

CAROLINA PERES MOTA

**ESTUDO CLINICOPATOLÓGICO, IMUNO-HISTOQUÍMICO E
MOLECULAR DO XANTOGRANULOMA JUVENIL ORAL**

**Faculdade de Odontologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2021**

Carolina Peres Mota

**ESTUDO CLÍNICOPATOLÓGICO, IMUNO-HISTOQUÍMICO E
MOLECULAR DO XANTOGRANULOMA JUVENIL ORAL**

Dissertação apresentada ao Colegiado de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração em Patologia Bucal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Silvia Ferreira de Sousa

Belo Horizonte
2021

Ficha Catalográfica

M917e Mota, Carolina Peres.
2021 Estudo clinicopatológico, imuno-histoquímico e molecular
T do xantogranuloma juvenil oral / Carolina Peres Mota. --
2021.

74 f. : il.

Orientadora: Silvia Ferreira de Sousa.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Odontologia.

1. Histiocitose. 2. Histiocitose de células não Langerhans. 3. Xantogranuloma juvenil. 4. Mutação. 5. Boca. I. Sousa, Silvia Ferreira de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia. III. Título.

BLACK - D047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

ESTUDO CLINICOPATOLÓGICO E MOLECULAR DO XANTOGRANULOMA JUVENIL ORAL

CAROLINA PERES MOTA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, como requisito para obtenção do grau de Mestre, área de concentração Patologia Bucal.

Aprovada em 21 de julho de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Silvia Ferreira de Sousa – Orientadora
FAO-UFMG

Prof. Felipe Paiva Fonseca
FAO-UFMG

Prof. Bruno Augusto Benevenuto de Andrade
UFRJ

Belo Horizonte, 21 de julho de 2021.

Defesa Homologada pelo Colegiado de Pós-Graduação em Odontologia em 26 / 07 / 2021.

Prof. Isabela Almeida Pordus
Coordenadora do Colegiado de Pós-Graduação
Faculdade de Odontologia

AGRADECIMENTOS

O início de jornadas tendem a ser, de verdade, anterior ao oficializado no calendário. Ao me inscrever para a graduação, há quase 10 anos, pensava desde já em lecionar. Desejava compreender o subjetivo na ciência e me relacionar com outras vidas, e nesse trâmite me identifiquei com dores orofaciais e pela biologia molecular. No entanto, a imprevisibilidade da vida nos apresenta oportunidades e momentos diversos ao nosso imaginário. Imaginamos um caminho reto, que na realidade se desenrola cheio de curvas, relevos e complexidades. Não há como ser diferente, já que nossa própria natureza é assim. No entanto, são nas quedas que tenho aprendido a correr.

O mestrado, meu objetivo principal desde o início do percurso em odonto, se desenvolveu em período delicado, término de ciclos pessoais dolorosos, em meio à pandemia. Poderia lamentar mais por não ter extraído do Programa toda a potencialidade que ele oferece. Porém, tenho a compreensão de que não há como separar o curso de todo o processo individual e coletivo que o permeou.

Além do conhecimento científico, levo hoje profunda consciência quanto ao que acredito ser indispensável. O processo pandêmico tornou impossível a ausência de auto-análise e o aprendizado social. Nesse sentido, hoje, acredito que fazer saúde e participar do campo didático e científico traz, acima de tudo, a responsabilidade com a coletividade, principalmente na micropolítica do cotidiano.

Assim, levo, e agradeço profundamente, todo o acolhimento da equipe da UFMG: à minha orientadora Professora Sílvia, obrigada pelo aprendizado, compreensão e disponibilidade nessa etapa tão relevante; aos meus solícitos e competentes colegas da patologia e estomatologia, em especial Gabriela Ribeiro, Victor Coutinho, Isadora Gomes, Taynara Resende, Daniela Meirelles, Flávia Lima e Eustáquio Alexandre, que deram significado à frase “o outro é meu mestre”, e cujos laços tenho certeza de que são um presente duradouro que recebi; à aluna de Iniciação Científica Maria Carolina, por toda a dedicação e companheirismo em nosso estudo; ao colega de patologia John Lennon, pelas contribuições no estudo; aos professores, Felipe Paiva, Ricardo Gomez, Ricardo Mesquita, Maria Cássia Aguiar, Tarcília Silva, Mauro Abreu, e demais cujo encontro possa ter sido breve, porém significativo. Aos funcionários e técnicos, em especial Vitor, do Colegiado de Pós-

Graduação; aos pacientes, pela oportunidade de atendê-los e pela troca de experiências. À minha família e amigos, em especial meu pai, Kleber, minha mãe, Valquiria, assim como Bete e Iran, sem cujo apoio e carinho não haveria possibilidade mínima de concluir esse período. E à todos os vínculos que formei ao longo da vida, que tornaram essa jornada possível e mais leve de ser caminhada.

Agradeço, ainda, à persistência e esperança dos pesquisadores e profissionais da saúde que continuam acreditando na importância da pesquisa, que se expõem às batalhas diárias e incertezas por serem lealmente adeptos dessa irreverente contracultura que é o amor pelo conhecimento e pela vida.

Simbolicamente, encerro mais um ciclo, e respiro com entusiasmo para novos que vêm adiante.

Agradeço.

RESUMO

O xantogranuloma juvenil (JXG) é a forma mais comum de histiocitose de células não Langerhans na infância. Embora as lesões cutâneas sejam comuns, o envolvimento da mucosa oral é extremamente raro. Alguns estudos investigaram a base genética do JXG cutâneo e extracutâneo. No entanto, não há dados disponíveis para o JXG oral. Distúrbios histiocíticos têm sido associados a mutações da via proteína quinase ativada por mitogênio (MAPK) de ativação, incluindo o relato de BRAF V600E em JXG de locais extracutâneos. No presente estudo, as características clinicopatológicas e imuno-histoquímicas de cinco novos casos de JXG oral foram avaliadas em conjunto com uma revisão da literatura. Além disso, investigamos a ocorrência da mutação BRAF V600E nas amostras. Cinco JXG orais foram recuperados em dois serviços de patologia oral no Brasil. Os dados clínicos e demográficos foram coletados dos prontuários médicos. Foram realizadas análises clinicopatológicas e imuno-histoquímicas. O status do BRAF V600E foi determinado com Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) alelo-específico com uso de uma Sonda Taqman. A série foi composta por 2 homens (40,0%) e 3 mulheres (60,0%), com média de idade de $38,8 \pm 22,9$ anos (variação: 13–68 anos) e proporção de mulheres para homens de 1,5: 1. A mucosa jugal ($n = 3$, 40,0%) foi a localização mais comum. Clinicamente, as lesões apresentavam-se como nódulos normocrômicos ou amarelados assintomáticos medindo de 1,0 a 2,5 cm ($1,7 \pm 0,6$). Nenhum caso apresentou lesões cutâneas. Todos os casos foram excisados cirurgicamente. Morfologicamente, a maioria dos casos ($n = 4$, 80,0%) apresentou características histológicas clássicas de JXG com células histiocíticas positivas para CD68, CD163 e fator XIIIa. Considerando o status do BRAF, o BRAF V600E não foi detectado nos casos testados. Esta é a primeira e maior série publicada afetando adultos e uma população brasileira. A patogênese molecular do JXG oral permanece desconhecida.

Palavras-chave: Histiocitose. Histiocitose de células não langerhans. Xantogranuloma juvenil. Cavidade oral. Braf v600e. Mutação.

ABSTRACT

Oral juvenile xanthogranuloma: a clinicopathological, immunohistochemical and BRAF V600E study of five new cases, with literature review

Juvenile xanthogranuloma (JXG) is the most common form of non-Langerhans cell histiocytosis in childhood. Although cutaneous lesions are common, oral mucosa involvement is exceedingly rare. Some studies investigated the genetic basis of cutaneous and extracutaneous JXG, however, no data is available for oral JXG. Histiocytic disorders have been associated with activating MAPK pathway mutations, including the report of *BRAF* V600E in JXG extracutaneous sites. Herein the clinicopathological and immunohistochemical features of five new cases of oral JXG were evaluated in conjunction with a literature review. Also, we assessed the *BRAF* V600E mutation in oral samples. Five oral JXG were retrieved from two oral pathology services in Brazil. Clinical and demographic data were collected from medical records. Clinicopathological and immunohistochemical analyses were performed. The *BRAF* V600E status was determined with TaqMan allele-specific qPCR. The series comprised of 2 men (40.0%) and 3 women (60.0%), with a mean age of 38.8 ± 22.9 years (range: 13–68 years) and a 1.5:1 female-to-male ratio. The buccal mucosa ($n = 3$, 40.0%) was the most common location. Clinically, lesions appeared as a normochromic or yellowish asymptomatic nodules measuring from 1.0 to 2.5 cm (1.7 ± 0.6). No cases presented cutaneous lesions. All cases were surgically excised. Morphologically, most cases ($n = 4$, 80.0%) presented classical histological features of JXG with histiocytic cells positive for CD68, CD163, and factor XIIIa. Considering the *BRAF* status, *BRAF* V600E was not detected in the cases tested. This is the first and largest series published affecting adults and a Brazilian population. Molecular pathogenesis of oral JXG remains unknown.

Keywords: Juvenile xanthogranuloma. Non-Langerhans cell histiocytosis. Histiocytic disorders. Oral cavity. Braf v600e. Mutation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aspectos clinicopatológicos e imuno-histoquímicos do xantogranuloma juvenil clássico (caso 4)

Figura 2 – Aspectos clinicopatológicos e imuno-histquímicos do xantogranuloma juvenil não lipídico (caso 2)

Figura 3 – Curva de amplificação da reação de PCR quantitativo alelo-específico da análise da mutação *BRAFV600E* em amostra de xantogranuloma juvenil oral. A curva amarela corresponde à amplificação do gene referência no caso 2.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Achados clínicos e demográficos de casos de xantogranuloma juvenil oral na presente série e casos relatados na literatura de língua inglesa (1974-2021)

Tabela 2 – Comparação dos achados clínicos e demográficos da revisão da literatura com a presente série de xantogranuloma juvenil oral.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CT	Ciclo Threshold
gDNA	DNA Genômico
JXG	Xantogranuloma Juvenil
histiocitoses LCH	Histiocitoses de Células de Langerhans
LCH	Histiocitose de Células de Langerhans
MAPK	Proteína Quinase Ativada por Mitogênio
Não-LCH	Histiocitoses de Células Não-Langerhans
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Histiocitoses e Xantogranuloma Juvenil.....	13
2.2 Mutação <i>BRAF</i> V600E.....	17
3 OBJETIVOS.....	19
3.1 Objetivo geral.....	19
3.2 Objetivos específicos.....	19
4 METODOLOGIA.....	20
4.1 Aspectos éticos.....	20
4.2 Amostra.....	20
4.3 Estudo clinicopatológico e imuno-histoquímico.....	20
4.4 Estudo molecular da mutação <i>BRAF</i> V600E.....	21
4.4.1 Extração de DNA.....	21
4.4.2 Análise de pureza e concentração do DNA.....	21
4.4.3 Reação em cadeia da polimerase (PCR) quantitativo alelo específico.....	21
5 RESULTADOS.....	23
5.1 Resultados do estudo clinicopatológico.....	23
5.2 Resultado do estudo molecular da mutação <i>BRAF</i> V600E.....	26
6 DISCUSSÃO.....	37
7 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS.....	43

APÊNDICE A – Artigo submetido.....	49
ANEXO A – Parecer consubstanciado de aprovação emitido pelo CEP.....	70

1 INTRODUÇÃO

As histiocitoses constituem um amplo grupo de desordens proliferativas que consistem em acúmulo de células dendríticas e macrófagos em vários tecidos e órgãos de crianças e adultos. Com base no imunofenótipo da célula da lesão as histiocitoses podem ser chamadas do tipo histiocitose de células de Langerhans (histiocitoses LCH) e as histiocitoses de células não-Langerhans (não-LCH). Entre a maior parte das não-LCH estão as que compõem a família Xantogranuloma Juvenil (JXG) e não atendem ao imunofenótipo das células de Langerhans, ou seja, expressão de CD1a, S-100 e detecção de grânulos de Birbeck (LUDER *et al.*, 2018; WEITZMAN E JAFFE, 2005). Há um pequeno número cujo imunofenótipo não se enquadra entre as LCH e nem entre as não-LCH da família JXG. O JXG é a forma mais comum de não-LCH da infância, que ocorre principalmente em bebês e crianças normolipêmicos, raramente afetando adultos (LUDER *et al.*, 2018; WEITZMAN E JAFFE, 2005).

Casos de JXG afetando a cavidade oral são bastante raros (ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018), havendo menos de 40 casos relatados na literatura de língua inglesa até o momento (SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018).

Morfologicamente, o JXG cutâneo e extracutâneo é caracterizado pela presença de numerosos histiócitos espumosos exibindo vários graus de vacuolização citoplasmática e ocasionais células gigantes multinucleadas do tipo Touton, uma característica do JXG (BATISTA *et al.*, 2012; CONSOLARO *et al.*, 2009; ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018). Algumas variações microscópicas do JXG em boca foram descritas sem relevância prognóstica (BATISTA *et al.*, 2012; FABRIZI E MASSI, 2001; FLAITZ *et al.*, 2002), mas são desafios diagnósticos, inclusive para patologistas experientes (BATISTA *et al.*, 2012; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018).

Quanto à etiologia do JXG, sugere-se que essa entidade tenha uma natureza reativa não neoplásica, devido ao comportamento autolimitante (BATISTA *et al.*, 2012; CONSOLARO *et al.*, 2009), desencadeada a partir de estímulos infecciosos ou traumáticos desconhecidos, (COHEN *et al.*, 1981; CONSOLARO *et al.*, 2009; FAVARA *et al.*, 1997; FLAITZ *et al.*, 2002; SANGÜEZA *et al.*, 1995;). A patogênese

molecular do JXG também é pouco compreendida (TECHAVICHIT *et al.*, 2017). Alguns estudos investigaram as bases genéticas de lesões de JXG cutâneas e não cutâneas. Entretanto, nenhuma informação existe sobre as lesões orais (CHAKRABORTY *et al.*, 2014; CHAKRABORTY *et al.*, 2017; HAROCHE *et al.*, 2012; HOYT *et al.*, 2019; PICARSIC *et al.*, 2018; TECHAVICHIT *et al.*, 2017).

Desordens histiocíticas têm sido associadas com mutações ativadoras na via MAPK (mitogen-activated protein kinases), incluindo o relato de mutação BRAF V600E em JXG de localização extracutânea (TECHAVICHIT *et al.*, 2017). No entanto, a ocorrência da mutação BRAF V600E ou de outras no JXG oral é ainda desconhecida.

Devido à raridade de casos de JXG oral publicados, neste trabalho buscou-se descrever as características clinicopatológicas e imuno-histoquímicas da presente série de casos de JXG oral comparando os achados com os casos descritos na literatura. Além disso, como mutações no gene *BRAF* são descritas em desordens histiocíticas, investigou-se também molecularmente, pela primeira vez, a mutação *BRAF* V600E nos casos de JXG oral.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histiocitoses e Xantogranuloma Juvenil (JXG)

As histiocitoses representam um grupo amplo e diverso de desordens derivadas de células dendríticas e macrófagos que afetam vários tecidos e órgãos de crianças e adultos. Mais de 100 subtipos têm sido descritos com uma ampla variedade na apresentação clínica e histológica, mostrando manifestação cutânea somente, ou condições que afetam múltiplos órgãos. Variam desde condições reativas de células inflamatórias à proliferações clonais neoplásicas (VAISELBUH *et al.*, 2014). Conforme o tipo de células lesionais que as compõem podem ser identificadas como histiocitoses LCH, ou não-LCH.

Entre as histiocitoses mais comuns estão a LCH e duas histiocitoses não-LCH: a linfocitose hemofagocítica e a doença de Rosai Dorfman (VAISELBUH *et al.*, 2014). O termo "Langerhans" refere-se ao Dr. Paul Langerhans (1847-1888), o primeiro a descrever as células dendríticas epidérmicas normais, que mais tarde foram reconhecidas como tendo alguma semelhança com células dendríticas de lesões de histiocitoses de células de Langerhans, embora, inicialmente, essas células tenham sido consideradas neuronais devido à presença de processos dendríticos (VAISELBUH *et al.*, 2014).

A lista de não-LCH é extensa, tendo Wetizman e Jaffe (2005) proposto uma forma mais simples de considerá-las com base no imunofenótipo das células da lesão. Desta forma, as não-LCH que derivam de uma mesma célula precursora, compartilham da mesma imunofenotipagem. Neste contexto, a maior parte das não-LCH compõem a família JXG e um pequeno número parecem ter uma origem celular diferente, compondo as que não fazem parte da família JXG. Os dois maiores exemplos dessas desordens que não preenchem a família JXG são a doença de Rosai Dorfman e a reticulohistiocitose multicêntrica (WEITZMAN E JAFFE, 2005). No grupo das histiocitoses LCH, espectros clínicos diversos também mostram o mesmo imunofenótipo.

Nas não-LCH da família JXG, as células não preenchem o critério diagnóstico de células de Langerhans, isto é, positividade para CD1a, S-100 e CD207 (Langerin) e detecção por microscopia eletrônica dos grânulos de Birbeck. As células lesionais da

maior parte das não-LCH possuem um imunofenótipo idêntico, sendo marcadores como CD68, CD163, CD14 e Fator XIIIa positivos; e CD1a, S-100 e CD207 negativos. Isso aponta que essas células derivam da mesma célula precursora (WEITZMAN E JAFFE, 2005).

É sugerido que os histiócitos derivam de uma célula tronco CD34 positiva, a qual se diferencia em células CD14 positiva ou negativa. As células CD14 negativas formam as células de Langerhans, enquanto que as células CD14 positivas dão origem à dendrócitos dérmicos/intersticiais ou monócitos/macrófagos, a depender do contexto de citocinas liberadas. Em síntese, os histiócitos nas histiocitoses têm como origem: células dendríticas, como é o caso das células de Langerhans; dendrócitos dérmicos/intersticiais, exemplo da família JXG; e aquelas que derivam da linhagem macrofágica (WEITZMAN E JAFFE, 2005).

A classificação das histiocitoses, sejam elas do tipo LCH ou não-LCH, é complexa e envolvem muitos subtipos. Segundo a OMS, a LCH é uma proliferação neoplásica clonal de células dendríticas mieloides que expressam um fenótipo de célula de Langerhans. A LCH pode ser unifocal ou multifocal dentro de um único sistema (geralmente ósseo) ou pode afetar múltiplos sistemas (*WHO classification of tumours series*, 2020). Emile et al. (2016) revisaram e atualizaram a classificação original de histiocitose proposta pelo Writing Group of the Histiocyte Society (HS) em 1987 (EMILE *et al.*, 2016; *Nenhum autor listado*, LANCET, 1987). Na classificação atual, essas lesões são divididas em cinco grupos, com base nos achados clínicos, radiográficos, patológicos, fenotípico, genéticos e/ou moleculares. Os JXG estão incluídos no “grupo C”, caracterizado por manifestações cutâneas e/ou mucosas, podendo haver envolvimento sistêmico, e representa a forma mais comum de não-LCH (EMILE *et al.*, 2016).

O JXG é definido como uma desordem benigna da infância, de ocorrência predominantemente solitária cutânea nos primeiros anos de vida e que usualmente se resolve espontaneamente. Manifestações congênitas são vistas em 1/3 dos casos; metade dos casos surgem no primeiro ano de vida e 1/5 entre 6 e 20 anos de idade (LUDER *et al.*, 2018). Há uma forte predileção por homens e brancos (LUDER *et al.*, 2018; WEITZMAN E JAFFE, 2005). As lesões cutâneas mostram duas variações na apresentação clínica, as formas papular e nodular, com lesões medindo até 2 cm de diâmetro (LUDER *et al.*, 2018; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018). A maioria se apresenta principalmente como uma lesão cutânea única, seguida por um nódulo

subcutâneo ou em profundidade nos tecidos moles, com predisposição para a região de cabeça, pescoço e tronco (LUDER *et al.*, 2018; WEITZMAN E JAFFE, 2005). Quando em crianças com menos de 6 meses de idade, as lesões tendem a serem múltiplas (WEITZMAN E JAFFE, 2005). O envolvimento extracutâneo, como em mucosa, é raro, ocorrendo em aproximadamente 4% das crianças e de 5% a 10% nos adultos (WEITZMAN E JAFFE, 2005). O JXG em adultos é também incomum e normalmente de manifestação solitária e persistente (EMILE *et al.*, 2016). Das manifestações extracutâneas, os olhos são o sítio mais frequente (LUDER *et al.*, 2018), podendo afetar também vísceras e raramente a cavidade oral (SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018).

Microscopicamente, JXGs cutâneos e extracutâneos são nódulos bem circunscritos compostos por um denso infiltrado de histiócitos com graus lipídicos variáveis e células gigantes multinucleadas (tipo Touton) com citoplasma espumoso. As células tipo Touton são achados característicos, mas não exclusivos do JXG, uma vez que outras não-LCH também podem exibi-las (LUDER *et al.*, 2018). Segundo Chang (1999), as variantes clínicas e histológicas incomuns do JXG são: não lipídica, intramuscular, subcutâneo, gigante, em forma de placa, liquenóide, agrupado, intraocular e sistêmico.

Os achados imuno-histoquímicos do JXG, como previamente mencionado, mostra que as células da lesão não preenchem os critérios de células do tipo Langerhans, justificando ser esta uma desordem não-LCH.

De natureza benigna, a patogênese do JXG é desconhecida, e essa desordem vem sendo considerada de natureza reativa, podendo o fator desencadeante ser um estímulo traumático ou infeccioso (LUDER *et al.*, 2018; WEITZMAN E JAFFE, 2005). Pode estar associado a outras doenças como a Neurofibromatose tipo I, leucemia mielomonocítica juvenil (WEITZMAN E JAFFE, 2005), dentre outras condições (FLAITZ *et al.*, 2002).

Devido à natureza auto-limitante do JXG não disseminado, nenhum tratamento pode ser necessário (LUDER *et al.*, 2018). Na maior parte dos casos as lesões tendem à se estabilizarem com o tempo e a regredirem espontaneamente em um período de 3 a 6 anos (SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2014). Lesões cutâneas podem envolver mantendo uma atrofia residual ou uma cicatriz hiperpigmentada, e quando em adulto, o JXG tende a não envolver espontaneamente (WEITZMAN E JAFFE, 2005).

O JXG de ocorrência intraoral é extremamente raro, com menos de 40 casos relatados (SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018). Em contraste com o JXG cutâneo, no qual a maior parte das lesões são diagnosticadas no primeiro ano de vida, menos de 15% dos casos intraorais ocorrem nessa fase (FLAITZ *et al.*, 2002). Assim, o JXG oral tende a ocorrer em pacientes um pouco mais velhos, com média de idade de 9 anos (FLAITZ *et al.*, 2002). Assim como no JXG cutâneo, a predileção por homens se mantém nos casos orais (FLAITZ *et al.*, 2002).

A ocorrência concomitante do JXG cutâneo e oral é rara (ISRAEL CARLOS AND PIRES, 2017), com apenas três casos relatados (COLLINS *et al.*, 2014; OSSOFF *et al.*, 1980; SANGÜEZA *et al.*, 1995), todos sem envolvimento visceral. Embora o JXG cutâneo possa estar associado a outras doenças (CONSOLARO *et al.*, 2009; FLAITZ *et al.*, 2002; ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017; LUDER *et al.*, 2018; WEITZMAN E JAFFE, 2005), nenhum dos casos envolvendo a cavidade oral foram associados a qualquer condição. Apenas casos isolados mostraram associação com o citomegalovírus (VASCONCELOS *et al.*, 2001).

O JXG oral compartilha semelhanças clínicas com várias condições benignas comuns (CONSOLARO *et al.*, 2009; ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017).

Clinicamente, mostra-se como um nódulo indolor presente em diferentes localizações da mucosa oral (SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018). Aproximadamente 90% de todos os casos de JXG oral são pequenos nódulos solitários não percebidos (COLLIE, HARPER E FILLMAN, 2021). Embora as lesões orais sejam geralmente pequenas (CONSOLARO *et al.*, 2009; KJAERHEIM E STOKKE, 1974; OSSOFF *et al.*, 1980), foram relatados casos superiores a 4 cm na língua, mucosa jugal e palato (BAIK *et al.*, 2014; COSTA *et al.*, 2008; DISSANAYAKA *et al.*, 2010). A superfície pode ser brilhante, translúcida, amarela, avermelhada ou acastanhada e pode apresentar telangiectasias superficiais (CONSOLARO *et al.*, 2008; FLAITZ *et al.*, 2002).

Microscopicamente, a maioria dos casos de JXG oral apresenta a forma clássica de apresentação, com os mesmos achados descritos para as lesões cutâneas. Variações histológicas como a presença de histiócitos com aparência plasmocitoide, ausência ou ocasionais células Touton, bem como a deposição estromal de material eosinofílico amorfo de aparência amiloide já foram reportadas nas lesões intraorais (FLAITZ *et al.*, 2002). A presença de uma população monomórfica de pequenas células com abundante citoplasma granular ou vacuolado foi também descrita (FABRIZI E MASSI, 2001). Batista *et al.* (2012), reportou a ocorrência no lábio inferior

da variante “não lipídica”, com um infiltrado histiocítico mostrando relativa ausência de células inflamatórias, de histiócitos espumosos, de células Touton e presença de alto índice mitótico. O diagnóstico diferencial morfológico da variante clássica inclui fenômenos de extravasamento de muco com macrófagos vacuolados abundantes, reações de corpo estranho, xantoma verruciforme (ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017) e LCH (ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018). A história clínica e a análise histológica cuidadosa são suficientes para excluir a maior parte desses diagnósticos diferenciais. No entanto, a exclusão da LCH pode exigir a análise imuno-histoquímica, conforme descrito anteriormente para as lesões de JXG cutâneas. Ao contrário do JXG cutâneo, as lesões orais não regredem espontaneamente (CONSOLARO *et al.*, 2009; ISRAEL CARLOS E PIRES, 2017; LUDER *et al.*, 2018; WEITZMAN *et al.*, 2005). Portanto, é necessária a remoção cirúrgica das lesões orais, mesmo daquelas que apresentem um comportamento clínico indolente. (CONSOLARO *et al.*, 2009; ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017). A taxa de recorrência das lesões orais mostra-se relacionada à excisão cirúrgica incompleta.

2.2 Mutação *BRAF* V600E

Avanços na tecnologia do sequenciamento do DNA permitiram traçar o perfil molecular de células CD1a positivas extraídas de lesões de histiocitoses LCH e descobriu-se que mutações *BRAF* V600E estavam presentes na maioria das lesões (VAISELBUH *et al.*, 2014). O termo *BRAF* V600E refere-se a uma transversoão de timina para adenina no nucleotídeo 1799, levando a uma substituição de valina por ácido glutâmico no códon 600 (V600E) uma mutação que leva a uma ativação constitutiva do tipo *downstream* na via de sinalização MAPK (*mitogen activated protein kinase*). A via MAPK é um sistema de sinalização intracelular que controla processos celulares fundamentais como proliferação, diferenciação, sobrevivência e apoptose (KOLCH, 2000).

Como mutações pontuais *BRAF* V600E estão presentes na maioria das lesões de LCH, com uma frequência variando de 38% a 57% (BADALIAN-VERY *et al.*, 2010; HAROCHE *et al.*, 2012; KANSAL *et al.*, 2013; SAHM *et al.*, 2012; SATOH *et al.*, 2012), estudos subsequentes investigaram se esta mutação estava também presente em outros subtipos de histiocitoses (CHAKRABORTY *et al.*, 2014; CHAKRABORTY *et al.*,

2017; HAROCHE *et al.*, 2012; HOYT *et al.*, 2019; PICARSIC *et al.*, 2019; TECHAVICHIT *et al.*, 2017).

Mutações ativadoras da via MAPK, incluindo a mutação *BRAF* V600E, foram encontradas em alta frequência (54%) em uma histiocitose do tipo não-LCH, a doença de Erdheim–Chester (HAROCHE *et al.*, 2012). Em estudos mais recentes, dependendo da técnica usada, a frequência da mutação variou entre 57% e 75% na doença de Erdheim–Chester (HAROCHE E ABLA, 2015). Alguns trabalhos chamam a atenção para a similaridade histiológica e fenótipo imuno-histoquímico do JXG à doença de Erdheim–Chester (HAROCHE E ABLA, 2015). Entretanto, por meio do sequenciamento do exoma de 4 amostras cutâneas de JXG, nenhuma mutação no *BRAF* foi identificada em JXG, embora mutações somáticas em outros genes tenham sido encontradas no JXG (CHAKRABORTY *et al.*, 2014). Chakraborty *et al.* (2017), também por sequenciamento do exoma, reportou a ocorrência de mutação em outro gene da via MAPK, o *MAPK1* em uma forma disseminada e agressiva do JXG (CHAKRABORTY *et al.*, 2017). Picarsic *et al.*, (2019) também não reportou a mutação *BRAF* V600E em casos cutâneos, porém descreveu mutações em outros genes da via MAPK (PICARSIC *et al.*, 2019a). Por outro lado, dois pacientes com lesões histiocíticas multifocais com características mistas de LCH e JXG mostraram a presença da mutação *BRAF* V600E (CHAKRABORTY *et al.*, 2014). Além disso, o estudo de Techavichit *et al.* (2017) reportou a ocorrência da mutação *BRAF* V600E em 3/3 pacientes pediátricos com JXG extracutâneo, localizados no sistema nervoso central (TECHAVICHIT *et al.*, 2017). Posteriormente, um estudo também encontrou a mutação em casos familiares de JXG do sistema nervoso central (PICARSIC *et al.*, 2019b). Considerando o JXG de pele, essa mutação não havia sido reportada em casos cutâneos, entretanto, Bellinato *et al.* (2019) descreveu em um paciente do sexo masculino de 13 anos a ocorrência de *BRAF* V600E, embora seja importante considerar que esse paciente tinha o histórico de ter tratado 10 anos antes de uma LCH *BRAF* V600E-positiva (BELLINATO *et al.*, 2019).

Os resultados dos estudos acima, embora conflitantes, apontam para uma possível participação de genes da via MAPK na patogênese do JXG e demonstram a ausência de estudos moleculares envolvendo o JXG oral, possivelmente pela sua raridade. A patogênese molecular do JXG permanece pouco compreendida e não se sabe até o momento se há a ocorrência da mutação *BRAF* V600E, ou de outras mutações, em genes da via MAPK ou em outras vias, em casos de JXG orais.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar um estudo clinicopatológico, imuno-histoquímico e molecular do JXG oral.

3.2 Objetivos específicos

- a) Descrever achados clinicopatológicos, imuno-histoquímicos e molecular de 5 casos de JXG oral;
- b) Comparar os aspectos clinicopatológicos e imuno-histoquímicos dos 5 casos de JXG oral com os casos publicados na literatura;
- c) Investigar a ocorrência da mutação *BRAF* V600E nos 5 casos de JXG oral.

4 METODOLOGIA

4.1 Aspectos éticos

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (CEP-UFMG) identificado pelo CAAE 44358821.4.0000.5149 e aprovado sob o parecer 4.743.239, conforme documento apresentado no Anexo A.

4.2 Amostra

Foi feita uma busca de casos de arquivo com o diagnóstico de JXG oral fixadas em formol e incluídas em parafina, armazenados em Laboratórios de Patologia Bucal de duas Instituições: da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais e da Universidade Federal do Rio de Janeiro. As amostras de JXG oral que dispunham de bloco e lâminas foram então incluídas nos estudos clinicopatológico, imuno-histoquímico e molecular descritos abaixo.

4.3 Estudo clinicopatológico e imuno-histoquímico

Todos os casos de JXG oral encontrados nos arquivos que possuíam blocos de parafina e lâminas disponíveis foram incluídos. Todos esses casos tiveram o diagnóstico revisado por patologista bucal, por meio de análises das lâminas coradas em hematoxilina-eosina, bem como das lâminas imuno-histoquímicas arquivadas. Sexo, idade, raça, tamanho, localização, apresentação clínica, descrição macroscópica, presença de recidiva foram extraídos das fichas clínicas de biópsia armazenadas. Foram excluídos os casos que não tiveram lâmina e/ou bloco encontrados, bem como os casos cujo bloco de parafina não tinha tecido suficiente para a extração do DNA.

Em um segundo momento, foi feita uma revisão literária de artigos em língua inglesa, que relatassem casos de JXG oral. Os dados obtidos foram compilados e analisados de forma descritiva.

As reações de imuno-histoquímica das lâminas arquivadas foram realizadas pela técnica do complexo estreptavidina-biotina peroxidase em tecido fixado em

formalina e embebido em parafina, usando protocolos-padrão para os seguintes anticorpos: CD68 (clone PG-M1, diluição 1: 500), CD163 (clone PG-M, diluição 1: 500), fator XIIIa (clone E980.1, diluição 1: 300), CD10 (clone 56C6, diluição 1: 500), proteína S-100 (policlonal, diluição 1: 10000) e Ki-67 (clone MIB1, diluição 1: 100). Todos os anticorpos foram obtidos da Dako (Glostrup, Dinamarca). Controles positivos internos e controles negativos foram considerados em todas as reações.

4.4 Estudo molecular da mutação BRAF V600E

4.4.1 Extração do DNA

Os blocos de parafina foram utilizados para obtenção de 8 cortes de 8 um de espessura em micrótomo e os cortes foram armazenados em tubo eppendorf, o DNA genômico (gDNA) foi extraído das amostras utilizando o QIAamp DNA FFPE Tissue kit (QIAGEN, Hilden, Germany) de acordo com as instruções do fabricante. As amostras foram desparafinizadas utilizando xilol e digeridas com proteinase K (QIAGEN, Hilden, Germany) a 56°C. O gDNA foi isolado conforme recomendações do fabricante do kit.

4.4.2 Análise de pureza e concentração do DNA

O gDNA foi quantificado e a pureza foi analisada por meio do espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA). Para a análise da pureza foram consideradas a razão de absorbância 260/280 de aproximadamente 1,8 e a razão 260/230 entre 1,8 e 2,2.

4.4.3 Reação em cadeia da polimerase (PCR) quantitativo alelo específico

Após a extração e quantificação do DNA, as amostras foram submetidas à reação de PCR quantitativo alelo específico para investigação da mutação *BRAF* V600E com as sondas Taqman *BRAF_476_mu* e *BRAF_rf* (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) para detectar a transversoão T > A na posição c.1799, como detectado previamente (Pereira *et al.*, 2016). Os dados contendo os valores de ciclo

threshold (CT) foram importados para o software Taqman Mutation Detector (Life Technologies).

5 RESULTADOS

5.1 Resultados do estudo clinicopatológico e imuno-histoquímico

No presente estudo, cinco casos de JXG oral foram recuperados dos arquivos dos Laboratórios de Patologia Bucal pesquisados, sendo 01 caso da UFMG e 04 da UFRJ. Os achados clínicos da presente série e de casos publicados anteriormente na literatura inglesa estão resumidos na **TABELA 1**. As **FIGURAS 1 E 2** ilustram os principais achados clinicopatológicos na presente série oral de JXG.

A série atual foi composta por três mulheres (60,0%) e dois homens (40,0%), com média de idade de $38,8 \pm 22,9$ anos (variação: 13–68 anos) e proporção de mulheres para homens de 1,5:1. A maioria dos pacientes era caucasiana (n = 3, 50,0%). A mucosa jugal foi o local mais acometido (n = 3 casos; 60,0%), seguido da língua (n = 1, 20,0%) e lábio (n = 1, 20,0%).

Todos os casos apresentavam-se clinicamente como nódulos sésseis solitários, bem circunscritos, com superfície lisa de duração variando de 1 a 12 meses (média: $5,5 \pm 5,4$ meses), medindo de 1,0 a 2,5 cm (média de 1,7 cm, DP 0,6). A cor variou entre normocrômica (n = 2, 50,0%), avermelhada (n = 1, 25,0%) e amarela (n = 1, 25,0%) (**FIGURAS 1A E 2A**). Três pacientes eram assintomáticos (60,0%) e a dor foi referida por dois pacientes (40,0%). Lesões cutâneas estavam ausentes em todos os pacientes. O diagnóstico clínico incluiu lipoma, adenoma pleomórfico e fibroma traumático. Todas as lesões foram tratadas por meio de excisão cirúrgica conservadora.

O exame macroscópico de JXG oral incluiu fragmentos de tecido mole bem definidos de coloração amarelada a acastanhada, de consistência firme, com superfícies lisas de corte cinza-amarelado (**FIGURAS 1B, 1C, 2B, 2C**). Morfologicamente, 80% (4/5) apresentavam-se como a forma clássica de JXG e eram caracterizados por uma proliferação linfo-histiocitária difusa não encapsulada em um tecido conjuntivo denso (**FIGURA 1D**). O componente mononuclear exibia células fusiformes alongadas com bordas citoplasmáticas indistintas e núcleos redondos a ovóides, contendo cromatina densa e nucléolos pequenos. Células multinucleadas com núcleos dispostos ao redor de um citoplasma eosinofílico central e citoplasma espumoso pálido na periferia (células gigantes do tipo Touton) também foram

observadas (**FIGURA 1E**). Pequenos linfócitos, células plasmáticas e eosinófilos ocasionais estavam espalhados por toda a lesão. A necrose esteve ausente em todos os casos. Um caso (caso 2) (**FIGURA 2**) classificado como variante não lipídica de JXG apresentava proliferação compacta de células mononucleares fusiformes e epitelióides em estroma fibroso. As células mononucleares estavam dispostas em um padrão estoriforme e exibiam citoplasma eosinofílico, núcleo irregular ou redondo com cromatina vesicular, nucléolos geralmente imperceptíveis ou pequenos e atividade mitótica elevada (**FIGURA 2D-E**). Além de haver poucas células gigantes multinucleadas do tipo Touton. Além disso, as áreas focais mostraram um fundo com pequenos linfócitos dispersos, plasmócitos e grupos de histiócitos espumosos e epitelióides (**FIGURA 2F**).

Em todos os casos (5/5), as células mononucleares e multinucleadas expressaram forte e difusa expressão citoplasmática para CD68 (**FIGURAS 1F e 2G**). Células histiocíticas e gigantes tipo Touton (**FIGURA 1G**) também foram positivas para CD163 (3/3), enquanto a positividade para CD10 foi restrita ao componente mononuclear (1/1). A maioria dos casos (4/5) apresentou positividade focal para Fator XIIIa (**FIGURA 1H**). No entanto, a forma não lipídica apresentou positividade forte e difusa para o fator XIIIa (**FIGURA 2H**). Todos os casos foram negativos para proteína S-100. Na maioria dos casos (4/5), o índice de marcação Ki-67 foi baixo (<5%) (**FIGURA 1I**); entretanto, o caso 2 (**FIGURA 2I**) teve uma taxa relativamente maior de cerca de 25% e 10% nas regiões superficiais e profundas, respectivamente.

Considerando a busca literária um total de 29 publicações relatando 37 casos de JXG oral foram selecionadas por meio de busca eletrônica (ATOW *et al.*, 1995; BAIK *et al.*, 2014; BATISTA *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2015; CHRISTENSEN, HERTZ E CHERRICK, 1978; COHEN *et al.*, 1981; COLLINS *et al.*, 2014; CONSOLARO *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2008; FABRIZI E MASSI, 2001; FLAITZ *et al.*, 2002; ISRAEL CARLOS AND PIRES, 2017; KAWASHIRI *et al.*, 1997; KIM *et al.*, 2019; KJAERHEIM E STOKKE, 1974; KWAN *et al.*, 1996; OSSOFF *et al.*, 1980; PALACIOS *et al.*, 1987; PATEL, MEECHAN E SOAMES, 1993; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018; SANGÜENZA *et al.*, 1995; SHAPIRO *et al.*, 1999; SHIMOYAMA, HORI E IDE, 2000; TAGAWA, INUI E MURATA, 1996; TAKEDA *et al.*, 1986; TANYERI, WEISENBERG E FRIEDMAN, 2000; VASCONCELOS *et al.*, 2001). Os estudos consistiram principalmente de relatos de caso único ou pequenas séries de casos (**TABELA 1**).

A **TABELA 2** fornece uma visão geral dos dados relatados na literatura (1974-2021) e os compara com os cinco novos casos relatados no presente estudo. No geral, de 37 JXG oral, 25 (67,6%) casos ocorreram em homens e 12 (32,4%) em mulheres (proporção homem-mulher: 2,2: 1). A idade média dos indivíduos afetados foi de $15,2 \pm 17,8$ anos (variando de 0 meses a 64 anos). Os indivíduos da primeira e segunda décadas de vida foram os mais afetados ($n = 20$, 54,1%; e $n = 9$, 20,3%, respectivamente). A maioria dos casos ocorreu na gengiva ($n = 11$, 29,8%), seguida da língua ($n = 10$, 27,0%) e palato ($n = 8$, 21,6%). Outros locais anatômicos incluíram lábios, mucosa jugal, crista alveolar e vestíbulo mandibular anterior. A maioria dos casos se apresentou como nódulos marrom-amarelados ($n = 14$, 53,9%), muitas vezes assintomáticos ($n = 22$, 88,0%). Apesar disso, a dor foi mencionada em três casos (12%). Três casos (8,1%) apresentaram lesões cutâneas concomitantes (COLLINS *et al.*, 2014; OSSOFF *et al.*, 1980; SANGÜEZA *et al.*, 1995), e nenhum relatou envolvimento visceral. O tamanho das lesões variou de 0,3 a 5,0 cm (maior diâmetro), com média de 1,5 cm (DP $\pm 1,3$). O tempo de duração das lesões variou de 3 dias a 24 meses ($6,0 \pm 5,5$). Além disso, um caso congênito foi relatado (Palacios *et al.*, 1987).

A excisão simples ($n = 31$) foi o tratamento em todos os casos, entretanto, cinco casos (16,12%) careciam dessa informação (OSSOFF *et al.*, 1980; COHEN *et al.*, 1984; SANGÜEZA *et al.*, 1995). O tempo de seguimento foi de 21 casos (56,8%), com média de $25,5 \pm 22,9$ meses (variação: 1-84 meses). Quatro casos exibiram recorrência (14,8%) (CHRISTENSEN, HERTZ E CHERRICK, 1978; COHEN *et al.*, 1981; FLAITZ *et al.*, 2002; KAWASHIRI *et al.*, 1997).

Macroscopicamente, seis casos publicados descreveram coloração como branca e amarelada ou marrom-avermelhada (COLLINS *et al.*, 2014; CONSOLARO *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2008; KAWASHIRI *et al.*, 1997; TAGAWA, INUI E MURATA., 1996; TAKEDA *et al.*, 1986). Microscopicamente, a maioria dos JXG orais ($n = 32$, 86,5%) apresentou a apresentação clássica. No entanto, 5 casos (13,5%) relataram variações nos achados microscópicos, como ausência de células gigantes de Touton, células inflamatórias e histiócitos espumosos; presença de uma população monomórfica de células, histiócitos com aparência plasmocitoide e áreas de atipia citológica, número elevado de mitose ou com material semelhante a amilóide no estroma (BATISTA *et al.*, 2012; DISSANAYAKA *et al.*, 2011; FABRIZI E MASSI, 2001; FLAITZ *et al.*, 2002; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018).

A maioria dos casos (n = 25, 67,6%) foi submetida à análise imuno-histoquímica com diferentes anticorpos (por exemplo, pan-citoqueratina, vimentina, proteína S - 100, α - SMA, LCA, CD1a, FXIIIa, CD68, CD68 KP1, CD63, CD163 , CD10, CD34, antitripsina, anti-quimiotripsina, Ki-67, etc.), usados para confirmar a natureza histiocítica, diferenciar JXG de seus principais mimetizadores e ilustrar as principais características celulares (BATISTA *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2015; COLLINS *et al.*, 2014; CONSOLARO *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2008; DISSANAYAKA *et al.*, 2010; FABRIZI E MASSI, 2001; FLAITZ *et al.*, 2002; ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017; KAWASHIRI *et al.*, 1997; PALACIOS *et al.*, 1987; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018; SANGÜEZA *et al.*, 1995; SATOW *et al.*, 1995; SHAPIRO *et al.*, 1999; SHIMOYAMA, HORI E IDE, 2000; TAGAWA, INUI E MURATA., 1996; TANYERI, WEISENBERG E FRIEDMAN., 2000; VASCONCELOS *et al.*, 2001).

5.2 Resultado do estudo molecular da mutação *BRAF* V600E

A análise mutacional dos 5 casos de JXG oral do presente estudo não mostraram a mutação *BRAF* V600E. A Figura 3 ilustra apenas o alelo selvagem identificado na curva de amplificação em um dos casos (caso 2)

Tabela 1. Achados clínicos e demográficos de casos de xantogranuloma juvenil oral na presente série e casos relatados na literatura de língua inglesa (1974-2021)

Caso	Referência	Idade (anos)	Sexo	Local	Tamanho (cm)	Duração	Sintomas	Coloração	Lesões cutâneas	Envolvimento visceral	Tratamento	Recorrência	Follow-up (meses)
1	18	12	F	Gengiva	NI	NI	NI	Amarelado	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	48
2	19	3	F	Gengiva	NI	NI	Assintomático	Marrom-amarelado	Não	Não	Excisão cirúrgica	Sim	7 [†]
3	20	3	M	Gengiva	0,6	NI	NI	Amarelo-marrom	Sim ^a	Não	NI	NI	NI
4	24	13	M	Língua	0,7	Mais de 12 meses	NI	Amarelo	Não	Não	NI	Não	NI
5		16	M	Língua	1,5	Mais de 12 meses	NI	Branco	Não	Não	NI	Não	NI
6		11	M	Língua	0,3	NI	NI	Marrom	Não	Não	Excisão	Sim	5
7		4	M	Língua	1,0	NI	NI	NI	Não	Não	NI	NI	NI
8	21	38	M	Gengiva	1,5	10 meses	Assintomático	Coloração normal	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	NI

9	38*	9 meses	M	Palato	2,0	Congenital	NI	NI	Não	Não	Excisão cirúrgica	NI	NI
10	25	3	F	Língua	0,7	8 meses	Assintomático	NI	Não	Não	Biópsia excisional	Não	Mais de 12
11	26	3	M	Língua	0,5 to 3,0**	NI	NI	Amarelo a marrom-vermelho**	Sim ^b	Não	NI	NI	NI
12	27	35	M	Língua	1,5	24 meses	Assintomático	NI	Não	Não	Biópsia excisional	NI	NI
13	32	14	M	Vestíbulo mandibular anterior	1,0	Mais de 12 meses	Assintomático	Amarelado	Não	Não	Excisão	Não	60
14	33	1	F	Palato	0,8	3 meses	NI	Marrom amarelo-avermelhado	Não	Não	Biópsia excisional	NI	NI
15	35	9	M	Palato	1,4	2 meses	Assintomático	Vermelho escuro	Não	Não	Biópsia excisional	Sim	84
16	28	6	F	Língua	2,0	NI	NI	NI	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	9
17	34	7	M	Lábio inferior	0,4	6 meses	Assintomático	Amarelo	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	NI
18	29	64	M	Língua	1,5	4 meses	Assintomático	Coloração normal	Não	Não	Biópsia excisional	Não	1

19	7	60	M	Rebordo alveolar mandibular	NI	2 meses	Assintomático	Amarelo	Não	Não	Excisão	NI	NI
20	22	9	F	Gengiva	NI	7 meses	Assintomático	Avermelhado	Não	Não	Biópsia excisional	Não	36
21	8	5 meses	M	Mucosa jugal	NI	NI	Assintomático	Marrom-vermelho	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	NI
22		2	M	Língua	NI	NI	Assintomático	NI	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	NI
23		9	M	Gengiva	NI	NI	Assintomático	NI	Não	Não	Excisão cirúrgica	Sim	3 [#]
24		9	M	Gengiva	NI	NI	Assintomático	NI	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	NI
25		10	F	Gengiva	NI	NI	Assintomático	NI	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	NI
26	16	34	M	Bochecha (intramuscular)	4,5	4 meses	Dor	NI	Não	Não	Biópsia excisional	Não	36
27	4	56	M	Gengiva	0,6	6 meses	Assintomático	Rosado/amarelado	Não	Não	Biópsia excisional	Não	12
28	37	15	M	Palato	5,0	3 meses	NI	Avermelhado	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	1
29	30	49	F	Língua	NI	mais de 3 meses	Sintomático	Avermelhado	Não	Não	Involução espontânea	Não	Mais de 48

30	5	6	M	Mucosa de lábio inferior	3,0	3 meses	Assintomático	Avermelhado	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	36
31	31	13	F	Língua	4,4	NI	Dor	Coloração normal	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	6
32	36	3	F	Palato duro	0,5	NI	Assintomático	Roxo	Sim	Não	Biópsia excisional	NI	Perdido
33	17	32	M	Mucosa jugal	2,0	2 semanas	Assintomático	Rosado	Não	Não	Biópsia excisional	Não	12
34	6	14	F	Lábio inferior	0,5	2 meses	Assintomático	Amarelado	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	49
35		1	F	Palato mole	0,7	NI	NI	Amarelado	Não	Não	Excisão cirúrgica	Não	36
36	3	5	M	Gengiva	0,8	3 meses	Assintomático	Amarelado	Não	Não	Biópsia excisional	Não	24
37	23	3	M	Gengiva	1,5	3 dias	Assintomático	Avermelhado	Não	Não	Biópsia excisional	Não	2
Cas e1	Presentes Casos	20	F	Mucosa jugal	2,0	1 meses	Assintomático	Normocromático	Não	NI	Excisão	Não	NI
Cas e2		13	M	Lábio inferior	1,5	8 meses	Assintomático	Amarelo	Não	NI	Excisão	Não	NI
Cas e3		39	F	Mucosa jugal	1,5	1 meses	Dor	Avermelhado	Não	NI	Excisão	Não	NI
Cas e4		68	F	Língua (ponta)	1,0	NI	Dor	Rosa	Não	NI	Excisão	Não	NI

Cas e5	54	M	Mucosa jugal	2,5	12 meses	Assintomáti co	NI	Não	NI	Excisão	Não	NI
-------------------	----	---	-----------------	-----	----------	-------------------	----	-----	----	---------	-----	----

Legenda: **M**, masculino; **F**, feminino; **NI**, não informado

* Caso congênito

** Os autores não especificam o tamanho e a cor das lesões intraorais

^a Lesões múltiplas no abdômen, pênis e pescoço posterior.

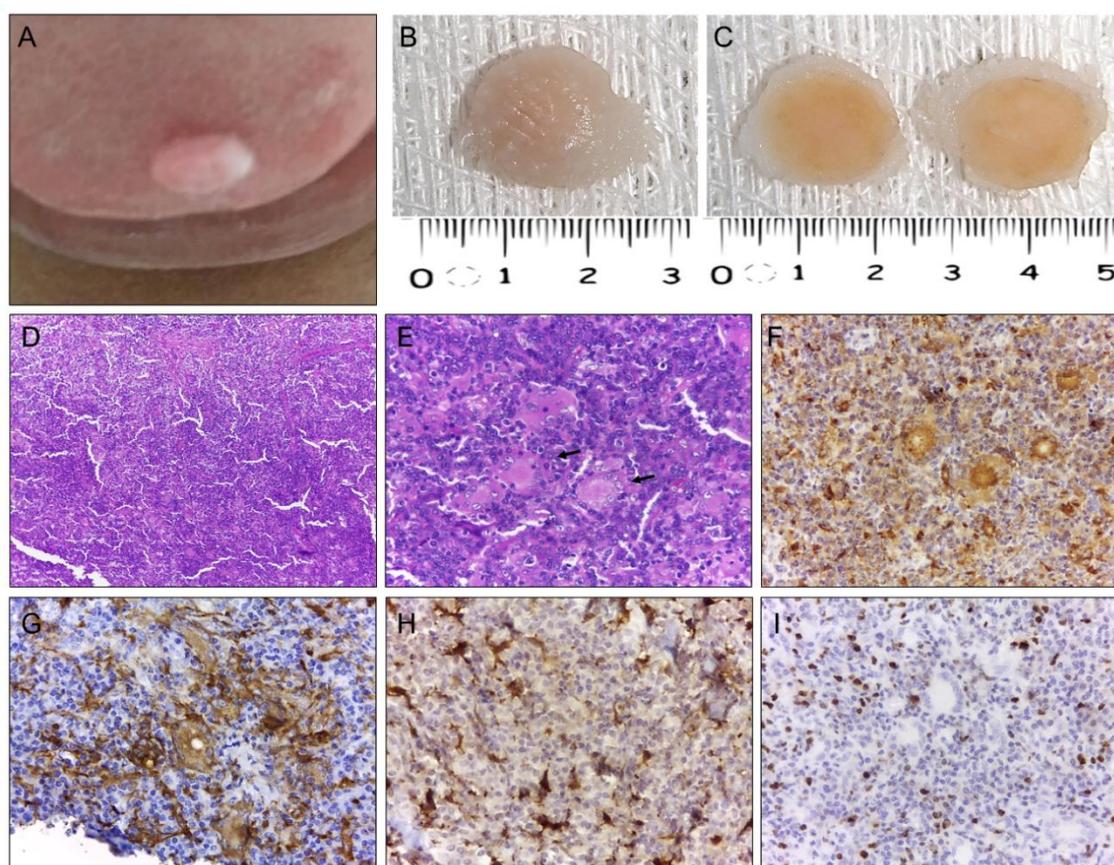
^b Múltiplas (> 100) pápulas e nódulos distribuídos difusamente no corpo, incluindo sola dos pés e língua.

† Após 7 meses de seguimento, a lesão recidivou, foi removida e o tempo de seguimento posterior não foi mencionado.

Duas recorrências locais, com uma primeira em 4 semanas e a segunda em 12 semanas. O tempo de acompanhamento subsequente não foi mencionado.

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

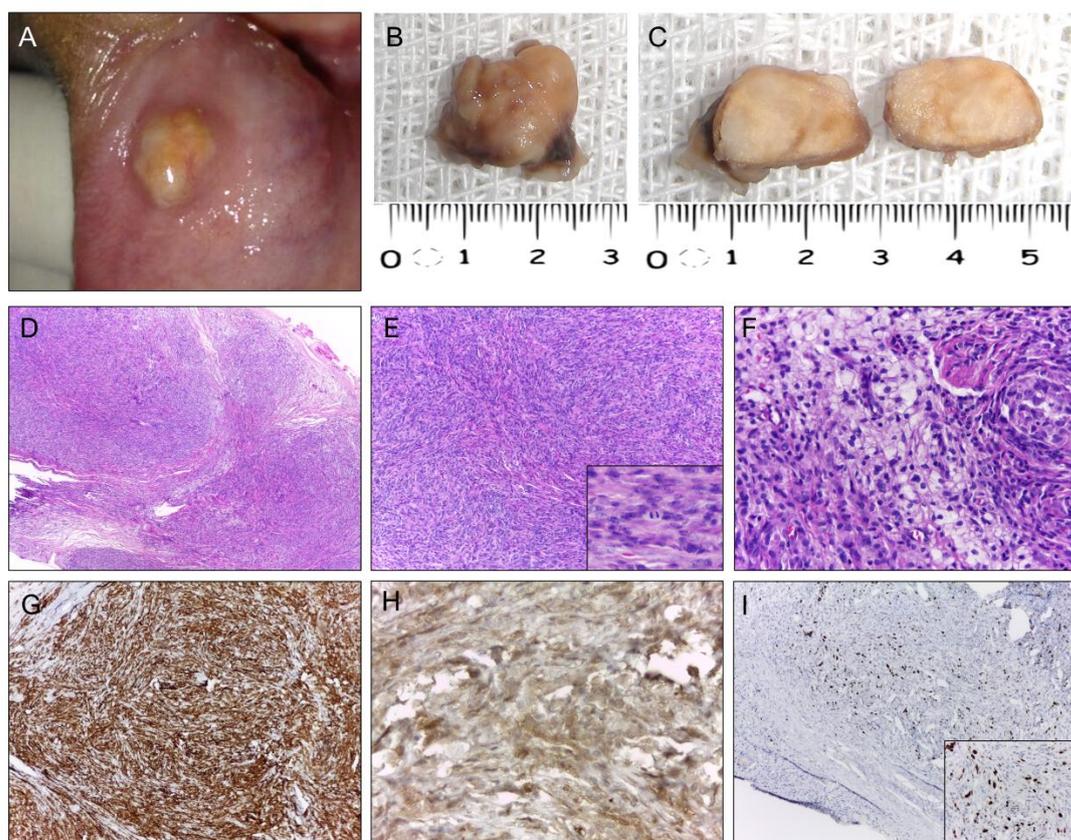
Figura 1. Aspectos clinicopatológicos do xantogranuloma juvenil clássico (caso 4).



A. Aspecto clínico da lesão mostrando nódulo pedunculado rosado em ponta de língua. B, C. Aspecto macroscópico da peça cirúrgica exibindo coloração acinzentada e superfícies de corte amarelas homogêneas. D. Fotomicrografia de baixa potência mostrando uma proliferação densa de células mononucleares histiocíticas (coloração com hematoxilina-eosina, ampliação original x 100). E. Célula gigante multinucleada caracterizada por um arco de núcleos em direção à membrana externa (coloração com hematoxilina-eosina, aumento original 400 x). F. Células mononucleares e gigantes mostrando positividade citoplasmática forte e difusa para CD63 (IHC, ampliação original 200 x; inserção 400 x) e G. CD163 (IHC, ampliação original 200 x; inserção 400 x) H. Positividade focal para Fator XIIIa (IHC, ampliação original 400 x) I. O índice de marcação Ki-67 (MIB-1) foi de aproximadamente 5% (IHC, ampliação original 200 x; inserção 400 x).

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Figura 2. Aspectos clinicopatológicos do xantogranuloma juvenil não lipídico (caso 2).



A. Aspecto clínico da lesão mostrando um nódulo séssil amarelado na mucosa labial inferior. Mucosa subjacente intacta. B, C. Aspecto macroscópico da peça cirúrgica exibindo coloração marrom-amarelada típica e superfícies de corte amarelo-acinzentadas homogêneas. D. Fotomicrografia de baixa potência mostrando um nódulo bem circunscrito composto predominantemente por células fusiformes em um padrão multilobular (coloração com hematoxilina-eosina, aumento original 100 \times). E. Observe a proliferação sólida de células fusiformes dispostas em padrão de crescimento fascicular, estoriforme e algumas mitoses (coloração de hematoxilina-eosina, ampliação original \times 200; inserção \times 400). F. Detalhe de histiócitos epitelioides mostrando vacuolização citoplasmática marcada (coloração de hematoxilina-eosina, ampliação original \times 400) e G. Observe a positividade citoplasmática forte e difusa para CD63 (IHC, ampliação original 200 \times ; inserção 400 \times) e H. Fator XIIIa (IHC, ampliação original 400 \times) I. Numerosas células tumorais positivas para Ki-67 (IHC, ampliação original 200 \times ; inserção 400 \times).

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Tabela 2. Comparação dos achados clínicos e demográficos da revisão da literatura com a presente série de xantogranuloma juvenil oral.

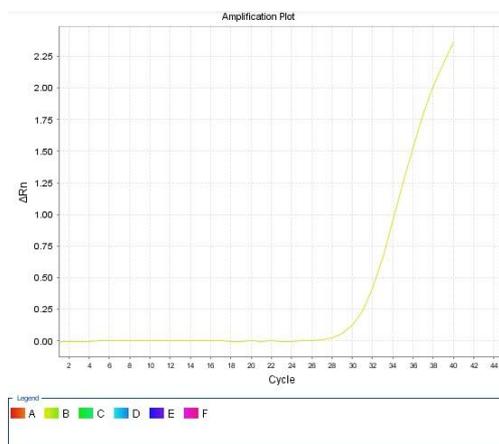
Variável n (%)	Revisão de literatura	Presente série	Total
Sexo			
Masculino	25 (67,6%)	2 (40.0%)	27 (64.,3%)
Feminino	12 (32,4%)	3 (60.0%)	15 (35,7%)
Taxa M:F	2,2:1	1:1.5	1.8:1
Idade (Anos)			
0-9	20 (54,1%)	-	20 (47,6%)
10-19	9 (24,3%)	1 (20.0%)	10 (23,8%)
20-29	-	1 (20.0%)	1 (2,4%)
30-39	4 (10,8%)	1 (20.0%)	5 (11,9%)
40-49	1 (2,7%)	-	1 (2,4%)
50-59	1 (2,7%)	1 (20.0%)	2 (4,8%)
60-69	2 (5,4%)	1 (20.0%)	3 (7,1%)
Média	15,2 ± 17,8	38.8 ± 22.9	18 ± 19.,7
Alcance	0-64	13-68	0-68
Localização anatômica			
Gengiva	11 (29,8%)	-	11 (26,2%)
Língua	10 (27%)	1 (20.0%)	11 (26,2%)
Palato	8 (21,6%)	-	8 (19%)
Língua	3 (8,1%)	1 (20.0%)	4 (9,5%)
Mucosa jugal	3 (8,1%)	3 (60.0%)	6 (14,3%)
Mucosa de rebordo alveolar	1 (2,7%)	-	1 (2,4%)
Vestíbulo anterior de mandíbula	1 (2,7%)	-	1 (2,4%)
Sintomatologia			
Assintomáticos	22 (88%)	3 (60.0%)	25 (83,3%)
Dor	3 (12%)	2 (40.0%)	5 (16,7%)
NI	12 (32,43%)	-	12 (28,57%)
Tamanho (cm)			
Média	1.5 ± 1,3	1.7 ± 0.6	1,5 ± 1,2
Alcance	0.3-5,0	1.0-2.5	0,3-5,0
NI	11 (29,72%)	-	11 (26,19%)
Cor			
Marrom-amarelado	14 (53,9%)	1 (20%)	15 (48,4%)
Rosa-avermelhado	6 (23,1%)	1 (20%)	7 (22,6%)
Coloração normal	4 (15,4%)	3 (60.0%)	7 (22.6%)
Roxo	1 (3,8%)	-	1 (3.2%)

Branco	1 (3,8%)	-	1 (3,2%)
NI	11 (29,72%)	-	11 (26,19%)
Lesões de pele			
Sim	3 (8,1%)	-	3 (7,1%)
Não	34 (91,9%)	5 (100%)	39 (92,9%)
Desconhecido			
Envolvimento visceral			
Não	37 (100%)	NI	37 (100%)
Tratmento			
Excisão cirúrgica conservadora	31 (96,9%)	5 (100%)	36 (97,3%)
Regressão espontânea após biópsia incisioal	1 (3,1%)	-	1 (2,7%)
NI	5 (13,51%)	-	5 (11,90%)
Recorrência			
Sim	4 (13,8%)	-	4 (11,8%)
Não	23 (86,2%)	5 (100%)	30 (88,2%)
Desconhecido			
	8 (21,62%)	-	8 (19,04%)

Legend: NI, Não informado

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Figura 3. Curva de amplificação da reação de PCR quantitativo alelo-específico da análise da mutação *BRAFV600E* em amostra de xantogranuloma juvenil oral. A curva amarela corresponde à amplificação do gene referência no caso 2.



Fonte: dados da pesquisa, 2021.

6 DISCUSSÃO

Desde a primeira descrição de JXG (ADAMSON, 1905), apenas 42 casos (incluindo a série atual) na cavidade oral foram identificados e relatados na literatura. Semelhante ao JXG cutâneo (LUDER *et al.*, 2018; WEITZMAN E JAFFE, 2005), embora a maioria dos casos orais afete crianças na primeira década de vida, em nossa série de cinco casos, pacientes adultos e idosos foram afetados, sem nenhum caso em pacientes com menos de um ano de idade, corroborando com a prevalência na literatura de que menos de 15% dos casos orais são encontrados nessa faixa (FLAITZ *et al.*, 2002). O termo xantogranuloma "do tipo adulto" foi proposto por Gartmann e Tritsch (1963) como nomenclatura mais adequada para lesões na idade adulta. No entanto, o termo JXG ainda é o mais conhecido e utilizado.

Embora uma ligeira predileção pelo sexo feminino tenha sido observada na presente série, uma análise geral do JXG oral revelou uma predominância de duas vezes para o sexo masculino, assim como em casos de manifestação cutânea (LUDER *et al.*, 2018; WEITZMAN E JAFFE, 2005). Em relação à localização, embora a ocorrência na mucosa jugal seja extremamente rara (CHEN *et al.*, 2015; COSTA *et al.*, 2008; FLAITZ *et al.*, 2002), este local foi o mais afetado na presente série. No entanto, a gengiva (CHRISTENSEN, HERTZ E CHERRICK., 1978; CONSOLARO *et al.*, 2009; FLAITZ *et al.*, 2002; KIM *et al.*, 2019; KJAERHEIM E STOKKE, 1974; OSSOFF *et al.*, 1980; SANCHEZ -ROMERO *et al.*, 2018; TAKEDA *et al.*, 1986; VASCONCELOS *et al.*, 2001) e língua (BAIK *et al.*, 2014; COHEN *et al.*, 1981; FLAITZ *et al.*, 2002; PATEL, MEECHAN E SOAMES., 1993; SANGÜEZA *et al.*, 1995; SATOW *et al.*, 1995; SHAPIRO *et al.*, 1999; TANYERI, WEISENBERG E FRIEDMAN., 2000; VILLA, MARIANI E VILLA, 2011) são os principais locais relatados na literatura.

Considerando a apresentação clínica, JXG oral comumente se manifesta como um nódulo submucoso indolor de cor marrom-amarelada (CHRISTENSEN, HERTZ E CHERRICK., 1978; COHEN *et al.*, 1981; CONSOLARO *et al.*, 2009; FABRIZI E MASSI, 2001; FLAITZ *et al.*, 2002; ISRAEL CARLOS E PIRES, 2017; KJAERHEIM E STOKKE, 1974; KWAN *et al.*, 1996; OSSOFF *et al.*, 1980; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018; SANGÜEZA *et al.*, 1995; SHIMOYAMA, HORI E IDE., 2000; TAGAWA, INUI E MURATA., 1996). Curiosamente, nos presentes casos com mucosa de cobertura

normocrômica ou avermelhada, o aspecto macroscópico das lesões após a excisão apresentava aspecto amarelado. Considerando os oito casos publicados que descrevem a cor macroscópica das amostras (COLLINS *et al.*, 2014; COLLINS *et al.*, 2009; CONSOLARO *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2008; KAWASHIRI *et al.*, 1997; TAGAWA, INUI E MURATA, 1996; TAKEDA *et al.*, 1986), cinco relataram o mesmo achado amarelado (CONSOLARO *et al.*, 2009; COSTA *et al.*, 2008; TAGAWA, INUI E MURATA, 1996; TAKEDA *et al.*, 1986). Isso sugere que essa cor seja uma característica comum nas lesões orais de JXG. Embora as lesões orais fossem geralmente pequenas (CONSOLARO *et al.*, 2009; KJAERHEIM E STOKKE, 1974; OSSOFF *et al.*, 1980), foram relatados casos superiores a 4 cm na língua, bochecha e palato (BAIK *et al.*, 2014; COSTA *et al.*, 2008; DISSANAYAKA *et al.*, 2010).

O JXG oral compartilha semelhanças clínicas com várias condições benignas comuns (CONSOLARO *et al.*, 2009; ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017), com diferentes etiologias, incluindo outros xantomas (por exemplo, xantoma verruciforme), neoplasias verdadeiras (lipomas ou tumor de células granulares), lesões de desenvolvimento (grânulos de Fordyce, agregado linfóide, cistos dermóides e epidermóides), condições reativas / inflamatórias (abscessos, hiperplasia fibrosa), e manifestações de doença sistêmica (BATISTA *et al.*, 2012; CONSOLARO *et al.*, 2009; FABRIZI E MASSI, 2001; ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017; KIM *et al.*, 2019; KWAN *et al.*, 1996; SATOW *et al.*, 1995; VILLA, MARIANI E VILLA, 2011). Distúrbios das glândulas salivares, como mucocele, adenoma pleomórfico ou carcinoma mucoepidermóide, foram relatados como diagnóstico diferencial em casos localizados no palato (DISSANAYAKA *et al.*, 2010; PALACIOS *et al.*, 1987).

Morfologicamente, a marca registrada clássica de JXG é a presença de numerosas células espumosas acompanhadas ou não por células gigantes do tipo Touton (COHEN *et al.*, 1981; FABRIZI E MASSI, 2001; FLAITZ *et al.*, 2002; ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018; SANGÜEZA *et al.*, 1995; SATOW *et al.*, 1995; VILLA, MARIANI E VILLA, 2011), conforme evidenciado em nossa série. O diagnóstico diferencial morfológico da apresentação clássica inclui fenômenos de extravasamento de muco com macrófagos vacuolados abundantes, reações de corpo estranho, xantoma verruciforme (ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017) e lesões de histiocitose de células de Langerhans (ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018). A história clínica e a análise histológica

cuidadosa são suficientes para excluir os três primeiros. No entanto, a exclusão de LCH pode exigir análise imuno-histoquímica. Histiócitos em JXG são positivos para CD68, antitripsina, anti-quimiotripsina e negativos para CD1a, proteína S-100 e CD207 (langerina), ao contrário das células de Langerhans que são positivas para ambos os marcadores (CONSOLARO *et al.*, 2009; FLAITZ *et al.*, 2002; ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017; SANGÜEZA *et al.*, 1995; TAGAWA, INUI E MURATA, 1996). Além disso, os eosinófilos são achados comuns em histiocitose de células de Langerhans, enquanto as células gigantes de Touton são características de JXG. Além disso, a ausência de grânulos de Birbeck na avaliação ultraestrutural por microscopia eletrônica do JXG ajuda a descartar LCH (FLAITZ *et al.*, 2002; KAWASHIRI *et al.*, 1997; KWAN *et al.*, 1996; SHIMOYAMA, HORI E IDE, 2000).

Por outro lado, o diagnóstico diferencial morfológico de casos com variações na apresentação histológica, que carecem de células gigantes, espumosas e vacuolizadas e compostos por uma população de histiócitos de morfologia única, em estágios mais iniciais de maturação, que podem ser arranjar num padrão estoriforme e um estroma que pode apresentar áreas de produção tipo amiloide é desafiador, devido à sobreposição significativa de achados morfológicos com vários tumores benignos e malignos de tecidos moles (BATISTA *et al.*, 2012; FABRIZI E MASSI, 2001; FLAITZ *et al.*, 2002). Um destes tumores é o fibrohistiocitoma benigno, cuja principal população celular consiste em uma proliferação compacta de células tipo histiócitos com citoplasma claro e núcleo com nucléolo proeminente (PRISSE *et al.*, 2015). A diferenciação com o JXG de apresentação não clássica como a forma não lipídica é, portanto, difícil e deve se levar em consideração principalmente o padrão morfológico mais heterogêneo no fibrohistiocitoma, cujas células mostram também diferenciação fibroblástica. O uso de marcadores imuno-histoquímicos pode nem sempre ajudar na distinção fibrohistiocitoma e JXG oral, uma vez que as células no primeiro também podem ser positivas para Fator XIIIa, CD-68, CD1a, além de negativas para S-100 (PRISSE *et al.*, 2015). Assim, uma avaliação clínica e morfológica cuidadosa é essencial e, por vezes, pode ser reforçada por exames imuno-histoquímicos para evitar diagnósticos incorretos.

Nesta série de cinco casos, a maioria das células foi positiva para marcadores histiocíticos, como CD68 e CD163, e negativa para proteína S-100, descartando LCHs. A positividade para o Fator XIIIa variou de focal em células fusiformes na forma

clássica, à difusa e forte na apresentação não lipídica, conforme descrito anteriormente por outros autores (FLAITZ *et al.*, 2002; BATISTA *et al.*, 2012; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018). No entanto, formas clássicas de JXG mostrando positividade difusa e forte para fator XIIIa também já foram previamente relatadas (CONSOLARO *et al.*, 2009; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018). A positividade para Fator XIIIa parece refletir a célula precursora da maioria das não-LCH, incluindo o JXG, a célula dendrítica dérmica, que podem ser encontrada tanto em sítios cutâneos como extracutâneos (WEITZMAN E JAFFE, 2005).

O índice Ki-67 geralmente é baixo na maioria das lesões. No entanto, semelhante aos nossos resultados, áreas superficiais podem ter um índice de proliferação intermediário (10%) (SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018). Além disso, foram relatados casos de JXG com alta atividade mitótica (> 30%) (BATISTA *et al.*, 2012), como o presente caso 2, sugerindo a possibilidade de malignidade (BATISTA *et al.*, 2012; SANCHEZ-ROMERO *et al.*, 2018). No entanto, os dados devem ser interpretados com cautela em conjunto com as características clínicas para evitar diagnósticos incorretos.

Ao contrário do JXG cutâneo, as lesões orais não regredem espontaneamente (CONSOLARO *et al.*, 2009; ISRAEL, CARLOS E PIRES, 2017; LE BOIT *et al.*, 2006). Portanto, é necessária sua remoção cirúrgica, mesmo em casos onde o comportamento clínico seja indolente. (CONSOLARO *et al.*, 2009; ISRAEL CARLOS AND PIRES, 2017). A taxa de recorrência das lesões orais se mostrou relativamente baixa (12,5%), estando relacionada à ocorrência de excisão cirúrgica incompleta.

Mutações pontuais *BRAF* V600E estão presentes em uma alta frequência na maioria das lesões de histiocitose de células de Langerhans (VAISELBUH *et al.*, 2014), bem como em subtipo de não-LCHs, como a doença de Erdhein-Chester (HAROCHE *et al.*, 2012). A ocorrência de mutações em outros genes relacionados à via de sinalização MAPK, nas desordens como Erdhein-Chester e no JXG (CHAKHARBORTY *et al.*, 2017) suportam que essa via esteja relacionada à patogênese das não-LCH. Com base nestes achados, bem como no de casos de JXG em sítios extracutâneos, como o sistema nervoso central (PICARSIC *et al.*, 2019b; TECHAVITCHIT *et al.*, 2017) que mostraram a ocorrência de *BRAF* V600E, nosso estudo hipotetizou se esta mutação estaria presente nas lesões de JXG oral. Devido à raridade do JXG intraoral, apenas 5 casos foram investigados para o status mutacional de *BRAF*. A ausência da mutação *BRAF* V600E nos JXG orais

investigados corrobora com os achados em JXG cutâneos que não mostraram também essa mutação (CHAKRABORTY *et al.*, 2014; CHAKRABORTY *et al.*, 2017; HOYT *et al.*, 2019). Entretanto, nossa amostra é pequena se comparada à amostra de casos cutâneos (HOYT *et al.*, 2019) e nossos resultados não permitem excluir se genes da via MAPK podem estar alterados no JXG oral. Embora a análise molecular do JXG oral aqui realizada seja inédita, outras investigações que se aprofundem em um maior número de amostras e com métodos de sequenciamento amplos, podem elucidar melhor os achados do JXG oral e se estes se aproximam dos encontrados no JXG cutâneo.

7 CONCLUSÃO

Em síntese, descrevemos neste estudo as características clinicopatológicas e imuno-histoquímicas de cinco novos casos de JXG oral no Brasil e comparamos esses achados com a literatura existente. A investigação de mutação em *BRAF* no JXG oral é inédita, e os resultados não suportam a alteração *BRAF* V600E no JXG oral. Entretanto, é importante salientar que a amostra investigada é pequena. Embora o JXG seja uma lesão rara na cavidade oral, afetando principalmente a gengiva e a língua de crianças e adolescentes, esta lesão pode afetar pacientes em qualquer faixa etária. A análise morfológica cuidadosa dessas lesões, especialmente de apresentações histológicas incomuns, apoiada pela imuno-histoquímica, é recomendada para evitar diagnósticos equivocados.

REFERÊNCIAS

ADAMSON, N.F. Congenital xanthoma multiplex in a child. **Br J Dermatol.**,v.17, p.222–3, 1905.

BADALIAN-VERY, G.; VERGILIO, J.A.; DEGAR, B.A., et al. Recurrent BRAF mutations in Langerhans cell histiocytosis. **Blood.**, v.116, p.1919–1923, 2010.

BAIK, F.M.; ANDEEN, N.K.; SCHMECHEL, S.C.; FUTRAN, N.D. A large juvenile xanthogranuloma within the tongue. **Otolaryngol Head Neck Surg.**, v.150, n.2, p.332-333, 2014.

BATISTA, A.C.; MENDONÇA, E.F.; ARANTES, L.S.; ANDRADE, B.A.; ALMEIDA, O.P.; LEÓN, J.E. Nonlipidized juvenile xanthogranuloma: an unusual variant with a potential diagnostic pitfall. **Int J Pediatr Otorhinolaryngol.**, v.76, n.2, p.295-299, 2012.

BELLINATO, F.; MAURELLI, M.; COLATO, C.; BALTER, R.; GIROLOMONI, G.; SCHENA, D. BRAF V600E expression in juvenile xanthogranuloma occurring after Langerhans cell histiocytosis. **British Journal of Dermatology.**, p.933–934, 2019.

CHAKRABORTY, R.; ALLEN, C.E.; SENGAL, A.; GAIKWAD, A.S.; ABHYANKAR, H.; SCULL, B. et al. Immune checkpoint inhibitors restore function of lesion infiltrating T lymphocytes in Langerhans cell histiocytosis. **Blood.**,v.130, p.2280, 2017.

CHAKRABORTY, R.; HAMPTON, O. A.; SHEN, X.; SIMKO, S. J.; SHIH, A.; ABHYANKAR, H.; PARSONS, D. W. Mutually exclusive recurrent somatic mutations in MAP2K1 and BRAF support a central role for ERK activation in LCH pathogenesis. **Blood.**, v. 124, n.19, p.3007–3015, 2014.

CHANG, M.W. Update on juvenile xanthogranuloma: unusual cutaneous and systemic variants. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery.**, v.18, n.3, p.195-205, 1999.

CHEN, C.Y.; SUNG, C.L.; MU-YEN, H.; WEN-CHEN, W.; LI-MIN, L.; YUK-KWAN, C. An adult juvenile xanthogranuloma in the buccal mucosa. **J Dent Sci.** v.10, p.334-337, 2015.

CHRISTENSEN, R.E.; HERTZ, R.S.; CHERRICK, H.M. Intraoral juvenile xanthogranuloma. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** v.45, n.4, p.586-590, 1987.
COHEN, D.M.; BRANNON, R.B.; DAVIS, L.D.; MILLER, A.S. Juvenile xanthogranuloma of the oral mucosa. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v.52, n.5, p.513-52, 1981.

COLLIE, J.S.; HARPER, C.D.; FILLMAN, E.P. Juvenile Xanthogranuloma. In: **StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.**
Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526103/>>

COLLINS, L.; BANKS, R.; ROBINSON, M. Juvenile xanthogranuloma: unusual intraoral finding. **Br J Oral Maxillofac Surg.**, v.53, n.1, p.86-88, 2014.

CONSOLARO, A.; SANT'ANA, E.; LAWALL, M.A.; CONSOLARO, M.F.; BACCHI, C.E. Gingival juvenile xanthogranuloma in an adult patient: case report with immunohistochemical analysis and literature review. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v.107, n.2, p.246-252, 2009.

COSTA, F.; CIAN, R.; ROBIONY, M.; ZERMAN, N.; POLITI, M. Unilateral swelling of the cheek. **J Oral Maxillofac Surg.**, v.66, n.2, p.342-348, 2008.

DISSANAYAKA, W.L; JAYASOORIYA, P.R.; WICKRAMASURIYA, G.; DIAS, D.K.; TILAKARATNE, W.M. Oral juvenile xanthogranuloma: report of two cases and literature review. **Oral Surgery.**, v.3, p.22-35, 2009.

EMILE, J.F.; ABLA, O.; FRAITAG, S., et al. Histiocyte society. Revised classification of histiocytoses and neoplasms of the macrophage-dendritic cell lineages. **Blood.**, n.127, v.22, p.2672-2681, 2016.

FABRIZI, G.; MASSI, G. Mononuclear variant of juvenile xanthogranuloma in the oral cavity of an adult patient. **Br J Dermatol.**, v.144, n.4, p.909-911, 2001.

FAVARA, B.E.; FELLER, A.C.; PAULI, M.; JAFFE, E.S.; WEISS, L.M.; ARICO, M., et al. Contemporary classification of histiocytic disorders. The WHO committee on histiocytic/reticulum cell proliferations. Reclassification working group of the histiocyte society. **Med Pediatr Oncol.** v.29, 157-66, 1997.

FLAITZ, C.; ALLEN, C.; NEVILLE, B.; HICKS, J. Juvenile xanthogranuloma of the oral cavity in children: a clinicopathologic study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** v.94, n.3, p.345-352, 2002.

GARTMANN, H.; TRITSCH, H. Heln- and grobknotigens Naevoxanthoendotheliom. **Dermatologica.**, v.215, p.409–21,1963.

HAROCHE, J.; ABLA, O. Uncommon histiocytic disorders: Rosai-Dorfman, juvenile xanthogranuloma, and Erdheim-Chester disease. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program.**, v.1, p.571-578, 2015.

HAROCHE, J.; CHARLOTTE, F.; ARNAUD, L., et al. High prevalence of BRAF V600E mutations in Erdheim-Chester disease but not in other non-Langerhans cell histiocytoses. **Blood.**, v.120, p.2700–2703, 2012.

Histiocytosis syndromes in children. Writing Group of the Histiocyte Society. **Lancet**, v.1, n.8526, p.208-209, 1987.

HOYT, B. S.; YAN, S.; LINOS, K. D.; MOMTAHEN, S.; SRIHARAN, A.; TRAN, T.A. N.; LEBLANC, R.E. BRAF V600E mutations are not an oncogenic driver of solitary xanthogranuloma and reticulohistiocytoma: Testing may be useful in screening for Erdheim-Chester disease. **Experimental and Molecular Pathology.**, v.111, 2019.

ISRAEL, M.S.; CARLOS, R.; PIRES, F.R. Oral Juvenile Xanthogranuloma: Report of Two Cases. **Pediatr Dent.**, v.39, n.3, p.238-240, 2017.

KANSAL, R.; QUINTANILLA-MARTINEZ, L.; DATTA, V., et al. Identification of the V600D mutation in Exon 15 of the BRAF oncogene in congenital, benign langerhans cell histiocytosis. **Genes Chromosomes Cancer.**, v.52, p.99–106, 2013.

KAWASHIRI, S.; KUMAGAI, S.; NAKAGAWA, K.; YAMAMOTO, E.; IMAI, K. Juvenile xanthogranuloma occurring in the oral cavity: case report and histopathological findings. **J Oral Pathol Med.**, v.26, n10, p.484-7, 1997.

KIM, Y.K.; HAN D.; ICK YANG, W.I.; PARK, J.H.; CHO, E.S.; KIM, D.W. Gingival Juvenile Xanthogranuloma. **The Korean Journal of Oral and Maxillofacial Pathology.**, v. 10., n.5, p.203-207, 2019.

KJAERKEIM, A.; STOKKE, T. Juvenile xanthogranuloma of the oral cavity. An electron microscopic study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**,v.38, n.3, p414-425, 1974.

KOLCH, W. Meaningful relationships: the regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. **Biochemical Journal**, v.351, n.2, p.289–305, 2000.

KWAN, C.Y.; MIN, L.L.; CHUNG, L.C.; HANG, Y.Y. Intraoral juvenile xanthogranuloma. A case report and literature review. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v.81, n.4, p.450-3, 1996.

LE BOIT, P.E.; BURG, G.; WEEDON, D., et al. **WHO Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Skin Tumours**. 3ª edição, v.6. Lyon: IARC Press, 2006.

LUDER, C. M., NORDMANN, T. M., RAMELYTE, E., MÜHLEISEN, B., KERL, K., GUENOVA, E., & DUMMER, R. Histiocytosis - cutaneous manifestations of hematopoietic neoplasm and non-neoplastic histiocytic proliferations. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 32, n.6, p.926–934, 2018.

OSSOFF, R.H.; LEVIN, D.L.; ESTERLY, N.B.; TUCKER, G.F. Intraoral and cutaneous juvenile xanthogranuloma. **Ann Otol Rhinol Laryngol.**, v.89, p.268-270, 1980.

PALACIOS, J.; RODRIGUEZ-PERALTO, J.L.; CONTRERAS, F. Congenital oral juvenile xanthogranuloma: report of a case. **J Oral Maxillofac Surg.**, v.45, n.8, p.707-709, 1987.

PATEL, A.V.; MEECHAN, J.G.; SOAMES, J.V. Juvenile xanthogranuloma of the oral cavity: a case report. **Int J Paediatr Dent.**, v.3, n.1, p.43-5, 1993.

PICARSIC, J.; ALAGGIO, R.; JAFFE, R.; DIAMOND, E. L.; DURHAM, B. H.; ABDEL-WAHAB, O. Genomic analysis of c-group juvenile xanthogranuloma. Family lesions identifies novel kinase alterations and distinctive morphologic patterns. **Pediatric Blood and Cancer.**, v.66, 2018.

PICARSIC, J.; PYSHER, T.; ZHOU, H.; FLUCHEL, M.; PETTIT, T.; WHITEHEAD, M.; SURREY, L.F.; HARDING, B.; GOLDSTEIN, G.; FELLIG, Y.; WEINTRAUB, M.; MOBLEY, B.C.; SHARPLES, P.M.; SULIS, M.L.; DIAMOND, E.L.; JAFFE, R.; SHEKDAR, K.; SANTI, M. BRAF V600E mutation in Juvenile Xanthogranuloma family neoplasms of the central nervous system (CNS-JXG): a revised diagnostic algorithm to include pediatric Erdheim-Chester disease. **Acta Neuropathol Commun.**, v.7, n.1, p.168, 2019.

PRISSE, L.A.; JAYASOORIYA, P.R.; MENDIS, B.R.; LOMBARDI, T. Benign Fibrous Histiocytomas of the Oral Mucosa: Report on Three Cases and Review of the Literature. **Dermatopathology**, n.2, v.2, p.52-60, 2015.

SAHM, F.; CAPPER, D.; PREUSSER, M., et al. BRAFV600E mutant protein is expressed in cells of variable maturation in Langerhans cell histiocytosis. **Blood**, v.120, p.28-34, 2012.

SÁNCHEZ-ROMERO, C.; CUENCA, A.I.; PAES DE ALMEIDA, O.; GUTIÉRREZ CORTÉS, E. Oral juvenile xanthogranuloma in a child: Clinical, histological and immunohistochemical profile of a rare entity. **J Cutan Pathol.**, v.45, n7, p.515-521, 2018.

SANGÜEZA, O.P.; SALMON, J.K.; WHITE, C.R.; BECKSTEAD, J.H. Juvenile xanthogranuloma: a clinical, histopathologic and immunohistochemical study. **J Cutan Pathol.**, v.22, n.4, p.327-335, 1995.

SATOH, T.; SMITH, A.; SARDE, A., et al. B-RAF mutant alleles associated with Langerhans cell histiocytosis, a granulomatous pediatric disease. **PLoS ONE.**, v.7, n.4, p.33891, 2012.

SATOW, S.J.; ZEE, S.; DAWSON, K.H.; GOWN, A.M.; ODA, D., WORTHINGTON, P. Juvenile xanthogranuloma of the tongue. **J Am Acad Dermatol.**, v.3, p.376-9, 1995.

SHAPIRO, N.L.; MALIS, D.J.; CHARON, C.C.; BILLMAN, G.F.; KEARNS, D.B. Giant juvenile xanthogranuloma of the tongue. **Am J Otolaryngol.**, v.20, n.4, p.241-4, 1999.

SHIMOYAMA, T.; HORIE, N.; IDE, F. Juvenile xanthogranuloma of the lip: case report and literature review. **J Oral Maxillofac Surg.** v.58, p.6 p.677-679, 2000.
SO, N.; LIU, R.; HOGELING, M. Juvenile xanthogranulomas: Examining single, multiple, and extracutaneous presentations. **Pediatr Dermatol.**, v.37, p.637– 644, 2020.

TAGAWA, T.; INUI, M.; MURATA, M. Palatal juvenile xanthogranuloma. A case report. **Int J Oral Maxillofac Surg.**, v.25, n.6, p.453-4, 1996.

TAKEDA, Y.; SUZUKI, A.; FUJIOKA, Y.; TAKAYAMA, K. Xanthogranuloma of the oral cavity in adult. A case report and review of the literature. **Acta Pathol Jpn.**, v.36, n.10, p.1565-1570, 1986.

TANYERI, H.; WEISENBERG, E.; FRIEDMAN, M. Juvenile Xanthogranuloma of the Tongue. **Otolaryngology–Head and Neck Surgery**., v.123, n.5, p.641-642, 2000.

TECHAVICHIT, P.; SOSOTHIKUL, D.; CHAICHANA, T.; TEERAPAKPINYO, C.; THORNER, P. S.; SHUANGSHOTI, S. BRAF V600E mutation in pediatric intracranial and cranial juvenile xanthogranuloma. **Human Pathology**., v.69, p.118–122, 2017.

VAISELBUH, S,R.; BRYCESON, Y.T.; ALLEN, C.E.; WHITLOCK, J.A.; ABLA, O. Updates on histiocytic disorders. **Pediatr blood cancer**., v.61, n.7, p.1329–35, 2014.

VASCONCELOS FO, OLIVEIRA LA, NAVES MD, CASTRO WH, GOMEZ RS. Juvenile xanthogranuloma: case report with immunohistochemical identification of early and late cytomegalovirus antigens. **J Oral Sci**., v.43, n.1, p.21-25, 2001.

VILLA, A., MARIANI, U., VILLA, F. Lingual juvenile xanthogranuloma in a woman: a case report. **J Med Case Rep**. v. 24, n.5, p.30, 2011.

WEITZMAN S.; JAFFE R. Uncommon histiocytic disorders: the non-Langerhans cell histiocytoses. **Pediatr Blood Cancer**., v.45, n.3, p.256-264, 2005.

WHO Classification of Tumours Editorial Board. Soft tissue and bone tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer. **WHO classification of tumours series**., 5th ed, v.3, 2020.

APÊNDICE A: Artigo submetido ao periódico *Head and Neck Pathology***Oral juvenile xanthogranuloma: a clinicopathological, immunohistochemical and *BRAF* V600E study of five new cases, with literature review****Running head: Juvenile xanthogranuloma in the oral cavity**

Carolina Peres **Mota**^{a*}, John Lennon **Silva Cunha**^{b*} <https://orcid.org/0000-0002-0679-8485>, Maria Carolina Silva Versieux **Magalhães**^a, Mônica Simões **Israel**^c, Nathália de Almeida **Freire**^c, Emilia Rosaria Carvalho dos **Santos**^d, Nathalie Henriques Silva **Canedo**^d, Michelle **Agostini**^e <https://orcid.org/0000-0002-3648-337X>, Aline Corrêa **Abrahão**^e <https://orcid.org/0000-0002-3397-3234>, Bruno Augusto Benevenuto de **Andrade**^e <https://orcid.org/0000-0002-3259-606X>, Mário José **Romañach**^e <https://orcid.org/0000-0002-7853-5916>, Sílvia Ferreira **de Sousa**^a <https://orcid.org/0000-0001-7820-4749>

* These authors contributed equally to this work.

^a Department of Oral Pathology and Surgery, School of Dentistry, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil

^b Department of Oral Diagnosis, Piracicaba Dental School, State University of Campinas (FOP-UNICAMP), Piracicaba, Brazil

^c Clinic of Stomatology, School of Dentistry, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brazil

^d Department of Pathology, School of Medicine, Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brazil

^e Department of Oral Diagnosis and Pathology, School of Dentistry, Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brazil

Corresponding Author:

Prof. Silvia Ferreira de Sousa, Department of Oral Surgery and Pathology, School of Dentistry, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Presidente Antonio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, Brazil, Zip Code: 31270-901

Telephone: + 55 31 3409-2497

e-mail: silviafsousa@ufmg.br

Text pages: 20

Number of Figures: 2

Number of Tables: 1

Abstract

Background: Juvenile xanthogranuloma (JXG) is the most common form of non-Langerhans cell histiocytosis and oral mucosal involvement is exceedingly rare. Histiocytic disorders harbor activating mutations in MAPK pathway, including the report of *BRAF* V600E in JXG of extracutaneous site. However, no information is available for oral JXG. Herein, the clinicopathological and immunohistochemical features of five new oral JXG were evaluated in conjunction with literature review. Also, we assessed the *BRAF* V600E in oral samples. **Methods:** Five oral JXG were retrieved from pathology archives. Morphological and immunohistochemical analyses were performed. The *BRAF* V600E status was determined with TaqMan allele-specific qPCR. **Results:** The series comprised of three female and two male patients, most of them adults, with a median age of 39 years (range: 13–68 years). Clinically, the lesions appeared as asymptomatic solitary nodules, measuring up to 2.5 cm, with more incident to the buccal mucosa. Morphologically, most of the cases presented classical histological features of JXG, with histiocytic cells consistent with the non-Langerhans cell immunophenotype. *BRAF* V600E was not detected in the cases tested. **Conclusion:** This is the first and largest published series of oral JXG affecting adults and a Brazilian population. The molecular pathogenesis of oral JXG remains unknown. Clinicians and pathologists must recognize JXG to avoid misdiagnoses with oral benign or malignant lesions.

Keywords: Juvenile xanthogranuloma; non-Langerhans cell histiocytosis; histiocytic disorders; oral cavity; *BRAF* V600E; mutation

Introduction

Non-Langerhans cell histiocytosis (non-LCH) constitute a group of disorders infiltrated by histiocytes that do not meet the immunophenotype of Langerhans cells, i.e., expression of CD1a, S-100 and detection of Birbeck granules [1,2]. Juvenile xanthogranuloma (JXG) is the most common form of non-LCH of childhood that mainly occurs in the cutaneous sites of normolipemic infants and children, rarely affecting adults [1,2].

JXG rarely affects the oral cavity, with less than 40 cases reported in the English-language literature [3]. From these, the oral "adult-type" xanthogranulomas are still more rare [3]. Morphologically, JXG are characterized by the presence of numerous foamy histiocytes exhibiting varying degrees of cytoplasmic vacuolization and Touton-type multinucleated giant cells, a feature of JXG [3-6]. Microscopic variants have been described [5,7,8], and may represent a challenging diagnosis, even for experienced pathologists [3,5].

The etiology of oral JXG is uncertain, although it is suggested that this entity has a reactive nature and self-limiting behavior [4,5]. The molecular pathogenesis of JXG is also little understood [9]. Some studies have investigated the genetic basis of cutaneous and extracutaneous JXG [9-14], however, no data is available for oral lesions. Histiocytic disorders have been associated with activating mutations in MAPK pathway genes [9-14], including the report of *BRAF* V600E in JXG of extracutaneous site [9,14]. However, the presence or not of *BRAF* V600E mutation in oral lesions is unknown.

In this study, we report the clinicopathological and immunohistochemical features of five new cases of oral JXG, in conjunction with a literature review. We also investigated the *BRAF* V600E status in the current cases.

Materials and Methods

Samples

Five oral JXG cases were recovered from two Brazilian oral pathology services: Federal University of Rio de Janeiro (n = 4), and Federal University of Minas Gerais (n = 1). Clinical and sociodemographic data were collected from the medical records. Hematoxylin and eosin-stained sections were obtained from each case. The morphological features of the five included cases were re-evaluated by the oral pathologists included in the study.

Immunohistochemistry analysis

Immunohistochemistry analyses were performed by the streptavidin-biotin peroxidase complex technique on formalin-fixed paraffin-embedded tissue, using standard protocols for the following antibodies: CD68 (clone PG-M1, dilution 1:500), CD163 (clone PG-M, dilution 1:500), factor XIIIa (clone E980.1, dilution 1:300), CD10 (clone 56C6, dilution 1:500), S-100 protein (polyclonal, dilution 1:10000), and Ki-67 (clone MIB1, dilution 1:100). All antibodies were obtained from Dako (Glostrup, Denmark). Internal positive controls and negative controls were considered in all reactions.

***BRAF* V600E analysis**

BRAF V600E mutation detection was performed in all five cases. Genomic DNA was isolated from paraffin blocks using a kit (Qiaamp DNA FFPE Tissue Kit; Qiagen, Hilden, Germany) and DNA quantification was performed by spectrophotometry (NanoDrop 2000; Thermo Fisher Scientific, Wilmington, USA). The *BRAF* V600E mutation was assessed by allele-specific qPCR using TaqMan probes *BRAF*_476_mu and *BRAF*_rf (Applied Biosystems, Foster City, USA). Reactions were run on the StepOne Real-Time PCR System

(Applied Biosystems, Waltham, Massachusetts, USA), and the mutation status was determined by the Mutation Detector Software (Life Technologies Corporation, Carlsbad, USA).

Literature review

All papers included in the literature review were case reports, case series, or retrospective studies of patients with JXG in the oral cavity published in the English language with sufficient clinical and histopathological data for a definitive diagnosis. The following information was collected when available: year of publication, number of reported cases, sociodemographic data of patients, clinical characteristics of the lesion, time of evolution, treatment performed, recurrence, and follow-up period. Histopathological and immunohistochemical data were also extracted.

Descriptive and quantitative analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences for Windows 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Continuous variables were expressed by median and range (minimum and maximum value). Categorical variables were expressed as the absolute number of cases and percentage values.

Results

Current cases

Five cases of oral JXG were retrieved. **Figures 1** and **2** illustrate the main clinicopathological findings in cases 2 and 4. The series comprised of three females (60.0%) and two males (40.0%), with a median age of 39 years (range: 13–68 years) and a 1.5:1 female-to-male ratio. The majority of patients were Caucasian (n = 3, 50.0%). The buccal mucosa was the most affected site (n = 3 cases; 60.0%) followed by the tongue (n = 1, 20.0%) and the lip (n = 1, 20.0%). All cases presented clinically as solitary, well-circumscribed sessile nodules with smooth surfaces of durations varying from one to 12 months (median: 4.5 months) and

measuring from 1.0–2.5 cm (median: 1.5 cm). The color varied between normochromic (n = 3, 60.0%), reddish (n = 1, 20.0%), and yellow (n = 1, 20.0%) (**Figures 1A and 2A**). Three patients were asymptomatic (60.0%), and pain was related by two (40.0%). Cutaneous lesions were not detected. The clinical differential diagnoses included lipoma, pleomorphic adenoma, and traumatic fibroma. All lesions were treated through simple excision, with no data available for follow-up.

Gross examination of oral JXG included well-defined soft tissue fragments of yellowish to brownish coloration, firm in consistency, with smooth yellowish-gray cut surfaces (**Figures 1B, 1C, 2B, 2C**). Morphologically, 80% (4/5) presented as the classical form of JXG and were characterized by a diffuse, nonencapsulated, lymphohistiocytic proliferation in a dense connective tissue (**Figure 1D**). The mononuclear component exhibited spindle to elongated cells with indistinct cytoplasmic borders and round to ovoid nuclei, containing dense chromatin and small nucleoli. Multinucleated cells with nuclei arranged around a central eosinophilic cytoplasm and pale, foamy cytoplasm on the periphery (Touton-type giant cells) were also observed (**Figure 1E**). Small lymphocytes, plasma cells, and occasional eosinophils were scattered throughout the lesion. Necrosis was absent in all cases. One case (case 2) (**Figure 2**) lacked the presence of xanthomatous cells and was classified as a non-lipidized variant of JXG, which displayed a compact proliferation of spindle and epithelioid mononuclear cells in a fibrous stroma. Mononuclear cells were arranged in a storiform pattern and exhibited eosinophilic cytoplasm, irregular or round nucleus with vesicular chromatin, nucleoli generally inconspicuous or small, and brisk mitotic activity (**Figure 2D–E**). There were few Touton-type multinucleated giant cells. Also, focal areas showed a background with scattered small lymphocytes, plasma cells, and clusters of foamy and epithelioid histiocytes (**Figure 2F**).

All current cases were submitted for immunohistochemical analysis and positivity to CD68 was verified in all. Other immunomarkers investigated were CD163 (3/5), factor XIIIa

(5/5), S-100 (5/5), CD10 (1/5) and Ki-67 (5/5). In all five cases, the mononuclear and multinucleated cells expressed strong and diffuse cytoplasmic expression for CD68 (**Figures 1F and 2G**). Histiocytic and Touton giant cells (**Figure 1G**) were also positive for CD163 (3/3), while CD10 positivity (1/1) was restricted to the mononuclear component. Most cases (4/5) presented focal positivity for factor XIIIa (**Figure 1H**). However, the non-lipidized variant showed strong and diffuse positivity for factor XIIIa (**Figure 2H**). All cases were negative for protein S-100. In most cases (4/5), the Ki-67 labeling index was low (< 5%) (**Figure 1I**); however, case 2 (**Figure 2I**) had a relatively higher rate of about 25% and 10% in the superficial and deep regions, respectively.

Considering the *BRAF* status, in all five cases investigated, the *BRAF* V600E mutation was absent.

Literature review

A total of 29 publications in the English language reporting 37 documented cases of oral JXG were selected through electronic search.

Table 1 provides an overview of the data reported in the literature (1974–2021) and compares them with the five new cases reported in the present study. Overall, of the 37 published oral JXG cases, 25 (67.6%) cases occurred in males and 12 (32.4%) in females (male-to-female ratio, 2.1:1). The affected individuals' median age was 9 years (ranging from 0 months to 64 years). Individuals in the first and second decades of life were most affected (n = 20, 54.1%, and n = 9, 20.3%, respectively). Most cases occurred in the gingiva (n = 11, 29.8%), followed by the tongue (n = 10, 27.0%), and the palate (n = 8, 21.6%). Other anatomical sites included the lips, buccal mucosa, alveolar ridge, and anterior mandibular vestibule. Most of cases presented as yellowish-brown nodules (n = 14, 53.9%), often asymptomatic (n = 22, 88.0%). Nevertheless, pain was mentioned in three cases (12%). Three cases (8.1%) presented

concomitant skin lesions, and none reported visceral involvement. The size of the lesions ranged from 0.3–5.0 cm (largest diameter), with a median of 1.4 cm. The duration time of the lesions varied from three days to 24 months (median: 4 months). In addition, one congenital case was reported.

Simple excision was the treatment in 31 cases (83.8%); however, five cases (16.12%) lacked this information and one regressed spontaneously after incisional biopsy. The follow-up time was available for 21 cases (56.8%), with a median of 12 months (range, 1–84 months). Four (14.8%) cases exhibited recurrence. Macroscopically, six published cases described the color of the specimens as white and yellowish or reddish-brown.

Microscopically, most of the oral JXG (n = 32, 86.5%) showed the classic presentation of histiocytes with cytoplasm that was eosinophilic, vacuolated or xanthomatous, and often accompanied by Touton-type giant cells. However, five cases (13.5%) reported variations in microscopic findings, such as lack of lipidization and Touton giant cells, the presence of a monomorphous population of cells, histiocytes with plasmacytoid appearance, and areas of cytological atypia, elevated mitosis or material resembling amyloid in the stroma.

Of 29 published studies, 20 (68.9%) submitted cases for immunohistochemical analysis. CD-68 (17/20) and S-100 (16/20) were the antibodies most used, followed by Vimentin (8/20), CD1a (8/20) and **alpha-1-antitrypsin (6/20)**. The positivity to CD68 and negativity to CD1a was seen in all the cases tested. The S-100 marker showed focal to diffuse positivity in only three studies. Other markers used to stain the cells of histiocytic/macrophage nature were, lysozyme (5/20,) HAM-56 (3/20) and CD163 (1/20). Another immunomarker also used in the published studies was factor XIIIa and a weak positivity in a focal to diffuse pattern was mentioned.

Discussion

Since JXG was first described [15], only 42 cases (including the current series) were published as arising from the oral cavity [3-8,16-38]. Similar to the cutaneous JXG [1,2], most oral cases affect children in the first decade of life. Interestingly, in our five-case series, in contrast to the incidence of this condition in pediatric age range, only one patient was in childhood. This is the first and largest series published affecting adults and a Brazilian population. The term xanthogranuloma appears to be the nomenclature most appropriate for lesions in adulthood [3,5]; however, the term JXG is still the most recognized.

Although a slight predilection for females in the present series was observed, an overall analysis of oral JXG revealed a two times predominance for males, which was the same gender predilection in cutaneous cases [1,2]. Regarding location, although occurrence in the buccal mucosa is exceedingly rare [8,16,17], this site was the most affected in the present series. The gingiva [3,4,18-23] and tongue [8,24-31], however, are the main sites reported in the literature.

Considering the clinical presentation, oral JXG commonly manifests as a painless submucosal nodule of a yellowish-brown color [3,4,7,8,18-20,24,26,32-34]. Interestingly, in our cases with a normochromic or reddish covering mucosa, the macroscopic appearance of the lesions after excision showed a yellowish appearance. Of the six published cases describing the macroscopic color of the specimens [4,16,21,33,35,36], four reported the same yellowish finding [4,16,21,33]. This finding suggests that this color seems to be a common feature of JXG in the oral cavity. Although oral lesions were usually small [4,18,20], cases exceeding 4 cm in the tongue, cheek and palate were reported [16,31,37].

Unlike cutaneous JXG [1,2], oral lesions usually do not regress spontaneously [4,6]. Therefore, surgical removal is mentioned as necessary, since even these lesions show indolent clinical behavior. Interestingly, only one oral case underwent spontaneous healing after

incisional biopsy [30]. The recurrence rate of oral lesions showed to be relatively low and related to incomplete surgical excision.

Oral JXG shares clinical similarity with several benign conditions [4,6,23,37] of different etiologies, including other xanthomas (verruciform xanthoma), true neoplasms (lipoma or granular cell tumor, odontogenic fibroma), developmental lesions (Fordyce granules, lymphoid aggregate, dermoid and epidermoid cysts), reactive/inflammatory conditions (abscess, fibrous hyperplasia, pyogenic granuloma or ossifying fibroma), and manifestations of systemic disease [4-7,23,27,30,32]. Salivary gland disorders, such as mucocele, pleomorphic adenoma or mucoepidermoid carcinoma, were reported as a differential diagnosis in cases localized in the palate [37,38]. Therefore, accurate diagnosis requires careful morphological evaluation.

Morphologically, the classic hallmark of JXG is the presence of numerous foam cells accompanied or not by Touton-type giant cells [3,6-8,24,26,27,30], as evidenced in our series. Morphological differential diagnosis from the classical pattern includes mucous extravasation phenomena with abundant vacuolated macrophages, foreign body reactions, verruciform xanthoma [6], and Langerhans cell histiocytosis (LCH) [3,6]. Clinical history and careful histological analysis are sufficient to exclude the first three differential diagnoses; however, the exclusion of LCH could require immunohistochemistry analysis. Histiocytes in JXG are positive for CD68, CD163, antitrypsin, anti-chymotrypsin, and negative for CD1a, S-100 protein, and langerin/CD207, unlike Langerhans cells that are positive for both markers [4,6,8,26,33]. In addition, eosinophils are common findings in LCH, whereas giant Touton cells are characteristic of JXG, although not exclusive. Moreover, the absence of Birbeck granules in the ultrastructural evaluation helps rule out LCH [8,32,34,35].

On the other hand, the morphologic differential diagnosis of the unusual variants of JXG classified as mononuclear [7], non-lipidized [5], and early JXG [8] is challenging due to the significant overlap of morphological findings with several benign and malignant soft tissue tumors [5], and should be supported by immunohistochemistry to avoid misdiagnosis. The mononuclear variant is characterized by numerous foamy cells exhibiting cytoplasmic vacuolization and the absence of or few multinucleated giant cells. For this reason, it can be misdiagnosed as melanoma, balloon cell nevus, or LCH [3,5,7]. In turn, the non-lipidized variant consists of a prominent spindle cell component arranged in a storiform pattern with a relative absence of inflammatory cells, foamy histiocytes, foreign body giant cells, and multinucleated Touton cells, and usually show a high mitotic index [5], similar to case 2. On the other hand, early lesions of JXG are composed of predominantly bland histiocytes exhibiting little or no cytoplasmic vacuolization, and no giant Touton cells. In addition, the stroma can exhibit an eosinophilic and hyalinized appearance similar to amyloid, however, negative for Congo red [8]. Thus, careful clinical and morphological evaluation is essential to ensure a correct diagnosis.

CD-68 [3-8,14,17,22,23,26-29,33,34,36] and S-100 [5-7,17,23,26,27,29,34,35,38] are the main markers that applied in the JXG cases in the literature. All current cases were investigated and showed positivity to CD68 and negativity to S-100, ruling out LCH. Another histiocytic marker applied in the current cases was CD163, although, in the literature, other markers, such as alpha-1-antitrypsin [4,6,8,33,34,38], lysozyme [5,26,33,34,35] and HAM-56 [5,26,35], are more often used to display the histiocytic/macrophagic nature of the cells. It is suggested that factor XIIIa immunostaining is associated with the precursor cell of many of the non-LCH, which are more positive in histiocytes in the early stages of maturation. Thus, the pattern of immunopositivity for factor XIIIa in the literature [3,4,5,8,26] is variable from focal to diffuse. In this investigation, it varied from a focal positivity in spindle cells in the classic

morphology, to diffuse and strong in the non-lipidized variant, as previously described by other authors [3,5,8]. The stain to Ki-67 [3,5,6,26] is not usually applied once most lesions show low index; however, some examples [3,5], such our case 2, could show higher mitotic index, suggesting the possibility of malignancy. Thus, it should be interpreted with caution in conjunction with clinical features to avoid misdiagnosis.

The molecular pathogenesis of oral JXG is unknown; however, histiocytic disorders have been associated with activating MAPK pathway mutations [10-14]. On the basis that *BRAF* V600E was reported in another type of non-LCH [10] and in 3/3 JXG of extracutaneous site [9], we hypothesized if oral JXG also share the same mutation. The absence of *BRAF* V600E in the present series does not rule out that BRAF or other genes associated with the MAPK pathway could be involved in the pathogenesis of oral JXG. Also, the small number of samples evaluated reflect the rarity of the disease in the oral location. Additional studies could elucidate the genetic basis of these oral lesions.

In summary, this is the first and largest published series of oral JXG affecting adults and a Brazilian population. A *BRAF* series of oral JXG was investigated for the first time and the molecular pathogenesis of oral JXG remains unknown. Clinicians and pathologists must recognize JXG to avoid misdiagnoses with oral benign or malignant lesions.

Declarations:

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Conflicts of interest/Competing interests

No conflicts of interest were declared concerning the publication of this article.

Availability of data and material (data transparency)

Not applicable.

Code availability (software application or custom code)

Not applicable.

Ethical approval

This study was approved by the local research ethics committee (CAAE 44358821.4.0000.5149) and carried out following the Helsinki Declaration for study involving human subjects.

Consent to participate

The patient provided an informed consent declaration to permit the use of images and medical information and the manuscript is in accordance with the Institutional Ethics committee.

Consent for publication

We confirm that this paper has not been published in its current form or a substantially similar form, that it has not been accepted for publication elsewhere, and that it is not under consideration by another journal.

References

1. Weitzman S, Jaffe R. Uncommon histiocytic disorders: the non-Langerhans cell histiocytoses. *Pediatr Blood Cancer*. 2005;45(3):256-64.
2. Luder CM, Nordmann TM, Ramelyte E, Mühleisen B, Kerl K, Guenova E, et al. Histiocytosis - cutaneous manifestations of hematopoietic neoplasm and non-neoplastic histiocytic proliferations. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(6):926-934.
3. Sánchez-Romero C, Cuenca Arriaga AI, Paes de Almeida O, Gutiérrez Cortés E. Oral juvenile xanthogranuloma in a child: Clinical, histological and immunohistochemical profile of a rare entity. *J Cutan Pathol*. 2018;45(7):515-521.
4. Consolaro A, Sant'Ana E, Lawall MA, Consolaro MF, Bacchi CE. Gingival juvenile xanthogranuloma in an adult patient: case report with immunohistochemical analysis and literature review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;107(2):246-252.
5. Batista AC, Mendonça EF, Arantes Elias LS, Andrade BA, Almeida OP, León JE. Nonlipidized juvenile xanthogranuloma: an unusual variant with a potential diagnostic pitfall. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2012;76(2):295-299.
6. Israel MS, Carlos R, Pires FR. Oral Juvenile Xanthogranuloma: Report of Two Cases. *Pediatr Dent*. 2017;39(3):238-240.
7. Fabrizi G, Massi G. Mononuclear variant of juvenile xanthogranuloma in the oral cavity of an adult patient. *Br J Dermatol*. 2001;144(4):909-911.
8. Flaitz C, Allen C, Neville B, Hicks J. Juvenile xanthogranuloma of the oral cavity in children: a clinicopathologic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94(3):345-352
9. Techavichit P, Sosothikul D, Chaichana T, Teerapakpinyo C, Thorner PS, Shuangshoti S. BRAF V600E mutation in pediatric intracranial and cranial juvenile xanthogranuloma. *Human Pathology*. 2017; 69:118–122.
10. Haroche J, Charlotte F, Arnaud L, von Deimling A, Hélias-Rodzewicz Z, Hervier B, et al. High prevalence of BRAF V600E mutations in Erdheim-Chester disease but not in other non-Langerhans cell histiocytoses. *Blood*. 2012;120(13):2700-2703.

11. Chakraborty R, Hampton OA, Shen X, Simko SJ, Shih A, Abhyankar H, et al. Mutually exclusive recurrent somatic mutations in MAP2K1 and BRAF support a central role for ERK activation in LCH pathogenesis. *Blood*. 2014;124(19):3007–3015.
12. Chakraborty R, Hampton OA, Abhyankar H, Zinn DJ, Grimes A, Skull B, et al. Activating MAPK1 (ERK2) mutation in an aggressive case of disseminated juvenile xanthogranuloma. *Oncotarget*. 2017;8(28):46065-46070.
13. Hoyt BS, Yan S, Linos KD, Momtahn S, Sriharan A, Tran TN, et al. BRAF V600E mutations are not an oncogenic driver of solitary xanthogranuloma and reticulohistiocytoma: Testing may be useful in screening for Erdheim-Chester disease. *Exp Mol Pathol*. 2019;111:104320.
14. Picarsic J, Pysher T, Zhou H, Fluchel M, Pettit T, Whitehead M, et al. BRAF V600E mutation in Juvenile Xanthogranuloma family neoplasms of the central nervous system (CNS-JXG): a revised diagnostic algorithm to include pediatric Erdheim-Chester disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2019;7(1):168.
15. Adamson NF. Congenital xanthoma multiplex in a child. *Br J Dermatol*. 1905;17:222–223.
16. Costa F, Cian R, Robiony M, Zerman N, Politi M. Unilateral swelling of the cheek. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008;66(2):342-348.
17. Chen CY, Sung CL, Mu-Yen H, Wen-Chen W, Li-Min L, Yuk-Kwan C. An adult juvenile xanthogranuloma in the buccal mucosa. *J Dent Sci*. 2015;10(3):334-337.
18. Kjaerkeim A, Stokke T. Juvenile xanthogranuloma of the oral cavity. An electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1974;38(3):414-425.
19. Christensen RE Jr, Hertz RS, Cherrick HM. Intraoral juvenile xanthogranuloma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1978;45(4):586-590.
20. Ossoff RH, Levin DL, Esterly NB, Tucker GF. Intraoral and cutaneous juvenile xanthogranuloma. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1980;89(3 Pt 1):268-270.
21. Takeda Y, Suzuki A, Fujioka Y, Takayama K. Xanthogranuloma of the oral cavity in adult. A case report and review of the literature. *Acta Pathol Jpn*. 1986;36(10):1565-1570.

22. Vasconcelos FO, Oliveira LA, Naves MD, Castro WH, Gomez RS. Juvenile xanthogranuloma: case report with immunohistochemical identification of early and late cytomegalovirus antigens. *J Oral Sci.* 2001;43(1):21-25.
23. Kim YK, Han D, Yang WI, Park JH, Cho ES, Kim DW. Gingival juvenile xanthogranuloma. *The Korean Journal of Oral and Maxillofacial Pathology.* 2019;43(5):203-207
24. Cohen DM, Brannon RB, Davis LD, Miller AS. Juvenile xanthogranuloma of the oral mucosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1981;52(5):513-523.
25. Patel AV, Meechan JG, Soames JV. Juvenile xanthogranuloma of the oral cavity: a case report. *Int J Paediatr Dent.* 1993;3(1):43-45.
26. Sangüeza OP, Salmon JK, White CR Jr, Beckstead JH. Juvenile xanthogranuloma: a clinical, histopathologic and immunohistochemical study. *J Cutan Pathol.* 1995;22(4):327-335.
27. Satow SJ, Zee S, Dawson KH, Gown AM, Oda D, Worthington P. Juvenile xanthogranuloma of the tongue. *J Am Acad Dermatol.* 1995;33(2 Pt 2):376-379.
28. Shapiro NL, Malis DJ, Charon CC, Billman GF, Kearns DB. Giant juvenile xanthogranuloma of the tongue. *Am J Otolaryngol.* 1999;20(4):241-244.
29. Tanyeri H, Weisenberg E, Friedman M. Juvenile Xanthogranuloma of the Tongue. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000;123(5):641-642.
30. Villa A, Mariani U, Villa F. Lingual juvenile xanthogranuloma in a woman: a case report. *J Med Case Rep.* 2011;5:30.
31. Baik FM, Andeen NK, Schmechel SC, Futran ND. A large juvenile xanthogranuloma within the tongue. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2014;150(2):332-333.
32. Kwan CY, Min LL, Chung LC, Hang YY. Intraoral juvenile xanthogranuloma. A case report and literature review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996;81(4):450-453.
33. Tagawa T, Inui M, Murata M. Palatal juvenile xanthogranuloma. A case report. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1996;25(6):453-4. h
34. Shimoyama T, Horie N, Ide F. Juvenile xanthogranuloma of the lip: case report and literature review. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58(6):677-679.

35. Kawashiri S, Kumagai S, Nakagawa K, Yamamoto E, Imai K. Juvenile xanthogranuloma occurring in the oral cavity: case report and histopathological findings. *J Oral Pathol Med.* 1997;26(10):484-487.
36. Collins L, Banks R, Robinson M. Juvenile xanthogranuloma: unusual intraoral finding. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2015;53(1):86-88.
37. Dissanayaka WL, Jayasooriya PR, Wickramasuriya G, Dias DK, Tilakaratne WM. Oral juvenile xanthogranuloma: report of two cases and literature review. *Oral Surgery* 2010;3:22-35.
38. Palacios J, Rodriguez-Peralto JL, Contreras F. Congenital oral juvenile xanthogranuloma: report of a case. *J Oral Maxillofac Surg.* 1987;45(8):707-709.

Figure legends:

Figure 1. Clinicopathologic aspects of classic juvenile xanthogranuloma (case 4). **A.** Clinical aspect of the lesion showing a pedunculated, pink nodule in the tip of the tongue. **B, C.** Macroscopic aspect of surgical specimen displaying grayish color and homogenous yellow cut surfaces. **D.** Low power photomicrograph showing a dense proliferation of histiocytic mononuclear cells (hematoxylin-eosin stain, original magnification $\times 100$). **E.** Note the multinucleated giant cell characterized by an arc of nuclei toward the outer membrane (hematoxylin-eosin stain, original magnification $\times 400$). **F.** Mononuclear and giant cells showing strong and diffuse cytoplasmic positivity for CD63 (IHC, original magnification $200\times$; inset $400\times$) and **G.** CD163 (IHC, original magnification $200\times$; inset $400\times$) **H.** Focal positivity for Factor XIIIa (IHC, original magnification $400\times$) **I.** Ki-67 (MIB-1) labeling index was approximately 5% (IHC, original magnification $200\times$; inset $400\times$).

Figure 2. Clinicopathologic aspects of non-lipidized juvenile xanthogranuloma (case 2). **A.** Clinical aspect of the lesion showing a sessile, yellowish nodule in the lower labial mucosa.

The underlying mucosa was intact. **B, C.** Macroscopic aspect of surgical specimen displaying typical yellowish-brown color and homogenous grayish-yellow cut surfaces. **D.** Low power photomicrograph showing a well-circumscribed nodule composed predominantly of spindle cells in a multilobular pattern (hematoxylin-eosin stain, original magnification $\times 100$). **E.** Note the solid proliferation of spindle cells arranged in fascicular and storiform growth pattern and a few mitosis (hematoxylin-eosin stain, original magnification $\times 200$; inset $\times 400$). **F.** Detail of epithelioid histiocytes showing marked cytoplasmic vacuolization (hematoxylin-eosin stain, original magnification $\times 400$) and **G.** Note strong and diffuse cytoplasmic positivity for CD63 (IHC, original magnification $200\times$; inset $400\times$) and **H.** Factor XIIIa (IHC, original magnification $400\times$) **I.** Numerous tumor cells positive for Ki-67 (IHC, original magnification $200\times$; inset $400\times$).

Table 1. Comparison of clinical and demographic findings of the literature review with the current series of oral juvenile xanthogranuloma.

Variable	Literature Cases	References	Current cases	Total
Sex				
Male	25 (67.6%)	[3-8,16,17,20,21,23,24,26,27,29,32,34,35,37,38]	2 (40%)	27 (64.3%)
Female	12 (32.4%)	[6,8,18,19,22,25,28,30,31,33,36]	3 (60%)	15 (35.7%)
M:F ratio	2.1:1		1:1.5	1.8:1
Age group (Years)				
0-9	20 (54.1%)	[3,6,8,19,20,22,26,28,30,33-36,38]	-	20 (47.6%)
10-19	9 (24.3%)	[6,8,18,24,31,32,37]	1 (20%)	10 (23.8%)
20-29	-	-	1 (20%)	1 (2.4%)
30-39	4 (10.8%)	[16,17,21,27]	1 (20%)	5 (11.9%)
40-49	1 (2.7%)	[30]	-	1 (2.4%)
50-59	1 (2.7%)	[4]	1 (20%)	2 (4.8%)
60-69	2 (5.4%)	[7,29]	1 (20%)	3 (7.1%)
Median	9		39	10.5
Range	0-64		13-68	0-68
Anatomic location				
Gingiva	11 (29.8%)	[4,8,18-22,36,37]	-	11 (26.2%)
Tongue	10 (27%)	[2,8,25-31]	1 (20%)	11 (26.2%)
Palate	8 (21.6%)	[28,33,35-38]	-	8 (19%)
Lip	3 (8.1%)	[5,6,34]	1 (20%)	4 (9.5%)
Buccal mucosa	3 (8.1%)	[8,16,17]	3 (60%)	6 (14.3%)
Alveolar ridge mucosa	1 (2.7%)	[7]	-	1 (2.4%)
Anterior mandibular vestibule	1 (2.7%)	[32]	-	1 (2.4%)
Symptomatology				
Asymptomatic	22 (88%)	[3-8,17,19,21,22,23,25,27,29,32,34,35,36]	3 (60%)	25 (83.3%)
Pain	3 (12%)	[26,29,31]	2 (40%)	5 (16.7%)
NI	12 (32.43%)	[6,18,20,24,26,28,33,37,38]	-	12 (28.57%)
Size (cm)				
Median	1.4	[3-6,16,17,20,21,23-29,31-38]	1.5	1.5

Range	0.3-5		1.0-2.5	0.3-5.0
NI	10 (27.0%)	[7,8,18,19,22,30]	-	11(26.19%)
Color				
Yellowish-brown	14 (53.9%)	[3,4,6,7,8,18,19,20,24,26,32,33,34]	1 (20%)	15 (48.4%)
Reddish-pink	6 (23.1%)	[5,17,22,23,30,37]	1 (20%)	7 (22.6%)
Normal color	4 (15.4%)	[17,21,29,31]	3 (60%)	7 (22.6%)
Purple	1 (3.8%)	[36]	-	1 (3.2%)
White	1 (3.8%)	[24]	-	1 (3.2%)
NI	11 (29.72%)	[8,16,24,25,27,28,38]	-	11 (26.19%)
Skin lesions				
Yes	3 (8.1%)	[20,26,36]	-	3 (7.1%)
No	34 (91.9%)	[3-8,16-19, 21-25,27-30,32-35,37,38]	5 (100%)	39 (92.9%)
Visceral involvement				
No	37 (100%)	[3-8,16-38]	NI	37 (100%)
Treatment				
Conservative surgical excision	31 (96.9%)	[3-8,16-19,21-23,25,27-29,31-38]	5 (100%)	36 (97.3%)
Spontaneous regression after incisional biopsy	1 (3.1%)	[30]	-	1 (2.7%)
NI	5 (13.51%)	[20,24,26]	-	5 (11,90%)
Recurrence				
Yes	4 (13.8%)	[8,19,24,35]	-	4 (11.8%)
No	25 (86.2%)	[3-6,16-18,21-23,25,28-32,34,36-38]	5 (100%)	30 (88.2%)
NI	8 (21.62%)	[7,20,24,26,27,33,36]	-	8 (19.04%)

NI: not informed

ANEXO A - Parecer CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise da mutação BRAF V600E em xantogranuloma juvenil oral

Pesquisador: SILVIA FERREIRA DE SOUSA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 44358821.4.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.743.239

Apresentação do Projeto:

O xantogranuloma juvenil (JXG) é a forma mais comum de histiocitose de células não-Langerhans, ocorrendo principalmente na idade pediátrica. A ocorrência do JXG em boca é incomum e, quando ocorre, é também mais comum na pediatria, com um número inferior de casos descritos em adultos. É questionado se o JXG representa uma entidade neoplásica ou uma condição reativa. As lesões em boca mostram-se de natureza benigna e comportamento indolente. O gene BRAF é conhecido por estar envolvido na patogênese de distúrbios histiocíticos. A mutação BRAF V600E tem sido detectada em pacientes com histiocitose de células de Langerhans e, embora, em menor frequência, alguns estudos encontraram a mutação BRAF V600E em histiocitoses de células não-Langerhans, como casos de JXG cutâneo e do sistema nervoso central. Entretanto, até o momento, não existem estudos que tenham investigado molecularmente o JXG oral. Considerando que a patogênese molecular do JXG não é bem compreendida, e que há a ocorrência da mutação BRAF V600E em histiocitoses do tipo células não-Langerhans, o presente estudo tem como objetivo principal investigar a mutação BRAF V600E em casos de JXG orais. Para isso, casos de JXG orais de arquivos do Laboratório de Patologia Bucomaxilofacial da Faculdade de Odontologia da UFMG serão revisados e os casos encontrados coletados. Os blocos de parafina serão submetidos a cortes em micrômetro e extração do DNA. Análise de mutação por PCR em tempo real usando uma sonda Taqman alelo-específica para a mutação em BRAF será feita e os resultados interpretados por meio do software Mutation Detector. Os resultados serão interpretados em presença ou

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad S/N 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31) 3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.743.239

ausência da mutação e analisados descritivamente.

Critério de Inclusão:

Casos cujos materiais tenham quantidades suficientes para serem utilizados. Serão incluídos casos independente de sexo, cor ou raça dos pacientes. Com relação à idade, somente serão incluídos casos de pacientes que se encontrem no momento da pesquisa com mais de 8 anos de idade, para que o TALE possa ser lido e compreendido pelo paciente.

Critério de Exclusão:

Serão excluídos os casos de pacientes que se recusarem a doar o material de parafina para a pesquisa ou os casos cujos materiais tenham quantidades escassas, de má qualidade do DNA ou insuficientes para serem utilizados. Serão excluídos os casos de pacientes que apresentem no momento da pesquisa idade inferior a 8 anos de idade.

Objetivo da Pesquisa:

Hipótese:

a) Xantogranulomas juvenis orais exibem a mutação BRAF V600E. b) Xantogranulomas juvenis orais não exibem a mutação BRAF V600E.

Objetivo Primário:

Investigar a mutação BRAF V600E no xantogranuloma juvenil oral.

Objetivo Secundário:

Revisar os aspectos clinicopatológicos e imunohistoquímicos do xantogranuloma juvenil oral.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Este estudo não acarretará riscos adicionais aos participantes visto que as amostras que serão utilizadas consistem em tecidos arquivados no Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da UFMG que foram obtidos através do procedimento cirúrgico necessário para o diagnóstico e tratamento do xantogranuloma juvenil. Os dados clínicos e a identidade do paciente serão incondicionalmente preservados.

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Sl 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31) 3409-4592 **E-mail:** coop@ppq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.743.239

Benefícios:

No momento atual não há previsão de benefícios para os pacientes incluídos no estudo. No entanto, o estudo contribui para um conhecimento da biologia da lesão, pois será investigado pela primeira vez, molecularmente, o JXG oral. Por se tratar de uma lesão frequentemente associada à infância, com alguns casos descritos em adultos, permitirá compreender se as lesões em crianças e adultos se assemelham e se compartilham das mesmas alterações moleculares no gene BRAF que outros tipos de histiocitoses.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto de baixo risco com aprovação de relevância pela FOU/UFMG. Projeto conta com recursos do CNPQ e possui estrutura para sua execução.

O TCLE e TALEs estão em linguagem clara e mencionam a voluntariedade da participação. Deixam claro que o consentimento pode ser retirado, os riscos possíveis (quebra de confidencialidade e constrangimento) e os benefícios (melhor conhecimento sobre a doença), garantia de ressarcimento e indenização. Na declaração de consentimento, os participantes dão ciência de que estarão recebendo uma via original do documento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados:

Projeto completo – Adequado

Folha de rosto – Adequada

Parecer consubstanciado favorável da Faculdade de Odontologia da UFMG

TCUD – Adequado

TALE para menores de 8-14 anos – Adequado

TALE para 15-18 anos – Adequado

TCLE para maiores – Adequado

TCLE responsáveis – Adequado

CV do investigador

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos favoráveis à aprovação do projeto.

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31) 3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS**



Continuação do Parecer: 4.743.239

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1709307.pdf	10/03/2021 09:35:17		Aceito
Parecer Anterior	ParecerConsubstanciadoAprovado.pdf	10/03/2021 09:34:34	SILVIA FERREIRA DE SOUSA	Aceito
Outros	TCUD.pdf	10/03/2021 09:33:08	SILVIA FERREIRA DE SOUSA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALEOitoaQuatorzeAnos.pdf	10/03/2021 09:15:04	SILVIA FERREIRA DE SOUSA	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRostoAssinada.pdf	10/03/2021 09:13:40	SILVIA FERREIRA DE SOUSA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoXantogranulomaCOEP.pdf	10/03/2021 09:09:57	SILVIA FERREIRA DE SOUSA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEResponsaveis.pdf	09/03/2021 15:45:41	Carolina Peres Mota	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEMaiores18Anos.pdf	09/03/2021 15:43:50	Carolina Peres Mota	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALEQuinzeaDezesseteAnos.pdf	09/03/2021 15:43:23	Carolina Peres Mota	Aceito
Outros	Autorizacao2.pdf	09/03/2021 15:34:39	Carolina Peres Mota	Aceito
Outros	Autorizacao1.pdf	09/03/2021 15:34:27	Carolina Peres Mota	Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad S1 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.743.239

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 28 de Maio de 2021

Assinado por:
Crissia Carem Paiva Fontainha
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br