



© Copyright by Poznan University of Medical Sciences, Poland

ORIGINAL PAPER

## Amelogenins and their effects on the wound healing of skin and oral mucous membrane

# JoFA

PRACA ORYGINALNA

## Amelogeniny i ich rola w procesach gojenia skóry i błony śluzowej jamy ustnej

Sylwia Klewin-Steinböck<sup>1\*</sup>, Marzena Wyganowska-Świątkowska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Non-stationary Postgraduate Studies in Methodology of Scientific Research, Poznan University of Medical Sciences, Poland

<sup>2</sup> Chair and Clinic of Dental Surgery and Periodontology, Poznan University of Medical Sciences, Poland

<sup>1</sup> Niestacjonarne Studia Podyplomowe Metodologii Badań Naukowych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

<sup>2</sup> Katedra i Klinika Chirurgii Stomatologicznej i Periodontologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

DOI: <https://doi.org/10.20883/jofa.3>

\* **Corresponding author / Osoba do kontaktu**  
phone/tel.: +48602382525, email: sylwiasteinb@wp.pl

### ABSTRACT

Amelogenins are a mixture of hydrophobic proteins that are the major organic components of developing enamel. The main functions of the amelogenins and their degradation products are structural roles in creating the space and environment for promoting enamel mineralization. They are used in periodontal surgery to guide tissue regeneration. Based on clinical evidences that amelogenins positively affect the healing of periodontium tissue new application for amelogenins have been suggested. Conducted research confirmed that amelogenins can be used in skin wound healing.

**Keywords:** amelogenin, skin, mouth, healing.

### STRESZCZENIE

Amelogeniny są mieszaniną hydrofobowych białek, które są głównymi organicznymi składnikami rozwijającego się szkliwa. Główną funkcją amelogenin i produktów ich rozpadu jest udział w tworzeniu przestrzeni i środowiska sprzyjającego mineralizacji szkliwa. Stosowane są w chirurgii przyzębia w celu wspomaganie regeneracji tkanek. Bazując na dowodach klinicznych, iż amelogeniny mają pozytywny wpływ na gojenie tkanki przyzębia, zasugerowano nowe ich zastosowanie. Przeprowadzone badania potwierdziły, że amelogeniny mogą być stosowane w gojeniu ran skóry.

**Słowa kluczowe:** amelogenina, skóra, jama ustna, gojenie.

The family of hydrophobic proteins secreted by ameloblasts (EMP) and called amelogenins are major fraction of extracellular matrix (ECM) proteins, reaching more than 90% of total enamel protein (while ameloblastin and enamelin are about 5% and 2% of total protein) and play critical roles in enamel formation and mineralization [1, 2]. Amelogenins are mostly 20-25 kDa and exhibit an unusual amino acid composition. They contain more than 50% hydrophobic amino acids [1]. Proline accounts for around 25-30% of the amino acids present, with relatively high levels of histidine, glutamine and leucine [2]. Primary protein is typically divided into three prominent amino acid domains: a hydrophobic tyrosine-rich N-terminal domain, called the tyrosine-rich amelogenin peptide (TRAP); the central hydrophobic proline-rich region; and the hydrophilic C-terminal domain [3, 4]. Amelogenins demonstrate a very high level of sequence homology among examined vertebrates (>80%) and both the tyrosine-rich amino terminal and the hydrophilic carboxy-terminal are almost identical between species [3, 5]. Amelogenins are practically insoluble at physiological pH and body temperature, but can be dissolved at high or low pH and at low temperature. They self-aggregate in vivo and in vitro into supramolecular structure called nanospheres, whose size depends on temperature changes. Amelogenin nanospheres are arranged in controlled shape and size affecting the microstructure direction and elongation growth of hydroxyapatite crystals [3, 5-7]. Furthermore amelogenin expression has been identified in bone and cartilage (chondrocytes, osteoblast and osteoclast) and in various soft tissues not related to odontogenesis, such as the brain and some cells of the hematopoietic system [6].

After the eruption of the tooth enamel matrix proteins play a role in healing, cell-to-cell communication, the formation of new periodontal tissue and alveolar bone remodelling.

The role of amelogenin, the main enamel matrix, in the tooth development in a post-eruption repair process which is widely docu-

*After the eruption of the tooth enamel matrix proteins play a role in healing, cell-to-cell communication, the formation of new periodontal tissue and alveolar bone remodelling.*

*Po wyrznięciu zęba EMP odgrywają rolę w procesach gojenia, komunikacji międzykomórkowej, powstawaniu nowych tkanek przyzębia oraz remodelowaniu kości wyrostka zębodołowego.*

Rodzina białek hydrofobowych wydzielanych przez ameloblasty (EMP), zwanych amelogeninami, jest najliczniejszą grupą białek macierzy pozakomórkowej (ECM), stanowiąc ponad 90% wszystkich białek szkliwa (ameloblastyna i enamelina to około 5% i 2% całkowitego białka) i odgrywa kluczową rolę w formowaniu i mineralizacji szkliwa [1, 2]. Amelogeniny posiadają masę 20-25 kDa i wykazują nietypowy skład

aminokwasowy, zawierając ponad 50% aminokwasów hydrofobowych [1]. Prolina stanowi około 25-30% wszystkich aminokwasów, przy stosunkowo wysokich poziomach histydyny, glutaminy i leucyny [2].

W białku pierwotnym wyróżnia się trzy główne domeny: hydrofobową N-terminalną domenę bogatą w tyrozynę, zwaną peptydem amelogeniny bogatym w tyrozynę (TRAP); środkowy hydrofobowy region bogaty w prolinę i hydrofilową domenę C-terminalną [3, 4]. Amelogenina wykazuje bardzo wysoką zgodność sekwencji wśród badanych kręgowców (> 80%), a zarówno bogaty w tyrozynę koniec aminowy, jak i hydrofilowy koniec karboksylowy są prawie identyczne między gatunkami [3, 5]. Amelogeniny są praktycznie nierozpuszczalne w fizjologicznym pH i temperaturze ciała, ale stają się rozpuszczalne w wysokim lub niskim pH oraz w niskiej

temperaturze. *In vivo* i *in vitro* agregują samodziennie, tworząc supramolekularne struktury zwane nanosferami, których wielkość uzależniona jest od zmian temperatury. Nanosfery amelogeniny układają się w ściśle określony

kształt i wielkość, wpływając na mikrostrukturę i wzrost, na długość kryształów hydroksyapatytu [3, 5-7]. Poza tkankami zęba zaobserwowano ekspresję amelogeniny w kościach i chrząstce (chondrocyty, osteoblasty i osteoklasty) oraz w różnych tkankach miękkich niezwiązanych z odontogenezą, w mózgu i niektórych komórkach układu krwiotwórczego [6].

Po wyrznięciu zęba EMP odgrywają rolę w procesach gojenia, komunikacji międzykomórkowej, powstawaniu nowych tkanek przyzębia oraz remodelowaniu kości wyrostka zębodołowego.

mented in scientific research of *in vitro* and *in vivo*, particularly in connection with the inhibition of bone resorption processes, cement and dentine. Odontoblast growth is stopped by amelogenin, probably under the regulation of the expression of receptor activator NF- $\kappa$ B ligand (RANKL). Expression of amelogenin was also demonstrated in the tissues of the brain and hematopoietic system, although not identify as an active receptor for all forms of amelogenin [8]. *In vitro* studies indicate that the effect of enamel matrix derivatives (EMD) on the biology of different cells is not the result of the activity itself as amelogenin is 20 kDa, but the concentrations in the various protein fractions, or growth factors. Amelogenin may by long chain fraction stimulate autocrine secession of bone morphogenic proteins (BMP) while rich leucine or tyrosine short fractions stimulate autocrine secession transforming growth factor (TGF) beta. It is also suggested that amelogenin may stimulate fibroblast for TGF beta secession. It showed an increased proliferation, cell adhesion, protein secretion, and responsiveness to growth factors, periodontal (PDL) fibroblast in contact with EMD. As a result, the ability of differentiation of the other cell type is observed. On the other hand, BMP, mainly responsible for ontogenesis and osteoinduction during the healing of bone tissue, may similarly affect other periodontal tissues including epithelial cells and fibroblasts probably because they act as a regulator interaction processes epithelia mesenchymal [9]. Fibroblasts are a heterogeneous group of cells responsible for the formation of tissues, organogenesis and homeostasis. Their phenotype is genetically modulated, but is strongly influenced by the local. Studies on the morphology of fibroblasts indicate variations in the response to stimuli between the fibroblasts present in the periodontal tissue. Differences were even observed in gingiva between fibroblast of attached gingival and gingival papilla. Also the effect of EMD on PDL fibroblast and gingival fibroblast is different. Studies of the role of gingival fibroblasts in periodontal tissue regeneration initiated hypothesis that only cells that are adjacent to the damaged periodontal capable of forming a new attachment with all its components. Gingival fibroblasts are seen as the progenitor cells. The oestrogenic phenotype cells were isolated from gingival fibroblast. They have indicated osteopontin gene expression as well as higher secession for alkaline phosphatase or enzymes responsible for

Rola amelogeniny w rozwoju zęba i post-erupcyjnych procesach naprawczych jest szeroko udokumentowana w badaniach *in vitro* i *in vivo*, szczególnie w powiązaniu z hamowaniem procesów resorpcji cementu i zębiny. Amelogenina hamuje rozwój odontoklastów, prawdopodobnie w wyniku regulacji ekspresji receptora aktywatora ligandu NF- $\kappa$ B (RANKL). Badania *in vitro* wskazują, że wpływ EMD na biologię różnych komórek nie jest wynikiem aktywności samej amelogeniny w formie 20 kDa, ale zawartych w preparacie różnych frakcji białkowych lub czynników wzrostu [8]. Prawdopodobnie długołańcuchowe frakcje amelogeniny stymulują autokrynną produkcję BMP, podczas gdy bogate w leucynę bądź tyrozynę frakcje krótkie przyspieszają autokrynną produkcję TGF $\beta$ . Sugeruje się, że amelogenina może stymulować wydzielanie TGF $\beta$  przez fibroblasty. Przejawia się to między innymi ich zdolnością do różnicowania w różnych kierunkach. Z kolei białka morfogenetyczne kości, jakkolwiek odpowiedzialne przede wszystkim za osteogenezę oraz działanie osteoindukcyjne w czasie naprawy tkanki kostnej, mogą oddziaływać podobnie na pozostałe tkanki przyzębia, w tym na komórki nabłonkowe i fibroblasty, prawdopodobnie dlatego, że pełnią one rolę regulatora procesów interakcji epitelialno-mezenchymalnych [9]. Fenotyp fibroblastów jest modulowany genetycznie, ale podlega silnym wpływom miejscowym. Badania nad morfologią fibroblastów wykazały różnice w reakcji na bodźce pomiędzy fibroblastami występującymi w tkankach przyzębia. Różnice występowały nawet w obrębie dziąsła pomiędzy fibroblastami dziąsła przyczepionego a fibroblastami brodawek dziąsłowych. W przyzębiu efekt działania EMP na fibroblasty ozębnowe i dziąsłowe jest różny. Badania nad rolą fibroblastów dziąsłowych w procesach regeneracji zapoczątkowała hipoteza, że tylko komórki będące w sąsiedztwie uszkodzonej ozębnej mają możliwość tworzenia nowego przyczepu z wszystkimi jego komponentami. Fibroblasty dziąsłowe postrzegane są jako swoiste komórki progenitorowe. Izolowano z nich między innymi komórki o typowym osteogenicznym fenotypie, wykazujące ekspresję dla genu osteokalcyny i osteoponiny oraz wzmoczoną sekrecję fosfatazy zasadowej czy enzymów biorących udział w mineralizacji [10]. Mimo iż morfologia fibroblastów wydaje się być opisana szczegółowo, to jednak nadal niewiele wiadomo o markerach powierzchniowych różnicujących fibroblasty, chociaż ich błona komórkowa zawiera wiele receptorów dla bioaktywnych molekuł. Wyniki

mineralization [10]. Although the morphology of fibroblasts seems to be described in detail, there is still little known about the surface markers of differentiating fibroblasts, despite the fact that the cell membrane comprises a plurality of receptors for bioactive molecules. Preliminary study confirmed that EMD significantly influence fibroblast biology. The observed increase in the proliferative potential, without significant changes in cell morphology is very promising results [11], particularly with respect to treatment of gingival recession, skin revitalization, and organ damage from stem cells. Its crucial to explain which of the protein fraction, contained in EMD, are responsible for this effect.

Wound healing is complex process in which are involved different cell type (fibroblasts, macrophages, lymphocytes), cytokines, growth factors, components of extracellular matrix (fibrin, collagen, etc.) and tissue inhibitors [12, 13]. Clinically used amelogenins mixture is dissolved in solution of propylene glycol alginate in gel formulation [14-16]. In aspect of use EMD the important factor is that amelogenins are highly conserved gene across species (human and porcine included), which is the reason that allergic reaction and incompatibility have not been reported in clinical trials [14].

As mentioned EMD properties of periodontal regeneration are well described. Recent study conducted on rat model has shown that EMD improves oral mucosa incisional wound healing by promoting formation of collagen fibres and blood vessel in connective tissue [17].

The success in oral wounds healing has lead to interest in the potential role of amelogenins in the repair of injured skin. In vivo study on rabbits has shown that use of EMD increased formation of granulation tissue compared to control group, the granulation tissue appeared resistant to trauma, less hemorrhage, wound areas was smaller at any given point in time. Histopathological examination on all wound shown more advanced stage of healing in EMD group after 28 days. In vitro study on adult human dermal fibroblasts show that presence of EMD increased levels of secreted vascular endothelial growth factor (VEGF) fivefold after 3 days and 5,5-fold after 6 days of incubation compared to control group of fibroblasts. The same research also shown that in EMD-treated group was found more fibroblast than in control group and level of matrix metalloproteinase (MMP-2) was significantly higher compared to control-treated group [16]. Other research also showed that EMD stimulates

badań potwierdziły, że EMD wpływa w istotny sposób na biologię fibroblastów. Zaobserwowane zwiększenie potencjału proliferacyjnego, bez istotnych zmian morfologii komórek, ma bardzo duże znaczenie, szczególnie w odniesieniu do leczenia recesji dziąsłowych, gojenia, rewitalizacji skóry, jak i zmian narządowych z wykorzystaniem komórek macierzystych [11]. Należy jednak wyjaśnić, które z zawartych w EMD frakcji białkowych wywołują ten efekt i w jakim mechanizmie.

Gojenie się rany to złożony proces, w który zaangażowane są różne typy komórek (fibroblasty, makrofagi, limfocyty), cytokiny, czynniki wzrostu, składniki macierzy zewnątrzkomórkowej (fibryna, kolagen itp.) oraz inhibitory tkanek [12, 13]. Klinicznie stosowany preparat to mieszanina amelogenin rozpuszczona w alginianie glikolu propylenowego w postaci żelu (EMD) [14-16]. Istotny aspekt stosowania EMD to fakt, że gen amelogeniny jest wysoce konserwatywny dla różnych gatunków (w tym ludzi i świń), dzięki czemu nie zaobserwowano reakcji alergicznych i niekompatybilności w badaniach klinicznych [14].

Ostatnie badania przeprowadzone na szczurach wykazały, że EMD poprawia gojenie się ran błony śluzowej jamy ustnej poprzez promowanie tworzenia włókien kolagenowych i naczyń krwionośnych w tkance łącznej [17].

Sukces w leczeniu ran jamy ustnej doprowadził do zainteresowania potencjalną rolą amelogenin w naprawie uszkodzonej skóry. Badanie *in vivo* na królikach wykazało, że zastosowanie EMD wspomaga tworzenie się tkanki ziarninowej w porównaniu z grupą kontrolną, a nowa tkanka ziarninowa okazała się bardziej odporna na uraz, mniej skłonna do krwawienia, a obszar rany był mniejszy w dowolnym czasie. Badanie histopatologiczne wszystkich przeprowadzone po 28 ran wykazało, że bardziej zaawansowany etap gojenia występował w grupie leczonej EMD. Badanie *in vitro* na dojrzałych ludzkich fibroblastach skórnych wykazało, że w obecności EMD poziom wydzielanego czynnika wzrostu śródna-błonka naczyniowego (VEGF) po 3 dniach był wyższy pięciokrotnie i 5,5-krotnie po 6 dniach inkubacji w porównaniu z grupą kontrolną fibroblastów. W tym samym badaniu zauważono również większą ilość fibroblastów w grupie inkubowanej z EMD niż w grupie kontrolnej, a poziom metaloproteinazy 2 (MMP-2) był znacznie wyższy w porównaniu do grupy kontrolnej [16]. Inne badania również potwierdziły stymulujący wpływ EMD na proliferację fibroblastów skóry ludzkiej [18]. Dodatkowo w różnych bada-



human dermal fibroblast proliferation [18]. Effect of amelogenins on angiogenesis has also been reported in variety of in vitro models [19, 20].

The animal model observation led to the development of an amelogenin formulation for skin wounds, based on the original EMD product. Several clinical studies have showed EMD work well on hard-to-heal ulcers like venous leg ulcer, diabetic foot ulcer and pressure ulcer. Amelogenin proteins as ECM biocompatible protein applied to the wound bed and serves as a temporary matrix, which acts as a support structure on to which dermal fibroblasts can attach during the regenerative process of wound healing. Amelogenin has been shown to cause significant reductions in ulcer size, reduce levels of exudate, and reduce wound-associated pain. Interesting is that wounds of duration longer than 6 month and of an area larger than 10 cm<sup>2</sup> show the best response to amelogenina treatment [12, 20-23].

Amelogenins are the interesting group of proteins, which hypothetically might be attractive for esthetic medicine doctors in scar and burn treatment as well as wrinkle filling.

niach *in vitro* odnotowano wpływ amelogenin na angiogenezę [19, 20].

Badania na zwierzętach doprowadziły do opracowania, w oparciu o oryginalny produkt EMD, preparatu amelogeninowego do leczenia rany skóry. Kilka badań klinicznych pokazało pozytywny wpływ EMD w wypadku trudnych do wyleczenia owrzodzeń, takich jak żyłne owrzodzenie podudzi, owrzodzenia w przebiegu stopy cukrzycowej i odleżyny. Białka amelogeninowe, które są biokompatybilne z białkami ECM, nakładane na łożysko rany stanowią tymczasową matrycę, działającą jako struktura nośna, do której mogą przyłączyć się fibroblasty skóry w trakcie procesu gojenia się rany. Wykazano, że amelogenina znacznie zmniejsza wielkości owrzodzenia, zmniejsza poziom wysięku oraz ból związany z raną. Interesujące jest, iż rany utrzymujące się dłużej niż 6 miesięcy i obejmujące obszar większy niż 10 cm<sup>2</sup> wykazują najlepszą odpowiedź na leczenie amelogeniną [12, 20-23].

Amelogeniny stanowią ciekawą grupę białek, która hipotetycznie może być interesująca dla lekarzy medycyny estetycznej w kontekście redukcji blizn, oparzeń oraz wypełniania bruzd.

## Acknowledgements

### Conflict of interest statement

The authors declare no conflict of interest.

### Funding sources

There are no sources of funding to declare.

## Oświadczenia

### Oświadczenie dotyczące konfliktu interesów

Autorzy deklarują brak konfliktu interesów w autorstwie oraz publikacji pracy.

### Źródła finansowania

Autorzy deklarują brak źródeł finansowania.

## References / Piśmiennictwo

1. Honda MJ, Suda N. A New Function of Amelogenin – From Bench to Clinics, and Clinics to Bench. *J Oral Biosci.* 2011;53(3):241-247.
2. Brookes SJ, Robinson C, Kirkham J, Bonass WA. Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. *Archs Oral Biol.* 1995;40(1):1-14.
3. Ruan Q, Moradian-Oldak J. Amelogenin and Enamel Biomimetics. *J Mater Chem B.* 2015;3:3112-129.
4. Salido EC, Yen PH, Koprivnikar K, Yu LC, Shapiro LJ. The human enamel protein gene amelogenin is expressed from both the X and the Y chromosomes. *Am J Hum Genet.* 1992; 50(2):303-316.
5. Lyngstadaas SP, Wohlfahrt JC, Brookes SJ, Paine ML, Snead ML, Reseland JE. Enamel matrix proteins; old molecules for new applications *Orthod Craniofac Res.* 2009;12:243-253.
6. Deutsch D, Haze-Filderman A, Blumenfeld A, Dafni L, Leiser Y, Shay B, Gruenbaum-Cohen Y, Rosenfeld E, Fermon E, Zimmerman B, Haegewald S, Bernimoulin, JP, Taylor AL. Amelogenin, a major structural protein in mineralizing enamel, is also expressed in soft tissues: brain and cells of the hematopoietic system. *Eur J Oral Sci.* 2006;114(1): 183-189.
7. Bosshardt DD. Biological mediators and periodontal regeneration: a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *J Clin Periodontol.* 2008;35(8):87-105.
8. Yagi Y, Suda N, Yamakoshi Y, Baba O, Moriyama K. In vivo application of amelogenin suppresses root resorption. *J Dent Res.* 2009; 88:176-181.
9. Häkkinen L, Larjava H, Fournier BPJ. Distinct phenotype and therapeutic potential of gingival fibroblasts *Cytotherapy.* 2014;16(9):1171-1186.
10. Phipps RP, Borrello MA, Blieden TM. Fibroblast heterogeneity in the periodontium and other tissues. *J Periodont Res.* 1997;32:159-65.
11. Wyganowska-Swiatkowska M, Urbaniak P, Lipinski D, Szalata M, Kotwicka M. Human gingival fibroblast response to enamel matrix derivative, porcine recombinant 21.3-kDa amelogenin and 5.3-kDa tyrosine-rich amelogenin peptide. *Hum Cell.* 2017;30(3):181-191.
12. Romanelli M, Dini V, Vowden P, Ågren MS. Amelogenin, an extracellular matrix protein, in the treatment of venous leg ulcers and other hard-to-heal wounds: Experimental and clinical evidence. *Clin Intervent Aging.* 2008;3(2):263-272.

13. Kasuya A, Tokura Y. Attempts to accelerate wound healing. *J Dermatol Sci.* 2014;76(3):169-172.
14. Miron RJ, Sculean A, Cochran DL, Froum S, Zucchelli G, Nemcovsky C, Donos N, Lyngstadaas SP, Deschner J, Dard M, Stavropoulos A, Zhang Y, Trombelli L, Kasaj A, Shirakata Y, Cortellini P, Tonetti M, Rasperini G, Jepsen S, Bosshardt DD. Twenty years of enamel matrix derivative: the past, the present and the future. *J Clin Periodontol.* 2016;43(8):668-683.
15. Maycock J, Wood SR, Brookes SJ, Shore RC, Robinson C, Kirkham J. Characterization of a porcine amelogenin preparation, EMDOGA-IN, a biological treatment for periodontal disease. *Connect Tissue Res.* 2002;43(2-3):472-476.
16. Mirastschijski U, Konrad D, Lundberg E, Lyngstadaas SP, Jorgensen LN, Agren MS. Effects of a topical enamel matrix derivative on skin wound healing. *Wound Repair Regen.* 2004;12(1):100-108.
17. Maymon-Gil T, Weinberg E, Nemcovsky C, Weinreb M. Enamel Matrix Derivative Promotes Healing of a Surgical Wound in the Rat Oral Mucosa. *J Periodontol.* 2016;87:601-609.
18. Weinberg E, Topaz M, Dard M, Lyngstadaas P, Nemcovsky C, Weinreb M. Differential effects of prostaglandin E2 and enamel matrix derivative on the proliferation of human gingival and dermal fibroblasts and gingival keratinocytes. *J Periodont Res.* 2010;45: 731-740.
19. Yuan K, Chen CL, Lin MT. Enamel matrix derivative exhibits angiogenic effect in vitro and in a murine model. *J Clin Periodontol.* 2003; 30:732-738.
20. Schlueter SR, Carnes DL, Cochran DL. In vitro effects of enamel matrix derivative on microvascular cells. *J Periodontol.* 2007;78(1):141-151.
21. Romanelli M. Amelogenin: extracellular matrix protein for the treatment of hard-to-heal wounds. *Wounds UK.* 2010;6(2).
22. Vowden P, Romanelli M, Peter R, Boström Å, Josefsson A, Stege H. The effect of amelogenins (Xelma™) on hard-to-heal venous leg ulcers. *Wound Rep Reg.* 2006;14:240-246.
23. Miron RJ, Dard M, Weinreb M. Enamel matrix derivative, inflammation and soft tissue wound healing. *J Periodont Res.* 2015;50:555-569.

---

Acceptance for editing: **2018-09-12**  
*Artykuł przyjęty do redakcji:*

Acceptance for publication: **2018-10-10**  
*Artykuł zaakceptowany do publikacji:*