

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

**Estudo da Distribuição e Quantificação dos Linfócitos CD8 e CD20  
nas Lesões Inflamatórias Periapicais Crônicas**

CHRISTINE KALVELAGE PHILIPPI

DISSERTAÇÃO APRESENTADA COMO PARTE DOS  
REQUISITOS OBRIGATÓRIOS PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO  
DE MESTRE EM ODONTOLOGIA NA ÁREA DE  
CONCENTRAÇÃO EM PATOLOGIA BUCAL

Prof. Dr. Pantelis Varvaki Rados

Orientador

Porto Alegre, 2001.

*Dedico este trabalho aos meus pais, por terem me dado a vida e a oportunidade de realizar este sonho. E, a Deus, pois sem Ele nada seria possível.*

## RESUMO

A lesão inflamatória periapical é uma patologia bastante frequente, sendo na maioria dos casos, consequência da cárie dental. O objetivo deste trabalho foi quantificar as populações linfocitárias CD8+ e CD20+ em lesões inflamatórias periapicais crônicas. Foram utilizadas 90 lesões inflamatórias periapicais. Através da técnica de imunohistoquímica pelo método da estreptoavidina-biotina, utilizou-se os marcadores CD8 e CD20 para identificação dos linfócitos T citotóxicos/supressores e linfócitos B, respectivamente. A contagem das células foi feita em 3 campos microscópicos da lâmina, mantendo-se um aumento de 400 vezes. A média da contagem das células CD8+ foi de 7,72 células para os cistos inflamatórios, enquanto que nos grupos cisto abscedado e abscesso crônico foi 11,25 e 11,62, respectivamente, com diferença estatisticamente significativa. A média da contagem das células CD20+ foi 12,19; 11,06 e 12,91 células nos cistos abscedados, cistos inflamatórios e abscessos crônicos, respectivamente, sem diferença estatisticamente significativa. As lesões inflamatórias periapicais supuradas apresentaram número maior de linfócitos CD8+ do que as lesões não supuradas e; a presença de supuração e proliferação epitelial nas lesões não interferiu na quantidade de linfócitos CD20+ presentes.

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 01 – Fotomicrografia de um abscesso crônico mostrando a presença de neutrófilos em diferentes estágios de vitalidade e do infiltrado linfoplasmocitário. Coloração H/E. Aumento aproximado de 400x..... 34
- FIGURA 02 – Fotomicrografia de um cisto inflamatório mostrando uma cavidade revestida por epitélio estratificado pavimentoso hiperplásico. Observa-se ainda a presença de cápsula fibrosa e infiltrado linfoplasmocitário. Coloração H/E. Aumento aproximado de 100x..... 34
- FIGURA 03 – Fotomicrografia de um cisto abscedado mostrando uma cavidade revestida por epitélio em degeneração. Observa-se a presença de células do pus e do infiltrado inflamatório crônico. Coloração H/E. Aumento aproximado de 100x ..... 35
- FIGURA 04 – Fotomicrografia de lesão periapical mostrando células consideradas positivas: marcação completa da membrana citoplasmática e observação do núcleo. Reação imunohistoquímica para CD20. Aumento aproximado de 400x ..... 37
- FIGURA 05 – Fotomicrografia de cisto inflamatório mostrando a presença do infiltrado linfocitário de forma difusa, na zona sub-epitelial. Reação imunohistoquímica para CD08. Aumento aproximado de 40x ..... 38
- FIGURA 06 – Fotomicrografia de cisto inflamatório mostrando a presença do infiltrado linfocitário de forma focal, na zona sub-epitelial. Reação imunohistoquímica para CD08. Aumento aproximado de 40x ..... 39

## LISTA DE TABELAS

TABELA 01 – Frequência e porcentagem dos diagnósticos histopatológicos das lesões estudadas .....	40
TABELA 02 – Frequência e porcentagem da idade dos pacientes estudados .....	41
TABELA 03 – Frequência e porcentagem do sexo dos pacientes estudados .....	41
TABELA 04 – Frequência e porcentagem da raça dos pacientes estudados .....	42
TABELA 05 – Frequência e porcentagem da localização anatômica das lesões estudadas .....	42
TABELA 06 – Comparação da contagem de células CD8 entre os tipos de diagnósticos.....	43
TABELA 07 – Comparação da contagem de células CD20 entre os tipos de diagnósticos.....	44
TABELA 08 – Cruzamento entre diagnóstico e distribuição linfocitária – CD8 .....	48
TABELA 09 – Cruzamento entre diagnóstico e distribuição linfocitária – CD20 .....	49

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 01 – Comparação da contagem de células CD8 entre os tipos de diagnóstico .....	44
GRÁFICO 02 – Comparação da contagem de células CD20 entre os tipos de diagnóstico .....	45

## SUMÁRIO

DEDICATÓRIA .....	02
RESUMO .....	03
LISTA DE FIGURAS .....	04
LISTA DE TABELAS .....	05
LISTA DE GRÁFICOS .....	06
INTRODUÇÃO .....	09
REVISÃO DE LITERATURA.....	11
PROPOSIÇÃO.....	32
MATERIAL E MÉTODOS .....	33
RESULTADOS.....	41
DISCUSSÃO .....	51
CONCLUSÃO .....	62
SUMMARY .....	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

### ANEXOS:

Anexo 1 – Coloração pela Hematoxilina e Eosina

Anexo 2 – Técnica de Imunohistoquímica

Anexo 3 – Avaliação Quantitativa

Anexo 4 – Avaliação Qualitativa



## INTRODUÇÃO

A lesão inflamatória periapical é uma patologia bastante frequente, sendo na maioria dos casos, consequência da cárie dental (SANT'ANA FILHO e RADOS, 1998). A formação dessa lesão representa uma reação de defesa do hospedeiro, decorrente da presença de bactérias no canal radicular e seus produtos tóxicos na região periapical (NEVILLE et al., 1998).

Para SIMON (1997), o abscesso crônico, granuloma e cisto periapical são lesões crônicas consequentes do equilíbrio dinâmico entre os mecanismos de defesa e a infecção proveniente do canal radicular.

O sistema imunológico é um complexo de várias células cuja principal função é reconhecer os antígenos que penetram no organismo e neutralizá-los e/ou eliminá-los (SIQUEIRA JR. e DANTAS, 2000).

As lesões periapicais crônicas são infiltradas predominantemente por linfócitos, plasmócitos e macrófagos. De acordo com ROITT, BRUSTOFF e MALE (1992) e ABBAS et al. (2000), os linfócitos são responsáveis pelo reconhecimento imune específico dos patógenos e pelo desenvolvimento das respostas imunes adaptativas. Estas células se originam na medula óssea, sendo os linfócitos T

diferenciados no timo e participantes da imunidade mediada por célula; e os linfócitos B na medula óssea, e produtores de anticorpos (imunidade humoral).

As características morfológicas dos linfócitos são semelhantes, mas estes podem ser diferenciados através de técnicas especiais, utilizando os receptores presentes nas suas membranas (SIQUEIRA JR. e DANTAS, 2000). Os linfócitos B e T auxiliares, citotóxicos/supressores podem ser identificados por determinadas proteínas presentes na membrana celular. Estes marcadores de membrana presentes na superfície de leucócitos e plaquetas, distinguíveis por anticorpos monoclonais, utilizados para diferenciar populações celulares são definidos como “cluster of differentiation” (CD). O CD4 está presente nos linfócitos T auxiliares, o CD8 nos linfócitos T citotóxicos/supressores e, o CD20 nos linfócitos B (ROITT, BRUSTOFF e MALE; 1999).

Existe na literatura, uma variação quanto à concentração e distribuição dos linfócitos T e B nas lesões inflamatórias do periápice (NILSEN et al., 1984; TORABINEJAD e KETTERING, 1985; KONTIAINEN, RANTA e LAUTENSCHLAGER, 1986; GAO et al., 1988; TANI et al., 1992).

Frente ao exposto, buscaremos identificar e quantificar as populações de linfócitos CD8<sup>+</sup> e CD20<sup>+</sup> em lesões inflamatórias do periápice.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1. Lesões Inflamatórias Periapicais

De modo geral, as lesões inflamatórias periapicais são consequência da cárie dentária. As agressões microbianas, com o passar do tempo, atingem o limite amelodentinário, invadem os canalículos da dentina, resultando no comprometimento pulpar (pulpites). Seguindo o curso natural, ocorre a necrose pulpar e proliferação bacteriana na câmara pulpar e canais radiculares. Através do forame principal, os microorganismos e seus produtos tóxicos atingem os tecidos periapicais, desencadeando uma reação inflamatória local, aguda ou crônica, dependendo da intensidade e duração do agente agressor e da capacidade de defesa do hospedeiro. Se for estabelecida uma reação inflamatória crônica, haverá a formação de tecido de granulação, formando o granuloma periapical. Os restos epiteliais de Malassez (presentes no periodonto normal) podem proliferar, e com o tempo determinar o aparecimento de uma cavidade, isto é, o cisto periapical. Convém resaltar ainda, o fato de que os agentes físicos e químicos também estão envolvidos na etiologia da inflamação de um modo geral e nos processos periapicais (BARBACHAN, 1977).

As lesões periapicais crônicas são geralmente assintomáticas. O paciente pode relatar que o dente está sensível à pressão e à percussão (BARBACHAN, 1977;

SHAFER, HINE e LEVY, 1987; BHASKAR, 1989; SANT'ANA FILHO e RADOS, 1998). Pode haver ainda, a presença de fístula, linfadenopatia regional, mobilidade dentária e volume aumentado na região apical. A mucosa bucal na região periapical do dente pode estar dolorida e avermelhada. A polpa dentária está necrosada. A coroa dentária pode apresentar-se escurecida, com pequenas restaurações, cáries ou até destruição total (SANT'ANA FILHO e RADOS, 1998). Frequentemente, as lesões crônicas são descobertas durante exame radiográfico de rotina (BARBACHAN, 1977; REGEZI e SCIUBBA, 1991).

Radiograficamente, existe a tendência de descrever o abscesso apical crônico, como uma imagem radiolúcida arredondada, com bordas esfumaçadas, na região periapical do dente envolvido (DOMINGUES e ROSA, 1989). Tanto no granuloma como no cisto periapical, observa-se uma imagem radiolúcida, bem delimitada, podendo estar envolta por uma linha radiopaca que representa a esclerose óssea (SHAFER, HINE e LEVY, 1987; COLEMAN e NELSON, 1996). O ápice do dente envolvido pode estar reabsorvido. Existe uma tendência dos granulomas medirem menos que 10mm e os cistos periapicais serem lesões maiores (FREITAS, ROSA e SOUZA, 1998).

Para LINENBERG et al. (1964); BARBACHAN (1977); SHAFER, HINE e LEVY (1987) e KIZIL e ENERGIN (1990), não é possível fazer o diagnóstico diferencial radiográfico entre as lesões inflamatórias crônicas do periápice.

Histopatologicamente, no abscesso apical crônico, encontra-se uma cavidade repleta de pus, contornada por uma membrana piogênica e tecido de granulação. Também podem ser encontrados espaços de cristais de colesterol e células gigantes multinucleadas (SANT'ANA FILHO e RADOS, 1998).

No granuloma periapical observa-se tecido de granulação, isto é, infiltrado inflamatório crônico (linfócitos, plasmócitos e macrófagos), fibroblastos, fibras colágenas e vasos neoformados. Dentro do tecido de granulação podem ser encontrados restos epiteliais de Malassez ou cordões de tecido epitelial (DOMINGUES e ROSA, 1989; REGEZI e SCIUBBA, 1991; NOBUHARA e DEL RIO, 1993; RAMACHANDRAN NAIR, 1996; SANT'ANA FILHO e RADOS, 1998). Cristais de colesterol também podem estar presentes. Na porção central da lesão, as células são predominantes, e na periferia nota-se uma cápsula fibrosa (DELZANGLES, BOY-LEFEVRE e FOREST, 1997; SANT'ANA FILHO e RADOS, 1998).

O cisto periapical é constituído por uma membrana conjuntivo-epitelial, que contorna uma cavidade patológica. O epitélio que reveste a cavidade é do tipo estratificado pavimentoso, podendo ter espessura variável. Para ANTOH et al. (1993), geralmente os cistos radiculares são revestidos por epitélio estratificado pavimentoso não-ceratinizado derivado dos restos epiteliais de Malassez ou epitélio respiratório do seio maxilar. No tecido conjuntivo nota-se linfócitos e plasmócitos, cristais de colesterol e células gigantes multinucleadas. Externamente a lesão é envolta por uma cápsula fibrosa, composta por fibras colágenas e infiltrado

inflamatório crônico (BARBACHAN, 1977; DOMINGUES e ROSA, 1989; NOBUHARA e DEL RIO, 1993; LIN et al., 1996; SANT'ANA FILHO e RADOS, 1998). De acordo com SHAFER, HINE e LEVY (1987); REGEZI e SCIUBBA (1991), no tecido conjuntivo também podem ser encontrados corpúsculos de Russel e hemossiderina. Em alguns casos, pode ser encontrado pus, tanto na cavidade como no tecido conjuntivo da lesão, caracterizando um cisto abscedado (SANT'ANA FILHO e RADOS, 1998). Segundo SYRJÄNEN et al. (1982), o cisto periapical é uma lesão que apresenta proliferação epitelial, não necessitando a presença de uma cavidade.

Muitos pesquisadores (BAUMANN e ROSSMAN, 1956; QUADROS, 1962; PATTERSON et al., 1964; BHASKAR, 1966; LALONDE e LUEBKE, 1968; STOCKDALE e CHANDLER, 1988; ZAIN et al., 1989; SPATAFORE et al., 1990; WAYMAN et al., 1992; NOBUHARA e DEL RIO, 1993; RAMACHANDRAN NAIR et al., 1996) divergem quanto a maior ou menor incidência das lesões inflamatórias periapicais, pois não existe um consenso entre os vários autores na definição microscópica das lesões periapicais (LANGELAND et al.; 1977). De acordo com QUADROS (1962), para a determinação da incidência das lesões apicais é necessário o uso de cortes seriados.

O tratamento das lesões periapicais crônicas consiste na remoção da causa seguido do controle radiográfico periódico até a constatação da reparação dos tecidos apicais (SHAFER, HINE e LEVY, 1987; BHASKAR, 1989; DOMINGUES E ROSA, 1989).

## **2. Avaliação Quantitativa da Resposta Imunológica nas Lesões Apicais**

Em 1978, PULVER, TAUBMAN e SMITH analisaram 13 lesões periapicais (10 granulomas, 2 cistos e 1 cicatriz periapical). Nos granulomas periapicais, células produtoras de Ig (Imunoglobulina) G, Ig A, Ig M e Ig E representam 70, 14, 4 e 10% respectivamente, das células contendo imunoglobulinas observadas. Nos cistos radiculares, células produtoras de Ig G, Ig A, Ig M e Ig E representam, 45, 45, 5 e 5% respectivamente, das células contendo imunoglobulinas observadas.

Sete cistos radiculares foram analisados histologicamente e através de microscopia eletrônica por COHEN (1979). Todos os cistos examinados estavam revestidos por epitélio estratificado pavimentoso não ceratinizado que variou em espessura, nas diferentes lesões. O epitélio estava infiltrado predominantemente por leucócitos polimorfonucleares neutrófilos, enquanto a cápsula de tecido conjuntivo estava infiltrada predominantemente por células inflamatórias crônicas.

O exame histológico realizado por TORABINEJAD e KETTERING (1979), utilizando a técnica de imunofluorescência anticomplemento mostrou que, das 25 lesões periapicais analisadas, 23 continham células inflamatórias, tal como linfócitos, plasmócitos, leucócitos polimorfonucleares e macrófagos. Duas lesões foram diagnosticadas como tecido cicatricial e possuíam poucas células inflamatórias.

Vinte e três lesões estavam coradas positivamente para complexos antígeno-anticorpo e, nenhuma coloração foi observada nas 2 lesões que foram diagnosticadas histologicamente como cicatriz periapical. Estes achados indicam que complexos imunes estão presentes em lesões periapicais humanas.

Vinte lesões periapicais crônicas (15 granulomas e 5 cistos) foram analisadas por STERN et al. (1981) com o objetivo de quantificar as células produtoras de imunoglobulinas existentes nestas lesões. Observou-se que a maioria dos linfócitos (81%) não estava associada com a produção de imunoglobulinas. Das células produtoras de anticorpos, 74% sintetizaram Ig G, 20% Ig A, 4% Ig E e 2% Ig M. Não houve diferença significativa na distribuição de imunoglobulinas entre as formas sólidas e císticas de lesões periapicais.

STERN et al. (1981) utilizaram o método morfométrico modificado de quantificação celular para a contagem celular em 25 granulomas e 8 cistos periapicais. Os macrófagos foram as células inflamatórias predominantes, seguidos pelos linfócitos, plasmócitos e neutrófilos. Os macrófagos constituíram 24%, linfócitos 16%, plasmócitos 7%, neutrófilos 4%, fibroblastos 40%, elementos vasculares 6% e células epiteliais 5% das células totais. Quando consideradas somente as células inflamatórias, os macrófagos formaram 46,55%, linfócitos 31,97%, plasmócitos 17,94% e neutrófilos 8,11% do total celular. Nenhuma diferença significativa foi observada na composição celular inflamatória de lesões periapicais em pacientes que tinham ou não recebido tratamento endodôntico antes da cirurgia. Também não foram observadas diferença significativa na composição

celular inflamatória entre granulomas e cistos periapicais. A presença de uma proporção significativa de linfócitos no granuloma periapical sugere uma função do sistema imune no desenvolvimento desta lesão. Portanto, o granuloma periapical humano reflete um complexo de reações inflamatórias imunológicas e não imunológicas.

Através da técnica de imunofluorescência indireta e coloração ANAE (“acid  $\alpha$ -naphthyl acetate esterase”), SKAUG, NILSEN e MATRE (1982) estudaram 50 lesões periapicais crônicas (25 granulomas e 25 cistos) com o objetivo de verificar a presença de macrófagos e linfócitos T. Observou-se que linfócitos T, linfócitos T auxiliar, linfócitos T supressor/citotóxico e monócitos estavam presentes nas lesões em quantidades variadas. Os resultados sugerem que reação imune celular está envolvida nas lesões inflamatórias periapicais.

Da mesma forma, para STERN et al. (1982), a grande quantidade de linfócitos T nos granulomas sugere que o sistema imune mediado por células exerce uma função na patogenia das lesões periapicais.

De acordo com TORABINEJAD (1983) neutrófilos, plasmócitos e linfócitos podem ser observados no epitélio proliferante dos cistos apicais. Ele sugere também que a formação da cavidade no epitélio de lesões periapicais é mediada por reações imunológicas e está relacionada com a descontinuidade do revestimento epitelial da maioria dos cistos.

CYMERMAN et al. (1984) examinaram 7 lesões periapicais crônicas de origem endodôntica, com o objetivo de identificar subpopulações de linfócitos T através do uso de anticorpos monoclonais. Seis lesões foram diagnosticadas como granulomas e continham linfócitos T auxiliar e linfócitos T citotóxico/supressor no seu interior. Uma lesão, diagnosticada como cicatriz apical, não apresentou linfócitos T. Segundo os autores, o número de linfócitos T auxiliar foi similar ao número de linfócitos T citotóxico/supressor na mesma lesão. Todos os linfócitos T estavam agrupados em focos discretos, distribuídos de maneira não uniforme por toda a lesão.

JOHANNESSEN et al. (1984) analisaram 36 lesões periapicais crônicas (15 granulomas e 21 cistos) utilizando a reação de coloração ANAE (“acid  $\alpha$ -naphthyl acetate esterase”), com o objetivo de obter informações adicionais sobre a natureza e distribuição das células inflamatórias. Linfócitos T contendo um ou poucos grânulos reativos para ANAE foram observados em grupos ou como células separadas, por todo o infiltrado celular. Em algumas lesões periapicais, linfócitos T positivos isolados foram também observados no interior da camada epitelial. Os linfócitos T foram as células predominantes (23%), seguidos pelos plasmócitos (15%) e monócitos/macrófagos (11%). O número de células ANAE positivas variou consideravelmente entre as lesões periapicais, e nenhuma diferença evidente foi observada entre o número de células ANAE positivas de granulomas e cistos. Os resultados sugerem que reações imunes humoral e celular estão, provavelmente, ocorrendo em lesões inflamatórias periapicais.

NILSEN et al. (1984) utilizaram anticorpos monoclonais para identificar as várias subpopulações de células mononucleares em 20 lesões periapicais inflamatórias. As especificidades dos anticorpos monoclonais utilizados foram: anticorpo OKT4 reagente com o linfócito T auxiliar e o anticorpo OKT8 reagente com o linfócito T supressor/citotóxico. Linfócitos T auxiliar e linfócitos T supressor/citotóxico estavam presentes em todas as lesões. O número de linfócitos T auxiliar superou os linfócitos T supressor/citotóxico na proporção de 2:1. Os linfócitos T auxiliar foram encontrados em placas, pequenos grupos de 3 ou 4 células e como células solitárias. Linfócitos OKT4 e OKT8 positivos estavam presentes dentro do epitélio proliferante. Os anticorpos OKT8 reagem tanto com linfócitos T supressor como com linfócitos T citotóxico, não sendo possível fazer a diferenciação entre estas duas subpopulações de linfócitos T. Os resultados deste estudo confirmam que subpopulações de linfócitos T estão presentes em grande número em lesões periapicais inflamatórias. Estes achados, junto com a ocorrência de linfócitos B e plasmócitos, indicam que mecanismos imunes celular e humoral estão envolvidos na patogenia dos granulomas e cistos periapicais.

TORABINEJAD e KETTERING (1985) estudaram 13 lesões periapicais humanas (9 granulomas e 4 cistos) coradas pela técnica imunoperoxidase indireta, com a finalidade de detectar a presença de linfócitos T e B. Os resultados mostraram que todas as lesões apresentavam linfócitos T e B, porém o número total de linfócitos T foi maior que o número de linfócitos B. Nenhuma diferença estatística significativa foi encontrada entre o número de linfócitos T auxiliar e linfócitos T supressor, tanto em granulomas como cistos periapicais. A presença dos linfócitos T em lesões

periapicais indica que reações mediada por células participam na patogenia destas lesões. Da mesma forma, a presença de linfócitos B em todas as lesões periapicais indica que células precursoras para resposta humoral também estão presentes em lesões periapicais.

JOHANNESSEN (1986) estudou 20 lesões inflamatórias periapicais, sendo 10 agudas (com sintomatologia) e 10 crônicas (assintomáticas). O objetivo foi verificar a distribuição relativa de células inflamatórias esterase positivas nas lesões periapicais. As lesões agudas apresentaram amplo infiltrado de células inflamatórias. Foram observados, através da coloração por ANAE, grupos de plasmócitos, muitas vezes revestindo os capilares. Pequenos grupos de linfócitos T foram observados nos infiltrados. As lesões periapicais crônicas mostraram mais tecido fibroso e pouco infiltrado celular. Os plasmócitos foram as células predominantes nas lesões agudas (27%), enquanto os linfócitos T predominaram nas lesões crônicas (25%). A localização subepitelial do infiltrado inflamatório em cistos periapicais indica que o fluido cístico contendo antígenos é capaz de manter o processo inflamatório.

Nove lesões periapicais (6 granulomas e 3 cistos) foram avaliadas por KONTIAINEN, RANTA e LAUTENSCHLAGER (1986). Entre as células infiltradas nas lesões periapicais, os linfócitos foram dominantes. Analisando suas subpopulações, os linfócitos T foram duas vezes mais frequentes que os linfócitos B. Já os linfócitos T supressor/citotóxico foram também, duas vezes mais numerosos que os linfócitos T auxiliar.

YU e STASHENKO (1987) realizaram exposições pulpares experimentais em molares de 40 ratos. Nos dias 15, 20, 30 e 90 após a indução das lesões, células inflamatórias de lesões periapicais foram isoladas e contadas através de critérios morfológicos e fenotípicos. Os linfócitos foram as células predominantes, com aproximadamente 50 a 60% do infiltrado celular. Os neutrófilos polimorfonucleares também estavam presentes em grande número (25 a 40%). Os macrófagos/monócitos, “blastos”, eosinófilos e plasmócitos formaram a minoria dos componentes, somando de 10 a 15% das células inflamatórias isoladas. Os linfócitos T foram continuamente mais numerosos, indicando que lesões periapicais são dominadas por linfócitos T, tanto na fase inicial como na fase mais crônica da lesão.

BARKHORDAR e DESOUZA (1988) examinaram 15 lesões periapicais, sendo que 14 foram diagnosticadas como granuloma e foram positivamente coradas para linfócitos T auxiliar e citotóxico/supressor. A outra lesão foi diagnosticada como cicatriz apical e não continha linfócitos T. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre o número de linfócitos T auxiliar e linfócitos T citotóxico/supressor. A presença de linfócitos T indica a existência de reação imune celular local na etiopatogenia das lesões periapicais inflamatórias.

De acordo com o estudo realizado por GAO et al. (1988), nos cistos periapicais, os linfócitos estão geralmente presentes em infiltrados difusos, mas a maioria das células positivas estão localizadas perto do revestimento epitelial com pouco infiltrado focal denso ou grupos de células positivas. Células CD4 positivas (linfócitos T auxiliar) estão geralmente igualadas ou em maior quantidade que

células CD8 positivas (linfócitos T supressor/citotóxico). As células CD4 positivas foram observadas abaixo do revestimento epitelial ou ao redor do epitélio proliferado, sugerindo que estas seriam responsáveis pela proliferação do epitélio. As células CD8 positivas foram muito mais vezes encontradas dentro do epitélio. O limite da proporção celular CD4/CD8 positiva indica a natureza complexa da interação imune em lesões periapicais. Esta proporção pode ser afetada por vários fatores, incluindo o estágio da lesão.

Exposições pulpare experimentais foram realizadas em molares de 29 ratos. Nos dias 15, 20, 30 e 90 após a indução das lesões, células inflamatórias foram isoladas das lesões periapicais, e linfócitos T auxiliar, T supressor, e todos os linfócitos T foram identificados através da reatividade com os anticorpos monoclonais. A porcentagem total de células inflamatórias identificadas como linfócitos T permaneceu constante durante o período de observação, variando de 34,7 a 39,3%. O número de linfócitos T auxiliar apresentou proporção maior no 15º dia, diminuindo nos momentos posteriores, enquanto o número de linfócitos T supressor aumentou constantemente entre os dias 15 e 90. Durante a fase ativa do desenvolvimento da lesão (dia 15), linfócitos T auxiliar superaram em número os linfócitos T supressor ( $Ta/Ts=1,7$ ). Porém, no dia 20, quando a expansão da lesão tinha diminuído, a proporção  $Ta/Ts$  foi invertida (0,9) e permaneceu deste modo até o dia 90 ( $Ta/Ts=0,7$ ). Os resultados indicam que atividades mediadas por linfócitos T auxiliar podem ser importantes na expansão da lesão periapical, enquanto que as funções dos linfócitos T supressor podem estar envolvidas na estabilização da lesão. Portanto, os linfócitos T auxiliar predominaram durante a fase ativa do

desenvolvimento da lesão, enquanto que os linfócitos T supressor estavam associados com a fase crônica. A inversão da proporção Ta/Ts indica que as respostas imunes que ocorrem nas lesões periapicais são altamente reguladas. A predominância de linfócitos T auxiliar durante a fase ativa do desenvolvimento da lesão sugere que atividades mediadas por linfócitos T auxiliar podem estar envolvidas na destruição óssea e ativação celular imune dentro das lesões periapicais (STASHENKO e YU, 1989).

As características ultraestruturais de 40 lesões periapicais crônicas, incluindo tecido mole e superfície radicular, foram analisadas por BOHNE (1990). Um grande número de linfócitos e plasmócitos foram encontrados no tecido conjuntivo dos granulomas e cistos. Somente poucos linfócitos tinham invadido, esporadicamente, o revestimento epitelial da parede cística.

A prevalência de linfócitos T e B em lesões periapicais, através da técnica de imunofluorescência, foi estudada por LUKIC et al. (1990). As 20 lesões examinadas foram diagnosticadas como granulomas. Observou-se que linfócitos T foram mais numerosos em infiltrados difusos, enquanto que os linfócitos B prevaleceram em infiltrados focais. Os linfócitos T supressor/citotóxico foram predominantes em granulomas com epitélio proliferante e formação cística inicial.

Infecção bacteriana da polpa dental resulta em destruição pulpar e estimula conseqüentemente, uma resposta inflamatória e reabsorção do osso no periápice. A presença de componentes celulares agudos e crônicos é resultado da superposição de respostas celulares observada em muitas infecções bacterianas crônicas. A lesão

periapical, que representa uma resposta de defesa local, é constituída por um acúmulo de células inflamatórias que atuam para limitar a infecção do canal radicular, ou seja, é uma resposta celular protetora do organismo. O controle local do tecido ósseo por citocinas é, provavelmente, um elemento importante no desenvolvimento da patologia periapical (STASHENKO, 1990).

Lesões periapicais de dentes tratados endodonticamente, através da microscopia óptica, foram avaliadas por LIN et al. (1991). Observou-se a presença de células inflamatórias agudas e crônicas, sendo que na maioria dos casos, as células inflamatórias crônicas foram mais numerosas que as agudas. O desenvolvimento do cisto radicular é resultado das reações inflamatória e/ou imunológica dos tecidos periapicais aos irritantes presentes no canal radicular.

PIATTELLI et al. (1991) examinaram 12 granulomas periapicais humanos através da microscopia óptica e eletrônica e, com anticorpos monoclonais. A coloração imunohistoquímica revelou que a maioria das células apresentava estrutura molecular associada com monócitos e macrófagos. Trinta a 35% das células foram identificadas como linfócitos T e 10% como linfócitos B. É importante notar que os mastócitos foram as únicas células inflamatórias encontradas nas regiões periférica, contígua e intermediária da cápsula fibrosa.

MATSUO et al. (1992) investigaram a correlação entre as subpopulações de linfócitos T e células contendo imunoglobulinas (Ig), e a relação entre cada população celular imunocompetente e os achados clínicos dos dentes envolvidos.

Foram analisadas 18 lesões periapicais humanas (11 granulomas e 7 cistos), utilizando a técnica de imunohistoquímica para identificar células CD4+, CD8+ e CD11+. O número de células foi expressada através da média de células coradas positivamente. A porcentagem de células positivas foi calculada pela proporção do número total de células mononucleares no infiltrado inflamatório. A proporção de células CD8+ foi 14,2 e 15,5 para granulomas e cistos periapicais, respectivamente. Nenhuma diferença significativa foi observada entre granulomas e cistos em relação a porcentagem celular. As células CD4+ somaram 2/3 da população de linfócitos T, enquanto as células CD8+ formaram o outro 1/3. Nenhuma relação foi observada entre o número de células CD8+ e células contendo imunoglobulinas. Verificou-se que células CD4+ tendem a aparecer em grupos, enquanto que células CD8+ tendem a estar dispersadas. Sugere-se que linfócitos T podem ter um importante papel no desenvolvimento das lesões periapicais e que células CD11+ podem estar envolvidas no desenvolvimento da sintomatologia clínica.

Através do método da imunoperoxidase indireta, 10 lesões periapicais crônicas humanas foram analisadas, com o objetivo de verificar a presença de células “natural killer” (NK) nestas lesões. Os resultados mostraram presença de células NK em todas as lesões analisadas, em quantidade variável, sugerindo ser uma reação inespecífica ao conteúdo presente no canal radicular. A presença destas células indica que células NK podem desempenhar uma função na patogenia das lesões periapicais (KETTERING e TORABINEJAD, 1993).

MARTON e KISS (1993) estudaram a composição quantitativa das subpopulações de linfócitos T e macrófagos, em 61 lesões periapicais. Estas lesões eram constituídas de linfócitos, neutrófilos, macrófagos, plasmócitos e elementos fibrovasculares. Observou-se também a presença de células espumosas, restos epiteliais de Malassez e corpúsculos de Russell. Doze lesões periapicais caracterizadas como granuloma típico foram estudadas para avaliação quantitativa das subpopulações de células mononucleares, através de anticorpos monoclonais. A porcentagem de células coradas positivamente foi de 29,9% e 25,5% para linfócitos CD8+ e CD4+, respectivamente. A proporção de linfócitos CD4+/CD8+ foi de 0,87. Os resultados apoiam a opinião que reação imune celular pode ter um papel importante na patogenia e manutenção do granuloma periapical. A alta proporção de macrófagos nas lesões sugere que estas células são componentes essenciais do granuloma periapical, realizando funções produtora e reguladora através dos seus mediadores solúveis. Sugere-se que linfócitos T e macrófagos podem realizar um importante papel nos eventos complexos de destruição e reparo tecidual na região periapical.

WALLSTROM et al. (1993) determinaram a função dos linfócitos T na patogenia das lesões periapicais desenvolvidas em ratos, utilizando 15 animais normais e 15 ratos sem timo. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os ratos normais e deficientes, na capacidade de formar lesões periapicais. Isto sugere que animais deficientes poderiam ter alguns linfócitos T funcionais que afetaram outras células inflamatórias ou que neutrófilos foram capazes de reagir, via reação inespecífica, a substâncias quimiotáticas tal como, produtos bacterianos e

leucotrienos B4. Concluiu-se então, que o desenvolvimento de lesões periapicais não é totalmente dependente da presença de linfócitos T.

STASHENKO et al. (1994) realizaram um estudo para determinar as células presentes em lesões periapicais desenvolvidas em ratos. Nos dias 15, 20, 30 e 90 após a indução, células inflamatórias das lesões periapicais foram isoladas e relacionadas, baseado nos critérios morfológicos e fenotípicos. Em todos os momentos, os linfócitos foram o tipo celular predominante (50% a 60%), seguido pelos leucócitos polimorfonucleares (25% a 40%), macrófagos, plasmócitos e “blastos”. A análise fenotípica revelou que linfócitos T auxiliar predominaram nas lesões periapicais durante a fase ativa do desenvolvimento das lesões, enquanto que os linfócitos T supressor predominaram em lesões mais crônicas. No dia 15 após a indução, linfócitos CD4<sup>+</sup> superaram em número os linfócitos CD8<sup>+</sup> e, resultou na proporção CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> de 1,7. No dia 20 e depois, esta proporção foi menor que 1,0. Este resultado indica que alterações imunorreguladoras ocorrem durante o desenvolvimento da lesão periapical. Isto pode indicar que atividade mediada por linfócitos T auxiliar pode ser importante na expansão da lesão periapical, enquanto que linfócitos T supressor podem estar envolvidos na estabilização da lesão.

De acordo com TORABINEJAD (1994), a presença e concentração relativa de linfócitos B e T e suas subpopulações foram determinadas em lesões periapicais através do método da imunoperoxidase indireta. Muitos linfócitos B, linfócitos T supressor e linfócitos T auxiliar foram encontrados nessas lesões, mas os linfócitos T superaram significativamente, em número, os linfócitos B. Parece que os linfócitos T

auxiliar podem participar no desenvolvimento das lesões periapicais, enquanto que os linfócitos T supressor podem diminuir a reatividade imune excessiva, condição para a suspensão do crescimento da lesão. Sugere-se que na patogenia das lesões periapicais ocorre fenômenos múltiplos e não totalmente dependente da presença dos linfócitos.

TANI-ISHII et al. (1995) estudaram a diferença entre a formação de lesão periapical em camundongos normais (16 animais) e camundongos com deficiência de linfócitos T (16 animais), através da técnica de imunohistoquímica. Após 2 semanas, observou-se em camundongos normais e deficientes, formação de lesão periapical com numerosos neutrófilos e ausência de células T. Isto sugere que a formação das lesões periapicais não requer a participação de linfócitos T. Entretanto, lesão periapical de camundongo deficiente possui uma progressão menor quando comparada com aquela de camundongo normal. Sugere-se então, que a progressão de lesão periapical necessita da modulação através de linfócitos T auxiliar.

KAWASHIMA et al. (1996) realizaram a análise imunohistoquímica (método da avidina-biotina) das mudanças temporárias no número e localização dos macrófagos, subpopulações de linfócitos e plasmócitos nas mesmas lesões periapicais experimentalmente induzidas em molares de ratos. As células CD8+ e CD5+ apresentaram um aumento significativo nos 14 dias após a injúria. No 56º dia, as células alcançaram a área periférica das lesões estabelecidas. A presença de células CD4+ foi notável no 14º e 28º dia, e diminuíram levemente no 56º dia. Este estudo mostrou a presença de células inflamatórias e imunocompetentes nas lesões

periapicais, apoiando a idéia que várias reações de defesa, incluindo imunidade humoral, imunidade celular e reação inflamatória inespecífica, estão ocorrendo localmente nas lesões periapicais. Os resultados demonstraram que macrófagos são as células imunocompetentes dominantes durante todos os estágios das lesões periapicais induzidas, sendo que essas células estavam mais evidentes entre os dias 0 e 3. Os macrófagos podem ativar diretamente os linfócitos T auxiliar para iniciar uma resposta imune, e os linfócitos T auxiliar ativados estimulam os linfócitos B a produzir anticorpos. O aumento mais significativo de linfócitos T foi observado entre 14 e 28 dias, enquanto plasmócitos aumentaram significativamente entre 28 e 56 dias.

De acordo com MEGHJI (1996), a formação do cisto radicular está relacionada com as endotoxinas liberadas a partir da polpa dental necrosada. Neste estudo, os 16 cistos radiculares examinados apresentaram graus variados de proliferação epitelial e infiltração leucocitária. Citocinas inflamatórias foram encontradas em quantidade relativamente alta no líquido destas lesões, sugerindo que as endotoxinas têm um papel importante na patogenia do cisto radicular.

TAKAHASHI et al. (1996) avaliaram 27 lesões periapicais (17 granulomas e 10 cistos) através da hibridização *in situ* e imunohistoquímica, confirmando que imunoglobulinas são localmente produzidas pelos plasmócitos no interior de granulomas e cistos periapicais.

ALAVI et al. (1998) analisaram 15 lesões periapicais divididas em 2 grupos: lesões periapicais associadas com dentes não tratados previamente (9 lesões) e,

lesões periapicais que persistiram após tratamento endodôntico “fracassado” (6 lesões). As lesões periapicais associadas com dentes não tratados tinham um infiltrado inflamatório mais denso do que as lesões associadas com dentes tratados previamente. O número total de células por campo foi menor para o grupo de dentes tratados. Em geral, a variação no valor obtido para cada tipo celular foi pequeno, especialmente no grupo de dentes tratados. As proporções de células CD20+, CD3+ e CD4+ foram significativamente maiores nas lesões de dentes não tratados. As diferenças encontradas entre a proporção de células CD8+ nos dois grupos de lesões, não apresentaram significância estatística. O infiltrado linfocitário total (células B e T) foi significativamente diferente entre os dois grupos de lesões. Estes linfócitos estavam presentes em quantidades significativamente maiores em lesões de dentes não tratados. As células T superaram em número as células B em todas as lesões associadas com dentes não tratados, e metade das lesões do grupo de dentes tratados endodonticamente tinham mais células B do que células T.

CURY et al. (1998) compararam o número de células CD30+ em cistos radiculares com epitélio atrófico (11 lesões) e hiperplásico (11 lesões), utilizando uma grade micrométrica. A média de linfócitos CD30+ nas lesões com epitélio hiperplásico (7,6 células) foi estatisticamente maior do que naquelas com epitélio atrófico (2,5 células), sugerindo que células CD30+ estão associadas com o crescimento dos cistos radiculares.

MÁRTON et al. (1998) avaliaram imunohistoquimicamente, através do método da avidina-biotina, 14 lesões periapicais de dentes tratados

endodenticamente. As lesões apresentavam linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, plasmócitos e elementos fibro-vasculares. Em alguns casos também foram encontradas células espumosas, restos epiteliais de Malassez e corpúsculos de Russell. Feixes de fibras colágenas tendiam a formar uma cápsula fibrosa ao redor do tecido central. Grupos de mastócitos foram localizados na cápsula fibrosa. Linfócitos CD4+ e CD8+ estavam sempre presentes e igualmente distribuídos dentro do tecido de granulação. A média de células CD4+ e CD8+ foi de 23 e 34, respectivamente.

SOL et al. (1998) avaliaram 7 lesões periapicais pelos métodos da imunohistoquímica e citometria de fluxo. Os resultados da análise imunohistoquímica demonstraram que os macrófagos foram as células dominantes. Os linfócitos T foram mais numerosos que os linfócitos B em todos os casos. E, na maioria dos casos, os linfócitos CD4+ foram predominantes sobre os linfócitos CD8+. Os resultados da citometria de fluxo mostraram que entre os linfócitos, 23% a 45 % eram linfócitos B, 29% a 47% eram células CD4+ e 17% a 31% eram células CD8+.

Segundo ALEKSEJUNIENE et al. (2000), nenhuma associação pode ser demonstrada entre patologia apical (periodontite apical) e doença sistêmica. Periodontite apical parece não representar o principal risco da saúde geral, mas periodontite apical pode ter um impacto no bem-estar geral do indivíduo.

## **PROPOSIÇÃO**

A partir da literatura consultada é possível constatar o envolvimento do sistema imunológico nos processos inflamatórios periapicais. Nosso objetivo foi quantificar as populações linfocitárias CD8+ (linfócito T citotóxico/supressor) e CD20+ (linfócito B) em lesões inflamatórias periapicais que apresentavam proliferação epitelial e/ou presença de supuração.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1. Obtenção e Seleção da Amostra:**

No período do outubro de 1999 a abril de 2000, foram encaminhadas 170 lesões inflamatórias periapicais ao Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para análise histopatológica. Destas lesões, 90 (34 abscessos crônicos, 17 cistos inflamatórios e 39 cistos abscedados) foram utilizadas para a execução do presente estudo. Para a inclusão dos casos neste estudo foi necessário que a ficha de biópsia informasse o sexo, raça e idade do paciente.

Neste trabalho adotaremos os seguintes critérios histopatológicos para o diagnóstico das lesões. O abscesso crônico é definido como uma cavidade contendo pus, contornada por cápsula fibrosa. O cisto inflamatório é uma cavidade patológica revestida parcial ou totalmente por epitélio estratificado e contornada externamente por cápsula fibrosa com infiltrado inflamatório. O cisto abscedado é uma cavidade patológica revestida parcial ou totalmente por epitélio estratificado, contornada externamente por cápsula fibrosa e contendo, tanto na cavidade como no tecido conjuntivo da lesão, a presença de supuração.

As lesões foram fixadas em formalina a 10% por 24 horas a temperatura ambiente e incluídas em parafina, de acordo com a rotina do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FOUFRGS). Os cortes microscópicos tinham espessura de 3 $\mu$ m, realizados no micrótomo Leica RM2155®.

De cada bloco, foram obtidos 3 cortes montados em 3 lâminas diferentes. Uma das lâminas foi corada pelo método da Hematoxilina e Eosina (Anexo 1) para o diagnóstico histopatológico (Figuras 01, 02 e 03). Foi considerado critério de inclusão a presença da parte central e a porção periférica com a cápsula da lesão. Os outros 2 cortes foram montados em lâminas histológicas silanizadas (S3003, Dako). Realizou-se a técnica de imunohistoquímica da imunoperoxidase pelo método da estreptoavidina-biotina, utilizando os marcadores CD8 e CD20 para identificação dos linfócitos T citotóxicos/supressores e linfócitos B, respectivamente (Anexo 2).

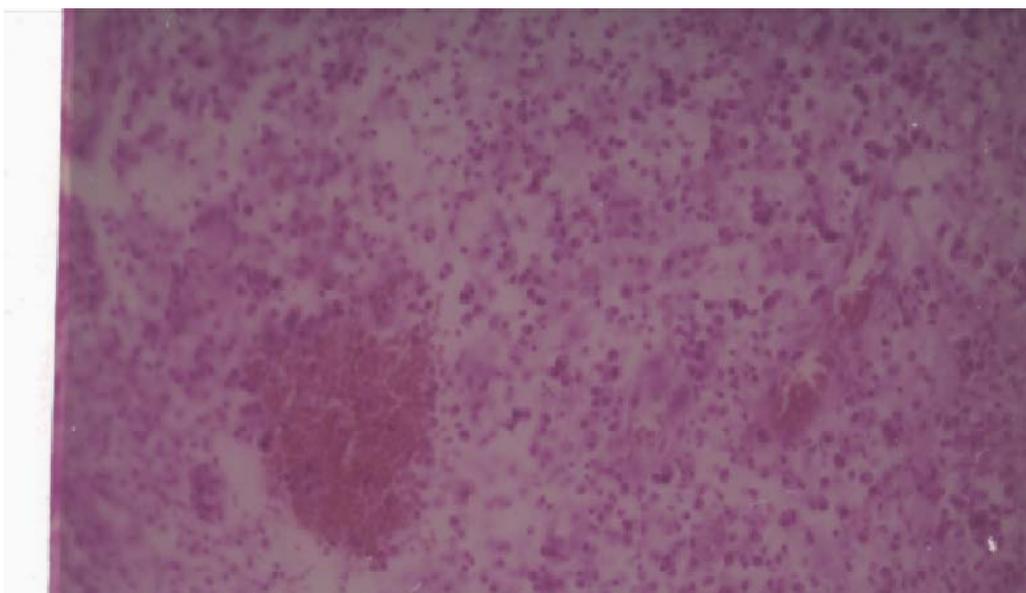


Figura 01 – Fotomicrografia de um abscesso crônico mostrando a presença de neutrófilos em diferentes estágios de vitalidade e do infiltrado linfoplasmocitário. Coloração: H/E. Aumento aproximado: 400X.

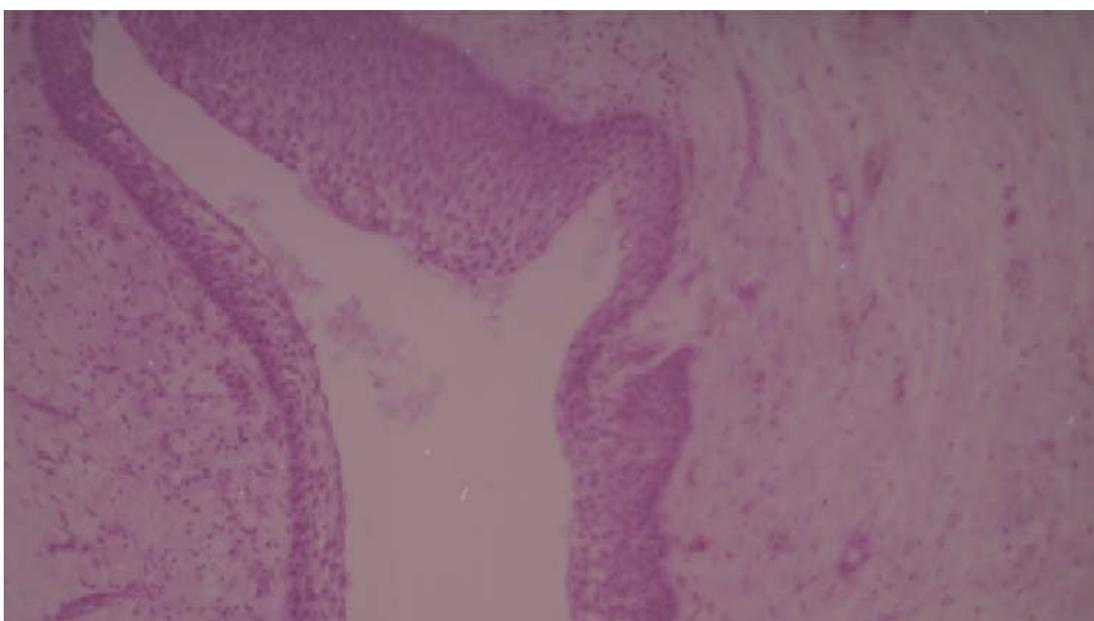


Figura 02 – Fotomicrografia de um cisto inflamatório mostrando uma cavidade revestida por epitélio estratificado pavimentoso hiperplásico. Observa-se ainda a presença de cápsula fibrosa e infiltrado linfoplasmocitário. Coloração: H/E. Aumento aproximado: 100X.

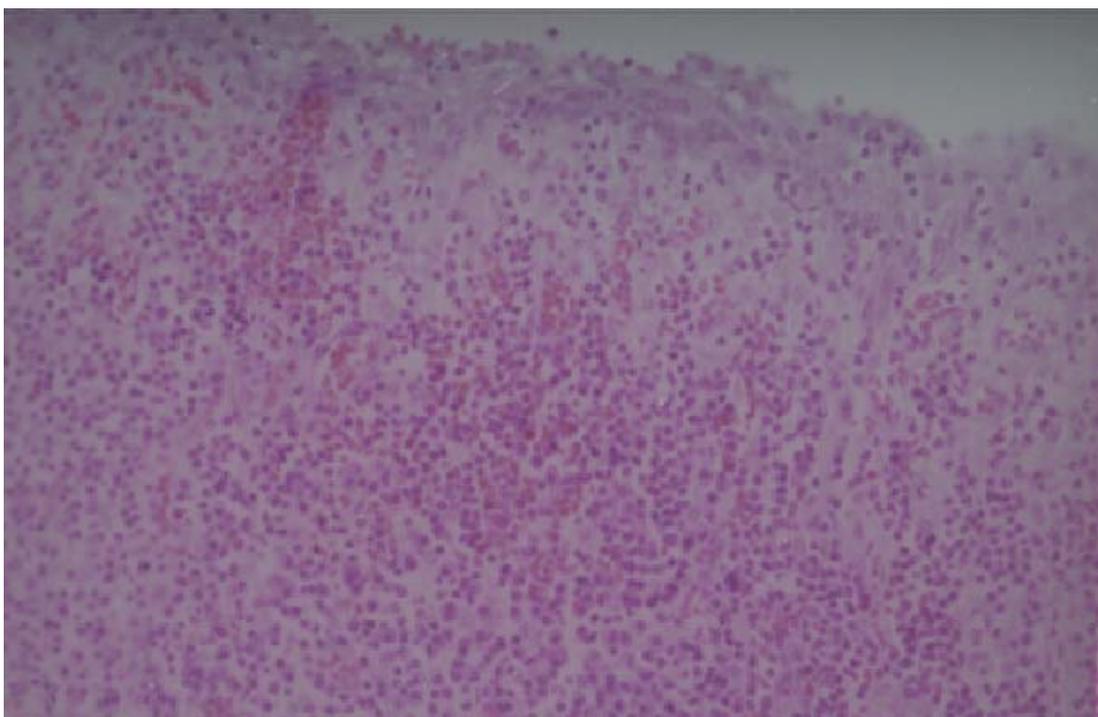


Figura 03 – Fotomicrografia de um cisto abscedado mostrando uma cavidade revestida por epitélio em degeneração. Observa-se a presença de células do pus e do infiltrado inflamatório crônico. Coloração: H/E. Aumento aproximado: 100X.

## **2. Análise Quantitativa:**

As células consideradas positivas (*critério de Positividade*) foram aquelas que mostravam marcação completa da membrana citoplasmática, numa coloração acastanhada, sendo obrigatória também a observação do núcleo (Figura 04).

A quantificação microscópica dos linfócitos T citotóxicos/supressores e linfócitos B, presentes nas lesões examinadas, foi realizada utilizando-se o Sistema de Processamento e Análise de Imagens – IMAGELAB®, instalado em um computador marca UNISYS® associado a um microscópio óptico marca ZEISS®, que tem acoplado uma câmara de vídeo colorida, para a captura das imagens microscópicas e sua transferência para o computador.

A contagem das células coradas positivamente foi feita em 3 campos microscópicos mantendo-se um aumento de 400 vezes. O primeiro campo foi escolhido aleatoriamente, e a seleção dos outros 2 campos foi feita da esquerda para direita, a partir do primeiro campo, finalizando 3 campos microscópicos contíguos e sucessivos (SANT'ANA FILHO, 1995).

Com o auxílio de uma ferramenta do programa de processamento de imagens, as células positivamente marcadas foram assinaladas pelo examinador, sendo a totalização destas células realizada pelo programa do computador.

O número total de células encontrado em cada campo foi anotado em uma tabela (Anexo 3) e, o teste estatístico não paramétrico Kruskal-Wallis foi aplicado sobre os valores obtidos.

Figura 04 – Fotomicrografia de lesão periapical mostrando células consideradas positivas: marcação completa da membrana citoplasmática e observação do núcleo. Reação imunohistoquímica para CD20. Aumento aproximado 400x.

### 3. Análise Qualitativa:

A análise da distribuição das células coradas positivamente pelos anticorpos foi realizada em todas as lâminas (CD8 e CD20), em microscópio óptico, num aumento de 40 vezes, por um examinador.

Foi observado se o infiltrado linfocitário estava presente de forma difusa, focal ou ausente, nas diferentes regiões (zona sub-epitelial, zona infiltrativa de células inflamatórias, cápsula fibrosa e supuração) das lesões (Figuras 05 e 06; Anexo 4).

Figura 05 – Fotomicrografia de cisto inflamatório mostrando a presença do infiltrado linfocitário de forma difusa, na zona sub-epitelial. Reação imunohistoquímica para CD08. Aumento aproximado 40x.

Figura 06 – Fotomicrografia de cisto inflamatório mostrando a presença do infiltrado linfocitário de forma focal, na zona sub-epitelial. Reação imunohistoquímica para CD08. Aumento aproximado 40x.

## RESULTADOS

### 1. Descrição da Amostra:

As afirmativas encontradas neste capítulo referem-se especificamente a esta amostragem, sendo possível a extrapolação para a população em geral somente naquelas situações onde o teste estatístico mostrou significância ( $p < \text{ou} = 0,05$ ).

Das 90 lesões inflamatórias periapicais analisadas neste estudo, 34 (37,8%), 17 (18,9%) e 39 (43,3%) foram diagnosticadas como abscesso crônico, cisto inflamatório e cisto abscedado, respectivamente (Tabela 01).

Tabela 01. Frequência e porcentagem dos diagnósticos histopatológicos das lesões estudadas.

<i>Diagnóstico</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Abscesso Crônico	34	37,8
Cisto Abscedado	39	43,3
Cisto Inflamatório	17	18,9
Total	90	100

Porto Alegre, 2001

A idade dos pacientes variou entre 10 e 67 anos, sendo que os pacientes foram agrupados em 3 faixas etárias. Os pacientes mais atingidos por estas lesões

foram aqueles com idade entre 26 e 45 anos (54,4%), seguidos pelos pacientes com mais de 45 anos (23,3%) e, 22,2% das lesões ocorreram em pacientes com até 25 anos de idade (Tabela 02).

Houve maior frequência de lesões inflamatórias periapicais em pacientes do sexo feminino (52,2%) e da raça branca (74,4%) (Tabelas 03 e 04).

Os dentes 26 (11,1%), 36 (11,1%), 24 (10%), 16 (8,9%) e 46 (8,9%) foram os mais afetados pelas lesões periapicais estudadas (Tabela 05).

É importante salientar que nenhuma lesão periapical foi observada, neste trabalho, relacionada com os dentes 18, 21, 31, 32, 33, 37, 41 e 42.

Tabela 02. Frequência e porcentagem da idade dos pacientes estudados.

<i>Idade (anos)</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Até 25	20	22,2
26 a 45	49	54,5
Mais de 45	21	23,3
Total	90	100

Porto Alegre, 2001

Tabela 03. Frequência e porcentagem do sexo dos pacientes estudados.

<i>Sexo</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Masculino	43	47,8
Feminino	47	52,2
Total	90	100

Porto Alegre, 2001

Tabela 04. Frequência e porcentagem da raça dos pacientes estudados.

<i>Raça</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
Branca	67	74,4
Negra	23	25,6
Total	90	100

Porto Alegre, 2001

Tabela 05. Frequência e porcentagem da localização anatômica das lesões estudadas.

<i>Localização</i>	<i>f</i>	<i>%</i>
11	1	1,1
12	4	4,4
13	2	2,2
14	3	3,3
15	4	4,4
16	8	8,9
17	3	3,3
22	3	3,3
23	1	1,1
24	9	10,0
25	4	4,4
26	10	11,1
27	1	1,1
28	3	3,3
34	1	1,1
35	1	1,1
36	10	11,1
38	3	3,3
43	1	1,1
44	3	3,3
45	3	3,3
46	8	8,9
47	2	2,2
48	1	1,1
Não informado	1	1,1
Total	90	100

Porto Alegre, 2001

## 2. Análise Quantitativa:

A média da contagem das células CD8+ foi de 7,72 células para os Cistos Inflamatórios, enquanto que nos grupos Cisto Abscedado e Abscesso Crônico foi 11,25 e 11,62 células, respectivamente (Tabela 06 e Gráfico 01).

Os grupos de diagnósticos foram comparados através do teste não-paramétrico Kruskal-Wallis que apresentou diferenças significativas entre os valores obtidos para os três tipos de diagnóstico. Observa-se que o diagnóstico Cisto Inflamatório apresenta valores inferiores da contagem de células CD8 comparado aos outros diagnósticos ( $p=0,01$ ) (Tabela 06).

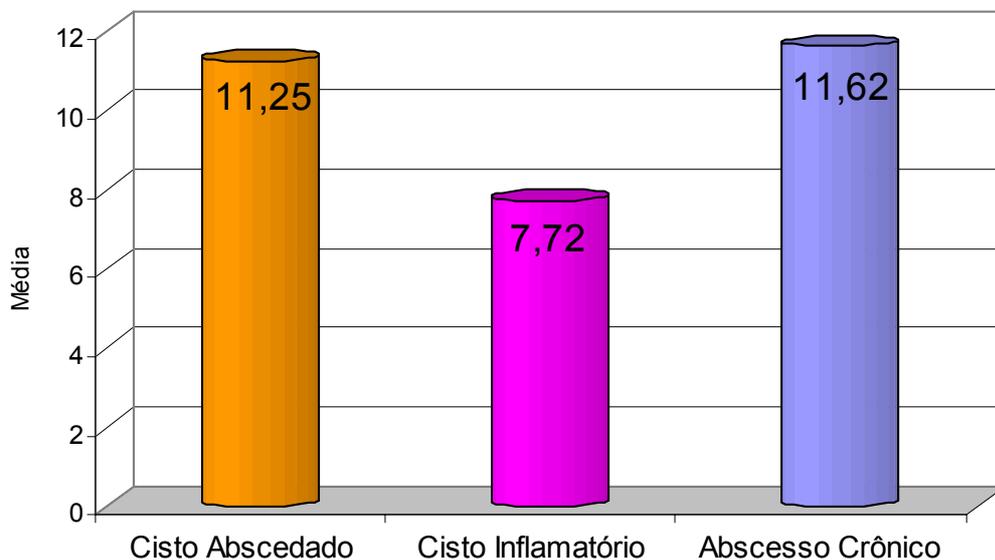
Tabela 06. Comparação da contagem de células CD8 entre os tipos de diagnósticos.

<i>Diagnóstico</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio-Padrão</i>	<i>Rank Médio</i>	<i>P</i>
Cisto Abscedado	11,25	4,71	49,81 <sup>A</sup>	0,01*
Cisto Inflamatório	7,72	3,25	28,79 <sup>B</sup>	
Abscesso Crônico	11,62	5,54	48,91 <sup>A</sup>	

Porto Alegre, 2001

\* Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, estatisticamente.

Gráfico 01. Comparação da contagem de células CD8 entre os tipos de diagnósticos



A média da contagem das células CD20+ foi 12,19; 11,06 e 12,91 células nos Cistos Abscedados, Cistos Inflamatórios e Abscessos Crônicos, respectivamente (Tabela 07 e Gráfico 02).

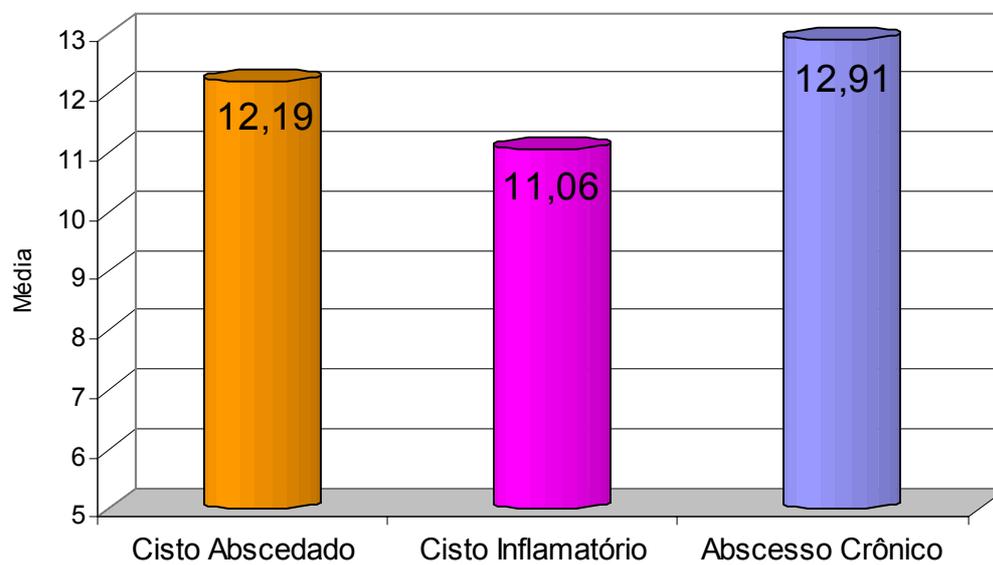
Através do teste de Kruskal-Wallis não foram verificadas diferenças significativas entre a contagem de células CD20 entre os diagnósticos estudados (Tabela 07).

Tabela 07. Comparação da contagem de células CD20 entre os tipos de diagnósticos.

<i>Diagnóstico</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio-Padrão</i>	<i>Rank Médio</i>	<i>p</i>
Cisto Abscedado	12,19	15,50	41,38	0,332
Cisto Inflamatório	11,06	7,14	45,00	
Abscesso Crônico	12,91	9,00	50,47	

Porto Alegre, 2001

Gráfico 02. Comparação da contagem de células CD20 entre os tipos de diagnósticos



### **3. Análise Qualitativa:**

O resultado da análise, em relação a distribuição das células CD8+ e CD20+ nas diferentes porções de cada lesão, pode ser observado nas Tabelas 08 e 09.

Os linfócitos CD8+, na cápsula fibrosa, estavam distribuídos de forma difusa na maioria dos abscessos crônicos (58,8%) e, ausentes na maioria dos cistos abscedados (64,1%) e cistos inflamatórios (70,5%) examinados. Os cistos abscedados e abscessos crônicos não apresentaram linfócitos CD8+ distribuídos de maneira focal, na cápsula fibrosa.

A localização sub-epitelial dos linfócitos CD8+ não ocorreu na maioria dos cistos inflamatórios (52,9%) e, foi observada de maneira difusa na maioria dos cistos abscedados (56,4%).

A distribuição difusa das células CD8+ na zona infiltrativa de células inflamatórias ocorreu em todos os cistos abscedados (100%) e na maioria dos cistos inflamatórios (82,3%).

Na supuração, os linfócitos CD8+ também estavam distribuídos de maneira difusa em todos os abscessos crônicos (100%) e na maioria dos cistos abscedados (97,5%).

As células CD20+ não foram observados na cápsula fibrosa da maioria dos cistos abscedados (94,8%), cistos inflamatórios (100%) e abscessos crônicos (88,2%) examinados.

A localização sub-epitelial dos linfócitos CD20+ não ocorreu na maioria dos cistos inflamatórios (58,8%) e, foi observada de maneira focal na maioria dos cistos abscedados (46,1%).

A distribuição difusa dos linfócitos B na zona infiltrativa de células inflamatórias ocorreu em todos os cistos abscedados (100%) e na maioria dos cistos inflamatórios (53%).

Na supuração, os linfócitos CD20+ também estavam distribuídos de maneira difusa em todos os cistos abscedados (100%) e abscessos crônicos (100%).

Tabela 08. Cruzamento entre diagnóstico e distribuição linfocitária – CD8.

<i>Característica</i>	<i>Diagnóstico</i>		
	Cisto Abscedado (39 lesões)	Cisto Inflamatório (17 lesões)	Abscesso Crônico (34 lesões)
Cápsula Difuso	14 (35,9%)	3 (17,6%)	20 (58,8%)
Cápsula Focal	-	2 (11,7%)	-
Cápsula Ausente	25 (64,1%)	12 (70,5%)	14 (41,1%)
Zona Sub-epitelial Difuso	22 (56,4%)	3 (17,6%)	-
Zona Sub-epitelial Focal	7 (18%)	5 (29,4%)	-
Zona Sub-epitelial Ausente	10 (25,6%)	9 (52,9%)	-
Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Difuso	39 (100%)	14 (82,3%)	-
Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Focal	-	2 (11,7%)	-
Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Ausente	-	1 (5,8%)	-
Supuração Difuso	38 (97,5%)	-	34 (100%)
Supuração Focal	1 (2,5%)	-	-
Supuração Ausente	-	-	-

Porto Alegre, 2001

Tabela 09. Cruzamento entre diagnóstico e distribuição linfocitária – CD20.

<i>Característica</i>	<i>Diagnóstico</i>		
	Cisto Abscedado (39 lesões)	Cisto Inflamatório (17 lesões)	Abscesso Crônico (34 lesões)
Cápsula Difuso	2 (5,2%)	-	-
Cápsula Focal	-	-	4 (11,7%)
Cápsula Ausente	37 (94,8%)	17 (100%)	30 (88,2%)
Zona Sub-epitelial Difuso	12 (30,7%)	2 (11,7%)	-
Zona Sub-epitelial Focal	18 (46,1%)	5 (29,5%)	-
Zona Sub-epitelial Ausente	9 (23%)	10 (58,8%)	-
Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Difuso	39 (100%)	9 (53%)	-
Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Focal	-	8 (47%)	-
Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Ausente	-	-	-
Supuração Difuso	39 (100%)	-	34 (100%)
Supuração Focal	-	-	-
Supuração Ausente	-	-	-

Porto Alegre, 2001

## DISCUSSÃO

De acordo com os resultados encontrados nesta pesquisa, faremos inicialmente uma análise sobre a prevalência das lesões inflamatórias periapicais estudadas. Em seguida, discutiremos a quantidade de linfócitos T citotóxicos/supressores e linfócitos B encontrada nas diferentes lesões analisadas, bem como a distribuição destas células nas diferentes regiões de cada lesão.

Das 90 lesões periapicais analisadas, foram diagnosticados 34 (37,8%) abscessos crônicos e 56 (62,2%) lesões císticas (39 abscedadas e 17 não abscedadas). É importante destacar que nesta amostra estudada, não foi observado nenhum granuloma periapical. Muitos pesquisadores (BAUMANN e ROSSMAN, 1956; QUADROS, 1962; PATTERSON et al., 1964; BHASKAR, 1966; LALONDE e LUEBKE, 1968; STOCKDALE e CHANDLER, 1988; ZAIN et al., 1989; SPATAFORE et al., 1990; WAYMAN et al., 1992; NOBUHARA e DEL RIO, 1993; RAMACHANDRAN NAIR et al., 1996) divergem quanto a maior ou menor incidência das lesões inflamatórias periapicais. Concordamos com LANGELAND et al. (1977) que admitem que essas divergências podem ser atribuídas a critérios microscópicos diferentes utilizados para avaliação das lesões periapicais. Para o correto diagnóstico histopatológico das lesões inflamatórias periapicais é necessário o uso de cortes seriados (QUADROS, 1962). Não há um consenso entre os vários

pesquisadores, na definição histopatológica das lesões periapicais analisadas nos diversos estudos publicados. Para SYRJÄNEN et al. (1982) o cisto periapical é uma lesão que apresenta proliferação de epitélio pavimentoso, não necessitando a presença de uma cavidade e; para LIN et al. (1996) o cisto periapical é uma cavidade patológica revestida por epitélio e contornada por tecido conjuntivo fibroso. Neste trabalho adotamos os critérios histopatológicos já apresentados no capítulo de Material e Métodos. A preservação da estrutura da lesão apical em nossa opinião, não representa um critério necessário, uma vez que no procedimento cirúrgico muitas das lesões apicais são removidas em fragmentos. Neste estudo, optamos por incluir os casos que preservaram pelo menos parcialmente esta organização, a fim de estudarmos a distribuição dos linfócitos ao longo de toda a parede da lesão apical.

Este estudo revelou que 81,1% das lesões analisadas apresentam supuração. Nas lesões crônicas abscedadas, a agressão aos tecidos periapicais é de qualidade tal que permite a quimiotaxia de neutrófilos e o predomínio de sua necrose, originando o pus. O pus atua como agente agressor local, auxiliando na manutenção dos fenômenos vasculares e exsudativos do processo inflamatório (PEREIRA e BOGLIOLO, 2000). Ao redor da coleção purulenta forma-se uma barreira de tecido de granulação, como forma de proteção do organismo, impedindo a disseminação da agressão para regiões distantes do ápice radicular (SANT'ANA FILHO e RADOS, 1998). Portanto, as lesões periapicais crônicas são consequentes do equilíbrio dinâmico entre o mecanismo de defesa do organismo e a infecção proveniente do canal radicular, e qualquer alteração que ocorra neste equilíbrio pode desencadear a exarcebação do processo inflamatório crônico.

Concordamos com BARBACHAN (1977), quando afirma que os agentes físicos e químicos podem atuar no desenvolvimento e/ou manutenção das lesões inflamatórias periapicais. Mas o sistema imune é ativado frente a agentes flogógenos com características antigênicas, que nas lesões apicais estão representados pelos microorganismos (SIQUEIRA JR. E DANTAS, 2000). As lesões inflamatórias periapicais representam uma reação orgânica frente aos diferentes antígenos presentes nos canais radiculares infectados e que proporcionam um estímulo constante aos componentes do sistema imunológico (NEVILLE et al., 1998). Os tecidos periapicais, por sua vez, possuem componentes necessários para a resposta imunológica celular e humoral do hospedeiro, que participam no desenvolvimento das patologias periapicais. Isto ocorre porque, a resposta imune humoral é o principal mecanismo de defesa do hospedeiro contra os microorganismos extracelulares e suas toxinas, pois os anticorpos ligam-se a estes elementos ajudando na sua remoção; e a imunidade celular promove a destruição de células infectadas por microorganismos intracelulares, já que os anticorpos circulantes são incapazes de atingir estes antígenos (ABBAS et al., 2000). Os linfócitos T e B são programados para responder a antígenos específicos. Antígenos diferentes induzem diferentes padrões de resposta imune. De acordo com estas informações é compreensível que exista a presença de linfócitos T citotóxicos e B no interior das lesões estudadas, pois é grande a variedade de antígenos existentes. De acordo com SIQUEIRA JR. E DANTAS (2000) as bactérias podem participar de infecções extra e intracelulares.

Através da reação imunohistoquímica realizada com os marcadores CD8 e CD20 para identificação dos linfócitos T citotóxicos/supressores e linfócitos B, respectivamente, foi possível observar neste estudo, a presença de linfócitos T e B nas diferentes patologias estudadas. Com isto, concordamos com os vários autores consultados (TORABINEJAD e KETTERING, 1979; STERN et al., 1981; SKAUG, NILSEN e MATRE, 1982; STERN et al., 1982; JOHANNESSEN et al., 1984; NILSEN et al., 1984; TORABINEJAD e KETTERING, 1985; BARKHORDAR e DESOUZA, 1988; STASHENKO e YU, 1989; LIN et al., 1991; MATSUO et al., 1992; MARTON e KISS, 1993; KAWASHIMA et al., 1996; MARTON et al., 1998), de que mecanismos imunológicos celulares e humorais estão envolvidos na patogenia das lesões periapicais crônicas.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que a quantidade de células CD8+ foi significativamente menor no cisto inflamatório (7,72 células por lesão) quando comparada com o cisto abscedado (11,25 células por lesão) e abscesso crônico (11,62 células por lesão). Ou seja, as lesões supuradas (cisto abscedado e abscesso crônico) possuem maior quantidade de linfócitos T citotóxicos/supressores do que o cisto inflamatório. Frente ao exposto, acreditamos que as lesões supuradas por representarem uma agressão mais intensa ao organismo e/ou apresentarem maior número de antígenos, apresentam também uma maior quantidade de células específicas que possuem a capacidade de reconhecer os antígenos e eliminá-los. A ação citotóxica dos linfócitos CD8+ é responsável pela imunidade celular, reconhecendo outras células que apresentam antígenos na sua superfície, destruindo-as (ROITT, BROSTOFF e MALE, 1999). Por outro lado, o CD8 também está

presente na superfície dos linfócitos T supressores. Estas células reprimem a atividade dos linfócitos B e outros linfócitos T, diminuindo a resposta imune (ROSS, REITH e ROMRELL, 1993). Isto nos permite pensar que o aumento do número de células CD8+ nas lesões inflamatórias periapicais supuradas está relacionado com a maior quantidade de linfócitos T citotóxicos do que supressores.

Analisando a média da contagem das células CD20+ (12 células por lesão) nas diferentes lesões estudadas, observa-se que não houve diferença significativa entre elas. A presença de supuração e proliferação epitelial nas lesões não interfere na quantidade de linfócitos B presentes. O número destas células varia de acordo com a necessidade de produção de anticorpos, que são sintetizados de forma específica para os diferentes microorganismos (ROSS, REITH e ROMRELL, 1993; SIQUEIRA JR. E DANTAS, 2000). A quantidade constante de linfócitos CD20+ observada nas lesões inflamatórias periapicais analisadas nos faz acreditar que os anticorpos sintetizados pelos plasmócitos são suficientes e eficientes na neutralização dos microorganismos que penetram nestas lesões, tornando-as estéreis. Os neutrófilos e macrófagos também estão presentes nas lesões inflamatórias periapicais, auxiliando na remoção dos microorganismos existentes, mantendo estas lesões estéreis. Portanto, as respostas inflamatórias inespecíficas e específicas estão presentes e são suficientes para eliminar os possíveis microorganismos nestas lesões. Acreditamos então, que a imunidade celular é mais “sensível” no periápice que a imunidade humoral, pois houve o aumento no número de linfócitos CD8+ nas lesões supuradas enquanto que a quantidade de linfócitos CD20+ permaneceu constante.

WALLSTROM et al. (1993) e TANI-ISHII et al. (1995) acreditam que o desenvolvimento das lesões inflamatórias periapicais não é totalmente dependente da presença de linfócitos T, já que foi observada a presença destas lesões em animais com deficiência de linfócitos T. De acordo com SHEAR (1964); COHEN (1979); TORABINEJAD e KETTERING (1979); STERN et al. (1981); YU e STASHENKO (1987); MARTON e KISS (1993); STASHENKO et al. (1994); MARTON et al. (1998) os neutrófilos, que são células relacionadas com a reação inespecífica e imunidade inata do indivíduo, também são encontrados no infiltrado celular destas lesões. Estas células atuam como a primeira linha de defesa do organismo contra as infecções. Estes achados sugerem que a resposta inflamatória inespecífica (ação dos neutrófilos) tem participação nas lesões inflamatórias periapicais e, que respostas imunológicas estão relacionadas com a progressão da lesão (ação dos linfócitos e macrófagos). Em nosso trabalho observamos um aumento no número de linfócitos CD8<sup>+</sup> nas lesões supuradas, concordando com a afirmação dos autores citados. Este aumento numérico de células CD8<sup>+</sup> é uma evidência que sugere, em nossa opinião, o seu papel na progressão das lesões apicais. Achamos conveniente ressaltar porém, que o aumento do número de células CD8<sup>+</sup> observado nas lesões supuradas representa a necessidade de uma dinâmica mais intensa nestas lesões do que naquelas onde a supuração não está presente. Outro aspecto a ser considerado é que a proliferação epitelial não interfere no aumento das células CD8<sup>+</sup>, pois a diferença estatística ocorreu nas lesões supuradas e não naquelas lesões onde há proliferação epitelial.

A média de células CD8+ e CD20+ encontrada nas lesões periapicais estudadas é semelhante os achados de SOL et al. (1998), quando afirmam que, analisando separadamente a quantificação de linfócitos (T auxiliar, T citotóxico/supressor e B), a média de células CD20+ é maior que a média dos linfócitos CD8+. JOHANNESSEN et al. (1984); TORABINEJAD e KETTERING (1985); JOHANNESSEN (1986); KONTIAINEN, RANTA e LAUTENSCHLAGER (1986); YU e STASHENKO (1987); PIATELLI et al. (1991); TORABINEJAD (1994), acreditam que a quantidade de linfócitos T é maior que o número de linfócitos B, neste tipo de patologia. Em nossa pesquisa, a média geral de células CD20+ não mostrou diferença estatística entre as 3 lesões estudadas. Isto nos faz supor que, a resposta imune humoral é semelhante, e não sofre interferência frente à supuração e/ou proliferação epitelial.

Baseado na tabela 07 (comparação da contagem de células CD20 entre os tipos de diagnósticos), observa-se que o desvio padrão é amplo. Provavelmente, em nossa opinião, isto ocorreu em consequência da maior agressividade que se encontra nas lesões supuradas.

Achamos importante destacar que segundo ALAVI et al. (1998), o infiltrado linfocitário está presente em quantidade significativamente maior em lesões apicais de dentes não tratados endodonticamente, quando comparado com lesões de dentes tratados. A remoção de irritantes microbianos do canal radicular promove a diminuição no número de células de defesa nas lesões inflamatórias periapicais. Em nosso trabalho, não avaliamos a presença e quantidade de células CD8+ e CD20+ em

lesões periapicais de dentes tratados endodonticamente ou não separadamente. De acordo com STERN et al. (1981), não há diferença significativa na composição celular inflamatória de lesões periapicais relacionadas com dentes tratados ou não, endodonticamente. Mesmo assim, observamos que houve a diminuição da quantidade e qualidade das células imunocompetentes existentes, da região central para a periferia destas lesões. Isto ocorre, em nossa opinião, porque a agressão diminui nas porções mais externa da lesão, quando comparada com aquela existente na porção central.

Analisando a distribuição qualitativa do infiltrado linfocitário nas diferentes lesões periapicais estudadas, foi verificado que as células CD8<sup>+</sup> estavam ausentes na cápsula fibrosa de 56,6% e, presentes de forma difusa e focal em 41,1% e 2,3% das lesões, respectivamente. Os linfócitos CD20<sup>+</sup> por sua vez, estavam ausentes da cápsula fibrosa em 93,3% das lesões periapicais estudadas. Notamos que a cápsula fibrosa está livre do infiltrado linfocitário principalmente nas lesões não supuradas, quando comparadas com as lesões supuradas. Para COHEN (1979), a cápsula de tecido conjuntivo fibroso dos cistos periapicais está infiltrada, na maioria das vezes, por células inflamatórias crônicas. Diante dos dados obtidos, podemos inferir que a cápsula fibrosa, por ser a porção mais externa da lesão e mais distante da agressão, tem mais células envolvidas no remodelamento ósseo e está praticamente livre de células de defesa específica e/ou inespecífica. A atividade combinada dos osteoblastos e osteoclastos pode produzir um remodelamento ósseo, quando necessário (STEVENS e LOWE, 1998). De acordo com SIQUEIRA JR. e DANTAS (2000), os linfócitos T produzem substâncias capazes de ativar os osteoclastos e

estimular conseqüentemente, a reabsorção óssea. O controle local do tecido ósseo por citocinas é um elemento importante no desenvolvimento das lesões periapicais (STASHENKO, 1990). A marcação dos linfócitos CD8+ nesta região sugere algum papel destas células, no remodelamento ósseo.

A localização sub-epitelial dos linfócitos CD8+ e linfócitos CD20+ respectivamente, ocorreu de forma difusa (43% e 25%), focal (23% e 41%) e até mesmo ausente (34% e 34%) nas lesões periapicais estudadas, não havendo portanto, forma de distribuição preferencial destas células. Nos cistos inflamatórios, a zona sub-epitelial estava livre de linfócitos CD8+ e CD20+ em 52,9% e 58,8% das lesões, respectivamente. Porém nos cistos abscedados, os linfócitos CD8+ estavam distribuídos principalmente de maneira difusa (56,4%) e, os linfócitos CD20+ de maneira focal (46,1%). Segundo GAO et al. (1988), a maioria dos linfócitos T localiza-se próximo do revestimento epitelial, sendo que as células CD4+ foram observadas ao redor do epitélio e as células CD8+ estavam na maioria das vezes, dentro do epitélio. Para este autor, as reações imunológicas podem ser responsáveis pela proliferação do epitélio. Para CURY et al. (1998), a média de linfócitos CD30+ (linfócitos T e B ativados) em cistos radiculares com epitélio hiperplásico é estatisticamente maior do que naqueles com epitélio atrófico, sugerindo que células CD30+ estão relacionadas com o crescimento dos cistos radiculares. De acordo com MEGHJI (1996), a presença de endotoxinas no líquido do cisto radicular, liberadas a partir da polpa dental necrosada, tem um papel importante na patogenia desta lesão e; segundo JOHANNESSEN (1986), a localização sub-epitelial do infiltrado inflamatório indica que o fluido cístico contendo antígenos é capaz de manter o

processo inflamatório local. Por outro lado, TORABINEJAD (1983) acredita que a maioria dos cistos periapicais apresenta o revestimento epitelial descontínuo. Estas afirmações nos fazem pensar que a distribuição e concentração dos linfócitos está diretamente relacionada com a presença e concentração dos antígenos, já que a descontinuidade do epitélio permite a passagem de antígenos do líquido cístico para o interior da lesão. A forma de distribuição dos linfócitos está mais relacionada à dinâmica dos estímulos antigênicos e secundariamente à proliferação epitelial.

Nos cistos abscedados, a distribuição do infiltrado linfocitário (CD8+ e CD20+) assume um padrão difuso por toda a zona infiltrativa de células inflamatórias. Nos cistos inflamatórios, os linfócitos CD8+ também estão localizados preferencialmente de maneira difusa (82,3%) e, os linfócitos CD20+ estão presentes de forma difusa e focal em 53% e 47% das lesões, respectivamente. Estes achados contrariam CYMERMAN et al. (1984); GAO et al. (1988); MATSUO et al. (1992), que observaram os linfócitos T localizados de maneira focal pelas lesões estudadas. Esta diferença de distribuição celular não tem justificativa na literatura consultada. De acordo com LUKIC et al. (1990), os linfócitos B prevalecem em infiltrados focais. Acreditamos que os antígenos, independente da sua natureza, estão presentes por toda a lesão inflamatória periapical, provocando conseqüentemente, o aparecimento dos linfócitos por toda a lesão também, na tentativa de neutralizar e eliminar os agentes agressores.

Frente aos assuntos discutidos, acreditamos que as lesões inflamatórias periapicais supuradas apresentam um número maior de linfócitos CD8+ do que as

lesões não supuradas e, que a distribuição do infiltrado linfocitário ocorre principalmente de forma difusa. Entendemos também que mais estudos sobre o remodelamento ósseo nas lesões apicais devem ser realizados, bem como a análise da relação entre a presença de supuração e resposta de defesa inespecífica e/ou específica nas lesões inflamatórias apicais.

## CONCLUSÕES

A partir da análise dos resultados encontrados neste trabalho concluímos que:

1. As lesões inflamatórias periapicais supuradas apresentam um número maior de linfócitos CD8+ do que as lesões não supuradas;
2. A presença de supuração e proliferação epitelial nas lesões inflamatórias periapicais não interfere na quantidade de linfócitos CD20+ presentes nestas lesões;
3. A distribuição do infiltrado linfocitário nas lesões ocorre principalmente de forma difusa.

## SUMMARY

Inflammatory periapical lesion is a frequent pathology, in most cases a consequence of dental caries. The aim of this study was to quantify the CD8+ and CD20+ lymphocyte populations in periapical chronic inflammatory lesions. For this purpose, 90 periapical lesions were used. The CD8 and CD20 markers were used to identify killer and suppressor T lymphocytes and B lymphocytes, respectively, through the immunohistochemical streptavidin-biotin method. The cell counts were made at three microscopic fields for each slide, at a 400X magnification. The average CD8+ cell count was 7.72 cells in inflammatory cysts, while abscessed cysts and chronic abscesses counted 11.25 and 11.62, respectively, which denoted statistically significant differences. The CD20+ average cell counts were 12.19, 11.06 and 12.91 in abscessed cysts, inflammatory cysts and chronic abscesses, respectively, with no statistically significant differences among them. It was concluded that abscessed lesions displayed a greater number of CD8+ lymphocytes than non-abscessed lesions. The presence of abscess or proliferative epithelium did not alter the quantity of B lymphocytes at the lesions.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K. et al. **Imunologia celular e molecular**. 3. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2000. 486 p.

ALAVI, A.M. et al. Quantitative analysis of lymphocytes and their subsets in periapical lesions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 31, n. 4, p. 233-241, July 1998.

ALEKSEJUNIENE, J. et al. Apical periodontitis and related factors in an adult Lithuanian population. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 90, n. 1, p. 95-101, July 2000.

ANTOH, M. et al. Hyperkeratosis and atypical proliferation appearing in the lining epithelium of a radicular cyst. Report of a case. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, Edinburgh, v. 21, n. 5, p. 210-213, July 1993.

BARBACHAN, J.J.D. Cisto radicular. In: EBLING, H. **Cistos e tumores odontogênicos**. 3. ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 1977. cap. 16, p. 176-183.

BARKHORDAR, R.A.; DESOUZA, Y.G. Human T-lymphocyte subpopulations in periapical lesions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 65, n. 6, p. 763-766, June 1988.

BAUMANN, L.; ROSSMAN, S.R. Clinical, roentgenologic, and histopathologic findings in teeth with apical radiolucent areas. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 9, n. 12, p. 1330-1336, Dec. 1956.

BHASKAR, S.N. **Patologia bucal**. 4. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1989. 615 p.

BHASKAR, S.N. et al. Periapical lesions – types, incidence, and clinical features. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 21, n. 5, p. 657-671, May 1966.

BOHNE, W. Light and ultrastructural studies of human chronic periapical lesions. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 19, n. 5, p. 215-220, May 1990.

COHEN, M.A. Pathways of inflammatory cellular exudate through radicular cyst epithelium: a light and scanning electron microscope study. **J. Oral Pathol.**, Copenhagen, v. 8, n. 6, p. 369-378, Dec. 1979.

COLEMAN, G.C.; NELSON, J.F. **Princípios de diagnóstico bucal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 329 p.

CURY, V.C.F. et al. Immunohistochemical study of apical periodontal cysts. **J. Endod.**, Baltimore, v. 24, n. 1, p. 36-37, Jan. 1998.

CYMERMAN, J.J. et al. Human T lymphocyte subpopulations in chronic periapical lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v. 10, n. 1, p. 9-11, Jan. 1984.

DELZANGLES, B.; BOY-LEFEVRE, M.L.; FOREST, N. Glycoproteins expression in apical pathologic tissues: clinical incidences. **J. Endod.**, Baltimore, v. 23, n. 9, p. 565-568, Sept. 1997.

DOMINGUES, A.M.; ROSA, J.E. **Lesões dento-alveolares**. Rio de Janeiro: EPUME, 1989. 149 p.

FREITAS, A.; ROSA, J.E.; SOUZA, I.F. **Radiologia odontológica**. 4. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1998. 704 p.

GAO, Z. et al. Immunocytochemical examination of immune cells in periapical granulomata and odontogenic cysts. **J. Oral Pathol.**, Copenhagen, v. 17, n. 2, p. 84-90, Feb. 1988.

JOHANNESSEN, A.C. Esterase-positive inflammatory cells in human periapical lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v. 12, n. 7, p. 284-288, July 1986.

JOHANNESSEN, A.C. et al. Enzyme histochemical characterization of mononuclear cells in human dental periapical chronic inflammatory lesions. **Scand. J. Dent. Res.**, Copenhagen, v. 92, n. 4, p. 325-333, Aug. 1984.

KAWASHIMA, N. et al. Kinetics of macrophages and lymphoid cells during the development of experimentally induced periapical lesions in rat molars: a quantitative immunohistochemical study. **J. Endod.**, Baltimore, v. 22, n. 6, p. 311-316, June 1996.

KETTERING, J.D.; TORABINEJAD, M. Presence of natural killer cells in human chronic periapical lesions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 26, n. 6, p. 344-347, Nov. 1993.

KIZIL, Z.; ENERGIN, K. An evaluation of radiographic and histopathological findings in periapical lesions. **J. Marmara Univ. Dent. Fac.**, Istanbul, v. 1, n. 1, p. 16-23, Sept. 1990.

KONTIAINEN, S.; RANTA, H.; LAUTENSCHLAGER, I. Cells infiltrating human periapical inflammatory lesions. **J. Oral Pathol.**, Copenhagen, v. 15, n. 10, p. 544-546, Nov. 1986.

LALONDE, E.R.; LUEBKE, R.G. The frequency and distribution of periapical cysts and granulomas. An evaluation of 800 specimens. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 25, n. 6, p. 861-868, June 1968.

LANGELAND, K. et al. A histopathologic and histobacteriologic study of 35 periapical endodontic surgical specimens. **J. Endod.**, Baltimore, v. 3, n. 1, p. 8-23, Jan. 1977.

LIN, L.M. et al. Clinical, radiographic, and histologic study of endodontic treatment failures. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 71, n. 5, p. 603-611, May 1991.

LIN, L.M. et al. Detection of epidermal growth factor receptor in inflammatory periapical lesions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 29, n. 3, p. 179-184, May 1996.

LINENBERG, W.B. et al. A clinical, roentgenographic, and histopathologic evaluation of periapical lesions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 17, n. 4, p. 467-472, Apr. 1964.

LUKIC, A. et al. Quantitative analysis of the immunocompetent cells in periapical granuloma: correlation with the histological characteristics of the lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v. 16, n. 3, p. 119-122, Mar. 1990.

MARTON, I.J.; KISS, C. Characterization of inflammatory cell infiltrate in dental periapical lesions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 131-136, Mar. 1993.

MARTON, I.J. et al. Distribution of interleukin-2 receptor  $\alpha$ -chain and cells expressing major histocompatibility complex class II antigen in chronic human periapical lesions. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 13, n. 4, p. 259-262, Aug. 1998.

MATSUO, T. et al. Quantitative analysis of immunocompetent cells in human periapical lesions: correlations with clinical findings of the involved teeth. **J. Endod.**, Baltimore, v. 18, n. 10, p. 497-500, Oct. 1992.

MEGHJI, S. The role of endotoxin and cytokines in the pathogenesis of odontogenic cysts. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 41, n. 6, p. 523-531, 1996.

NEVILLE, B.W. et al. **Patologia oral & maxilofacial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 705 p.

NILSEN, R. et al. In situ characterization of mononuclear cells in human dental periapical inflammatory lesions using monoclonal antibodies. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 58, n. 2, p. 160-165, Aug. 1984.

NOBUHARA, W.K.; DEL RIO, C.E. Incidence of periradicular pathoses in endodontic treatment failures. **J. Endod.**, Baltimore, v. 19, n. 6, p. 315 - 318, June 1993.

PATTERSON, S.S. et al. Periapical lesions associated with endodontically treated teeth. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 68, n. 2, p. 191-194, Feb. 1964.

PEREIRA, F.E.L.; BOGLIOLO, L. Inflamações. In: BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo patologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap. 7, p. 112-148.

PIATTELLI, A. et al. Immune cells in periapical granuloma: morphological and immunohistochemical characterization. **J. Endod.**, Baltimore, v. 17, n. 1, p. 26-29, Jan. 1991.

PULVER, W.H.; TAUBMAN, M.A.; SMITH, D.J. Immune components in human dental periapical lesions. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 23, n. 6, p. 435-443, 1978.

QUADROS, O.F. Incidência de cistos em processos apicais. **R. Fac. Odont. P. A.**, Porto Alegre, v. 4, p. 175-176, 1962.

RAMACHANDRAN NAIR, P.N. et al. Types and incidence of human periapical lesions obtained with extracted teeth. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 81, n. 1, p. 93-102, Jan. 1996.

REGEZI, J.A.; SCIUBBA, J.J. **Patologia bucal: correlações clinicopatológicas**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 475 p.

ROITT, I.V.; BRUSTOFF, J.; MALE, D. **Imunologia**. 5. ed. São Paulo: Manole, 1999. 423 p.

ROSS, M.H.; REITH, E.J.; ROMRELL, L.J. **Histologia: texto e atlas**. 2. ed. São Paulo: Panamericana, 1993. 779 p.

SANT'ANA FILHO, M. **Avaliação quantitativa das células de Langerhans no papiloma, displasia epitelial e carcinoma espinocelular**. 1995. 47 f.  
Tese (Doutorado em Estomatologia) - Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SANT'ANA FILHO, M.; RADOS, P.V. Lesões apicais. In: SILVEIRA, J.O.L.; BELTRÃO, G.C. **Exodontia**. Porto Alegre: Missau, 1998. cap. 22, p. 275-285.

SHAFER, W.G.; HINE, M.K.; LEVY, B.M. **Tratado de patologia bucal**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. 837 p.

SIQUEIRA JR., J.F.; DANTAS, C.J.S. **Mecanismos celulares e moleculares da inflamação**. Rio de Janeiro: Medsi, 2000. 238 p.

SKAUG, N.; NILSEN, R.; MATRE, R. Macrophages and T lymphocytes in human dental periapical inflammatory lesions. **J. Dent. Res.**, Alexandria, VA, v. 61, n. 3, p. 310, Mar. 1982. Abstract n. 1190.

- SOL, M.A. et al. Characterization of lymphocyte subpopulations in periapical lesions by flow cytometry. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 13, n. 4, p. 253-258, Aug. 1998.
- SPATAFORE, C. et al. Periapical biopsy report: an analysis over a 10 year period. **J. Endod.**, Baltimore, v. 16, n. 5, p. 239-241, May 1990.
- STASHENKO, P.; YU, S.M. T helper and T suppressor cell reversal during the development of induced rat periapical lesions. **J. Dent. Res.**, Alexandria, VA, v. 68, n. 5, p. 830-834, May 1989.
- STASHENKO, P. et al. Role of immune cytokines in the pathogenesis of periapical lesions. **Endod. Dent. Traumatol.**, Copenhagen, v. 6, n. 3, p. 89-96, June 1990.
- STASHENKO, P. et al. Pathogenesis of induced rat periapical lesions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 78, n. 4, p. 494-502, Oct. 1994.
- STERN, M.H. et al. Antibody-producing cells in human periapical granulomas and cysts. **J. Endod.**, Baltimore, v. 7, n. 10, p. 447-452, Oct. 1981.
- STERN, M.H. et al. Isolation and characterization of inflammatory cells from the human periapical granuloma. **J. Dent. Res.**, Alexandria, VA, v. 61, n. 12, p. 1408-1412, Dec. 1982.
- STERN, M.H. et al. Quantitative analysis of cellular composition of human periapical granuloma. **J. Endod.**, Baltimore, v. 7, n. 3, p. 117-122, Mar. 1981.
- STEVENS, A.; LOWE, J. **Patologia**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. 535 p.
- STOCKDALE, C.R.; CHANDLER, N.P. The nature of the periapical lesion – a review of 1108 cases. **J. Dent.**, Kindlington, v. 16, n. 3, p. 123-129, June 1988.
- SYRJÄNEN, S. et al. Radiological interpretation of the periapical cysts and granulomas. **Dentomaxillofac. Radiol.**, Houndsmills, v. 11, n. 2, p. 89-92, 1982.
- TAKAHASHI, K. et al. Analysis of immunoglobulin-synthesizing cells in human dental periapical lesions by *in situ* hybridization and immunohistochemistry. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v. 25, n. 6, p. 331-335, July 1996.
- TANI-ISHII, N. et al. Effect of T-cell deficiency on the formation of periapical lesions in mice: histological comparison between periapical lesion formation in BALB/c and BALB/c *nu/nu* mice. **J. Endod.**, Baltimore, v. 21, n. 4, p. 195-199, Apr. 1995.
- TORABINEJAD, M. Mediators of acute and chronic periradicular lesions. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St Louis, v. 78, n. 4, p. 511-521, Oct. 1994.

\_\_\_\_\_. The role of immunological reactions in apical cyst formation and the fate of epithelial cells after root canal therapy: a theory. **Int. J. Oral Surg.**, Copenhagen, v. 12, n. 1, p. 14-22, Feb. 1983.

TORABINEJAD, M.; KETTERING, J.D. Detection of immune complexes in human dental periapical lesions by anticomplement immunofluorescence technique. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 48, n. 3, p. 256-261, Sept. 1979.

\_\_\_\_\_. Identification and relative concentration of B and T lymphocytes in human chronic periapical lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v. 11, n. 3, p. 122-125, Mar. 1985.

WALLSTROM, J.B. et al. Role of T cells in the pathogenesis of periapical lesions: a preliminary report. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v. 76, n. 2, p. 213-218, Aug. 1993.

WAYMAN, B. et al. A bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v. 18, n. 4, p. 152-155, Apr. 1992.

ZAIN, R. et al. Radiographic evaluation of lesion sizes of histologically diagnosed periapical cysts and granulomas. **Ann. Dent.**, New York, v. 48, n. 2, p. 3-5, Winter 1989.

YU, S.M.; STASHENKO, P. Identification of inflammatory cells in developing rat periapical lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v. 13, n.11, p. 535-540, Nov. 1987.

## ANEXO 1

### **Coloração pela Hematoxilina e Eosina (H/E)**

- Estufa a 58° C: 2 horas
- Xilol: 10 minutos
- Xilol: 10 minutos
- Álcool absoluto: 5 minutos
- Álcool absoluto: 5 minutos
- Lavagem em água corrente
- Hematoxilina de Harris (Produto Citológico Soldan Ltda®): 3 minutos
- Lavagem em água corrente
- Eosina: 30 segundos
- Álcool absoluto: 1 minuto
- Álcool absoluto: 1 minuto
- Álcool absoluto: 1 minuto
- Xilol: 10 minutos
- Xilol: 10 minutos
- Montagem em Permount®

## ANEXO 2

### **Técnica de Imunohistoquímica**

A desparafinização e hidratação dos cortes foi realizada, obedecendo a seguinte sequência:

- Estufa a 58°C: 2 horas
- Xilol: 10 minutos
- Xilol: 10 minutos
- Álcool absoluto: 3 minutos
- Álcool absoluto: 3 minutos
- Álcool absoluto: 3 minutos
- Água destilada: 2 minutos

A recuperação antigênica foi feita com solução tampão de EDTA pH 8,0, em forno de microondas de 750 watts. As lâminas foram colocadas em um frasco de Coplin e cobertas com solução tampão, e o frasco de Coplin ficou em banho-maria. Foram realizados 3 ciclos de 5 minutos em potência máxima, dando um intervalo de 2 minutos entre cada uma das vezes. Na última vez, as lâminas esfriaram até a temperatura ambiente, ficando 20 minutos dentro do forno de microondas desligado e 20 minutos fora. Durante a recuperação antigênica, as lâminas, dentro da solução

tampão, permaneceram entre 90° e 100°C (o forno de microondas estava calibrado). De tempos em tempos, enquanto as lâminas estavam no forno de microondas, este foi aberto e verificou-se se as lâminas estavam totalmente recobertas pela solução tampão, caso contrário foi acrescentado mais EDTA.

Em seguida, as lâminas foram retiradas do EDTA e realizou-se dois banhos, um com água destilada e outro com tampão PBS (*phosphate buffered saline*) pH 7,2. O PBS utilizado foi do Laboratório Laborclin (1 frasco de PBS diluído em 1 litro de água destilada).

O bloqueio da Peroxidase Endógena foi feito com a solução de metanol e peridrol (100 ml de metanol e 3 ml de peridrol), preparada no momento em que foi usada. As lâminas permaneceram 30 minutos nesta solução (2 vezes de 15 minutos).

As lâminas, novamente, receberam dois banhos, um com água destilada e outro com o tampão PBS.

Na sequência, os cortes foram incubados com os anticorpos primários. As lâminas foram removidas do banho com PBS, colocadas em câmara úmida e, o anticorpo primário diluído foi pingado sobre cada corte. Os anticorpos primários utilizados foram:

- CD8: *T Cell, CD8 Clone C8/144B – DAKO A/S, Dinamarca* (Código: M7103), diluição 1:50;

- CD20: *CD20 cy Clone L26 – DAKO A/S, Dinamarca* (Código: M0755),  
diluição 1:100;

- Diluente de anticorpo: *DAKO Antibody Diluent with Background Reducing Components - DAKO Corporation, USA* (Código: S3022).

A câmara úmida então, foi colocada na estufa a 37°C, por 1 hora.

Após o tempo de incubação do anticorpo primário, as lâminas receberam mais 2 banhos com a solução tampão PBS.

A seguir, os cortes foram incubados com o anticorpo secundário. As lâminas foram retiradas do banho com PBS, colocadas na câmara úmida e, o anticorpo secundário diluído foi pingado sobre cada corte. O anticorpo secundário utilizado faz parte do *Kit Strept ABCComplex/HRP – Duet, Mouse/Rabbit – DAKO, USA* (Código: K0492). No preparo do anticorpo secundário foram utilizados 2000 microlitros de PBS para 20 microlitros de anticorpo secundário (foi utilizado o reagente C do *kit – Biotinylated Goat Anti-Mouse/Rabbit IG*).

A câmara úmida foi novamente colocada na estufa a 37°C, por 30 minutos.

Após o tempo de incubação do anticorpo secundário, as lâminas receberam mais 2 banhos com a solução tampão PBS.

Em seguida, as lâminas foram retiradas da solução tampão, colocadas na câmara úmida e o complexo Streptoavidina-biotina (Estrepto ABC) foi pingado sobre cada corte. Esta solução foi preparada 15 minutos antes do uso e era composta de 2000 microlitros de PBS, 20 microlitros do Reagente A e 20 microlitros do Reagente B:

- Reagente A: *Streptavidin – DAKO, Dinamarca* (Código: K0492);
- Reagente B: *Biotinylated Peroxidase – DAKO, Dinamarca* (Código: K0492).

A câmara úmida com as lâminas foi colocada na estufa a 37°C, por 30 minutos.

Na sequência, as lâminas receberam 2 banhos com a solução tampão PBS.

Após retirar o excesso de PBS das lâminas, foi realizado a revelação com a solução de cromógeno (DAB). Esta solução foi colocada sobre os cortes por aproximadamente 5 minutos:

- DAB (diaminobenzidine): *Liquid DAB Large Volume Substrate – Cromogen System – DAKO* (Código: K3466).

Foi utilizado 20 microlitros de DAB para cada ml de substrato tamponado (*Buffered Substrate: Imidazole – HCl buffer pH 7,5*).

Em seguida, os cortes foram lavados em água destilada, contra-corados com Hematoxilina de Harris por 30 segundos, lavados novamente em água destilada e água amoniacal. Por fim, os cortes foram desidratados, diafanizados e montados em Permout® , obedecendo a seguinte ordem:

- Álcool absoluto: 1 minuto
- Álcool absoluto: 1 minuto
- Álcool absoluto: 1 minuto
- Xilol: 10 minutos
- Xilol: 10 minutos
- Montagem em Permout® .

### ANEXO 3

#### Avaliação Quantitativa

CI - CD8	Campo 1	Campo 2	Campo 3		CI - CD20	Campo 1	Campo 2	Campo 3
15325	9	6	13			4	9	6
15244	13	11	8			3	6	2
15127	11	4	9			1	4	1
15080	3	5	5			7	6	16
15078	23	15	8			16	36	17
14994	13	6	5			3	19	12
14884	10	13	8			8	12	16
14878	9	4	15			17	11	15
14872	14	8	13			16	11	24
14868	8	8	5			25	27	18
14830	5	3	6			16	7	9
14780	7	6	6			5	1	1
14772	15	4	8			2	9	11
14767	4	1	3			1	1	2
14746	5	5	6			9	20	15
14730	3	7	4			4	13	47
14729	2	4	8			9	6	8

CA - CD8	Campo 1	Campo 2	Campo 3	CA - CD20	Campo 1	Campo 2	Campo 3
15322	10	3	5		14	11	11
15278	9	13	9		2	5	11
15266	15	8	11		4	14	6
15265	7	10	12		8	4	5
15262	17	8	8		12	12	14
15243	7	9	11		8	7	1
15225	15	14	7		6	3	14
15224	4	17	6		3	2	2
15220	14	9	20		6	12	2
15196	17	7	9		11	3	13
15187	22	10	17		10	13	2
15183	4	4	5		2	1	2
15126	27	13	11		2	6	1
15094	17	20	16		8	8	9
15077	8	7	3		4	3	9
15074	21	9	11		14	11	4
15038	11	6	11		3	2	9
15023	25	15	24		23	10	20
15020	12	13	7		12	20	11
14984	18	10	5		18	5	16
14938	21	14	14		5	18	3
14907	8	9	7		145	110	42
14877	20	13	35		17	6	2
14828	20	21	19		8	23	25
14827	5	6	5		32	11	8
14826	5	9	4		6	29	8
14824	7	9	12		49	30	2
14823	28	7	8		7	24	13
14822	6	7	5		5	12	12
14816	5	3	8		3	11	5
14812	10	5	18		19	5	5
14797	26	22	11		24	30	24
14775	10	7	4		39	10	4
14752	9	6	16		4	6	3
14750	12	3	5		3	6	7
14742	18	2	10		8	4	3
14718	14	9	9		12	4	3
14717	15	10	8		14	3	28
14712	10	10	4		1	1	1

AC-CD8	Campo 1	Campo 2	Campo 3		AC-CD20	Campo 1	Campo 2	Campo 3
15323	10	6	4			10	7	3
15289	27	19	21			3	9	7
15280	34	14	26			9	6	9
15241	10	9	11			7	7	7
15238	9	6	8			10	4	5
15236	15	9	12			3	7	4
15219	5	9	15			33	19	5
15148	4	6	6			2	38	2
15112	29	22	24			5	17	13
15087	6	8	9			35	7	7
15082	13	17	11			9	7	9
15081	6	5	15			7	15	3
15079	12	10	7			19	14	19
15039	30	14	17			7	7	10
15036	11	8	8			26	44	70
15024	9	8	16			18	25	9
14987	6	3	4			8	28	5
14985	16	8	5			11	7	29
14949	13	7	10			46	45	35
14947	20	18	16			11	18	11
14881	8	6	7			7	3	36
14865	19	6	9			24	4	6
14857	13	5	10			11	9	10
14831	18	10	25			2	28	7
14794	8	3	6			1	2	6
14776	5	10	11			10	5	13
14774	28	24	13			7	9	15
14773	6	8	13			5	1	3
14753	8	5	17			4	11	19
14743	12	14	10			3	21	5
14739	4	11	7			36	7	3
14728	8	13	11			15	21	6
14715	9	15	8			17	13	13
14707	9	6	11			5	20	2

## ANEXO 4

### Avaliação Qualitativa – CD8 (Abscesso Periapical Crônico)

Lâmina	Cápsula Difuso	Cápsula Focal	Cápsula Ausente	Supuração Difuso	Supuração Focal	Supuração Ausente
15323			X	X		
15289			X	X		
15280	X			X		
15241			X	X		
15238			X	X		
15236	X			X		
15219	X			X		
15148			X	X		
15112	X			X		
15087			X	X		
15082	X			X		
15081	X			X		
15079	X			X		
15039	X			X		
15036	X			X		
15024	X			X		
14987			X	X		
14985	X			X		
14949			X	X		
14947	X			X		
14881	X			X		
14865	X			X		
14857	X			X		
14831			X	X		
14794			X	X		
14776			X	X		
14774	X			X		
14773	X			X		
14753	X			X		
14743			X	X		
14739	X			X		
14728			X	X		
14715			X	X		
14707	X			X		

**Avaliação Qualitativa – CD 20  
(Abscesso Periapical Crônico)**

Lâmina	Cápsula Difuso	Cápsula Focal	Cápsula Ausente	Supuração Difuso	Supuração Focal	Supuração Ausente
15323			X	X		
15289			X	X		
15280			X	X		
15241			X	X		
15238			X	X		
15236			X	X		
15219			X	X		
15148			X	X		
15112			X	X		
15087			X	X		
15082			X	X		
15081			X	X		
15079		X		X		
15039			X	X		
15036			X	X		
15024			X	X		
14987			X	X		
14985			X	X		
14949			X	X		
14947			X	X		
14881			X	X		
14865			X	X		
14857			X	X		
14831			X	X		
14794			X	X		
14776			X	X		
14774			X	X		
14773			X	X		
14753			X	X		
14743		X		X		
14739		X		X		
14728		X		X		
14715			X	X		
14707			X	X		

**Avaliação Qualitativa – CD 8  
(Cisto Inflamatório)**

Lâmina	C.D.	C.F.	C.A.	Z.S.E.D.	Z.S.E.F.	Z.S.E.A.	Z.I.C.I.D.	Z.I.C.I.F.	Z.I.C.I.A.
15325			X	X					X
15244		X				X	X		
15127			X			X	X		
15080	X					X	X		
15078	X				X		X		
14994			X			X	X		
14884			X	X			X		
14878	X			X			X		
14872			X		X		X		
14868			X		X		X		
14830			X		X		X		
14780			X			X		X	
14772			X			X	X		
14767			X			X		X	
14746			X			X	X		
14730			X		X		X		
14729		X				X	X		

C.D.: Cápsula Difuso

C.F.: Cápsula Focal

C.A.: Cápsula Ausente

Z.S.E.D.: Zona Sub-epitelial Difuso

Z.S.E.F.: Zona Sub-epitelial Focal

Z.S.E.A.: Zona Sub-epitelial Ausente

Z.I.C.I.D.: Zona Infiltrativa de Células Inflamatórias Difuso

Z.I.C.I.F.: Zona Infiltrativa de Células Inflamatórias Focal

Z.I.C.I.A.: Zona Infiltrativa de Células Inflamatórias Ausente

**Avaliação Qualitativa – CD 20  
(Cisto Inflamatório)**

Lâmina	C.D.	C.F.	C.A.	Z.S.E.D.	Z.S.E.F.	Z.S.E.A.	Z.I.C.I.D.	Z.I.C.I.F.	Z.I.C.I.A.
15325			X	X			X		
15244			X			X	X		
15127			X			X		X	
15080			X		X			X	
15078			X	X			X		
14994			X		X			X	
14884			X			X	X		
14878			X			X	X		
14872			X			X	X		
14868			X			X		X	
14830			X		X		X		
14780			X			X		X	
14772			X			X	X		
14767			X			X		X	
14746			X		X		X		
14730			X		X			X	
14729			X			X		X	

C.D.: Cápsula Difuso

C.F.: Cápsula Focal

C.A.: Cápsula Ausente

Z.S.E.D.: Zona Sub-epitelial Difuso

Z.S.E.F.: Zona Sub-epitelial Focal

Z.S.E.A.: Zona Sub-epitelial Ausente

Z.I.C.I.D.: Zona Infiltrativa de Células Inflamatórias Difuso

Z.I.C.I.F.: Zona Infiltrativa de Células Inflamatórias Focal

Z.I.C.I.A.: Zona Infiltrativa de Células Inflamatórias Ausente

**Avaliação Qualitativa – CD 8  
(Cisto Abcedado)**

Lâmina	CD	CF	CA	ZSED	ZSEF	ZSEA	ZICID	ZICIF	ZICIA	SD	SF	SA
15322			X		X		X			X		
15278	X			X			X			X		
15266			X		X		X				X	
15265			X			X	X			X		
15262			X		X		X			X		
15243			X			X	X			X		
15225	X			X			X			X		
15224			X	X			X			X		
15220	X			X			X			X		
15196	X			X			X			X		
15187			X	X			X			X		
15183			X			X	X			X		
15126	X			X			X			X		
15094			X	X			X			X		
15077			X			X	X			X		
15074			X	X			X			X		
15038	X			X			X			X		
15023	X			X			X			X		
15020			X			X	X			X		
14984			X			X	X			X		
14938			X			X	X			X		
14907	X			X			X			X		
14877	X			X			X			X		
14828	X			X			X			X		
14827	X				X		X			X		
14826			X		X		X			X		
14824			X	X			X			X		
14823	X			X			X			X		
14822			X	X			X			X		
14816			X	X			X			X		
14812			X	X			X			X		
14797	X			X			X			X		
14775			X			X	X			X		
14752	X					X	X			X		
14750			X	X			X			X		
14742			X		X		X			X		
14718			X	X			X			X		
14717			X			X	X			X		
14712			X		X		X			X		

C.D.: Cápsula Difuso

C.D.: Cápsula Focal

C.D.: Cápsula Ausente

Z.S.E.D.: Zona Sub-epitelial Difuso

Z.S.E.F.: Zona Sub-epitelial Focal

Z.S.E.A.: Zona Sub-epitelial Ausente

Z.I.C.I.D.: Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Difuso

Z.I.C.I.F.: Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Focal

Z.I.C.I.A.: Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Ausente

S.D.: Supuração Difuso

S.F.: Supuração Focal

S. A.: Supuração Ausente

**Avaliação Qualitativa – CD 20  
(Cisto Abcedado)**

Lâmina	CD	CF	CA	ZSED	ZSEF	ZSEA	ZICID	ZICIF	ZICIA	SD	SF	SA
15322			X		X		X			X		
15278			X			X	X			X		
15266			X		X		X			X		
15265			X		X		X			X		
15262			X	X			X			X		
15243			X			X	X			X		
15225			X	X			X			X		
15224			X	X			X			X		
15220			X	X			X			X		
15196			X		X		X			X		
15187			X			X	X			X		
15183			X		X		X			X		
15126			X		X		X			X		
15094			X	X			X			X		
15077	X			X			X			X		
15074			X		X		X			X		
15038			X		X		X			X		
15023			X		X		X			X		
15020	X			X			X			X		
14984			X		X		X			X		
14938			X		X		X			X		
14907			X	X			X			X		
14877			X			X	X			X		
14828			X			X	X			X		
14827			X		X		X			X		
14826			X			X	X			X		
14824			X	X			X			X		
14823			X		X		X			X		
14822			X		X		X			X		
14816			X	X			X			X		
14812			X	X			X			X		
14797			X	X			X			X		
14775			X		X		X			X		
14752			X			X	X			X		
14750			X		X		X			X		
14742			X			X	X			X		
14718			X		X		X			X		
14717			X			X	X			X		
14712			X		X		X			X		

C.D.: Cápsula Difuso

C.F.: Cápsula Focal

C.A.: Cápsula Ausente

Z.S.E.D.: Zona Sub-epitelial Difuso

Z.S.E.F.: Zona Sub-epitelial Focal

Z.S.E.A.: Zona Sub-epitelial Ausente

Z.I.C.I.D.: Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Difuso

Z.I.C.I.F.: Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Focal

Z.I.C.I.A.: Zona Infiltrativa de Cél. Infl. Ausente

S.D.: Supuração Difuso

S.F.: Supuração Focal

S.A.: Supuração Ausente