

EKSPRESI MMP-9 DAN TIMP-1 PADA AMELOBLASTOMA TIPE FOLIKULAR, PLEKSIFORM DAN AKANTOMATOSA

Selviana Wati Fobia*, Prihartiningsih**, dan Poerwati Soetji**

*Program Studi Ilmu Bedah Mulut, Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis,
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

**Bagian Ilmu Bedah Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Ameloblastoma adalah tumor jinak rahang yang bersifat agresif dan berinvasif secara lokal, serta menimbulkan morbiditas dan memerlukan perawatan yang sulit. Varian histopatologis ameloblastoma yang sering dijumpai adalah tipe folikular, tipe pleksiform dan tipe akantomatosa. Masing-masing tipe memiliki potensi untuk menjadi lebih agresif dari pada yang lainnya. *Matrix metalloproteinase-9* (MMP-9) dan *Tissue inhibitor of metalloproteinase-1* (TIMP-1) mempengaruhi degradasi matriks ekstraselular, sehingga mempengaruhi agresifitas tumor. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati perbedaan perbandingan ekspresi MMP-9 dan TIMP-1 (inhibitor MMP-9), pada ketiga tipe histopatologis. Sampel penelitian adalah blok parafin penderita ameloblastoma pada laboratorium Patologi Anatomi RS. Sardjito, Yogyakarta, dari penderita di poliklinik Bedah Mulut RS. Sardjito, tahun 2008-2012. Sampel adalah 3 tipe histopatologis yang paling sering terjadi, yang di beri pewarnaan HE dan imunohistokimia MMP-9 dan TIMP-1, diikuti penilaian immunoskor, serta penilaian agresifitas melalui perbandingan ekspresi MMP-9 dan ekspresi TIMP-1. Dari 28 (77,8%) subyek yang ada, 10 (35,7%) subyek masing-masing adalah tipe pleksiform dan tipe folikular, dan 8 (28,6%) subyek adalah tipe akantomatosa. Pewarnaan imunohistokimia seluruhnya menunjukkan hasil positif dengan immunoskor yang bervariasi. Pada penelitian ini disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada perbandingan ekspresi MMP-9/TIMP-1, antara tipe folikular dan tipe akantomatosa ($p:0,025$), sedangkan perbandingan ekspresi MMP-9/TIMP-1 antara tipe pleksiform dan tipe folikular tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p:0,185$) demikian juga antara tipe pleksiform dan akantomatosa ($p:0,314$).

Kata kunci : MMP-9, TIMP-1, ameloblastoma, tipe pleksiform, tipe folikular, tipe akantomatosa, agresifitas.

ABSTRACT

Ameloblastoma is a common odontogenic tumor located in jaws, and is considered as a benign but aggressive and locally invasive, which is difficult to treat and cause morbidity. Many histopathological variant of ameloblastoma. Plexiform type, folikular type and acanthomatous type are the most common, and each has potential to become more aggressive than others. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) are proteinases that participate in extracellular matrix (ECM) degradation, influencing the aggressivity. The aim of study is to make an observation of the balance between MMP-9 and TIMP-1 (MMP-9 inhibitor) in three different histopathological type of ameloblastoma. All the subject are derived from labororium of pathology Dr. Sardjito Hospital, in form of parafin block of ameloblastoma, from oral surgery's patients, Dr. Sardjito Hospital, Yogyakarta, in year 2008-2012. Three main histopathological type will be the subjects, each subjects will be stained by HE, MMP-9 and TIMP-1, and the immunoscore will be taken to compare the expressions that describe the aggressivity. Both protein MMP-9 and TIMP-1 were detected in all 28 (77,8%) subjects of ameloblastoma ; 10 (35,7%) subjects each for plexiform type and follicular type; 8 (28,6%) subjects for acanthomatous type. In the comparison of expression MMP-9/TIMP-1. There were a significant difference between group of follicular type and acanthomatous type ($p:0,025$). there were no significant difference between group of follicular type and plexiform type ($p:0,185$) and so between plexiform type and acanthomatous type ($p:0,314$).

Keywords : MMP-9, TIMP-1, ameloblastoma, plexiform type, follicular type, acanthomatous type, aggressivity.

PENDAHULUAN

Ameloblastoma merupakan tumor jinak odontogenik yang paling sering terjadi pada rahang, berasal dari epithelium pembentuk gigi, dan etiologinya belum diketahui dengan pasti. Ameloblastoma biasanya tumbuh lambat, asimtomatik, menginfiltrasi dan menghancurkan jaringan tulang disekitarnya, sehingga seringkali diperlukan terapi eksisi bedah secara luas.^{1,2,3,4}

Tingkat agresifitas dan daya invasif sel ameloblastoma, pada tingkat molekular dipe-

ngaruhi oleh, a) Protein-protein yang mempengaruhi degradasi matrik ekstraselular diantaranya; *Matrix metalloproteinases*/MMPs,⁵ *Extracellular matrix metalloproteinase*/EMMPRIN,⁶ Heparanase,⁷ b) Protein-protein yang terlibat dalam adhesi dan migrasi sel diantaranya; Syndecan-1,⁸ Integrins,⁹ Cadherins, dll), c) Protein yang mempengaruhi remodeling tulang; Interleukin-1alfa, Interleukin-6, *Tumor necrosis factor alpha*, Osteopontin¹⁰, dll., d) Protein yang mempengaruhi angiogenesis; Fibroblast growth factor-1/FGF-1, FGF-2¹¹, e) Protein yang mempengaruhi prolif-

erasi; p53, p27, Cyclin E, dll.^{12,13,14}

Penelitian berkaitan dengan agresifitas ameloblastoma yang telah diteliti sebelumnya yaitu pada protein tingkat proliferasi sel. Protein Ki67 terekspresi pada sel perifer ameloblastoma dan lebih banyak pada tipe folikular¹⁵. Protein p53 yang terbukti meningkat pada ameloblastoma terutama tipe pleksiform.¹² Protein AgNORs (*silver stained nucleolar organizer regions*) digunakan untuk menganalisis proliferasi pada ameloblastoma, didapatkan lebih banyak pada tipe folikular dari pada tipe pleksiform.¹⁶

Pada tingkat apoptosis, protein Bcl-2 sebagai antiapoptosis terbukti meningkat pada sel perifer, terutama pada tipe folikular dibandingkan dengan tipe akantomatosa dan granular.¹⁷ Pada tingkat protein yang berperan pada degradasi matriks ekstraselular, protein Heparanase terekspresi kuat hampir diseluruh tipe ameloblastoma.¹⁸ Pada tingkat adhesi dan migrasi sel, protein Syndecan-1, Integrin β 1 adalah protein-protein yang terekspresi berlebih pada ameloblastoma sehingga menambah sifat agresifitas dan rekurensi.¹⁹

Degradasi matriks ekstraselular yang disebabkan oleh MMPs memungkinkan suatu tumor menjadi lebih invasif. Penelitian pada protein yang mempengaruhi agresifitas dan daya invasif pada degradasi membran ekstraselular, di Indonesia belum banyak dilakukan. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ameloblastoma tipe plexiform dan ameloblastoma tipe campuran memiliki ekspresi MMP-9 yang lebih tinggi dari tipe lainnya, sehingga kedua tipe ini dianggap lebih invasif, dibandingkan dengan tipe folikular.²⁰ Penelitian ekspresi protein MMP-9, sebaiknya dilakukan bersama dengan protein *Tissue Inhibitors of metalloproteinases* (TIMPs) sebagai inhibitor MMP-9.^{21,22,23}

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana perbedaan ekspresi dan perbedaan perbandingan ekspresi MMP-9 dan TIMP-1 pada ameloblastoma tipe pleksiform, tipe folikular dan tipe akantomatosa pada ameloblastoma tipe pleksiform, tipe folikular dan tipe akantomatosa sehubungan dengan sifat agresifitas tumor.

METODE PENELITIAN

a) Subyek penelitian adalah sejumlah blok parafin penderita ameloblastoma Poliklinik

Bedah Mulut RSUP Dr. Sardjito yang tersimpan dibagian Patologi Anatomi RSUP Dr. Sardjito, dalam kurun waktu Januari 2008-Desember 2012. Pemilihan sampel dilakukan berdasarkan kelengkapan data dan sediaan jaringan ameloblastoma.

Dari data sediaan telah tercatat usia, jenis kelamin dan diagnosis histopatologis. Sampel blok parafin yang representatif dibuatkan tiga sediaan baru, masing-masing untuk pewarnaan Hematoksilin Eosin, antibodi MMP-9 dan TIMP-1

- b) Bahan dan Alat penelitian; 1) Sediaan blok parafin ameloblastoma di Bagian Patologi Anatomi, 2) Bahan pulasan Hematoksilin Eosin (HE), 3) Antibody polyclonal rabbit MMP-9 (Cat. No. Ab38898) dari Abcam Corporation, Cambridge, UK, 4) Antibody monoclonal mouse TIMP-1 (Cat. No. M729329) dari Dako Corporation, Denmark. Alat penelitian antara lain; pulasan hematoksilin eosin dan imunohistokimia, kaca objek dan kaca penutup, *rotary mikrotome, diamond pencil, waterbath, hot plate*, inkubator, mikroskop Binokuler, dll.
- c) Penelitian dimulai dengan pembuatan sediaan mikroskopis; blok parafin dipotong setebal 4 mili mikron dengan menggunakan mikrotom untuk tiga sediaan, satu sediaan untuk pewarnaan HE, dua sediaan lagi untuk pewarnaan imunohistokimiawi (IHC). Penilaian pewarnaan imunohistokimia menggunakan skoring terhadap lima lapang pandang yang kuat, pada setiap pewarnaan.
- d) Perhitungan semikuantitatif dilakukan dengan menggunakan skor yang terdiri dari empat skala: 0 untuk sel tumor terwarnai kurang dari 5% (< 5% sel tumor yang terwarnai); "+1", ekspresi lemah (5-25 % sel tumor yang terwarnai); "+2", ekspresi moderat (26-50% sel tumor yang terwarnai); "+3", ekspresi kuat (> 50% sel tumor yang terwarnai). Nilai yang digunakan adalah nilai rata-rata dari setiap lapang pandang, pada suatu sediaan.²⁴ Agresifitas (penelitian ini) adalah perbandingan ekspresi MMP-9 dan TIMP-1, Jika MMP-9/ TIMP-1 > 1, maka tumor tersebut agresif, sedangkan jika MMP-9/ TIMP-1 \leq 1, maka tumor tersebut tidak agresif.²⁴ Data yang didapat dianalisa dengan menggunakan uji Chi-square dengan $\alpha < 0,05$ melalui SPSS.

HASIL PENELITIAN

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Sardjito, dalam periode Januari 2008 – Desember 2012 (*Ethics Committee Approval*; Ref: KE/FK/722/EC, *Medical and Health Reseach Ethics Committee*, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada- RS. Dr. Sardjito). Pada penelitian ini didapatkan 36 pasien ameloblastoma, namun yang memenuhi kriteria hanya 28 (77,8%) subyek blok parafin ameloblastoma.

Delapan (22,2%) subyek tidak memenuhi kriteria karakteristik subyek, dikarenakan 7 (19,4%) subyek tidak ditemukannya blok parafin ataupun rusak, dan 1 (2,7%) subyek merupakan ameloblastoma tipe granular. Karakteristik subyek dapat dilihat pada Tabel 1. Dari 28 subyek penderita ameloblastoma yang diteliti, penderita terbanyak adalah berjenis kelamin perempuan, yaitu 17 subyek (60,7%). Perbandingan antara jenis kelamin laki-laki dan perempuan adalah 1: 1,5. Subyek penderita ameloblastoma terbanyak, terdapat pada kelompok usia diatas 30 tahun, yaitu berjumlah 19 orang (67,9%), dimana usia termuda adalah 7 tahun, dan subyek dengan usia tertua adalah berumur 60 tahun.

Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologis, didapatkan ameloblastoma tipe folikular dan tipe pleksiform merupakan tipe terbanyak, yaitu masing-masing 10 subyek (35,7%). Ameloblastoma tipe akantomatosa merupakan tipe yang paling sedikit dari ketiga tipe tersebut, yaitu 8 subyek (28,6%).

Perbedaan bermakna terdapat pada lokasi tumor, dimana ameloblastoma pada rahang bawah sebanyak 26 subyek (92,9%), dan pada maksila terdapat 2 subyek (7,1%)

Pada kelompok ameloblastoma tipe folikular subyek berjenis kelamin perempuan lebih banyak dari pada subyek laki-laki, yaitu mencapai 7 subyek (70%) (Tabel 2). Pada kelompok subyek ameloblastoma tipe pleksiform, perempuan juga lebih banyak dari pada laki-laki, yaitu mencapai 7 subyek (70%). Berbeda dengan tipe folikular dan pleksiform, subyek tipe akantomatosa lebih banyak diderita oleh laki-laki, yaitu 5 orang (62,5%). Rata-rata umur pada kelompok ameloblastoma yang tertua adalah pada tipe pleksiform, yaitu 37,1. Kelompok subyek dengan umur rata-rata termuda adalah pada kelompok tipe folikular, yaitu 33,7 tahun.

Kelompok subyek ameloblastoma tipe folikular seluruhnya terdapat pada mandibula, yaitu berjumlah 10 subyek (100%). Pada kelompok subyek ameloblastoma tipe pleksiform sebagian besar terdapat pada mandibula, yaitu 9 subyek (90%). Pada ameloblastoma tipe akantomatosa, lokasi tumor terbanyak terdapat pada mandibula, yaitu sebanyak 7 subyek (87,5%).

Lokasi tumor pada rahang bawah (Tabel 3), terbanyak adalah pada bagian posterior korpus mandibula, yaitu sebanyak 10 subyek (35,7%). Lokasi mandibula yang paling sedikit terdapat tumor, yaitu pada regio anterior korpus mandibula dan regio korpus-ramus mandibula, yaitu masing-masing sebanyak 5 subyek (17,5%). Tidak terdapat perbedaan yang signifikan dian-

Tabel 1. Karakteristik sampel Ameloblastoma (N=28)

Karakteristik		Jumlah	%	P
Jenis kelamin	Laki-laki	11	39,3	0,34
	Perempuan	17	60,7	
Umur	≤ 30 tahun	9	32,1	0,87
	>30 tahun	19	67,9	
	Rata-rata±SD	35,7±14,2		
Jenis Histopatologis	Folikular	10	35,7	0,86
	Pleksiform	10	35,7	
	Akantomatosa	8	28,6	
Lokasi tumor	Mandibula	26	92,8	0,00
	Maksila	2	7,1	

N; Jumlah, P (Signifikansi): 0,05, SD; standar deviasi

tara lokasi tumor pada mandibula.

Ekspresi MMP-9 (Tabel 4) pada tipe folikular (n=10) memiliki skala imunoskop yang tertinggi, bila dibandingkan dengan tipe lainnya (21,4%) pada skala imunoskop +3 dan ekspresi terendah (14,3%) yaitu pada skala imunoskop +2. Pada tipe pleksiform, ekspresi terbanyak terdapat pada skala imunoskop +3, (17,9%), dan ekspresi terendah jumlahnya pada skala +1, sebanyak 1 (3,6%).

Pada tipe akantomatosa (n=8), ekspresi terbanyak pada skala +2(21,4%) dan yang paling sedikit adalah ekspresi berskala +3 (3,6%). Tidak terdapat perbedaan yang signifikan, pada ekspresi imunoskop MMP-9.

Pada kelompok subyek yang diwarnai dengan TIMP-1 (Tabel 4), pada tipe folikular (n=10), ekspresi TIMP-1 terbanyak pada skala imunoskop +1(14,3%), dan ekspresi yang paling sedikit yaitu pada skala +3(7,1%). Pada tipe pleksiform, ekspresi TIMP-1 terbanyak yaitu pada skala imunoskop +3(17,9%), dan ekspresinya yang paling sedikit yaitu pada skala +1 (3,6%). Pada tipe akantomatosa (n=8), ekspresi terbanyak pada skala +2 (17,9%), dan yang paling sedikit adalah skala +1(3,6%). Seperti halnya pada skala imunoskop ekspresi MMP-9, ekspresi TIMP-1 juga tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Tabel 2. Karakteristik berdasarkan tipe histopatologis

Karakteristik subyek		Tipe folikular n = 10	Tipe pleksiform n = 10	Tipe akantomatosa n = 8	Σkeseluruhan
Jenis kelamin	Laki-laki	3 (30%)	3 (30%)	5 (62,5%)	11 (39,3%)
	Perempuan	7 (70%)	7 (70%)	3 (37,5%)	17 (60,7%)
Umur	Rata-rata (tahun±SD)	33,7±11,4	37,1±16,6	35,6±15,8	35,7±14,2
	Umur > 30 tahun	7 (70%)	7 (70%)	5 (62,5%)	19 (67,9%)
	Umur ≤ 30 tahun	3 (30%)	3 (30%)	3 (37,5%)	9 (32,1%)
Lokasi tumor	Mandibula	10 (100%)	9 (90%)	7 (87,5%)	26 (92,8%)
	Maksila	-	1 (10%)	1 (12,5%)	2 (7,14%)

n; Jumlah, SD; Standar Deviasi

Tabel 3. Distribusi letak tumor pada rahang bawah

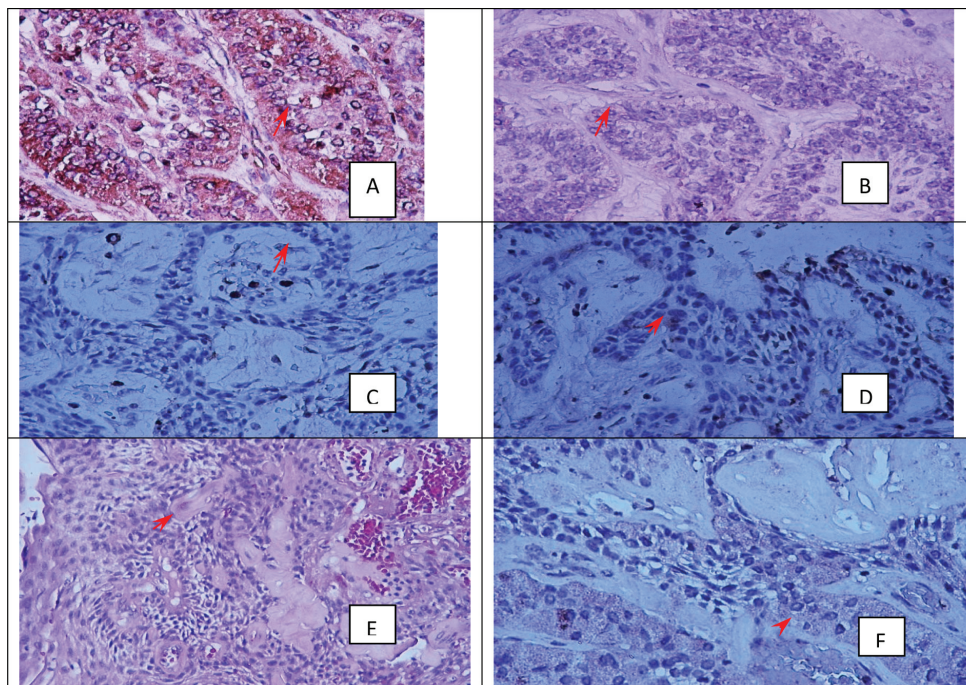
Letak pada rahang bawah	Jumlah	Persentase (%)	P
Anterior korpus mandibula	5	17,9	0,455
Posterior korpus mandibula	10	35,7	
Anteroposterior korpus mandibula	6	21,4	
Korpus- Ramus mandibula	5	17,9	

P : 0,05

Tabel 4. Ekspresi imunoskor MMP-9 dan TIMP-1, serta agresifitasnya (MMP-9/TIMP-1) pada ketiga tipe ameloblastoma

	Imunoskor MMP-9				P	Imunoskor TIMP-1				P
	0	+1	+2	+3		0	+1	+2	+3	
Folikular	0	0	4(14,3%)	6(21,4%)	0,112	0	4(14,3%)	4(14,3%)	2(7,1%)	0,410
Pleksiform	0	1(3,6%)	4(14,3%)	5(17,9%)		0	1(3,6%)	4(14,3%)	5(17,9%)	
Akantomatosa	0	1(3,6%)	6(21,4%)	1(3,6%)		0	1(3,6%)	5(17,9%)	2(7,1%)	

Imunoskor :0 untuk < 5% sel tumor yang terwarnai; +1 untuk 5-25 % sel tumor yang terwarnai; + 2 untuk 26-50% sel tumor yang terwarnai; +3 untuk > 50% sel tumor yang terwarnai. P: 0,05.



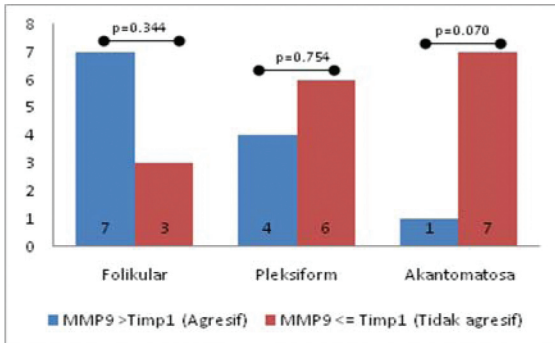
Gambaran hasil pewarnaan IHC pada subyek (pembesaran 200x), tanda panah menunjukkan daerah yang terwarnai; A. MMP-9 terlihat jelas pada sitoplasma ameloblastoma tipe folikular; B. TIMP-1 pada tipe folikular lebih sedikit terlihat pada sitoplasma sel tumor.; C, MMP-9 pada tipe pleksiform pada sitoplasma sel tumor di daerah retikulum stellat, D; Pewarnaan TIMP-1 pada tipe pleksiform terlihat adanya pewarnaan pada sitoplasma sel tumor, E; Pewarnaan MMP-9 pada tipe akantomatosa terlihat adanya pewarnaan pada sitoplasma sel tumor dengan persentase sitoplasma yang terwarnai lebih sedikit. F; Pewarnaan TIMP-1 pada tipe akantomatosa terlihat adanya pewarnaan positif pada sitoplasma sel tumor pada tanda panah.

Agresifitas, yang dalam penelitian ini dinilai dari perbandingan MMP-9 dan TIMP-1 (Gambar 1), dimana jika nilai imunoskor MMP-9/TIMP-1 > 1 berarti tumor tersebut agresif dan jika MMP-9/TIMP-1 ≤ 1 berarti tidak agresif.^{23,24} Pada kelompok ameloblastoma tipe folikular, subyek yang bersifat agresif lebih banyak, yaitu 7 subyek (25%), dari pada yang tidak agresif, yaitu 3 subyek (10,7%), namun demikian tidak terdapat

perbedaan yang signifikan terhadap agresifitas masing-masing subyek.

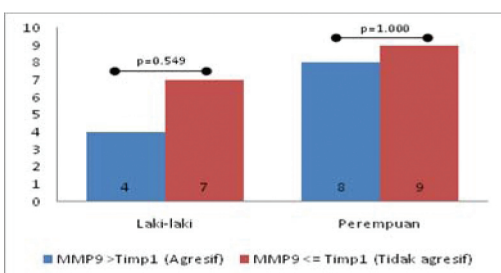
Pada kelompok ameloblastoma tipe pleksiform, subyek yang tidak agresif lebih banyak, yaitu 6 subyek (21,4%), dari pada yang agresif, yaitu 4 subyek (14,3%). Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok subyek ameloblastoma tipe pleksiform. Pada kelompok ameloblastoma tipe akantomatosa, terdapat

perbedaan agresifitas yang lebih jelas, dimana subyek yang tidak agresif mencapai 7 subyek (25%), dan 1 subyek (3,6%) yang agresif.



Gambar 1. Grafik tipe histopatologis terhadap agresifitas (P: 0,05)

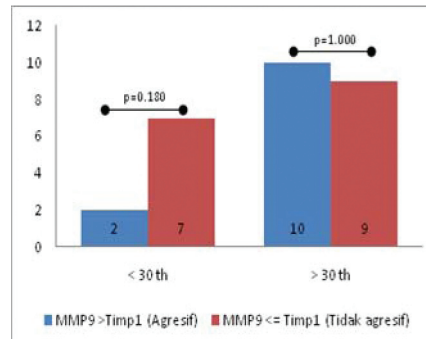
Dari ketiga kelompok tipe ameloblastoma, perbedaan agresifitas terlihat pada kelompok subyek tipe folikular, yang memiliki jumlah subyek yang agresif lebih banyak (7 subyek atau 25%), dari pada kelompok subyek tipe pleksiform (4 subyek 14,3%) maupun akantomatosa (1 subyek atau 3,6%). Kelompok subyek yang tidak agresif, terlihat lebih banyak jumlahnya pada kelompok subyek tipe akantomatosa (7 subyek atau 25%) dan pleksiform (6 subyek atau 21,4%), dan sedikit jumlahnya pada kelompok tipe folikular (3 subyek atau 10,7%). Meskipun terdapat perbedaan-perbedaan jumlah subyek yang agresif, pada setiap tipe histopatologis, namun perbedaan tersebut tidaklah bermakna.



Gambar 2. Grafik Jenis kelamin terhadap agresifitas (P: 0,05)

Pada kelompok subyek laki-laki (Gambar 2), didapatkan sebagian besar subyek tidak agresif (7 subyek atau 25%), dan yang agresif lebih sedikit (4 subyek atau 14,3%), namun demikian perbedaannya tidak bermakna. Pada kelompok subyek perempuan, kelompok yang tidak agresif lebih banyak (9 subyek /32,1%),

dari pada yang agresif (8 subyek /28,5%), namun tidak ada perbedaan bermakna.



Gambar 3. Grafik umur terhadap agresifitas (P: 0,05)

Agresifitas pada kelompok umur (Gambar 3), tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Pada kelompok umur kurang dari 30 tahun terdapat 2 subyek (7,1%) yang agresif, dan 7 subyek (25%) tidak agresif (P= 0,180). Pada kelompok umur lebih dari 30 tahun, terdapat 10 subyek (35,7%) yang agresif dan 9 subyek (32,1%) (P=1,000).

Agresifitas, yang dalam hal ini merupakan perbandingan ekspresi MMP-9 dan TIMP-1, antara tipe folikular dengan tipe pleksiform, perbedaannya tidak signifikan (P=0,185) (Tabel 5). Pada hasil uji statistik antara tipe pleksiform dan tipe akantomatosa, juga menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dalam keagresifitasannya (P=0,314).

Perbedaan agresifitas yang cukup signifikan terdapat diantara tipe folikular dengan tipe akantomatosa (P= 0,025). Nilai *Odd ratio* 16,3 memberikan arti bahwa tipe folikular memiliki kecenderungan 16,3 kali lebih agresif, dibandingkan dengan tipe akantomatosa. Hasil pengujian statistik memperlihatkan adanya perbedaan agresifitas MMP-9 dan TIMP-1 pada ameloblastoma tipe folikular dibandingkan dengan tipe akantomatosa, sedangkan perbandingan agresifitas pada tipe folikular dengan pleksiform, atau antara tipe pleksiform dan akantomatosa, perbedaannya tidak signifikan.

PEMBAHASAN

Ameloblastoma merupakan tumor yang berasal dari epitel odontogenik. Tumor ini telah dikenal lebih dari satu setengah abad yang lalu. Perhatian yang serius terhadap ameloblastoma

Tabel 5. Rangkuman hasil Uji Fisher's Exact Test untuk perbandingan agresifitas antara tipe folikular dengan tipe akantomatosa, dan tipe pleksiform dengan akantomatosa dengan *risk estimation*.

Perbandingan agresifitas antar tipe histopatologis ameloblastoma	Jumlah subyek dengan MMP9>Timp1 (Agresif)	P	OR (CI)
Folikular □□ pleksiform	7(70%) □□ 4(40%)	0,185	3,5 (0,54-22,30)
Pleksiform □□ akantomatosa	4(40%) □□ 1(12,5%)	0,314	4,6 (0,40-53,95)
Akantomatosa □□ folikular	1(12,5%) □□ 7(70%)	0,025	16,3(1,34-197,7)

P:0,05, OR; *Odd ratio*, *CI*; *Confidence Interval* (95%)

semakin meningkat dikarenakan frekuensi, sifat invasi lokalnya, dan rekurensi yang tinggi.²⁵

Lawler (2002)²⁶ dan Henriques (1999)²¹, yang menyatakan bahwa tidak terdapat predileksi gender pada ameloblastoma, pada penelitian ini perbandingan jumlah perempuan dan laki-laki adalah 1: 1,5 yaitu perempuan sebanyak 17 penderita (60,7%) dan laki-laki 11 penderita (39,3%). Hasan, (2010)¹² di Poli Bedah Mulut RS. Sardjito, melaporkan penderita perempuan lebih banyak yaitu 53% dan pria 47%. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa tidak ada predileksi gender pada ameloblastoma.²⁵ Pada penelitian ini juga tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna, diantara jenis kelamin pada penderita ameloblastoma (P=0,34).

Banyaknya penderita berusia diatas 30 tahun (19 orang atau 67,%), membuktikan bahwa tumor ini memang biasanya menyerang penderita usia dewasa, terutama usia dekade ketiga dan keempat.^{25,27,28} Pada penelitian ini didapatkan usia rata-rata penderita adalah 35,7 tahun (SD=14,2), nilai ini hampir sama dengan laporan Reichart (2003)²⁵, didalam penelitiannya (n=3677 kasus), mendapatkan usia rata-rata penderita adalah 35,9 tahun. Neville (2003)³, menyatakan bahwa ameloblastoma umumnya menyerang usia dewasa, dengan umur rata-rata 36 tahun pada saat awal terdiagnosa. Rentang usia penderita ameloblastoma juga sangat jauh, mulai dari anak-anak, sampai usia lanjut.^{25,28} Pada penelitian ini usia termuda adalah 7 tahun dan tertua adalah 60 tahun.

Reichart dan Philipsen (1995)⁴, mendapatkan dari 3677 kasus ameloblastoma, tipe folikular sebanyak 33,9%, tipe pleksiform 30,2%

dan tipe akantomatosa 11,1%. Hussein, dkk., (2012)²⁹ dalam penelitian terhadap 38 ameloblastoma, mendapatkan 3 tipe histologis ameloblastoma, yaitu tipe folikular 37%, pleksiform 42% dan akantomatosa 21%. Krishnapillai (2010)³⁰, melaporkan 31,5% ameloblastoma adalah tipe folikular, 16,4% untuk tipe akantomatosa, dan 10% untuk tipe pleksiform. Hasan (2010), dalam penelitiannya pada 30 kasus ameloblastoma menemukan 16 kasus (54%) tipe pleksiform, 7 kasus (23%) masing-masing untuk tipe folikular dan akantomatosa. Pada penelitian ini tipe folikular dan pleksiform sebanyak 10 kasus (27,7%) dan tipe akantomatosa 8 kasus (22,3%). Tidak ada perbedaan bermakna diantara jumlah kasus, dari ketiga tipe histopatologis (P= 0,87). Meskipun beberapa hasil penelitian sebelumnya menunjukkan jumlah yang berbeda-beda untuk ketiga tipe ameloblastoma ini, namun sebagian besar menunjukkan tipe folikular dan tipe pleksiform adalah tipe yang paling banyak dijumpai dibandingkan tipe lainnya.

Terdapat perbedaan yang mencolok untuk predileksi lokasi tumor, pada penelitian ini. Mandibula merupakan lokasi terbanyak dari seluruh kasus, yaitu 26 kasus (92,8%), dibandingkan dengan maksila, yaitu 2 kasus (7,1%). Perbedaan ini sesuai dengan interval data korresponden untuk negara Asia/Afrika, yaitu 2-8%, sedangkan untuk Amerika, 16-22% ameloblastoma terdapat pada maksila.³¹ Neville (2003)³, menyatakan bahwa 85% ameloblastoma terjadi pada mandibula. Posterior korpus mandibula (area molar) merupakan regio yang paling banyak mengalami ameloblastoma yaitu mencapai 35,7%, mendukung laporan Reichart (2003)²⁸,

yang melaporkan 44,4% (n= 1932) regio molar mandibula, sebagai regio yang paling banyak menderita ameloblastoma.^{3,25}

Pada penelitian ini (tabel 2), tipe folikular dan tipe pleksiform sebagian besar penderitanya adalah perempuan, sedangkan pada tipe akantomatosa, penderita laki-laki lebih banyak dari pada perempuan. Adebityi dkk.,³² dalam analisisnya terhadap 77 kasus ameloblastoma, mendapatkan bahwa penderita laki-laki lebih banyak dari pada perempuan, pada kelompok tipe folikular, tipe pleksiform, dan tipe akantomatosa. Pada penelitian Hasan,¹² penderita perempuan lebih banyak dari pada laki-laki pada kelompok tipe pleksiform dan tipe folikular, sedangkan pada tipe akantomatosa, penderita pria lebih banyak. Ada perbedaan di antara penelitian Adebityi dkk.,³² dengan penelitian ini. Dibandingkan dengan penelitian Hasan,¹² predileksi gender untuk setiap kelompok tipe ameloblastoma, memiliki pola yang sama, dimana tipe folikular dan tipe pleksiform lebih banyak diderita oleh perempuan, dan tipe akantomatosa lebih banyak diderita oleh laki-laki.

Dari setiap kelompok tipe histopatologis pada penelitian ini (tabel 2), memperlihatkan predileksi umur di atas 30 tahun untuk setiap kelompok. Berbeda dengan penelitian yang dilaporkan oleh Chawla dkk.,³³ pada penelitian terhadap 91 kasus ameloblastoma di India, dilaporkan ameloblastoma tipe folikular (n=18) rata-rata berusia 38,2 tahun, tipe akantomatosa rata-rata berusia 39,2 tahun, sedangkan tipe pleksiform rata-rata berusia 26,8 (dibawah 30 tahun).

Penelitian Adebityi,³² memperlihatkan tipe folikular memiliki rata-rata umur kurang dari 30 tahun, dan tipe pleksiform serta tipe akantomatosa memiliki rata-rata umur di atas 30 tahun. Dari seluruh penelitian dapat disimpulkan bahwa, tipe akantomatosa adalah tipe yang selalu konsisten memiliki penderita berusia rata-rata di atas 30 tahun, hal ini mendukung teori bahwa, tipe akantomatosa lebih sering diderita oleh penderita usia yang lebih tua.^{28,30,34}

Gambaran utama sifat biologis ameloblastoma adalah sifat invasif lokalnya, sifat ini menyebabkan tumor memiliki ukuran yang lebih besar, mendesak dan mendestruksi jaringan sekitarnya, dan secara tidak langsung, menyebabkan tingginya tingkat rekurensi pasca operasi. Perkembangan patogenesis dan daya invasif ameloblastoma, sampai saat ini belum dapat diterangkan secara jelas.¹⁷

Matrix Metalloproteinase-9 berperan penting dalam degradasi kolagen tipe IV yang merupakan komponen utama membrana basalis. Aktifitas MMPs tidak terlepas dari pentingnya keseimbangan interaksi antara aktivator dan inhibitor, sehingga protein-protein tersebut dapat menjalankan fungsinya.²¹ Kumamoto, dkk.,⁷ dalam penelitiannya menyatakan bahwa meningkatnya ekspresi TIMP-1 berhubungan dengan lemahnya imunoreaktif dari aktifitas MMP-9.

Perbandingan imunoskor MMP-9 dan TIMP-1, yang dalam hal ini disederhanakan dengan sebutan agresif dan tidak agresif (menyesuaikan dengan teori yang ada) dilakukan hanya untuk mempermudah dalam membandingkan nilai-nilai yang dihasilkan. Sebutan agresif dan tidak agresif bukanlah nilai absolut, karena masih banyak faktor-faktor dari protein-protein lain, yang mempengaruhi perilaku biologis tumor, melalui berbagai jalur tumoregenesis tingkat molekular.

Ekspresi MMP-9 pada kelompok tipe folikular dan pleksiform, sebagian besar menunjukkan ekspresi yang kuat (+2), demikian juga dengan ekspresi TIMP-1, namun demikian perbedaannya adalah pada kelompok tipe folikular memiliki lebih banyak +3 pada ekspresi MMP-9 (tabel 4). Pada kelompok tipe akantomatosa memiliki ekspresi MMP-9 dan TIMP-1 yang hampir sama kuatnya.

Agresifitas MMP-9 pada tipe folikular tampak lebih dominan (gambar hasil pewarnaan) dibandingkan dengan tipe lainnya, hal ini sama dengan ekspresi MMP-9 yang memiliki nilai ekspresi yang lebih tinggi, dari pada tipe lainnya pada penelitian Florescu dkk..¹⁷ Kumamoto dkk. menyatakan bahwa meningkatnya ekspresi TIMP-1 dan TIMP-2 pada ameloblastoma berhubungan dengan lemahnya imunoreaksi dari MMP-9.⁷ Pada penelitian ini peningkatan ekspresi TIMP-1 terlihat pada kelompok tipe akantomatosa, sehingga tipe akantomatosa adalah tipe yang kurang agresif dibanding tipe lainnya.

Terdapat kesamaan pada tingkat agresifitas, baik pada kelompok subyek berjenis kelamin laki-laki, maupun perempuan. Hal ini menunjukkan bahwa jenis kelamin tidak mempengaruhi agresifitas dari ameloblastoma (gambar 1). Pada penelitian Zhong, dkk.,²³ terhadap MMPs pada ameloblastoma dan *odontogenic keratocyst*, mendapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara ekspresi MMP-2, MMP-1, dan TIMP-1, baik pada jenis kelamin laki-laki,

maupun perempuan, demikian juga tidak ada perbedaan ekspresi pada usia diatas 30 tahun, maupun dibawah 30 tahun. Pada penelitian ini, secara statistik tidak terdapat perbedaan agresifitas tumor, baik pada kelompok usia diatas dan dibawah 30 tahun.

Pada penelitian ini, tipe folikular menunjukkan tingkat agresifitas tertinggi yaitu 70% dari sampelnya (Dengan odd ratio 16,3 (1,34-197,76) terhadap tipe akantomatosa), memiliki imunoskor MMP-9 yang lebih tinggi dari nilai TIMP-1. Pada penelitian terhadap AgNOR (*silver stained nuclearorganizer regions*), dimana meningkatnya AgNOR akan meningkatkan aktifitas proliferasi sel tumor, akibat peningkatan sintesa protein pada nukleus, menunjukkan bahwa tipe folikular lebih agresif dari pada tipe pleksiform, karena memperlihatkan tingkat proliferasi selular yang lebih tinggi.¹⁶

Perbedaan perbandingan ekspresi MMP-9/TIMP-1 yang signifikan terlihat antara tipe folikular dan tipe akantomatosa. Pada perbandingan ekspresi MMP-9/TIMP-1 antara tipe folikular dan pleksiform, serta antara tipe pleksiform dan tipe akantomatosa perbedaannya tidak signifikan, sehingga hasil penelitian mendukung hipotesis awal.

Kelemahan penelitian ini adalah bahwa pemeriksaan jaringan diambil dari blok parafin yang sudah ada, tanpa adanya data yang menerangkan bahwa jaringan tersebut merupakan bagian tengah atau bagian perifer dari ameloblastoma tersebut. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini belum dapat mewakili jaringan tumor secara keseluruhan. Pada waktu mendatang diharapkan pemeriksaan jaringan diambil dari jaringan ameloblastoma secara langsung, dengan memperhatikan bagian-bagian tertentu, sehingga dapat mewakili tumor secara keseluruhan.

Tipe folikular ameloblastoma biasanya membentuk struktur-struktur folikel dalam berbagai ukuran, dan memiliki susunan terluar yang tersusun atas sel-sel kolumnar, atau mirip dengan sel-sel ameloblast dan bagian dalam terdapat sel berbentuk segitiga yang menyerupai bentuk retikulum stelat pada benih gigi tahap *bell stage*. Gambaran histopatologis menunjukkan nukleus yang mengalami *reverse polarization*, sehingga memiliki tendensi untuk bergerak menjauhi membran basalis.¹⁹ Tendensi untuk bergerak menjauhi membrana basalis inilah yang dapat menambah agresifitas dari tipe ini.

Tipe folikular biasanya memiliki lebih banyak sel retikulum stelat, dari pada tipe lainnya, yang menurut Henriques (1999),²¹ banyaknya jumlah sel yang berbentuk bintang ini menunjukkan tingginya agresifitas, hal ini mendukung teori yang menyatakan bahwa lesi tipe folikuler lebih banyak melewati regio *midline*, dan lebih sering menyebabkan perforasi tulang kortikal.³⁰ Adanya nodul-nodul multikistik pada tipe folikular, seringkali menyebabkan tingginya tingkat rekurensi dibandingkan dengan tipe lainnya.³⁵

Pola perkembangan pada tipe folikular didasarkan oleh adanya stimulasi perkembangan folikel dental dan organ enamel, dengan menyusun sel-sel epitel sehingga mirip retikulum stelat. Secara klinis tumor akan muncul sebagai kista-kista kecil, dimana terjadinya degenerasi kistik dari sel-sel mirip retikulum stelat. Apa yang dikemukakan Reichart dan Philipsen,⁴ bahwa tingkat rekurensi tipe folikular (29,5%) lebih tinggi dari pada tipe plexiform (16,7%) dan juga dari tipe akantomatosa (4,5%), kemungkinan mendukung hasil penelitian ini, dimana tipe folikular memiliki ekspresi MMP-9 yang lebih tinggi dari tipe lainnya.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa tingkat perbandingan MMP-9 dengan TIMP-1 pada tipe folikular adalah yang tertinggi dibandingkan dengan jenis lainnya sehingga diasumsikan tipe folikular merupakan tipe yang paling agresif dari ketiga tipe histologis ini. Hal ini dimungkinkan secara teori karena adanya kecenderungan sel-sel palisade pada tipe folikular untuk bergerak menjauhi membran basalis sehingga memungkinkan lebih agresif dari tipe lainnya. Sedangkan adanya folikel-folikel juga memperbesar peluang untuk tingginya tingkat rekurensi.^{19,35}

Tipe pleksiform adalah tipe histologis ameloblastoma yang memiliki gambaran terjadinya proliferasi sel menyerupai pola jaring-jaring penangkap ikan (*fish net pattern*) atau seperti anastomosis ekor ikan yang menyilang dan bersambung satusama lain. Terdapat lapisan-lapisan sel pada bagian proliferasi epitelium dengan sambungan desmosom yang terbentuk jelas, menstimulasi lapisan sel spindel. Tipe pleksiform pada penelitian ini memiliki agresifitas yang hampir seimbang dengan jumlah yang tidak agresif, menunjukkan bahwa tipe pleksiform memiliki agresifitas yang lebih rendah dari pada tipe folikular. Henriques, dkk.,²¹ menyatakan bahwa secara histologis, formasi kistik pada tipe

pleksiform, terbentuk oleh adanya degenerasi stroma, dan memiliki lebih sedikit area yang mirip retikulum stelata, sehingga menunjukkan agresivitas yang lebih rendah. Pada tipe pleksiform juga jarang membentuk formasi kistik, karena lebih berhubungan dengan degenerasi stroma pada jaringan epitelialnya, daripada perubahan yang bersifat kistik.^{36,37}

Gambaran histopatologis ameloblastoma dikatakan tipe akantomatosa, jika memiliki gambaran metaplasia squamosa yang luas, terkadang dengan formasi keratin yang terletak di dalam pulau sel-sel tumor. Formasi keratin (*horny pearls*) dapat terkalsifikasi.²⁸ Pada penelitian ini, tipe akantomatosa menunjukkan agresivitas yang terendah dari pada tipe folikular dan tipe pleksiform. Penelitian ini menunjang penelitian Hasan,¹² dimana seluruh tipe akantomatosa tidak menunjukkan ekspresi p53, sehingga tipe ini bersifat paling tidak progresif dibandingkan dengan tipe pleksiform dan tipe folikular. Reaksi-reaksi apoptosis paling sering terjadi pada tipe akantomatosa dibandingkan dengan tipe ameloblastoma yang lain.

Berdasarkan perilaku sel, telah dinyatakan bahwa transformasi metaplasia epitelial squamosa, yang terjadi pada tipe akantomatosa tidak memiliki predisposisi kepada perubahan-perubahan keganasan, atau peningkatan tingkat rekurensi, maupun terhadap peningkatan daya invasi tumor.³⁸ Metaplasia squamosa yang terlihat pada tipe akantomatosa biasanya disertai oleh iritasi kronis dari kalkulus atau sepsis oral (sebagai sumber iritan kronis) sehingga diduga memiliki peran dalam etiologi ameloblastoma.³⁹ Telah dilaporkan juga bahwa tipe akantomatosa biasanya terjadi pada usia lebih tua dari pada tipe lainnya.³⁰

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian imunohistokimia MMP-9 dan TIMP-1 pada tiga tipe histopatologi ameloblastoma yaitu tipe folikular, tipe pleksiform, dan tipe akantomatosa, maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan perbandingan ekspresi MMP-9 dan TIMP-1, antara ameloblastoma tipe folikular dan tipe akantomatosa yang signifikan. Perbandingan ekspresi MMP-9 dan TIMP-1, antara ameloblastoma tipe folikular dan pleksiform, maupun pada tipe pleksiform dan tipe akantomatosa, perbedaannya tidak signifikan.

Berdasarkan perbedaan perbandingan ekspresi MMP-9 dan TIMP-1 yang ada, tipe folikular lebih agresif dibandingkan dengan tipe akantomatosa, dengan perbedaan yang signifikan. Meskipun tipe folikular lebih agresif dari tipe pleksiform dan tipe pleksiform lebih agresif dari tipe akantomatosa, namun perbedaannya tidak signifikan.

SARAN

Dari hasil penelitian ini disarankan bahwa sebaiknya pada setiap pemeriksaan tipe histopatologis ameloblastoma dicantumkan tipe histopatologisnya. Pada ameloblastoma tipe folikular, sebaiknya tindakan operatif lebih cepat dilakukan, mengingat agresivitas tipe folikular lebih tinggi daripada tipe lainnya. Tindakan operatif yang radikal membantu mencegah rekurensi. Pada penelitian selanjutnya, diharapkan pengambilan sampel sebaiknya diambil secara langsung dari jaringan hasil operasi, sedemikian sehingga dapat lebih mewakili lokasi jaringan yang diperiksa, baik di tengah/pusat tumor ataupun dari permukaan tumor. Penelitian lebih lanjut tentang protein-protein matriks metaloproteinase yang lain (beserta inhibitorynya) perlu dilakukan pada ameloblastoma untuk melengkapi informasi tentang protein yang berperan dalam agresivitas, sehingga dapat membantu pertimbangan prognosis dan perawatan ameloblastoma. Penelitian terhadap ekspresi protein yang berhubungan dengan agresivitas ameloblastoma, sebaiknya didukung oleh data klinis, riwayat penyakit, ukuran tumor dan lamanya pasien telah menderita tumor tersebut, sehingga bisa dibandingkan dengan pertumbuhan tumor secara klinis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Booth P.W., Stephen A.S., Jarg E.H., *Maxillofacial Surgery*, 2nd Ed. Churchill-livingstone, Missouri, 2007, hal. 492-495
2. Cawson, R. A., *Cawson's Essential of oral Pathology and Oral Medicine*, 8th ed., Elsevier, U.K., 2008, hal. 115-171
3. Neville, B. W., Damm, Douglas, D., *Oral and Maxillofacial Pathology*, 2nd ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 2002, hal. 611-619
4. Reichart PA, Philipsen HP, Sonner S et al., Ameloblastoma: Biological profile of 3677 Cases. *Oral Oncol*; 1995, 3:86-99.
5. Pinheiro, J. J., Freitas, V. M., Moretti, A. I., Jorge, A. G., Jaeger, R. G., Local invasiveness of ameloblastoma. Role played by matrix

- metalloproteinases and proliferative activity. *Journal Histopathology*. Jul; 2004, 45(1):65-72.
6. Er N, Dagdeviren A, Tasman F, Zeybek D., Neural cell adhesion molecule and neurothelin expression in human ameloblastoma. *J Oral Maxillofac Surg*. 2001, vol.;59, hal.900–903.
 7. 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, Feb;32(2):114-120
 8. Leocata, P., Villari, D., Fazzari, C., Lentini M, Fortunato C, Nicòtina PA., Syndecan-1 and wingless-type protein-1 in human ameloblastomas. *J Oral Pathol Med*. 2007,36:394–9
 9. Heikinheimo, K., Morgan, P.R., Happonen, R.P., Stenman, G., Virtanen, I., Distribution of extracellular matrix proteins in odontogenic tumours and developing teeth. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol.*; 1991, vol.61, hal. 101–1099.
 10. Wang, Y.P., Liu, B.Y., Expression of osteopontin and its receptors in ameloblastomas. *Oral Oncol*. 2009, Vol.45, hal.538–42.
 11. Myoken, Y., Myoken, Y., Okamoto, T., Sato, J.D., Takada, K., Immunohistochemical localization of fibroblast growth factor-1 (FGF-1) and FGF-2 in cultured human ameloblastoma epithelial cells and ameloblastoma tissues. *J Oral Pathol Med*. 1995, vol. 24, hal.387–92.
 12. Hasan, C.Y., Prihartiningsih, Rahardjo, Ekspresi gen P-53 pada Ameloblastoma (penelitian imunohistokimiawi), *Jurnal Kedokteran gigi*, 2010, Vol. 1
 13. Zhong, M., Liu, J., Gong, Y.B., Liu, J.D., Wang, J, Zhang B. Expression of p21WAF1, p27KIP1 and cyclin E in ameloblastoma. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2005, Vol.40, hal.306–309.
 14. Zhong, Y., Guo, W., Chen, X., Molecular markers of tumor invasiveness in ameloblastoma: An update, *Annals Maxillofacial Surgery*, 2011, vol. 1(2), hal. 145-149.
 15. Sandra F, Mitsuyasu T, Nakamura N, Shiratsuchi Y, Ohishi M., Immunohistochemical evaluation of PCNA and Ki67 in ameloblastoma, *Oral Oncology*. 2001, Vol.37, hal.193-198.
 16. Jain, V.K., Uma, K., Saundarya, N., Smitha, T., Comparative morphometric study of AgNORs in variants of ameloblastoma. *Journal Oral Maxillofac. Pathology*. 2012, 16(3): 354-358.
 17. Florescu, A., Margaritescu, C.L., Simionescu, C.E., Stepan, A., Immunohistochemical expression of MMP-9, TIMP-2, E-caderin and vimentin in ameloblastomas and their implication in the local aggressive behavior of these tumors, *Rom. J. Morphol. Embryol*, 2012, 53(4): 975-984.
 18. Nagatsuka, H., Han, P., Tsujigawa, H., Siar, C., Gunduz M, Suguhara, C., Akira, S., Nakajima M., Naomoto Y., Nagai, N., Heparanase gene and protein expression in ameloblastoma: possible role in local invasion of tumor. *Journal Oral Oncology*, 2005, vol 41, hal., 542-548
 19. Lee, K. S., Kim Y. S., Current Concepts and Occurrence of Epithelial Odontogenic Tumors: I. Ameloblastoma and Adenomatoid Odontogenic Tumor *The Korean Journal of Pathology*, 2013; 47: 191-202
 20. Rachmita, A., dkk, Matrix Metalloproeinase-9 expression in different type of ameloblastoma, *J. Oral and maxillofacial surgery*, 2013, DOI 10.1007/s12663/015/0358z
 21. Henriques ACG., dkk, Comparative analysis of immunohistochemical expression of collagen IV, MMP-9, and TIMP-2 in Odontogenic cyst and tumor. *J. Oral Surg, O. Med., O. Path.*, 2011, 112: 4: 468-475
 22. Rydlova, M. Biological activity and clinical implications of matrix metalloproteinases. *Anti Cancer Research*. 2008, vol 28. Hal 1389-1398
 23. Zhong, M. Wang, J., Yue, Expression of matrix metalloproteinases in human ameloblastoma. *Internatinal China J. Dent.*, 2004, vol. 4, hal. 19-26
 24. Cao, L., X., Jun, S., R., Zheng, Y., Y., Liu, J., Teng., S., Li., Y., Zhu., J., Expression of type IV collagen, Metalloproteinase-2, metalloproteinase-9, and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 in laryngeal squamous cell carcinomas, *Asian pacific Journal of Cancer Prevention*, 2011, Vol. 12, hal. 3245-3249.
 25. Regezi, J. A., Scuibba, J. J., Jordan R. C. K., *Oral Pathology Clinical Pathologic correlation*, 6th ed. W. B. Saunders Company, 2012, hal. 270-278, 281, 284-286.
 26. Lawler, W., *Buku Pintar Patologi untuk Kedokteran Gigi*, EGC, 2002, Jakarta, hal. 821
 27. Greenberg, M. S., Glick, M., Ship, J. A., *Burket's Oral Medicine*, 8th ed., BC. Decker Inc. Hamilton, Ontario, 2008, hal. 143-141
 28. Reichart, P. A., Hans, P.P., *Odontogenic Tumors and Allied Lessions*, Quintessece Book, 2003, hal.17-65.
 29. Hussein, MH., Hamad, YT., Kumail, IA., Ameloblastoma of the mandible in Anbar province, a prospective study, *Journal of Rafidah Univ. College*. 2012, 30; 157-168.
 30. Krishnapillai, R., Angadi, P.V., A Clinical, Radiographic, and Histologic review of 73 cases of ameloblastoma in an Indian population, *J. Quintessence international*, 2010, 41;e90-e100.
 31. Anand, SV., Davey, WW., Cohen, B., Tumors of the jaw in West Africa: A review of 256 patien. *British Journal Surgery*, vol. 1967, 54: 901-917.
 32. Adebiji, K. E., Ugbogo, V. I., Esan, G. O., Ndukwe, K. C., Oginni, F. O., Clinicopathological analysis of Histological variants of ameloblastoma in a

- suburban Nigerian Population, *Head and Face Medicine*, 2006, 2:42. Doi: 10.1186/1746-160x-2-42.
33. Chawla, R., Ramaligan, K., sarkar, A., muddiah, S., Ninety-one cases ameloblastoma in an indian population: A comprehensive review, *Journal of Natural science, Biology and Medicine*. 2013, vol 4;2, hal 310-315.
34. Parveen, D., Reet, K., Krishna, Acanthomatous Ameloblastoma of mandible- a rare case report, *Annals of Dental Research*, 2014
35. Shahidi, Sh., Bronoosh, P., Daneshbod, Y., Follicular ameloblastoma presenting as a sinonasal tumor, *Iranian Red Crescent medical Journal*, 2012., Vol. 14 (2): 113-116.
36. Silva, I.I.C., Israel, MS., Lima, G.S., Lourenco, S.Q.C., 2012, Difficulties in the diagnosis of plexiform ameloblastoma, *Oral Maxillofac. Surgery*, 16; 115-118.
37. Singh, P., Garg, M., nauhria, S., Gupta, S., Unusual case of giant multicistic Acanthomatous ameloblastoma of mandible in 70 years old male. *Asian Journalof medical Science*, 2013, vol. 4: 4, 1-2.
38. Anneroth, G., heindahl, A., Wwersall, J., Acanthomatous ameloblastoma, *International Journal Oral Surgery*, 1980,,9: 2316.
39. Chapple, I.L.C., Manoque, M., Managemoent of a recurrent follicular ameloblastoma., *Dental Update*, 1999, vol.1: 309-312.