

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de odontologia
Colegiado de Pós-Graduação em Odontologia

Gustavo Henrique Martins

**ANÁLISE DO TECIDO CORADO COM AZUL DE METILENO A 1% E
CURETADO APÓS A ENUCLEAÇÃO DO CERATOCISTO
ODONTOGÊNICO: *UMA SÉRIE DE CASOS***

Belo Horizonte
2024

Gustavo Henrique Martins

**ANÁLISE DO TECIDO CORADO COM AZUL DE METILENO A 1% E
CURETADO APÓS A ENUCLEAÇÃO DO CERATOCISTO
ODONTOGÊNICO: *UMA SÉRIE DE CASOS***

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

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Alves de Mesquita

Belo Horizonte
2024

Ficha Catalográfica

M386a Martins, Gustavo Henrique.
2024 Análise do tecido corado com azul de metileno a1% e
T curetado após a enucleação do ceratocisto odontogênico: uma
série de casos / Gustavo Henrique Martins. -- 2024.

49 f. : il.

Orientador: Ricardo Alves de Mesquita.

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

1. Azul de metileno. 2. Cistos odontogênicos. 3. Medicina bucal. 4. Patologia bucal. 5. Terapêutica. I. Mesquita, Ricardo Alves de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia. III. Título.

BLACK - D047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

ANÁLISE DO TECIDO CORADO COM AZUL DE METILENO A 1% E CURETADO APÓS A ENUCLEAÇÃO DO CERATOCISTO ODONTOGÊNICO: UMA SÉRIE DE CASOS

GUSTAVO HENRIQUE MARTINS

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

Aprovada em 11 de julho de 2024, pela banca constituída pelos membros:

Prof. Ricardo Alves de Mesquita - Orientador
Faculdade de Odontologia da UFMG

Profa. Patrícia Carlos Caldeira
Faculdade de Odontologia da UFMG

Prof. Márcio Bruno Figueiredo do Amaral
Núcleo de Ensino e Pesquisa - Hospital João XXIII

Belo Horizonte, 11 de julho de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Marcio Bruno Figueiredo Amaral, Usuário Externo**, em 20/09/2024, às 13:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Alves de Mesquita, Professor do Magistério Superior**, em 20/09/2024, às 14:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patricia Carlos Caldeira, Professora do Magistério Superior**, em 21/09/2024, às 08:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3569607** e o código CRC **85E8BD42**.

Dedico este trabalho a Deus, detentor de todas as coisas, e aos meus familiares que sempre me incentivaram e apoiaram sem medidas.

AGRADECIMENTO

A Deus, aos meus pais, Renato e Sandra, e ao meu irmão, Gabriel, por serem minha base, meu alicerce, por acreditarem em mim e apoiarem os meus sonhos.

Aos meus avós (*In memoriam*), Maria Teixeira de Oliveira, Vantuil Ricardo de Oliveira, Laura Martins Passos e José Mota Passos, deixo-os aqui eternizados e com a certeza de que ainda continuam cuidando de mim.

À tia Lia, por ter aberto a porta da sua casa para me receber como sobrinho, filho e um verdadeiro amigo. Jamais esquecerei tudo aquilo que compartilhamos durante o tempo em que vivemos juntos.

A todos os meus familiares e amigos por entenderem os meus momentos de ausência, apoiarem os meus sonhos e sempre me receberem de forma tão singular e sincera.

À Rayssa Villafort que além de amiga e parceira de profissão, incentivou, ajudou na execução deste trabalho sem medir esforços, e entendeu minhas ausências.

Ao Marcio do Amaral por ter acreditado neste projeto e por ajudar em todos os momentos com sua sabedoria e eficiência. Além de todas as oportunidades para minha formação e construção profissional.

Aos demais colegas de profissão que contribuíram de alguma forma para a execução deste trabalho.

Às minhas companheiras de turma do mestrado, Ana Cristina, Nayara e Paula, por todos os momentos que compartilhamos.

Ao José Alcides por todo apoio pessoal e científico durante essa jornada.

A todos os professores que tive contato durante esse período e com os quais pude muito aprender

À Faculdade de Odontologia da UFMG que me proporcionou profissionais altamente qualificados e infraestrutura de ponta, para que eu pudesse ter uma formação formidável.

Ao professor Ricardo Alves de Mesquita por toda orientação, paciência e por todos os conselhos.

A cada um, minha eterna gratidão!

“O único momento em que é lícito olhar uma pessoa de cima é para a ajudar a levantar-se.”

Papa Francisco

RESUMO

Diversos tratamentos são descritos na literatura para o ceratocisto odontogênico, incluindo a enucleação associada à ostectomia periférica. Um dos desafios dessa técnica consiste em identificar com precisão a extensão e localização do osso que necessita ser removido. Atualmente, a solução de azul de metileno a 1% é utilizada na cavidade óssea, após a enucleação do ceratocisto odontogênico, para demarcar as áreas que devem ser removidas na etapa da ostectomia periférica. Este estudo teve como objetivo analisar as peças cirúrgicas do ceratocisto odontogênico e os tecidos corados com a solução de azul de metileno a 1% após a enucleação da lesão. A análise foi realizada em 12 peças cirúrgicas obtidas de 12 pacientes, com idade média de 40,8 anos. Os ceratocistos odontogênicos estavam localizados predominantemente na região posterior da mandíbula (58,3%), com tamanho médio de 25 mm. Em 91,7% dos casos, as lesões eram uniloculares. Expansão da cortical óssea, ruptura da cortical óssea e deslocamento de raízes dentárias foram observadas em 25%, 33,3% e 16,7% dos casos, respectivamente. A análise histológica revelou estruturas epiteliais na cápsula cística em 75% dos casos e em 16,7% dos tecidos corados e curetados da loja cirúrgica. Os resultados deste trabalho demonstraram que o uso da solução de azul de metileno a 1%, após a enucleação do ceratocisto odontogênico, parece ser eficaz na identificação do tecido remanescente da lesão na loja cirúrgica, consistente com os achados de estudos clínicos anteriores.

Palavras-chave: azul de metileno; ceratocistos; cistos odontogênicos; medicina bucal; patologia bucal; tratamento.

ABSTRACT

Analysis of tissue staining with 1% methylene blue solution after enucleation of odontogenic keratocyst: a case series

Various treatments are described for odontogenic keratocyst, including enucleation combined with peripheral ostectomy, which poses the challenge of accurately identifying the extent and location of bone requiring removal. Currently, 1% methylene blue solution is used in the bone cavity after odontogenic keratocyst enucleation to delineate areas for ostectomy. This study aimed to analyze surgical specimens of odontogenic keratocyst and tissue staining with a 1% methylene blue solution after enucleation. Analysis was conducted on 12 surgical specimens obtained from 12 patients, with a mean age of 40.8 years. Odontogenic keratocysts were predominantly located in the posterior mandible (58.3%) with a mean size of 25 mm. In 91.7% of cases, the lesions were unilocular. Bone cortical expansion, cortical bone rupture, and displacement of dental roots were observed in 25%, 33.3%, and 16.7% of cases, respectively. Histological analysis revealed epithelial structures in 75% of cases and in 16.7% of tissues stained with the 1% methylene blue solution. The use of a 1% methylene blue solution after odontogenic keratocyst enucleation appears effective, consistent with findings from previous clinical studies.

Keywords: disease management; methylene blue; odontogenic keratocyst; oral medicine; oral pathology.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Paciente do sexo feminino, 30 anos, com ceratocisto odontogênico (CO). (A) Imagem radiolúcida, unilocular, ovoide, bem delimitada, com margem esclerótica, medindo cerca de 40x20mm, envolvendo a região posterior da mandíbula esquerda e apresentando dispositivo de descompressão instalado. (B) Imagem clínica intraoral da região posterior de mandibular a esquerda após a remoção do dispositivo de descompressão. (C) Superfície óssea da cavidade cística corada com a solução de azul de metileno a 1% após enucleação CO. (D) Tecido corado e curetado para posterior análise histológica..... 46
- Figura 2 – Paciente do sexo feminino, 25 anos, com ceratocisto odontogênico (CO). (A) Imagem radiolúcida, unilocular, ovoide, bem delimitada, com margem esclerótica, medindo cerca de 40x20mm, envolvendo a região posterior da mandíbula direita. (B) Imagem intraoral correspondente a região do CO com mucosa oral saudável e sem expansão óssea. (C) Superfície óssea da cavidade corada com a solução de azul de metileno a 1% após enucleação CO. (D) Tecido corado e curetado para posterior análise histológica..... 47
- Figura 3 – Histologia das peças cirúrgicas do ceratocisto odontogênico (CO) (A e B, hematoxilina & eosina, aumento de 10x) e do tecido corado (C e D, hematoxilina & eosina, aumento de 10x). O revestimento epitelial do CO (1) está presente na peça cirúrgica e no tecido corado; remanescentes epiteliais (ilhas epiteliais) (2) também presentes em ambos; e cistos/microcistos (3) na peça cirúrgica.....48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados demográficos e clínicos.....	38
Tabela 2 – Dados histológicos das peças cirúrgicas.....	39
Tabela 3 – Dados histológicos dos tecidos corados com a solução de azul de metileno a 1 %	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS	Organização Mundial da Saúde
CO	Ceratocisto Odontogênico
SCNB	Síndrome do Carcinoma Nevoide Basocelular
SHH	<i>Sonic Hedgehog</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
H&E	Hematoxilina e Eosina

SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	13
2	OBJETIVOS.....	20
	2.1 Objetivo geral.....	20
	2.2 Objetivos específicos.....	20
3	METODOLOGIA EXPANDIDA.....	21
	3.1 Considerações éticas.....	21
	3.2 Desenho do estudo.....	21
	3.3 População e período de análise.....	21
	3.4 Procedimentos do estudo.....	21
	3.5 Análise de dados.....	22
4	ARTIGO.....	24
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
	REFERÊNCIAS.....	50

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Um cisto é uma cavidade patológica, localizada em tecido mole ou duro, com uma parede externa, geralmente, composta de tecido conjuntivo e um revestimento epitelial interno. Essa cavidade contém material fluido, semifluido ou coloidal (CASTRO-NÚÑEZ *et al.*, 2021; MELO *et al.*, 2020).

Os cistos odontogênicos são caracterizados histologicamente como cavidades patológicas, revestidas por epitélio de origem odontogênica, contendo material líquido ou semi-sólido em seu interior (KAMMER *et al.*, 2020; KITISUBKANCHANA *et al.*, 2021; NEVILLE *et al.*, 2016).

Esses cistos representam cerca de 90% dos cistos dos maxilares e são classificados, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), como cistos de origem inflamatória ou de desenvolvimento (CSERNI *et al.*, 2020; KAMMER *et al.*, 2020). Eles possuem crescimento autônomo devido ao aumento da pressão osmótica, dentro do lúmen cístico, associada à liberação de mediadores biológicos, como fatores de crescimento e prostaglandinas (CASTRO-NÚÑEZ *et al.*, 2021; KITISUBKANCHANA *et al.*, 2021; MELO *et al.*, 2020; RIVERO *et al.*, 2011).

O ceratocisto odontogênico (CO) é considerado um dos cistos de desenvolvimento mais relatados na literatura, sendo descrito e denominado dessa forma pela primeira vez em 1956 por Philipsen, que sugeriu sua origem a partir dos remanescentes da lâmina dentária (MENON, 2015; POGREL, 2015; MOHANT *et al.*, 2021; MELO *et al.*, 2020). O CO frequentemente se apresenta como uma lesão intraóssea com revestimento característico de epitélio pavimentoso estratificado paraqueratinizado (CASTRO-NÚÑEZ *et al.*, 2021; KAMMER, 2020; NEVILLE *et al.*, 2016;).

Em 2005, a OMS classificou essa entidade como uma neoplasia devido ao seu potencial clínico agressivo, comportamento infiltrativo, alta taxa de recorrência, associação com a Síndrome do Carcinoma Nevoide Basocelular (SCNB), que é caracterizada pela presença de múltiplos ceratocistos, múltiplos carcinomas basocelulares em pele, macrocefalia depressões palmoplantares, calcificações intracranianas anomalias das costelas, dentre outras características, e às alterações genéticas moleculares, presentes também em algumas neoplasias, como a mutação do gene supressor de tumor PTCH1 (CASTRO-NÚÑEZ *et al.*, 2021; CSERNI *et al.*, 2020; IWAI *et al.*, 2011; KITISUBKANCHANA *et al.*, 2021; NEVILLE *et al.*, 2016;

SOLUK-TEKKESIN e WRIGHT, 2022). A remoção incompleta do revestimento cístico, células satélites, tecidos epiteliais odontogênicos ou microcistos presentes na mucosa subjacente à lesão são algumas das razões propostas para a recidiva do CO (CSERNI *et al.*, 2020; IWAI *et al.*, 2011; KAMMER 2020; MOHANT *et al.*, 2021; OGINNI *et al.*, 2023).

Dentre outras justificativas apresentadas para classificar o CO como um tumor odontogênico, destaca-se o seu mecanismo de crescimento, que parece estar relacionado a fatores genéticos inerentes do seu próprio epitélio, como a proliferação do revestimento epitelial, ou ainda pela atividade enzimática na parede fibrosa da lesão, diferentemente do observado em outras lesões císticas (CASTRO-NÚÑEZ *et al.*, 2021; NEVILLE *et al.*, 2016; RIVERO *et al.*, 2011).

Porém, as evidências citadas foram consideradas insuficientes e a lesão voltou a ser classificada como cisto odontogênico na edição publicada em 2018 pela OMS, e permanece assim na última edição de 2022 (KAMMER, 2020; OGINNI *et al.*, 2023; SOLUK-TEKKESIN e WRIGHT, 2018, 2022).

O CO apresenta, clinicamente, pouca ou nenhuma expansão óssea e tem predileção pela região posterior da mandíbula, corpo e ramo mandibular. Não possui predileção significativa por idade, sendo mais comumente observado nas primeiras quatro décadas de vida, ou por sexo, apresentando leve prevalência em pacientes do sexo masculino (CSERNI *et al.*, 2020; KITISUBKANCHANA *et al.*, 2021; MENON, 2015; NEVILLE *et al.*, 2016 RIVERO *et al.*, 2011).

O CO tende a crescer em direção anteroposterior e infiltrar nos espaços medulares podendo causar lesões extensas, associadas ou não a sintomatologia dolorosa, aumento de volume e até mesmo drenagem de secreção. COs de dimensões pequenas são geralmente assintomáticos e descobertos em exames de imagens de rotina (KITISUBKANCHANA *et al.*, 2021; NEVILLE *et al.*, 2016; RIVERO *et al.*, 2011).

Um líquido claro, semelhante a transudato seroso, ou um material caseoso, que microscopicamente consiste em lâminas de queratina, pode estar presente no lúmen cístico da lesão e ser obtido durante a punção aspirativa por agulha fina. Em relação à manipulação cirúrgica, o CO exibe uma cápsula delgada e friável, característica considerada uma das razões para a alta taxa de recorrência do CO (CSERNI *et al.*, 2020; NEVILLE *et al.*, 2016).

Em exames de imagem por radiografias, o CO apresenta-se como uma área radiolúcida, uni ou multilocular, com margens radiopacas regulares, frequentemente bem definidas, associada ou não a um dente incluso. Geralmente não causa reabsorção das raízes dos dentes erupcionados adjacentes, porém pode deslocar dentes associados ou próximos à lesão (CSERNI *et al.*, 2020; KITISUBKANCHANA *et al.*, 2021; NEVILLE *et al.*, 2016; RIVERO *et al.*, 2011).

O CO apresenta diagnóstico clínico-imaginológico diferencial com diversas lesões dos maxilares, como o ameloblastoma, cisto dentífero, cisto radicular, cisto periodontal lateral, cisto residual, cisto odontogênico glandular, cisto ósseo traumático, granuloma central de células gigantes, mixoma odontogênico e lesão fibro-óssea (KITISUBKANCHANA *et al.*, 2021; NEVILLE *et al.*, 2016; RIVERO *et al.*, 2011).

Kitisubkanchana *et al.* (2021) realizaram um estudo retrospectivo de casos diagnosticados histologicamente como COs e ameloblastomas. Após análise dos prontuários, foram observados 100 casos de COs e 101 de ameloblastomas. Os autores constataram que não houve, estatisticamente, predileção por sexo entre as lesões. A localização mais frequentemente observada entre ambas as condições foi a região posterior dos maxilares, sendo o CO mais comum na maxila e o ameloblastoma na mandíbula. Radiograficamente, o CO apresentou-se mais comumente com uma lesão radiolúcida, unilocular, com margens regulares e sem deslocamento dentário ou reabsorção radicular. Já a maioria dos ameloblastomas apresentou-se como uma lesão multilocular de margens irregulares. Eles concluíram, então, que uma lesão com essas características radiográficas, ou seja, imagem radiolúcida, unilocular, com bordas regulares, sem deslocamento dentário adjacente ou reabsorção radicular, e com leve ou nenhuma expansão óssea, é mais provavelmente um CO do que um ameloblastoma.

Biópsia e posterior análise histológica são ainda consideradas o padrão ouro para o diagnóstico de lesões císticas dos maxilares, como é o caso do CO (CSERNI *et al.*, 2020; MELO *et al.*, 2020; NEVILLE *et al.*, 2016). Melo e colaboradores (2020), observaram que a técnica de cell-block, quando associada aos dados clínicos e radiográficos do CO, pode ser suficiente para o diagnóstico final dessa lesão, tornando-se, portanto, um outro meio eficaz de diagnóstico nos casos em que haja suspeita de CO.

Histologicamente, a delgada parede cística, geralmente, não apresenta infiltrado inflamatório significativo. O revestimento epitelial é composto por uma

camada uniforme de epitélio pavimentoso estratificado, sem formação de cristas epiteliais perceptíveis. A parte basal é composta por uma camada em paliçada de células epiteliais, cuboidais ou colunares, hipercromáticas. Os cistos com alterações inflamatórias podem mostrar um revestimento epitelial não específico (CSERNI *et al.*, 2020; NEVILLE *et al.*, 2016).

A superfície do lúmen cístico apresenta células epiteliais paraqueratinizadas, achatadas e com um aspecto ondulado ou corrugado. Podem ainda ser observados na cápsula pequenos cistos, cordões ou ilhas satélites de epitélio odontogênico (NEVILLE *et al.*, 2016).

O tratamento do CO pode variar dependendo, entre outros fatores, do tamanho da lesão, sua localização, proximidade com estruturas nobres, tipo de lesão (primária ou recorrente), disponibilidade de materiais necessários para o procedimento proposto, condições sistêmicas e idade do paciente, além da habilidade técnica do profissional (MENON, 2015; MOHANT *et al.*, 2021; NEVILLE *et al.*, 2016; OGINNI *et al.*, 2023; POGREL, 2015).

Desde o século XIX, cirurgiões franceses e alemães elucidaram a ideia de que um acesso realizado no cisto promoveria a diminuição da pressão interna na lesão, interrompendo, assim, seu potencial de crescimento (CASTRO-NÚÑEZ *et al.*, 2021).

Ao longo dos anos, diversas técnicas foram propostas para o tratamento do CO, podendo ser utilizadas isoladamente ou combinadas, como a descompressão associada ou não à enucleação, marsupialização, enucleação associada a procedimentos adicionais, como curetagem, crioterapia, cauterização química com solução de Carnoy, ostectomia periférica, e até mesmo a ressecção (CASTRO-NÚÑEZ *et al.*, 2021; MENON, 2015; MOHANT *et al.*, 2021; NEVILLE *et al.*, 2016; OGINNI *et al.*, 2023; POGREL, 2015).

Recentemente, estudos detalhados sobre a genética molecular dos COs levaram ao uso de agentes quimioterápicos, como o Vismodegib, um inibidor da via *Sonic Hedgehog* (*SHH*), que parece estar relacionada com o desenvolvimento dessas lesões. Esse medicamento, administrado por via oral, ajuda a diminuir o número e a morbidade dos múltiplos COs, principalmente em paciente com a SCNB (ALLY *et al.*, 2014; OGINNI *et al.*, 2023).

Uma outra terapia recentemente proposta, coadjuvante à enucleação e ostectomia periférica, é o uso tópico do agente antimetabólico 5-fluoracil que parece

inibir fatores da via SHH associados à proliferação cística. Al-Moraissi e colaboradores, em uma metanálise recente (2022), não encontraram taxa de recidiva nos casos tratados com esse protocolo (AL-MORAISSI *et al.*, 2022; LEDDERHOF *et al.*, 2018; OGINNI *et al.*, 2023).

A descompressão e marsupialização são técnicas menos invasivas para cistos grandes, mas frequentemente envolvem um período de cicatrização prolongado e desconfortável. Estudos demonstraram maior taxa de sucesso no tratamento quando essas técnicas são associadas a outros procedimentos do que quando utilizados de forma isolada, podendo apresentar, isoladamente, cerca de 19% a 22% de recorrência (AL-MORAISSI *et al.*, 2022; MENON 2019; MOHANT *et al.*, 2021; OGINNI *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2020).

A descompressão resulta em espessamento do revestimento cístico friável do CO, facilitando, assim, a remoção da lesão (CASTRO-NÚÑEZ *et al.*, 2021; MOHANT *et al.*, 2021; NEVILLE *et al.*, 2016).

O uso da solução de Carnoy para cauterização química, após a enucleação do cisto, tem sido cada vez menos recomendado devido ao potencial carcinogênico do clorofórmio presente na solução. Uma fórmula modificada foi proposta, mas apresentou taxas de recidiva maiores em comparação com a solução original, cerca de 24,7% comparada a 8,8% da solução original (AL-MORAISSI *et al.*, 2022; OGINNI *et al.*, 2023; POGREL, 2015).

De acordo com Pogrel (2015), o uso de nitrogênio líquido, após a enucleação da lesão, demonstrou uma taxa de recidiva de 10%, em acompanhamento dos pacientes em cerca de 25 anos. Entretanto, um dos desafios citados é o acesso ao equipamento para realizar o procedimento. Já Al-Moraissi e colaboradores (2022) observaram uma taxa de recorrência de 22,2%.

A descompressão do CO associada à enucleação e ostectomia periférica, para remover quaisquer células satélites ou remanescentes epiteliais, além do revestimento cístico visível, em pacientes não sindrômicos, tem demonstrado uma taxa de sucesso aceitável no tratamento dos COs, sendo a taxa de recidiva próxima a 14% (AL-MORAISSI *et al.*, 2022; MOHANT *et al.*, 2021; OGINNI *et al.*, 2023; POGREL, 2015). Uma das principais dificuldades dessa técnica é a precisão na identificação da quantidade de osso a ser removida durante a ostectomia periférica (MENON, 2015; POGREL, 2015).

Como alternativa para abordar essa questão, a literatura propõe o uso de solução de azul de metileno a 1% como marcador das áreas que necessitam ser totalmente removidas durante a ostectomia periférica (IWAI *et al.*, 2011; MENON *et al.*, 2014; POGREL, 2015; SIWACH *et al.*, 2017).

O azul de metileno a 1% possui a capacidade de penetrar nas células epiteliais que apresentam aumento anormal de ácido nucleico, sendo utilizado na detecção precoce do câncer bucal e alterações orais potencialmente malignas (IWAI *et al.*, 2011; MENON *et al.*, 2014).

Segundo Pogrel (2015), o azul de metileno a 1% é um corante com baixa toxicidade que penetra no tecido ósseo a uma profundidade de cerca de 0,5 milímetro no osso cortical e 1 a 1,5 milímetros no osso esponjoso. Portanto, as células epiteliais dentro dessa área corada devem ser removidas.

Iwai e colaboradores (2011) não observaram casos de recidiva do CO, após 5 anos de acompanhamento pós-operatório dos pacientes tratados com enucleação associada à ostectomia periférica das áreas marcadas com azul de metileno. Resultados semelhantes foram relatado por Pogrel (2015), que tratou 29 COs com essa técnica e não constatou recorrência da lesão em um seguimento de 6 anos dos pacientes.

É importante interpretar esses resultados com cautela, visto que acompanhamento pós-operatório mais longo é necessário para avaliar o sucesso a longo prazo do tratamento.

Portanto, considerando a literatura atual, pode-se inferir que o uso da solução de azul de metileno a 1% represente um corante eficaz para marcar as áreas de tecido a serem removidas na ostectomia periférica, após a enucleação do CO, oferecendo um auxílio significativo aos cirurgiões. No entanto, são necessários estudos da avaliação histológica do tecido corado com a solução de azul de metileno com o intuito de demonstrar a composição morfológica e confirmar a presença de células epiteliais neste tecido. A avaliação morfológica fornecerá dados adicionais essenciais para entender as variáveis relacionadas à recorrência do CO e, assim, beneficiar o tratamento dos pacientes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a viabilidade da solução de azul de metileno a 1% na coloração e identificação das estruturas epiteliais do CO no tecido ósseo adjacente à lesão.

2.2 Objetivos específicos

Analisar histologicamente o tecido corado com a solução de azul de metileno a 1%;

Analisar histologicamente os espécimes cirúrgicos do CO;

Verifica a presença de estruturas epiteliais no tecido corado com a solução de azul de metileno a 1% bem como nos espécimes cirúrgicos do CO

3 METODOLOGIA EXPANDIDA

3.1 Considerações éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (CEP/UFMG) sob o número de protocolo 72833423.3.0000.5149 e seguiu as exigências da legislação brasileira, conforme as resoluções nº 466/12 e 304/00 do Conselho Nacional de Saúde, que tratam das Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos.

3.2 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo retrospectivo com uma amostra de conveniência.

3.3 População e período de análise

Foram incluídos no estudo todos os casos com diagnóstico histológico de CO encaminhados ao laboratório de Patologia Bucomaxilofacial da Faculdade de Odontologia da UFMG, juntamente com o tecido corado com a solução de azul de metileno a 1% e curetados para análise, no período de agosto de 2022 a dezembro de 2023.

3.4 Procedimentos do estudo

As informações demográficas e clínicas dos pacientes diagnosticados CO foram coletadas das fichas enviadas juntamente com o material para análise histológica. O diagnóstico de CO seguiu os critérios descritos na classificação da OMS de 2017 (SOLUK-TEKKESIN e WRIGHT, 2018).

A distribuição de idade e sexo dos pacientes foi avaliada entre as características demográficas. Em relação às características clínicas, foram coletadas informações referentes ao tamanho clínico da lesão, tendo como referência o maior diâmetro aferido; a localização anatômica; a expansão e/ou perfuração da cortical

óssea, deslocamento das raízes dos dentes envolvidos pela lesão e as características imaginológicas dos COs.

O tecido corado com a solução azul de metileno a 1% foi processado sequencialmente por meio de desidratação, clareamento, impregnação e inclusão em parafina. Foram realizados cortes seriados de 4 micrômetros de espessura nos blocos de parafina para completa análise completa do material processado. Ao final, o material foi corado com hematoxilina e eosina (H&E).

Inicialmente, realizou-se a desparafinação e hidratação das lâminas. Prosseguiu-se com lavagem em água destilada por 1 minuto, para assim receber o primeiro corante, a hematoxilina. As lâminas ficaram imersas no corante por 3 minutos. Em seguida, as lâminas foram novamente lavadas com água corrente por 10 minutos e coradas com eosina por 7 minutos. Ao final, realizou-se a desidratação e clarificação. E por fim, fez-se a montagem das lâminas (SANTOS *et a.*, 2021).

As lâminas coradas com H&E foram analisadas usando um microscópio óptico e de luz (Motic BA310, MOTICEUROPE S.L.U, Cabrera de Mar, Barcelona). Na avaliação histológica foi observada a presença de estruturas epiteliais na amostra removida da loja cirúrgica previamente corada com a azul de metileno a 1%, bem como nos espécimes cirúrgicos dos COs.

Os casos foram considerados positivos quando constatada a presença dos tecidos epiteliais do CO e negativos quando na ausência dessas estruturas.

3.5 Análise dos dados

Os dados foram tabulados no Microsoft Office Excel (Microsoft Corp., Redmond, Washington, EUA) e analisados no *Statistical Package for the Social Sciences - SPSS* (IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Versão 23.0. Armonk, EUA). Foram realizadas análises descritivas e os resultados foram apresentados em números absolutos e porcentagens.

4 ARTIGO CIENTÍFICO

Os resultados foram escritos na língua inglesa na forma de artigo científico. O artigo foi submetido ao periódico *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology* (Qualis A2; Fator de impacto 2.9 em 2022).

TITLE: Analysis of tissue staining with 1% methylene blue solution after enucleation of odontogenic keratocyst: a case series

ABSTRACT

Objective: To analyze the presence of epithelial structures in both surgical specimens of odontogenic keratocyst and tissue staining with 1% methylene blue solution after enucleation. **Study design:** Histological records of biopsies obtained between August 2022 and December 2023 from the Oral and Maxillofacial Pathology service at Universidade Federal de Minas Gerais were analyzed. The primary predictor variable was the presence of odontogenic keratocyst epithelial structures. **Results:** Twelve patients with a mean age of 40.8 years. Odontogenic keratocysts were predominantly located in the posterior mandible (58.3%) with a mean size of 25 mm. In 91.7% of cases, the lesions were unilocular. Histological analysis revealed epithelial structures in 75% of cases and in 16.7% of tissues with 1% methylene blue solution. **Conclusions:** The use of 1% methylene blue solution after odontogenic keratocyst enucleation appears effective, consistent with findings from previous clinical studies. Therefore, this method seems to have potential to reduce recurrence rates associated with odontogenic keratocyst.

INTRODUCTION

The odontogenic keratocyst (OKC), initially described by Philipsen in 1956, is defined by the World Health Organization (WHO) as a developmental cyst originating from remnants of the dental lamina, displaying potential for aggressive and infiltrative behavior¹⁻⁴. OKC typically exhibits a predilection for the posterior region of the mandible with or without limited bone expansion, commonly manifesting in the third decade of life showing a slight male predominance^{1,5-8}.

Different treatment modalities for OKC are described in the literature. Conservative methods include marsupialization, decompression, and enucleation, with or without adjuvant therapies such as peripheral ostectomy, Carnoy's solution, modified Carnoy's solution, cryotherapy and topical 5-fluorouracil medication⁵. Aggressive treatment options include resection^{9,10}. However, there is still no evidence regarding the optimal treatment modality that effectively reduces morbidity and recurrence rates^{5,9,14-16}.

The high and varied recurrence rate of OKC, ranging from 2.5% to 62.5% and up to 82% in association with nevoid basal cell carcinoma syndrome (NBCCS), has been one of the most debated and significant topics concerning OKC^{4,10,11}. Several explanations have been proposed for recurrences, one of which is the presence of epithelial structures in the underlying tissue of OKC that persist in the bone cavity after surgical therapies^{4,11-13}. Therefore, the complete removal or destruction of these structures following OKC surgical therapies is crucial and necessary, as it can reduce the recurrence rate^{2,9,14-16}.

In attempt to better identification of these epithelial structures, a 1% methylene blue solution has been applied to the surface of the bone cavity after OKC enucleation, and the staining areas are subsequently removed by ostectomy^{2,17}. However, there

are no reports of histological analysis of tissues with methylene blue solution, which would provide a thorough analysis and determine the presence or absence of these epithelial structures. Considering the importance of epithelial structures and the applicability of 1% methylene blue solution in the context of OKC recurrence, this present study aimed to analyze histologically both the OKC surgical specimens and the tissue staining with a 1% methylene blue solution following OKC enucleation. The primary predictor variable was the presence of OKC epithelial structures in both dyed tissue and OKC surgical specimens.

MATERIALS AND METHODS

Study design, procedures and ethical issues

A retrospective study using histological records of biopsies from the Oral and Maxillofacial Pathology service at the School of Dentistry of the Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) was conducted. Data were collected from histological records obtained between August 2022 and December 2023. An experienced oral and maxillofacial pathologist reviewed the OKC diagnoses and tissue staining analyses. Tissue staining with 1% methylene blue solution was performed following the methods of Iwai et al¹⁶ and Pogrel². The Institutional Ethics Committee approved this study under protocol number 72833423.3.0000.5149.

Study variables

Demographic and clinicoradiographic data, including sex, age, size of the entire lesion, symptoms, and radiographic characteristics, were collected from medical records. The anatomical location was categorized as posterior or anterior area of the jaws.

Serial 4 μm sections were prepared from each formalin-fixed paraffin-embedded block of tissue from both OKC surgical specimens and staining tissue to ensure a comprehensive analysis of the specimen and identify all possible structures. The epithelial structures identified included satellite or daughter cysts/microcysts and epithelial remnants (epithelial islands/cords). Histological variables assessed included the presence of epithelial structures and the presence and intensity of inflammation. Data on epithelial characteristics (epithelial/capsule tissue separation, palisading arrangement of basal cells, reversed polarity areas, budding of cyst epithelium), surface features (parakeratinized corrugated surface, orthokeratinized areas), and epithelial hyperplasia areas were recorded.

Data analysis

The data were tabulated using Microsoft Office Excel (Microsoft Corp., Redmond, Washington, USA) and analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, USA). Descriptive statistics were performed and results were reported using absolute numbers and percentages.

RESULTS

Sixty individuals were diagnosed with OKC between August 2022 and December 2023. Twelve (20%) cases that exhibited staining tissue with 1% methylene blue solution were selected for analysis. A total of 144 glass slides from serial sections were examined.

The mean age was 40.8 years (SD = 22.1 years), with most being females (58.3%). The posterior mandible (including the body, angle, and ramus) was the most

common location of the lesion. Two individuals exhibited lesions at only one site in the mandible (mandibular symphysis and mandibular angle). Two individuals exhibited lesions involving the mandibular angle and ramus. Four individuals had lesions involving the mandibular body, angle and ramus on the same side. The individual with an OKC lesion at the anterior region of the mandible had the largest lesion, which measured 37 mm. Only one (8.3%) individual presented with a multilocular lesion. Five out of 12 (41.6%) histological records reported some of the evaluated symptoms, including bone cortical expansion, rupture of cortical expansion, or displacement of dental roots (**Table 1**). One of the 12 individuals (8.3%) was diagnosed with NBCCS, and two (16.7%) cases were recurrences. The individual with NBCCS exhibited multiple OKC and multiple basal cell carcinomas of the skin, macrocephaly, and intracranial calcifications upon radiographic evaluation. Decompression before OKC enucleation was reported in one case. **Figures 1 and 2** illustrate the clinicoradiographic aspects and intraoperative findings of OKC staining with a 1% methylene blue solution following enucleation.

The frequency of epithelial structures observed in OKC surgical specimens and staining tissue glass slides was 75% (n=9) and 16.7% (n=2), respectively. One case exhibited epithelial structures in both OKC surgical specimens and staining tissue (**Figures 3B and 3C**). This individual was neither diagnosed with NBCCS nor a recurrence case. Inflammation was observed in the majority of lesions (58.3%). Among staining tissues, inflammation was a minority (33.3%). All cases (n=4) of staining tissue that showed inflammation also exhibited chronic inflammation in the OKC surgical specimens. Histological data are reported in **Tables 2 and 3**.

DISCUSSION

There is still no consensus on the optimal protocol for treating OKC^{5,9,14-16}. The selection of an approach depends on balancing treatment effectiveness and low recurrence rates against patient morbidity. The present study undertook histological analysis of tissue stained with a 1% methylene blue solution subsequent to OKC enucleation, aiming to ascertain the presence of epithelial structures. This endeavor contributes to the assessment of the utility of this dye as a guide for precise peripheral ostectomy.

Two out of 12 cases of staining tissue showed epithelial structures. This finding may substantiate the favorable clinical outcomes reported in the literature regarding this technique, as it demonstrates the capability of the 1% methylene blue solution to label tissue containing epithelial structures responsible for OKC recurrence. In a technical note published in 2011, Lawi et al¹⁶ described the use of 1% methylene blue solution to accurately delineate the bone area requiring removal via peripheral ostectomy following OKC enucleation. The authors reported no recurrence of lesions in their service since implementing this protocol in 2007, with a follow-up period of four years.

Methylene blue has been recognized as a diagnostic tool in the early detection of cancer cells in several diseases, including gastric, prostate, bladder, and oral cancer¹⁶. The mechanism underlying methylene blue's uptake in epithelial tissue appears to be linked to its affinity for cells exhibiting abnormal increases in nucleic acid content, such as cancer cells. Methylene blue is capable of penetrating to a depth of approximately 0.5 mm in cortical bone and 1.5 mm in cancellous bone^{2,16}. Pogrel² also reported satisfactory results in the treatment of OKC using a 1% methylene blue solution to mark the cavity following lesion enucleation and before bone removal via

peripheral ostectomy. No recurrences were documented over varying follow-up periods ranging from four months to five years².

The individuals in this current study exhibited a wide age range, with a predominance in the second and third decades of life. The posterior mandible region was the most commonly affected site, and the majority of the patients were asymptomatic, consistent with findings from previous studies^{4,5,8,9,12,17}. Simiyu et al¹³ reported that most patients showed some symptoms, contrasting with the results of this series, where the majority of OKC were discovered during routine medical examination. Additionally, a slight female predominance was observed, consistent with the study by Kitisubkanchana et al⁸, but in contrast with the majority of other studies^{4,9,10,17,18}. Herein, the mean size of OKC was 25 mm, and it varies in studies reported elsewhere. For example, Fidele et al¹² reported a mean size of 43 mm, while Naruse et al¹⁴ reported 35 mm. Unilocular radiolucency was the most common radiographic feature^{8,14,19}, although several studies reported multilocular lesions^{4,12,13,18}. A systematic review²⁰ identified a higher probability of recurrence in multilocular lesions. Interestingly, the two recurrence cases in this study exhibited unilocular lesions, both in primitive and recurrence lesions.

The histological analysis revealed a high frequency of epithelial structures (75%) in OKC surgical specimens, which is higher compared to the literature. This difference may be attributed to the use of serial tissue sections in the current study, whereas previous studies often utilized single tissue sections. In addition, the presence of these structures has been associated with OKC recurrence, highlighting the importance of their elimination to reduce recurrence rates^{9,11-13,21}. Prior literature¹⁴ reported a frequency of 49.3% of daughter cysts/epithelial islands, although no association between daughter cysts and recurrence rate was encountered. Other

studies have observed the presence of satellite cysts and epithelial islands in 38% and 42% of cases, respectively²². In this study, when evaluated individually, six out of 12 (50%) individuals had these structures in OKC surgical specimens analysis, which is higher than the range reported in the literature (15.6% to 49.6%)^{14,19}. Payne²³ observed microcysts in the cyst wall of 78% of the cysts from individuals with NBCCS, suggesting this syndrome as another potential explanation for the increased recurrence rate. However, in the present study, the individual with NBCCS exhibited multiple microcysts and epithelial remnants in the cyst capsule, despite of that, no epithelial structures were observed in staining tissue.

Inflammation was prevalent in the majority of OKC surgical specimens, consistent with findings from previous studies^{11,19,21}. Conversely, the staining tissue showed a lower incidence of inflammation. Bera et al.¹¹ reported a significant association between inflammatory infiltrate and recurrence rate. The presence of pronounced inflammation may lead to potential diagnostic errors. The OKC surgical specimens were histologically analyzed to investigate the presence of epithelial structures in both the staining tissue and the OKC surgical specimen from the same patient. Serial section was performed, as recommended by Brannon²⁴, to ensure comprehensive evaluation and prevent any structures from being overlooked. Due to the limited sample size and short-term follow-up, we refrained from conducting tests of correlation between clinicopathological variables and recurrence rate.

Despite the usefulness of the preliminary results of our study, it is important to acknowledge some shortcomings. First, the study was retrospective, relying on data from medical records at a single referral oral and maxillofacial pathology service. Consequently, the results cannot be generalized. Nonetheless, the use of methylene blue for delineating areas for peripheral ostectomy appears promising and aligns with

the results of previous clinical studies reporting no recurrences following this protocol. Further studies with a similar design and larger sample sizes are necessary to validate these results.

CONCLUSIONS

In conclusion, the utility of 1% methylene blue solution as an effective guide for precise peripheral ostectomy is supported by histological findings indicating that epithelial structures were present in the surgical specimens and in the stained tissues. Therefore, this method seems to have potential to reduce recurrence rates associated with OKC. Also, the applicability of 1% methylene blue solution does not prevent the use of others adjuvant therapies for management of OKC.

REFERENCES

1. Menon S. Keratocystic Odontogenic Tumours: Etiology, Pathogenesis and Treatment Revisited. *J Maxillofac Oral Surg.* 2015;14(3):541-7.
2. Pogrel MA. The keratocystic odontogenic tumour (KCOT)--an odyssey. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2015;44(12):1565-8.
3. Melo G, Mello FW, Mesquita RA, Grando LJ, Rivero ERC. Cell-block as ancillary tool for the diagnosis of cystic and cyst-like jaw lesions. *Diagn Cytopathol.* 2020;48(8):717-23.
4. Mohanty S, Dabas J, Verma A, Gupta S, Urs AB, Hemavathy S. Surgical management of the odontogenic keratocyst: A 20-year experience. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2021;50(9):1168-76.
5. Winters R, Garip M, Meeus J, Coropciuc R, Politis C. Safety and efficacy of adjunctive therapy in the treatment of odontogenic keratocyst: a systematic review. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2023;61(5):331-6.
6. Moellmann HL, Parviz A, Goldmann-Kirn M, Rana M, Rana M. Comparison of Five Different Treatment Approaches of Mandibular Keratocystic Odontogenic Keratocyst (OKC): A Retrospective Recurrence Analysis of Clinical and Radiographic Parameters. *J Maxillofac Oral Surg.* 2024;23(1):145-151.
7. Cserni D, Zombori T, Vörös A, Stájer A, Rimovszki A, Daru K, Baráth Z, Cserni G. A Clinicopathological Approach to Odontogenic Cysts: the Role of Cytokeratin 17 and bcl2 Immunohistochemistry in Identifying Odontogenic Keratocysts. *Pathol Oncol Res.* 2020;26(4):2613-20.
8. Kitisubkanchana J, Reduwan NH, Poomsawat S, Pornprasertsuk-Damrongsri S, Wongchuensoontorn C. Odontogenic keratocyst and ameloblastoma: radiographic evaluation. *Oral Radiol.* 2021;37(1):55-65.

9. Cunha JF, Gomes CC, de Mesquita RA, Andrade Goulart EM, de Castro WH, Gomez RS. Clinicopathologic features associated with recurrence of the odontogenic keratocyst: a cohort retrospective analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2016;121(6):629-35.
10. De Feudis F, Giroto R, Balercia A, Togni L, Rubini C, Balercia P. Management of the odontogenic keratocysts from diagnosis to treatment: an algorithm derived from the comparison of a single institution experience and literature review. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology.* 2023;35(5):410-5.
11. Bera, R.N., Tandon, S., Tiwari, P. et al. Recurrence and Prognosticators of Recurrence in Odontogenic Keratocyst of the Jaws. *J. Maxillofac. Oral Surg.* 2023;
12. Fidele NB, Yueyu Z, Zhao Y, Tianfu W, Liu J, Sun Y, Liu B. Recurrence of odontogenic keratocysts and possible prognostic factors: Review of 455 patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2019;1;24(4):e491-e501
13. Simiyu BN, Butt F, Dimba EA, Wagaiyu EG, Awange DO, Guthua SW, Sloomweg PJ. Keratocystic odontogenic tumours of the jaws and associated pathologies: a 10-year clinicopathologic audit in a referral teaching hospital in Kenya. *J Craniomaxillofac Surg.* 2013;41(3):230-4.
14. Naruse T, Yamashita K, Yanamoto S, Rokutanda S, Matsushita Y, Sakamoto Y, Sakamoto H, Ikeda H, Ikeda T, Asahina I, Umeda M. Histopathological and immunohistochemical study in keratocystic odontogenic tumors: Predictive factors of recurrence. *Oncol Lett.* 2017;13(5):3487-3493.
15. Al-Moraissi EA, Kaur A, Gomez RS, Ellis E 3rd. Effectiveness of different treatments for odontogenic keratocyst: a network meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2023;52(1):32-43.

16. Iwai T, Hirota M, Maegawa J, Tohnai I. Use of methylene blue for precise peripheral ostectomy of keratocystic odontogenic tumour. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2011;49(8):e84-5.
17. Janas-Naze A, Zhang W, Szuta M. Modified Carnoy's Versus Carnoy's Solution in the Management of Odontogenic Keratocysts-A Single Center Experience. *J Clin Med.* 2023;12(3):1133.
18. Castro-Núñez J, Wiscovitch AG, Porte JP, Wiscovitch J, Rivera B, Guerrero LM. Does active decompression of odontogenic keratocyst change the histologic diagnosis? *Oral Maxillofac Surg.* 2022;26(2):291-98.
19. Kuroyanagi N, Sakuma H, Miyabe S, Machida J, Kaetsu A, Yokoi M, Maeda H, Warnakulasuriya S, Nagao T, Shimozato K. Prognostic factors for keratocystic odontogenic tumor (odontogenic keratocyst): analysis of clinico-pathologic and immunohistochemical findings in cysts treated by enucleation. *J Oral Pathol Med.* 2009;38(4):386-92.
20. Chrcanovic BR, Gomez RS. Recurrence probability for keratocystic odontogenic tumors: An analysis of 6427 cases. *J Craniomaxillofac Surg.* 2017;45(2):244-51.
21. Myoung H, Hong SP, Hong SD, Lee JI, Lim CY, Choung PH, Lee JH, Choi JY, Seo BM, Kim MJ. Odontogenic keratocyst: Review of 256 cases for recurrence and clinicopathologic parameters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91(3):328-33.
22. Lam KY, Chan AC. Odontogenic keratocysts: a clinicopathological study in Hong Kong Chinese. *Laryngoscope.* 2000;110(8):1328-32.
23. Payne TF. An analysis of the clinical and histopathologic parameters of the odontogenic keratocyst. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1972;33(4):538-46.

24. Brannon RB. The odontogenic keratocyst. A clinicopathologic study of 312 cases.
Part II. Histologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1977; 43(2):233-55.

Tables

Table 1. Demographic and clinical data of the 12 odontogenic keratocyst

Variables	Value
Sex	
Female	7 (58.3%)
Male	5 (41.7%)
Age (years)	
Minimum	9
Maximum	81
Mean	40.8 (SD = 22.1)
Anatomical location	
Anterior mandible	1 (8.3%)
Posterior mandible	6 (50.0%)
Anterior maxilla	1 (8.3%)
Posterior maxilla	4 (33.4%)
Lesion size (mm)	
Minimum	12
Maximum	37
Mean	25
Radiographic characteristics	
Unilocular	11 (91.7%)
Multilocular	1 (8.3%)
Bone cortical expansion	
Yes	3 (25.0%)
No	9 (75.0%)
Rupture of cortical bone	
Yes	4 (33.3%)
No	8 (66.7%)
Displacement of dental roots	
Yes	2 (16.7%)
No	10 (83.3%)

Table 2. Histological data of the 12 odontogenic keratocyst surgical specimen

Variables	Value
Microcysts/daughters cysts	
Absent	6 (50%)
Present	6 (50%)
Epithelial remnants	
Absent	6 (50%)
Present	6 (50%)
Dystrophic calcification	
Absent	7 (58.3%)
Present	5 (41.7%)
Hyaline granuloma	
Absent	10 (83.3%)
Present	2 (16.7%)
Foreign body reaction	
Absent	11 (91.7%)
Present	1 (8.3%)
Inflammation	
Absent	2 (16.7%)
Chronic	10 (83.3%)
Location of inflammation	
Absent	2 (16.7%)
Deep	1 (8.3%)
Diffuse	3 (25%)
Subepithelial	6 (50%)
Grade of inflammation	
Absent	2 (16.7%)
Mild	7 (58.3%)
Moderate	2 (16.7%)
Severe	1 (8.3%)

Lumen with keratin	
Absent	9 (75%)
Present	3 (25%)
Flat epithelium/capsule interface	
Absent	0
Present	12 (100%)
Epithelium/capsule separation	
Absent	3 (25%)
Present	9 (75%)
Hyperchromatic basal cells	
Absent	2 (16.7%)
Present	10 (83.3%)
Palisading arrangement of basal cells	
Absent	2 (16.7%)
Present	10 (83.3%)
Reversed polarity areas	
Absent	1 (8.3%)
Present	11 (91.7%)
Mitotic figures in basal cell layers	
Absent	7 (58.3%)
Present	5 (41.7%)
Budding of cyst epithelium	
Absent	9 (75%)
Present	3 (25%)
Epithelium dysplasia	
Absent	10 (83.3%)
Present	2 (16.7%)

Parakeratinized corrugated surface

Absent	5 (41.7%)
Present	7 (58.3%)

Orthokeratinized areas

Absent	12 (100%)
Present	0

Epithelial hyperplasia areas

Absent	10 (83.3%)
Present	2 (16.7%)

Rushton bodies

Absent	11 (91.7%)
Present	1 (8.3%)

Epithelium modified by inflammatory infiltrate

Absent	4 (33.3%)
Present	8 (66.7%)

Subepithelial hyalinization area

Absent	12 (100%)
Present	0

Corrugated/papiliferum epithelial surface

Absent	10 (83.3%)
Present	2 (16.7%)

Table 3. Histological data evaluated of the 12 staining tissue with methylene blue solution

Variables	Value
Microcysts/ daughters cysts	
Absent	2 (16.7%)
Present	10 (83.3%)
Epithelial remnants	
Absent	2 (16.7%)
Present	10 (83.3%)
Inflammation	
Absent	8 (66.7%)
Chronic	4 (33.3%)
Grade of inflammation	
Absent	8 (66.7%)
Mild	3 (25%)
Moderate	1 (8.3%)
Severe	0

Captions to illustrations

Figure 1 - A 30-years-old female patient with an odontogenic keratocyst (OKC). (A) Unilocular, large (40x20 mm), ovoid, well-defined, sclerotic margin, radiolucent area involving the left posterior mandibular region with decompression device installed. (B) Clinical intraoral picture of posterior mandibular OKC after removal of the decompression device. (C) Bone surface of cavity staining with 1% methylene blue solution after OKC enucleation. (D) Cured staining tissue for subsequent histological analysis.

Figure 2 - A 25-years-old female patient with an odontogenic keratocyst (OKC). (A) Unilocular, large (40x20 mm), ovoid, well-defined, sclerotic margin, radiolucent area involving the right posterior mandible. (B) Intraoral view correspondent to the OKC with healthy oral mucosa and no osseous expansion. (C) Bone surface of cavity staining with 1% methylene blue solution after OKC enucleation. (D) Staining tissue for subsequent histological analysis.

Figure 3- Histological details of the odontogenic keratocyst (OKC) surgical specimens (A and B, hematoxylin & eosin, 10x magnification) and tissue staining (C and D, hematoxylin & eosin, 10x magnification). The epithelial lining of OKC (1) is present in the surgical specimen and in tissue staining; epithelial remnants (epithelial islands) (2) also in both tissue and satellite or daughters cysts/microcysts (3) in the surgical specimen.

Acknowledgements

This study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Finance Code 001), Brazil. We also thank Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil (#407364/2021-8; #312830/2022-0). B.A.B.A., L.G.A., F.P.F. and R.A.M. are research fellows of CNPq. Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) provided a fellowship for J.A.A.A. (E-26/200.331/2024). We appreciate Mr. D. Romeni, Ms. D. Kem, and Ms. M. Maia for their technical laboratory support, as well as maxillofacial surgeons G.R. Libânio, G.M.O. Chiavaioli, and S.M. Costa for their contributions to clinical assessment.

Conflict of interest

None.

Ethical Approval

This study was approved by the Ethics Committee of the UFMG under the protocol number 72833423.3.0000.5149.

Figure 1

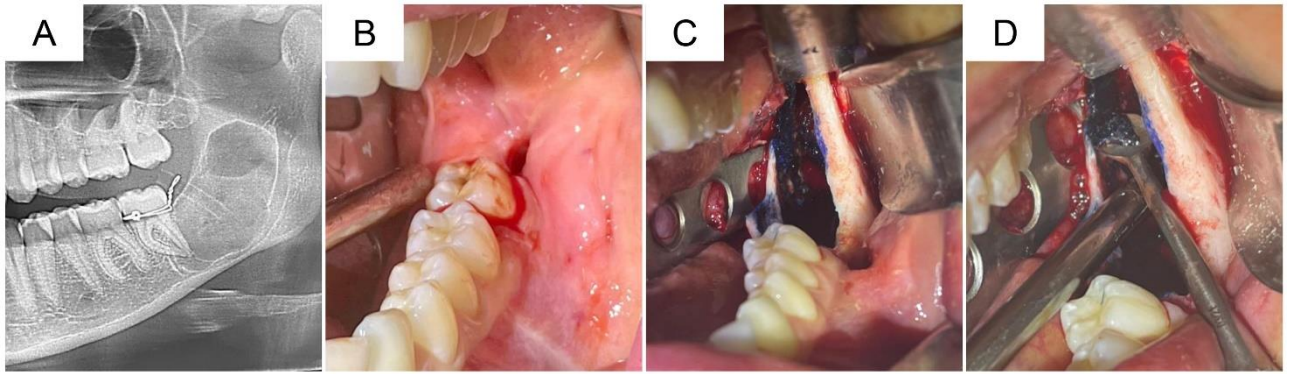


Figure 2

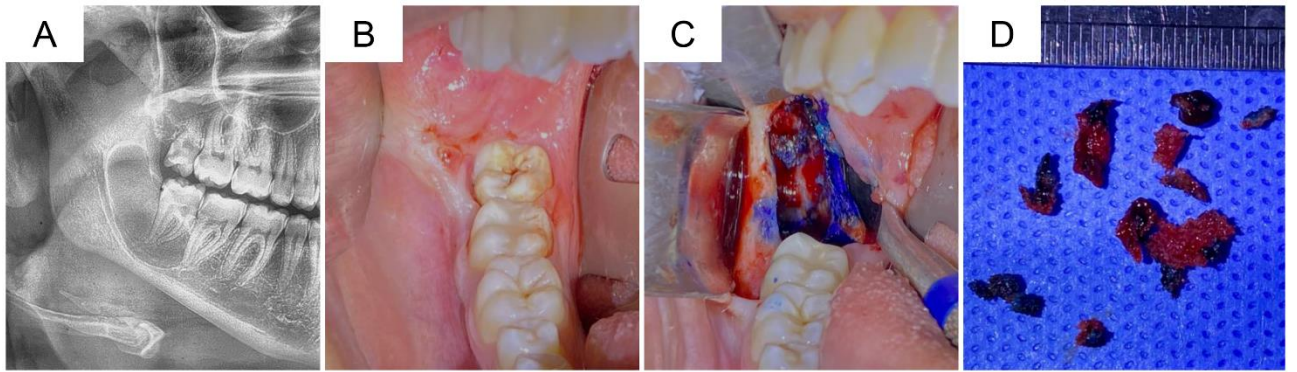
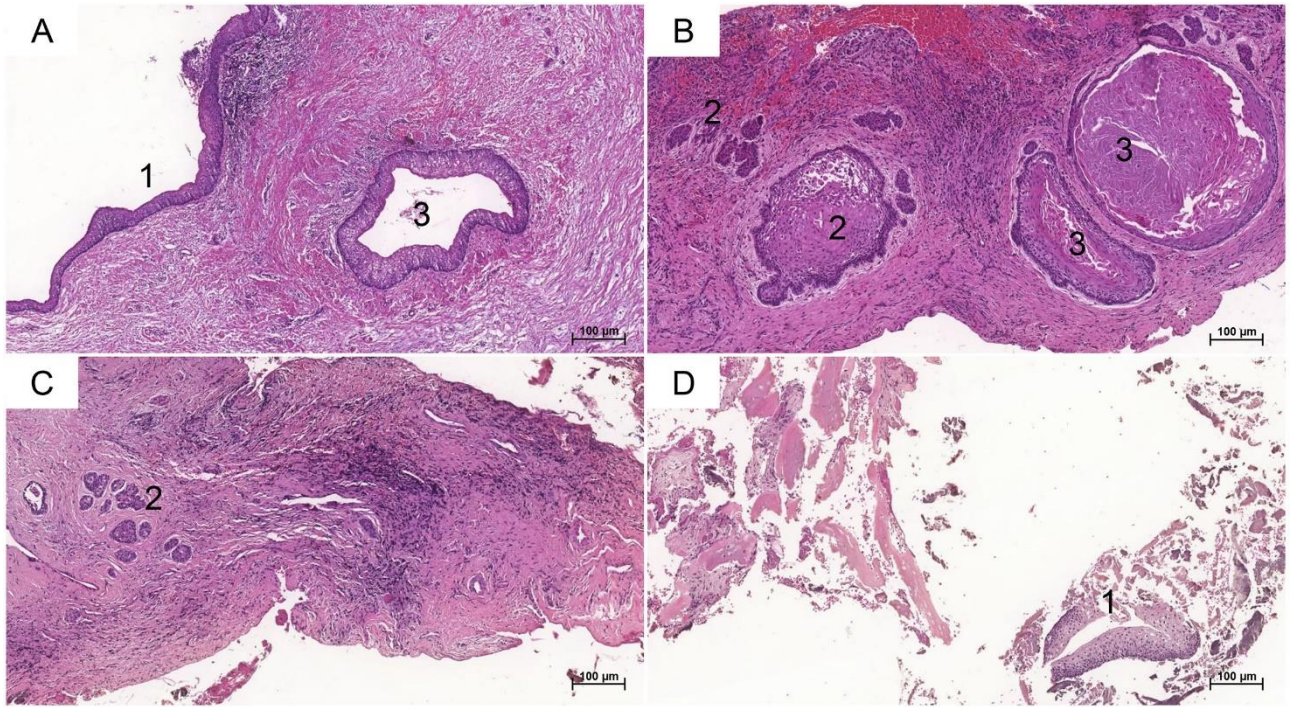


Figure 3



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização da solução de azul de metileno a 1% como um guia eficaz para a ostectomia periférica é apoiada pelos achados histológicos deste trabalho uma vez que pôde ser observadas estruturas epiteliais nas peças cirúrgicas e nos tecidos corados.

Portanto, este método parece ter potencial no tratamento dos COs e em reduzir as taxas de recorrência associadas a essa lesão. Além disso, a aplicabilidade da solução de azul de metileno a 1% não impede o uso de outras terapias adjuvantes no manejo do CO.

REFERÊNCIAS

- AL-MORAISSEI, E. A.; KAUAR, A.; GOMEZ, R. S.; ELLIS, E. 3º. Effectiveness of different treatments for odontogenic keratocyst: a network meta-analysis. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 52, n. 1, p. 32-43, Jan. 2023.
- ALLY, M. S. *et al.* The use of vismodegib to shrink keratocystic odontogenic tumors in patients with basal cell nevus syndrome. **JAMA Dermatol**, v. 150, n. 5, p. 542-545, Mai. 2014.
- BERA, R. N. *et al.* Recurrence and Prognosticators of Recurrence in Odontogenic Keratocyst of the Jaws. **J. Maxillofac. Oral Surg**. 2023
- BRANNON, R. B. The odontogenic keratocyst. A clinicopathologic study of 312 cases. Part II. Histologic features. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v.43, n. 2, p. 233-255, Fev. 1977.
- CAKARER, S. *et al.* Treatment for the large aggressive benign lesions of the jaws. **J Maxillofac Oral Surg**, v. 17, n. 3, p. 372-378, Set. 2018.
- CASTRO-NÚÑEZ, J. *et al.* Does active decompression of odontogenic keratocyst change the histologic diagnosis?. **Oral Maxillofac Surg**, Jul. 2021.
- CHRCANOVIC, B.R.; GOMEZ R. S. Recurrence probability for keratocystic odontogenic tumors: An analysis of 6427 cases. **J Craniomaxillofac Surg.**, v. 45, n. 2, p. 244-251, Fev. 2017.
- CSERNI, D. *et al.* A Clinicopathological Approach to Odontogenic Cysts: the Role of Cytokeratin 17 and bcl2 Immunohistochemistry in Identifying Odontogenic Keratocysts. **Pathol Oncol Res**, v. 26, n. 4, p. 2013-2620, Out. 2020.
- CUNHA J. F. *et al.* Clinicopathologic features associated with recurrence of the odontogenic keratocyst: a cohort retrospective analysis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.**, v. 121, n. 6, p. 629-635, Jun. 2016.
- DE FEUDIS, F. *et al.* Management of the odontogenic keratocysts from diagnosis to treatment: an algorithm derived from the comparison of a single institution experience and literature review. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology.**, v. 35, n. 5, p. 410-415, Set. 2023.
- FIDELE, N. B. *et al.* Recurrence of odontogenic keratocysts and possible prognostic factors: Review of 455 patients. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.**, v. 24, n. 4, p. 491-501, Jul. 2019.
- IWAI, T. *et al.* Use of methylene blue for precise peripheral ostectomy of keratocystic odontogenic tumour. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v. 49, n. 8, p. 84-85, Mar. 2011.
- JANAS-NAZE, A.; ZHANG, W.; SZUTA, M. Modified Carnoy's Versus Carnoy's

Solution in the Management of Odontogenic Keratocysts-A Single Center Experience. **J Clin Med.**, v. 12, n. 3, p. 1133, Fev. 2023.

KAMMER, P. V. *et al.* Comparative analysis between developmental and inflammatory odontogenic cysts: retrospective study and literature review. **Oral Maxillofac Surg**, v. 24, n. 1, p. 743-84, Mar. 2020.

KITISUBKANCHANA, J. *et al.* Odontogenic keratocyst and ameloblastoma: radiographic evaluation. **Oral Radiol**, v. 37, n.1, p. 55-65, Jan. 2021.

KUROYANAGI, N. *et al.* Prognostic factors for keratocystic odontogenic tumor (odontogenic keratocyst): analysis of clinico-pathologic and immunohistochemical findings in cysts treated by enucleation. **J Oral Pathol Med.**, v. 38, n. 4, p. 386-392, Abr. 2009.

LAM, K.Y.; CHAN, A. C. Odontogenic keratocysts: a clinicopathological study in Hong Kong Chinese. **Laryngoscope**, v. 110, n. 8, p. 1328-1332, Ago. 2000.

LEDDERHOF, N.J. *et al.* Topical 5-fluorouracil is a novel targeted therapy for the keratocystic odontogenic tumor. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 75, n. 3, p. 514-524, Mar. 2017.

MELO, G. *et al.* Cell-block as ancillary tool for the diagnosis of cystic and cyst-like jaw lesions. **Diagn Cytopathol**, v. 48, n. 8, p. 717-723, Fev. 2020.

MENON, S. Keratocystic Odontogenic Tumours: Etiology, Pathogenesis and Treatment Revisited. **J Maxillofac Oral Surg**, v. 14, n. 3, p. 541-547, Set. 2015.

MOELLMANN, H. L. *et al.* Comparison of Five Different Treatment Approaches of Mandibular Keratocystic Odontogenic Keratocyst (OKC): A Retrospective Recurrence Analysis of Clinical and Radiographic Parameters. **J Maxillofac Oral Surg.**, v. 23, n. 1, p. 145-151, Fev. 2024.

MOHANTY, S. *et al.* Surgical management of the odontogenic keratocyst: A 20-year experience. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 50, n. 9, p. 1168-1176, Set. 2021.

MYOUNG, H. *et al.* Odontogenic keratocyst: Review of 256 cases for recurrence and clinicopathologic parameters. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 91, n. 3, p. 328-333, Mar. 2001.

NARUSE, T. *et al.* Histopathological and immunohistochemical study in keratocystic odontogenic tumors: Predictive factors of recurrence. **Oncol Lett.**, v. 13, n. 5, p. 3487-3493, Mai. 2017.

NEVILLE, B.W. *et al.* Patologia Oral e Maxilofacial. Trad. 4a ed., Rio de Janeiro, **Guanabara Koogan**, Elsevier, 2016, 912p.

OGINNI, F. O. *et al.* An evidence-based surgical algorithm for management of odontogenic keratocyst. **Oral Maxillofac Surg**, v. 27, n. 2, p. 201-212, Jun. 2023.

PAYNE, T. F. An analysis of the clinical and histopathologic parameters of the odontogenic keratocyst. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v. 33, n. 4, p. 538-546, Abr. 1972.

POGREL, M. A. The keratocystic odontogenic tumour (KCOT) - an odyssey. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 44, n. 12, p. 1965-1968, Mar. 2015.

SANTOS, K. R. P. *et al.* Manual de técnica histológica de rotina e de colorações. 1ª ed. **Vitória de Santo Antão**, 2021, 32p.

SIWACH, P. *et al.* Controversies in Odontogenic Tumours: Review. **Sultan Qaboos Univ Med J**, v. 17, n. 3, p. 268-276, Ago. 2017.

SOLUK-TEKKESIN, M.; WRIGHT J. M. The World Health Organization classification of Odontogenic lesions: a summary of the changes of the 2017 (4th) edition. **Turk Patoloji Derg**, v. 34, n.1, p. 1-18, 2018.

SOLUK-TEKKESIN, M.; WRIGHT J. M. The World Health Organization Classification of Odontogenic Lesions: A summary of the changes of the 2022 (5th) edition. **Turk Patoloji Derg**, v. 38, n.1, p. 168-184, 2022.

WANG Y. *et al.* Endoscopic-assisted enucleation of large mandibular odontogenic cysts. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radio**, v. 129, n. 2, p. 115-119, Fev. 2020.

WINTERS R. *et al.* Safety and efficacy of adjunctive therapy in the treatment of odontogenic keratocyst: a systematic review. **Br J Oral Maxillofac Surg.**, v. 61, n. 5, p. 331-336, Jun. 2023.