

Aplicación de Técnica de Hidróxido de Potasio y Glicerina para Diafanización Dentaria

Application of Potassium Hydroxide and Glycerin Technique for Dental Clearing

Rodrigo Bravo*; Marcos Valenzuela*; Felipe Cáceres* & Reinaldo Soto*

BRAVO, R.; VALENZUELA, M.; CÁCERES, F. & SOTO, R. Aplicación de técnica de hidróxido de potasio y glicerina para diafanización dentaria. *Int. J. Morphol.*, 33(2):673-677, 2015.

RESUMEN: La diafanización dentaria consiste en lograr transparentar la estructura mineralizada, permitiendo observar la arquitectura interna del diente. Se realiza principalmente a partir de métodos por deshidratación de la muestra. Por otro lado existen técnicas utilizadas para el estudio de centros de osificación basadas en métodos por maceración utilizando hidróxido de potasio y glicerina, de las cuales no se tiene antecedentes de haber sido utilizada en diafanización dentaria. El objetivo de este trabajo fue describir una técnica de diafanizado por maceración de tejidos dentarios mediante hidróxido de potasio y mostrar el resultado obtenido con un seguimiento de 5 años. Se seleccionó una muestra de 40 dientes (10 incisivos, 6 caninos, 10 premolares y 14 molares). Se limpiaron los dientes (destartraje) y luego se descalcificaron parcialmente con ácido clorhídrico. El 25% de la muestra fue diafanizada con el método clásico de deshidratación. El 75% restante fue diafanizado con el método por maceración, que consistió básicamente en una maceración parcial del diente mediante baños en hidróxido de potasio de baja concentración, luego agregando glicerina en forma ascendente hasta terminar en glicerina pura por tiempo indefinido. La técnica por maceración logró diafanización adecuada de los tejidos con una óptima visualización del sistema de canales radiculares en las muestras diafanizadas. Con ambas técnicas se logró transparentar los dientes pero con diferencias evidentes. Con la primera los dientes lograron un tono amarillento, perdiéndose gran cantidad de tejido dentario en cambio las muestras diafanizadas por maceración conservaron mejor su estructura y obtuvieron un color más cercano al del diente original. Con el método por maceración se obtienen dientes diafanizados más similares a la realidad que lo logrado con el método por deshidratación.

PALABRAS CLAVE: Diafanización dentaria; Deshidratación; Maceración.

INTRODUCCIÓN

Para el desarrollo de la odontología y especialmente de la endodoncia fue necesario el estudio en profundidad de detalles de las estructuras dentarias tanto externas como internas. Gracias a muchos de los hallazgos morfológicos logrados del sistema de canales radiculares es que se ha podido aumentar el porcentaje de éxito de diversos tratamientos y aumentar la vida útil de los dientes en la cavidad oral. Dentro de las técnicas utilizadas para el estudio de la anatomía interna se encuentra la diafanización dentaria. Esta consiste en transparentar el tejido calcificado al igualar el índice de refracción de los tejidos con el índice de refracción del líquido que contiene la muestra. La historia de las diferentes técnicas es bastante remota. Spalteholz (1914) desarrolló una técnica de diafanizado para tejidos a base de deshidratación utilizando distintas concentraciones de alcohol y embebiendo a la muestra en xilol y salicilato de metilo como agente

clareador. Okumura (1927) llevó esta técnica a dientes humanos y realizó un estudio exhaustivo sobre la anatomía interna de estos gracias a la diafanización, siendo el primero en clasificar los canales radiculares de acuerdo a su distribución anatómica. Para lograr esto, agregó a su técnica la inyección de tinta china en el interior de la cavidad pulpar y así lograr hacer evidente el sistema de canales radiculares.

Además de la utilización del método propuesto por Spalteholz y modificado por Okumura, durante los años posteriores se han hecho una serie de modificaciones a los protocolos originales, cambiando los ácidos utilizados para la decalcificación, utilizando buffers, incluso se han utilizado otros agentes para transparentar la muestra como el eugenol (Vertucci *et al.*, 1974; Robertson *et al.*, 1980; Sharma *et al.*, 1998; al Shalabi *et al.*, 2000; Gupta *et al.* 2014).

*Unidad de Morfología, Facultades de Odontología y Medicina, Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

Por otro lado existe una técnica diferente de diafanización, la cual fue desarrollada por Dawson y mencionada por Davis en su obra (Dawson, 1926; Davis *et al.*, 1936). Esta se desarrolló para el estudio de centros de osificación en fetos, tiñendo los huesos con rojo de Alizarina y transparentando los tejidos sumergiendo las muestras en hidróxido de potasio y utilizando glicerina como agente de transparencia. Múltiples variaciones de los agentes de tinción se han descrito con el paso de los años (Green, 1952; McLeod, 1980), pero la utilización de la glicerina y el hidróxido de potasio continúan siendo el común denominador de esta técnica.

El objetivo de este trabajo fue diafanizar dientes mediante modificaciones a la técnica descrita por Dawson (Davis *et al.*) y mostrar los resultados obtenidos a 5 años de preparación de las muestras.

MATERIAL Y MÉTODO

Se obtuvo 40 dientes pertenecientes a la dentición adulta (10 incisivos, 6 caninos, 10 premolares y 14 molares). Luego fueron tratados mediante el siguiente protocolo:

- 1. Mantención:** En una solución fijadora Alcohol/Glicerina 1:1
- 2. Destartraje.**
- 3. Radiografía previa:** Se realizaron tomas en sentido mesio/distal y buco/palatino-lingual, con un tiempo exposición de 0,07 segundos utilizando un equipo Vario DG® (Sirona Dental Systems GmbH, Bensheim, Germany).
- 4. Cavidad de acceso endodóntico (trepanación):** De acuerdo a la anatomía dentaria. Utilizando fresa redonda de

diamante en esmalte y redonda de carbide en dentina. Además del uso de una fresa endo Z E0152-021 (Dentsply Maieffer, York PA, USA) para lograr el acceso adecuado.

5. Inyección del medio de contraste: Utilizando en los casos de dientes con un canal, la mezcla de medio de contraste radiográfico Conray® (Iotalamato de meglumina 60% inyectable) (Mallinckrodt Pharmaceuticals, Dublin, Ireland) con tinta china verde. En los dientes con más de un canal la mezcla de cemento de Grossman Hertz (Laboratorios Hertz, Santiago, Chile) con pigmento concentrado verde para polímero. Para ambas mezclas la dosificación fue totalmente empírica.

6. Radiografía control con medio de contraste: Nuevamente se obtuvo radiografías en sentido mesio/distal y buco/palatino-lingual con el objetivo de evidenciar el correcto acceso del relleno radiopaco dentro del sistema de canales radiculares.

7. Descalcificación: Se realizó utilizando una solución de ácido clorhídrico al 5%. De acuerdo al grupo dentario, varió entre uno a tres días como máximo. Un día para el grupo de incisivos, entre uno a dos días para el grupo caninos, entre dos y tres días para el grupo de premolares y tres días para el grupo de molares.

8. Deshidratación: Para los dientes que se trataron con la técnica de deshidratación con alcoholes, que correspondió a un 25% de la muestra, se utilizó el protocolo propuesto por Robertson *et al.* con las modificaciones realizadas por Pécora *et al.* (1991).

9. Maceración: Las muestras fueron sumergidas en hidróxido de potasio (KOH al 2%) por un tiempo mínimo de 4 semanas para el grupo incisivo, entre 5 y 6 semanas para caninos-premolares y 7 semanas para molares. Estos tiempos fueron obtenidos de manera empírica teniendo en

Tabla I. Cuadro resumen de la metodología utilizada para diafanización.

Método por Deshidratación	Método por Maceración
Conservación en alcohol con glicerina.	Conservación en alcohol con glicerina.
Limpieza de la muestra (destartraje).	Limpieza de la muestra (destartraje).
Radiografía, acceso endodóntico, relleno con material radiopaco.	Radiografía, acceso endodóntico, relleno con material radiopaco.
Decalcificación con Ac. Clorhídrico al 5%.	Decalcificación con Ac. Clorhídrico al 5%.
Deshidratación por medio de alcoholes ascendentes (50. 60. 70. 80. 90 v 100%)	Maceración parcial (KOH 2%)
Xilol puro (3 días)	KOH 2% + Glicerina bidestilada en diferentes concentraciones
Solución de Salicilato de Metilo y Benzoato de Bencilo 3:4	Glicerina (tiempo indefinido).

cuenta el comienzo de la corrosión del diente a diafanizar. Durante el periodo de maceración, se realizó un recambio de la solución acuosa de KOH al 2%, al momento en que la solución que originalmente era transparente se tornaba opaca.

10. Transparencia: Luego del periodo de maceración, las muestras se cambiaron a una solución de KOH 2% con Glicerina, en forma ascendente, comenzando con una solución 2:1 por un periodo aproximado de 4 semanas (con 1 recambio de solución completo a las 2 semanas), seguido de una solución 1:1 por 3 semanas, luego un periodo de solución 1:2 por una semana para finalizar con glicerina absoluta.

11. Conservación: Las muestras se conservan finalmente de manera indefinida en glicerina pura.

El resumen de ambas técnicas se puede ver en la Tabla I.

RESULTADOS

Los resultados de la técnica por maceración con hidróxido de potasio muestran una excelente diafanización del tejido dentario, obteniendo una coloración blanquecina transparente del espécimen (Figs. 1, 2 y 3). Los resultados obtenidos además se mantienen estables en el tiempo permitiendo una conservación de la diafanización por al menos cinco años (Figs. 1, 2 y 3). Al comparar la metodología de la técnica

de maceración con la técnica por deshidratación se puede ver que la técnica por maceración requiere un mayor tiempo para lograr buenos resultados comparados con la de deshidratación, pero la técnica propiamente tal de maceración es bastante más sencilla que la por deshidratación. Además los resultados obtenidos en cuando a la calidad de la diafanización son evidentemente mejores en el caso de la maceración (Figs. 1, 2, 3 y 4). El resto de las diferencias entre técnica y resultados obtenidos se encuentran en la Tabla II.

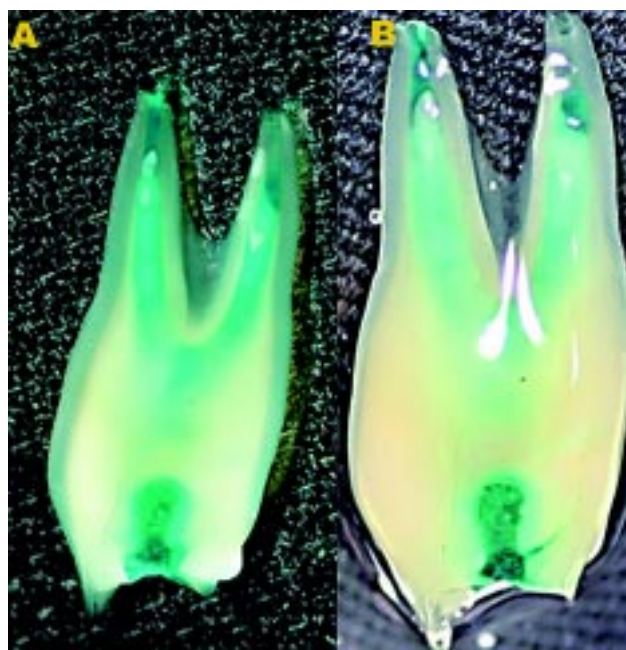


Fig. 2. A). Diente 14, obtenido por maceración. Diciembre 2008. B). Mismo diente 14, obtenido por maceración. Diciembre 2013.

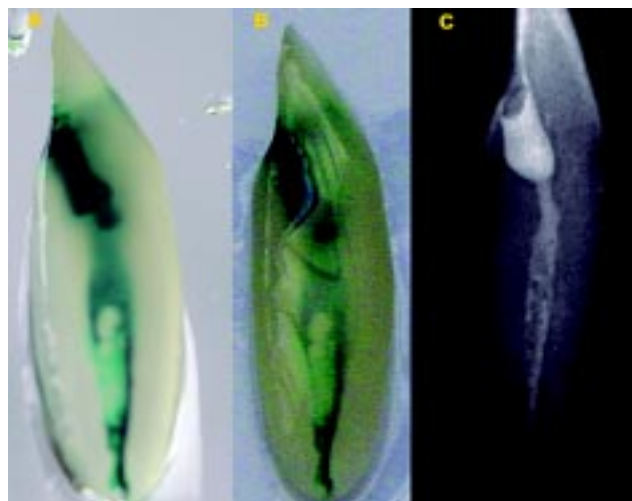


Fig. 1. A). Diente 42, obtenido por maceración. Diciembre 2008. B). Mismo diente 42, obtenido por maceración. Diciembre 2013. C). Radiografía del diente 42 tomada previa a la diafanización dentaria.

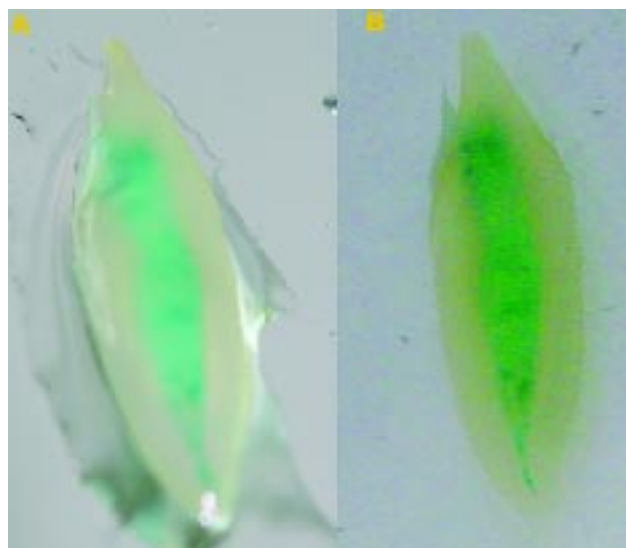


Fig. 3. A). Diente 43 obtenido por maceración. Diciembre 2008. B). Mismo diente en Diciembre 2013.

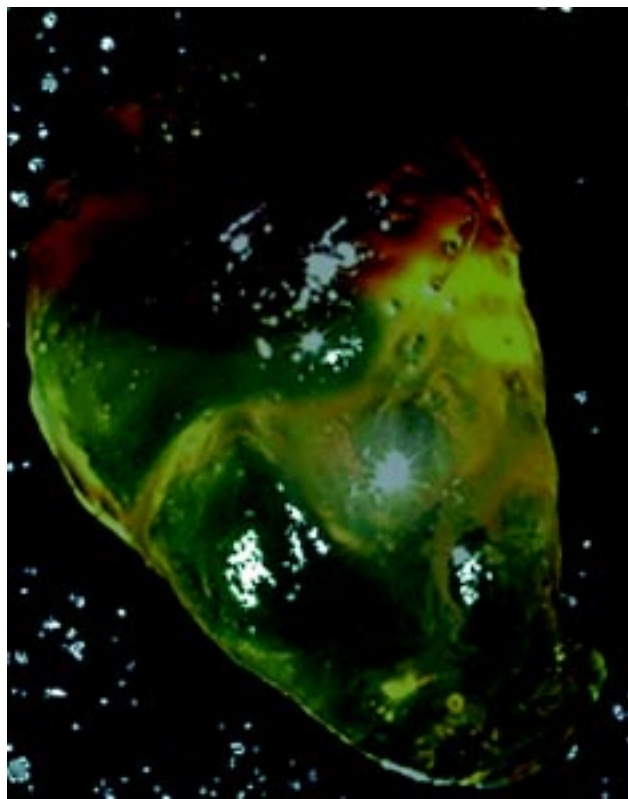


Fig. 4. Diente 48, obtenido por deshidratación. Diciembre 2008.

DISCUSIÓN

El estudio de la anatomía radicular puede ser realizado mediante variadas técnicas, dentro de las que encontramos la utilización de cortes de dientes en distintos sentidos del espacio, radiografía convencional, Cone Beam CT, Micro CT, microscopía de barrido y finalmente diafanización dentaria. La ventaja de esta última es que nos permite tener un modelo físico tridimensional para investigación y también para docencia el cual perdura en el tiempo y nos da una imagen a escala real de la situación que queremos estudiar.

Dentro de las técnicas de diafanización, en la literatura revisada encontramos solo el método por deshidratación, utilizando variantes de la técnica de Okumura para la diafanización de dientes (Okumura; Vertucci *et al.*; Robertson

et al.; Sharma *et al.*; Gupta *et al.*). Dentro de estos, gran parte utilizaban la diafanización como un medio para estudiar aspectos principalmente enfocados a la endodoncia, cuyo objetivo final era observar el grado de sellado de canales utilizando diferentes terapéuticas. Por otro lado, el método por maceración lo encontramos descrito principalmente para el estudio de centros de osificación en fetos y de acuerdo a nuestra revisión de la literatura no ha sido empleado para el estudio de dientes.

En la experiencia lograda en este trabajo, el método por deshidratación permite obtener resultados en menor tiempo respecto al método por maceración. Sin embargo, el método por deshidratación requiere de cuidados más minuciosos por parte del operador, esto porque las muestras deben ser cambiadas de soluciones en forma constante hasta alcanzar la deshidratación y luego la transparencia de la muestra. Mientras que por maceración, si bien tarda un tiempo mayor en obtener los resultados, es una técnica mucho menos demandante y engorrosa para el operador, al no necesitar tantos cambios de soluciones. Esto sumado al hecho de que el aspecto de la muestra obtenida por maceración es más cercano al diente previo a su diafanización, tanto de un punto de vista anatómico como estético (Figs.1, 2 y 3).

En relación a las soluciones utilizadas para la repleción dentaria, ambas se han mantenido estables por 5 años (Figs. 1, 2 y 3). La explicación más factible sería que ambas mezclas de relleno de los canales radiculares tienden a solidificar, impidiendo que el material de repleción difunda a través los túbulos dentinarios. Este punto es importante porque en los estudios revisados (Okumura; Robertson *et al.*; Ahmed *et al.*, 2007; Neelakantan *et al.*, 2010), las soluciones utilizadas generalmente corresponden a tinta china o india, la cual luego de un tiempo difunde a través de los túbulos dentinarios, arruinando la calidad de la diafanización.

Por otro lado, la estabilidad en el tiempo que hemos observado nos permite obtener un material docente perdurable y de bajo costo final. En este ámbito se justifica la toma de radiografías para poder realizar comparaciones posteriores del material obtenido al presentárselo a los alumnos tanto en el curso de Morfología como en el de Endodoncia. Si bien, ambas técnicas son relativamente sencillas de realizar y en am-

Tabla II. Comparación entre ambos métodos.

	Método por Deshidratación	Método por Maceración
T° Diafanizado Promedio	1,5 a 2 meses (menor tiempo).	3,5 a 4 meses (mayor tiempo)
Aspecto de las Muestras	Amarillo pálido con notoria pérdida de estructura.	Blanco similar al diente original y menor pérdida de estructura.
Solución de Conservación	Tóxica e irritante.	Muy baja toxicidad e irritabilidad.
Técnica y Costos	Más engorrosa y demandante. Reactivos son difíciles de obtener.	Menos engorrosa y demandante. Reactivos fáciles de obtener.

En los casos las muestras se transparentan, el método por maceración nos permite obtener una muestra de bajo costo con dientes de buen aspecto y consistencia.

BRAVO, R.; VALENZUELA, M.; CÁCERES, F. & SOTO, R. Application of potassium hydroxide and glycerin technique for dental clearing. *Int. J. Morphol.*, 33(2):73-677, 2015.

SUMMARY: Dental clearing objective is performed to obtain the translucency of the mineralized structure, allowing an appreciation of the inner architecture of the tooth. It is achieved mainly using the dehydration technique on the sample. On the other hand, there are other techniques used for the study of ossification centers based on the maceration methods using potassium hydroxide and glycerin, none of which have been reported for dental clearing. The purpose of this study was to describe the maceration technique of the dental tissue using potassium hydroxide with a five-year follow up. We selected 40 teeth to complete the sample (10 incisors, 6 cuspid, 10 bicuspid and 14 molars). The teeth were cleaned and then partially decalcified with hydrochloric acid. A quarter of the sample was cleared by classic dehydration method. The other three quarters were cleared with the maceration method, that consisted mainly in a partial maceration using potassium hydroxide baths at low concentrations, followed by the addition of glycerin at ascending concentrations and finally using pure glycerin for an undefined period of time. The maceration technique achieved an adequate clearing of the mineralized tissue with an optimal visualization of the root canal system in the cleared sample. With both techniques it was possible to clear the teeth but with evident differences. With the first technique the teeth achieved a yellowish color, losing a great amount of dental tissue however the maceration technique sample allowed the preservation of more structure and obtained a coloration similar to the original tooth. With the maceration method the samples were more similar to the original ones than the cleared teeth obtained with dehydration.

KEY WORDS: Dental clearing; Dehydration; Maceration.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, H. A.; Abu-bakr, N. H.; Yahia, N. A. & Ibrahim, Y. E. Root and canal morphology of permanent mandibular molars in a Sudanese population. *Int. Endod. J.*, 40(10):766-71, 2007.
- al Shalabi, R. M.; Omer, O. E.; Glennon, J.; Jennings, M. & Claffey, N. M. Root canal anatomy of maxillary first and second permanent molars. *Int. Endod. J.*, 33(5):405-14, 2000.
- Davis, D.; Gore, U. R. & Osgood, W. H. *Clearing and staining skeletons of small vertebrates*. Chicago, Field Museum Press, 1936.
- Dawson, A. B. A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with Alizarin Red S. *Stain Technol.*, 1(4):123-4, 1926.
- Green, M. C. A rapid method for clearing and staining specimens for the demonstration of bone. *Ohio J. Sci.*, 52(1):31-3, 1952.
- Gupta, B.; Tiwari, B.; Raj, V.; Kashyap, B.; Chandra, S. & Dwivedi, N. Transparent tooth model: A study of root canal morphology using different reagents. *Eur. J. Gen. Dent.*, 3(1):66-70, 2014.
- McLeod, M. J. Differential staining of cartilage and bone in whole mouse fetuses by alcian blue and alizarin red S. *Teratology*, 22(3):299-301, 1980.
- Neelakantan, P.; Subbarao, C. & Subbarao, C. V. Comparative evaluation of modified canal staining and clearing technique, cone-beam computed tomography, peripheral quantitative computed tomography, spiral computed tomography, and plain and contrast medium-enhanced digital radiography in studying root canal morphology. *J. Endod.*, 36(9):1547-51, 2010.
- Okumura, T. Anatomy of the root canals. *J. A. D. A.*, 14(4):632-6, 1927.
- Pécora, J. D.; Saquy, P. C.; Sousa Neto, M. D. & Woelfel, J. B. Root form and canal anatomy of maxillary first premolars. *Braz. Dent. J.*, 2(2):87-94, 1992.
- Robertson, D.; Leeb, I. J.; McKee, M. & Brewer, E. A clearing technique for the study of root canal systems. *J. Endod.*, 6(1):421-4, 1980.
- Sharma, R.; Pécora, J. D.; Lumley, P. J. & Walmsley, A. D. The external and internal anatomy of human mandibular canine teeth with two roots. *Endod. Dent. Traumatol.*, 14(2):88-92, 1998.
- Spalteholz, W. *Über das Durchsichtigmachen von menschlichen und tierischen Präparaten und seine theoretischen Bedingungen, nebst Anhang: Über Knochenfärbung*. Leipzig, S. Hirzel, 1914.
- Vertucci, F.; Seelig, A. & Gillis, R. Root canal morphology of the human maxillary second premolar. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 38(3):456-64, 1974.

Dirección para Correspondencia:
Reinaldo Soto Norambuena
Profesor Asociado Unidad de Morfología
Universidad de los Andes
Monseñor Álvaro del Portillo 12455
Las Condes, Santiago
CHILE

Email: rsoto@miuandes.cl

Recibido : 15-12-2014
Aceptado: 14-04-2015