

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM PATOLOGIA BUCAL

JULIA TURRA RIBEIRO

**IMUNOMARCAÇÃO DE BDNF E RECEPTORES TRKB E P75NTR EM
LESÕES BENIGNAS E MALIGNAS DE ORIGEM NEURAL EM CABEÇA E
PESCOÇO**

Porto Alegre

2019

JULIA TURRA RIBEIRO

**IMUNOMARCAÇÃO DE BDNF E RECEPTORES TRKB E P75NTR EM
LESÕES BENIGNAS E MALIGNAS DE ORIGEM NEURAL EM CABEÇA E
PESCOÇO**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito à obtenção do título de mestre em Odontologia.

Área de concentração: Patologia Bucal.

Orientadora: Prof^a. Dra. Manoela Domingues Martins

Porto Alegre

2019

CIP - Catalogação na Publicação

Ribeiro, Julia Turra
IMUNOMARCAÇÃO DE BDNF E RECEPTORES TRKB E P75NTR EM
LESÕES BENIGNAS E MALIGNAS DE ORIGEM NEURAL EM CABEÇA
E PESCOÇO / Julia Turra Ribeiro. -- 2020.
58 f.
Orientador: Manoela Domingues Martins.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa
de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS,
2020.

1. Proteína BDNF. 2. Receptor TrkB. 3. P75NTR. 4.
Neurotrofinas.. 5. Nervo Periférico. I. Martins,
Manoela Domingues, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Tenho tanto a agradecer, que parece impossível transformar tudo em palavras. Eu sou uma pessoa abençoada e sou grata por todas as decisões que me trouxeram até aqui, e todas as pessoas que me guiaram nessa jornada.

Sempre tive dificuldade em acreditar no meu potencial, e agradeço do fundo do meu coração ao Prof. Marco, Prof. Vinicius e a Prof.^a Manoela por discordarem de mim e acreditarem que eu poderia fazer parte da sua equipe, e aprender tanto, todo dia, com eles.

Ao professor Marco, sua energia, paz e bondade com a qual conduz a residência. Foram dois anos em que aprendi não só sobre estomatologia, mas sobre humanidade e equilíbrio, necessário para que possamos ser bem sucedidos não apenas como profissionais.

Ao professor Vinicius, por todo ensinamento, por todas as vezes que estive disposto a me ajudar, por todo o auxílio em meu período no Telessaúde, pelo exemplo que és e pela amizade que construímos.

A professora Manoela, ser humano indescritível. Me espelho na sua força, na luz que irradia e contagia todos que tem o privilégio de conviver contigo. Ser sua orientada é ter aulas diárias de como ser uma pessoa melhor. Obrigada por todo carinho, sensibilidade e amor com o qual conduziu esse trabalho e me conduziu nessa etapa tão importante.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, ao Programa de Pós-graduação em Odontologia e a todos os professores da Patologia, guias nesse caminho de aprendizado e descoberta.

Ao professor Jean Nunes dos Santos, pelo precioso auxílio nesse trabalho e por nos disponibilizar seu tempo e conhecimento. Agradeço também aos demais colaboradores dessa pesquisa, em especial a Emily e Flávia pelo carinho em que me receberam em seu laboratório, e a Paula por sua dedicação e auxílio.

Aos meus colegas da patologia, a todos os amigos que fiz aqui, que foram mão amiga, segurança e tornaram tudo mais fácil e mais leve, só por conhecer tantas pessoas incríveis esses anos tão desafiadores já teriam valido a pena.

A Marina Girardi e Jessica Strey, que foram minha família nesses quatro anos em que dividimos uma casa, muitas histórias e um sentimento que não há como descrever, obrigada por serem meu lar quando estava longe dele. Obrigada por me conhecerem tão bem, por me entenderem e por construírem parte do que sou hoje.

Ao Luan Kovalski, meu suporte por tanto tempo, por toda vez que me ouviu, que me ergueu e me ajudou, na pesquisa e fora dela. Obrigada por estar sempre disponível e por ser uma pessoa com um coração tão gigante. Ao Dudu, pelo bom humor, pela disponibilidade e por ser motivação, mesmo quando tudo parecia muito difícil.

Aos meus amigos de Luzerna, que fizeram de tudo para me manter por perto, que fizeram questão da minha presença e nunca tornaram-se ausentes, mesmo na distância. Em especial as minhas primeiras melhores amigas, Ana e Bruna, provas de que certos sentimentos nunca mudam, só crescem.

A Tefi, minha eterna R2 e pessoa em quem sempre me inspirei. Sua inteligência e dedicação em tudo que faz te tornam uma pessoa ainda mais incrível. Conviver contigo me fez crescer muito e com certeza me ajudou a ver o mundo com outros olhos.

Ao meu noivo, Luan C. Beber, por quem eu faria todas as inúmeras viagens novamente. Tu sempre foi minha paz e estar contigo me mostra que ser feliz é simples. Obrigada por sempre se importar, por acreditar nos meus sonhos, me apoiar e torcer por mim. Eu amo você e a história que construímos juntos.

Aos meus anjinhos da guarda, que vibraram comigo o início desta etapa, e hoje me assistem e zelam por mim de outro plano. Madrinha e Nona, eu sinto falta de vocês todo tempo.

Aos meus pais e meu irmão, que não mediram esforços para que eu pudesse realizar tudo que planejei. Sem vocês não seria possível e não teria sentido. Eu tenho muito orgulho de vocês. Gostaria que soubessem que meu

maior presente na vida é nossa família. Vocês são minha luz e motivo pelo qual sempre vale a pena seguir em frente. Obrigada por tudo, amo vocês além do que eu poderia explicar com palavras.

“A menos que modifiquemos nossa maneira de pensar,
não seremos capazes de resolver os problemas causados
pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”

Albert Einstein

RESUMO

RIBEIRO, Julia Turra. **Imunomarcção de BDNF e receptores TRK-B e P75NTR em lesões benignas e malignas de origem neural em cabeça e pescoço.** Dissertação (Pós-graduação em Odontologia com ênfase em Patologia Bucal) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

Lesões de origem neural, embora incomuns, podem ocorrer na região da cabeça e pescoço, especialmente em cavidade oral. As neurotrofinas representam uma classe de fatores de crescimento reconhecidos como reguladores fundamentais do desenvolvimento, homeostase e plasticidade cerebral. O Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), neurotrofina que predomina no cérebro adulto, liga-se ao receptor de tirosina quinase B (TrkB) e ao receptor de neurotrofina p75 (p75NTR), desempenhando importantes funções em nervos periféricos e também em diferentes doenças. Setenta e nove casos de lesões neurais periféricas em cabeça e pescoço foram incluídos nesse estudo: 19 neuromas traumáticos (TN), 20 tumores de células granulares (GCT), 16 neurofibromas (NF), 20 schwannomas (SC) e 04 casos de tumor maligno de bainha de nervo periférico (MPNST). Lâminas silanizadas foram submetidas a imunohistoquímica com os anticorpos BDNF, TrkB e P75NTR. Uma análise semiquantitativa foi realizada quanto ao percentual de células positivas para cada anticorpo. A análise do BDNF demonstrou alta porcentagem de células positivas em TN, GCT e SC, com uma diminuição observada nos casos de NF e MPNST. Quando comparada à marcação de TrkB entre as lesões neurais, observou-se uma diminuição significativa entre o TCG e TN, NF, SC e MPNST ($p < 0,0001$). Em relação ao P75NTR, a porcentagem de células positivas foi significativamente reduzida no MPNST em comparação ao TCG ($p = 0,009$), NF ($p = 0,0138$) e SC ($p = 0,0069$). Além disso, uma diferença entre TN e TCG ($p = 0,007$) foi observada. Nossos resultados mostraram a participação de BDNF e dos receptores de neurotrofinas (TrkB e P75NTR) nas lesões neurais periféricas de cabeça e pescoço. O MPNST exibiu uma diminuição na imunomarcção de BDNF e P75NTR, indicando subregulação desse eixo associado à aquisição do fenótipo maligno.

PALAVRAS-CHAVE: Proteína BDNF. Receptor TrkB. P75NTR. Neurotrofinas. Nervo Periférico. Neoplasias de Cabeça e Pescoço. Imunohistoquímica.

ABSTRACT

RIBEIRO, Julia Turra. **Analysis of BDNF, neurotrophin receptors TrkB and p75NTR in peripheral benign and malignant neural lesions in head and neck.** Dissertação (Pós-graduação em Odontologia com ênfase em Patologia Bucal) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

Although rare, lesions of neural origin may occur in the head and neck region, especially in the oral cavity. Neurotrophins represent a class of growth factors recognized as fundamental regulators of brain development, homeostasis and plasticity. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is the predominant member of neurotrophins in the adult brain that binds to tyrosine kinase receptor B (TrkB) and p75 neurotrophin receptors (p75NTR), playing important roles in differentiation, regeneration, myelination and maintenance of neuronal survival. A série of the 79 cases of head and neck neural lesions were included in the study. Nineteen cases of traumatic neuromas (TN), 20 cases of granular cell tumors (GCT), 16 cases of neurofibromas (NF), 20 cases of Schwannomas (SC) and 4 malignant peripheral nerve sheath tumour (MPSNT) were submitted to immunohistochemistry with BDNF, TrkB and p75NTR antibodies. A semi-quantitative analysis was performed for the percentage of positive cells for each antibody. The analysis of BDNF demonstrated high percentage of positive cells in TN, GCT and SC with a decrease in cases of NF and MPNST. Comparing TrkB labeling among all neural lesions a significant decrease was observed between GCT and TN, NF, SC and MPNST ($p < 0.0001$). In addition, TN showed less percentage of positive cell compared to SC ($p = 0.0017$). Regarding P75NTR the percentage of positive cell was significantly reduced in MPNST compared GCT ($p = 0.009$), NF ($p = 0.0138$) and SC ($p = 0.0069$). Also, a difference between TN and GCT ($p = 0.007$) were observed. Our results showed the participation of BDNF and neurotrophin receptors (TrkB and P75NTR) in head and neck peripheral neural lesions. MPNST exhibited differences as reduction of BDNF and P75NTR indicating down-regulation of this axis associated to acquisition of malignant phenotype.

KEYWORDS: BDNF protein, Receptor trkB. P75NTR. Neurotrophins. Peripheral Nerve. Head and Neck Neoplasms. Immunohistochemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Lista de Ilustrações da Introdução

Figura 1 - Neurotrofinas e seus receptores de alta e baixa afinidade.	23
Figura 2 - Cascatas de sinalização intracelular.	25
Figura 3 - Formação do complexo p75NTR-sortilina.	26

Lista de Ilustrações do Artigo

Figure 1 - Representative image of hematoxylin and eosin stained histological sections on NT, GCT, NF, SC and MPNST.	47
Figure 2 - Representative images of immunohistochemical labeling of BDNF in TN, GCT, NF, SC and MPNST. The PP scores for each injury group are shown in the graph.....	48
Figure 3 - Representative images of immunohistochemical labeling of TrkB in TN, GCT, NF, SC and MPNST. The PP scores for each injury group are shown in the graph.....	49
Figure 4 - Representative images of immunohistochemical labeling of P75NTR in TN, GCT, NF, SC and MPNST. The PP scores for each injury group are shown in the graph	50

LISTA DE TABELAS

Table 1 - Clinical-demographic characteristics of benign and malignant peripheral neural tumors included in the study and scores of the positive cells for BDNF, TrkB and P75NTR in each group of lesions.	46
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AKT	Proteína quinase B
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
DAB	Diaminobenzidine tetrahydrochloride
GCT	Granular Cell Tumors
mBDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro maduro
MPNST	Malignant peripheral nerve sheath tumour
NF	Neurofibroma
NF1	Neurofibromatose tipo 1
NF2	Neurofibromatose tipo 2
NGF	Fator de crescimento neural
NT-3	Neurotrofina 3
NT-4	Neurotrofina 4
P75NTR	Pan Receptor de Neurotrofinas
ProBDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro pro
RTKs	tyrosine receptor kinases
SC	Schwannoma
TMBNP	Tumor Maligno de Bainha de Nervo Periférico
TN	Traumatic Neuroma
TNF	Fator de necrose tumoral
TRK-A	Tirosina quinase A
TRK-B	Tirosina quinase B
TRK-C	Tirosina quinase C

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Neuroma traumático.....	12
1.2 Tumor de células granulares	14
1.3 Neurofibromas	15
1.4 Schwannomas	17
1.5 Tumor maligno da bainha de nervo periférico	20
1.6 Imunohistoquímica em lesões neurais, neurotrofinas e seus receptores...	21
2 OBJETIVOS	29
2.1 Objetivo geral	29
2.2 Objetivos específicos	29
3 ARTIGO CIENTÍFICO	30
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

O sistema nervoso periférico compreende o tecido nervoso fora do cérebro e medula espinhal, sendo composto por nervos e gânglios dispersos. Trata-se de um grande sistema, que inclui nervos somáticos e autônomos, órgãos receptores e estruturas de suporte. Histologicamente, são observadas nesse tecido células de Schwann, fibroblastos e células perineurais (ALOTAIBI; AL SHEDDI, 2016; MINDELL, 2001) . As lesões de nervo periférico surgem dos tecidos originados na crista neural ou neuroectoderma e apresentam características espelhando elementos que compõem os nervos. As lesões neurais periféricas, apesar de sua origem em comum, apresentam notável heterogeneidade microscópica e patogênica (CHRYSOMALI et al., 1997).

Apesar de raras, as lesões de origem neural, podem ocorrer em região de cabeça e pescoço, especialmente em cavidade bucal. Geralmente, possuem comportamento benigno com etiologia traumática ou neoplásica (NEVILLE et al., 2016). Nos laboratórios de patologia bucal, essas lesões representam de 0.2% a 0.6% dos espécimes recebidos para diagnóstico histopatológico (ALOTAIBI; AL SHEDDI, 2016; ALOTAIBY et al., 2018; SALLA et al., 2009). Dentre as lesões de comportamento benigno mais prevalentes se encontram o neuroma traumático, tumor de células granulares, neurofibroma e schwannoma (NEVILLE et al., 2016; ALOTAIBY et al., 2018). Já a variante maligna é representada pelo tumor maligno de bainha de nervo periférico, um sarcoma raro de tecidos moles (MARTINEZ; FRITCHIE, 2019).

A seguir faremos uma breve revisão de literatura sobre as lesões neurais periféricas que serão abordadas neste estudo.

1.1 NEUROMA TRAUMÁTICO

O neuroma traumático é descrito como uma lesão não neoplásica que surge como uma resposta exagerada a um dano ao nervo (FOLTÁN et al., 2008). Em circunstâncias ideais, as extremidades de um nervo seccionado reestabelecem a continuidade através de um crescimento ordenado de axônios do coto proximal para o distal, com a proliferação de células de Schwann. Caso

esse processo não seja possível a proliferação nervosa na porção proximal produz um emaranhado celular composto por fibras nervosas e tecido conjuntivo, que se estende para os tecidos moles circundantes, dando origem a lesão (FOLTÁN et al., 2008; MINDELL, 2001).

Clinicamente, o neuroma traumático se apresenta como um nódulo firme, de superfície lisa, arredondado, com crescimento lento e menos de 2 cm de diâmetro, gerando, ocasionalmente, dor, sensibilidade ou parestesia na região (FOLTÁN et al., 2008). Os neuromas traumáticos podem se desenvolver em qualquer região. Na cavidade bucal os locais mais comumente afetados são o forame mental, lábio inferior e língua (GARCÍA et al., 2008). Apesar de raro, há relatos do desenvolvimento de lesões intraósseas, apresentando-se como defeitos radiolúcidos uni ou multiloculares, principalmente em região posterior de mandíbula (JHAM et al., 2014).

Microscopicamente, os neuromas traumáticos geralmente se apresentam como lesões não encapsuladas, contendo uma grande quantidade de fascículos nervosos maduros dispostos aleatoriamente em um estroma densamente fibroso e colageneizado. A camada externa da lesão, formada por tecido conjuntivo fibroso, é contínua com o perineuro da bainha nervosa intacta. Células inflamatórias e citocinas inflamatórias têm sido observadas, sendo que lesões que apresentam esse componente costumam ser mais dolorosas (FOLTÁN et al., 2008; JHAM et al., 2014; MINDELL, 2001; (NEVILLE et al., 2016).

O desenvolvimento de neuromas traumáticos foi relatado em um período de até dez anos após a realização de procedimentos cirúrgicos como dissecação radical do pescoço, amputação de membros, parotidectomia, mastectomias, cirurgia abdominal, cirurgia ortognática, cirurgia em articulação temporomandibular e extrações dentárias (CHEN et al., 2019; FOLTÁN et al., 2008; KNOLL et al., 2019; VLOT et al., 2018), SAYAN; UCOK, 2002). O comprometimento apenas sensorial em neuromas traumáticos é explicado pelo fato de essas lesões ocorrerem apenas em nervos sensoriais ou nas fibras sensoriais de nervos mistos, como o nervo alveolar inferior. Nervos motores não são afetados, pois possuem um potencial de regeneração inexistente ou muito limitado (FOLTÁN et al., 2008). Quanto ao tratamento, ao se observar uma injúria traumática que leva ao rompimento de um nervo deve-se tentar reposicioná-lo

para que a regeneração da extremidade proximal prossiga para a extremidade distal de maneira ordenada. Após a formação do neuroma, o tratamento proposto é a remoção cirúrgica (MINDELL, 2001; SAYAN; UCOK, 2002).

1.2 TUMOR DE CÉLULAS GRANULARES

O tumor de células granulares é uma neoplasia benigna relatada pela primeira vez em 1926 como mioblastoma de células granulares, por mostrar uma transição das fibras musculares esqueléticas para as células granulares (ABRIKOSSOFF, 1925). Desde então várias teorias foram propostas sobre a origem deste tumor, no entanto, com base na presença da proteína S-100 é altamente provável que células de Schwann estejam envolvidas (MUSHA; OGAWA; YOKOO, 2018).

O tumor de células granulares aparenta ter uma leve predileção por mulheres e pode ocorrer em qualquer região do corpo, especialmente em cavidade bucal onde acomete com maior frequência a região anterior da língua, representando de um terço a metade dos casos. No entanto, a lesão pode ocorrer em hipofaringe, esôfago, cólon, pele, mama, pulmões e ossos da maxila (VAN DE LOO et al., 2015; NEVILLE et al., 2016; OH et al., 2016).

Clinicamente, a lesão é observada como um nódulo solitário, assintomático, com aparência rosada ou amarelada, geralmente medindo 2cm ou menos e apresentando-se como lesão única, embora múltiplas lesões podem estar presentes (NEVILLE et al., 2016). Histologicamente a lesão é bem circunscrita mas não encapsulada, com células grandes poligonais em que o abundante citoplasma, eosinofílico e pálido, mostra numerosos grânulos (VAN DE LOO et al., 2015). O tumor de células granulares ocasionalmente induz uma hiperplasia pseudoepiteliomatosa do epitélio de revestimento (ABU-EID; LANDINI, 2006). Apesar de geralmente apresentar comportamento benigno, há relatos na literatura de tumor de células granulares com comportamento maligno e capacidade de metástase em 2% dos casos (BUDIÑO CARBONERO et al., 2003, RODRIGUEZ et al., 2012).

1.3 NEUROFIBROMAS

Os neurofibromas são tumores benignos originados da bainha de um nervo periférico, caracterizados pela proliferação de células de schwann, células perineurais e fibroblastos endoneurais (ANGIERO et al., 2016). Eles podem se apresentar como lesões solitárias, como parte da neurofibromatose, também conhecida como doença de von Recklinghausen, e muito raramente como múltiplos neurofibromas sem que o paciente seja portador da síndrome (MAHALLE et al., 2016).

Os subtipos clínico-patológicos específicos baseados em padrões arquitetônicos de crescimento incluem neurofibromas localizados, difusos e plexiformes (RODRIGUEZ et al., 2012). Quando solitário, o neurofibroma afeta igualmente os gêneros e se desenvolvem em pacientes com idade entre 20 e 30 anos. O crescimento é lento, indolor e produz poucos sintomas. Geralmente, observa-se um nódulo submucoso de pequenas dimensões. As regiões intraorais mais acometidas por neurofibromas solitários incluem a língua e mucosa jugal, além de palato, gengiva e lábio (BROLY et al., 2019; SURAMYA et al., 2013). Neurofibromas intraósseos também são relatados (DEPPRICH et al., 2009). O padrão de neurofibroma difuso é incomum e ocorre principalmente em crianças e adultos jovens, sendo caracterizado por um crescimento semelhante a uma placa geralmente na região da cabeça e pescoço (RODRIGUEZ et al., 2012). O padrão plexiforme não é comum e envolve múltiplos fascículos dos ramos menores de nervos periféricos, que frequentemente é associado a neurofibromatose tipo 1 (NF1), porém pode ocorrer em pacientes que não apresentam a síndrome (ZWANE; NOFFKE; RAUBENHEIMER, 2011).

Histologicamente o neurofibroma é uma lesão circunscrita mas não encapsulada, que varia de acordo com o conteúdo celular, mucina estromal e colágeno. A forma mais característica contém feixes entrelaçados de células fusiformes com núcleos alongados e fortemente corados. O estroma é composto por fibras colágenas e massas mucóides, podendo conter mastócitos, linfócitos e raramente células xantomatosas (BROLY et al., 2019; DEPPRICH et al., 2009; MINDELL, 2001). Menos frequentemente, o tumor pode apresentar-se altamente

celularizado, ou desenvolver aparência altamente mixóide e ainda mais raramente pode apresentar morfologia epitelióides da célula de Schwann (MINDELL, 2001). Já a variante difusa, como o próprio nome denota, possui limites irregulares e se espalha ao longo dos septos do tecido conjuntivo e entre as células adiposas. Apesar de seu crescimento infiltrativo, ele não destrói as estruturas adjacentes (MINDELL, 2001). A variante plexiforme, como citada anteriormente, apresenta origem em múltiplos fascículos e pode apresentar aparência de “bolsa de vermes”, essa patognomônica para NF1 (NEVILLE et al., 2016).

Neurofibromas geralmente apresentam positividade imunohistoquímica para a proteína S100, porém em apenas um subconjunto de células, já que essa lesão é composta por uma população mista de células (MINDELL, 2001). Essa lesão também apresenta imunomarcaçã para vimentina, CD34, CD57 e em alguns casos uma positividade focal para neurofilamentos (GHILUȘI et al., 2008). O tratamento de escolha é a excisão cirúrgica conservadora, com a manutenção do nervo afetado, apresentando um bom prognóstico. É importante distinguir um neurofibroma isolado daqueles relacionados a neurofibromatose, uma vez que o prognóstico e o tratamento diferem (ANGIERO et al., 2016). A transformação maligna de neurofibromas solitários em tumores malignos de bainha de nervo periférico pode ocorrer, embora com um risco remoto quando comparado com as lesões associadas a neurofibromatose (NEVILLE et al., 2016).

A neurofibromatose foi descrita em 1882 por Friedrich Daniel Von Recklinghausen, sendo anteriormente considerada uma condição única. Atualmente, são reconhecidas duas doenças clínica e geneticamente distintas: a NF1 e a neurofibromatose tipo 2 (NF2) (ANTÔNIO; GOLONI-BERTOLLO; TRÍDICO, 2013). A NF1 é uma síndrome hereditária, relacionada a uma alta predisposição do portador em desenvolver neoplasias benignas e malignas, que afeta 1 a cada 2500 a 3000 nascidos vivos. O gene responsável por essa síndrome foi identificado em 1990, apontando para mutações na linha germinativa no gene supressor de tumor NF1, localizado na região pericentromérica do cromossomo 17 (GUTMANN; WOOD; COLLINS, 1991). As principais apresentações clínicas da doença refletem nos critérios de diagnóstico

estabelecidos pela Conferência de Desenvolvimento de Consenso do Instituto Nacional de Saúde de 1987. Foi definido que para diagnóstico de NF1 o paciente deverá apresentar duas ou mais das seguintes características: seis ou mais máculas café com leite medindo mais de 5 mm antes da puberdade ou mais que 15 mm após a puberdade, sardas na região axilar ou inguinal, dois ou mais neurofibromas dérmicos ou um neurofibroma plexiforme, dois ou mais hamartomas da íris (nódulos de Lisch), glioma da via óptica, displasia óssea distintiva envolvendo a asa esfenoidal ou adelgaçamento do córtex de ossos longos com ou sem pseudoartrose e um parente de primeiro grau com diagnóstico de NF1 (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE, 1988).

A condição é progressiva ao longo da vida do paciente e as manifestações e sua gravidade, bem como a taxa de progressão, variam amplamente. A expectativa de vida de pacientes com NF1 é reduzida em 8 a 21 anos, principalmente devido ao risco aumentado de desenvolvimento de neoplasias malignas, quando comparada a população geral. (GUTMANN; WOOD; COLLINS, 1991).

Quanto ao envolvimento da cavidade bucal na NF1, destaca-se o desenvolvimento de neurofibromas (HIRBE; GUTMANN, 2014). Também estão presentes alterações craniofaciais como aumento do canal mandibular e do forame mandibular, ossos da face curtos na direção anteroposterior, alterações no base e ramo mandibular e maxila curta e retrognata. Podem estar presentes também alterações em fala, entre elas modificações na taxa, volume, afinação e erros na articulação de sons sibilantes, gerando uma voz semelhante em pacientes com NF1 (VISNAPUU et al., 2018).

1.4 SCHWANNOMAS

Outra neoplasia benigna de origem neural, que acomete a cavidade bucal com certa frequência, apresentando componentes histológicos em comum com as demais lesões citadas anteriormente é o schwannoma. Essa neoplasia foi descrita primeiramente em 1908 por Verocay e se trata de uma neoplasia benigna, de crescimento lento, com origem em células de Schwann de nervos

periféricos. Possuem predileção pelo gênero feminino e ocorrem principalmente entre a quarta e quinta década de vida. A região de cabeça e pescoço é acometida com frequência envolvendo cavidade oral, seios paranasais, laringe, glândula parótida, espaço parafaríngeo, tecidos moles e ossos. A lesão apresenta-se como um nódulo assintomático, porém schwannomas localizados em cavidade oral ou em laringe tendem a manifestar sintomatologia (BUTLER; PATEL; MCHUGH, 2016; HANDSCHEL et al., 2012).

Microscopicamente essa lesão é geralmente encapsulada, com focos celulares de padrão Antoni A e Antoni B. O padrão Antoni A consiste em células monomórficas fusiformes paralelas com citoplasma mal definido, que ocasionalmente mostram núcleos em paliçada, formando os corpos de Verocay, situadas em um estroma colagênico. Os corpos de Verocay consistem em membrana basal reduplicada e processos citoplasmáticos (NEVILLE et al; 2016). Já o padrão Antoni B apresenta-se como um padrão mais difuso, menos celularizado, em que as células de Schwann são dispersas em um estroma frouxo e mixomatoso (HANDSCHEL et al., 2012). Diferentes variáveis histológicas foram descritas para essa lesão, incluindo: plexiforme, celular, epitelióide, melanótico e senescente (MINDELL, 2001).

Pacientes com schwannoma do subtipo histológico celular podem ser diagnosticados erroneamente com tumor maligno de bainha de nervo periférico de baixo grau, uma vez que é composto quase exclusivamente por células fusiformes compactas, com hipercromatismo e pleomorfismo variáveis, ausência de corpos de Verocay e presença de mitoses. A presença de macrófagos espumosos, uma cápsula bem formada contendo agregados linfóides, forte coloração difusa da proteína S100 e expressão pericelular de colágeno IV são características importantes e que podem sustentar o diagnóstico de schwannoma celular (PEKMEZCI et al., 2015). O tratamento para schwannomas consiste na excisão cirúrgica conservadora, preservando a função do nervo envolvida (COLREAVY et al., 2000).

A presença de schwannomas pode estar relacionada ao acometimento do paciente por síndromes, como a NF2 e a schwannomatose. A NF2, assim como a NF1, é uma síndrome hereditária caracterizada pelo desenvolvimento de tumores de sistema nervoso, principalmente schwannomas, seguidos de

meningiomas e ependimomas. Além disso, os pacientes apresentam anormalidades oculares. Apesar do nome, neurofibromas não estão geralmente envolvidos nessa síndrome. A NF2 é causada por uma mutação no gene NF2, no cromossomo 22 e herdado em um padrão autossômico dominante, com incidência estimada de 1 em 25.000 a 1 em 33.000 (PLOTKIN; WICK, 2018). Esse gene codifica a proteína Merlin, uma proteína supressora de tumor que afeta as vias de sinalização PI3 quinase Akt, Raf /MEK /ERK e mTOR (KRESAK; WALSH, 2016).

Schwannomas bilaterais do ramo vestibular superior do oitavo nervo craniano são patognomônicos para NF2, levando ao desenvolvimento de sintomas como surdez, zumbido ou desequilíbrio. A presença de schwannomas periféricos também pode estar associada à síndrome. Assim como nos schwannomas vestibulares, a histologia dos schwannomas periféricos de NF2 é semelhante ao solitário, com exceção da tendência dos schwannomas de NF2 de se infiltrar no nervo associado (KRESAK; WALSH, 2016; PLOTKIN; WICK, 2018).

A schwannomatose é uma síndrome caracterizada pelo desenvolvimento de múltiplos schwannomas do nervo periférico, sem envolvimento concomitante do nervo vestibular. Os pacientes costumam apresentar sintomas na segunda e terceira década de vida, sendo a dor o sintoma mais comumente relatado. A schwannomatose familiar é responsável por 15% dos casos notificados e é transmitida de maneira autossômica dominante com penetrância incompleta, já a schwannomatose esporádica é responsável por 85% dos pacientes, que não possuem familiares afetados (KRESAK; WALSH, 2016; PLOTKIN; WICK, 2018).

Como o schwannoma é o tumor predominante tanto no NF2 quanto na schwannomatose, pode haver sobreposição nos fenótipos dessas síndromes, o que leva a uma frequente classificação da schwannomatose como uma terceira forma de neurofibromatose. A prevalência de schwannomatose é difícil de avaliar, dadas as semelhanças clínicas com a NF2 e a falta de um teste genético confiável em todos os casos, embora se especule que seja tão comum quanto a NF2 (KRESAK; WALSH, 2016; PLOTKIN; WICK, 2018). Schwannomas, associados ou não as síndromes descritas, não apresentam uma forte

predisposição a transformar-se em neoplasias malignas (RODRIGUEZ et al., 2012).

1.5 TUMOR MALIGNO DA BAINHA DE NERVO PERIFÉRICO

Tumor maligno da bainha de nervo periférico (TMBNP) é o termo utilizado para definir uma neoplasia maligna incomum dos nervos periféricos, que envolve com maior frequências as extremidades, tronco e retroperitônio (ARSHI; TAJUDEEN; ST. JOHN, 2015). Várias terminologias como sarcoma neurogênico, neurilemossarcoma, fibrossarcoma maligno e neurilemoma maligno haviam sido usadas para designar essa lesão (JANARDHANAN; RAKESH; KUMAR, 2011).

O envolvimento de cabeça e pescoço representa apenas 2 a 9% dos casos de sarcomas de tecido mole, raramente ocorrendo em cavidade oral (JANARDHANAN; RAKESH; KUMAR, 2011). Apresentação clínica desta doença em cabeça e pescoço é heterogênea e pode manifestar-se como uma massa de crescimento rápido, tosse, rouquidão, parestesias e déficits neurológicos, dependendo da região anatômica envolvida (ARSHI; TAJUDEEN; ST. JOHN, 2015; OLIVIER, 2017). Na cavidade oral, os locais mais acometidos são mandíbula, lábios e mucosa jugal (NEVILLE et al., 2016).

Como a literatura é relativamente escassa, especialmente quando se refere a tumores em cabeça e pescoço, há controvérsia em torno dos determinantes clínico-patológicos dessa neoplasia. Através de uma análise de dados de 374 casos de TMBNP, observou-se uma idade média de 50,7 anos no momento do diagnóstico, com uma predileção por pacientes do sexo masculino e brancos. A maioria dos tumores deste estudo apresentavam-se em estágio I e II, com tamanho médio de 4,5 cm (ARSHI; TAJUDEEN; ST. JOHN, 2015).

Histologicamente, são observados fascículos de células fusiformes com áreas densamente celularizadas alternando com áreas hipocelulares. As células são fusiformes, atípicas, com contornos irregulares, núcleo ondulado, curvado ou em vírgula, citoplasma indistinto e pouco corado. Outras características histológicas que podem estar presentes são: hérnia de células tumorais no lúmen dos vasos, proliferação de pequenos vasos na parede de grandes vasos,

presença de componente neurofibromatoso, áreas de necrose e figuras de mitose. Os padrões morfológicos frequentes incluem um efeito “marmorizado” com áreas celulares e mixóides alternadas. Esse tumor apresenta grande heterogeneidade morfológica, podendo apresentar transição abrupta de padrões e celularidade. As variantes histológicas descritas são: epitelióide, glandular, rabdomyossarcomatosa, pigmentada e perineural (JANARDHANAN; RAKESH; KUMAR, 2011; PATEL et al., 2015; PEKMEZCI et al., 2015). Os critérios de diagnóstico dessa neoplasia maligna devem incluir, além dos aspectos histológicos, a origem em nervo periférico, histórico clínico e suporte imunohistoquímico ou ultraestrutural da diferenciação de células de Schwann (MARTINEZ; FRITCHIE, 2019).

As duas modalidades de tratamento mais utilizadas são a cirurgia e a radioterapia, considerando que a terapia combinada com ampla ressecção e radioterapia adjuvante levam a benefícios significativos em sobrevida, particularmente em pacientes com tumores maiores que 5 cm (ARSHI; TAJUDEEN; ST. JOHN, 2015). O prognóstico geral para esta lesão é ruim, com sobrevida variando entre 35 e 50% em cinco anos. 41% dos pacientes que apresentam TMBNP desenvolvem metástase em um período médio de 12 meses, sendo os pulmões, tecidos moles e ossos os sítios mais comuns de metástase (JANARDHANAN; RAKESH; KUMAR, 2011; PEKMEZCI et al., 2015). O prognóstico do TMBNP em pacientes com NF1 é pior em comparação com o TMBNP na população geral (PLOTKIN; WICK, 2018).

1.6 IMUNOHISTOQUÍMICA EM LESÕES NEURAIS, NEUROTROFINAS E SEUS RECEPTORES

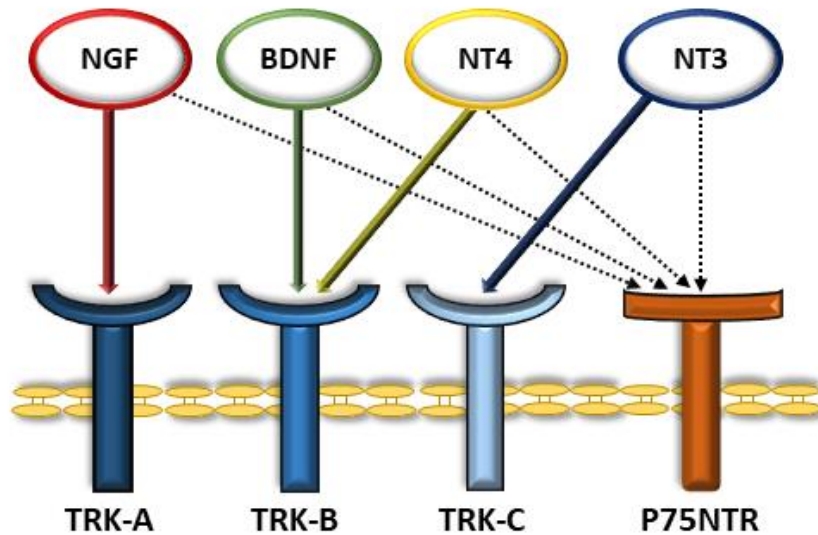
A imunohistoquímica é uma técnica amplamente utilizada como método auxiliar no diagnóstico anatomopatológico, inclusive de lesões neurais. Os marcadores antigênicos que suportam a origem neural das células incluem o S100, CD57, EMA, Fator XIIIa, CD34 e CD68 (CHRYSOMALI et al., 1997). A proteína S-100 é um antígeno presente nas células de suporte do sistema nervoso. A positividade para essa proteína apresenta-se de maneira distinta entre as lesões benignas e pode não estar presente em lesões malignas (COLREAVY et al., 2000).

Os demais marcadores possuem valor secundário no diagnóstico dessas lesões, mas podem ser úteis no diagnóstico diferencial dentre as lesões benignas, uma vez que apresentam padrões de imunomarcção que diferem entre os subtipos de lesões neurais periféricas. Além disso, SOX10, EGFR, P16 e neurofibromina apresentam alta sensibilidade e especificidade na avaliação imunohistoquímica de tumores malignos de bainha de nervo periférico.

As neurotrofinas, classe fundamental de fatores de crescimento expressos no sistema nervoso central, são identificadas como reguladores fundamentais no desenvolvimento, homeostase e plasticidade dos neurônios cerebrais. Este grupo é composto pelo fator de crescimento neural (NGF), fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), neurotrofina-3 (NT-3) e neurotrofina-4 (NT-4). As neurotrofinas têm como alvo de ligação duas classes de receptores de membrana, a família de receptores da tirosina quinase, TRKA, TRKB e TRKC, codificados pelos genes NTRK1, NTRK2 e NTRK3, respectivamente, e o receptor p75NTR um membro da superfamília do receptor de fator de necrose tumoral (TNF), capaz de se ligar a todas as neurotrofinas (KUWABARA et al., 2018; MELDOLESI, 2018).

O NGF possui como receptor de preferência o TrkA. BDNF e NT-4 ligam-se preferencialmente em TrkB e NT-3 em TrkC. A sinalização NGF/TrkA suporta a sobrevivência e diferenciação de neurônios simpáticos e sensoriais responsivos à temperatura e à dor, enquanto a sinalização BDNF/TrkB, NT-4/TrkB e NT-3/TrkC dão suporte aos neurônios sensoriais responsivos a estímulos táteis, neurônios motores e neurônios sensoriais (NAKAGAWARA, 2001).

Figura 1 - Neurotrofinas e seus receptores de alta e baixa afinidade.



Neurotrofinas e seus receptores de alta afinidade pertencentes a família TRK (flecha colorida) e baixa afinidade – P75NTR (flecha pontilhada). Fonte: autoria própria.

Inicialmente, acreditava-se que os receptores de neurotrofinas eram expressos apenas em neurônios no sistema nervoso central e periférico, desempenhando um importante papel na fisiologia e em quadros patológicos neurais. Atualmente, sabe-se que regulam importantes processos em células não neuronais e, além de seu impacto sobre tumores de origem neural, podem contribuir para a patogênese de diversas doenças (THIELE; LI; MCKEE, 2009; MELDOLESI, 2018). Dentre a família de receptores Trks, o TrkB e seu ligante BDNF vem sendo extensivamente estudados (NOTARAS; VAN DEN BUUSE, 2018).

O BDNF é a neurotrofina que predomina no cérebro adulto, e as cascatas de sinalização induzidas por ele e seu receptor TrkB então relacionadas com crescimento e a diferenciação neuronal, e conseqüentemente, à plasticidade sináptica. O BDNF, assim como as demais neurotrofinas, é traduzido como uma forma precursora que requer clivagem para exercer sua funcionalidade. O proBDNF é clivado para gerar a neurotrofina madura (mBDNF), formando homodímeros estáveis que são secretados nas vias constitutivas e reguladoras. Em certas situações, o proBDNF também é secretado, utilizando receptores distintos e desempenhando funções diferentes de sua forma madura. Quando o proBDNF é secretado como uma proteína funcional se liga ao p75NTR. Já o

mBDNF é capaz de ligar-se ao receptor TrkB (NOTARAS; VAN DEN BUUSE, 2018; SASI et al., 2017).

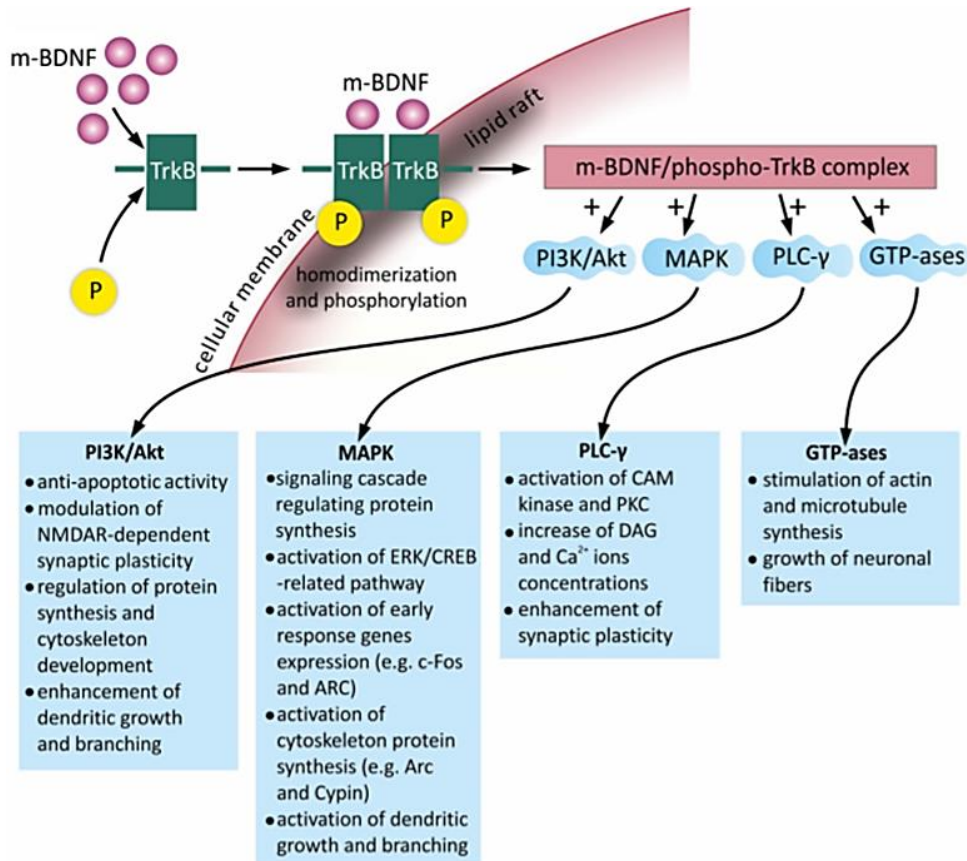
BDNF ao ligar-se ao receptor TrkB promove a ativação de moléculas como PI3K/AKT, MAPK, PLC- γ , GTP-ase, e a sinalização intracelular induz a atividade antiapoptótica, modulação da atividade sináptica, regulação da síntese de proteínas e citoesqueleto, ativação do crescimento dendrítico, estimulação da síntese de microtúbulos e actina e crescimento de fibras neuronais, conforme esquematizado na figura 2. No sistema nervoso periférico, o BDNF está envolvido na diferenciação, regeneração e manutenção da sobrevivência neuronal e na mielinização durante a diferenciação dos nervos. Células de Schwann em nervos periféricos expressam BDNF em situações fisiológicas. Durante a transformação neoplásica há uma superexpressão dessa neurotrofina pelas células de Schwann, estando relacionado com o aumento do índice de mitoses e conseqüentemente com o desenvolvimento das lesões neurais periféricas (KRAMER et al., 2010).

O eixo BDNF/Trkb foi encontrado altamente expresso em tumores malignos em diversos sítios como câncer de pâncreas, pulmão, mama, próstata, trato gastrointestinal, reto e fígado, além de tumores de Wilms, mielomas, linfomas, leucemia, sarcoma de Ewing, meduloblastoma, câncer ginecológico, carcinoma adenoide cístico e carcinoma espinocelular. (BRONZETTI et al., 2008; DE MORAES et al., 2018; SHAN et al., 2016; MELDOLESI, 2018). Sua maior expressão foi associada ao crescimento tumoral, invasão, resistência a apoptose, metástase, transição epitelial-mesenquimal, angiogênese, invasão perineural e resistência a quimioterapia (DE MORAES et al., 2018; SHAN et al., 2016).

A avaliação dessa via na carcinogênese oral mostrou que a via BDNF / TrkB / Akt é mais expressa em casos de carcinoma espinocelular do que em leucoplasias e em mucosa oral normal, indicando o envolvimento dessa na aquisição de um fenótipo maligno. Além disso uma expressão elevada foi observada em pacientes diagnosticados em estágios avançados e relacionado a desfechos desfavoráveis, incluindo chances maiores de apresentar metástase no momento do diagnóstico, sugerindo que a alta expressão dessas proteínas é capaz de indicar um menor tempo de sobrevida nesses pacientes. Os resultados

desse estudo mostram que essa via é um atraente alvo terapêutico para pacientes com carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (MORAES et al., 2019).

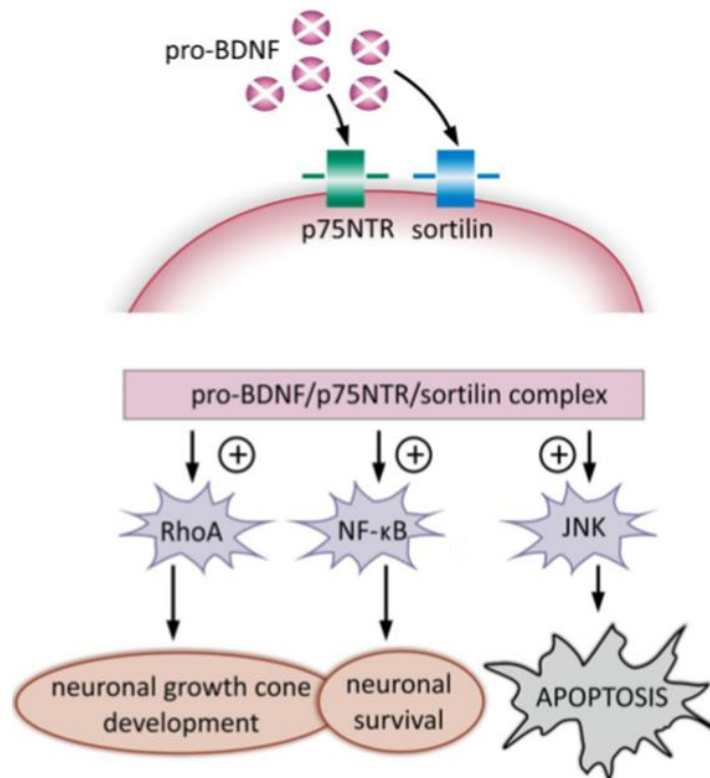
Figura 2 - Cascatas de sinalização intracelular.



Cascatas de sinalização intracelular ativadas pela interação da isoforma m-BDNF com o receptor TrkB. Fonte: Kowianski et al; 2017

O receptor de neurotrofinas p75 é um membro da superfamília de receptores do fator de necrose tumoral. Suas funções estão relacionadas com interações específicas desse receptor com outros receptores de membrana, e também com a neurotrofina que se ligará a ele e tipo de ligação estabelecida. (MEEKER; WILLIAMS, 2014; SØLAND et al., 2008). Dentre as funções reguladas por esse receptor estão a mediação de morte celular, promoção de sobrevivência celular, diferenciação e crescimento celular (MEEKER; WILLIAMS, 2014; SASI et al., 2017; SØLAND et al., 2008).

Figura 3 - Formação do complexo p75NTR-sortilina.



p75NTR formando complexo com outro receptor de membrana (sortilina) e ligando-se a forma pro da neurotrofina BDNF. Essa ligação pode ativar diferentes vias, que mediam funções opostas nas células. Fonte: Kowianski et al; 2017

As evidências sugerem que o p75NTR pode ser expresso em níveis baixos, mas funcionais, no sistema nervoso adulto. No sistema nervoso periférico o P75NTR é expresso nas células de Schwann durante o desenvolvimento dos nervos, antes do contato axonal ser concluído e do processo de mielinização, e então sua expressão diminui progressivamente durante a maturação, até se tornar ausente em nervos maduros. Foi sugerido que o contato das células de Schwann com o axônio influenciam negativamente a expressão de p75NTR no sistema nervoso periférico. Durante o desenvolvimento de lesões periféricas, esse receptor volta a ser observado, mostrando-se importante no processo de transformação neoplásico (BONETTI et al., 1997).

A expressão de p75NTR em lesões de cavidade bucal foi avaliada em lesões odontogênicas, desordens potencialmente malignas e carcinoma espinocelular oral. Em epitélio oral normal e em leucoplasia oral, observou-se

que o p75NTR é expresso apenas na camada basal, invariavelmente a extensão de displasia epitelial. Já em carcinoma espinocelular oral, o índice de marcação do p75NTR é significativamente aumentado em associação com aumento do grau histológico e invasão do tumor, estando associado também a metástase em linfonodos cervicais e desfecho desfavorável em relação a sobrevida, intimamente relacionados ao prognóstico do paciente (RAGUNATHAN et al., 2016; TOYOSHIMA et al., 2011).

O papel do P75 foi avaliado também em tumores malignos renais indicando uma super expressão desse receptor relacionada a indução de sobrevivência e migração celular (DE LA CRUZ-MORCILLO et al., 2016). No entanto, em neoplasias malignas de próstata e bexiga, foi sugerido que o p75 aja como supressor tumoral uma vez que atrasa o ciclo celular, induzindo o acúmulo de células neoplásicas em fase G1 através da influência exercida na expressão de componentes reguladores específicos do ciclo celular (KHWAJA; DJAKIEW, 2003; BRONZETTI et al., 2008; KRYGIER; DJAKIEW, 2002). Isso indica que a função desempenhada pelo receptor p75NTR em células malignas ainda não está completamente esclarecida e esses papéis opostos estariam relacionados com diferentes funções induzidas de acordo com o contexto de expressão (DE LA CRUZ-MORCILLO et al., 2016).

Apesar da investigação do p75NTR em diversas doenças citadas anteriormente há uma lacuna na literatura quando se trata da avaliação em lesões neurais periféricas. Bonetti et al (1997) avaliaram a imunomarcação de P75NTR em células de Schwann em nervos periféricos normais e em células neoplásicas de schwannomas acústicos e tumores de bainha de nervo periférico. Seus resultados mostraram que células de Schwann em nervos normais são imunorreativas para S100, porém não para P75NTR. Já em schwannomas, as células de Schwann passam a ser fortemente marcadas por P75NTR, com grande parte das células tumorais mostrando-se positivas. Em neoplasias malignas a imunomarcação de p75NTR diminui quando comparada com lesões benignas. Outro estudo, realizado por Fanburg-Smith et al (2001) avaliou a presença do receptor p75NTR em 1.150 tumores e tecidos adultos e fetais. Dentre os tumores neurais periféricos incluídos, todos os neuromas traumáticos e tumores de células granulares foram positivos para p75NTR, já entre

schwannomas, neurofibromas e tumores malignos de bainha de nervo periférico a porcentagem de casos positivos para esse receptor foi de aproximadamente 80%.

Uma vez que os receptores de neurotrofinas foram identificados como estimuladores em diversas neoplasias, iniciaram-se as pesquisas relacionadas a drogas capazes de inibir tais receptores. Surgiram então, as drogas anti-Trks com efeitos promissores em vários tipos de câncer. É esperado que as terapias voltadas para a inibição da sinalização de TRKs e p75NTR desenvolvam-se nos próximos anos, visando essas drogas na terapia humana antineoplásica. Além disso, pelas propriedades apresentadas por essas drogas diferirem das observados em agentes quimioterápicos, acredita-se que a combinação de ambos gera efeitos sinérgicos e sem maiores desvantagens para o paciente (MELDOLESI, 2018).

Como essas moléculas estão diretamente relacionadas com função e desenvolvimento neurológico, estudos avaliando a expressão de BDNF, TrkB e p75NTR são necessários para elucidar o envolvimento dessas vias na patogênese de lesões neurais periféricas benignas e malignas em cabeça e pescoço.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a imunomarcção da neurotrofina BDNF e dos receptores TrkB e P75NTR em lesões benignas e malignas de origem neural de cabeça e pescoço.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a porcentagem de casos de neuromas traumáticos, tumor de células granulares, neurofibromas, schwannomas e tumores malignos de bainha de nervo periférico que apresentam imunomarcção para BDNF, TrkB e p75NTR;

Avaliar o percentual de células positivas para BDNF, TrkB e p75NTR para cada caso avaliado;

Descrever os subtipos histológicos e componentes celulares em cada um dos grupos de lesões positivas para BDNF, TrkB e p75NTR;

Realizar uma análise descritiva da imunomarcção para cada anticorpo;

Avaliar se houve diferença na expressão da neurotrofina BDNF e dos receptores TrkB e p75NTR entre os grupos de lesões estudados;

3 ARTIGO CIENTÍFICO

O presente artigo, intitulado “**Analysis of BDNF, TrkB and p75NTR in peripheral benign and malignant neural lesions in head and neck.**” será formatado de acordo com as normas do periódico Journal of Oral Pathology & Medicine, ISSN: 1600-0714, fator de Impacto 2.03 e Qualis A2, ao qual será submetido.

Analysis of BDNF, TrkB and p75NTR in peripheral benign and malignant neural lesions in head and neck.

Julia Turra Ribeiro¹, Stéfanie Thieme¹, Paula Zettermann¹, Amanda Almeida Leite², Virgilio Gonzales Zanella^{1,3}, Emily Ferreira Salles Pilar⁴, Felipe Paiva Fonseca^{5,8}, Ricardo Alves de Mesquita⁵, Pablo Agustin Vargas², Jean Nunes dos Santos⁶, Manoela Domingues Martins^{1,3,7}.

¹ Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

² Department of Oral Pathology, School of Dentistry, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.

³ Head and Neck Surgery Department, Hospital Santa Rita, Complexo Hospitalar Santa Casa, Porto Alegre, RS, Brazil

⁴Experimental Pathology Unit, Clinics Hospital of Porto Alegre, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

⁵Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

⁶Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Federal University of Bahia, Salvador, BA, Brazil.

⁷Department of Oral Medicine, Porto Alegre Clinics Hospital (HCPA/UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

⁸Department of Oral Pathology and Oral Biology, School of Dentistry, University of Pretoria, Pretoria, South Africa.

Corresponding author:

Manoela Domingues Martins

Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Faculdade de Odontologia

Rua Ramiro Barcelos, 2492, sala 503

CEP: 90035-003

Santana, Porto Alegre RS, Brazil

Phone: 55-51-33085011

manomartins@gmail.com

ABSTRACT

Background: Although rare, lesions of neural origin may occur in the head and neck region, including in the oral cavity. Neurotrophins represent a class of growth factors recognized as fundamental regulators of brain development, homeostasis and plasticity. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is the predominant member of neurotrophins in the adult brain that binds to tropomyosin receptor kinase B (TrkB) and p75 neurotrophin receptors (p75NTR), playing important roles in differentiation, regeneration, myelination and maintenance of neuronal survival.

Methods: This is an observational analytical study which included 79 cases of head and neck neural lesions. Nineteen cases of traumatic neuromas (TN), 20 cases of granular cell tumors (GCT), 16 cases of neurofibromas (NF), 20 cases of schwannomas (SC) and 4 malignant peripheral nerve sheath tumour (MPSNT) were submitted to immunohistochemistry with BDNF, TrkB and p75NTR antibodies. A semi-quantitative analysis was performed for the percentage of positive cells for each antibody.

Results: The analysis of BDNF demonstrated high percentage of positive cells in TN, GCT and SC with a decrease in cases of NF and MPNST. Comparing TrkB labeling among all neural lesions a significant decrease was observed between GCT and TN, NF, SC and MPNST ($p < 0.0001$). In addition, TN showed less percentage of positive cell compared to SC ($p = 0.0017$). Regarding P75NTR the percentage of positive cell was significantly reduced in MPNST compared GCT ($p = 0.009$), NF ($p = 0.0138$) and SC ($p = 0.0069$). Also, a difference between TN and GCT ($p = 0.007$) were observed.

Conclusions: Our results showed the participation of BDNF and neurotrophin receptors (TrkB and P75NTR) in head and neck peripheral neural lesions.

MPNST exhibited differences as reduction of BDNF and P75NTR indicating down-regulation of this axis associated to acquisition of malignant phenotype.

KEYWORDS: BDNF protein, Receptor trkB, P75NTR, Neurotrophins, Peripheral Nerve, Head and Neck Neoplasms, Immunohistochemistry.

Introduction

The nerve tissue that is located outside the brain and spinal cord is denominated the peripheral nervous system. It is composed of Schwann cells, fibroblasts and perineural cells^{1,2}. Despite their same origin, peripheral neural lesions, show remarkable microscopic and pathogenetic heterogeneity³.

Although rare, lesions of neural origin may occur in the head and neck region, especially in the oral cavity. In oral pathology laboratories, these lesions represent 0.2% to 0.6% of all specimens received for histopathological diagnosis^{1,4,5}. Among the benign peripheral neural lesions, the most frequent are granular cell tumors, traumatic neuroma, schwannoma and neurofibroma⁴. The malignant variant is represented by the malignant peripheral nerve sheath tumour, that is a rare soft tissue sarcoma⁶.

Neurotrophins represent a class of growth factors expressed primarily in the central nervous system recognized as fundamental regulators of brain development, homeostasis and plasticity. Currently, four neurotrophins have been isolated in humans: neural growth factor (NGF), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), neurotrophin-3 (NT-3), neurotrophin-4 (NT-4). Their membrane receptors belong to two classes, the family of tyrosine kinase receptors (TrkA, TrkB and TrkC)⁷ and the p75NTR receptor that is a member of the tumor necrosis factor receptor (TNF) superfamily, capable of binding to all neurotrophins⁸.

BDNF is the predominant member of neurotrophins in the adult brain and, like other neurotrophins is synthesized as a precursor form (proBDNF) that undergoes cleavage, resulting in a mature neurotrophin (mBDNF)⁹. The proBDNF binds to the p75NTR, whereas mBDNF interacts with TrkB receptor^{9,10}.

Trk receptors are believed to regulate important processes in non-neuronal cells and on tumors of neural origin¹¹. In the family of Trk receptors, TrkB and its BDNF ligand have been extensively studied^{10,12,13}. P75NTR binds to all low-affinity mature neurotrophins (NGF, BDNF, NT3, and NT4), while its precursors (pro-neurotrophins) can bind to it with high affinity.

The BDNF-TrkB complex performs functions that result in neuronal growth and differentiation, triggering signaling for functions like antiapoptotic activity, modulation of synaptic activity, and regulation of protein synthesis^{10,14}. The BDNF/TrkB pathway has been highly expressed in malignant neoplasms of various sites including those located in the oral cavity such as cystic adenoid carcinoma and oral squamous cell carcinoma^{12,13,15,16}. The overexpression of BDNF is associated with the acquisition of a malignant phenotype, responsible for tumor growth, invasion, resistance to apoptosis, metastasis, epithelial-mesenchymal transition, angiogenesis, perineural invasion, resistance to chemotherapy and decrease in survival^{12,13,16}.

The BDNF-P75NTR association can activate cellular signaling promoting distinct functions, such as induction of apoptosis or mediation of cell survival^{8,9,17,18}. Beyond BDNF, the P75NTR can interact with several biological modulators, which also depend on type of binding and complex formation with other membrane receptors. In malignant cells, p75 receptor is not well understood but it is believed that it is involved in the invasiveness of neoplastic cells, as well as with tumor suppression and metastasis^{19, 21}. In addition, the P75 overexpression is related to survival and cell migration induction²². In oral squamous cell carcinoma, the high P75NTR labeling was associated to aggressive increase of the lesion and unfavorable prognosis for the patient²¹.

Although BDNF and neurotrophin receptors have been studied in several lesions especially regarding central nervous system^{9,23,24}. However, little studies have focused on head neck tumors from peripheral origin. Thus, our main aim was to evaluate for the first time the pattern of BDNF, TrkB and p75NTR labeling in peripheral benign and malignant neural lesions in head and neck.

METHODS

Study population

This is an observational analytical study that followed the STROBE (Strengthening The Reporting of Observational Studies in Epidemiology) Checklist. After approval of Ethics Committee (approval No. 3.323.856, CAEE 09853119.2.3001.5347), a manual search was performed out at the oral pathology laboratory of the Federal University of Rio Grande do Sul, Piracicaba School of Dentistry, Santa Casa de Misericordia Hospital of Porto Alegre and Federal University of Minas Gerais. Paraffin blocks corresponding to benign and malignant neural lesions of the head and neck region were analyzed. A sample size calculation was performed based on De Moraes et al. 2019 with a power of 80%, a significance level of 5%. A minimum sample size of 14 subjects was obtained in each experimental group of benign lesions and 7 for the group of malignant lesions. For this calculation we used Winpepi software version 11.49. In total, 79 cases of head and neck neural lesions were included in the study. Nineteen cases of traumatic neuromas (TN), 20 cases of granular cell tumors (GCT), 16 cases of neurofibromas (NF), 20 cases of schwannomas (SC) and 4 malignant peripheral nerve sheath tumour (MPSNT) were selected.

Histopathologic analysis

Hematoxylin and eosin stained slides were performed for each case and evaluated by two blinded pathologists. The diagnosis was reviewed according to the criteria defined by Enzinger, Weiss².

Immunohistochemistry

Immunohistochemical reactions were performed at the Laboratory Research Unit of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Paraffin-embedded tissues were sectioned at 3 µm and placed on silanized slides. Subsequently, the slides were deparaffinized in xylol and hydrated in ethanol at decreasing concentrations. Antigenic recovery was performed in a 95° water bath for 20 minutes in pH9 buffer. After blocking endogenous peroxidase with 5% hydrogen peroxide, slides were incubated overnight with the primary antibodies: BDNF (1:200 monoclonal, EPR1292, ABCAM), TrkB (1:200 polyclonal, AB18987, ABCAM) and P75NTR (1:200 monoclonal, EP1039Y ABCAM). After the incubation with specific

secondary antibody the reactions were revealed using diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB; Novocastra, Newcastle, UK), followed by staining with Harris hematoxylin for contrast. Positive controls for BDNF, TrkB and P75NTR were brain, cervical carcinoma and human tonsil, respectively. Negative controls were obtained by substitution the primary antibody with nonimmune serum.

Semi-quantitative analysis

An analysis of immunohistochemistry slides was blindly performed by two experienced and calibrated pathologists. A semi-quantitative analysis was performed and scores were established by consensus. For each case, the full extent of the lesion was analyzed and a positive cells percentage score (PP) was designated. The PP was scored as follows: 0 – 0% of stained cells; 1 – 1% to 20% of stained cells; 2 – 21% to 50% of stained cells; 3 – 51% to 80% of stained cells; 4 - 81% a 100% of stained cells.

Statistical analysis

The immunohistochemical data were analyzed using SPSS software (IBM Corporation, Armonk, NY), version 20.0. Initially, a descriptive analysis of clinic-pathologic features was performed for all lesions. Differences in the PP scores of BDNF, TrkB and P75NTR between the diagnoses (TN, GCT, NF, SC and MPNST) were assessed by Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post-hoc test adjusted for Bonferroni error correction. For all tests, $p \leq 0.05$ was considered indicative of statistical significance.

RESULTS

Clinical-demographic characteristics of benign and malignant peripheral neural tumors included in the study and scores of the positive cells for BDNF, TrkB and P75NTR in each group of lesions are described in Table 1.

Traumatic Neuromas (TN)

Nineteen cases of traumatic neuromas were included. Hematoxylin and eosin stained histological sections showed unencapsulated lesions containing a large amount of mature nerve fascicles randomly arranged in a densely fibrous and collagenized stroma (Figure 1).

In 100% of the cases, small nerve bundles haphazardly organized revealed positive staining for BDNF in cytoplasm of neural cells, endoneurium and perineurium (Figure 2). Most part of the neural cells were positive for BDNF with 15 cases (78.9%) in score 4 (>80% of positive cells) (Figure 2). Also, positive BDNF labeling was observed in endothelial blood vessel cells.

TrkB was positive in all cases of TN. The labeling was identified in cytoplasm of neural cells. However, in 11 (57.9%) cases the score was 3 or less (<80% of positive cells) indicating that some cells of lesions were negative for this protein (Figure 3). Endo and perineurium was labelled. In addition to neural structures, a positive reaction was detected in connective tissue of stroma.

P75NTR showed positive labeling in cytoplasm of neural cells. All cases were positive for this antibody, but not all neural cells were positive. In 14 (73.7%) cases the score was 3 or less (<80% of positive cells) (Figure 4). Variable positivity was observed in endoneurium and perineurium. Some cases showed dendritic cells positive for P75NTR located in the epithelial lining.

Granular Cell Tumors (GCT)

Twenty cases of granular cell tumors were evaluated. Histologically, this lesion was well circumscribed with large polygonal cells with abundant eosinophilic and pale cytoplasm containing granules (Figure 1). Occasionally it was possible to observe epithelium with pseudoepitheliomatous hyperplasia.

BDNF was positive in 100% of cases. Tumor cell cytoplasm showed intense BDNF staining, all cases presented higher number of positive cells (score 4, > 80% of positive cells) (Figure 2).

TrkB was negative in 19 (95%) of GCT cells. Only one case was positive with cytoplasmic labelling showing score 2 (< 50% of positive cells). Strong reactivity was detected in connective tissue (extracellular matrix) and basal membrane. In some cases, the sets of granular cells were involved by positive

matrix simulating a cellular labeling (Figure 3). Normal keratinocytes of lining epithelium exhibit cell membrane positivity.

P75NTR positivity was observed as cytoplasmic labeling in 90% of the cases. A high percentage of tumor cells were positive performing a mean score around 4 (>80% of positive cells) (Figure 4). In addition to tumor cells, we observed staining in perineurium and keratinocytes of a basal layer of mucosal epithelium.

Neurofibroma (NF)

Sixteen cases of neurofibromas were evaluated and classified according to the histological pattern presented. Histological sections revealed a circumscribed lesion containing intertwined bundles of spindle cells with elongated nuclei and strongly stained in a stroma of collagen fibers (Figure 1). Of the 16 cases, 12 demonstrated classic histological arrangement and 4 plexiform characteristics.

The BDNF stained 100% of the cases with cytoplasmic labeling. However, there was a variation in the percentage of positive cells. Twelve cases (75%) showed score 3 or higher (> 50% of positive cells) (Figure 2). Myxoid areas exhibited a tendency to decrease the percentage of labelling.

TrkB was positive in all cases with tumor cells showing a cytoplasm staining. The percentage of positive cells was variable, with 8 cases (50%) presenting score 4 (> 80% of positive cells) (Figure 3).

P75NTR showed a diffuse cytoplasmic expression in all cases. Ten (62.5%) cases showed score 4 (>80% positive cells) (Figure 4). In normal nerves, an intense marking was evidenced in epineurium.

Schwannomas (SC)

Twenty cases of Schwannomas were evaluated. Microscopically this lesion is usually encapsulated, with Antoni A and Antoni B pattern cell foci. The Antoni A pattern consisted of parallel spindle cells, which occasionally show palisade nuclei, forming Verocay's bodies (Figure 1). Already the Antoni B pattern presented as a more diffuse pattern, in which Schwann cells are dispersed in a

loose and myxomatous stroma. Of 20 cases, 10 showed predominance of Antoni A pattern, 5 Antoni B pattern and 5 were mixed.

Strong BDNF labeling was observed in all cases. In general, the staining was present in the cytoplasm of the cells. Some nucleus staining was observed in few cases (04) mainly in Antoni B pattern. Score 4 (>80% of positive cells) was observed in 14 (70%) cases. (Figure 2). The presence of scattered vacuoles in several cases were observed. When cells were organized in the Antoni A pattern there seemed to be a decrease in BDNF staining especially in Verocay bodies.

TrkB was positive in all analyzed cases with cytoplasmic staining. The percentage of positive cells was high (score 4, >80 of positive cells) in 18 (90%) cases (Figure 3). In general, Antoni A showed a granular pattern in cytoplasmic labeling. In some cases, there was membrane staining delimiting the cell or vacuole, but this marker was predominantly cytoplasmic.

P75NTR was positive in 19 (95%) cases in schwannomas. Intense cytoplasmatic labeling of neural tumor cells was observed. In 18 (90%) cases positive cell percentage score was 3 or more (> 50% of positive cells) (Figure 4). In Antoni A, a large cytoplasm of tumor cells was evidenced by the P75NTR labelling. In Antoni B pattern some tumor cells were negative for this antibody. In all cases that exhibited epithelium a positive labeling was detected in basal cell layer.

Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumour (MTPNS)

Four cases of malignant tumor of peripheral nerve sheath were included. In these tumors are histologically observed spindle cell fascicles with densely cellularized areas alternating with hypocellular areas. The neoplastic cells are spindle-shaped, atypical, with irregular contours, wavy, curved or comma nucleus and indistinct and poorly stained cytoplasm. The presence of numerous mitosis figures can be observed (Figure 1).

In MTPNS neoplastic cells there was a positive cytoplasmatic labeling. Two (50%) cases showed intense marking (score 4, > 80% positive cells) (Figure 2). In only one case there was a predominantly nuclear labeling.

TrkB was observed in all cases with cytoplasmic labelling. However, in some areas the malignant cells lost the positivity forming clusters of negative cells. Two cases (50%) showed labeling score 3 (>50% of positive cells) (Figure 3).

P75NTR labelling was observed in 3 (75%) cases with score 2 (<50% of positive cells) (Figure 4). Loss of labelling in malignant cell was observed revealing clusters of negative cells.

Comparative analysis of BDNF, TrkB and p75NTR among peripheral benign and malignant neural lesions

The analysis of BDNF demonstrated high percentage of positive cells in TN, GCT and SC. A decrease of BDNF labelling was observed in NF and MPNST (Figure 2). Comparing TrkB labeling among all neural lesions a significant decrease was observed between GCT and TN, NF, SC and MPNST ($p < 0.0001$). In addition, TN showed less percentage of positive cell compared to SC ($p = 0.0017$) (Figure 3). Regarding P75NTR, the percentage of positive cell was significantly reduced in MPNST compared GCT ($p = 0.009$), NF ($p = 0.0138$) and SC ($p = 0.0069$). Also, a difference between TN and GCT ($p = 0.007$) were observed (Figure 4).

DISCUSSION

In this study we compared BDNF immunostaining and its major receptors (TRK-B and p75 NTR) in benign and malignant peripheral neural lesions. Our results showed that in general, BDNF, TrkB and p75NTR contributed for development of all lesions originated in peripheral nerves. In addition, immunolabeling of TrkB and p75NTR was decreased in malignant tumors.

Neurotrophins such as BDNF are regulators of brain plasticity as they perform functions such as neuronal growth and differentiation. In the peripheral nervous system, BDNF is involved in neuronal tissue differentiation, regeneration and in the maintenance of neuronal survival⁹. In addition, BDNF and NT-3 are involved in the myelination of the axons in normal nerves differentiation. In the

present study we observed high labelling of BDNF in peripheral neural reactive lesion as TN, in benign tumors as GCT, NF, SC and in MPNST.

An increase of BDNF was expected for TN, based in the fact that this neurotrophin is involved in the regeneration of sensory and motor neurons, promoting axonal regeneration after damage, mediating a neurotrophin signaling pathway²⁵. Previous research conducted with SC has shown a higher expression of BDNF when compared to normal peripheral nerves, demonstrating a strong involvement of this neurotrophin in the pathogenesis of this tumor²⁶. Our results demonstrated that NF had high score of BDNF labeling (more than 50% of positive cells, score ± 3) however, comparing to the other lesions it was considered less labeled. If we establish a parallel with other markers of neural origin such as S100, NF presents less labeling when compared to other tumors of the same origin. It could be explained by the fact that NF have a mixed composition of Schwann cells, perineural cells and fibroblasts^{3,27}. In the same way, MPNST also demonstrated a decrease in BDNF staining but here, it could be related to the acquisition of malignant phenotype and cell derangement. Similar to our findings, Bonetti et al (1997) observed a decrease in other neurotrophins (NGF and NT-3) in MPNST when compared to schwannoma probably due to reduced capability to produce neurotrophins or to become independent from the control of growth factors²⁹.

BDNF binds with high affinity to TrkB and in lower affinity to the p75 receptor. Activation of these two receptors is responsible for BDNF's known functions¹⁴. The BDNF/TrkB axis activates neurogenesis, gliogenesis, outgrowth neuritis and enhanced neuronal survival and would also be related to tumor pathogenesis³⁰. TrkB belongs to the family of tyrosine receptor kinases (RTKs) and it is believed that some RTKs may act as oncogenes³¹. Our findings showed that TrkB was strongly present in TN, NF, SC and MPNST and slightly expressed in GCT. Its high expression confirms what we observed for BDNF and how its binding has high affinity. We believe that its roles are related to the functions previously discussed for this neurotrophins in peripheral neural lesions. Studies involving the role of TrkB receptors in peripheral neural tumors are scarce. It has been more reported its role in neural regeneration after injuries. After nerve damage, an increase in BDNF/TrkB axis in motoneurons is observed being

important for the initial extent of conus growth at the injury site³². Animal model studies reinforce this role by showing that the elimination of TrkB in neurons impaired axon regeneration after nerve transection. Besides that, the use small-molecule TrkB agonists promoted regeneration of cut axon in injured peripheral nerves in BDNF Knockout Mice³³. CGT is comped by rich cytoplasmic lysosome content cells that are S100 and CD68 positive³⁴. Here, we demonstrated that this tumor cells presented low labelling of TrkB and this aspect should be more investigated.

P75NTR is another receptor for BDNF but as previously explained it has low affinity. Usually it is expressed at the beginning of axonal development and myelinization but progressively decreases during the nerve maturation process^{29, 35}. In mature normal nerves the immunohistochemical staining for p75 was confined to the perineurium with negative Schwann cells²⁹. Our results demonstrated high labelling of P75NTR in TN, GCT, NF and SC demonstrating the reactivation of this receptor in the neural benign lesions. Although the MPNST had presented reactivity in all cases in some areas a loss of P75NTR labelling was detected leading to lower score of positive cells. This result is in accordance with Fanburg-Smith et al. (2001) that also showed higher percentage of P75NTR in benign neural tumors. Bonetti et al (1997) demonstrated strong expression of the P75NTR in benign SC and down-regulation in MPNST. This reduction should be related to the modification in cellular components with the malignant transformation^{29,35}.

Therefore, our results showed the participation of BDNF and neurotrophin receptors (TrkB and P75NTR) in head and neck peripheral neural lesions. MPNST exhibited differences as reduction of BDNF and P75NTR indicating that the down-regulation of this axis could be associated to acquisition of malignant phenotype. The role of neurotrophins in benign and malignant neural lesions should be more investigated.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to Flavia Rejane Giusti for her technical support and the Biostatistics Unit of the Postgraduate Research Group of the Porto Alegre University Hospital for assisting the statistical analysis. The authors are also

grateful to the CAPES (88887.31959/2019) for student scholarship. This study was funded by the Postgraduate Research Group of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG/FIPE: 2019–0185). Felipe Paiva Fonseca, Ricardo Alves Mesquita, Pablo Agustin Vargas, Jean Nunes dos Santos and Manoela Domingues Martins are research fellows funded by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

Conflict of interest - The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Alotaibi O, Al Sheddi M. Neurogenic tumors and tumor-like lesions of the oral and maxillofacial region: A clinicopathological study. *Saudi Dent J.* 2016;28(2):76-79. doi:10.1016/j.sdentj.2015.12.001
2. Mindell ER. *Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors. 7th Ed.*; 2019. doi:10.2106/00004623-200111000-00036
3. Chrysomali E, Papanicolaou SI, Dekker NP, Regezi JA. Benign neural tumors of the oral cavity: A comparative immunohistochemical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;84(4):381-390. doi:10.1016/S1079-2104(97)90036-6
4. Alotaiby FM, Fitzpatrick S, Upadhyaya J, Islam MN, Cohen D, Bhattacharyya I. Demographic, Clinical and Histopathological Features of Oral Neural Neoplasms: A Retrospective Study. *Head Neck Pathol.* 2018;0(0):1-7. doi:10.1007/s12105-018-0943-1
5. Salla JT, Johann ACBR, Garcia BG, Aguiar MCF, Mesquita RA. Retrospective analysis of oral peripheral nerve sheath tumors in Brazilians. 2009;23(1):43-48.
6. Martinez AP, Fritchie KJ. Update on Peripheral Nerve Sheath Tumors. *Surg Pathol Clin.* 2019;12(1):1-19. doi:10.1016/j.path.2018.10.001
7. Kuwabara H, Kawata R, Ayani Y, Asahi M, Terada T, Moriwaki K. TRKB tyrosine kinase receptor is a potential therapeutic target for poorly differentiated oral squamous cell carcinoma. *Oncotarget.* 2018;9(38):25225-25243. doi:10.18632/oncotarget.25396
8. Nykjaer A, Willnow TE, Petersen CM. p75NTR - Live or let die. *Curr Opin Neurobiol.* 2005;15(1):49-57. doi:10.1016/j.conb.2005.01.004
9. Sasi M, Vignoli B, Canossa M, Blum R. Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. *Pflugers Arch.* 2017;469(5-6):593-610. doi:10.1007/s00424-017-1964-4
10. Notaras M, van den Buuse M. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF): Novel Insights into Regulation and Genetic Variation. *Neuroscientist.* 2018. doi:10.1177/1073858418810142
11. Thiele CJ, Li Z, McKee AE. On Trk - the TrkB signal transduction pathway is an increasingly important target in cancer biology. *Clin Cancer Res.* 2009;15(19):5962-5967. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-0651
12. de Moraes JK, Wagner VP, Fonseca FP, et al. Uncovering the role of brain-derived

- neurotrophic factor/tyrosine kinase receptor B signaling in head and neck malignancies. *J Oral Pathol Med*. 2018;47(3):221-227. doi:10.1111/jop.12611
13. Moraes JK de, Wagner VP, Fonseca FP, et al. Activation of BDNF/TrkB/Akt pathway is associated with aggressiveness and unfavorable survival in oral squamous cell carcinoma. *Oral Dis*. 2019;(August):1-12. doi:10.1111/odi.13190
 14. Kowiański P, Lietzau G, Czuba E, Waśkow M, Steliga A, Moryś J. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. *Cell Mol Neurobiol*. 2018;38(3):579-593. doi:10.1007/s10571-017-0510-4
 15. Bronzetti E, Artico M, Forte F, et al. A possible role of BDNF in prostate cancer detection. *Oncol Rep*. 2008;19(4):969-974. doi:10.3892/or.19.4.969
 16. Shan C, Wei J, Hou R, et al. Schwann cells promote EMT and the Schwann-like differentiation of salivary adenoid cystic carcinoma cells via the BDNF/TrkB Axis. *Oncol Rep*. 2016;35(1):427-435. doi:10.3892/or.2015.4366
 17. Sølrand TM, Brusevold IJ, Koppang HS, Schenck K, Bryne M. Nerve growth factor receptor (p75NTR) and pattern of invasion predict poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Histopathology*. 2008;53(1):62-72. doi:10.1111/j.1365-2559.2008.03063.x
 18. Meeker R, Williams K. Dynamic Nature of the p75 Neurotrophin Receptor in Response to Injury and Disease. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2014;9(5):615-628. doi:10.1007/s11481-014-9566-9
 19. Krygier S, Djakiew D. Neurotrophin receptor p75NTR suppresses growth and nerve growth factor-mediated metastasis of human prostate cancer cells. *Int J Cancer*. 2002;98(1):1-7. doi:10.1002/ijc.10160
 20. Ragunathan YT, Madhavan NR, Mohan SP, Kumar SK. Immunohistochemical detection of p75 neurotrophin receptor (p75-NTR) in follicular and plexiform ameloblastoma. *J Clin Diagnostic Res*. 2016;10(8):ZC63-ZC66. doi:10.7860/JCDR/2016/17782.8280
 21. Toyoshima T, Kawano S, Kiyosue T, et al. Immunohistochemical location of the p75 neurotrophin receptor (p75NTR) in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Int J Clin Oncol*. 2011;18(1):154-163. doi:10.1007/s10147-011-0358-4
 22. De La Cruz-Morcillo MA, Berger J, Sánchez-Prieto R, et al. p75 neurotrophin receptor and pro-BDNF promote cell survival and migration in clear cell renal cell carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(23):34480-34497. doi:10.18632/oncotarget.8911
 23. Mohammadi A, Amooeian VG, Rashidi E. Dysfunction in Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling Pathway and Susceptibility to Schizophrenia, Parkinson's and Alzheimer's Diseases. *Curr Gene Ther*. 2018;18:45-63. doi:10.2174/1566523218666180302163029
 24. Numakawa T, Odaka H, Adachi N. Actions of brain-derived neurotrophin factor in the neurogenesis and neuronal function, and its involvement in the pathophysiology of brain diseases. *Int J Mol Sci*. 2018;19(11). doi:10.3390/ijms19113650
 25. Johnson EO, Charchanti A, Soucacos PN. Nerve repair: Experimental and clinical evaluation of neurotrophic factors in peripheral nerve regeneration. *Injury*. 2008;39(3 SUPPL.):37-42. doi:10.1016/j.injury.2008.06.015
 26. Kramer F, Stöver T, Warnecke A, Diensthuber M, Lenarz T, Wissel K. BDNF mRNA expression is significantly upregulated in vestibular schwannomas and correlates with proliferative activity. *J Neurooncol*. 2010;98(1):31-39. doi:10.1007/s11060-009-0063-6
 27. Campos M, Fontes A, Marocchio LS, Nunes FD, De Sousa SCOM. Clinicopathologic and immunohistochemical features of oral neurofibroma. *Acta Odontol Scand*. 2012;70(6):577-582. doi:10.3109/00016357.2011.640286
 28. Ghiluși M, Pleșea IE, Comănescu M, Enache SD, Bogdan F. Preliminary study regarding the utility of certain immunohistochemical markers in diagnosing neurofibromas and

- schwannomas. *Rom J Morphol Embryol.* 2008;50(2):195-202.
29. Bonetti B, Panzeri L, Carner M, Zamboni G, Rizzuto N, Moretto G. Human neoplastic Schwann cells: Changes in the expression of neurotrophins and their low-affinity receptor p75. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 1997;23(5):380-386. doi:10.1111/j.1365-2990.1997.tb01312.x
 30. Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: Roles in Neuronal Development and Function. *Annu Rev Neurosci.* 2001;24(1):677-736. doi:10.1146/annurev.neuro.24.1.677
 31. Farina AR, Cappabianca L, Ruggeri P, et al. The oncogenic neurotrophin receptor tropomyosin-related kinase variant, TrkAIII. *J Exp Clin Cancer Res.* 2018;37(1):1-17. doi:10.1186/s13046-018-0786-3
 32. McGregor CE, English AW. The role of BDNF in peripheral nerve regeneration: Activity-dependent treatments and Val66Met. *Front Cell Neurosci.* 2019;12(January). doi:10.3389/fncel.2018.00522
 33. English AW, Liu K, Nicolini JM, Mulligan AM, Ye K. Small-molecule trkB agonists promote axon regeneration in cut peripheral nerves. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(40):16217-16222. doi:10.1073/pnas.1303646110
 34. Le BH, Boyer PJ, Lewis JE, Kapadia SB. Granular cell tumor: Immunohistochemical assessment of inhibin- α , protein gene product 9.5, S100 protein, CD68, and Ki-67 proliferative index with clinical correlation. *Arch Pathol Lab Med.* 2004. doi:10.1043/1543-2165(2004)1282.0.CO;2
 35. Fanburg-Smith JC, Miettinen M. Low-affinity nerve growth factor receptor (p75) in dermatofibrosarcoma protuberans and other nonneural tumors: A study of 1,150 tumors and fetal and adult normal tissues. *Hum Pathol.* 2001;32(9):976-983. doi:10.1053/hupa.2001.27602

Table 1 - Clinical-demographic characteristics of benign and malignant peripheral neural tumors included in the study and scores of the positive cells for BDNF, TrkB and P75NTR in each group of lesions.

	TN n=19	GCT n=20	NF n=16	SC n=20	MPNST n=4
Gender, n (%)					
Male	14 (73.7%)	2 (10%)	9 (56.3%)	8 (40.0%)	3 (75.0%)
Female	5 (26.3%)	18 (90%)	7 (43.7%)	12 (60.0%)	1 (25.0%)
Age, In Years					
Mean ± SD	34.11 ± 21.86	43 ± 13.24	38.80 ± 16.19	38.74 ± 21.71	39.5 ± 25.15
Range	12 – 75	20 – 64	11 – 72	11 – 77	12 – 73
Site, n (%)					
Tongue	6 (31.6%)	16 (80.0%)	4 (25.0%)	7 (35.0%)	–
Lip	7 (36.8%)	1 (5.0%)	2 (12.5%)	8 (40.0%)	1 (25.0%)
Buccal mucosa	3 (15.8%)	1 (5.0%)	4 (25.0%)	1 (5.0%)	–
Gingiva	2 (10.5%)	–	2 (12.5%)	1 (5.0%)	–
Palate	1 (5.3%)	2 (10.0%)	4 (25.0%)	2 (10.0%)	–
Floor of the mouth	–	–	–	–	–
Jaw	–	–	–	1 (5.0%)	2 (50.0%)
Parotid	–	–	–	–	1 (25.0%)
BDNF n (%)					
score 0	–	–	–	–	–
score 1	–	–	–	–	–
score 2	2 (10.5%)	–	4 (25.0%)	2 (10.0%)	1 (25.0%)
score 3	2 (10.5%)	–	7 (43.7%)	4 (20.0%)	1 (25.0%)
score 4	15 (79.0%)	20 (100%)	5 (31.3%)	14 (70.0%)	2 (50.0%)
TrkB n (%)					
score 0	–	19 (95.0%)	–	–	–
score 1	3 (15.9%)	–	–	–	–
score 2	4 (21.0%)	1 (5.0%)	5 (31.3%)	–	1 (25.0%)
score 3	4 (21.0%)	–	3 (18.7%)	2 (10.0%)	2 (50.0%)
score 4	8 (42.1%)	–	8 (50.0%)	18 (90.0%)	1 (25.0%)
P75NTR n (%)					
score 0	–	2 (10.0%)	–	1 (5.0%)	1 (25.0%)
score 1	5 (26.3%)	–	1 (6.3%)	1 (5.0%)	–
score 2	2 (10.6%)	–	3 (18.7%)	–	3 (75.0%)
score 3	7 (36.8%)	–	2 (12.5%)	9 (45.0%)	–
score 4	5 (26.3%)	18 (90.0%)	10 (62.5%)	9 (45.0%)	–

Figure 1 - Representative image of hematoxylin and eosin stained histological sections on NT, GCT, NF, SC and MPNST.

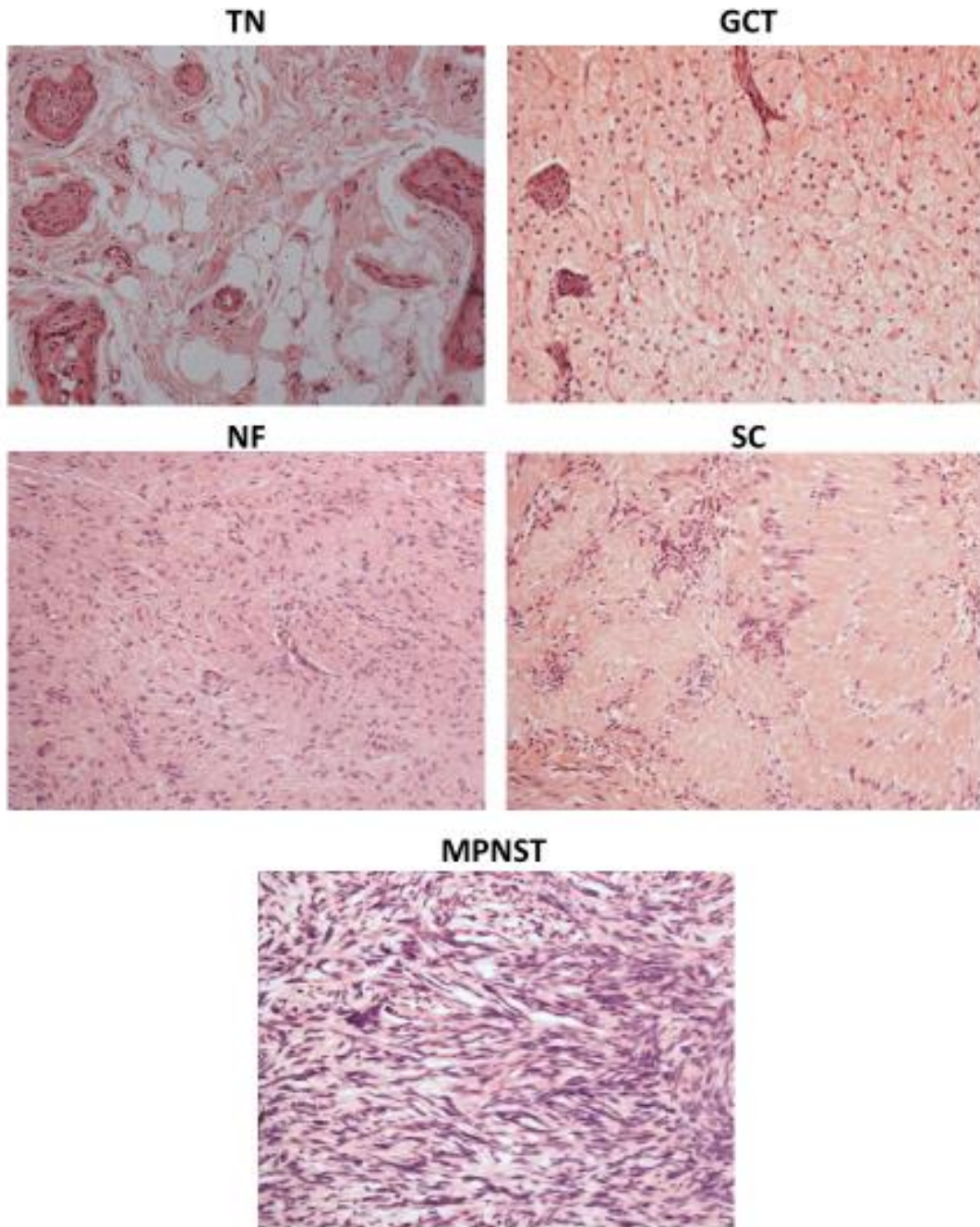


Figure 2 - Representative images of immunohistochemical labeling of BDNF in TN, GCT, NF, SC and MPNST. The PP scores for each injury group are shown in the graph. Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post-hoc test adjusted for Bonferroni error correction. Different lowercase letters denote significant difference ($p \leq 0.05$).

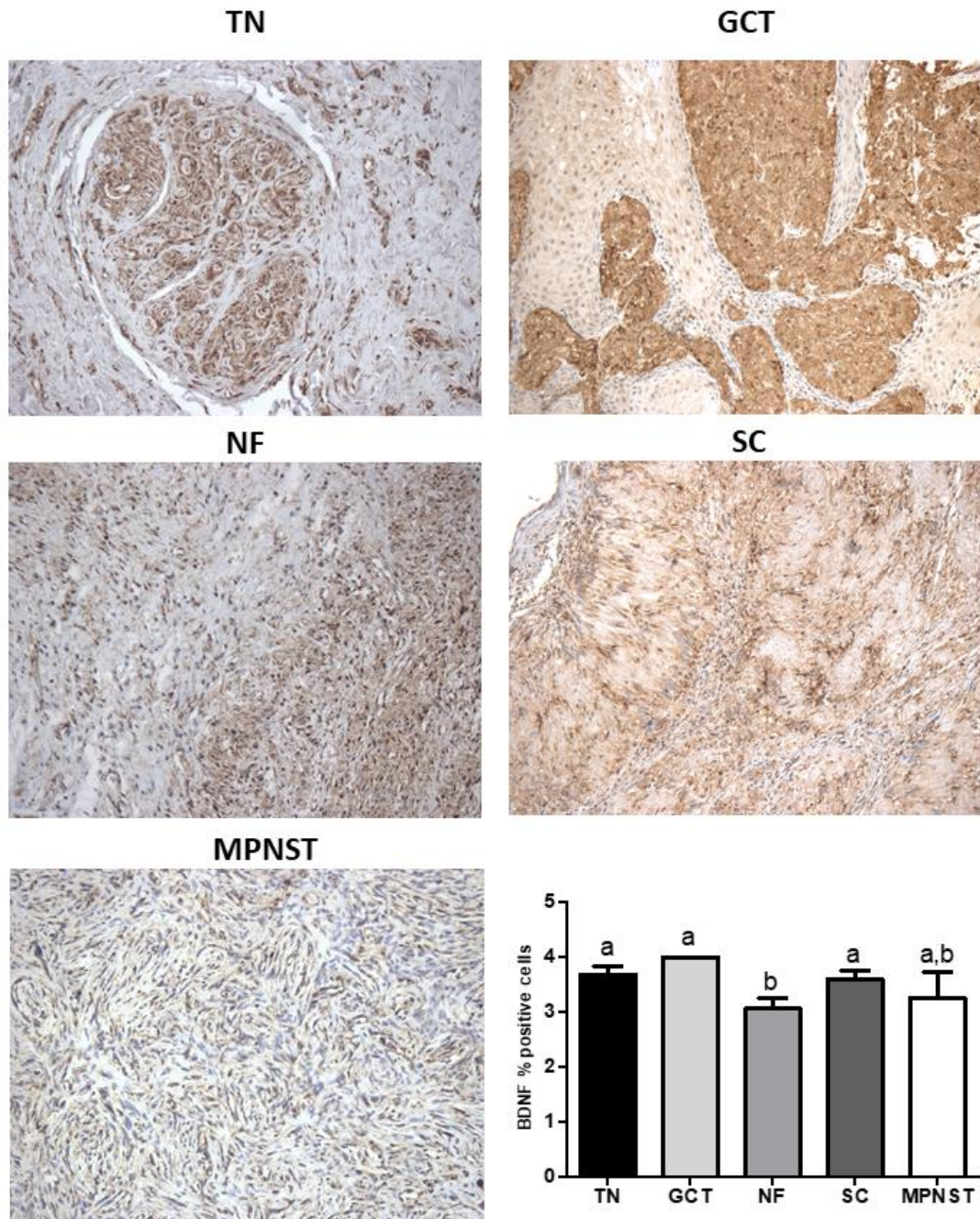


Figure 3 - Representative images of immunohistochemical labeling of TrkB in TN, GCT, NF, SC and MPNST. The PP scores for each injury group are shown in the graph. Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post-hoc test adjusted for Bonferroni error correction. Different lowercase letters denote significant difference ($p \leq 0.05$).

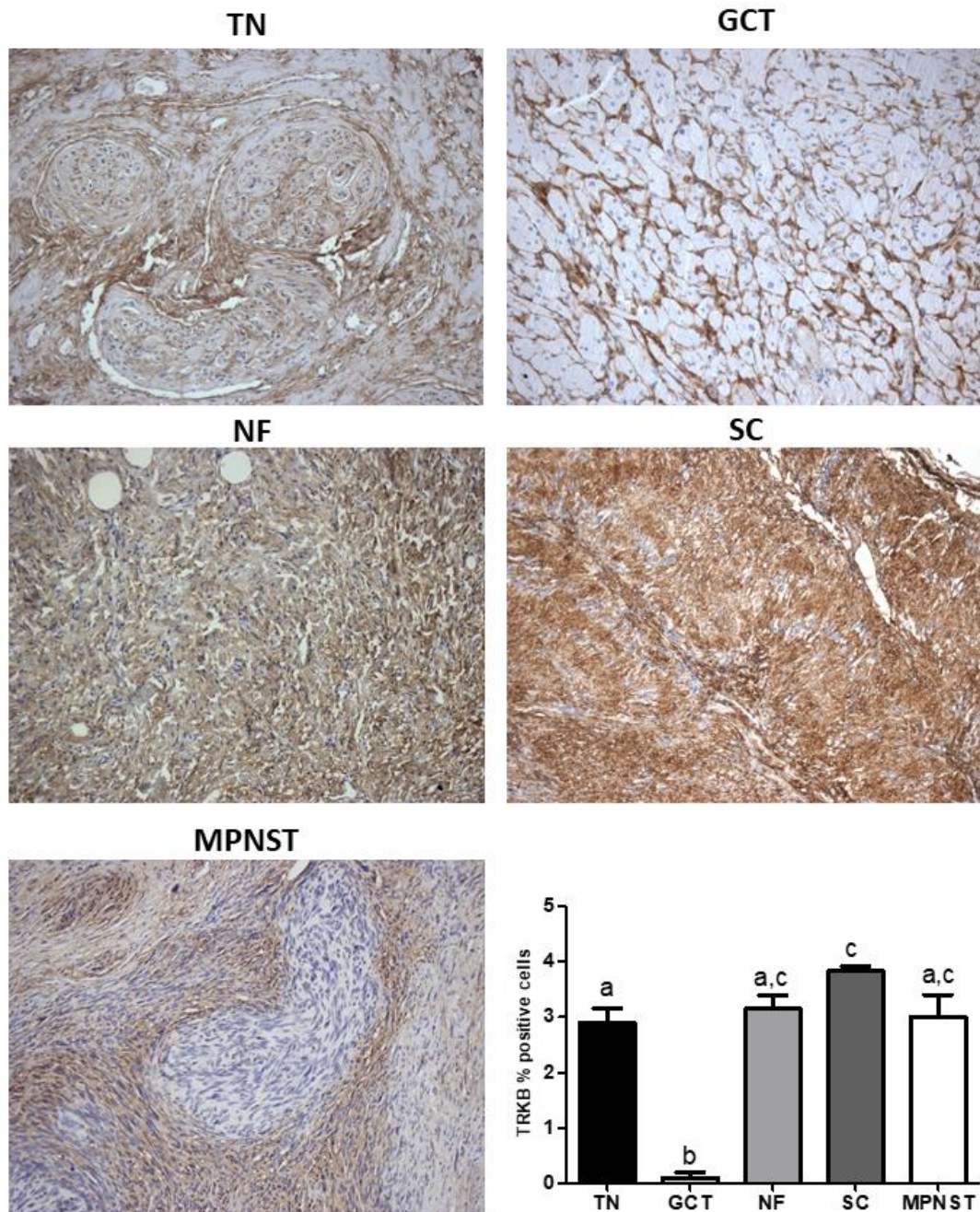
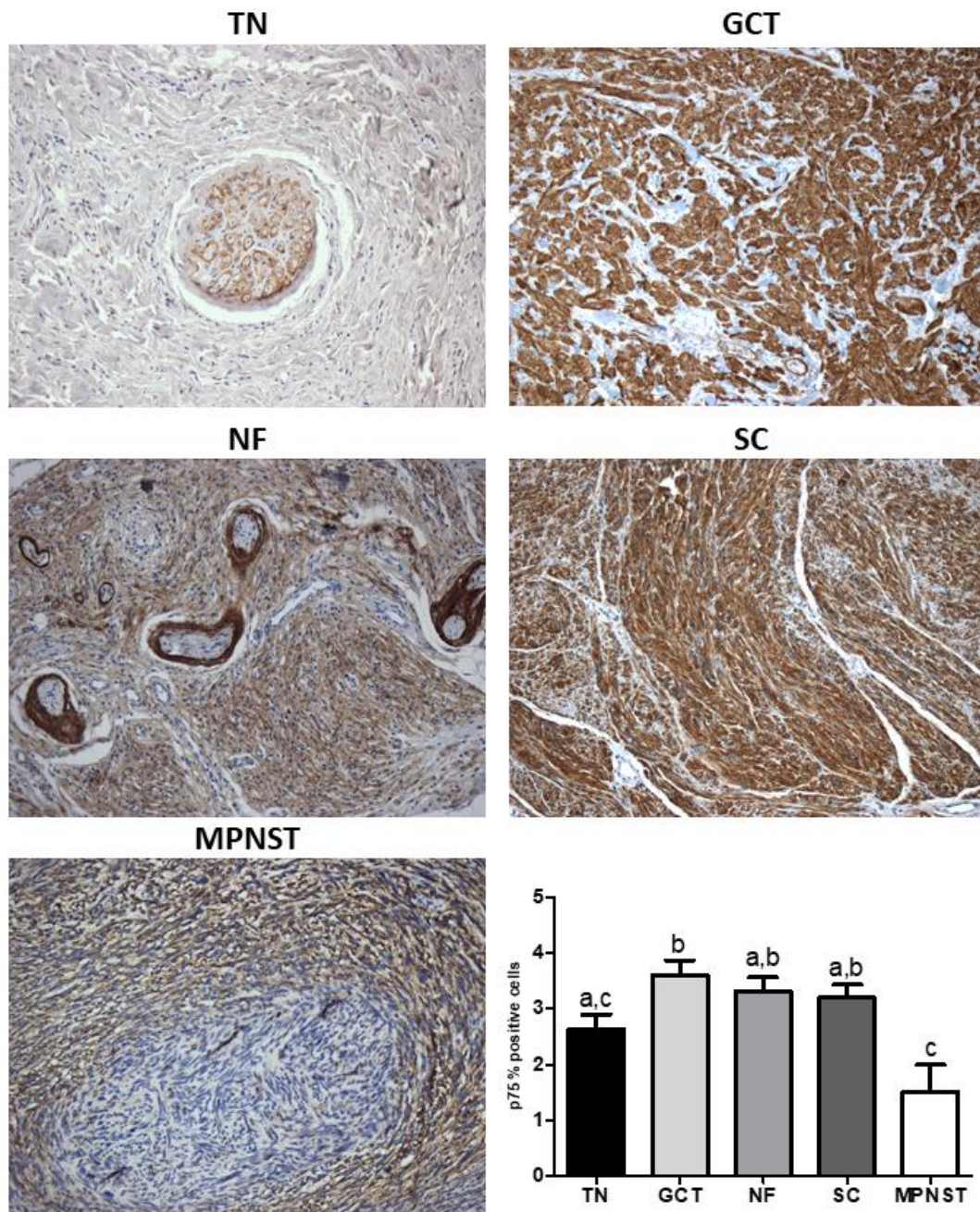


Figure 4 - Representative images of immunohistochemical labeling of P75NTR in TN, GCT, NF, SC and MPNST. The PP scores for each injury group are shown in the graph. Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post-hoc test adjusted for Bonferroni error correction. Different lowercase letters denote significant difference ($p \leq 0.05$).



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As lesões neurais periféricas podem acometer cabeça e pescoço, ocorrendo especialmente em cavidade oral. Dentre elas, as lesões benignas mais prevalentes foram avaliadas nesse estudo. O Tumor Maligno de Bainha de Nervo Periférico é uma neoplasia maligna rara, e por esse motivo torna-se difícil a realização de trabalhos com uma amostra maior.

As neurotrofinas vem sendo extensivamente estudadas. Atualmente suas funções fisiológicas estão bem estabelecidas, e sabe-se que essas proteínas medeiam importantes funções celulares que regulam a plasticidade neural. No sistema nervoso periférico, o BDNF e seus receptores estão envolvidos na diferenciação, regeneração e manutenção da sobrevivência neuronal e na mielinização durante a diferenciação dos nervos.

O BDNF, e seus receptores TrkB e p75NTR vem sendo estudados em inúmeras doenças, dentre elas diversas neoplasias malignas. Porém, mesmo tendo suas funções conhecidas no tecido neural, são poucos os estudos que avaliam esses eixos em lesões neurais periféricas em cabeça e pescoço.

Nesse estudo avaliamos lesões de origem neural com etiologia traumática e neoplásica, de comportamento benigno e maligno. Observamos uma importante imunomarcagem dos anticorpos BDNF, TrkB e p75NTR, mostrando a participação dessa proteína e de seus receptores no neuroma traumático, tumor de células granulares, neurofibroma, schwannoma e tumor maligno de bainha de nervo periférico.

Curiosamente, não houve expressão de TrkB em tumores de células granulares, em contraparte o eixo BDNF-p75NTR mostrou-se ativo nessas lesões. O Tumor Maligno de Bainha de Nervo Periférico mostrou uma imunomarcagem diminuída para esse eixo, sugerindo uma diminuição na expressão de BDNF e p75NTR quando lesões periféricas assumem um fenótipo maligno.

Mais estudos são necessários, com diferentes metodologias, para definir as funções que estão sendo mediadas por essas vias, bem como sua influência na patogênese e comportamento biológico dessas lesões.

REFERÊNCIAS

- ABRIKOSSOFF, A. Über Myome, ausgehend von der quergestreiften willkiirlichen Muskulatur. **Virchows Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medizin**, v. 260, n. 1, p. 215–233, 1925.
- Disponível em:
<<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02078314>%0Apapers3://publication/doi/10.1007/BF02078314>
- ABU-EID, R.; LANDINI, G. Morphometrical differences between pseudo-epitheliomatous hyperplasia in granular cell tumours and squamous cell carcinomas. **Histopathology**, v. 48, n. 4, p. 407–416, 2006.
- ALOTAIBI, Ohoud; AL SHEDDI, Manal. Neurogenic tumors and tumor-like lesions of the oral and maxillofacial region: A clinicopathological study. **Saudi Dental Journal**, v. 28, n. 2, p. 76–79, 2016.
- ALOTAIBY, Faraj M. et al. Demographic, Clinical and Histopathological Features of Oral Neural Neoplasms: A Retrospective Study. **Head and Neck Pathology**, v. 0, n. 0, p. 1–7, 2018.
- ANGIERO, Francesca et al. Neurofibromas of the Oral Cavity: Clinical Aspects, Treatment, and Outcome. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 34, n. 2, p. 56–60, 2016.
- ANOLIK, Rachel B.; AUNG, Phyu P.; BHAWAN, Jag. P75 neurotrophin receptor expression in squamous cell carcinoma. **American Journal of Dermatopathology**, v. 37, n. 2, p. 160–161, 2015.
- ANTÔNIO, João Roberto; GOLONI-BERTOLLO, Eny Maria; TRÍDICO, Livia Arroyo. Neurofibromatose: Histórico cronológico e aspectos atuais. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 88, n. 3, p. 329–343, 2013.
- ARSHI, Armin; TAJUDEEN, Bobby A.; ST. JOHN, Maie. Malignant peripheral nerve sheath tumors of the head and neck: Demographics, clinicopathologic features, management, and treatment outcomes. **Oral Oncology**, v. 51, n. 12, p. 1088–1094, 2015.
- BROLY, Elyette et al. Solitary neurofibroma of the floor of the mouth: rare

localization at lingual nerve with intraoral excision. **BMC Oral Health**, v. 19, n. 1, p. 1–8, 2019.

BRONZETTI, Elena et al. A possible role of BDNF in prostate cancer detection. **Oncology Reports**, v. 19, n. 4, p. 969–974, 2008.

BUDIÑO CARBONERO, Silvia et al. Tumor de células granulosas: Revisión de los parámetros que determinan su posible malignidad. **Medicina Oral**, v. 8, n. 4, p. 294–298, 2003.

BUTLER, Randall T.; PATEL, Rajiv M.; MCHUGH, Jonathan B. Head and Neck Schwannomas: 20-Year Experience of a Single Institution Excluding Cutaneous and Acoustic Sites. **Head and Neck Pathology**, v. 10, n. 3, p. 286–291, 2016.

CHEN, Wenyi et al. Traumatic neuroma in mastectomy scar: Two case reports and review of the literature. **Medicine**, v. 98, n. 15, p. e15142, 2019.

CHEN, Y. et al. Multiple roles of the p75 neurotrophin receptor in the nervous system (Journal of International Medical Research (2009) 37, (281-288)). **Journal of International Medical Research**, v. 37, n. 3, p. 974, 2009.

CHRYSOMALI, Evanthia et al. Benign neural tumors of the oral cavity: A comparative immunohistochemical study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 84, n. 4, p. 381–390, 1997.

COLREAVY, M. P. et al. Head and neck schwannomas – a 10 year review. **The Journal of Laryngology & Otology**, v. 114, n. 2, p. 119–124, 2000.

DE LA CRUZ-MORCILLO, Miguel A. et al. p75 neurotrophin receptor and pro-BDNF promote cell survival and migration in clear cell renal cell carcinoma. **Oncotarget**, v. 7, n. 23, p. 34480–34497, 2016.

DE MORAES, Juliana Kern et al. Uncovering the role of brain-derived neurotrophic factor/tyrosine kinase receptor B signaling in head and neck malignancies. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 47, n. 3, p. 221–227, 2018.

DEPPRICH, Rita et al. Solitary submucous neurofibroma of the mandible: Review of the literature and report of a rare case. **Head and Face Medicine**, v. 5, n. 1, p. 1–4, 2009.

FOLTÁN, René et al. Mechanism of traumatic neuroma development. **Medical Hypotheses**, v. 71, n. 4, p. 572–576, 2008.

GARCÍA, Ignacio Arribas et al. Traumatic neuroma of the inferior alveolar nerve: A case report. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 13, n. 3, p. 186–188, 2008.

GENTRY, Jennifer J.; BARKER, Philip A.; CARTER, Bruce D. The p75 neurotrophin receptor: Multiple interactors and numerous functions. **Progress in Brain Research**, v. 146, p. 25–39, 2004.

GUTMANN, D. H.; WOOD, D. L.; COLLINS, F. S. Identification of the neurofibromatosis type 1 gene product. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 88, n. 21, p. 9658–9662, 1991.

HANDSCHEL, Jörg et al. Intraoral schwannoma: Review of the literature and presentation of a rare case. **Cranio - Journal of Craniomandibular Practice**, v. 30, n. 2, p. 150–153, 2012.

HIRBE, Angela C.; GUTMANN, David H. Neurofibromatosis type 1: A multidisciplinary approach to care. **The Lancet Neurology**, v. 13, n. 8, p. 834–843, 2014.

JANARDHANAN, Mahija; RAKESH, S.; KUMAR, R. B. V. Intraoral presentation of multiple malignant peripheral nerve sheath tumors associated with neurofibromatosis-1. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 15, n. 1, p. 46–51, 2011.

JHAM, Bruno C. et al. Traumatic neuroma of the mandible: A case report with spontaneous remission. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 6, n. 3, 2014.

KHWAJA, Fatima; DJAKIEW, Daniel. Inhibition of cell-cycle effectors of proliferation in bladder tumor epithelial cells by the p75NTR tumor suppressor. **Molecular Carcinogenesis**, v. 36, n. 3, p. 153–160, 2003.

KNOLL, Renata M. et al. Vestibular Traumatic Neuroma Following Temporal Bone Fracture. **Otology & neurotology : official publication of the American**

Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology, v. 40, n. 1, p. e62–e65, 2019.

KOWIAŃSKI, Przemysław et al. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 38, n. 3, p. 579–593, 2018.

KRESAK, Jesse; WALSH, Meggen. Neurofibromatosis: A Review of NF1, NF2, and Schwannomatosis. **Journal of Pediatric Genetics**, v. 05, n. 02, p. 098–104, 2016.

KRYGIER, Scott; DJAKIEW, Daniel. Neurotrophin receptor p75NTR suppresses growth and nerve growth factor-mediated metastasis of human prostate cancer cells. **International Journal of Cancer**, v. 98, n. 1, p. 1–7, 2002.

KUWABARA, Hiroko et al. TRKB tyrosine kinase receptor is a potential therapeutic target for poorly differentiated oral squamous cell carcinoma. **Oncotarget**, v. 9, n. 38, p. 25225–25243, 2018.

MAHALLE, Aditi et al. Solitary Non Syndromic Oral Plexiform Neurofibroma: a Case Report and Review of Literature. **Journal of dentistry (Shiraz, Iran)**, v. 17, n. 3 Suppl, p. 293–296, 2016.

MARTINEZ, Anthony P.; FRITCHIE, Karen J. Update on Peripheral Nerve Sheath Tumors. **Surgical Pathology Clinics**, v. 12, n. 1, p. 1–19, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.path.2018.10.001>>

MEEKER, Rick; WILLIAMS, Kimberly. Dynamic Nature of the p75 Neurotrophin Receptor in Response to Injury and Disease. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 9, n. 5, p. 615–628, 2014.

MELDOLESI, Jacopo. Neurotrophin trk receptors: New targets for cancer therapy. In: **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology**.

MINDELL, Eugene R. **Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors. 4th ed.**

MORAES, Juliana Kern De et al. Activation of BDNF/TrkB/Akt pathway is associated with aggressiveness and unfavorable survival in oral squamous cell carcinoma. **Oral Diseases**, n. August, p. 1–12, 2019.

MUSHA, Atsushi; OGAWA, Masar; YOKOO, Satoshi. Granular cell tumors of the tongue: Fibroma or schwannoma. **Head and Face Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1–7, 2018.

NAKAGAWARA, Akira. **Trk receptor tyrosine kinases: A bridge between cancer and neural development** *Cancer Letters*, 2001.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE. Neurofibromatosis - Conference Statement. In: ARCHIVES OF NEUROLOGY 1988, **Anais**. Disponível em: <<http://archneur.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archneur.1988.00520290115023>>

NEVILLE, Brad W. et al. **Patologia Oral e Maxilofacial**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

NOTARAS, Michael; VAN DEN BUUSE, Maarten. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF): Novel Insights into Regulation and Genetic Variation. **Neuroscientist**, 2018.

OH, Kyu Young et al. Atypical granular cell tumor in the maxilla: The first report of primary intraosseous granular cell tumor. **Head and Neck**, [s. l.], 2016.

OLIVIER, James B. Malignant peripheral nerve sheath tumour in the submandibular space. **Annals of the Royal College of Surgeons of England**, v. 99, n. 5, p. e137–e138, 2017.

PATEL, Shilpa et al. Malignant peripheral nerve sheath tumour (MPNST) of mandible: Solving the perplexity. **BMJ Case Reports**, v. 2015, p. 1–5, 2015.

PEKMEZCI, Melike et al. Morphologic and immunohistochemical features of malignant peripheral nerve sheath tumors and cellular schwannomas. **Modern Pathology**, v. 28, n. 2, p. 187–200, 2015.

PLOTKIN, Scott R.; WICK, Antje. Neurofibromatosis and Schwannomatosis. 2018.

RAGUNATHAN, Yoithappabhunath Thukanayakanpalayam et al. Immunohistochemical detection of p75 neurotrophin receptor (p75-NTR) in follicular and plexiform ameloblastoma. **Journal of Clinical and Diagnostic**

Research, v. 10, n. 8, p. ZC63–ZC66, 2016.

RODRIGUEZ, Fausto J. et al. Pathology of peripheral nerve sheath tumors: Diagnostic overview and update on selected diagnostic problems. **Acta Neuropathologica**, v. 123, n. 3, p. 295–319, 2012.

SALLA, Juliana Tito et al. Retrospective analysis of oral peripheral nerve sheath tumors in Brazilians. v. 23, n. 1, p. 43–48, 2009.

SASI, Manju et al. Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. **Pflugers Archiv : European journal of physiology**, v. 469, n. 5–6, p. 593–610, 2017.

SAYAN, Nejat Bora; UCOK, Cahit. Asymptomatic traumatic neuroma after mandibular sagittal split osteotomy: A case report. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 60, n. 1, p. 111–112, 2002.

SHAN, Chun et al. Schwann cells promote EMT and the Schwann-like differentiation of salivary adenoid cystic carcinoma cells via the BDNF/TrkB Axis. **Oncology Reports**, v. 35, n. 1, p. 427–435, 2016.

SØLAND, T. M. et al. Nerve growth factor receptor (p75NTR) and pattern of invasion predict poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. **Histopathology**, v. 53, n. 1, p. 62–72, 2008.

SURAMYA, S. et al. Solitary plexiform neurofibroma of the gingiva: Unique presentation in the oral cavity. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 7, n. 9, p. 2090–2092, 2013.

THIELE, Carol J.; LI, Zhijie; MCKEE, Amy E. On Trk - the TrkB signal transduction pathway is an increasingly important target in cancer biology. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 19, p. 5962–5967, 2009.

TOYOSHIMA, Takeshi et al. Immunohistochemical location of the p75 neurotrophin receptor (p75NTR) in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. **International Journal of Clinical Oncology**, v. 18, n. 1, p. 154–163, 2011.

VAN DE LOO, Sander et al. Granular cell tumor of the oral cavity; A case series including a case of metachronous occurrence in the tongue and the lung.

Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal, v. 20, n. 1, p. e30–e33, 2015.

VISNAPUU, Vivian et al. Craniofacial and oral alterations in patients with Neurofibromatosis 1. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 13, n. 1, p. 1–9, 2018.

VLOT, Margot A. et al. Symptomatic Neuroma Following Initial Amputation for Traumatic Digital Amputation. **Journal of Hand Surgery**, v. 43, n. 1, p. 86.e1-86.e8, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhsa.2017.08.021>>

ZWANE, N. P.; NOFFKE, C. E. E.; RAUBENHEIMER, E. J. Solitary oral plexiform neurofibroma: Review of literature and report of a case. **Oral Oncology**, v. 47, n. 6, p. 449–451, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.04.005>>