

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Laima Ambrozaitytė

**GENOMINIŲ VEIKSNIŲ ĮTAKA DAUGIAVEIKSNĖS
ETIOLOGIJOS LŪPOS IR (ARBA) GOMURIO NESUAUGIMAMS
LIETUVOS PACIENTŲ GRUPĖJE**

Daktaro disertacija
Biomedicinos mokslai, biologija (01 B)

Vilnius, 2011

Disertacija rengta 2008 – 2011 metais Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Žmogaus ir medicininės genetikos katedroje

Mokslinis vadovas:

Prof. habil. dr. Vaidutis Kučinskas (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, biologija – 01 B)

Konsultantas:

Prof. dr. Algirdas Utkus (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 07 B)

TURINYS

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS	5
I. ĮVADAS	8
II. LITERATŪROS APŽVALGA	15
2.1 LŪPOS IR (ARBA) GOMURIO NESUAUGIMAS	15
2.2 LŪPOS IR GOMURIO VYSTYMASIS	16
2.2 LŪPOS IR (ARBA) GOMURIO NESUAUGIMŲ KLASIFIKACIJA 18	
2.3 L/GN EPIDEMIOLOGIJA	21
2.4 DAUGIAVEIKSNĖS PATOLOGIJOS GENŲ NUSTATYMAS... 23	
2.5 GENOMINIŲ/GENETINIŲ SRIČIŲ, GALIMAI LEMIANČIŲ L/GN, TYRIMAI.....	25
III. DARBO SCHEMA IR METODAI	28
3.1. TYRIMO OBJEKTAS.....	28
3.2. TYRIMO EIGA.....	29
3.3. TYRIMO METODAI	30
3.3.1. DNR IŠSKYRIMAS.....	30
3.3.2. BIOLOGINĖS GIMINYSTĖS TYRIMAS	30
3.3.3. GENOMINIO LUSTO TYRIMAS <i>APEX-2</i> TECHNOLOGIJA	37
3.3.4. ALELIŲ DAŽNIO SKAIČIAVIMAS	42
3.3.5. STATISTINĖ ANALIZĖ.....	43
IV. REZULTATAI.....	47
4.1 BIOLOGINĖS GIMINYSTĖS TYRIMO REZULTATAI.....	47
4.2 GENOTIPAVIMO PAGAL VIENO NUKLEOTIDO POLIMORFIZMUS REZULTATAI.....	47
4.3 ASOCIACIJOS ANALIZĖS, GENOTIPUOJANT PAGAL VIENO NUKLEOTIDO POLIMORFIZMUS, REZULTATAI.....	50
4.4 ATVEJO – KONTROLĖS TYRIMŲ ASOCIACIJOS ANALIZĖS REZULTATAI.....	61
4.5 HAPLOTIPŲ ANALIZĖS REZULTATAI.....	62
IV. REZULTATŲ APTARIMAS.....	71
4.1 <i>BCL3</i> (angl. B cell lymphoma 3) – B ląstelių limfomos 3 genas.....	71
4.2 <i>RARA</i> (angl. retinoic acid receptor α) – retinoinės rūgšties receptoriaus α genas	73

4.3 <i>TGFα</i> (angl. transforming growth factor α) – transformuojančio augimo veiksnio α genas	74
4.4 <i>TGFβ3</i> (angl. transforming growth factor β 3) – transformuojančio augimo veiksnio β 3 genas	76
4.5 BMP (angl. bone morphogenetic proteins) – kaulų morfogenetinių baltymų genai	78
4.6 FGF (angl. fibroblast growth factor) – fibroblastų augimo veiksmių genų šeima.....	81
4.7 <i>FNI</i> (angl. fibronectin 1) – fibronektino 1 genas.....	82
4.8 COL11A1 (angl. collagen, type XI, α 1), COL11A2 (angl. collagen, type XI, α 1), COL2A1 (angl. collagen, type II, α 1) – kremzlių kolageno genai.....	83
4.9 WNT (angl. wingless-type MMTV integration site family) molekulių genai.....	85
4.10 MMP (angl. matrix metalloproteinases) – metalo matrikso proteinazių šeimos genai	86
4.11 Stipriausi L/GN genai kandidatai Lietuvos pacientų grupėje.....	88
V. IŠVADOS.....	90
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	91
PADĖKA.....	107
PRIEDAI	108

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

ABCA4	(angl. ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 4)
APEX-2	(angl. arrayed primer extension – based genotyping method) pradmenų pratesimu pagrįstas genotipavimo lustas
BCL3	(angl. B-cell lymphoma 3)
BMP2	(angl. bone morphogenetic protein 2 precursor)
BMP4	(angl. bone morphogenetic protein 4 precursor)
CDH1	(angl. cadherin1)
CLPTM1	(angl. apolipoprotein C-II precursor)
COL11A1	(angl. collagen, type XI, alpha 1)
COL11A2	(angl. collagen, type XI, alpha 2)
COL2A1	(angl. collagen, type II, alpha 1)
CRISPLD2	(angl. cysteine-rich secretory protein LCCL domain containing 2)
DNR	deoksiribonukleorūgštis
EDN1	(angl. endothelin – 1 precursor)
EFNB1	(angl. ephrin B1)
EGF	(angl. epidermal growth factor)
EGFR	(angl. epidermal growth factor receptor)
EST	Estija
FGF1	(angl. fibroblast growth factor 1)
FGF2	(angl. fibroblast growth factor 2)
FGFR1	(angl. fibroblast growth factor receptor 1)
FN1	(angl. fibronectin 1)
FOXE1	(angl. forkhead box E1 (thyroid transcription factor 2))
GLI2	(angl. GLI family zinc finger 2)
GN	gomurio nesuaugimas
Hoxa2	(angl. homeobox A2)
IRF6	(angl. interferon regulatory factor)
JAG2	(angl. jagged 2)

L/GN	lūpos ir/arba gomurio nesuaugimas
LAT	Latvija
LGN	lūpos ir gomurio nesuaugimas
LHX8	(angl. LIM homeobox 8)
LIT	Lietuva
LN	lūpos nesuaugimas
LN+/-GN	lūpos nesuaugimas su arba be gomurio nesuaugimo
LOXHD1	(angl. lipoxygenase homology domains 1)
MAFB	(angl. v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B (avian))
MYH9	(angl. myosin, heavy chain 9, non-muscle)
MLL2	(angl. myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 2)
MMP13	(angl. matrix metallopeptidase 13 (collagenase 3))
MMP2	(angl. matrix metallopeptidase 2)
MMP25	(angl. matrix metallopeptidase 25)
MMP3	(angl. matrix metallopeptidase 3)
MMP9	(angl. matrix metallopeptidase 9)
MSX1	(angl. msh homeobox 1)
MSX2	(angl. msh homeobox 2)
MTHFR	(angl. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH))
NOG	(angl. noggin)
np	nukleotidų pora
OFD1	(angl. oral-facial-digital syndrome 1)
Pax9	(angl. paired box 9)
Pitx1	(angl. paired like homeodomain 1)
Pitx2	(angl. paired like homeodomain 2)
PTCH1	(angl. patched 1)
PVRL1	(angl. poliovirus receptor related 1)
PVRL2	(angl. poliovirus receptor related 2)
RARA	(angl. retinoic acid receptor alpha)

SATB2	(angl. SATB homeobox 2)
SHH	(angl. sonic hedgehog)
SIX3	(angl. SIX homeobox 3)
SKI	(angl. v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian))
SMAD2	(angl. SMAD family member 2)
SMAD4	(angl. SMAD family member 4)
SOX9	(angl. SRY (sex determining region Y)-box 9)
SPRY2	(angl. sprouty homolog 2 (Drosophila))
SUMO1	(angl. SMT3 suppressor of mif two 3 homolog 1 (S. cerevisiae))
TBX1	(angl. T-box 1)
TBX10	(angl. T-box 10)
TBX22	(angl. T-box 22)
TDT	(angl. transmission disequilibrium test) nepusiausviro perdavimo testas
TGFA	(angl. transforming growth factor alpha)
TGFB3	(angl. transforming growth factor beta 3)
TGIF	(angl. TGFB induced factor)
TIMP1	(angl. TIMP metalloproteinase inhibitor 1)
TIMP2	(angl. TIMP metalloproteinase inhibitor 2)
TIMP3	(angl. TIMP metalloproteinase inhibitor 3)
TP63	(angl. tumor protein p63)
TPS	(angl. short tandem repeats) trumpos pasikartojančios sekos
VAX1	(angl. ventral anterior homeobox 1)
VNP	vieno nukleotido polimorfizmas
VU MF	Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas
WNT3	(angl. wingless-type MMTV integration site family member 3)
WNT9B	(angl. wingless-type MMTV integration site family member 9)

I. ĮVADAS

Lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimai (L/GN) yra daugiaveiksnės etiologijos įgimta žmogaus raidos yda. Įvairių autorių duomenimis jų dažnis svyruoja nuo 0,4 iki 2,0 atvejų 1000 gimusiųjų. Lūpos ir (ar) gomurio nesuaugimų dažnumas Lietuvoje 1000–iui gyvagimių 1993 – 1997 metais buvo 1,84 (Vasiliauskas *et al.*, 2004).

Sparčiai tobulėjant molekulinės genetikos metodams ir statistinės analizės įrankiams yra nustatoma vis daugiau genetinių sričių lemiančių polinkį lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimams. Dabar yra patvirtinta kelios dešimtys kandidatinių L/GN genetinių sričių. Nors naujų genetinių sričių identifikavimas tik padidina tikimybę išaiškinti L/GN patogenezę, vis dar susiduriame su sunkumais nustatyti ir suprasti: sudėtingą signalinių kelių molekulių tarpusavio sąveiką, geno – aplinkos sąveikas ir galvos ir veido vystymąsi kontroliuojančius epigenetinius veiksnius, ir sąryšį tarp genetinių variantų ir polinkio L/GN. (Jiang *et al.*, 2006). Tiriant genetinį L/GN heterogeniškumą svarbu kuo tiksliau apibrėžti tiriamųjų fenotipą. Klinikinio subfenotipo panaudojimas tokiuose tyrimuose tik dar labiau padidins asocijuotų variantų statistiškai reikšmingus įverčius, panaudojant šeima paremtus tyrimus.

Šio darbo tikslas buvo nustatyti genų kandidatų alelius, lemiančius polinkį (nesindrominiam) lūpos nesuaugimui su arba be gomurio nesuaugimo ir izoliuotam gomurio nesuaugimui Lietuvos pacientų grupėje, tiriant 42–jų genų galimai lemiančių L/GN genominius žymenis molekuliniiais genetiniais metodais ir taikant statistinę asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu.

Taikant šeimų tyrimo ir atvejo – kontrolės tyrimo asociacijos analizės strategijas pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo grupėje, patvirtinti *TIMP2*, *BMP2*, *FNI* genų kandidatų variantai lemiantys lūpos nesuaugimus su arba be gomurio nesuaugimo ir gomurio nesuaugimus

Lietuvos populiacijoje, *COL11A1*, *COL11A2*, *COL2A1* genų kandidatų variantai lemiantys gomurio nesuaugimus Lietuvos populiacijoje. Įvertinus Lietuvos, Latvijos ir Estijos pacientų su L/GN asociacijos analizės rezultatus, buvo nustatyta, kad Šiaurės Rytų Europos populiacijose polinkį lūpos nesuaugimui su arba be gomurio nesuaugimo lemia *FGF1*, *TIMP2* genų variantai ir polinkį gomurio nesuaugimui *COL2A1*, *COL11A2* genų variantai. Lūpos nesuaugimus su arba be gomurio nesuaugimo lemia skirtingi genetiniai veiksniai nei gomurio nesuaugimą Lietuvos pacientų grupėje.

Darbo tikslas ir uždaviniai, ginamieji teiginiai

Darbo tikslas - nustatyti stipriausius genus kandidatus ir jų alelius, lemiančius polinkį (nesindrominiam) lūpos nesuaugimui su arba be gomurio nesuaugimo ir izoliuotam gomurio nesuaugimui Lietuvos pacientų grupėje (vertinant Baltijos šalių populiacijų kontekste).

Darbo uždaviniai:

1. Parinkti genetinius žymenis ir genotipuoti Lietuvos pacientų su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimu triadų ir kontrolinės grupės iš bendros populiacijos asmenis pagal pasirinktus žymenis lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimus lemiančiuose genuose kandidatuose.
2. Atlikti asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu, taikant šeima paremtus tyrimus, pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo grupėje.
3. Atlikti asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu, taikant šeima paremtus tyrimus, pacientų su gomurio nesuaugimu grupėje.
4. Įvertinti asociacijos analizės rezultatus, atliekant atvejo – kontrolės tyrimus Lietuvos pacientų ir bendros populiacijos grupėje.
5. Įvertinti Lietuvos, Latvijos, Estijos pacientų su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimu asociacijos analizės rezultatus.

6. Įvertinti lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimą lemiančių genų kandidatų alelių įtaką fenotipui.

Darbo naujumas ir reikšmė

Jau 1942 metais Fogh – Andersen su kolegomis įrodė genetinį lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimo paveldimumą. Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Žmogaus ir medicininės genetikos katedroje genetiniai/genominiai lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimo tyrimai vykdomi nuo 2002 metų, tiriant L/GN genų kandidatus tiesioginės sekoskaitos, genotipavimo pagal mikrosatelitinius ir vieno nukleotido polimorfizmo žymenis metodais. Pastaruosiu metu pasaulyje vis daugiau kandidatinių L/GN genų sričių identifikuojama plateaus masto viso genomo tyrimais, tačiau šių sričių patvirtinimui būtini kiti (signalinių kelių) metodai. Vieną patologiją lemiančių genų kandidatų tyrimai genominiams žymenims yra vienas patogiausių metodų tirti visas kandidatines sritis vienu metu išvengiant didelio masto duomenų analizės.

Šis darbas – tai lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimus lemiančių genų kandidatų alelių variantų identifikavimas, tiriant 42–jų genų, galimai lemiančių lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimus, genominius žymenis molekuliniais genetinėmis metodais Lietuvos pacientų grupėje. Tai plataus masto genomo tyrimai, kai yra tiriami tik tam tikrą patologiją – lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimus – lemiantys genai kandidatai. Pirmą kartą buvo tiriamas daugiaveiksnės etiologijos lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimas, padidinant tiriamųjų grupę, kai tiriami genetiškai artimų (Nelis et al, 2009) trijų Baltijos šalių (Lietuvos, Latvijos, Estijos) pacientai su L/GN ir kontrolinės grupės asmenys iš bendros atitinkamos populiacijos grupės. Tokio išplėstinio tyrimo pagrindimas yra didesnė tiriamųjų grupė, kai patvirtinama asocijuotų genų kandidatų alelių įtaka.

Genominių ir aplinkos veiksnių sintezės kūrimas, panaudojant genetinius, epigenetinius, sistemų biologijos, genų raiškos ir epidemiologijos tyrimus, yra reikalingas išsamiau apibūdinti daugiaveiksnes etiologijas, taip pat patobulinti prevenciją ir klinikinę priežiūrą.

Ginamieji teiginiai:

1. *TIMP2*, *BMP2*, *FGF1* genų variantai lemia polinkį lūpos nesuaugimui su arba be gomurio nesuaugimo Lietuvos populiacijoje.
2. *COL11A1*, *COL11A2*, *COL2A1* genų variantai lemia polinkį gomurio nesuaugimui Lietuvos populiacijoje.
3. Skirtingi L/GN genai kandidatai ir jų variantai įtakoja lūpos nesuaugimą su arba be gomurio nesuaugimo ir izoliuotą gomurio nesuaugimą Lietuvos pacientų grupėje.
4. Vertinant Lietuvos, Latvijos, Estijos pacientų su L/GN asociacijos analizės rezultatus, *COL2A1*, *COL11A2* ir *IRF6* genai yra statistiškai reikšmingai asocijuoti su gomurio nesuaugimu ir *FGF1*, *FOXE1* ir *TIMP2* genai – su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo.

Darbo aprobacija

Darbo rezultatai paskelbti Lietuvos ir užsienio leidiniuose, pristatyti mokslinėse konferencijose.

Disertacijos tema paskelbtų straipsnių sąrašas:

1. A.Morkūnienė, D.Steponavičiūtė, **L.Ambrozaitytė**, A.Utkus, L.Linkevičienė, V.Kučinskas. Are TGFA, TGFB3, GABRB3, RARA and BCL3 loci associated with nonsyndromic orofacial clefts? A Lithuanian study. *BIOLOGIJA*. 2007. Nr. 1. P. 1–6

2. P.Treigys, V.Marcinkevičius, V.Tiešis, A.Matulevičienė, **L.Ambrozaitytė**, V.Kučinskas. “Use case analysis for cleft lip and/or palate data storage” (“Duomenų, susijusių su lūpos ir/ar gomurio nesuaugimais, kaupimo proceso analizė”) *Laboratorinė medicina. T. 10, Nr. 4 (2008) p. 197-202.*
3. T.Nikopensius, **L.Ambrozaitytė**, K.U.Ludwig, S.Birnbaum, T.Jagomägi, M.Saag, A.Matulevičienė, L.Linkevičienė, S.Herms, M.Knapp, P.Hoffmann, M.M.Nöthen, V.Kučinskas, A.Metspalu, E.Mangold. Replication of novel susceptibility locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on chromosome 8q24 in Estonian and Lithuanian patients. *Am J Med Genet Part A* 149A:2551–2553 (2009).
4. T.Nikopensius, T.Jagomägi, K.Krjutškov, V.Tammekivi, M.Saag, I.Akota, B.Barkane, A.Krumina, L.Piekuse, I.Prane, **L.Ambrozaitytė**, A.Matulevičienė, Z.A.Kučinskienė, B.Lace, V.Kučinskas, A.Metspalu. Genetic Variants in *COL2A1*, *COL11A2* and *IRF6* Contribute Risk to Nonsyndromic Cleft Palate. *Birth Defects Research (Part A)* 88:748-756 (2010).
5. I.Uktverytė, **L.Ambrozaitytė**, A.Timinskas, A.Matulevičienė, A.Utkus, V.Kučinskas. Lūpos ir/ar gomurio nesuaugimų *SOS1* geno kandidato sekos variantų tyrimai. *Laboratorinė medicina*, 2010, t.12, Nr.3 (47), p.119-122, ISSN 1392-6470.
6. T.Nikopensius, I.Kempa, **L.Ambrozaitytė**, T.Jagomägi, M.Saag, A.Matulevičienė, A.Utkus, K.Krjutškov, V.Tammekivi, L.Piekuse, I.Akota, B.Barkane, A.Krumina, J.Klovins, B.Lace, V.Kučinskas, A.Metspalu. Variation in *FGF1*, *FOXE1*, and *TIMP2* genes is associated with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology* (2011).

Stendiniai pranešimai:

1. A.Morkūnienė, **L.Ambrozaitytė**, A.Utkus, V.Kučinskas „IRF6 gene's nucleotide sequence changes in patients with nonsyndromic orofacial clefting from Lithuania“ (Control No. 2007-A-379-ESHG) Europos žmogaus genetikos draugijos konferencija Nicoje, Prancūzijoje, 2007.
2. **L.Ambrozaitytė**, A.Matulevičienė, V.Kučinskas. Association study of microsattelite markers of five candidate loci in the cleft lip and palate patients of Lithuania. (Control No. 2008-A-150-ESHG) Europos žmogaus genetikos draugijos konferencija Barselonoje, Ispanijoje, 2008.
3. V.Kučinskas, **L.Ambrozaitytė**, A.Matulevičienė, E.Preikšaitienė. Scan of 640 SNPs of 43 candidate cleft lip or palate genes in the nonsyndromic cleft lip or palate patients of Lithuania. (Control No. 20196) Amerikos žmogaus genetikos draugijos konferencija Filadelfijoje, JAV, 2008.
4. **L.Ambrozaitytė**, A.Matulevičienė, V.Kučinskas. Investigation of three candidate genes in the cleft lip and/or palate patients group of Lithuania. (Control No. 2009-A-1429-ESHG) Europos žmogaus genetikos draugijos konferencija Vienoje, Austrijoje, 2009.
5. A.Matulevičienė, **L.Ambrozaitytė**, E.Preikšaitienė, A.Utkus, L.Linkevičienė, B.Aleksiūnienė, E. Dagtė, Ž.Čiuladaitė, V.Šliužas, V.Kučinskas. Spectrum of oral clefts in the light of contemporary research study. Europos žmogaus genetikos draugijos konferencija Vienoje, Austrijoje, 2009.
6. J.Kasnauskienė, K.Grigalionienė, **L.Ambrozaitytė**, Z.A.Kučinskienė, V.Kučinskas. Mutations and SNPs spectrum form monogenic and common disorders in Lithuania: creation strategy for diagnostic and prognostic testing. *Human Variome Project Implementation & Integration Meeting*, Paryžiuje, Prancūzijoje, 2010.

7. **L.Ambrozaitytė**, I.Uktverytė, A.Timinskas, A.Utkus, A.Matulevičienė, V.Kučinskas. Analysis of the variety of sequence variants of *SOS1* gene in cleft lip and/or palate patients of Lithuania. (Control No. 1021128) Amerikos Žmogaus Genetikos Draugijos konferencijoje, 2010.
8. T.Nikopensius, **L.Ambrozaitytė**, T.Jagomägi, M.Saag, A.Matulevičienė, V.Kučinskas, A.Metspalu. *FNI* and *TIMP2* polymorphisms are associated with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. (Control No. 2011-A-169-ESHG) Europos žmogaus genetikos draugijos konferencija Amsterdame, Olandijoje, 2011.

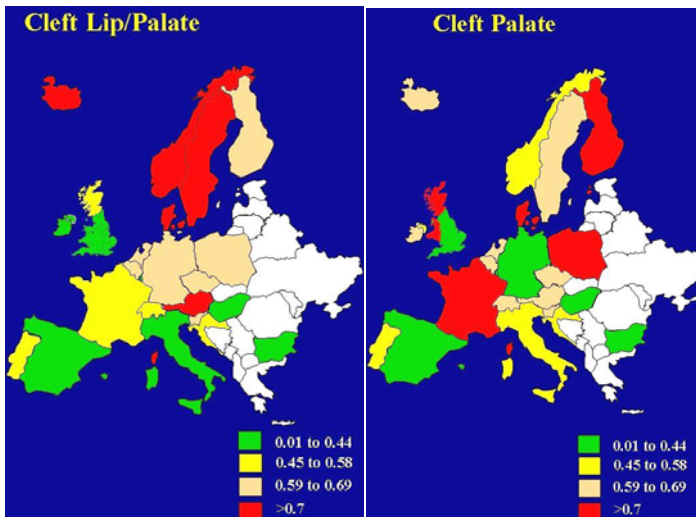
Žodiniai pranešimai:

1. **L.Ambrozaitytė**, J.Kasnauskienė, I.Uktverytė, V.Šliužas, A.Matulevičienė, E.Preikšaitienė, A.Utkus, V.Kučinskas “Genomic investigation of Lithuanian patients with cleft lip and/or palate”, 3-oji Baltijos Šalių Odontologijos Mokslinė konferencija, Vilnius, 2008.11.
2. V.Kučinskas, A.Matulevičienė, E.Preikšaitienė, **L.Ambrozaitytė**, J.Kasnauskienė, A.Utkus, M. Radavičius, V.Marcinkevičius, L. Linkevičienė, A.Timinskas “The genetics of cleft lip palate: in the light of contemporary research study”, 3-oji Baltijos Šalių Odontologijos Mokslinė konferencija, Vilnius, 2008.11.
3. **L.Ambrozaitytė**, I.Uktverytė, J.Kasnauskienė, A.Matulevičienė, V.Kučinskas. Lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimų genominiai tyrimai Lietuvos pacientų grupėje. III-oje nacionalinėje mokslinėje konferencijoje "Mokslas - žmonių sveikatai“, Kaunas, 2010.04.

II. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1 LŪPOS IR (ARBA) GOMURIO NESUAUGIMAS

Įgimti lūpos ir/arba gomurio nesuaugimai – viena iš dažniausių įgimtų anomalijų. Įvairių autorių duomenimis jų vidutinis dažnumas yra 1,32 atveju 1000-iui gimusiųjų. Azijos ir Amerikos populiacijose šio defekto dažnis yra didžiausias – 2/1000 ar dažniau, Europos populiacijoje 1/1000 (2.1 pav.), iš Afrikos kilusiose populiacijose yra 0,4/1000. Toks dažnio skirtumas patvirtina, kad polinkį L/GN lemia skirtingi genų kandidatų variantai skirtingose populiacijose (Mossey et al, 2009, Beaty et al, 2010). Lūpos ir/arba gomurio nesuaugimų dažnis Lietuvoje 1000–iui gyvagimių 1993–1997 metais buvo 1,84 (1 iš 544 gyvagimių) (Vasiliauskas et al, 2004). Tokių defektų dažnumas priklauso nuo geografinio regiono ir socioekonominės padėties (Vanderas 1987, Murray 2002).

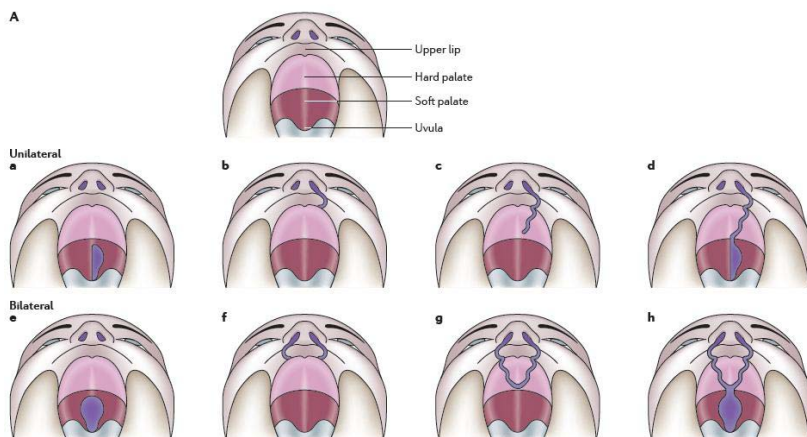


2.1 pav. Lūpos nesuaugimo su arba be gomurio nesuaugimo ir gomurio nesuaugimo dažnių pasiskirstymas Europoje (Mossey et al, 2009, www.eurocran.org).

2.2 LŪPOS IR GOMURIO VYSTYMASIS

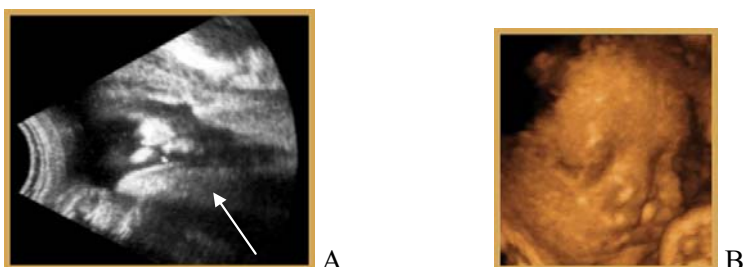
Žmogaus veidas formuojasi vystantis, diferencijuojantis ir suaugant embrioninėms ataugoms bei žiauniniams lankams. Pirmosiomis embriono raidos savaitėmis formuojasi ir kinta pirminė žarna. Kranialinis jos galas iki trečiosios savaitės yra uždengtas dvisluoksne membrana. Augant embriono galviniam galui, membrana įdumba ir formuojasi vis gilėjanti duobė – pirminė burna. Ketvirtą embriono raidos savaitę pirminės žarnos kranialinio galo šonuose pradeda ryškėti žiauninės kišenės ir lankai, kurių pirmoji pora vadinama mandibuline. Ji riboja pirminę burną iš apačios, o viršutinio žandikaulio ataugos formuoja burnos, viršutinio žandikaulio, gomurio ir veido šonines dalis. Iš mandibulinių lankų pirmiausia susidaro apatinė lūpa ir žandikaulis. Kai mandibuliniai lankai nesuauga, vaikas gimsta, turėdamas centrinę apatinės lūpos ir žandikaulio nesuaugimą. Iš dalies suaugant mandibuliniams lankams su jų viršutinio žandikaulio ataugomis, formuojasi burna. Sutrikus embriono raidai ir nesuaugus mandibuliniams lankams su jų viršutinio žandikaulio ataugų dalimis, gimusiam vaikui būna vienpusis (2.2 pav., a - d) ar abipusis (2.2 pav., e - h) lūpų kampų – veido nesuaugimas. Tuo pat metu didėjant embriono smegenims, jo galvinis galas užlinksta ant pirminės burnos įdubos, sudarydamas kaktinę ataugą. Iš jos formuojasi vidurinė viršutinės lūpos dalis ir pirminis gomurys su kandiniu ir norago kaulu, taip pat puslankių formos nosies užuomazgos. Jei nosies užuomazgos tarpusavyje nesuauga, vaikas gimsta, turėdamas centrinę nosies ir/ar viršutinės lūpos nesuaugimą, jei šoninės nosies puslankių dalys nesuauga su mandibulinių lankų viršutinio žandikaulio ataugomis, gimusiam vaikui būna įstrižinis besitęsiantis nuo lūpos akies link veido nesuaugimas. Vienoje ar abiejose pusėse sutrikus tik kaktinės ataugos viršutinės lūpos vidurinės dalies ir mandibulinių lankų viršutinio žandikaulio ataugų suaugimui, naujagimis gimsta, turėdamas dalinį ar visišką, vienpusį ar abipusį viršutinės lūpos, alveolinės ataugos nesuaugimą. Tarp šeštos ir dvyliktos embriono raidos

savaitės nuo priekinės dalies kaudaliai vyksta pirminio gomurio ir jo šoninių dalių susilieėjimas. Sutrikus šiam procesui, gimusiam kūdikiui būna nesuaugęs kietasis ir/ar minkštasis gomurys (Raugalė, 2003).



2.2 pav. A – nesutrikusio/normalaus išsivystymo gomurys ir lūpa. Lūpos ir/arba gomurio nesuaugimo tipai: a - d – vienpusis lūpos ir gomurio nesuaugimas; e - h – abipusis lūpos ir gomurio nesuaugimas (Muenke, 2002).

Veidas intensyviausiai formuojasi 4 – 8 nėštumo savaitę, gomurys – iki 12 savaitės, todėl įgimtų lūpos, alveolinės ataugos ir gomurio nesuaugimų etiopatogenezei ypač svarbios pirmosios dvylika nėštumo savaičių. Lūpos ir/arba gomurio nesuaugimų diagnozę galima patvirtinti ir prenataliniu laikotarpiu, atlikus tyrimą ultragarsu (2.3 pav).



2.3 pav. Vaisiaus su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimu ultragarsinio tyrimo vaizdai: A – 2D; B – 3D (VU ligoninės Medicininės genetikos centro medžiaga).

Lūpos nesuaugimai su arba be gomurio nesuaugimo gali būti sindrominės ir nesindrominės formos. Nesindrominis lūpos ir gomurio nesuaugimas kyla dėl nosies priekio ir žandikaulių išsikišimų nesuaugimo 7-ąją nėštumo savaitę, kartu dėl gomurio plokštelės nesuaugimo, tikriausiai atsirandančio kaip antrinis defektas 8-ąją nėštumo savaitę. Veido ir burnos srities vystymasis priklauso nuo daugelio veiksnių sąveikos, tokių kaip ląstelių diferenciacija, augimas, apoptozė, sukibimas bei vidu- ir tarpląsteliniai signalai (Prescott 2001). Reikšmingiausi genai, dalyvaujantys galvos ir veido morfogenezėje nurodyti 2.1 lentelėje.

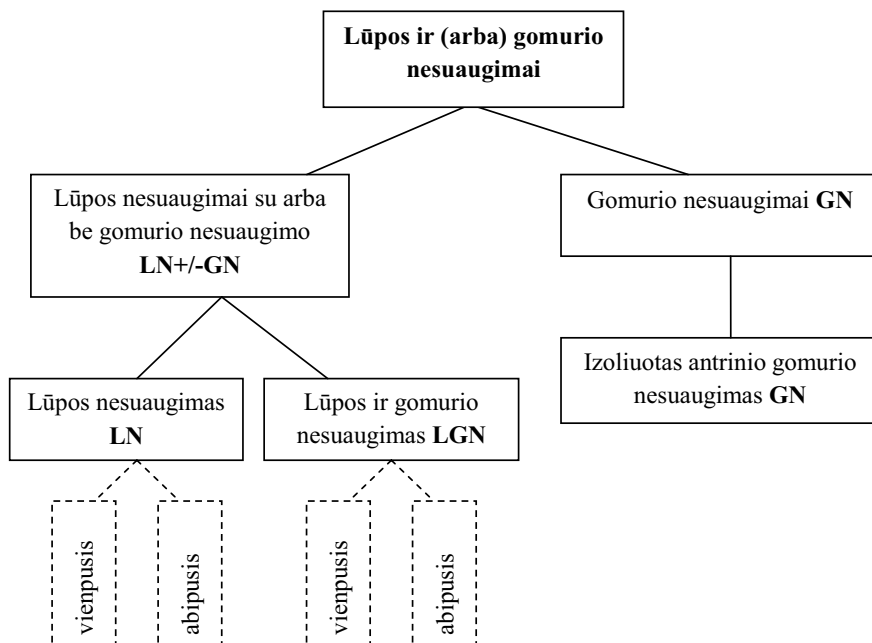
2.1 lentelė. Reikšmingi genai, dalyvaujantys galvos ir veido morfogenezėje (Stanier et al, 2004, Jiang et al, 2006, Kerrigan et al, 2000, Nie et al, 2006, Lan et al, 2006)

Genų grupė	Genai
Poliškumo signalai	<i>Shh, Bmp2, Bmp4 Bmp7, Wnt5a, Smad2–4</i>
Augimo veiksniai ir receptoriai	<i>Egf, Egfr, Tgfα, Tgfβ1–3, Fgf1, Fgf2, Fgf8, Fgfr1, Fgfr2</i>
Transkripcijos veiksniai	<i>Ap2α, Dlx1–6, Gli2–3, Hoxa2, Irxf6, Lhx8, Pax9, Pitx1, Pitx2, Prx1, Msx1, Tbx1, Tbx22</i>
Ląstelės adhezijos molekulės	<i>Pvr11, koneksinas43, E-kadherinas</i>
Tarpląstelinio matikso komponentai	<i>Col2A1, Col11A1, Col11A2, Mmp2, Mmp3, Mmp9, Mmp13, Timp1–3, Fibronektinas</i>

2.2 LŪPOS IR (ARBA) GOMURIO NESUAUGIMŲ KLASIFIKACIJA

Jau Fogh – Andersen (1942) ir Fraser (1955) pažymėjo, kad kietojo gomurio nesuaugimo mechanizmai, kuriems priklauso lūpos nesuaugimai su arba be gomurio nesuaugimo, skiriasi nuo vien tik minkštojo gomurio nesuaugimo mechanizmu. Todėl dažniausiai yra skiriami lūpos nesuaugimai su arba be gomurio nesuaugimais (LN+/-GN) ir izoliuoti gomurio nesuaugimai (GN).

Šiame darbe naudota (nesindrominių) lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimų klasifikacija pavaizduota 2.1 schemeje.



2.1 schema. Šiame darbe naudotas lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimų skirstymas.

Fenotipinės L/GN visumos komponentų įvairovė yra daug sudėtingesnė nei įprastas fenotipinių grupių suskirstymas L/GN genominiuose tyrimuose, todėl gali būti prarandama svarbi informacija (Marazita et al, 2009, Weinberg et al, 2009). Tiriant genetinį L/GN heterogeniškumą svarbu kuo tiksliau apibrėžti tiriamųjų fenotipą. Subklinikinio fenotipo skirstymas gali apimti mažus struktūrinius variantus (duobutes lūpose, dantų defektus, burnos žiedinio raumens defektus ir kt.). Burnos žiedinio raumens tyrimai didelės skyros viršutinės lūpos ultragarsu ir genominių tyrimų rezultatai įvertina naujus L/GN lemiančius genų variantus ir subfenotipo įtaką ir svarbą genominių tyrimų schemai (Neiswanger et al, 2007, Suzuki et al, 2009, Marazita, 2007, Rogers et al, 2008, Klotz et al, 2010, Jugessur et al, 2009).

Įvairūs tyrimai rodo, jog nesindrominės formos sudaro apie 70% L/GN ir 50% GN atvejų (Murray, 2002, Osoegawa K *et al.*, 2008). 1993 – 1997 metais tirtoje Lietuvos naujagimių su lūpos ir/arba gomurio nesuaugimais grupėje izoliuoti lūpos ir/arba gomurio nesuaugimai sudarė 74,1%, o sindrominiai – 25,9% visų nesuaugimų atvejų (Vasiliauskas *et al.*, 2004). Daugelis autorių taip pat pabrėžia, kad įgimti lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimai yra daugiau nei 500 įvairiausių sindromų sudėtinė dalis. Mutacijos ir pokyčiai sindromus lemiančiuose genuose kandidatuose yra dažnai identifikuojami; dažniausi L/GN sindromai, kuriems yra patvirtinti genai ir mutacijos juose, yra pateikti 2.2 lentelėje. Lietuvos pacientų su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimais ir nechromosominiais sindromais grupėje buvo nustatyta 20 atskirų nozologinių vienetų. Dažniausia tirtoje grupėje yra *Pierre Robin* sekvencija (41,4% visų atvejų) (Zarakauskaitė *et al.*, 2007).

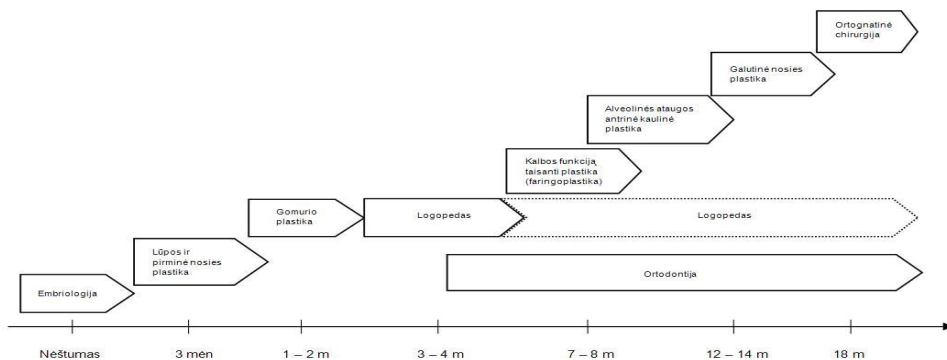
Lentelė 2.2. Kai kurie sindromai su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimu

Nesuaugimo tipas	Sindromas	Genas	Literatūros šaltinis
LN+/-GN, GN	<i>Van der Woude</i> sindromas (VDWS)	<i>IRF6</i>	Kondo et al, 2002
GN	<i>Pierre Robin</i> sekvencija	<i>SOX9</i>	Benko et al, 2009
LN+/-GN	<i>EEC</i> sindromas	<i>TP63</i>	Celli et al, 1999
LN+/-GN, GN	Kraniofrontonazalinė displazija	<i>EFNB1</i>	Twigg et al, 2004
LN+/-GN	<i>Gorlin</i> sindromas	<i>PTCH1</i>	Hahn et al, 1996, Johnson et al, 1996
GN	<i>Kabuki</i> sindromas	<i>MLL2</i>	Ng et al, 2010
LN+/-GN	Holoprocencfalija	<i>GLI2, SHH, SIX3, TGIF</i>	Roessler et al, 2003, Roessler et al, 1996, Gripp et al, 2000, Wallis et al, 1999
GN	Su X susijęs GN/ankiloglosija (CPX)	<i>TBX22</i>	Braybrook et al, 2001
GN	<i>Kallman</i> sindromas	<i>FGFR1</i>	Dode et al, 2002
GN	<i>Izoliuotas GN</i>	<i>SATB2</i>	FitzPatrick et al, 2003
LN+/-GN	LGN – ektoderminė displazija	<i>PVRL1</i>	Suzuki et al, 2000
GN	<i>Stickler</i> sindromas	<i>COL2A1, COL11A1, COL11A2</i>	Snead et al, 1999
GN	<i>DiGeorge</i> sindromas	<i>TBX1</i>	Packham et al, 2003
LN	<i>Oro-facio-digitalinis</i> sindromas	<i>OFD1</i>	Ferrante et al, 2001

2.3 L/GN EPIDEMIOLOGIJA

Įgimtų nesindrominių L/GN nesuaugimų priežastys yra daugiaveiksnės. Tiriant nesuaugimų genetiką, labai informatyvūs yra dvynių tyrimai. Konkordacija tarp monozygotinių dvynių yra tarp 40% ir 60%, tačiau yra tik 5% tarp dizigotinių dvynių. Tai, kad konkordacija tarp monozygotinių dvynių nesiekia 100%, rodo, kad už nesuaugimus fenotipe yra atsakingi ne tik genetiniai veiksniai. Tarp žinomų teratogenų, kurie sukelia nesuaugimus, yra fenitoinas, valproinė rūgštis ir talidomidas, taip pat alkoholio vartojimas ir rūkymas nėštumo metu, herbicidai, vitaminų ir mineralų nepakankamumas nėščiosios dietoje ir aukštis virš jūros lygio (Carinci et al, 2003, Cohen, 2002, Murray, 2002, Prescott, 2002, Blanton et al, 2011). Epidemiologinės studijos patvirtina aplinkos veiksnių įtaką nesuaugimams, ypač žemos socioekonominės padėties šalyse (Murray, 2002, Mossey, Little, 2009).

Daugeliui asmenų su lūpos nesuaugimais su arba be gomurio nesuaugimais ir su izoliuotais gomurio nesuaugimais yra būtina įvairių medicinos specialistų priežiūra: kalbos patologijos, otolaringologijos, audiologijos, genetikos, slaugos, psichinės sveikatos ir socialinės medicinos sričių pagalba. Vaikams su lūpos ir/arba gomurio nesuaugimais yra atliekamos kelios chirurginės procedūros ir yra taikomas sudėtingas gydymo kursas. Kiekvienu atveju skiriamas individualus gydymas, atsižvelgiant į pagrindinį L/GN korekcijos algoritmą (2.4 pav.). Nustatyta, kad asmenims su L/GN būdinga trumpesnė gyvenimo trukmė dėl psichinių ligų ar padidėjusios vėžinių susirgimų rizikos (Christensen K et al, 2004; Christensen K, Mortensen PB, 2002, Menezes, 2009, Taioli et al, 2010). Asmenims su veidinės dalies defektais neretai nustatomi ir centrinės nervų sistemos defektai (Nopoulus P et al, 2007, Marcucio RS et al, 2005).



2.4 pav. L/GN gydymo bendras algoritmas, atsižvelgiant į individualius atvejus. (I.Uktverytės bendradarbiaujant su VUL ŽK doc. m. dr. L. Zalecku).

Daugiaveiksniio paveldėjimo atveju kito sergančio asmens buvimas šeimoje žymiai didina riziką. Bendros L/GN rizikos įvertinimas pateiktas 2.3 lentelėje. Rizika paciento sibsams, jei giminėje nėra daugiau L/GN atvejų, yra mažesnė, nei bendra rizika, kai yra kitų įvairaus artumo giminaičių su L/GN. Taip pat nesuaugimo sunkumo laipsnis turi įtakos L/GN rizikai (2.4 lentelė): didelė rizika, kai nesuaugimas - abipusis, o mažesnė, kai tik LN.

2.3 lentelė. Lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimo genetinė rizika, esant nenustatytam sindromui ar nesant mendeliniam paveldėjimui

Santykis su sergančiuoju	LN+/-GN, %	GN, %
Sibsai (bendra rizika)	4,0	1,8
Sibsas (nėra kitų sergančių asmenų)	2,2	
Sibsas (du sergantys sibsai)	10	8
Sibsas ir sergantis vienas iš tėvų	10	
Vaikai	4,3	3
Antros eilės giminaičiai	0,6	
Trečios eilės giminaičiai	0,3	
Bendra populiacija	0,1	0,04

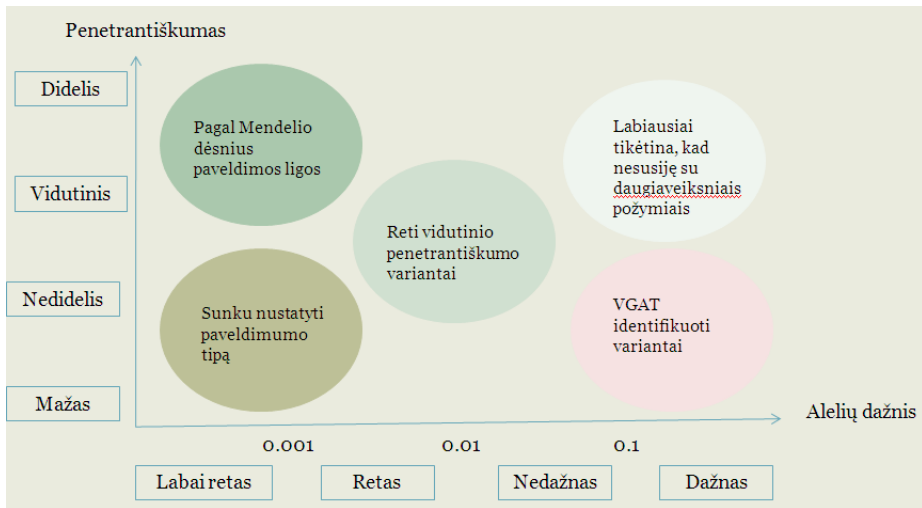
2.4 lentelė. Lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimo genetinė rizika, esant nenustatytam sindromui ar nesant mendeliniam paveldėjimui

L/GN tipas	Rizika sibsams, %
Abipusis lūpos ir gomurio nesuaugimas	5,7
Vienpusis lūpos ir gomurio nesuaugimas	4,2
Vienpusis lūpos nesuaugimas	2,5

2.4 DAUGIAVEIKSNĖS PATOLOGIJS GENŲ NUSTATYMAS

Daugiaveiksnis požymis yra lemiamas daugelio genų variantų kombinacijos ir (arba) aplinkos veiksnių sąveikos. Didelėje populiacijoje daugiaveiksnį fenotipą lemia mažo dažnio, didelio penetrantiškumo (už fenotipą atsakingi) aleliai ir dažni, mažo penetrantiškumo polinkį lemiantys aleliai (4 pav.), sąveikaujantys su aplinkos veiksniais. Taigi, daugiaveiksni fenotipo pasireiškimą lemia genetinis heterogeniškumas, modifikuojančių genų ir genų – genų sąveikos ir genų – aplinkos sąveikos. Pagrindinių daugiaveiksnį fenotipą lemiančių genetinių/genominių veiksnių paieškai naudojami vis nauji metodai ir viso genomo tyrimo strategijos.

Plataus masto viso genomo asociacijos tyrimai jau yra standartinis metodas nustatant daugiaveiksnį požymį ar ligą lemiančius genus ir jų alelius. Tačiau tokie tyrimai tik patvirtino (daugeliui tirtų požymių ir ligų), kad asocijuoti vieno nukleotido polimorfizmai (VNP) paaiškina tik mažą genetinio polinkio dalį (2.5 pav.). Plataus masto viso genomo asociacijos tyrimams atlikti yra svarbiausia: 1) pakankamai didelė tiriamųjų grupė iš populiacijų, kuriose yra pakankamai genetinės tiriamo požymio informacijos, 2) polimorfiškų alelių, pagal kuriuos galima efektyviai genotipuoti tiriamųjų ir kontrolinę grupę, ir kurie būtų išdėstyti visame genome (arba tiksliniuose tiriamo požymio genuose kandidatuose ir aplink juos), 3) analizės metodų, kurie statistiškai efektyvūs, kad būtų nustatyta genetinė asociacija (Cantor et al, 2010).



2.5 pav. Alelių dažniai ir polinkio ligai stiprumas (McCarthy et al, 2008).

Genų ir jų alelių, lemiančių daugiaveiksnių požymių pasireiškimą, nustatymui dažniausiai taikomos trys tyrimų strategijos. Meta-analizė apjungia daugelio atliktų viso genomo tyrimų informaciją, kad būtų padidinta teisingai teigiamų rezultatų tikimybė. Tokių tyrimų metu yra panaudojami tyrimų rezultatai, net kai pradiniai duomenys yra neprieinami. Atlikus meta-analizę statistiškai reikšmingai asocijuoti VNP gali būti išdėstomi pagal savo reikšmingumą vėlesniems tyrimams. Epistazės tyrimai, panaudojant vieno asociacijos tyrimo duomenis, pateikia informaciją apie genų sąveiką. Signalinių/metabolinių kelių tyrimai nustato genus ir jų vietą biologiniu kontekstu. (Cantor et al, 2010).

Plataus masto viso genomo tyrimų rezultatai patikimai identifikuoja dažnus genų ir jų alelių variantus lemiančius polinkį genetinei daugiaveiksnei ligai. Beveik visi tokie nustatyti variantai (aleliai) turi nedidelį poveikį fenotipui, ir net jų kombinacija neturi didelės įtakos populiacinei įvairovei, o įtakos (lemiamo polinkio) reikšmingumas nėra pakankamas (Janssens et al, 2006).

2.5 GENOMINIŲ/GENETINIŲ SRIČIŲ, GALIMAI LEMIANČIŲ L/GN, TYRIMAI

Iki šiol lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimų tyrimams yra taikoma sankibos analizė, tiriant dideles ir mažas šeimas, taip pat sergančius sibsus/giminaičius, asociacijos analizė, tiriant sergančio ir jo/jos tėvų triadas ar atvejo – kontrolės mėginius, tiriamųjų chromosominių persitvarkymų ar mikrodelecijų paieška, sergančių tiriamųjų kandidatinių genetinių sričių tiesioginė sekoskaita. Šios patologijos tyrimams taip pat yra taikoma plataus masto viso genomo tyrimų strategijos ir meta-analizė. Daugelis pasaulyje atliekamų lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimų tyrimų apžvelgia genominius veiksnius, lemiančius lūpos nesuaugimus su arba be gomurio nesuaugimus. Vien tik gomurio nesuaugimus lemiančių genų kandidatų tyrimų yra atliekama/publikuojama mažiau dėl galimos mažesnės tiriamųjų grupės; gyvūnų modelių tyrimų rezultatų, ieškant genų kandidatų, publikacijų taip pat yra nepakankamai.

Svarbiausi lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimus lemiantys genai kandidatai ir juos patvirtinantys tyrimai apibendrinti 2.5 lentelėje.

Genų kandidatų, lemiančių polinkį lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimams, tyrimai remiasi genų raiškos ir gyvūnų modelių tyrimais. Labai svarbi genų kandidatų paieškos strategija yra sindrominius L/GN atvejus lemiančių genų šeimų tyrimai (Stanier et al, 2004, Chakravarti, 2004). Klasikinis tokių tyrimų pavyzdys yra *IRF6* geno patvirtinimas. Mutacijos *IRF6* gene lemia *Van der Woude* sindromą (OMIM 119300) ir keli *IRF6* geno aleliai lemia polinkį nesindrominiam lūpos nesuaugimui su arba ne gomurio nesuaugimo (Blanton et al, 2005, Ghassibe et al, 2005, Morkūnienė et al, 2006, Peyrard-Janvid et al, 2005, Scapoli et al, 2005, Stanier et al, 2005, Srichomthong et al, 2005, Zuccherro et al, 2004, Vieira et al, 2007, Ferreira de Lima et al, 2009).

Tiriamųjų su L/GN chromosomų persitvarkymų tyrimai nustatė nemažai kandidatinių genetinių sričių (Yoshiura et al, 1998, Osoegawa et al, 2008,

Alkuraya et al, 2006, Shi et al, 2009, Mostowska et al, 2010), kuriose nustatytų genų variantai galimai lemia lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimus. Nustatant L/GN genų kandidatų tiesioginę nukleotidų seką siekiama identifikuoti tuos sekos variantus, kurie yra statistiškai patikimai asocijuoti su tiriamą patologija. Svarbiausi L/GN genai kandidatai, patvirtinti sekoskaitos metodu – *MSX1* (Jezewski et al, 2003, Boogard et al, 2000, Vieira et al, 2005), *FGFR1*, *FGF8* (Riley, Murray, 2007), *BMP4* (Suzuki et al, 2009). Viso egzomo sekvenavimas pastaraisiais metais dažnai taikomas daugiaveiksnių požymių tyrimuose, tačiau su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimų egzomo tyrimų rezultatų publikuotų duomenų, tiriant nesindrominius atvejus, nėra.

Viso genomo (kai tiriama genetiniai žymenys išdėstyti visose chromosomose) asociacijos tyrimai patvirtino kelias genomo sritis su labai stipria statistiškai reikšminga asociacija su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimais. 8q24 genetinė sritis buvo susieta su L/GN (Birnbauim et al, 2009) ir patvirtinta kaip polinkį lemianti sritis kitose populiacijose (Grant et al, 2009, Nikopensius et al, 2009). Išplėtus Birnbauim ir kolegų (2009) atlikto tyrimo tiriamųjų grupę, buvo gauta patikima 10q25 ir 17q22 genetinių sričių asociacija (Mangold et al, 2010), kuriose nustatyti genai kandidatai – *VAX1* ir *NOG* atitinkamai. Beaty ir kolegų (2010) nustatė dvi genetines sritis, su *MAFB* ir *ABCA4* genais jose, kurios buvo statistiškai reikšmingai asocijuotos su L/GN Europos ir Azijos populiacijose. Plataus masto viso genomo tyrimai pateikia vis daugiau genominių sričių, asocijuotų su L/GN. Taip pat pateikia įrodymų apie populiacijų heterogenetiškumo svarbą.

2.5 lentelė. Svarbiausi genai, turintys įtakos (nesindrominiam) lūpos ir/ar gomurio nesuaugimui (Marazita, Neiswanger, 2002, Schutte, 1999, Vieira et al, 2005, Juriloff et al, 2008, Cobourne, 2004, Carinci et al, 2007, Murray, 2002, Prescott et al, 2001, Jugessur et al, 2005, Pauws, Stanier, 2007, Riley, Murray, 2007, Riley et al, 2007, Park et al, 2007, Marazita, 2009, Birnbaum et al, 2009, Rahimov et al, 2008, Zuccherro et al, 2004, Mangold et al, 2010, Beaty et al, 2010, Grant et al, 2009, Nikopensius et al, 2009, Suzuki et al, 2009, Jianyan et al, 2010, Osoegawa et al, 2008, Moreno et al, 2009, VENZA et al, 2006, Boogard et al, 2000, Jezewski et al, 2003, Vieira et al, 2003, Suzuki et al, 2004, Martinelli et al, 2007, Chiquet et al, 2009, Jia et al, 2010, Chiquet et al, 2007, Letra et al, 2010, Jagomagi et al, 2010, Mills et al, 2008, Sozen et al, 2001, Sozen et al, 2009, Avila et al, 2006, Carter et al, 2010, Shi et al, 2009, Mostowska et al, 2010, Alkuraya et al, 2006, Ardinger et al, 1998, Beaty et al, 2002, Suazo et al, 2010)

Genas, genetinė sritis	Geno pavadinimas (angliškai)	Tyrimai
<i>IRF6</i>	interferon regulatory factor 6	VGAT, S, A, M
<i>VAX1(10q25)</i>	ventral anterior homeobox 1	VGAT, A
<i>8q24</i>		VGAT, A
<i>ABCA4</i>	ATP-binding cassette subfamily A	VGAT
<i>BMP4</i>	bone morphogenetic protein 4	M
<i>FGFR2</i>	fibroblast growth factor receptor 2	M
<i>FGFR1</i>	fibroblast growth factor receptor 1	A, M
<i>FOXE1</i>	forkheadbox 1	S, A, M, NP
<i>MAFB</i>	v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B	VGAT
<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	A, M, ChP, RT, NP
<i>MYH9</i>	myosin heavy chain 9	A
<i>NOG (17q22)</i>	noggin	VGAT
<i>CRISPLD2</i>	cysteine-rich secretory protein LCCL domain containing 2	A
<i>FGF8</i>	fibroblast growth factor 8	M
<i>MTHFR</i>	methylenetetrahydrofolate reductase (NAD(P)H)	A, ChP
<i>PVRL1</i>	poliovirus receptor related 1	M, A, RT
<i>SUMO1</i>	SMT3 suppressor of mif two 3 homolog 1	M
<i>TGFA</i>	transforming growth factor α	A, RT
<i>TGFB3</i>	transforming growth factor β 3	A, M, RT, NP

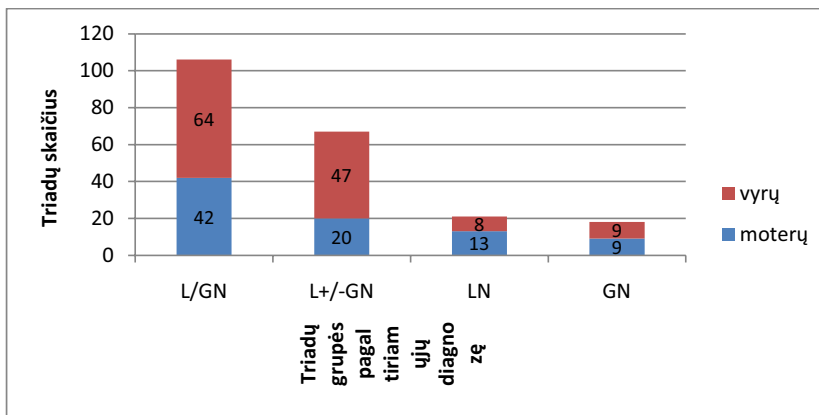
VGAT – viso genomo asociacijos tyrimai, S – sankibos tyrimai, A – asociacijos tyrimai, M – mutacijų paieška, RT – raiškos tyrimai, ChP – chromosomų persitvarkymai, NP – išveiklintas genas pelėse

III. DARBO SCHEMA IR METODAI

3.1. TYRIMO OBJEKTAS

Darbe tirta grupė Lietuvos Respublikos šeimų, kuriose vienas ar keli vaikai turi (nesindrominį) lūpos nesuaugimą (LN), lūpos ir gomurio nesuaugimą (LGN) arba izoliuotą gomurio (GN) nesuaugimą. Atvejo – kontrolės tyrimams buvo ištirta 219 asmenų DNR mėginių kontrolinė grupė, sudaryta iš atsitiktinai parinktų asmenų iš Lietuvos šešių etnolingvistinių grupių (rytų, pietų, vakarų aukštaičių; šiaurės, pietų, vakarų žemaičių), kurių tėvai ir seneliai gyveno tame pačiame rajone. Populiaciniai mėginiai surinkti ir DNR išskirta 1994 - 1996 metais VU MF Žmogaus ir medicininės genetikos katedroje.

Iš VU MF Žmogaus ir medicininės genetikos katedroje surinkto pacientų su lūpos ir/arba gomurio nesuaugimais ir jų šeimos narių DNR banko genotipavimo pagal VNP L/GN genuose kandidatuose tyrimams buvo atrinktos 105 šeimos. Vienoje šeimoje yra du vaikai su LGN, todėl buvo tiriamos 106 tėvų – vaiko triados. Iš viso tiriamoje pacientų grupėje yra 22 asmenys su nesuaugusia lūpa, 18 – su nesuaugusiu gomuriu, 67 – su nesuaugusia lūpa ir gomuriu (3.1 paveikslas).



3.1 pav. Darbe tirta Lietuvos pacientų su L/GN grupė.

Tyrimams yra gautas Lietuvos bioetikos komiteto leidimas (nr. 69-99-111). Iš visų tiriamųjų yra gauti sutikimai dėl dalyvavimo tyrime.

3.2. TYRIMO EIGA

Darbo metu buvo atlikta molekulinė genetinė ir statistinė lūpos nesuaugimus su arba be gomurio nesuaugimais lemiančių genų kandidatų analizė pacientų su L/GN grupėje, vykdamas vieno nukleotido polimorfizmą L/GN genuose kandidatuose šeima paremtus ir atvejo – kontrolės tyrimus. Šeima paremtuose tyrimuose ir atvejo – kontrolės tyrimuose buvo tirti tie patys Lietuvos L/GN pacientai.

Taip pat, bendradarbiaujant su Estijos Tartu Universiteto Molekulinės ir ląstelės biologijos instituto Biotechnologijos departamento mokslininkais, vadovaujant prof. Andres Metspalu, ir Latvijos Biomedicininų tyrimų ir mokslo centro mokslininkais, vadovaujant dr. Baiba Lace, buvo atliktas bendras visų trijų populiacijų tyrimas, nustatant genų kandidatų alelius, lemiančius polinkį L/GN. Jungtiniame trijų (Lietuvos, Latvijos, Estijos) genetiškai artimų populiacijų (Nelis et al., 2009) pacientų su L/GN tyrime buvo tirti 300 L/GN pacientų mėginiai (100 EST, 108 LAT, 92 LIT) bei 606 kontrolinės grupės asmenų mėginiai (205 EST, 182 LAT, 219 LIT).

Šeima paremti tyrimai. Darbo metu buvo atlikta 679 VNP 42-juose L/GN galimai lemiančiuose genuose kandidatuose (genų ir VNP sąrašas pateiktas I priede) asociacijos analizė nepusiausviro perdavimo testu (TDT). TDT nustato, ar tam tikras žymens alelis yra perduotas sergančiam vaikui iš heterozigotinio tėvo/motinos dažniau nei 50% (t.y. tikėtino dažnio). Tiriamos tėvų – vaiko triados, todėl yra reikalinga patikrinti tiriamų šeimų biologinę giminystę, kadangi imtyje esant netikros biologinės giminystės atveju, būtų gauti teigiamai neigiami rezultatai.

Atvejo – kontrolės tyrimai. Buvo atlikta 679 VNP 42-juose L/GN galimai lemiančiuose genuose kandidatuose (genų ir VNP sąrašas pateiktas I priede)

asociacijos analizė, tiriant pacientus su L/GN ir asmenų iš bendros populiacijos mėginius. Analizė atlikta, tiriant Lietuvos pacientų su L/GN ir bendros populiacijos mėginius. Taip pat ir tiriant trijų (Lietuvos, Latvijos, Estijos) populiacijų pacientų grupių ir populiacinius mėginius.

Kietojo gomurio nesuaugimo mechanizmai, kuriems priklauso lūpos nesuaugimai su arba be gomurio nesuaugimo, skiriasi nuo vien tik minkštojo gomurio nesuaugimo mechanizmų. Asociacijos analizė buvo atlikta pacientų su lūpos nesuaugimais su arba be gomurio nesuaugimo ir izoliuotais gomurio nesuaugimais (LN+/-G ir GN) bei pacientų su lūpos nesuaugimais su arba be gomurio nesuaugimo (LN+/-G) ir pacientų su izoliuotais gomurio nesuaugimais grupėse.

3.3. TYRIMO METODAI

3.3.1. DNR IŠSKYRIMAS

DNR buvo išskirta VU MF Žmogaus ir medicininės genetikos katedros darbuotojų fenolio chloroformo metodu pagal patvirtintą metodiką.

3.3.2. BIOLOGINĖS GIMINYSTĖS TYRIMAS

3.3.2.1. TIRIAMOS GENETINĖS SRITYS

Darbe buvo naudojama trumpų pasikartojančių sekų (TPS) sudėtinė sistema *CTTv* (Gene Print Fluorescent *CTTv* Quadriplex rinkinys, Promega Corporation, JAV). Keturių genetinių sričių CSF1PO, TH01, TPOX ir vWA apibūdinimas pateikiamas 3.1 lentelėje.

3.1 lentelė. CSF1PO, TH01, TPOX ir vWA genetinių sričių apibūdinimas

Genetinė sritis	Vieta chromosomoje	Seka 5'-3'	GenBank pavadinimas	Žinomų alelių skaičius
CSF1PO	5q33.3-34	AGAT ^a	HUMCSF1PO c-fms proto-onkogeno CSF-1 receptoriaus genas	9
TH01	11p15.5	AATG	HUMANTH01 tirozinhidroksilazės genas	7
TPOX	2p25.1	AATG	HUMANTPOX tiroidperoksidazės genas	8
vWA	12p12	AGAT ^a	HUMVWFA31 Von Willebrand'o veiksnio genas	8

^a - AGAT reiškia AGAT, GATA, ATAG ar TAGA

Tyrimui naudojamas Gene Print Fluorescent CTTv Quadriplex (Promega Corporation, JAV) rinkinys, kurio sudėtis yra:

CTTv 10x pradmenų, žymėtų fluorescinu, mišinys,

Fluorescentinis ilgio standartas (CXR), 60-400np sudarytas iš 16 vienodai nuosekliai pasikartojančių DNR fragmentų (60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400 np ilgio), žymėtų karboksi-X-rodaminu,

Alelių ilgio standartas – tiriamųjų genetinių sričių skirtingų alelinių variantų pagausintų fragmentų mišinys. Alelių ilgio standarte esantys fragmentai nurodyti 3.2 lentelėje,

STR 10x buferis, K562 kontrolinė DNR (10ng/μl), bromfenolio mėlis, mėlynasis dekstranas, alelio ilgio standartas TH01 9.3 aleliui.

3.2 lentelė. CSF1PO, TH01, TPOX ir vWA aleliai

TPS genetinė sritis	Alelių ilgio standarte esantys fragmentai	Kiti žinomi aleliai
CSF1PO	7,8,9,10,11,12,13,14,15	6
TH01	5,6,7,8,9,10,11	9,3
TPOX	6,7,8,9,10,11,12,13	
vWA	13,14,15,16,17,18,19,20	10,11,21,22

Naudojant Gene Print Fluorescent CTTv Quadriplex (Promega Corporation, JAV) sistemą, sutapimo tikimybė baltaodžių populiacijoje yra 1 iš 6796, tėvystės indeksas yra 19,26.

3.3.2.2. POLIMERAZĖS GRANDININĖ REAKCIJA

1. Steriliame 0,5 ml talpos mėgintuvėlyje ruošiamas reakcijos mišinys (n+2) mėginių, kur n – tiriamųjų asmenų skaičius. Mišiniui naudotų medžiagų kiekis nurodytas 3.3 lentelėje. Visų medžiagų mišinys gerai supurtomas ir nucentrifuguojamas.
2. Į sterilius 0,2 ml talpos mėgintuvėlius įpilama po 10μl gausinimo mišinio.

3.3 lentelė. Mišiniui reikalingų medžiagų kiekis

Mišinys	Medžiagų tūris vienam mėginiui
Dejonizuotas vanduo	8,0μl
CTTv 10x pradmenys	1,0μl
STR 10x buferis	1,0μl
Taq DNR polimerazė	0,08μl
Iš viso	10,08μl

3. Į kiekvieną mėgintuvėlį su mišiniu pridedama po 0,8 μl genominės DNR tirpalo (koncentracija 10 mg/l). Viename mėgintuvėlyje

vykdoma neigiama kontrolė – vietoj DNR tirpalo įpilamas toks pat tūris vandens.

4. Ependorfiniai mėgintuvėliai sudedami į termociklerį ir įjungama paruošta programa. Programą sudaro besikartojantys ciklai, kurių kiekvieną sudaro 3 etapai: DNR grandinių denatūracija, pradmenų jungimasis ir sintezė. Ciklų temperatūros ir laikas nurodytas 3.4 lentelėje.

3.4 lentelė. Gausinimo PGR metodu sąlygos

Nr.	Temperatūra (°C)	Trukmė (min.)	Ciklų skaičius
1	96°C	2 min	10 ciklų
2	94°C	1 min.	
3	60°C	1 min.	
4	70°C	1,5 min.	
5	90°C	1 min.	20 ciklų
6	60°C	1 min.	
7	70°C	1,5 min.	
8	60°C	30 min.	

5. Jei pagausintas produktas termocikleryje bus laikomas ilgiau nei 18val., tuomet turi būti laikomas +4°C temperatūroje.
6. Pagausinto produkto kiekis ir specifiskumas įvertinamas atliekant elektroforezę 2% agarozės gelyje.

3.3.2.3. ELEKTROFOREZĖ

1. Paruošiama elektroforezės forma, įdedamos šukutės takeliams formuoti.
2. Paruošiamas 2% agarozės tirpalas 1xTBE buferyje. Agarozė ištirpinama, kaitinant mikrobangų krosnelėje. Tirpalas atvėsinaamas iki 60°C temperatūros.
3. Į agarozės tirpalą įlašinamas 1μl etidžio bromido tirpalo (10 mg/ml).
4. Agarozė įpilama į plokštelę ir paliekama polimerizuotis kambario temperatūroje 30 min.

5. Gelis perkeliamas į elektroforezės aparatą, kuris užpildomas 1xTBE buferiu.
6. Atsargiai ištraukiamos šukutės.
7. 3 µl produkto sumaišomi su 1 µl 6x įvedimo dažo (0,09% bromfenolio mėlio, 0,09% ksileno cianolio, 60% glicerolio, 60mM EDTA) ir įnešami į agarozės gelio takelius.
8. Elektroforezės aparatas uždengiamas, prijungiamas srovės šaltinis. Elektroforezė vykdoma esant 100 V įtampai ~1 val.
9. Pasibaigus elektroforezei, gelis analizuojamas ir fotografuojamas ultravioletinėje šviesoje.

3.3.2.4. DNR FRAGMENTŲ ILGIŲ NUSTATYMAS

1) ABI PRISM™ 310 genetinio analizatoriaus paruošimas:

1. Paruošiamas kapiliarinės elektroforezės buferis: 1,5 ml 10× buferio su EDTA sumaišoma su 13,5 ml dejonizuoto vandens.
2. Jei kapiliaras buvo naudotas daugiau nei 100 reakcijų, jis yra pakeičiamas ir nukalibruojamas. Kapiliaro langelis yra nuvalomas 96% etanoliu ir vandeniu.
3. Surenkamas genetinio analizatoriaus blokas. Švirkštas (1 ml) suvilgomas polimeru POP4 (Performance Optimized Polymer 4), o po to užpildomas polimeru (200µl bloko užpildymui ir po 5µl kiekvienai injekcijai) ir įsukamas į bloką. Blokas užpildomas polimeru. Prieš užpildant švirkštą polimeras POP4 laikomas kambario temperatūroje apie 30 min.
4. Nukalibruojamas padėklas bei švirkštas.
5. Įjungiamas ABI PRISM™ 310 Collection Software programa. Sukuriamas mėginių sąrašas (Sample Sheet), tuomet sudaromas injekcijų sąrašas (Injection list): iš Module Menu pasirenkamas modulis kiekvienai injekcijai GS STR POP4 (1ml) A bei Test CCD 4-

Color spalvų patikrinimui. Iš Matrix file Menu pasirenkama atitinkama matrica: FL-JOE-TMR-CXR-Matrix.

2) Mėginių paruošimas ir vykdoma elektroforezė:

1. 12,25µl dejonizuoto formamido sumaišoma su 0,25µl fluorescentinio ilgio standarto (CXR), 60-400np ir 0,5µl pagausinto mėginio. Kiekvieną kartą taip pat vykdoma ir alelių ilgio standarto kapiliarinė elektroforezė, dažniausiai dvejuose takeliuose. Jai 12,25µl dejonizuoto formamido sumaišoma su 0,25µl fluorescentinio ilgio standarto (CXR), 60-400np ir 0,5µl alelių ilgio standarto, skiesto su 1x STR buferiu santykiu 1:10.
2. Denatūruojama 3min. 95°C, tada iš karto atšaldoma skaldytam lede 10min.
3. Mėgintuvėliai sudedami į 48 mėginių stovą.
4. Vykdoma elektroforezė.
5. Pasibaigus elektroforezei, rezultatai analizuojami GeneScan® Analysis Software programa.

3) Spalvinės matricos sudarymas:

Naudojamos fluorescentinės žymės skleidžia persidengiančių bangos ilgių šviesos spektrą, todėl TPS sudėtinės sistemos CTTv analizei reikia sudaryti spalvinę matricą. Spalvinė matrica buvo sudaryta 2006 metais, naudojant *Matrix FL-JOE-TMR-CXR* (Promega Corporation, JAV) rinkinį.

4) Tiriamųjų mėginių alelių ilgio nustatymas:

Iš *GeneScan® Analysis Software* programoje gaunamų rezultatų lentelių ir elektroforezės kreivių tiriamųjų genotipai yra nustatomi, lyginant tiriamojo mėginio alelį su ilgio standarto aleliais. Ilgio standarto aleliai ir jų ilgiai *vWA*, *TH01*, *TPOX* ir *CSF1PO* genetinėse srityse yra pateikiami 3.5 lentelėje.

Kiekvieną kartą vykdant kapiliarinę elektroforezę, ilgio standarto alelių ilgiai gali nežymiai (~1 np) skirtis.

3.5 lentelė. Aleliai ir jų ilgiai. Interpretavimo lentelės

Alelis	Fragmento ilgis (np), analizuojant ABI PRISM 310 genetiniu analizatoriumi			
	vWA	TH01	TPOX	CSF1PO
5		173		
6		177	219	
7		181	223	292
8		185	227	296
9		189	231	300
9.3		192	235	304
10		193	239	308
11		197	243	312
12			247	316
13	219			320
14	223			324
15	227			
16	231			
17	235			
18	239			
19	243			
20	247			

5) Biologinės giminystės rezultatų interpretavimas:

1. Biologinė giminystė yra patvirtinama, kai:
 - kiekvienos genetinės srities vaiko vienas alelis sutampa su motinos aleliu, kitas – su tėvo.
2. Biologinė giminystė yra paneigiama, kai:
 - kiekvienos genetinės srities vaiko vienas alelis sutampa su motinos aleliu, o su tėvo – nesutampa ne mažiau kaip dvejose genetinėse srityse.
 - Jeigu vaiko vienas alelis sutampa su motinos aleliu, o su tėvo nesutampa vienoje genetinėje srityje, yra reikalingas tolesnis biologinės giminystės tyrimas, išstiriant daugiau mikrosatelitinių žymenų. Kadangi skirtumas gali būti atsiradęs dėl lytinėje ląstelėje įvykusios *de novo* mutacijos.

3.3.3. GENOMINIO LUSTO TYRIMAS *APEX-2* TECHNOLOGIJA

Atlikus lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimų įvairių genetinių tyrimų literatūros duomenų analizę ir panaudojus bioinformatikos metodus Estijos Tartu Universiteto Molekulinės ir ląstelės biologijos instituto Biotechnologijos katedros mokslininkai atrinko 42 genus kandidatus, galimai lemiančius lūpos ir/ar gomurio nesuaugimus, bei 679 juose esančius VNP genomino DNR lusto gamybai. Genominis lustas buvo pagamintas moksliniais tikslais AsperBiotech (Tartu, Estija) kompanijoje (www.asperbio.com).

APEX (angl. *arrayed primer extension-based genotyping method*) – pradmenų pratęsimu pagrįstas genotipavimo metodas (Krjutškov K. et al, 2008).

3.3.4.1 I ETAPO POLIMERAZĖS GRANDININĖ REAKCIJA

1. Sterilame 1,5 ml talpos mėgintuvėlyje ruošiamas reakcijos mišinys (n+2) mėginių, kur n – tiriamųjų asmenų skaičius. Mišiniui naudotų medžiagų kiekis nurodytas 3.9 lentelėje. Visų medžiagų mišinys gerai supurtomas ir nucentrifuguojamas.
2. Į sterilius 0,2 ml talpos mėgintuvėlius įpilama po 8,4 μl gausinimo mišinio.
3. Į kiekvieną mėgintuvėlį su mišiniu pridedama po 7,6 μl genominės DNR tirpalo (DNR koncentracija 3-100 ng/μl).

3.9 lentelė. Mišiniui reikalingų medžiagų kiekis

Mišinys	Medžiagų tūris vienam mėginiui
TrueStart buferis 1x	1,5 µl
MgCl ₂ 100mM	0,3 µl
TrueStart <i>Taq</i> polimerazė 1U	0,3 µl
Pradmenų mišinys 30,5nM	6,0 µl
DMSO 2,5%	0,375 µl
Iš viso	8,4 µl

4. Ependorfiniai mėgintuvėliai sudedami į termociklerį ir įjungiamą paruošta programa. Programą sudaro besikartojantys ciklai, kurių kiekvieną sudaro 3 etapai: DNR grandinių denatūracija, pradmenų jungimasis ir sintezė. Ciklų temperatūros ir laikas nurodytas 3.10 lentelėje.

3.10 lentelė. Gausinimo PGR metodu sąlygos

Nr.	Temperatūra (°C)	Trukmė (min.)	Ciklų skaičius
1	98°C	11 min.	25 ciklai
2	63°C	15 sek.	
3	64°C	1 min.	
4	65°C	1 min.	
5	66°C	1 min.	
6	67°C	15 sek.	
7	68°C	15 sek.	
8	72°C	15 sek.	
9	95°C	15 sek.	
10	72°C	2 min.	

5. Jei pagausintas produktas termocikleryje bus laikomas ilgiau nei 18val., tuomet turi būti laikomas +4°C temperatūroje.

3.3.4.2 II ETAPO POLIMERAZĖS GRANDININĖ REAKCIJA

1. Steriliame 10 ml talpos mėgintuvėlyje ruošiamas reakcijos mišinys (n+2) mėginių, kur n – tiriamųjų asmenų skaičius. Mišiniui naudotų

medžiagų kiekis nurodytas 3.11 lentelėje. Visų medžiagų mišinys gerai supurtomas ir nucentrifuguojamas.

3.11 lentelė. Mišiniui reikalingų medžiagų kiekis

Mišinys	Medžiagų tūris vienam mėginiui
Bufėris 1.5x	22,5 µl
Vanduo	57 µl
MgCl ₂ 3mM	18 µl
<i>Hot FirePol</i> polimerazė 20U	4 µl
Universalaus pradmens mišinys 500pmol/ µl	15 µl
dNTP mišinys 0,3 mM	18 µl
Iš viso	134,5 µl

- Į 0,2 ml talpos mėgintuvėlius su pagausintu I etapo PGR produktu įpilama po 134 µl gausinimo mišinio. Mišinys supurtomas ir nucentrifuguojamas.
- Ependorfiniai mėgintuvėliai sudedami į termociklerį ir įjungiamo paruošta programa. Programą sudaro besikartojantys ciklai, kurių kiekvieną sudaro 3 etapai: DNR grandinių denatūracija, pradmėnų jungimasis ir sintezė. Ciklų temperatūros ir laikas nurodytas 3.12 lentelėje.
- Jei pagausintas produktas termocikleryje bus laikomas ilgiau nei 18val., tuomet turi būti laikomas +4°C temperatūroje.

3.12 lentelė. Gausinimo PGR metodu sąlygos

Nr.	Temperatūra (°C)	Trukmė (min.)	Ciklų skaičius
1	95°C	15 min	35 ciklai
2	95°C	20 sek.	
3	54°C	20 sek.	
4	72°C	5 sek.	
5	72°C	5 min.	

3.3.4.3 PGR PRODUKTO VALYMAS (NucleoTrap)

1. 150 µl II etapo PGR produkto įnešama į valymo kolonėlės su 300 µl surišančio buferio NT.
2. Centrifuguojama 13000xg 1 min.
3. Į kolonėlės įnešama po 600 µl plovimo buferio NT3.
4. Centrifuguojama 13000xg 1 min. bei kolonėlės membranos išdžiovinimui dar centrifuguojama 13000xg 2 min.
5. Į kiekvieną kolonėlę užpilama po 27 µl plovimo buferio NE. Laikoma kambario temperatūroje 1 min.
6. Centrifuguojama 13000xg 1 min.

3.3.4.4 APEX-2 REAKCIJA

1. Į kiekvieną 1,5 ml mėgintuvėlį su išvalytu PGR produktu įpilama po 3,25 µl reakcijos mišinio. Mišiniui naudotų medžiagų kiekis nurodytas 3.13 lentelėje.

3.13 lentelė. Mišiniui reikalingų medžiagų kiekis

Mišinys	Medžiagų tūris vienam mėginiui
<i>APEX-2 10x buferis</i>	3 µl
<i>SAP(shrimp alkaline phosphatase)</i>	0,25 µl
Iš viso	3,25 µl

2. Inkubuojama 15 min 37°C temperatūroje bei 5 min 95°C temperatūroje.
3. Į kiekvieną 1,5 ml mėgintuvėlį su denatūruotu zonu įdedama po 2,95 µl reakcijos mišinio. Mišiniui naudotų medžiagų kiekis nurodytas 3.14 lentelėje.

3.14 lentelė. Mišiniui reikalingų medžiagų kiekis

Mišinys	Medžiagų tūris vienam mėginiui
ddNTP 1.5 μM	0,45 μl
<i>ThermoSequenase</i> 4.8 U	0,15 μl ((n+1)x0.75)
Skiedimo buferis	1 μl
Iš viso	2,95 μl

4. Mėgintuvėlis su denatūruotu zonu ir reakcijos mišiniu lengvai supurtomas. Ir 32 μl užnešami ant lusto stiklelio.
5. Ant įkaitintos plytelės 20 min vykdoma *APEX* reakcija 58°C temperatūroje.
6. Tuomet stikleliai yra plaunami verdančiu vandeniu, detergentu *Alconox* ir vėl perplaunami verdančiu vandeniu.

3.3.4.5 GENOMINIO LUSTO ANALIZĖ

1. Ant stiklelio užlašinama 9 μl reagento *Antifade*, apsaugančio nuo išblukimo; uždengiama dengiamuoju stikleliu.
2. Analizuojama *Genorama QuattroImager* programa *Controller 3.0*.
3. Gauti duomenys yra analizuojami programa *Genorama BaseCaller*: kiekvienam vaizdui yra parenkamas atitinkamas ryškumas, tuomet pritaikomas tinkelis (angl. *grid*).
4. Taip sutvarkyti duomenys yra išsaugomi naujai sukuriamoje duomenų bazėje *PicDB*.
5. Atsidarius *PicDB* programą, pasirenkama sukurta duomenų bazė su išsaugotais mėginių duomenimis. Kiekvieno mėginio visų tiriamų žymenų, esančių gardelėje, nustatomi išsaugant kiekvieną nukleotidą atskirai arba pasitelkiant automatinį nukleotidų identifikavimo įrankį *AutoBaseCaller*.
6. Išsaugoti nustatyti genotipų duomenys gali būti pervedami į *.xls* arba *.txt* formatų bylas.

3.3.4. ALELIŲ DAŽNIO SKAIČIAVIMAS

Alelių dažnis – tai tam tikro alelinio geno dažnis konkrečioje individų grupėje. Bet kurio alelinio geno dažnis (p) tiriamoje asmenų grupėje yra lygus:

$$p = \frac{2Hm + Ht}{2N},$$

kur Hm – homozigotų pagal šį alelinį geną skaičius, Ht – heterozigotų pagal šį alelinį geną skaičius, N – asmenų skaičius tiriamoje grupėje.

Visų alelinių genų dažnių suma visada lygi 1. Deja, taip nustatytas alelinio geno dažnis yra tik empirinis ir gali skirtis nuo tikrosios šio geno dažnio reikšmės konkrečioje populiacijoje (Kučinskas, 1994).

Atliekant šeima paremtus tyrimus, kuomet tiriamos tėvų – vaiko triados, alelių dažniai yra skaičiuojami pagal tėvo ir motinos alelius, vaikų alelių dažniai nėra skaičiuojami, nes priklauso nuo tėvų alelių tiriamoje populiacijoje.

Abiejų alelinių dažnių suma visada lygi 1 ($p+q=1$), ir $q = 1-p$. Heterozigotiškumą apskaičiuojame pagal $H=Ht/N$.

Teorinis dažnis – tai skaičius, rodantis kiek imties narių papultų į intervalą, jei imtis idealiai atspindėtų generalinę aibę. Teorinis dažnis gaunamas tikimybę dalinant iš imties tūrio: p^2/N , $2pq/N$, q^2/N .

Populiacijoje nustatytas asmenų, turinčių tam tikrą genotipą, skaičius yra labai artimas teoriškai tikėtinais. Tai įrodyti taikomas χ^2 testas, kuris

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k (S_i - T_i)^2 / T_i$$

grindžiamas χ^2 reikšme, gauta konkrečiu atveju, kur S_i – nustatytas asmenų,

turinčių tam tikrą genotipą, skaičius; T_1 – teoriškai tikėtinas tokių asmenų skaičius, o k – duomenų grupių (t.y. genotipų) skaičius.

Remiantis χ^2 skirstiniu su df laisvės laipsnių reikšmėmis ir pasirinktu α , apskaičiuojamas duomenų statistinio patikimumo matas p reikšmė.

3.3.5. STATISTINĖ ANALIZĖ

3.3.5.1 ASOCIACIJOS ANALIZĖ NEPUSIAUSVIRO PERDAVIMO TESTU

Norint surasti geno sritį, susijusią su genetinė liga, pirmiausia reikia pademonstruoti sankibą su žinomos srities genu ar DNR seka. Spielman *et al.* (1993) aprašė testą, kuriuo nustatoma sankiba su genetiniu žymeniu, esančiu netoli geno kandidato, kai asociacija yra nustatyta. Šis testas taip pat tinkamas, kai asociacija nėra patvirtinta (nustatyta), ir gali būti naudojamas nustatyti genetiniams žymenims, kai turimi tėvų ir jų vieno ar kelių sergančių vaikų duomenys. Toks testas nėra įtakojamas stratifikacijos. Duomenys testui yra gaunami iš šeimų, turinčių vieną ar kelis sergančius vaikus (palikuonis), ir kuriose bent vienas iš tėvų yra heterozigotinis pagal žymens alelį, asocijuotą su liga. Testu yra palyginama, kiek kartų toks heterozigotinis tėvas/motina perdavė asocijuotą žymenį sergančiam vaikui su tuo, kiek kartų buvo perduotas kitas žymens alelis.

Tarkime, kad D yra ligą lemianti genetinė sritis: D_1 – ligą lemiantis alelis ir D_2 – normalus alelis. Tiriamas genetinis žymuo M su kodominuojančiais aleliais M_1 ir M_2 . (Spielman *et al.*, 1993, Spielman, Ewens, 1998). Yra nustatomas skaičius kartų, kiek M_1 ir M_2 buvo perduoti sergančiam palikuoniui:

a – kiek kartų M_1M_1 perdavė M_1 sergančiam vaikui,

b – kiek kartų M_1M_2 perdavė M_1 sergančiam vaikui,

c – kiek kartų M_1M_2 perdavė M_2 sergančiam vaikui,

d – kiek kartų M_2M_2 perdavė M_2 sergančiam vaikui (Spielman, Ewens, 1998).

Jeigu yra n šeimų, kuriose yra vienas sergantis vaikas, tokiose šeimose genetinio žymens srityje M iš viso bus $4n$ tėvų alelių, iš kurių $2n$ yra perduodami ir $2n$ neperduodami sergantiems vaikams (Spielman *et al.*, 1993). Tokius turimus duomenis galima pavaizduoti lentelėje (3.15 lentelė).

3.15 lentelė. Duomenys analizei nepusiausviro perdavimo testu (pagal Spielman *et al.*, 1993).

Perduoti aleliai	Neperduoti aleliai		
	M1	M2	Iš viso
M1	a	b	$a+b$
M2	c	d	$c+d$
Iš viso	$a+c$	$b+d$	$2n$

Nulinė hipotezė – nėra asociacijos tarp genetinio žymens ir ligos, $\theta=1/2$ ($1-2\theta=0$). Iš lentelėje pateiktų duomenų tokios hipotezės įvertinimui svarbios tik b ir c reikšmės. Todėl tik duomenys iš heterozigotinių genotipų (M_1M_2) turėtų būti naudojami teste, kaip ir tradicinių sankibos testų atveju (Spielman *et al.*, 1993).

TDT statistinis reikšmingumas patikrinamas $\chi^2 = (b-c)^2/(b+c)$ (Spielman *et al.*, 1993). Jei tarp genetinio žymens ir ligos yra sankiba, kaip ir asociacija, tuomet b ir c skirsis savo reikšme. Reikšmingas χ^2 skirtumas įrodo, jog genetinis žymuo yra susijęs su liga (Spielman, Ewens, 1996).

Tiriant šeimas, kuriose bus skirtingas sergančių vaikų skaičius, rekomenduojama paprasčiausiai analizuoti visus sergančius vaikus kartu, taikant nepusiausviro perdavimo χ^2 testą $(B-C)^2/(B+C)$, kur B yra bendras visų perduotų M_1 sergantiems vaikams ir C yra bendras visų perduotų M_2

skaičius (Spielman *et al.*, 1993). Nepusiausviro perdavimo testas gali būti taikomas, kai žinomas tik vienas tėvinis genotipas (Schaid, 1998).

Išplėstas TDT (angl. *extended transmission disequilibrium test*) buvo pasiūlytas tirti žymenų, turinčių keletą alelių (pvz. mikrosatelitų), asociaciją (Sham and Curtis, 1995). Yra pasiūlyti 2 šio testo tipai: analizė genotipo atžvilgiu (angl. *genotype – wise analysis*) ir analizė alelių atžvilgiu (angl. *allele-wise analysis*).

Analize genotipo atžvilgiu tiriamas kiekvienas heterozigotinis tėvo/motinos genotipas atskirai, ir nustatoma, ar kiekvienas genotipo alelis yra perduodamas sergančiam vaikui nepriklausomai 50% tiriamų atvejų. Tokio metodo trūkumas gali būti tai, kad esant daug alelių galimas labai didelis skaičius genotipų, o didesnis dėmesys nėra atkreipiamas į tai, ar tam tikri aleliai nėra dažniau perduodami tarp skirtingų genotipų. Taip pat, kai kurie genotipai gali pasitaikyti pakankamai retai, tuo padidindami χ^2 testo laisvės laipsnių (*df*) skaičių, ir taip sumažėja statistinis patikimumas.

Jei tiriamoje kiekvieną genotipą atskirai, gali būti prarandama informacija. Todėl gali būti naudojamas kitas analizės būdas tiriamiems duomenims, kai kiekvienam aleliui yra priskiriamas parametras, nurodantis laipsnį, kuriuo tiriamas alelis yra susijęs su ligos aleliu. Analizė alelių atžvilgiu nustato perduodamus tam tikrus alelius tarp genotipų. Pritaikytas modelis yra tinkamas, kai nėra rekombinacijos tarp ligos ir žymens genetinės srities ir santuokų sudarymas yra atsitiktinis (kas rodo, jog objektai yra nesusiję).

Analizės alelių atžvilgiu modelio tinkamumas tiriamiems duomenims patikrinamas, lyginant jį su modeliu, kuriame kiekvieno genotipo aleliai perduodami nepriklausomai (tuomet χ^2 statistikoje bus $(m-2)(m-1)/2$ laisvės laipsnių, kur m – alelių skaičius).

3.3.5.2. ASOCIACIJOS ANALIZEI NAUDOTA PROGRAMINĖ ĮRANGA

ASOCIACIJOS ANALIZĖ NEPUSIAUSVIRO PERDAVIMO TESTU (GENOTIPUOJANT PAGAL VIENO NUKLEOTIDO POLIMORFIZMUS)

Genotipavimo pagal vieno nukleotido polimorfizmus L/GN genuose kandidatuose asociacijos analizė nepusiausviro perdavimo testu buvo atliekama, naudojant TDT/S-TDT programinę įrangą (<http://genomics.med.upenn.edu/spielman/TDT.htm>) (Spielman, 1993, Spielman, Ewens, 1998).

ASOCIACIJOS ANALIZĖ ATVEJO – KONTROLĖS TYRIMUOSE

Genotipavimo pagal vieno nukleotido polimorfizmus L/GN genuose kandidatuose, taikant atvejo – kontrolės tyrimų strategiją, analizuojant Lietuvos pacientų su L/GN ir bendros populiacijos mėginius bei analizuojant bendrai Lietuvos, Latvijos, Estijos pacientų su L/GN ir bendros visų trijų populiacijų mėginius, asociacijos analizė atlikta populiacinės genetikos duomenų analizės programa *PLINK version 1.06* (<http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink>) (Purcell et al., 2007). Ši statistinės analizės dalis buvo atlikta Tiit Nikopensus (Estijos Tartu Universiteto Molekulinės ir ląstelės biologijos instituto Biotechnologijos departamentas).

LABIAUSIAI TIKĖTINŲ HAPLOTIPŲ ANALIZĖ

Genotipavimo pagal vieno nukleotido polimorfizmus L/GN genuose kandidatuose labiausiai tikėtinų haplotipų dažnių įvertinimui buvo naudojama populiacinės genetikos duomenų analizės programa *Haploview 4.2* (<http://broadinstitute.org/haploview/haploview>) (Barrett et al, 2005).

IV. REZULTATAI

4.1 BIOLOGINĖS GIMINYSTĖS TYRIMO REZULTATAI

Šeima paremtų asociacijos analizės tyrimų metu buvo naudojamas nepusiausviro perdavimo testas, kuriam duomenys yra gaunami iš šeimų, turinčių vieną ar kelis sergančius vaikus (palikuonis), ir kuriose bent vienas iš tėvų yra heterozigotinis pagal žymens alelį, asocijuotą su liga. Todėl visose tyrimams atrinktomis tėvų – vaiko triadoms buvo tirta biologinė giminystė. Biologinė tėvystė buvo patvirtinta visose tolimesniems tyrimams atrinktose 106–iose tėvų – vaiko su L/GN triadose.

4.2 GENOTIPAVIMO PAGAL VIENO NUKLEOTIDO POLIMORFIZMUS REZULTATAI

106–ių vaiko – tėvų triadų ir bendros Lietuvos populiacijos asmenų mėginių genotipavimas pagal vieno nukleotido polimorfizmus 42–juose L/GN genuose kandidatuose buvo atliktas *APEX-2* technologija pagal metodiką, aprašytą 3.3.3 skyrelyje. Pirminiame LGN genomio lusto verifikavimo etape dalis VNP nebuvo įtraukti į galutinio LGN genomio lusto gamybą dėl netinkamai parinktų hibridizacijos sąlygų; pirmame LGN genominiame luste buvo įtraukti 814 VNP 42–juose L/GN genuose kandidatuose. Lietuvos pacientų ir asmenų iš bendros populiacijos mėginiai buvo genotipuoti pagal 679 – is VNP LGN genominiame luste. Verifikavimo Lietuvos populiacijos mėginiais metu į tolimesnius genotipavimo darbus nebuvo įtraukti 100 VNP dėl nepakankamos hibridizacijos ir rezultatų analizės kokybės, kai buvo nustatyti genotipai mažiau nei 75% tiriamųjų. Todėl tolimesniame darbe analizuojami Lietuvos populiacijos L/GN triadų ir asmenų iš bendros populiacijos genotipavimo pagal 579–is VNP 42–juose L/GN genuose

kandidatuose LGN genominiame luste rezultatai. Genai ir genotipuotų juose arba 3' ar 5' sekose nuo jų VNP skaičius pateiktas 4.1 lentelėje.

4.1 lentelė. L/GN genai kandidatai ir VNP juose ar šalia jų skaičius

Nr.	Genas	Chr.	VNP skaičius	Nr.	Genas	Chr.	VNP skaičius
1	<i>COL11A1</i>	1	41	22	<i>BMP4</i>	14	3
2	<i>IRF6</i>	1	8	23	<i>JAG2</i>	14	9
3	<i>MTHFR</i>	1	9	24	<i>TGFB3</i>	14	8
4	<i>SKI</i>	1	22	25	<i>CDH1</i>	16	9
5	<i>FN1</i>	2	26	26	<i>MMP25</i>	16	6
6	<i>TGFA</i>	2	42	27	<i>MMP2</i>	16	22
7	<i>FGF2</i>	4	19	28	<i>RARA</i>	17	4
8	<i>MSX1</i>	4	15	29	<i>TIMP2</i>	17	27
9	<i>FGF1</i>	5	33	30	<i>WNT3</i>	17	7
10	<i>MSX2</i>	5	7	31	<i>WNT9B</i>	17	14
11	<i>COL11A2</i>	6	21	32	<i>SMAD2</i>	18	8
12	<i>EDNI</i>	6	16	33	<i>SMAD4</i>	18	2
13	<i>FGFR1</i>	8	10	34	<i>LOXHD1</i>	18	10
14	<i>FOXE1</i>	9	4	35	<i>CLPTM1</i>	19	5
15	<i>MMP13</i>	11	16	36	<i>BCL3</i>	19	2
16	<i>MMP3</i>	11	5	37	<i>PVRL2</i>	19	12
17	<i>PVRL1</i>	11	19	38	<i>BMP2</i>	20	21
18	<i>TBX10</i>	11	10	39	<i>MMP9</i>	20	6
19	<i>COL2A1</i>	12	31	40	<i>TIMP3</i>	22	30
20	<i>LHX8</i>	12	9	41	<i>TBX22</i>	X	4
21	<i>SPRY2</i>	13	3	42	<i>TIMP1</i>	X	4

Atlikus Lietuvos populiacijos L/GN triadų ir asmenų iš bendros populiacijos 579–ių VNP genotipų analizę ir apskaičiavus genotipų ir alelių dažnius, buvo identifikuoti 39 VNP, kurių retojo alelio dažnis yra mažesnis nei 0,05. Šie Lietuvos populiacijoje monomorfiniai VNP nebuvo naudojami tolimesnėje VNP L/GN genuose kandidatuose asociacijos analizėje. VNP, kurių retojo alelio dažnis yra mažesnis nei 0,05, sąrašas pateiktas 4.2 lentelėje, kurioje šių VNP alelių dažniai yra palyginti su kitose baltaodžių populiacijose nustatytais alelių dažniais.

4.2 lentelė. Lietuvos populiacijoje monomorfinių VNP sąrašas

Nr.	Genas	Chr.	VNP	1 alelis	2 alelis	1 alelio dažnis*	2 alelio dažnis*	1 alelio dažnis**	2 alelio dažnis**
1	<i>COL11A1</i>	1	rs17446095	[A]	[C]	0,031	0,969	0,083	0,917
2	<i>COL11A1</i>	1	rs12728397	[C]	[T]	0,976	0,024	0,933	0,067
3	<i>COL11A1</i>	1	rs1841835	[C]	[G]	0,027	0,973	0,050	0,950
4	<i>COL11A2</i>	6	rs213210	[A]	[G]	0,965	0,035	0,097	0,903
5	<i>FGF1</i>	5	rs17099096	[G]	[T]	0,950	0,050	0,950	0,050
6	<i>FGF1</i>	5	rs6882717	[C]	[T]	0,965	0,035	0,950	0,050
7	<i>FGF1</i>	5	rs250201	[G]	[T]	0,983	0,017	0,925	0,075
8	<i>FGF1</i>	5	rs33992	[A]	[G]	0,029	0,971	0,092	0,908
9	<i>FGF1</i>	5	rs11954586	[C]	[T]	0,042	0,958	0,067	0,933
10	<i>FGF2</i>	4	rs17472986	[A]	[G]	0,038	0,962	0,092	0,908
11	<i>FGF2</i>	4	rs308438	[C]	[T]	0,967	0,033	0,958	0,042
12	<i>FGF2</i>	4	rs17407577	[C]	[T]	0,045	0,955	0,083	0,917
13	<i>FGFR1</i>	8	rs2978083	[C]	[T]	0,946	0,054	0,958	0,042
14	<i>FN1</i>	2	rs11883812	[C]	[T]	0,038	0,962	0,092	0,908
15	<i>FN1</i>	2	rs6716361	[C]	[G]	0,969	0,031	0,950	0,050
16	<i>FOXE1</i>	9	rs10984009	[A]	[G]	0,039	0,961	0,142	0,858
17	<i>IRF6</i>	1	rs12143281	[C]	[T]	0,969	0,031	0,942	0,058
18	<i>MMP13</i>	11	rs11225485	[A]	[G]	0,948	0,052	0,883	0,117
19	<i>MMP13</i>	11	rs11826440	[G]	[T]	0,988	0,012	0,950	0,050
20	<i>MMP13</i>	11	rs7119194	[C]	[T]	0,965	0,035	0,933	0,067
21	<i>MMP3</i>	11	rs629946	[A]	[G]	0,045	0,955	0,058	0,942
22	<i>MMP9</i>	20	rs6032619	[C]	[T]	0,952	0,048	0,942	0,058
23	<i>BMP2</i>	20	rs235756	[A]	[G]	1,000	0,000	0,650	0,350
24	<i>MSX1</i>	4	rs12501827	[C]	[T]	0,953	0,047	0,892	0,108
25	<i>PVRL1</i>	11	rs906827	[A]	[C]	0,045	0,955	0,083	0,917
26	<i>SKI</i>	1	rs4648625	[G]	[T]	0,026	0,974	0,075	0,925
27	<i>SMAD2</i>	18	rs17814648	[C]	[T]	0,969	0,031	0,958	0,042
28	<i>TGFA</i>	2	rs13034560	[G]	[T]	0,950	0,050	0,950	0,050
29	<i>TGFA</i>	2	rs6709121	[A]	[G]	0,028	0,972	0,075	0,925
30	<i>CDH1</i>	16	rs3785076	[A]	[G]	0,967	0,033	0,950	0,050
31	<i>TGFA</i>	2	rs540006	[C]	[T]	0,043	0,957	0,042	0,958
32	<i>TGFB3</i>	14	rs3917148	[G]	[T]	0,045	0,955	0,067	0,933
33	<i>TIMP2</i>	17	rs1531795	[G]	[T]	0,958	0,042	0,875	0,125
34	<i>TIMP2</i>	17	rs4789937	[A]	[G]	0,045	0,955	0,075	0,925
35	<i>TIMP2</i>	17	rs12944916	[C]	[G]	0,974	0,026	0,950	0,050
36	<i>TIMP3</i>	22	rs4449	[A]	[G]	0,019	0,981	0,042	0,958
37	<i>TIMP3</i>	22	rs11287	[C]	[T]	0,988	0,012	0,950	0,050
38	<i>TIMP3</i>	22	rs10483166	[C]	[G]	0,054	0,946	0,058	0,942
39	<i>COL11A1</i>	1	rs6671691	[C]	[G]	0,959	0,041	0,942	0,058

*- Lietuvos populiacijoje nustatyti alelių dažniai

** - alelių dažniai, pateikti *Ensembl (61 release)*, *dbSNP* duomenų bazėse pagal *1000Genomes* (bei *HapMap* projekto duomenis rs213210 VNP) projekto duomenis

4.3 ASOCIACIJOS ANALIZĖS, GENOTIPUOJANT PAGAL VIENO NUKLEOTIDO POLIMORFIZMUS, REZULTATAI

Asociacijos analizė nepusiausviro perdavimo testu (3.3.6.1 skyrelis) pagal genotipavimo pagal 579–is VNP 42-uoje LGN genuose kandidatuose rezultatus buvo atlikta Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo ir izoliuotu gomurio nesuaugimu grupėje, pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo grupėje ir pacientų su izoliuotu gomurio nesuaugimu grupėje. 4.3–4.8 lentelėse pateikti nepusiausviro perdavimo testo rezultatai, įtraukiant tik statistiškai reikšmingus rezultatus ($p > 0,05$).

Atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo ir izoliuotu gomurio nesuaugimu grupėje, kurioje buvo tiriamos 106 vaiko – tėvų triados, buvo gauta statistiškai patikima 82-jų VNP 25-iuose genuose kandidatuose su LGN asociacija ($p < 0,05$) (4.3, 4.4 lentelės).

4.3 lentelė. Nepusiausviro perdavimo testo rezultatai Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo ir izoliuotu gomurio nesuaugimu grupėje, pagal statistiškai reikšmingiausius VNP

Nr.	Genas	Chr.	VNP	Vieta chromosomoje	χ^2	<i>p</i> reikšmė
1	<i>CDH1</i>	16	rs3785076	67408284	11,255	0,0008
2	<i>PVRL1</i>	11	rs906827	119019339	10,593	0,0011
3	<i>FGF2</i>	4	rs308439	123993029	10,522	0,0012
4	<i>BMP2</i>	20	rs235756	6715111	10	0,0016
5	<i>MTHFR</i>	1	rs9651118	11784801	9,921	0,0016
6	<i>PVRL1</i>	11	rs10892421	119003613	9,143	0,0025
7	<i>COL11A1</i>	1	rs7543626	103350922	8,783	0,0030
8	<i>COL11A1</i>	1	rs17446095	103145363	8,526	0,0035
9	<i>COL2A1</i>	12	rs6580647	46689496	8,471	0,0036
10	<i>CDH1</i>	16	rs4783689	67411172	8,345	0,0039
11	<i>TGFB3</i>	14	rs7156293	75493336	8,333	0,0039
12	<i>COL2A1</i>	12	rs1635550	46664237	8,117	0,0044
13	<i>BMP4</i>	14	rs10873077	53503283	8,048	0,0046
14	<i>COL2A1</i>	12	rs12721428	46655160	8,022	0,0046

15	<i>TBX10</i>	11	rs2514027	67162878	7,692	0,0055
16	<i>BMP2</i>	20	rs6085682	6719211	7,682	0,0056
17	<i>TIMP2</i>	17	rs6501266	74418948	7,577	0,0059
18	<i>TIMP3</i>	22	rs4449	31608202	7,538	0,0060
19	<i>BMP2</i>	20	rs173107	6713841	7,451	0,0063
20	<i>SKI</i>	1	rs4648625	2190201	7,143	0,0075
21	<i>EDN1</i>	6	rs4714351	12384844	7,118	0,0076
22	<i>FGF1</i>	5	rs33992	141937322	7	0,0082
23	<i>COL11A1</i>	1	rs6671691	103347365	6,914	0,0086
24	<i>MTHFR</i>	1	rs17376328	11799249	6,897	0,0086
25	<i>BMP2</i>	20	rs2206916	6682650	6,627	0,0100
26	<i>TIMP1</i>	X	rs723556	47317691	6,48	0,0109
27	<i>COL11A1</i>	1	rs7556513	103325111	6,452	0,0111
28	<i>EDN1</i>	6	rs1476046	12401207	6,443	0,0111
29	<i>EDN1</i>	6	rs16872608	12416007	6,422	0,0113
30	<i>TIMP2</i>	17	rs4789936	74409569	6,128	0,0133
31	<i>COL11A2</i>	6	rs2744507	33256856	6,061	0,0138
32	<i>COL11A1</i>	1	rs11164663	103321085	6	0,0143
33	<i>COL11A1</i>	1	rs1841835	103211618	6	0,0143
34	<i>FGF1</i>	5	rs250092	141958427	5,898	0,0152
35	<i>FGF2</i>	4	rs308434	123991278	5,898	0,0152
36	<i>COL2A1</i>	12	rs12821733	46641450	5,765	0,0163
37	<i>BMP2</i>	20	rs235757	6714019	5,647	0,0175
38	<i>COL11A2</i>	6	rs213208	33285988	5,586	0,0181
39	<i>COL11A1</i>	1	rs11164623	103109061	5,556	0,0184
40	<i>FGF1</i>	5	rs1860230	142058047	5,488	0,0191
41	<i>COL11A2</i>	6	rs9277934	33261506	5,405	0,0201
42	<i>FGF2</i>	4	rs308442	123994363	5,4	0,0201
43	<i>FNI</i>	2	rs17457029	215980759	5,388	0,0203
44	<i>PVRL1</i>	11	rs12361680	118994420	5,388	0,0203
45	<i>TIMP3</i>	22	rs11287	31588777	5,333	0,0209
46	<i>MTHFR</i>	1	rs1801131	11777063	5,263	0,0218
47	<i>MSX1</i>	4	rs4689953	4904370	5,226	0,0223
48	<i>PVRL2</i>	19	rs519825	50058619	5,188	0,0227
49	<i>COL11A1</i>	1	rs12123966	103354338	5,158	0,0231
50	<i>MSX1</i>	4	rs13121578	4896678	5,149	0,0233
51	<i>FGF1</i>	5	rs34016	141979150	5,121	0,0236
52	<i>COL11A1</i>	1	rs12139120	103231502	5,12	0,0237
53	<i>COL2A1</i>	12	rs12822608	46641619	5,07	0,0243
54	<i>FNI</i>	2	rs2289200	215941223	5,069	0,0244
55	<i>WNT3</i>	17	rs199497	42221762	5,063	0,0244
56	<i>COL11A1</i>	1	rs1241175	103097008	4,898	0,0269
57	<i>PVRL1</i>	11	rs10750161	119003828	4,846	0,0277
58	<i>FGF2</i>	4	rs308420	123987393	4,84	0,0278

59	<i>FGFR1</i>	8	rs2411256	38412620	4,787	0,0287
60	<i>PVRL2</i>	19	rs3745150	50077599	4,766	0,0290
61	<i>BMP2</i>	20	rs1980499	6694498	4,742	0,0294
62	<i>COL2A1</i>	12	rs17122565	46698677	4,688	0,0304
63	<i>PVRL1</i>	11	rs4354701	118994022	4,654	0,0310
64	<i>FGF1</i>	5	rs250201	142013492	4,5	0,0339
65	<i>TIMP2</i>	17	rs7212662	74429726	4,481	0,0343
66	<i>COL2A1</i>	12	rs12300271	46660883	4,446	0,0350
67	<i>WNT3</i>	17	rs916888	42218292	4,446	0,0350
68	<i>EDN1</i>	6	rs9357336	12392025	4,412	0,0357
69	<i>COL11A1</i>	1	rs4908291	103345324	4,378	0,0364
70	<i>COL11A1</i>	1	rs12026245	103364053	4,366	0,0367
71	<i>TBX22</i>	X	rs6621543	79156787	4,333	0,0374
72	<i>EDN1</i>	6	rs521824	12381526	4,255	0,0391
73	<i>FGF2</i>	4	rs308438	123992337	4,235	0,0396
74	<i>FNI</i>	2	rs7604984	215925884	4,2	0,0404
75	<i>TBX10</i>	11	rs2447587	67168406	4,172	0,0411
76	<i>SKI</i>	1	rs2645075	2244770	4,091	0,0431
77	<i>COL11A2</i>	6	rs213210	33283802	4,083	0,0433
78	<i>PVRL2</i>	19	rs11667640	50071631	4	0,0455
79	<i>BMP2</i>	20	rs235770	6709765	3,967	0,0464
80	<i>ApoC2_CLPTM1</i>	19	rs9193	50188143	3,92	0,0477
81	<i>IRF6</i>	1	rs12143281	208018517	3,879	0,0489
82	<i>EDN1</i>	6	rs2071943	12403800	3,657	0,0558

4.4 lentelė. Nepusiausviro perdavimo testo rezultatai Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo ir izoliuotu gomurio nesuaugimu grupėje, išdėstyta pagal statistiškai reikšmingiausius genų kandidatus

Nr.	Genas	Chr.	VNP	Vieta chromosomoje	χ^2	p reikšmė
1	<i>ApoC2_CLPTM1</i>	19	rs9193	50188143	3,92	0,0477
2	<i>BMP2</i>	20	rs235756	6715111	10	0,0016
3	<i>BMP2</i>	20	rs6085682	6719211	7,682	0,0056
4	<i>BMP2</i>	20	rs173107	6713841	7,451	0,0063
5	<i>BMP2</i>	20	rs2206916	6682650	6,627	0,0100
6	<i>BMP2</i>	20	rs235757	6714019	5,647	0,0175
7	<i>BMP2</i>	20	rs1980499	6694498	4,742	0,0294
8	<i>BMP2</i>	20	rs235770	6709765	3,967	0,0464
9	<i>BMP4</i>	14	rs10873077	53503283	8,048	0,0046
10	<i>CDH1</i>	16	rs3785076	67408284	11,255	0,0008

11	<i>CDHI</i>	16	rs4783689	67411172	8,345	0,0039
12	<i>COL11A1</i>	1	rs7543626	103350922	8,783	0,0030
13	<i>COL11A1</i>	1	rs17446095	103145363	8,526	0,0035
14	<i>COL11A1</i>	1	rs6671691	103347365	6,914	0,0086
15	<i>COL11A1</i>	1	rs7556513	103325111	6,452	0,0111
16	<i>COL11A1</i>	1	rs11164663	103321085	6	0,0143
17	<i>COL11A1</i>	1	rs1841835	103211618	6	0,0143
18	<i>COL11A1</i>	1	rs11164623	103109061	5,556	0,0184
19	<i>COL11A1</i>	1	rs12123966	103354338	5,158	0,0231
20	<i>COL11A1</i>	1	rs12139120	103231502	5,12	0,0237
21	<i>COL11A1</i>	1	rs1241175	103097008	4,898	0,0269
22	<i>COL11A1</i>	1	rs4908291	103345324	4,378	0,0364
23	<i>COL11A1</i>	1	rs12026245	103364053	4,366	0,0367
24	<i>COL11A2</i>	6	rs2744507	33256856	6,061	0,0138
25	<i>COL11A2</i>	6	rs213208	33285988	5,586	0,0181
26	<i>COL11A2</i>	6	rs9277934	33261506	5,405	0,0201
27	<i>COL11A2</i>	6	rs213210	33283802	4,083	0,0433
28	<i>COL2A1</i>	12	rs6580647	46689496	8,471	0,0036
29	<i>COL2A1</i>	12	rs1635550	46664237	8,117	0,0044
30	<i>COL2A1</i>	12	rs12721428	46655160	8,022	0,0046
31	<i>COL2A1</i>	12	rs12821733	46641450	5,765	0,0163
32	<i>COL2A1</i>	12	rs12822608	46641619	5,07	0,0243
33	<i>COL2A1</i>	12	rs17122565	46698677	4,688	0,0304
34	<i>COL2A1</i>	12	rs12300271	46660883	4,446	0,0350
35	<i>EDN1</i>	6	rs4714351	12384844	7,118	0,0076
36	<i>EDN1</i>	6	rs1476046	12401207	6,443	0,0111
37	<i>EDN1</i>	6	rs16872608	12416007	6,422	0,0113
38	<i>EDN1</i>	6	rs9357336	12392025	4,412	0,0357
39	<i>EDN1</i>	6	rs521824	12381526	4,255	0,0391
40	<i>EDN1</i>	6	rs2071943	12403800	3,657	0,0558
41	<i>FGF1</i>	5	rs33992	141937322	7	0,0082
42	<i>FGF1</i>	5	rs250092	141958427	5,898	0,0152
43	<i>FGF1</i>	5	rs1860230	142058047	5,488	0,0191
44	<i>FGF1</i>	5	rs34016	141979150	5,121	0,0236
45	<i>FGF1</i>	5	rs250201	142013492	4,5	0,0339
46	<i>FGF2</i>	4	rs308439	123993029	10,522	0,0012
47	<i>FGF2</i>	4	rs308434	123991278	5,898	0,0152
48	<i>FGF2</i>	4	rs308442	123994363	5,4	0,0201
49	<i>FGF2</i>	4	rs308420	123987393	4,84	0,0278
50	<i>FGF2</i>	4	rs308438	123992337	4,235	0,0396
51	<i>FGFR1</i>	8	rs2411256	38412620	4,787	0,0287
52	<i>FNI</i>	2	rs17457029	215980759	5,388	0,0203
53	<i>FNI</i>	2	rs2289200	215941223	5,069	0,0244
54	<i>FNI</i>	2	rs7604984	215925884	4,2	0,0404

55	<i>IRF6</i>	1	rs12143281	208018517	3,879	0,0489
56	<i>MSX1</i>	4	rs4689953	4904370	5,226	0,0223
57	<i>MSX1</i>	4	rs13121578	4896678	5,149	0,0233
58	<i>MTHFR</i>	1	rs9651118	11784801	9,921	0,0016
59	<i>MTHFR</i>	1	rs17376328	11799249	6,897	0,0086
60	<i>MTHFR</i>	1	rs1801131	11777063	5,263	0,0218
61	<i>PVRL1</i>	11	rs906827	119019339	10,593	0,0011
62	<i>PVRL1</i>	11	rs10892421	119003613	9,143	0,0025
63	<i>PVRL1</i>	11	rs12361680	118994420	5,388	0,0203
64	<i>PVRL1</i>	11	rs10750161	119003828	4,846	0,0277
65	<i>PVRL1</i>	11	rs4354701	118994022	4,654	0,0310
66	<i>PVRL2</i>	19	rs519825	50058619	5,188	0,0227
67	<i>PVRL2</i>	19	rs3745150	50077599	4,766	0,0290
68	<i>PVRL2</i>	19	rs11667640	50071631	4	0,0455
69	<i>SKI</i>	1	rs4648625	2190201	7,143	0,0075
70	<i>SKI</i>	1	rs2645075	2244770	4,091	0,0431
71	<i>TBX10</i>	11	rs2514027	67162878	7,692	0,0055
72	<i>TBX10</i>	11	rs2447587	67168406	4,172	0,0411
73	<i>TBX22</i>	X	rs6621543	79156787	4,333	0,0374
74	<i>TGFB3</i>	14	rs7156293	75493336	8,333	0,0039
75	<i>TIMP1</i>	X	rs723556	47317691	6,48	0,0109
76	<i>TIMP2</i>	17	rs6501266	74418948	7,577	0,0059
77	<i>TIMP2</i>	17	rs4789936	74409569	6,128	0,0133
78	<i>TIMP2</i>	17	rs7212662	74429726	4,481	0,0343
79	<i>TIMP3</i>	22	rs4449	31608202	7,538	0,0060
80	<i>TIMP3</i>	22	rs11287	31588777	5,333	0,0209
81	<i>WNT3</i>	17	rs199497	42221762	5,063	0,0244
82	<i>WNT3</i>	17	rs916888	42218292	4,446	0,0350

Atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo grupėje, kurioje buvo tiriamos 88 vaiko – tėvų triados, buvo gauta statistiškai patikima 68 - ių VNP 25 - iuose genuose kandidatuose su LGN asociacija ($p < 0,05$) (4.5, 4.6 lentelės).

4.5 lentelė. Nepusiausviro perdavimo testo rezultatai Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo grupėje, pagal statistiškai reikšmingiausius VNP

Nr.	Genas	Chr.	VNP	Vieta chromosomoje	χ^2	<i>p</i> reikšmė
1	<i>MMP3</i>	11	rs629946	102226906	15,385	8,76816E-05
2	<i>TGFB3</i>	14	rs7156293	75493336	12,302	0,0005
3	<i>BMP2</i>	20	rs235756	6715111	10	0,0016
4	<i>FGF2</i>	4	rs308439	123993029	10	0,0016
5	<i>PVRL1</i>	11	rs906827	119019339	9,981	0,0016
6	<i>TIMP2</i>	17	rs4789936	74409569	9,72	0,0018
7	<i>PVRL1</i>	11	rs10892421	119003613	8,67	0,0032
8	<i>TIMP1</i>	X	rs723556	47317691	8,395	0,0038
9	<i>MTHFR</i>	1	rs9651118	11784801	8,018	0,0046
10	<i>COL11A1</i>	1	rs7543626	103350922	8	0,0047
11	<i>TIMP2</i>	17	rs6501266	74418948	7,839	0,0051
12	<i>COL2A1</i>	12	rs1635550	46664237	7,563	0,0060
13	<i>EDN1</i>	6	rs1476046	12401207	7,353	0,0067
14	<i>COL11A1</i>	1	rs7556513	103325111	7,078	0,0078
15	<i>EDN1</i>	6	rs9357336	12392025	7,043	0,0080
16	<i>BMP2</i>	20	rs2206916	6682650	7,024	0,0080
17	<i>FGF1</i>	5	rs33992	141937322	7	0,0082
18	<i>BMP2</i>	20	rs6085682	6719211	6,914	0,0086
19	<i>COL11A2</i>	6	rs213208	33285988	6,811	0,0091
20	<i>COL2A1</i>	12	rs12721428	46655160	6,081	0,0137
21	<i>TIMP3</i>	22	rs242082	31554439	6,081	0,0137
22	<i>PVRL1</i>	11	rs10750161	119003828	6,05	0,0139
23	<i>COL11A1</i>	1	rs1841835	103211618	6	0,0143
24	<i>TIMP3</i>	22	rs4449	31608202	6	0,0143
25	<i>PVRL1</i>	11	rs4354701	118994022	5,944	0,0148
26	<i>TBX10</i>	11	rs2514027	67162878	5,769	0,0163
27	<i>MTHFR</i>	1	rs1801131	11777063	5,73	0,0167
28	<i>BMP2</i>	20	rs235757	6714019	5,628	0,0177
29	<i>EDN1</i>	6	rs2071943	12403800	5,586	0,0181
30	<i>FGF2</i>	4	rs308442	123994363	5,565	0,0183
31	<i>COL11A1</i>	1	rs17446095	103145363	5,538	0,0186
32	<i>PVRL2</i>	19	rs11667640	50071631	5,452	0,0195
33	<i>EDN1</i>	6	rs16872608	12416007	5,444	0,0196
34	<i>BMP2</i>	20	rs173107	6713841	5,4	0,0201
35	<i>COL11A2</i>	6	rs2744507	33256856	5,4	0,0201
36	<i>TBX10</i>	11	rs2447587	67168406	5,261	0,0218
37	<i>MMP13</i>	11	rs685286	102347662	5,233	0,0222
38	<i>COL2A1</i>	12	rs12821733	46641450	5,143	0,0233

39	<i>MTHFR</i>	1	rs17376328	11799249	4,923	0,0265
40	<i>EDNI</i>	6	rs4714351	12384844	4,898	0,0269
41	<i>COL11A1</i>	1	rs2229783	103125039	4,813	0,0282
42	<i>FGF1</i>	5	rs1860230	142058047	4,8	0,0285
43	<i>COL11A1</i>	1	rs12026245	103364053	4,762	0,0291
44	<i>FGF1</i>	5	rs250092	141958427	4,667	0,0307
45	<i>BCL3</i>	19	rs2965174	49936855	4,629	0,0314
46	<i>SMAD2</i>	18	rs1792658	43636603	4,571	0,0325
47	<i>SKI</i>	1	rs4648625	2190201	4,455	0,0348
48	<i>TIMP3</i>	22	rs11287	31588777	4,455	0,0348
49	<i>FOXE1</i>	9	rs973473	99660551	4,414	0,0356
50	<i>FNI</i>	2	rs2289200	215941223	4,378	0,0364
51	<i>MSX1</i>	4	rs10002530	4900504	4,349	0,0370
52	<i>COL11A1</i>	1	rs4908291	103345324	4,313	0,0378
53	<i>MMP2</i>	16	rs7187242	54057495	4,267	0,0389
54	<i>COL11A1</i>	1	rs11164663	103321085	4,263	0,0390
55	<i>COL11A2</i>	6	rs213210	33283802	4,261	0,0390
56	<i>WNT3</i>	17	rs199497	42221762	4,245	0,0394
57	<i>COL2A1</i>	12	rs17122565	46698677	4,129	0,0422
58	<i>EDNI</i>	6	rs16872612	12416068	4,122	0,0423
59	<i>PVRL2</i>	19	rs519825	50058619	4,07	0,0437
60	<i>EDNI</i>	6	rs521824	12381526	4,05	0,0442
61	<i>PVRL2</i>	19	rs3745150	50077599	3,967	0,0464
62	<i>WNT3</i>	17	rs11653738	42242117	3,959	0,0466
63	<i>COL11A1</i>	1	rs6671691	103347365	3,947	0,0470
64	<i>FGF2</i>	4	rs308438	123992337	3,903	0,0482
65	<i>BMP2</i>	20	rs1005464	6704148	3,814	0,0508
66	<i>TIMP2</i>	17	rs7211674	74410660	3,753	0,0527
67	<i>COL11A1</i>	1	rs12123966	103354338	3,667	0,0555
68	<i>FNI</i>	2	rs17518731	216026905	3,658	0,0558

4.6 lentelė. Nepusiausviro perdavimo testo rezultatai Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo grupėje, pagal statistiškai reikšmingiausius genus kandidatus

Nr.	Genas	Chr.	VNP	Vieta chromosomoje	χ^2	p reikšmė
1	BCL3	19	rs2965174	49936855	4,629	0,0314
2	BMP2	20	rs235756	6715111	10	0,0016
3	BMP2	20	rs2206916	6682650	7,024	0,0080
4	BMP2	20	rs6085682	6719211	6,914	0,0086
5	BMP2	20	rs235757	6714019	5,628	0,0177
6	BMP2	20	rs173107	6713841	5,4	0,0201
7	BMP2	20	rs1005464	6704148	3,814	0,0508
8	COL11A1	1	rs7543626	103350922	8	0,0047
9	COL11A1	1	rs7556513	103325111	7,078	0,0078
10	COL11A1	1	rs1841835	103211618	6	0,0143
11	COL11A1	1	rs17446095	103145363	5,538	0,0186
12	COL11A1	1	rs2229783	103125039	4,813	0,0282
13	COL11A1	1	rs12026245	103364053	4,762	0,0291
14	COL11A1	1	rs4908291	103345324	4,313	0,0378
15	COL11A1	1	rs11164663	103321085	4,263	0,0390
16	COL11A1	1	rs6671691	103347365	3,947	0,0470
17	COL11A1	1	rs12123966	103354338	3,667	0,0555
18	COL11A2	6	rs213208	33285988	6,811	0,0091
19	COL11A2	6	rs2744507	33256856	5,4	0,0201
20	COL11A2	6	rs213210	33283802	4,261	0,0390
21	COL2A1	12	rs1635550	46664237	7,563	0,0060
22	COL2A1	12	rs12721428	46655160	6,081	0,0137
23	COL2A1	12	rs12821733	46641450	5,143	0,0233
24	COL2A1	12	rs17122565	46698677	4,129	0,0422
25	EDNI	6	rs1476046	12401207	7,353	0,0067
26	EDNI	6	rs9357336	12392025	7,043	0,0080
27	EDNI	6	rs2071943	12403800	5,586	0,0181
28	EDNI	6	rs16872608	12416007	5,444	0,0196
29	EDNI	6	rs4714351	12384844	4,898	0,0269
30	EDNI	6	rs16872612	12416068	4,122	0,0423
31	EDNI	6	rs521824	12381526	4,05	0,0442
32	FGF1	5	rs33992	141937322	7	0,0082
33	FGF1	5	rs1860230	142058047	4,8	0,0285
34	FGF1	5	rs250092	141958427	4,667	0,0307
35	FGF2	4	rs308439	123993029	10	0,0016
36	FGF2	4	rs308442	123994363	5,565	0,0183
37	FGF2	4	rs308438	123992337	3,903	0,0482
38	FNI	2	rs2289200	215941223	4,378	0,0364

39	<i>FNI</i>	2	rs17518731	216026905	3,658	0,0558
40	<i>FOXE1</i>	9	rs973473	99660551	4,414	0,0356
41	<i>MMP13</i>	11	rs685286	102347662	5,233	0,0222
42	<i>MMP2</i>	16	rs7187242	54057495	4,267	0,0389
43	<i>MMP3</i>	11	rs629946	102226906	15,385	0,0001
44	<i>MSX1</i>	4	rs10002530	4900504	4,349	0,0370
45	<i>MTHFR</i>	1	rs9651118	11784801	8,018	0,0046
46	<i>MTHFR</i>	1	rs1801131	11777063	5,73	0,0167
47	<i>MTHFR</i>	1	rs17376328	11799249	4,923	0,0265
48	<i>PVRL1</i>	11	rs906827	119019339	9,981	0,0016
49	<i>PVRL1</i>	11	rs10892421	119003613	8,67	0,0032
50	<i>PVRL1</i>	11	rs10750161	119003828	6,05	0,0139
51	<i>PVRL1</i>	11	rs4354701	118994022	5,944	0,0148
52	<i>PVRL2</i>	19	rs11667640	50071631	5,452	0,0195
53	<i>PVRL2</i>	19	rs519825	50058619	4,07	0,0437
54	<i>PVRL2</i>	19	rs3745150	50077599	3,967	0,0464
55	<i>SKI</i>	1	rs4648625	2190201	4,455	0,0348
56	<i>SMAD2</i>	18	rs1792658	43636603	4,571	0,0325
57	<i>TBX10</i>	11	rs2514027	67162878	5,769	0,0163
58	<i>TBX10</i>	11	rs2447587	67168406	5,261	0,0218
59	<i>TGFB3</i>	14	rs7156293	75493336	12,302	0,0005
60	<i>TIMP1</i>	X	rs723556	47317691	8,395	0,0038
61	<i>TIMP2</i>	17	rs4789936	74409569	9,72	0,0018
62	<i>TIMP2</i>	17	rs6501266	74418948	7,839	0,0051
63	<i>TIMP2</i>	17	rs7211674	74410660	3,753	0,0527
64	<i>TIMP3</i>	22	rs242082	31554439	6,081	0,0137
65	<i>TIMP3</i>	22	rs4449	31608202	6	0,0143
66	<i>TIMP3</i>	22	rs11287	31588777	4,455	0,0348
67	<i>WNT3</i>	17	rs199497	42221762	4,245	0,0394
68	<i>WNT3</i>	17	rs11653738	42242117	3,959	0,0466

Atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu Lietuvos pacientų su izoliuotu gomurio nesuaugimu grupėje, kurioje buvo tiriama 18 vaiko – tėvų triadų, buvo gauta statistiškai patikima 33 - ių VNP 18 - oje genų kandidatų su LGN asociacija ($p < 0,05$) (4.7, 4.8 lentelės).

4.7 lentelė. Nepusiausviro perdavimo testo rezultatai Lietuvos pacientų su izoliuotu gomurio nesuaugimu grupėje, pagal statistiškai reikšmingiausias VNP

Nr.	Genas	Chr.	VNP	Vieta chromosomoje	χ^2	<i>p</i> reikšmė
1	MMP2	16	rs837533	54052135	9	0,0027
2	MMP2	16	rs1005913	54062022	7,364	0,0067
3	FGFR1	8	rs2956724	38411423	6	0,0143
4	FGF1	5	rs34013	141978564	5,444	0,0196
5	TIMP2	17	rs7213204	74343395	5,444	0,0196
6	MMP25	16	rs7188573	3051204	5,4	0,0201
7	RARA	17	rs482284	35757767	5,4	0,0201
8	WNT3	17	rs12452064	42223353	5,4	0,0201
9	COL11A2	6	rs213209	33284936	5,333	0,0209
10	FGFR1	8	rs2411256	38412620	5,333	0,0209
11	TBX22	X	rs6621543	79156787	5,333	0,0209
12	FGF1	5	rs33995	141945942	5	0,0253
13	MSX1	4	rs4689953	4904370	4,571	0,0325
14	COL2A1	12	rs11168359	46702290	4,5	0,0339
15	MMP13	11	rs685286	102347662	4,5	0,0339
16	MMP2	16	rs243864	54069823	4,5	0,0339
17	TIMP2	17	rs7218237	74383233	4,5	0,0339
18	COL11A1	1	rs12722976	103118332	4,455	0,0348
19	MMP2	16	rs243865	54069307	4,455	0,0348
20	PVRL1	11	rs12361680	118994420	4,455	0,0348
21	TIMP2	17	rs4789921	74451214	4,455	0,0348
22	CDH1	16	rs12597188	67372327	4	0,0455
23	COL11A2	6	rs756441	33230149	4	0,0455
24	LHX8	12	rs17622436	75362169	4	0,0455
25	MSX1	4	rs2087868	4900020	4	0,0455
26	PVRL1	11	rs4938713	119074204	4	0,0455
27	TIMP3	22	rs130554	31513583	4	0,0455
28	TIMP3	22	rs4447	31605140	4	0,0455
29	WNT9B	17	rs11079740	42304099	4	0,0455
30	MMP25	16	rs2526275	3024110	3,857	0,0495
31	FGF1	5	rs10070885	142000564	3,769	0,0522
32	MMP2	16	rs1005912	54062328	3,769	0,0522
33	TIMP3	22	rs137487	31589104	3,769	0,0522

4.8 lentelė. Nepusiausviro perdavimo testo rezultatai Lietuvos pacientų su izoliuotu gomurio nesuaugimu grupėje, pagal statistiškai reikšmingiausius genus kandidatus

Nr.	Genas	Chr.	VNP	Vieta chromosomoje	χ^2	<i>p</i> reikšmė
1	<i>CDH1</i>	16	rs12597188	67372327	4	0,0455
2	<i>COL11A1</i>	1	rs12722976	103118332	4,455	0,0348
3	<i>COL11A2</i>	6	rs213209	33284936	5,333	0,0209
4	<i>COL11A2</i>	6	rs756441	33230149	4	0,0455
5	<i>COL2A1</i>	12	rs11168359	46702290	4,5	0,0339
6	<i>FGF1</i>	5	rs34013	141978564	5,444	0,0196
7	<i>FGF1</i>	5	rs33995	141945942	5	0,0253
8	<i>FGF1</i>	5	rs10070885	142000564	3,769	0,0522
9	<i>FGFR1</i>	8	rs2956724	38411423	6	0,0143
10	<i>FGFR1</i>	8	rs2411256	38412620	5,333	0,0209
11	<i>LHX8</i>	12	rs17622436	75362169	4	0,0455
12	<i>MMP13</i>	11	rs685286	102347662	4,5	0,0339
13	<i>MMP2</i>	16	rs837533	54052135	9	0,0027
14	<i>MMP2</i>	16	rs1005913	54062022	7,364	0,0067
15	<i>MMP2</i>	16	rs243864	54069823	4,5	0,0339
16	<i>MMP2</i>	16	rs243865	54069307	4,455	0,0348
17	<i>MMP2</i>	16	rs1005912	54062328	3,769	0,0522
18	<i>MMP25</i>	16	rs7188573	3051204	5,4	0,0201
19	<i>MMP25</i>	16	rs2526275	3024110	3,857	0,0495
20	<i>MSX1</i>	4	rs4689953	4904370	4,571	0,0325
21	<i>MSX1</i>	4	rs2087868	4900020	4	0,0455
22	<i>PVRL1</i>	11	rs12361680	118994420	4,455	0,0348
23	<i>PVRL1</i>	11	rs4938713	119074204	4	0,0455
24	<i>RARA</i>	17	rs482284	35757767	5,4	0,0201
25	<i>TBX22</i>	X	rs6621543	79156787	5,333	0,0209
26	<i>TIMP2</i>	17	rs7213204	74343395	5,444	0,0196
27	<i>TIMP2</i>	17	rs7218237	74383233	4,5	0,0339
28	<i>TIMP2</i>	17	rs4789921	74451214	4,455	0,0348
29	<i>TIMP3</i>	22	rs130554	31513583	4	0,0455
30	<i>TIMP3</i>	22	rs4447	31605140	4	0,0455
31	<i>TIMP3</i>	22	rs137487	31589104	3,769	0,0522
32	<i>WNT3</i>	17	rs12452064	42223353	5,4	0,0201
33	<i>WNT9B</i>	17	rs11079740	42304099	4	0,0455

4.4 ATVEJO – KONTROLĖS TYRIMŲ ASOCIACIJOS ANALIZĖS REZULTATAI

Atvejo – kontrolės tyrimo asociacijos analizė buvo atlikta programinės įrangos paketu *PLINK version 1.06* (3.3.6.2 skyrelis), tiriant 92 Lietuvos pacientus su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo ir 219 kontrolinės grupės asmenų iš bendros Lietuvos populiacijos. Statistiškai patikima asociacija buvo nustatyta 10-ies VNP penkiuose L/GN genuose kandidatuose (4.9 lentelė, statistiškai patikimos reikšmės paryškintos) su LGN ($p < 0,05$).

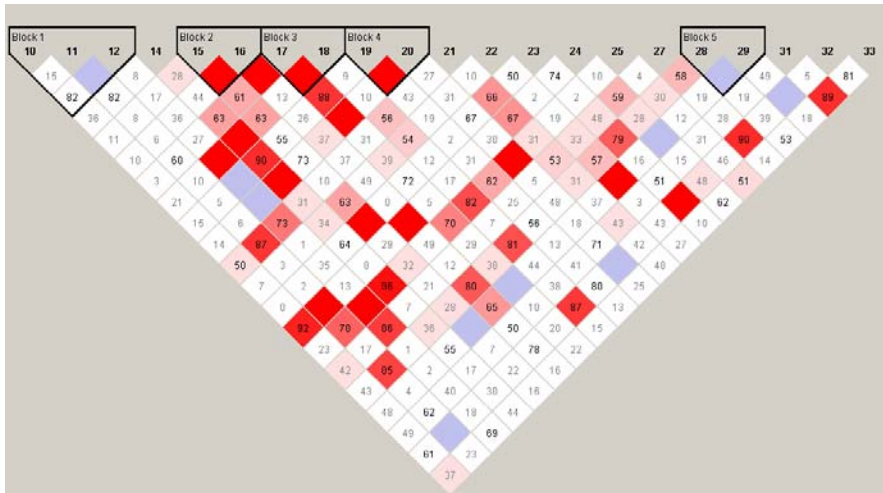
4.9 lentelė. Atvejo – kontrolės tyrimų Lietuvos pacientų grupėje asociacijos analizės rezultatai

Nr.	Genas	Chromosoma	VNP	<i>p</i> reikšmė
1	<i>COL11A1</i>	1	rs17446095	0,038
2	<i>FGF2</i>	4	rs11737764	0,076
3	<i>FNI</i>	2	rs4673990	0,078
4	<i>IRF6</i>	1	rs9430018	0,060
5	<i>COL11A2</i>	6	rs9277928	0,063
6	<i>COL2A1</i>	12	rs6580647	0,046
7	<i>COL2A1</i>	12	rs1541408	0,057
8	<i>COL2A1</i>	12	rs3829736	0,092
9	<i>COL2A1</i>	12	rs12821733	0,078
10	<i>FOXE1</i>	9	rs973473	0,089
11	<i>PVRL1</i>	11	rs10892421	0,095
12	<i>PVRL1</i>	11	rs4354701	0,070
13	<i>TIMP2</i>	17	rs4789936	0,042
14	<i>TIMP2</i>	17	rs7502916	0,013
15	<i>TIMP2</i>	17	rs7213204	0,059
16	<i>TIMP2</i>	17	rs6501266	0,066
17	<i>TIMP2</i>	17	rs7211674	0,043
18	<i>BMP2</i>	20	rs235750	0,078
19	<i>BMP2</i>	20	rs6085682	0,040
20	<i>BMP2</i>	20	rs6117432	0,070
21	<i>BMP2</i>	20	rs235757	0,042
22	<i>BMP2</i>	20	rs2206916	0,069
23	<i>BMP2</i>	20	rs2206917	0,066
24	<i>BMP2</i>	20	rs1005464	0,037
25	<i>BMP2</i>	20	rs173107	0,051
26	<i>MMP9</i>	20	rs3918278	0,018

Identifikuojant genų variantus, lemiančius polinkį daugiaveiksnei LGN patologijai, siekiant gauti ir patvirtinti statistškai reikšmingus rezultatus buvo atlikti bendri trijų (Lietuvos, Latvijos, Estijos) genetiškai artimų populiacijų (Nelis et al., 2009) pacientų su L/GN asociacijos analizė tyrimai. Jungtiniame tyrime buvo tirti 300 L/GN pacientų mėginiai (100 EST, 108 LAT, 92 LIT) bei 606 kontrolinės grupės asmenų iš bendros populiacijos mėginiai (205 EST, 182 LAT, 219 LIT). Atliekant atvejo – kontrolės asociacijos analizę buvo tirta pacientų su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimu ir pacientų izoliuotu gomurio nesuaugimu grupės. Tiriant pacientų su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimu grupę gauta statistiškai reikšminga asociacija VNP *FGF1*, *FOXE1* ir *TIMP2* genuose kandidatuose (Nikopencius et al., 2011). Tiriant pacientų su izoliuotu gomurio nesuaugimu grupę gauta statistiškai reikšminga asociacija VNP *COL2A1*, *COL11A2* ir *IRF6* genuose kandidatuose (Nikopencius et al., 2010).

4.5 HAPLOTIPŲ ANALIZĖS REZULTATAI

Haplotipų analizė buvo atlikta programinės įrangos paketu *Haploview 4.2*, pritaikius pasikliautinųjų intervalų (0,98 – 0,7) algoritmą. Haplotipo blokas yra sudaromas, kai daugiau nei 95% informatyvių palyginimų yra vertinama kaip stipri nepusiausvira sankiba ir į analizę nėra įtraukiami VNP, kurių retojo alelio dažnis mažesnis nei 0,05. Atlikus haplotipų analizę Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo, buvo nustatyti keli haplotipų blokai tirtuose L/GN genuose kandidatuose. Buvo identifikuoti penki haplotipų blokai *BMP2* gene (4.1 paveikslas, 4.10 lentelė), vienas haplotipų blokas *COL11A1* ir du - *COL2A1* genuose (4.2 paveikslas, 4.11 lentelė), šeši haplotipų blokai *FNI* gene (4.3 paveikslas, 4.12 lentelė), šeši haplotipų blokai *TIMP2* gene (4.4 paveikslas, 4.13 lentelė) ir dešimt haplotipų blokų *TIMP3* (4.5 paveikslas, 4.14 lentelė).

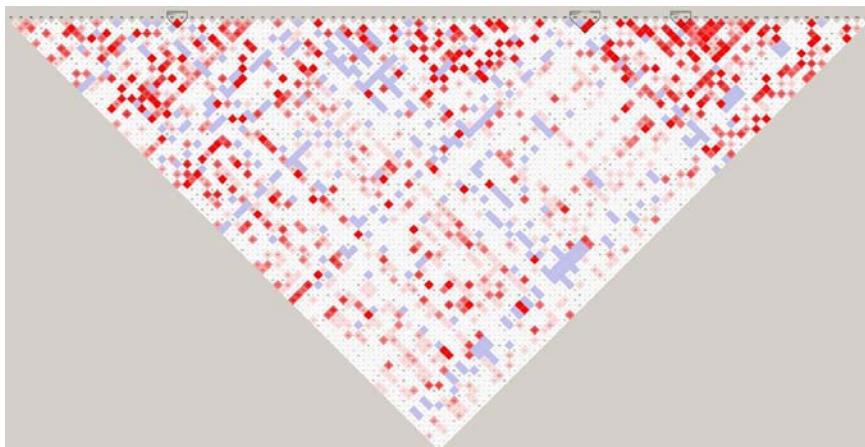


4.1 paveikslas. Haplotipų blokai *BMP2* gene. Raudoni kvadratai nurodo statistiškai patikimą ($LOD > 2$) nepusiausvirą sankibą tarp VNP pagal D' , kuo tamsesnė raudona – tuo didesnis D' įvertis (max 1). Balti kvadratai nurodo $D' < 1$ be statistiškai patikimo nepusiausviros sankibos įrodymo. Mėlyni kvadratai nurodo $D' = 1$, bet įverčiai nėra statistiškai patikimi.

4.10 lentelė. Haplotipai ir jų dažniai *BMP2* gene

VNP	rs235770	rs17731603	rs235704	Dažnis
Haplotipas	C	A	G	0,548
	T	A	G	0,231
	C	A	A	0,114
	C	G	G	0,063
	T	G	G	0,04
VNP	rs1980499	rs1979855	Dažnis	
Haplo tipas	T	A	0,47	
	C	A	0,364	
	T	G	0,167	
VNP	rs235757	rs910141	Dažnis	
Haplo tipas	T	G	0,466	
	C	G	0,278	
	T	T	0,256	
VNP	rs6054516	rs6054514	Dažnis	
Haplo tipas	C	C	0,824	
	T	T	0,119	
	T	C	0,057	

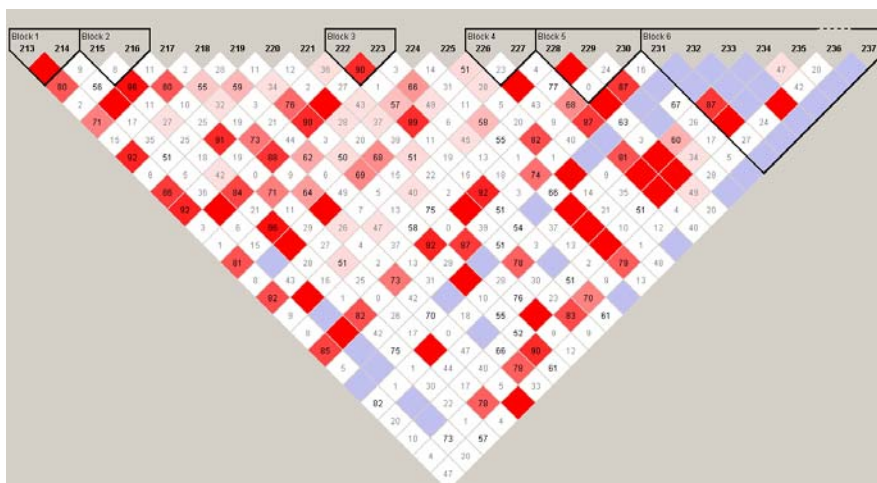
VNP	rs235730	rs13044579	Dažnis
Haplo tipas	G	A	0,591
	A	A	0,369
	G	G	0,04



4.2 paveikslas. Haplotipų blokai *COL11A1* ir *COL2A1* gene. Raudoni kvadratai nurodo statistiškai patikimą ($LOD > 2$) nepusiausvirą sankibą tarp VNP pagal D' , kuo tamsesnė raudona – tuo didesnis D' įvertis (max 1). Balti kvadratai nurodo $D' < 1$ be statistiškai patikimo nepusiausviro sankibos įrodymo. Mėlyni kvadratai nurodo $D' = 1$, bet įverčiai nėra statistiškai patikimi.

4.11 lentelė. Haplotipai ir jų dažniai *COL11A1* ir *COL2A1* gene

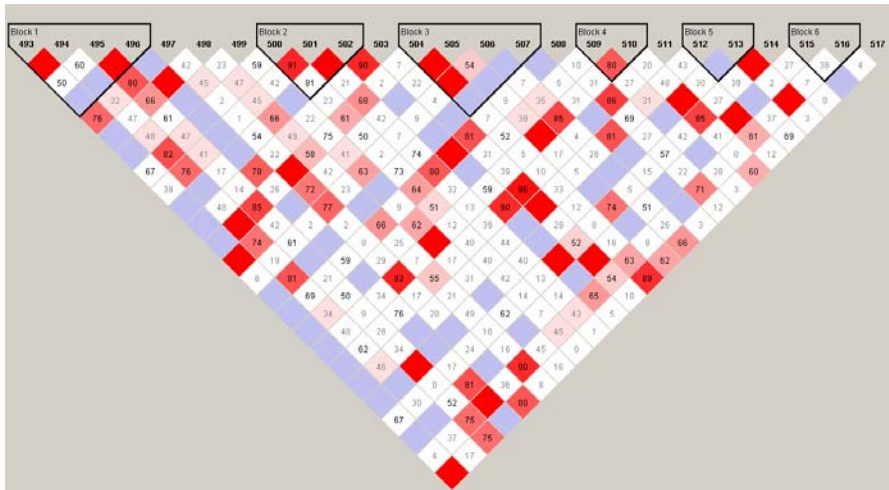
VNP	rs2616003	rs1020918	Dažnis
Haplotipai	C	C	0,778
	G	T	0,114
	G	C	0,108
VNP	rs1541408	rs6823	Dažnis
Haplotipai	C	C	0,455
	C	G	0,369
	G	G	0,176
VNP	rs7299271	rs7134878	Dažnis
Haplotipai	C	A	0,577
	T	G	0,324
	T	A	0,099



4.3 paveikslas. Haplotipų blokai *FNI* gene. Raudoni kvadratai nurodo statistiškai patikimą ($LOD > 2$) nepusiausvirą sankibą tarp VNP pagal D' , kuo tamsesnė raudona – tuo didesnis D' įvertis (max 1). Balti kvadratai nurodo $D' < 1$ be statistiškai patikimo nepusiausviroi sankibos įrodymo. Mėlyni kvadratai nurodo $D' = 1$, bet įvertiai nėra statistiškai patikimi.

4.12 lentelė. Haplotipai ir jų dažniai *FNI* gene

VNP	rs7567647	rs1404772	Dažnis				
Haplotipas	G	A	0,631				
	A	A	0,273				
	G	C	0,097				
VNP	rs17448447	rs13004592	Dažnis				
Haplotipas	A	T	0,392				
	A	C	0,284				
	G	T	0,205				
	G	C	0,119				
VNP	rs17517928	rs1250233	Dažnis				
Haplotipas	C	G	0,517				
	T	G	0,256				
	C	A	0,222				
VNP	rs2289200	rs7609476	Dažnis				
Haplotipas	C	C	0,401				
	C	A	0,378				
	A	A	0,139				
	A	C	0,081				
VNP	rs7586969	rs11883812	rs17457029	Dažnis			
Haplotipas	A	T	G	0,341			
	G	T	G	0,324			
	A	T	A	0,148			
	G	T	A	0,136			
	A	C	G	0,04			
	A	C	A	0,011			
VNP	rs13652	rs10498038	rs16853834	rs1250203	rs1968510	rs6716361	Dažnis
Haplotipas	T	C	C	T	G	C	0,704
	T	C	T	T	G	C	0,119
	T	C	C	T	G	G	0,04
	T	G	C	T	G	C	0,034
	C	C	C	T	G	C	0,024
	C	C	C	G	G	C	0,024
	C	C	C	T	A	C	0,024
	C	C	C	G	A	C	0,024

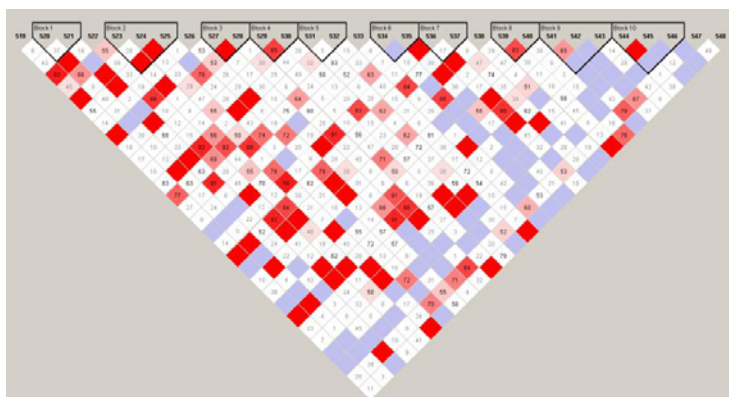


4.4 paveikslas. Haplotipų blokai *TIMP2* gene. Raudoni kvadratai nurodo statistiškai patikimą ($LOD > 2$) nepusiausvirą sankibą tarp VNP pagal D' , kuo tamsesnė raudona – tuo didesnis D' įvertis (max 1). Balti kvadratai nurodo $D' < 1$ be statistiškai patikimo nepusiausviros sankibos įrodymo. Mėlyni kvadratai nurodo $D' = 1$, bet įverčiai nėra statistiškai patikimi.

4.13 lentelė. Haplotipai ir jų dažniai *TIMP2* gene

VNP	rs1531795	rs6501258	rs4789936	rs4789937	Dažnis
Haplotipas	G	A	T	G	0,506
	G	A	C	G	0,352
	G	C	T	G	0,068
	G	A	C	A	0,034
	T	C	T	G	0,023
	G	C	C	G	0,011
VNP	rs7213204	rs4352096	rs8080307	Dažnis	
Haplotipas	C	C	G	0,527	
	T	T	G	0,318	
	C	C	A	0,079	
	T	C	G	0,053	
	C	T	G	0,017	

VNP	rs7502935	rs2376999	rs3744787	rs12944916	Dažnis
Haplotipas	G	A	A	C	0,472
	A	A	A	C	0,318
	G	A	G	C	0,102
	G	G	G	C	0,045
	G	A	A	G	0,034
	G	G	A	C	0,028
VNP	rs4789921	rs7212662	Dažnis		
Haplotipas	C	G	0,501		
	C	T	0,384		
	T	T	0,103		
	T	G	0,011		
VNP	rs7218237	rs2003241	Dažnis		
Haplotipas	G	T	0,835		
	T	T	0,108		
	G	C	0,057		
VNP	rs9889410	rs7211674	Dažnis		
Haplotipas	G	C	0,551		
	G	A	0,369		
	A	A	0,051		
	A	C	0,028		



4.5 paveikslas. Haplotipų blokai *TIMP3* gene. Raudoni kvadratai nurodo statistiškai patikimą ($LOD > 2$) nepusiausvirą sankibą tarp VNP pagal D' , kuo tamsesnė raudona – tuo didesnis D' įvertis (max 1). Balti kvadratai nurodo $D' < 1$ be statistiškai patikimo nepusiausviro sankibos įrodymo. Mėlyni kvadratai nurodo $D' = 1$, bet įverčiai nėra statistiškai patikimi.

4.14 lentelė. Haplotipai ir jų dažniai *TIMP3* gene

VNP	rs10483165	rs130554	Dažnis	
Haplotipas	T	T	0,81	
	C	T	0,109	
	T	C	0,075	
VNP	rs5754319	rs738992	rs130290	Dažnis
Haplotipas	C	C	G	0,33
	C	T	G	0,324
	A	C	G	0,176
	C	C	A	0,102
	A	T	G	0,068
VNP	rs2283883	rs5754312	Dažnis	
Haplotipas	G	A	0,494	
	G	T	0,324	
	T	T	0,182	
VNP	rs137489	rs137498	Dažnis	
Haplotipas	T	G	0,528	
	T	C	0,25	
	C	C	0,205	
	C	G	0,017	
VNP	rs130274	rs130561	Dažnis	
Haplotipas	C	A	0,42	
	C	C	0,301	
	T	A	0,17	
	T	C	0,108	
VNP	rs13054779	rs242082	Dažnis	
Haplotipas	T	C	0,751	
	T	T	0,163	
	C	C	0,086	
VNP	rs4504	rs241902	Dažnis	
Haplotipas	G	C	0,511	
	G	T	0,233	
	A	C	0,193	
	A	T	0,063	
VNP	rs242077	rs7292199	Dažnis	
Haplotipas	C	T	0,477	
	T	T	0,449	
	C	C	0,068	

VNP	rs241890	rs2283884	rs137484	Dažnis
Haplotipas	G	A	T	0,714
	G	T	T	0,109
	T	T	T	0,091
	G	A	C	0,052
	T	A	T	0,034
VNP	rs4447	rs4449	rs11287	Dažnis
Haplotipas	T	G	C	0,898
	C	G	C	0,068
	C	A	C	0,023
	T	G	T	0,011

IV. REZULTATŲ APTARIMAS

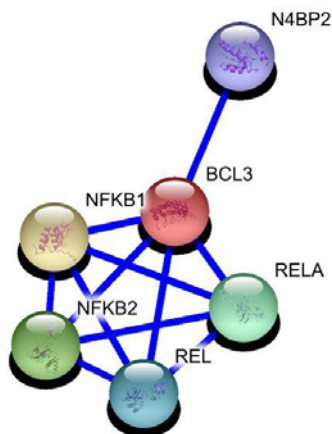
Plataus masto genomo tyrimais yra identifikuojamos vis naujos genomines sritys ir genai kandidatai, lemiantys polinkį lūpos ir (arba) gomurio ir gomurio nesuaugimui. Šiame darbe buvo tirti vieno nukleotido polimorfizmo žymenys 42-uoje polinkį lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimams lemiančiuose genuose kandidatuose. L/GN genai įtraukti į tyrimą 2007 metais, remiantis literatūra ir duomenų bazėmis, todėl patys naujausi patvirtinti L/GN genai kandidatai nebuvo tiriami. Buvo iširtos Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo ir pacientų su gomurio nesuaugimu ir jų tėvų triados, kontrolinė populiacinė grupė atvejo – kontrolės tyrimams. Norint nustatyti statistiškai reikšmingą asociaciją, polinkį lemiančius genų variantus, daugiaveiksnių požymių/patologijų tyrimams yra reikalingos labai didelės tiriamųjų grupės. Tyrimai, įtraukiant ir Lietuvos pacientų ir kontrolinę grupę, buvo atlikti sujungiant tris genetiškai artimas (Nelis et al, 2009) populiacijas – Lietuvos, Latvijos ir Estijos, taikant atvejo – kontrolės tyrimų strategiją, taip pat pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo ir pacientų su gomurio nesuaugimu grupėse atskirai.

4.1 BCL3 (angl. B cell lymphoma 3) – B ląstelių limfomos 3 genas

BCL3 genas yra 19q13.2 chromosomoje. Geno dydis yra 11kb. Tai yra proto –onkogenas. *BCL3* baltymas galimai yra transkripcijos aktyvavimo veiksnys; veikia kaip I-kappa-B specifinio NF-kappa-B p50 subvieneto forma inhibuojanti šio perkėlimą į branduolį. *BCL3* baltymo funkciniai partneriai, nustatyti *STRING* 8.3 programiniu paketu pateikti 5.1 paveiksle. *BCL3* genas yra susijęs su lūpos nesuaugimais su arba be gomurio nesuaugimo (Maestri et al, 1997, Stein et al, 1995, Wyszinski et al, 1996). Nustatyta nepusiausvira

sankiba tarp *BCL3* alelių ir LN+/-GN, tiriant pavienius LN+/-GN pacientus ir šeimas (Wyszinski et al, 1996, Amos et al, 1996) ir įrodyta sankiba, atsižvelgiant į genetinės srities heterogeniškumą (Stein et al, 1995). Gauta daug teigiamų rezultatų asociacijos tyrimuose panaudojant nepusiausviro perdavimo testą (TDT). Įvairių autorių atliktų TDT analizės ar sankibos tyrimų rezultatai, panaudojant mikrosatelitinius žymenis, įrodo, kad *BCL3* yra susijęs su veido nesuaugimais.

Vienoje šeimoje su LN+/-GN tyrime buvo nustatyta chromosomų translokacija t(2;19)(q11.2;q13.3) (Yoshiura et al, 1998). Trūkio vietoje yra *BCL3*, todėl manoma, kad šis genas yra susijęs su lūpos nesuaugimais su arba be gomurio nesuaugimo.



4.1 pav. *STRING 8.3* (Szklarczyk et al, 2011) programiniu paketu nustatyti *BCL3* baltymo funkciniai partneriai.

Šio darbo metu atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu genotipavimo pagal VNP, buvo nustatyta vieno žymens rs2965174 asociacija su L/GN ($p=0,03$) Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo grupėje. VU MF Žmogaus ir medicininės genetikos katedroje taip pat yra vykdomi mikrosatelitinių žymenų L/GN genuose kandidatuose tyrimai. Atlikus mikrosatelitinio žymens *BCL3* asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu pacientų su lūpos nesuaugimais su

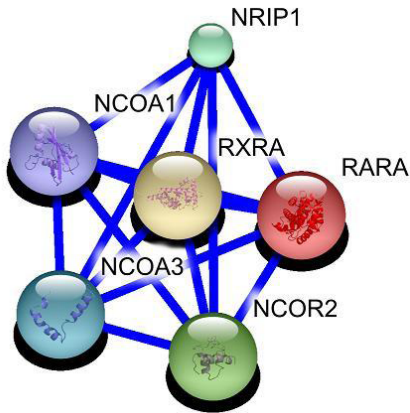
arba be gomurio nesuaugimais (LN+/-GN) grupėje, kurioje buvo tirtos 95 triados, buvo gauta statistiškai patikima reikšmė analizės alelių atžvilgiu ($\chi^2=11,590$, 5 *df*, $p = 0,041$). Analizė alelių atžvilgiu tiria modelį, kad visi žymens aleliai yra tam tikru laipsniu asocijuoti su liga. Išanalizavus atskirų alelių perdavimą, tik vieno alelio (3 alelis, nustatytas fragmento ilgis 128np) *p* reikšmė gauta statistiškai patikima, $p=0,015$. Šis alelis yra asocijuotas su liga.

Tik du žymenys *BCL3* gene gali būti asocijuoti su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo Lietuvos pacientų grupėje.

4.2 RARA (angl. retinoic acid receptor α) – retinoinės rūgšties receptoriaus α genas

RARA genas yra 17q21.1 chromosomoje. Retinoinės rūgšties receptoriaus α geno ilgis yra 79 kb, gene yra 8 egzoniai. *RARA* baltymo funkciniai partneriai, nustatyti *STRING* 8.3 programiniu paketu pateikti 5.2 paveiksle. Gyvūnų modelių tyrimai parodė, jog retinoinė rūgštis veikia galvos vystymąsi, ir kad *RARA* geno produktai yra svarbūs gomurio vystymuisi (Damm et al, 1993, Studer, 1994).

Sankibos analizė parodė, kad genai *RARA* srityje yra susiję su LN+/-GN defektų formavimusi. Buvo rastas reikšmingas alelių dažnių skirtumas tarp lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimo ir izoliuoto gomurio nesuaugimo (Kanno et al, 2002, Shaw et al, 1993). Priešingai vėlesniuose kitų autorių tyrimuose nebuvo rasta sankibos įrodymų tarp *RARA* ir lūpos ir/arba gomurio nesuaugimų (Stein et al, 1995, Vintiner, 1993).



4.2 pav. *STRING* 8.3 (Szkłarczyk et al, 2011) programiniu paketu nustatyti RARA baltymo funkciniai partneriai.

Šio tyrimo metu atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu pagal genotipavimo pagal VNP buvo nustatyta statistiškai reikšminga vieno žymens rs482284, esančio pačiame *RARA* gene, asociacija ($p=0,02$) su gomurio nesuaugimu. Tiriant mikrosatelitinius žymenis nebuvo gauta jokių statistiškai patikimų rezultatų, taikant analizės genotipų ir analizės alelių atžvilgiu modelį.

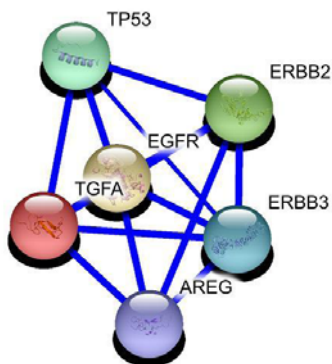
4.3 *TGF α* (angl. transforming growth factor α) – transformuojančio augimo veiksnio α genas

Transformuojančio augimo veiksnio α genas, esantis 2p13 chromosomoje, buvo pirmasis genas susietas su LN+/-G (Aardinger et al, 1989). Geną sudaro 106,5 kb, jame yra 6 egzonai. *TGFA* baltymo funkciniai partneriai, nustatyti *STRING* 8.3 programiniu paketu pateikti 5.3 paveiksle.

Atvejų – kontrolės tyrime buvo parodyta asociacija tarp *TGFA* restrikcijos fragmentų ilgio polimorfizmo ir lūpos nesuaugimų su arba be gomurio nesuaugimo (Aardinger et al, 1989). Visų vėliau publikuotų darbų meta – analizės tyrimas taip pat patvirtino ryšį tarp *TGFA* ir LN+/-GN, nors dėl genetinio heterogeniškumo tirtoje grupėje nepateikė įtikinamų įrodymų

(Mitchell et al, 1997). Reikšminga asociacija buvo parodyta tarp *TGFA* alelių ir izoliuoto gomurio nesuaugimo (Shiang et al, 1993). Viso genomo skenavimas parodė silpną *TGFA* ir LN+/-GN sąsają (Marazita et al, 2001). Tačiau, nepaisant asociacijos ir genomo skenavimo tyrimų įrodymų, kad *TGFA* yra susijęs su LN+/-GN, keliuose tyrimuose nebuvo nustatyta sankiba tarp *TGFA* ir LN+/-GN (Stanier et al, 2004, Cohen, 2002). Nepusiausviro perdavimo testo ir geno – aplinkos sąveikos tyrimų rezultatai patvirtina, kad *TGFA* yra LN+/-GN įtakojantis genas (Prescott et al, 2000). Tačiau neigiami sankibos tyrimai leidžia manyti, jog tai nėra svarbiausias polinkį LN+/-G lemiantis genas. Gali būti, kad jis, būdamas epidermio augimo faktoriaus receptoriaus (kuris yra būtinas normaliam veido – burnos vystymuisi) ligandas, taip veikia nesuaugimų vystymąsi.

Tiriant Lietuvos pacientų su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimais grupę iš 20 tirtų žymenų tik rs2166975 *TGFA* genetinėje srityje yra susijęs su polinkiu GN ($p = 0,05$ [df 1]). Asociacija tarp *TaqI* žymens alelių ir LN+/-GN fenotipo nebuvo parodyta Lietuvos populiacijoje, nors labai dažnai yra parodoma asociacija tarp šio žymens ir LN+/-GN fenotipo Europiečių populiacijose (Mitchell et al, 1997, Morkūnienė et al, 2005, Morkūnienė et al, 2007). Tačiau *TaqI* žymens įtakos polinkiui LN+/-GN tyrimų rezultatai yra prieštaringi.



5.3 pav. *STRING* 8.3 (Szklarczyk et al, 2011) programiniu paketu nustatyti *TGFA* baltymo funkciniai partneriai.

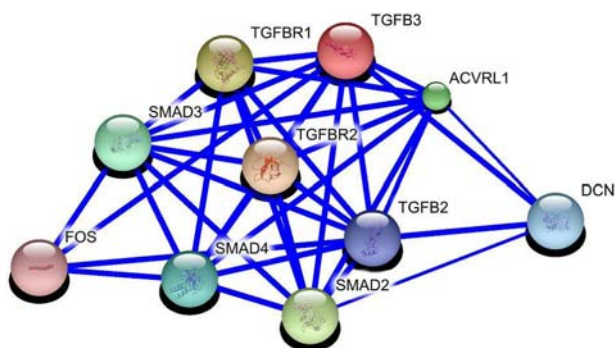
Šio tyrimo metu atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu iš VNP genotipavimo duomenų nebuvo nustatyta jokių statistiškai reikšmingų reikšmių tarp tirtų genetinių žymenų ir LN+/-GN ar GN. Tiriant mikrosatelitinius žymenis, taikant analizės alelių atžvilgiu modelį, gauta statistiškai nepatikima χ^2 reikšmė ($p > 0,05$), tačiau analizės genotipų atžvilgiu χ^2 reikšmė lygi 36,503 ($p = 0,049$), todėl daroma išvada, jog mikrosatelitinis žymuo D2S292 *TGFA* gene gali būti asocijuotas su polinkiu lūpos nesuaugimams su arba be gomurio nesuaugimais ir izoliuotiems gomurio nesuaugimams. Analizės alelių atžvilgiu modelio tinkamumo gauta p reikšmė nėra statistiškai patikima, todėl šis modelis nelabai tinkamas analizei. Tačiau analizė alelių atžvilgiu tiria modelį, kad visi žymens aleliai yra tam tikru laipsniu asocijuoti su liga. Išanalizavus atskirų alelių perdavimą, tik vieno alelio (6 alelis, nustatytas fragmento ilgis 182np) p reikšmė gauta statistiškai patikima, $p=0,024$. Šis alelis yra asocijuotas su liga.

Silpna vieno genetinio žymens *TGFA* gene asociacija su L/GN rodo, kad tai nėra viena pagrindinių genetinių sričių, lemiančių polinkį L/GN Lietuvos populiacijoje.

4.4 *TGFB3* (angl. transforming growth factor β 3) – transformuojančio augimo veiksnio β 3 genas

TGFB3 genas yra 14q24 chromosomoje. Geno ilgis yra 23 kb. *TGFB3* baltymo funkciniai partneriai, nustatyti *STRING* 8.3 programiniu paketu pateikti 5.4 paveiksle. *TGFB3* vaidmuo veido nesuaugimams paaiškėjo iš tyrimų su gyvūnais. Transgeninių gyvūnų ir genų raiškos tyrimais nustatyta, kad *TGFB3* turi įtakos minkštojo gomurio vystymuisi. Taip pat buvo parodyta, kad *TGFB3* baltymas gali indukuoti viščiuko gomurio suaugimą, normaliai jis yra nesuaugęs (Shutte, Murray, 1999).

Yra įrodyta asociacija tarp *TGFB3* genetinių žymenų ir lūpos nesuaugimo su arba be gomurio nesuaugimo (Lidral et al, 1998, Maestri et al, 1997, Beaty et al, 2002). Asociacija tarp genetinių žymenų *TGFB3*, *MSX1* ir *TGFA* genuose ir lūpos nesuaugimo su arba be gomurio nesuaugimo tirtoje 262 tėvų-vaiko triadų grupėje Norvegijos populiacijoje nebuvo nustatyta (Jugessur et al, 2003).



5.4 pav. *STRING* 8.3 (Szklarczyk et al, 2011) programiniu paketu nustatyti *TGFB3* baltymo funkciniai partneriai.

Atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu genotipavimo pagal VNP, buvo nustatyta vieno žymens rs7156293 asociacija su L/GN ($p=0,0005$) Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo grupėje. Atlikus mikrosatelitinio žymens D14S61 *TGFβ3* gene (nepublikuoti VU MF ŽMGK duomenys) asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu pacientų su lūpos nesuaugimais su arba be gomurio nesuaugimais (LN+/-GN) grupėje, nebuvo gauta statistiškai patikimų reikšmių analizės alelių ir genotipų atžvilgiu. Išanalizavus atskirų alelių perdavimą, tik vieno alelio (11 alelis, nustatytas fragmento ilgis 206np) p reikšmė gauta statistiškai patikima, $p=0,025$. Šis alelis yra asocijuotas su liga. Taip pat buvo nustatyta rs1792658 genetinio žymens *SMAD2* gene asociacija su L/GN ($p=0,03$). *SMAD2* (angl. *mothers against decapentaplegic homolog 2 (Drosophila)*) genas yra 18q21.1 chromosomoje. *SMAD2* priklauso baltymų šeimai, kurie yra signalo perdavėjai ir transkripcijos modulatoriai

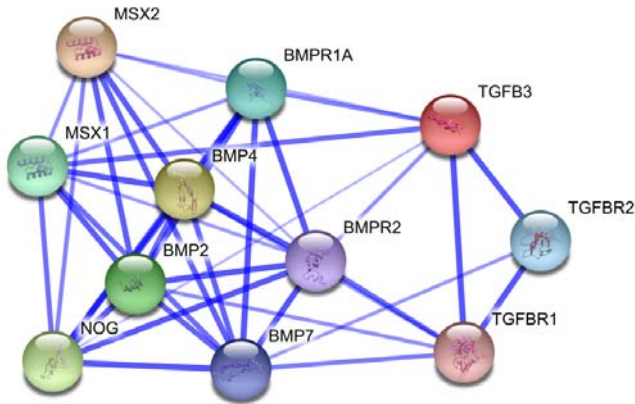
dalyvaujantys daugelyje signalinių kelių. SMAD2 baltymas yra vienas funkinių TGFB3 partnerių (5.3 pav.), jis per tarpininkus veikia TGFB ir taip reguliuoja daugelį ląstelės procesų – ląstelių proliferaciją, diferenciaciją ir apoptozę.

Nustatytos asociacijos rodo, kad keli genų variantai šiame signaliniame kelyje veikia kaip modifikatoriai L/GN patogenezėje (Lietuvos pacientų grupėje).

4.5 BMP (angl. bone morphogenetic proteins) – kaulų morfogenetinių baltymų genai

Kaulų morfogenetiniai baltymai yra grupė sekretuojamų signalinių molekulių, priklausančių transformuojančių augimo veiksmų β superšeimai. Šių ligandų šeima inicijuoja signal perdavimą sujungdama dvi receptrių serino/treonino kinazes ant ląstelės paviršiaus. BMP signalinis kelias reguliuoja įvairius vystymosi procesus – ląstelių proliferaciją, diferenciaciją, apoptozę, audinių morfogenezę (Wan, Cao, 2005).

BMP2 (angl. *bone morphogenetic protein 2 precursor*) – kaulų morfogenetinio baltymo 2 prekursoriaus genas yra 20p12 chromosomos genetinėje srityje. BMP2 (BMP baltymų šeimos) baltymo funkciniai partneriai, nustatyti *STRING* 8.3 programiniu paketu pateikti 5.5 paveiksle. *BMP2* geno koduojamas baltymas yra disulfidais sujungtas homodimeras ir skatina kaulų ir kremzlių formavimąsi.



5.5 pav. *STRING* 8.3 (Szklarczyk et al, 2011) programiniu paketu nustatyti BMP šeimos baltymų funkciniai partneriai.

BMP signalinis kelias yra glaudžiai susijęs kitais TGF β šeimos baltymais, taip pat ir su NOG baltymu, kurio geno asociacija su L/GN buvo patvirtinta plataus masto viso genomo tyrimais (Birnbaum et al, 2009), ir MSX šeimos baltymais. Manoma, kad *Msx1* ir *Msx2* yra BMP signalinio kelio transkripcijos veiksniai (Jiang et al, 2006).

Atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu pagal genotipavimo pagal VNP *BMP2* gene buvo nustatyta statistiškai reikšminga rs235756 (p=0,0016), rs2206916 (p=0,008), rs6085682 (p=0,0086), rs235757 (p=0,0177), rs173107 (p=0,02), rs1005464 (p=0,051) žymenų asociacija su L/GN Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimu. Atliekant atvejo – kontrolės asociacijos tyrimus, tiriant tą pačią Lietuvos pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimu grupę, buvo nustatyta statistiškai reikšminga šių genotipų asociacija su L/GN: rs6085682 (p=0,04), rs235757 (p=0,042), rs1005464 (p=0,037), rs173107 (p=0,051).

MSX1 (angl. *msh homeobox 1*) genas yra 4p16 chromosomoje. Genas yra 18 kb ilgio, jame yra 2 egzonai. *MSX1* genas įtakoja augimą ir inhibuoja

diferenciaciją. *MSX1* geno mutacijos yra randamos 2% nesuaugimų atvejų (Jezewski et al, 2003). Taip pat yra nustatytos *MSX1* mutacijos pacientuose su veido srities nesuaugimais ir dantų nesusifformavimu (Boogard et al, 2000, Vastardis et al, 1996). Pacientams su lūpos ir/ar gomurio nesuaugimais Lietuvos populiacijoje koduojančiose ir nekoduojančiose *MSX1* geno srityse buvo nustatyti 8 sekos pokyčiai, jau aprašyti kitose populiacijose kaip neutralūs polimorfizmai; taip pat mutacija galimai pasireiškianti aminorūgščių pakaita, t.y. c.101C>G (alaninas keičiasi į gliciną p.A34G). Lietuvos pacientų su LN+/-GN grupėje nebuvo nustatytos kitose populiacijose rastos mutacijos susijusios su lūpos ir/arba gomurio nesuaugimo. Tokie rezultatai galimi dėl skirtingo Lietuvos pacientų grupės genetinio pagrindo, kuri sudaro kiti lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimus lemiantys aleliai kituose genuose (Morkūnienė et al, 2006). Tiriant 53 pacientus su LN+/-GN Latvijos populiacijoje *MSX1* gene buvo nustatyta 16 sekos pokyčių, iš kurių 6 nebuvo anksčiau aprašyti. Tačiau nustatyti pokyčiai koduojančiose geno srityse nelemia aminorūgščių pakaitų, todėl, manoma, neturi įtakos lūpos ir gomurio vystymuisi. Nustatytų *MSX1* geno sekos variantų etiologinis vaidmuo nėra visiškai aiškus galbūt dėl tiriamųjų grupės dydžio ir pobūdžio (Lace et al, 2006).

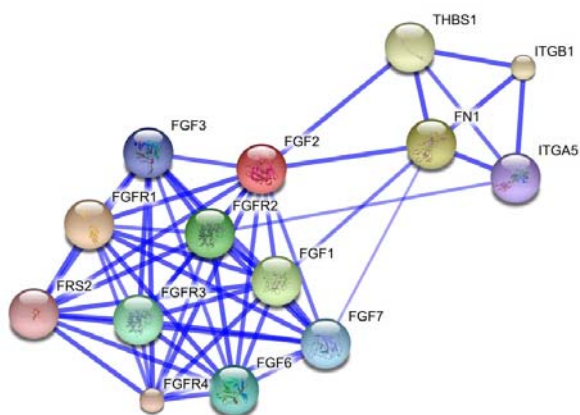
Atlikus Lietuvos pacientų su L/GN triadų asociacijos tyrimus, buvo nustatyta statistiškai reikšminga rs10002530 ($p=0,037$) žymens asociacija su LN+/-GN ir rs4689953 ($p=0,03$), rs2087868 ($p=0,045$) žymenų asociacija su GN.

BMP signalinis kelias yra labai svarbus L/GN morfogenezeje. Skirtingi šio signalinio kelio genų variantai įtakoja L/GN patogenezę skirtingose populiacijose. Kelių genetinių žymenų *BMP2* ir *MSX1* genuose asociacija įrodo šių genetinių sričių lemiantį poveikį L/GN patogenezei Lietuvos populiacijoje.

4.6 FGF (angl. fibroblast growth factor) – fibroblastų augimo veiksmių genų šeima

Fibroblastų augimo veiksniai ir jų ląstelės paviršiaus receptoriai sudaro didelę ir sudėtingą signalinių molekulių šeimą, kurios yra svarbios įvairiems embriogenezės ir audinių homeostazės procesams (Dailey et al, 2005, Chen, Deng, 2005). FGF signalinis kelias yra svarbus veido morfogenezei ir gomurio vystymuisi (Nie et al, 2006). 11-os fibroblastų augimo veiksmių ir jų receptorių genų tiesioginės nukleotidų sekos tyrimai parodė, kad FGF šeimos molekulės lemia 3 – 5 % L/GN atvejų (Riley et al, 2007, Pauws, Stanier, 2007). *FGFR12* haplotipai asocijuoti su L/GN dideliame tyrime Skandinavijos populiacijose (Jugessur et al, 2009).

FGF šeimos baltymai ir jų funkciniai partneriai, nustatyti *STRING* 8.3 programiniu paketu pateikti 5.6 paveiksle.



5.6 pav. *STRING* 8.3 (Szklarczyk et al, 2011) programiniu paketu nustatyti FGF šeimos baltymų funkciniai partneriai.

Šio tyrimo metu atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu buvo nustatyta statistiškai reikšminga rs33992 ($p=0,008$), rs1860230 ($p=0,028$), rs250092 ($p=0,03$) *FGF1* gene, rs308439 ($p=0,0016$), rs308442 ($p=0,018$), rs308438 ($p=0,048$) *FGF2* gene asociacija su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo, taip pat rs34013 ($p=0,0196$), rs33995 ($p=0,025$), rs10070885 ($p=0,05$) *FGF1* gene, rs2956742 ($p=0,014$), rs2411256 ($p=0,021$) *FGFR1* gene asociacija su gomurio nesuaugimu Lietuvos pacientų grupėje. Tiriant trijų panašių populiacijų (Lietuvos, Latvijos ir Estijos) pacientus su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimu ir kontrolinę grupę buvo nustatyta stipri rs34010 *FGF1* gene asociacija su LN+/-GN. Išplečiant tiriamųjų grupę siekiama padidinti statistiškai reikšmingai asocijuotų alelių reikšmingumo įverčius.

Skirtingi fibroblastų augimo veiksnių ir jų receptorių genų variantai lemia polinkį lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimui. Baltijos regiono ir Lietuvos populiacijoje stipriausias genas kandidatas yra *FGF1* (angl. *fibroblast growth factor 1*) – fibroblastų augimo veiksnio 1 genas, esantis 5q31 chromosomoje. FGF1 baltymas veikia kaip endotelinių ląstelių migracijos ir proliferacijos modifikatorius, tai patvirtina jo galimą įtaką L/GN patogenezei.

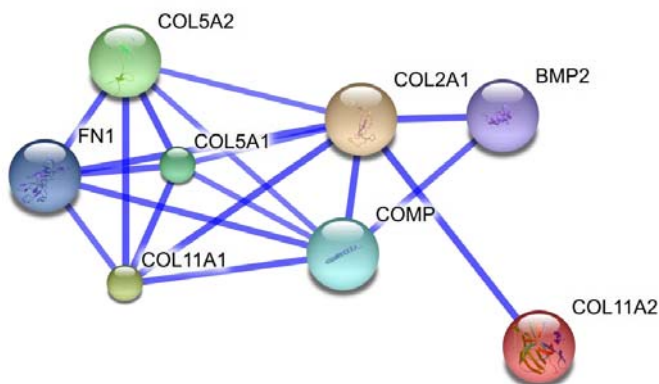
4.7 FN1 (angl. fibronectin 1) – fibronektino 1 genas

FN1 genas yra 2q34 chromosomoje. Šis genas koduoja fibronektiną – glikoproteiną, esantį plazmoje tirpia dimerine forma ir ląstelės paviršiuje ir ekstraląsteliniam matrikse dimerine ar multimerine forma. Fibronektinas dalyvauja ląstelių adhezijos ir migracijos procesuose, taip pat embriogenezėje. Svarbiausi FN1 funkciniai partneriai pavaizduoti 5.6 ir 5.7 paveiksluose.

Šio tyrimo metu atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu buvo nustatyta statistiškai reikšminga rs2289200 ($p=0,0364$), rs17518731 ($p=0,055$) žymenų *FNI* gene asociacija su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo. Taip pat stipri rs4968282 ($p=0,00064$) *FNI* gene asociacija su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo, analizuojant Lietuvos ir Estijos pacientus su LN+/-GN (Nikopensius et al, 2011). Išplėtus tiriamųjų grupę gauta kito VNP statistiškai reikšminga asociacija su L/GN – *FNI* geno variantai gali turėti nežymios įtakos L/GN Lietuvos pacientų grupėje.

4.8 COL11A1 (angl. collagen, type XI, $\alpha 1$), COL11A2 (angl. collagen, type XI, $\alpha 1$), COL2A1 (angl. collagen, type II, $\alpha 1$) – kremzlių kolageno genai

COL11A1 (angl. collagen, type XI, $\alpha 1$) – XI tipo kolageno $\alpha 1$ genas yra 1p21 chromosomoje, koduoja vieną iš dviejų XI tipo kolageno α grandinių – mažąjį fibrilinį kolageną. XI tipo kolagenas yra heterotrimeras, bet trečioji α grandinė yra modifikuojama po transliacijos. Mutacijos šiame gene lemia ir *Stickler* sindromą. *COL11A2* (angl. collagen, type XI, $\alpha 2$) – XI tipo kolageno $\alpha 2$ genas yra 6p21.3 chromosomoje, koduoja vieną iš dviejų XI tipo kolageno α grandinių – mažąjį fibrilinį kolageną. *COL2A1* (angl. collagen, type II, $\alpha 1$) – II tipo kolageno $\alpha 1$ genas yra 12q13 chromosomoje, koduoja II tipo kolageno α -1 grandinę – fibrilinį kolageną, randamą kremzlėse ir akies stiklakūnyje. Kolageno genų šeimos koduojami baltymai ir jų funkciniai partneriai, nustatyti *STRING* 8.3 programiniu paketu pateikti 5.7 paveiksle.



5.7 pav. *STRING* 8.3 (Szklarczyk et al, 2011) programiniu paketu nustatyti kolageno genų šeimos koduojami baltymai ir jų funkciniai partneriai.

Atliekant Lietuvos pacientų triadų tyrimus, nustatyta statistiškai reikšminga asociacija kelių VNP (4.6, 4.8 lentelės) *COL11A1*, *COL11A2* ir *COL2A1* genuose, ir rs6580647 žymens *COL2A1* gene asociacija su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo, atlikus Lietuvos pacientų atvejo – kontrolės tyrimus. Įvertinus trijų populiacijų (Lietuvos, Latvijos, Estijos) atvejo – kontrolės tyrimų rezultatus nustatytas dviejų VNP (rs12822608 ir rs6823) haplotipas ir introne esantis rs1793949 *COL2A1* gene, kurių statistinio reikšmingumo įverčiai buvo stipriausi. Mutacijos kolageno genuose *COL11A1*, *COL11A2* ir *COL2A1* lemia sindromus, kurių vienas iš požymių gali būti gomurio nesuaugimas (*Pierre-Robin* sekvencija, mikrognatija). Todėl manoma, kad ir nesindrominių L/GN atveju šių genų variantai lems didesnę riziką gomurio nesuaugimui, nors asociacijos analizės rezultatai rodo galimą šių genų alelių įtaką ir lūpos nesuaugimui su arba be gomurio nesuaugimo.

4.9 WNT (angl. wingless-type MMTV integration site family) molekulių genai

WNT šeimos glikoproteinai per tarpinius viduląstelinius signalinius kelius reguliuoja įvairius vystymosi procesus – ląstelių proliferaciją, apoptozę, diferenciaciją ir ląstelių išgyvenamumą. WNT genų šeima sudaryta iš struktūriškai susijusių genų, koduojančių sekretuojamus signalinius baltymus, kurie susiję su vystymosi procesais (ir embriogenezėje). WNT3 ir WNT3A veikia skirtingai nervinio vamzdelio morfogenezėje, WNT3 ir WNT3A koduojami baltymai turi 84% tapačios sekos. WNT9B dalyvauja ankstyvame neuronų diferenciacijos procese. Šis genas yra susietas su WNT3 (5.8 pav.). WNT9B yra signalinė molekulė veikianti atskirų audinių regionų vystymąsi. *WNT3* genas yra 17q21.31, *WNT9B* genas – 17q21.32 chromosomos genetinėje srityje; *WNT3A* genas yra 1q42 chromosomoje.



5.8 pav. *STRING* 8.3 (Szklarczyk et al, 2011) programiniu paketu nustatyta WNT3 ir WNT9B tiesioginė sąveika.

Europiečių kilmės populiacijose yra patvirtinta *WNT9B*, *WNT3A*, *WNT5A*, *WNT11*, *WNT3* genų variantų asociacija su L/GN (Juriloff et al, 2006, Chiquet et al, 2008).

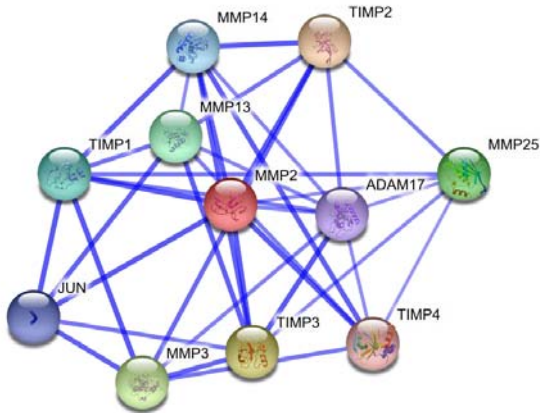
Lietuvos pacientų grupėje atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu buvo nustatyta statistiškai reikšminga rs199497 ($p=0,0394$), rs11653738 ($p=0,047$) žymenų *WNT3* gene asociacija su lūpos nesuaugimu

su arba be gomurio nesuaugimo ir rs12452064 ($p=0,02$) žymens *WNT3* gene, rs11079740 ($p=0,045$) žymens *WNT9B* gene asociacija su gomurio nesuaugimu. Tiriant trijų populiacijų (Lietuvos, Latvijos ir Estijos) pacientus su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimu ir kontrolinę grupę buvo nustatyta rs4968282 žymens *WNT9B* gene asociacija su LN+/-GN.

Gautos mažai statistiškai reikšmingos asociacijos su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimu ir skirtingų VNP asociacija abejose tirtose grupėse (LN+/-GN ir GN) rodo, kad šios genetinės sritys veikia kaip modifikatoriai L/GN patogenezėje ir nėra pagrindiniai polinkį lemiantys veiksniai.

4.10 MMP (angl. matrix metalloproteinases) – metalo matrikso proteinazių šeimos genai

Metalo matrikso proteinazių raiška vyksta vystantis gomuriui, molekulės susijusios su ekstraląstelinio matrikso, reikalingo plokštelių susiliejimui, išsiskirstymui (Brown et al, 2002). Metalo matrikso proteinazių inhibitoriai yra TIMP (angl. *TIMP metalloproteinase inhibitor*) – grupė peptidazių susijusi su ekstraląstelinio matrikso degradavimu. MMP šeimos baltymų tarpusavio sąveika ir sąveika su TIMP2 pavaizduota 5.9 paveiksle. *TIMP2* (angl. *TIMP metalloproteinase inhibitor2*) – TIMP metalo peptidazės inhibitoriaus 2 genas yra unikalus TIMP šeimos narys dėl tiesioginio endotelinių ląstelių proliferacijos slopinimo.



5.9 pav. *STRING* 8.3 (Szklarczyk et al, 2011) programiniu paketu nustatyta MMP ir TIMP baltymų sąveika ir funkciniai partneriai.

Šio tyrimo metu atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu buvo nustatyta statistiškai reikšminga rs723556 ($p=0,0038$) *TIMP1* gene, esančiame X chromosomoje, rs4789936 ($p=0,0018$), rs6501266 ($p=0,0051$), rs7211674 ($p=0,053$) *TIMP2* gene, esančiame 17q25 chromosomoje, rs242082 ($p=0,014$), rs4449 ($p=0,014$), rs11287 ($p=0,035$) *TIMP3* gene, esančiame 22q12.3 chromosomoje, asociacija su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo ir rs7213204 ($p=0,0196$), rs7218237 ($p=0,034$), rs4789921 ($p=0,035$) *TIMP2* gene, rs130554 ($p=0,045$), rs4447 ($p=0,045$), rs137487 ($p=0,05$) *TIMP3* gene asociacija su gomurio nesuaugimu. Tiriant trijų populiacijų (Lietuvos, Latvijos ir Estijos) pacientus su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimu ir kontrolinę grupę buvo nustatyta penkių VNP *TIMP2* gene asociacija su LN+/-GN (Nikopensius et al, 2011). Tai papildo Skandinavijos populiacijose gautus duomenis (Jugessur et al, 2009). Tai pat patvirtina, kad *TIMP2* genas lemia polinkį lūpos nesuaugimams su arba be gomurio nesuaugimo Rytų Europos populiacijose.

Veido ir galvos embriogenezės metu MMP ir TIMP molekulių veikla yra griežtai suderinta, jai sutrikus, vystosi patologiniai fenotipai – L/GN. Metalo matrikso proteinazių inaktyvacija (kurią vykdo TIMP molekulės) ir lemia sutrikusį plokštelių susiliejamą. Pokyčiai *MMP* ir *TIMP* genuose gali lemti didesnę riziką L/GN.

Atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu buvo nustatyta statistiškai reikšminga VNP *MMP2*, *MMP3*, *MMP13* genuose asociacija su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo ir VNP *MMP2*, *MMP13*, *MMP25* genuose asociacija su gomurio nesuaugimu. Yra patvirtinta *MMP3* (Letra et al, 2007a) ir *MMP9* (Letra et al, 2007b) genų variantų asociacija su L/GN. MMP ir TIMP genų variantų įtaka L/GN taip pat priklauso ir nuo ekstraląstelinio matrikso homeostazės ir funkcijos. MMP genų variantai gali turėti tik labai nedidelį poveikį L/GN.

4.11 Stipriausi L/GN genai kandidatai Lietuvos pacientų grupėje

Šiame darbe buvo atlikti Lietuvos pacientų su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimu triadų ir atvejo – kontrolės tyrimai, o tai leido padidinti statistinį kelių genų variantų reikšmingumą. Asociacijos analizė buvo atlikta atskiriant dvi skirtingas L/GN etiologijas: lūpos nesuaugimą su arba be gomurio nesuaugimo ir gomurio nesuaugimą, nes manoma, kad jų susiformavimą lemia skirtingi genominiai veiksniai. Ištyrus 579 VNP 42-uoje L/GN genuose kandidatuose buvo nustatyti stipriausi genai kandidatai, lemiantys polinkį LN+/-GN (*TIMP2*, *BMP2*, *FN1*) ir GN (*COL11A1*, *COL11A2*, *COL2A1*) Lietuvos populiacijoje.

Taip pat buvo atlikta trijų genetiškai artimų populiacijų (Lietuvos, Latvijos, Estijos) pacientų su LN+/-GN ir GN bendra analizė, kai dėl didesnės tiriamųjų ir kontrolinės grupės buvo laukiama stiprios tirtų genetinių žymenų asociacijos su L/GN. Šiose populiacijose buvo nustatyti stipriausi genai

kandidatai, lemiantys polinkį LN+/-GN (*FGF1*, *TIMP2*) ir GN (*COL2A1*, *COL11A2*).

Tik kelių L/GN genų kandidatų variantai statistiškai reikšmingai lemia polinkį L/GN. Vis naujos genetinės sritys bus nustatomos ir patvirtinamos kaip lemiančios polinkį L/GN. Tolesni tyrimai yra reikalingi, panaudojant didesnes tiriamųjų grupes, bendradarbiaujant su kitais L/GN tyrėjais, siekiant išaiškinti dar nenustatytus genominius ir taip pat aplinkos veiksnius.

V. IŠVADOS

1. Buvo parinkti genetiniai žymenys ir genotipuoti Lietuvos pacientų su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimu triadų ir kontrolinės grupės iš bendros populiacijos asmenys pagal pasirinktus žymenis lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimus lemiančiuose 42-juose genuose kandidatuose.
2. Atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu ir atvejo – kontrolės tyrimus pacientų su lūpos nesuaugimu su arba be gomurio nesuaugimo, patvirtinti *TIMP2*, *BMP2*, *FNI* genų kandidatų variantai lemiantys lūpos nesuaugimus su arba be gomurio nesuaugimo ir gomurio nesuaugimus Lietuvos populiacijoje.
3. Atlikus asociacijos analizę nepusiausviro perdavimo testu ir atvejo – kontrolės tyrimus pacientų su gomurio nesuaugimu, patvirtinti *COL11A1*, *COL11A2*, *COL2A1* genų kandidatų variantai lemiantys gomurio nesuaugimus Lietuvos populiacijoje.
4. Įvertinus Lietuvos, Latvijos, Estijos pacientų su lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimu asociacijos analizės rezultatus, Šiaurės Rytų Europos populiacijose polinkį lūpos nesuaugimui su arba be gomurio nesuaugimo lemia *FGF1*, *TIMP2* genų variantai ir polinkį gomurio nesuaugimui *COL2A1*, *COL11A2* genų variantai.
5. Lūpos nesuaugimus su arba be gomurio nesuaugimo lemia skirtingi genetiniai veiksniai nei gomurio nesuaugimą Lietuvos pacientų grupėje.
6. L/GN genai kandidatai, patvirtinti kaip lemiantys polinkį L/GN Lietuvos populiacijoje, koduoja signalines molekules, kurios dalyvauja labai ankstyvose lūpos ir (arba) gomurio nesuaugimo vystymosi stadijose.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Alkuraya, F. S. et al. SUMO1 haploinsufficiency leads to cleft lip and palate. *Science* 313, 1751 (2006).
2. Amos C., Stein J., Mulliken J.B., et al. Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: erratum. *American Journal of Human Genetics*, 1996, No 59:744
3. Ardinger H.H., Buetow K.H., Bell G.I., et al. Association of genetic variation of the transforming growth factor – alpha gene with cleft lip and palate. *American Journal of Human Genetics*, 1989, No 45, pages 348-353
4. Avila, J. R. et al. PVRL1 variants contribute to nonsyndromic cleft lip and palate in multiple populations. *Am. J. Med. Genet. A* 140, 2562–2570 (2006).
5. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*. 2005 Jan 15 [PubMed ID: 15297300]
6. Beaty T.H., Hetmanski J.B., Zeiger J.S., Fan Y.T., Liang K.Y., VanderKolk C.A., McIntosh I. Testing Candidate Genes for Non-syndromic Oral Clefts Using a Case-Parent Trio Design. *Genetic Epidemiology*, 2002, No 22, pages 1-11
7. Beaty, T. H. et al. A genome-wide association study of cleft lip with and without cleft palate identifies risk variants near MAFB and ABCA4. *Nature Genet.* 42, 525–529 (2010).
8. Beaty, T. H. et al. Testing candidate genes for non-syndromic oral clefts using a case-parent trio design. *Genet. Epidemiol.* 22, 1–11 (2002).
9. Benko, S. et al. Highly conserved non-coding elements on either side of SOX9 associated with Pierre Robin sequence. *Nature Genet.* 41, 359-364 (2009).
10. Birnbaum, S. et al. Key susceptibility locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on chromosome 8q24. *Nature Genet.* 41, 473–477 (2009).

11. Blanton S.H., Cortez A., Stal S., Mulliken J.B., Finnell R.H. Variation in IRF6 Contributes to Nonsyndromic Cleft Lip and Palate. *American Journal of Medical Genetics* 137A:259-262, 2005
12. Blanton SH, Hnery RR, Yuan Q, Mulliken JB, Stal S, Finnell RH, Hecht JT. Folate Pathway and Nonsyndromic Cleft Lip and Palate. *Birth Defects Research (Part A): Clinical and Molecular Teratology* 91:50-60 (2011)
13. Boogaard M.J., Dorland M., Beemer F.A., et al. MSX1 mutation is associated with orofacial clefting and tooth agenesis in humans. *Nat Genet* 2000, No 24, pages 342-343
14. Braybrook, C. et al. The T-box transcription factor gene TBX22 is mutated in X-linked cleft palate and ankyloglossia. *Nature Genet.* 29, 179-183 (2001).
15. Brown NL, Yarram SJ, Mansell JP, et al. 2002. Matrix metalloproteinases have a role in palatogenesis. *J Dent Res* 81:826-830
16. Cantor RM, Lange K, Sinsheimer JS. Prioritizing GWAS Results: A Review of Statistical Methods and Recommendations for Their Application. *The American Journal of Human Genetics* 86, 6-22, 2010.
17. Carinci F, Scapoli L, Palmieri A, Zollino I, Pezzetti F. Human genetic factors in nonsyndromic cleft lip and palate: an update. *Inter J Ped Otorhino*, 2007; 71(10): 1509 – 19
18. Carinci F., Pezzetti F., Scapoli L., Martinelli M. et al. Orofacial cleft genetics. *The Journal of Cranofacial Surgery*, Vol 14, No 1, January 2003
19. Carter, T. C. et al. Testing reported associations of genetic risk factors for oral clefts in a large Irish study population. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 88, 84–93 (2010).
20. Celli, J. et al. Heterozygous germline mutations in the p53 homolog p63 are the cause of EEC syndrome. *Cell* 99, 143-153 (1999).
21. Chakravarti A. Finding Needles in Haystacks – IRF6 Gene Variants in Isolated Cleft Lip or Cleft Palate. *N Engl J Med* 351;8, 2004

22. Chen L, Deng CX. Roles of FGF signaling in skeletal development and human diseases. *Front Biosci* 10: 1961-1976, 2005
23. Chiquet BT, Blanton SH, Burt A et al. Variation in WNT genes is associated with non-syndromic cleft lip with or without cleft palate. *Hum Mol Genet* 17:2212-2218, 2008
24. Chiquet, B. T. et al. CRISPLD2: a novel NSCLP candidate gene. *Hum. Mol. Genet.* 16, 2241–2248 (2007).
25. Chiquet, B. T. et al. Genomic screening identifies novel linkages and provides further evidence for a role of MYH9 in nonsyndromic cleft lip and palate. *Eur. J. Hum. Genet.* 17, 195–204 (2009).
26. Christensen K, Juel K, Herskind AM, Murray JC. Long term follow up of survival associated with cleft lip and palate birth. *BMJ*, 2004; 328: 1405 – 6
27. Christensen K, Mortensen PB. Facial clefting and psychiatric diseases: a follow-up of the Danish 1936-1987 Facial Cleft cohort. *Cleft Palate Craniofac J*, 2002; 39: 392 – 6
28. Cobourne MT. The complex genetics of cleft lip and palate. *Eu J of Orthod*, 2004; 26 (1): 7 – 16
29. Cohen P. Key gene in cleft lip traced. *New Scientist* 2002, Vol 175 (2359), pg16
30. Dailey L, Ambrosetti D, Mansukhani A, Basilico C. Mechanisms underlying differential responses to FGF signaling. *Cytokine Growth Factor Rev* 16:233-247, 2005.
31. Damm K., Heyman R.A., Umesono K., et al. Functional inhibition of retinoic acid response by dominant negative retinoic acid receptor mutants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 2989-2993
32. Dodé, C. et al. Loss-of-function mutations in FGFR1 cause autosomal dominant Kallmann syndrome. *Nature Genet.* 33, 463-465 (2003).
33. Ferrante, M.I. et al. Identification of the gene for oral-facial-digital type I syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 68, 569-576 (2001).

34. Ferreira de Lima RLL, Hoper SA, Ghassibe M, Cooper ME, Rorick NK, Kondo S, Katz L, Marazita ML, Compton J, Bale S et al Prevalence and nonrandom distribution of exonic mutations in interferon regulatory factor 6 in 307 families with Van der Woude syndrome and 37 families with popliteal pterygium syndrome. *Genetics in Medicine: 2009 - Volume 11 - Issue 4 - pp 241-247*
35. FitzPatrick, D.R. et al. Identification of SATB2 as the cleft palate gene on 2q32-q33. *Hum. Mol. Genet.* 12, 2491-2501 (2003).
36. Fogh-Andersen, P. Inheritance of Harelip and Cleft Palate (Munksgaard, Copenhagen,1942).
37. Fraser, F. C. Thoughts on the etiology of clefts of the palate and lip. *Acta Genet. Stat. Med.* 5, 358–369 (1955).
38. Ghassibe M., Bayet B., Revencu N., Verellen-Dumoulin C., Gillerot Y., Vanwijck R., Vikkula M. Interferon regulatory factor-6: a gene predisposing to isolated cleft lip with or without cleft palate in the Belgian population. *European Journal of Human Genetics* (2005) 13, 1239–1242
39. Grant, S. F. et al. A genome-wide association study identifies a locus for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate on 8q24. *J. Pediatr.* 155, 909–913 (2009).
40. Gripp, K.W. et al. Mutations in TGIF cause holoprosencephaly and link
41. Hahn, H. et al. Mutations of the human homolog of *Drosophila* patched in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Cell* 85, 841-851 (1996).
42. Jagomägi, T. et al. MTHFR and MSX1 contribute to the risk of nonsyndromic cleft lip/palate. *Eur. J. Oral Sci.* 118, 213–220 (2010).
43. Janssens ACJW, Gwinn M, Subramonia-Iyer S, Khoury MJ. Does genetic testing really improve the prediction of future type 2 diabetes? *PLOS Med* 3.e114 (2006).

44. Jezewski,P.A., Vieira,A.R.et al. Complete sequencing shows a role for MSX1 in non-syndromic cleft lip and palate. *Journal of Medical Genetics*, 40(6):399-407 (2003).
45. Jia, Z. L. et al. Association among polymorphisms at MYH9, environmental factors, and nonsyndromic orofacial clefts in western China. *DNA Cell Biol.* 29, 25–32 (2010).
46. Jiang R, Bush JO, Lidral AC. Development of the Upper Lip: Morphogenetic and Molecular Mechanisms. *Developmental Dynamics* 235:1152-1166,2006.
47. Jianyan, L. et al. Analysis of interactions between genetic variants of BMP4 and environmental factors with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate susceptibility. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 39, 50–56 (2010).
48. Johnson, R.L. et al. Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. *Science* 272, 1668-1671 (1996).
49. Jugessur A, Farlie PG, Kilpatrick N. The genetics of isolated orofacial clefts: from genotypes to subphenotypes. *Oral Dis.* 15, 437-453 (2009)
50. Jugessur A, Murray JC. Orofacial clefting: recent insights into complex trait. *Curr opin genet dev*, 2005; 15(3): 270 – 8
51. Jugessur A, Shi M, Gjessing HK et al. Genetic determinants of facial clefting: analysis of 357 candidate genes using two national clefts from Scandinavia. *PLoS One* 4:e5385, 2009
52. Jugessur A., Lie R.T., Wilcox A.J. et al. Variants of developmental genes (TGFA, TGFB3, MSX1) and their associations with orofacial clefts: a case-parent triad analysis. *Genet Epidemiol* 2003, Vol 24, Issue 3, pages 230-9
53. Juriloff DM, Harris MJ, McMahon AP et al. Wnt9bis the mutated gene involved in multifactorial nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in A/WySn mice, as confirmed by a genetic complementation test. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 76:574-579, 2006

54. Juriloff DM, Harris MJ. Mouse genetics models of cleft lip with or without cleft palate. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2008; 82(2): 63 – 77
55. Kanno, K.; Suzuki, Y.; Yang, X.; Yamada, A.; Aoki, Y.; Kure, S.; Matsubara, Y. Lack of evidence for a significant association between nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate and the retinoic acid receptor alpha gene in the Japanese population. *J. Hum. Genet.*, 2002, 47: 269-274
56. Kerrigan JJ, Mansell JP, Sengupta A, Brown N, Sandy JR. Palatogenesis and potential mechanisms for clefting. *J.R.Coll.Surg.Edinb.*, 45, December 2000, 351-358
57. Klotz, C. M. et al. Revisiting the recurrence risk of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Am. J. Med. Genet. A* 152A, 2697–2702 (2010).
58. Kondo S et al. Mutations in IRF6 cause Van der Woude and popliteal pterygium syndromes. *Nature Genet.* 32, 285 – 289 (2002).
59. Krjutškov K., Andreson R. et al. Development of a single tube 640-plex genotyping method for detection of nucleic acid variations on microarrays. *Nucleic Acids Research*, 2008, Vol. 36, No. 12
60. Kučinskis V. Įvadas į žmogaus populiacinę genetiką. Vilnius, 1994
61. Lace B., Vasiljeva I., Dundure I., Barkane B., Akota I., Krumina A. Mutation analysis of the MSX1 gene exons and intron in patients with nonsyndromic cleft lip and palate. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*, 8:21-4, 2006
62. Lan Y, Ryan RC, Zhang Z, Bullard SA, Bush JO, Maltby KM, Lidral AC, Jiang R. Expression of Wnt9b and Activation of Canonical Wnt Signaling During Midfacial Morphogenesis in Mice. *Developmental Dynamics* 235:1448-1454, 2006
63. Letra A, da Silva RA, Menezes R, de Souza AP, de Almeida ALPF, Sogayar MC, Granjeiro JM. 2007. Studies with MMP9 gene promoter

- polymorphism and nonsyndromic cleft lip and palate. *Am J Med Genet Part A* 143A:89–91
64. Letra A, Silva RA, Menezes R, Astolfi CM, Shinohara A, De Souza AP, Granjeiro JM. MMP genes as contributors for cleft lip and palate: association with MMP3 but not MMP1. *Arch Oral Biol* 2007; 52: 954-60.
 65. Letra, A. et al. CRISPLD2 variants including a C471T silent mutation may contribute to nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Cleft Palate Craniofac. J.* 1 Jul 2010 (doi:10.1597/09-227).
 66. Lidral A.C., Romitti P.A., Basart A.M. et al. Association of MSX1 and TGF β 3 with Nonsyndromic Clefing in Humans. *American Journal of Human Genetics*, 1998, No 63, pages 557-568
 67. Maestri N.E., Beaty T.H., Hetmanski J. et al. Application of transmission disequilibrium tests to nonsyndromic oral clefts: including candidate genes and environmental exposures in the models. *Am J Med Genet*, 1997, 73: 337-344
 68. Mangold, E. et al. Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Nature Genet.* 42, 24–26 (2010).
 69. Marazita M.L., Field L.L., Cooper M.E. et al. Non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in China: assessment of candidate regions. *Cleft Palate Cranofac J*, 2001
 70. Marazita ML, Lidral AC, Murray JC, Field LL, Maher BS, McHenry TG, Cooper ME, Govil M, Daack – Hirsch S, Riley B, Jugessur A, Felix T, Moreno L, Mansilla MA, Vieira AR, Doheny K, Pugh E, Valencia-Ramirez C, Arcos-Burgos M. Genome scan, fine – mapping, and candidate gene analysis of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate reveals phenotype specific differences in linkage and association results. *Hum Hered*, 2009; 68(3): 151 – 70
 71. Marazita ML, Neiswanger K. Association studies. Wyszynski DF, editor. Oxford University Press, New York, 2002; 240 – 54

72. Marazita, M. L. et al. Genome scan, fine-mapping, and candidate gene analysis of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate reveals phenotype specific differences in linkage and association results. *Hum. Hered.* 68, 151–170 (2009).
73. Marazita, M. Subclinical features in non-syndromic cleft lip with or without cleft palate (CL/P): review of the evidence that subepithelial orbicularis oris muscle defects are part of an expanded phenotype for CL/P. *Orthod. Craniofac. Res.* 10, 82–87 (2007).
74. Marcucio RS, Cordero DR, Hu D, Helms JA. Molecular interactions coordinating the development of the forebrain and face. *Dev Biol*, 2005; 284(1): 48 – 61
75. Martinelli, M. et al. Cleft lip with or without cleft palate: implication of the heavy chain of non-muscle myosin IIA. *J. Med. Genet.* 44, 387–389 (2007).
76. McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR, Goldstein DB, Little J, Ioannidis JPA, Hirschhorn JN. Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nature Reviews Genetics*, Volume 9, 356-369, May 2008.
77. Menezes R, Marazita ML, McHenry TG, Cooper ME, Bardi K, Brandon C, Letra A, Martin RA, Vieira AR. AXIN2, Orofacial Clefts and Positive Family History for Cancer. *J Am Dent Assoc.* 2009 January; 140(1): 80–84.
78. Mills, J. L. et al. Folate-related gene polymorphisms as risk factors for cleft lip and cleft palate. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 82, 636–643 (2008).
79. Mitchell L.E. Transforming growth factor alpha locus and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: a reappraisal. *Genet Epidemiol*, 1997, No 14: 231-240.
80. Moreno, L. et al. FOXE1 association with both isolated cleft lip with or without cleft palate; and isolated cleft palate. *Hum. Mol. Gen.* 18, 4879–4896 (2009).

81. Morkūnienė A, Steponavičiūtė D., Kasnauskienė J., Kučinskas V. Nucleotide sequence changes in the MSX1 and IRF6 genes in Lithuanian patients with nonsyndromic orofacial clefting. *ACTA MEDICA LITUANICA*. 2006. VOLUME 13 No. 4. P. 219–225
82. Morkūnienė A, Steponavičiūtė D., Utkus A., Kučinskas V. Few associations of candidate genes with nonsyndromic orofacial clefts in the population of Lithuania. *J Appl Genet* 48(1), 2007, pp. 89–91
83. Morkūnienė M., Kučinskas V. Validation and selection of an informative set of single-nucleotide-polymorphisms in the TGFB3 gene. *ACTA MEDICA LITUANICA*. 2005. VOLUME 12. No. 2. P. 1–7
84. Mossey P & Little, J. Addressing the challenges of cleft lip and palate research in India. *Indian J. Plast. Surg.* 42, 9–18 (2009).
85. Mossey PA, Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC. Cleft lip and palate. *Lancet* 2009; 374:1773-85
86. Mossey, P., Little, J., Munger, R. G., Dixon, M. J. & Shaw, W. C. Cleft lip and palate. *Lancet*. 374, 1773–1785 (2009).
87. Mostowska, A. et al. Association between genetic variants of reported candidate genes or regions and risk of cleft lip with or without cleft palate in the Polish population. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 88, 538–545 (2010).
88. Muenke, M. The pit, the cleft and the web. *NatureGenet.* 32, 219–220 (2002).
89. Murray J.C. Gene/environment causes of cleft lip and/or palate. *Clinical Genetics*, 2002, No 61, pages 248-256
90. Neiswanger, K. et al. Orbicularis oris muscle defects as an expanded phenotypic feature in nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Am. J. Med.Genet. A* 143A, 1143–1149 (2007).
91. Nelis Mari et al. Genetic Structure of Europeans: A View from the North-East // *PLoS ONE*. 2009, vol. 4, iss. 5, p. e5472[1-10].
92. Ng, D. et al. Exome sequencing identifies MLL2 mutations as a cause of Kabuki syndrome. *Nature Genet.* 42, 790-793 (2010).

93. Nie X, Luukko K, Kettunen P. FGF signalling in craniofacial development and developmental disorders. *Oral diseases* (2006) 12, 102-111.
94. Nikopensius T, Ambrozaitytė L, Jagomägi T, Saag M, Matulevičienė A, Kučinskas V, Metspalu A. FN1 and TIMP2 polymorphisms are associated with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. (Control No. 2011-A-169-ESHG) Europos žmogaus genetikos draugijos konferencija Amsterdame, Olandijoje, 2011. Priimta spaudai.
95. Nikopensius T, Ambrozaitytė L, Ludwig KU, Birnbaum S, Jagomagi T et al. 2009. Replication of Novel Susceptibility Locus for Nonsyndromic Cleft Lip With or Without Cleft Palate on Chromosome 8q24 in Estonian and Lithuanian Patients. *Am J Med Genet Part A* 9999:1-3.
96. NODAL signalling to human neural axis determination. *Nature Genet.* 25, 205-208 (2000).
97. Nopoulos P, Langbehn DR, Canady J, Magnotta V, Richman L. Abnormal brain structure in children with isolated clefts of the lip or palate. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2007; 161(8): 753 – 8
98. Osoegawa K, Vessere GM, Utami KH, Mansilla MA, Johnson MK, Riley BM, L'Heurex J, Pfundt R, Staaf J, van der Vliet WA, Lidral AC, Schoenmakers EFPM, Borg A, Schutte BC, Lammer EJ, Murray JC, de Jong PJ. Identification of novel candidate genes associated with cleft lip and palate using array comparative genomic hybridisation. *J Med Genet*, 2008; 45: 81 – 6
99. Packham, E.A. & Brook, J.D. T-box genes in human disorders. *Hum. Mol. Genet.* 12, R37-R44 (2003).
100. Park JW, McIntosh I, Hetmanski JB, Jabs EW, Vander Kolk CA, Wu-Chou YH, Chen PK, Chong SS, Yeow V, Jee SH, Park BY, Fallin MD, Ingersoll R, Scott AF, Beaty TH. Association between IRF6 and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in four populations. *Genet Med*, 2007; 9(4): 219 – 27

101. Pauws E, Stanier Ph. FGF signaling and SUMO modification: new players in the aetiology of cleft lip and/or palate. *Trends genet*, 2007; 23(12): 631 – 40
102. Peyrard-Janvid M., Pegelow M., Koillinen H., Larsson C., Fransson I., Rautio J., Hukki J., Larson O., L-A Karsten A., Kere J. Novel and de novo mutations of the IRF6 gene detected in patients with Van der Woude or popliteal pterygium syndrome. *European Journal of Human Genetics* (2005) 13, 1261–1267
103. Prescott N.J., Lees M.M., Winter R.M. and Malcolm S. Identification of susceptibility loci for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in a two stage genome scan of affected sib-pairs. *Human Genetics*, Vol 106, No 5, March 2000, pages 345-350
104. Prescott N.J., Winter R.M. and Malcolm S. Nonsyndromic cleft lip and palate: Complex genetics and environmental effects. *Ann.Hum.Genet.*, 2001, No 65, pages 505-515
105. Prescott NJ, Winter RM, Malcolm S. Nonsyndromic cleft lip and palate: Complex genetics and environmental effects. *Ann Hum Genet*, 2001; 65: 505 – 15
106. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., et al. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. 2007, *Am J Hum Genet* 81:559-575
107. Rahimov, F. et al. Disruption of an AP-2 α binding site in an IRF6 enhancer is associated with cleft lip. *NatureGenet.* 40, 1341–1347 (2008).
108. Raugalė A. *Vaikų ligos, II tomas*. Vilnius, 2003.
109. Riley BM, Mansilla MA, Ma J, Daack-Hirsch S, Maher BS, Raffensperger LM, Russo ET, Vieira AR, Dode C, Mohammadi M, Marazita ML, Murray JC. Impaired FGF signaling contributes to cleft lip and palate. *PNAS*, 2007; 104(11): 4512 – 7
110. Riley BM, Murray JC. Sequence evaluation of FGF and FGFR gene conserved non-coding elements in non-syndromic cleft lip and palate cases. *Am J Med Genet A*, 2007; 143A: 3228 – 34

111. Roessler, E. et al. Loss-of-function mutations in the human *GLI2* gene are associated with pituitary anomalies and holoprosencephaly-like features. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 13424-13429 (2003).
112. Roessler, E. et al. Mutations in the human Sonic Hedgehog gene cause holoprosencephaly. *Nature Genet.* 14, 357-360 (1996).
113. Rogers, C.R. et al. Anatomical basis for apparent subepithelial cleft lip: a histological and ultrasonographic survey of the orbicularis oris muscle. *Cleft Palate-Cran. J.* 45, 518–524 (2008).
114. Scapoli L., Palmieri A, Martinelli M, Pezzetti F, Carinci P, Tognon M, Carinci F. Strong evidence of linkage disequilibrium between polymorphisms at the *IRF6* locus and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate, in an Italian population. *American Journal of Human Genetics*, 2005, Vol 76 (1), pages 180-3
115. Schaid D.J. Statistical genetics '98; Transmission Disequilibrium, Family Controls, and Great Expectations. *American Journal of Human Genetics*, 1998, No 63, pages 935-941
116. Schutte BC, Murray JC. The many faces and factors of orofacial clefts. *Hum Mol Genet*, 1999; 8(10): 1853 – 9
117. Sham P.C., Curtis D. An extended transmission/disequilibrium test (TDT) for multi – allele marker loci. *Annals of Human Genetics*, 1995, No 59, pages 323-336
118. Shaw D., Ray A., Marazita M., et al. Further evidence of a relationship between the retinoic acid receptor alpha locus and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Am J Hum Genet*, 1993, No 53, pages 1156-1157
119. Shi M et al, Identification of microdeletions in candidate genes for cleft lip and/or palate. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 85, 42-51 (2009)
120. Shiang R., Lidral A.C., Ardinger H.H., et al. Association of transforming growth factor alpha polymorphisms with nonsyndromic cleft

- palate only (CPO). *American Journal of Human Genetics*, 1993, 53: 836-843
121. Snead, M.P. & Yates, J.R. Clinical and Molecular genetics of Stickler syndrome. *J. Med. Genet.* 36, 353-359 (1999).
 122. Sözen, M. A. et al. Mutation of PVRL1 is associated with sporadic, non-syndromic cleft lip/palate in northern Venezuela. *Nature Genet.* 29, 141–142 (2001).
 123. Sözen, M. A., Hecht, J. T. & Spritz, R. A. Mutation analysis of the PVRL1 gene in Caucasians with nonsyndromic cleft lip/palate. *Genet. Test. Mol. Biomarkers* 13, 617–621 (2009).
 124. Spielman RS, Ewens WJ. (1998). A sibship test for linkage in the presence of association: the sib transmission/disequilibrium test. *Am J Hum Genet*, 62:450-458
 125. Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ. (1993). Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet*, 52:506-516.
 126. Srichomthong C., Siriwan P., Shotlersuk V. Significant association between IRF6 820G→A and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in the Thai population. *J Med Genet* 2005; 42
 127. Stanier P., Moore E. Genetics of cleft lip and palate: syndromic genes contribute to the incidence of non-syndromic clefts. *Human Molecular Genetics*, 2004, Vol. 13, Review Issue1
 128. Stein J., Mulliken J.B., Stal S. et al. Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: evidence of linkage to BCL3 in 17 multigenerational families. *American Journal of Human Genetics*, 1995, No 57:257-272
 129. Strachan T., Read A.P. *Human Molecular Genetics 3. Mapping and identifying genes conferring susceptibility to complex diseases.* Chapter XV, pages 436-460. 2004.
 130. Studer M., Popperl H., Marshall H., Kuroiwa A., Krumlauf R. Role of a conserved retinoic acid response element in rhombomere restriction of Hoxb-1. *Science*, 1994, 265: 1728-1732

131. Suazo, J., Santos, J. L., Scapoli, L., Jara, L. & Blanco, R. Association between TGFB3 and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in a Chilean population. *Cleft Palate Craniofac. J.* 47, 513–517 (2010).
132. Suzuki, K. et al. Mutations of PVRL1, encoding a cell-cell adhesion molecule/herpesvirus receptor, in cleft lip/palate-ectodermal dysplasia. *Nature Genet.* 25, 427–430 (2000).
133. Suzuki, S. et al. Mutations in BMP4 are associated with subepithelial, microform, and overt cleft lip. *Am. J. Hum. Genet.* 84, 406–411 (2009).
134. Suzuki, Y. et al. In a Vietnamese population, MSX1 variants contribute to cleft lip and palate. *Genet. Med.* 6, 117–125 (2004).
135. Szklarczyk D, Franceschini A, Kuhn M, Simonovic M, Roth A, Minguéz P, Doerks T, Stark M, Muller J, Bork P, Jensen LJ, von Mering C. The STRING database in 2011: functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored. *Nucleic Acids Res.* 2011 January; 39(Database issue): D561–D568.
136. Taioli E, Ragin C, Robertson L, Linkov F, Thurman NE, Vieira AR. Cleft Lip and Palate in Family Members of Cancer Survivors. November 2010, Vol. 28, No. 9, Pages 958-962 (doi:10.3109/07357907.2010.483510)
137. Twigg, S.R. et al. Mutations of ephrin-B1 (EFNB1), a marker of tissue boundary formation, cause craniofrontonasal syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101, 8652–8657 (2004).
138. Vanderas A.P. Incidence of cleft lip, cleft palate, and cleft lip and palate among races: a review. *Cleft Palate J*, 1987, 24: 216-225
139. Vasiliauskas A., Utkus A., Matulevčienė A., Linkevičienė L., Kučinskis V. The incidence of cleft lip and/or palate among newborns in Lithuania, 1993 – 1997. *Acta Medica Lituanica*, 2004, Vol 11, No 2, pages 1 – 6.
140. Vastardis H., Karinbux N., Gutha S., et al. A human MSX1 homeodomain missense mutation cause selective tooth agenesis. *Nat Genet* 1996, No 13, pages 417-421

141. Venza, M. et al. FOXE1 gene mutation screening by multiplex PCR/DHPLC in CHARGE syndrome and syndromic and non-syndromic cleft palate. *J.Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 836, 39–46 (2006).
142. Vieira A.R., Modesto A., Meira R., Schneider Barbosa A.R., Lidral A.C., Murray J.C. Interferon regulatory factor 6 (IRF6) and fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) contribute to human tooth agenesis. *Am J Hum Gen* 2007 Mar 15;143(6):538-45
143. Vieira AR, Avila JR, Daack – Hirsch S, Dragan E, Felix TM, Rahimov F, Harrington J, Schultz RR, Watanabe Y, Johnson M, Fang J, O’ Brien SE, Orioli IM, Castilla EE, FitzPatrick DR, Jiang R, Marazita ML, Murray JC. Medical sequencing of candidate genes for nonsyndromic cleft lip and palate. *PLoS Genet*, 2005; 1(6): e64
144. Vieira, A. R. et al. MSX1 and TGFB3 contribute to clefting in South America. *J. Dent. Res.* 82, 289–292 (2003).
145. Vintiner G.M., Lo K.K., Holder S.E., et al. Exclusion of candidate genes from a role in cleft lip with or without cleft palate: linkage and association studies. *J Med Genet*, 1993, 30:773-778
146. Wallis, D.E. et al. Mutations in the homeodomain of the human SIX3 gene cause holoprosencephaly. *Nature Genet.* 22, 196-198 (1999).
147. Wan M, Cao X. BMP signaling in skeletal development. *Biochem Biophys Res Commun* 328:651-657, 2005
148. Weinberg, S. et al. Face shape of unaffected parents with cleft affected offspring: combining three-dimensional surface imaging and geometric morphometrics. *Orthod. Craniofac. Res.* 12, 271–281 (2009).
149. Wyszynski D.F., Beaty T.H., Maestri N.E. Genetics of nonsyndromic oral cleft revisited. *Cleft Palate Craniofac J*, 1996, 33:406-417
150. Wyszynski D.F., Maestri N.E., McIntosh I. Evidence for an association between markers on chromosome 19q and non-syndromic cleft lip with or without cleft palate in two groups of multiplex families. *Human Genetics*, 1997, No 99, pages 22-26

151. Yoshiura K., Machida J., Daack – Hirsch S. et al. Characterization of a novel gene disrupted by a balanced chromosomal translocation t(2;19)(q11.2;q13.3) in a family with cleft lip and palate. *Genomics*, 1998, 1: 231-240
152. Zarakauskaitė E., Matulevičienė A., Utkus A., Kučinskas V., Linkevičienė L. Orofacial clefts with associated anomalies in Lithuania. *ACTA MEDICA LITUANICA*. 2007. VOLUME 14. No. 1. P. 17–23
153. Zuccherro T.M., Cooper T.E. et al. Interferon Regulatory Factor 6 (IRF6) Gene Variants and the Risk of Isolated Cleft Lip or Palate. *The New England Journal of Medicine*, 2004, Vol 351 (8), pages 769-780

Elektroniniai šaltiniai:

1. www.eurocran.org
2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>

PADĖKA

- Dėkoju darbo vadovui prof.habil.dr.Vaidučiui Kučinskui už galimybę įgyvendinti mokslinę darbo idėją bei už vertingas pastabas ir paskatinimą.
- Nuoširdžiai dėkoju visiems VU MF Žmogaus ir medicininės genetikos katedros ir VšĮ VU ligoninės Medicininės genetikos centro darbuotojams už pagalbą ir palaikymą. Molekulinės genetikos laboratorijos kolektyvui už ypatingą draugiškumą.
- Taip pat dėkoju doc.dr.Jūratei Kasnauskienei, doc.dr.Audronei Jakaitienei, dr.Valentinai Ginevičienei ir prof.dr.Algirdui Utkui už pastabas ir pagalbą, redaguojant mokslinį darbą.
- Prof. Andres Metspalu ir jo vadovaujamiems mokslininkams dėkoju už galimybę atlikti tyrimus Tartu universiteto Molekulinės ir ląstelės biologijos instituto Biotechnologijos katedros laboratorijose ir glaudų bendradarbiavimą ginamo darbo tema.
- Ypatingai svarbus ir nuoširdus ačiū mano šeimai už besąlygišką palaikymą ir supratimą.

PRIEDAI

Priedas I.

Lūpos ir/arba gomurio nesuaugimus lemiančių genų kandidatų ir vieno nukleotido polimorfizmų juose sąrašas.

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
1	<i>ApoC2_CLPTMI</i>	Apolipoprotein C-II precursor	19	rs10413089	50147428
2	<i>ApoC2_CLPTMI</i>	Apolipoprotein C-II precursor	19	rs5127	50144534
3	<i>ApoC2_CLPTMI</i>	Apolipoprotein C-II precursor	19	rs16979595	50169221
4	<i>ApoC2_CLPTMI</i>	Apolipoprotein C-II precursor	19	rs11668758	50166520
5	<i>ApoC2_CLPTMI</i>	Apolipoprotein C-II precursor	19	rs9193	50188143
6	<i>BCL3</i>	B-cell leukemia/lymphoma 3	19	rs2965174	49936855
7	<i>BCL3</i>	B-cell leukemia/lymphoma 3	19	rs17728272	49932211
8	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs235770	6709765
9	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs17731603	6720066
10	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs235704	6720263
11	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs235706	6679335
12	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs6085682	6719211
13	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs1980499	6694498
14	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs1979855	6695607
15	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs235757	6714019
16	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs910141	6715642
17	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs6054516	6719073
18	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs6054514	6718288
19	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs6140076	6677644
20	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs2206916	6682650
21	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs7270163	6699316
22	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs1005464	6704148
23	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs235748	6718641

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
24	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs173107	6713841
25	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs6085684	6724941
26	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs235730	6684189
27	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs13044579	6722420
28	<i>BMP2</i>	Bone morphogenetic protein 2 precursor	20	rs235756	6715111
29	<i>BMP4</i>	Bone morphogenetic protein 4 precursor	14	rs2071047	53488161
30	<i>BMP4</i>	Bone morphogenetic protein 4 precursor	14	rs10873077	53503283
31	<i>BMP4</i>	Bone morphogenetic protein 4 precursor	14	rs12883570	53468503
32	<i>CDHI</i>	Cadherin 1	16	rs12919719	67379842
33	<i>CDHI</i>	Cadherin 1	16	rs3785078	67420148
34	<i>CDHI</i>	Cadherin 1	16	rs7202333	67438996
35	<i>CDHI</i>	Cadherin 1	16	rs12597188	67372327
36	<i>CDHI</i>	Cadherin 1	16	rs2276330	67414790
37	<i>CDHI</i>	Cadherin 1	16	rs16958383	67414501
38	<i>CDHI</i>	Cadherin 1	16	rs3785076	67408284
39	<i>CDHI</i>	Cadherin 1	16	rs7188750	67400396
40	<i>CDHI</i>	Cadherin 1	16	rs4783689	67411172
41	<i>COL1A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs1241182	103120688
42	<i>COL1A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs2254082	103209881
43	<i>COL1A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs17127270	103178480
44	<i>COL1A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs1538039	103364908
45	<i>COL1A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs2229783	103125039
46	<i>COL1A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs11164663	103321085

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliskai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
47	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs11164658	103272484
48	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs2889339	103325595
49	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12139120	103231502
50	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs3850459	103290016
51	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs10874681	103360089
52	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs7553904	103354789
53	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs7543626	103350922
54	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12143740	103182651
55	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs11811018	103193218
56	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs6671691	103347365
57	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12026364	103098524
58	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs2616003	103103365
59	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12123966	103354338
60	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs1020918	103103937
61	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs1337195	103326881
62	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12084902	103182712
63	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12026245	103364053
64	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12142096	103135497
65	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs4338381	103345515
66	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs4551619	103363041
67	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs1463034	103227805
68	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs1337186	103315865
69	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs7556513	103325111

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliskai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
70	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs9659030	103114980
71	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12722976	103118332
72	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs17446095	103145363
73	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12728397	103149450
74	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs2126642	103178381
75	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs1841835	103211618
76	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs1975919	103176340
77	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12119459	103221589
78	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs4908291	103345324
79	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs1241175	103097008
80	<i>COL11A1</i>	Collagen, type XI, alpha 1	1	rs12138447	103248605
81	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs2855425	33252351
82	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs2744507	33256856
83	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs9277927	33236373
84	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs213208	33285988
85	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs9368757	33236355
86	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs9277934	33261506
87	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs213210	33283802
88	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs756441	33230149
89	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs9277928	33236438
90	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs3129231	33220196
91	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs9394138	33218630
92	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs3130165	33238204

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNIP	VNP vieta chromosomoje
93	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs12526336	33262027
94	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs213209	33284936
95	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs3129208	33232047
96	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs986522	33243940
97	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs1547387	33277873
98	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs2854028	33287667
99	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs3129207	33233290
100	<i>COL11A2</i>	Collagen, type XI, alpha 2	6	rs9277925	33235116
101	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs6580647	46689496
102	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs1541408	46634619
103	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs12822608	46641619
104	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs6823	46648679
105	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs1793954	46679587
106	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs1859443	46685879
107	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs10875713	46650730
108	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs3829736	46662770
109	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs11168354	46695564
110	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs4344559	46635766
111	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs11168338	46663236
112	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs1635550	46664237
113	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs7299271	46700325
114	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs7134878	46703575
115	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs2071358	46632716

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNIP	VNIP vieta chromosomoje
116	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs1793960	46675600
117	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs1793958	46678700
118	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs954326	46681090
119	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs17122565	46698677
120	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs1793949	46657862
121	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs11168355	46697245
122	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs12228854	46683187
123	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs12368284	46659448
124	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs1635527	46682631
125	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs7964359	46696833
126	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs12821733	46641450
127	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs12721428	46655160
128	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs12300271	46660883
129	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs11168359	46702290
130	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs2276454	46662558
131	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs12819124	46695321
132	<i>COL2A1</i>	Collagen, type II, alpha 1	12	rs4506714	46633400
133	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs6906760	12409657
134	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs9357336	12392025
135	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs16872608	12416007
136	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs16872612	12416068
137	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs4714351	12384844
138	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs10807242	12387672

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
139	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs2070699	12400758
140	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs1476046	12401207
141	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs4714383	12405468
142	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs521824	12381526
143	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs1626492	12403489
144	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs9471438	12415250
145	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs2071943	12403800
146	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs6912834	12403521
147	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs2859338	12406970
148	<i>EDNI</i>	Endothelin-1 precursor	6	rs4714384	12405839
149	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs11167785	142043913
150	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs9324891	142032705
151	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs17099096	141971389
152	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs6882717	142058519
153	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs34002	141954756
154	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs250103	141966795
155	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs249918	141989231
156	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs34016	141979150
157	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs250201	142013492
158	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs10064637	142023936
159	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs34010	141961149
160	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs33992	141937322
161	<i>FGFI</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs33995	141945942

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliskai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
162	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs34013	141978564
163	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs13188142	141982416
164	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs249921	141990564
165	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs17099156	141999780
166	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs11954586	142029084
167	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs7722035	142036157
168	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs4912876	142054123
169	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs1860230	142058047
170	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs2070715	142004440
171	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs996036	142063387
172	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs250092	141958427
173	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs6875147	141999370
174	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs6884797	141988841
175	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs4912870	141995899
176	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs10070885	142000564
177	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs6893408	142002961
178	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs17208908	142040162
179	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs2278688	141954266
180	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs34019	141980729
181	<i>FGF1</i>	Fibroblast growth factor 1	5	rs249923	141995573
182	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs11733450	124046284
183	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs10012814	124014787
184	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs20344461	124003745

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
185	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs308420	123987393
186	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs17472986	123994282
187	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs11098676	124052604
188	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs308442	123994363
189	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs308439	123993029
190	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs1960669	124002018
191	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs308379	124002346
192	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs308382	124002644
193	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs11737764	124046230
194	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs12513181	124055106
195	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs17408557	124020067
196	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs308438	123992337
197	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs6534365	124004898
198	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs308434	123991278
199	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs17407577	123998791
200	<i>FGF2</i>	Fibroblast growth factor 2	4	rs3804158	124034350
201	<i>FGFRI</i>	Fibroblast Growth Factor Receptor 1	8	rs6474354	38422122
202	<i>FGFRI</i>	Fibroblast Growth Factor Receptor 1	8	rs13279569	38460773
203	<i>FGFRI</i>	Fibroblast Growth Factor Receptor 1	8	rs2288696	38405382
204	<i>FGFRI</i>	Fibroblast Growth Factor Receptor 1	8	rs328300	38463656
205	<i>FGFRI</i>	Fibroblast Growth Factor Receptor 1	8	rs2956724	38411423
206	<i>FGFRI</i>	Fibroblast Growth Factor Receptor 1	8	rs6996321	38441503
207	<i>FGFRI</i>	Fibroblast Growth Factor Receptor 1	8	rs6987534	38418872

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
208	<i>FGFR1</i>	Fibroblast Growth Factor Receptor 1	8	rs2978083	38408060
209	<i>FGFR1</i>	Fibroblast Growth Factor Receptor 1	8	rs2411256	38412620
210	<i>FGFR1</i>	Fibroblast Growth Factor Receptor 1	8	rs7012413	38436555
211	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs7567647	216003105
212	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs1404772	215918544
213	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs17448447	215918196
214	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs13004592	215985236
215	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs7604984	215925884
216	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs13414859	215951587
217	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs17518731	216026905
218	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs1250220	216028295
219	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs1250215	215961284
220	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs17517928	215999604
221	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs1250233	216015348
222	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs6757920	215913512
223	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs4673990	215914298
224	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs2289200	215941223
225	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs7609476	216002261
226	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs7586969	215915470
227	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs11883812	215965226
228	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs17457029	215980759
229	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs13652	215957832
230	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs10498038	215964589

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliskai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
231	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs16853834	215918481
232	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs1250203	215956550
233	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs1968510	215966496
234	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs1250255	216024732
235	<i>FNI</i>	Fibronectin 1	2	rs6716361	215950661
236	<i>FOXE1</i>	Forkhead box E1 (thyroid transcription factor 2)	9	rs7860144	99666705
237	<i>FOXE1</i>	Forkhead box E1 (thyroid transcription factor 2)	9	rs973473	99660551
238	<i>FOXE1</i>	Forkhead box E1 (thyroid transcription factor 2)	9	rs10984009	99658481
239	<i>FOXE1</i>	Forkhead box E1 (thyroid transcription factor 2)	9	rs874004	99661939
240	<i>IRF6</i>	Interferon regulatory factor 6	1	rs2073487	208043269
241	<i>IRF6</i>	Interferon regulatory factor 6	1	rs1044516	208026237
242	<i>IRF6</i>	Interferon regulatory factor 6	1	rs623360	208019488
243	<i>IRF6</i>	Interferon regulatory factor 6	1	rs17317411	208027937
244	<i>IRF6</i>	Interferon regulatory factor 6	1	rs630065	208065285
245	<i>IRF6</i>	Interferon regulatory factor 6	1	rs590223	208013330
246	<i>IRF6</i>	Interferon regulatory factor 6	1	rs9430018	208063165
247	<i>IRF6</i>	Interferon regulatory factor 6	1	rs12143281	208018517
248	<i>JAG2</i>	Jagged 2	14	rs10140111	104715327
249	<i>JAG2</i>	Jagged 2	14	rs2056860	104666863
250	<i>JAG2</i>	Jagged 2	14	rs11621316	104699805
251	<i>JAG2</i>	Jagged 2	14	rs2735807	104665906
252	<i>JAG2</i>	Jagged 2	14	rs11624283	104662016
253	<i>JAG2</i>	Jagged 2	14	rs4399485	104662422

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliskai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
254	<i>JAG2</i>	Jagged 2	14	rs2239283	104702955
255	<i>JAG2</i>	Jagged 2	14	rs2816673	104676244
256	<i>JAG2</i>	Jagged 2	14	rs2091918	104673664
257	<i>LHX8</i>	LIM homeobox 8	12	rs6695423	75375689
258	<i>LHX8</i>	LIM homeobox 8	12	rs1526505	75371488
259	<i>LHX8</i>	LIM homeobox 8	12	rs11162567	75366463
260	<i>LHX8</i>	LIM homeobox 8	12	rs17622436	75362169
261	<i>LHX8</i>	LIM homeobox 8	12	rs17096272	75355512
262	<i>LHX8</i>	LIM homeobox 8	12	rs17565565	75409559
263	<i>LHX8</i>	LIM homeobox 8	12	rs4949645	75351677
264	<i>LHX8</i>	LIM homeobox 8	12	rs6593568	75410507
265	<i>LHX8</i>	LIM homeobox 8	12	rs941032	75395204
266	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs10502009	102326614
267	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs12146550	102300996
268	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs671188	102334665
269	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs6590997	102299064
270	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs597315	102332994
271	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs6590999	102339412
272	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs4085170	102307932
273	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs11225485	102312941
274	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs2252070	102331749
275	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs12146442	102303016
276	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs11826440	102315288

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
277	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs12792912	102306513
278	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs10791602	102339036
279	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs685286	102347662
280	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs7119194	102312606
281	<i>MMP13</i>	Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 3)	11	rs1144414>rs579627	102340629
282	<i>MMP25</i>	Matrix metalloproteinase 25	16	rs2015620	3063562
283	<i>MMP25</i>	Matrix metalloproteinase 25	16	rs2526275	3024110
284	<i>MMP25</i>	Matrix metalloproteinase 25	16	rs1064875	3042210
285	<i>MMP25</i>	Matrix metalloproteinase 25	16	rs7199221	3041640
286	<i>MMP25</i>	Matrix metalloproteinase 25	16	rs7188573	3051204
287	<i>MMP25</i>	Matrix metalloproteinase 25	16	rs2239301	3056257
288	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs243832	54096692
289	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs9302671	54079226
290	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs837535	54053553
291	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs865094	54074733
292	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs12373066	54060648
293	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs1992116	54085392
294	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs243845	54083988
295	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs1005912	54062328
296	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs7187242	54057495
297	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs11865658	54062587
298	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs243864	54069823
299	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs12924764	54055550

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
300	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs11639960	54090771
301	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs1116195	54066374
302	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs1347653	54062541
303	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs11643630	54067960
304	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs243865	54069307
305	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs11076101	54075759
306	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs11541998	54094264
307	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs837533	54052135
308	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs11861520	54061914
309	<i>MMP2</i>	Matrix metalloproteinase 2	16	rs1005913	54062022
310	<i>MMP3</i>	Matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	11	rs12792871	102203546
311	<i>MMP3</i>	Matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	11	rs688258	102197305
312	<i>MMP3</i>	Matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	11	rs629946	102226906
313	<i>MMP3</i>	Matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	11	rs615098	102225888
314	<i>MMP3</i>	Matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	11	rs683878	102210868
315	<i>MMP3</i>	Matrix metalloproteinase 3 (stromelysin 1, progelatinase)	11	rs12808148	102238373
316	<i>MMP9</i>	Matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B)	20	rs6094237	44062697
317	<i>MMP9</i>	Matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B)	20	rs3918261	44076999
318	<i>MMP9</i>	Matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B)	20	rs6073991	44089519
319	<i>MMP9</i>	Matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B)	20	rs13038175	44057504
320	<i>MMP9</i>	Matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B)	20	rs17576	44073632
321	<i>MMP9</i>	Matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B)	20	rs6032619	44060434
322	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs11726039	4900371

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
323	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs868257	4903074
324	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs12498543	4934360
325	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs4689953	4904370
326	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs6446693	4905981
327	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs4473606	4923148
328	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs2087868	4900020
329	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs10002530	4900504
330	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs884690	4903255
331	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs13121578	4896678
332	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs1907998	4907480
333	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs6832405	4934637
334	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs4464513	4918223
335	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs1106514	4926827
336	<i>MSX1</i>	msh homeobox 1	4	rs12501827	4931498
337	<i>MSX2</i>	msh homeobox 2	5	rs1567202	174077866
338	<i>MSX2</i>	msh homeobox 2	5	rs13157633	174104000
339	<i>MSX2</i>	msh homeobox 2	5	rs7703976	174073414
340	<i>MSX2</i>	msh homeobox 2	5	rs11740641	174100229
341	<i>MSX2</i>	msh homeobox 2	5	rs17063892	174100885
342	<i>MSX2</i>	msh homeobox 2	5	rs4868442	174085643
343	<i>MSX2</i>	msh homeobox 2	5	rs9687904	174064921
344	<i>MTHFR</i>	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	1	rs4846048	11768839
345	<i>MTHFR</i>	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	1	rs1994798	11777342

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
346	<i>MTHFR</i>	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	1	rs1801131	11777063
347	<i>MTHFR</i>	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	1	rs9651118	11784801
348	<i>MTHFR</i>	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	1	rs1572151	11780298
349	<i>MTHFR</i>	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	1	rs17376328	11799249
350	<i>MTHFR</i>	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	1	rs1476413	11774887
351	<i>MTHFR</i>	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	1	rs12121543	11777258
352	<i>MTHFR</i>	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH)	1	rs4846054	11791817
353	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs10790332	119058888
354	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs906827	119019339
355	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs12291064	119007913
356	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs4582984	119004224
357	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs12279718	119008880
358	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs7103685	119028391
359	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs12361680	118994420
360	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs10750161	119003828
361	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs12364363	119006090
362	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs4409838	119015121
363	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs4938713	119074204
364	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs10892421	119003613
365	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs12797352	119023216
366	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs4938716	119081765
367	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs4354701	118994022
368	<i>PVR1L1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs11217364	119006231

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliskai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
369	<i>PVRL1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs11217372	119024427
370	<i>PVRL1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs11217357	119002967
371	<i>PVRL1</i>	poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C)	11	rs7129848	119071438
372	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs11667640	50071631
373	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs4803767	50064799
374	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs3745150	50077599
375	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs4803766	50063008
376	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs519113	50068124
377	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs6859	50073874
378	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs2927480	50029225
379	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs519825	50058619
380	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs2075642	50069307
381	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs157580	50087106
382	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs12978931	50055540
383	<i>PVRL2</i>	poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B)	19	rs387976	50070900
384	<i>RARA</i>	retinoic acid receptor, alpha	17	rs2715554	35742696
385	<i>RARA</i>	retinoic acid receptor, alpha	17	rs506728	35787106
386	<i>RARA</i>	retinoic acid receptor, alpha	17	rs2715553	35749846
387	<i>RARA</i>	retinoic acid receptor, alpha	17	rs482284	35757767
388	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs263533	2153428
389	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs260507	2182499
390	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs12119470	2207960
391	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs2172900	2212983

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
392	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs6665593	2130121
393	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs12045693	2195441
394	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs2643885	2211082
395	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs884940	2213726
396	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs7512482	2136826
397	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs262683	2145729
398	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs16824948	2176080
399	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs4648625	2190201
400	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs10910050	2214736
401	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs903910	2190029
402	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs884941	2213505
403	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs2843157	2230243
404	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs11806567	2241842
405	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs2460000	2146222
406	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs6673129	2192634
407	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs4648823	2209930
408	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs12562937	2219338
409	<i>SKI</i>	v-ski sarcoma viral oncogene homolog (avian)	1	rs2645075	2244770
410	<i>SMAD2</i>	SMAD family member 2	18	rs1792670	43664145
411	<i>SMAD2</i>	SMAD family member 2	18	rs1792666	43617212
412	<i>SMAD2</i>	SMAD family member 2	18	rs4940086	43700305
413	<i>SMAD2</i>	SMAD family member 2	18	rs1792658	43636603
414	<i>SMAD2</i>	SMAD family member 2	18	rs1792689	43622585

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
415	<i>SMAD2</i>	SMAD family member 2	18	rs17814648	43667712
416	<i>SMAD2</i>	SMAD family member 2	18	rs1944574	43979261
417	<i>SMAD2</i>	SMAD family member 2	18	rs953570	43988463
418	<i>SMAD4</i>	SMAD family member 4	18	rs948588	46840342
419	<i>SMAD4</i>	SMAD family member 4	18	rs10502913	46822269
420	<i>SPRY2</i>	sprouty homolog 2 (Drosophila)	13	rs504122	79809526
421	<i>SPRY2</i>	sprouty homolog 2 (Drosophila)	13	rs9545409	79822349
422	<i>SPRY2</i>	sprouty homolog 2 (Drosophila)	13	rs9531050	79821830
423	<i>TBX10</i>	T-box 10	11	rs2514035	67171404
424	<i>TBX10</i>	T-box 10	11	rs4930212	67182122
425	<i>TBX10</i>	T-box 10	11	rs2514037	67172766
426	<i>TBX10</i>	T-box 10	11	rs10736660	67176431
427	<i>TBX10</i>	T-box 10	11	rs1531514	67155438
428	<i>TBX10</i>	T-box 10	11	rs2509713	67165367
429	<i>TBX10</i>	T-box 10	11	rs2447587	67168406
430	<i>TBX10</i>	T-box 10	11	rs4930461	67151471
431	<i>TBX10</i>	T-box 10	11	rs2514027	67162878
432	<i>TBX10</i>	T-box 10	11	rs11227871	67157422
433	<i>TBX22</i>	T-box 22	X	rs6616415	79155237
434	<i>TBX22</i>	T-box 22	X	rs195294	79168053
435	<i>TBX22</i>	T-box 22	X	rs6621543	79156787
436	<i>TBX22</i>	T-box 22	X	rs1429591	79165842
437	<i>TGFα</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs17005666	70558910

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
438	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs3771505	70560875
439	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs3771515	70549070
440	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs3732253	70529606
441	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs11678075	70556989
442	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs7561997	70569556
443	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs13034560	70613999
444	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs455125	70600234
445	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs6749533	70545274
446	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs17639251	70629789
447	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs12473408	70629892
448	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs6729950	70543642
449	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs6709121	70545807
450	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs17638303	70592058
451	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs450419	70597615
452	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs6738666	70606382
453	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs12328204	70521990
454	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs3771514	70551175
455	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs3771494	70578860
456	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs3821261	70582761
457	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs3755377	70586360
458	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs404420	70587034
459	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs446086	70609565
460	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor; alpha	2	rs13392762	70638169

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNPN	VNP vieta chromosomoje
461	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs3771473	70623105
462	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs3771477	70614252
463	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs375668	70591396
464	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs3771485	70609799
465	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs516383	70517615
466	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs559567	70599053
467	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs12996390	70648579
468	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs3771475	70622836
469	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs11466191	70633589
470	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs540006	70636930
471	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs378322	70616413
472	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs10496180	70674054
473	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs428225	70612669
474	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs10489985	70626228
475	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs713111	70649847
476	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs11466297	70529215
477	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs6743202	70625029
478	<i>TGFA</i>	Transforming growth factor, alpha	2	rs7605323	70637335
479	<i>TGFB3</i>	Transforming growth factor, beta 3	14	rs3917210	75497533
480	<i>TGFB3</i>	Transforming growth factor, beta 3	14	rs2268625	75509387
481	<i>TGFB3</i>	Transforming growth factor, beta 3	14	rs3917158	75514222
482	<i>TGFB3</i>	Transforming growth factor, beta 3	14	rs7156293	75493336
483	<i>TGFB3</i>	Transforming growth factor, beta 3	14	rs3917148	75516274

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
484	<i>TGFβ3</i>	Transforming growth factor, beta 3	14	rs2205181	75523872
485	<i>TGFβ3</i>	Transforming growth factor, beta 3	14	rs11625323	75533087
486	<i>TGFβ3</i>	Transforming growth factor, beta 3	14	rs8011635	75534584
487	<i>TIIMP1</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 1	X	rs6520279	47333040
488	<i>TIIMP1</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 1	X	rs2071777	47308743
489	<i>TIIMP1</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 1	X	rs723556	47317691
490	<i>TIIMP1</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 1	X	rs5906435	47333354
491	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs1531795	74383680
492	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs6501258	74389419
493	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs4789936	74409569
494	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs4789937	74406275
495	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs9891478	74352400
496	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs7502916	74413228
497	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs8080623	74433873
498	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs7213204	74343395
499	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs4352096	74345511
500	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs8080307	74369948
501	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs11077399	74375770
502	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs7502935	74390224
503	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs2376999	74402459
504	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs3744787	74405266
505	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs12944916	74405860
506	<i>TIIMP2</i>	TIIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs1384364	74364423

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNIP	VNP vieta chromosomoje
507	<i>TIIMP2</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs4789921	74451214
508	<i>TIIMP2</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs7212662	74429726
509	<i>TIIMP2</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs2377004	74382054
510	<i>TIIMP2</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs7218237	74383233
511	<i>TIIMP2</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs2003241	74396712
512	<i>TIIMP2</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs6501266	74418948
513	<i>TIIMP2</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs9889410	74390575
514	<i>TIIMP2</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs7211674	74410660
515	<i>TIIMP2</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs4789939	74393298
516	<i>TIIMP2</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 2	17	rs7216022	74451104
517	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs11703156	31559804
518	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs10483165	31517342
519	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs130554	31513583
520	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs5754283	31507390
521	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs5754319	31600348
522	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs738992	31540005
523	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs130290	31550693
524	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs713996	31507778
525	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs2283883	31573656
526	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs5754312	31574421
527	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs137489	31592935
528	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs137498	31606313
529	<i>TIIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs130274	31534334

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
530	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs130561	31521373
531	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs130547	31509540
532	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs13054779	31522189
533	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs242082	31554439
534	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs4504	31566544
535	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs241902	31607551
536	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs130295	31554509
537	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs242077	31559685
538	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs7292199	31511575
539	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs241890	31572162
540	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs2283884	31578055
541	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs137484	31581279
542	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs4447	31605140
543	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs4449	31608202
544	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs11287	31588777
545	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs137487	31589104
546	<i>TIMP3</i>	TIMP metalloproteinase inhibitor 3	22	rs10483166	31604166
547	<i>WNT3</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 3	17	rs199506	42214192
548	<i>WNT3</i>	Wingless-type MMTV integration site family	17	rs111769	42227151
549	<i>WNT3</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 3	17	rs7218567	42225421
550	<i>WNT3</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 3	17	rs916888	42218292
551	<i>WNT3</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 3	17	rs11653738	42242117
552	<i>WNT3</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 3	17	rs12452064	42223353

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
553	<i>WNT3</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 3	17	rs199497	42221762
554	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs7212221	42280459
555	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs4968282	42313936
556	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs11655598	42223260
557	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs12150651	42288568
558	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs1373089	42270264
559	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs2165846	42296365
560	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs12952746	42298412
561	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs11079740	42304099
562	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs8069437	42261948
563	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs7220040	42280547
564	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs17603901	42313021
565	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs1105127	42322721
566	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs11079738	42259048
567	<i>WNT9B</i>	Wingless-type MMTV integration site family, member 9	17	rs9894638	42267900
568	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs1824683	42403918
569	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs328149	42424469
570	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs645631	42505993
571	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs955291	43124497
572	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs1943984	45477909
573	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs1985467	45928259
574	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs1373185	45999849
575	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs768360	46018071

Nr.	Genas	Geno pavadinimas (angliškai)	Chromosoma	VNP	VNP vieta chromosomoje
576	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs2006747	46222356
577	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs2969972	46362761
578	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs1369766	47272878
579	<i>LOXHD1</i>	Lipoxygenase homology domains 1	18	rs728683	47362995