

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

Anna Żak

**Ocena roli RECK, EMMPRIN i MT1-MMP
w guzach zębopochodnych**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor

dr hab. n. med. Anna Starzyńska, prof. GUMed

Zakład Chirurgii Stomatologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Gdańsk 2018

Serdecznie dziękuję mojemu Promotorowi, Pani Dr hab. Annie Starzyńskiej Prof. GUMed za pomoc, wsparcie i wielką życzliwość.

Pracę tę dedykuję moim Rodzicom.

SPIS TREŚCI

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW	5
1. WSTĘP	7
1.1. Torbiele kości szczęki i żuchwy	7
1.2. Guzy zębopochodne.....	12
1.2.1. Zębopochodne guzy nabłonkowe	16
1.3. Metaloproteinazy	18
1.4. MT1-MMP.....	24
1.5. RECK.....	28
1.6. EMMPRIN	30
2. CEL PRACY.....	34
3. MATERIAŁ I METODY	35
3.1. Pacjenci i materiał do badań	35
3.2. Metoda badań immunohistochemicznych.....	36
3.3. Analiza statystyczna.....	38
4. WYNIKI	40
4.1. Charakterystyka badanej grupy poddanej analizie immunohistochemicznej	40
4.2. Analiza materiału do badania immunohistochemicznego na poziomie białka RECK, EMMPRIN, MT1-MMP.	45
4.3. Analiza czynnikowa chorych poddanych badaniu immunohistochemicznemu	47
4.4. Analiza metodą półilościową H-score na poziomie białka RECK, EMMPRIN, MT1- MMP w nabłonku i podścielisku badanych zmian chorobowych	47
4.5. Analiza oceny ekspresji RECK, EMMPRIN i MT1-MMP metodą półilościową według podziału na stopnie ekspresji (brak, słaba, średnia, silna)	66
4.6. Korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w całej badanej grupie	73

4.7. Korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w grupie szkliviaków	80
4.8. Korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w grupie torbieli korzeniowych	83
4.9. Korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w grupie rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych	87
4.10. Korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w grupie kontrolnej	90
5. DYSKUSJA	92
6. WNIOSKI	98
7. PIŚMIENNICTWO.....	99
8. STRESZCZENIE.....	112
9. SUMMARY	114

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

A	ameloblastoma / szkliwiak
CBCT	cone beam computed tomography / stożkowa tomografia komputerowa
CG	control group / grupa kontrolna
DAB	3,3'-diaminobenzzydina
ECM	extracellular matrix / macierz zewnątrzkomórkowa
ELAM-1	endothelium leukocyte adhesion molecule 1 / e-selektyna
EMMPRIN	extracellular matrix metalloproteinase inducer / induktor metalloprotein macierzy zewnątrzkomórkowej
ERK	extracellular signal – regulated protein kinase / kinaza białkowa regulowana sygnałem pozakomórkowym
GPI	glycophosphatidyloinositol / glikofosfatydyloinozytol
ICAM-1	inter-cellular adhesion molecule 1 / międzykomórkowa cząsteczka adhezyjna 1
IgA	immunoglobulin A / immunoglobulina A
IgE	immunoglobulin E / immunoglobulina E
IgG	immunoglobulin G / immunoglobulina G
IgM	immunoglobulin M / immunoglobulina M
IL2	interleukin - 2 / interleukina - 2
KCOT	keratocystic odontogenic tumor / rogowaciejąco-torbielowaty guz zębopochodny
MMP	matrix metalloproteinases / metaloproteinazy macierzy
MRI	magnetic resonance imaging / rezonans magnetyczny
MT-MMP	membrantype matrix metalloproteinases / błonowe metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowe
p	p value / poziom istotności

PBS	phosphotate buffered saline / roztwór buforu fosforanowego
Q25	lower quartile / dolny kwartył
Q75	upper quartile / górny kwartył
R	współczynnik korelacji / correlation coefficient
RECK	reversion inducing cysteine -rich with kazal motifs
RC	radicular cyst / torbiel korzeniowa
SD	standard deviation / odchylenie standardowe
SG	studied group / grupa badawcza
TIMP	tissue inhibitor of metalloproteinases / tkankowy inhibitor metaloproteinaz
TK	computed tomography / tomografia komputerowa
TNF	tumor necrosis factor/ czynnik martwicy nowotworu
WHO	world health organization / światowa organizacja zdrowia

1. WSTĘP

1.1. Torbiele kości szczęki i żuchwy

Najczęściej występującą zmianą patologiczną w kościach szczęki i żuchwy są torbiele. Termin torbiel pochodzi od greckiego słowa *Kystis*, czyli jama całkowicie otorbiona. Torbiel jest patologiczną jamą, najczęściej o kształcie okrągłym lub owalnym, mogącą zawierać treść o różnym składzie i gęstości. Nie powstaje ona poprzez kumulację treści ropnej. Ściana torbieli zbudowana jest z trzech warstw: warstwa wewnętrzna to nabłonek wydzielniczy, który produkuje płyn znajdujący się w torbieli, warstwa środkowa, zbudowana z błony podstawnej i naczyń włosowatych oraz warstwa zewnętrzna, łącznotkankowa. Wzrost torbieli jest najczęściej powolny i klinicznie bezobjawowy. Podczas wzrostu torbiel powoduje powstanie ubytku otaczającej ją kości, co może prowadzić do zniekształceń i złamań patologicznych kości, a nawet do deformacji twarzy [7, 33, 75]. Torbiele zaliczane są do zmian nienowotworowych, za ich rozrost odpowiada zwiększanie się ilości płynu wewnątrz zmiany. W fazie początkowej rozwoju torbieli następuje proliferacja komórek Malasseza. Pod wpływem wzrostu ciśnienia w torbieli dochodzi do rozrostu zmiany we wszystkich kierunkach, stąd jej kształt najczęściej jest okrągły lub owalny. Płyn torbieli zawiera komórki warstwy wewnętrznej, kryształki cholesterolu, komórki immunokompetentne, białka, hemosyderynę. Kolor płynu może być różny, od jasnożółtego po brunatny [36]. Rozwój torbieli jest podzielony na trzy fazy. W pierwszej fazie (inicjacji) endotoksyny bakteryjne pochodzące z martwej miazgi zęba powodują proliferację komórek Malasseza. Obecny jest także naciek limfocytów T, co świadczy o odpowiedzi komórkowej na te zmiany. Dodatkowo, w tym procesie odgrywają ważną rolę immunoglobuliny. Główną z nich jest IgG, następnie IgA, IgE oraz IgM. Dochodzi wówczas do powstawania kompleksów antygen-przeciwciało, co zwiększa przepuszczalność ścian naczyń [68]. Komórki T, takie jak CD4 oraz TH wydzielają interleukinę 2 (IL2), co wiąże się z różnicowaniem limfocytów B w komórki plazmatyczne, które wydzielają immunoglobuliny. Dodatkowo, aktywują one komórki T cytotoksyczno-supresorowe, takie jak CD8 i Ts. W torbielach zębopochodnych liczba komórek plazmatycznych jest dużo większa od ilości komórek T, co może świadczyć, że w procesie powstawania torbieli ważną rolę odgrywa odpowiedź humoralna [69]. Poza interleukinami znajdującymi się w nabłonku i warstwie naczyniowej torbieli, w komórkach śródbłonka obecne są molekuly adhezyjne ELAM1 i ICAM1. Ta ostatnia znajduje się także w tkance nabłonkowej oraz komórkach zapalnych. Daje to możliwość wytwarzania cytokin ważnych dla procesów resorpcji kości oraz proliferacji nabłonka. Drugą fazą jest faza formowania.

Dochodzi w niej do uformowania jamy torbieli, która jest wysłana nabłonkiem zębopochodnym. Są dwie teorie dotyczące formowania się torbieli. Pierwsza zakłada, że podczas procesu proliferacji nabłonka pokrywa on odsłonięte powierzchnie tkanek patologicznej jamy. Tak powstałe mikrocyсты łączą się ze sobą, w rezultacie powodując wzrost torbieli. Druga teoria mówi, że jama torbieli powstaje w nabłonku ziarniniaka okołowierzchołkowego w procesie degradacji i śmierci jego komórek. W proliferującym nabłonku dochodzi do obrzęków wewnątrzkomórkowych, przez co komórki zwiększają swoją objętość i łączą się w mikrocyсты. Ostatnią fazą jest faza wzrostu. W niej ważną rolę odgrywa proces osmozy. W torbieli dochodzi do wzrostu ciśnienia osmotycznego z powodu działania produktów lizy komórek nabłonkowych i zapalnych [74]. W 1970 roku przyjęto, że ciśnienie hydrostatyczne ma wpływ na wzrost torbieli [cyt. wg 74]. Obecnie zakłada się, że ciśnienie ma wpływ na wzrost torbieli w fazie formowania. Natomiast w fazie wzrostu dużą rolę odgrywają metaloproteiny (MMPs) wpływające na rozrost torbieli, a także biorące udział w procesach niszczenia i resorpcji kości. Dodatkowo udział w nich biorą cytokiny, które zwiększają aktywność resorpcyjną osteoklastów oraz chemokiny odpowiedzialne za aktywację leukocytów.

W piśmiennictwie opublikowano wiele podziałów i klasyfikacji torbieli kości żuchwy i szczęki, stworzonych w zależności od budowy morfologicznej, patogenety, topografii czy cech klinicznych zmian. Światowa Organizacja Zdrowia w roku 1992 przedstawiła podział histologiczny guzów zębopochodnych, uwzględniając w nim torbiele kości szczęki i żuchwy. Opiera się on na pochodzeniu nabłonka torbieli [44, 70]. W badaniach rozprawy doktorskiej zastosowano klasyfikację torbieli nabłonkowych wg WHO z 2005 roku [11].

Klasyfikacja wg WHO 2005 r.:

Rozwojowe (*developmental*)

- Zębopochodne (*odontogenic*)

- torbiel dziąsłowa niemowląt/perły Epsteina (*gingival cyst of infants/Epstein pearls*)
- torbiel zawiązkowa (*dentigerous/follicular cyst*)
- torbiel nad wyrzynającym się zębem (*eruption cyst*)
- torbiel przyzębna boczna (*lateral periodontal cyst*)
- torbiel dziąsłowa dorosłych (*gingival cyst in adults*)
- torbiel gruczołowa zębopochodna/torbiel ślinowo-zębopochodna (*glandular odontogenic cyst/sialo-odontogenic cyst*)

- Zębopochodne zapalne (*inflammatory*)

- torbiel korzeniowa (*radicular cyst*)
 - okołowierzchołkowa lub boczna (*apical and lateral*)

- resztkowa (*residual*)
- torbiel przyzębna zapalna (*paradental inflammatory cyst*)

- Niezębopochodne (*nonodontogenic*)

- torbiel przewodu nosowo-podniebiennego/kanału przysiecznego (*naso-palatine duct/incisive canal cyst*)
- torbiel nosowo-wargowa/nosowo-zębodołowa (*nasolabial/nasoalveolar cyst*)

Do 2017 roku obowiązywała klasyfikacja WHO z 2005 roku [11]. W 2017 roku wprowadzono zmiany dotyczące rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego. Na podstawie współczesnych badań uznano, iż zmiana ta nie ma charakteru guza zębopochodnego i powinna być zaliczona do grupy torbieli. Zmieniono również nazwę na keratocysta zębopochodna (*odontogenic keratocyst*).

Klasyfikacja WHO 2017 r.: [96]

Zębopochodne torbiele zapalne (*odontogenic cysts of inflammatory origin*)

- torbiel korzeniowa (*radicular cyst*)
- torbiel zapalna dodatkowa (*inflammatory collateral cyst*)

Zębopochodne i niezębopochodne torbiele rozwojowe (*odontogenic and non-odontogenic developmental cysts*)

- torbiel zawiązkowa (*dentigerous cyst*)
- keratocysta zębopochodna (*odontogenic keratocyst*)
- torbiel boczna przyzębna zębopochodna (*lateral periodontal odontogenic cyst*)
- torbiel dziąsłowa (*gingival cyst*)
- torbiel gruczołowa zębopochodna (*glandular odontogenic cyst*)
- torbiel wapniejąca zębopochodna (*calcifying odontogenic cyst*)
- torbiel ortokeratynowa zębopochodna (*orthokeratinised odontogenic cyst*)
- torbiel przewodu nosowo-podniebiennego (*nasopalatine duct cyst*)

Ze względu na dużą różnorodność torbieli występujących w obrębie szczęki i żuchwy, ważnym aspektem jest prawidłowa diagnostyka. Konieczne jest wykonanie zdjęć radiologicznych badanych struktur. W pierwszej kolejności należy zrobić zdjęcie panoramiczne, dające informację o kształcie, umiejscowieniu, rozległości i budowie zmiany. Jeżeli zdjęcie w projekcji 2D jest niewystarczające, diagnostykę należy poszerzyć o wykonanie badania tomografii komputerowej [CT] lub stożkowej tomografii

komputerowej [CBCT]. Wiele torbieli szczęki i żuchwy daje charakterystyczny dla siebie obraz radiologiczny, należy jednak każdą zmianę poddać badaniu histopatologicznemu w celu ostatecznego potwierdzenia jej charakteru. Metodą z wyboru leczenia torbieli jest leczenie chirurgiczne, polegające na wyluszczeniu torbieli. W Europie najczęściej zmianę wyluszcza się w całości i wysyła do badania histopatologicznego. Przed przystąpieniem do zabiegu należy sprawdzić czy zmiana nie daje objawów mogących świadczyć o złośliwości. Na podstawie wyniku badania histopatologicznego ostatecznie zostanie stwierdzony charakter zmiany.

Torbiel korzeniowa

jest najczęściej występującą torbielą zapalną. Powstaje z gniazd komórek nabłonkowych Malasseza, które są pobudzane do wzrostu przez zakaźne czynniki niezębopochodne. Związana jest ściśle z zębem przyczynowym, zlokalizowana najczęściej w okolicy wierzchołka korzenia. Ząb, którego dotyczy najczęściej jest martwy, z zakażonymi kanałami lub zgorzelą miazgi. Czasami dotyka zębów niepoprawnie leczonych endodontycznie. Dotyczy głównie osób dorosłych, między 30 a 60 rokiem życia, częściej mężczyzn [15, 20, 61, 87]. Najczęściej zlokalizowana jest w przednim odcinku szczęki, następnie w tylnym szczęki, tylnym żuchwy i najrzadziej w przednim odcinku żuchwy [80]. Przeprowadzono badania oceniające jakie bakterie biorą udział w procesie tworzenia się torbieli korzeniowej. Wyniki tych badań wykazały dużą różnorodność bakterii beztlenowych i tlenowych. Stwierdzono, że wszystkie wyizolowane mikroorganizmy mogą także występować w składzie flory bakteryjnej jamy ustnej. Bakterie z rodziny *Streptococcus* były dominujące wśród wyizolowanych mikroorganizmów [91]. Klinicznie wzrost torbieli jest wolny i bezobjawowy, co pozwala na osiągnięcie dużych rozmiarów. Późnym objawem może być rozdęcie kości szczęki lub żuchwy, powodujące asymetrię twarzy, objaw perkusji, a także ból [7, 15, 20]. Pacjenci użytkujący protezy zębowe zgłaszają się z problemem niedopasowanego uzupełnienia protetycznego. Wraz ze wzrostem dochodzi do resorpcji otaczającej kości. Najczęściej torbiel wykrywana jest przypadkowo podczas diagnostyki radiologicznej. Radiologicznie torbiel daje cień o regularnym kształcie, najczęściej okrągłym w szczęce i owalnym w żuchwie. Zmiana ma wyraźnie zaznaczoną torebkę. Leczeniem z wyboru jest leczenie chirurgiczne – całkowite wyluszczenie zmiany wraz z usunięciem zęba przyczynowego [51, 61].

Keratocysta zębopochodna (*odontogenic ceratocyst*), w klasyfikacji wg WHO z 2005

roku rogowaciejąco-torbielowaty guz zębopochodny (*keratocystic odontogenic tumor, KCOT*)

Keratocysta jest torbielą rozwijającą się w kościach szczęki lub żuchwie. Rozwija się z nabłonka zębostwórczego wywodzącego się z komórek warstwy podstawnej nabłonka błony śluzowej jamy ustnej lub pozostałości blaszki zębowej. Torbiel może występować u osób w każdym wieku, jednak stwierdzono, że w drugiej i trzeciej dekadzie życia jest szczyt zachorowalności. Keratocysta zębopochodna częściej dotyka mężczyzn niż kobiet. Lokalizacja guza to głównie żuchwa - okolica kąta. Zdarzają się przypadki zajęcia kości szczęk, z bardziej agresywnym przebiegiem ze względu na szybki wzrost z objęciem otaczających struktur jak zatoka szczękowa, oczodół lub dół podskroniowy. Pomimo, iż keratocysta zaliczana jest do torbieli należy zwrócić uwagę, że wykazuje się miejscową złośliwością, ponieważ rozrastając się niszczy otaczające tkanki. Keratocysta rozwija się długo bezobjawowo, dlatego często zdarza się, że jest wykrywany podczas diagnostyki radiologicznej przypadkiem. Kiedy osiąga spore rozmiary powoduje rozdęcie otaczającej kości, a także asymetrię twarzy, czemu mogą towarzyszyć objawy bólowe. Na początku rozwija się w kości gąbczastej, w miarę wzrostu może zająć blaszkę zbitą kości niszcząc ją i obejmować tkanki miękkie. Keratocysta może powodować rozsuwanie się korzeni, a także rozchwianie zębów, jednak nie obserwuje się resorpcji korzeni. Histologicznie wyróżnia się dwa typy keratocysty: centralna (wewnątrzkościowa), którą można podzielić na parakeratotyczną, ortokeratotyczną i litą oraz obwodowa (zewnątrzkostna). Najczęstszym z nich jest wariant parakeratotyczny. Postać lita jest najbardziej agresywna. Typ zewnątrzkostny występuje niezwykle rzadko, odnotowano zaledwie kilka przypadków. Należy zauważyć, że keratocysta może być jedną ze składowych zespołu Gorlina-Goltza, występuje wtedy mnogo w obrębie kości szczęk i żuchwy. W diagnostyce radiologicznej objawia się na początku jako okrągłe lub owalne, jednokomorowe, dobrze odgraniczone przejaśnienie. W obrębie zmiany może znajdować się zatrzymany ząb. Kiedy jest sporych rozmiarów na zdjęciu ubytek kości jest wielokomorowy. Poza zdjęciem pantomograficznym należy poszerzyć diagnostykę o wykonanie tomografii komputerowej oraz rezonansu magnetycznego okolicy objętej zmianą. Opisano wiele metod leczenia keratocysty, od zachowawczych przez agresywne aż po radykalne. Zachowawczo, leczenie polega na wyluszczeniu w całości, marsupializacji lub zastosowaniu leczenia dwuetapowego z odbarczeniem i wyluszczeniem. Ta metoda pozwala na zachowanie tkanek i struktur otaczających zmianę, jednak po jej zastosowaniu jest największe prawdopodobieństwo nawrotu choroby, dlatego stosowana jest rzadko i tylko w przypadku małych zmian. Metody agresywne polegają na wyluszczeniu torbieli w całości, a następnie

zastosowaniu krioterapii ciekłym azotem lub roztworem Carnoya w miejscu wystąpienia zmiany. Najbardziej radykalnym sposobem jest resekcja odcinkowa kości objętej procesem chorobowym. Ta metoda daje największą pewność, że torbiel została usunięta w całości, a ryzyko nawrotu jest najmniejsze. Jej minusem jest rozległość zabiegu. Niezależnie od zastosowanej metody chorzy powinni być okresowo kontrolowani przez wiele lat ze względu na nawracający charakter zmiany [4, 19, 39, 41, 84, 95].

1.2. Guzy zębopochodne

Guzy zębopochodne szczęki i żuchwy są zróżnicowaną grupą nowotworów, choć występują rzadko. Mogą one rozwijać się wewnątrzkośnie lub obwodowo. Podzielić je można na proliferacje tkankowe, zmiany łagodne oraz złośliwe. Histogeneza guzów zębopochodnych jest złożona, mogą się wywodzić z nabłonka, ektomezenchymy lub mezenchymy. Etiologia guzów zębopochodnych nie jest poznana. Nowotwory te występują u osób w różnym wieku i o różnej płci, częściej u mężczyzn. Wzroście nowotworów tej grupy bardzo często towarzyszy resorpcja otaczającej kości. Najczęściej są to zmiany łagodne, lecz odnotowano przypadki zmian złośliwych i miejscowo złośliwych. Obraz zmian często jest niecharakterystyczny dlatego ważna jest wnikliwa diagnoza wszystkich czynników mogących mieć wpływ na powstawanie guza. Ocenie należy obraz kliniczny, obraz radiologiczny, lokalizację guza, wiek i płeć pacjenta oraz wykonać badanie mikroskopowe. W celu wykonania możliwie najdokładniejszego badania powinno się rozszerzyć diagnostykę obrazową o badanie TK, CBCT czy też MRI [13, 39, 60, 84]. Ze względu na duże zróżnicowanie nowotworów zębopochodnych próby ich klasyfikacji nie są do końca zadowalające.

Do 2017 roku obowiązywała klasyfikacja WHO z 2005 roku [11], która została użyta podczas badań do rozprawy doktorskiej.

Klasyfikacja wg WHO z 2005 r.:

Guzy łagodne (*benign tumours*)

- Guzy zawierające nabłonek zębotwórczy z dojrzałym, włóknistym podścieliskiem, bez zębopochodnej ektomezenchymy (*odontogenic epithelium tumours with mature, fibrous stroma without odontogenic ectomesenchyme*)

- szkliwiak lity/wielokomorowy (*ameloblastoma, solid/multicystic type*)
- szkliwiak zewnątrzkośny/obwodowy (*ameloblastoma, extraosseous/peripheral type*)
- szkliwiak desmoplastyczny (*ameloblastoma, desmoplastic type*)
- szkliwiak jednokomorowy (*ameloblastoma, unicystic type*)

- płaskonabłonkowy guz zębopochodny (*squamous odontogenic tumour*)
- wapniejący nabłonkowy guz zębopochodny (*calcifying epithelial odontogenic tumour*)
- pseudogruczołowy guz zębopochodny (*adenomatoid odontogenic tumour*)
- rogowaciejąco-torbielowaty guz zębopochodny (*keratocystic odontogenic tumour*)

- Guzy zawierające nablonek zębotwórczy i zębopochodną ektomezenchymę, mogące tworzyć twarde struktury tkankowe (*odontogenic epithelium tumours with odontogenic ectomesenchyme, with or without hard tissue formation*)

- włókniak szkliwiakowy (*ameloblastic fibroma*)
- włókniakozębiniak szkliwiakowy (*ameloblastic fibro-dentinoma*)
- włókniakozębiak szkliwiakowy (*ameloblastic fibro-odontoma*)
- zębiak (*odontoma*)
- zębiak zestawny (*odontoma, compound type*)
- zębiak złożony (*odontoma, complex type*)
- zębiakoszkiwiak (*odontoameloblastoma*)
- wapniejący torbielowaty guz zębopochodny (*calcifying cystic odontogenic tumour*)
- zębinopochodny guz zawierający komórki cienie (*dentinogenic ghost cell tumour*)

- Guzy zawierające mezenchymę i/lub zębopochodną ektomezenchymę, mogące również zawierać nablonek zębotwórczy (*mesenchyme and/or odontogenic ectomesenchyme tumours with or without odontogenic epithelium*)

- włókniak zębopochodny (*odontogenic fibroma*)
- śluzak zębopochodny (*odontogenic myxoma/myxofibroma*)
- kostniwiak (*cementoblastoma*)

- Zmiany związane z kością (*bone-related lesion*)

- włókniak kostniejący (*ossifying fibroma*)
- dysplazja włóknista (*fibrous dysplasia*)
- dysplazje kostne (*osseous dysplasias*)
- wewnątrzkościenna zmiana olbrzymiokomórkowa (*central giant cell lesion*)
- cherubizm/aniołkowatość (*cherubism*)
- torbiel (jama) tętniakowata kości (*aneurysmal bone cyst/cavity*)
- samotna torbiel (jama) kostna (*simple bone cyst*)

Złośliwe zębopochodne guzy (*malignant odontogenic tumours*)

- Raki zębopochodne (*odontogenic carcinomas*)

- szkliwiak złośliwy/przerzutujący (*metastasizing/malignant ameloblastoma*)
- rak szkliwiakowy (*ameloblastic carcinoma*)
 - typ pierwotny (*primary type*)
 - typ wtórny wewnątrzkościenny (*secondary type intraosseous*)
 - typ wtórny obwodowy (*secondary type peripheral*)
 - pierwotny wewnątrzkościenny rak płaskonabłonkowy (*primary intra-osseous squamous cell carcinoma*)
 - typ lity (*solid type*)
 - powstający na podłożu rogowaciejaco-torbielowatego guza zębopochodnego (*derived from keratocystic odontogenic tumour*)
 - powstający na podłożu torbieli zębopochodnej (*primary intraosseous squamous cell carcinoma derived from odontogenic cyst*)
 - jasnokomórkowy rak zębopochodny (*clear cell odontogenic carcinoma*)
 - zębopochodny rak zawierający komórki cienie (*ghost cell odontogenic carcinoma*)

- Mięsaki zębopochodne (*odontogenic sarcomas*)

- włókniakomięsak szkliwiakowy (*ameloblastic fibrosarcoma*)
- włókniakozębiniakomięsak szkliwiakowy i włókniakozębiakomięsak szkliwiakowy (*ameloblastic fibrodentinosarcoma and ameloblastic fibroodontosarcoma*)

- Inne guzy (*other tumours*)

- melanotyczny neuroektodermalny guz okresu niemowlęcego (*melanotic neuroectodermal tumour of infancy*)

Obecnie klasyfikacja guzów zębopochodnych została zmieniona i przedstawia się następująco (WHO 2017 r.) [96]:

Guzy złośliwe (*malignant tumours*)

-Raki zębopochodne (*odontogenic carcinomas*)

- rak szkliwiakowy (*ameloblastic carcinoma*)
- szkliwiak złośliwy przerzutujący (*metastasizing/malignant ameloblastoma*)
- pierwotny wewnątrzkościenny rak (*primary intraosseous carcinoma*)
- sklerotyczny rak zębopochodny (*sclerosing odontogenic carcinoma*)
- jasnokomórkowy rak zębopochodny (*clear cell odontogenic carcinoma*)

- zębopochodny rak zawierający komórki cienie (*ghost cell odontogenic carcinoma*)

-Mięsaki zębopochodne (*odontogenic sarcomas*):

- mięsakorak zębopochodny (*odontogenic carcinosarcoma*)
- mięsak zębopochodny (*odontogenic sarcoma*)

Guzy łagodne (*benign tumours*)

-Zębopochodne guzy nabłonkowe (*epithelial odontogenic tumours*):

- szkliwiak jednokomorowy (*ameloblastoma, unicystic type*)
- szkliwiak zewnątrzkościowy/obwodowy (*ameloblastoma, extraosseous/ peripheral type*)
- płaskonabłonkowy guz zębopochodny (*squamous odontogenic tumour*)
- wapniejący nabłonkowy guz zębopochodny (*calcifying epithelial odontogenic tumour*)
- pseudogruzołowy guz zębopochodny (*adenomatoid odontogenic tumour*)

-Zębopochodne guzy mieszane nabłonkowo-mezenchymalne (*mixed epithelial and mesenchymal odontogenic tumours*):

- włókniak szkliwiakowy (*ameloblastic fibroma*)
- pierwotny guz zębopochodny (*primordial odontogenic tumour*)
- zębiak (*odontoma*)
- zębiak zastawny (*odontoma, compound type*)
- zębiak złożony (*odontoma, complex type*)
- zębinopochodny guz zawierający komórki cienie (*dentinogenic ghost cell tumour*)

-Zębopochodne guzy mezenchymalne (*mesenchymal odontogenic tumours*)

- włókniak zębopochodny (*odontogenic fibroma*)
- śluzak zębopochodny (*odontogenic myxoma/myxofibroma*)
- kostniwiak (*cementoblastoma*)
- włókniak cementokostniejący (*cemento-ossifying fibroma*)

Guzy zębopochodne występują w obrębie kości szczęki i żuchwy lub obwodowo w otaczających tkankach miękkich. Wraz ze wzrostem guza dochodzi do resorpcji tkanki kostnej. Nowotwory te najczęściej powstają *de novo*, bez działania czynnika patologicznego, choć ich etiologia nie jest do końca znana. Najczęściej są to zmiany łagodne i miejscowo złośliwe, rzadziej złośliwe. Objawy kliniczne są niespecyficzne, konieczne jest wykonanie badań obrazowych i histopatologicznych w celu potwierdzenia diagnozy. Nowotwory łagodne wzrastają powoli, nie dając objawów bólowych, w przeciwieństwie do guzów złośliwych, gdzie silny ból jest jednym z pierwszych objawów

klinicznych. Przy szybkim wzroście objawem towarzyszącym jest deformacja twarzy. Ważnym elementem diagnostyki jest wykonanie zdjęcia pantomograficznego, tomografii komputerowej oraz rezonansu magnetycznego w celu oceny rozległości i zasięgu guza i jego struktury wewnętrznej. Leczenie guzów zębopochodnych polega na chirurgicznym usunięciu w całości [44, 60, 84].

1.2.1 Zębopochodne guzy nabłonkowe (epithelial odontogenic tumours)

Szkliviak (*ameloblastoma*) należy do grupy guzów łagodnych. Występuje tylko w obrębie kości szczęki i żuchwy [102]. Jest nabłonkowego pochodzenia, rozwijać się może z pozostałości listewki zębowej, narządu szklivotwórczego, komórek wysp Malasseza, a także nabłonka torbieli zawiązkowej [23, 78]. Częstotliwość występowania szkliviaka ocenia się na 1% wszystkich guzów i torbieli zębopochodnych. Guz ten może występować w każdym wieku jednak szczyt stwierdzony jest w 2-5 dekadzie życia. Występowanie szkliviaka dotyczy kobiet i mężczyzn w podobnym stopniu [81]. Częściej pojawia się w żuchwie (80% przypadków) niż w szczęce (20% przypadków). W żuchwie głównie umiejscowiony jest w okolicy zębów trzonowych lub kąta żuchwy natomiast w szczęce najczęściej w okolicy trzonowców. Ze względu na budowę morfologiczną kości żuchwy, przebieg i rozprzestrzenianie się szkliviaka jest mniej agresywne niż w szczęce. W obrazie radiologicznym guz może mieć różny wygląd, w zależności od jego typu. Najczęściej jednak, jest to jedno lub wielokomorowy ubytek kości. Klinicznie szkliviak rozwija się wolno, nie dając objawów bólowych. W pierwszej kolejności dotyka kość gąbczastą, następnie rozrastając się sięga kości zbitiej, co może powodować wystąpienie objawu chrzęstu pergaminowego, a następnie objawu chełbotania. Szkliviak może osiągać spore rozmiary, deformując kość i powodując asymetrię twarzy. Guz jest twardy, nieprzesuwalny względem otaczających tkanek, może powodować rozchwianie tkwiących w nim zębów. Leczeniem z wyboru jest chirurgia - odcinkowa resekcja z zachowaniem marginesu zdrowych tkanek 0,5-1 cm. Rokowanie jest dobre, jeśli zastosuje się wczesne i doszczętne leczenie chirurgiczne. Nawrotowość ocenia się w zależności od typu, umiejscowienia, rozległości oraz sposobu leczenia szkliviaka i waha się między 3,6 a 90%. Klasyfikacja WHO z 2005 roku wyróżniała 4 typy szkliviaka: [1, 8, 9, 21, 22, 30, 39, 40, 42, 56, 72, 100].

- lity (*solid, multicystic ameloblastoma*)
- jednokomorowy (*unicystic ameloblastoma*)
- zewnętrzny/obwodowy (*extraosseus/peripheral ameloblastoma*)

- desmoplastyczny (*desmoplastic ameloblastoma*)

W 2017 roku została wprowadzona nowa klasyfikacja przez WHO, która uwzględnia 2 typy szkliwiaka: [96]

- szkliwiak jednokomorowy (*ameloblastoma, unicystic type*)
- szkliwiak zewnątrzkościowy/obwodowy (*ameloblastoma extraosseous/peripheral type*)

Szkliwiak jednokomorowy (*unicystic ameloblastoma*) to łagodny zębopochodny nowotwór. Nie jest tak częsty jak szkliwiak lity, obejmuje od 5 do 15% wszystkich szkliwiaków. Powstaje de novo, z pozostałości listewki zębowej nabłonka zębotwórczego. Nowotwór ten często bywa powiązany z zatrzymanym zębem. Występuje u młodych dorosłych, najczęściej w drugiej dekadzie życia. Nie zaobserwowano związku częstości obserwowania z płcią pacjentów. Lokalizacja szkliwiaka jednokomorowego w 90% dotyczy żuchwy, głównie w okolicy trzecich zębów trzonowych i kąta żuchwy. Klinicznie nowotwór długo pozostaje bezobjawowy, często wykrywany jest przypadkowo podczas kontroli radiologicznej. Wzrost guza jest rozprężający, zanik kości powstaje na skutek ucisku. W późniejszych stadiach, może dochodzić do rozděcia kości i asymetrii twarzy. Radiologicznie w 80% przypadków szkliwiak jednokomorowy przypomina torbiel zawiązkową dlatego ważne jest wnikliwe i dokładne rozpoznanie przed rozpoczęciem leczenia. Morfologicznie wyróżnia się trzy typy szkliwiaka jednokomorowego: luminalny, intraluminalny oraz śródścienny. Typ luminalny charakteryzuje się budową torbielowatą o ścianie wyścielonej przez ameloblastyczny nabłonek. W typie intraluminalnym może występować guzkowata proliferacja nabłonka ameloblastycznego pojedynczo lub mnogo, wnikając do środka zmiany, czasem całkowicie zamykając jej światło. Typ śródścienny cechuje obecność utkania typowego szkliwiaka splotowatego lub pęcherzykowego w ścianie struktury torbielowatej. Ze względu na obraz radiologiczny, jaki daje szkliwiak jednokomorowy, przypominający torbiel zawiązkową, dopiero badanie histopatologiczne zmiany wskazuje prawidłową diagnozę. Metodą leczenia jest usunięcie guza w całości z wykonaniem obwodowej osteotomii lub w połączeniu z krioterapią ciekłym azotem. Chorych należy kontrolować radiologicznie przez długi okres, czasem do końca życia [6, 12, 39, 57].

Szkliwiak zewnątrzkościowy/obwodowy (*extraosseous/peripheral ameloblastoma*) jest nowotworem występującym w tkankach miękkich. Pierwszy przypadek tego typu szkliwiaka został udokumentowany przez Stanley'a i Krogh'a w 1959 roku. Jest nowotworem rzadkim i stanowi 1-5% wszystkich szkliwiaków. Powstaje z komórek podstawnych nabłonka dziąsłowego lub z nabłonka zębopochodnego znajdującego się w

obrębie dziąsłowej blaszki zbitej właściwej. Guz może rozwijać się u osób w każdym wieku, jednak najczęściej dotyczy osób starszych. Dwukrotnie częściej dotyczy mężczyzn. Szkliwiak zewnątrzkościowy lokalizuje się na błonie śluzowej wyrostków zębodołowych kości szczęk oraz dwukrotnie częściej, wyrostka zębodołowego żuchwy. Głównie występuje jednoogniskowo, choć opisano przypadki lokalizacji wielogniskowej. Klinicznie nowotwór jest twardym, niebolesnym egzofitycznym guzem w kolorze różowym. Jego powierzchnia może być gładka lub brodawkowata. Może być różnych rozmiarów jednak raczej nie przekracza dwóch centymetrów średnicy. Pomimo, iż szkliwiak zewnątrzkościowy występuje w tkankach miękkich może niszczyć kość poprzez ucisk. Dlatego podczas diagnostyki zawsze konieczne jest wykonanie zdjęcia radiologicznego w celu oceny stanu kości w okolicy zmiany. Choć szkliwiak zewnątrzkościowy ma łagodny charakter może ulec zezłośliwieniu ze względu na wiek pacjentów, których dotyka, a także przez częste drażnienie zmiany na przykład uzupełnieniami protetycznymi. Nowotwór ten należy różnicować z olbrzymiokomórkowym nadziąślakiem reaktywnym, olbrzymiokomórkową zmianą wewnątrzkościową, włóknakiem kostniejącym, płaskonabłonkowym guzem zębopochodnym, a także obwodową postacią włóknaka zębopochodnego. Leczenie chirurgiczne jest metodą z wyboru. Należy usunąć guza w całości razem z graniczącą ze zmianą okostną. Diagnozę zawsze należy potwierdzić badaniem histopatologicznym. Nawrotowość szkliwiaka zewnątrzkościowego jest niewielka, jednak chorzy powinni być okresowo kontrolowani klinicznie i radiologicznie [28, 39, 84, 85].

1.3. Metaloproteinazy

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *matrix metalloproteinase*, MMPs) zaliczają się do rodziny endopeptydaz, które do aktywacji i poprawnego działania potrzebują jonów cynku. Jako pierwsi enzymy te opisali Jerome Gross i Charles Lapierre. Obserwowali rozwój i przekształcanie się gatunku żaby *Rana Catesbiana* od kijanki do postaci dorosłej. Odkryli, że podczas przeobrażania w ogonie kijanki znajduje się bardzo duże stężenie kolagenaz, dzięki którym dochodzi do szybkiego rozpadu kolagenu. Obecnie wyróżnia się 22 typy MMPs występujących w organizmie człowieka.

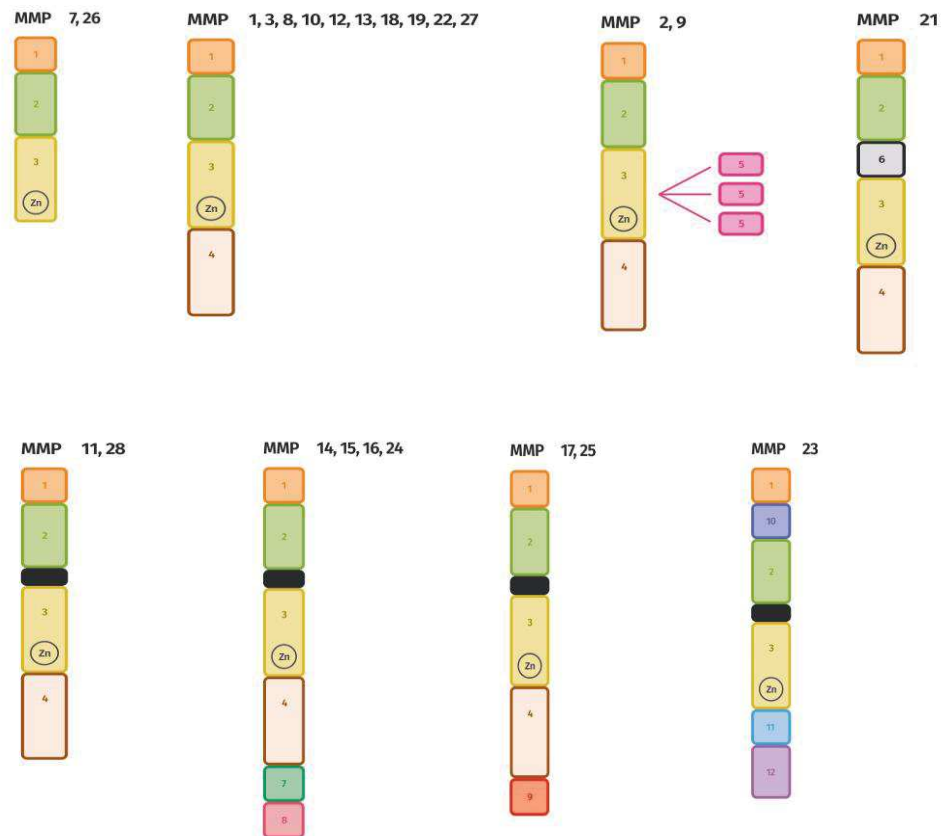
MMPs podzielone są na grupy, ze względu na ich substratową swoistość oraz różnice w strukturze łańcucha białkowego. Metaloproteinazy dzieli się na sześć klas: błonowe MMPs, kolagenazy, żelatynazy, stromielizyny, matrylizyny oraz inne MMPs, niezakwalifikowane do żadnej z tych grup [24, 47, 49, 50, 55, 59, 109]. Tabela 1 przedstawia podział MMPs występujących u kręgowców.

Tabela 1. Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej występujące u kręgowców
Table 1. Matrix metalloproteinases located in vertebrates

MMP	Nazwa potoczna	Substrat
MMP1	Kolagenaza	kolagen typ I, II, III, V, VII, VIII, X
MMP2	Gelatynaza	kolagen typ I, IV, V, VII, X, żelatyna, elastyna
MMP3	stromelizyna 1, proteoglikanaza	elastyna, progligany, agrekany, żelatyna, proMMP1, -8, -9
MMP7	matrylizyna, metaloendopeptydaza	kolagen typ IV, glikoproteiny, żelatyna
MMP8	kolagenaza2	kolagen typ I, II, III, IV
MMP9	gelatynaza B	kolagen typ IV, żelatyna, laminan
MMP10	stromelizyna 2	kolagen typ I, II, III, V
MMP11	stromelizyna 3	laminan, inhibitor 1 proteinazy, antytrypsyna
MMP12	elastaza, MME	Elastyna
MMP13	kolagenaza 3	kolagen typ I, II, III, IV, V, IX, X, XI, żelatyna, laminan

MMP	Nazwa potoczna	Substrat
MMP14	MT1-MMP	kolagen typ I, II, III, żelatyna, laminan agrekany, proMMP2, - 13
MMP15	MT2-MMP	kolagen typ I, II, III, żelatyna, proMMP-13
MMP16	MT3-MMP	kolagen typ I, II, laminan, proMMP2, - 13
MMP17	MT4-MMP	fibronektyna, fibryna, żelatyna
MMP18	kolagenaza 4, Xsenopus	
MMP19	RASI 1	
MMP20	Enamelizyna	amelagenina, agrekany
MMP23	CA-MMP	
MMP24	MT5-MMP	proMMP2, -13
MMP25	MT6-MMP	proMMP2, -13
MMP26	matrylizyna, endometaza	

Charakterystyczną cechą metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej jest domenowa budowa. Każda składa się z przynajmniej jednej prodomeny i jednej domeny katalitycznej. W obrębie domeny katalitycznej znajduje się sekwencyjny motyw aminokwasowy (HEXXHXXGXXH), zawiera on trzy reszty histydynowe odpowiadające za wiązanie jonu cynku. Prodomena, ze względu na obecność reszty cysteinowej, może blokować aktywność enzymatyczną. W budowie MMP często występuje domena hemopeksynowa, odpowiadająca za działanie z inhibitorami, rozpoznawanie odpowiednich substratów czy wiązanie w prawidłowym miejscu do macierzy zewnątrzkomórkowej. Poza elementami budulcowymi występującymi w każdej z grup MMPs, każda z nich ma dla siebie charakterystyczne, związane z pełnioną przez nie funkcją. Na rycinie 1 przedstawiono domenową budowę enzymów z uwzględnieniem podziału na poszczególne grupy [24, 31, 38, 43, 50, 101, 108].



Ryc. 1. Budowa domen MMP. 1. Peptyd Sygnałowy, 2. Prodomena, 3. Domena Katalityczna z atomem cynku, 4. Domena Hemopeksyny, 5. Potrójne powtórzenie Fibronektyny, 6. Insert Witronektyny, 7. Domena Transbłonowa typu I, 8. Fragment Cytoplazmatyczny, 9. Domena kotwicząca do Glikofosfatydyloinozytolu, 10. Domena Transbłonowa typu II, 11. Domena bogata w Cysteinę, 12. Domena Immunoglobulinopodobna

Fig. 1. Describes the construction of individual MMP domains 1. Signal Peptide, 2. Prodomain, 3 Zinc Catalytic Domain, 4. Hemopexin Domain, 5. Triple Reproduction of Fibronectin, 6. Witronectin Insert, 7. Type I Transmembrane Domain, 8. Cytoplasmatic domain, 9. Glycophosphatidylinositol Anchoring Domain, 10. Type II Transmembrane Domain, 11. Cysteine - rich domain, 12. immunoglobuline-like domain

Metaloproteinazy błonowe (ang. *membrane-bound MMPs*, MT-MMPs) dzielą się na dwie grupy enzymów w zależności od sposobu przyłączenia do błony komórkowej. Pierwsza z nich, w skład której wchodzi dwa enzymy - MMP17 (MT4-MMP) oraz MMP25 (MT6-MMP) łączy się za pomocą glikofosfatydyloinozytolu (GPI). Odpowiadają one za degradację makrocząsteczek macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *extracellular matrix*, ECM). Drugą grupę stanowią: MMP14 (MT1-MMP), MMP15 (MT2-MMP), MMP16 (MT3-MMP), MMP24 (MT5-MMP). Posiadają one w swej budowie domenę składającą się z reszt aminokwasowych oraz cytoplazmatycznego fragmentu, dzięki którym łączą się z błoną komórkową [24, 55, 65, 90].

Kolagenazy w swojej budowie zawierają dodatkowo domenę hemopeksynową oraz łącznik elastyczny. Do tej grupy zalicza się MMP1, MMP8, MMP13 i MMP18. Do substratów tej grupy metaloproteinaz zalicza się kolagen typu I, II, III, V, IX [5, 24, 54, 55, 66].

Żelatynazy to grupa metaloproteinaz potrafiących związać się z żelatyną, kolagenem oraz lamininą. W budowie ich domeny katalitycznej potrójnie zawarta jest fibronektyna typu II. Należy tu MMP2, który rozkłada kolagen typu I, II, III oraz wpływa na prawidłowy rozwój kości, a także MMP9, który odgrywa dużą rolę w procesie gojenia się ran [24, 55, 66].

Stromielizyny, do których należą MMP3 oraz MMP10 posiadają bardzo podobną swoistość substratową i trawią ECM. Należy jednak zwrócić uwagę, że MMP3 odpowiada także za aktywację wielu zymogenów MMP [24, 55].

Matrylizyny posiadają najmniejszą budowę ze wszystkich metaloproteinaz. W ich skład wchodzi prodomena, domena katalityczna i peptyd sygnałowy. Do tej grupy zalicza się MMP1, MMP7, MMP26. Substratami matrylizyn są: ECM, pro-TNF α , Fas-ligand, a także E-kadheryna. Biorą udział w procesie programowanej śmierci komórki [24, 55, 58].

Pozostałe metaloproteinazy, które nie zostały zaliczone do żadnej z powyższych grup ze względu na ich budowę i pełnioną funkcję. Do nich zaliczamy: MMP12, MMP19, MMP20, MMP21, MMP23, MMP27, MMP28 [24, 55].

Główną funkcją jaką pełnią metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej jest degradacja białek macierzy zewnątrzkomórkowej ECM. Należą do nich kolageny, elastyny, proteoglikany, lamininy, a także fibronektyny, agrekany, entaktyny [67]. Dzięki temu dochodzi do ułatwienia migracji komórek poprzez zniesienie barier strukturalnych i chemicznych. Poza tym, w obrębie ECM znajduje się wiele rodzajów czynników wzrostu i molekuł na które mogą oddziaływać MMPs. Ich działanie ma wpływ na wiele procesów biologicznych fizjologicznych (embriogeneza, przebudowa tkanek, apoptoza, angiogeneza) i patologicznych (nowotwory, choroba Alzheimera, choroby układu

sercowo-naczyniowego, choroby oczu, stany zapalne). Podczas degradacji białek macierzy zewnątrzkomórkowej dochodzi do zniszczenia oddziaływań między macierzą a komórką. Powoduje to odcięcie komórki od wszelkich bodźców z otoczenia, a co za tym idzie do śmierci komórki. MMPs oprócz ECM degradują inne molekuly zawarte na powierzchni błony komórkowej, takie jak chemokiny, cytokiny czy czynniki wzrostu. Do pozytywnych cech MMP należy możliwość aktywacji czynnika martwicy nowotworu α (TNF α), który odpowiada za proliferację limfocytów B i T, wzrost toksyczności komórek NK, stymulację fagocytozy. Kolejną właściwością MMP jest możliwość formułowania błonowych receptorów, co bardzo pomaga rozwojowi nowotworu ponieważ hamuje zdolność limfocytów T do infiltracji guza. MMPs mają zdolność aktywacji chemokin z rodziny CXC takich jak: interleukina 8, czynniki płytkowe, peptydy aktywujące granulocyty obojętnochłonne oraz z rodziny CC, jak MCP3 [10, 18, 24, 43, 46, 55, 92].

1.4. MT1-MMP

MT1-MMP (ang. *membran type 1 - matrix metalloproteinase*) należy do rodziny metaloproteinaz błonowych [94]. Do błony komórkowej przyłącza się za pomocą reszt aminokwasowych i fragmentu cytoplazmatycznego. Jako pierwszy MT1-MMP został wyodrębniony jako aktywator kierunku pro MMP2. Przeprowadzono wiele badań w celu określenia budowy i funkcji tej metaloproteiny zwłaszcza w odniesieniu do rozwoju nowotworów. Songyu Chen i wsp. [17] stwierdzili, że MT1-MMP wpływa stymulująco na rozwój glejaka, migrację i inwazję jego komórek, a także na proces angiogenezy. Rycina 2 przedstawia budowę cząsteczki MT1-MMP.



Ryc. 2. Przedstawia budowę domeny MT1-MMP. 1. Peptyd sygnałowy, 2. Prodomena, 3. Motyw RRKR, który jest rozpoznawany i cięty przez probiałka konwertazy PCS w celu aktywacji, 4. Domena katalityczna wraz z atomem cynku (aktywującym jej aktywność proteolityczną), 5. L-1 (łącznik-1) łączący domenę katalityczną z domeną hemopeksynową. Do niego podłączone są cztery reszty O-Gly mające wpływ na aktywację kierunku proMMP2, 6. Domena hemopeksynowa. Posiada ona wiązanie disulfidowe, łączące re reszty cysteinowe. Zawarty jest w niej interfejs tworzenia homodimeru i interakcji z CD44 i CD63, 7. L-2 (łącznik-2) łączący domenę hemopeksynową z domeną transbłonową, 8. Domena transbłonowa, 9. CP - Ogon Cytoplazmatyczny, zawiera trzy określone sekwencje odpowiedzialne za oddziaływanie z białkiem adaptera 2, co jest istotne dla klatryny, pośredniczy w palmitoilacji (Cys574) internalizacji (LLY573), i recyklingu (DKV583). Domena CP także współdziała z MTCBP-1

Fig. 2. Describes the constructions of MT1-MMP domain. 1. Signal peptide, 2. Prodomain, 3. RRKR motif, recognised and cleaved by a PCS transducer for activation, 4. Catalytic domain with the zinc atom (activating its proteolytics activity), 5. L-1 (linker-1) linking the catalytic domain to the hemopexin domain, there are four O-Gly residues attached to it that affect the activation of the pro-MMP2 direction, 6. The hemopexin domain, it has a disulfide bond that connects the cysteine spacer. It contains a homodimer interface and interaction with CD44 and CD63, 7. L-2 (linker-2) linking the hemopexin domain to the transmembrane domain, 8. Transmembrane domain, 9. CP- the cytoplasmic tail contains three specific sequences responsible for the interaction with adapter protein 2, which is important for the clatrin, mediates in the palmitoylation (Cys574), internalisation (LLY573), and recycling (DKV583). The CP domain also interacts with MTCBP-1

MT1-MMP odgrywa bardzo ważną rolę w procesach biologicznych zachodzących w organizmie człowieka. Bierze udział w przebudowie błony komórkowej, migracji komórek a także w procesie apoptozy i angiogenezy [35, 82, 89, 94, 107]. Zwiększoną ekspresję tej błonowej metaloproteiny stwierdzono także w przebiegu wielu nowotworów takich jak rak piersi, rak sutka, rak szyjki macicy, rak prostaty, rak okrężnicy, płaskonabłonkowy rak płuc, gruczolakorak żołądka [17]. Ze względu na swoje sekwencyjne działanie MT1-MMP ma wpływ na nawrotowość nowotworów. Funkcją metaloproteiny błonowej typu 1 jest przede wszystkim zwiększanie migracji komórek poprzez degradację składników makrocząsteczek ECM. Jego substratami są: kolagen I, kolagen II, kolagen III, fibronektyna, laminina, witronektyna, fibryna oraz agrekan. Kolagen jest bardzo ważnym składnikiem budulcowym tkanek organizmu człowieka, bardzo powszechnym i stanowi główną barierę dla migracji komórek. MT1-MMP jest jedyną metaloproteiną zakotwiczoną w błonie komórkowej rozkładającą kolagen [45, 89, 104]. Dodatkowo współdziała i przetwarza pro-MMP2 oraz pro-MMP13, CD44, syndekan. Na funkcje MT1-MMP może działać wiele czynników zewnętrznych pozytywnie lub negatywnie [35]. Na rycinie 3 przedstawiono aktywność biologiczną MT1-MMP oraz jej regulację.



Ryc. 3. Przedstawia aktywność biologiczną MT1-MMP i jej regulację. MT1-MMP działa na wzrost migracji i inwazji komórek poprzez: bezpośrednią degradację ECM, aktywację pro-MMP2 i pro-MMP13, przemieszczenie CD44 i syndekanu-1, aktywację ERK oraz przetwarzanie lamininy 5. Te procesy wzmocniane są przy pomocy: TIMP2, dimerów, internalizacji klatryny, Palmitolowania oraz interakcji z CD44. Hamująco działają: RECK, CD63, TIMP3, N-TES oraz autodegradacja

Fig 3. Describes the biological activity of MT1-MMP and its regulation. MT1-MMP works to increase migration and invasion of cells by: direct ECM degradation, pro-MMP2 and pro-MMP13 activation, CD44 and syndecan-1 displacement, ERK activation and laminin-5 processing. These processes are enhanced by TIMP2, dimers, clatrin internalisation, palmitolation and interaction with CD44. Inhibitors are: RECK, CD63, TIMP3, N-TES and autodegradation

1.5. RECK

RECK (ang. *reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs*) jest supresorem wielu nowotworów. Jest zakotwiczony w błonie komórkowej wszystkich komórek człowieka. RECK pełni bardzo ważną rolę w procesach fizjologicznych zachodzących w organizmie, takich jak różnicowanie komórkowe, apoptoza, angiogeneza, prawidłowe gojenie się ran. RECK ma hamujący wpływ na proces inwazji i progresji nowotworów ze względu na możliwość regulacji MMPs [48, 53, 86]. Przede wszystkim RECK oddziałuje na MMP2, MMP9 oraz MT1-MMP [29, 103, 105]. Opisano kilka mechanizmów, dzięki którym dochodzi do hamowania aktywności MMPs, są to: regulowanie wydzielania MMP2 z komórki, zahamowanie bezpośrednio aktywności proteazy oraz wyłapywanie MMPs na powierzchni komórek. MMP2 oraz MMP9 należą do grupy żelatynaz i posiadają zdolność do degradowania kolagenu, który jest głównym składnikiem budulcowym błony komórkowej. Obie mają duży wpływ na prawidłowość wielu procesów fizjologicznych, jednak ich wzmożona ekspresja pozwala na rozwój wielu nowotworów. MT1-MMP aktywuje MMP2 oraz trawi składniki ECM przez rozszczepienie bezpośrednio substratów. W aktywacji MMP2 dużą rolę odgrywa TIMP2, który powoduje tworzenie mostków między MT1-MMP a proMMP2, następnie dochodzi do powstania aktywnej formy MMP2. Ponadto MT1-MMP, MMP2 oraz TIMP2 biorą udział w procesie aktywacji proMMP9 do MMP9. RECK reguluje MMP9 na dwa sposoby. Pierwszym z nich jest tłumienie wydzielania proMMP9 z komórek, a drugim jest bezpośrednio zahamowanie jego enzymatycznej aktywności [73, 103, 105]. Dzięki temu dochodzi do zmniejszenia inwazji komórek nowotworowych i powstawania przerzutów. RECK może pośrednio wpływać na czynniki wzrostu zakotwiczone w błonie komórkowej. RECK odgrywa ważną rolę w procesie angiogenezy. Angiogeneza jest procesem polegającym na tworzeniu nowych naczyń krwionośnych, gdzie dochodzi do przebudowy błony podstawnej naczyń i macierzy zewnątrzkomórkowej. Jest bardzo częstym zjawiskiem występującym w procesie tworzenia nowotworów. Podczas gdy ekspresja RECK jest duża dochodzi do hamowania aktywności MMPs a za tym idzie ograniczenie przebudowy ECM i zastopowanie tworzenia Nowych naczyń krwionośnych, dzięki czemu komórki nowotworowe są zdecydowanie mniej odżywione i podatne na rozrost. Rycina 4 przedstawia hamujące działanie RECK na MMP.

W komórkach o prawidłowej budowie ekspresja RECK jest w równowadze z ekspresją metaloproteinaz.

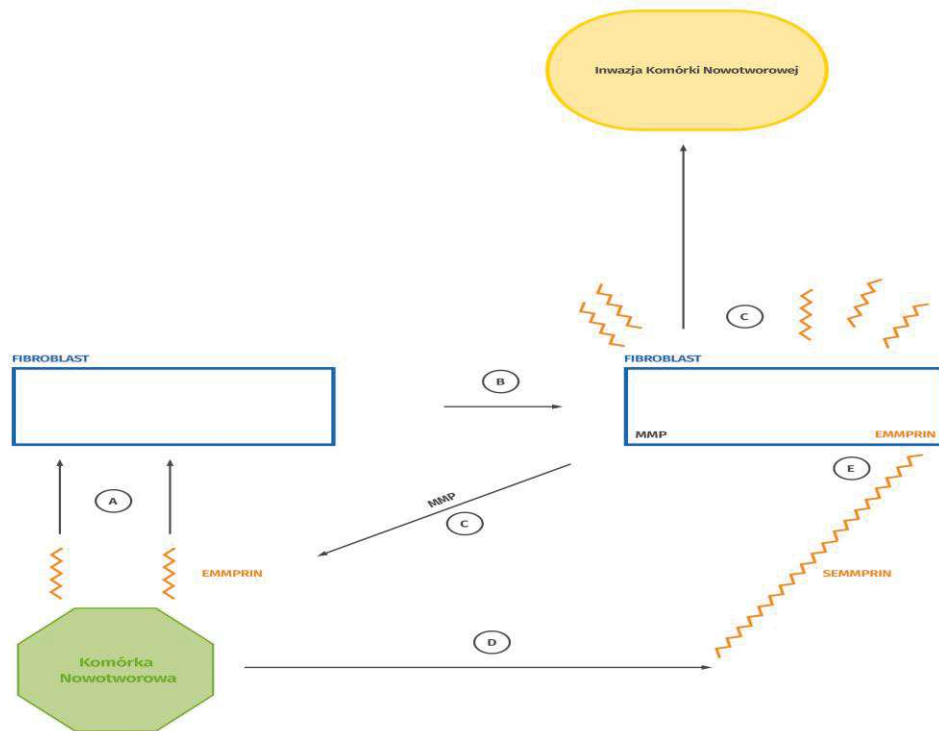
Obniżona lub brak ekspresji RECK powiązana jest z występowaniem różnych nowotworów, takich jak: rak szyjki macicy, rak sutka, rak płuc, rak pęcherza moczowego, rak wątroby, rak żołądka, rak trzustki, rak jelita grubego i rak ucha środkowego. Poziom ekspresji RECK może mieć związek z zaawansowaniem niektórych nowotworów, ich rozrostem, przerzutami do innych narządów oraz rokowaniem przeżycia [32, 37, 53].

Przy zmniejszonej ekspresji RECK występuje zwiększona ekspresja metaloproteinaz [63]. Przeprowadzone przez Liang i wsp. [53] badania wskazują, że RECK może działać jako inhibitor proliferacji nowotworu łagodnego. Kun-Jing Hong i wsp. dowiedli, że RECK utrudnia aktywność naprawczą DNA komórek nowotworowych i powoduje nadwrażliwość na substancje chemoterapeutyczne [cyt. wg 53].

1.6. EMMPRIN

EMMPRIN (ang. *extracellular matrix metalloproteinase inducer*) znany także pod nazwą CD147 lub *Basignum* [97]. Jest powierzchniową glikoproteiną należącą do nadrodziny immunoglobulin. Jej waga waha się między 35 a 65 kDa. Po raz pierwszy EMMPRIN został wyizolowany w roku 1982 z osocza ludzkiego [14]. EMMPRIN głównie występuje w błonie komórkowej komórek warstwy podstawnej, ale także, w mniejszym stopniu, w komórkach warstwy ponadpodstawnej. Jest obecny w większości komórek ludzkiego organizmu, między innymi w komórkach nabłonkowych, komórkach układu krwionośnego, komórkach układu limfatycznego, komórkach układu nerwowego, a także w komórkach układu rozrodczego [34]. EMMPRIN bierze udział w wielu procesach biologicznych fizjologicznych, takich jak rozwój płodu, rozwój narządu wzroku, rozwój układu nerwowego. Jednak jego obecność odnotowano także w komórkach nowotworowych. Funkcją EMMPRIN jest regulacja ekspresji MMPs. Może stymulować wytwarzanie MMP1, MMP2, MMP7, MMP9, MMP13, MMP15 [27, 77, 83, 99]. Dzięki swoim cechom ma bardzo duży wpływ na rozrost i bardziej agresywny przebieg nowotworu. Jego obecność stwierdzono w rakach głowy, szyi, jamy ustnej, raku gardła, raku płaskonabłonkowym, gruczolakoraku trzustki, gruczolakoraku piersi, raku wątroby, raku nerki, nowotworach złośliwych płuc, sutka, szyjki macicy oraz w glejakach [3, 62, 64, 93, 98, 106]. Swoim działaniem przyczynia się do wzrostu adhezji komórek nowotworowych, rozrostu nowotworu, naciekania nowotworu okolicznych tkanek, a także do pobudzania procesu angiogenezy. EMMPRIN może być związany z błoną komórkową

lub występować w formie rozpuszczalnej. Rozpuszczalny EMMPRIN jest wytwarzany przez komórki nowotworowe nie kontaktując się bezpośrednio z komórkami fibroblastów. Powoduje on wzmożenie migracji komórek i wzrost inwazji nowotworu. Wytwarzanie rozpuszczalnej formy EMMPRIN przez komórki guza może mieć duży wpływ na rozwój przerzutów w odległych miejscach, ponieważ może dyfundować z okolicy występowania nowotworu i stymulować komórki zrębu znajdujące się w odległych miejscach [2, 14, 79, 83, 97, 106]. Na rycinie 5 przedstawiono oddziaływanie EMMPRIN oraz MMP między komórkami nowotworowymi a komórkami gospodarza.



Ryc. 5. Pętla EMMPRIN oraz MMP między komórkami nowotworowymi i komórkami gospodarza. A - inicjacja kontaktu pomiędzy komórką nowotworową a fibroblastem gospodarza z wykorzystaniem EMMPRIN. B - przekazanie sygnałów między fibroblastami w celu syntezy MMP, C - wydzielane przez fibroblasty MMP rozszczepiają na ich powierzchni EMMPRIN jednocześnie generując rozpuszczalny sEMMPRIN. D - sEMMPRIN działa w lokalnych komórkach guza lub migruje do odległych komórek gospodarza, inicjując procesy nowotworowe dając przerzuty, E - procesy dalszej stymulacji MMP i EMMPRIN w celu zwiększenia inwazji komórek nowotworowych

Fig. 5. EMMPRIN and MMP loop between tumor cells and host cells. A- Initiation of contact between tumor cell and fibroblast using EMMEMPRIN. B - transmission of signals between fibroblast for the synthesis of MMP. C - MMP secreted by fibroblasts cleave on their surfaces EMMPRIN simultaneously generating soluble sEMMPRIN. D - SEMMPRIN works in local tumor cells or migrates to distant host cells and initiating tumor cells to metastasis. E - processes for further stimulation of MMP and EMMPRIN to increase invasion of tumor cells

Komórki nowotworowe dzięki glikoproteinie EMMPRIN znajdującej się na powierzchni

ich błony komórkowej inicjują fibroblasty do syntezy MMPs. MMPs wydzielane przez fibroblasty przyczyniają się do powstawania rozpuszczalnej cząsteczki EMMPRIN, które działają na komórki guza, jego najbliższą okolicę, przyczyniając się do naciekania okolicznych tkanek. Migrują także w odległe miejsca, aby tam stymulować ekspresję MMP i EMMPRIN rozpoczynając inwazję nowotworową tworząc przerzuty [88].

Przeprowadzono sporo badań dotyczących ekspresji RECK, EMMPRIN, MT1-MMP, jednak niewiele z nich dotyczyło procesu powstawania i rozwoju torbieli i nowotworów zębopochodnych. Stwierdzono, że w wielu nowotworach zachodzi wzrost ekspresji MT1-MMP oraz EMMPRIN. Udowodniono także, że zmniejszona ekspresja RECK lub jej brak ma związek z powstawaniem różnego rodzaju raków.

Zbadanie ekspresji RECK, EMMPRIN i MMT1-MMP w torbielach i nowotworach zębopochodnych może pomóc w zrozumieniu ich procesu powstawania, a także wskazaniu prawidłowego leczenia tych zmian. Mając na uwadze powyższe założenia, podjęto badania, których zadaniem jest przybliżenie roli RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w torbielach i nowotworach zębopochodnych u chorych leczonych w Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

2. CEL PRACY

Celem pracy jest ocena roli RECK, EMMPRIN oraz MT1-MMP w nowotworach i torbielach zębopochodnych szczęki i żuchwy.

Cele pracy szczegółowe:

1. Immunohistochemiczna ocena poziomu białek RECK, EMMPRIN oraz MT1-MMP w nowotworach i torbielach zębopochodnych.
2. Ocena związku pomiędzy cechami klinicznymi a poziomem białek RECK, EMMPRIN oraz MT1-MMP w nowotworach i torbielach zębopochodnych.
3. Ocena korelacji pomiędzy poziomem białek RECK, EMMPRIN oraz MT1-MMP w nowotworach i torbielach zębopochodnych.

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Pacjenci i materiał do badan

W badaniach zastosowano Klasyfikację Guzów i Torbieli Zębopochodnych wg WHO z 2005 roku. [11]. Materiałem do badań były fragmenty guza pobrane od 108 chorych, z nowotworami i torbielami zębopochodnymi, leczonych w Klinice Otolaryngologii z Oddziałem Chirurgii Szczękowo-Twarzowej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego podczas zabiegów w znieczuleniu ogólnym lub miejscowym. Grupą kontrolną były mieszki zębowe uzyskane od 9 chorych w czasie zabiegu dławowania całkowicie zatrzymanego dolnego trzeciego zęba trzonowego z przyczyn ortodontycznych. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym. Wszyscy pacjenci zostali poinformowani o rodzaju badań i ich założeniach. Badani chorzy wyrazili zgodę pisemną na wykorzystanie uzyskanego pooperacyjnie materiału do przeprowadzenia badań histologicznych. Materiał został pobrany od 108 chorych, w tym 49 kobiet i 59 mężczyzn, w wieku od 6 do 89 lat (średnia wieku wynosiła 47,5 lat). Zabiegi były przeprowadzane w Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w znieczuleniu miejscowym lub ogólnym. Ich wynikiem było uzyskanie zmian: torbiele korzeniowe (n=30), rogowaciejąco-torbielowate guzy zębopochodne (n=53), szkliwiaki (n=25) oraz mieszki zębowe (n=9). Razem zostało pobranych 117 zmian zębopochodnych żuchwy i szczęki.

Próbki zostały utrwalone w 10% roztworze formaliny i przekazane do Zakładu Patomorfologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w celu ostatecznego określenia charakteru zmiany oraz przeprowadzeniu badań immunohistochemicznych. Materiał tkankowy został poddany badaniu histopatologicznemu i immunohistochemicznemu. W badanym materiale tkankowym była oceniana ekspresja czynników RECK, EMMPRIN, MT1-MMP. Otrzymane wyniki były następnie skorelowane z danymi kliniczno-patologicznymi oraz poddane analizie statystycznej.

Badania histopatologiczne oraz immunohistochemiczne zostały przeprowadzone w Katedrze i Zakładzie Patomorfologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (kierownik: prof. dr hab. Wojciech Biernat).

3.2. Metoda badań immunohistochemicznych

W badaniu immunohistochemicznym była oznaczona ekspresja RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w nabłonku i podścielisku guzów zębopochodnych szczęki i żuchwy u 117 pacjentów.

Dla ujawnienia ekspresji RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w 117 preparatach tkankowych guzów i torbieli zębopochodnych oraz mieszkach zębowych (zdrowa tkanka zębopochodna) zastosowano następującą procedurę badań immunohistochemicznych.

Pobrane w czasie operacji fragmenty tkanki zostały utrwalone w zbuforowanej 4% formalinie i po rutynowej procedurze zatopione w parafinie niskotopliwej. Z bloków parafinowych były krojone skrawki grubości 4 μm na mikrotomie. Po wybarwieniu hematoksyliną i eozyną preparaty były ocenione w mikroskopie świetlnym, a badany materiał został wykorzystany do badań immunohistochemicznych. Procedura tych badań wyglądała następująco. Wszystkie parafinowe skrawki zostały nałożone na szkiełka podstawowe i poddane inkubacji przez czas 24 godzin w temperaturze 36 stopni Celsjusza. Kolejną czynnością było poddanie preparatów procesom dehydratacji oraz deparafinizacji. Następnie wykorzystano metodę HIER (ang. *heat induced epitope retrieval*), czyli wysokotemperaturowego odsłaniania epitopów, aby odzyskać antygenowość. Czynności te zostały wykonane z zastosowaniem buforu firmy DAKO En Vision Flex Target Retrieval Solution w rozcieńczeniu 1:50 o pH buforu wynoszącym 6. Do przeprowadzenia tej procedury użyto aparatu marki DAKO PTLINK. W kolejnym etapie wszystkie preparaty zostały płukane roztworem PBS przez 3 minuty. Aby zablokować endogenną peroksydazę, skrawki były inkubowane w 3% roztworze nadtlenu wodoru przez okres 5 minut, po czym zostały płukane roztworem PBS przez 3 minuty. W kolejnym etapie zastosowano inkubację z przeciwciałem pierwotnym RECK, EMMPRIN, oraz MT1-MMP. Barwny produkt został uzyskany przez inkubację skrawków roztworem czterochloru 3,3' dwuaminobenzydyny (DAB) w czasie 3 minut, w pokojowej temperaturze. Następnie preparaty płukano bieżącą wodą. Końcowo, podbarwiano skrawki hematoksyliną przez 5 minut oraz odwadniano je etanolem o szeregu stężeń: 70%, 80%, 96%, 100%. Ostatnim etapem było prześwietlenie tkanek w ksylenie przez czas 3 minut oraz zamknięcie preparatów balsamem kanadyjskim pod szkiełkiem nakrywkowym.

We wszystkich przypadkach była stosowana kontrola ujemna, przeprowadzając procedurę barwienia bez przeciwciał pierwotnych. Każdy z preparatów był potwierdzony jako niebarwiący się. Kontrolą dodatnią dla RECK była nerka, dla EMMPRIN łożysko, dla MT1-MMP nerka.

Preparaty były oglądane w mikroskopie świetlnym firmy Olympus BX 500. Dla każdego

skrawka została oceniona intensywność oraz proporcje wybarwienia nabłonka i podścieliska (torebki) w całym preparacie pod różnymi powiększeniami. Reakcja wybarwiania była oceniana półilościowo za pomocą metody H-score. Wynik uwzględnia intensywność oraz procentowość wybarwionych komórek w każdej z intensywności. Wynik H-score był obliczany w sposób [71]:

$$\text{H-score} = P1 \times 1 + P2 \times 2 + P3 \times 3$$

P0 - % komórek bez wybarwienia

P1 - % komórek wybarwionych z intensywnością 1

P2 - % komórek wybarwionych z intensywnością 2

P3 - % komórek wybarwionych z intensywnością 3

Intensywność wybarwienia:

0 bez wybarwienia

1 słabe wybarwienie

2 umiarkowane wybarwienie

3 silne wybarwienie

Odczynniki:

Parafina niskotemperaturowa 52-54°C, POCH, Polska Szkiełka podstawowe SuperFrost® Plus, Mar-four, Polska Szkiełka nakrywkowe, POCH, Polska PBS, POCH, Polska

3% H₂O₂, POCH, Polska

Etanol 100%, POCH, Polska

Etanol 96%, POCH, Polska

Etanol 80% POCH, Polska

Etanol 70% POCH, Polska

Ksylen, POCH, Polska

Balsam kanadyjski, POCH, Polska

Hematoksylina, POCH, Polska

czterochlorek 3,3'-dwuaminobenzyny (DAB), DAKO, Dania EnVision Flex Target Retrieval Solution, DAKO, Dania EnVision Flex HRP, DAKO, Dania

Przeciwciała pierwotne:

przeciwciało poliklonalne królicze klasy IgG anty-RECK index GTX80458, GeneTex, Stany Zjednoczone

przeciwciało monoklonalne mysie klasy IgG anty-MMP14/MMT1-MMP nr katalogowy AF8410, Acris Antibodies GmbH, Anglia

przeciwciało poliklonalne królicze klasy IgG anty-CD147/EMMPRIN nr katalogowy 11989-1-AP, Proteintech, Stany Zjednoczone

Aparatura:

Mikroskop Olympus BX50, Japonia

Mikrotom SM 2000R Leica, Niemcy

Cieplarka wodno-elektryczna CEE-2a Elkon, Polska

PTLink Pre-Treatment Module for Tissue Specimens DAKO, Dania System mikroskopii wirtualnej Olympus VS120-S5, Japonia

3.3. Analiza statystyczna

Wszystkie uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej. Do jej sporządzenia wykorzystano program komputerowy o nazwie STATISTICA 13.3. (StatSoft Inc. Tulusa, Stany Zjednoczone) na licencji Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Wyliczono różne miary położenia rozkładu zmiennych, takie jak: średnia arytmetyczna wraz z odchyleniem standardowym, mediana, kwartyle oraz rozstęp, w celu ich szczegółowego opisu. Zanim zastosowano odpowiednie testy statystyczne, zweryfikowano normalność rozkładów różnych zmiennych ciągłych przy użyciu testu Kołmogorowa-Smirnowa z poprawką Lillieforsa.

Wszystkie miary położenia właściwe **wytluszczone** dla odpowiedniego rozkładu zmiennej - średnia arytmetyczna z odchyleniem standardowym dla rozkładu normalnego oraz medianę i kwartyle dla rozkładu innego niż normalny. Dla rozkładów normalnych wykonano także test Levene'a (test jednorodności wariancji). Dodatkowo została zastosowana jednoczynnikowa analiza wariancji - ANOVA (*analysis of variance*) jako model wnioskowania statystycznego. Kolejno użyto testu post-hoc NIR (test Najmniejszych Istotnych Różnic - *Least Significant Differences* - LSD) aby ocenić

interakcje wewnątrzgrupowe. Następnym wykorzystanym testem jest Kruskala-Wallisa, czyli nieparametryczny odpowiednik jednoczynnikowej analizy wariancji, w celu porównania zmiennych ciągłych o rozkładzie normalnym z niehomogeniczną wariancją oraz zmiennych o rozkładzie innym niż normalny. Test t-Studenta (dla rozkładu normalnego zmiennej) i test U Manna-Whitneya (dla zmiennej o rozkładzie innym niż normalny) użyto w celu porównania dwóch zmiennych ilościowych.

Aby dokonać oceny zależności pomiędzy zmiennymi jakościowymi, uwzględniając wielkość podgrup oraz liczebność oczekiwanych, zastosowano testy: Chi-kwadrat (z lub bez poprawki Yatesa), V-kwadrat i Fishera.

Porównano związki między dwiema zmiennymi ciągłymi, policzono poziom ich istotności, zmierzono ich siłę podając współczynnik korelacji liniowej Petersona τ , a także zrobiono test istotności tego współczynnika w oparciu o próbę losową.

Podczas weryfikacji wiarygodności wszystkich hipotez został przyjęty graniczny poziom istotności (prawdopodobieństwo testowe, p) mniejszy niż 0,05.

4. WYNIKI

4.1. Charakterystyka badanej grupy poddanej analizie immunohistochemicznej

W badaniach zastosowano Klasyfikację Guzów i Torbieli Zębopochodnych wg WHO z 2005 roku.

Analiza wyników badań immunohistochemicznych została wykonana na materiale tkankowym pobranym od 108 chorych z guzami w obrębie szczęki i żuchwy (49 kobiet oraz 59 mężczyzn, w wieku od 6 do 89 lat, średnia wieku 47,5 lat) przyjętych i leczonych w Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej Gdańskiego Uniwersytetu medycznego w Gdańsku w latach 2000 - 2013. Ocenie poddano występowanie RECK, EMMPRIN oraz MT1-MMP w tkance guzów pobranych od chorych.

W badanej grupie chorych, do Kliniki Chirurgii Szczękowo-Twarzowej GUMed zgłosiło się 48 (44,44%) osób z powodu guza torbielowatego żuchwy lub szczęki bez dolegliwości bólowych. Zmiana u tych pacjentów najczęściej była wykrywana przypadkowo, po wykonaniu zdjęcia pantomograficznego. Grupa 60 (55,56%) chorych skarżyła się na ból związany z guzem torbielowatym szczęki lub żuchwy. Asymetria twarzy wystąpiła u 26 (24,07%) chorych, natomiast u 82 (75,93%) symetria twarzy nie była zaburzona. W grupie badanej, w chwili przyjęcia 21 (19,44%) osób leczyło się na minimum jedną chorobę ogólnoustrojową, w tym 4 chorowały na cukrzycę typu 2. 87 (80,56%) pacjentów było ogólnie zdrowych, nie przyjmowali leków na stałe. Na podstawie wykonanego badania histopatologicznego materiału pobranego od pacjentów stwierdzono, że torbiel korzeniowa wystąpiła u 31 (28,71%) chorych, Rogowaciejąco -torbielowaty guz zębopochodny u 52 (48,14%) oraz szkliwiak u 25 (23,16%) (tab. 2).

Tabela 2. Rodzaj zmian zębopochodnych a płeć badanych; grupa kontrolna (CG), szkliwiak (A), rogowaciejąco-torbielowaty guz zębopochodny (KCOT), torbiel korzeniowa (RC); N=117

Table 2. Type of odontogenic lesions and sex of patients; control group (CG), ameloblastoma (A), keratocystic odontogenic tumor (KCOT), radicular cyst (RC); N=117

Płeć <i>Sex</i>	CG		A		KCOT		RC		Razem <i>Total</i>	
	N	%	N	%	n	%	N	%	n	%
Kobiety <i>Women</i>	5	4,27	10	8,55	27	23,08	13	11,11	55	47,01
Mężczyźni <i>Men</i>	4	3,42	15	12,82	26	22,22	17	14,53	62	52,99
Razem <i>Total</i>	9	7,69	25	21,37	53	45,30	30	25,64	117	100,00

Osoby badane były w wieku od 6 do 89 lat (średnia wieku 47,5 lat).

Zmiany zębopochodne najczęściej wystąpiły u ludzi w grupie 30-59 rok życia (55,56%), natomiast w grupie 60-89 rok życia najrzadziej (11,97%) (Tab. 3).

Tabela 3. Rodzaj zmian zębopochodnych a wiek badanych; grupa kontrolna, szkliwiak (A), rogowaciejąco-torbielowaty guz zębopochodny (KCOT), torbiel korzeniowa (RC); N=117
 Table 3. Type of odontogenic lesions and age of patients; control group, ameloblastoma (A), keratocystic, odontogenic tumor (KCOT), radicular cyst (RC); N=117

Wiek (lata) <i>Age (years)</i>	Grupa kontrolna <i>Control group</i>		A		KCOT		RC		Razem <i>Total</i>	
	N	%	N	%	n	%	N	%	N	%
6 – 29	5	4,27	6	5,13	20	17,09	7	5,98	38	32,47
30 – 59	4	3,42	12	10,26	29	24,79	20	17,09	65	55,56
60-89	0	0,00	7	5,98	4	3,42	3	2,56	14	11,96
Razem <i>Total</i>	9	7,69	25	21,37	53	45,30	30	25,64	117	100,00

U 56 badanych (51,85%) wielkość zmiany mieściła się w zakresie 0,9 do 3 centymetrów, natomiast u 52 (48,15%) pacjentów przekroczyła ona wymiar 3 centymetrów (Tab. 4).

Tabela 4. Wielkość zmian zębopochodnych szczęki i żuchwy; grupa kontrolna (CG), szkliwiak (A), rogowaciejąco-torbielowaty guz zębopochodny (KCOT), torbiel korzeniowa (RC); N=108

Table 4. Size of odontogenic lesions of upper and lower jaw; control group (CG), ameloblastoma (A), keratocystic odontogenic tumor (KCOT), radicular cyst (RC); N=108

Średnica zmiany <i>Size of lesion</i>	A		KCOT		RC		Razem <i>Total</i>	
	N	%	N	%	n	%	N	%
0,9 - 3 cm	9	8,33	30	27,78	17	15,74	56	51,85
> 3 cm	16	14,81	23	21,30	13	12,04	52	48,15
Razem <i>Total</i>	25	23,15	53	49,07	30	27,78	108	100,00

W grupie badanej szkliwiaka stwierdzono u 23 (21,30%) osób w żuchwie, a u 2 (1,85%) w szczęce. Rogowaciejąco-torbielowaty guz zębopochodny występował u 46 (42,59%) badanych w żuchwie, natomiast w szczęce u 7 (6,48%). Torbiel korzeniowa została stwierdzona u 19 (17,59%) chorych w żuchwie i 11 (10,19%) chorych w szczęce (tab.5).

Tabela 5. Rodzaj zmian zębopochodnych a lokalizacja; szkliwiak (A), rogowaciejąco-torbielowaty guz zębopochodny (KCOT), torbiel korzeniowa (RC); N=108

Table 5. Type of odontogenic lesions and localization; ameloblastoma (A), keratocystic odontogenic tumor (KCOT), radicular cyst (RC); N=108

Lokalizacja <i>Localization</i>	A		KCOT		RC		Razem <i>Total</i>	
	N	%	N	%	n	%	N	%
Szczęka <i>Maxilla</i>	2	1,85	7	6,48	11	10,19	20	18,52
Żuchwa <i>Mandible</i>	23	21,30	46	42,59	19	17,59	88	81,48
Razem <i>Total</i>	25	23,15	53	49,07	30	27,78	108	100,00

4.2. Analiza materiału do badania immunohistochemicznego na poziomie białka RECK, EMMPRIN, MT1-MMP.

Przeprowadzono badania immunohistochemiczne na obecność RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w tkankach objętych procesem chorobowym, które zostały usunięte operacyjnie.

Materiał tkankowy (N=108), który został pobrany od pacjentów, poddany badaniu immunohistochemicznemu stanowiły szkliwiaki (n=25), rogowaciejąco-torbielowate guzy zębopochodne (n=53), torbiele korzeniowe (n=30). Grupę kontrolną stanowiły mieszki zębowe (n=9).

Poziom białka RECK, EMMPRIN, MT1-MMP był oceniany w zależności od ilości immunoreaktywnych komórek w podścielisku oraz nabłoku wszystkich badanych zmian chorobowych.

Reakcję wybarwienia oceniono półilościowo za pomocą metody H-score. Uwzględniona została intensywność oraz procentowość wybarwianych komórek w każdej intensywności.

Wynik H-score obliczono w następujący sposób:

$$\text{H-score} = P1 \times 1 + P2 \times 2 + P3 \times 3$$

P0 - % komórek bez wybarwienia

P1 - % komórek wybarwionych z intensywnością 1

P2 - % komórek wybarwionych z intensywnością 2

P3 - % komórek wybarwionych z intensywnością 3

Intensywność wybarwienia:

0 bez wybarwienia

1 słabe wybarwienie

2 umiarkowane wybarwienie

3 silne wybarwienie

Otrzymano wyniki od 0-300, gdzie 300 oznaczało, że 100% komórek zmiany było mocno wybarwionych. Dodatkowo, na podstawie powyższych wyników RECK, EMMPRIN, MT1-MMP podzielono na grupy: niskiego RECK, wysokiego RECK, niskiego EMMPRIN, wysokiego EMMPRIN, niskiego MT1-MMP oraz wysokiego MT1-MMP, celem dalszej analizy, z punktem odcięcia H-score obliczonym na podstawie mediany ≤ 50 oraz > 50 .

Aby określić stopień intensywności wybarwienia w metodzie półilościowej (immunoscore), RECK, EMMPRIN i MT1-MMP został zastosowany podział, że każdy z

przekrojów w zależności od procentowości wybarwienia był przypisany do poszczególnych kategorii (P): 0 (0%-4%); 1 (5%-24%); 2 (25%-49%); 3 (50%-74%) oraz 4 (75%-100%).

Intensywność wybarwienia (I) oceniano jako:

0 - ujemna;

1 - jasno żółta;

2 - żółto brązowa

3 - ciemno brązowa

Immunoscore był obliczany w wyniku mnożenia intensywności wybarwienia (I) z procentem dodatnich komórek (P).

Wyniki zakwalifikowano do czterech poszczególnych grup:

brak ekspresji (+) wynik 0-2

słaba ekspresja (++) wynik 3-5

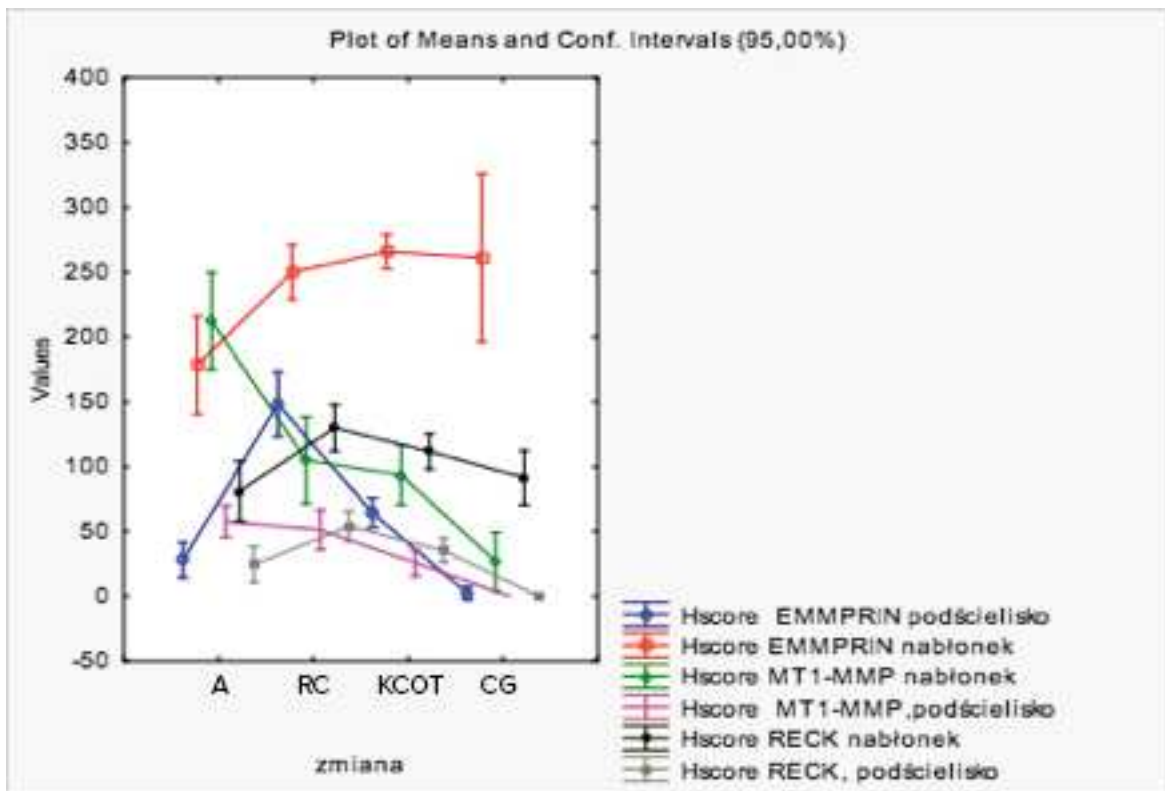
średnia ekspresja (+++) wynik 6-8

silna ekspresja (++++) wynik 9-12.

4.3. Analiza czynnikowa chorych poddanych badaniu immunohistochemicznemu

Przeprowadzono analizę czynnikową i stwierdzono, że w grupie badanej płeć, wiek oraz obecność chorób towarzyszących nie miały istotnego wpływu na poziom białka RECK, EMMPRIN a także MT1-MMP ($p>0,05$).

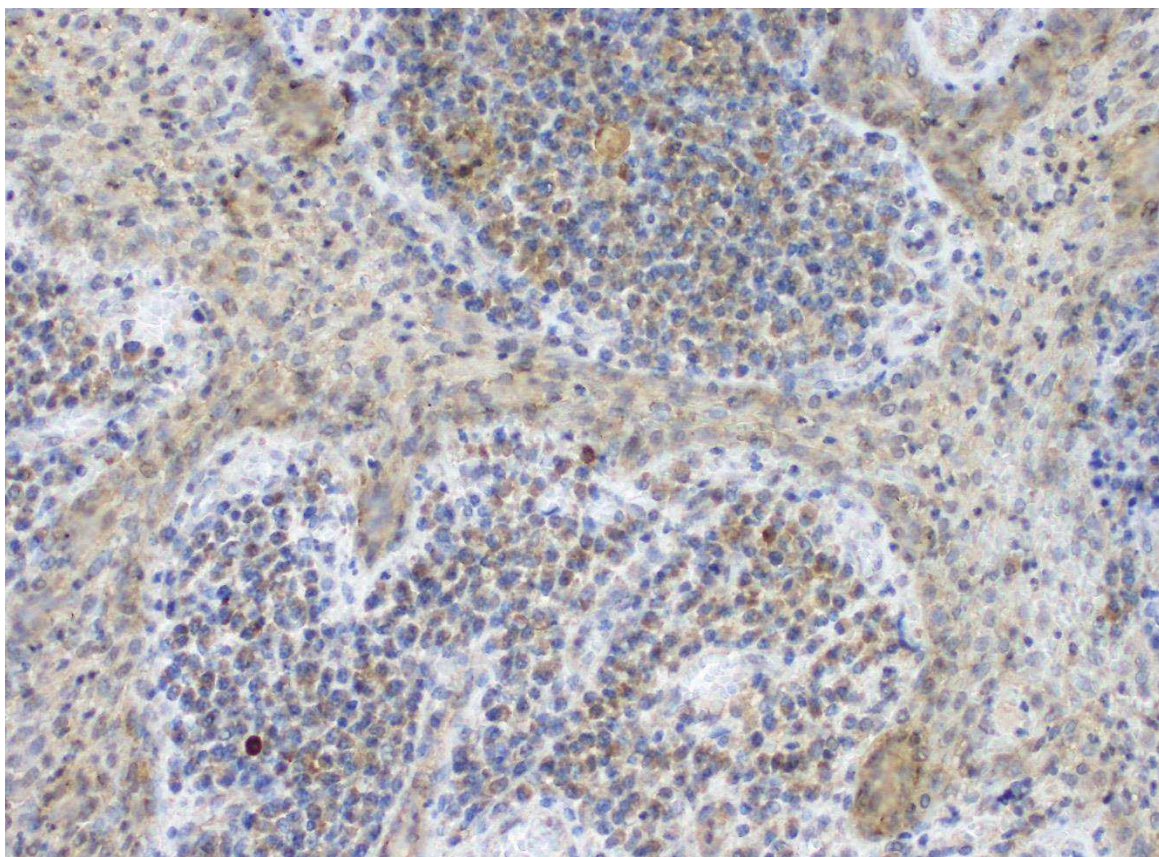
4.4. Analiza metodą półilościową H-score na poziomie białka RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w nabłonku i podścielisku badanych zmian chorobowych



Rycina 6. Poziom białka RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w komórkach nabłonka i podścieliska torbieli korzeniowej, szkliwiaka oraz rogowaciejąco - torbielowatego guza zębopochodnego

Figure 6. Protein levels of RECK, EMMPRIN, MT1-MMP in epithelial and stromal cells of radicular cyst, ameloblastoma and keratocystic odontogenic tumour

W badaniu immunohistochemicznym (H-score) poziom białka RECK w komórkach nabłonka wykazano znamienne wyższy w torbieni korzeniowej (średnia 130,00; SD 46,03) niż w rogowaciejąco - torbielowatym guzie zębopochodnym (średnia 108,65; SD 49,78) i w szkliwiaku (średnia 81,25; SD 54,80). Ponadto stwierdzono, iż w nabłonku mieszków zębowych grupy kontrolnej (średnia 93,99; SD 20,00) poziom białka RECK był większy niż w komórkach nabłonka w szkliwiaku (średnia 81,25; SD 54,80) (tab. 6).



Rycina 7. Poziom białka RECK w torbieni korzeniowej

Figure 7. Protein level of RECK in radicular cyst

Tabela 6. Porównanie wysokości poziomu białka RECK w komórkach nabłonka między torbielą korzeniową (RC), rogowaciejąco-torbielowatym guzem zębopochodnym (KCOT), szkliwiaku (A) oraz w grupie kontrolnej (CG); metoda H-score

Table 6. Comparison of height of protein level of RECK in epithelial cells in radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), ameloblastoma (A) and control group (CG); H-score method

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	N	Średnia <i>Mean</i>	SD	Min	Max	LQ	Mediana <i>Median</i>	UQ
RC	28	130,00	46,03	30,00	200,00	100,00	100,00	175,00
KCOT	52	108,65	49,78	0,00	230,00	100,00	100,00	125,00
A	24	81,25	54,80	0,00	200,00	35,00	100,00	100,00
CG	9	93,33	20,00	40,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Razem <i>Total</i>	113	106,90	50,75	0,00	230,00	100,00	100,00	120,00

Nie wykazano istotnych różnic na poziomie białka RECK w komórkach podścieliska torbieli korzeniowej, rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego oraz szkliwiaka. W komórkach podścieliska mieszków zębowych grupy kontrolnej stwierdzono brak ekspresji RECK (tab. 7).

Tabela 7. Porównanie poziomu białka RECK w komórkach podścieliska między torbielą korzeniową (RC), rogowaciejąco-torbielowatym guzem zębopochodnym (KCOT), szkliwiakiem (A) oraz w grupie kontrolnej (CG); metoda H-score

Table 7. Comparison of proteins levels of RECK in stromal cells in radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), ameloblastoma (A) and control group (CG); H-score method

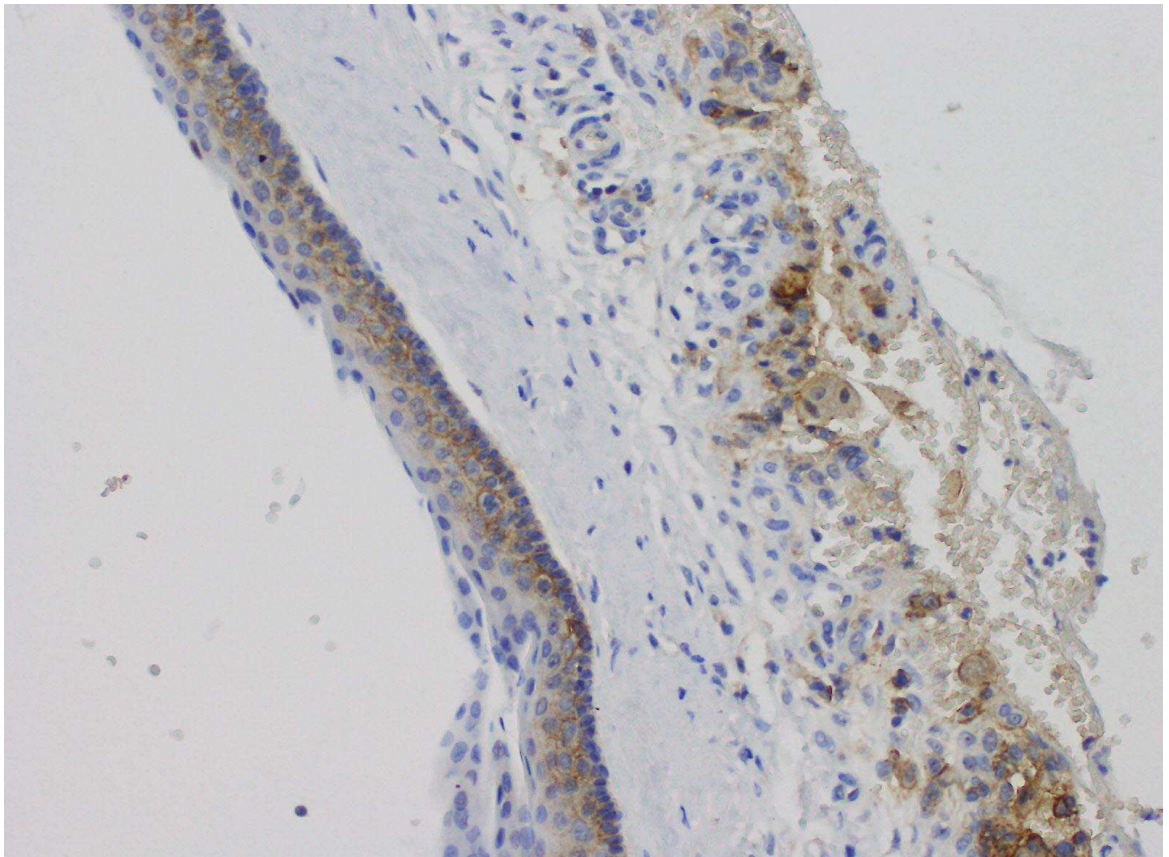
Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	n	Średnia <i>Mean</i>	SD	Min	Max	LQ	Mediana <i>Median</i>	UQ
RC	28	53,93	29,98	0,00	110,00	30,00	270,00	80,00
KCOT	52	35,96	32,31	0,00	130,00	100,00	100,00	125,00
A	24	24,58	32,97	0,00	100,00	0,00	15,00	30,00
CG	9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Razem <i>Total</i>	113	35,13	33,57	0,00	130,00	0,00	30,00	60,00

W komórkach nabłonka, w szkliwiaku (średnia 178,40; SD 91,36) wykazano znamienne niższy poziom białka EMMPRIN niż w torbieli korzeniowej (średnia 250,00; SD 53,71), rogowaciejąco-torbielowatym guzie zębopochodnym (średnia 266,40; SD 45,43) oraz w mieszkach zębowych grupy kontrolnej (średnia 265,56; SD 73,67) (tab. 8).

Tabela 8. Porównanie poziomu białka EMMPRIN w komórkach nabłonka między torbielą korzeniową (RC), rogowaciejąco-torbielowatym guzem zębopochodnym (KCOT), szkliwiaku (A) oraz w grupie kontrolnej (CG); metoda H-score

Table 8. Comparison of protein levels of EMMPRIN in epithelial cells in radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), ameloblastoma (A) and control group (CG); H-score method

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	N	Średnia <i>Mean</i>	SD	Min	Max	LQ	Mediana <i>Median</i>	UQ
RC	27	250,00	53,71	130,00	300,00	220,00	270,00	300,00
KCOT	50	266,40	45,43	120,00	300,00	240,00	280,00	300,00
A	25	178,40	91,36	30,00	300,00	120,00	210,00	250,00
CG	9	265,56	73,67	90,00	300,00	300,00	300,00	300,00
Razem <i>Total</i>	111	242,52	71,19	30,00	300,00	210,00	280,00	300,00



Rycina 8. Poziom białka EMMPRIN w rogowaciejąco-torbielowatym guzie zębopochodnym

Figure 8. Protein level of EMMPRIN in keratocystic odontogenic tumor

Istotny wzrost poziomu białka EMMPRIN wykazano w komórkach podścieliska torbieli korzeniowej (średnia 148,15; SD 62,82) w stosunku do rogowacjąco-torbielowatego guza zębopochodnego (średnia 66,20; SD 39,58) oraz szkliwiaka (średnia 28,00; SD 32,91). Stwierdzono istotny wzrost poziomu białka EMMPRIN w komórkach podścieliska rogowacjąco-torbielowatego guza zębopochodnego w porównaniu do szkliwiaka. W mieszkach zębowych grupy kontrolnej (średnia 2,22; SD 6,67) wykazano znamienne najniższy poziom białka EMMPRIN w komórkach podścieliska (tab. 9).

Tabela 9. Porównanie poziomu białka EMMPRIN w komórkach podścieliska między torbielą korzeniową (RC), rogowacjąco-torbielowatym guzem zębopochodnym (KCOT), szkliwiaku (A) oraz w grupie kontrolnej (CG); metoda H-score

Table 9. Comparison of protein level of EMMPRIN in stromal cells in radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), ameloblastoma (A) and control group (CG); H-score method

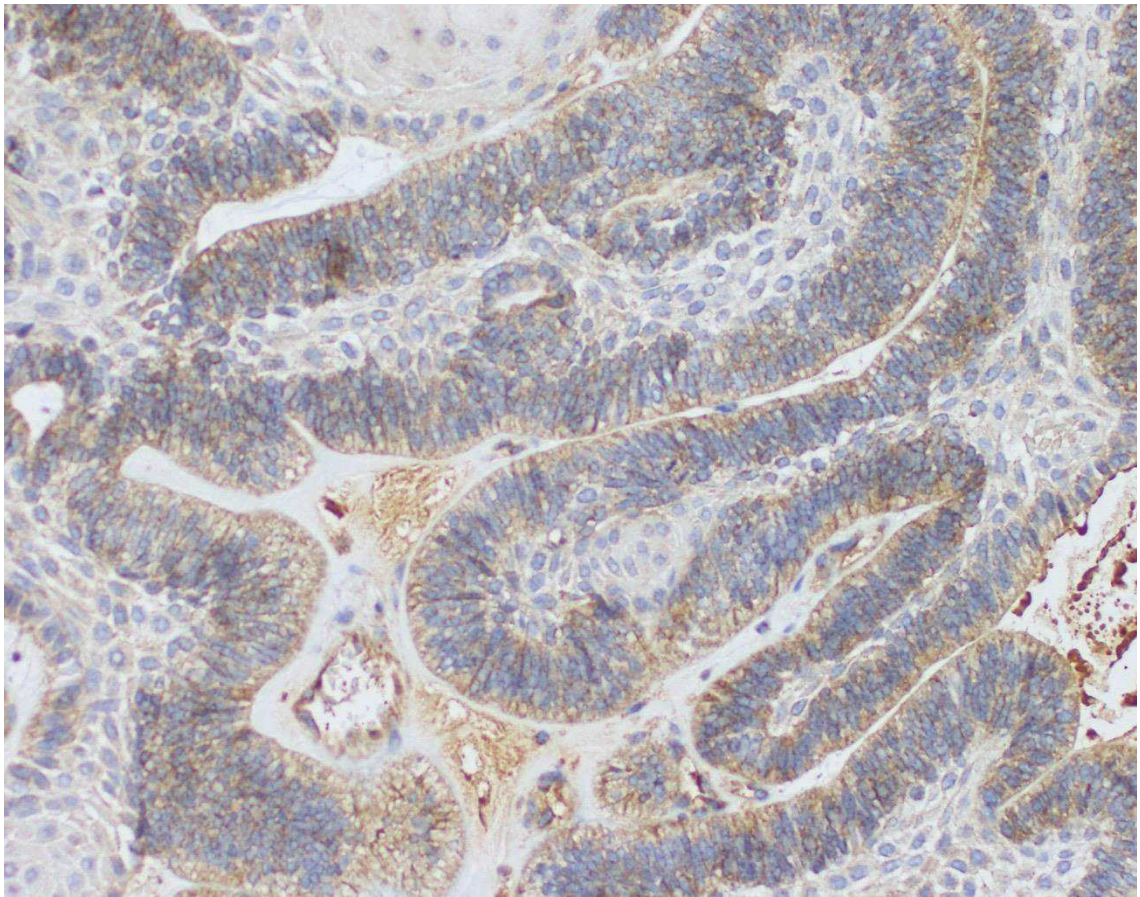
Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	n	Średnia <i>Mean</i>	SD	Min	Max	LQ	Mediana <i>Median</i>	UQ
RC	27	148,15	62,82	20,00	270,00	220,00	150,00	300,00
KCOT	50	66,20	39,58	20,00	170,00	30,00	55,00	90,00
A	25	28,00	32,91	0,00	150,00	10,00	20,00	30,00
CG	9	2,22	6,67	0,00	20,00	0,00	0,00	0,00
Razem <i>Total</i>	111	72,34	64,40	0,00	150,00	20,00	50,00	110,00

Stwierdzono znamienne wzrost poziomu białka MT1-MMP w komórkach nabłonka szkliwiaka (średnia 212,27; Sd 84,74) w porównaniu do rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego (średnia 99,23; SD 86,52), torbieli korzeniowej (średnia 105,00; SD 82,72) i mieszków zębowych grupy kontrolnej (średnia 26,67; SD 29,58). Wykazano znamienne niski poziom białka MT1-MMP w komórkach nabłonka mieszków zębowych grupy kontrolnej w stosunku do pozostałych, badanych zmian (tab.10).

Tabela 10. Porównanie poziomu białka MT1-MMP w komórkach nabłonka między torbielą korzeniową (RC), rogowaciejąco-torbielowatym guzem zębopochodnym (KCOT), szkliwiaku (A) oraz w grupie kontrolnej (CG); metoda H-score

Table 10. Comparison of protein levels of MT1-MMP in epithelial cells in radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), ameloblastoma (A) and control group (CG); H-score method

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	n	Średnia <i>Mean</i>	SD	Min	Max	LQ	Mediana <i>Median</i>	UQ
RC	26	105,00	82,72	0,00	300,00	50,00	100,00	150,00
KCOT	52	99,23	86,52	0,00	300,00	30,00	100,00	155,00
A	22	212,27	84,74	0,00	300,00	170,00	230,00	280,00
CG	9	26,67	29,58	0,00	90,00	0,00	20,00	40,00
Razem <i>Total</i>	109	117,41	96,41	0,00	300,00	30,00	100,00	200,00



Rycina 9. Poziom białka MT1-MMP w szkliwiaku

Figure 9. Protein level of MT1-MMP in ameloblastoma

W komórkach podścieliska mieszków zębowych grupy kontrolnej nie wykazano wzrostu poziomu białka MT1-MMP. Poziom białka MT1-MMP w komórkach podścieliska torbieli korzeniowej (średnia 51,15; SD 37,13) oraz szkliwiaków (średnia 57,73; SD 27,42) nie był istotnie różny, jednak w obu tych przypadkach był istotnie większy niż w rogowacząco-torbielowatym guzie zębopochodnym (średnia 27,31; SD 35,87) (tab. 11).

Tabela 11. Porównanie poziomu białka MT1-MMP w komórkach podścieliska między torbielą korzeniową (RC), rogowacząco-torbielowatym guzem zębopochodnym (KCOT), szkliwiaku (A) oraz w grupie kontrolnej (CG); metoda H-score

Table 11. Comparison of protein levels of MT1-MMP in stromal cells in radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), ameloblastoma (A) and control group (CG); H-score method

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	n	Średnia <i>Mean</i>	SD	Min	Max	LQ	Mediana <i>Median</i>	UQ
RC	26	51,15	37,13	0,00	110,00	20,00	50,00	90,00
KCOT	52	27,31	35,87	0,00	140,00	0,00	10,00	45,00
A	22	57,73	27,42	0,00	100,00	50,00	50,00	80,00
CG	9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Razem <i>Total</i>	109	36,88	36,99	0,00	140,00	0,00	40,00	60,00

Wyniki badania immunohistochemicznego H-score EMMPRIN, MT1-MMP oraz RECK zostały podzielone dla poszczególnych zmian chorobowych na grupy niskiego EMMPRIN i wysokiego EMMPRIN, niskiego MT1-MMP i wysokiego MT1-MMP a także niskiego RECK i wysokiego RECK. Punkt odcięcia ustalono na poziomie Median ≤ 50 oraz >50 . Różnica w wysokości poziomu białka EMMPRIN w nabłonku i podścielisku, MT1-MMP w nabłonku i podścielisku oraz RECK w podścielisku pomiędzy poszczególnymi grupami była istotna statystycznie ($p < 0,05$).

Tabela 12. Porównanie poziomu białka EMMPRIN w nabłonku (E) i podścielisku (S) pomiędzy torbielą korzeniową (RC), rogowaciejąco-torbielowatym guzem zębopochodnym (KCOT), szkliwiakiem (A) i grupą kontrolną (CG) wg. podziału na H-score niski i wysoki. N= 111 ($p < 0,05$)

Table 12. Comparison of protein level of EMMPRIN in epithelium (E) and in stroma (S) between radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), ameloblastoma (A) and control group (CG) according to the division into low and high H-score; N=111 ($p < 0.05$)

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	Poziom białkaEMMPRIN <i>Protein level of EMMPRIN</i>			
	Mediana ≤ 50 <i>Median ≤ 50</i>		Mediana >50 <i>Median >50</i>	
	N	%	N	%
RC (E)	0	0	27	24,32
RC (S)	3	2,70	24	21,62
KCOT (E)	0	0	50	45,05
KCOT (S)	25	22,52	25	22,52
A (E)	5	4,50	20	18,02
A (S)	22	19,82	3	2,70
CG (E)	0	0	9	8,11
CG (S)	9	8,11	0	0

W grupie badanej stwierdzono istotne różnice na poziomie białka EMMRPIN w nabłonku i podścielisku pomiędzy zmianami zębopochodnymi. W rogowaciejąco-torbielowatych guzach zębopochodnych, w komórkach nabłonka aż w 50 przypadkach (45,05%) zaobserwowano poziom białka o wysokim H-score, natomiast niski poziom H-score nie wystąpił wcale. W torbielach korzeniowych zaobserwowano poziom białka o wysokim poziomie H-score zarówno w nabłonku (n=27, 24,32%) jak i w podścielisku (n=24, 21,62%). W szkliwiakach, poziom białka EMMPRIN o wysokim H-score odnotowano w komórkach nabłonka w 20 przypadkach (18,02%) natomiast w komórkach podścieliska w 22 (19,82%) stwierdzono niski H-score. W grupie kontrolnej, w komórkach nabłonka wszystkie przypadki (n=9, 8,11%) wykazały poziom białka EMMPRIN o wysokim H-score w przeciwieństwie do komórek podścieliska, gdzie sytuacja była odwrotna (tab. 12).

Tabela 13. Porównanie poziomu białka MT1-MMP w nabłonku (E) i podścielisku (S) pomiędzy torbielą korzeniową (RC), rogowaciejąco-torbielowatym guzem zębopochodnym (KCOT), szkliwiakiem (A) i grupą kontrolną (CG) wg podziału na H-score niski i wysoki. N= 109 (p<0,05)

Table 13. Comparison of protein level of MT1-MMP in epithelium (E) and in stroma (S) between radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), ameloblastoma (A) and control group (CG) according to the division into low and high H-score; N=109 (p<0.05)

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	Poziom białka MT1-MMP <i>Protein level of MT1-MMP</i>			
	Mediana ≤50 <i>Median ≤50</i>		Mediana >50 <i>Median >50</i>	
	N	%	N	%
RC (E)	8	7,34	18	16,51
RC (S)	15	13,76	11	10,09
KCOT (E)	19	17,43	33	30,28
KCOT (S)	43	39,45	9	8,26
A (E)	2	1,83	20	18,35
A (S)	14	12,84	8	7,34
CG (E)	8	7,34	1	0,92
CG (S)	9	8,26	0	0

W badanych zmianach (torbiele korzeniowe, rogowaciejąco-torbielowate guzy zębopochodne, szkliwiaki) oraz grupie kontrolnej odnotowano istotne różnice na poziomie białka MT1-MMP w komórkach nabłonka i podścieliska poszczególnych guzów ($p < 0,05$). W nabłonku rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego istotnie częściej wykazano poziom białka MT1-MMP o wysokim H-score ($n=33, 30,28\%$), gdzie w torbieli korzeniowej i szkliwiaku odnotowano odpowiednio 18 (16,51%) i 20 (18,35%) przypadków. W komórkach podścieliska poziom białka o niskim H-score wykazano istotnie częściej w rogowaciejąco-torbielowatym guzie zębopochodnym ($n=43, 39,45\%$), w przeciwieństwie do szkliwiaków ($n=14, 12,84\%$). W grupie kontrolnej niski poziom białka MT1-MMP odnotowano w komórkach nabłonka ($n=8, 7,34\%$) oraz w komórkach podścieliska ($n=9, 8,26\%$) (tab. 13).

Tabela 14. Porównanie poziomu białka RECK w nabłonku (E) i podścielisku (S) pomiędzy torbielą korzeniową (RC), rogowaciejąco-torbielowatym guzem zębopochodnym (KCOT), szkliwiakiem (A) i grupą kontrolną (CG) wg. podziału na H-score niski i wysoki. N= 113 (S) $p < 0,05$)

Table 14. Comparison of protein level of RECK in epithelium (E) and in stroma (S) between radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), ameloblastoma (A) and control group (CG) according to the division into low and high H-score; N=113(S) $p < 0.05$)

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	Poziom białka RECK <i>Protein level of RECK</i>			
	Mediana ≤ 50 <i>Median ≤ 50</i>		Mediana > 50 <i>Median > 50</i>	
	N	%	N	%
RC (E)	1	0,88	27	23,89
RC (S)	16	14,16	12	10,62
KCOT (E)	6	5,31	46	40,71
KCOT (S)	36	31,86	16	14,16
A (E)	7	6,19	17	15,04
A (S)	21	18,58	3	2,65
CG (E)	1	0,88	8	7,08
CG (S)	9	7,96	0	0

W grupie badanej stwierdzono istotnie częściej poziom białka RECK o wysokim H-score w komórkach nabłonka rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego (n=46, 40,71%). W komórkach podścieliska w rogowaciejąco-torbielowatym guzie zębopochodnym zaobserwowano poziom białka RECK o niskim poziomie H-score w 36 przypadkach (31,86%), gdzie w szkliwiaku i torbieli korzeniowej odnotowano poziom białka o niskim H-score odpowiednio w 21 przypadkach (18,58%) i 16 przypadkach (14,16%). W grupie kontrolnej, w komórkach nabłonka stwierdzono wysoki poziom białka H-score (n=8, 7,08%), natomiast w komórkach podścieliska zaobserwowano w 9 przypadkach poziom białka RECK o niskim poziomie H-score (tab. 14).

Wyniki poziomów białka EMMPRIN, MT1-MMP oraz RECK podzielono dla grupy kontrolnej i całej grupy badanej na grupy niskiego EMMPRIN i wysokiego EMMPRIN, niskiego MT1-MMP i wysokiego MT1-MMP oraz niskiego RECK i wysokiego RECK.

Tabela 15. Porównanie poziomu białka EMMPRIN w nabłonku (E) i podścielisku (S) pomiędzy grupą badawczą (SG) i grupą kontrolną (CG) wg. podziału na H-score niski i wysoki. N=111 (S) p<0,05)

Table 15. Comparison of protein level of EMMPRIN in epithelium (E) and in stroma (S) between studied group (SG) and control group (CG) according to the division into low and high H-score; N=111(S) p<0.05)

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	Poziom białka EMMPRIN <i>Protein level of EMMPRIN</i>			
	Mediana ≤50 <i>Median ≤50</i>		Mediana >50 <i>Median >50</i>	
	N	%	N	%
CG (E)	0	0	9	8,11
CG (S)	9	8,11	0	0
SG (E)	5	4,50	97	87,39
SG (S)	50	45,05	52	46,85

W komórkach nabłonka grupy kontrolnej stwierdzono wysoki poziom białka EMMPRIN u wszystkich osób (n=9, 8,11%). W przypadku grupy badanej 97 przypadków (87,79%) również wykazało wysoki poziom białka EMMPRIN. W komórkach podścieliska grupy badanej w 50 przypadkach (45,05%) stwierdzono niski poziom białka EMMPRIN, a w 52 (46,05%) wysoki poziom (tab. 15).

Tabela 16. Porównanie poziomu białka MT1-MMP w nabłonku (E) i podścielisku (S) pomiędzy grupą badawczą (SG) i grupą kontrolną (CG) wg podziału na H-score niski i wysoki. N= 1 (p<0,05)

Table 16. Comparison of protein level of MT1-MMP in epithelium (E) and in stroma (S) between studied group (SG) and control group (CG) according to the division into low and high H-score; N=109(p<0.05)

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	Poziom białka MT1-MMP <i>Protein level of MT1-MMP</i>			
	Mediana ≤50 <i>Median ≤50</i>		Mediana >50 <i>Median >50</i>	
	N	%	N	%
CG (E)	8	7,34	1	0,92
CG (S)	9	8,26	0	0
SG (E)	29	26,61	71	65,14
SG (S)	72	66,06	28	25,69

Niski poziom białka MT1-MMP zaobserwowano w 8 (7,34%) przypadkach grupy kontrolnej w komórkach nabłonka i 9 (8,26%) przypadkach tej samej grupy w komórkach podścieliska. Wykazano istotnie więcej przypadków (n=71, 65,14%) o wysokim poziomie białka H-score MT1-MMP w komórkach nabłonka grupy badanej. W 72 (66,06%) przypadków w komórkach podścieliska tej grupy zauważono niski poziom białka H-score (tab. 16).

Tabela 17. Porównanie poziomu białka RECK w nabłonku (E) i podścielisku (S) pomiędzy grupą badawczą (SG) i grupą kontrolną (CG) wg podziału na H-score niski i wysoki. N=113

Table 17. Comparison of protein level of RECK in epithelium (E) and in stroma (S) between studied group (SG) and control group (CG) according to the division into low and high H-score; N=113

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	Poziom białka RECK <i>Protein level of RECK</i>			
	Mediana ≤ 50 <i>Median ≤ 50</i>		Mediana > 50 <i>Median > 50</i>	
	N	%	N	%
CG (E)	1	0,88	8	7,08
CG (S)	9	7,96	0	0
SG (E)	14	12,39	90	79,65
SG (S)	73	64,60	31	27,43

Znamiennie wysoki poziom białka RECK odnotowano w komórkach nabłonka grupy badanej (n=90, 79,65%), natomiast w komórkach podścieliska tylko w 31 (27,43%) przypadkach.

W grupie badanej, w komórkach nabłonka wysoki poziom białka RECK wykazano w 8 (7,08%) przypadkach. W komórkach podścieliska wszystkich osób z grupy kontrolnej stwierdzono niski poziom białka RECK (tab. 17).

4.5. Analiza oceny ekspresji RECK, EMMPRIN i MT1-MMP metodą półilościową według podziału na stopnie ekspresji (brak, słaba, średnia, silna)

Analizie poddano poziomy ekspresji RECK, EMMPRIN oraz MT1-MMP w torbielach korzeniowych, rogowaciejąco-torbielowatych guzach zębopochodnych, szkliwiakach oraz mieszkach zębowych grupy kontrolnej. Zbadano stopień intensywności i procentu wybarwienia komórek w danej intensywności.

Tabela 18. Ekspresja RECK w nabłonku (E) i podścielisku (S) torbieli korzeniowej (RC), rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego (KCOT) szkliwiaka (A) oraz grupy kontrolnej (CG) w zależności od stopnia intensywności wybarwienia i procentu wybarwionych komórek w danej intensywności; N=113

Table 18. Expression of RECK in epithelium (E) and in stroma (S) in radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), in ameloblastoma (A) and control group (CG) according to the level of intensity of immunostaining and percentage of immunostained cells in each intensity; N=113

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	Ekspresja RECK <i>Expression of RECK</i>							
	Brak <i>no expression</i>		Słaba <i>low</i>		Średnia <i>moderate</i>		silna <i>high</i>	
	n	%	N	%	N	%	N	%
RC (E)	1	0,88	18	15,93	9	7,96	0	0
RC (S)	15	13,27	13	11,50	0	0	0	0
KCOT (E)	6	5,31	38	33,63	8	7,09	0	0
KCOT (S)	36	31,86	16	14,16	0	0	0	0
A (E)	7	6,19	15	13,27	2	1,77	0	0
A (S)	21	18,58	3	2,65	0	0	0	0
CG (E)	1	0,88	8	7,09	0	0	0	0
CG (S)	9	7,96	0	0	0	0	0	0

W komórkach nabłonka oraz podścieliska wszystkich badanych zmian zębopochodnych oraz grupy kontrolnej nie wykazano wysokiej ekspresji RECK. Średnią ekspresję zaobserwowano tylko w komórkach nabłonka torbieli korzeniowych (n=9, 7,96%), rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego (n=8, 7,09%) oraz szkliwiaka (n=2, 1,77%). Słaba i jej brak stwierdzono w komórkach nabłonka i podścieliska wszystkich badanych zmian oraz grupy kontrolnej. W 38 (33,63%) przypadkach rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych słaba ekspresja RECK zachodziła w nabłonku, podobnie jak w 8 (7,09%) przypadkach z grupy kontrolnej. Brak ekspresji głównie zaobserwowano w komórkach podścieliska rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych (n=36, 31,86%), szkliwiaków (n=21, 18,58%), torbieli korzeniowych (n=15, 13,27%) oraz we wszystkich przypadkach grupy kontrolnej (n=9, 7,96%) (tab. 18).

Tabela 19. Ekspresja MT1-MMP w nabłonku (E) i podścielisku (S) torbieli korzeniowej (RC), rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego (KCOT) szkliwiaka (A) oraz grupy kontrolnej (CG) w zależności od stopnia intensywności wybarwienia i procentu wybarwionych komórek w danej intensywności; N=109

Table 19. Expression of MT1-MMP in epithelium (E) and in stroma (S) in radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), in ameloblastoma (A) and control group (CG) according to the level of intensity of immunostaining and percentage of immunostained cells in each intensity; N=109

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	Ekspresja MT1-MMP <i>Expression of MT1-MMP</i>							
	Brak <i>no expression</i>		Słaba <i>low</i>		Średnia <i>moderate</i>		silna <i>high</i>	
	n	%	N	%	n	%	N	%
RC (E)	6	5,50	13	11,93	6	5,50	1	0,92
RC (S)	10	9,17	16	14,68	0	0	0	0
KCOT (E)	17	15,60	22	20,18	9	8,26	4	3,67
KCOT (S)	39	35,78	13	11,93	0	0	0	0
A (E)	2	1,83	2	1,83	10	9,17	8	7,34
A (S)	3	2,75	19	17,43	0	0	0	0
CG (E)	8	7,34	1	0,92	0	0	0	0
CG (S)	9	8,26	0	0	0	0	0	0

Obecność MT1-MMP zaobserwowano w komórkach torbieli korzeniowych, rogowaciejąco - torbielowateych guzów zębopochodnych, szkliwiaków i mieszków zębowych grupy kontrolnej. Silna ekspresja MT1-MMP zachodziła tylko w komórkach nabłonka szkliwiaków (n=8, 7,34%), rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych (n=4, 3,67%) i w 1 (0,92%) przypadku torbieli korzeniowej. Średnią ekspresję, podobnie jak silną stwierdzono tylko w komórkach nabłonka szkliwiaków (n=10, 9,17%), rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych (n=9, 8,26%) i torbieli korzeniowych (n=6, 5,50%). Słaba ekspresja zachodziła w komórkach nabłonka w 22 (20,18%) przypadkach rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych, 13 przypadków (11,93%) torbieli korzeniowych, 2 (1,83%) przypadków szkliwiaków i w 1 (0,92%) przypadku grupy kontrolnej. Brak ekspresji MT1-MMP zaobserwowano w komórkach podścieliska wszystkich mieszków zębowych grupy badanej (n=9, 8,26%) (tab. 19).

Tabela 20. Ekspresja EMMPRIN w nabłonku (E) i podścielisku (S) torbieli korzeniowej (RC), rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego (KCOT) szkliwiaka (A) oraz grupy kontrolnej (CG) w zależności od stopnia intensywności wybarwienia i procentu wybarwionych komórek w danej intensywności; N=111

Table 20. Expression of EMMPRIN in epithelium (E) and in stroma (S) in radicular cyst (RC), keratocystic odontogenic tumour (KCOT), in ameloblastoma (A) and control group (CG) according to the level of intensity of immunostaining and percentage of immunostained cells in each intensity; N=111

Rodzaj zmiany <i>Type of lesion</i>	Ekspresja EMMPRIN <i>Expression of EMMPRIN</i>							
	Brak <i>no expression</i>		słaba <i>low</i>		Średnia <i>moderate</i>		silna <i>high</i>	
	n	%	N	%	n	%	N	%
RC (E)	0	0	2	1,80	9	8,09	16	14,65
RC (S)	2	1,80	10	9,01	12	10,78	3	2,70
KCOT (E)	0	0	2	1,80	11	9,89	37	33,31
KCOT (S)	20	18,01	28	25,21	2	1,80	0	0
A (E)	2	1,80	7	6,29	9	8,09	7	6,29
A (S)	21	18,90	3	2,70	1	0,90	0	0
CG (E)	0	0	1	0,90	1	0,90	7	6,29
CG (S)	9	8,09	0	0	0	0	0	0

W badanych zmianach zębopochodnych wykazano ekspresję EMMPRIN prawie we wszystkich subpopulacjach komórek. Silną ekspresję EMMPRIN stwierdzono w 37 (33,31%) przypadkach rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego, 16 (14,56%) torbieli korzeniowej, 7 (6,29%) szkliwiakach i 7 (6,29%) grupy kontrolnej. Średnią ekspresję wykazano w 11 (9,89%) przypadkach rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego, 9 przypadkach torbieli korzeniowej (8,09%), 9 szkliwiakach (8,09%) i tylko w 1 przypadku grupy kontrolnej (0,90%). Słabą ekspresję zaobserwowano w podścielisku rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego w 28 (25,21%) przypadkach. W komórkach podścieliska szkliwiaków w 21 (18,90%) przypadkach wykazano brak ekspresji EMMPRIN, a w rogowaciejąco-torbielowatych guzach zębopochodnych w 20 (18,01%) (tab.20).

4.6. Korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w całej badanej grupie

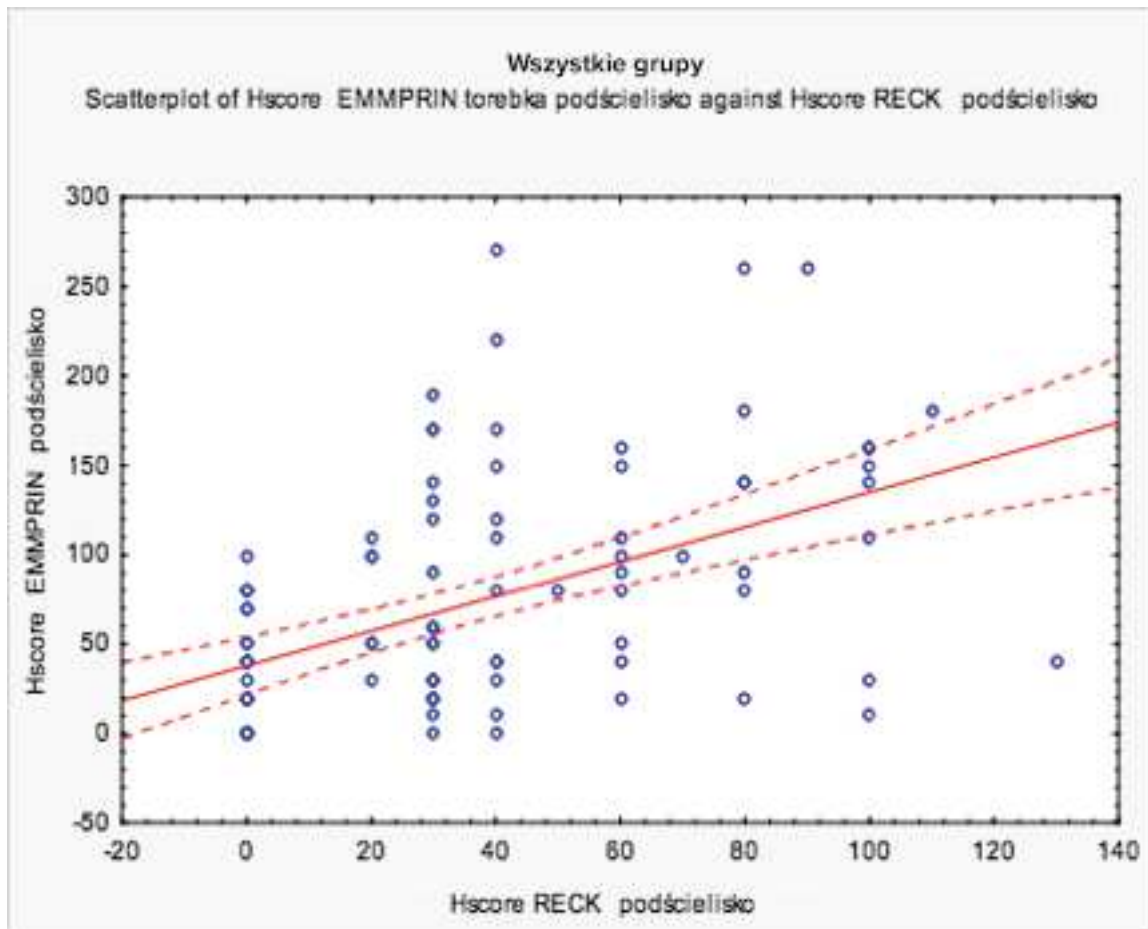
Wykazano korelację pomiędzy poziomami białek RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w komórkach nabłonka i podścieliska grupy badanej, podczas przeprowadzenia analizy statystycznej wzajemnych zależności pomiędzy ich poziomami (tab. 21).

Tabela 21. Współzależności pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w nabłonku i podścielisku we wszystkich badanych zmianach chorobowych. (wyłuszczone korelacje istotne dla $p < 0,05$; r - współczynnik korelacji)

Table 21. Correlations between RECK, EMMPRIN, MT1-MMP levels in epithelium and stroma in all analysed lesions (marked correlations are significant at $p < 0.05$; r - correlation coefficient)

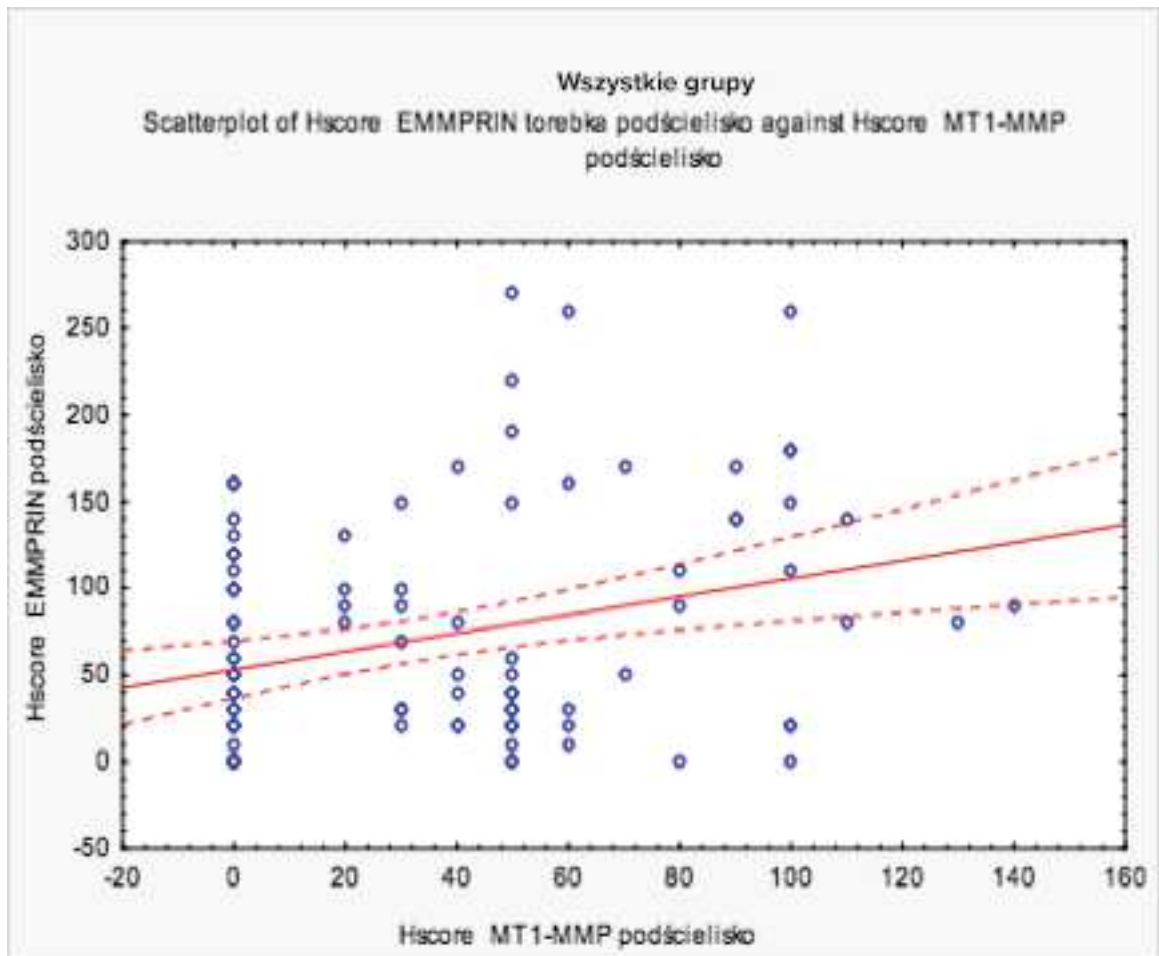
	Hscore EMMPRIN nabłonek (r)	Hscore EMMPRIN podścielisko (r)	Hscore MT1-MMP nabłonek (r)	Hscore MT1-MMP podścielisko (r)	Hscore RECK nabłonek (r)	Hscore RECK podścielisko (r)
Hscore EMMPRIN nabłonek (r)	1,000	0,010	-0,059	-0,179	0,183	-0,010
Hscore EMMPRIN podścielisko (r)	0,010	1,000	-0,032	0,263	0,221	0,527
Hscore MT1-MMP nabłonek (r)	-0,059	-0,031	1,000	0,614	0,007	-0,171
Hscore MT1-MMP podścielisko (r)	-0,179	0,263	0,614	1,000	0,127	0,178
Hscore RECK nabłonek (r)	0,183	0,221	0,007	0,127	1,000	0,363
Hscore RECK podścielisko (r)	-0,010	0,527	-0,171	0,178	0,363	1,000

W grupie badanej stwierdzono dodatnie korelacje pomiędzy poziomem EMMPRIN w podścielisku a RECK w podścielisku ($r=0,527$; $p<0,05$) (ryc.10), EMMPRIN w podścielisku a MT1-MMP w podścielisku ($r=0,263$; $p<0,05$) (ryc.11), EMMPRIN w podścielisku a RECK w nabłonku ($r=0,221$; $p<0,05$) (ryc. 12), MT1-MMP w podścielisku a MT1-MMP w nabłonku ($r=0,614$; $p < 0,05$) (ryc. 13) oraz RECK w nabłonku a RECK w podścielisku ($r=0,369$; $p < 0,05$) (ryc. 14).

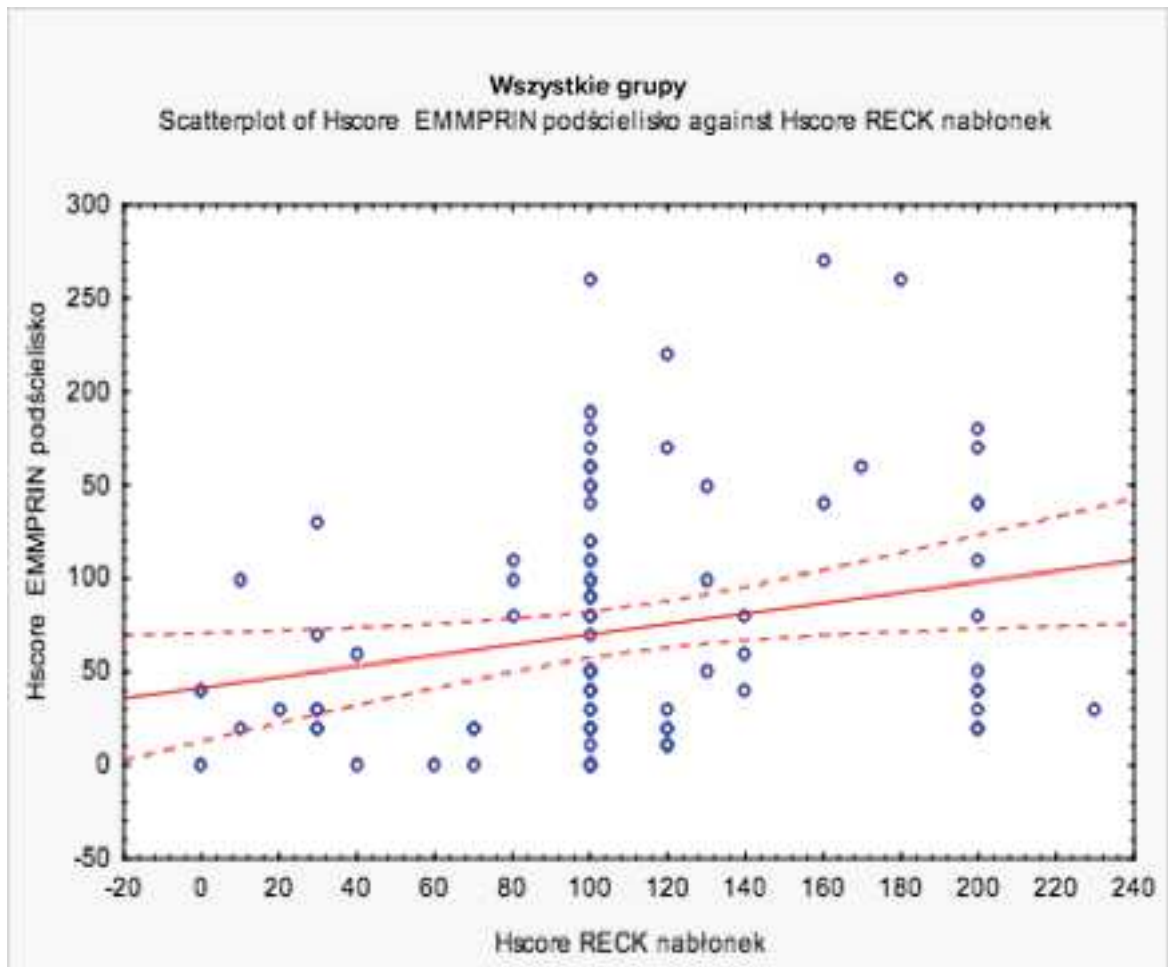


Rycina 10. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem EMMPRIN w podścielisku a RECK w podścielisku we wszystkich badanych zmianach chorobowych ($r=0,527$; $p<0,05$)

Figure 10. Positive correlation between level of EMMPRIN in stroma and level of RECK in stroma in all analysed lesions ($r=0.527$; $p<0.05$)

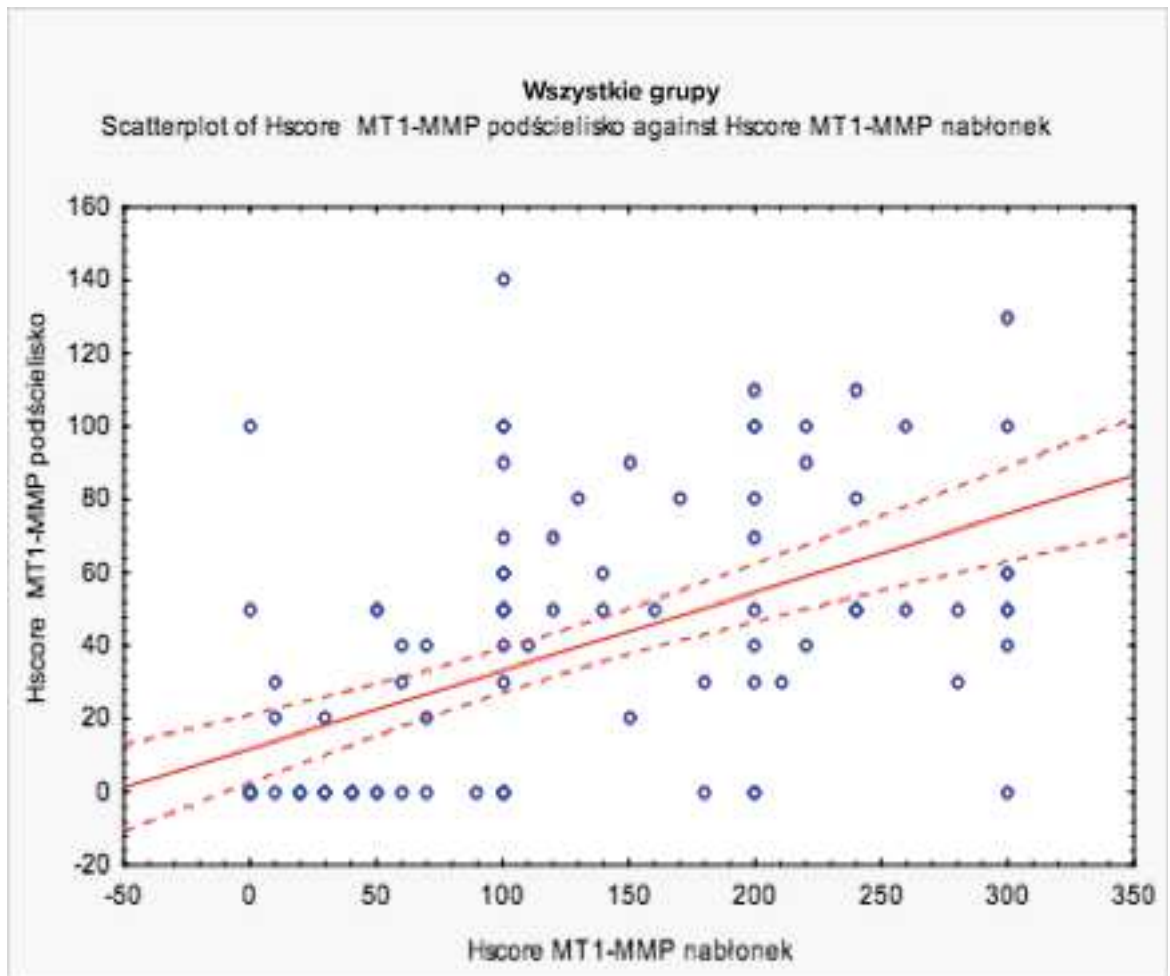


Rycina 11. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem EMMPRIN w podścielisku a MT1-MMP w podścielisku we wszystkich badanych zmianach chorobowych ($r=0,263$; $p<0,05$)
Figure 11. Positive correlation between level of EMMPRIN in stroma and level of MT1-MMP in stroma in all analysed lesions ($r=0.263$; $p<0.05$)



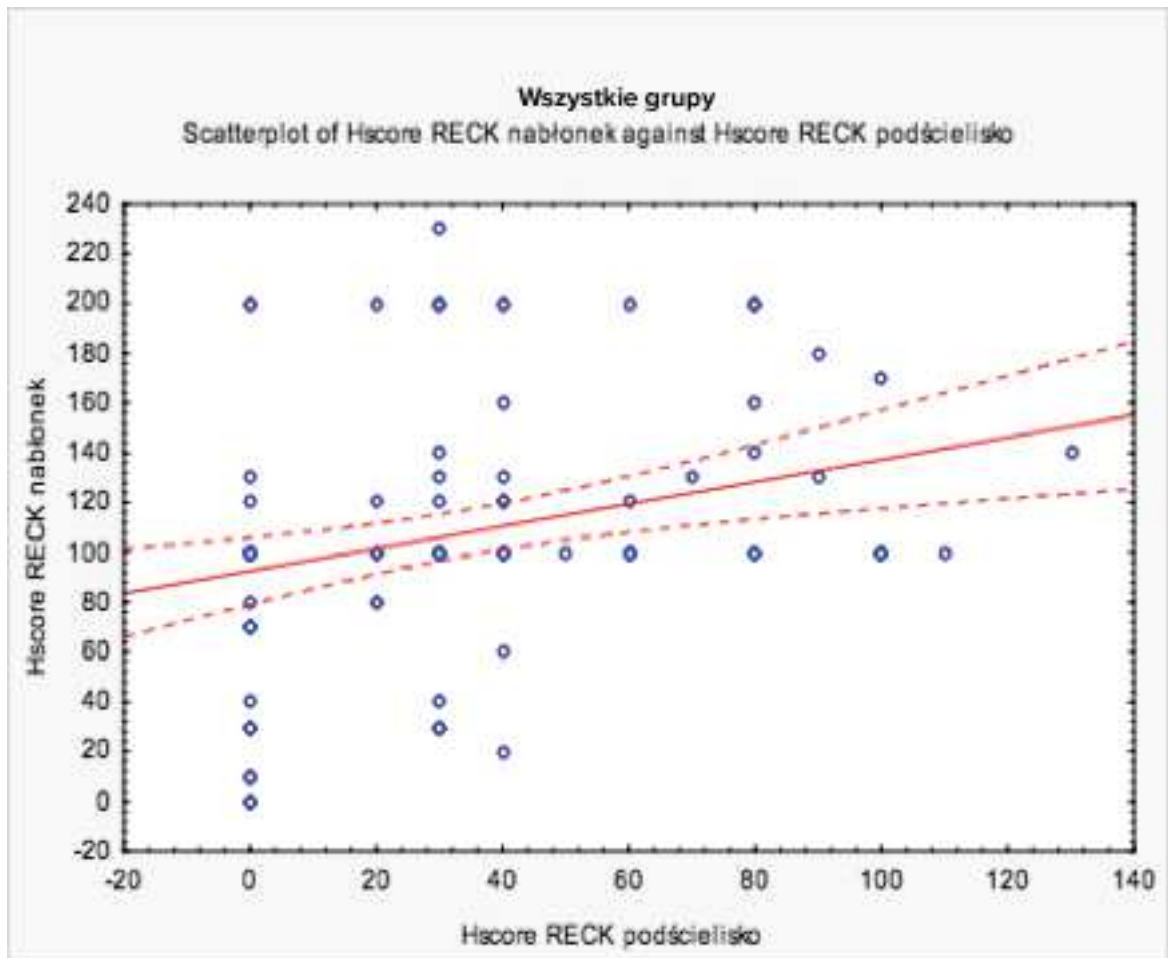
Rycina 12. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem EMMPRIN w podścielisku a RECK w nabłonku we wszystkich badanych zmianach chorobowych ($r=0,221$; $p<0,05$)

Figure 12. Positive correlation between level of EMMPRIN in stroma and level of RECK in epithelium in all analysed lesions ($r=0.221$; $p<0.05$)



Rycina 13. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem MT1-MMP w podścielisku a MT1-MMP w nabłonku we wszystkich badanych zmianach chorobowych ($r=0,221$; $p<0,05$)

Figure 13. Positive correlation between level of MT1-MMP in stroma and level of MT1-MMP in epithelium in all analysed lesions ($r=0.221$; $p<0.05$)



Rycina 14. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem RECK w nabłonku a RECK w podścielisku we wszystkich badanych zmianach chorobowych ($r=0,221$; $p<0,05$)

Figure 14. Positive correlation between level of RECK in epithelium and level of RECK in stroma in all analysed lesions ($r=0.221$; $p<0.05$)

4.7. Korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w grupie szkliwiaków

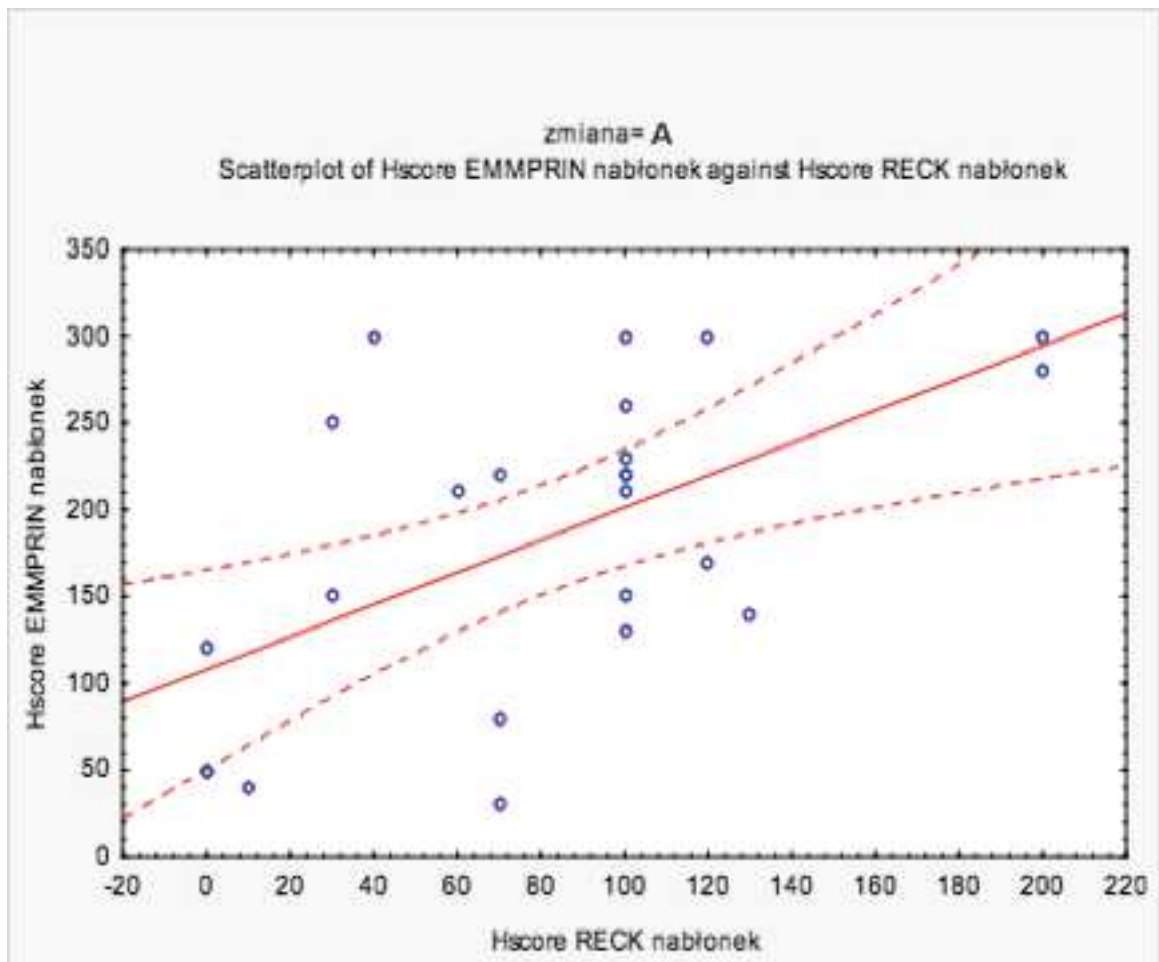
Wykazano korelację pomiędzy poziomami białek RECK, EMMPRIN i MT1- MMP w komórkach nabłonka i podścieliska grupy szkliwiaków, podczas przeprowadzenia analizy statystycznej wzajemnych zależności pomiędzy ich poziomami (tab. 22).

Tabela 22. Współzależności pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w nabłonku i podścielisku w grupie szkliwiaków. (wyłuszczone korelacje istotne dla $p < 0,05$; r - współczynnik korelacji)

Table 22. Correlations between RECK, EMMPRIN, MT1-MMP levels in epithelium and stroma in ameloblastomas (marked correlations are significant at $p < 0.05$; r - correlation coefficient)

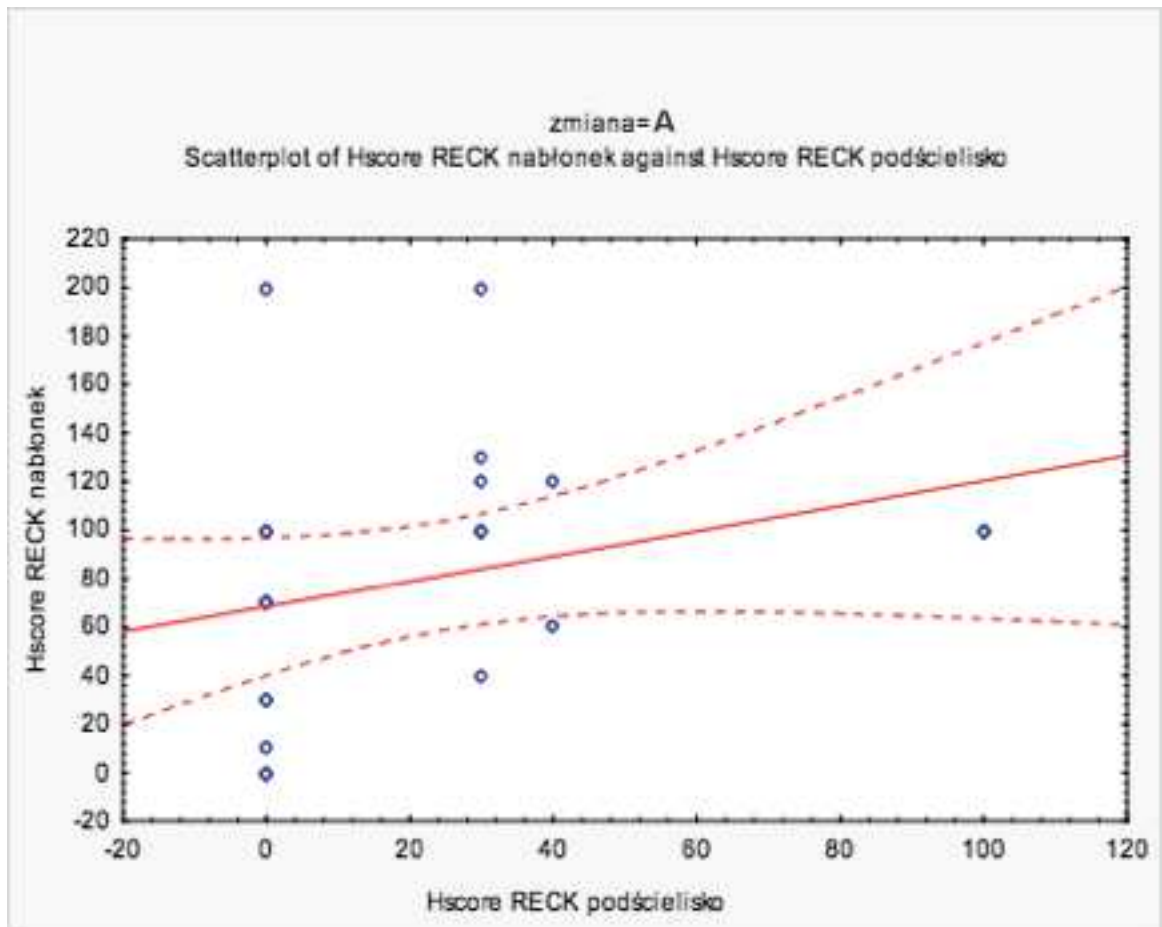
	Hscore EMMPRIN nabłonek (r)	Hscore EMMPRIN podścielisko (r)	Hscore MT1-MMP nabłonek (r)	Hscore MT1-MMP podścielisko (r)	Hscore RECK nabłonek (r)	Hscore RECK podścielisko (r)
Hscore EMMPRIN nabłonek (r)	1,000	-0,042	0,353	-0,244	0,522	0,362
Hscore EMMPRIN podścielisko (r)	-0,048	1,000	0,208	0,138	-0,062	0,096
Hscore MT1-MMP nabłonek (r)	0,353	0,208	1,000	0,345	0,145	-0,320
Hscore MT1-MMP podścielisko (r)	-0,244	0,138	0,345	1,000	0,067	-0,075
Hscore RECK nabłonek (r)	0,522	-0,062	0,145	0,067	1,000	0,483
Hscore RECK podścielisko (r)	0,362	0,096	-0,320	-0,075	0,483	1,000

W grupie szkliwiaków stwierdzono dodatnie korelacje pomiędzy poziomem EMMPRIN w nabłonku a RECK w nabłonku ($r=0,522$; $p<0,05$) (ryc. 15), RECK w podścielisku a RECK w nabłonku ($r=0,483$; $p <0,05$) (ryc. 16).



Rycina 15. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem EMMPRIN w nabłonku a RECK w nabłonku w grupie szkliwiaków ($r=0,522$; $p<0,05$)

Figure 15. Positive correlation between level of EMMPRIN in epithelium and level of RECK in epithelium in ameloblastomas ($r=0.522$; $p<0.05$)



Rycina 16. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem RECK w nabłonku a RECK w podścielisku w grupie szkliwiaków ($r=0,483$; $p<0,05$)

Figure 16. Positive correlation between level of RECK in epithelium and level of RECK in stroma in ameloblastomas ($r=0.483$; $p<0.05$)

4.8. Korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w grupie torbieli korzeniowych

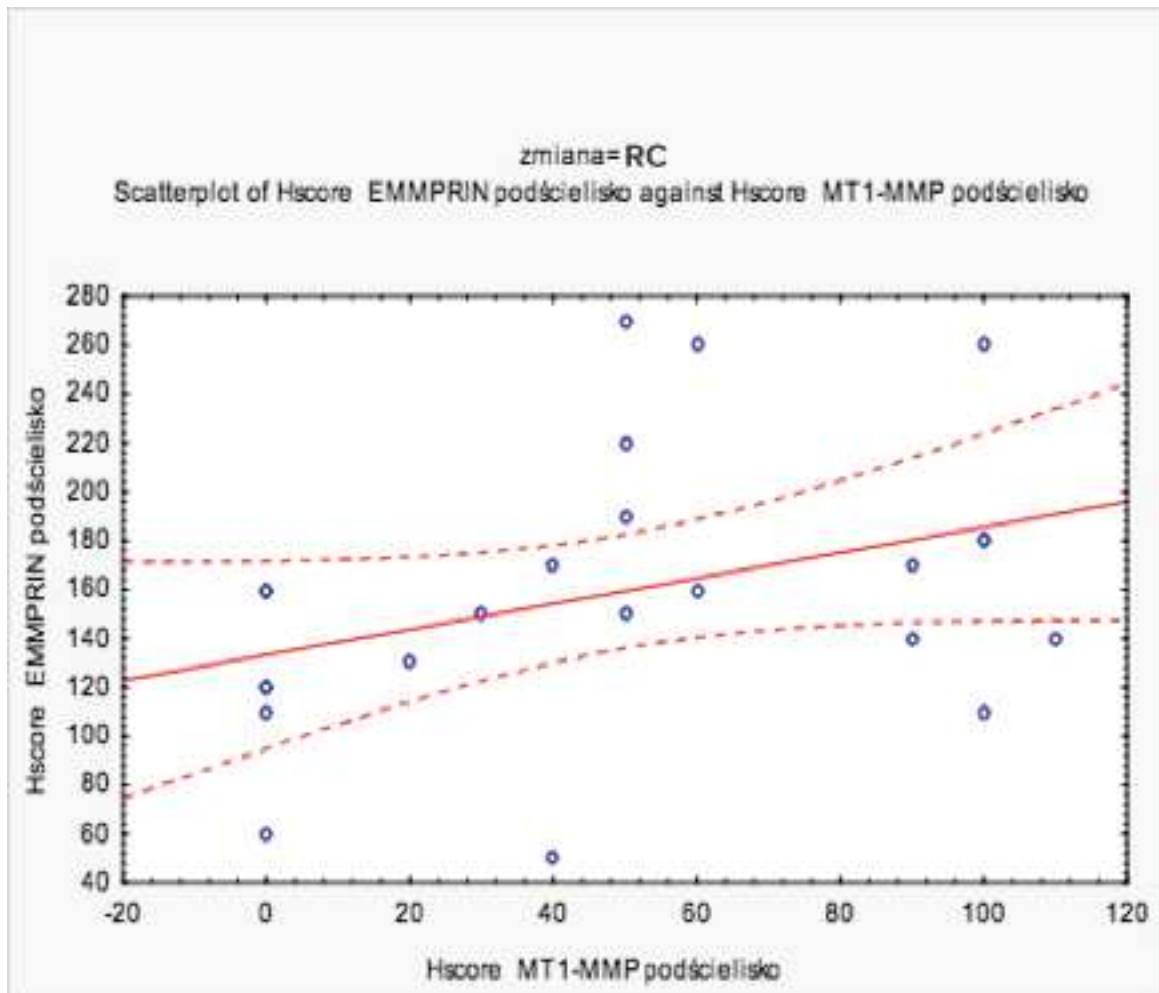
Wykazano korelację pomiędzy poziomami białek RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w komórkach nabłonka i podścieliska grupy torbieli korzeniowych, podczas przeprowadzenia analizy statystycznej wzajemnych zależności pomiędzy ich poziomami (tab. 23).

Tabela 23. Współzależności pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w nabłonku i podścielisku w torbielach korzeniowych. (wyłuszczone korelacje istotne dla $p < 0,05$; r - współczynnik korelacji)

Table 23. Correlations between RECK, EMMPRIN, MT1-MMP levels in epithelium and stroma in radicular cysts (marked correlations are significant at $p < 0.05$; r - correlation coefficient)

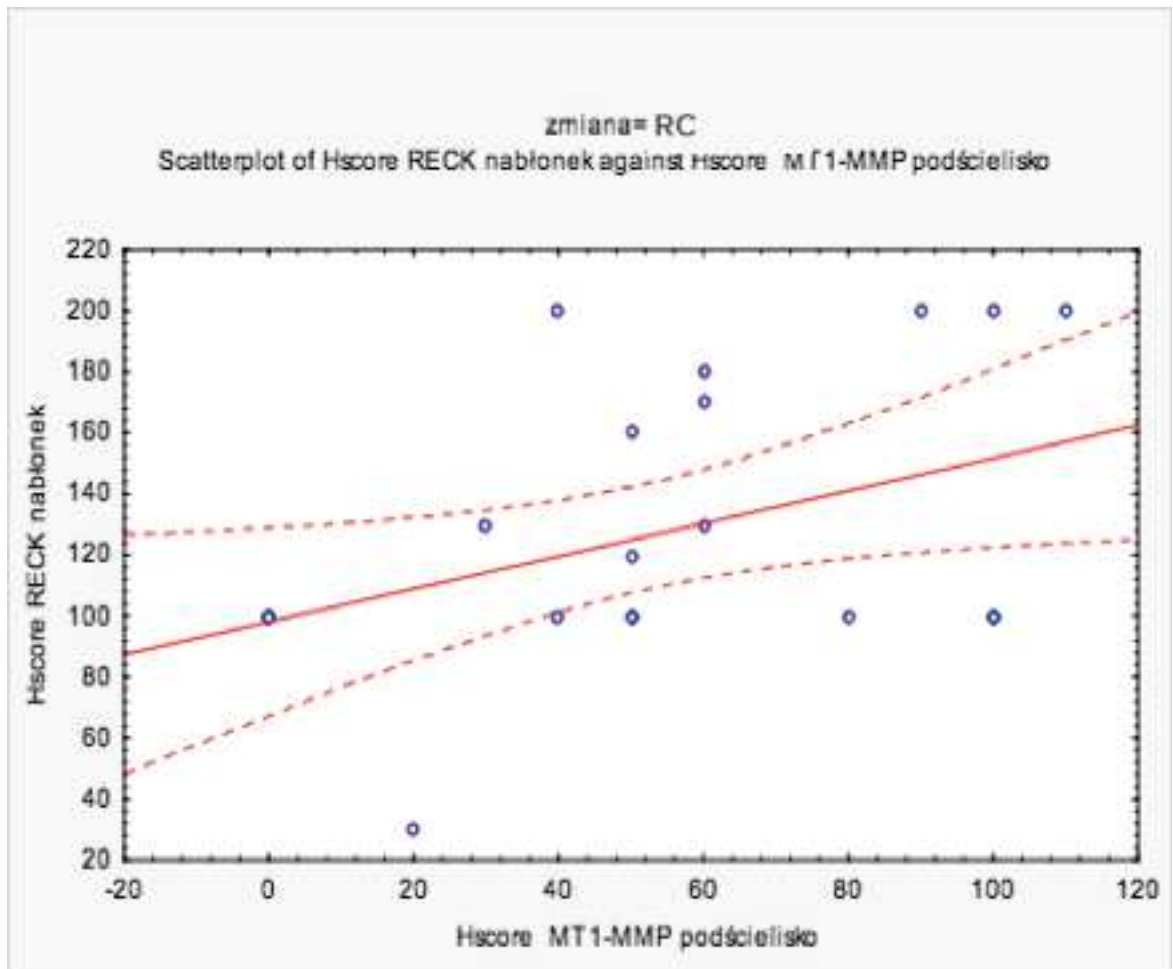
	Hscore EMMPRIN nabłonek (r)	Hscore EMMPRIN podścielisko (r)	Hscore MT1-MMP nabłonek (r)	Hscore MT1-MMP podścielisko (r)	Hscore RECK nabłonek (r)	Hscore RECK podścielisko (r)
Hscore EMMPRIN nabłonek (r)	1,000	0,173	0,373	0,036	0,229	-0,096
Hscore EMMPRIN podścielisko (r)	0,173	1,000	-0,125	0,415	-0,046	0,392
Hscore MT1-MMP nabłonek (r)	0,373	-0,125	1,000	0,496	0,486	-0,221
Hscore MT1-MMP podścielisko (r)	0,036	0,415	0,496	1,000	0,418	0,229
Hscore RECK nabłonek (r)	0,229	-0,046	0,486	0,418	1,000	0,047
Hscore RECK podścielisko (r)	-0,096	0,392	-0,221	0,229	0,047	1,000

W grupie torbieli korzeniowych stwierdzono dodatnie korelacje pomiędzy poziomem EMMPRIN w podścielisku a MT1-MMP w podścielisku ($r=0,415$; $p<0,05$) (ryc. 17), MT1-MMP w podścielisku a MT1-MMP w nabłonku ($r=0,496$; $p<0,05$) (ryc. 18), MT1-MMP w nabłonku a RECK w nabłonku ($r=0,486$; $p<0,05$)(ryc. 19).



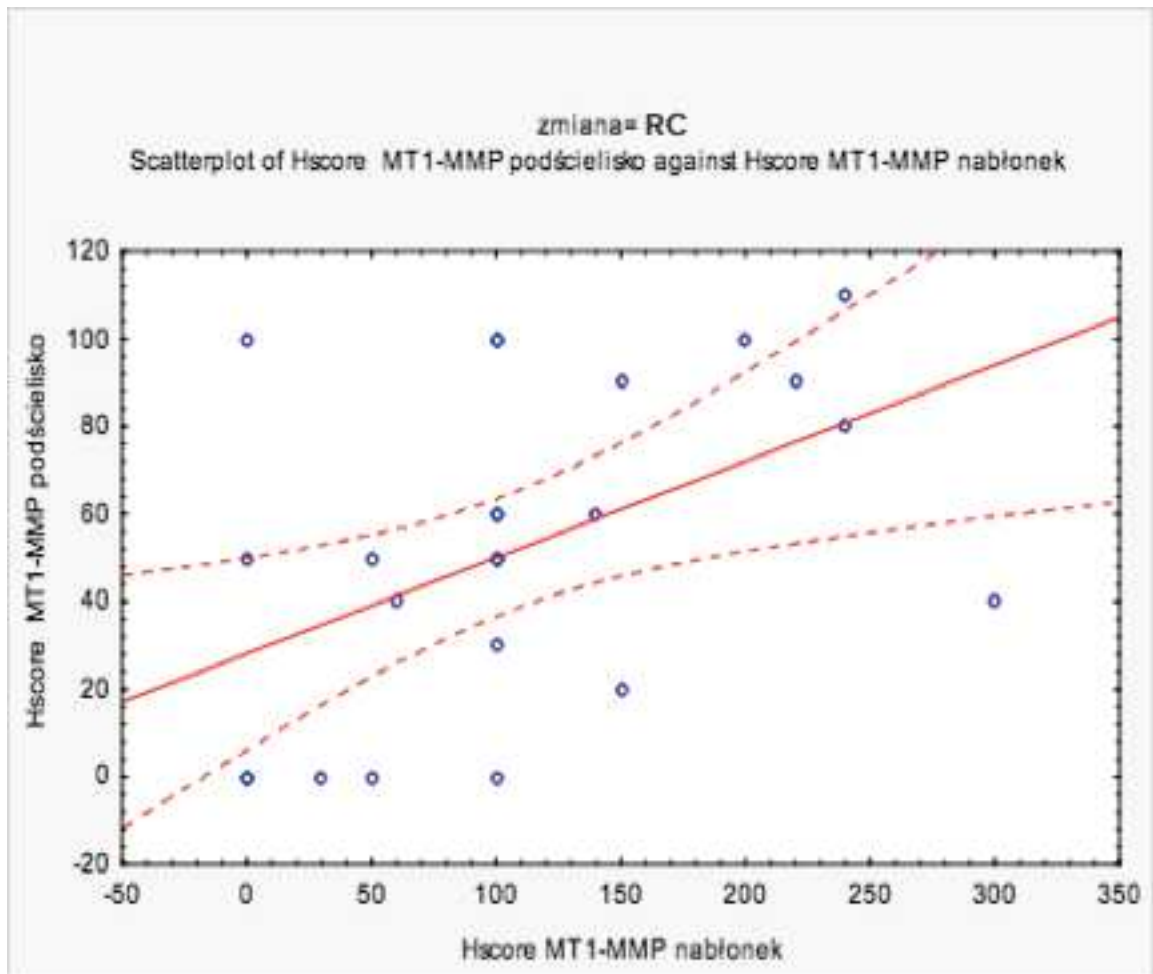
Rycina 17. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem EMMPRIN w podścielisku a MT1-MMP w podścielisku w grupie torbieli korzeniowych ($r=0,415$; $p<0,05$)

Figure 17. Positive correlation between level of EMMPRIN in stroma and level of RECK in stroma in radicular cysts ($r=0.415$; $p<0.05$)



Rycina 18. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem RECK w nabłonku a MT1-MMP w podścielisku w grupie torbieli korzeniowych ($r=0,486$; $p<0,05$)

Figure 18. Positive correlation between level of RECK in epithelium and level of MT1-MMP in stroma in radicular cysts ($r=0.486$; $p<0.05$)



Rycina 19. Dodatnia korelacja pomiędzy ekspresją MT1-MMP w podścielisku a MT1-MMP w nabłonku w grupie torbieli korzeniowych ($r=0,496$; $p<0,05$)

Figure 19. Positive correlation between expression of MT1-MMP in stroma and expression of MT1-MMP in epithelium in radicular cysts ($r=0.496$; $p<0.05$)

4.9. Korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w grupie rogowaciejąco -torbielowatych guzów zębopochodnych

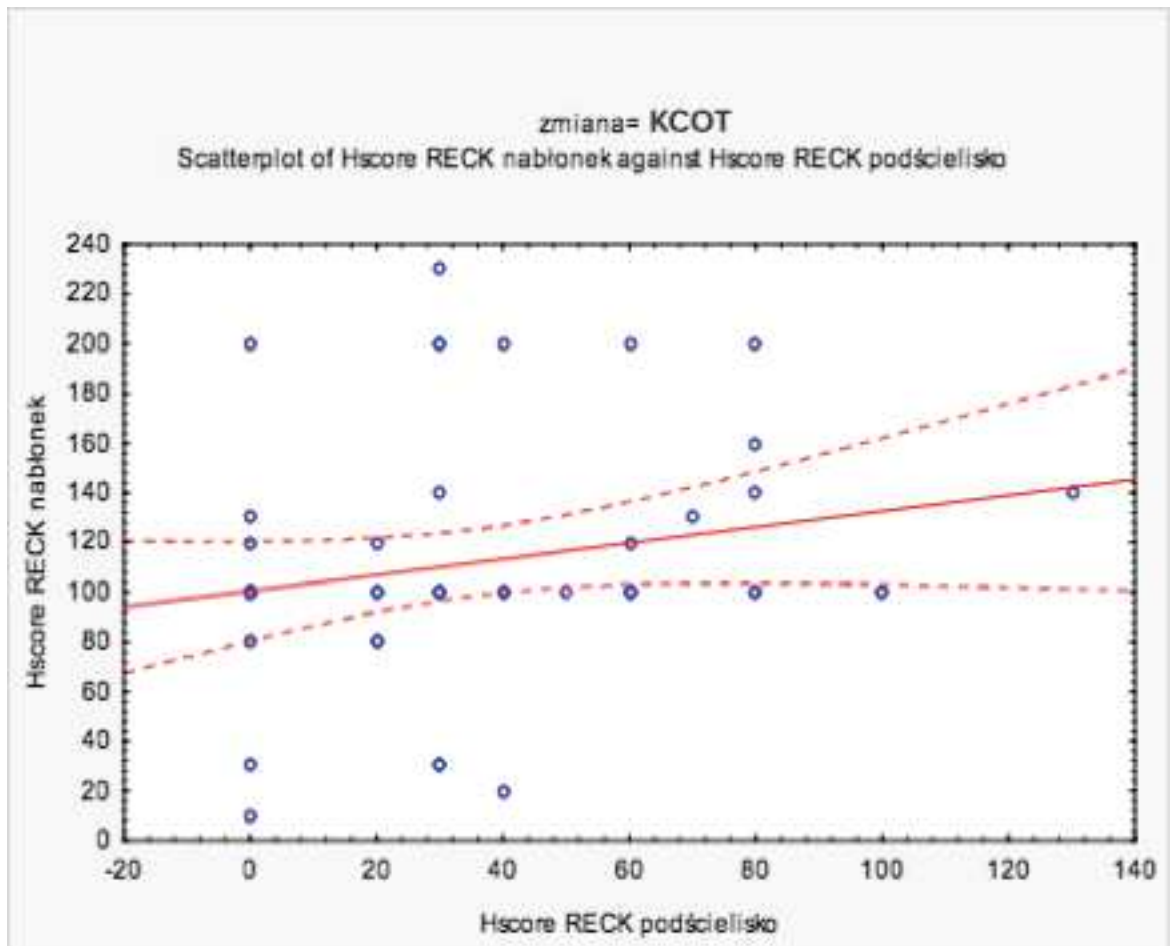
Wykazano korelację pomiędzy poziomami białek RECK, EMMPRIN i MT1- MMP w komórkach nabłonka i podścieliska grupy rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych, podczas przeprowadzenia analizy statystycznej wzajemnych zależności pomiędzy ich poziomami (tab. 24)

Tabela 24. Współzależności pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w nabłonku i podścielisku w grupie rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych. (wytuszczono korelacje istotne dla $p < 0,05$; r - współczynnik korelacji)

Table 24. Correlations between RECK, EMMPRIN, MT1-MMP levels in epithelium and stroma in keratocystic odontogenic tumors (marked correlations are significant at $p < 0.05$; r - correlation coefficient)

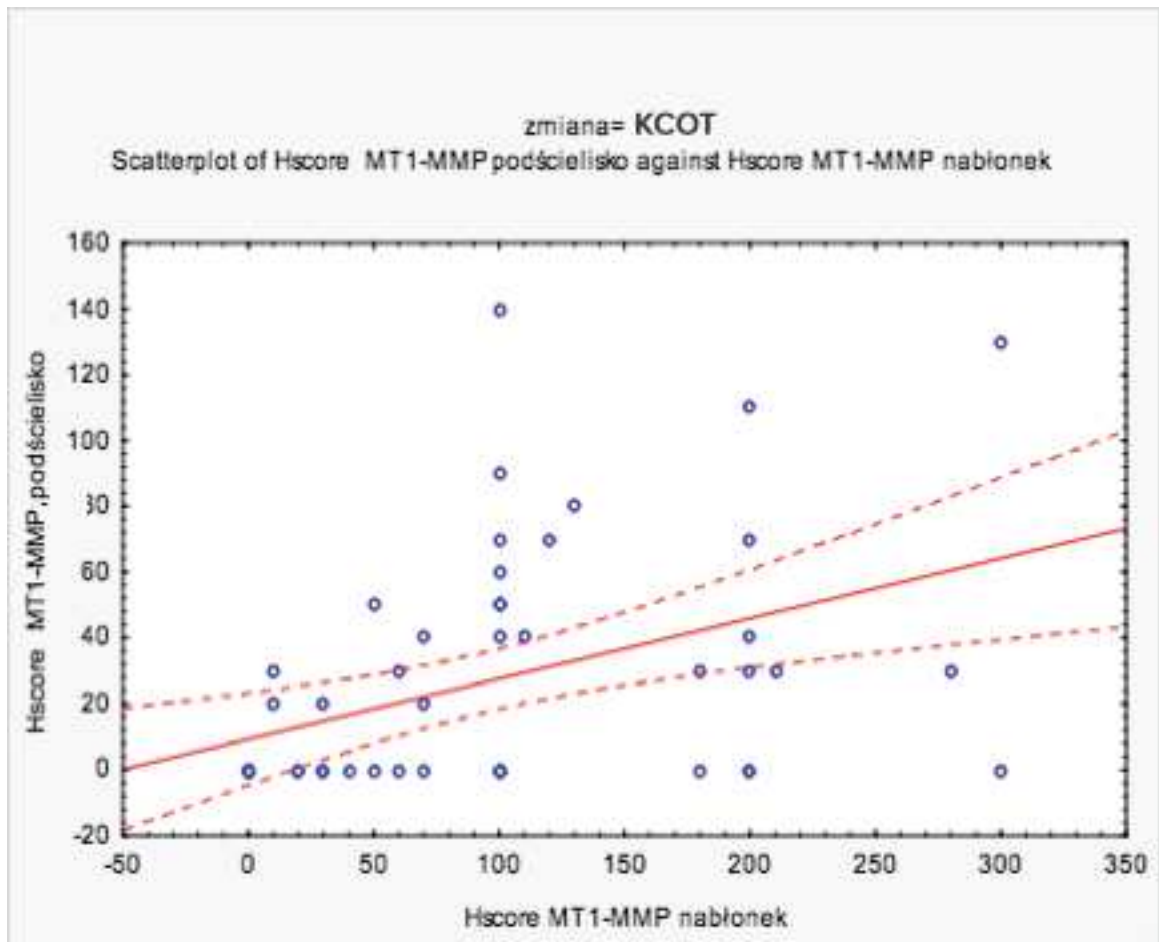
	Hscore EMMPRIN nabłonek (r)	Hscore EMMPRIN podścielisko (r)	Hscore MT1-MMP nabłonek (r)	Hscore MT1-MMP podścielisko (r)	Hscore RECK nabłonek (r)	Hscore RECK podścielisko (r)
Hscore EMMPRIN nabłonek (r)	1,000	-0,176	0,184	0,124	-0,094	-0,063
Hscore EMMPRIN podścielisko (r)	-0,176	1,000	0,042	0,181	-0,104	0,200
Hscore MT1-MMP nabłonek (r)	0,184	0,042	1,000	0,498	-0,049	-0,223
Hscore MT1-MMP podścielisko (r)	0,124	0,181	0,498	1,000	0,134	0,101
Hscore RECK nabłonek (r)	-0,095	-0,104	-0,049	0,134	1,000	0,279
Hscore RECK podścielisko (r)	-0,063	0,200	-0,223	0,101	0,279	1,000

W grupie rogowaczej - torbielowatych guzów zębopochodnych stwierdzono dodatnie korelacje pomiędzy poziomem RECK w podścielisku a RECK w nabłonku ($r=0,279$; $p<0,05$) (ryc.20), MT1-MMP w podścielisku a MT1-MMP w nabłonku ($r=0,279$; $p<0,05$)(ryc. 21).



Rycina 20. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem RECK w nabłonku a RECK w podścielisku w grupie rogowaczej - torbielowatych guzów zębopochodnych ($r=0,279$; $p<0,05$)

Figure 20. Positive correlation between level of RECK in epithelium and level of RECK in stroma in keratocystic odontogenic tumors ($r=0.279$; $p<0.05$)



Rycina 21. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem MT1-MMP w podścielisku a MT1-MMP w nabłonku w grupie rogowaciejąco - torbielowatych guzów zębopochodnych ($r=0,498$; $p<0,05$)

Figure 21. Positive correlation between level of MT1-MMP in stroma and level of RECK in epithelium in keratocystic odontogenic tumors ($r=0.498$; $p<0.05$)

4.10. Korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w grupie kontrolnej

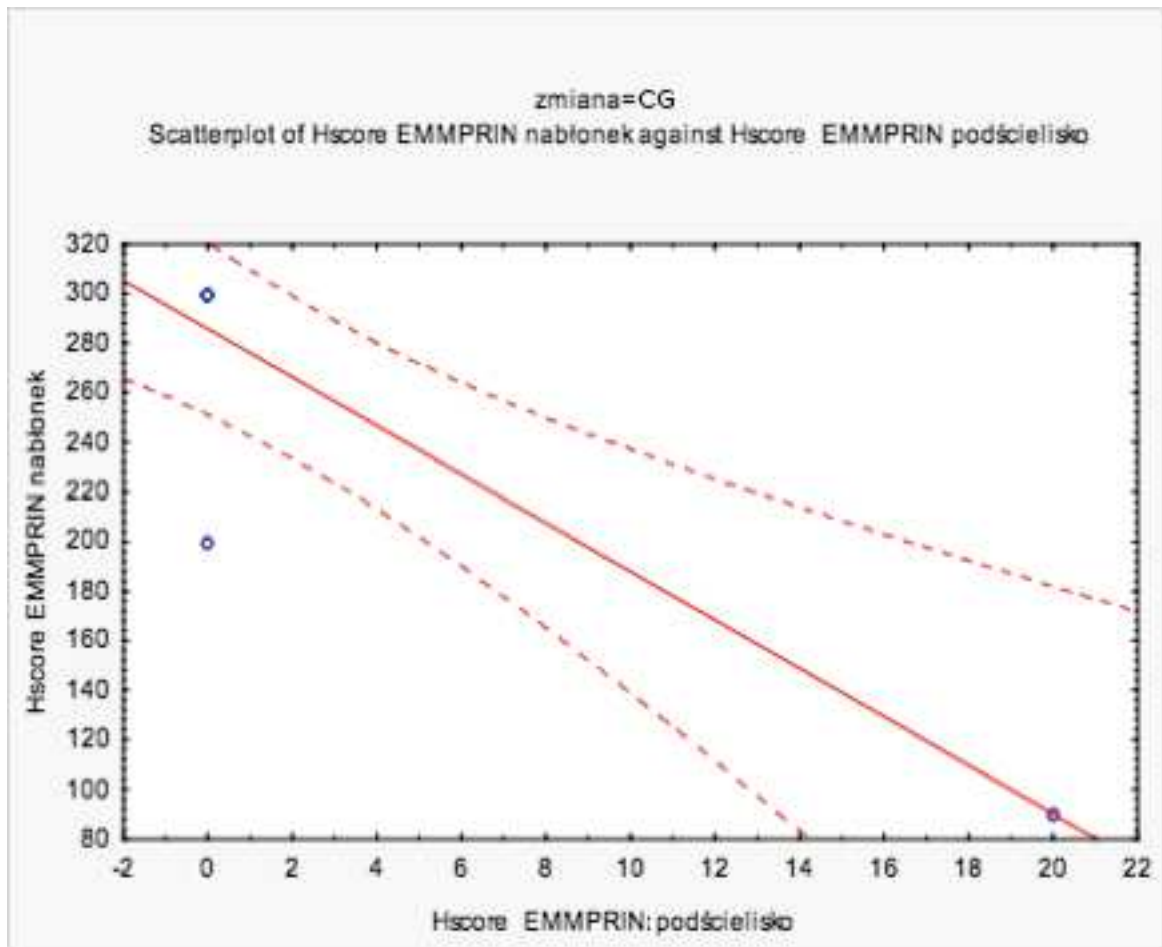
Wykazano korelację pomiędzy poziomami białek RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w komórkach nabłonka i podścieliska grupy kontrolnej, podczas przeprowadzenia analizy statystycznej wzajemnych zależności pomiędzy ich poziomami (tab. 25)

Tabela 25. Współzależności pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w nabłonku i podścielisku w grupie kontrolnej. (wyłuszczone korelacje istotne dla $p < 0,05$; r - współczynnik korelacji)

Table 25. Correlations between RECK, EMMPRIN, MT1-MMP levels in epithelium and stroma in control group (marked correlations are significant at $p < 0.05$; r - correlation coefficient)

	Hscore EMMPRIN nabłonek (r)	Hscore EMMPRIN podścielisko (r)	Hscore MT1-MMP nabłonek (r)	Hscore MT1-MMP podścielisko (r)	Hscore RECK nabłonek (r)	Hscore RECK podścielisko (r)
Hscore EMMPRIN nabłonek (r)	1,000	-0,756	0,121			
Hscore EMMPRIN podścielisko (r)	-0,756	1,000	0,283			
Hscore MT1-MMP nabłonek (r)	0,121	0,283	1,000		0,208	
Hscore MT1-MMP podścielisko (r)				1,000		
Hscore RECK nabłonek (r)			0,208		1,000	
Hscore RECK podścielisko (r)						1,000

W grupie kontrolnej stwierdzono dodatnie korelacje pomiędzy poziomem EMMPRIN w podścielisku a EMMPRIN w nabłonku ($r = -0,756$; $p < 0,05$) (ryc. 22).



Rycina 22. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomem EMMPRIN w podścielisku a EMMPRIN w nabłonku w grupie kontrolnej ($r=-0,756$; $p<0,05$)

Figure 22. Positive correlation between level of EMMPRIN in stroma and level of EMMPRIN in epithelium in control group ($r=-0.756$; $p<0.05$)

5. DYSKUSJA

Szkliviak jest zakwalifikowany jako łagodny nowotwór, to wykazuje się agresywnym przebiegiem miejscowym, niszcząc otaczające go tkanki. Wyróżnia się różne typy szkliviaka. Metodą z wyboru leczenia szkliviaka jest chirurgiczne usunięcie zmiany w całości, jednak przypadki nawrotów są częste.

Keratocysta zębopochodna (rogowaciejąco-torbielowaty guz zębopochodny) charakteryzuje się agresywnym przebiegiem, czym zwraca na siebie uwagę naukowców. Jest jedną z najczęściej występujących zmian zębopochodnych i ma tendencje do wznowy. Torbiel korzeniowa jest zdecydowanie najczęstszą wśród zmian w obrębie kości szczęki i żuchwy u człowieka. Podczas jej wzrostu dochodzi do resorpcji otaczającej jej kości. Może osiągać różne rozmiary.

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej charakteryzują się domenową budową, są podzielona na kilka grup (błonowe MMPs, kolagenazy, żelatynazy, stromielizyny, matrylizyny oraz inne MMPs niezakwalifikowane do żadnej z powyższych) mają wpływ na wiele procesów fizjologicznych.

W niniejszej pracy skupiono się na ocenie roli RECK, EMMPRIN oraz MT1-MMP w guzach i torbielach zębopochodnych. RECK jest supresorem nowotworów, ma hamujący wpływ na procesy inwazji i progresji nowotworu. RECK odgrywa bardzo ważną rolę w procesach angiogenezy. EMMPRIN znajduje się głównie w błonie komórkowej warstwy podstawnej, odpowiada za regulację ekspresji MMPs. Powoduje wzrost agresji i rozrost nowotworu. EMMPRIN ma pozytywny wpływ na powstawanie przerzutów w odległych miejscach. MT1-MMP bierze udział w procesach przebudowy błony komórkowej, apoptozy, angiogenezy. W nowotworach dochodzi do wzrostu ekspresji MT1-MMP. Jest jedyną metaloproteinazą w błonie komórkowej rozkładającą kolagen.

W obecnym badaniu oceniono ekspresję RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w guzach i torbielach zębopochodnych. Badania przeprowadzono metodą immunohistochemiczną. Wykazano analizę czynnikową, stwierdzono, że w grupie badanej płeć, wiek oraz obecność chorób towarzyszących nie miały istotnego wpływu na ekspresję RECK, EMMPRIN, MT1-MMP ($p > 0,05$). Wykazano różnicę w ekspresji tych czynników pomiędzy grupą kontrolną, którą stanowiły mieszki zębowe całkowicie zatrzymanych dolnych, trzecich zębów trzonowych uzyskanych podczas zabiegów dłutowania z przyczyn ortodontycznych od 9 chorych a grupą badaną, w której materiałem badawczym były komórki szkliviaków, rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych oraz torbieli korzeniowych.

RECK pełni ważną rolę w wielu procesach fizjologicznych zachodzących w organizmie człowieka. Liang i wsp. [53]. w swoich badaniach zauważyli, że brak ekspresji RECK jest skorelowany z gorszym rokowaniem w przyszłości. Badając komórki szkliwiaka, stwierdzili w nich spadek ekspresji RECK. Zauważyli także, że RECK hamuje lokalną inwazję otaczających tkanek przez komórki szkliwiaka. Analizując ekspresję RECK w komórkach nabłonka i podścieliska zmian nowotworowych autorzy donoszą, że jej wzrost doprowadza do redukcji inwazji guza.

Zhou i wsp. [105] stwierdzili w swoich badaniach brak korelacji ekspresji RECK z wielkością guza, wiekiem i płcią pacjentów.

Prosdócimi i wsp. [73] podczas badań zauważyli, że RECK oddziałuje na metaloproteinazy w przebiegu rozwoju rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego. Stwierdzili, że podczas spadku ekspresji RECK w komórkach zrębu dochodzi w nich do wzrostu ekspresji MMPs. Dodatkowo, w badaniach przeprowadzonych na szkliwiakach wykazano, że w ich strukturze także występuje zmniejszona ekspresja RECK, co do tej pory było związane z nowotworami złośliwymi a szkliwiaki są nowotworami łagodnymi o miejscowej złośliwości.

Poza badaniami na szkliwiakach badacze prowadzili badania nad RECK w różnych nowotworach w obrębie głowy i szyi jak KCOT czy nowotwory gruczołów ślinowych. W tych przypadkach także stwierdzono zmniejszoną ekspresję RECK a co za tym idzie wzrost ekspresji metaloproteinaz. Skutkiem tego była zwiększona progresja nowotworu oraz gorsze rokowanie.

W niniejszej pracy stwierdzono wyższy poziom ekspresji RECK w komórkach nabłonka w torbieli korzeniowej niż w szkliwiaku czy rogowaciejąco-torbielowatym guzie zębopochodnym. W komórkach podścieliska nie wykazano istotnych różnic w ekspresji RECK, w badanych zmianach, natomiast w podścielisku mieszków zębowych grupy badanej nie stwierdzono ekspresji RECK. Ekspresja RECK o wysokim H-score w komórkach nabłonka wystąpiła istotnie częściej w rogowaciejąco-torbielowatym guzie zębopochodnym, podobnie w komórkach podścieliska. W grupie kontrolnej wysoki H-score wystąpił w 8 na 9 przypadków, natomiast w komórkach podścieliska we wszystkich przypadkach zaobserwowano niski poziom H-score.

W podziale na wysoki i niski poziom ekspresji RECK w grupie badanej i kontrolnej zauważono, że w komórkach nabłonka grupy badanej występuje znamienne wysoki poziom ekspresji RECK, bo aż u 90 chorych, gdzie w komórkach podścieliska wystąpił on u 31 badanych. U wszystkich osób grupy kontrolnej stwierdzono niski poziom ekspresji RECK w komórkach podścieliska.

Dodatkowo, w niniejszej pracy zbadano stopień intensywności i procentu wybarwienia komórek w danej intensywności. Nie wykazano w komórkach nabłonka oraz podścieliska badanych zmian oraz grupy kontrolnej silnej ekspresji RECK. Średnią ekspresję zaobserwowano w komórkach nabłonka torbieli korzeniowej u 9 chorych, rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego u 8 chorych oraz w 2 przypadkach szkliwiak. Słabą ekspresję odnotowano w komórkach nabłonka i podścieliska wszystkich badanych zmian, a także w komórkach nabłonka mieszków zębowych grupy kontrolnej. Brak ekspresji głównie wystąpił w komórkach podścieliska rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych - 36 chorych, szkliwiaków - 21 chorych, torbieli korzeniowych - 15 chorych oraz we wszystkich przypadkach grupy kontrolnej.

EMMPRIN jest obecny w większości komórek ludzkiego organizmu oraz bierze udział w wielu procesach fizjologicznych. Obecność EMMPRIN odnotowano także w wielu komórkach nowotworowych. Lescaille i wsp. [52] stwierdzili wzrost ekspresji EMMPRIN w komórkach raka płaskonabłonkowego jamy ustnej. Zauważyli też, że wzrost ekspresji EMMPRIN jest związany z gorszym rokowaniem nowotworu. Funkcją EMMPRIN jest regulacja ekspresji metaloproteinaz, na co także, w swojej pracy, zwraca uwagę Lescaille i wsp. [52]. Autorzy podają, że EMMPRIN ma wpływ na rozrost i bardziej agresywny przebieg nowotworu. Monteiro i wsp. [64] w swojej pracy stwierdzili, że wraz ze wzrostem zaawansowania nowotworu, wzrasta ekspresja EMMPRIN. Zauważyli, że w komórkach nabłonka i cytoplazmy badanych nowotworów obecny był EMMPRIN, a w 2/3 doszło do nadekspresji. Według badań Monteiro i wsp. [64] poziom ekspresji EMMPRIN jest wyższy w komórkach nowotworów złośliwych niż niezłośliwych. Słabo lub umiarkowanie zróżnicowane guzy wykazywały większy poziom ekspresji EMMPRIN niż guzy dobrze zróżnicowane. EMMPRIN najczęściej jest związany z błoną komórkową choć może występować w formie rozpuszczalnej. Niektórzy autorzy uważają, że może mieć to wpływ na migrację komórek i rozprzestrzenianie nowotworu. Monteiro i wsp. [64] podają, że nie znaleźli jednoznacznej zależności między ekspresją EMMPRIN a rozsianiem nowotworu. W swoich badaniach zarówno Lescaille i wsp. [52] oraz Yang i wsp. [99] zauważyli, że wyciszenie EMMPRIN spowodowało zahamowanie wzrostu nowotworu.

W obecnym badaniu wykazano znamienne niższy poziom ekspresji EMMPRIN w komórkach nabłonka w szkliwiaku niż torbieli korzeniowej, rogowaciejąco-torbielowatym guzie zębopochodnym oraz w mieszkach zębowych grupy kontrolnej. W komórkach podścieliska torbieli korzeniowej zauważono wzrost ekspresji EMMPRIN w stosunku do pozostałych zmian badanych, natomiast najniższy poziom ekspresji wykazano w komórkach podścieliska w mieszkach zębowych grupy kontrolnej. Ekspresję EMMPRIN

oceniano także na niskim i wysokim H-score, stwierdzono istotne różnice pomiędzy badanymi zmianami zębopochodnymi. W rogowaciejąco-torbielowatych guzach zębopochodnych, w komórkach nabłonka nie było ani jednego przypadku o niskim H-score natomiast aż w 50 przypadkach zaobserwowano ekspresję na wysokim H-score. W szkliwiakach, w komórkach nabłonka w 20 przypadkach odnotowano wysoką ekspresję H-score, w komórkach podścieliska niski H-score stwierdzono u 22 osób badanych na 25 przypadków. W komórkach nabłonka i podścieliska w torbielach korzeniowych ekspresja EMMPRIN o wysokim H-score była u odpowiednio 27 i 24 osób chorych. W grupie kontrolnej, w komórkach nabłonka we wszystkich dziewięciu przypadkach wykazano ekspresję EMMPRIN o wysokim H-score, w przeciwieństwie do komórek podścieliska, gdzie sytuacja była odwrotna, u wszystkich osób odnotowano niski H-score. Dodatkowo oceniono poziom ekspresji EMMPRIN w komórkach nabłonka i podścieliska pomiędzy całą grupą badaną a grupą kontrolną. W komórkach nabłonka grupy badanej w 97 przypadkach na 102 wykazano wysoki poziom ekspresji EMMPRIN, podobnie było w przypadku grupy kontrolnej, gdzie we wszystkich komórkach nabłonka mieszków zębowych wykazano wysoki poziom ekspresji. W komórkach podścieliska grupy badanej, w 50 przypadkach stwierdzono niski poziom ekspresji EMMPRIN, a w 52 wysoki poziom. W niniejszej pracy poddano analizie wyniki ekspresji EMMPRIN w badanych zmianach oraz grupie kontrolnej, badając stopień intensywności i procentu wybarwienia komórek w danej intensywności.

Silną ekspresję stwierdzono w 37 przypadkach rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego, 16 przypadkach torbieli korzeniowej, 7 przypadkach szkliwiaka i 7 przypadkach mieszków zębowych grupy kontrolnej. Ekspresja na poziomie średnim wystąpiła w 11 przypadkach rogowaciejąco - torbielowatego guza zębopochodnego, 9 przypadkach torbieli korzeniowej, 9 przypadkach szkliwiaka i tylko w 1 przypadku mieszków zębowych grupy kontrolnej. Słabą ekspresję stwierdzono w komórkach podścieliska: rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego w 28 przypadkach. Dodatkowo, brak ekspresji w komórkach podścieliska zauważono w 21 przypadkach szkliwiaków i 20 przypadkach rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych.

MT1-MMP jest metaloproteinazą błonową oraz aktywatorem kierunku pro MMP2. Pełni ona bardzo istotną rolę w procesach biologicznych, takich jak przebudowa błony komórkowej, migracja komórek, apoptoza czy angiogeneza. MT1-MMP działa sekwencyjne, co ma duży wpływ na nawrotowość nowotworów. Istotnym faktem jest to, że MT1-MMP jest jedyną metaloproteinazą zakotwiczoną w błonie komórkowej, która rozkłada kolagen, występujący w większości komórek ludzkiego ciała.

Nie wykazano powiązania w ilości występowania MT1-MMP a płcią, wiekiem pacjenta, miejscem występowania nowotworu, występowaniem guza pierwotnego, wielkością nowotworu, zaawansowaniem klinicznym nowotworu, histologicznym stopniem zróżnicowania czy uzależnieniem od alkoholu i tytoniu. Songyu Chen i wsp. [17] zauważyli, że MT1-MMP ma pozytywny wpływ na rozwój glejaka, inwazję jego komórek oraz na proces angiogenezy.

Bodnar i wsp. [16] stwierdzili, że MT1-MMP jest zaangażowany w progresję i przerzuty nowotworów. Wykazują, że wysoka ekspresja MT1-MMP jest związana z większą agresywnością nowotworów głowy i szyi, a zwłaszcza krtani i przełyku. Zauważyli oni także, iż u pacjentów, u których ekspresja MT1-MMP w komórkach była mniejsza nie doszło do przerzutów do węzłów chłonnych. Zwrócili oni także uwagę, że nawet gdy poziom ekspresji MT1-MMP jest niski a MMP-2 wysoki to występują przerzuty.

Zhao i wsp. [104] w swojej pracy zauważyli, że poziom ekspresji MT1-MMP jest wyższy w zaawansowanych stadiach nowotworów niż w pierwotnych. Ich badania nie wykazały istotnego wpływu na wzrost komórek raka nosogardła, ale miały wpływ na regulację inwazji i przerzutów tego nowotworu.

W niniejszym badaniu stwierdzono znamienne wzrost ekspresji MT1-MMP w komórkach nabłonka szkliwiaka względem torbieli korzeniowej, rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego oraz mieszków zębowych grupy kontrolnej. Zauważono, że poziom ekspresji MT1-MMP w komórkach nabłonka mieszków zębowych był znamienne niski w stosunku do badanych zmian, a w komórkach podścieliska, w grupie kontrolnej nie wykazano ekspresji w żadnym przypadku. Poziom ekspresji MT1-MMP w komórkach podścieliska rogowaciejąco - torbielowatego guza zębopochodnego był istotnie niższy niż w komórkach podścieliska szkliwiaków i torbieli korzeniowych. We wszystkich badanych zmianach oraz grupie kontrolnej stwierdzono istotne różnice w ekspresji MT1-MMP zarówno w komórkach nabłonka jak i podścieliska poszczególnych guzów ($p < 0,05$). Poziom ekspresji MT1-MMP o wysokim H-score istotnie częściej wystąpił w komórkach nabłonka rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego niż w szkliwiaku i torbieli korzeniowej. Z kolei w komórkach podścieliska rogowaciejąco-torbielowatego guza zębopochodnego wykazano istotnie częściej ekspresję o niskim H-score względem szkliwiaków. W komórkach nabłonka mieszków zębowych grupy kontrolnej w 8 przypadkach stwierdzono niski poziom ekspresji H-score MT1-MMP, natomiast w komórkach podścieliska we wszystkich dziewięciu przypadkach.

We wszystkich badanych zmianach wykazano istotnie więcej przypadków o wysokim poziomie ekspresji H-score w komórkach nabłonka, natomiast w komórkach podścieliska

sytuacja była odwrotna, gdzie zaobserwowano niski poziom ekspresji MT1-MMP w większości badanych zmian. Ekspresję MT1-MMP zaobserwowano w komórkach wszystkich badanych zmian a także mieszkach zębowych grupy kontrolnej. Stwierdzono, że silna ekspresja zachodziła w komórkach nabłonka szkliwiaków w 8 przypadkach, rogowaciejąco-torbielowatych guzach zębopochodnych w 4 przypadkach i w jednym tylko przypadku torbieli korzeniowej. Średnią ekspresję odnotowano w komórkach nabłonka szkliwiaków (n=10) rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych (n=9) oraz torbieli korzeniowych (n=6). Wykazano słabą ekspresję w komórkach nabłonka rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych w 22 przypadkach, torbieli korzeniowych w 13 przypadkach, szkliwiaków 2 przypadkach oraz w 1 przypadku mieszków zębowych grupy kontrolnej. Brak ekspresji MT1-MMP stwierdzono w komórkach podścieliska wszystkich mieszków zębowych grupy kontrolnej.

W niniejszej pracy wykazano korelację pomiędzy ekspresją RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w komórkach nabłonka i podścieliska grupy badanej podczas przeprowadzania analizy statystycznej wzajemnych zależności pomiędzy ich poziomami. Dodatkowo korelacje stwierdzono w grupie badanej pomiędzy poziomem EMMPRIN i RECK w podścielisku, EMMPRIN w podścielisku i MT1-MMP w podścielisku, EMMPRIN w podścielisku i RECK w nabłonku, MT1-MMP w podścielisku i MT1-MMP w nabłonku, a także RECK w nabłonku i RECK w podścielisku. W grupie szkliwiaków wykazano dodatnią korelację między poziomem ekspresji EMMPRIN w komórkach nabłonka i RECK w komórkach nabłonka oraz RECK w komórkach nabłonka i RECK w komórkach podścieliska. W grupie zawierającej torbiele korzeniowe dodatkowo korelacje zauważono pomiędzy poziomem EMMPRIN w podścielisku i MT1-MMP w podścielisku, MT1-MMP w podścielisku i MT1-MMP w nabłonku, a także MT1-MMP w nabłonku i RECK w nabłonku. W grupie rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych wykazano dodatkowo korelacje pomiędzy poziomem RECK w podścielisku i RECK w nabłonku oraz MT1-MMP w podścielisku i MT1-MMP w nabłonku. Natomiast w grupie kontrolnej, zawierającej mieszki zębowe zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy poziomem EMMPRIN w komórkach nabłonka a EMMPRIN w komórkach podścieliska.

Może to sugerować, że ekspresja EMMPRIN i MT1-MMP oraz RECK i MT1 - MMP jest ze sobą dodatnio sprzężona w grupie torbieli korzeniowych, a ekspresja EMMPRIN i RECK jest ze sobą dodatnio sprzężona w grupie szkliwiaków. Ponadto uzyskane wyniki sugerują, że w grupie rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych ekspresja RECK w komórkach podścieliska i komórkach nabłonka oraz ekspresja MT1-MMP w komórkach nabłonka i komórkach podścieliska jest ze sobą dodatnio sprzężona.

6. WNIOSKI

1. Wykazano wzrost poziomu białek RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w torbielach i guzach zębopochodnych.
2. Wysoki poziom białka RECK w torbield korzeniowej w stosunku do rogowacująco-torbielowatego guza zębopochodnego i szkliwiaka może świadczyć o mniejszej agresywności tej zmiany.
3. Wyższy poziom białka MT1-MMP w komórkach nabłonka szkliwiaka może świadczyć o większej agresywności tej zmiany niż torbiel korzeniowa i rogowacująco-torbielowaty guz zębopochodny.
4. Silna ekspresja poziomu białka MT1-MMP oraz EMMPRIN w komórkach rogowacująco-torbielowatego guza zębopochodnego może świadczyć o agresywnym charakterze tego guza.
5. Nie wykazano zależności pomiędzy płcią i wiekiem a poziomem białek RECK, EMMPRIN, MT1-MMP.
6. Choroby towarzyszące u osób z grupy badanej nie miały wpływu na wysokość poziomu białek RECK, EMMPRIN, MT1-MMP.
7. Dodatnia korelacja pomiędzy poziomami białek RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w komórkach nabłonka i podścieliska mogą wskazywać na interakcje pomiędzy komórkami w procesach wzrostu i rozwoju guzów zębopochodnych oraz niszczenia otaczającej ich kości.

7. PIŚMIENICTWO

1. Adisa, AO; Udeabor, SE; Adeyemi, BF; Alica, K; Booms, P; Ghanaati, S; Sader, RA: Relative expression of α -smooth muscle actin and matrix metalloproteinases-2 in ameloblastoma of a black African subpopulation. *Ann Afr Med.* 2015, 14(4), 188-192
2. Akkus MN; Ormam A; Seyis S; Baran Ç; Görür A; Bilen MN: Plasma EMMPRIN levels in acute myocardial infarction and stable coronary artery disease. *Clin Invest Med.* 2016,16, 39(3), 79-87
3. Ali Mohammad AA: Expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer in odontogenic cyst. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod.* 2008, 106(2), 258-263
4. Amm, HM; Casimir, MD; Clark, DB; Sohn, P; MacDougall, M: Matrix metalloproteinase expression in keratocystic odontogenic tumors and primary cells. *Conect Tissue Res.* 2014, 55, 97-101
5. Andonovska B; Dimova C; Panov S.: Matrix metalloproteinases (MMP-1, -8, -13) in chronic periapical lesions. *Vojnosanit Pregl.* 2008, 65(12), 882-886
6. Arora S: Unicystic ameloblastoma: A perception for the cautious interpretation of radiographic and histological findings. *J Coll Physicians Surg.* 2015, 25(10), 761-764
7. Avelar, RL; Antunes, AA; Carvalho, RW; Bezerra, PG; Oliveira Neto, PJ; Andrade, ES: Odontogenic cysts: a clinicopathological study of 507 cases. *J Oral Sci.* 2009, 51(4), 581-586
8. Bachmann AM; Linfesty RL: Ameloblastoma, solid/multicystic type. *Head Neck Pathol.* 2009, 3(4), 307-309
9. Bansal, N; Sheikh, S; Bansal, R; Sabharwal, R; Gupta, A; Goyal, A; Kainth, N.: Acanthomatous ameloblastoma of mandible crossing the midline. A rare case report. *Ann Afr Med.* 2015, 14(1), 65-68

10. Baris, E; Senguven, B; Bozkaya, S; Oygur, T: Immunohistochemical analysis of matrix metalloproteinases -1, -9 and tenascin in odontogenic lesions. *Eur J Inflam.* 2014, 12(3), 419-427
11. Barnes, L; Eveson, JW; Reichart, P; Sidransky, D: World Health Organisation classifications of tumours, pathology and genetics of head and neck tumours. Lyon, France, IARC Press, 2005
12. Bawane, SS; Mahindra, U: Unicystic intraluminal ameloblastoma: an unusual case report. *Pravara Med Rev.* 2014, 6(3), 16-20
13. Bednarz I; Zeńczak-Więckiewicz D; Gwiazda-Chojak E; Markowska-Kosno D: Właściwości kliniczno - patomorfologiczne włókniakomięsa szkliwiakowego - przegląd piśmiennictwa. *Dent Med Probl.* 2007, 44(2), 247–250
14. Bilgin Dođru, E; Dizdar, Y; Akşit, E; Ural, F; Şanlı, Ö; Yasasever, V: EMMPRIN and ADAM12 in prostate cancer: preliminary results of a prospective study. *Tumour Biol.* 2014, 35(11), 11647-11653
15. Biočanin, V; Brajković, D; Stevanović, M; Tatić, Z; Andrić, M; Brković, B: Decompression is an effective primary approach to large in the maxillary sinus - a case report. *Vojnosanit Pregl.* 2015, 72(7), 634-638
16. Bodnar, M; Szyberg, Ł; Kazmierczak, W; Marszałek, A: Differentiated expression of membrane type metalloproteinases (MMP-14, MMP-15) and pro-MMP2 in laryngeal squamous cell carcinoma. A novel mechanism. *J Oral Pathol Med.* 2013, 42(3), 267-274
17. Chen, S; Han, M; Chen, W; He, Y; Huang, B; Zhao, P; Huang, Q; Gao, L; Qu, X; Li, X: KIF1B promotes glioma migration and invasion via cell surface localization of MT1-MMP. *Oncol Rep.* 2016, 35(2), 971-977
18. Craig VJ; Zhang L; Hagood JS; Owen CA.: Matrix Metalloproteinases as therapeutic Targets for Idiopathic pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2015, 53(5), 585-600

19. De Oliveira Ramos, G; Costa, A; Meurer, MI; Vieira, DSC; Rivero, ERC: Immunohistochemical analysis of matrix metalloproteinases (1, 2, and 9), Ki-67, and myofibroblast in keratocystic odontogenic tumors and pericoronal follicles. *J Oral Pathol Med.* 2014, 43(4), 282-288
20. Deshmukh, J; Shrivastava, R; Bharath, KP; Mallikarjuna, R: Giant radicular cyst of the maxilla. *BMJ case rep.* 2014, 2, 2014
21. Drugacz, J; Wziątek-Kuczmik, D; Jędrusik-Pawłowska, M; Pająk, J: Szkliwiak zuchwy- zębopochodny guz miejscowo złośliwy. Opis przypadku i przegląd piśmiennictwa. *Polish Surg.* 2006, 8(1), 95-100
22. Dutra, KL; Cordeiro, MMR; Vieira, DSC; Rivero, ERC: Immunohistochemical expression of matrix metalloproteinases in ameloblastomas and pericoronal follicles. *J Oral Pathol Med.* 2016, 45(8), 586-590
23. Farias, LC; Rodrigues, MC; De Castro, WH; Gomez, RS; Gomes, CC; Lacerda, JCT; E Ferreira, EF: Epigenetic regulation of Matrix metalloproteinase expression in ameloblastoma. *BMC Clinical Pathol.* 2012, 12(1), 11-16
24. Fink, K; Boratyński, J: Rola metaloproteinaz w modyfikacji macierzy zewnątrzkomórkowej w nowotworowym wzroście inwazyjnym, w przerzutowaniu i w angiogenezie. *Postepy Hig Med Dosw.* 2012, 66, 609-628.
25. Florescu, A; Margaritescu, CL; Simionescu, CE; Stepan, A: Immunohistochemical expression of MMP-9, TIMP-2, E-cadherin and Vimentin in ameloblastomas and their implication in the local agresive behavior of these tumors. *Rom J Morphol Embryol.* 2012 53(4), 975-984
26. Fregnani, ER; Sobral, LM; Alves, FA; Soares, FA; Kowalski, LP; Coletta, RD: Presence of myofibroblasts and expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in ameloblastomas correlate with rupture of the osseus cortial. *Pathol Oncol Res.* 2009, 15, 231-240
27. Ge, H; Yuan, W; Liu, J; He, Q; Ding, S; Pu, J; He, B,: Functional relewance of protein glycosylation to the pro- inflammatory effects of extracellular matrix metalloproteinase

inducer (EMMPRIN) on monocytes/macrophages. *Plos One*. 2015, 10(2), 0117463

28. Goda, H; Nakashiro, K; Ogawa, I; Takata, T; Hamakawa, H: Peripheral ameloblastoma with histologically low-grade malignant features of the buccal mucosa: a case report with immunohistochemical study and genetic analysis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015, 8(2), 2085-2089

29. Gomes, LR; Fujita, A; Mott, JD; Soares, FA; Labriola, L; Sogayar, MC: RECK is not an independent prognostic marker for breast cancer. *BMC Cancer*. 2015, 15, 660

30. González-González, R; Molina-Frechero, N; Damian-Matsumura, P; Salazar-Rodriguez, S; Bologna-Molina, R.: Immunohistochemical Expression of Surviving and Its Relationship with Cell Apoptosis and Proliferation in Ameloblastomas. *Dis Markers*. 2015, 15, 301781

31. Groblewska, M; Mroczko, B; Szmitkowski, M: Rola wybranych metaloproteinaz i ich inhibitorów w rozwoju raka jelita grubego. *Postepy Hig Med Dosw*. 2010, 64, 22-30

32. Guan, Y; Guo, L; Rueda, BR; Styer, AK; Zukerberg, L: MicroRNA-15b regulates reversion - including cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) expression in human uterine leiomyoma. *Reprod Biol Endocrinol*. 2016, 14(1), 45

33. Guimarães, DM; Antunes, DM; Saturno, JL; Massuda, F; Paiva, KBdS; Nunes, FB: Immunohistochemical expression of WNT5A and MMPs in odontogenic epithelial tumors and cysts. *Acta Histochem*. 2015, 117(8), 667-674

34. Haug, C; Lenz, C; Díaz, F; Bachem, MG: Oxidized low-density lipoproteins stimulate extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) release by coronary smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004, 24(10), 1823-1829

35. Itoh, Yoshifumi.: MT1-MMP: A Key Regulator of Cell Migration in Tissue. *IUBMB Life*. 2006, 58(10), 589-596

36. Jahagirdar, PB; Kale, AD; Hallikerimath, S: Stromal characterization and compraison

of odontogenic cysts and odontogenic tumors using picosirius red stain and polarising microscopy: a retrospective and histochemical. *Indian J Cancer*. 2015, 52(3), 408-412

37. Jing, Z; Yang, L; Yun, X; Mingzhu, L; Yongping, L; Changsong, Z: Promoter hypermethylation of the RECK gene is associated with its low expression and poor survival of esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett*. 2017, 13(3), 1911-1918

38. Jurzak, M; Dębska, G; Cepuch, G; Foryś, Z: Udział metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w transformacji prawidłowych melanocytów w komórki czerniaka złośliwego. *Opieka nad pacjentem z chorobą nowotworową*. Oficyna Wydawnicza AFM. 2010, 111-128

39. Kaczmarczyk, T; Stypułkowska, J; Tomaszewska, R; Czopek, J: Nowotwory zębopochodne i guzy nowotworopodobne kości szczękowych. *Wydawnictwo Kwintesencja*. 2009.

40. Kallam, SR; Arutla, R; Gadwalwari, SS; Kubbi, JR; Shylaja, SRG: Desmoplastic Ameloblastoma - an unusual presentation. *J Clin Diagn Res*. 2015, 9(10), 04-05

41. Khot, K; Deshmukh, SB; Alex, S: Comparative analysis of the immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase -9 in Keratocystic odontogenic tumor, dentigerous cyst and radicular cyst. *J Cancer Res Ther*. 2015, 11(3), 635-640

42 Kibe, T; Fuchigami, T; Kishida, M; Iijima, M; Ishihata, K; Hijioka, H; Miyawaki, A; Semba, I; Nakamura, N; Kiyono, T; Kishida, S: A novel ameloblastoma cell-line (AM-3) secretes MMP-9 in response to Wnt+3a and induces osteoclastogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2013, 115(6), 780-788

43. Kowalski, M; Walczak, A; Majsterek, I: Metaloproteinazy macierzowe (MMPs) – nowoczesne markery molekularne do prognozowania i terapii jaskry otwartego kąta. *Postepy Hig Med Dosw*. 2008, 62, 582-592

44. Kramer IRH, Pindborg JJ, Shear M: *Histological typing of odontogenic tumours*, 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg NewYork. 1992

- 45 Kubota, Y; Oka, S; Nakagawa, S; Shirasuna, K: Interleukin-1 α enhances Type 1 collagen induced activation of matrix metalloproteinase-2 in odontogenic Keratocyst fibroblasts J Dent Res. 2002, 81(1), 23-27
46. Kumamoto, H.; Ooya, K.: Immunohistochemical detection of MT1-MMP, RECK and EMMPRIN in ameloblastic tumors J Oral Pathol Med. 2006, 35(6), 345-351
47. Kumamoto, H; Yamauchi, K; Yoshida, M; Ooya, K: Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in ameloblastomas. J Oral Pathol Med. 2003, 32(2), 114-120
48. Kun-Jing, H; Ming-Chuan, H; Wen-Chun, H: RECK impedes DNA repair by inhibiting the erbB/JAB1/Rad51 signaling axis and enhances chemosensitivity of breast cancer cells. Am J Cancer Res. 2015, 5(8), 2422-2430
49. Kuna, J; Kuna, A; Dziedzic, M; Grafka, A; Łopucki, M; Pęksa, B; Borzęcki, A: Rola metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej w mechanizmach uszkodzeń narządowych w przebiegu sepsy. J Lab Diagn. 2015, 51(2), 131-138
50. Kwiatkowski, P; Godlewski, J; Śliwińska-Jewsiewicka, A; Kmieć, Z: Rola metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej w procesie inwazji nowotworu. Polish Ann Med. 2008, 15(1), 66-76
51. Lee, J; Costandi, J; Mandel, L: The residual radicular cyst. N Y State Dent J. 2014, 80(4), 38-40
52. Lescaille, G; Khayati, F; Quemener, C; Calvo, F; Mourah, S; Menashi, S; Cavelier-Balloy, B; Podgorniak, MP; Naïmi B; Lebbe, C: EMMPRIN/CD147 up regulates urokinase-type plasminogen activator: implications in oral tumor progression. BMC Cancer. 2012, 23(12), 115
53. Liang, QX; Liang, YC; Chen, WL; Zhang, B; Xu, ZY; Xie, HL: RECK overexpression reduces invasive ability in ameloblastoma cells. J Oral Pathol Med. 2014, 43(8), 613-618
54. Lin, HJ; Lin, JC: Treatment of oral submucous fibrosis by collagenase: effects on oral

opening and eating function. *Oral Dis.* 2007, 13(4), 407-413

55. Lipka, D; Boratyński, J: Metaloproteinazy MMP. Struktura i funkcja. *Postepy Hig Med Dosw.* 2008, 62, 328-336

56. López Alvarenga, R; Chrcanovic, BR; Horta, MCR; Souza, LN; Freire-Maia, B: Ameloblastoma multiquístico mandibular tratado con terapia menos invasiva: Caso clínico y revisión de la literatura. *Espan Cirugia Oral Maxilofacial.* 2010, 32(4), 172-177

57. Mahajan, AD; Shah, N; Manjunatha, BS; Khurana, NM: Unicystic ameloblastoma arising from a residual cyst. *BMJ Case Rep.* 2014, 8, 2014

58. Mäkinen, LK; Häyry, V; Hagström, J; Sorsa, T; Passador-Santos, F; Keski-Säntti, H; Haukka, J; Mäkitie, AA; Haglund, C; Atula, T: Matrix metalloproteinase-7 and matrix metalloproteinase-25 in oral tongue squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2014, 36(12), 1783-1788

59. Mardani, H; Dinarvand, N; Jahanshahi, G; Sofiyan, E: Immunohistochemical expression of collagen IV and MMP9 in odontogenic cysts and tumors. *Biotechnol Res.* 2015, 12(3), 2351-2359

60. Masthan, KMK; Anitha, N; Krupaa, J; Manikkam, S: Ameloblastoma. *J Pharm Bioallied Sci.* 2015, 7, 167-170

61. Matijević, S; Jovičić, B; Dukić, S; Bubalo, M; Čutović, T: Treatment of a large radicular cyst - enucleation or decompression? *Vojnosanit Preg.* 2015, 72(4), 372-374

62. Menck, K; Scharf, C; Bleckmann, A; Dyck, L; Rost, U; Wenzel, D; Dhople, VM; Siam, L; Pukrop, T; Binder, C; Klemm, F: Tumor-derived microvesicles mediate human breast cancer invasion through differentially glycosylated EMMPRIN. *J Mol Cell Biol.* 2015, 7(2), 143-53

63. Meng, N; Li, Y; Zhang, H; Sun, XF: RECK, a novel matrix metalloproteinase regulator. *Histol Histopathol.* 2008, 23(8), 1003-1010

64. Monteiro, LS; Delgado, ML; Ricardo, S; Garcez, F; do Amaral, B; Pacheco, JJ; Lopes, C; Bousbaa, H,: EMMPRIN expression in oral squamos cell carcinomas: correlation with tumor proliferation and patient survival. *Biomed Res International*. 2014, 2014, 1-9
65. Morris, MJ; Wingate, KL; Silwal, J; Basu, S; Leeper, TC: The porphyrin TmPyP4 unfolds the extremely stable G-quadruplex in MT3-MMP mRNA and alleviates its repressive effect to enhance translation in eukaryotic cells. *Nucleic Acids Res*. 2012, 40(9), 4137-4145
66. Nonaka, CFW; Filho, AVG; da Costa Miguel ,MC; Batista de Souza, ML; Pinto, PL: Immunohistochemical expression of matrix metalloproteinases 1, 2, and 9 in odontogenic myxoma and dental germ papilla. *Pathol Res Pract*. 2009, 205(7), 458-465
67. Nunia, K; Urs, AB; Kumar, P: Interplay between MMP-9 and TIMP-2 regulates ameloblastoma behavior and tooth morphogenesis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016, 24(5), 364-372
68. Omoregie, FO; Sede, MA; Ojo, AM: Ameloblatomatous change in radicular cyst of the jaw in a nigerian population. *Ghana Med J*, 2015, 49(2), 107-111
69. Philippi, CK: CD8 and CD20 lymphocytes in periapical lesions. *Braz Dent J*. 2003, 14, 182–186
70. Philipsen, HP, Reichart, PA: Revision of the 1992 edition of the WHO histologicaltying of odontogenic tumours. A suggestion. *J Oral Pathol Med*. 2002, 31, 253-258
71. Pierceall, WE; Wolfe, M; Suschak, J; Chang, H; Chen, Y; Sprott, KM; Kutok, JL; Quan, S; Weaver, DT; Ward, BE: Strategies for H-score normalization of preanalytical technical variables with potential utility to immunohistochemical - based biomarker quantitation in therapeutic response diagnostics. *Anal Cell Pathol*. 2011, 34(3), 159-168
72. Preeti, PN; Guruprasad, RB; Shiba, N; Rhiti, C: Desmoplastic ameloblastoma of mandible. *BMJ Case Rep*. 2013, 1-4
73. Prosdócimi, FC; Sousa, SCOM; Paiva, KBS; Rodini, CO; Sogayar, MC; Xavier, FCA:

Calcifying Cystic Odontogenic Tumour: immuno- histochemical expression of matrix metalloproteinases, their inhibitors (TIMPs and RECK) and inducer (EMMPRIN). *J Oral Pathol Med.* 2014, 43(7), 545-553

74. Ratajczak M, Sowa W, Walter A: Molekularne podstawy powstawania zębopochodnej torbieli zapalnej - przegląd piśmiennictwa. *Dent. Med. Probl.* 2010, 47(4), 496–500

75. Regezi, JA: Odontogenic cyst, odontogenic tumors, fibrous and giant cell lesions of the jaws. *Mod Pathol.* 2002, 15(3), 331-341

76. Ribeiro, BF; Iglesias, DPP; Nascimento, GJF; Galvao, HC; Medeiros, AMC; Freitas, RA: Immunoexpression of MMPs-1,-2, and -9 in ameloblastoma and odontogenic adenomatoid tumor. *Oral Dis.* 2009, 15(7) 472-477

77. Riethdorf, S; Reimers, N; Assmann, V; Kornfeld, JW; Terracciano, L; Sauter, G; Pantel, K: High incidence of EMMPRIN expression in human tumors. *Int J Cancer.* 2006, 119(8), 1800-1810

78. Rolo Pinheiro da Rosa, M; Semblano Carreira Falcão, A; Thais Fuzii, H; Sueli da Silva Kataoka, M; Ribeiro, ARL; Boccardo, E; Sousa de Siqueira, A; Jaeger, RG; de Jesus Viana Pinheiro, J; de Melo Alves Júnior, S: EGFR signaling downstream of EGF regulates migration, invasion, and MMP secretion of immortalized cells derived from human ameloblastoma. *Tumor Biol.* 2014, 35(11), 11107–11120

79. Rooprai, HK; Selway, RP; Gullan, RW; Martin, AJ; King, A; Appadu, UD; Jones, H; Pilkington, GJ: Comparative gene expression profiling of ADAMs, MMPs, TIMPs, EMMPRIN, EGF-R and VEGFA in low grade meningioma. *Int J Oncol.* 2016, 49(6), 2309-2318

80. Shear, M, Speight, P: Radicular cyst and residual cyst. In: *Cyst of the oral and maxillofacial regions.* Blackwell Munksgaard. 2007, 4, 123–142

81. Shen, LC; Chen, YK; Hsue, SS; Shaw, SY: Expression of osteonectin/secreted protein acidic and rich in cysteine and matrix metalloproteinases in ameloblastoma. *J Oral Pathol Med.* 2010, 39(3), 242-249

82. Silva, M; Hernandez, ME; Rojas, F; Li, LH; Subramanian, S; Wilson, MJ: MicroRNA

- miR-182 cluster mediated modulation of RECK without changes in cell surface membrane type-1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP). *Am J Cancer Res.* 2015, 5(9), 2918-2928
83. Sousa Guimarães Kalatzis, N; Ribeiro de Barros Cardosa, C, Satana da Silva, J; Kuga, MC; Tanomaru-Filho, M; Faria, G: Association of matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) with the expression of matrix metalloproteinases-1,-2, and -9 during periapical lesion development. *Oral Biolog.* 2014, 59(9), 944-953
84. Starzyńska, A: Ocena czynników różnicujących osteoklasty w nowotworach i torbielach zębopochodnych szczęki i żuchwy. *Ann Acad Med Gedan* 2013, 160
85. Surya, V; Siwach, P; Verma, P; Amale, K: A case of peripheral ameloblastoma of retromolar trigone: histopathological and immunohistochemical profile. *Contemp Clin Dent.* 2015, 6(4), 564-566
86. Takagi, S; Simizu, S; Osada, H: RECK Negatively Regulates Matrix Metalloproteinase-9 Transcription. *Cancer Res.* 2009, 69(4), 1502-1508
87. Takeichi, O; Ostman, A: Profiling of radicular cyst and odontogene keratocyst cytokine production suggests common growth mechanisms. *J Endod.* 2008 34(1), 14-21
88. Tang, Y; Kesavan, P; Nakada, MT; Yan, L: Tumor-stroma interaction: positive feedback regulation of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) expression and matrix metalloproteinase-dependent generation of soluble EMMPRIN. *Mol Cancer Res.* 2004, 2(2), 73-80
89. Tassone, E; Valacca, C; Mignatti, P: Membrane-Type 1 Matrix Metalloproteinase Downregulates Fibroblast Growth Factor-2 Binding to the Cell Surface and Intracellular Signaling. *J Cell Physiol.* 2015, 230(2), 366-377
90. Tatti, O; Arjama, M; Ranki, A; Weiss, SJ; Keski-Oja, J; Lehti, K: Membrane-Type-3 Matrix Metalloproteinase (MT3-MMP) Functions as a Matrix Composition-Dependent Effector of Melanoma Cell Invasion. *PLoS One.* 2011, 6(12), 28325
91. Tek, M; Metin, M; Sener, I; Bereket, C; Tokac, M; Kazancioglu, HO; Ezirganli, S: The

predominant bacteria isolated from radicular cyst. *Head Face Med.* 2013, 9(1), 25

92. Trojanek JB: Rola metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej i tkankowych inhibitorów metaloproteinaz w nadciśnieniu tętniczym. Patogeneza nadciśnienia a problem otyłości. *Post Biochem.* 2015, 61(4), 356-363

93. Urbaniak-Kujda D; Kapelko-Słowik K; Prajs I; Dybko J; Wolowiec D; Biernat M; Słowik M; Kuliczkowski K: Increased expression of metalloproteinase-2 and -9 (MMP-2, MMP-9), tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2 (TIMP-1, TIMP-2) and EMMPRIN (CD147) in multiple myeloma. *Hematology.* 2016, 21(1), 26-33

94. Van Duijnhoven, SM; Robillard, MS; Nicolay, K; Gröll, H: Development of Radiolabeled Membrane Type-1 Matrix Metalloproteinase Activatable Cell Penetrating Peptide Imaging Probes. *Molecules.* 2015, 20(7), 12076-12092

95. Wahlgren, J; Vaananen, A; Teronen, O; Sorsa, T; Pirila, E; Hietanen, J; Maisi, P; Tjaderhane, L; Salo, T: Laminin-5 gamma 2 chain is colocalized with gelatinase-A (MMP-2) and collagenase-3 (MMP-13) in odontogenic keratocyst. *J Oral Pathol Med.* 32, 100-107

96. Wright, JM; Vered, M: Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Odontogenic and Maxillofacial Bone Tumors. *Head Neck Pathol.* 2017, 11(1), 68-77

97. Xie, M; Xing, G; Hou, L; Bao, J; Chen, Y; Jiao, T; Zhang, F: Functional role of EMMPRIN of the formation and mineralisation of dental matrix in mouse molars. *J Mol Histol.* 2015, 46(1), 21-32

98. Xu, Q; Ying, M; Chen, G; Lin, A; Xie, Y; Ohara, N; Zhou, D: ADAM17 is associated with EMMPRIN and predicts poor prognosis in patients with uterine cervical carcinoma. *Tumour Biol.* 2014, 35(8), 7575-7586

99. Yang XQ; Yang J; Wang R; Zhang S; Tan QW; Lv Q; Meng WT; Mo XM; Li HJ.: Effect of specific silencing of EMMPRIN on the growth and cell cycle distribution of MCF-7 breast cancer cells. *Genet Mol Res.* 2015, 14(4), 15730-15738

100. Yong, Q; Hong-Zhang, H: The role of RANKL and MMP-9 in the bone resorption caused by ameloblastoma. *J Oral Pathol Med.* 2010, 39(8), 592-598
101. Yoon, HJ; Jo, BC; Shin, WJ; Cho, YA; Lee, JI; Hong, SP; Hong, SD.: Comparative immunohistochemical study of Ameloblastoma and Ameloblastic carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontol.* 2011, 112(6), 767-776
102. Zhang, B; Zhang, J; Huang, HZ; Xu, ZY; Xie, HL: Expression and role of metalloproteinase -2 and endogenous tissue regulator in ameloblastoma. *J Oral Pathol Med.* 2010, 39(3), 219-222
103. Zhang, X; Healy, C; Nothnick, WB: Estrogen suppresses expression of the matrix metalloproteinase inhibitor reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) within the mouse uterus. *Endocrine.* 2012, 42(1), 97-106
104. Zhao, J; Kong, Z; Xu, F; Shen, W: A role of MMP-14 in the regeneration of invasiveness of nasopharyngeal carcinoma. *Tumour Biolog.* 2015, 36 (11), 8609-8615
105. Zhou, X; Huang, S; Zhang, S; Li, W; Chen, Z; Zhang, D; Jiang, L: Expression of RECK and MMP-2 in salivary adenoid cystic carcinoma: Correlation with tumor progression and patient prognosis. *Oncol Lett.* 2014, 7(5), 1549-1555
106. Zhu, SJ; Chu, DK; Zhang, Y; Wang, XX; Gong, L; Han, XJ; Yao, L; Lan, M; Li, YH; Zhang, W: EMMPRIN/CD147 expression is associated with disease-free survival of patients with colorectal cancer. *Med Oncol.* 2013, 30(1), 369
107. Zhu, W; Sun, W; Zhang, JT; Liu, ZY; Li, XP; Fan, YZ.: Norcantharidin enhances TIMP-2 anti-vasculogenic mimicry activity for human gallbladder cancers through downregulating MMP-2 and MT1-MMP. *Int J Oncol.* 2015, 46(2), 627-640
108. Zimowska, M; Jung, P: Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej w rozwoju, fizjologii i procesach degradacyjnych mięśni szkieletowych. *Postepy Biochem.* 2016, 62(1), 25-35
109. Zygmunt, K; Zygmunt, L: Znaczenie metaloproteinaz i ich inhibitorów tkankowych

w procesie nowotworowym. Prz Med Uniw Rzesz Inst Lekow. 2013, 3, 410–417

8. STRESZCZENIE

Torbiele kości szczęki i żuchwy są najczęściej występującą zmianą patologiczną w ich obrębie. Podczas wzrostu torbieli dochodzi do powstania ubytku otaczającej kości. Zmiany te zaliczane są do nienowotworowych, na ich rozrost ma wpływ wzrost ilości płynu wypełniającego torbiel.

Guzy zębopochodne szczęki i żuchwy to zróżnicowana grupa nowotworów. Występują rzadko, najczęściej są to zmiany łagodne oraz miejscowo złośliwe.

Szklwiak jest guzem łagodnym, występującym w szczęce i żuchwie. Rozrastając się niszczy otaczającą kość. Cechuje się dużą nawrotowością.

Rogowaciejąco-torbielowaty guz zębopochodny jest łagodnym nowotworem. Podczas wzrostu dochodzi do resorpcji otaczającej kości. Może osiągać spore rozmiary.

Celem pracy była ocena roli RECK, EMMPRIN, MT1-MMP na poziomie białka w guzach i torbielach zębopochodnych. Oceniono korelacje między RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w badanych zmianach oraz związek pomiędzy ich poziomami a cechami klinicznymi oraz patologicznymi w szklwiakach, rogowaciejąco-torbielowatych guzach zębopochodnych i torbielach korzeniowych.

Materiał do badań stanowiły fragmenty guza pobrane od 108 chorych leczonych w Klinice Otolaryngologii z Oddziałem Chirurgii Szczękowo-Twarzowej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Grupa kontrolna to mieszki zębowe uzyskane podczas dłutowania całkowicie zatrzymanych dolnych trzecich zębów trzonowych z przyczyn ortodontycznych. Wszystkie preparaty zostały poddane badaniu histopatologicznemu. Uzyskany materiał zakwalifikowano do badania immunohistochemicznego. Oceniono wysokość poziomów białek RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w komórkach nabłonka i podścieliska torbieli i guzów zębopochodnych. Dane, które uzyskano skorelowano z danymi klinicznymi i poddano analizie statystycznej.

W analizie czynnikowej zauważono, że w grupie badanej płeć, wiek i obecność chorób towarzyszących nie miały istotnego wpływu na wzrost poziomu białek RECK, EMMPRIN, MT1-MMP ($p > 0,05$). W badaniu immunohistochemicznym poziom białka RECK w komórkach nabłonka wykazano wyższy w torbieli korzeniowej niż szklwiaku czy rogowaciejąco-torbielowatym guzie zębopochodnym. Nie wyazano istotnych różnic w poziomie białka RECK w komórkach podścieliska badanych zmian. Poziom białka MT1-MMP w komórkach nabłonka grupy kontrolnej był znamienne niski, natomiast w komórkach podścieliska tej samej grupy nie wystąpił w ogóle. W badanej grupie wykazano korelacje pomiędzy poziomami RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w nabłonku i podścielisku

zmian zębopochodnych. Dodatkowo korelacje w grupie badanej wystąpiły między poziomem EMMPRIN w podścielisku a RECK w podścielisku ($r=0,527$; $p<0,05$); EMMPRIN w podścielisku a MT1-MMP w podścielisku ($r=0,263$; $p<0,05$); EMMPRIN w podścielisku a RECK w nabłonku ($r=0,221$; $p<0,05$) oraz RECK w nabłonku i RECK w podścielisku ($r=0,369$; $p<0,05$).

Wykazano korelację pomiędzy poziomami RECK EMMPRIN oraz MT1-MMP w nabłonku i podścielisku w grupie szkliwiaków: EMMPRIN w nabłonku a RECK w nabłonku ($r=0,552$; $p<0,05$), RECK w podścielisku a RECK w nabłonku ($r=0,483$; $p<0,05$). Dodatnia korelacja wystąpiła także w komórkach nabłonka i podścieliska w grupie torbieli korzeniowych: EMMPRIN w podścielisku a MT1-MMP w podścielisku ($r=0,415$; $p<0,05$); MT1-MMP w podścielisku a MT1-MMP w nabłonku ($r=0,469$; $p<0,05$) oraz MT1-MMP w nabłonku a RECK w nabłonku ($r=0,486$; $p<0,05$). W grupie rogowaciejąco-torbielowatych guzów zębopochodnych wykazano dodatnie korelacje w komórkach nabłonka i podścieliska pomiędzy poziomem RECK w podścielisku i RECK w nabłonku ($r=0,279$; $p<0,05$) oraz MT1-MMP w podścielisku a MT1-MMP w nabłonku ($r=0,498$; $p<0,05$). Wszystkie te zależności wskazują na interakcje pomiędzy komórkami guza a komórkami podścieliska. Ujemna zależność wystąpiła pomiędzy poziomem EMMPRIN w podścielisku a EMMPRIN w nabłonku ($r=-0,756$; $p<0,05$). Zmiany w wysokości poziomów białek RECK, EMMPRIN i MT1-MMP w komórkach nowotworów zębopochodnych, torbieli i mieszków zębowych może świadczyć o ich działaniu w procesach rozwoju nowotworu. Dodatkowo korelacje, które zostały stwierdzone w powyższej pracy, między poziomami białek RECK, EMMPRIN, MT1-MMP w komórkach nabłonka i podścieliska guzów zębopochodnych mogą świadczyć o wzajemnym oddziaływaniu komórek w procesie rozwoju i wzrostu badanych zmian zębopochodnych.

9. SUMMARY

Cysts in the jaw bones are the most common pathological lesions that occur within them. A bone defect develops during the growth of the cyst. These lesions are classified as non-cancerous, their growth is affected by the increase in the amount of fluid filling the cyst. Jaw tumors are a diverse group of tumors. They are rare, usually mild and locally malignant.

Ameloblastoma is a benign tumor that occurs in the jaw. When it grows it destroys the surrounding bone. It is characterized by high relapse rate.

Cornified-cystic osteoarthritis is a benign tumor. During growth, resorption of the surrounding bone occurs. It can reach large sizes.

The aim of the study was to assess the role of RECK, EMMPRIN, and MT1-MMP at the protein level in tumors and dental cysts. The correlations between RECK, EMMPRIN, and MT1-MMP in the studied lesions were evaluated, as well as the correlation between their levels and clinical and pathological features in ameloblastomas, cornified-cystic dental carcinomas and root cysts.

The study material consisted of tumor fragments collected from 108 patients treated in the Department of Otolaryngology with the Department of Maxillofacial Surgery at the University Clinical Center of the Medical University of Gdańsk. The control group is the dental follicles obtained during chiseling of fully retained lower third molars for orthodontic reasons. All preparations were subjected to histopathological examination. The obtained material was eligible for immunohistochemical examination. Levels of RECK, EMMPRIN, and MT1-MMP proteins were assessed in epithelial cells, stromal cysts and dental carcinomas. Data obtained were correlated with clinical data and subjected to statistical analysis. In the factor analysis, it was observed that in the study group, gender, age and the presence of accompanying diseases did not significantly affect the increase in the levels of RECK, EMMPRIN, and MT1-MMP proteins ($p > 0.05$). In an immunohistochemical study, the level of RECK protein in epithelial cells was shown to be higher in the root cyst than in ameloblastoma or cornified -cystic dental tumor. There were no significant differences in the level of RECK protein in stromal cells of the studied lesions. The level of MT1-MMP protein in the epithelial cells of the control group was significantly low, whereas in the stromal cells of the same group it did not occur at all. In the studied group, correlations between the levels of RECK, EMMPRIN, and MT1-MMP in the epithelium and stroma of dental lesions were demonstrated. Positive correlations in the study group occurred between the level of EMMPRIN in the stroma and the RECK in the stroma ($r = 0.527$, $p < 0.05$);

EMMPRIN in the stroma and MT1-MMP in the stroma ($r=0.263$; $p<0.05$); EMMPRIN in the stroma and RECK epithelium ($r=0.221$, $p<0.05$) and RECK in the epithelium and RECK in the stroma ($r=0.369$, $p<0.05$).

There was a correlation between RECK EMMPRIN and MT1-MMP levels in the epithelium and stroma in the group of ameloblastoma: EMMPRIN in the epithelium and RECK in the epithelium ($r=0.552$, $p<0.05$), RECK in the stroma and RECK in the epithelium ($r=0.483$; $p<0.05$). Positive correlation also occurred in epithelial cells and stromal cells in the cyst group: EMMPRIN in the stroma and MT1-MMP in the stroma ($r=0.415$, $p<0.05$); MT1-MMP in the stroma and MT1-MMP in the epithelium ($r=0.469$; $p<0.05$) and MT1-MMP in the epithelium and RECK in the epithelium ($r=0.486$; $p<0.05$). In the group of cornified-cystic dental tumors, there were positive correlations in epithelial cells and stroma between the level of RECK in the stroma and RECK in the epithelium ($r=0.279$; $p<0.05$) and MT1-MMP in the substructure and MT1-MMP in the epithelium ($r=0.498$, $p<0.05$). All these relationships indicate interaction between tumor cells and stromal cells. A negative correlation occurred between the level of EMMPRIN in the stroma and EMMPRIN in the epithelium ($r=-0.756$, $p<0.05$). Changes in the levels of RECK, EMMPRIN and MT1-MMP proteins in dental cancer cells, cysts and dental follicles may indicate their effect in cancer development processes. Positive correlations that were found in the above work between levels of RECK, EMMPRIN, and MT1-MMP proteins in epithelial cells and stromal dental tumors may indicate the interaction of cells in the process of development and growth of the studied dental lesions.