**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**

**DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

**MANUELA DA SILVA OLIVEIRA**

# TUMOR NEUROECTODÉRMICO MELANÓTICO DA INFÂNCIA DOS MAXILARES: REVISÃO DE LITERATURA CASUISTICA E RELATO DE CASO COM CARACTERIZAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA, COM PRESERVAÇÃO DE 10 ANOS

**Aracaju**

**2019**

**MANUELA DA SILVA OLIVEIRA**

# TUMOR NEUROECTODÉRMICO MELANÓTICO DA INFÂNCIA DOS MAXILARES: REVISÃO DE LITERATURA CASUISTICA E RELATO DE CASO COM CARACTERIZAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA, COM PRESERVAÇÃO DE 10 ANOS.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe como requisito para obtenção do título de cirurgião-dentista.

**Orientador:** Prof. Dra. Sílvia Ferreira de Sousa
**Co-orientador:** Prof. Dra Gisele Pedroso Moi

**Aracaju**

**2019**

**MANUELA DA SILVA OLIVEIRA**

# TUMOR NEUROECTODÉRMICO MELANÓTICO DA INFÂNCIA DOS MAXILARES: REVISÃO DE LITERATURA CASUISTICA E RELATO DE CASO COM CARACTERIZAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA, COM PRESERVAÇÃO DE 10 ANOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe como requisito para obtenção do título de cirurgião-dentista.

Aracaju, 01 de março de 2019

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dra. Gisele Pedroso Moi
Universidade Federal de Sergipe
Co-orientador

_____

1º Examinador

_____

2º Examinador

## A**GRADECIMENTOS**

Gostaria agradecer primeiramente a Deus, sem Ele nada disso seria possível.

Aos meus pais e irmãos pelo apoio, amor e compreensão, sempre me fazendo entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação ao presente.

A minha orientadora, Prof. Dra Sílvia Ferreira de Sousa, e co-orientadora, Prof. Dra. Gisele Pedroso Moi, por toda a paciência, apoio e confiança na elaboração de todo trabalho, meu muito obrigado.

A todo corpo docente do curso de odontologia da Universidade Federal de Sergipe, em especial ao prof. Dr. Cleverson Trento e Prof. Dr. Bernardo Brasileiro por tão gentilmente cederem o caso aqui apresentado.

E por fim, aos meus amigos e colegas, responsáveis por tornar a . Muito obrigada!

**EPÍGRAFE**

*“Terminar o momento, encontrar o final da jornada em cada passo do caminho, viver o maior número de boas horas, é sabedoria.”*

(**Emerson, Ralph Waldo)**

# RESUMO

O tumor neuroectodérmico melanótico da infância (TNMI) dos maxilares é uma neoplasia benigna, embora apresente manifestações clínicas que mimetizam aspectos de malignidade. Tem sua origem a partir de células da crista neural e acomete principalmente crianças em seu primeiro ano de vida, sendo a maxila seu principal sitio de acometimento. Clinicamente, caracteriza-se como um tumor séssil, indolor e pigmentada, podendo atingir grandes proporções que acarretam deformações faciais. O conhecimento acerca das suas características clínicas auxilia não somente o diagnóstico correto da lesão, como também a escolha da melhor conduta terapêutica, possibilitando assim, intervenções cirúrgicas mais conservadoras. Desse modo, o presente trabalho tem como objetivo revisar os casos de TNMI atendidos e biopsiados no Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe (UFS), caracterizando-os por meio de marcação imunohistoquímica (IHQ). Para tal, foi feita uma revisão das fichas de biópsias do Departamento, entre os anos de 2008 e 2018 e posterior análise por meio de IHQ após aprovação do comitê de ética local. Foi encontrado um único caso de TNMI, diagnosticado em 2009. Os dados clínicos e histopatológicos do caso foram revistos e o resultado da IHQ as células sugeriu imunopositividade para os marcadores HMB-45, S-100 e baixo percentual de marcação para o Ki-67. Estes dados confirmam a raridade do TNMI dos maxilares e as marcações da análise IHQ são compatíveis com as descritas na literatura previamente. A ausência de recidiva do tumor estudado após um acompanhamento de quase 10 anos do paciente, também está de acordo com as características das células tumorais, que mostraram um baixo índice de proliferação celular.

**Descritores**: Maxilares; Maxila; Neoplasia ; Tumor neuroectodérmico melanótico ; criança.

# ABSTRACT

The melanocytic neuroectodermal tumor of childhood (TNMI) of the jaws is a benign neoplasm, although it presents despite its clinical manifestations power that mimic aspects of malignancy. It has its origin TNMI arises from cells of the neural crest and affects mainly children in their first year of life, the maxilla being their main area of predilection. Clinically, it is characterized as a sessile mass, painless and pigmented, and can reach large proportions that lead to facial deformations. The knowledge about its clinical characteristics helps not to undergo the correct diagnosis of the lesion, but also in the choice of the best therapeutic behavior, thus allowing for more conservative surgical interventions. Thus, the present study aims to review the cases of TNMI treated and biopsied in the Department of Dentistry of the Federal University of Sergipe (UFS), characterizing them by means of immunohistochemical marking (IHC). For that, a review of the biopsy records of the Department was carried out, between the years of 2008 and 2018, and subsequent analysis of the IHQ mean after. The IHQ study was conducted through the approval of the local ethics committee. A single case of TNMI, diagnosed in 2009. The clinical and histopathological data of the case were reviewed and in the result of IHC the cells showed suggested immunopositivity for the HMB-45, S-100 and low marking percentages for Ki -67. The results These data confirm the rarity of TNMI of the jaws and the IHQ analysis markings are compatible with those described in the literature previously. The absence of relapse of the tumor studied after a follow-up of almost 10 years of the patient, is also in agreement with the characteristics of the tumor cells, which showed a low rate of cellular proliferation.



**Keywords:** Jaws; Maxilla; neoplasm; Melanotic neuroectodermal tumor; Child.

# LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| AFP | Alfa fetoproteina |
| DOD | Departamento de Odontologia |
| EMA | Antígeno epitelial de membrana |
| GFAP | Proteína glial fibrilar ácida |
| HMB-45 | Anti-melanosoma humano |
| IHQ | Imunohistoquimíca |
| Ki-67 | Proteína nuclear expressada em todas as partes ativas do ciclo celular e codificada pelo gene MKI67 |
| Melan A | Marcador de diferenciação melanocítica |
| NSE | Enolase neurônio-específica |
| S-100 | Proteínas de baixo peso molecular caracterizadas por dois sítios de ligação ao calico |
| TC | Tomografia computadorizada |
| TNMI | Tumor neuroectodérmico melanótico da infância |
| UFS | Universidade Federal de Sergipe |
| VMA | Ácido vanililmandélico |

# LISTA DE E FIGURAS E TABELAS

**Tabela 1** - Anticorpos utilizados no estudo..... 18

**Figura 1** - Achados histopatológicos e imunohistoquímicos..... 22

# SUMÁRIO

**1 INTRODUÇÃO** ..... 11
**2 OBJETIVO** ..... 12
**3 REVISÃO DE LITERATURA** ..... 12
3.1 Tumor neuroectordérmico melanótico da infância ..... 12
**4 METODOLOGIA** ..... 17
4.1 Aspectos éticos ..... 17
4.2 Levantamento de casos ..... 17
4.3 Reação de imunohistoquímica ..... 17
**5 RESULTADOS** ..... 19
**6 DISCUSSÃO** ..... 21
**7 CONCLUSÃO** ..... 24
**REFERÊNCIAS** ..... 26
**ANEXOS** ..... 30

# 1 INTRODUÇÃO

Lesões pigmentadas podem estabelecer-se na cavidade oral, resultantes de um efeito fisiológico ou patológico. Muitas destas alterações são produtoras de melanina e podem exibir tanto comportamento benigno, quanto constituir verdadeiras neoplasias malignas (Alawi, 2013; Veeraraghavan et al., 2017). Vários aspectos devem ser considerados durante a anamnese para esses tipos de lesões, como superfície da mesma, consistência, duração, sintomatologia e histórico familiar (GONDAK *et al.*, 2012). Dentre as alterações que podem apresentar pigmentação e que merecem destaque à clínica odontológica está o tumor neuroectodérmico melanótico da infância (TNMI).

Formas de apresentações extracranianas do TNMI podem ocorrer em outras áreas do corpo, como nos epidídimos, nos ossos longos e os órgãos genitais (Bangi e Tejasvi, 2012). Entretanto, esse estudo se limita a abordar as lesões de envolvimento nos maxilares. Embora o TNMI seja uma lesão de baixa ocorrência nos maxilares, sendo descrito pouco mais de 450 casos na literatura, a sua relevância clinica reside em afetar geralmente crianças nos primeiros 06 meses de vida e o risco de comprometimento das estruturas adjacentes vitais, o que pode acarretar em morbimortalidade, sobretudo devido ao seu crescimento rápido e expansivo. Comumente, a região de maxila é a de maior ocorrência, não impedindo que demais áreas do complexo maxilo-facial possam ser afetadas, o que pode ocasionar sérias complicações aos seus portadores, incluindo entre outras, severas deformidades faciais e problemas na alimentação, tornando fundamental o seu diagnóstico precoce (Rachidi et al., 2015; Goswami et al., 2016).

Clinicamente, não há predileção por sexo e apresenta-se como uma massa tumoral intraóssea expansiva, firme à palpação, indolor, não ulcerativa e de coloração preto azulada, embora esta característica possa não estar sempre presente (LOPEZ, 1976). Apesar de sua natureza benigna, pode denotar aparência de malignidade, com um comportamento às vezes agressivo, e com uma taxa de recorrência que pode ser alta (Gonçalves et al., 2010). Radiograficamente, é observada a presença de áreas radiolúcidas osteolíticas difusas, enquanto o padrão histológico exibe, frequentemente, a presença de dois tipos celulares, com áreas pigmentadas (Reddy et al., 2013).

Sua etiopatogenia foi por muito tempo motivo de debate no meio acadêmico, tendo sido proposto que sua origem seria odontogênica, entretanto estudos imunohistoquímicos e ultra estruturais demonstraram sua ligação com a crista neural (Gonçalves et al., 2010), uma

estrutura embrionária de origem na região do tubo neural, responsável por formar estruturas esqueléticas teciduais e cartilaginosas na região da face (Campos et al., 2015). Como diagnóstico diferencial podem ser citados outros tumores de origem neuroendócrina e pediátricos, como o neuroblastoma (Andrade et al., 2016). O TNMI tem sido associado com elevada excreção urinária de ácido vanililmandélico, sendo este um metabólito da epinefrina e norepinefrina. Isso reforça a tese de que o tumor seja originário da crista neural (Rachidi et al., 2015).

O tratamento dessa lesão é realizado principalmente por enucleação e alguns casos a abordagem pode ser por ressecção do tumor com margens ou segmental, o que pode requerer a reconstrução facial do paciente. Alguns estudos trazem a possibilidade da utilização da radioterapia e quimioterapia de maneira auxiliar ao tratamento como uma possibilidade de evitar maiores danos estéticos e funcionais, porém, não há ainda comprovação científica quanto a isso (Barnes et al., 2016). Devido à raridade da ocorrência do TNMI nos ossos maxilares, o presente estudo permite uma revisão da literatura sobre os aspectos clínicos, histopatológicos, imunohistoquímicos e moleculares desta lesão com exposição de um caso-clínico que possibilite um maior conhecimento e ciência na detecção dessa patologia.

## 2 OBJETIVO

Fazer um levantamento dos casos de tumor neuroectodérmico melanótico da infância atendidos e biopsiados no Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe, entre os anos de 2008 e 2018,e caracteriza-los através da análise imunohistoquímica os tumores encontrados.

## 3 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Tumor Neurectodérmico Melanótico da Infância (TNMI)

O tumor neuroectodérmico melanótico da infância (TNMI) foi descrito pela primeira vez em 1918 por Kroemberger (Albuquerque et al., 2016). O TNMI dos maxilares é uma neoplasia benigna de acometimento raro, com padrão de crescimento rápido e afeta, principalmente, recém-nascidos ou bebês nos primeiros 12 meses de vida. Tem predileção

pela região craniofacial, com predomínio na maxila (Higashi et al., 2016). Sua apresentação se assemelha às lesões malignas, podendo ser localmente agressivo com invasão nos ossos adjacentes e seios faciais, além de serem caracterizados por uma alta taxa de recorrência, que varia entre 10% a 60%, e uma possibilidade de malignização de aproximadamente 6,6% (Falbo et al., 2013).

O TNMI apresenta-se clinicamente como uma tumefação firme, séssil que geralmente envolve o osso alveolar dos maxilares causando o deslocamento do germe dentário que possa estar envolvido com a lesão (Marschall et al., 2018). De acordo com Nazir et al. (2009), essa neoplasia traz como seu principal transtorno uma assimetria severa da face, que em alguns casos, pode afetar a capacidade de deglutição do indivíduo. Sua coloração enegrecida/azulada se deve à presença de melanina, que por vezes é confundida com uma malformação vascular ou até mesmo a um cisto de erupção (Moreau et al., 2018). Não existe ainda um consenso quanto à predileção por sexo, pois os atuais estudos apontam uma mesma frequência de ocorrência (Júnior et al ., 2004).

Nas radiografias convencionais, TNMI apresenta-se como uma lesão radiolúcida com expansão óssea que pode causar determinada destruição óssea e deslocamento dentário (Nazir et al., 2009). Semelhantemente ao osteossarcoma, o TNMI pode compartilhar das mesmas características radiográficas, exibindo inclusive o aspecto com reações periosteais do tipo "raio de sol", o que contribui para referir o osteossarcoma como um diagnóstico diferencial (Júnior et al., 2004). O principal exame de imagem utilizado para o diagnóstico e planejamento do tratamento desse tumor é a tomografia computadorizada (TC), pois esta permite uma melhor visualização da lesão em relação aos tecidos moles e aos ossos adjacentes, além de possibilitar um melhor planejamento cirúrgico (Júnior et al., 2004; Haque et al, 2013).

São considerados como possíveis diagnósticos clínicos diferenciais do TNMI cistos e tumores de rápido crescimento, que possam estabelecer-se na região da maxila como o neuroblastoma - um tumor maligno que acomete bebês e crianças e que pode ocorrer em qualquer local do sistema nervoso simpático. Além do cisto de erupção, lesão que acomete dentes que estão prestes a erupcionar, entretanto, esse cisto não é detectável no exame radiográfico por não ter envolvimento ósseo, o que o diferencia do TNMI. O linfoma de Burkit pode também ser considerado como um diagnóstico diferencial, apesar das idades de acometimento serem distintas, e o diagnóstico definitivo só pode ser dado através do exame histológico (Bangi e Tejasvi, 2012). Renner e Abdulai (2009) relataram dois casos de TNMI em crianças menores de um ano, e em ambas as situações a hipótese de diagnóstico foi de

linfoma de Burkit, mesmo sendo uma idade atípica para o acometimento desta patologia. Para elucidação do caso, realizou-se a biópsia incisional e através do exame histopatológico foi possível constatar se tratar do TNMI.

A sua etiologia foi fonte de grande discussão. Desse modo, algumas hipóteses foram sugeridas para tentar explicar seu surgimento, incluindo restos odontogênicos e até mesmo tecidos da retina como fontes indutoras, o que culminou em diversas nomenclaturas ao longo dos anos, como tumor da retina, ameloblastoma pigmentado, odontoma epitelial melanótico, teratoma pigmentado, entre outros. A fim de elucidar essa questão, estudos imunohistoquímicos, ultraestruturais e miscrocopia eletrônica foram utilizados e apontam a origem dessa lesão à cristal neural (Borello e Gorlin, 1966; Nazir et al., 2009; Pinheiro et al, 2013).A cristal neural corresponde a um conjunto de células multipotentes que tem sua origem na região do tubo neural durante a fase de neurulação (Bittencout, 2013). Essa estrutura será responsável pela formação dos arcos faríngeos, e a partir destes, importantes estruturas da face serão constituídas, como os processos maxilar e mandibular (Campos et al., 2015).

A pigmentação presente no tumor tem colaborado para a defesa da cristal neural como seu fator de origem. Para reforçar essa hipótese, descobriu-se por meio de exames laboratoriais que pacientes portadores dessa lesão apresentam uma elevada taxa de ácido vanililmandélico (VMA) presente na excreção urinária, sendo este resíduo orgânico apontado como um potencial marcador dos tumores neuroectodérmicos (Bangi e Tejasvi, 2012). Após a remoção do tumor, a taxa de VMA é novamente avaliada e tem mostrado uma significativa redução ( Borello e Gorlin, 1966; Antunes et al., 2005 ).

Microscopicamente, o TNMI possui uma apresentação bifásica, com presença de células redondas pequenas e claras (que se assemelham aos neuroblastos, em diferentes fases de ontogenia (Santos et al., 2018) e células epitelioides, com quantidade variável de melanina e citoplasma eosinofílico. A apresentação histológica assemelha-se à outras desordens de origem neuroendócrina, destacando o nevo azul, melanoma e neuroblastoma, porém, a associação com suas características clínico-imaginológicas é essencial para um diagnóstico definitivo (Krishnamurthy et al., 2011). Mendis et al. (2011) ressaltam sobre a atenção que deve ser dada no momento da análise desse tumor para a possível presença de células do epitélio odontogênico da lâmina dentária, que se deve à proximidade deste com o germe dentário, o que pode gerar um diagnóstico errôneo de tumor odontogênico.

A composição das células do TNMI pode ser demonstrada através do exame de imunohistoquímica (IHQ), que auxilia no seu diagnóstico conclusivo. A IHQ é uma técnica

que utiliza anticorpos com reagente específicos para identificar e estabelecer ligações com constituintes teciduais que funcionaram como antígenos (Ferro, 2013).O principio do processo imunohistoquimico é reação de antígenos celulares ou teciduais por uma reação antígeno-anticorpo, tendo como principais aplicações o diagnóstico de tumores indiferenciados, origem de tumores metastáticos ou até mesmo detecção de receptores hormonais (Bacarelli,1995). As células epitelioides expressam com frequência citoqueratina, anti-melanosoma humano (HMB-45) e antígeno epitelial de membrana (EMA), sendo rara sua positividade à proteína S-100 e negativo para proteína Melan-A (um marcador de diferenciação melanocítica), proteína glial fibrilar ácida (GFAP) e alfa feto-proteina (AFP) (Falbo et al., 2013; Strieder et al., 2016; Unsal e Yalçin, 2018). Em caso relatado por Santos et al. (2018), observou-se que em uma menina de 6 meses de vida, as células produtora de melanina foram reativas para HMB-45 e Melan-A O mesmo artigo ainda cita outros marcadores neuroendócrinos que podem auxiliar no diagnóstico final, como sinaptofisina e a enolase neurônio-específica (NSE).

Em relação ao tratamento do TNMI, a terapia mais sugerida é a intervenção cirúrgica, e em alguns poucos casos a quimioterapia e radioterapia podem ser cogitadas, havendo ainda divergência quanto aos limites que devem ser respeitados no momento da enucleação desse tumor e a deformidade que essa pode causar (Marschall et al., 2018). De acordo com uma revisão sistemática incluindo 288 artigos e 429 TNMIs, o tratamento mais utilizado, em cerca de 67% dos casos, foi a enucleação podendo essa ser associada com a curetagem caracterizando uma baixa taxa de recorrência. O tratamento com o menor índice de recorrência, segundo o artigo, foi a ressecção marginal e segmentar, com cerca de 11% e 10% respectivamente. Os tratamentos auxiliares como quimioterapia e radioterapia mostraram ainda uma baixa taxa de adesão, com menos 3% em ambos os tratamentos (Chrcanovic e Gomez, 2018). Moreau et al. (2018) trouxeram em seu artigo o relato do caso de um bebê de 4 meses de idade que apresentava um tumor de aproximadamente 6 x 5 cm, com evolução clínica de dois meses. A mesma foi submetida a algumas sessões de quimioterapia e após o terceiro ciclo quimioterápico a lesão foi novamente avaliada através de TC em que foi possível comprovar uma redução significativa no tumor, o que permitiu a excisão cirúrgica mais conservadora, preservando mucosa e uma cicatrização primária. Higashi et al. (2015) defendem a utilização da quimioterapia como auxilio em caso que a excisão cirúrgica é incompleta ou em lesões de comportamento agressivo.

Brandão et al. (2016) relatam em seu artigo o caso de um paciente de 7 meses com TNMI no rebordo alveolar, região das unidades 72 e 73, onde foi realizada ressecção

completa do tumor com inclusão do assoalho nasal, respeitando a margem de segurança de 5 mm. Foi confeccionado uma placa cicatrizante de acrílico para obturação após a cirurgia, permitindo a alimentação do paciente, a mesma foi retirada após 3 semanas e substituída por uma prótese obturadora. Azarisamani et al. (2016) abordam o caso de TNMI apresentando envolvimento extenso da mandíbula. Optou-se a realização de uma hemimandibulectomia direita com conservação do disco articular, hemimandubulectomia parcial no lado esquerdo, margem de segurança de 1cm, com remoção dos linfonodos submandibulares bilateralmente. O contorno mandibular foi mantido através de placas pré-fabricadas e uma prótese condilar foi realizada reconstrução secundária da mandíbula 5 anos após a ressecção do tumor, utilizando enxerto fibular vascularizado.

Embora sejam tumores benignos, existe possibilidade de malignização do TNMI (Falbo et al., 2013; Murphy et al., 2016). Foram descritas a ocorrência de raros casos de metástases acometendo os gânglios linfáticos regionais, o fígado, a pleura e a medula óssea ; nesses casos, as células semelhantes aos neuroblastos foram apontadas como os fatores agressivos da lesão (Gonçalves et al., 2010). Azarisamani et al. (2016) em seu trabalho mencionam que após ressecção segmental do tumor e remoção dos linfonodos bilaterais foi possível constatar a presença de células tumorais nos linfonodos com base no exame histopatológico. Diante disso, foi realizada de maneira complementar ao tratamento, 9 sessões de quimioterapia. A quimioterapia tem sido sugerida não apenas como forma complementar pós-cirúrgica, mas também, nos casos em que os tumores atingem grandes proporções, e consequentemente, sua excisão poderia causar uma deformidade severa e até mesmo afetar alguma função. Nesse sentido, essa modalidade tem sido debatida quando se fala do tratamento de tumores da cabeça e do pescoço, com o intuito de proporcionar um manejo cirúrgico mais conservador (Brandão et al., 2016).

Com relação à patogênese do TNMI dos maxilares, escassos são os estudos que se propuseram a investigar os aspectos moleculares envolvidos na sua tumorigênese. Mutações no gene BRAF são uma das principais alterações descritas em neoplasias de origem neuroendócrina, como melanomas e outros tumores melanocíticos (Hsieh et al., 2016). A principal mutação oncogênica detectada em BRAF é a BRAF V600E, que resulta da substituição do aminoácido valina por um ácido glutâmico no códon 600 e tem sido bastante estudada em melanomas tanto os cutâneos, quanto os orais, com cerca de 90% dos casos cutâneos apresentando a mutação do tipo BRAF V600E (Chen et al., 2018). Diante das similaridades histológicas e embrionárias do TNMI dos maxilares e o melanoma, Gomes et al. (2015) investigaram a presença dessa mutação em três casos de TNMI, sendo a mutação

identificada em um, indicando uma possível relação da ocorrência da mutação BRAF V600E em TNMI.

Já recidivas do tumor são geralmente associadas a uma excisão incompleta ou a uma invasão difusa das células da lesão na medula óssea, por ausência de uma cápsula fibrosa (Krishnamurthy et al., 2011). O TNMI é caracterizado por uma variável taxa de recorrência, que pode atingir níveis de até 60% (Falbo et al., 2013), o que também demonstra a importância do conhecimento sobre as características desse tumor.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Aspectos Éticos

O estudo IHQ foi feito após aprovação pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos da UFS, sob protocolo **CAAE: 82118018.1.0000.5546** e número de parecer: **2.517.569** (Anexo).

### 4.2 Levantamento de Casos

Os casos recuperados dos arquivos, foram submetidos à reações de IHQ para marcadores que confirmassem o diagnóstico histopatológico.

Os respectivos blocos foram recuperados dos arquivos do Laboratório de Patologia do Hospital Universitário da UFS.

### 4.3 Reação de Imunohistoquímica (IHQ)

Os blocos de parafina contendo a lesão foram submetidos a cortes histológicos de espessura de 4 µm e montados em lâminas de vidro silanizadas (StarFrost, Knittël Gläser, Germany). Os anticorpos primários utilizados foram o HMB45, S-100 e Ki-67, para caracterização das células do tumor (Tabela 1).

**Tabela 1**. Anticorpos utilizados e condições

| Anticorpo | Clone | Fabricante | Diluição | Recuperação antigênica | Sistema de detecção |
|---|---|---|---|---|---|
| Anti-melanosoma humano | HMB-45 | Dako | 1: 80 | Ácido cítrico pH 6,0 | LSAB |
| S-100 | Policlonal | Dako | 1: 500 | Sem recuperação | LSAB |
| Ki-67 | MIB-1 | Dako | 1: 100 | Ácido cítrico pH 6,0 | LSAB |

Fonte: Autor

A técnica foi executada manualmente, conforme orientações dos fabricantes.

Para mascarar a melanina presente no tumor, realizou-se o protocolo de *bleaching*, ou branqueamento da melanina, conforme descrito em Liu et al. (2013).

No primeiro dia, as lâminas contendo os cortes de TNMI foram submetidas à desparafinação com Xilol, seguidas de hidratação com alcoóis em diferentes concentrações. Ao término dessa etapa, as lâminas foram submetidas à lavagem com água destilada, procedida da fase de recuperação antigênica com tampão Citrato (pH 6,0) aquecida em forno micro-ondas à temperatura de 90°C por 20 min. Após período de repouso da solução em temperatura ambiente, foi aplicado BSA a 1% diluído em solução Tris-HCL (pH 7,4) para eliminação de coloração de fundo, para posterior aplicação do anticorpo primário e incubação *overnight* a 4 °C.

No segundo dia, procedeu-se à desincubação das lâminas contendo o anticorpo, acompanhado de lavagem com solução de Tris-Triton (pH 7,4) e seguida de incubação com peróxido de hidrogênio a 10%. Aplicou-se o sistema de detecção LSAB (Dako, Carpinteria, CA, USA) e lavagem das lâminas com tampão Tris-Triton. Após essas etapas, procedeu-se à coloração com cromógeno DAB (Dako, Carpinteria, CA, USA), lavagem com água para cessar a reação química e contra-coloração com hematoxilina. Por fim, foram realizados banhos de reidratação com alcoóis, fixação com xilol e logo depois montagem das lâminas para visualização microscópica.

## 5 RESULTADOS

Após as buscas nas fichas de biópsias dos casos atendidos no Departamento de |Odontologia da Universidade Federal de Sergipe (DOD-UFS), entre os anos de 2008 e 2018, foi encontrado somente um caso de TNMI. As características do único caso de TNMI encontram-se apresentadas na descrição abaixo. O paciente G.S.V., apresentava 3 meses de vida, era feoderma, do sexo masculino com aumento de volume no rebordo alveolar superior, região das unidades 61 e 62 com histórico de surgimento há dois meses, que foi crescendo rapidamente, segundo relatos da mãe. Ao exame físico extraoral foi notada assimetria na região paranasal esquerda, além da presença de uma mancha discretamente enegrecida e acastanhada na pele da cabeça, região parietal. Ao exame físico intrabucal notou-se expansão no rebordo alveolar da maxila esquerda tumefação séssil, firme, de coloração semelhante à mucosa, recoberta por mucosa íntegra, provocando apagamento de fundo de saco e parcial erupção de alguns dentes decíduos. Na TC, em corte axial com janela para tecido mole, foi observada imagem hipodensa unilocular, na região das unidades 61 e 62, bem circunscrita, com dimensões de 2,17 cm x 1,86 cm, provocando expansão da cortical vestibular e deslocamento de alguns dentes decíduos. As hipóteses diagnósticas foram de tumor odontogênico, displasia fibrosa, além de TNMI.

Diante de tais hipóteses de diagnóstico, foi planejado submeter o paciente à biopsia incisional sob anestesia geral. Entretanto, após a incisão no rebordo, observou-se a presença de coloração enegrecida e azulada, remetendo ao TNMI, fazendo com que os cirurgiões optassem pela completa exérese do tumor, além da remoção da unidade 61, tendo em vista a pouca idade do paciente. Foi biopsiada também, a mácula acastanhada visualizada no exame clínico na região parietal. As peças foram fixadas em formol a 10% e enviadas para análise anatomatopatológica no laboratório de patologia do Hospital Universitário da UFS.

A análise macroscópica mostrou duas peças, a primeira correspondendo ao tumor excisado da maxila, de formato circular, superfície irregular e coloração enegrecida com seu maior comprimento com cerca de 2 cm; e a segunda em formato elíptico com seu maior comprimento em torno de 1cm, correspondente à mancha. Nos cortes histológicos, da lesão em maxila, foram observados uma proliferação de dois componentes celulares dispersos em um tecido fibroso O primeiro formado por grandes células epitelioides contendo depósitos de grânulos de melanina, dispostos em ninhos ou cordões sólidos. E o segundo tipo consistia de lençóis ou ninhos de células com núcleo pequeno, redondo e claro, semelhantes a

neuroblastos (Figura 1 A, B, C). Com base nos aspectos histopatológicos e clínico-radiográficos, o diagnóstico do tumor enucleado em maxila foi de TNMI. O paciente ainda se encontra em acompanhamento pelos cirurgiões do DOD-UFS que foram responsávei pelo tratamento do caso em questão, após 10 anos de enucleação do tumor, não se evidencia recidiva.

Após estudo imunohistoquímico, para melhor caracterização das células do tumor, pode-se observar positividade para HMB-45 e S-100 nas células semelhantes aos melanócitos e neuroblastos, respectivamente. O índice Ki-67 foi inferior a 5% (Figura 1D, E, F), confirmando a presença de células de diferenciação melanocítica e neural que ocorrem no TNMI.

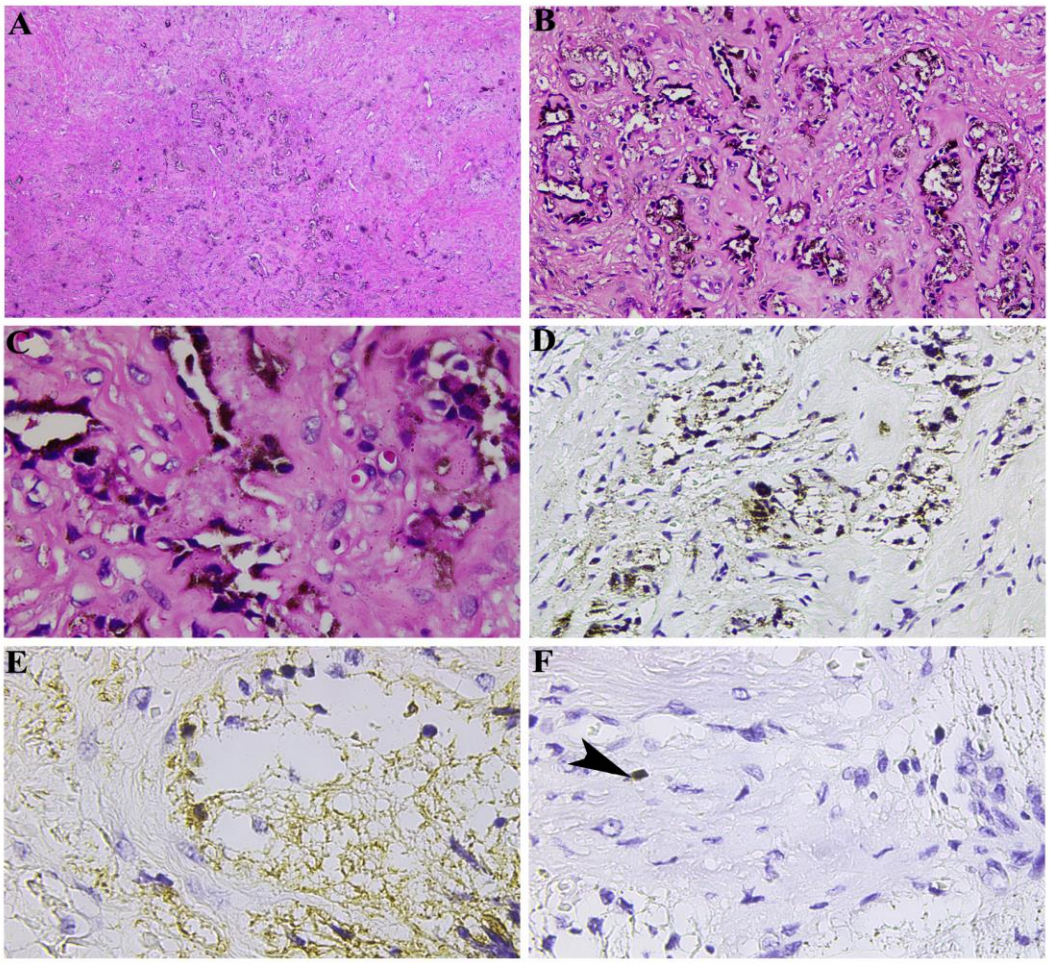


**Figura 1:** Achados histopatológicos e IHQ. As secções de hematoxilina e eosina mostram: (A) proliferação de uma população de células bifásicas num tecido fibroso (HE, x40); (B, C) Lençóis e ninhos de grandes células epitelioides pigmentadas por melanina e pequenas células arredondadas semelhantes a neuroblastos (HE, 200 e x600). Análise IHQ mostrando: forte positividade para (D) HMB-45, (E) S-100 e (F) escassa positividade (cabeça de seta) para Ki-67 (IHQ marcada com DAB e contrastada com hematoxilina, x200 e x400). Fonte: Autor.

## 6 DISCUSSÃO

Desde sua descoberta no início do século XX, o TNMI, tem sido foco de estudos que visam tanto a compreensão quanto a elucidação da sua patogênese. Clinicamente, o TNMI dos maxilares pode ser definido como um tumor bem delimitado, circunscrito e de coloração enegrecida, entretanto, o comportamento biológico rápido e expansivo podem ocasionar destruição óssea, perda de unidades dentárias adjacentes e deformidade estética (Rachidi et al., 2015; Santos et al., 2018). Comumente, os pacientes são acometidos no primeiro ano de vida e não há predileção por sexo. O caso relatado condiz com esses achados, trazendo como aspecto diferencial, o possível acometimento do TNMI em dois locais distintos em um mesmo paciente e com modos de apresentação clínicas peculiares. No presente caso, a criança possuía além do TNMI diagnosticado em maxila, uma mácula pigmentada em região parietal, a qual apesar de sugerir a ocorrência do TNMI, não teve o diagnóstico confirmado por meio da avaliação histopatológica. A IHQ poderia nesse sentido, ter sido de grande valia para ajudar na elucidação do possível diagnóstico de TNMI no sítio extra-oral desse paciente, entretanto, infelizmente, o estudo não foi possível de ser realizado no bloco correspondente à mancha pigmentada.

A ocorrência em regiões extra-orais para este tipo de afecção é também extremamente baixa, sendo algumas áreas de incidência o cérebro, testículo, epidídimo (Batta et al., 2016; Chrcanovic e Gomez, 2018). Contudo, Evans e Wolley (2018) descreveram em seu trabalho um caso isolado dessa patologia envolvendo apenas a região pós-auricular de recém-nascido, um sítio anatômico distinto dos locais descritos. Uma característica marcante para estabelecimento do diagnóstico é a presença de ácido vanilmandélico na urina, atestando para provável origem do tumor na crista neural (Bangi e Avinash Tejasvi, 2012; Rachidi et al., 2015). No presente relato, o exame laboratorial foi positivo para pesquisa desse metabólito. Preconiza-se que os níveis de ácido vanilmandélico na urina devem estar acima de 15% durante as primeiras 24 h de coleta (Tandon et al., 2011).

Devido às similaridades com demais doenças da cabeça e pescoço, deve-se incluir no diagnóstico diferencial tumores de natureza neoplásica como neuroblastoma, rabidomiossarcoma e epúlide congênita, além de lesões hamartamatosas, citando hemangiomas e linfangiomas (Bangi e Avinash Tejasvi, 2012). Dentre as principais ferramentas empregadas como recurso diagnóstico estão os exames de imagem e avaliação histopatológica (Rachidi et al., 2015). Preferencialmente, tem-se dado valor a TC como

recurso, essa permitindo a visualização mais clara do real envolvimento ósseo permitindo avaliar o grau de expansão e remodelamento ósseo, auxiliando no planejamento cirúrgico, além de informações quanto à multicentricidade da lesão.

Microscopicamente, o tumor é caracterizado por um padrão celular bifásico, contendo células de origem epitelioide, que podem apresentar pigmentos de melanina dispersos, e pequenas células neuroblásticas, sendo circundado por um tecido conjuntivo fibroso moderadamente vascularizado, com a presença ou não do epitélio odontogênico (Bangi e Avinash Tejasvi, 2012; Goswami, 2016). Sobre isso, Mendis et al. (2012) demonstraram através da análise de caso, a possibilidade da presença de restos de epitélio odontogênico em achados histológicos, sendo sua ocorrência justificada pela associação do tumor com germes dentários. Entretanto, essa característica não é um achado histológico marcante para classificação diagnóstica, sendo que o caso anteriormente descrito não se detectou a presença de tais estruturas, ainda que o tumor relatado estivesse provocando o deslocamento da unidade 61.

Alguns autores preconizam a ressecção, com margem de segurança de cerca de 5 mm como forma de tratamento visando evitar uma recorrência da lesão (Rustagi et al., 2011; Brandão et al., 2016). Chrcanovic e Gomes (2018) trazem relato de autores que defendem não ser necessário uma margem de segurança, baseado no fato de que as ilhotas tumorais podem regredir espontaneamente mesmo após uma ressecção incompleta. A preferência por essa modalidade terapêutica pode ser justificada pela alta invasividade dos tecidos vizinhos e a possibilidade de transformação maligna (Murphy et al., 2016). Entretanto, em uma recente revisão sistemática de mais de 400 casos de TNMIs, quase 70% dos TNMIs dos maxilares foram tratados com enucleação. Ainda nesse estudo, 22% dos TNMIs recidivaram, sendo o tratamento por meio da curetagem a modalidade que mostrou as maiores taxas de recorrência. Alguns trabalhos atribuem a elevada taxa de recorrência a uma possível multicentricidade do tumor, uma excisão inadequada ou até mesmo uma semeadura dos tecidos periféricos no ato da cirurgia (Rustagi et al., 2011; Emmerling et al., 2018). Concomitantemente à cirurgia, tem-se optado pela quimioterapia e radioterapia como tratamentos adjuvantes, especialmente em tumores de grandes proporções e com risco de envolvimento de estruturas vitais, seguidas de técnicas reconstrutivas (Maroun et al., 2016). Por isso, todos esses aspectos tornam a proservação da patologia uma ferramenta fundamental para resolução dos casos.

A realização do exame da imunohistoquimica para o TNMI tem uma grande relevância quanto se trata da elucidação de determinadas características desse tumor. Alguns marcadores são geralmente utilizados para a obtenção do seu diagnóstico, como o S-100, que

normalmente não expressa reatividade difusa em relação a essa lesão (Santos et al., 2018). Outros marcadores como o HMB45, Melan A e citoqueratina também são utilizados para a obtenção conclusiva do diagnóstico (Falbo et al., 2013) No caso aqui relatado, foi realizada a IHQ com os marcadores S-100, HMB45, sendo positivos ambos os marcadores nas células de morfologia neuroblástica e melanocítica respectivamente, diferindo em certo modo dos achados de Santos et al. (2018), em relação a positividade do S-100. Mendis et al. (2012) através de um relato de caso e estudo das características IHQ do TNMI, descreve positividade do seu caso ao marcador S-100.

Outro marcador utilizado no caso aqui descrito foi o Ki-67, sendo seu índice inferior a 5%. Gonçalves et al. (2010) em seu trabalho observaram a expressão positiva das células neoplásicas do tumor para os marcadores Ki-67, ciclina B1, p53 e CD99. Os mesmos autores mencionam ainda que a positividade do TNMI tanto para o anticorpo Ki-67 quanto ao CD99, pode estar relacionado ao aumento da agressividade tumoral. Barret et al. (2002) através de seu artigo corroboram para essa afirmação, já que após o acompanhamento de 8 casos de TNMIs, o único caso que apresentou positividade ao Ki-67 e CD99 demonstrou alta agressividade, afetando grande parte da mandíbula em um curto tempo de evolução, mesmo após tratamento ressectivo. Alguns pesquisadores defendem que a positividade a esses anticorpos são de grande importância no momento de definição do prognóstico do tumor (Hamilton et al., 2008). Corroborando com a escassa e quase negativa marcação do Ki-67 visualizada no presente caso, reside o fato de o TNMI estudado não ter recidivado, mesmo após um acompanhamento longo, de 10 anos, desde a sua remoção. Nossos achados reforçam a marcação de Ki-67 como um indicador de melhor prognóstico do TNMI, entretanto, Chrcanovic e Gomez (2018) não encontraram nenhuma diferença significante no percentual de Ki-67 entre lesões que recidivaram ou não.

Ainda em relação à agressividade do tumor e ao fato de uma mutação oncogênica encontrada em neoplasias malignas agressivas como os melanomas, carcinomas papilíferos de tireoide e adenorcarcinomas de pulmão (Soma et al., 2014; Hsieh et al., 2016), também estar presente no TNMI (Gomes et al., 2015), pode contribuir para explicar o pior comportamento clínico de algumas dessas alterações. Gomes et al. (2015) analisaram uma série de 03 casos de TNMI com extração do DNA e concluiu que um dos casos foi positivo à presença da mutação BRAF V600E. Essa mutação já foi descrita por ocorrer em alta frequência em ameloblastomas (Kurppa et al., 2014), e estudos de correlação clínicopatológica, mostraram uma maior agressividade dos tumores que expressam a proteína BRAFV600E, quando comparados com os ameloblastomas negativos (Fregnani et al., 2017).

Infelizmente, a raridade do TNMI, associada com a ausência de estudos tipo série de casos que avaliem um número elevado desses tumores, não permitem, até o momento, que se saiba a frequência de ocorrência dessa mutação no TNMI, e nem a importância, do ponto de vista prognóstico, da sua presença no tumor.

É interessante destacar que a descoberta de características moleculares dos tumores benignos e malignos tem permitido a criação de novos tratamentos que visam a menor mutilação aos pacientes, utilizando inibidores para o, gene BRAF, como vemurafenib e dabrafenib ( Hall e Kudchadkar, 2014; Kaye et al., 2014; Gomes et al., 2015; Tan et al., 2016; Fernandes et al., 2018). Hall e Kudchadkar (2014) estudaram a presença dessa mutação e a atuação dos inibidores em diferentes tipos patologias, inclusive o melanoma, chegando a conclusão que o BRAF atua em diferente níveis e assim são seus inibidores, que podem aumentar a sobrevida dos seus pacientes. Ainda nesse artigo, os autores trazem a possibilidade de correlacionar dois inibidores diferentes para aumentar a eficácia do tratamento. Em ameloblastomas, o uso de estudos clínicos com inibidores de BRAF já são também uma realidade, com alguns estudos demonstrando uma redução significativa do tumor primário ou recidiva. Kaye et al. (2014) e Tan et al. (2016) fizeram uso de dabrafenib 150 mg em pacientes com ameloblastomas recidivantes, e Fernandes et al. (2018), do vemurafenib 960 mg. Dessa forma, novos tratamentos visando alvos moleculares, como a mutação descrita, poderiam também já ser aplicados no TNMI, diminuindo a chance de um tratamento mutilador aos pacientes, se os estudos da patogênese do TNMI estivessem mais avançados.

## 7 CONCLUSÃO

Neste trabalho revisou-se várias características clínico-patológicas, do TNMI. Sendo possível confirmar a raridade desse tumor, através da ocorrência de um único caso em um intervalo de quase 10 anos,. Adicionalmente observou-seas características histológicas que levaram ao diagnóstico do caso, e foi possível caracterizar as células dele através do estudo imunohistoquímico. A revisão através da literatura mostrou a necessidade de maiores pesquisas com o objetivo da elucidação da patogênese desse tumor. A utilização de técnicas moleculares tem sido utilizada pelos pesquisadores como uma importante ferramenta para obtenção de maiores dados sobre os tumores. É através delas que se detectou a presença da mutação oncogênica BRAF V600E no TNMI. Estudos mais robustos que ampliem a abordagem dessa mutação e seus impactos no desenvolvimento do TNMI podem como

defendem alguns pesquisadores, auxiliar em uma melhor definição de prognóstico, além de uma nova possibilidade de tratamento através da atuação nesse alvo molecular.

# REFERÊNCIAS


1 Alawi F. Pigmented lesions of the oral cavity. An update. Dent Clin North Am. 2013;57(4):699–710.

2 Veeraraghavan G, S Hiremath S, Sapra G, Singh S. Pigmented oral lesion. Int J Oral Heal Sci. 2017;7(2): 101-104.

3 Gondak RO, da Silva-Jorge R, Jorge J, Lopes MA, Vargas PA. Oral pigmented lesions: Clinicopathologic features and review of the literature. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012;17(6):919-24.

4 Bangi B, Avinash Tejasvi M. Melanotic neuroectodermal tumor of infancy: A rare case report with differential diagnosis and review of the literature. Contemp Clin Dent. 2012;3(1):108.

5 Argarwal O, Saxena S, Kumar S, Gupta R. Melanotic neuroectodermal tumor of infancy: Presentation of case affecting the maxila. J of Oral and Maxillofacial Pathology. 2010; 14 (1): 29-32.

6 Rachidi S, Sood AJ, Patel KG, Nguyen SA, Hamilton H, Neville BW, et al. Melanotic neuroectodermal tumor of infancy: A systematic review. J Oral Maxillofac Surg. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons; 2015;73(10):1946–56.

6 Goswami M. Melanotic Neuroectodermal Tumor of Infancy. J Clin Diagn Res. 2016; 10(6): ZJ07–ZJ08.

7 Selim H, Shaheen S, Barakat K, Selim AA. J. Melanotic neuroectodermal tumor of infancy: review of the literature and report of case. J Pedriatic Surgery. 2008;43: E25-E29

8 Goncalves CF, Costa Ndo L, Oliveira-Neto HH, Jesus LA, Sant'Ana SS, Leles JL. et al. Melanotic neuroectodermal tumor of infancy: report of 2 cases. 2010th ed. J Oral Maxillofac Surg. 2010;68(9):2341–2346.

9. Reddy ER, Kumar MS, Aduri R, Sreelakshmi N. Melanotic neuroectodernal tumor of infancy: A rare case report . Contemporany Clinical Dentistry. 2013;4(4):559-562.

10 Andrade NN, Mathai PC, Sahu V, Aggarwal N, Andrade T. Melanotic neuroectodermal tumour of infancy - A rare entity. J Oral Biol Craniofacial Res. Craniofacial Research Foundation; 2016;6(3):237–40.

9 Campos B, Susanibar F , Carranza C, Oliveira N . Embriologia do sistema estomatognático.Motricidade Orofacial: fundamentos neuroanatômicos, fisiológicos e linguísticos. 2015. 1ºed. 23-60.

10 Barnes DJ, Hookway E, Athanasou N, Kashima T, Oppermann U, Hughes S, et al. A germline mutation of CDKN2A and a novel RPLP1-C19MC fusion detected in a rare melanotic neuroectodermal tumor of infancy: A case report. BMC Cancer. BMC Cancer; 2016;16(1):1–14.

11 Albuquerque AFM, Cunha JF, Avelar RL, Juca E, Costa FWG, Macedo MS. Extensive

Melanotic Neuroectodermal Tumor of Infancy. Head Neck Pathol. 2016;10(3):349-53.

12 Higashi K, Ogawa T, Onuma M, Usubuchi H, Imai Y, Takata I, et al. Clinicopathological features of melanotic neuroectodermal tumor of infancy: Report of two cases. Auris Nasus Larynx. 2015;43(4):451-4.

13 Falbo D, Souza M De, Sendyk DI, Seo J, Vasques E, Naclério-homem MG, et al. Case Report Melanotic Neuroectodermal Tumor of Infancy in the Maxilla. Case Rep Dent. 2013; 2013:9–11.

14 Marschall JS, Kushner GM, Shumway BS. Aggressive histologic features do not predict biologic behavior in melanotic neuroectodermal tumor of infancy.2018;22(2):260-262

15 Nazir B, Gupta H, Chaturvedi AK, Rao SA, Jena A. Melanotic neuroectodermal tumor of infancy: discussion of a case and a review of the imaging findings. Cancer Imaging. 2009; 9(1):121–5.

16 Moreau A, Galmiche L, Minard-Colin V, Rachwalski M, Belhous K, Orbach D, et al. Melanotic neuroectodermal tumor of infancy (MNTI) of the head and neck: A French multicenter study. J Cranio-Maxillofacial Surg. 2018;46(2):201–6.

17 Júnior CRA, Carvalho TN, Filho SRF, Costa MAB, Borba AOC, Figuerêdo SS, Machado MM, Teixeira KSS. Tumor Neuroectodérmico Melanocítico Da Infância (Progonoma): Relato De Caso Enfatizando Os Aspectos Tomográficos e Revisão Da Literatura. Radiol Bras. 2004;37(6):457–60.

18 Haque S, McCarville MB, Sebire N, McHugh K. Melanotic neuroectodermal tumour of infancy: CT and MR findings. Pediatr Radiol. 2012; 42(6): 699–705.

19 Renner L a, Abdulai a E. Melanotic neuroectodermal tumour of infancy (progonoma) treated by radical maxillary surgery. Ghana Med J. 2009;43(43):90–2.

20 Borello ED, Gorlin RJ. Melanotic neuroectodermal tumor of infancy- A neoplasm of Neural Crest Origin. Cancer. 1966;19:196–206.

21 Pinheiro TPS, Junior JTC , Junior SMA, Pinheiro JJV, Tuji FM. Melanotic neuroectodermal tumor of infancy in an African-indigenous patient from the Amazon: a case report. Head & Face Medicine 2013; 9(1):35.

22 Santos HBP, Luna AHB, Goes PEM, Sverzut AT, Nonaka CFW, Alves PM. Clinical and immunohistochemical study of melanotic neuroectodermal tumor of infancy in the maxilla. Einstein (Sao Paulo). 2018;16(2):1–4.

23 Bittencout DA. Ánalise do potencial de diferenciação e autorrenovação das células da crista neural. Tese( doutorado) Uiniversidade Federal de Santa Catarina. 2013

24 Antunes ACM, Freitas RM, Oliveira PP, Rebouças RG. Melanotic neuroectodermal tumor of infancy: case report. Arq Neuropsiquiatr, 2005; 63(3-A): 670-672.

25 Krishnamurthy A, Majhi U, Vaidhyanathan A. Malignant melanotic neuroectodermal tumor of infancy arising in the mandible. J Cancer Res Ther. 2011;7(3):368.

26. Mendis BRRN, Lombardi T, Tilakaratne WM. Melanotic neuroectodermal tumor of

infancy: a histopathological and imunohistochemical study.JOurnal of investigative and clinical dentistry. 2012; 3;68-71.

27. Ferro AB. Imunohistoquímica. Instituto Politecnico de Lisboa. 2013; 1; 1-138

28. Bacarelli JC. Imuno-Histoquímica: aplicações em patologia oral. Revista de ciências médicas. 1995; 4(2); 66-70.

29 Strieder L, Carlos R, León JE, Ribeiro-Silva A, Costa V, Kaminagakura E. Protumorigenic M2-like phenotype cell infiltration in the melanotic neuroectodermal tumor of infancy This work was presented as poster in XXIII Brazilian Congress of Stomatology and Oral Pathology in July, 2015. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016;121(2):173–9.

30 Ünsal HY, Yalçin M. Melanotic Neuroectodermal Tumor of Infancy in the Maxilla. J Craniofac Surg. 2018;29(1):e28–30.

31 Batta N, Narang V, Kaur H, Selhi K, Sood N. Melanotic Neuroectodermal Tumor of Infancy: Cytology and Histopathology of a Rare Lesion at an Uncommon Site. Diagn Cytopathol. V C 2016 Wiley Periodicals, Inc; 2016;00:0-000.

31 Chrcanovic BR, Gomez RS. Melanotic neuroectodermal tumour of infancy of the jaws: an analysis of diagnostic features and treatment. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2018; 48: 1–8.

32 Evans S, Woolley A. Postauricular Melanocytic Neuroectodermal Tumor of Infancy: A Rare Site of a Rare Tumor—MNTI as a Postauricular Mass with Literature Review. Case Rep Otolaryngol. Hindawi Limited; 2018 Jul 5;2018:1–3.

33 Tandon PN, Sah K, Kale A, Kadam A, Shah H, et al. Contemporary Clinical Dentistry Melanotic neuroectodermal tumor of infancy: Report of a case associated with high urinary excretion of Vanilmandelic acid. 2011; 2(4): 337-341

34 Rustagi A, Roychoudhury A, Karak AK. Melanotic Neuroectodermal Tumor of Infancy of the Maxilla: A Case Report With Review of Literature. J Oral Maxillofac Surg. 2011;

32 Brandão TB, Vechiato-Filho AJ, Dos Santos Silva AR. Obturator prostheses for melanotic neuroectodermal tumor of infancy in the maxilla. J Craniofac Surg. 2016;27(1):e64–5.

35 Maroun C, Khalifeh I, Alam E, Akl PA, Saab R, Moukarbel R V. Mandibular melanotic neuroectodermal tumor of infancy: a role for neoadjuvant chemotherapy. Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology. Springer Berlin Heidelberg; 2016;273(12):4629–35.

33 Azarisamani A, Petrisor D, Wright J, Ghali GE. Metastatic Melanotic Neuroectodermal Tumor of Infancy: Report of a Case and Review of the Literature. J Oral Maxillofac Surg. 2016;74(12):2431-2440.

34. Murphy C, Pears J, Kearns GJ. Melanotic neuroectodermal tumour of infancy: surgical and chemotherapeutic management. Ir J Med Sci. 2016;185(3):753-6.

35 Hsieh R, Nico MMS, Camillo CMC, Oliveira KK, Sangueza M, Lourenço S V. Mutational Status of NRAS and BRAF Genes and Protein Expression Analysis in a

Series of Primary Oral Mucosal Melanoma. Am J Dermatopathol. 2017;39(2):104-110.

36 Chen F, Zhang Q, Wang Y, Wang S, Feng S, Qi LY, et al. Kit, NRAS, BRAF and FMNL2 mutations in oral mucosal melanoma and a systematic review of the literature. Oncol Lett. 2018;15(6):9786-9792.

37 Gomes CC, Diniz MG, de Menezes GHF, Castro WH, Gomez RS. BRAFV600E Mutation in Melanotic Neuroectodermal Tumor of Infancy: Toward Personalized Medicine? Pediatrics. 2015;136(1):e267–9.

38 Batta N, Narang V, Kaur H, Selhi K, Sood N. Melanotic Neuroectodermal Tumor of Infancy: Cytology and Histopathology of a Rare Lesion at an Uncommon Site. Diagn Cytopathol. V C 2016 Wiley Periodicals. 2016;00:0-000.

39 Emmerling MR, York TA, Caccamese JF. Melanotic Neuroectodermal Tumor of Infancy: Case Report and Review of Management. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2018.

40 Barrett AW, Morgan M, Ramsay AD, Farthing PM, Newman L, Speight PM. A clinicopathologic and immunohistochemical analysis of melanotic neuroectodermal tumor of infancy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002; 93(6):688-98.

41 Hamilton S, Macrae D, Agrawal S, Matic D. Melanotic neuroectodermal tumour of infancy. Can J Plast Surg. 2008;16(1):41-4.

42 Soma PF, Pettinato A, Agnone AM, Donia C, Improta G, Fraggetta F. Oral malignant elanoma: A report of two cases with BRAF molecular analysis. Oncol Lett. 2014;8(3):1283-1286.

43 Kurppa KJ, Catón J, Morgan PR, Ristimäki A, Ruhin B, Kellokoski J, et al. High frequency of BRAF V600E mutations in ameloblastoma. J Pathol. 2014;232(5):492-8.

44 Hall RD, Kudchadkar RR. BRAF mutations: signaling, epidemiology, and clinical experience in multiple malignancies. Cancer Control. 2014;21(3):221-30.

45 Kaye FJ, Ivey AM, Drane WE, Mendehall WM, Allan RW. Clinical and radiographic response with combined BRAF- targeted therapy in stage 4 ameloblastoma. J Natl Cancer Inst. 2014 Dec 3,107(1)

46 Tans S, Pollanck JR, Kaplan MJ, Colevas AD, West RB. BRAF inibitor treatment of primary Braf- mutant ameloblastoma with pathologic assessment of response. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016 JUl, 122 (1):e 5-7.

47 Fernandes GS, Girardi DM, Bernardes JPG, Fonseca FP, Fregnani ER.Clinical benefit and radiological response with BRAF inhibitor in a patient with recurrent ameloblastoma harboring V600E mutation. BMC Cancer. 2018 SEp 12;18(1): 887

48 Liu C-H, Lin C-H, Tsai M-J, Chen W-T, Chai C-Y, Huang Y-C, et al. Melanin Bleaching With Dilute Hydrogen Peroxide: A Simple and Rapid Method. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013;21(3):275-9.

# ANEXO: PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

UFS - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Análise de BAP1 em cistos e tumores de boca
**Pesquisador:** SILVIA FERREIRA DE SOUSA
**Área Temática:**
**Versão:** 1
**CAAE:** 82118018.1.0000.5546
**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Sergipe
**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.517.569

**Apresentação do Projeto:**
O Projeto pretende estudar O gene BAP1 (BRCA1-Associated Protein 1),que codifica uma enzima removedora de ubiquitina de outras proteínas envolvidas na modificação da cromatina e em processos transcricionais. Atua assim, na regulação de eventos-chave na carcinogênese, como o ciclo celular, diferenciação celular, transcrição do DNA, remodelamento da cromatina, morte celular e resposta ao dano do DNA.

**Objetivo da Pesquisa:**
Investigar se há alterações moleculares no gene supressor de tumor BAP1 em cistos e tumores de boca.
Objetivo Secundário:
•Avaliar a imunolocalização da BAP1 e de BRAFV600E em diferentes cistos e tumores de boca.•Avaliar o status mutacional de BAP1 nos cistos e tumores de boca que evidenciem perda de imunoexpressão nuclear.•Correlacionar a expressão de tumores de boca positivos para a proteína BRAF V600E com a imunoexpressão de BAP1.•Correlacionar a presença ou ausência da imunolocalização proteica com características clínicopatológicas da lesão. •Correlacionar o status mutacional de BAP1 com características clínicopatológicas da lesão. •Correlacionar a imunolocalização nuclear com o status mutacional.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**
Devidamente apresentados.

**Endereço:** Rua Cláudio Batista s/nº
**Bairro:** Sanatório **CEP:** 49.060-110
**UF:** SE **Município:** ARACAJU
**Telefone:** (79)3194-7208 **E-mail:** cephu@ufs.br

UFS - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Continuação do Parecer: 2.517.569

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um estudo observacional, analítico, transversal com seres humanos, utilizando amostra de conveniência com blocos arquivados de tecido fixado em formol e embebido em parafina, bem como tecidos frescos recuperados dos arquivos do Laboratório de Patologia do Hospital Universitário da UFS, sendo blocos de parafina, de cistos e tumores de boca armazenados nos últimos 5 anos.

Os dados clínicos nas fichas de biópsia serão também coletados

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

termos adequados.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não se aplicam.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|---|---|---|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1051322.pdf | 17/01/2018 00:58:14 | | Aceito |
| Outros | AnuenciaCoordenadorAmbulatorio.PDF | 17/01/2018 00:54:11 | SILVIA FERREIRA DE SOUSA | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | Projeto.pdf | 17/01/2018 00:52:15 | SILVIA FERREIRA DE SOUSA | Aceito |
| Outros | AnuenciaCoordenacaoPatologia.PDF | 17/01/2018 00:47:53 | SILVIA FERREIRA DE SOUSA | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.pdf | 17/01/2018 00:46:27 | SILVIA FERREIRA DE SOUSA | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | AnuenciaLaboratorio.PDF | 17/01/2018 00:43:14 | SILVIA FERREIRA DE SOUSA | Aceito |
| Folha de Rosto | Folhaderosto.pdf | 17/01/2018 00:42:22 | SILVIA FERREIRA DE SOUSA | Aceito |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Endereço:** Rua Cláudio Batista s/nº
**Bairro:** Sanatório **CEP:** 49.060-110
**UF:** SE **Município:** ARACAJU
**Telefone:** (79)3194-7208 **E-mail:** cephu@ufs.br

UFS - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

**Necessita Apreciação da CONEP:**
Não

ARACAJU, 28 de Fevereiro de 2018

**Assinado por:**
**Anita Herminia Oliveira Souza**
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua Cláudio Batista s/nº
**Bairro:** Sanatório **CEP:** 49.060-110
**UF:** SE **Município:** ARACAJU
**Telefone:** (79)3194-7208 **E-mail:** cephu@ufs.br