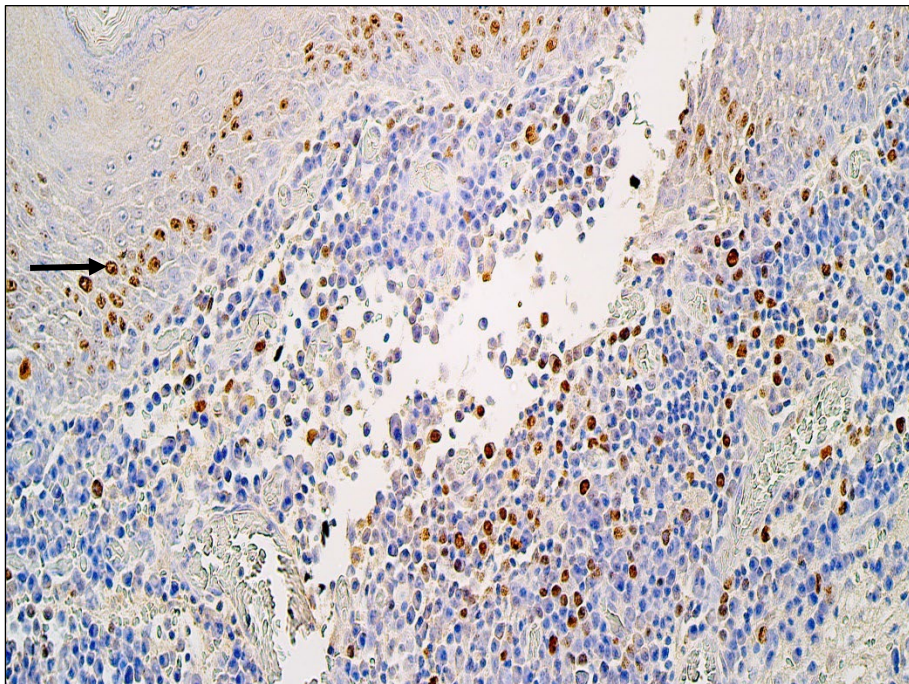
3.16. attēls. **Ki-67 pozitīvo šūnu trūkums (0) ādas epitēlijā un saistaudos. Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa**

Ki-67 IHĶ, × 250



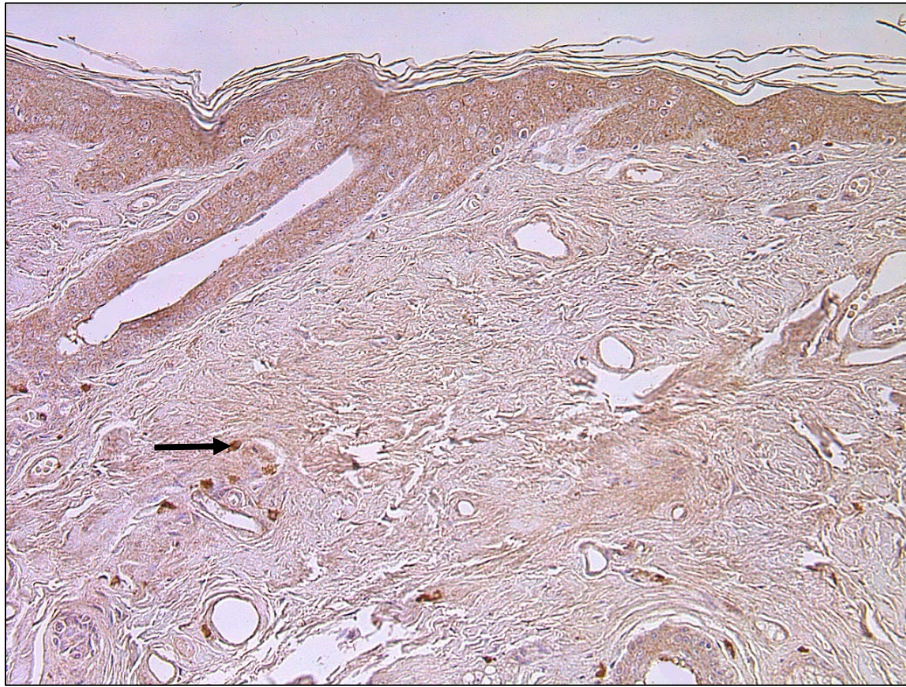
3.17. attēls. **Maz (+) Ki-67 pozitīvu šūnu
holesteatomas matriksā (melna bultiņa)
un retas (0/+) perimatriksā (sarkana bultiņa)**

Bērna holesteatoma. Materiāls iegūts no 13 gadu veca zēna holesteatomas.
Ki-67 IHĶ, × 200

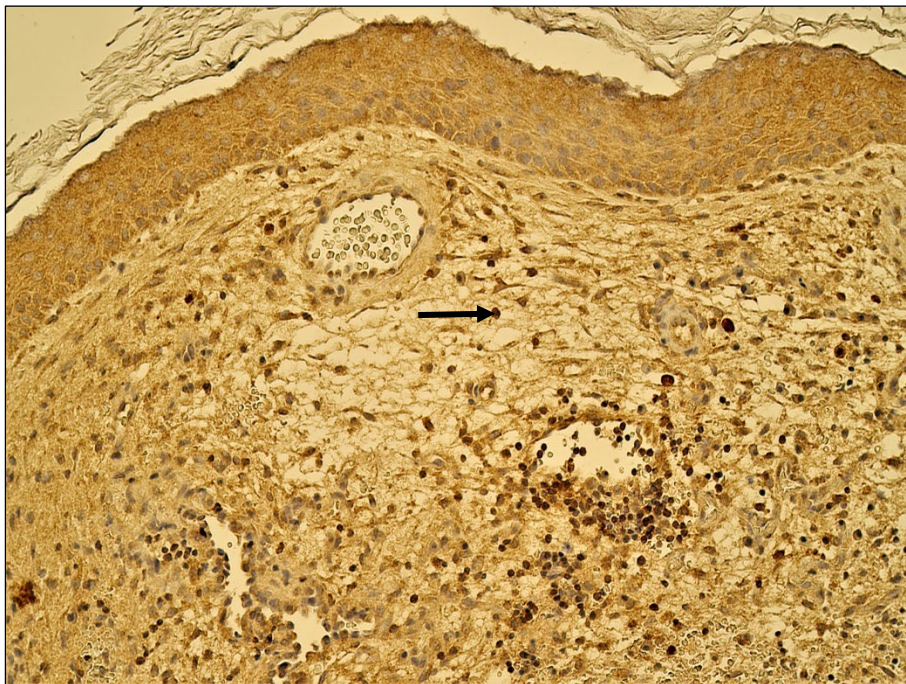


3.18. attēls. **Maz līdz vidēji daudz (+/++) Ki-67 pozitīvu šūnu
holesteatomas matriksā (bultiņa) un perimatriksā**

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts
no 27 gadus vecas sievietes holesteatomas.
Ki-67 IHĶ, × 200

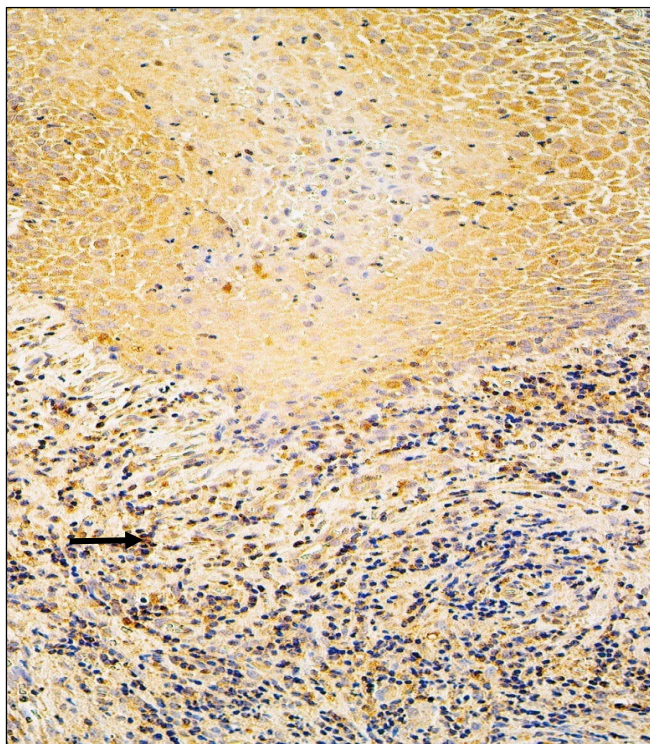


3.19. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ NF-κβ pozitīvu šūnu ādas epitelijā un maz (+) saistaudos (bultiņa). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa
NF-κβ IHĶ, × 200



3.20. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) NF-κβ pozitīvu šūnu holesteatomas matricā un vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ perimatricā (bultiņa)

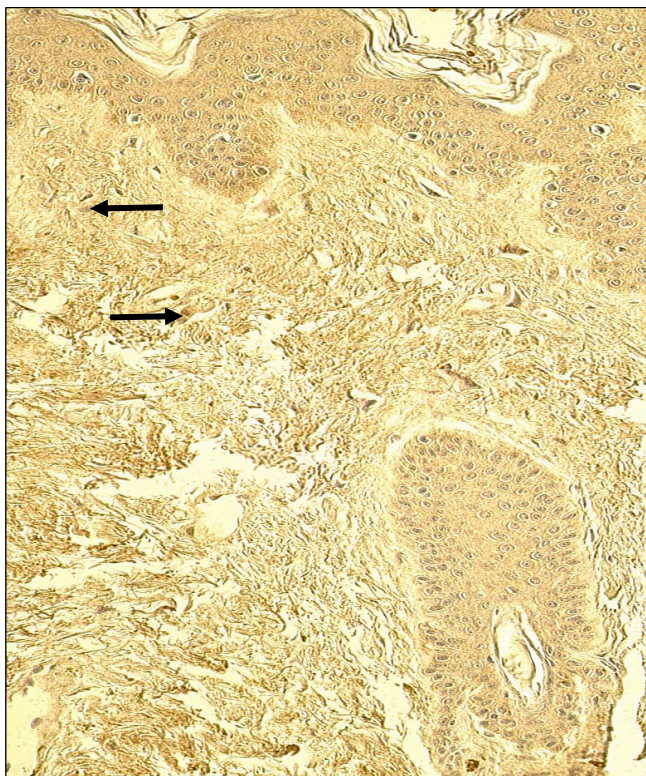
Bērna holesteatoma. Materiāls iegūts no 14 gadu veca zēna holesteatomas.
NF-κβ IHĶ, × 250



3.21. attēls. Daudz (+++) NF-κβ pozitīvu šūnu holesteatomas matiksā un vidēji daudz (++) perimatriksā (bultiņa)

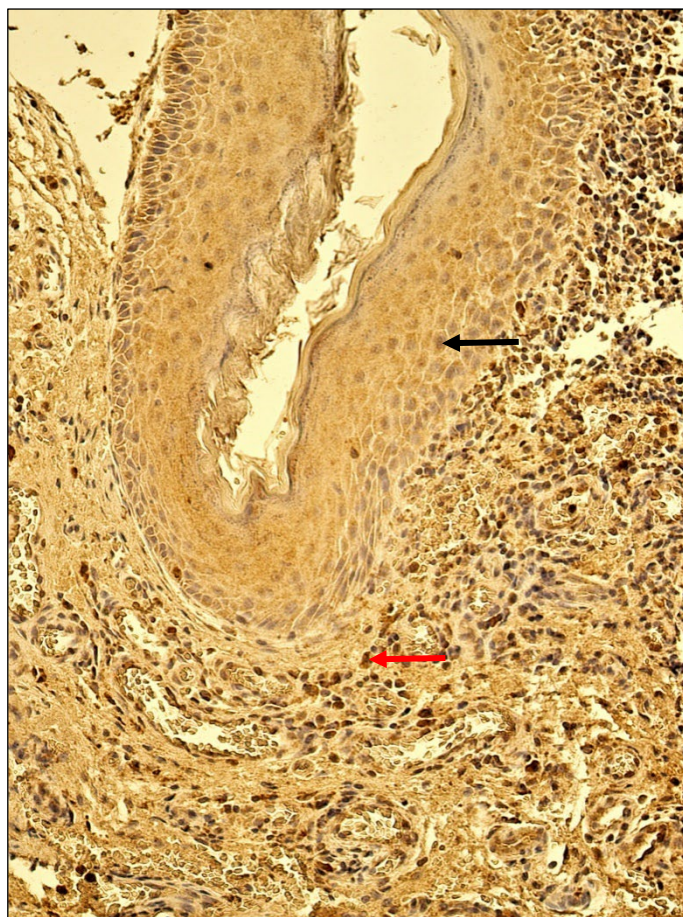
Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 38 gadus veca vīrieša holesteatomas.

NF-κβ IHĶ, × 200



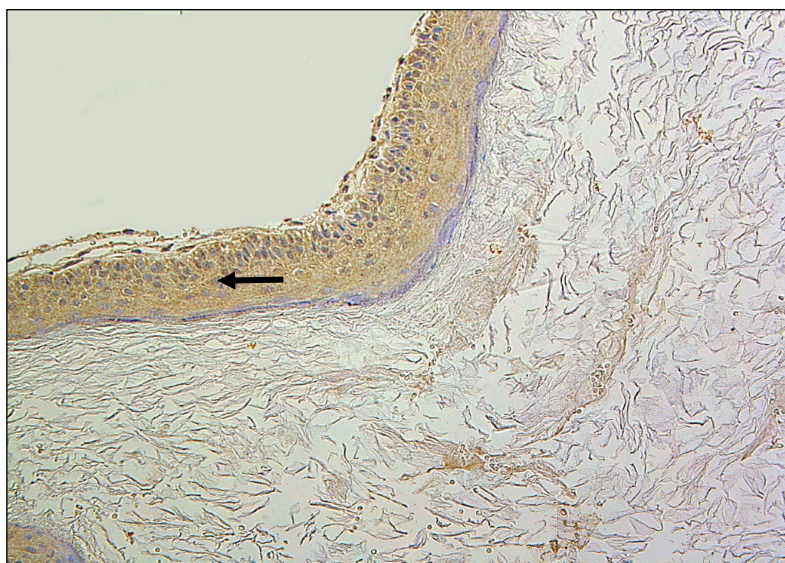
3.22. attēls. Vidēji daudz (++) IL-1α vāji pozitīvo šūnu ādas epitēlijā un maz (+) saistaudos (bultiņas). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa

IL-1α IHĶ, × 200



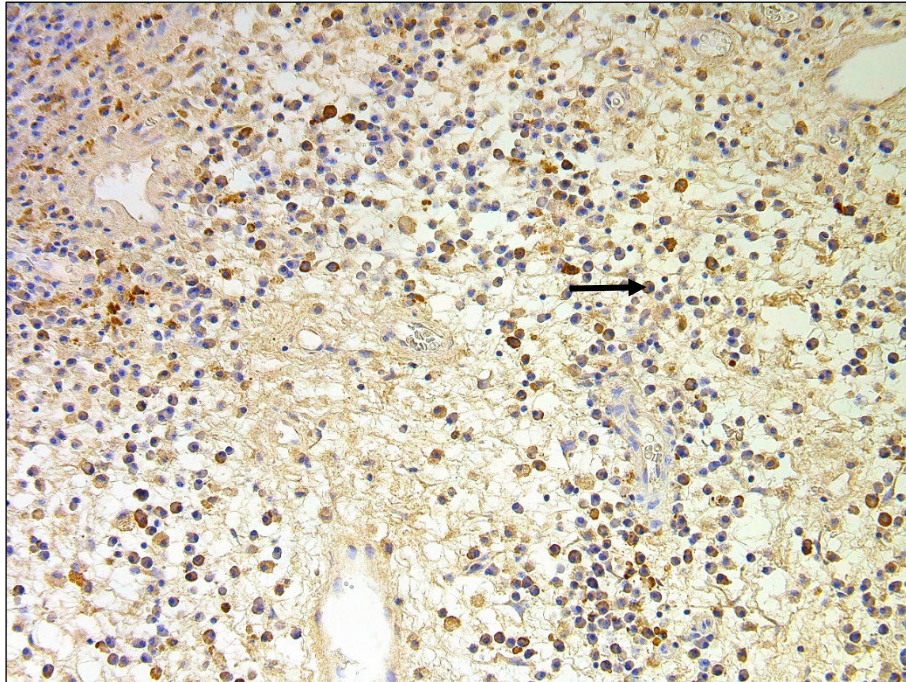
3.23. attēls. **Daudz (+++) IL-1 α pozitīvu šūnu holesteatomas matriksā (melna bultiņa) un daudz (+++) perimatriksā (sarkana bultiņa)**

Bērņa holesteatoma. Materiāls iegūts no 13 gadu veca zēna holesteatomas.
IL-1 α IHĶ, \times 200



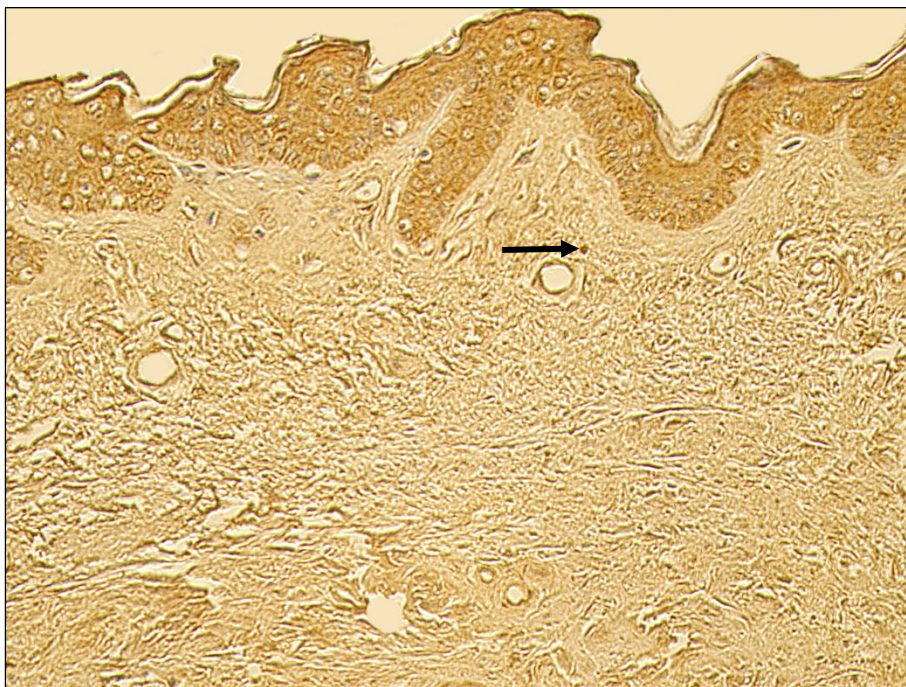
3.24. attēls. **Vidēji daudz (++) IL-1 α pozitīvu šūnu holesteatomas matriksā (bultiņa)**

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 23 gadus veca vīrieša holesteatomas.
IL-1 α IHĶ, \times 200



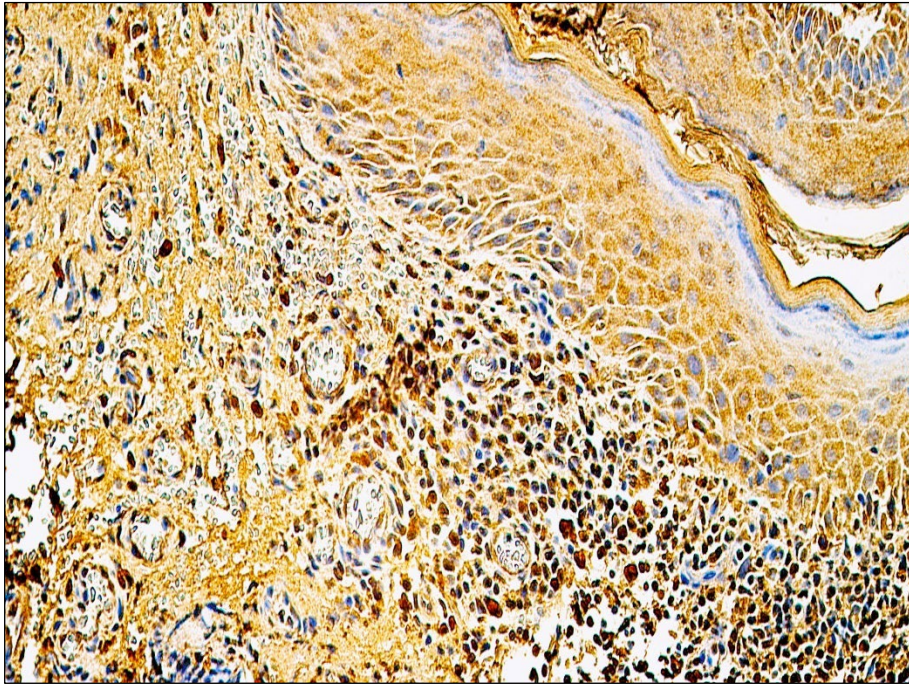
3.25. attēls. Vidēji daudz (++) IL-1 α pozitīvu šūnu holesteatomas perimatriksā (bultiņa)

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 23 gadus veca vīrieša holesteatomas.
IL-1 α IHĶ, \times 250



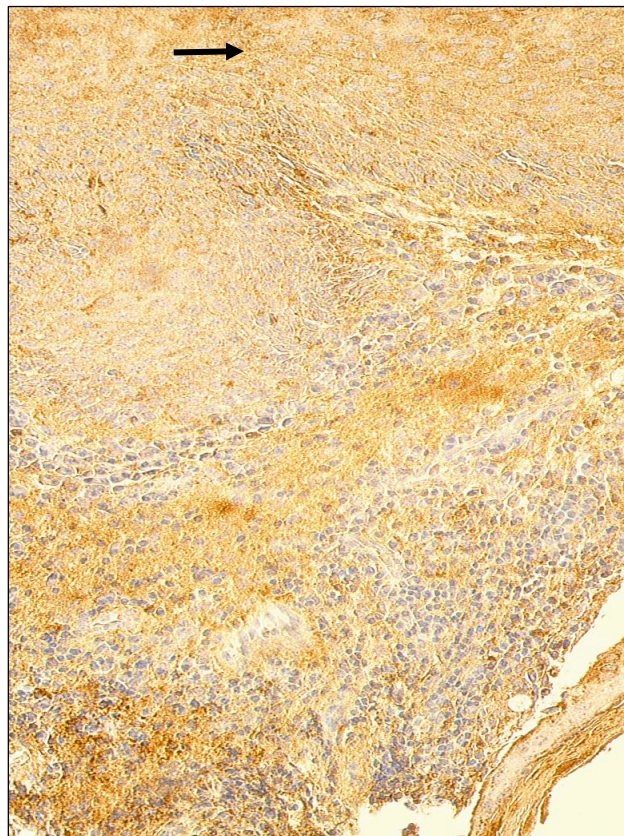
3.26. attēls. Daudz (+++) IL-10 pozitīvu šūnu ādas epitēlijā un maz (+) saistaudos (bultiņa). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa

IL-10 IHĶ, \times 200



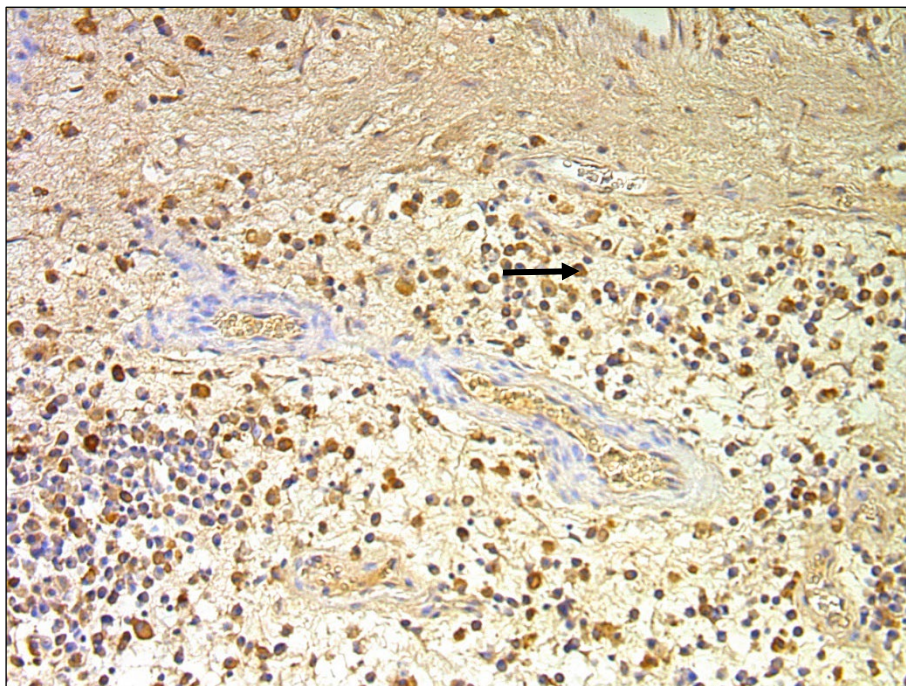
3.27. attēls. **Daudz (+++) IL-10 pozitīvu šūnu holesteatomas matriksā un vidēji daudz līdz daudz (++/+++) perimatriksā**

Bērna holesteatoma. Materiāls iegūts no 13 gadu veca zēna holesteatomas.
IL-10 IHĶ, × 250



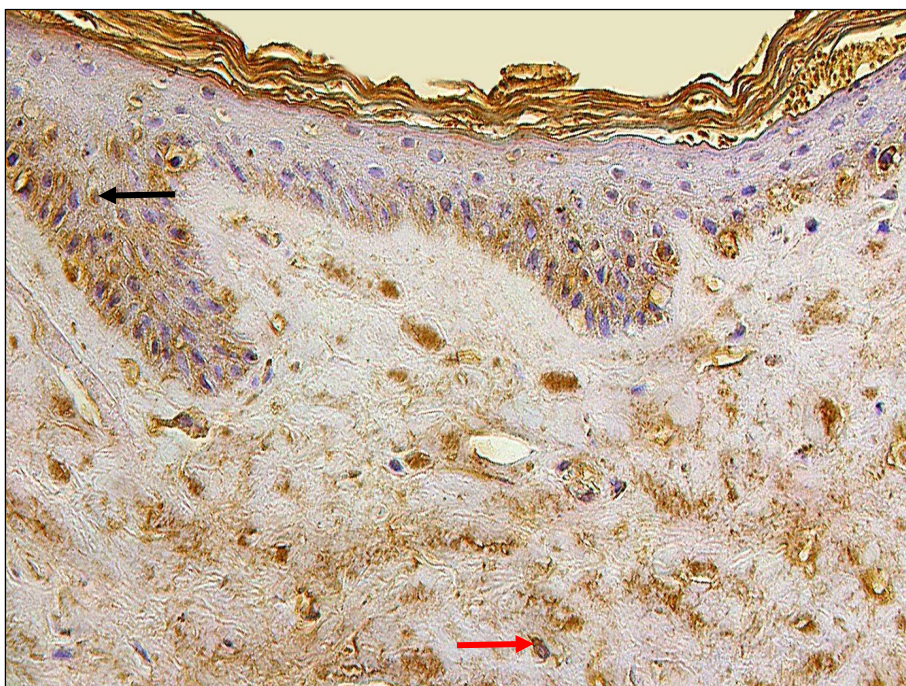
3.28. attēls. **Vidēji daudz (++) IL-10 pozitīvu šūnu holesteatomas matriksā (bultiņa)**

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 19 gadu veca vīrieša holesteatomas.
IL-10 IHĶ, × 200



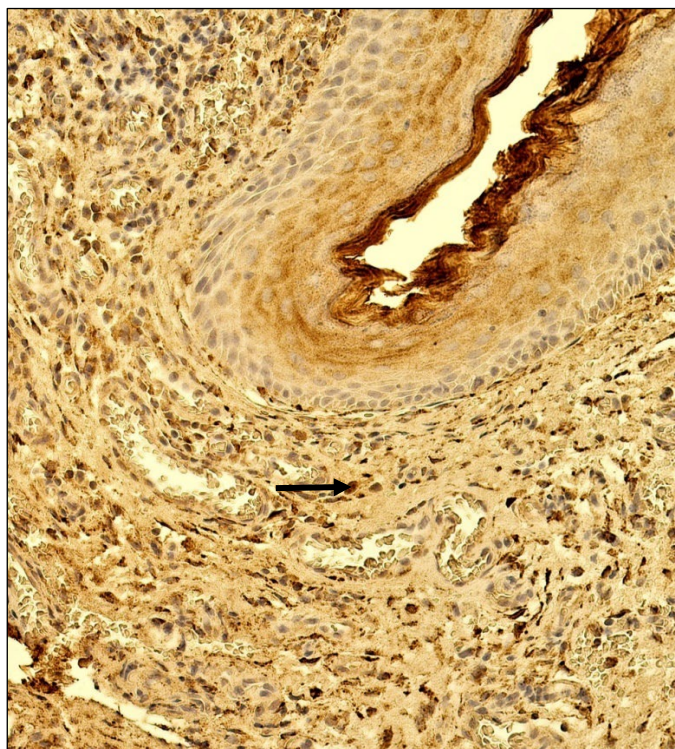
3.29. attēls. Vidēji daudz (++) IL-10 pozitīvu šūnu holesteatomas perimatriksā (bultiņa)

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 23 gadus veca vīrieša holesteatomas.
IL-10 IHK, × 250



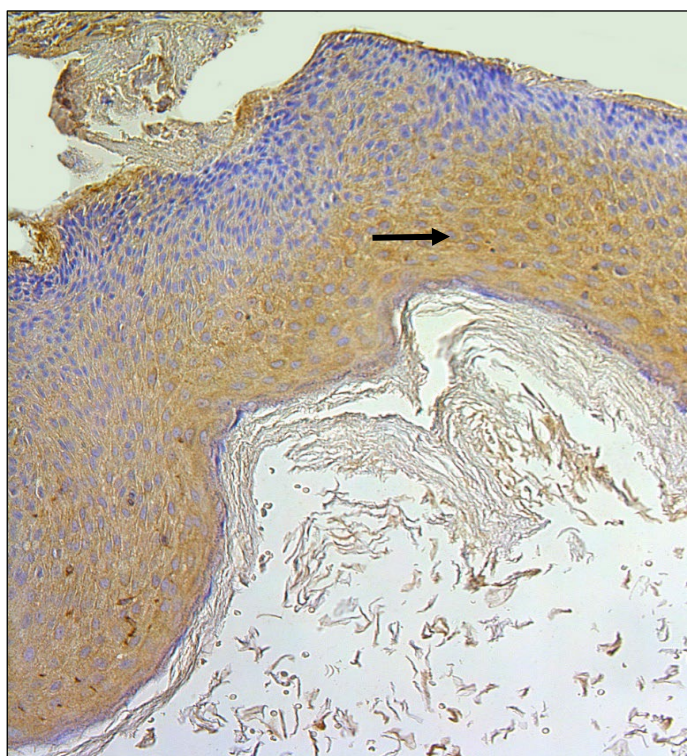
3.30. attēls. Maz (+) HβD-2 pozitīvu šūnu ādas epitēlijā (melna bultiņa) un retas (0/+) saistaudos (sarkana bultiņa). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa

HβD-2 IHK, × 400



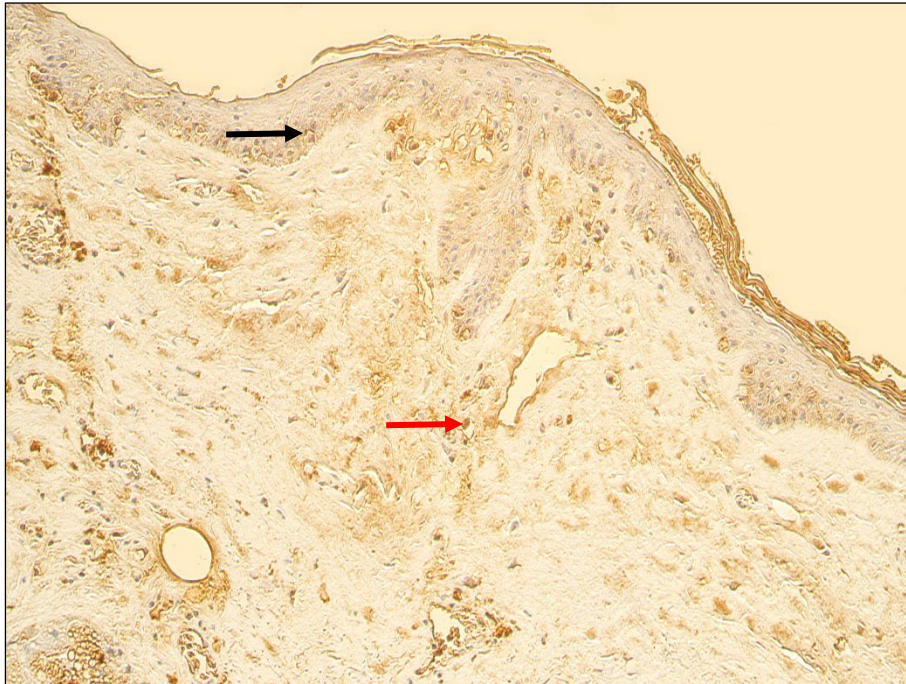
3.31. attēls. Vidēji daudz (++) HβD-2 pozitīvu šūnu holesteatomas matriksā un vidēji daudz (++) perimatriksā (bultiņa)

Bērna holesteatoma. Materiāls iegūts no 9 gadus vecas meitenes holesteatomas.
HβD-2 IHĶ, × 200



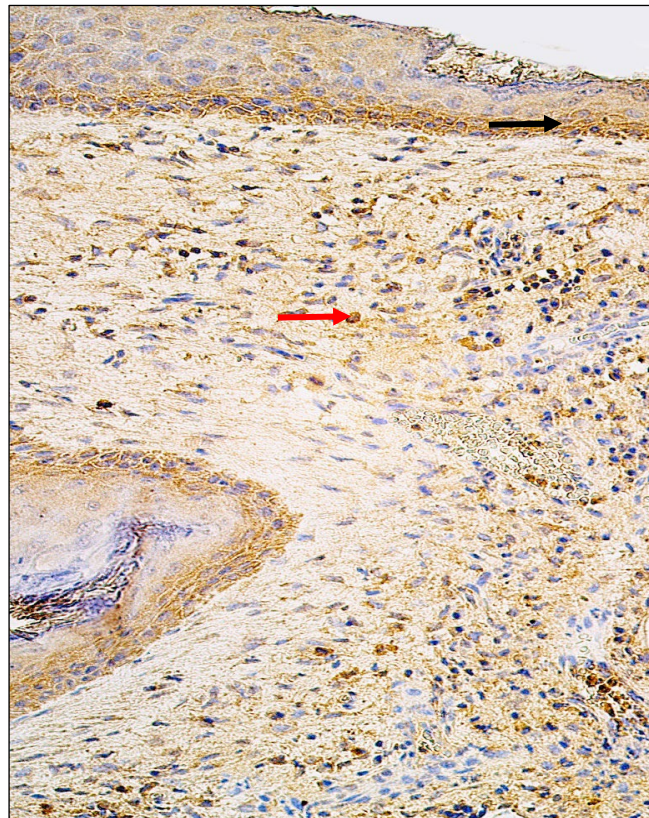
3.32. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++/+++) HβD-2 pozitīvu šūnu holesteatomas matriksā (bultiņa)

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 45 gadus vecas sievietes holesteatomas.
HβD-2 IHĶ, × 200



3.33. attēls. Maz (+) HβD-4 pozitīvu šūnu ādas epitelijā (melna bultiņa) un maz (+) saistaudos (sarkana bultiņa). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa

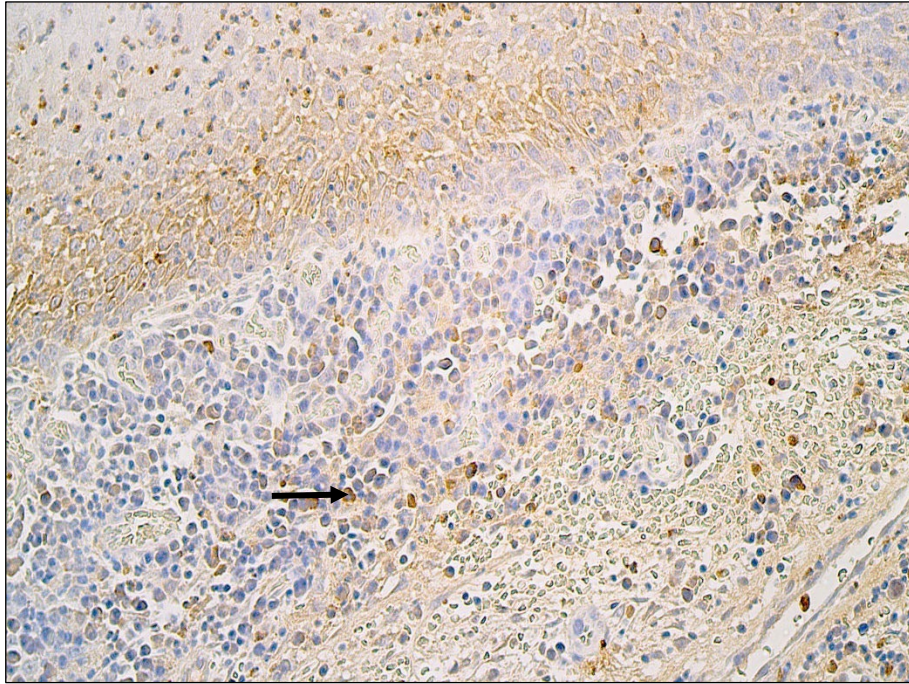
HβD-4 IHĶ, × 200



3.34. attēls. Vidēji daudz (++) HβD-4 pozitīvu šūnu holesteatomas matiksā (melna bultiņa) un maz līdz vidēji daudz (+/++) perimatiksā (sarkana bultiņa)

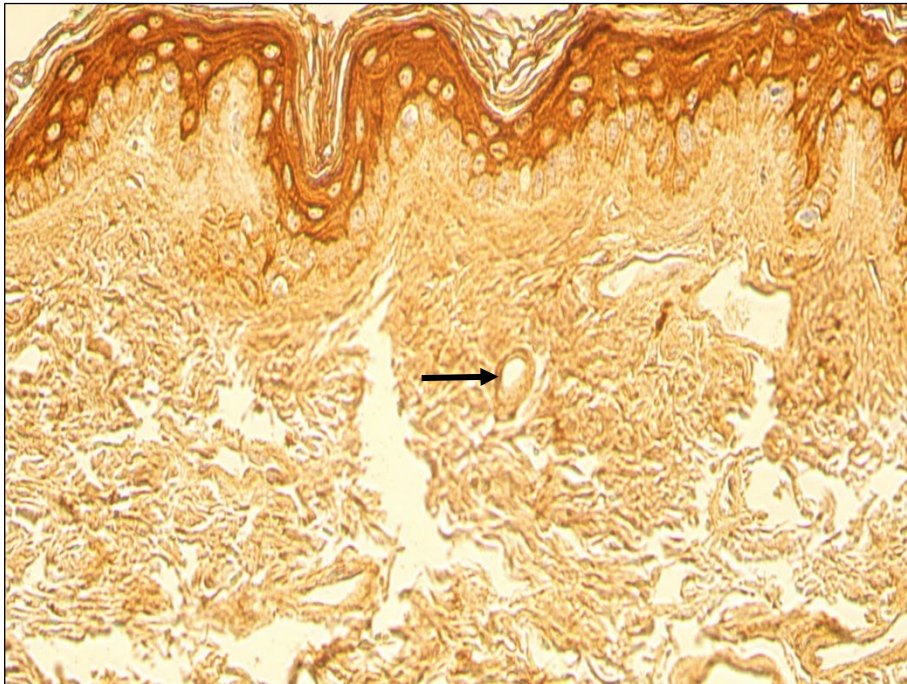
Bērna holesteatoma. Materiāls iegūts no 15 gadu vecas meitenes holesteatomas.

HβD-4 IHĶ, × 250



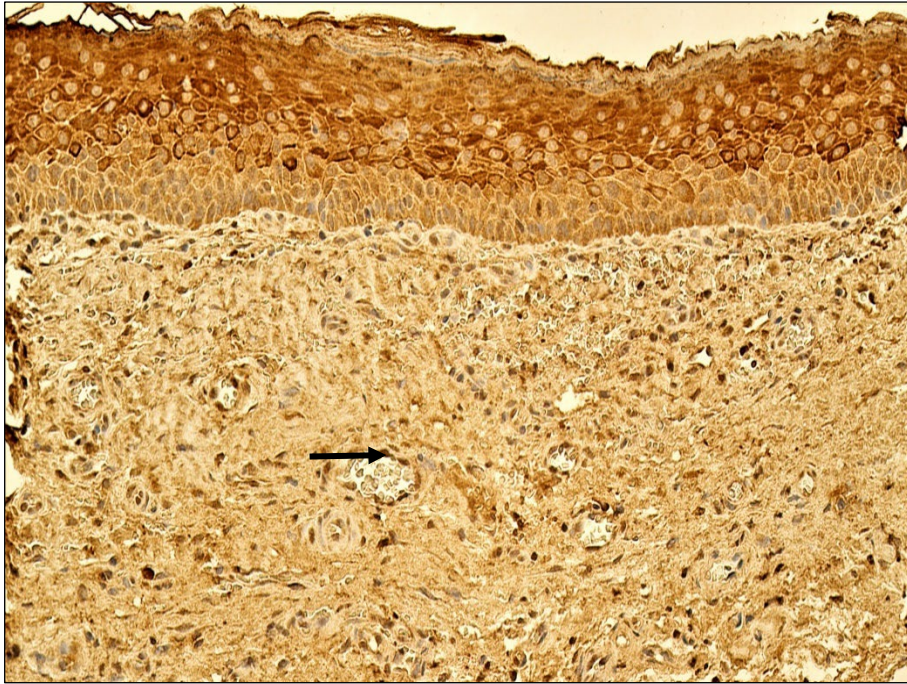
3.35. attēls. Vidēji daudz līdz daudz (++)/+++ HβD-4 pozitīvu šūnu holesteatomas matriksā un maz (+) perimatriksā (bultiņa)

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 27 gadus vecas sievietes holesteatomas.
HβD-4 IHĶ, × 250



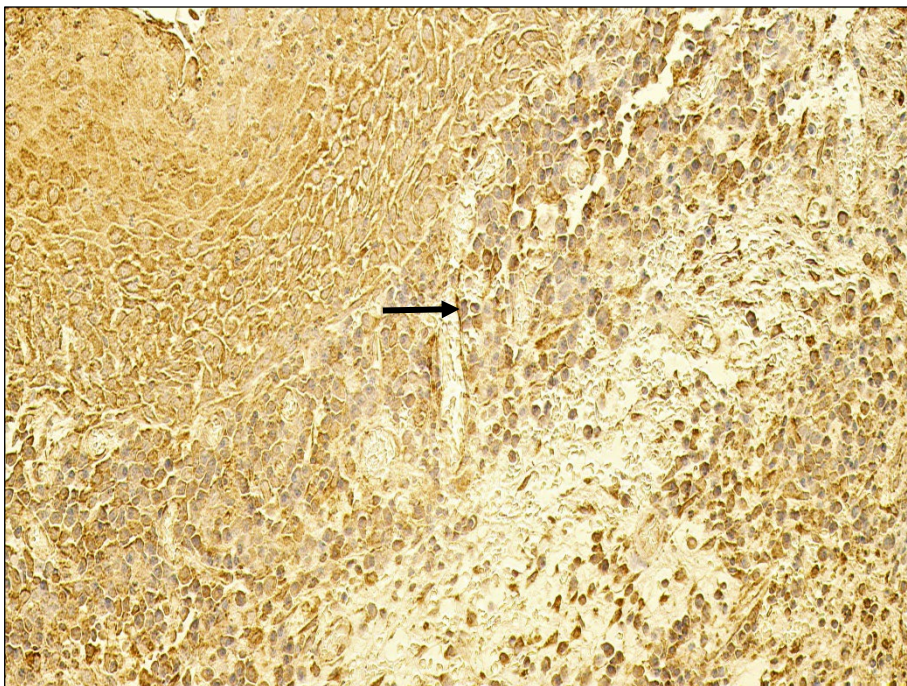
3.36. attēls. Daudz (+++) VEGF pozitīvu šūnu ādas epitēlijā un maz (+) saistaudos un maz (+) vāji krāsotu endoteliocītu (bultiņa). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa

VEGF IHĶ, × 250



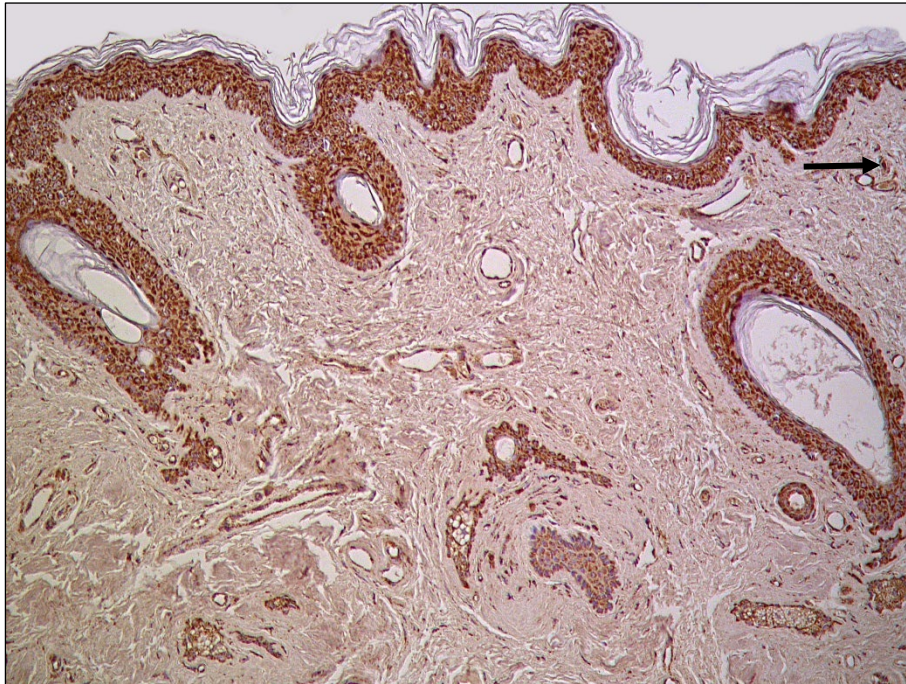
3.37. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) VEGF pozitīvu šūnu holecsteatomas matriciņā un vidēji daudz līdz daudz (++/++++) perimatriciņā – gan endoteliocīti (bultiņa), gan iekaisuma šūnas

Bērns holecsteatoma. Materiāls iegūts no 16 gadu vecas meitenes holecsteatomas.
VEGF IHĶ, × 250



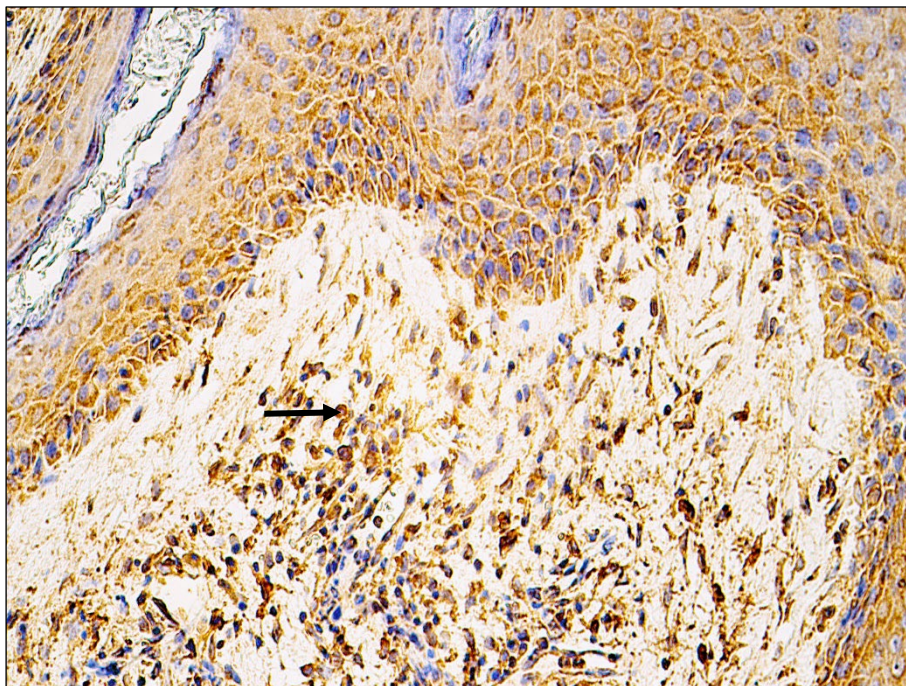
3.38. attēls. Daudz (+++) VEGF pozitīvu šūnu holecsteatomas matriciņā un vidēji daudz līdz daudz (++/++++) perimatriciņā – gan endoteliocīti (bultiņa), gan iekaisuma šūnas

Pieauguša cilvēka holecsteatoma. Materiāls iegūts no 41 gada veca vīrieša holecsteatomas.
VEGF IHĶ, × 250



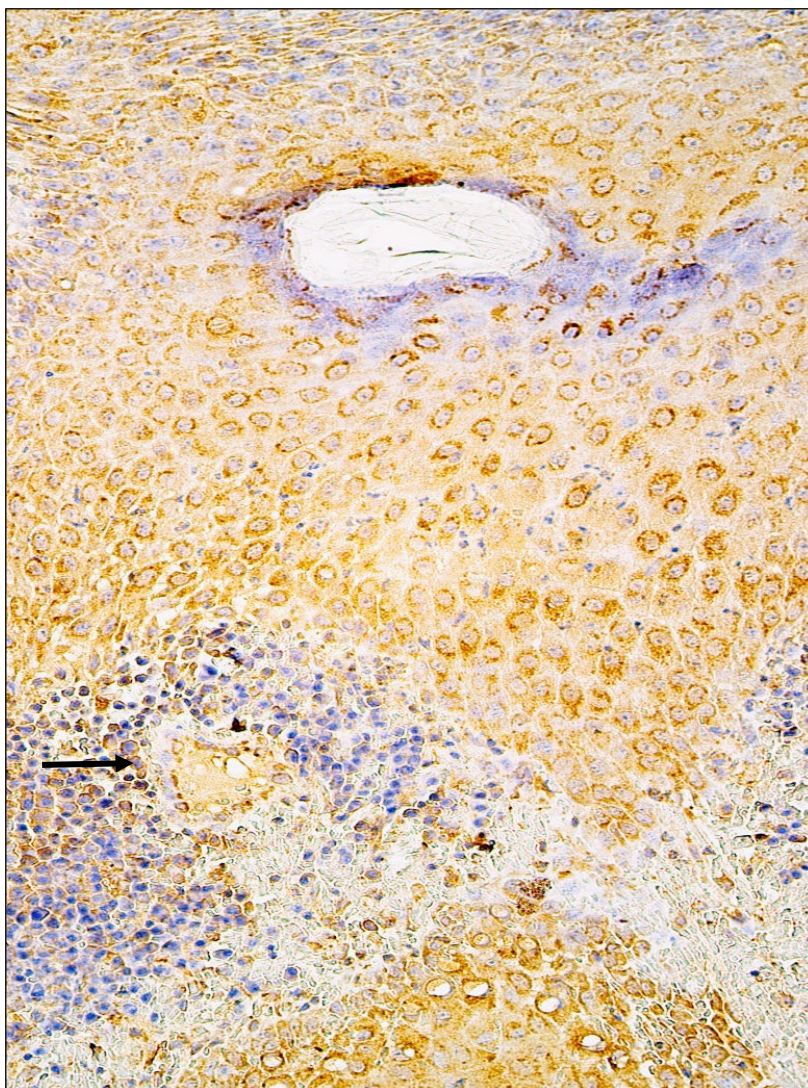
3.39. attēls. Daudz līdz ļoti daudz (+++/++++) SHH pozitīvu šūnu ādas epitelijā un maz (+) saistaudos (bultiņa). Ārējās auss ejas āda, kontroles grupa

SHH IHĶ, × 200



3.40. attēls. Daudz (+++) SHH pozitīvu šūnu holesteatomas matriksā un daudz (+++) perimatriksā (bultiņa)

Bērna holesteatoma. Materiāls iegūts no 14 gadu veca zēna holesteatomas.
SHH IHĶ, × 250



3.41. attēls. Daudz (+++) SHH pozitīvu šūnu holesteatomas matriksā un maz līdz vidēji daudz (+/++) perimatriksā (bultiņa)

Pieauguša cilvēka holesteatoma. Materiāls iegūts no 27 gadus vecas sievietes holesteatomas.
SHH IHĶ, × 250

Ētikas komitejas atļauja

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

Rīgas Stradiņa universitātes
 Pētījumu ētikas komitejas
LĒMUMS
 Rīgā

05.09.2019.

Nr.6-2/7/ 4

Komitejas sastāvs	Kvalifikācija	Nodarbošanās
1. Profesors Olafs Brūvers	Dr.theo.	teologs
2. Asoc.prof. Santa Purviņa	Dr.med.	farmakologs
3. Asoc.prof. Voldemārs Arnis	Dr.biol.	rehabilitologs
4. Professore Regīna Kleina	Dr.med.	patalogs
5. Profesors Guntars Pupelis	Dr.med.	ķirurgs
6. Asoc.prof. Viesturs Liguts	Dr.med.	toksikologs
7. Docente Iveta Jankovska	Dr.med.	ortodons
8. Docents Kristaps Circeņis	Dr.med.	docētājs
9. Lektore Ilvija Razgale	Mg.soc.d.	docētājs

Pieteikuma iesniedzējs/i:

Kristaps Dambergs
Doktorantūras nodaļa

Pētījuma / pētnieciskā darba nosaukums:

“Nemetastazējošu labdabīgu vidusauss veidojumu audu pārmaiņu ontogēnētiskais raksturojums”

Iesniegšanas datums:

20.08.2019.

Pētījuma protokols:

Izskatot augstāk minētā pētījuma pieteikuma materiālus (protokolu) ir redzams, ka pētījuma mērķis tiek sasniegts izmantojot medicīnisko dokumentāciju un holesteatomas audu kvalitatīvie diagnostiskie rādītāji, iegūto datu apstrādi un analīzi, kā arī izsakot priekšlikumus. Personu (pacientu, dalībnieku) datu izmantošana, glabāšana, aizsardzība, informēta brīvprātīga piedalīšanās un konfidencialitāte ir ievērota un nodrošināta. Līdz ar to pieteikums atbilst pētījuma ētikas prasībām.

Komitejas lēmums:

piekrist pētījumam

Komitejas priekšsēdētājs Olafs Brūvers

Tituls: Dr. miss., prof.

Paraksts

I.Bēniņa
 67061596

Ētikas komitejas atļauja

Veidlapa Nr. E-9(3)
APSTIPRINĀTA

ar Rīgas Stradiņa universitātes rektora
2018. gada 26. septembra rīkojumu Nr. 5-1/238/2018

Rīgas Stradiņa universitātes
Pētījumu ētikas komitejas
LĒMUMS
Rīgā

29.10.2022

2-PĒK-4/475/2022

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

**Pieteikuma
iesniedzējs/i:**

**Kristaps Dambergs, Doktorantūras
nodaļa**

**Pētījuma / pētnieciskā
darba
nosaukums:**

Nemetastazējošu labdabīgu vidusauss veidojumu
audu pārmaiņu ontoģenētiskais raksturojums

**Pētījumu ētikas
komitejas sēdes
datums:**

01.09.2022

**Pētījuma
protokols:**

Sākotnējais pētījums ieguvis RSU Pētījumu ētikas komitejas atļauju Nr. 6-2/7/4, (05.09.2019.). Izskatot augstāk minētā pētījuma papildinātā pieteikuma materiālus, secinām, ka pētījuma papildus mērķis -papildus kontroles grupas, 10 mirušu cilvēku audu izmantošana pētījumā, ir paredzēts sasniegt, pārliecinoties par mirušās personas dzīves laikā pausto gribu pēc nāves novēlēt savu ķermeni mācību un zinātnes nolūkiem, iegūstot bioloģisko materiālu un izdarot atbilstošas analīzes, pārbaudes, mērījumus, iegūto datu apstrādi un analīzi, kā arī publicējot iegūtos rezultātus. Līdz ar to pieteikums atbilst pētījuma ētikas prasībām.

**Komitejas
lēmums:**

Piekrist pētījuma īstenošanai.

Komitejas priekšsēdētājs Jānis Vētra
profesors.

Tituls: Dr.habil. med.,

ŠIS DOKUMENTS IR ELEKTRONISKI PARAKSTĪTS AR DROŠU
ELEKTRONISKO PARAKSTU UN SATUR LAIKA ZĪMOGU

K. Ķauķe
Tālrunis: 26691306

BKUS Zinātniskā departamenta atļauja

EDUS

http://edus.bkus.lv/index.php?extmod=doc_print&dok_reg=610...

Statistie / Studējošā pētnieciskā darba/Nedefinēta pētījuma pieteikumu reģistrs ()

Dokuments bez satura

Dokumenta statuss

Saskaņots

Reģistrācijas numurs	SP-57/2019
Atbildīgā pētnieka uzvārds, vārds	Dambergs Kristaps
Pētnieka e-pasts	Kristaps Dambergs kristaps.dambers@bkus.lv
Tālruna Nr.	29354234
Pētījuma nosaukums	Nemetastazējošu labdabīgu vidusauss veidojumu ausu pārmaiņu ontoģenētiskais raksturojums. Pētījums plānots kā šķērssgriezuma aprakstošs pētījums, kurā paredzēts ietvert pacientus no VSIA "Bērnu klīniskā universitātes slimnīca" un VSIA "P.Stradiņa klīniskā universitātes slimnīca" laika periodā no 1.08.2019 līdz 1.09.2022. Plānotais pētījumā iekļaujamo pacientu skaita minimums ir 20 pacienti pediātriskajā populācijā, 30 pieaugušo populācijā un 10 kontroles pacienti. No medicīniskās dokumentācijas operācijas dienā tiks iegūta informācija par pacienta vecumu, dzimumu. No pacienta apskates tiks izvērtēta klīniskā aina pirms un pēc operācijas (ir vai nav strutaini izdalījumi no auss operācijas dienā un holesteatomas stadiju, ko nosaka veiktās operācijas beigās pēc "ChOLE" klasifikatora). Operācijas laikā tiks paņemti pacienta holesteatomas audi, kurus tālāk apstrādās un izanalizēs RSU Anatomijas un Antropoloģijas institūtā.
Pētījuma metode	
Darba mērķa grupa	BKUS pacienti, kuri plānveida kārtā ierodas uz holesteatomas operāciju.
Izglītības iestāde	RSU
Norises laiks no	01.07.2019
Norises laiks līdz	04.07.2022
Saistīts ar promocijas darbu	Nē
Ētikas atļauja nepieciešama	Jā
Ētikas atļaujas numurs	Nr.6-2/7/4
Ētikas atļaujas izsniedzējs	RSU Ētikas komiteja
Atskaites datums	
Atzinums par pabeigšanu	
Ieguvumi BKUS	
Darba vadītājs	Sumeraga Gunta RSU Pilmane Māra RSU

Saistītie dokumenti**Atzīme par parakstu****Rezolūcija/Uzdevums****Atbildes / Jautājumi****Darbam / Izpildei****Saskanojumi / Vīzas**

Nr.	Statuss	Autors	Izpildītāji	Kontrolē	Izpildīts	Termiņš	Komentāri
63244	✓	Gita Pirvica	Dace Zavadska		Dace Zavadska 20.11.2019 11:45	19.11.2019 - 29.11.2019	

PSKUS Zinātniskā institūta atļauja

**VSIA „Paula Stradiņa klīniskā universitātes slimnīca” Zinātniskā institūta direktoram
IESNIEGUMS AKADĒMISKĀ/STUDIJU PĒTĪJUMA ATĻAUJAS SAŅEMŠANAI**

20 19. gada 12. jūlijā

IESNIEGUMA IESNIEDZĒJS / PĒTĪJUMA AUTORS VAI AUTORU KOLEKTĪVA VADĪTĀJS

Vārds, uzvārds	Kristaps Dambergs		
Studenta apliecības Nr. vai cits identifikators*	Pers. Kods 240888-11568		
Izglītības iestādes nosaukums*	Rīgas Stradiņa universitāte		
Studiju programma*	Doktorantūra, studiju programma “Medicīna”		
Tālr.	29354234	E-pasts	Kristaps.dambergs@rsu.lv
Projekta nosaukums un Nr. **			

PĒTĪJUMA ZINĀTNISKAIS VADĪTĀJS*

Vārds, uzvārds	Profesore Māra Pilmane Docente Gunta Sumeraga		
Zinātniskā vadītāja paraksts, datums	<i>M. Pilmane, 02.07.2019</i> <i>[Signature]</i> <i>Gunta Sumeraga</i>		

PĒTĪJUMA NOSAUKUMS

Nemetastazējošu labdabīgu vidusauss veidojumu ausu pārmaiņu ontogēnētiskais raksturojums

PĒTĪJUMA NORISES VIETA

Klīnika/centrs/nodaļa	Otolaringoloģijas, 15. nodaļa
Klīnikas/centra/nodaļas vadītāja/vīrmāšas saskaņojums par pētījuma veikšanu : paraksts, datums	<i>[Signature]</i> VSIA „Paula Stradiņa klīniskā universitātes slimnīca” 15. Otolaringoloģijas nodaļa Arsts otolaringologs Gunta Sumeraga 1599037589

NORISES LAIKS

Pētījuma norises laiks, norādot sākuma un beigu datumu	1.08.2019 – 1.08.2022
--	-----------------------

NEPIECIEŠAMĀS PACIENTU DATU APJOMS

IZMANTOJAMĀS PACIENTU SLIMĪBAS VĒSTURES

Pētījumā paredzēts izmantot ≤ 300 ≥ 300** nav paredzēts izmantot vēstures

CITA MEDICĪNISKĀ DOKUMENTĀCIJA UN /VAI DATI

Ir paredzēts izmantot Veids _____ nav paredzēts izmantot

APTAUJAS, ANKETĒŠANA

Ir paredzēts nav paredzēts

Piezīmes: Slimības vēsturu diagnožu kodi (SSK-10) vai Slimības vēsturu numuri ja zināmi, cita informācija

Darbs pēc tā pabeigšanas un aizstāvēšanas nododams Zinātniskajā institūtā Jā Nē

* Šo sadaļu aizpilda studenti, maģistranti un doktoranti
** Šo sadaļu aizpilda, ja pētījums tiek veikts kādas programmas, projekta, granta, starptautiska finansējuma ietvaros
** ja paredzēts izmantot vairāk kā 300 Slimības vēstures, iesniegumam nepieciešams pievienot rakstisku pamatojumu.

Slimnīcas atļauja: 05.11.2019
/datums/

/Iesniedzēja paraksts, atšifrējums/
[Signature] /Kristaps Dambergs/
/ZI kompetenta darbinieka paraksts un atšifrējums/
VSIA „Paula Stradiņa klīniskā universitātes slimnīca”
Zinātniskā institūta direktors
Prof. Dainis Krievs