

Universidade Federal de Goiás  
Faculdade de Odontologia  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia  
Disciplina de Biologia Oral

**Módulo III**  
**Reabsorção Óssea**

**LOCALIZAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DO RECEPTOR ATIVADOR DO FATOR NUCLEAR KAPPA B (RANK) E SEU LIGANTE (RANKL) EM DENTES HUMANOS DECÍDUOS**

Pós-graduandos: Érika Maria Carvalho Bitencourt  
Juliana Amaral Cavalcante  
Mariana Borges Crosara  
Rafaela Mosquera Chaves  
Raphaela Mendes Guimarães  
Roberto Hartmann

Coordenadora do Módulo: Profa Dra Aline Carvalho Batista

Março 2010

**Objetivo**

Analisar os locais de expressão de **RANKL e RANK**

↓

tecidos duros dentais e periodontais humanos

↓

usando métodos imunohistoquímicos.

Lossdörfer et al, 2002

**Introdução**

□ **Osteoblastos e osteoclastos:**

- são células especializadas
- manutenção do balanço dinâmico entre formação e reabsorção óssea
- quando um destes componentes torna-se dominante,

↓

osteoporose ou osteopetrose

Lossdörfer et al, 2002

**Osteoclastos**

□ **Regulação da diferenciação dos precursores e da atividade das células maduras:**

- Fatores locais de crescimento
- Citocinas (da superfamília do TNF)
- Hormônios

Lossdörfer et al, 2002

**Introdução**

**CITOCINAS:**

**RANK:**

- receptor de membrana tipo I
- expressada em vários tecidos
- receptor nos osteoclastos
- precursores hematopoiéticos.

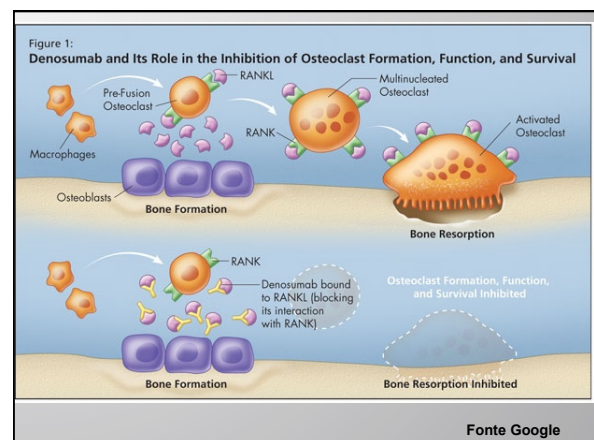
**OPG:**

- receptor para RANKL
- compete com receptor RANK pela RANKL
- fator inibidor da diferenciação e da atividade osteoclástica.

**RANKL:**

- proteína transmembrana tipo II
- expressada em células T e linfóides, osteoblastos e estroma ósseo
- ligante da RANK
- ativa diferenciação e atividade osteoclástica.

Lossdörfer et al, 2002



## Introdução

- Odontoblastos, cementoblastos, fibroblastos do LPD:
  - Semelhanças morfológicas e funcionais com osteoblastos
- Odontoclastos:
  - Semelhanças morfológicas e funcionais com osteoclastos
  - Associados com reabsorção dos tecidos duros dentais e periodontais
  - Menores, menos núcleos e lacunas de reabsorção menores que osteoclastos

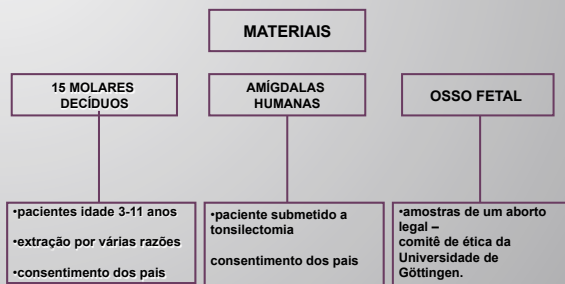
Lossdörfer et al, 2002

## Introdução

- **Regulação dos odontoclastos difere parcialmente dos osteoclastos:**
  - Indometacina provoca depressão na atividade osteoclástica, mas reforça a reabsorção radicular
  - Reabsorção radicular não é influenciada pelo paratormônio, não ocorrendo em pacientes com hiperparatireoidismo

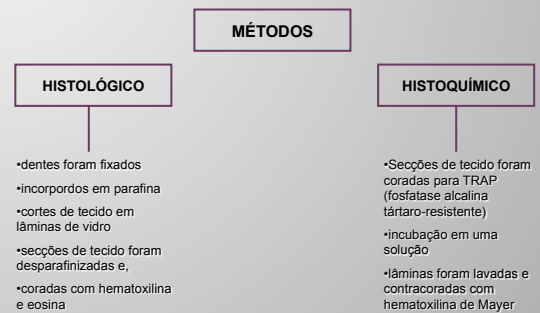
Lossdörfer et al, 2002

## Materiais e Métodos



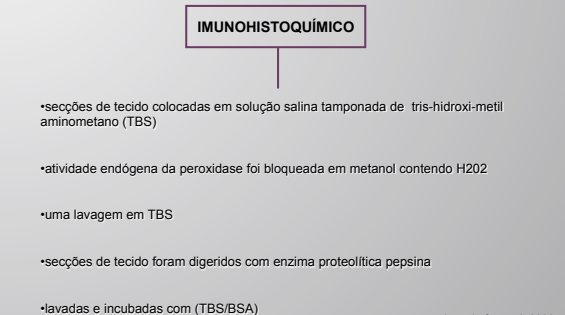
Lossdörfer et al, 2002

## Materiais e Métodos



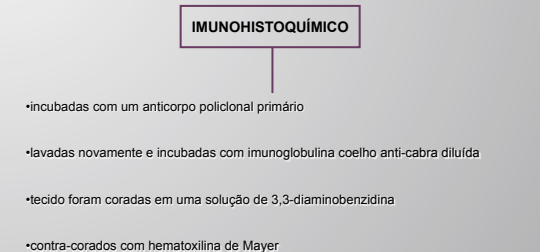
Lossdörfer et al, 2002

## Materiais e Métodos



Lossdörfer et al, 2002

## Materiais e Métodos



Lossdörfer et al, 2002

## Resultados

### HISTOLÓGICO

- diferentes estágios de reabsorção radicular (Fig.1. Parte 1).
- maioria dos dentes havia resto de ligamento periodontal fibroso
- nos dentes com polpa preservada, a histologia de uma polpa quase normal
- algumas polpas mostraram sinais de fibrose e / ou necrose

Lossdörfer et al, 2002

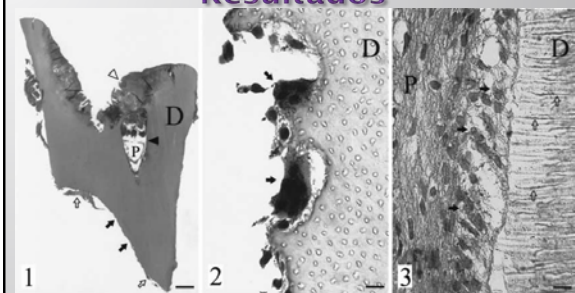
## Resultados

### HISTOQUÍMICO (TRAP)

- células clásticas mononucleadas e multinucleadas, TRAP-positivas, em lacunas de reabsorção em cimento, dentina e no periodonto adjacente (Fig.1. Parte 2)
- coloração para a TRAP foi encontrada em estruturas granulares, dentro do citoplasma (Fig. 1. Parte 2).

Lossdörfer et al, 2002

## Resultados



**Fig. 1. Part 1.** Human deciduous tooth with a carious lesion (open arrowhead); parts of the periodontium are adherent (open arrows); several resorption lacunae (black arrows) can be seen in the root surface; in the pulp (P) there is a seam of odontoblasts (black arrowhead) adjacent to the dentine (D); **Part 2.** Human deciduous tooth; TRAP-histochemistry; TRAP-positive, multinucleated odontoclasts (black arrows) located in resorption lacunae adjacent to the dentine (D); **Part 3.** Human deciduous tooth; pulp (P); weak RANKL-immunostaining in the odontoblasts (black arrows) adjacent to the dentine (D); probable immunostaining of the processes of the odontoblasts within the dentine (open arrows); DAB

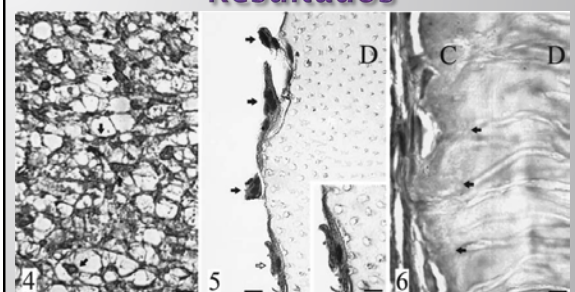
Lossdörfer et al, 2002

## IMUNOHISTOQUÍMICA - RANKL

|       | Com coloração                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Sem coloração                                                                                   |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| RANKL | <p><b>-Polpa:</b> odontoblastos formando linha adjacente à dentina / processos odontoblásticos / fibroblastos (Fig. 1, Parte 3)</p> <p><b>-Periodonto:</b> fibroblastos / células mono e multinucleadas no periodonto adjacente / odontoclastos nas lacunas de reabsorção (Fig. 1. Parte 5, 7)</p> <p><b>-Cimento:</b> linha de junção com dentina perto do local de reabsorção (Fig. 1, Parte 6, 7).</p> | —                                                                                               |
| RANK  | Odontoclastos mono e multinucleados perto da superfície de reabsorção (Fig. 2, Parte 11),                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <p>-Odontoblastos</p> <p>-Células pulpareas</p> <p>-PDL-fibroblastos</p> <p>-Cementoblastos</p> |

Lossdörfer et al, 2002

## Resultados



**Part 4.** Human deciduous tooth; pulp; positive RANKL-immunoreaction in fibroblasts (black arrows); **Part 5.** Human deciduous tooth; external, interradicular root surface; RANKL-immunoreactive mononucleated (open arrow) and multinucleated odontoclasts (black arrows) of various sizes are localized in resorption lacunae; D: dentine; DAB; Insert: mononucleated odontoclast at higher magnification; **Part 6.** Human deciduous tooth; external, interradicular root surface; extracellular, seam-like RANKL-immunostaining (black arrows) in the cementum (C) resembling the reversal line; DAB

Lossdörfer et al, 2002

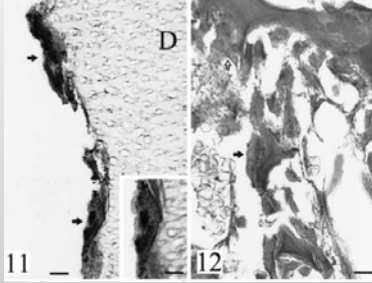
## Resultados



**Part 7.** Human deciduous tooth; external, interradicular root surface; RANKL-immunoreactive odontoclast (O) surrounded by immunostained (black arrow) and nonreactive fibroblasts (open arrows); D: dentine; **Part 8.** Fetal bone; RANKL-immunohistochemistry; positive control experiment; RANKL-immunostaining in osteoblasts (black arrow) and osteocytes (open arrows); insert: immunoreactive, multinucleated osteoclast in the same specimen; **Part 9.** Skeletal muscle; RANKL-immunohistochemistry; positive control experiment; positive immunoreaction in skeletal muscle; **Part 10.** Human deciduous tooth; RANKL-immunohistochemistry; pre-adsorption control experiment using an antibody/peptide mixture containing a twofold excess of blocking peptide; nonreactive PDL-fibroblasts and odontoclasts in resorption lacunae; D: dentine; P: periodontium;

Lossdörfer et al, 2002

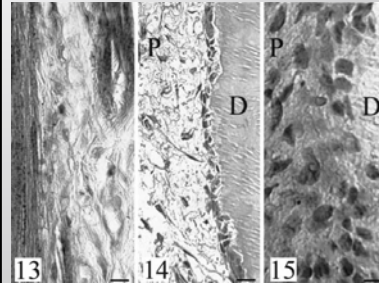
## Resultados



**Fig. 2. Part 11.** Human deciduous tooth; external, interradicular root surface. RANK-immunostaining in multinucleated odontoclasts (black arrows) localized in resorption lacunae. D: dentine; insert: immunoreactive osteoclast at higher magnification; **Part 12.** Fetal bone; RANK-immunohistochemistry, positive control experiment; immunostained, multinucleated osteoclast (10-cated in a resorption lacunae (black arrow) and nonreactive osteoclast (open arrow);

Lossdörfer et al, 2002

## Resultados



**Part 13.** Skeletal muscle; RANK-immunohistochemistry, positive control experiment; immunoreaction in skeletal muscle cells; **Part 14.** Human deciduous tooth; RANK-immunohistochemistry, pre-adsorption control experiment using an antibody/peptide mixture containing a twofold excess of blocking peptide; non-immunostained odontoclasts on the external root surface and nonreactive cells of the periodontium (P); D: dentine; **Part 15.** Human deciduous tooth; pulp (P); RANKL-immunohistochemistry, negative control experiment; nonreactive odontoblasts adjacent to the dentine (D);

Lossdörfer et al, 2002

## Conclusão

Células dentais humanas expressam mediadores-chave da reabsorção do tecido duro e, embora o sistema **RANK / RANKL** possa não ser o único regulador da reabsorção da raiz do dente, estes fatores podem, pelo menos, contribuir para este processo complexo, tanto em condições fisiológicas como patológicas.

Lossdörfer et al, 2002

## Referência Bibliográfica

Lossdörfer S et al. Immunohistochemical Localization of Receptor Activator of Nuclear Factor KappaB (RANK) and its Ligand (RANKL) in Human Deciduous Teeth. *Calcif Tissue Int.* 2002; 71: 45-52.

<http://images.google.com.br>