

ANÁLISIS DE LA ACCIÓN DEL ÁCIDO CÍTRICO EN LA REMOCIÓN DEL LIGAMENTO PERIODONTAL NECROSADO DE DIENTES DE RATÓN ANÁLISE DA AÇÃO DO ÁCIDO CÍTRICO NA REMOÇÃO DO LIGAMENTO PERIODONTAL NECROSADO DE DENTES DE RATO

Recibido para arbitraje: 23/05/2005

Aceptado para publicación: 18/01/2006

- **Unesp - Universidade Estadual Paulista, Wilson Roberto Poi**, Profesor del Departamento de Cirugía y Clínica Integrada de Odontología de Araçatuba.
- **Ellen Greves Giovanini**, Aluna del cuarto año de graduación de la Facultad de Odontología de Araçatuba, beca de estudio del CNPq.
- **Luciana Estevam Simonato**, Aluna do quarto año de graduación de la Facultad de Odontología de Araçatuba, beca de estudio del CNPq.
- **Thais Mara Manfrin**, Aluna del curso de maestria del programa de pós-graduação em odontologia, en Cirugia y Traumatologia Buco Maxilo Facial de la Facultad de Odontología de Araçatuba.
- **Fernando Esgaib Kayatt**, Aluno del curso de Doctorado del programa de pós-graduação em odontologia, en Cirugia y Traumatologia Buco Maxilo Facial de la Facultad de Odontología de Araçatuba.
- **Sônia Regina Panzarini**, Profesora Asistente Doctora del Departamento de Cirugía y Clínica Integrada de Odontología de Araçatuba.

Los autores agradecen al CNPq/PIBIC por las becas.

RESUMEN

El mantenimiento del ligamento periodontal sin vitalidad en la superficie radicular puede influenciar en el proceso de reparación en el reimplante dental, por lo tanto puede ser sustituido por tejido óseo o comenzar un proceso de reabsorción inflamatoria. Por lo tanto, muchas formas de retiro de este ligamento se han estudiado. Es propuesta de ese trabajo evaluar, por medio de cortes histológicos, los resultados del tratamiento de la superficie de los dientes sometidos a exodoncias y mantenerlo en medio ambiente por 6 horas. Para la realización del experimento, se utilizaron 15 ratones, divididos en tres grupos, con 5 dientes cada uno: Grupo I, suero fisiológico por tres minutos; Grupo II, ácido cítrico (pH 1.0) por tres minutos; Grupo III, fricción de la superficie radicular con gaza esteril humedecida con ácido cítrico (pH 1.0) por un minuto. Después del procesamiento laboratorial de rutina los cortes fueron sometidos a análisis cuantitativo y cualitativo (Software ImageLab - Diracom 3). En todos los grupos fueron observados restos del ligamento periodontal en toda la extensión palatina de la superficie radicular. El grupo III tuvo la mayor área de tejido con diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.001$). Fue posible concluir que el ácido cítrico no fue capaz de remover el ligamento periodontal necrosado de dientes de ratón después de seis horas de resequedad, en ninguna de las formas de aplicación utilizada.

Palabras clave: Ácido cítrico, ligamento periodontal, reimplante dentario, avulsión dentaria.

ABSTRACT

The maintenance of the periodontal ligament without vitality on the root surface can influence in the process of repair in the dental replantation, therefore it can be substituted by bone tissue or to give beginning to a process of inflammatory resorption. Therefore, many forms of removal of this ligament have been studied. It is intention of this work to evaluate, by means of histological study, the results of the treatment of the tooth surface in dental extraction and left in environment for 6 hours. For the accomplishment of the experiment 15 mouse, divided in three groups will be used, with 5 teeth in each: Group I, salt solution per three minutes; Group II, acid citric (pH 1,0) per three minutes e; Group III, friction of the root surface with acid humidified barren gauze with citric (pH 1,0) per one minute. After the laboratorial processing of routine the cuts had been submitted to the qualitative and quantitative analysis (Software ImageLab - Diracom 3). In all the groups had been observed remaining of the periodontal

ligament in all palatal extension of the root s surface. Group III showed to greater tissue area with statistic significant difference ($p > 0.001$). It was possible to conclude that acid the citric one was not capable to after remove the rat periodontal tooth ligament necrosis six hours of drying, in none of the forms of used application.

Key Word: Citric acid, periodontal ligament, tooth replantation, tooth avulsion.

RESUMO

A manutenção do ligamento periodontal sem vitalidade sobre a superfície radicular pode influenciar no processo de reparo no reimplante dentário, pois pode ser substituído por tecido ósseo ou dar início a um processo de reabsorção inflamatória. Por isso, muitas formas de remoção desse ligamento têm sido estudadas. É propósito de este trabalho avaliar, por meio de cortes histológicos, os resultados do tratamento da superfície de dentes avulsionados cirurgicamente e deixados em meio ambiente por 6 horas com soro fisiológico e ácido cítrico (pH 1.0). Para a realização do experimento serão empregados 15 ratos, divididos em três grupos, com 5 dentes em cada: Grupo I, soro fisiológico por três minutos; Grupo II, ácido cítrico (pH 1.0) por três minutos e; Grupo III, fricção da superfície radicular com gaze estéril umedecida com ácido cítrico (pH 1.0) por um minuto. Após o processamento laboratorial de rotina os cortes foram submetidos à análise qualitativa e quantitativa (Software ImageLab - Diracom 3). Em todos os grupos foram observados remanescentes do ligamento periodontal em toda extensão palatina da superfície radicular. O grupo III mostrou maior área de tecido com diferença estatisticamente significante ($p > 0.001$). Foi possível concluir que o ácido cítrico não foi capaz de remover o ligamento periodontal necrosado de dentes de rato após seis horas de ressecamento, em nenhuma das formas de aplicação utilizada.

INTRODUCCIÓN

La integridad de la membrana periodontal, defendida por muchos como esencial al éxito del reimplante no es una condición que se pueda comandar, pues, en general los dientes que nos llegan para ser reimplantados no tienen ligamento periodontal íntegro.(1)

El mantenimiento o no del ligamento periodontal degenerado sobre la superficie radicular puede influenciar en el proceso de reparación en el reimplante dental,(2,3,4) pues cuando se presenta sin vitalidad puede ser sustituido por tejido óseo (5,6) o dar inicio a un proceso de reabsorción infamatoria.(5,6,7) Así, ha sido propuesta la remoción del ligamento periodontal degenerado por medios mecánicos,(3,8) uso de enzimas(9) y del hipoclorito de sodio.(1,10,11,12,13,14) Unos trabajos indican la remoción del ligamento periodontal degenerado utilizando ácido fosforico¹⁵ y ácido cítrico.¹⁶ El ácido cítrico también es utilizado en el tratamiento de superficie radicular de defectos periodontales, pues puede facilitar la reinscripción de fibras colágenas.(3,17)

En esa forma de aplicación, el mecanismo biológico del ácido cítrico está basado en la desmineralización de la superficie radicular,(18) eliminando endotoxinas bacterianas,(19) y en la exposición de la matriz colágena de la superficie dentinaria y la subsiguiente inter digitación de esas fibras con el tejido conjuntivo subyacente.(10,17,20,,21,22,23) La desmineralización de la superficie dentinaria ocurre a partir de la aplicación tópica del ácido cítrico y debe ser hecha con curetas periodontales,(1,20,24) fresas diamantadas y de acabado, entre otros.(20)

La desmineralización con ácido cítrico puede mejorar la migración, el ataque y la organización de las células del ligamento periodontal humano, provenientes de la pared alveolar para la superficie de la raíz.(8) Garrett y colaboradores (25) afirman que la aplicación del ácido cítrico en superficies hipermineralizadas es inefectiva.(26) Cuando aplicado en una raíz previamente regularizada por 3 minutos, se desmineraliza la superficie radicular en una profundidad equivalente a 5 micrómetros.(21)

La frecuencia de reabsorciones radiculares combinadas con anquilosis puede ser reducida en el reimplante tardío por la desmineralización con el ácido cítrico de superficies radiculares previamente tratadas, desde que sean evitados traumas mecánicos contra la pared alveolar durante la reposición del elemento avulsionado en el alveolo dental.(20,21) Tomando como patrón las superficies intactas concluyese que los tratamientos que mas se aproximan al ideal son el raspado y el acondicionamiento con ácido cítrico y EDTA gel sin diferencia entre si.(27)

En las aplicaciones del ácido cítrico, no fueron encontrados relatos en la literatura referentes a su capacidad de remoción o solvencia del ligamento periodontal necrosado, sin otro tipo de tratamiento. Así, su efecto en el tratamiento de la superficie radicular de dientes avulsionados no han sido explorados completamente.

Con base en esas afirmaciones, parece ser viable el análisis del ácido cítrico en la remoción del ligamento periodontal radicular necrosado de dientes de ratones.

PROPOSICIÓN

Es propuesta de ese trabajo analizar, por medio de cortes histológicos, la capacidad del ácido cítrico en remover el ligamento periodontal necrosado de dientes de ratones, resecaados por seis horas en medio ambiente, después de la inmersión en ácido cítrico (pH 1.0) por tres minutos y fricción con gasa esterilizada humedecida con ácido cítrico (pH 1.0) por un minuto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio fueron utilizados 15 ratones (*Rattus norvegicus, albinus, Wistar*) machos, con peso entre 250 a 300 gramos. Los animales fueron anestesiados por vía intraperitoneal con Vetaset (Clorhidrato de Ketamina Fontoura Wyeth S.A.) por medio de inyección intramuscular, en la dosis de 100mg Kg de peso. Posteriormente fueron realizadas sindesmotomía, luxación y extracción del incisivo superior derecho con el auxilio de instrumental especialmente adaptado. Los dientes extraídos fueron mantenidos en medio ambiente (suspensos) por un periodo de 6 horas. A continuación, la papila dental y el órgano del esmalte fueron seccionados con lamina de bisturí n°. 11. la pulpa fue removida por vía retrograda empleándose lima tipo Kerr n°. 15 (Kerr 25mm Sybron Kerr), ligeramente curvada, seguida de irrigación con suero fisiológico.

A continuación fueron constituidos tres grupos: Grupo I: 5 (cinco) dientes fueron inmersos en 100 ml de suero fisiológico por tres minutos; Grupo II: 5(cinco) dientes inmersos en 100 ml de ácido cítrico (pH.1.0) por tres minutos; Grupo III: 5 (cinco) dientes sometidos a fricción con gasa esterilizada embebida en ácido cítrico (pH 1.0) por un minuto.

Terminada esa fase, las especies obtenidas fueron fijados en solución de formalina a 10% por 24 horas y descalcificados en solución de citrato de sodio y ácido fórmico en partes iguales.

Después de la descalcificación fueron incluidas en parafina y en los bloques fueron realizados cortes longitudinales semi-seriados con 6 micrómetros de espesor. Los cortes así obtenidos fueron coloreados por el Tricromio de Masson para análisis en microscopia de luz.

Además del análisis cualitativo, evidenciando todavía las áreas portadoras de remanentes del ligamento periodontal cementario, fue realizado un análisis cuantitativo a través del Software ImageLab98 - Diracom 3, buscando registrar la cantidad de ligamento periodontal restante, midiendo el área ocupada por esa estructura en la porción palatina de la superficie radicular de todas las especies. A partir de la obtención de la imagen por el software VidCap, las herramientas utilizadas en el ImageLab98 fueron seleccionar región, cálculo de región y planilla de cálculos. A partir de esos datos fue realizado el análisis estadístico.

RESULTADOS

GRUPO I - Suero fisiológico:

En todas las especies de ese grupo fue posible observar la presencia de restos del ligamento periodontal degenerado distribuidos por toda la extensión palatina de la superficie radicular de los dientes. Las fibras presentan una disposición casi paralela a la superficie radicular, dando origen a una fina camada de tejido que recubre la raíz (Figura 1).

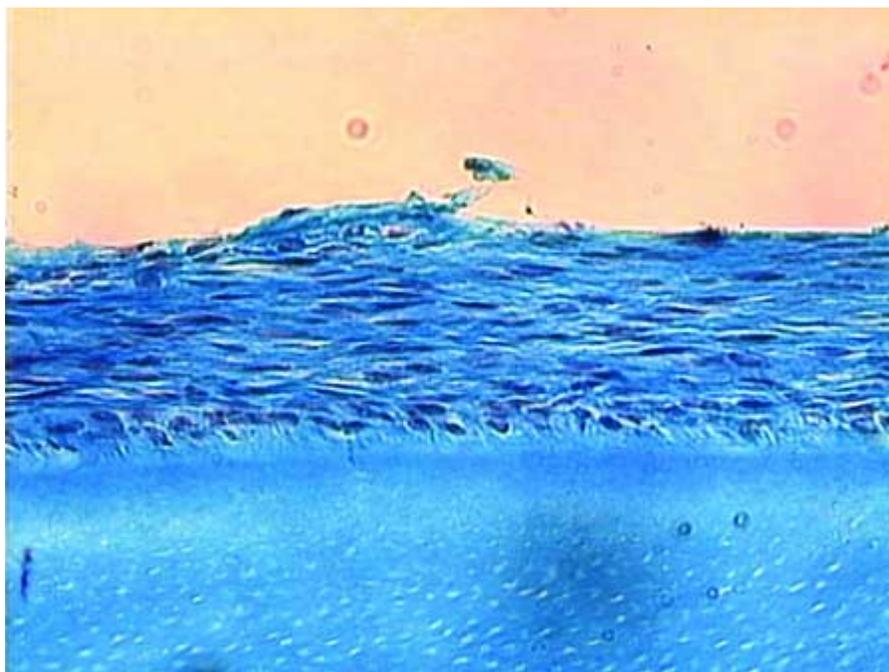


Figura 1

Grupo I - Suero fisiológico. Disposición paralela a la superficie radicular de las fibras del remanente del ligamento periodontal en toda la extensión de la raíz. Tricromio de Masson. Aumento original 400X.

GRUPO II - Ácido Cítrico:

En todas las especies de ese grupo fue posible observar la presencia de ligamento periodontal degenerado remanente, distribuidos por toda la extensión palatina de la superficie radicular de los dientes. En general, las fibras presentan una disposición mas perpendicular a la superficie radicular y, en algunas regiones, un volume mayor de tejido observado (Figuras 2).

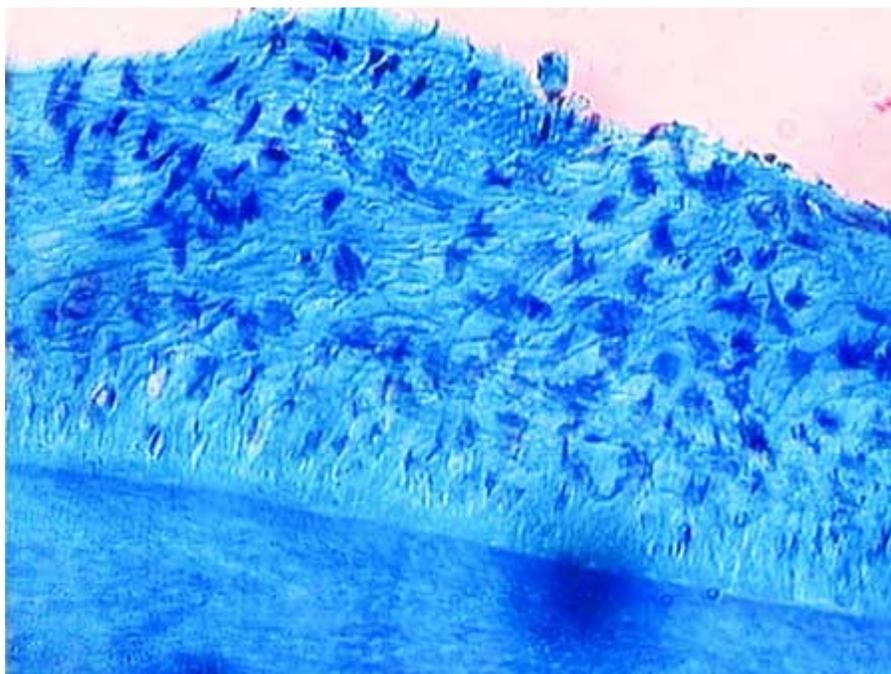


Figura 2

Grupo II - Ácido cítrico. Mucha cantidad del remaneciente del ligamento periodontal en disposición perpendicular a la superficie de la raíz. Tricromio de Masson. Aumento original 400X.

GRUPO III - Fricción de gasa embebida en Ácido Cítrico:

En todas las especies de ese grupo también fue posible observar la presencia de restos del ligamento periodontal degenerado distribuidos por toda la extensión palatina de la superficie radicular de los dientes. En general, las fibras presentan una disposición mas perpendicular a la superficie radicular (Figura 3).

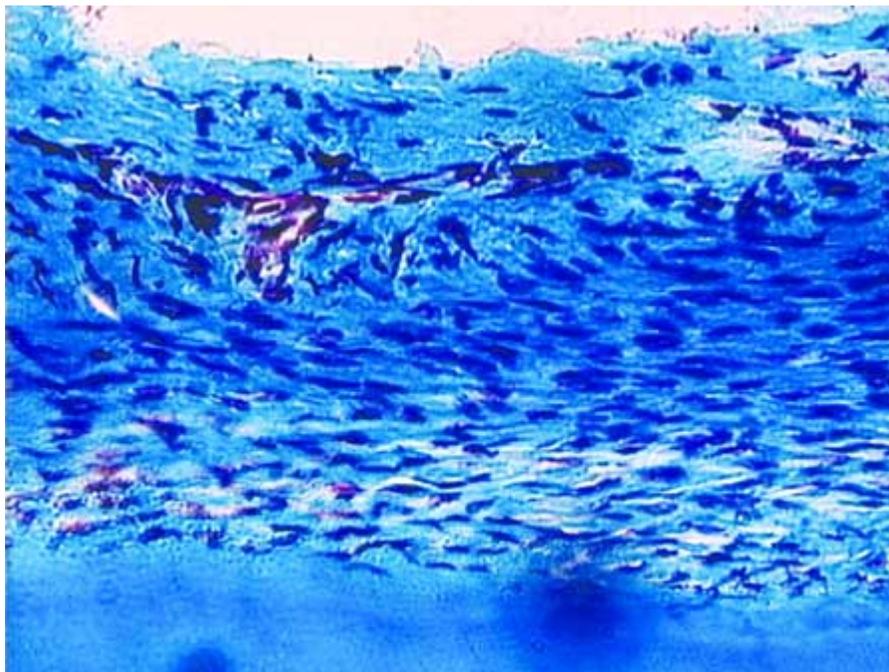


Figura 3

Grupo III - Gasa y ácido cítrico. Disposición de las fibras del remanente del ligamento periodontal perpendicular a la superficie de la raíz dentaria. Tricromio de Masson. Aumento original 400X.

Análisis cuantitativo:

Los valores obtenidos fueron transformados en logaritmo y, enseguida, se hizo el análisis de variancia. La distribución normal de los datos permitió la aplicación del test de Tukey, ilustrado por la Tabla I.

TABLA I
Test de Tukey aplicado en los valores originales del área

TEST DE TUKEY	PROMEDIO	Desvío padrón	N	GRUPOS
A	27.242	12.6667	20	III
B	21.813	10.7051	20	II
B	17.320	7.0013	20	I

* Promedios con las mismas letras no son estadísticamente significantes.

DISCUSIÓN

El mantenimiento del ligamento periodontal necrosado puede comprometer la sobrevida del diente reimplantado y, por eso, varios estudios son realizados en la búsqueda de una remoción eficaz de ese tejido y del mantenimiento de una superficie radicular que venga favorecer el pronóstico del reimplante dentario. (2,3,4) La posibilidad de conseguir esa dupla acción con un mismo material podría disminuir el tiempo operatorio, reduciendo pasos técnicos. Esa hipótesis hizo despertar el interés por el estudio del ácido cítrico como agente para remover el ligamento y, al mismo tiempo, mantener la integridad de la superficie radicular.

La utilización del ácido cítrico en el reimplante dentario tuvo un protocolo presentado por Trope (16) indicando su aplicación directamente sobre el ligamento necrosado por 5 minutos, en aquellos casos cuyo tiempo extra-alveolar fuera superior a 60 minutos. Entretanto, los efectos de ese ácido sobre los tejidos no fueron descritos. Ese producto podría remover completamente el ligamento o apenas proporcionar un condicionamiento que pudiera favorecer el reparo del diente reimplantado tardíamente, a pesar de la presencia de los remanentes de ese tejido.

Por otro lado, abordando su utilización en pérdidas óseas originadas por enfermedad periodontal, según Van Hassel y colaboradores, (21) cuándo aplicado en una raíz previamente regularizada, por 3 minutos, el ácido cítrico desmineraliza la superficie radicular en una profundidad equivalente a 5 micrómetros. Por lo tanto, su efecto es conocido cuándo se aplica

directamente sobre la superficie radicular sin la presencia de restos del ligamento periodontal. Esa delimitación de efecto orientó la elección del tiempo de utilización de tres minutos (28) para el experimento en cuestión. Todavía, las medidas capaces de promover una reducción del tiempo operatorio total utilizado para la atención de los casos de reimplante tardío son siempre muy bienvenidas.

La metodología experimental aquí utilizada ya está siendo empleada en otros trabajos,(13,14) que también mantuvieron los dientes extraídos en medio ambiente por 6 horas, reproduciendo una situación clínica bastante común, ya que es muy difícil que el diente a ser reimplantado llegue a las manos del profesional antes del periodo.(1)

La presencia de remanentes del ligamento periodontal recubriendo toda la superficie radicular palatina de los dientes, en los tres grupos estudiados, contraría los hallazgos de trabajos que usaron el hipoclorito de sodio y el agua destilada con la finalidad de promover la completa limpieza de esa superficie.(13,14)

Los resultados del trabajo en cuestión, en las especies inmersas en 100ml de suero fisiológico, muestran remanentes del ligamento periodontal distribuidos por toda la extensión palatina de la superficie radicular de los dientes, siendo que las fibras presentan una disposición casi paralela a la superficie radicular, representada por una fina camada de tejido a recubrir la raíz. A su vez, los dientes inmersos en ácido cítrico presentan remanentes del ligamento periodontal con una disposición casi perpendicular a la superficie radicular, en cuanto que en todas las especies friccionadas con gasa fue posible observar la presencia de remanentes del ligamento periodontal, cuyas fibras presentan una disposición mas perpendicular a la superficie radicular. Esa característica parece indicar que el acto mecánico de fricción posibilitó esa disposición perpendicular en las fibras colágenas, generando un mayor volumen de tejido, con diferencia estadísticamente significativa, cuando es comparado con otros dos grupos. A descargo la inmersión en el ácido cítrico que también pudo haber provocado una disposición similar a la fricción con gasa, el volumen de tejido fue menor.

La compatibilidad biológica de esos restos previamente tratados con solución de ácido cítrico es una incógnita y merece estudio posterior con la finalidad de evaluar la influencia de su mantenimiento sobre el proceso de reparo de dientes reimplantados tardíamente, a pesar de algunos relatos orientando su remoción completa en todos los casos.(10,22,26)

CONCLUSIONES

En base a los hallazgos fue posible concluir que el ácido cítrico no fue capaz de remover el ligamento periodontal necrosado de dientes de ratón después de seis horas de resecamiento, en ninguna de las formas de aplicación utilizada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Polson AM, Proye MP: Effect of root surface alterations on periodontal healing. II. Citric acid treatment of the denuded root. *J Clin Periodontol* 1982; 9(6): 441-54.
2. Løe H, Waerhaug J: Experimental replantation of teeth in dogs and monkeys. *Arch Oral Biol* 1961; 3: 176-84.
3. Mahajan SK, Sidhu SS: Effect of fluoride on root resorption of autogenous dental replants. *Clinical study. Aust Dent J* 1981; 26(1): 42-5.
4. Leite MC, Okamoto T: The influence of extra-oral time upon healing after tooth replantation. A histological study in rat incisors. *J Nihon Univ Sch Dent* 1984; 26(4): 316-30.
5. Andreasen JO: Relationship between surface and inflammatory resorption changes in the pulp after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod* 1981; 7(7): 294-301.
6. Lindskog S, Pierce AM, Blomlöf L, Hammarstrom L: The role of necrotic periodontal membrane in cementum resorption and ankylosis. *Endod Dent Traumatol* 1985; 1(3): 96-101.
7. Andreasen JO: Relationship between cell damage in the periodontal ligament after replantation and subsequent development of root resorption. A time-related study in monkeys. *Acta Odontol Scand* 1981; 39(1): 15-25.
8. Zaman KU, Sugaya T, Hongo O, Kato H: A study of attached and oriented human periodontal ligament cells to periodontally diseased cementum and dentin after demineralizing with neutral and low pH etching solution. *J Periodontol* 2000;

- 71(7): 1094-99.
9. Nevins AJ, LaPorta RF, Borden BG, Lorenzo P: Replantation of enzymatically treated teeth in monkeys. Part I. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1980; 50(3): 277-81.
 10. Caton JG, Polson AM, Prato GP, Bartolucci EG, Clauser C: Healing after application of tissue-adhesive material to denuded and citric acid-treated root surfaces. J Periodontol 1986; 57(6): 385-90.
 11. Percinoto C, Russo MC, Lima JEO, Andrioni JN, Benfatti SV, Bertoz FA: Processo de reparo em dentes reimplantados após a remoção química das fibras periodontais radiculares. Rev Odontol UNESP 1988; 17(1/2): 73-81.
 12. Ehnevid H, Lindskog S, Jansson L, Blomlöf L: Tissue formation on cementum surfaces in vivo. Sweed Dent J 1993; 17(1/2): 1-8.
 13. Poi WR, Panzarini SR, Sonoda CK, Fernandes U, Mori GG: Influência do volume de hipoclorito de sódio a 1% na remoção do ligamento periodontal necrosado. Rev Assoc Paul Cir Dent 2001; 55(4): 286-9.
 14. Poi WR, Manfrin TM, Sonoda CK, Panzarini SR, Santos CLV, Dezan Júnior E: Análise da água sanitária como solvente do ligamento periodontal necrosado de dentes de rato. Robrac 2001; 10(30), 42-6.
 15. Saad Neto M, Carvalho ACP, Okamoto T, Callestini EA: Reimplante mediato de dentes com superfície radicular tratada com ácido fosfórico e hidróxido de cálcio, estudo histológico em ratos. Rev Assoc Paul Cir Dent 1986; 40(4): 314-20.
 16. Trope M: Clinical management of the avulsed tooth. Dent Clin North Am 1995; 39(1): 93-112.
 17. Skoglund A: A study on citric acid as a proposed replacement resorption inhibitor. Sweed Dent J 1991; 15(4): 161-9.
 18. Lan WC, Lan WH, Chan CP, Hsieh CC, Chan MC, Jeng JH: The effects of extracellular citric acid acidosis on the viability, cellular adhesion capacity and protein synthesis of cultured human gingival fibroblasts. Aust Dent J 1999; 44(2): 123-30..9
 19. Rompen EH, Goffinet GH, Nussgens B: Human periodontal ligament fibroblast behavior on chemically conditioned dentine: an in vitro study. J Periodontol 1999; 70(10): 1144-52.
 20. Klinge B, Nilvéus R, Selvig KA: The effect of citric acid on repair after delayed tooth replantation in dogs. Acta Odontol Scand 1984; 42(6): 351-9.
 21. Van Hassel HJ, Oswald RJ, Harrington GW: Replantation II. The role of periodontal ligament. J Endod 1980; 6(4): 506-8.
 22. Blomlöf J, Jansson L, Blomlöf L, Lindskog S: Root surface etching at neutral pH promotes periodontal healing. J Clin Periodontol 1996; 23(1): 50-5.
 23. Zervas P, Lambrianidis T, Karabouta-Vulgaropoulou I: The effect of citric acid treatment on periodontal healing after replantation of permanent teeth. Int Endod J 1991; 24(6): 317-25.
 24. Nyman S, Houston F, Sarhed G, Lindhe J, Karring T: Healing following reimplantation of teeth subjected to root planing and citric acid treatment. J Clin Periodontol 1985; 12(4): 294-305.
 25. Garrett JS, Crigger M, Egelberg J: Effects of citric acid on diseased root surfaces. J Periodontal Res 1978; 13(2): 155-63.
 26. Daryabegi P, Pameijer CH, Ruben MP: Topography of root surfaces treated in vitro with citric

acid, elastase and hyaluronidase. A scanning electron microscopy study. Part II. J Periodontol 1981; 52(12): 736-42.

27. Bastos Neto FVR, Gregghi SLA: Análise em microscopia eletrônica de varredura de superfícies radiculares antes e após raspagem e condicionamento com ácido cítrico e EDTA: um estudo "in vitro". J Appl Oral Sci 2003; 11(1): 41-7.
28. Lee JY, Vann Jr WF, Sigurdsson A: Management of avulsed permanent incisors: A decision analysis based on changing concepts. Pediatr Dent 2001; 23(4): 357-60..10