

## Farede Enameloid Yapının Morfolojik Birimi

Doç. Dr. Namık Soydan (\*), Arş. Gör. Metin Kızılcıkoğlu (\*\*)

### G İ R İ Ő

Mine diğer sert dokular gibi, *inorganik* ve *organik* iki farklı yapıdan oluşur. Literatürde, inorganik yapısının morfolojik birimi hidroksiapatit kristallerinin şekil, büyüklük ve yerleşimi konusunda uyum gösteren çok sayıda bulgular yer almaktadır (4, 9, 10).

Mine organik kısmının morfolojik belirlemede ise: 1 — yapısına giren proteinlerin demineralizasyon gibi kimyasal uygulamalara özellikle dirençsiz olmaları (5); 2 — mineralizasyon olayında kısmen kaybolmaları (3, 8); 3 — ve mine oluşumunun filogenetik farklar göstermesi (2) gibi materyal ve metoda göre farklı sonuçlara götürebilecek özelliklerden tam bir görüş birliğinin oluşmadığı görülmektedir.

Mine organik yapı birimlerinin morfolojik tanımlanmasındaki görüş ayrılıkları, biyomineralizasyon ile bunun aksadığı durumların açıklığa kavuşturulmasında bu önemli parametrenin deneysel çalışmalarda değerlendirilmesine engel oluşturmaktadır.

(\*) İ.Ü. Dışhekimliği Fakültesi Histoloji ve Embryoloji Birimi.  
(\*\*) « « « « « « .

Bu çalışmada mine organik matrisine yönelik deneysel çalışmalar için en uygun materyal olacağı literatür bilgileri ışığında düşünülen fare ön kesici dişlerinin elektron mikroskobu için hazırlanması ve materyal-metod açısından bir sisteme bağlanması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, değişik yaşlarda ve aynı beslenme şartları içerisindeki beyaz farelerden alınan alt ön kesici dişlerde yapıldı.

Dişlerden bazıları fosfat tamponunda (Sørensen, pH 7.2) % 2'lik glutaraldehid ile sol kalp içine 1 saat perfüzyon ile in situ; diğerleri ise doğrudan aynı tespit sıvısı içerisinde 1 saat bırakılarak tespit edildi. Bu dişlerin 1/3 apeks bölgelerinden 1 mm<sup>3</sup> büyüklüğünde kesilen parçalar yumuşamaları için (demineralizasyon) Warshawsky ve ark. (13) göre hazırlanan izotonik, nötral Na EDTA içerisinde + 4°C'de 4, 8, 16, 32 gün gibi değişik sürelerde bırakılarak en iyi yumuşama süresi belirlenmek istendi. EDTA'dan çıkarıldıktan sonra fosfat tamponunda + 4°C bir gece bırakılarak yıkanan parçalar % 1'lik OsO<sub>4</sub> — fosfat tamponunda 1 saat süreyle ikinci bir tespit için bırakıldı.

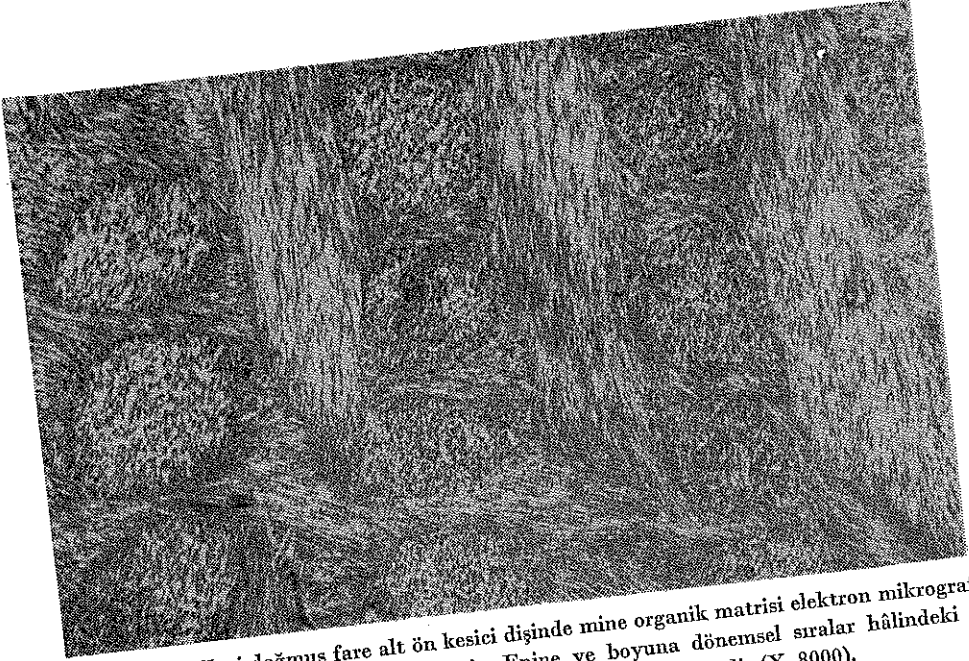
Yukarıdaki şekilde hazırlanan parçalar alkol ve alkol-propylen oksit serilerinden geçirildikten sonra Epon-Araldit karışımında blok hâline getirildi. İnce kesitler LKB ultramikrotomunda cam bıçaklar kullanılarak hazırlandı; uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandırılarak Jeol 100 B elektron mikroskobunda gözlendi.

## BULGULAR

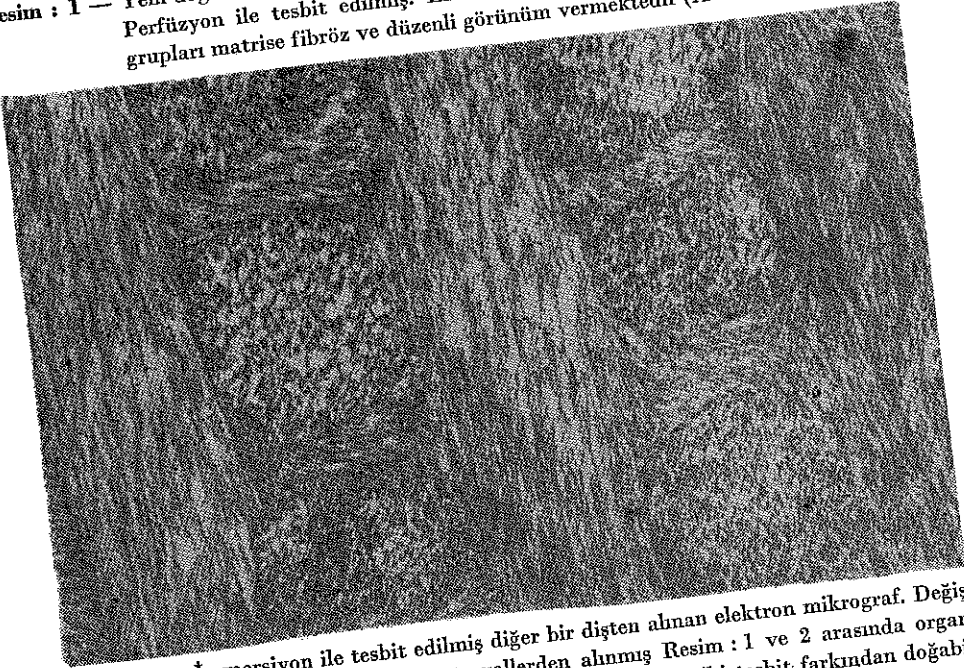
### Gereç ve Yöntem ile ilgili bulgular :

Resim : 1'de 4 günlük bir fare alt ön dişinin 1/3 kök kısmına ait ince bir kesitte mine organik matrisinin submikroskopik yapısı görülmektedir.

Perinatal farelerin seçimi dişin alveolü içerisinde kolayca kesimini, buna bağlı olarak resimde de görüldüğü gibi organik matrisin zarar görmeden tespit olmasını sağlamaktadır.



**Resim : 1** — Yeni doğmuş fare alt ön kesici dişinde mine organik matrisi elektron mikrograft. Perfüzyon ile tesbit edilmiş. Enine ve boyuna dönensel sıralar hâlindeki lif grupları matrise fibröz ve düzenli görünüm vermektedir (X 8000).



**Resim : 2** — İmmersiyon ile tesbit edilmiş diğer bir dişten alınan elektron mikrograf. Değişik tesbit ile hazırlanmış materyallerden alınmış Resim : 1 ve 2 arasında organik matrisi oluşturan liflerde büyüklük ve yoğunluk gibi tesbit farkından doğabilecek farklar görülmemektedir (X 14.000).

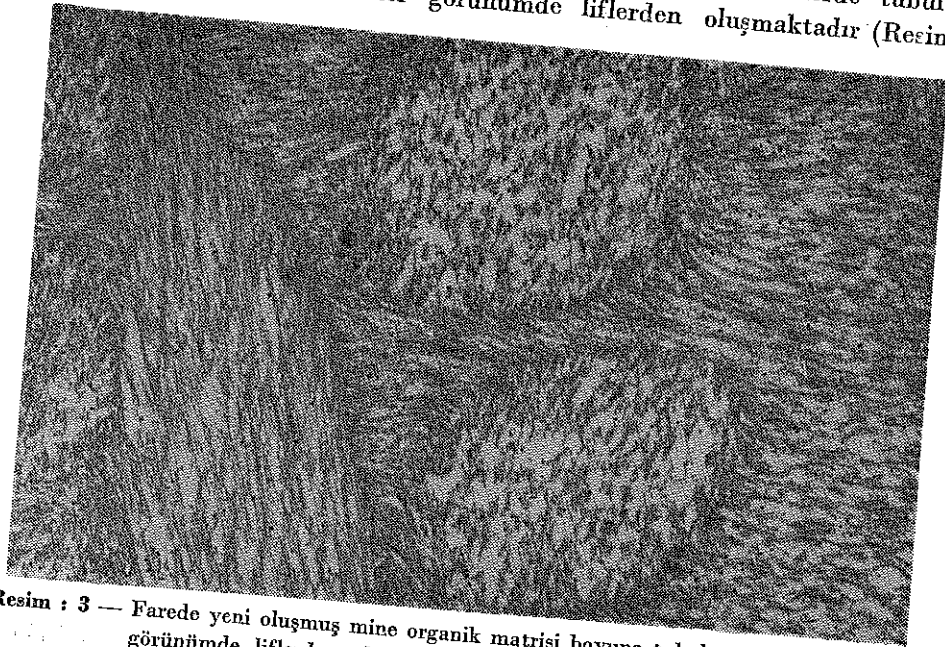
İleri yaşlardaki farelerde yapılan denemelerde dişin sertleşmiş alveol kemiği içerisinde kesilmesinde zorluklar ile karşılaşılması ve bu şekilde hazırlanmış dişlerde organik matriste sıklıkla parçalanma veya sıkışmaların ortaya çıktığı görülmüştür.

Gereğ ve yöntemde belirtilen iki ayrı tespit uygulaması arasında sonuç açısından önemli bir fark belirlenmemiştir. Perfüzyon uygulanan bir dişten alınmış bir kesitle (Resim : 1) doğrudan tespit edilmiş diğer bir dişten alınmış kesit arasında (Resim : 2) organik matrisi oluşturan liflerde büyüklük ve yoğunluk gibi tespit farkından doğabilecek farklar görülmemektedir.

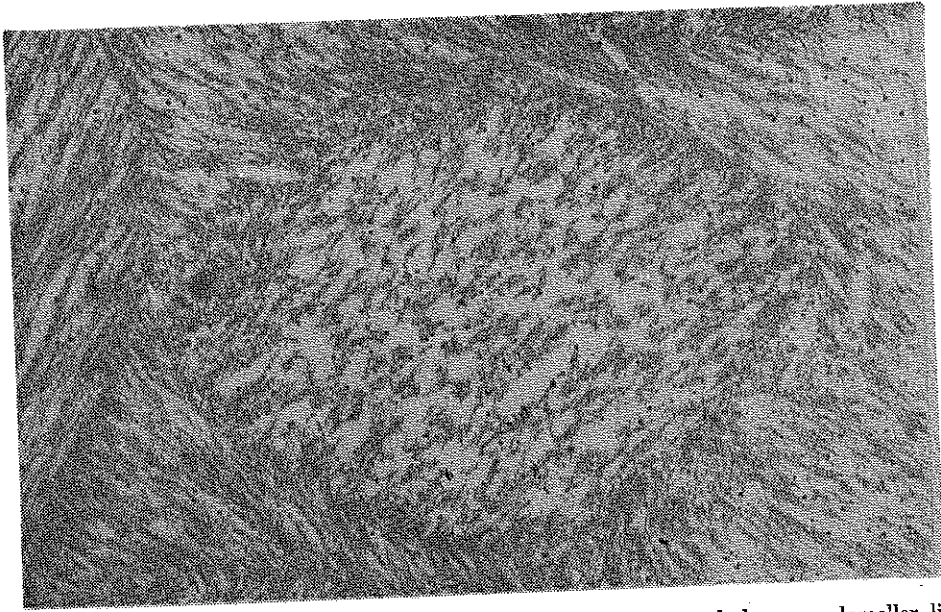
EDTA yumuşatma yöntemi ile 8 ile 17 nci günler arası, belirttiğimiz materyal ve diş bölgesi için, cam bıçaklar ile kesilebilecek yumuşaklığın sağlandığı uygun zamanlar olarak bulunmuştur (Resim : 1, 2, 3, 4).

Farede yeni oluşmuş mine organik matrisinin ultrastrüktür düzeyinde görünümü :

Farede yeni oluşmuş mine organik matrisi boyuna kesitlerde tubuler, enine kesitlerde ise lameller görünümde liflerden oluşmaktadır (Resim :



Resim : 3 — Farede yeni oluşmuş mine organik matrisi boyuna tubuler, enine ise lameller görünümde liflerden oluşmaktadır. Öte yandan lif gruplarının çevrelerindeki lifler ile dik açı yapacak şekilde kesişmeleri değişik bir yapı ile sınırlandıkları izlenimini vermektedir (X 22.000).



**Resim : 4** — Fare organik matrisi morfolojik birimini oluşturan tubuler veya lameller lif yapılarının enine ve boyuna görünüşleri; lifcikler arasındaki 120 Å'lık aralığın bazı yerlerde boş, bazı yerlerde ise yoğun olduğu dikkati çekmektedir (X 30.000).

3, 4). Lifler arasında elektronları kolaylıkla geçiren amorf bir ara madde yer almıştır (Resim : 4). Lamel teşkil eden iki lifcik arasındaki mesafe 120 Å olarak hesaplanmıştır. Bu aralığın bazı yerlerde tamamen boş gözüktüğü bazı yerlerde ise yoğun olduğu dikkati çekmiştir (Resim : 4). Lamellerin enine uzunlukları 400 ile 600 Å gibi değişik büyüklükler göstermektedir. İkili lifcikler hâlindeki bu lif yapıları çatallanmalar göstermekte ve bu da mine organik matrisine retiküler bir şekil kazandırmaktadır (Resim : 2).

Mine organik matrisinin bu bölümünde lifler birbirlerine paralel seyreten 2-4 µ çapında dairesel gruplar oluşturmaktadır.

Bu lif gruplarının çevrelerindeki lifler ile dik açı yapacak şekilde kesişmeleri değişik bir yapı ile sınırlandıkları izlenimini vermektedir (Resim : 3). Öte yandan lif gruplarının enine ve boyuna olarak birbirine tamamen dikey dönemsel sıralar oluşturacak şekilde üst üste dizilmeleri nedeniyle organik matris oldukça düzenli bir arşitektoni göstermektedir (Resim : 1).

Diziler hâlindeki bu lif grupları arasında (Resim : 1 ve 2) yönleri farklı ara lif grupları yer almaktadır.

## TARTIŞMA

Girişte belirtilen özellikleri, mine organik yapısının morfolojik tanımlanmasını materyal ve metoda bağlı farklı sonuçlara götürecektir. Nitekim konuya ilişkin literatür çalışmalarında «enameloid» yapının farklı birim ve yerleşimlerde tanımlandığı görülmektedir (1, 5, 6, 11, 14, 15).

Farklı materyal ve metodların uygulandığı çalışmalarda bulguların yorumlanmasında bazı güçlüklerle karşılaşıldığı görülmektedir. Örneğin; insan (5) ile karşılaştırıldığında fare minesinin daha lifsel görünmesi tartışmasında filogenetik nedenler (2) kadar materyal farkından doğan değişik demineralizasyon koşullarına da (5) değinildiği görülmektedir. Aynı şekilde enameloid yapının morfolojik birimi konusunda da farklı görüşler yer almaktadır (7).

Böyle bir mine organik yapısı birimi tanımlanamamış olduğundan mine organik matrisinin biyomineralizasyon yönünden önemini deneysel çalışmalarla araştırmak güçleşmektedir.

B u ç a l ı ş m a d a : organik matrisin kristalleşme ile ilişkisinin araştırılmasına yönelik tasarladığımız deneysel çalışmalarımıza hazırlık olarak elektron mikroskobu için hazırlanması ve materyal-metod açısından bir sisteme bağlanması amaçlanmıştır.

Materyal olarak fare ön dişlerinin seçilmesinde: a) sürekli gelişme göstermeleri; b) organik matrislerinin salgılanma sırasında hemen sertleşmeyip kısa bir müddet «immature» kalabilmesi gözönünde tutulmuştur (7). İnsan, maymun ve köpek gibi enameloid dokunun hemen sertleştiği, amelogenesis farkı gösteren (3) ve demineralizasyona bağlı artefakt olasılığının büyüdüğü materyaller yerine; hamster (15), kobay (3) gibi enameloid yapısı bir süre immature kalan farenin seçimi teknik kolaylık ve sonuçların güvenilirliği bakımından benimsenmiştir.

Gereç ve yöntemde belirttiğimiz bazı materyal, tespit ve demineralizasyon parametrelerinin uygulanmasına ilişkin bulgularımız aşağıdaki şekilde özetlenebilir :

— Yeni doğmuş farelerin seçimi dışın henüz tamamen sertleşmemiş alveolu içerisinde kolayca kesimini ve zarar görmeden tespitini sağladığından artefakt olasılığını azaltmaktadır.

— Bazı araştırmacıların (1, 14) sistematik olarak uyguladığı perfüzyon tespiti ile doğrudan tespit (*immersion*) arasında organik matris açısından bir fark görülmemiştir. Sonuç olarak sadece organik matrisi incelemeye yönelik bir çalışma daha uzun ve ekonomik olmayan perfüzyon uygulaması yerine istenilen mine kısmının parçalar hâlinde doğrudan tespiti yeterli olmaktadır.

— EDTA sıvısında minenin sürekli oluştuğu dışın 1/3 kök kısmının yu- muşatılması için en uygun zamanlar 6 - 8 gün olarak belirlenmiştir.

Özellikleri yukarıda belirtilen yöntem ile elektron mikroskobuna hazırlanan fare minesi organik yapısının morfolojisine ilişkin bulgularımız bazı araştırmacıların (15) aynı materyal üzerindeki sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Buna göre; yeni oluşmuş fare mine organik matrisinin morfolojik birimini lamel oluşturacak şekilde karşı karşıya bir çift lifcik yapmaktadır. Lifcikler, örneğin: dentin ve kemik gibi sert dokuların organik yapısına giren kollagen lifciklerden dönemsel enine çizgilenmeler göstermemeleri ve anastomozlar yaparak retikulum oluşturmalarıyla farklıdır.

Bovin (11) Hamster (15) ve insan (5) mine organik matrisi birimlerini benzer şekilde tanımlayan çalışmalar da dikkate alındığında tubuler veya lameller lif birimlerinin genel mine alt yapılarını oluşturdukları destek bulmaktadır. Morfolojik özellikleri kristallere kalıp görevi yapabilecekleri izlenimini verdiğiinden (7) bunlar enameloid - yapı kristalleşme ilişkisi tartışmasının ilginç bir yanını oluştururlar (12).

### Ö Z E T

Çalışma, bazı materyal tespit ve demineralizasyon parametrelerini amaçla uygun olarak seçilen fare ön dişlerine uygulamayı ve bu şekilde mine organik matrisinin elektron mikroskobuna hazırlanmasını gereç ve yöntem açısından bir sisteme bağlamayı amaçlar.

### RÉSUMÉ

Ce travail se propose de définir la préparation pour la microscopie électronique de la matrice organique de l'émail moyennant application de différents paramètres concernant le matériel, la fixation et la déminéralisation sur un matériel dûment choisi: les incisifs de rats.

## K A Y N A K L A R

- 1 — Decker, D. J. : Fixation effect on the structure of enamel crystal matrix relationships. *J. Ultrastruct. Res.* 44 : 58 - 74, 1973.
- 2 — Fejerskov, O. : Human dentition and experimental animals. *J. Dent Res.* Special issue B (March) : 752 - 731, 1979.
- 3 — Glick, P. L. : Patterns of enamel maturation. *J. Dent. Res.* Special issue B (March): 883 - 892, 1979.
- 4 — Glimcher, M.J., Daniel, E.J., Travis, D.F. ve Kamhi, S. : Electron optical and X-Ray diffraction studies of the organization of the inorganic crystals in embryonic bovine enamel. *J. Ultrastruct. Res.* 7 (Suppl) 1 - 77, 1965.
- 5 — Helmcke, J. G. : Ultrastructure of enamel. in: Structural and chemical organization of teeth. Ed. E.E. Miles, : 135-163, Ac Press, New York, 1968.
- 6 — Jessen, H. : Elliptical tubules as unit structure of forming enamel matrix in the rat. *Archs. Oral Biol.*, 13 : 351 - 352, 1968.
- 7 — Nylen, M.U. : Matrix-mineral relationships. A morphologist's viewpoint. *J. Dent. Res.* Special issue B (March) : 922-926, 1979.
- 8 — Robinson, G., Briggs, H.D., Atkinson, P.J. ve Weatherell, J.A. : Matrix and mineral changes in developing enamel. *J. Dent. Res.* Special issue B (March) : 871-879, 1979.
- 9 — Ronnhölm, E. : The structure of the organic stroma of human enamel during amelogenesis. *J. Ultrastruct. Res.* 6 : 368-389, 1962.
- 10 — Selvig, K.A. : The crystal structure of hydroxyapatite in dental enamel as seen with the electron microscope. *J. Ultrastruct. Res.* 41 : 396-375, 1972.
- 11 — Travis, D.F., Glimcher, M. J. : The structure and organization of and the relationship between organic matrix and the inorganic crystals of embryonic bovine enamel. *J. Cell. Biol.* 23 : 447-497, 1964.
- 12 — Travis, D. F. : In: Biology of the mouth. Ed. P. Parson: 237-297, Washington, 1968.
- 13 — Warshawsky, H. ve Moore, G. : A technique for the fixation and calcification of rats incisors for electron microscopy. *J. Biochem. Histochem.* 43: 512-553, 1967.
- 14 — Warshawsky, H. : A light and electron microscopic study of the nearly mature enamel of rat incisors. *Anat. Rec.* 169 : 559-583, 1973.
- 15 — Watson, M. L. ve Avery, J.K. : The development of the hamster lower incisor as observed by electron microscopy. *Am. J. Anat.*, 95 : 109-161, 1954.