



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

CAMPUS UNIVERSITÁRIO PROFESSOR ANTÔNIO GARCIA FILHO

DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

IGOR FELIPE PEREIRA LIMA

**IMUNOEXPRESSÃO DE RANK, RANKL E OPG EM CISTO DENTÍGERO,  
CERATOCISTO ODONTOGÊNICO E AMELOBLASTOMA: UMA REVISÃO  
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

LAGARTO

2018

IGOR FELIPE PEREIRA LIMA

**IMUNOEXPRESSÃO DE RANK, RANKL E OPG EM CISTO DENTÍGERO,  
CERATOCISTO ODONTOGÊNICO E AMELOBLASTOMA: UMA REVISÃO  
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe – Campus Universitário Prof. Antônio Garcia Filho, como requisito para obtenção do título de Cirurgião-dentista.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Rodrigues de Matos  
Coorientador: Prof. Dr. Luiz Renato Paranhos

LAGARTO

2018

IGOR FELIPE PEREIRA LIMA

**IMUNOEXPRESSÃO DE RANK, RANKL E OPG EM CISTO DENTÍGERO,  
CERATOCISTO ODONTOGÊNICO E AMELOBLASTOMA: UMA REVISÃO  
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Trabalho de conclusão de curso aprovado como  
requisito parcial para obtenção do título de bacharel  
no curso de graduação em Odontologia, do  
Departamento de Odontologia, na Universidade  
Federal de Sergipe.

Lagarto, data

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Felipe Rodrigues de Matos

Universidade Federal de Sergipe

---

Profª. Dra. Katharina Morant Holanda de Oliveira

Universidade Federal de Sergipe

---

Profª. Me. Ingride Tatiane Serafim Santana

Universidade Federal de Sergipe

## RESUMO

Os cistos e tumores odontogênicos constituem um dos grupos de lesões mais importantes do complexo bucomaxilofacial. Um dos eventos biológicos mais relevantes na patogênese dessas lesões consiste na ativação das células osteoclásticas, resultando na reabsorção óssea. O objetivo desta revisão sistemática foi avaliar e comparar a imunoexpressão de RANK, RANKL e OPG no cisto dentígero, ceratocisto odontogênico e ameloblastoma. A revisão foi elaborada seguindo as recomendações PRISMA e as diretrizes da Cochrane. Um registro na base eletrônica PROSPERO foi realizado. Os artigos foram buscados no PubMed, Web of Science, SciELO, LIVIVO e LILACS. A fim de evitar o viés de seleção e de publicação, as bases OpenThesis e OpenGray foram utilizadas para capturar a “literatura cinzenta”. O risco de viés foi avaliado pela ferramenta “JBI Critical Appraisal Checklist for Analytical Cross Sectional Studies”. Meta-análise usando modelo de efeitos aleatórios foi realizada para estimar valores agrupados da relação entre OPG e RANKL reportados pelos estudos individuais e respectivos intervalos de confiança de 95%. A heterogeneidade entre os estudos foi avaliada através da estatística  $I^2$ . Assim, foram localizados 134 estudos, dos quais apenas 8 artigos preencheram os critérios de inclusão. A meta-análise mostrou que a relação OPG > RANKL foi maior para o ceratocisto odontogênico (ES = 34,0%; IC 95% = 18,0-53,0) e cisto dentígero (ES = 38,0%; IC 95% = 16,0-62,0). Em contraste, a relação OPG < RANKL foi maior para o ameloblastoma (ES = 60,0%; IC 95% = 44,0-75,0), sendo relativamente maior na região de estroma (ES = 73,0%; IC 95% = 55,0-88,0) em comparação com a região de epitélio odontogênico (ES = 47,0%; IC 95% = 29,0-65,0). Os resultados encontrados podem explicar o potencial agressivo do ameloblastoma a partir da relação OPG < RANKL ser maior neste tumor, enquanto foi menor para o cisto dentígero e ceratocisto odontogênico, reforçando a classificação da OMS do ceratocisto odontogênico como cisto odontogênico.

**Palavras-chave:** Ligante RANK, Osteoprotegerina, Cisto Dentígero, Ameloblastoma, Reabsorção Óssea.

## ABSTRACT

The cysts and odontogenic tumors are one of the most important groups of injuries of the buccomaxillofacial complex. One of the most pertinent biological events in the pathogenesis of these injuries is the activation of osteoclast cells. This activation results in bone resorption. The purpose of this scientific article was to evaluate and compare RANK, RANKL and OPG immunoexpression in the dentigerous cyst, odontogenic keratocyst and ameloblastoma. This article was drafted according to the PRISMA's recommendations and Cochrane's guidelines. A record in the PROSPERO electronic base was carried out. The bibliographic sources of this article were found in PubMed, Web of Science, SciELO, LIVIVO and LILACS. To avoid the select bias, The OpenThesis and OpenGray bases were used to capture the "gray literature". The risk of bias was evaluated by the tool "JBI Critical Appraisal Checklist for Analytical Cross Sectional Studies". The meta-analysis using models random effects models was made to estimate grouped values in relation between OPG e RANKL reported by individual studies and 95% confidence intervals. The heterogeneity among the studies was evaluated through the  $I^2$  statistic. 134 studies were located, but only 8 articles met the inclusion criteria. The meta-analysis showed that the relation OPG>RANKL was higher in odontogenic keratocyst (ES = 34,0%; IC 95% = 18,0-53,0) and dentigerous cyst (ES = 38,0%; IC 95% = 16,0-62,0). In contrast, the relation OPG<RANKL was higher for the ameloblastoma (ES = 60,0%; IC 95% = 44,0-75,0). In comparison with the region of the odontogenic epithelium (ES = 47,0%; IC 95% = 29,0-65,0), the OPG<RANKL was higher in the stromal region (ES = 73,0%; IC 95% = 55,0-88,0). The results that explain the aggressive potential of ameloblastoma were found from the relation OPG<RANKL being greater in this tumor while it was lower for the odontogenic keratocyst and dentigerous cyst. It reinforces the OMS classification about odontogenic keratocyst like odontogenic cyst.

**Keywords:** RANK Ligand, Osteoprotegerin, Dentigerous Cyst, Ameloblastoma, Bone Resorption.

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                      | 7  |
| <b>2 METODOLOGIA .....</b>                                     | 8  |
| <i>2.1 Protocolo e registro .....</i>                          | 8  |
| <i>2.2 Design do estudo e critérios de elegibilidade .....</i> | 8  |
| <i>2.3 Fontes de informação e busca.....</i>                   | 8  |
| <i>2.4 Seleção dos estudos .....</i>                           | 10 |
| <i>2.5 Processo de coleta e extração dos dados .....</i>       | 11 |
| <i>2.6 Risco de viés individual dos estudos .....</i>          | 11 |
| <i>2.7 Medidas de resumo e síntese de resultados.....</i>      | 11 |
| <b>3 RESULTADOS .....</b>                                      | 12 |
| <i>3.1 Seleção dos estudos .....</i>                           | 12 |
| <i>3.2 Características dos estudos .....</i>                   | 13 |
| <i>3.3 Risco de viés dos estudos .....</i>                     | 15 |
| <i>3.4 Resultados individuais dos estudos .....</i>            | 16 |
| <i>3.5 Síntese dos resultados e meta-análise .....</i>         | 19 |
| <b>4 DISCUSSÃO.....</b>  | 20 |
| <b>5 CONCLUSÃO.....</b>  | 25 |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                        | 26 |

## 1 INTRODUÇÃO

Os cistos e tumores odontogênicos constituem um dos grupos de lesões mais importantes do complexo bucomaxilofacial (KOUHSOLTANI et al., 2018). Os tumores odontogênicos são raros, manifestando-se a partir de diversas características clínicas e histopatológicas derivadas do epitélio e ectomesênquima odontogênico (PHILIPSEN; REICHART, 2006). Por outro lado, os cistos possuem origem a partir de restos epiteliais de Malassez, remanescentes da lâmina dental ou epitélio reduzido do esmalte (HUME; MOORE; MAIN, 1990). Um dos eventos biológicos mais relevantes na patogênese dessas lesões consiste na ativação das células osteoclásticas, resultando na reabsorção óssea (TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011).

Para haver homeostase óssea é necessário o equilíbrio entre formação e reabsorção óssea, a fim de que o tecido possa desempenhar sua função de maneira integral (CLARKE, 2008; BOYCE, XING, 2008). Assim, o desequilíbrio deste sistema tem sido associado à diversas neoplasias ósseas (HOFBAUER; NEUBAUER; HEUFELDER, 2001). Entre os fatores reguladores da reabsorção óssea, o sistema que mais se destaca é o composto pelo ativador do receptor da tríade do fator nuclear kappa B (RANK), receptor do fator nuclear do kappa B (RANKL) e a osteoprotegerina (OPG) (YAMAGUCHI et al., 2006). O RANK atua como receptor de sinalização do RANKL, enquanto este está expresso nas células osteoblásticas e do ligamento periodontal (OGASAWARA et al., 2004), ligando-se ao RANK e ativando os osteoclastos para promover a reabsorção óssea (STEJSKAL et al., 2001). Por outro lado, a OPG inibe o processo osteoclastogênico, bloqueando a ligação entre RANKL e RANK (SUDA et al., 1999).

Um tumor pode invadir o tecido ósseo e afetar o equilíbrio entre a reabsorção e a aposição (ANDRADE et al., 2008). Diversos estudos têm destinado suas atenções a investigar a correlação da expressão imunológica de RANK, RANKL e OPG com o desenvolvimento dos cistos e tumores odontogênicos (ANDRADE et al., 2008; de MORAES et al., 2011; TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011 de MATOS et al., 2013;). Contudo, a literatura científica ainda é controversa quanto a expressão destas proteínas no desenvolvimento dessas lesões. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar e comparar, por meio de uma revisão sistemática da literatura, a imunoexpressão de RANK, RANKL e OPG no cisto dentígero, ceratocisto odontogênico e ameloblastoma, a fim de verificar se o ceratocisto odontogênico se assemelha mais ao perfil neoplásico ou cístico.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 *Protocolo e registro*

Esta revisão sistemática foi desenvolvida seguindo as recomendações PRISMA Statement (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (LIBERATI et al., 2009) e as diretrizes da Cochrane (HIGGINS; GREEN, 2011). O protocolo de revisão sistemática foi registrado na base de dados PROSPERO sob o número CRD42018105543 (<https://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/>).

### 2.2 *Design do estudo e critérios de elegibilidade*

Este estudo consistiu numa revisão sistemática com o objetivo de responder a seguinte pergunta norteadora (baseada na estratégia PECO): “A razão RANKL/OPG no ceratocisto odontogênico, avaliada por meio da imunoexpressão de RANK, RANKL e OPG, possui um perfil mais próximo do cisto dentígero ou do ameloblastoma?”.

Foram incluídos estudos que avaliaram a expressão dos fatores osteoclastogênicos RANK, RANKL e OPG no ameloblastoma, cisto dentígero e ceratocisto odontogênico não-sindrômico, sem restrições de ano, idioma ou status de publicação (In Press).

Foram excluídos: 1) estudos que envolviam cistos odontogênicos de origem inflamatória; 2) estudos que não estavam relacionados com o tema; 3) estudos de revisão, relato de caso, carta ao editor ou editorial, resumos de congressos, opiniões pessoais, livros e/ou capítulos de livros.

### 2.3 *Fontes de informação e busca*

Os registros foram buscados nas bases de dados eletrônicas Latin American and Caribbean Health Sciences (LILACS), PubMed (incluindo MedLine), SciELO, Web of Science e LIVIVO como fontes de estudos primárias. O OpenThesis e o Open Grey foram utilizados com o objetivo de buscar os artigos da “literatura cinzenta”, evitando um viés de seleção e de publicação. Uma busca manual por meio de uma análise sistematizada das referências dos artigos elegíveis foi também efetuada.

A pesquisa foi realizada por dois revisores de elegibilidade de maneira independente (IFPL e FRM). Os descritores foram buscados nas bases de dados DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) e MeSH (Medical Subject Headings). Os operadores booleanos “AND” e “OR” foram empregados para potencializar a estratégia de pesquisa por meio de várias combinações (Tabela 1). A pesquisa bibliográfica foi desenvolvida em junho de 2018. Os

registros obtidos foram exportados para o software EndNote™ Basic/Online, desktop version (Thomson Reuters, Nova Iorque, EUA), e os duplicados foram removidos.

**Tabela 1** - Estratégias para pesquisa nas bases de dados.

| Bases de dados   | Estratégias de busca (Junho, 2018)   | Resultados |
|--|--|------------|
| <b>PubMed</b><br><a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed</a> | (("Odontogenic Tumors"[MeSH Terms] OR "Odontogenic Tumors"[All Fields] OR "Odontogenic Tumor"[All Fields] OR "Dental Tissue Neoplasms"[All Fields] OR "Odontogenic Cysts"[MeSH Terms] OR "Odontogenic Cysts"[All Fields] OR "Cyst, Odontogenic"[All Fields]) AND ("RANK Ligand"[MeSH Terms] OR "RANK Ligand"[All Fields] OR "Osteoclast Differentiation Factor"[All Fields] OR "RANKL Protein"[All Fields] OR "Osteoprotegerin"[MeSH Terms] OR "Osteoprotegerin"[All Fields] OR "OPG"[All Fields] OR "Osteoclastogenesis Inhibitory Factor"[All Fields] OR "RANKL"[All Fields])) | 38         |
| <b>LILACS</b><br><a href="http://lilacs.bvsalud.org/">http://lilacs.bvsalud.org/</a>                 | (Odontogenic Tumors AND RANK) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))   | 7          |
|  | (Odontogenic Tumors AND RANKL) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))  | 1          |
|  | (Odontogenic Tumors AND Osteoprotegerin) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))  | 0          |
|  | (Odontogenic Tumors AND OPG) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))  | 0          |
|  | (Odontogenic Cysts AND RANK) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))  | 4          |
|  | (Odontogenic Cysts AND RANKL) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))   | 1          |
|  | (Odontogenic Cysts AND Osteoprotegerin) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))   | 1          |
|  | (Odontogenic Cysts AND OPG) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))   | 1          |
|  | (Dental Tissue Neoplasms AND RANK) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))  | 6          |
|  | (Dental Tissue Neoplasms AND RANKL) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))   | 1          |
|  | (Dental Tissue Neoplasms AND Osteoprotegerin) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))   | 0          |
|  | (Dental Tissue Neoplasms AND OPG) AND (instance:"regional") AND ( db:( "LILACS" ))   | 1          |
| <b>LIVIVO</b><br><a href="https://www.livivo.de">https://www.livivo.de</a>                           | ("Odontogenic Tumors" OR "Odontogenic Tumor" OR "Odontogenic Cysts" OR "Odontogenic Cyst" OR "Dental Tissue Neoplasms") AND ("RANK Ligand" OR "RANKL Protein" OR "Osteoprotegerin" OR "OPG")   | 28         |
| <b>SciELO</b><br><a href="http://www.scielo.org/">http://www.scielo.org/</a>                         | Dental Tissue Neoplasms AND RANK Ligand  | 0          |
|  | Dental Tissue Neoplasms AND RANKL  | 0          |
|  | Dental Tissue Neoplasms AND Osteoprogerin  | 0          |
|  | Odontogenic Tumors AND RANK Ligand   | 0          |
|  | Odontogenic Tumors AND RANKL   | 0          |
|  | Odontogenic Tumors AND Osteoprotegerin   | 0          |
|  | Odontogenic Cysts AND RANK Ligand  | 0          |
|  | Odontogenic Cysts AND RANKL  | 0          |
|  | Odontogenic Cysts AND Osteoprotegerin  | 0          |

|  |  |     |
|--|--|-----|
| <b>Web Of Science</b><br><a href="http://apps.webofknowledge.com/">http://apps.webofknowledge.com/</a> | ((("Odontogenic Tumors" OR "Odontogenic Tumors" OR "Odontogenic Tumor" OR "Dental Tissue Neoplasms" OR "Odontogenic Cysts" OR "Odontogenic Cysts" OR "Cyst, Odontogenic") AND ("RANK Ligand" OR "RANK Ligand" OR "Osteoclast Differentiation Factor" OR "RANKL Protein" OR "Osteoprotegerin" OR "Osteoprotegerin" OR "OPG" OR "Osteoclastogenesis Inhibitory Factor" OR "RANKL"))  | 18  |
| <b>OpenGrey</b><br><a href="http://www.opengrey.eu/">http://www.opengrey.eu/</a>                       | "Odontogenic Tumors" OR "Odontogenic Cysts" 1<br>("Odontogenic Tumors" OR "Odontogenic Tumor") AND 0<br>("RANK" OR "RANK Ligand") 0<br>("Odontogenic Tumors") AND ("RANK") 0<br>("Odontogenic Tumors") AND ("RANKL Protein") 0<br>("Odontogenic Tumors") AND ("Osteoprotegerin" OR "OPG") 0<br>("Odontogenic Cysts") AND ("RANK") 0<br>("Odontogenic Cysts") AND ("RANKL Protein") 0<br>("Odontogenic Cysts") AND ("Osteoprotegerin" OR "OPG") 0   |     |
| <b>OpenThesis</b><br><a href="http://www.openthesis.org/">http://www.openthesis.org/</a>               | "Odontogenic Tumors" OR "Odontogenic Cysts" 25<br>("Odontogenic Tumors" OR "Odontogenic Tumor") AND 0<br>("RANK" OR "RANK Ligand") 0<br>("Odontogenic Tumors" OR "Odontogenic Tumor") AND 0<br>("RANKL" OR "RANKL Protein") 0<br>("Odontogenic Tumors" OR "Odontogenic Tumor") AND 0<br>("Osteoprotegerin" OR "OPG") 0<br>("Odontogenic Cysts" OR "Odontogenic Cyst") AND 1<br>("RANK" OR "RANK Ligand") 0<br>("Odontogenic Cysts" OR "Odontogenic Cyst") AND 0<br>("RANKL" OR "RANKL Protein") 0<br>("Odontogenic Cysts" OR "Odontogenic Cyst") AND 0<br>("Osteoprogerin" OR "OPG") 0 |     |
| <b>TOTAL</b>   |  | 134 |

## 2.4 Seleção dos estudos

A seleção dos estudos foi realizada em três fases distintas. Na primeira fase, como um exercício de calibração, os revisores discutiram os critérios de elegibilidade e os aplicaram a uma amostra de 20% dos estudos recuperados para determinar a concordância inter-examinador. Após obter um nível de concordância adequado (Kappa: 0,81-0,85), os títulos dos estudos foram metodicamente analisados por dois revisores de elegibilidade (IFPL e FRM) de maneira independente, os quais não estavam cegos para os nomes dos autores e revistas. Títulos fora do objetivo foram eliminados nesta etapa. Na fase 2, os resumos também foram analisados por dois revisores (IFPL e FRM). Estudos que não estavam relacionados com o tema, estudos de revisão, relato de caso, carta ao editor ou editorial, resumos de congressos, opiniões pessoais, livros e/ou capítulos de livros foram eliminados. Os artigos cujos títulos correspondiam aos objetivos do estudo, mas que não possuíam resumos disponíveis, foram analisados integralmente na terceira fase.

Nesta fase, os estudos preliminares elegíveis foram analisados por meio dos seus textos completos, a fim de verificar se preenchiam os critérios de elegibilidade. Quando na avaliação não se chegava a uma decisão, um terceiro revisor (LRP) era consultado para tomar uma decisão final. Os estudos eliminados foram registrados separadamente deixando claros os motivos de exclusão.

### ***2.5 Processo de coleta e extração dos dados***

Os dados foram extraídos por dois autores (IFPL e FRM) com planilhas especificamente desenvolvidas para tal fim, as quais eram compostas por informações como: identificação do artigo (autor, ano de publicação e país em que foi realizado o estudo); características da amostra (número de casos); cistos e tumores avaliados; critérios éticos envolvidos; fixação dos espécimes; método de diagnóstico utilizado; imunoexpressão de RANK, RANKL e OPG e a correlação entre RANKL e OPG. Em situações de desacordo, um terceiro revisor (LRP) foi consultado quando necessário.

### ***2.6 Risco de viés individual dos estudos***

O risco de viés dos estudos selecionados foi avaliado pela ferramenta “The Joanna Briggs Institute Critical Appraisal tools for use in JBI Systematic Reviews Checklist for Analytical Cross Sectional Studies”. Dois autores (IFPL e FRM) avaliaram de maneira sistemática e independente cada domínio em relação ao potencial risco de viés. Os seguintes critérios foram utilizados para realizar a avaliação: Q.1) Os critérios para inclusão na amostra foram claramente definidos?; Q.2) Os sujeitos do estudo e a configuração foram descritos detalhadamente?; Q.3) A exposição foi medida de maneira válida e confiável?; Q.4) Os critérios objetivos e padronizados foram usados para medir a condição?; Q.5) Os fatores de confusão foram identificados?; Q.6) Estratégias para lidar com fatores de confusão foram declaradas?; Q.7) Os resultados foram medidos de maneira válida e confiável?; Q.8) A análise estatística apropriada foi usada?. O risco de viés foi categorizado como **Alto** quando o estudo alcançou até 49% de pontuação "sim", **Moderado** quando o estudo atingiu 50% a 69% pontuação "sim" e **Baixo** quando o estudo atingiu mais de 70% pontuação "sim".

### ***2.7 Medidas de resumo e síntese de resultados***

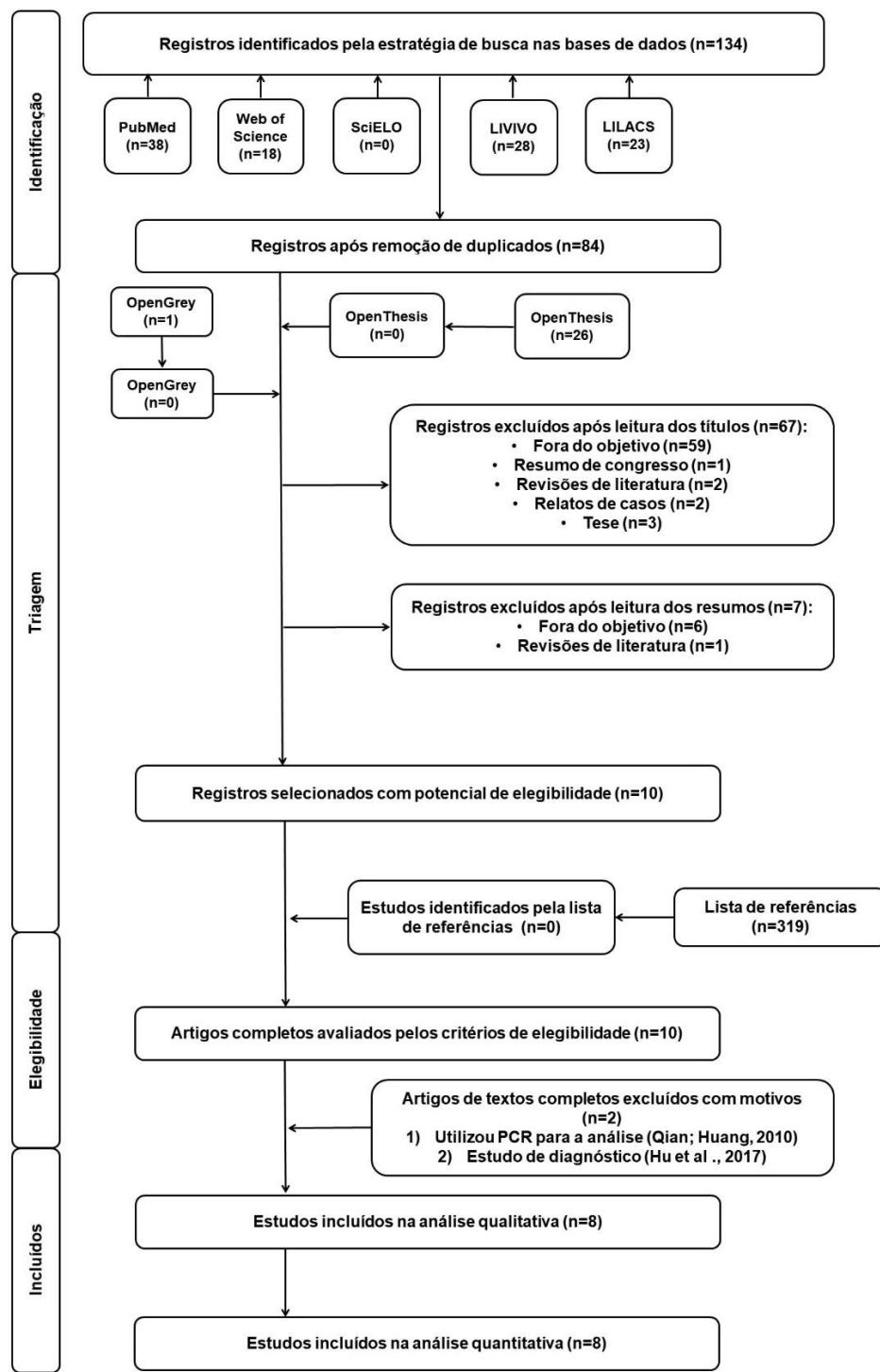
Meta-análise usando modelo de efeitos aleatórios foi realizada para estimar valores agrupados da relação entre OPG e RANKL reportados pelos estudos individuais e respectivos intervalos de confiança de 95% usando pesos de Der-Simonian e Laird (HIGGINS; GREEN,

2011; NYAGA et al., 2014). O modelo aleatório foi usado objetivando minimizar o efeito da heterogeneidade entre os estudos (HIGGINS; GREEN, 2011). A variância das estimativas brutas foi estabilizada usando a transformação duplo arco-seno de Freeman-Tukey (FREMAN; TUKEY, 1950). A heterogeneidade entre os estudos foi avaliada utilizando a estatística  $I^2$ , sendo classificada da seguinte forma: baixa ( $I^2 < 25\%$ ), moderada ( $I^2 = 50\%$ ) e alta ( $I^2 > 75\%$ ) (HIGGINS; THOMPSON, 2002). As análises foram conduzidas usando os softwares Stata versão 15.0 (Stata Corp., College Station, USA) e MedCalc versão 17.0 (MedCalc bvba, Ostend, Belgium).

### **3 RESULTADOS**

#### ***3.1 Seleção dos estudos***

A primeira fase de seleção dos estudos resultou no total de 134 registros distribuídos em cinco bases de dados eletrônicas. Removidos os registros duplicados, 84 procederam para a análise dos títulos e resumos. Apenas um estudo da “literatura cinzenta” foi recuperado pela estratégia de busca inicial, entretanto, este não estava de acordo com o objetivo do nosso estudo. Assim, lidos os títulos dos registros, dezessete artigos prosseguiram para a análise dos resumos. Após a análise dos resumos, somente dez registros foram considerados elegíveis para a leitura do texto completo. As referências dos dez artigos inicialmente elegíveis foram avaliadas cuidadosamente para verificar um possível estudo ausente na estratégia de busca principal, contudo, nenhum artigo foi localizado. Dos dez artigos inclusos nesta fase, dois foram removidos apresentando os seguintes motivos: 1) utilização de PCR para análise; 2) estudo de diagnóstico. Assim, oito artigos seguiram para análise qualitativa dos resultados. A Figura 1 reproduz o processo de busca, identificação, inclusão e exclusão dos artigos.



<sup>1</sup>Adaptado do PRISMA.

**Figura 1** - Processo de busca, identificação, inclusão e exclusão dos artigos.

### 3.2 Características dos estudos

Um resumo das principais características dos estudos pode ser encontrado na tabela 2. A maioria dos estudos (cinco) foi realizado no Brasil (da SILVA et al., 2008; de MORAES et al., 2011; NONAKA et al., 2012; de MORAES et al., 2013 de MATOS et al., 2013), enquanto

os outros três estudos foram divididos entre países da Turquia (TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011), Grécia (IAKOVOU et al., 2015) e Malásia (SIAR et al., 2015). A análise dos oito estudos resultou numa amostra total de 244 espécimes. Dos oito estudos analisados, apenas três (da SILVA et al., 2008; NONAKA et al., 2012; de MATOS et al., 2013) mencionaram os critérios éticos envolvidos. Quanto à fixação dos espécimes, cinco estudos (da SILVA et al., 2008; de MORAES et al., 2011; de MORAES et al., 2013; de MATOS et al., 2013; IAKOVOU et al., 2015) utilizaram formol 10%, enquanto três estudos (TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011; NONAKA et al., 2012; SIAR et al., 2015) não mencionaram a forma de fixação. A imunohistoquímica foi o método de diagnóstico utilizado em todos os estudos (da SILVA et al., 2008; TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011; de MORAES et al., 2011; NONAKA et al., 2012; de MORAES et al., 2013; de MATOS et al., 2013; IAKOVOU et al., 2015; SIAR et al., 2015).

**Tabela 2** - Sumário das principais características dos estudos elegíveis para análise qualitativa.

| Autor e ano                         | País    | Amostra (n) | Cistos e tumores avaliados | Critérios Éticos | Fixação dos espécimes | Método de diagnóstico |
|-------------------------------------|---------|-------------|----------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|
| <i>da Silva et al., 2008</i>        | Brasil  | 40          | CO, AB, CD                 | Sim              | Formol 10%            | Imunohistoquímica     |
| <i>Tekkesin; Mutlu; Olgac, 2011</i> | Turquia | 40          | CO e AB                    | *                | *                     | Imunohistoquímica     |
| <i>de Moraes et al., 2011</i>       | Brasil  | 20          | CD                         | *                | Formol 10%            | Imunohistoquímica     |
| <i>Nonaka et al., 2012</i>          | Brasil  | 22          | CO                         | Sim              | *                     | Imunohistoquímica     |
| <i>de Moraes et al., 2013</i>       | Brasil  | 20          | CD                         | *                | Formol 10%            | Imunohistoquímica     |
| <i>de Matos et al., 2013</i>        | Brasil  | 58          | CO, CD e AB                | Sim              | Formol 10%            | Imunohistoquímica     |
| <i>Iakovou et al., 2015</i>         | Grécia  | 29          | AB                         | *                | Formol 10%            | Imunohistoquímica     |
| <i>Siar et al., 2015</i>            | Malásia | 15          | AB                         | Não              | *                     | Imunohistoquímica     |

*Nota.* \*Dado não informado pelos autores; CO = Ceratocisto Odontogênico; CD = Cisto Dentígero; AB = Ameloblastoma.

### 3.3 Risco de viés dos estudos

Na Tabela 3 é possível observar as informações referente ao risco de viés e qualidade individual dos estudos inclusos na presente revisão sistemática. Um estudo apresentou baixo risco de viés (IAKOVOU et al., 2015), enquanto sete estudos apresentaram risco moderado (da SILVA et al., 2008; TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011; de MORAES et al., 2011; NONAKA et al., 2012; de MORAES et al., 2013; de MATOS et al., 2013; SIAR et al., 2015), seguindo a análise por meio da ferramenta "JBI Critical Appraisal Checklist for Analytical Cross Sectional Studies".

**Tabela 3.** Risco de viés avaliado pela ferramenta "JBI Critical Appraisal Checklist for Analytical Cross Sectional Studies". O risco de viés foi classificado como **Alto** quando o estudo alcançou até 49% do escore "sim", **Moderado** quando o estudo alcançou de 50% para 69% do escore "sim" e **Baixo** quando o estudo alcançou mais de 70% do escore "sim".

| Autores                             | Q.1 | Q.2 | Q.3 | Q.4 | Q.5 | Q.6 | Q.7 | Q.8 | %sim/risco |
|-------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------|
| <i>da Silva et al., 2008</i>        | √   | --  | √   | √   | --  | --  | √   | √   | 62,5%      |
| <i>Tekkesin; Mutlu; Olgac, 2011</i> | √   | √   | --  | √   | --  | --  | √   | √   | 62,5%      |
| <i>de Moraes et al., 2011</i>       | √   | √   | --  | √   | --  | --  | √   | √   | 62,5%      |
| <i>Nonaka et al., 2012</i>          | √   | --  | √   | √   | --  | --  | √   | √   | 62,5%      |
| <i>de Moraes et al., 2013</i>       | √   | --  | √   | √   | --  | --  | √   | √   | 62,5%      |
| <i>de Matos et al., 2013</i>        | √   | --  | √   | √   | --  | --  | √   | √   | 62,5%      |
| <i>Iakovou et al., 2015</i>         | √   | √   | √   | √   | --  | --  | √   | √   | 75,0%      |
| <i>Siar et al., 2015</i>            | √   | √   | --  | √   | --  | --  | √   | √   | 62,5%      |

*Nota.* Q.1) Os critérios para inclusão na amostra foram claramente definidos?; Q.2) Os sujeitos do estudo e a configuração foram descritos detalhadamente?; Q.3) A exposição foi medida de maneira válida e confiável?; Q.4) Os critérios objetivos e padronizados foram usados para medir a condição?; Q.5) Os fatores de confusão foram identificados?; Q.6) Estratégias para lidar com fatores de confusão foram declaradas?; Q.7) Os resultados foram medidos de maneira válida e confiável?; Q.8) A análise estatística apropriada foi usada?; I - Incerto; √ - Sim; -- - Não; NA - Não se Aplica.

### ***3.4 Resultados individuais dos estudos***

Dos oito estudos inclusos na presente revisão sistemática, cinco (da SILVA et al., 2008; TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011; de MORAES et al., 2011; de MORAES et al., 2013; SIAR et al., 2015) avaliaram a imunoexpressão de RANK e RANKL, enquanto a imunoexpressão de OPG foi avaliada em todos os estudos (da SILVA et al., 2008; TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011; de MORAES et al., 2011; NONAKA et al., 2012; de MORAES et al., 2013; de MATOS et al., 2013; IAKOVOU et al., 2015; SIAR et al., 2015). As três lesões avaliadas foram coradas para o RANK, tanto no epitélio odontogênico como no estroma. Contudo, a imunoexpressão de RANKL e OPG variou de 0% a 100% no epitélio odontogênico e no estroma (Tabela 4). Quanto à relação entre RANKL e OPG ( $OPG < RANKL$ ), esta variou de 0% e 54.5% no epitélio odontogênico e de 0% a 72.2% no estroma (Tabela 5). A relação  $OPG > RANKL$  variou de 0% a 70% no epitélio odontogênico e de 0% a 100%, enquanto a relação  $OPG = RANKL$  variou de 8.3% a 60% no epitélio odontogênico e de 0% a 81.8% no estroma (Tabela 5). O valor de  $p$  da relação entre RANKL e OPG variou de 0.003 a 0.713 no epitélio odontogênico e de 0.001 a 0.473 no estroma (Tabela 6).

**Tabela 4** – Imunoexpressão de RANK, RANKL e OPG.

| Autores                             | RANK         |              |              | RANKL        |              |              | OPG          |              |              |
|-------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                                     | CO           | AB           | CD           | CO           | AB           | CD           | CO           | AB           | CD           |
| <i>da Silva et al., 2008</i>        | 100%<br>(E)  | 100% (E)     | 100%<br>(E)  |
|                                     | 100%<br>(EO) | (EO)         | 100%<br>(EO) |
| <i>Tekkesin; Mutlu; Olgac, 2011</i> | 100%<br>(E)  | 100%<br>(E)  | --           | 100%<br>(E)  | 100%<br>(E)  | --           | 100%<br>(E)  | 100% (E)     | --           |
|                                     | 100%<br>(EO) | 100%<br>(EO) |              | 100%<br>(EO) | 100%<br>(EO) |              | 100%<br>(EO) |              |              |
| <i>de Moraes et al., 2011</i>       | --           | --           | 100%<br>(E)  | --           | --           | 100%<br>(E)  | --           | --           | 100%<br>(E)  |
|                                     |              |              | 100%<br>(EO) |              |              | 100%<br>(EO) |              |              | 100%<br>(EO) |
| <i>Nonaka et al., 2012</i>          | --           | --           | --           | 100%<br>(E)  | --           | --           | 100%<br>(E)  | --           | --           |
|                                     |              |              |              | 100%<br>(EO) |              |              | 100%<br>(EO) |              |              |
| <i>de Moraes et al., 2013</i>       | --           | --           | 100%<br>(E)  | --           | --           | 100%<br>(E)  | --           | --           | 100%<br>(E)  |
|                                     |              |              | 100%<br>(EO) |              |              | 100%<br>(EO) |              |              | 100%<br>(EO) |
| <i>de Matos et al., 2013</i>        | --           | --           | --           | 100%<br>(E)  | 100%<br>(E)  | 100%<br>(E)  | 100%<br>(E)  | 100% (E)     | 100%<br>(E)  |
|                                     |              |              |              | 100%<br>(EO) | 100%<br>(EO) | 100%<br>(EO) | 100%<br>(EO) | (EO)         | 100%<br>(EO) |
| <i>Iakovou et al., 2015</i>         | --           | --           | --           | --           | 100%*        | --           | --           | 100%*        | --           |
| <i>Siar et al., 2015</i>            | --           | 100%<br>(E)  | --           | --           | 0% (E)       | --           | --           | 0% (E)       | --           |
|                                     |              | 100%<br>(EO) |              |              | 0%<br>(EO)   |              |              | 100%<br>(EO) |              |

Nota. CO = Ceratocisto Odontogênico; AB = Ameloblastoma; CD = Cisto dentígero; EO = Epitélio Odontogênico; E = Estroma; \* = Os autores não apresentaram os resultados divididos por estroma e epitélio odontogênico.

**Tabela 5** – Relação entre RANKL e OPG (número de espécimes corados/número de espécies totais avaliados).

| <b>Autores</b>                      | <b>OPG &gt; RANKL</b> |              |               | <b>OPG &lt; RANKL</b> |              |                     | <b>OPG = RANKL</b> |              |               |
|-------------------------------------|-----------------------|--------------|---------------|-----------------------|--------------|---------------------|--------------------|--------------|---------------|
|                                     | <b>CO</b>             | <b>AB</b>    | <b>CD</b>     | <b>CO</b>             | <b>AB</b>    | <b>CD</b>           | <b>CO</b>          | <b>AB</b>    | <b>CD</b>     |
| <i>da Silva et al., 2008</i>        | 4/19<br>(EO)          | 6/12<br>(EO) | 1/9<br>(EO)   | 6/19<br>(EO)          | 5/12<br>(EO) | 3/9 (EO)<br>0/9 (E) | 9/19<br>(EO)       | 1/12<br>(EO) | 3/9<br>(EO)   |
|                                     | 13/19<br>(E)          | 3/12<br>(E)  | 7/9 (E)       | 6/19<br>(E)           | 9/12<br>(E)  |                     | 0/19<br>(E)        | 0/12 (E)     | 0/9 (E)       |
| <i>Tekkesin; Mutlu; Olgac, 2011</i> | --                    | --           | --            | --                    | --           | --                  | --                 | --           | --            |
| <i>de Moraes et al., 2011</i>       | --                    | --           | 14/20<br>(EO) | --                    | --           | 2/20<br>(EO)        | --                 | --           | 4/20<br>(EO)  |
|                                     |                       |              | 5/20<br>(E)   |                       |              | 2/20 (E)            |                    |              | 13/20<br>(E)  |
| <i>Nonaka et al., 2012</i>          | 12/22<br>(EO)         | --           | --            | 1/22<br>(EO)          | --           | --                  | 9/22<br>(EO)       | --           | --            |
|                                     | 3/22<br>(E)           |              |               | 1/22<br>(E)           |              |                     | 18/22<br>(E)       |              |               |
| <i>de Moraes et al., 2013</i>       | --                    | --           | --            | --                    | --           | --                  | --                 | --           | --            |
| <i>de Matos et al., 2013</i>        | 7/20<br>(EO)          | 0/18<br>(EO) | 9/20<br>(EO)  | 1/20<br>(EO)          | 9/18<br>(EO) | 0/20<br>(EO)        | 12/20<br>(EO)      | 9/18<br>(EO) | 11/20<br>(EO) |
|                                     | 4/20<br>(E)           | 0/18<br>(E)  | 2/20<br>(E)   | 6/20<br>(E)           | 13/18<br>(E) | 6/20 (E)            | 10/20<br>(E)       | 5/18 (E)     | 18/20<br>(E)  |
| <i>Iakovou et al., 2015</i>         | --                    | 25/29*       | --            | --                    | 1/29*        | --                  | --                 | 3/29*        | --            |
| <i>Siar et al., 2015</i>            | --                    | --           | --            | --                    | --           | --                  | --                 | --           | --            |

Nota. CO = Ceratocisto Odontogênico; AB = Ameloblastoma; CD = Cisto dentígero; EO = Epitélio Odontogênico; E = Estroma; \* = Os autores não apresentaram os resultados por estroma e epitélio odontogênico.

**Tabela 6** – Meta-análise de proporção mostrando as estimativas agrupadas das relações de OPG e RANKL reportadas pelos estudos individuais.

|                            | OPG > RANKL |         |         | OPG < RANKL |        |        | OPG = RANKL |         |         |
|----------------------------|-------------|---------|---------|-------------|--------|--------|-------------|---------|---------|
|                            | CO          | AB      | CD      | CO          | AB     | CD     | CO          | AB      | CD      |
| <b>Epitélio</b>            | 37,0        | 12,0    | 43,0    | 12,0        | 47,0   | 9,0    | 49,0        | 31,0    | 36,0    |
| <b>Odontogênico</b>        | (19,0-      | (2,0-   | (14,0-  | (1,0-       | (29,0- | (0,0-  | (36,0-      | (15,0-  | (15,0-  |
| <i>ES (IC 95%)</i>         | 57,0)       | 27,0)   | 75,0)   | 31,0)       | 65,0)  | 32,0)  | 62,0)       | 50,0)   | 60,0)   |
| <i>I<sup>2</sup></i>       | 57,97%      | 94,86%  | 78,14%  | 68,87%      | 76,91% | 72,81% | 0,00%       | 92,90%  | 60,88%  |
| <i>p-valor</i>             | 0,090       | < 0,001 | 0,010   | 0,040       | 0,040  | 0,030  | 0,480       | < 0,001 | 0,080   |
| <b>Estroma</b>             | 32,0        | 6,0     | 33,0    | 20,0        | 73,0   | 12,0   | 38,0        | 13,0    | 50,0    |
| <i>ES (IC 95%)</i>         | (5,0-       | (0,0-   | (4,0-   | (4,0-       | (55,0- | (0,0-  | (0,0-       | (2,0-   | (3,0-   |
| <i>I<sup>2</sup></i>       | 67,0)       | 18,0)   | 71,0)   | 42,0)       | 88,0)  | 33,0)  | 92,0)       | 28,0)   | 97,0)   |
| <i>p-valor</i>             | 86,78%      | 94,86%  | 84,29%  | 70,56%      | 76,91% | 62,23% | 95,33%      | 92,90%  | 93,16%  |
|                            | < 0,001     | < 0,001 | < 0,001 | 0,030       | 0,040  | 0,070  | < 0,001     | < 0,001 | < 0,001 |
| <b>Heterogeneidade</b>     |             |         |         |             |        |        |             |         |         |
| <i>entre os subgrupos:</i> | 0,824       | 0,444   | 0,691   | 0,510       | 0,042  | 0,812  | 0,724       | 0,096   | 0,659   |
| <i>p-valor</i>             |             |         |         |             |        |        |             |         |         |
| <b>GERAL</b>               | 34,0        | 12,0    | 38,0    | 16,0        | 60,0   | 10,0   | 44,0        | 18,0    | 43,0    |
| <i>ES (IC 95%)</i>         | (18,0-      | (0,0-   | (16,0-  | (6,0-       | (44,0- | (1,0-  | (18,0-      | (1,0-   | (16,0-  |
| <i>I<sup>2</sup></i>       | 53,0)       | 41,0)   | 62,0)   | 29,0)       | 75,0)  | 24,0)  | 71,0)       | 45,0)   | 73,0)   |
| <i>p-valor</i>             | 75,42%      | 84,58%  | 81,13%  | 65,80%      | 30,73% | 63,74% | 88,94%      | 78,69%  | 87,72%  |
|                            | < 0,001     | < 0,001 | < 0,001 | 0,010       | 0,230  | 0,020  | < 0,001     | < 0,001 | < 0,001 |

Nota. ES = Estimativa de proporção agrupada; IC = intervalo de confiança; CO = Ceratocisto Odontogênico; AB = Ameloblastoma; CD = Cisto Dentígero.

### 3.5 Síntese dos resultados e meta-análise

A meta-análise mostrou que a relação OPG > RANKL foi maior para o ceratocisto odontogênico (ES = 34,0%; IC 95% = 18,0-53,0) e cisto dentígero (ES = 38,0%; IC 95% = 16,0-62,0). Em contraste, a relação OPG < RANKL foi maior para o ameloblastoma (ES = 60,0%; IC 95% = 44,0-75,0). A análise de subgrupos permitiu avaliar as expressões de acordo com as regiões da lesão. A relação OPG < RANKL foi significativamente maior para o ameloblastoma ( $p = 0,040$ ) na região de estroma (ES = 73,0%; IC 95% = 55,0-88,0) em comparação com a região de epitélio odontogênico (ES = 47,0%; IC 95% = 29,0-65,0). O grau de heterogeneidade entre os estudos variou de moderado a alto ( $I^2 > 25\%$ ).

## 4 DISCUSSÃO

Os cistos e tumores odontogênicos são lesões da cavidade bucal que apresentam potencial para afetar o equilíbrio do sistema de reabsorção e aposição óssea (ANDRADE et al., 2008). Contudo, a literatura científica ainda é controversa quanto a expressão de RANK, RANKL e OPG no desenvolvimento dessas lesões.

O cisto dentígero é um dos cistos odontogênicos mais comuns do complexo bucomaxilofacial. Apesar de apresentar-se de maneira assintomática e pouco agressiva, este pode, em alguns casos, causar expansão óssea considerável e deslocamento de dentes (KO; DOVER; JORDAN, 1999). Por outro lado, o ameloblastoma e o ceratocisto odontogênico apresentam comportamento biológico mais invasivo com potencial para um crescimento destrutivo (PHILIPSEN et al., 2005). Em virtude disso, diversos estudos têm sem preocupado em investigar a correlação da expressão imunológica dos fatores osteoclastogênicos RANK, RANKL e OPG com o desenvolvimento dessas patologias (da SILVA et al., 2008; de MORAES et al., 2011; TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011 de MATOS et al., 2013;). É importante ressaltar que, em nosso estudo, extraímos apenas os resultados dos ceratocistos odontogênicos não sindrômicos, uma vez que outras variáveis podem influenciar a expressão de RANK, RANKL e OPG no ceratocisto odontogênico de origem sindrômica.

A imunohistoquímica é um método de diagnóstico que utiliza anticorpos como reagentes específicos para a detecção de抗ígenos em cortes teciduais e celulares, sendo bastante utilizada em diagnóstico de neoplasias (WERNER et al., 2005). Este tipo de técnica depende do meio de fixação o espécime (JAFFER; BLEIWEISS, 2004), sendo o formol 10% o mais indicado (SAMPAIO; RIVITTI, 2007). Todos os estudos elegíveis na presente revisão sistemática realizaram a técnica de imunohistoquímica para análise da expressão de RANK, RANKL e OPG, corroborando o preconizado pela literatura científica. Contudo, apenas cinco estudos (da SILVA et al., 2008; de MORAES et al., 2011; de MORAES et al., 2013; de MATOS et al., 2013; IAKOVOU et al., 2015) relataram promover a fixação do espécime em formol 10% (Tabela 2).

O RANK é um membro da família do receptor do fator de necrose tumoral (TNF) (CHENG et al., 2003) que atua como receptor de sinalização do RANKL, enquanto este está expresso nas células osteoblásticas e do ligamento periodontal (OGASAWARA et al., 2004), ligando-se ao RANK e ativando os osteoclastos para promover a reabsorção óssea (STEJSKAL et al., 2001). Assim, o RANKL, proteína também pertencente à família do TNF, atua regulando a atividade osteoclastica (KOBAYASHI; UDAGAWA; TAKAHASHI, 2009). Corroborando tal afirmação, verificamos que cinco estudos (da SILVA et al., 2008; TEKKESIN; MUTLU;

OLGAC, 2011; de MORAES et al., 2011; de MORAES et al., 2013; SIAR et al., 2015) da presente revisão sistemática avaliaram a imunoexpressão de RANK em cisto dentígero, ceratocisto odontogênico e ameloblastoma, sendo que todos eles apresentaram expressão positiva de RANK, tanto no epitélio odontogênico quanto no estroma, reforçando a ação desta proteína no processo osteolítico (Tabela 4).

A imunoexpressão de RANKL foi avaliada em todos os estudos da presente revisão sistemática. Dos oito estudos inclusos, sete (da SILVA et al., 2008; TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011; de MORAES et al., 2011; NONAKA et al., 2012; de MORAES et al., 2013; de MATOS et al., 2013; IAKOVOU et al., 2015) apresentaram expressão positiva do RANKL em cisto dentígero, ceratocisto odontogênico e ameloblastoma tanto no epitélio odontogênico quanto no estroma. Este resultado corrobora os achados do estudo conduzido por Qian e Zuang (2010), que, ao avaliar 24 espécimes de ameloblastoma, verificaram que o RANKL foi o fator chave para o desenvolvimento da osteoclastogênese. Contudo, na presente revisão sistemática, apenas um estudo (SIAR et al., 2015) não apresentou expressão positiva de RANKL para o ameloblastoma, o que é incompatível com o comportamento biológico desta patologia (Tabela 4). Sabe-se que o ameloblastoma é um tumor agressivo e localmente invasivo/destrutivo. Em muitos casos, a expansão óssea é tão considerável que a ressecção radical é a única escolha de tratamento (QIAN; HUANG, 2010). Os referidos autores do estudo (SIAR et al., 2015) sugerem que a ausência de expressão de RANKL possa ser explicada por a amostra estudada se tratar de um grupo de tumores indolentes ou por que o processo dinâmico em curso estava associado à remodelação óssea induzida pelo tumor.

A OPG é um receptor da família do TNF, sendo secretado por diversos tipos celulares, incluindo os osteoblastos (PEREIRA; PEREIRA, 2004). Esta proteína atua inibindo o processo osteoclastogênico, bloqueando, assim, a ligação entre RANKL e RANK (SUDA et al., 1999). Em virtude disso, estudos (ANDO et al., 2008; TAYLAN et al., 2018) têm sido desenvolvidos com o objetivo de investigar o seu potencial como agente terapêutico para doenças ósseas. A imunoexpressão de OPG foi avaliada em todos os estudos inclusos na presente revisão sistemática, sendo que em apenas dois (TEKKESIN; MUTLU; OLGAC, 2011; SIAR et al., 2015) a imunorreatividade não foi positiva, sendo ambas verificadas no ameloblastoma (Tabela 4). Tal resultado revela um desvio do equilíbrio do sistema para a reabsorção óssea (BAUDHuin et al., 2007), reforçando, desta forma, o potencial destrutivo deste tumor.

Estudos (de MATOS et al., 2013; IAKOVOU et al., 2015) têm demonstrado que a avaliação da relação entre a imunoexpressão RANKL e OPG é particularmente importante, uma vez que pode indicar a atividade biológica e o potencial osteolítico do cisto ou tumor

odontogênico. Na presente revisão sistemática, dos oito estudos inclusos, cinco (da SILVA et al., 2008; de MORAES et al., 2011; NONAKA et al., 2012; de MATOS et al., 2013; IAKOVOU et al., 2015) avaliaram tal relação. Assim, verificamos que a relação OPG > RANKL foi maior para o ceratocisto odontogênico e cisto dentígero. Estes achados são compatíveis com o comportamento biológico do ceratocisto odontogênico e o cisto dentígero, uma vez que são lesões com menor capacidade de reabsorção óssea quando comparado ao ameloblastoma, um tumor bastante agressivo (POZO; ESPINOZA, 2010). Sabe-se que o RANKL se liga ao RANK na superfície de precursores dos osteoclastos, recrutando e ativando o Fator Associado ao Fator de Necrose Tumoral-6 (TRAF-6). Assim, o TRAF-6 estimula a ativação o Fator Nuclear-kB (NF-kB) por meio da interação do p62 e a proteína quinase C atípica (aPKC), que desencadeia a transcrição dos genes osteoclastogênicos (BOYCE; XING, 2007). A sinalização do NF-kB é fundamental para a osteoclastogênese (PARK; LEE; LEE, 2017). Dessa forma, a OPG inibe os eventos osteoclastogênicos por não permitir a ligação do RANKL ao RANK, evitando que toda cascata de ativação do NF-kB seja ativada (TAKAYANAGI, 2005). Corroborando tais achados, Andrade *et al.* (2008) verificaram uma relação semelhante, com maior predomínio de OPG do que RANKL no cisto odontogênico calcificante, reforçando a proposição da natureza cística do ceratocisto odontogênico. Tal relação pode sugerir que a OPG pode estar envolvida em outros processos biológicos diferentes da remodelação óssea (NONAKA et al., 2012).

Entretanto, a patogênese do ceratocisto odontogênico ainda é incerta (HOYOS-CADAVID et al., 2018). A ativação da via Sonic Hedgehog (Shh) tem sido apontada como um dos principais mecanismos envolvidos na progressão desta patologia (CHARI; MC DONNELL, 2007). Em células normais, o receptor transmembrânico Patched (PTCH) impede a ativação da via Shh (HOYOS-CADAVID et al., 2018). Contudo, em células neoplásicas, a proteína Shh liga-se ao receptor PTCH1, fazendo com que a proteína transmembrânica Smoothened (Smo) seja ativada, induzindo a proliferação celular a partir da expressão de proteínas citoplasmáticas Glioma (Gli-1 e Gli-2) (ADOLPHE et al., 2004). Consequentemente, há ativação da via NF-kB, uma via de sinalização que participa diretamente do processo osteolítico (PARK; LEE; LEE, 2017). Sabe-se que o PTCH1 atua como inibidor da Smo na ausência do ligante Shh (LEE; ZHAO; INGHAM, 2016). Um estudo (JI et al., 2012) verificou, por meio de tratamento contra isquemia cerebral em ratos utilizando polidactina, uma superexpressão de PTCH1 e uma redução de NF-kB, o que poderia explicar, indiretamente, a relação OPG > RANKL encontrada no ceratocisto odontogênico, uma vez que a menor ativação da via NF-kB implica uma menor expressão de RANKL e, consequentemente, menor potencial osteolítico.

Em contraste, a relação OPG < RANKL foi maior para o ameloblastoma, sendo a região do estroma significativamente maior ( $p = 0,040$ ) (Tabelas 5 e 6). O resultado é condizente com a atuação do ameloblastoma, já que o estroma é uma região que participa ativamente na invasão e proliferação das células tumorais (FUCHIGAMI et al., 2017). Em um estudo (KOUHSOLTANI; HALIMI; JABBARI, 2016) realizado com o marcador imunohistoquímico para detecção de miofibroblastos, anticorpo anti- $\alpha$ -actina do músculo liso ( $\alpha$ -SMA), verificou-se que dos 15 casos de ameloblastomas sólidos examinados, apenas 1 não apresentou expressão de  $\alpha$ -SMA, indicando uma alta atividade dos miofibroblastos no desenvolvimento dos ameloblastomas. Tal agressividade a partir do estroma pode ser explicada pelas alterações que podem ocorrer nos componentes da via da Proteína Quinase Ativada por Mitógeno (MAPK), especialmente no gene BRAF, que pode ser ativada pelo fator de crescimento de fibroblastos (FGF) (SWEENEY et al., 2014; BROWN; BETZ, 2015). A expressão de FGF em ameloblastomas, especialmente a FGF1, FGF2, FGF3, são importantes para a regulação positiva da via MAPK (NAGI et al., 2016). A ativação da via MAPK permite a fosforilação das proteínas Raf, MEK e ERK, induzindo a proliferação celular (HARDY et al., 2011).

Além disso, um estudo recente (YAMADA et al., 2016) sugeriu que o fator de crescimento transformador- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) e a interleucina-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) possuem capacidade de induzir a expressão de RANKL em fibroblastos estromais de ameloblastomas. A regulação positiva de RANKL está associada a uma regulação negativa de OPG, fazendo com que o sistema atue a favor da osteoclastogênese (BOYCE; XING, 2007). A maior expressão de RANKL permite a sua ligação ao RANK e, consequentemente, a ativação da ativação do NF- $\kappa$ B, fator de transcrição crucial para o potencial osteolítico das lesões tumorais (PARK; LEE; LEE, 2017). Corroborando tais achados, Elias et al. (2010), verificaram uma maior imunoexpressão de RANKL quando comparado a OPG em osteossarcoma, tumor que se assemelha ao ameloblastoma quanto ao seu comportamento agressivo e osteolítico. De maneira semelhante, Sambandam et al. (2018), estudando uma amostra de carcinoma de células escamosas, verificaram uma regulação positiva de RANKL, sugerindo que esta proteína atua na diferenciação osteoclástica e destruição óssea.

A recente classificação dos cistos e tumores odontogênicos proposta pela OMS (EL-NAGGAR et al., 2017) estabelece que o cisto dentígero e o ceratocisto odontogênico são considerados cistos odontogênicos, enquanto o ameloblastoma é considerado um tumor odontogênico benigno. Assim, a presente revisão sistemática apresenta resultados importantes, uma vez que corrobora a classificação proposta pela OMS a partir de uma revisão sistemática original, com meta-análise, a qual utilizou ampla estratégia de busca, incluindo a “literatura

cinzenta” sem restrição de idioma ou status de publicação. Entretanto, algumas limitações podem ser visualizadas, uma vez que os estudos incluídos apresentaram heterogeneidade moderada a alta. Assim, sugere-se a realização de novos estudos com o objetivo de confirmar tais resultados.

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados da presente revisão sistemática sugerem que a razão OPG < RANKL foi maior para o ameloblastoma, o que pode explicar o seu potencial agressivo, e menor para o cisto dentígero e ceratocisto odontogênico, reforçando a classificação da OMS do ceratocisto odontogênico como cisto odontogênico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADOLPHE, C.; NARANG, M.; ELLIS, T.; WICKING, C. et al. An in vivo comparative study of sonic, desert and Indian hedgehog reveals that hedgehog pathway activity regulates epidermal stem cell homeostasis. **Development**, v. 131, n. 20, p. 5009–5019, 2004.
- ANDO, K.; MORI, K.; REDINI, F.; HEYMANN, D. RANKL/RANK/OPG: key therapeutic target in bone oncology. **Current Drug Discovery Technologies**, v. 5, n. 3, p. 263-268, 2008.
- ANDRADE, F. R.; SOUSA, D. P.; MENDONÇA, E. F.; SILVA, T. A. et al. Expression of bone resorption regulators (RANK, RANKL, and OPG) in odontogenic tumors. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v.106, n. 4, p. 548-555, 2008.
- BAUD'HUIN, M.; LAMOUREUX, F.; DUPLOMB, L.; RÉDINI, F. et al. RANK, osteoprotegerin: Key partners of osteoimmunology and vascular diseases. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 64, n. 18, p. 2334-2350, 2007.
- BOYCE, B. F.; XING, L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. **Arthritis Research & Therapy**, v. 9, suppl. 1, p. 1-7, 2007.
- BOYCE, B. F.; XING, L. Function of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 473, n. 2, p. 139-146, 2008.
- BROWN, N. A.; BETZ, B. L. Ameloblastoma: A Review of Recent Molecular Pathogenetic Discoveries. **Biomark Cancer**, v.7, suppl. 2, p. 19-24, 2015.
- CHARI, N. S.; MCDONNELL, T. J. The sonic hedgehog signalling network in development and neoplasia. **Advances in Anatomic Pathology**, v. 14, n. 5, p. 344–352, 2007.
- CHENG, X.; KINOSAKI, M.; MURALI, R.; GREENE, M. I. The TNF receptor superfamily: role in immune inflammation and bone formation. **Immunologic Research**, v. 27, n. 2, 287-294, 2003.

- CLARKE, B. Normal bone anatomy and physiology. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 3, suppl. 3, p. 131-139, 2008.
- DA SILVA, T. A.; BATISTA, A. C.; MENDONÇA, E. F.; LELES, C. R. et al. Comparative expression of RANK, RANKL, and OPG in keratocystic odontogenic tumors, ameloblastomas, and dentigerous cysts. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 105, n. 3, p. 333-341, 2008.
- DE MATOS, F. R.; DE MORAES, M.; SILVA, E. B. N.; GALVÃO, H. C. et al. Immunohistochemical Detection of Receptor Activator Nuclear kB Ligand and Osteoprotegerin in Odontogenic Cysts and Tumors. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 71, n. 11, p. 1886-1892, 2013.
- DE MORAES, M.; DE LUCENA, H. F.; DE AZEVEDO, P. R. M.; QUEIROZ, L. M. G. et al. Comparative immunohistochemical expression of RANK, RANKL and OPG in radicular and dentigerous cysts. **Archives Of Oral Biology**, v. 56, n. 11, p. 1256-1263, 2011.
- DE MORAES, M.; DE MATOS, F. R.; DE SOUZA, L. B.; DE ALMEIDA, F. et al. Immunoexpression of RANK, RANKL, OPG, VEGF, and vWF in radicular and dentigerous cysts. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 42, n. 6, p. 468-473, 2013.
- ELIAS, L. S.; COSTA, R. F.; CARVALHO, M. A.; BATISTA, A. C. et al. Markers of bone remodeling in neoplastic and bone-related lesions. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 110, n. 5, p. 624-631, 2010.
- EL-NAGGAR, A. K.; CHAN, J. K. C.; GRANDIS, J. R.; TAKATA, T. World Health Organization Classification of tumors. Pathology and Genetics of Head and Neck tumors. 4th Lyon: International Agency for Research on Cancer Press, 347p. 2017.
- FREEMAN, M. F.; TUKEY, J. W. Transformations related to the angular and square root. **The Annals of Mathematical Statistics**, v. 21, n.4, p. 607-611, 1950.

FUCHIGAMI, T.; KOYAMA, H.; KISHIDA, M.; NISHIZAWA, Y. et al. Fibroblasts promote the collective invasion of ameloblastoma tumor cells in a 3D coculture model. **FEBS Open Bio**, v. 7, n. 12, p. 2000-2007, 2017.

HARDY, K. M.; YATSKIEVYCH, T. A.; KONIECZKA, J.; BOBBS, A. S. et al. FGF signalling through RAS/MAPK and PI3K pathways regulates cell movement and gene expression in the chicken primitive streak without affecting E-cadherin expression. **BMC Developmental Biology**, v. 11, n. 20, 2011.

HIGGINS, J. P. T.; GREEN, S. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 [atualizado em março de 2011]. The Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em: <[www.handbook.cochrane.org](http://www.handbook.cochrane.org)>. Acesso em 10 mar. 2018.

HIGGINS, J. P.; THOMPSON, S. G. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. **Statistics in Medicine**, v. 21, n. 11, p. 1539–1558, 2002.

HOFBAUER, L. C.; NEUBAUER, A.; HEUFELDER, A. E. Receptor activator of nuclear factor-Kb ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. **Cancer**, v. 92, n. 3, p. 460–470, 2001.

HOYOS-CADAVID, A. M.; KAMINAGAKURA, E.; RODRIGUES, M. F. S. D.; PINTO, C. A. L. et al. Immunohistochemical evaluation of Sonic Hedgehog signaling pathway proteins (Shh, Ptch1, Ptch2, Smo, Gli1, Gli2, and Gli3) in sporadic and syndromic odontogenic keratocysts. **Clinical Oral Investigations**, p. 1-7, 2018 (epub ahead of print).

HUME, W. J.; MOORE, J. K.; MAIN, D. M. Differences in in vitro growth of epithelium from inflammatory and developmental odontogenic cysts. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 28, n. 2, p. 85-88, 1990.

IAKOVOU, M.; CHRYSOMALI, E.; PIPERI, E.; FANOURAKIS, G. et al. A comparative study of bone remodeling molecules expression in different types of jaw ameloblastoma. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 44, n. 7, p. 543-551, 2015.

- JAFFER, S.; BLEIWEISS, I. Beyond hematoxilyn and eosin: the role of immunohistochemistry in surgical pathology. **Cancer Investigation**, v. 22, n. 3, p. 445-465, 2004.
- KO, K. S. C.; DOVER, D. G.; JORDAN, R. C. K. Bilateral dentigerous cysts – report of an unusual case and review of the literature. **Journal of the Canadian Dental Association**, v. 65, n. 1, p. 49-51, 1999.
- KOBAYASHI, Y.; UDAGAWA, N.; TAKAHASHI, N. Action of RANKL and OPG for Osteoclastogenesis. **Critical Reviews™ in Eukaryotic Gene Expression**, v. 19, n. 1, p. 61-72, 2009.
- KOUHSOLTANI, M.; ABDOLHOSSEINZADEH, M.; BAHRAMIAN, A.; VAKILI-SAATLOO, M. et al. A Comparative Study of Macrophage Density in Odontogenic Cysts and Tumors with Diverse Clinical Behavior. **Journal of Dentistry, Shiraz University of Medical Sciences**, v. 19, n. 2, p. 150-154, 2018.
- KOUHSOLTANI, M.; HALIMI, M.; JABBARI, G. Immunohistochemical evaluation of myofibroblast density in odontogenic cysts and tumors. **Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects**, v. 10, n. 1, p. 37-42, 2016.
- LEE, R. T. H.; ZHAO, Z.; INGHAM, P. W. Hedgehog signalling. **Development**, v. 143, n. 3, p. 367-372, 2016.
- LIBERATI, A.; ALTMAN, D. G.; TETZLAFF, J.; MULROW, C. et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. **BMJ**, v. 339, p. b2700, 2009.
- NAGI, R.; SAHU, S.; RAKESH, N. Molecular and genetic aspects in the etiopathogenesis of ameloblastoma: An update. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 20, n. 3, p. 497-504, 2016.
- NONAKA, C. F. W.; CAVALCANTE, R. B.; NOGUEIRA, R. L. M.; DE SOUZA, L. B. et al. Immunohistochemical analysis of bone resorption regulators (RANKL and OPG), angiogenic

- index, and myofibroblasts in syndrome and non-syndrome odontogenic keratocysts. **Archives Of Oral Biology**, v. 57, n. 3, p. 230-237, 2012.
- NYAGA, V. N.; ARBYN, M.; AERTS, M. Metaprop: a Stata command to perform meta-analysis of binomial data. **Archives of Public Health**, v. 72, 2014.
- OGASAWARA, T.; YOSHIMINE, Y.; KIYOSHIMA, T.; KOBAYASHI, I. et al. In situ expression of RANKL, RANK, osteoprotegerin and cytokines in osteoclasts of rat periodontal tissue. **Journal of Periodontal Research**, v. 39, n. 1, p. 42-49, 2004.
- PARK, J. H.; LEE, N. K.; LEE, S. Y. Current Understanding of RANK Signaling in Osteoclast Differentiation and Maturation. **Molecules and Cells**, v. 40, n. 10, p. 706-713, 2017.
- PEREIRA, I. A.; PEREIRA, R. M. R. Osteoporose e erosões ósseas focais na artrite reumatóide: da patogênese ao tratamento. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 44, n. 5, p. 347-354, 2004.
- PHILIPSEN, H. P.; REICHART, P. A. Classification of odontogenic tumors. A historical review. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 35, n. 9, p. 525-529, 2006.
- PHILIPSEN, H. P.; REICHART, P. A.; SLOOTWEG, P. J.; SLATER, L. J. et al. Odontogenic tumors. In: BARNES, L.; EVESON, J. W.; REICHART, P.; SINDRANSKY, D. (eds): **Pathology and genetics head and neck tumours**. World Health Organization Classification of Tumours. Lyon: IARC Press, 2005. p. 283-328.
- POZO, J. A.; ESPINOZA, J. Ameloblastoma uníquístico, bases del tratamiento conservador. Presentación de caso clínico y actualización bibliográfica. **Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial**, v. 32, n. 2, p. 88-91, 2010.
- SAMPAIO, S. A. P.; RIVITTI, E. A. Exame histopatológico, glossário e padrões hitopatológicos. In: **Dermatologia**. São Paulo: Artes Médicas; 2007. p. 123.

- SANDRA, F.; HENDARMIN, L.; KUKITA, T.; NAKAO, Y. et al. Ameloblastoma induces osteoclastogenesis: a possible role of ameloblastoma in expanding in the bone. **Oral Oncology**, v. 41, n. 6, p. 637-644, 2005.
- SATHI, G. S.; NAGATSUKA, H.; TAMAMURA, R.; FUJII, M. et al. Stromal cells promote bone invasion by suppressing bone formation in ameloblastoma. **Histopathology**, v. 53, n. 4, p. 458-467, 2008.
- SIAR, C. H.; TSUJIGIWA, H.; ISHAK, I.; HUSSIN, N. M. et al. RANK, RANKL, and OPG in recurrent solid/multicystic ameloblastoma: their distribution patterns and biologic significance. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 119, n. 1, p. 83-91, 2015.
- STEJSKAL, D.; BARTEK, J.; PASTORKOVÁ, R.; RŮZICKA, V. et al. Osteoprotegerin, RANK, RANKL. **Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia**, v. 145, n. 2, p. 61-64, 2001.
- SUDA, T.; TAKAHASHI, N.; UDAGAWA, N.; JIMI, E. et al. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. **Endocrine Reviews**, v. 20, n. 3, p. 345-357, 1999.
- SWEENEY, R. T.; MCCLARY, A. C.; MYERS, B. R.; BISCOCHO, J. et al. Identification of recurrent SMO and BRAF mutations in ameloblastomas. **Nature Genetics**, v. 46, n. 7, p. 722-727, 2014.
- TAKAYANAGI, H. Inflammatory bone destruction and osteoimmunology. **Journal of Periodontal Research**, v. 40, n. 4, p. 287-293, 2005.
- TAYLAN, A.; BIRLIK, M.; KENAR, G.; TOPRAK, B. et al. Osteoprotegerin interacts with biomarkers and cytokines that have roles in osteoporosis, skin fibrosis, and vasculopathy in systemic sclerosis: a potential multifaceted relationship between OPG/RANKL/TRAIL and Wnt inhibitors. **Modern Rheumatology**, v. 13, p. 1-16, 2018.

- TEKKESIN, M. S.; MUTLU, S.; OLGAC, V. The Role of RANK/RANKL/OPG Signalling Pathways in Osteoclastogenesis in Odontogenic Keratocysts, Radicular Cysts, and Ameloblastomas. **Head and Neck Pathology**, v. 5, n. 3, p. 248-253, 2011.
- WERNER, B.; CAMPOS, A.; NADJI, M.; TORRES, L. Uso prático da imunohistoquímica em patologia cirúrgica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 5, p. 353-364, 2005.
- YAMADA, C.; AIKAWA, T.; OKUNO, E.; MIYAGAWA, K. et al. TGF- $\beta$  in jaw tumor fluids induces RANKL expression in stromal fibroblasts. **International Journal of Oncology**, v. 49, n. 2, p. 499-508, 2016.
- YAMAGUCHI, M.; AIHARA, N.; KOJIMA, T.; KASAI, K. RANKL increase in compressed periodontal ligament cells from root resorption. **Journal of Dental Research**, v. 85, n. 8, p. 751-756, 2006.