

"COMPARACION EN MICROSCOPIA DE LUZ DE LOS
GRANULOMAS PERIAPICALES ESTERILES VERSUS CONTAMINADOS EN RATA"

(ESTUDIO PRELIMINAR)

Por

C. D. ALEJANDRA GREENHAM GONZALEZ
GREENHAM
GONZALEZ
ALEJANDRA
1984

TESIS



K(1) UNAM



Facultad de Odontología
Div. de Est. de Posgrado e Investigación
Biblioteca "Barnet M. Levy"

TESIS

Presentada como requisito para obtener el Grado de
Maestría en Odontología
(Odontopedriatría)

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

NOVIEMBRE DE 1984



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Cualquier tesis no publicada que avale el grado de Mestría y depositada en la biblioteca de la Universidad, Facultad de Odontología, queda abierta para inspección, y sólo podrá ser usada con la debida autorización del autor. Las referencias bibliográficas pueden ser tomadas, pero ser copias sólo con el permiso del autor, y el crédito se da posteriormente a la escritura y publicación del trabajo.

Esta tesis ha sido utilizada por las siguientes personas - que firman y aceptan las restricciones señaladas.

La biblioteca que presta esta tesis debe asegurarse de recoger, la firma de cada persona que la utilice.

Nombre y Dirección

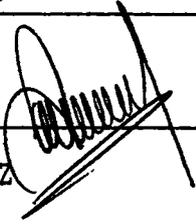
Fecha

"COMPARACION EN MICROSCOPIA DE LUZ DE LOS
GRANULOMAS PERIAPICALES ESTERILES VERSUS CONTAMINADOS EN RATA"

APROBADA POR:



C.D.M.O. ANGEL KAMETA TAZIKAWA



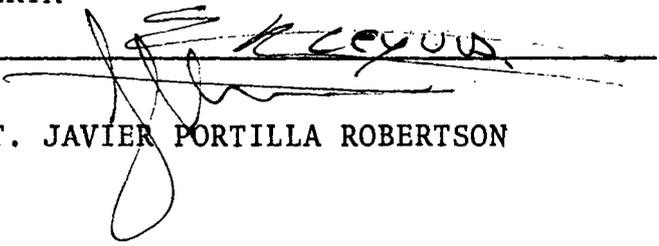
C.D.M.O. MIGUEL ANGEL FERNANDEZ



C.D.M.O. BEATRIZ ALDAPE BARRIOS



C.D.M.O. ELBA ROSA LEYVA HUERTA



DIRECTOR DE TESIS: DR. ODONT. JAVIER PORTILLA ROBERTSON

RECONOCIMIENTOS

A la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional
Autónoma de México.

Al C. D. Javier Portilla Robertson y C. D. Elba Rosa --
Leyva Huerta.

Con sincero agradecimiento.

I N D I C E

INTRODUCCION	1
REVISION BIBLIOGRAFICA	3
MATERIALES Y METODOS	8
RESULTADOS	10
DISCUSION	17
RESUMEN	23
CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFIA	27
CURRICULUM VITE	30

INTRODUCCION

La respuesta de la pulpa dental a estímulos y lesiones, es una reacción dependiente del carácter e intensidad del estímulo en particular aplicado, del grado y tipo de alteración hística; ésto es generalmente seguido por la inflación periapical y es debido a la infección bacteriana de la pulpa como secuela de la caries dental.

La inflación periapical es de tipo granulomatosa, que es una forma especial de inflación crónica que se caracteriza por la descripción de elementos especializados del tejido y por un infiltrado celular compuesto predominantemente de células involucradas en la respuesta inmune. Esta alteración se conoce como Granuloma Periapical (G.P.A.) su patogénesis ha sido estudiado por diversos autores desde diferentes puntos de vista; es bien conocida la respuesta del tejido pulpar hacia diferentes estímulos como son preparación de cavidades (Seltzer y Bender, 1961,[1]), secado con aire directo, aplicación de corriente eléctrica, uso de restauraciones irritantes al tejido pulpar.

Existen, sin embargo, controversias acerca de los factores etiológicos involucrados en la inducción, mantenimiento y evolución de los G.P.A. (Stern, Levy, 1981 [2]):

Esta lesión se desarrolla posteriormente a la acción de un irritante pulpar, una vez que el mecanismo inflamatorio se inicia en el ápice radicular, la persistencia de irritantes locales ocurre si el huésped carece de enzimas degradativas para eliminar este irritante.

Existe contracción en el papel que juegan las bacterias como factor etiológico, algunos autores postulan a las bacterias como esenciales para la formación de granulomas (Korzen, 1974; Winkler, 1972 [3, 4]), otros por el contrario sugieren que éstas no son necesarias para la formación de granulomas.

Moller, A. J., 1966 [5] señala que los granulomas pueden ser estériles o sea que no es necesaria la presencia de microorganismos para inducir una respuesta (G.P.A.).

Es nuestra postura inducir la formación de granulomas periapicales estériles y contaminados en ratas y comparar las diferencias histológicas en ambos granulomas.

Posiblemente este estudio dará conocimientos acerca del papel que juegan los microorganismos propios del huésped en los dos tipos de G.P.A., si argumentamos que ambos pueden presentarse.

REVISION BIBLIOGRAFICA

La lesión granulomatosa constituye la característica sobresaliente de los procesos inflamatorios crónicos y es la reacción que se presenta posterior a injurias pulpares.

El G.P.A. es la reacción inflamatoria más comunmente observada en la cavidad oral. El curso progresivo y crónico de algunas lesiones periapicales ha sido explicado en parte por el mecanismo inmunológico operante; compatible con esta idea, es la observación de que las lesiones contienen un intenso infiltrado de células plasmáticas, linfocitos, macrófagos y cuerpos de Russell dispersos. (Morton, 1977 [6]).

El G.P.A. es una acumulación focal de células inflamatorias y elementos reactivos adheridos a la raíz del diente; los componentes estructurales son macrófagos, linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos y elementos fibrovasculares. Los G.P.A. son invariablemente precedidos por una inflamación pulpar (Stern, Mackler, 1981 [7]).

Existen controversias con respecto al origen y naturaleza de los G.P.A. La mayor parte de los estudios de la respuesta pulpar realizados postulan a las bacterias como los agentes esenciales para la producción de granulomas (Melville, 1967 y Andreasen, 1972 [8, 9]). Otros por el contrario, sugieren que éstas no son necesarias para la formación de ellos (Langeland, 1977 [10]).

Kramer, 1958 [11] , en su estudio sobre cambios pulpa- res de origen no bacteriano, señala las siguientes cate- gorías como factores etiológicos de daño pulpar; efecto de la preparación de cavidades, materiales y medicamen- tos, cambios debido a alteraciones sistémicas y cambios_ debidos a causas locales como enfermedad y trauma.

Encontrando desde una respuesta inflamatoria, necrosis - por coagulación, formación de granulomas hasta su trans- formación quística.

(Torabinejad, 1978 [12]) señala que los microorganismos_ no siempre están presentes en lesiones periapicales crón- nicas, sino que éstos, aparecen posteriormente al dete- rioro del tejido pulpar; así mismo señala que bacterias_ y sustancias que alteran al tejido huésped son antígenos potencialmente capaces de iniciar una respuesta inmune.

(Schonfeld, 1982 [13]), reporta la actividad endotóxica_ de lesiones periapicales en un 75%, en lesiones con ca- racterísticas histopatológicas de un granuloma crónico y solamente en un 20% en tejidos no inflamados (quistes).

Por otra parte, (Bevilacqua, 1973 [14]), postula al teji do granulomatoso como un foco extraordinario de reacción proliferativa a un irritante generalmente de productos - bacterianos que viven y se multiplican en el canal infec tado. Este mismo tipo de respuesta inflamatoria puede ser encontrada cuando la pulpa sufre necrosis aséptica. In- vestigaciones en este campo (Bergenholtz, 1974, Engström, 1964 [16, 17]), solamente ha indicado la implicación de_

bacterias aisladas, pero esto no ha sido probado definitivamente que una bacteria o un grupo de bacterias tenga la capacidad de inducir una periodontitis apical.

La reacción de la pulpa a los procedimientos restaurativos es particularmente demostrable (Torneck, 1977 [17]), por la destrucción de la respuesta polimorfonuclear natural debido a que la injuria puede ocurrir en ausencia de microorganismo infectante, así mismo, opina que el papel del polimorfonuclear en la enfermedad endodóntica es funcional a la estimulación bacteriana.

La exposición de las pulpas en cavidades es suficiente para la producción de granulomas periapicales en algunas especies (Burstone, 1950 [18]) y los granulomas periapicales también han sido inducidos en ratas y hamsters sin exposición pulpar, usando corriente eléctrica sobre dientes con obturación de amalgama (Portilla, 1980 [19]).

(Torneck, 1980 [20]) encontró que los cambios sufridos en el tejido pulpar después de su exposición eran lisis, y cambios degenerativos en los fibroblastos, así como -- una respuesta inflamatoria. Así mismo, (Tagger y Massler, 1975 [21]) estudiaron en molares de ratas las lesiones del periodonto apical después de exponer la pulpa al medio oral, fue estudiado a intervalos de un año; la reacción temprana fue la respuesta inflamatoria en el ápice. La severidad de la lesión fue relacionada con la cantidad de pulpa vital aún presente.

Al mes, las pulpas sufrieron necrosis y las lesiones observadas en el ápice fueron de dos tipos: la reacción su

purativa (formación de absceso que drenaba a través del ligamento parodontal y la reacción reparativa) proliferación de tejido conectivo, granuloma o formación de un posible quiste.

Por otra parte, Robertson, 1978 [22] señala que el uso del electrobisturí ha sido difundido y aplicado en las diferentes disciplinas, las ventajas de su uso dentro de la práctica son la hemostásis, la visibilidad, acceso a diferentes áreas, rápida resección del tejido blando seguida de una reparación normal, siendo el uso más común la gingivoplastia. Un grupo de investigadores han estudiado el efecto del estímulo eléctrico en tejidos blandos y tejidos dentarios, encontrando controversia con respecto a los resultados, (Robertson, 1978 [22]) en el tratamiento con el electrobisturí, donde hay restauraciones metálicas contiguas con la dentina, produce un efecto dañino a la pulpa y tejidos periodontales, presentándose en el tejido pulpar cambios similares al periodonto como es una necrosis coagulativa, pero además reportó reabsorción extensa de cemento, dentina y hueso interradicular.

Spangerberg, 1982 [23] reporta que los cambios pulpares que se asocian al uso del electrobisturí han sido observados en dientes de monos. A las 24 horas del uso post-bisturí los especímenes muestran cambios como necrosis de coagulación con severa disrupción de la estructura celular que se extiende apicalmente hasta terminar posteriormente en áreas de hemorragia. Leucocitos neutrófilos han sido predominantes a través del tejido afectado; en muchos de los casos el tejido pulpar en las porciones apicales presenta apariencia normal. Por otro la-

do (Krejci, 1982 [24]) asevera que para remover tejido - redundante con la técnica del electrobisturí en el cual el electrodo activo se ha desplazado a través de una restauración Clase V de amalgama, no produce efectos pulpares a menos que el contacto con la restauración sea mayor a un periodo de 0.4 segundos.

MATERIALES Y METODO

Se usaron 30 ratas cepa wistar, clínicamente sanas, de peso similar con dentición intacta y sin enfermedad parodontal.

Para aplicar el tratamiento se dividieron los animales en tres grupos: Al primer grupo se le hizo una cavidad en la zona oclusal del primer molar superior derecho, con fresa de carburo del 3½ de cono invertido, usando baja velocidad y agua corriente hasta lograr comunicación pulpar, dejándose esta expuesta.

En el segundo grupo, se aplicó corriente eléctrica con una unidad de electrocirugía con poder de 20 a 30 watts, en el primer molar superior derecho, quitando previamente una porción de esmalte de una cúspide con una piedra montada. Haciendo una variación de la técnica de (Robertson, P.B., 1978 [22]) durante un segundo.

Al último grupo, se les aplicó en el primer molar superior derecho, el mismo tratamiento que a los animales del primer grupo; en el primer molar superior izquierdo, se les suministró corriente eléctrica igual que al segundo grupo.

Se trabajó siempre bajo previa anestesia (methoxiflurano) y utilizando el microscopio de columna.

En el siguiente cuadro se especifica la secuencia de tratamientos y sacrificios:

GRUPOS	S E M A N A S					TOTAL
	4a.	8a.	12a.	16a.	20a.	
Comunicación	2♂♀	2♂♀	2♂♀	2♂♀	2♂♀	10
Aplicación de Corriente	2♂♀	2♂♀	2♂♀	2♂♀	2♂♀	10
Tratamiento - en ambos lados	<u>2♂♀</u>	<u>2♂♀</u>	<u>2♂♀</u>	<u>2♂♀</u>	<u>2♂♀</u>	<u>10</u>
T o t a l	6	6	6	6	6	30
Hembras	3	3	3	3	3	
Machos	3	3	3	3	3	

Este trabajo está basado en las dos primeras etapas de tratamiento que consiste en cuatro y ocho semanas.

Los aniamles fueron sacrificados con una sobredosis de cloroformo, se disecaron y seccionaron los maxilares; fijándose en formalina al 10% durante 24 horas. Se descalcificaron en ácido fórmico con solución amortiguadora de formiato de sodio, aproximadamente durante una semana, bajo control radiográfico y óptico.

Los tejidos fueron procesados por inclusión en parafina, y se hicieron cortes seriados a cinco micras. Se tiñeron con hematoxilina y eosina para su observación microscópica.

RESULTADOS

Histológicamente se observó, en el primer grupo, (ratas con comunicación pulpar al medio ambiente) a las cuatro semanas, necrosis en los primeros molares de todas las ratas con una respuesta granulomatosa en el área periapical, en dos de los animales con relación a ésta, encontramos gran actividad osteoclástica en la región periapical; así mismo, una actividad osteoclástica en la zona de furcación.

En el sitio donde encontramos la reacción granulomatosa, en ocasiones se observó resorción de la dentina apical y del cemento apical.

En algunos de los especímenes la lesión granulomatosa estaba caracterizada por linfocitos, células plasmáticas, algunos neutrofilos y gran cantidad de macrófagos.

En el primer grupo de aplicación de corriente de electrocirugía (cuatro semanas post-tratamiento) la actividad más representativa fue la formación de osteodentina asociada al congestionamiento y vasodilatación de capilares.

En uno de los especímenes observados, encontramos áreas de hialinización en el tejido pulpar, lo que hace suponer que es un tejido previo a una necrosis.

Otros especímenes mostraron una franca necrosis de tejido pulpar y algunos con reacción granulomatosa periapical. Asociado a ésto, se encontró formación osteoclástica tanto en la zona periapical como en la bifurcación.

Primer molar superior, al cual se le provocó exposición pulpar y a las 4 semanas mostró necrosis del tejido pulpar. (n).



A las 4 semanas de tratamiento el molar presentaba; necrosis (n) - total con un infiltrado inflamatorio crónico en periapice (iic).



En todos los especiménes en los cuales se provocó exposición pulpar a las 4 semanas, mostraban una franca área pulpar necrotica.

Fué evidente la formación de granulomas periapicales. Células plasmáticas (cp), linfocitos (l), macrófagos (m). Así -- como una actividad--osteoclastica(ao).



En la zona periapical donde se encontraba la reacción -- granulomatosa, se observó con cierta frecuencia resorción de dentina y cemento. En estos especímenes no hubo comunicación pulpar.

A las ocho semanas, encontramos en todos los especímenes (con comunicación pulpar), una franca necrosis con una - reacción granulomatosa periapical más extensa, en algunos más que en otros.

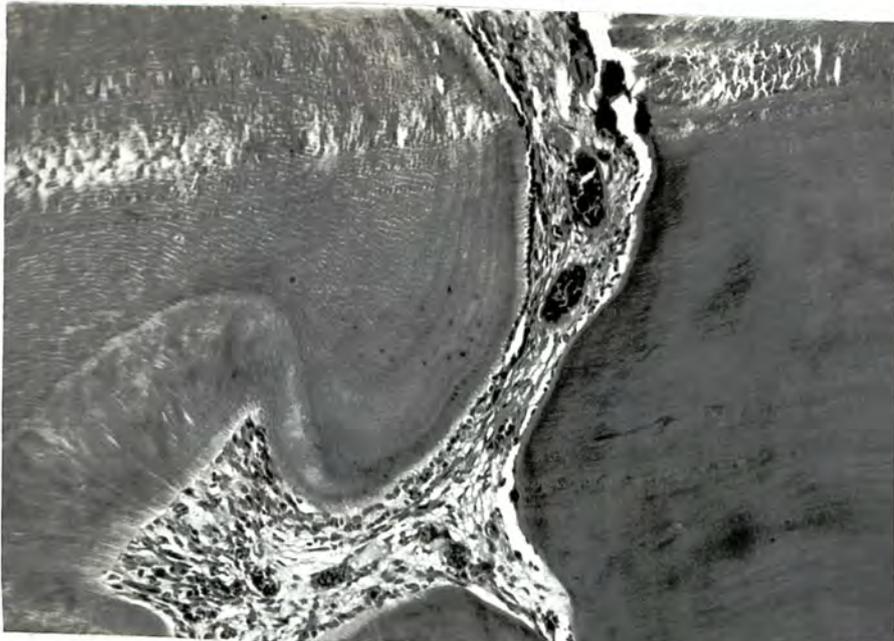
El infiltrado celular inflamatorio muestra predominantemente: células plasmáticas, linfocitos y macrófagos. Es importante hacer notar que en todos los especímenes donde se observó lesión granulomatosa, ya fuese en la región periapical o de la furca, siempre se encontró asociado a una gran actividad osteoclástica, existiendo una gran -- destrucción ósea, así mismo, en algunos especímenes observamos gran actividad fibroblástica principalmente en el área de la furca.

Hubo destrucción del cemento celular por cementoclastos en la región periapical; asociada al proceso granulomatoso.

A las ocho semanas, en los animales que se les aplicó la corriente eléctrica, nuevamente predominó la formación de osteodentina abarcando casi la totalidad de la pulpa cameral. Además el conducto radicular presentó un infiltrado inflamatorio y tejido pulpar en vías de necrosarse.

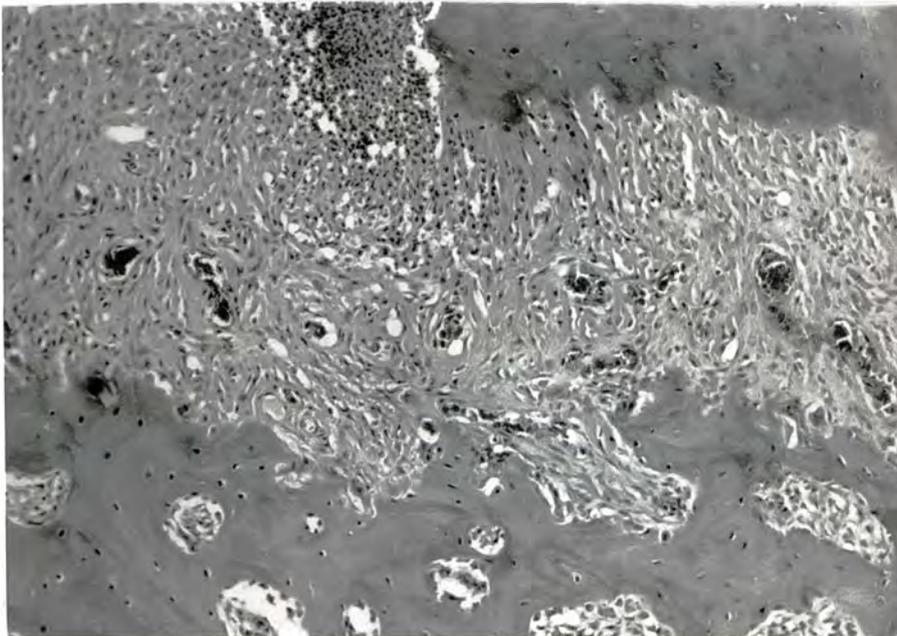
Otros de los especímenes mostraron una franca necrosis con reacción granulomatosa periapical y actividad osteoclástica.

Primer molar superior,
al cual se le aplico -
corriente electrica,--
previo desgaste; a las
4 semanas se encontra-
ron capilares dilata-
dos y congestionados--
(vd) y formación de---
osteodentina .



Fué notoria, a las 4 se
manas la vaso dilatación
(vd) y la formación de -
osteodentina (od).

Fu  común observar la formación de osteodentina (od), respuesta-inflamatoria (i) y -- áreas de hialiniza -- ción (h).



En el periodonto - apical sobre salio - la actividad osteoclastica (ao), asociada a la respuesta inflamatoria peria-

Los dientes controles de los animales no mostraron cambios ni en el tejido pulpar ni tampoco en las áreas periapicales. Fueron todas revisadas sistemáticamente.

DISCUSION

La respuesta de cualquier tejido a un estímulo determinado depende en gran parte a su aportación vascular.

Los irritantes que alcanzan a la pulpa son procesos químicos, físicos y mecánicos. Como en cualquier inflamación la imagen histológica representa un equilibrio entre el daño y la reparación.

Ha sido demostrado en diversas ocasiones que no es necesaria la presencia de microorganismos patógenos (bacterias) para provocar una respuesta pulpar. Fue nuestra postura lograr producir lesiones pulpares en dientes expuestos al medio oral y dientes asépticos; al igual que Robertson y Portilla [22, 19] logramos producir una respuesta del tejido pulpar de importancia como es la hialinización que como sabemos puede degenerar en una necrosis si se dejaran los animales en estudio por un tiempo mayor.

Por otra parte, comprobamos que la simple exposición pulpar puede lograr cambios patológicos que van desde una respuesta inflamatoria, formación de osteodentina, necrosis del tejido pulpar y formación de granulomas.

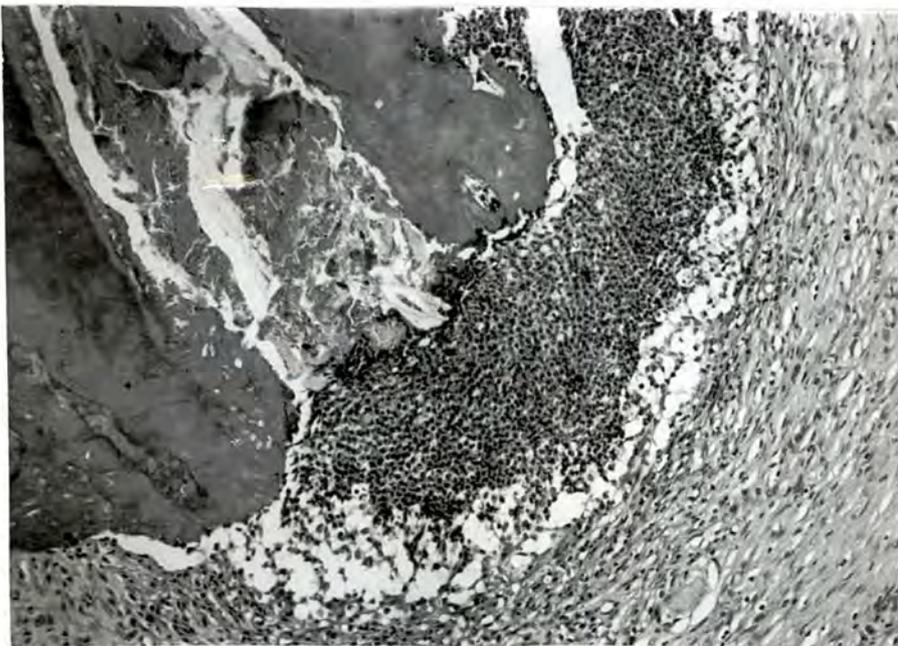
Es de importancia hacer notar la producción de osteodentina observada en los especímenes a los cuales se les aplicó la corriente de electrocirugía, ya que en estudios similares reportados por Spangerberg y Krejci [23, 24] no mencionan dentro de los cambios observados por ellos, ninguna alteración de este tipo, por lo tanto se espera

A las 8 semanas, la presencia de respuesta periapical se vio incrementada, comunicación pulpar (cp) necrosis del tejido pulpar cameral y en la zona del periapice la respuesta inflamatoria.



Fué común encontrar formación de granulomas (g) en la zona de la furca, asi como una actividad osteoclastica (ao).

La formación de granu-
lomas periapicales se
observó en todos los-
especímenes a los cua-
les se les practico -
la comunicación pulpar.
Reacción granulomatosa
cronica, la cual pre--
siona un nervio.



Granuloma periapical (gp) ,
Células plasmaticas (cp) ,
linfocitos (l), macrofa--
gos (m) , destrucción de-
dentina y cemento periapi-
cal.

que en la fase que resta del estudio, se pueda obtener - una respuesta a esta interrogante.

Moller y Col. [5] muestran que el tejido pulpar no infectado es inerte y no induce a las respuestas inflamatorias en el periápice. Por el contrario, nosotros opinamos que sí es posible que se produzcan alteraciones pulpares aún en ausencia de productos bacterianos.

Por otro lado, es importante señalar la actividad osteoclástica tan marcada en los dientes de los animales que presentaron pulpas necróticas en el periápice ya que como lo señala Portilla, R. (1983) es importante, pues indica que el infiltrado linfocitario temprano está compuesto por linfocitos capaces de liberar OAF (factor activador de osteoclastos).

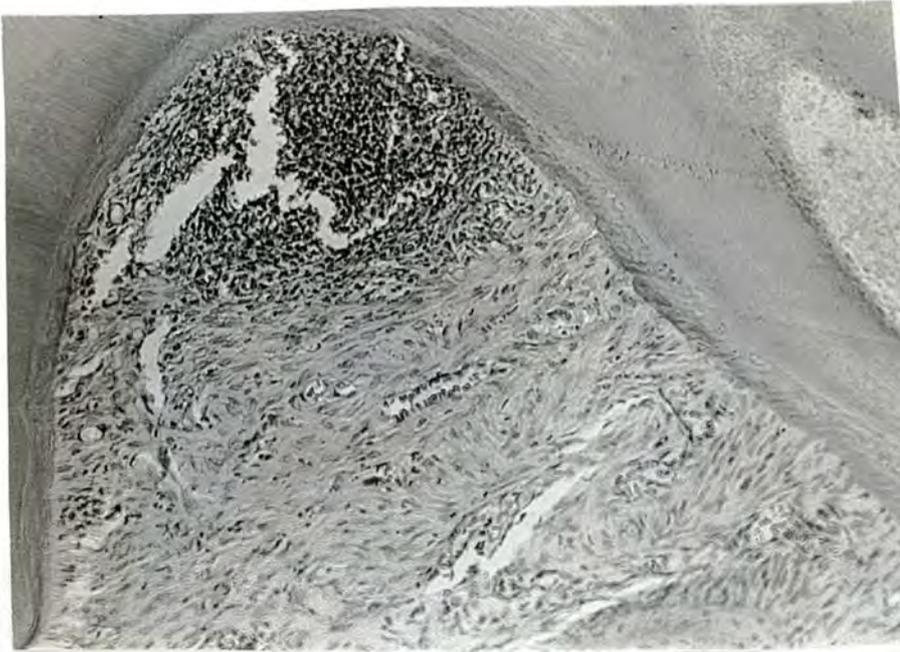
Así mismo, señalamos que el presente trabajo corresponde a un reporte preliminar.



A las 8 semanas de haber aplicado la corriente -- electrica fué evidente -- la formación de osteoden -- tina y se observó el te -- jido pulpar en vias de -- necrosarse. El incremento de actividad osteoclastica en el área de la furca.

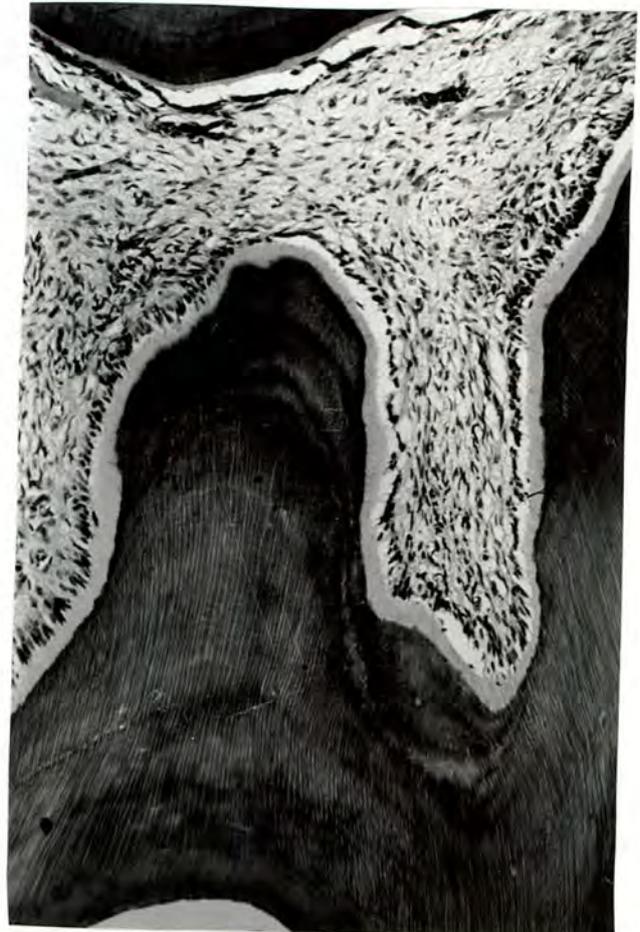
Tejido pulpar en vias de necrosarse(n), vaso dilatación (vd) e in -- infiltrado inflamato -- rio (i).





Granuloma en el área de
bifurcación y extensa -
área de destrucción ósea

Molar de rata
que muestra -
tejido pulpar
sano.



RESUMEN

El granuloma periapical es la reacción más comunmente observada, y consiste en una acumulación focal de células inflamatorias y elementos reactivos adheridos a la raíz del diente; los componentes estructurales son macrófagos, linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos y elementos fibrovasculares. El curso progresivo y crónico de algunas lesiones periapicales han sido explicados en parte por los hallazgos observados con respecto al mecanismo inmunológico operante.

Diferentes factores etiológicos han sido atribuidos a la enfermedad pulpar. La mayor parte de los estudios postulan a las bacterias como agentes etiológicos, pero deben tomarse en cuenta diversos factores como son: preparación de cavidades, uso de medicamentos y materiales; así como diferentes estímulos como son aplicación de corrientes eléctricas y estímulos térmicos.

El propósito de nuestro estudio fue el producir granulomas periapicales estériles y contaminados en ratas. El primero, producido bajo estímulo eléctrico y el segundo, por medio de comunicación pulpar, para así poder comparar las diferentes respuestas y cambios histológicos del tejido pulpar y de la región periapical, de acuerdo con la arquitectura general y tipo de respuesta ante el estímulo aplicado. Para esto, se utilizaron 30 ratas cepa wistar con peso similar y clínicamente sanas. El grupo de estudio se dividió en cinco etapas de sacrificio.

El reporte que se presenta consiste en las primeras ocho semanas del estudio.

La aplicación del tratamiento fue para la inducción de granulomas estériles, proporcionándoles a la mitad de los animales en estudio corriente eléctrica, con una unidad de electro-cirugía bajo previo desgaste oclusal.

Para la inducción de granulomas contaminados se preparó una cavidad con una fresa de carburo de baja velocidad.

Los animales fueron observados y sacrificados en las fechas convenidas. La técnica histológica se realizó bajo las técnicas convencionales de inclusión en parafina.

Los resultados obtenidos nos muestran que en el grupo de animales en los cuales se les provocó una exposición pulpar se presentó una necrosis con una reacción granulomatosa periapical, observándose un infiltrado inflamatorio predominantemente de tipo linfocitario, de células plasmáticas y macrófagos. Siendo importante señalar la gran actividad osteoclástica en la zona adyacente a la formación del granuloma, así como en la zona de bifurcación.

En lo que respecta al grupo a los cuales se les aplicó la corriente eléctrica, los cambios histológicos observados consistieron principalmente de la presencia en el tejido pulpar de capilares congestionados y dilatados, así como una producción de osteodentina que en ocasiones abarcaba casi la totalidad de la pulpa cameral. En

el conducto radicular existía un infiltrado inflamatorio y el tejido pulpar se observaba en vía de necrosarse. Algunos de los especímenes mostraron una marcada necrosis con formación de granulomas, lo cual se espera corroborar con la siguiente fase del estudio.

CONCLUSIONES

1. En este estudio se logra el desarrollo de lesiones periapicales, aún cuando las respuestas en ambos tratamientos son diferentes, en cuanto a características de tiempo y arquitectura tisular.
2. Del trabajo se concluye, que dependiendo del estímulo aplicado, la arquitectura pulpar puede preservarse y que de acuerdo con la intensidad de ella, la patología pulpar puede ser reversible o irreversible.
3. El resultado de nuestro estudio confirma que la simple exposición pulpar al medio ambiente, es capaz de producir una necrosis y respuesta granulomatosa.
4. Es importante señalar, que en el transcurso del estudio no se observó la presencia de un absceso en el periápice, o sea que la mayoría de las lesiones se iniciaron y terminaron como una lesión crónica inflamatoria.
5. Por otro lado, las alteraciones pulpares observadas durante el experimento en los animales a los cuales se les aplicó la corriente eléctrica, parecen indicarnos que si dejásemos por más tiempo, lograríamos en todos los animales la formación de respuestas granulomasas periapicales. Situación que se reportará al concluir este estudio.

BIBLIOGRAFIA

1. Seltzer, Bender and Kaufman. Histologic Changes in Dental Pulp, in dogs and monkeys, Following application of Pressure, Dürgs and Microorganims and Prepared Cavity, Oral Surgery. Vol. 14. No. 3. March 1961.
2. Stern, Dreizen, Levy. Quantitative Analysis of Cellular Composition of Human Periapical Granuloma. Journal of endodontics, Vol. 7. No. 3. March. 1981.
3. Korzen, B. H., Krakow, A. A., Gree, D. B. Pulpal and Periapical Responses in Conventional and Monoinfected Gnotobiotic Rats. Oral Surg. 37 (5) 783. 1974.
4. Winkler, T. F., Mitchell, D. F., Healy, H. J. A Bacterial Study of Human Periapical Pathosis Employing a Modified Gram Tissue Stain. Oral Surg. 34; 109. 1972.
5. Moller, A. J. R. Microbiological Examination of Root Canals and Periapical Tissues of Human Teeth. Thesis Odontol. Tidskr. Spec. Issue. 74; 1 - 380. 1966.
6. Morton, T. H., Clagett, J. A. Yavorsky, J. D. Role of Immune Complexes in Human Periapical Periodontitis. - J. Endod. 3; 261. 1977.
7. Stern, Mackler, Dreizen, Levy. A Quantitative Method for Analisis of Human Periapical Inflammation. Journal of Endodontics Vol. 7 No. 2. Febraury 1981.

8. Melville, T. H., Birch, R. H. Root Canal and Periapical Floras of Infected Teeth. Oral Surg. 23:93. 1967.
9. Andreasen. J. O., Rud, J. A.: Histobacteriologic Study of Dental and Periapical Structures After Endodontic Surgery. Int. J. Oral Surg. 1:272. 1972.
10. Langeland, K., Block, R. M., Grossman, L. I. A Histopathologic and Histobacteriologic Study of 35 Periapical Endodontic Surgical Specimens. Journal of Endodontic Surgical Specimens. Journal of Endodontic. 3_ (1):8. 1977.
11. Kramer, I. R. H. Pulp Changes of Non Bacterial Origin. Read in Oral Pathology, University of London. -- No. 4, December, 1958.
12. Torabinejad, M. Bakland. Immunopathogenesis of Chronic Periapical Lesions. Oral Surg. Vol. 46. No. 5, - 685. Nov. 1978.
13. Schonfeld, S. Greening A. Endotoxic Activity in Periapical Lesions. Oral Surg. Vo. 53. No. 1. 82-87. - January, 1982.
14. Bevilacqua Sylvio. Correlation of Pathologic and Microbiologic Findings of Pulp and Periapical Tissues. 1963.
15. Bergenholtz, G. Micro-Organisms from Necrotic Pulp of Traumatized Teeth. Odontol. Revy. 25: 347-358. -- 1974.

16. Engström, B. The Significance of Enterococci in Root Canal treatment. *Odontol. Revy.* 15: 87 - 106. 1964.
17. Torneck, C. D. Discussions of Polymorphonuclear Bacterial Interaction as a Pathogenetic Mechanism in Periodontal Disease. *Journal of Endodontics.* Vol. 3. No. 8 August 1977.
18. Burstone, N. S., Levy, B. M. The Production of Experimental Apical Granulomata in the Syrian Hamster. *Oral Surg.* 3: 807, 1950.
19. Portilla, J. R. A Study Model for Periapical Lesion. *J. Dent. Res.* 59: 321. 1980.
20. Torneck Calvin D. *Journal of Endo.* Vol. 7. No. 1. Pag. 8-16. 1981.
21. Tagger and Massler. Periapical Tissue Reactions After Pulp Exposure. *Oral Surg.* Vol. 30 No. 2. February, -- 1975.
22. Robertson, P. B., Luscher, B. Spanberg, L. S., Levy, B. M. Pulpal and Periodontal Effects of Electro Surgery Involving Metallic Restorations. *Oral Surg.* 46: -- 702 - 710. 1978.
23. Spangberg, L. S. Hellden. Robertson. Pulpal Effects - of Electrosurgery Involving Based and Unbased Cervical Amalgam Restorations.
24. Krejci, R. F. Reinhardt, R. A. Effects of Electrosurgery on Dog Pulp Under Cervical Metallic Restorations. *Oral Surg.* Vol. 54. No. 5, p.575-582. Nov. 1982.