

Método de coloración simultáneo para fibras nerviosas y prolongamientos odontoblasticos

ANTONIO STELLA *

ARTEMIA FUENTES **

Se realiza un método de coloración que nos permite evidenciar simultáneamente en el órgano dentario, las fibras de Tomes y las fibras nerviosas intraanaliculares, por medio de los colorantes: hematoxilina férrica de Heidenhain y violeta de genciana.

INTRODUCCION

Después de nuestros estudios sobre la demostración de las neurofibras dentinarias, Stella-Fuentes, (1) realizado en dientes humanos por el método anespecífico de la hematoxilina férrica de Heidenhain, nos pareció de sumo interés, intentar ensayar un método de coloración que pudiera visualizar en forma constante las dos estructuras: las fibrillas nerviosas y las fibras de Tomes en el interior de los túbulos dentinarios. Varios colorantes básicos fueron ensayados, así como el azul de toluidina, el violeta de genciana, etc. Tomando como base al violeta de genciana que tiñe a la fibra de Tomes con gran regularidad y selectividad, logramos obtener distintos matices de coloración que nos permitió discernir las distintas estructuras integrantes del tejido dentinario.

MATERIAL Y METODO

El material utilizado fue humano, de preferencia dientes jóvenes.

El procedimiento técnico fue el siguiente:

- 1) Fijación en formol neutro al 10 %. Los dientes que tenían sus ápices totalmente formados, se les seccionó para facilitar el pasaje rápido del fijador.

* Ex Profesor de Histología.

** Profesora de Histología.

- 2) Lavado en: agua corriente, alcoholes de graduación creciente 50°, 70° y 96°; y agua corriente. Las piezas permanecieron en cada uno de los pasajes, aproximadamente una hora.
- 3) Decalcificación por medio del ácido nítrico al 5 %.
- 4) Lavado en agua corriente durante 48 horas o más.
- 5) Colocación de las piezas en formol al 10 % durante 5 días como mínimo.
- 6) Cortes por congelación a espesores variables, 5 a 20 micras.
- 7) Colocación de los cortes en el mordiente (alumbre de hierro) al 5 %, durante tres días.
- 8) Lavado en agua destilada.
- 9) Cortes en la hematoxilina férrica de Heidenhain, bien madura durante seis a siete días.
- 10) Abundante lavado de los mismos en agua destilada.
- 11) Diferenciación en alumbre de hierro al 5 % y luego completado con alumbre de hierro al 5 % diluido por mitad con agua destilada.
- 12) Lavado en agua destilada.
- 13) Lavado con agua ligeramente amoniacal.
- 14) Coloración de los cortes en:
1 gota de violeta de genciana al 0,25 % en 25 c.c. de agua destilada. [Laviña (2)].
- 15) Diferenciación corte por corte en alcohol rectificado controlándolos al microscopio.
- 16) Lavado en agua destilada.
- 17) Colocación de los cortes en moblidato de amonio al 5 %.
- 18) Lavado en agua destilada.
- 19) Montaje (secado con papel de filtro, alcohol absoluto, xilol y bálsamo).

RESULTADOS

Por este método pudo observarse que los integrantes de la dentina toman la siguiente apetencia tintorial: la sustancia intercanalicular, presentaba un tono rosado; las fibras de Tomes, tono violáceo; las fibras nerviosas, violeta intenso, quedando el canalículo dentinario, incoloro.

DISCUSION

Los resultados constantes y satisfactorios dependieron del material elegido y de detalles técnicos considerados.

El material que nos proporcionó resultados positivos fue aquel de dientes jóvenes y dientes incluidos.

Los detalles técnicos que tuvimos en cuenta fueron los siguientes:

a) Para la preparación del alumbre de hierro debió usarse cristales violetas, tal como lo aconseja Romeis.⁽³⁾ Usamos soluciones de alumbre hechas a lo sumo con una semana de anterioridad y mantenidas en frío.

b) El tiempo que permanecieron los cortes en alumbre de hierro al hacerlo actuar como mordiente varió dentro de ciertos límites. Una permanencia de cinco días, nos permitió visualizar fibras nerviosas intracanaliculares pero con menor nitidez que aquellas correspondientes a fibras nerviosas pulpares.

c) El tiempo de permanencia de los cortes en la hematoxilina férrica de Heidehain también fue variable, no debió sobrepasar de los seis a siete días. A mayor tiempo se observaron alteraciones, formaciones filamentosas semejantes a la lama de los ríos lo que dificultaba enormemente la visualización de las fibras.

d) El agregado de ácido fénico al violeta de genciana como lo preconiza Langeron⁽⁴⁾ lejos de favorecer la reacción la entorpecía en nuestro método combinado.

e) El empleo del amoníaco previo al violeta de genciana tal como lo empleamos en un trabajo anterior [Fuentes,⁽⁵⁾] favorecía la apetencia tintorial máxime si lo hacíamos actuar unos minutos en vez de realizar un pasaje rápido.

f) La acción del molidato de amonio debía ser corta, no más de diez minutos evitando en esa forma la aparición de precipitados que impedían una observación correcta.

g) La débil solución del violeta de genciana permitió seguir lentamente la reacción favoreciendo la visualización de las fibras. A mayores concentraciones, si bien se aceleraba la reacción, los resultados no eran tan satisfactorios.

BIBLIOGRAFIA

- STELLA, A. y FUENTES A.—Inervación dentinaria intracanalicular. Su demostración por el método de la hematoxilina férrica de Heidenhain. "Anal. Fac. Odont. Uruguay", Supl. N° 10: 157-207; 1961-1962.
- LAVIÑA, J. C.—Sobre algunos aspectos de la fibra de Tomes. "Anal. Fac. Odont. Uruguay", Vol. 3: 189-195; 1957.
- ROMBIS, B.—"Guía formulario de técnica histológica". Trad. Edit. alem. por Fernández Galeano. Ed. Labor S. A., Barcelona, 1928.
- LANGERON, M.—"Précis de Microscopie". Ed. Masson et Cie. Sixième éd., Paris, 1942.
- FUENTES, A.—Aportes al conocimiento de la dentina. "Anal. Fac. Odont. Uruguay", Vol. 3: 171-188; 1956.