

# Avaliação Quantitativa da Expressão da Proteína PCNA e das AgNORs em Ameloblastomas

## *Quantitative Evaluation of PCNA and AgNORs Expression in Ameloblastomas*

Júlio César Munerato\*  
 Pantelis Varvaki Rados\*\*  
 Onofre Francisco de Quadros\*\*  
 João Jorge Diniz Barbachan\*\*  
 Manoel Sant'Ana Filho\*\*

### RESUMO

Com a finalidade de observar o comportamento proliferativo do epitélio de ameloblastomas, selecionamos nove casos desta neoplasia do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Utilizou-se duas técnicas marcadoras de proliferação celular: a técnica de impregnação por prata das regiões organizadoras nucleolares - a técnica AgNOR e a técnica imunohistoquímica para identificação da proteína nuclear PCNA. Cada um dos casos foi submetido a uma análise estatística quantitativa e comparativa dos resultados das duas técnicas. Conclui-se que o ameloblastoma é uma neoplasia de comportamento benigno com um número AgNOR médio igual a 1.612, apresentando uma atividade proliferativa variável à expressão da proteína PCNA com uma imunoreatividade média de 51.61%. A análise dos tipos celulares do componente epitelial neoplásico mostra que as células assemelhadas aos pré-ameloblastos obtiveram valores estatisticamente superiores aos obtidos pelas células assemelhadas às do retículo estrelado do órgão do esmalte nas duas técnicas utilizadas, levando a inferência de que as células assemelhadas aos pré-ameloblastos são as detentoras do potencial proliferativo e provavelmente as responsáveis pelas características de crescimento e infiltração deste tumor.

### UNITERMOS

Ameloblastoma, regiões organizadoras nucleolares, PCNA.

### INTRODUÇÃO

O ameloblastoma é uma neoplasia odontogênica de natureza epitelial com potencial de invasibilidade e agressividade locais. Histologicamente apresenta diversos tipos microscópicos que podem aparecer isolados ou em variadas combinações, principalmente nos tumores de maiores dimensões (21). No entanto, há divergências quanto a existência de correlações entre estes tipos histológicos e o comportamento clínico da neoplasia (28,22).

Visando colaborar no esclarecimento destes pontos, alguns estudos procuraram avaliar quantitativamente a capacidade proliferativa do ameloblastoma, relacionando-a com características clínicas tais como: invasibilidade, recidiva e velocidade de crescimento. Ainda realizaram-se estudos comparando-o com lesões císticas e tumores odontogênicos. Dentre os métodos utilizados nestas comparações temos a técnica AgNOR e o PCNA. A técnica AgNOR procura identificar as regiões de organização nucleolar (NOR), regiões do DNA responsáveis pela transcrição protéica, através da impregna-

ção por nitrato de prata (25,26). A detecção imunohistoquímica do antígeno de proliferação nuclear (PCNA) busca a identificação desta proteína nuclear participante no processo de replicação e reparo do DNA (29,10). No entanto, estes estudos têm mostrado resultados controversos, mesmo quando as duas técnicas são utilizadas para uma mesma lesão (12).

A utilização destas metodologias demonstrou-se capaz de auxiliar na identificação e na quantificação da proliferação celular. O objetivo deste trabalho é comparar estas técnicas, correlacionando-as entre si e analisar o comportamento clínico do ameloblastoma através de sua atividade proliferativa nuclear.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 09 casos de ameloblastomas, previamente fixados em formalina a 10% e incluídos em parafina, dos arquivos do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Cada um dos casos foi submetido a

03 novos cortes seriados com espessura de 03 mm cada. O primeiro destes cortes foi corado pela técnica de HE, e os outros dois cortes foram submetidos: um à técnica AgNOR e o outro detecção imunohistoquímica da expressão da proteína PCNA. A impregnação das NORs por prata, através da técnica AgNOR, foi realizada com uso de solução colóide de prata preparada com a dissolução de 2% de gelatina em 1% de ácido fórmico aquoso, numa proporção de 1:2 partes com nitrato de prata aquoso em concentração de 50%. As lâminas foram incubadas nessa solução no escuro e em câmara úmida (35min. a 45°C). Como controle negativo foram utilizados os linfócitos do tecido conjuntivo circundante ao parênquima tumoral. A expressão da proteína nuclear PCNA foi detectada através do método estreptoavidina-biotina, utilizando o anticorpo monoclonal, anti-PCNA, PC10 (Dako/Denmark) em uma diluição de 1:50, em câmara úmida (18 horas a 4-8°C). Como controle positivo foram utilizados cortes de carcinoma de mama.

As AgNORs foram visualizadas como pon-

\* Mestre em Patologia Bucal- Faculdade de Odontologia - UFRGS.

\*\* Professores do PPG em Odontologia- Mestrado em Patologia Bucal - Faculdade de Odontologia - UFRGS.

tos negros únicos ou múltiplos no interior de núcleos de coloração amarela (figura 1); já os núcleos celulares foram considerados PCNA positivos quando a impregnação estava restrita ao núcleo celular, com aparência granulosa e coloração castanha de intensidade variável (figura 2).

A quantificação das AgNORs e das células PCNA+ foi realizada através de análise de imagem digitalizada. Os campos microscópicos foram observados em um aumento de 400X, capturados em vídeo através do programa Microsoft VidCap Windows 95 (Microsoft Corp.- USA) e transportados para o programa de análise de imagem Imagelab 2.3 (Softium - Sistemas de Informática, SP - Brasil), onde realizou-se a contagem das AgNORs e células PCNA+ com o auxílio da ferramenta "Contador Manual". Foram quantificados e avaliados um total de 1000 núcleos de células epiteliais de ambos os tipos (células assemelhadas aos pré-ameloblastos ou periféricas e células assemelhadas ao retículo estrelado ou centrais), para cada um dos 09 casos de ameloblastoma submetidos as técnicas de marcação.

Para a análise estatística dos resultados quantitativos utilizamos o Teste t-student, e para análise de existência de correlações entre os resultados utilizamos o Teste de Correlação de Spearman.

## RESULTADOS

Os resultados quantitativos do número de AgNORs/Núcleo mostraram que as células assemelhadas aos pré-ameloblastos apresentaram uma média de 1.147 AgNORs/Núcleo. As células assemelhadas às do retículo estrelado mostraram 0.465 AgNOR/Núcleo. O valor médio geral foi de 1.612 (tabela 1). O mesmo foi observado em relação a expressão da proteína PCNA, onde o valor médio de células PCNA+ na camada de células assemelhadas aos pré-ameloblastos foi de 37,88%. Nas camadas de células assemelhadas às do retículo estrelado a proporção foi de 13,73%, com uma média geral de 51,61% (tabela 2).

A análise estatística dos dados do número de AgNORs, utilizando-se o Teste t-student para amostras emparelhadas, demonstrou haver diferença estatisticamente significativa entre as médias obtidas pelas camadas celulares, com um nível de significância  $p < 0,01$  (0,005) (gráfico 01). A aplicação deste teste para os valores médios dos índices PCNA, demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os tipos celulares, para um nível de significância  $p < 0,01$  (0,002) (gráfico 02). As diferenças existentes evidenciam uma maior atividade proliferativa nas células assemelhadas aos pré-ameloblastos.

A análise de correlação entre o número

de AgNORs e o índice PCNA, usando o Teste de Correlação de Spearman, demonstrou não haver correlação entre os valores totais das duas variáveis testadas ( $r = 0,0333$ ). Porém, ao analisarmos os valores obtidos pelas variáveis, nos tipos celulares em separado, podemos constatar que as células assemelhadas aos pré-ameloblastos mantêm a ausência de correlação com um  $r = 0,0323$ , enquanto as células assemelhadas às do retículo estrelado apresentam correlação positiva com um  $r = 0,6167$  ( $p = 0,05$ ), indicando que nestas células a medida que o número de NORs aumenta, o mesmo ocorre com o número de células PCNA+.

## DISCUSSÃO

A quantificação das NORs é um alvo de controvérsia quanto ao seu real valor prognóstico e diagnóstico em neoplasias, principalmente quando comparado a outros parâmetros de avaliação como a análise morfológica (32,35,37,24,20). Mesmo assim escolhemos esta metodologia em nossa pesquisa pela sua validade na caracterização do comportamento biológico de lesões, capaz de discriminar lesões de natureza benigna ou maligna (16,9); e pela sua simplicidade de realização e melhor reprodutibilidade em relação as outras formas de análise (14,4,36,2).

Em nosso trabalho o número médio de AgNORs por núcleo foi de 1,612. Um valor indicativo de benignidade, tanto para as células periféricas ou assemelhadas aos pré-ameloblastos (1,147) quanto para as células centrais ou assemelhadas ao retículo estrelado (0,465), mesmo com uma diferença estatística  $p < 0,01$  ( $p = 0,005$ ). A partir destes achados concordamos que o ameloblastoma possui características quantitativas das AgNORs correspondentes à neoplasias benignas. Acrescentando-se que à observação visual, as AgNORs mostraram-se grandes, arredondadas e de contornos regulares.

Concordamos que os valores obtidos pelos ameloblastomas através da técnica AgNOR não podem ser utilizados de forma isolada para o diagnóstico diferencial ou prognóstico dos cistos e tumores odontogênicos, como afirmam ALLISON e SPENCER<sup>1</sup> e COLEMAN, ALTINI e GROENEVELD<sup>3</sup>. Isso é esperado se considerarmos que a maior parte dessas lesões é fundamentalmente benigna. Não descartamos a possibilidade levantada por estes autores de que os valores de AgNORs observados nos ameloblastomas possam representar um reflexo de pequenas variações de uma atividade metabólica normal com produção de proteínas intra e extracelulares. Porém, acreditamos que essas variações indicam uma atividade proliferativa benigna, já que a desorganização das NORs e sua conseqüente visualização

de forma dispersa e irregular é característica e esperada somente nas lesões malignas, nos quais os fenômenos de transcrição estão alterados. MEDEIROS, FREITAS e SOUZA<sup>17</sup>, ROSA, JAEGER e JAEGER<sup>30</sup> e Do CARMO e SILVA<sup>6</sup> por sua vez interpretaram os baixos valores médios de AgNORs, obtidos pelos ameloblastomas como um resultado da ausência de uma atividade proliferativa celular passível de ser correlacionada ao comportamento clínico agressivo característico do ameloblastoma. Porém, consideramos essa capacidade proliferativa das células dos ameloblastomas bastante significativa baseados em nossos resultados com o marcador PCNA.

Ao realizarmos a detecção imunohistoquímica da expressão da proteína PCNA, observamos que os espécimes analisados possuem um valor médio de positividade de 51,61%. Este índice obtido indica um potencial proliferativo que deve estar relacionado à capacidade infiltrativa e conseqüente agressividade desse tumor odontogênico. Quando analisamos separadamente os dois tipos celulares do ameloblastoma, quanto à expressão da proteína PCNA, notamos que as células assemelhadas aos pré-ameloblastos possuem uma atividade proliferativa significativamente maior (37,88%) que as células assemelhadas ao retículo estrelado (13,73%), indicando que as primeiras são possivelmente as detentoras da capacidade proliferativa deste tumor.

Em geral, os trabalhos com a técnica AgNOR em ameloblastomas, não se preocuparam em realizar uma análise quantitativa diferenciada entre os tipos celulares, centrando a contagem nas células basais ou periféricas. ROSA, JAEGER e JAEGER<sup>30</sup> realizaram uma contagem diferenciada, mas não encontraram diferenças no comportamento entre os tipos celulares. Já nos trabalhos para identificação da expressão da proteína PCNA, todos os autores procuraram contar ambos os tipos celulares; mas apenas TAKAHASHI et al.<sup>33</sup> quantificaram e analisaram-nas separadamente, obtendo resultados similares aos deste estudo.

Tanto na técnica AgNOR quanto na detecção imunohistoquímica para o antígeno PCNA, as células periféricas assumiram valores médios maiores que as células centrais, porém estes valores não se correlacionaram nesta camada, o que pode ser interpretado como a evidência de que estas células estão sintetizando DNA, em fase S e preparando-se para a mitose, sugerindo que as AgNORs visualizadas, de valor considerado normal, representam uma síntese de RNAr compatível com um crescimento celular de forma controlada e benigna, e que estas células concentram as atividades de síntese proteica e proliferativa da neoplasia. Já o grupo de cé-

lulas centrais apresentou uma correlação estatisticamente significativa entre seus valores obtidos, o que faz-nos afirmar que elas estão num estado quiescente ou apoptótico, parecendo não estar relacionadas à proliferação ou à síntese de produtos tumorais. Esta hipótese também é sugerida por MITSUYASU et al.<sup>19</sup> e KUMAMOTO<sup>13</sup>, que trabalhando com marcadores apoptóticos e de proliferação demonstraram que nos ameloblastomas estas células são as mais afetadas pelo fenômeno da morte celular programada.

A ausência de correlação entre os valores médios do número total de AgNORs e do número total de células PCNA+ também foi relatada por alguns autores que utilizaram estes mesmos marcadores em outras lesões (12,18). A explicação para isto está no fato de que as proteínas marcadas são expressas em diferentes fases e componentes do ciclo celular; enquanto as AgNORs representam uma impregnação metálica das proteínas associadas às NORs, que estão sendo transcritas em RNAr durante a fase G1; o antígeno PCNA é uma proteína nuclear que atinge uma expressão máxima na fase S (25,34,7,31,27).

Portanto, afirmamos pela interpretação de nossos resultados, que o ameloblastoma é uma neoplasia benigna, onde o principal componente proliferativo são as células periféricas ou assemelhados aos pré-ameloblastos. Consideramos que a análise quantitativa do número de AgNORs, serve como um indicador de diferenciação entre neoplasias benignas e malignas, mas que deve ser utilizado como um suplemento às informações obtidas pela análise morfológica e por índices prognósticos mais fiéis - como os marcadores imunohistoquímicos de proliferação celular, entre os quais destacamos o PCNA.

#### SUMMARY

In order to assess the proliferative behaviour of the ameloblastoma epithelium nine cases of this neoplasm were retrieved from the files of the Oral Pathology Service laboratory of Rio Grande do Sul Federal University School of Dentistry. Two proliferation marker techniques were employed: the AgNor - argyrophilic nucleolar organiser regions staining and the proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunohistochemical assessment technique. Each case was submitted to a quantitative and comparative statistical analysis of the results obtained for the two techniques. The conclusion arrived at shows ameloblastoma presenting benign behaviour, with an average AgNOR index of 1.612, and a PCNA protein-dependent proliferative activity with average immunoreactivity of 51.61%. The histological patterns analyses of the neoplastic epithelial component demonstrates that cells resembling pre-ameloblasts have obtained figures

statistically higher to those obtained for cells resembling the stellate reticulum of the enamel organ, in both techniques employed. Therefore, it might be inferred that cells resembling pre-ameloblasts hold the proliferative potential of ameloblastomas and are probably responsible for the growth characteristics and infiltrative ability of this tumour.

#### KEYWORDS

Ameloblastoma, nucleolar organizer regions, PCNA

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLISON, R.T., BEST, T. p53, PCNA and Ki-67 expression in oral squamous cell carcinomas: the vagaries of fixation and microwave enhancement of immunocytochemistry. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.27, p.434-440, 1998.
2. CHATTERJEE, R. et al. Evaluation of argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in oral carcinomas in relation to human papillomavirus infection and cytogenetics. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.26, p.310-314, 1997.
3. COLEMAN, H. G.; ALTINI, M.; GROENEVELD, H. T. Nucleolar organiser regions (AgNORs) in odontogenic cysts and ameloblastomas. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.25, p.436-440, 1996.
4. DE ROSA, G et al. Nucleolar organiser regions in aggressive and nonaggressive basal cell carcinoma of the skin. *Cancer*, Philadelphia, v.69, p.123-126, 1992.
5. DINA, R. et al. Granular cell ameloblastoma - an immunocytochemical study. *Pathol. Res. Pract.*, Stuttgart, v.192, p.541-546, 1996.
6. DO CARMO, M.A.V., SILVA, E.C. Argyrophilic nucleolar organiser regions (AgNORs) in ameloblastomas and adenomatoid odontogenic tumours (AOTs). *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.27, p.153-156, 1998.
7. FUKUDA, K. et al. Structure-function relationship of the eukaryotic DNA replication factor, proliferating cell nuclear Antigen. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v.270, p.22527-22534, 1995.
8. FUNAOKA, K. et al. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in 23 cases of ameloblastoma. *Oral Oncol. Eur. J. Cancer*, Oxford, v.23B, p.328-332, 1996.
9. GIRI, D.D. et al. Silver-binding nucleolar organizer regions (AgNORs) in benign and malignant breast lesions: correlations with ploidy and growth phase by DNA flow cytometry. *J. Pathol.*, Chichester, v.157, p.307-313, 1989.
10. HALL, P. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *J. Pathol.*, Chichester, v.162, p.285-294, 1990.
11. KIM, J., YOOK, J.I. Immunohistochemical study on proliferating cell nuclear antigen expression in ameloblastomas. *Oral Oncol. Eur J Cancer*, Oxford, v.30B, p.126-131, 1994.
12. KOBAYASHI, I et al. The proliferative activity in oral epithelial dysplasia analysed by proliferating cell nuclear antigen immunostaining and argyrophilic nucleolar organiser region staining. *Hum. Pathol.*, Philadelphia, v.26, p.907-913, 1995.
13. KUMAMOTO, H. Detection of apoptosis-related factors and apoptotic cells in ameloblastomas: analysis by immunohistochemistry and an in situ nick end-labelling method. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.26, p.419-425, 1997.
14. LANDINI, G. Nucleolar organizing regions (NORs) in pleomorphic adenomas of the salivary glands. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.19, p.257-260, 1990.
15. LI, T.J., BROWNE, R.M.; MATTHEUS, J.B. Quantification of PCNA+ cells within odontogenic jaw cyst epithelium. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.23, p.184-189, 1994.
16. MATSUMURA, K. et al. The nucleolar organizer regions associated protein (Ag-NORs) in salivary gland tumors. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, Copenhagen, v.18, p.76-78, 1989.
17. MEDEIROS, M. C. S.; FREITAS, R. A.; SOUZA, L. B. Análise quantitativa das AgNORs nos tipos histológicos de ameloblastoma e no Tumor Odontogênico Adenomatóide. *Rev. Gaúcha Odontol.*, Porto Alegre, p. 67-70, 1997.
18. MESQUITA, R.A.; SOUSA, S.C.O.M.; ARAÚJO, N.S. Proliferative activity in peripheal ossifying fibroma and ossifying fibroma. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.27, p.64-67, 1998.
19. MITSUYASU, T. et al. Immunohistochemical demonstration of bcl-2

- protein in ameloblastoma. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.26, p.345-348, 1997.
20. MUZIO, L.L. et al. Morphometric study of nucleolar organiser regions (AgNORs) in HPV- associated precancerous lesions and microinvasive carcinoma of the oral cavity. *Oral Oncol. Eur. J. Cancer*, Oxford, v.33, p.247-259, 1997.
  21. NEVILLE, W et al. *Oral and maxillofacial pathology*. Philadelphia: W.B.Saunders, 1995. p.511-522.
  22. ONG 'UTI, M.N. et al. Ki-67 antigen in ameloblastomas: correlation with clinical and histological parameters in 54 cases from Kenya. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, Copenhagen, v.26, p.376-379, 1997.
  23. PIATELLI, A. et al. Expression of proliferating cell nuclear antigen in ameloblastomas and odontogenic cysts. *Oral Oncol.*, Oxford, v.34, p.408-412, 1998.
  24. PILLAI, K.R. et al. Argyrophilic nucleolar organizer regions in the evaluation of tumour progression in the oral mucosa: correlation with tissue pathology. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, Berlin, v.120, p.723-726, 1994.
  25. PLOTON, D. et al. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem J.*, London, v.18, p.5-14, 1986.
  26. PLOTON, D et al. Coloration des organisateurs nucleolaires (NORs) par l'argent. Application à l'étude de la structure du nucléole et intérêts en pathologie. *Ann. Pathol.*, Paris, v.8, p.248-252, 1988.
  27. PROSPERI, E. Multiple roles of the proliferating cell nuclear antigen: DNA replication, repair and cell cycle control. *Progr. Cell Cycle Res.*, New York, v.3, p.193-210, 1997.
  28. REICHAERT, P.A.; PHILIPSEN, H.P.; SONNER, S. Ameloblastoma: Biological Profile of 3677 Cases. *Eur. J. Cancer B. Oral Oncol.*, Oxford, v.31B, p.86-99, 1995.
  29. ROBBINS, B.A. et al. Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, Northfield, v.111, p.841-845, 1987.
  30. ROSA, L.E.B.; JAEGER, M.M.M.; JAEGER, R.G. Morphometric study of nucleolar organiser regions in ameloblastoma and basal cell carcinoma. *Oral Oncol.*, Oxford, v.33.p.209-214, 1997.
  31. SNUSTAD, D.P.; SIMMONS, M.J.; JENKINS, J.B. *Principles of genetics*. USA: John Wiley & Sonns Inc., 1997. 829p.
  32. SURESH, U.R. et al. Do AgNOR counts reflect cellular ploidy or proliferation? A study of trophoblastic tissue. *J.Pathol.*, Chichester, v.160, p.213-215, 1990.
  33. TAKAHASHI, H. et al. Comparison of proliferating cell nuclear antigen expression in odontogenic keratocyst and ameloblastoma: a immunohistochemical study. *Ann. Cell. Pathol.*, Oxford, v.16, p.185-192, 1998.
  34. TOSCHI, L., BRAVO, R. Changes in cyclin/proliferating cell nuclear antigen distribution during DNA repair synthesis. *J. Cell. Biol.*, New York, v.107, p.1623-1628, 1988.
  35. WARNAKULASURIYA, K.; JOHNSON, N. Nucleolar organiser region (NOR) distribution a diagnostic marker in oral keratosis, dysplasia and squamous cell carcinoma. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.22,p.77-81, 1993.
  36. WITHAKER, S.B. et al. Giant cell lesions of the jaws: evaluation of nucleolar organizer regions in lesions of varying behavior. *J.Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.22, p.402-405, 1993.
  37. YOSHIMI, N; GIMENEZ-CONTI I.B.; SLAGA, T.J. Morphological changes of the nucleolar organizer regions induced by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in the hamster cheek pouch. *J. Oral Pathol. Med.*, Copenhagen, v.22, p.97-100, 1993.

**Endereço para Correspondência:**

Manoel Sant'Ana Filho  
 Rua Ramiro Barcelos, 2492  
 0 - XX - 51-316.5023  
 E-mail: manoel@ufrgs.br

**Tabela 01. Comparação entre as Médias AgNORs obtidas pelos tipos celulares epiteliais dos ameloblastomas. Porto Alegre, 1999.**

Camada	Média	Desvio-Padrão	p
Pré-ameloblastos	1147,2222	321,799	0,005*
Retículo Estrelado	465,0000	264,96	

\*  $p < 0,01$

Fonte: Laboratório de Patologia Bucal da F.O.-UFRGS, 1999.

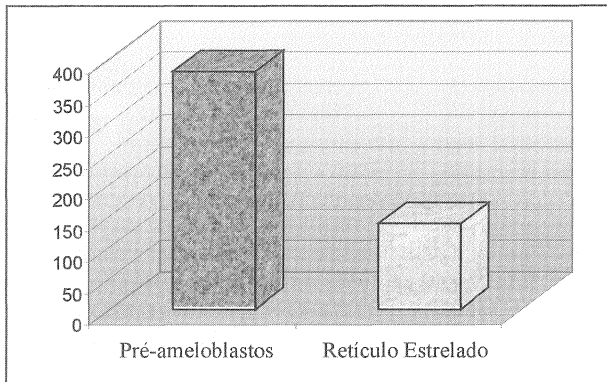
**Tabela 02. Comparação entre as Médias de imunoreatividade ao PCNA (PCNA+) obtidas pelos tipos celulares epiteliais dos ameloblastomas. Porto Alegre, 1999.**

Camada	Média	Desvio-Padrão	p
Pré-ameloblastos	378,7778	168,826	0,002*
Retículo Estrelado	137,3333	119,474	

\*  $p < 0,01$

Fonte: Laboratório de Patologia Bucal da F.O.-UFRGS, 1999.

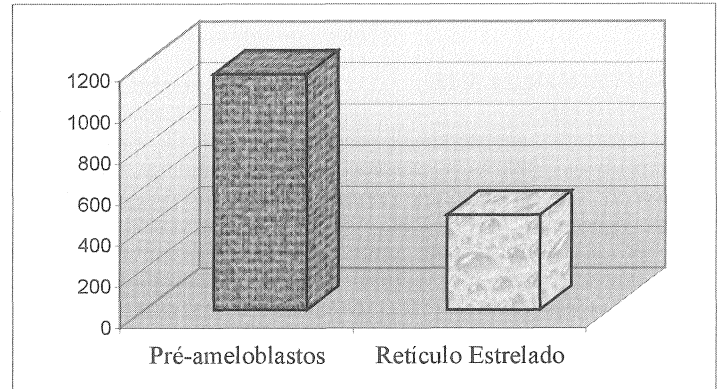
**Gráfico 01. Histograma com as Comparações de Médias AgNORs. Porto Alegre, 1999.**



Diferença entre os valores de AgNORs para as camadas Pré-ameloblastos e Retículo Estrelado, estatisticamente significantes e com  $p=0,005$ , obtida através do Teste t-student.

Fonte: Laboratório de Patologia Bucal da F.O.-UFRGS, 1999.

**Gráfico 02. Histograma com as Comparações de Médias PCNA+. Porto Alegre, 1999.**



Diferença entre os valores médios de células PCNA + para as camadas Pré-ameloblastos e Retículo Estrelado, estatisticamente significantes e com  $p=0,002$ ; obtida através do Teste t-student.

Fonte: Laboratório de Patologia Bucal da F.O.-UFRGS, 1999

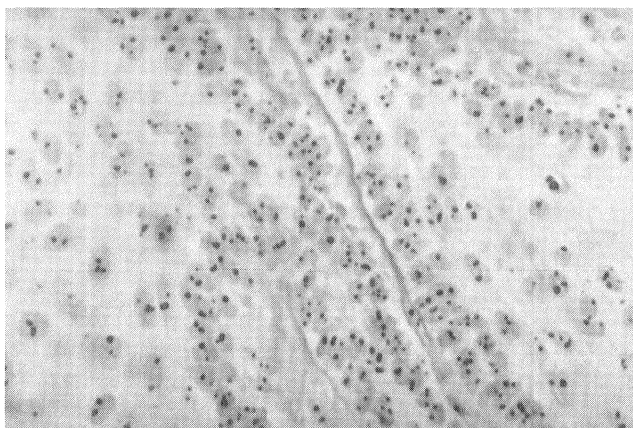


Figura 1 - Fotomicrografia (400X) de um campo microscópico de ameloblastoma (área plexiforme) onde podemos observar as AgNORs (arredondadas e com contornos regulares) no interior dos núcleos celulares, em quantidade variável. (→) Células assemelhadas aos pré-ameloblastos. (→) Células assemelhadas às do retículo estrelado do órgão do esmalte.

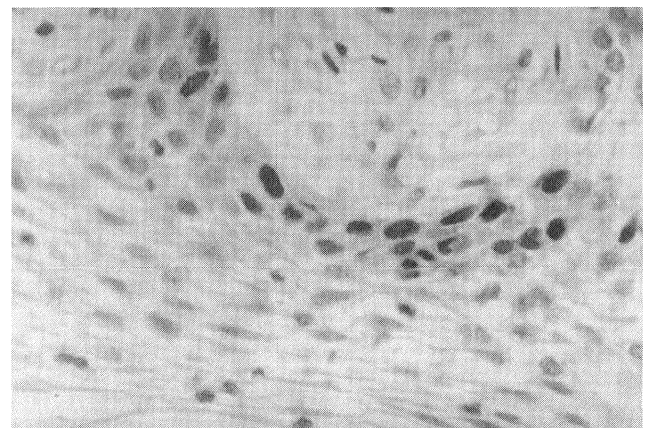


Figura 2 - Fotomicrografia (400X) de um campo microscópico de ameloblastoma (área plexiforme) onde podemos observar a expressão imunohistoquímica da proteína PCNA nos núcleos das células assemelhadas aos pré-ameloblastos (→) e células assemelhadas às do retículo estrelado do órgão do esmalte (→).