

# Uso de Hidróxido de Sodio como Alternativa en Técnica de Diafanización de Diente

Use of Sodium Hydroxide as an Alternative in Tooth Clearing Technique

Valentina Vilches-Gómez<sup>1,2</sup>; Begoña Mardones<sup>1</sup>; Nicolás E. Ottone<sup>3,4,5</sup> & Pablo A. Lizana<sup>1</sup>

VILCHES-GÓMEZ, V.; MARDONES, B.; OTTONE, N. E.; LIZANA, P. A. Uso de hidróxido de sodio como alternativa en técnica de diafanización de diente. *Int. J. Morphol.* 41(3):743-748, 2023.

**RESUMEN:** Con el objetivo de conservar material cadavérico, se han creado diferentes técnicas y/o soluciones donde una técnica es la diafanización dental para estudiar la morfología interna del diente. Esta técnica consta en transparentar el tejido calcificado del diente haciendo visible los conductos radiculares al inyectar una mezcla colorante en ellos. Se han descrito diferentes variantes de la técnica de diafanización como la técnica de Okumura y la técnica de Robertson, pero ambas técnicas utilizan reactivos tóxicos o de difícil acceso, por lo que se ha realizado una búsqueda de reactivos de bajo costo y fácil acceso para realizar la técnica de diafanización, reportándose que la técnica de diafanización por maceración con KOH es válida para diafanizar dientes. El objetivo del presente estudio fue utilizar NaOH en la técnica de diafanización dental por maceración, como una variante de KOH al ser una base de similar característica que el KOH. Se utilizaron 13 dientes (siete tercer molares, cinco premolares y un canino) para realizar tres variantes de la técnica de diafanización: técnica de Robertson, por maceración con KOH y por maceración con NaOH utilizando barra agitadora y agitador magnético en los dientes. Con la técnica de Robertson se obtuvo un diente completamente transparentado, mientras que los dientes diafanizados por maceración, tanto con KOH y NaOH, se transparentaron menos, aunque se hicieron visibles los conductos radiculares, por lo que el uso de NaOH en la técnica de diafanización por maceración es válida, aunque requiere más tiempo que la maceración por KOH.

**PALABRAS CLAVE:** Diafanización dental; Maceración; NaOH.

## INTRODUCCIÓN

El uso de material cadavérico en la docencia ha sido fundamental en el estudio de la anatomía ya que se pueden reforzar conocimientos ayudando de manera positiva en la formación y desempeño de futuros profesionales (Fonseca-Matheus, 2012). Esto ha provocado la creación de diferentes técnicas o soluciones con el fin de conservar y fijar el material cadavérico para preservar sus características lo más similar al estado *in vivo* o real (Gage *et al.*, 2012; Skopnik-Chicago *et al.*, 2021). Una de las técnicas utilizadas en la docencia para estudiar la anatomía interna del diente es la diafanización dental (Bravo *et al.*, 2015), la cual se ha utilizado para estudiar la morfología interna del diente (Kartal *et al.*, 1998; Ahmed *et al.*, 2007; Al-Qudah & Awawdeh, 2009) al ser visibles los conductos radiculares, por lo que

ayuda en la enseñanza de técnicas endodónticas (Hasselgren & Tronstad, 1975).

La técnica de diafanización dental consta en transparentar el tejido calcificado del diente al igualar su índice de refracción con la solución o líquido que lo contiene (Bravo *et al.*, 2015). Además, esta técnica consta de cuatro pasos fundamentales, los cuales son: 1) preparación de la muestra (eliminar restos de material orgánico y limpieza del conducto radicular); 2) desmineralización; 3) deshidratación; 4) transparentación (Greco-Machado *et al.*, 2008). Las técnicas de diafanización dental son bastante variables y han sido empleadas con mayor frecuencia para evaluar distintos aspectos anatómicos y endodónticos (Gutiérrez-Pech *et al.*,

<sup>1</sup> Laboratory of Epidemiology and Morphological Sciences, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

<sup>2</sup> Programa de Magister en Ciencias Biológicas, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

<sup>3</sup> Laboratorio de Plastinación y Técnicas Anatómicas, Facultad de Odontología, CEMyQ, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

<sup>4</sup> Centro de Excelencia en Estudios Morfológicos y Quirúrgicos, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

<sup>5</sup> Departamento Odontología Integral Adultos, Facultad de Odontología, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

2020) como la evaluación de la anatomía del sistema de conductos radiculares realizada por Okumura, donde gracias a la diafanización inyectó tinta china en el interior de la cavidad pulpar haciendo visible el sistema de canales radiculares (Bravo *et al.*, 2015; Okumura, 1927). Por otra parte, además de la técnica de Okumura, se han reportado otras variaciones de la técnica de diafanización como lo es la técnica de Robertson donde se utiliza como agente aclarante el salicilato de metilo (Robertson *et al.*, 1980), reactivo de difícil acceso y de alto costo en la actualidad (Bravo *et al.*, 2015). Por esto, diversos investigadores han realizado modificaciones en los reactivos utilizados en la técnica de diafanización, seleccionando aquellos de fácil acceso y de menor costo, como por ejemplo la técnica de diafanización de diente por maceración realizada por Bravo *et al.* (2015), quienes emplearon hidróxido de potasio (KOH) y glicerina para transparentar dientes. El uso de estos reactivos también ha sido reportado por otros autores, en técnicas de diafanización y tinción de pequeños vertebrados (Davis *et al.*, 1936; Reed *et al.*, 2019) pero fueron Bravo *et al.* (2015) quienes reportaron el uso KOH y la glicerina para transparentar dientes.

Otro reactivo que ha sido reportado en técnicas de maceración de diferentes tejidos es el hidróxido de sodio (NaOH) (Martínez *et al.*, 2000, 2003). El NaOH se caracteriza por ser un reactivo de fácil acceso y de bajo costo, además de presentar características muy similares al KOH, ya que ambos son bases fuertes de fácil disolución (Enríquez Pozo, 2013). Cabe destacar que el uso de NaOH en técnicas de maceración ha sido reportado con muy buenos resultados (Ohtani *et al.*, 1988; Ohtani, 1992).

En este contexto, el objetivo del presente estudio consistió en la utilización de NaOH en la técnica de diafanización dental por maceración, como una variante del KOH, buscando obtener resultados similares en la transparentación de dientes.

## MATERIAL Y MÉTODO

**Preparación de las muestras.** Se utilizaron 13 dientes (7 tercer molares, 5 premolares y 1 diente canino). Todos estos dientes correspondieron a dentición adulta y no presentaron ni caries ni restauraciones. A todos los dientes se les realizó una cavidad de acceso endodóntico (trepanación) utilizando una muela de diamante de 4,4 mm (7105) (Dremel®, Santiago, Chile) y una multiherramienta Dremel® Multipro® (395-0/15) (Dremel®, Madrid, España). Una vez logrado el acceso a la cavidad pulpar se realizó la extracción de los conductos pulpares utilizando espaciadores

digitales para endodoncia. Luego los dientes fueron sumergidos en una solución de 100 mL de hipoclorito de sodio al 4 % por 24 horas para eliminar todo resto orgánico que quedara presente para luego ser sumergidos en agua destilada por 2 horas para eliminar los restos de hipoclorito de sodio.

**Técnicas de diafanización.** Los 13 dientes fueron distribuidos en tres técnicas de diafanización: 2 terceros molares fueron utilizados para la técnica de diafanización de Robertson (Robertson *et al.*, 1980; Moreano Granizo, 2019); 3 terceros molares, 3 premolares y un canino fueron utilizados para la técnica de diafanización por maceración con KOH de Bravo *et al.* (2015); mientras que 2 terceros molares y 2 premolares fueron empleados para la técnica de diafanización por maceración con NaOH, siguiendo nuestra propuesta.

### Técnica de Robertson

**Descalcificación:** los dientes fueron sumergidos en una solución de 100 mL de ácido nítrico al 6 % por 24 horas en agitación constante utilizando una barra agitadora y un agitador magnético. Luego los dientes fueron sumergidos por 4 horas en 50 mL de agua destilada para eliminar todo resto de ácido nítrico presente.

**Deshidratación:** Luego los dientes fueron deshidratados en baterías de etanol ascendente, partiendo con una solución de 100 mL de etanol al 80 % por 12 horas. Transcurrido el tiempo, los dientes fueron traspasados a una solución de 100 mL de etanol al 96 % por 3 horas. Finalmente, los dientes fueron sumergidos en una solución de 100 mL de etanol 100 % por dos horas.

**Transparentación:** Finalizada la deshidratación, los dientes fueron colocados en 100 mL de una solución de salicilato de metilo, donde al cabo de diez minutos se observa la transparentación del diente. Los dientes fueron dejados en la solución de salicilato de metilo por tres horas y luego fueron traspasados a una nueva solución final de salicilato de metilo para su mantención y conservación.

**Técnica de diafanización por maceración KOH.** Los 7 dientes utilizados para esta técnica fueron distribuidos en dos grupos, el primer grupo compuesto por un tercer molar y 3 premolares, en los cuales se realizó la técnica de diafanización por maceración con KOH utilizando una barra agitadora y un agitador magnético en todo el proceso de diafanización. Mientras que al segundo grupo, compuesto por 2 terceros molares y un canino, se aplicó la técnica de diafanización por maceración con KOH pero sin utilizar agitador magnético.

**Descalcificación:** Los dientes del grupo 1 fueron sumergi-

dos en una solución de 200 mL de ácido clorhídrico al 5 % y los dientes del grupo 2 fueron sumergidos en 80 mL de ácido clorhídrico al 5 %. Ambos grupos fueron dejados en sus respectivas soluciones por 72 horas.

**Maceración:** Los dientes del grupo 1 fueron sumergidos en una solución de 200 mL de KOH al 2 % y los dientes del grupo 2 fueron sumergidos en 80 mL de KOH al 2 %. Ambos grupos fueron dejados en sus respectivas soluciones por siete semanas, realizando cambio de solución cada dos semanas a cada grupo respectivamente.

**Transparentación:** Luego de la maceración los dientes de ambos grupos fueron colocados en soluciones con KOH + glicerina ascendente, comenzando con 200 mL de solución de KOH + glicerina en una proporción 2:1 para el grupo uno y 80 mL de solución de KOH + glicerina en una proporción 2:1 para el grupo dos por cuatro semanas con recambio de las respectivas soluciones a las dos semanas. Luego los dientes de ambos grupos fueron sumergidos en una solución de KOH + glicerina en una proporción 1:1 por tres semanas realizando cambio de solución a las dos semanas siguiendo con las mismas cantidades de solución para cada grupo (200 mL grupo 1, 80 mL grupo 2). Por último, los dientes de ambos grupos fueron sumergidos en una solución de KOH + glicerina en una proporción 1:2 por una semana siguiendo con las mismas cantidades de solución para cada grupo (200 mL grupo 1, 80 mL grupo 2).

**Conservación:** Finalizada la etapa de transparentación, los dientes de ambos grupos fueron colocados en una solución de glicerina pura. Los dientes del grupo uno fueron sumergidos en 80 mL de glicerina pura y ya no fueron colocados en agitador magnético. Los dientes del grupo dos fueron sumergidos en 80 mL de glicerina pura al igual que el grupo uno para su conservación.

**Técnica de diafanización por maceración NaOH.** Al igual que en la técnica de diafanización por maceración por KOH, los dientes fueron distribuidos en dos grupos, donde el grupo uno estaba compuesto por un tercer molar y un premolar y el grupo dos también estaba compuesto por un tercer molar y un premolar. Además, a los dientes del grupo uno se les realizó la técnica de diafanización por maceración con NaOH utilizando una barra agitadora y un agitador magnético en todo el proceso de diafanización.

**Descalcificación:** Cada grupo (uno y dos) fueron sumergido en 80 mL de ácido clorhídrico al 5 % por 96 horas.

**Maceración:** Luego, los dientes de cada grupo (1 y 2) fueron sumergidos en 80 mL de NaOH al 2 % por 9 semanas, realizando cambios de solución cada 2 semanas.

**Transparentación:** Finalizada la etapa de maceración, los dientes de cada grupo fueron colocados en soluciones de NaOH + glicerina ascendente, comenzando con 80 mL de una solución de NaOH + glicerina en una proporción 2:1 para cada grupo por cinco semanas, realizando cambios de solución cada dos semanas. Luego los dientes de ambos grupos fueron sumergidos en una solución de NaOH + glicerina en una proporción 1:1 por cuatro semanas realizando cambios de solución cada 2 semanas siguiendo con las mismas cantidades de solución para cada grupo (80 mL para el grupo 1 y 2). Por último, los dientes de ambos grupos fueron sumergidos en una solución de NaOH + glicerina en una proporción 1:2 por dos semanas siguiendo con las mismas cantidades de solución para cada grupo (80 mL para cada uno de los grupos 1 y 2).

**Conservación:** finalizada la etapa de transparentación, los dientes de ambos grupos fueron colocados en 80 mL de una solución de glicerina pura para su conservación. Los dientes del grupo uno no fueron colocados en agitador magnético.

**Inyección de coloración en conductos radiculares.** Una vez diafanizados todos los dientes de cada técnica, estos fueron inyectados con una mezcla de pintura acrílica color carmesí, acrílico de autocurado para coronas Marche® y monómero de autocurado Marche®. Esta mezcla fue inyectada en los conductos pulpares utilizando una jeringa de 10 ml, la mezcla se dejó polimerizar por 45 minutos para luego dejar los dientes en sus respectivas soluciones conservantes.

## RESULTADOS

Al aplicar la técnica de diafanización de Robertson se obtuvieron dos terceros molares completamente transparentados, con un tono medio amarillento, observándose con claridad los conductos radiculares de los dientes (Fig. 1). Los resultados de los dientes diafanizados utilizando la técnica de maceración con KOH mostró dientes transparentados con un tono blanquecino haciendo visibles los conductos radiculares (Fig. 2). Los dientes diafanizados con la técnica de maceración con KOH, utilizando agitador magnético y barra de agitación en todo el proceso de diafanización (grupo uno), se observan más transparentes en comparación a los dientes del grupo dos donde no se utilizó agitador magnético con barra de agitación (Fig. 2). Por último, con la técnica de maceración con NaOH propuesta en este trabajo, se obtuvieron dientes menos transparentados con un tono más blanquecino (Fig. 3) en comparación a los dientes diafanizados con la técnica de maceración con KOH. Además, existió una diferencia entre los grupos uno y dos tras el

uso de agitador magnético con barra de agitación, debido a que los dientes del grupo uno, en los que se utilizó agitador magnético, se presentaron levemente más transparentes que los dientes del grupo dos de maceración con NaOH, en los cuales no se aplicó agitador magnético con barra de agitación (Fig. 3).

Finalmente se confeccionó una tabla comparativa sobre las tres técnicas utilizadas incorporando las variables de tiempo, coloración final, costos de los materiales y solución final de conservación de los dientes (Tabla I).



Fig. 1. Tercer Molar diafanizado utilizando la Técnica de Robertson.

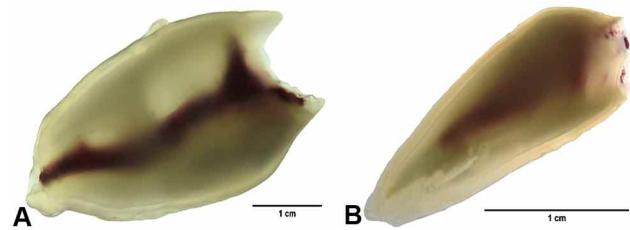


Fig. 2. A) Premolar (Grupo 1) Diafanizado utilizando la Técnica de diafanización por maceración con KOH. B) Canino (Grupo 2) diafanizado utilizando la Técnica de diafanización por maceración con KOH.

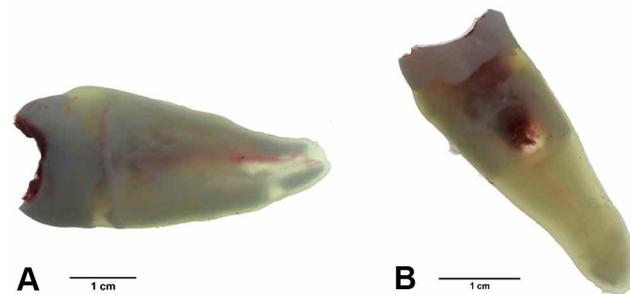


Fig. 3. A) Premolar (Grupo 1) Diafanizado utilizando la Técnica de diafanización por maceración con NaOH. B) Premolar (Grupo 2) diafanizado utilizando la Técnica de diafanización por maceración con NaOH.

Tabla I. Comparación entre las técnicas de diafanización de Robertson, por maceración con KOH y por maceración con NaOH.

	Técnica de Robertson	Maceración con KOH	Maceración con NaOH
Tiempo de diafanizado	4 días aprox.	4 meses aprox.	5,5 meses aprox.
Coloración final	Tono amarillento	Tono blanquecino	Tono blanquecino
Costos y accesibilidad de materiales	Reactivo de difícil acceso y alto costo.	Reactivos de fácil acceso y bajo costo.	Reactivos de fácil acceso y bajo costo.
Solución de conservación final	Toxico e irritante	Baja toxicidad e irritabilidad	Baja toxicidad e irritabilidad

## DISCUSIÓN

Los resultados de la presente investigación indican que el uso de NaOH en la técnica de diafanización por maceración es viable, debido a que se logran dientes transparentados con un tono blanquecino manteniendo la forma y tamaño del diente natural sin tratamiento. La única desventaja es que se requiere de más tiempo para obtener mejores resultados en comparación a otras técnicas de diafanización, como lo son la técnica de Robertson y la técnica por maceración con KOH. Además, se debe considerar el uso de barras de agitación y el agitador magnético en esta técnica debido a que se obtienen me-

jores resultados en la diafanización al mantener las soluciones homogéneas en todo el proceso. La importancia de estos resultados obtenidos al modificar las técnicas de diafanización radica en su directa aplicación en docencia e investigación, ya que, gracias al estudio y análisis de estas muestras diafanizadas, se pueden realizar hallazgos dentro de la morfología de los conductos radiculares, permitiendo la ejecución exitosa de tratamientos endodónticos complejos, aumentando de esta manera la vida útil de los dientes dentro de la cavidad oral (Bravo *et al.*, 2015).

Para estudiar la anatomía radicular y la configuración de los conductos radiculares de los diferentes dientes se han descrito diferentes técnicas o procedimientos, ya sean radiografías convencionales, Micro-CT, DRSK RCT, microscopía de barrido, he incluso la diafanización dental (Bravo *et al.*, 2015; Yekta-Michael *et al.*, 2021). La ventaja que presenta la diafanización dental es que esta nos proporciona una visión tridimensional de los conductos radiculares manteniendo la forma original del diente, lo cual es bastante útil para la docencia y la investigación debido a que la muestra puede perdurar en el tiempo (Greco-Machado *et al.*, 2008; Bravo *et al.*, 2015). La problemática de trabajar con dientes reales humanos es que el suministro de dientes no es infinito, además que el número de dientes extraídos completamente intactos es bajo, lo que es muy inconveniente para los docentes y estudiantes de endodoncia (Qualtrough, 2014). Por esto, se ha comenzado a utilizar como material de estudio dientes artificiales, donde el DRSK RCT muestra ser un candidato adecuado para ser utilizado como una alternativa a los dientes extraídos al buscar que estos modelos sean lo más similar a un diente natural (Yekta-Michael *et al.*, 2021), pero el reemplazo de dientes naturales por dientes artificiales debe considerarse con precaución para el entrenamiento en endodoncia (Tchorz *et al.*, 2015). En este sentido, el uso de dientes desmineralizados y aclarados por diafanización es factible, ya que la técnica aplicada para su obtención es sencilla y no necesita de equipos especializados (Greco-Machado *et al.*, 2008), por lo que realizar esta técnica no conlleva mayores dificultades más allá de los reactivos y/o soluciones a utilizar. Como se mencionó anteriormente existen reactivos de difícil acceso y de alto costo que se utilizan en algunas técnicas de diafanización dental como lo es el salicilato de metilo en la técnica de Robertson (Robertson *et al.*, 1980; Bravo *et al.*, 2015), por lo que constantemente se busca reemplazar estos reactivos, además de buscar reactivos menos nocivos, de menor costo y de más fácil acceso, como lo es el KOH en la técnica de diafanización por maceración con KOH (Bravo *et al.*, 2015). Esta problemática sobre el reemplazo de reactivos tóxicos no solo sucede en la diafanización dental, también ocurre en otras técnicas de conservación de material cadavérico donde se busca reemplazar la formalina por otras soluciones como lo es la Solución fijadora conservadora Chilena (SFCCCh), la cual puede contener cantidades muy bajas o ausencia de formalina obteniendo resultados positivos tanto en la conservación como en el uso docente de los materiales cadavéricos conservados en esta solución (Muñetón-Gómez *et al.*, 2021; Skopnik-Chicago *et al.*, 2021).

En relación a la técnica de diafanización, al realizar la comparativa en cuanto al tiempo que toma realizar cada técnica, se pudo observar que la técnica por deshidratación o técnica de Robertson permitió obtener resultados en un periodo

de tiempo bastante más corto en comparación a la técnica de diafanización por maceración, ya sea con KOH o NaOH (Tabla I). Sin embargo, la técnica de diafanización por maceración posee algunas ventajas, siendo una técnica menos demandante, al no tener que realizar cambios de soluciones en periodos de tiempo tan cortos, como ocurre en la técnica de diafanización por deshidratación (Robertson *et al.*, 1980). Si bien quedó demostrado la diferencia en el tiempo, en donde la técnica de diafanización por maceración con NaOH es aún más larga que la técnica de diafanización por maceración con KOH, podemos observar buenos resultados, utilizando un reactivo de fácil acceso, de menor costo y menos tóxico que otros reactivos, como el salicilato de metilo (Reactivos Química Meyer, 2015; Gobierno de España, 2018), por lo que podría utilizarse como una alternativa para diafanizar dientes.

Por otro lado, se observan los beneficios del uso de la barra de agitación y el agitador magnético, donde los grupos tratados lograron mejores resultados que aquellos grupos que no fueron tratados con barra de agitación con agitador magnético (Fig. 2 y 3). Se ha reportado que la principal función del agitador magnético es mezclar soluciones para obtener un resultado homogéneo demostrando una variedad de beneficios, como la reducción del riesgo de salpicaduras al tener un mayor control de la velocidad de agitación, además de ofrecer un mezclado más preciso (Gelosa & Slipevich, 2009; Cromtek, 2022). Lo anterior se vio reflejado en los resultados reportados en el presente trabajo, donde las soluciones en agitación constante aseguraron que fueran homogéneas en todo momento, además la agitación constante de la solución provocó que los dientes estuvieran sumergidos es una solución homogénea en todo el proceso, generando mejores resultados en comparación con los dientes cuya solución no fue agitada constantemente.

En conclusión, el uso del NaOH en el proceso de maceración de dientes es una alternativa para la técnica de diafanización, sin embargo, se requiere un mayor tiempo en el desarrollo de la técnica en comparación con la técnica de Robertson y maceración con KOH. Además, en las técnicas de maceración con KOH y NaOH se recomienda el uso de agitador magnético con barra de agitación para mejores resultados.

---

**VILCHES-GÓMEZ, V.; MARDONES, B.; OTTONE, N. E.; LIZANA, P. A.** Use of sodium hydroxide as an alternative in tooth clearing technique. *Int. J. Morphol.* 41(3):743-748, 2023.

**SUMMARY:** To preserve cadaveric material, different techniques, and solutions have been created where one technique is dental diaphanization to study the internal morphology of the

tooth. This technique consists of making the calcified tooth tissue transparent and making the root canals visible by injecting a dye mixture into them. Different variants of the diaphanization technique have been described, such as the Okumura and the Robertson techniques. However, both techniques use toxic or difficult-to-access reagents, so a search has been made for low-cost and easily accessible reagents to perform the diaphanization technique, reporting that the diaphanization technique by maceration with KOH is valid for the diaphanization of teeth. This study aimed to use NaOH in the dental clearing technique by maceration as a variant of KOH since it is a base with similar characteristics to KOH. Thirteen teeth (seven third molars, five premolars, and one canine) were used to perform three variants of the diaphanization technique: Robertson technique, KOH maceration, and NaOH maceration using a stirring bar and magnetic stirrer on the teeth. With the Robertson technique, a completely transparent tooth was obtained, while the teeth cleared by maceration, with both KOH and NaOH, were less transparent, although the root canals became visible. Therefore, using NaOH in the diaphanization technique by maceration is valid, although it requires more time than KOH maceration.

**KEY WORDS: Dental diaphanization; Maceration; NaOH.**

## 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-Qudah, A. A. & Awawdeh, L. A. Root and canal morphology of mandibular first and second molar teeth in a Jordanian population. *Int. Endod. J.*, 42(9):775-84, 2009.
- Bravo, R.; Valenzuela, M.; Cáceres, F. & Soto, R. Application of potassium hydroxide and glycerin technique for dental clearing. *Int. J. Morphol.*, 33(2):673-7, 2015.
- Cromtek. *Agitador Magnético: Ventajas de su uso*. Cromtek, 2022. Disponible en: <https://www.cromtek.cl/2022/10/17/agitador-magnetico-ventajas-de-su-uso/>
- Davis, D. D.; Gore, U. R. & Osgood, W. H. *Clearing and Staining Skeletons of Small Vertebrates*. In: Technique Series (Field Museum of Natural History), no. 4. Chicago, Field Museum Press, 1936.
- Enríquez Pozo, F. M. *Comportamiento del Hidróxido de Sodio y Potasio en Función de la Humedad y Temperatura Ambiental*. Tesis de Grado para la Obtención del Título de Ingeniero Químico. Quito, Universidad Central del Ecuador, 2013. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/870>
- Fonseca-Matheus J. Conservación de piezas anatómicas para la enseñanza en carreras médicas. *Gac. Cienc. Vet.*, 17(1):5-10, 2012. Disponible en: <http://www.ucla.edu.ve/dveterin/departamentos/CienciasBasicas/gcv/2530int2530er2530no/articulos/documasp/-me1tzw6m.pdf>
- Gage, G. J.; Kipke, D. R. & Shain, W. Whole animal perfusion fixation for rodents. *J. Vis. Exp.*, (65):3564, 2012.
- Gelosa, D. & Slipevich A. *Fundamentals of Chemistry: Chemical Laboratory Techniques*. En: Carra, S. (Ed.). *Fundamentals of Chemistry*: Vol. I. EOLSS Publishers, 2009. Disponible en: <https://www.eolss.net/sample-chapters/c06/e6-11-02-01.pdf>
- Gobierno de España, Ministerio de Trabajo y Economía Social, Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. *Salicilato de Metilo*. 2018. Disponible en: [https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p\\_lang=es&p\\_card\\_id=1505&p\\_version=2](https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_lang=es&p_card_id=1505&p_version=2)
- Greco-Machado, Y.; García-Molina, J. A.; Bueno-Martínez, R.; Manzaneres-Céspedes, M. C. & Lozano-De Luaces, V. Técnicas de diafanización: estudio comparativo. *Endodoncia*, 26(2):85-91, 2008.
- Gutiérrez-Pech, A. G.; Sánchez-Fabila, G.; Moreno-Colín, R.; Del-Moral-Flores, L. F.; Rodríguez-Trinidad, I. A. & Torres-Salazar, F. Dental Diaphonization of four Salaceos species (*Carcharhinus leucas*, *Galeocerdo cuvier*, *Rhizoprionodon longurio* and *Sphyrna* sp). *Int. J. Morphol.*, 38(4):970-4, 2020.
- Hasselgren, G. & Tronstad, L. The use of transparent teeth in the teaching of preclinical Endodontists. *J. Endod.*, 1(8):278-80, 1975.
- Kartal, N.; Özçelik, B. & Cimilli, H. Root canal morphology of maxillary premolars. *J. Endod.*, 24(6):417-9, 1998.
- Martinez, M.; Martinez, F. E.; Pinheiro, P. F. F.; Almeida, C. C. D.; Segatelli, T. M. & Watanabe, I.-S. (2000). Scanning electron microscopic study of the tongue of chinchilla (*Chinchilla laniger*). *Rev. Chil. Anat.*, 18(1):53-9, 2000.
- Martinez, M.; Stefanini, M. A.; Martinez, F. E.; Guida, H. L.; Pinheiro, P. F. F.; Almeida, C. C. D. & Segatelli, T. M. Morphological study of the tongue of budgerigar (*Melopsittacus undulatus*). *Int. J. Morphol.*, 21(2):117-22, 2003.
- Moreano Granizo, S. A. Técnica de diafanización dental. *RECIMUNDO*, 3(1):724-41, 2019.
- Muñetón-Gómez, C. A.; Molina-Clavijo, M. A.; Sarabia-Guerrero, D. & Poveda-Pisco, J. C. Use of Chilean conservative fixative solution in veterinary anatomical parts. *Int. J. Morphol.*, 39(1):164-6, 2021.
- Ohtani, O. The maceration technique in scanning electron microscopy of collagen fiber frameworks: its application in the study of human livers. *Arch. Histol. Cytol.*, 55 Suppl.:225-32, 1992.
- Ohtani, O.; Ushiki, T.; Taguchi, T. & Kikuta, A. Collagen fibrillar networks as skeletal frameworks: a demonstration by cell-maceration/scanning electron microscope method. *Arch. Histol. Cytol.*, 51(3):249-61, 1988.
- Okumura, T. Anatomy of the root canals. *J. Am. Dent. Assoc.*, 14(4):632-6, 1927.
- Qualtrough, A. J. E. Undergraduate endodontic education: what are the challenges? *Br. Dent. J.*, 216(6):361-4, 2014.
- Reactivos Química Meyer. *Hoja de datos de seguridad conforme a la Salicilato de Metilo*. Ciudad de México, Química Meyer, 2015. Disponible en: [https://reactivosmeyer.com.mx/datos/pdf/reactivos/hds\\_1735.pdf](https://reactivosmeyer.com.mx/datos/pdf/reactivos/hds_1735.pdf)
- Reed, R. B.; Kendall, C. R.; Tsangarides, N. & Evans, H. E. Clearing and staining small vertebrates for demonstrating ossification of the skeletal system using the KOH and glycerine clearing method. *Anat. Histol. Embryol.*, 48(6):605-8, 2019.
- 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.
- Skopnik-Chicago, M.; Poblete-Cordero, K.; Zamora, N.; Bastías, R. & Lizana, P. A. Comparison of haptic and biometric properties, bacterial load, and student perception of fixative solutions: formaldehyde versus Chilean conservative fixative solution with and without formaldehyde in pig kidneys. *Anat. Sci. Educ.*, 14(6):836-46, 2021.
- Tchorz, J. P.; Brandl, M.; Ganter, P. A.; Karygianni, L.; Polydorou, O.; Vach, K.; Hellwig, E. & Altenburger, M. J. Pre-clinical endodontic training with artificial instead of extracted human teeth: does the type of exercise have an influence on clinical endodontic outcomes? *Int. Endod. J.*, 48(9):888-93, 2015.
- Yekta-Michael, S. S.; Färber, C. M. & Heinzel, A. Evaluation of new endodontic tooth models in clinical education from the perspective of students and demonstrators. *BMC Med. Educ.*, 21(1):447, 2021.

Dirección para Correspondencia:  
Dr. Pablo A. Lizana  
Laboratory of Epidemiology and Morphological Sciences  
Instituto de Biología  
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso  
Av. Universidad 330  
Curauma, Placilla  
Valparaíso - CHILE

E-mail: [pablo.lizana@pucv.cl](mailto:pablo.lizana@pucv.cl)