

El método electroquímico en la descalcificación dentaria

Precisiones sobre las distintas etapas
hasta la coloración

por los doctores:

JOSE B. COSTAS,*

SERGIO DI PIRAMO,**

Químico Industrial G. SPANGENBERG.***

SUMARIO

1. Finalidad.
2. Estado actual.
3. Material y métodos.
 - a) Fijación. Resultados. Discusión.
 - b) Primer lavado. Resultados. Discusión.
 - c) Descalcificación. Fundamento electroquímico. Resultado. Discusión.
4. Conclusiones.
5. Resumen.
6. Bibliografía.

1. FINALIDAD

Es el propósito de este trabajo, presentar las experiencias realizadas en el curso de numerosas descalcificaciones electroquímicas de dientes, con el fin de depurar y perfeccionar la técnica hasta obtener un preparado correcto en lo

que respecta a integridad del tejido pulpar y apetencia colorante.

2. ESTADO ACTUAL

La descalcificación electroquímica ha demostrado ser un método excelente. (2, 3, 5, 6, 8)

Es más rápido que otros métodos. (2, 3, 5, 6, 8, 10, 11) Es seguro, ya que un diente dejado en el baño por más tiempo del que insume su descalcificación, no se perjudica. (2, 8, 11) Conserva la integridad celular y no modifica en forma notoria la apetencia colorante. (2, 9, 11)

* Profesor de Anatomía Patológica.

** Ayudante de Investigación de Anatomía Patológica.

*** Director de la Sección Electroquímica. Instituto de Investigación Libre y Asesoramiento. Facultad de Química y Farmacia.

El método general de descalcificación de tejidos duros, implica una serie de operaciones que consisten en:

1. Fijación de la pieza.
2. Lavado.
3. Descalcificación.
4. Lavado.

Todos estos pasos se han aplicado al método electroquímico de descalcificación en forma arbitraria, a través de lo que se lee en la escasa bibliografía que hay al respecto.

3. MATERIAL Y METODOS

Fuente de corriente continua regulable de 20 voltios y 10 amperes. (2)

Vasija electrolítica de resina acrílica de $30 \times 10 \times 10$ cm. con doble fondo para regulación de temperatura por corriente de agua.

Cátodo: placa vertical de grafito.

Ánodo de forma y dimensiones especiales, su área activa de 10 cm^2 , es una placa horizontal de platino. Sobre ella se colocan los dientes mantenidos por una celdilla.

Separación entre ánodo y cátodo: 25 cm.

Dientes humanos de ambos maxilares de preferencia clínicamente intactos.

Fijadores: de la gran cantidad de fijadores que existen se eligió los que presentan más rapidez de penetración, universalidad y adaptación a la investigación de carácter topográfico y/o patológico. Las soluciones empleadas fueron formol al 10% neutro, alcohol-formol, Zenker-formol, líquido de Orth, picroformol de Bouin, mezcla de Duboscq-Brasil.

Solución descalcificadora:

Ácido fórmico ($D = 1,22$; 98-100 %)	200 ml.
Ácido clorhídrico ($D = 1,16$; 32,14%)	180 ml.
Agua destilada	c. s. p. 2 lts.

Otras soluciones: de la fórmula original antes mencionada, se va rebajando la proporción de ácido clorhídrico hasta trabajar con el electrólito a base de ácido fórmico solo, al 20%.

Cada variación de los pasos técnicos, fue cuidadosamente anotada y el preparado final fue sometido a juicio de personas competentes, que desconocían la variante introducida.

a) Fijación.

Es una etapa muy importante y que exige sus precauciones.

En la fijación de los dientes existen varios problemas. Sus paredes duras y compactas que impiden la penetración del líquido fijador hacia la intimidad del tejido pulpar. La demora de la llegada del fijador significa alteración tisular. Por eso en esta etapa se siguió el siguiente procedimiento: a) extracción del diente; lavado con agua corriente para eliminar sangre; b) si se trata de un diente sano o con caries pequeña, se le cortó el ápice con una pinza adecuada, perfectamente afilada; no se usó carburete o elementos similares para evitar recalentamientos nocivos no siempre fácilmente controlables; c) inmersión en el líquido fijador; el diente por su peso cae al fondo del frasco, lo que no es conveniente, ya que de esta manera la parte en contacto con el vi-

drio no está en relación directa con el fijador. Además, es frecuente observar que las piezas colocadas en estas condiciones quedan pegadas al fondo del frasco.

Se evita esto colocando un trozo de algodón en el frasco, sobre el cual descansará el diente, o bien suspendiéndolo en el seno del líquido por medio de una gasa e hilo.

Resultados.

Formol al 10% neutro. Preparados aceptables. Se observa frecuentemente en el tejido pulpar, la llamada "atrofia reticular".

Alcohol-formol. Preparados aceptables. Los glóbulos rojos aparecen destruidos.

Líquido de Orth y Zenker-formol, preparados aceptables.

Picroformol, preparados buenos.

Bouin alcohólico, preparados buenos.

Discusión.

El formol neutro es un buen fijador. Conserva bien los distintos tejidos del diente y prepara en forma correcta la posterior coloración.

Sin embargo, muchos autores hacen notar que la llamada atrofia reticular de la pulpa dentaria, es la traducción de una fijación incorrecta. El hecho de que esta manifestación aparezca sobre todo en los preparados fijados al formol, nos hace pensar que, a pesar de considerarlo un buen fijador no es el más conveniente para el diente.

La mezcla alcohol-formol, es bastante buen fijador. Tiene el inconveniente de producir la lisis de los glóbulos rojos, lo que da al preparado un aspecto poco favorable al microscopio.

Tanto el Orth como en Zenker, resultaron buenos fijadores. Sin embargo, tienen en su contra la poca practicidad de su preparación y el tratamiento ulterior de las piezas.

El Bouin resultó el mejor fijador, cumpliendo enteramente con los requisitos por nosotros buscados, utilizado según fórmula de Masson y con una inmersión de 3 a 5 días.

Con el Bouin alcohólico sólo podemos objetar el inconveniente de tener que mezclar los tres líquidos cada vez que se vaya a usar. Por otra parte, los preparados quedan tan bien como en el Bouin.

b) Lavado primario.

En los textos y trabajos publicados sobre el tópico, se hace notar la necesidad de un lavado previo a la descalcificación. Esto se haría con el objeto de eliminar los restos del fijador que podrían interferir con los reactivos empleados en la descalcificación y también para evitar la producción de reacciones secundarias en el seno de los tejidos, posible origen de muchos artefactos. Los tiempos de lavado y las etapas previstas por distintos autores, varían bastante.

Para verificar cómo incidía esta etapa en el preparado final, se realizó la siguiente experiencia: se tomaron grupos de cuatro dientes, tratando que estos grupos fueran lo más similares posibles en sus características morfológicas. Como fijadores se utilizaron: Bouin, formol al 10% neutro, alcohol-formol.

Se probó sin lavado previo y con lavado de 1, 2, 4, 8, 16 y 24 horas.

Resultados.

Dientes fijados en Bouin y formol al 10%.

Sin lavado previo: preparados aceptables en lo que respecta a aptitud colorante. Presencia de artefactos en zona pulpar en gran parte de los preparados.

Lavado de 1 hora: preparados correctos.

Lavado de 2 horas: preparados correctos.

Lavado de 4 horas: preparados correctos.

Lavado de 8 horas: preparados pálidos.

Lavado de 16 y 24 horas: preparados pálidos con poco contraste núcleo-citoplasma. Borde periférico del diente desteñido en algunas zonas y en otras intensamente coloreado alterando la morfología.

Dientes fijados en alcohol-formol.

Sin lavado previo, y con lavado de 1 hora: presencia en la zona pulpar de numerosas retracciones y vacuolizaciones llamativas.

Lavado de 2 horas: preparados aceptables. Presencia de vacuolizaciones.

Lavado de 4 horas: preparados correctos.

Lavado de 8 horas: preparados correctos.

Lavado de 16 y 24 horas: preparados poco contrastados. Afectación del borde periférico.

Discusión.

La mayoría de los preparados provenientes de piezas que no habían sido lavados o que lo habían sido por corto tiempo, no mostraban mayores diferencias entre ellos; salvo el caso de las piezas fijadas en alcohol-formol cuya descalcifica-

ción inmediata parece producir retracciones y vacuolizaciones de los tejidos.

En todos los casos una prolongación del tiempo de lavado es inútil y muchas veces perjudicial, con afectación de la colorabilidad del borde periférico del diente, y disminución del contraste núcleo-citoplasma.

c) Descalcificación.

Fundamentos
de la descalcificación electroquímica

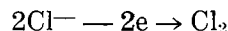
por G. Spangenberg

En una electrólisis, sin agitación y con los electrodos suficientemente separados como para mantener entre ellos una zona media en que el electrolito permanece incambiado, se obtienen en las zonas electrolíticas variaciones en la concentración del mismo, que dependen fundamentalmente del número de transporte de los iones involucrados.

Si para determinada vasija y electrodo, se electrolizan las soluciones de ácido generalmente empleadas en la descalcificación electroquímica de tejidos con densidades de corriente crecientes, dentro de determinado intervalo, se obtendrán según los electrolitos y procesos electrolíticos, concentraciones crecientes de ácido en la vecindad de determinado electrodo, acelerándose el proceso de descalcificación de las piezas colocadas sobre el mismo.

El electrolito generalmente empleado, ⁽²⁾ se electroliza entre ánodo y cátodo de grafito.

La reacción electroquímica es:

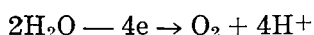


y en su vecindad, debido a la electrólisis se produce un aumento en la concentración de ácido fórmico. Las piezas a descalcificar se colocarán pues, sobre el ánodo que deberá tener forma y dimensiones adecuadas.

La descalcificación empleando este electrólito es rápida, obteniéndose preparados aceptables.

Se ha empleado también como electrólito, una solución acuosa de ácido fórmico al 20%, electrolizando entre ánodo de platino y cátodo de grafito.

La reacción electroquímica en el ánodo, es:



obteniéndose en su vecindad, debido a la electrólisis, un aumento en la concentración de ácido fórmico.

Las piezas a descalcificar se colocan pues sobre el ánodo.

Resultados.

Los mejores resultados se obtuvieron, con un electrólito de ácido fórmico al 20%, para densidades de corriente anódicas, dada la resistividad del mismo, refrigerando con agua a 5° en forma automática y circuito cerrado, para poder mantener la temperatura a unos 39°.

Discusión.

La fórmula Richman, descrita en el numeral 3, es buena desde el punto de vista de la electrólisis, ya que en sus componentes entra el ácido clorhídrico, extraordinariamente soluble en agua y muy ionizable. Como consecuencia, la formación de iones hidrógenos es grande; la descalcificación se rea-

liza rápidamente y la resistencia del electrólito es baja, por lo que la temperatura no se eleva considerablemente.

Pero desde el punto de vista microscópico, a pesar de que no se observan alteraciones de la pulpa, los bordes del preparado aparecen frecuentemente desteñidos. Esta característica se acentúa al aumentar las concentraciones de ácido clorhídrico o de cloro disuelto, debido al efecto decolorante que tiene este elemento, por su fuerte acción oxidante.

El ácido fórmico electroquímicamente considerado, es poco conveniente. Su pobre ionización hace que ofrezca gran resistencia al pasaje de la corriente, dando una notable elevación de la temperatura. De manera que hay que usarlo a concentraciones bajas, lo que aumenta el tiempo de descalcificación. Sin embargo, es un excelente descalcificador, pues conserva perfectamente la apetencia colorante y no hincha ni destruye los tejidos, aun en acción prolongada.

d) Segundo lavado.

Todos los autores concuerdan en la necesidad de neutralizar los tejidos por acción química o por lavado, luego de la descalcificación.

Resultados.

Los mejores preparados se obtuvieron sumergiendo la pieza en alcohol a 96° por 24 horas y luego un lavado de 1 hora en agua corriente.

Discusión.

Utilizamos el baño de alcohol por dos motivos. Elimina perfectamen-

te el ácido de los tejidos sin un gasto inútil de agua y fundamentalmente tiene la propiedad de mejorar la coloración (Romeis).

Algunos autores señalan la posibilidad de que el alcohol produzca retracción de los tejidos. Nosotros no lo observamos. Pero si esto sucediera, con un baño previo en alumbre se elimina esta posibilidad (Romeis).

4. CONCLUSIONES

Se comprueba que el fijador más conveniente a nuestros fines, es el picroformol de Bouin.

Para este fijador un lavado de 1 a 2 horas, previo a la descalcificación, es suficiente.

La mejor solución descalcificante es la de ácido fórmico al 20%, para una densidad de corriente anódica de 0.1A/cm², con el inconveniente del difícil control de la temperatura durante la electrólisis.

Un lavado posterior en alcohol a 96°, favorece la coloración ulterior.

5. RESUMEN

Se precisan los distintos pasos técnicos de la descalcificación electroquímica aplicada a los dientes.

Estas distintas etapas se comprueban metódicamente en sus posibles variantes, sometiendo el preparado final al juicio de personas competentes que desconocían la variante introducida.

Se toma como base el método general de descalcificación de piezas duras que comprende las siguientes operaciones: fijación, lavado, descalcificación y segundo lavado.

Estas operaciones se aplican al método electroquímico de descalci-

ficación de dientes y se determina cuál es la mejor técnica para obtener un preparado microscópicamente correcto.

CONCLUSIONS

One electrochemical decalcification study was performed in order to determine the different technical steps.

These different stages were methodically checked on their possible variations.

It was proved that the more suitable fixing agent to our aims was the Bouin's one.

Two hours running water washing before decalcification was enough for that fixing agent.

The 20% formic acid was the best decalcifying for a 0.1A/cm² flowing density anodic. Its inconvenient is that the temperature control during electrolytic decalcification is of a difficult control.

The later satining procedure are improved after a 96° alcohol rinse.

6. BIBLIOGRAFIA

- 1) BRAIN, E. G.—An investigation of the comparative value of different acids for the descalcification of hard tissues. "J. D. Res.", 40: 1280; 1961.
- 2) DI PIRAMO, S. y SPANGENBERG, G.—Contribución al estudio de la descalcificación electroquímica de tejidos calcificados. "Anales de la Facultad de Odontología del Uruguay", 10: 5; 1961-62.
- 3) DUCEY, E. F. and SHIPPY, R. T.—Descalcification of bone by electrolysis. "Amer. J. Clin. Path.", 20: 591; 1950.
- 4) FRIEDLAND, L. M.—Electrolytic decalcification of bone; practical circuits. "Amer. J. Clin. Path.", 18: 591; 1948.

- 5) KOVÁCS, G.—Sulla descalcificazione elettrolitica nella indagine istologica del dente. "Clinica Odontoiatrica", 6: 1; 1952.
- 6) LUCAS, R. B.—Observation on the electrolytic method of decalcification. "J. Path. and Bact.", 8: 197; 1952.
- 7) MOLENAAR, I.—"Decalcification of hard tissues". M. D. Thesis (1957). University of Utrech.
- 8) RICHMAN, I. M.; GELFAND, M. and HILL, J. N.—A method of decalcifying bone of histologic section. "Arch. Path." (Chicago), 44: 92; 1947.
- 9) SCHELIGA, N.—"Dtsch Zahn. Mund-u Kieferheilk", 17: 192; 1952.
- 10) VERDENIUS, H. H. W. and ALMA, L.—Decalcification of hard Tissues. "J. Clin. Path.", 11: 299; 1958.
-

Dr. José B. Cotas: Br. Artigas 3662. Montevideo, Uruguay.

Dr. Sergio Di Piramo: Avda. Agraciada 2012, P. 7, apto. 14. Montevideo, Uruguay.

Quím. Farm. G. Spangenberg: Espinillo 1395. Montevideo, Uruguay.