

EFICACIA HISTOLÓGICA DE LA CLARA DE HUEVO Y LA SOLUCIÓN DE HANKS EN LA PRESERVACIÓN DEL LIGAMENTO PERIODONTAL DE DIENTES PERMANENTES AVULSIONADOS

HISTOLOGICAL EFFECTIVENESS OF WHITE EGG AND HANKS' BALANCED SALINE SOLUTION IN PRESERVATION OF PERIODONTAL LIGAMENT ON PERMANENT AVULSED TEETH

MERCEDES RITA SALCEDO RIOJA

Universidad Norbert Wiener

JHONNY AUGUSTO VALVERDE CAMPOS

Universidad Norbert Wiener

SONIA SACSQUISPE CONTRERAS

Universidad Peruana Cayetano Heredia

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue comparar histológicamente el ligamento periodontal preservado en solución de Hanks y en clara de huevo, como medios de transporte de dientes avulsionados para su inmediata reimplantación. Para realizar este estudio experimental *in vitro* fueron seleccionados 61 premolares extraídos por motivos ortodónticos, 2 usados para control y el resto preservados por 60 minutos en una de las sustancias mencionadas. Luego de la fijación, los tejidos fueron sometidos a procesos de desmineralización para ser procesados, coloreados y observados en microscopio óptico a 400X. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los tejidos preservados en solución de Hanks y en clara de huevo. Se concluyó que la clara de huevo es una alternativa viable (buen preservante y bajo costo) para el transporte de dientes avulsionados.

Palabras clave: avulsión de diente, ligamento periodontal, reimplantación.

ABSTRACT

The goal of this paper was histological comparison of preserved PDL with HBSS and white egg as a storage medium for avulsed teeth and their immediate replantation. For the study 61 bicuspid teeth extracted by orthodontic reasons were taken, 2 of them as control and 59 stored in one of the media for 60 minutes. After the tissues were fixed, teeth were demineralized, tinted and observed with optical microscope at 400X. No significant statistical differences were founded comparing tissues preserved in HBSS or white egg. It was concluded that white egg is a proper alternative storage medium for avulsed teeth.

Key words: tooth avulsion, periodontal ligament, replantation.

I. INTRODUCCIÓN

La información disponible sobre traumatismos dentoalveolares coincide en que es necesario contar con una sustancia asequible y económica para el transporte del diente avulsionado. Cuando ocurre un accidente en el que se avulsiona un diente permanente es necesario precisar que la acción recomendada es la reimplantación inmediata del diente avulsionado¹. El desconocimiento de este hecho por los profesionales de salud, docentes escolares y padres de familia, y la poca disposición a realizar esta acción cuando ocurre el accidente², hace que sea necesario contar con alternativas viables para transportar el diente avulsionado con las mayores probabilidades de sobrevivencia de las células periodontales, a fin de garantizar la permanencia prolongada de la pieza dental en boca.

Se han propuesto distintos medios de transporte del diente avulsionado, como soluciones rehidratantes, aloe vera, propóleo, leche, suero, saliva, etc. En los últimos tres años los artículos publicados a nivel mundial coinciden en el estudio de tres de estas sustancias: clara de huevo, aloe vera y leche^{3,4,5}, incluso en la preservación de fragmentos dentales para su adhesión⁶ y en la preservación del tejido pulpar para garantizar el efecto deseado en la reimplantación⁷.

La solución balanceada de Hanks es la sustancia de primera elección en la preservación de tejidos vivos; se considera como el control positivo en los estudios que tienen por objetivo la prueba de otros medios de preservación^{8,9}. En nuestro medio no es habitual contar con esta sustancia en los lugares en los que los accidentes de este tipo suelen suceder, como centros educativos, campos deportivos¹⁰. La solución de Hanks es una sustancia que tiene una osmolaridad de

300 mOsm/l, ideal para la preservación de las células que suelen encontrarse entre los 230 y los 400 mOsm/l; el pH es levemente básico entre 7,2 y 8,0, contiene una elevada concentración de iones Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺ PO₄³⁻ y Cl⁻, y posee poca capacidad de dilución de la estructura de fosfato de calcio del diente¹¹.

El objetivo de este estudio fue comparar la eficacia de la clara de huevo con la efectividad de la solución de Hanks en la preservación del ligamento periodontal de dientes extraídos luego de 60 minutos de almacenamiento.

II. METODOLOGÍA

Estudio experimental, *in vitro*. Se obtuvo una muestra de 60 premolares sanos extraídos por motivos ortodónticos, divididos aleatoriamente en 2 grupos: 18 fueron asignados para el grupo de solución de Hanks y 42 al grupo de clara de huevo. Una vez obtenido el consentimiento informado de los donadores, se aplicó el siguiente protocolo: inmediatamente después de extraída, la pieza fue sumergida en una de las dos sustancias a temperatura ambiente (17 a 20 °C); se cronometraron 60 minutos, luego de ello fueron fijadas en una solución de formol al 10 % para luego ser sometidas a un proceso de desmineralización con ácido nítrico al 5 %. Se procesaron según técnica convencional y se realizaron cortes histológicos longitudinales de 4µm de espesor, y fueron coloreados empleando la técnica de hematoxilina de Harris y eosina a 1 %. Luego se hizo la observación con microscopio óptico a 400X y se evaluaron los siguientes criterios: presencia de focos de necrosis, porcentaje de fibras colágenas organizadas, número de fibroblastos preservados en tres tercios (cervical, medio y apical). Con fines

de la estandarización de las lecturas histológicas se analizaron un control positivo y otro negativo. Los datos fueron registrados en una ficha de recolección e incorporados a una hoja Excel.

Para averiguar si el medio de preservación y el tercio de la raíz del diente explican la variación observada en los porcentajes de fibras organizadas y de fibroblastos preservados, se realizó un análisis de varianza de dos factores (ANOVA), con y sin interacción; para ello, previamente se realizaron pruebas estadísticas de normalidad y homogeneidad de varianzas.

Para la evaluación de la presencia de focos de necrosis en cada tercio de la raíz, según el medio de preservación, se utilizaron pruebas chi cuadrado de homogeneidad.

El procesamiento de datos se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS versión 23.

III. RESULTADOS

Las muestras estuvieron formadas por 42 premolares asignados para clara de huevo y 17 para solución de Hanks.

En la Tabla 1 se presentan las estadísticas descriptivas para los porcentajes de fibras organizadas y de fibroblastos preservados. En el tercio central de la raíz del diente se observa que la clara de huevo y la solución de Hanks tienen un porcentaje promedio similar de fibras organizadas, mientras que en los tercios cervical y apical los porcentajes promedio de fibras organizadas son mayores para la solución de Hanks.

En relación con los fibroblastos preservados, se observa que en el tercio apical de la raíz del diente la clara de huevo produce un promedio de fibroblastos preservados ligeramente mayor comparado con la solución de Hanks (véase Gráfico 1).

TABLA 1
Porcentaje de fibras organizadas y de fibroblastos preservados, según tercio de la raíz del diente y medio de preservación de tejido del diente avulsionado

Tercio radicular	Medio de preservación	% Fibras organizadas			Fibroblastos preservados		
		n	Media	DS	n	Media	DS
Cervical	Clara de huevo	42	60,4	19,8	42	43,8	22,2
	Sol de Hanks	17	66,1	31,1	17	45,8	34,6
Central	Clara de huevo	42	53,3	26,4	42	35,2	17,6
	Sol de Hanks	17	52,3	30,9	17	39,9	22,9
Apical	Clara de huevo	42	48,6	22,0	42	30,4	16,5
	Sol de Hanks	17	53,6	27,7	17	28,2	14,2

GRÁFICO 1

Promedio del porcentaje de fibroblastos preservados, según medio de preservación de ligamento periodontal y tercio de la raíz del diente

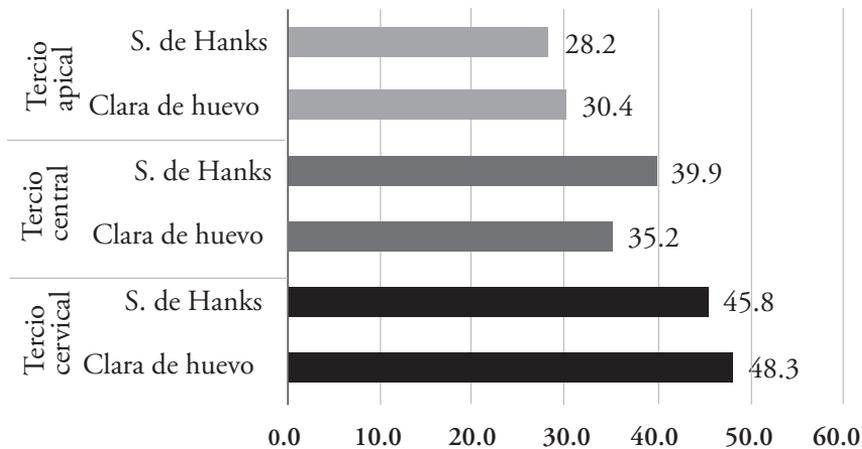
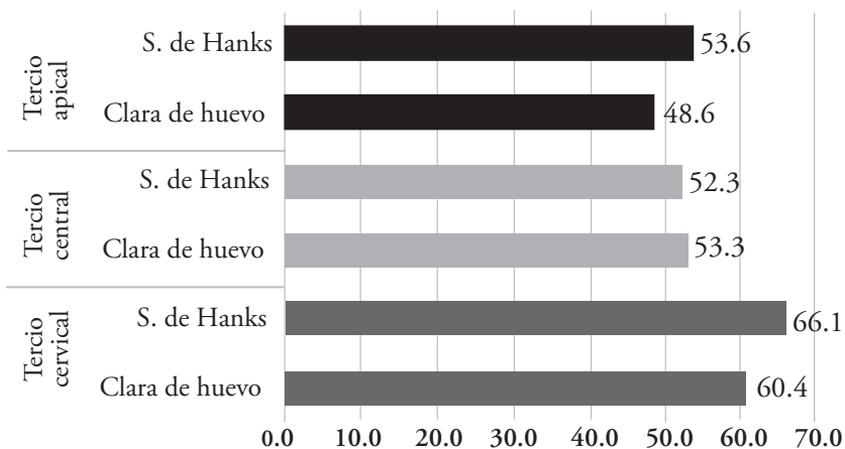


GRÁFICO 2

Promedio del porcentaje de fibras organizadas, según medio de preservación del ligamento periodontal y tercio de la raíz del diente



En el tercio central de la raíz del diente se observa que la clara de huevo y la solución de Hanks producen un porcentaje promedio de fibras organizadas similares. En los tercios cervical y apical, los porcentajes promedio de fibras organizadas son mayores para la solución de Hanks (véase Gráfico 2).

Para determinar si los porcentajes promedio de fibroblastos preservados y de fibras organizadas difieren significativamente, según el tercio de la raíz (cervical/medio/apical) y según el medio de preservación (clara de huevo/solución de Hanks), se utilizó el análisis de varianza de dos factores, encontrándose que existen diferencias significativas entre los tercios de la raíz, tanto para el porcentaje de fibroblastos preservados ($p=0,027$) como para el porcentaje de fibras organizadas

($p=0,038$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las dos sustancias para la preservación del tejido periodontal, lo que sugiere que ambos pueden producir resultados similares (véase Tabla 2).

El análisis *pos hoc* de Tukey, para averiguar en qué posición de la raíz del diente el porcentaje promedio de fibroblastos preservados y el porcentaje promedio de fibras organizadas difieren significativamente, se muestra en la Tabla 3.

El porcentaje de fibroblastos preservados es significativamente mayor en el tercio cervical, mientras que en los tercios central y apical no se observan diferencias significativas. Para el porcentaje de fibras organizadas se observa que el tercio cervical es significativamente mayor en el tercio cervical, comparado con la

TABLA 2

Análisis de varianza para porcentaje de fibroblastos preservados y para porcentaje de fibras organizadas según medio de preservación y tercio del diente

Factores	% de fibroblastos preservados		% de fibras organizadas	
	F	Sig.	F	Sig.
Medio de preservación	0,618	0,433	0,613	0,435
Tercio	3,69	0,027	3,33	0,038

TABLA 3

Análisis *pos hoc* de Tukey para porcentaje de fibroblastos preservados y para porcentaje de fibras organizadas según tercio del diente

Tercio de la raíz del diente	% de fibroblastos preservados		% de fibras organizadas	
	Media	Media	Media	Media
Tercio apical	29,78		50,03	
Tercio central	36,56		53,03	53,03
Tercio cervical		47,56		62,03

posición apical, pero el tercio medio no difiere significativamente del tercio apical ni del tercio cervical.

Se evaluó la posible interacción entre el tercio y el medio de preservación, pero no se encontraron diferencias significativas en cuanto al porcentaje de fibras organizadas ni en el número de fibroblastos preservados.

En cuanto a los focos de necrosis, se analizó según el tercio de la raíz del diente, y se concluyó que únicamente en el tercio cervical la clara de huevo presenta una proporción significativamente mayor de focos de necrosis comparado con la solución de Hanks ($p=0.046$). En los tercios central y apical también se observa

que la clara de huevo presenta una mayor proporción de focos de necrosis comparado con la solución de Hanks, pero estas diferencias no son estadísticamente significativas (véase Tabla 4). Al comparar la clara de huevo con la solución de Hanks, ignorando el tercio, se observa que la proporción de focos de necrosis es significativamente mayor cuando se preserva el diente avulsionado en la clara de huevo ($p=0,008$).

Para controlar el posible efecto perturbador del tercio de la raíz en la presencia de focos de necrosis según el medio de almacenamiento, se realizó un análisis estratificado según tercio de la raíz (véase Tabla 5).

TABLA 4
Porcentajes de focos de necrosis según medio de preservación de tejido del diente avulsionado

Medio de preservación	Focos de necrosis				Significancia	
	Muestras	Presente		Ausente		
		N	%	N		%
Clara de huevo	72	57,1	54	42,9	0.008	
Solución de Hanks	18	35,3	33	64,7		

• Prueba de homogeneidad chi cuadrado

TABLA 5
Focos de necrosis según medio de preservación y tercio de la raíz del diente avulsionado

Tercio de la raíz	Medio de almacenamiento	Muestras	Focos de necrosis				Homogeneidad Chi cuadrado
			Presente		Ausente		
			N	%	N	%	
Cervical	Clara de huevo	42	26	61,9	16	38,1	0,046
	Sol. de Hanks	17	5	29,4	12	70,6	
Central	Clara de huevo	42	22	52,4	20	47,6	0,336
	Sol. de Hanks	17	7	41,2	10	58,8	
Apical	Clara de huevo	42	24	57,1	18	42,9	0,173
	Sol. de Hanks	17	6	35,3	11	64,7	

Se observa que la proporción de focos de necrosis es significativamente mayor ($p=0.046$) en clara de huevo (61 %) comparado con la solución de Hanks (29,4 %). En los tercios central y apical se observa que con la clara de huevo se produce un mayor porcentaje de focos de necrosis, pero las diferencias no son significativamente diferentes.

IV. DISCUSIÓN

En dientes permanentes avulsionados, la reimplantación inmediata es el tratamiento de elección. El éxito del procedimiento dependerá del tiempo que transcurra desde la avulsión hasta la reimplantación dentaria, así como del estado de conservación del tejido periodontal.

En este estudio se muestra que la clara de huevo es un medio de transporte y almacenaje adecuado para los dientes avulsionados, encontrando similitud con la eficacia que muestra la solución salina balanceada de Hanks.

Hasan et al.⁸ encontraron que la clara de huevo mantuvo el ligamento periodontal de piezas avulsionadas en mejores condiciones que la leche. Del mismo modo, Lauracio et al.¹² determinaron que los mejores medios de almacenamiento y transporte de dientes avulsionados son, en orden decreciente, la leche evaporada, la clara de huevo y el agua de coco.

Jabbarifar et al.⁷, en un estudio en el que comparaban el efecto del medio de almacenamiento sobre la capacidad de proliferación de las células pulpares de dientes de conejo con ápice abierto, encontraron que no había diferencias estadísticamente significativas entre la leche, la clara de huevo y la solución salina de Hanks. De igual forma, de Sousa et al.⁹ no encontraron diferencia

estadísticamente significativa entre la leche pasteurizada, clara de huevo y saliva artificial como medio de almacenamiento de dientes avulsionados.

De acuerdo con el presente estudio, mediante el recuento de fibroblastos preservados y comparando el porcentaje de fibras periodontales organizadas según tercios, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre la solución salina de Hanks y la clara de huevo en la preservación del tejido periodontal. Pero cuando se toma en consideración los focos de necrosis en relación al tercio radicular estudiado, se puede observar que el tercio cervical en ambos casos es la zona con mayor presencia de focos de necrosis, por lo que los autores sugieren que podría estar asociado a la técnica de exodoncia usada en las premolares estudiadas que siguieron el protocolo adecuado respectivo¹³.

Sin embargo, Silva et al.³ informaron en su estudio que el medio de cultivo Eagle modificado de Dulbecco, la leche entera, la solución de Hanks y la leche de soya son mejores medios para mantener la viabilidad de los fibroblastos, en comparación con agua de coco, clara de huevo o Gatorade.

De igual forma, Sharma et al.⁴ encontraron que el Aloe Vera era mejor medio de almacenaje para conservar la viabilidad del tejido periodontal que la leche o la clara de huevo.

También Ulusoy et al.⁵ encontraron en su estudio que la leche de cabra era el mejor medio de almacenamiento para preservar la vitalidad de las células del ligamento periodontal, y las leches UHT (tratadas a ultra alta temperatura) tenían mejores resultados que la solución de Hanks, la clara de huevo y el propóleo, siendo la leche con probióticos la menos eficaz.

V. CONCLUSIÓN

Al comparar la efectividad de la preservación del tejido periodontal de la Solución Salina Balanceada de Hanks y la clara de huevo, no se encontró diferencias estadísticamente significativas en la capacidad de conservación de estos tejidos, lo que nos indica que la clara de huevo es una alternativa económica, de fácil accesibilidad, y permite una efectiva conservación del diente avulsionado, constituyéndose en un medio adecuado para su transporte.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Al-Musawi A, Al-Sane M, Andersson L. Smartphone App as an aid in the emergency management of avulsed teeth. *Dent Traumatol.* 2017 Feb;33(1):13-18. doi: 10.1111/edt.12298. Epub 2016 Aug
2. Rivera R. Nivel de Conocimiento y Actitud Sobre Traumatismo Dentoalveolares en Profesores del Nivel Primario de Escuelas Públicas [Tesis] Lima Odontología UNMSM 2011
3. Silva E, Rollemberg C, Coutinho-Filho T, Krebs R, Zaia A. Use of soymilk as a storage medium for avulsed teeth. *Acta Odontologica Scandinavica* [serial on the Internet]. (2013, Sep), 71(5): 1101-1104. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
4. Sharma M, Sharma S, Reddy Y, Mittal R, Agarwal V, Singh A, et al. Evaluation of Periodontal Ligament Cell Viability in Three Different Storage Media: An in Vitro Study. *Journal Of Dentistry Of Tehran University Of Medical Sciences* [serial on the Internet]. (2015, July),12(7): 524-531. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
5. Ulusoy A, Kalyoncuoglu E, Kaya S, Cehreli Z, Ulusoy A. Evaluation of goat milk as storage media to preserve viability of human periodontal ligament cells in vitro. *Dental Traumatology* [serial on the Internet]. (2016, Aug),32(4): 264-268. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
6. Prabhakar A, Yavagal C, Limaye N, Nadig B. Effect of storage media on fracture resistance of reattached tooth fragments using G-aenial Universal Flo. *Journal Of Conservative Dentistry* [serial on the Internet]. (2016, May),19(3): 250-253. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
7. Jabbarifar E, Razavi M, Abedhaghghi M, Khademi A, Javadi F. Effect of storage media on pulp cell proliferation capacity of open apex teeth in rabbits. *Journal Of Isfahan Dental School* [serial on the Internet]. (2011, June), 1-10. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
8. Hasan M, Takebe H, Shalehin N, Obara N, Saito T, Irie K. Effects of tooth storage media on periodontal ligament preservation. *Dental Traumatology* [serial on the Internet]. (2017, Oct), 33(5): 383-392. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
9. De Sousa H, de Alencar A, Bruno K, Batista A, de Carvalho A. Microscopic evaluation of the effect of different storage media on the periodontal ligament of surgically extracted human teeth. *Dental Traumatology* [serial on the Internet]. (2008, Dec), 24(6): 628-632. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
10. García Ballesta Carlos, Pérez Lajarín Leonor, Castejón Navas Isabel. Prevalencia y etiología de los traumatismos dentales: Una revisión. *RCOE* [Internet]. 2003 Abr; 8(2): 131-141. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1138-123X2003000200002&lng=es.
11. Araya F, Sommariv C, Moncada G, Cartagena Á, Letelier C, Fernández E, Et Al. The Effect Of Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) Storage Time On Transdental Diffusion In Extracted Third Molars. *Revista Facultad*

- de Odontología Universidad de Antioquia [serial on the Internet]. (2013, Dec), 25(1): 158-175. Available from: Dentistry & Oral Sciences Source
12. Lauracio C, Chayna E, Ramos W, Padilla T, Catacora P. Viabilidad de las células del ligamento periodontal en diferentes medios de almacenamiento y transporte. *Revista Kiru* [serial on the Internet]. (2013, July), 10(2): 91-95. Available from: MedicLatina.)
13. Andersson L, Kahnberg Karl E, Pogrel MA. Tratado de cirugía oral maxilofacial y prótesis para tejidos blandos. Vol1 1ªEd. Mexico AMOLCA 2015.