

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Dişhekimliği
Temel Bilimler Bölümü
Histoloji-Embriyoloji Birimi
Danışman:
Doç.Dr.Namık Soydan

60913

GELİŞMEKTE OLAN VE GELİŞMİŞ DİŞLERİN
FLUORESAN MİKROSKOP İLE İNCELENMESİ

(DOKTORA TEZİ)

Dişhekimisi Metin Kızılcıkoğlu

İstanbul - 1988

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ	1
MATERYAL VE METOD	7
BULGULAR	11
TARTIŞMA	21
SONUÇ VE ÖZET	31
KAYNAKLAR	35
RESİMLER	47
ÖZGEÇMİŞ	62

GİRİŞ

Fluoresans: fotonların etkisi altında bir maddenin ışık çıkarmasıdır ve ışık "kuanta"larının emilimi ve emilen enerjinin kısmen ya da daha seyrek olarak tümüyle ışık çıkarmada kullanılması koşullarına bağlı olarak ortaya çıkar. Genellikle çıkarılan ışığın dalga boyu emilen ışığın dalga boyundan daha uzundur(11,27,77,84).

Fluoresans biyolojik maddenin doğal niteliği olabilir; maddenin doğasına göre mavi-sarı (kromolipitler), sarı (5 Hidroksitriptamin, tetrasiklinler), kırmızı (porfirinler), yeşil (B₂ vitamini) gibi farklı renkler gösterebilir(27,84).

Boyanmamış dokular, bazı doku komponentleri belirli derecede fluoressandır; ve bu durum "otofluoresans" (primer ya da doğal fluoressans) olarak bilinir(27,84).

Özellikle sert dokuların uzun dalga boyuna sahip ultraviyole ışınları altında (300-400 nm) belirgin fluoressans verdiği uzun süreden beri bilinmektedir(30,39,40). Bunların fluoressans spektrumu yumuşak dokulara göre daha kuvvetlidir. Doğal fluoressans emisyonundan kollagen lifler sorumlu tutulmaktadır(29,52).

Primer fluoressans gösteren bazı biyolojik nesnelere - çıkardıkları fluoressans herbiri için karakteristik olduğun-

dan - histolojik kesit üzerinde bu sistemle doğrudan saptanabilir(84).

Fluoresan olmayan bazı maddeler kimyasal işlemlerle fluoresan bileşikler haline dönüştürülebilir (sekonder fluoresans). Örneğin: biojen aminlerin formaldehit ile reaksiyonu ile noradrenalin, adrenalin ve dopamin sekonder fluoresans gösterir(11).

Ya da fluoresan nitelikteki boyaların fluoresan olmayan herhangi bir maddeye birleşmesi sonucu dolaylı olarak oluşturulabilir. Fluoresan teknikler bütün biyolojik materyellere uygulanabilir(13,27,84).

Fluoresan mikroskopunun bir avantajı yüksek duyarlılığıdır; düşük konsantrasyonlardaki maddelerin veya ışık mikroskopunun ayırma gücünün altında olan partiküllerin görülebilmesini olanaklı kılar(12,84,94).

Fluoresan Mikroskopu İle Biyolojik Uygulamalar

Bazı maddeler canlı hayvanların dokularına terapötik ya da başka amaçlarla verilmiş daha sonra da fluoresan mikroskopta incelenmiştir.

Fluoresan terapötik maddeler: acridine (acriflavine, quinacrin), bazı antibiyotikler (tetrasiklinler, dihidrostreptomisin, kloramfenicol, adriamisin), p-aminosalisilik asit ve hidrokarbonlardır. Quinacrine ve quinacrine mustard acridine türevleridir ve ikiside mitotik kromozomları boyar(15,16,17,57,58,59,84). Quinacrine insan interfaz çekirdeklerinde "Y" kromatininin varlığını gösterebilir(78,79). Kromozom boyanması üzerine daunomisin ve adriamisin gibi özel DNA fluorokomları ile çalışılmıştır(60).

Fluorokromlarla DNA'nın fluorometrik yoldan kantitatif ölçülmesine yönelik çalışmalar önemli bir yer tutar(57,58,59, 83). DNA içeriğinin kantitatif çalışmalarında DNA, acridine orange ile boyanır. DNA ethidium bromid(21,22), propidium iodine(54), mitramisin(22) gibi maddelerle de doğrudan boyanır.

Birçok protein, molekülü bozmadan fluoressan boyalarla işaretlenebilir. Proteinlerin fluoressanlaştırılması immunolojide geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Fluorescein, rhodamine gibi fluorokromlar antikorların özgünlüklerini bozmadan onlarla birleşirler. Bu bileşikler histolojik kesitlerde bulunan antijenlerle bağlanarak fluoressan mikroskopunda antikorun fluoressans vermesi ile görünür hale geçer. Bu sayede antijen-antikor kompleksleri in situ gözlenebilmektedir(13,84).

Porfirinler kırmızı primer fluoressans verirler ve bunun tanıda önemi vardır. Kan hücrelerinde porfirinlerin miktarının artışı ilk kez fluoressan mikroskopu kullanarak Kosenow ve Treibs(51) bulmuştur. Bu yöntem daha sonra Rimington ve Crips tarafından geliştirilmiştir(19,20,26,47). Fluoressan mikroskopu eritropoietik paratopofiri, sideropenik anemi, pellegra ve kronik kurşun zehirlenmesi gibi durumlarda çabuk ve etkin bir tanı yöntemi oluşturur.

Fluoressan tekniklerin sert dokulara uygulanması vital işaretleyici olarak tetrasiklinler, DCAF(2,4-bis|N,N'-dicarbomethyl| (aminomethyl) fluorescein ve alizarin red S in kullanımına dayanır. Bu uygulama kemik biyodinamiği, kemik oluşumu ve kemik rezorpsiyonu üzerine yapılan çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır(1,3,5,6,7,32,33,34,35,93).

Fluoressan doku işaretleyicilerinin kemik mineral matrisine olan affiniteleri, özellikle mineralizasyon bölgelerine birikmeleri, sert doku modellenışı üzerine yapılan

çalışmalara yeni boyutlar getirmiştir. Bunlar mineralize dokularda kendilerine özgü fluoressan bantlaşmalar yaparlar. Tetrasiklinler sarı; DCAF yeşil; alizarin, kırmızı fluoressans verir(7,12,28,32,33,34,37,53,80,82,85,86,93).

Fluoressan mikroskopuyla diş dokuları üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır(38,40). Bunlardan bazıları diş sert dokularını bu mikroskopta doğrudan gözlemlemeyi; diğerleri fluoressan boylarla boyamayı hedef alır. Bu mikroskoptan başka çalışmalarda da yararlanıldığı; örneğin, dentin ve mine permeabilitesinin fluorokromlarla araştırıldığı bilinmektedir(38,40). Tüm bunlara karşın fluoressan mikroskopun rutin bir yöntem olarak diş histolojisi içine girdiği söylenemez. Oysa bu çalışmamızda göstermeye çalıştığımız gibi fluoressan mikroskopu her iki tür uygulama şeklinde de (primer veya sekonder fluoressans) gerek teknik kolaylık gerek ayrıntılar yönünden diş sert dokularının gözlemlenmesinde ışık mikroskopu ile kıyaslanmayacak üstünlükler sağlar.

Tetrasiklin - Fluoressans ve Sert Doku İlişkileri

Tetrasiklin grubu ilaçlar klinik hekimlikte yaygın biçimde kullanılmaktadır. Sağlıklı kişilerde zararsızdırlar. Ancak çocuklarda ve böbrek hastalarında dışa atılımları yavaştır; çok çeşitli intrasellüler ve ekstrasellüler maddelerle etkileşime girerler ve yan etkileri ortaya çıkabilir. Öte yandan mineralleşen dokularda özellikle büyüme döneminde birikirler(37,44,45,72,87,88,89,90,91,92,95,96,97).

Tetrasiklin grubu ilaçlar çeşitli metal iyonlara birleşirler. Fluoressan olmaları bir başka özellikleridir(43,44,86,93).

Bazı organlarda (karaciğer, böbrek, dalak, barsak, safra kesesi) fazla tutulurlar ve serum düzeyini aşan oranlarda birikirler. Kan düzeyi indiğinde doku düzeyi de iner

ve bu yaklaşık 72 saat sonra sıfırlanır(44,97).

Kemik sistemi içinde, bu dokunun "turnover"ı yavaş olduğundan, en az 9 yıl boyunca varlığını sürdürür. Ayrıca bazı patolojik koşullarda (tümör, iyileşen ülser ve yaralar, arterosklerotik damarlar, parçalanmış lens membranları, fokal enfeksiyon alanları) seçici olarak bol oranda tetrasiklin birikir(4,43,44).

Bir dokunun tetrasikline affinitesi kimyasal yapısının bir fonksiyonudur. Tetrasiklin kalsiyum tuzlarıyla birleşir. Ancak bunun apatit yüzeyinde "kelasyon" biçiminde olup olmadığı açıklık kazanmamıştır. Kelasyon olasılığı aşağıdaki nedenlerle zayıf görünmektedir(5,6,7,8,9,10,28,41,42,44,53,55,63,65,69,91).

1- Tetrasiklin yeni oluşan kemik alanlarında yoğunlaşır. Bu alanların matrisi kimyasal yönden diğer alanlardan farklıdır;

2- Mine ve mineralleşmiş kıkırdak alanları fluoresan değildir;

3- Bazı yumuşak dokular da tetrasiklin affinitesi gösterirler(18,99). Ancak tüm bunlara karşın-dolaylı belirtiler iskelet sistemine tetrasiklin birikiminin ana yolunun apatitlerle kelasyon olduğunu göstermektedir.

Tetrasiklinlerin belirtilen özelliklerinden yararlanılarak kemik ve diş sert dokularının dinamiğini incelemeyi amaçlayan çeşitli çalışmalar yapılmaktadır(24). Örneğin belirli deney koşullarında(36,76) dentin yapımının azalması veya artması ya da özel bir diyetin veya herhangi bir ilacın dentin yapımına(23) etkisi araştırılabilmektedir. Tetrasiklin burada vital işaretleyici olarak kullanılmakta ve günlük dentin oluşumu tetrasiklin bantlaşmalarının kalınlığıyla

hesaplanabilmektedir(23,36,72,76).

Bu çalışmada fluoresan mikroskopunun belirtilen özellikleriyle diş dokuları için gerek topografik gerek dinamik çalışmalarda verdiği avantajların değerlendirilmesi amaç edinilmiş, çeşitli parametreler ve yöntemler gözden geçirilerek literatür bilgilerinin ışığında değerlendirilmek istenmiştir.



MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda iki ayrı cins materyel kullanıldı:

1- Doğrudan insandan ortodontik ve cerrahi nedenlerle çekilen küçük azı ve yirmi yaş dişleri.

2- Winstar albino türü değişik yaş gruplarında dişi sıçanlardan bütün halinde çıkarılan alt ve üst çeneler.

İnsan Materyali

Belirtilen yollardan insandan elde edilen dişler flouresan mikroskopunda primer ve sekonder fluoresans yönünden gözlenmek üzere aşağıdaki yöntemlerle hazırlandı:

- a) Dekalsifiye edilmemiş bileme preparatları.
- b) Dekalsifiye parafin kesitler.

- a) Dekalsifiye Edilmemiş Bileme Preparatları Hazırlaması

Bu amaçla: önce dişlerden elmas separelerle su altında meziodistal yönde uzunlamasına ve enine yaklaşık 2 mm kalınlığında kalın kesitler alındı. Bunlar kloroform-metanol karışımından geçirildi (dehidratasyon). Bunu PMMA'da (Poli metil metakrilat) inkluzyon ve bloklama işlemleri izledi.

Bileme preparatı için bloklama ortamı olarak PMMA'nın tercih edilmesi nedeni bunun monomerinin düşük yoğunlukta olması böylece diş gibi sert, inklüzyonu zor bir organa iyi penetre olabilmesidir.

İnklüzyon aşamasında; önce kesitler 10 dakika monomerde bekletildi. Sonra bir kısım polimer iki kısım monomer metil metakrilat karışımına konuldu. Hazırlanan bloklar altı atmosfer basınç altında ve 35 °C'de bir saat polimerizasyona bırakıldı.

Polimerizasyon bitiminde 1.5-2 mm kalınlığındaki bu kesitler su zımparaları üzerinde yaklaşık 150 µm kalınlığa kadar inceltirilip, parlatıldı.

b) Dekalsifiye Edilmiş Dişlerin Hazırlanması

Bu amaçla önce dişler formolde yaklaşık bir hafta boyunca tespit edildi. Sonra:

- 5 ml formik asit
- 5 ml formol
- 100 ml su

ile hazırlanmış dekalsifikasyon karışımında üç-dört hafta süreyle tutularak yumuşatıldı. Dekalsifikasyonun yeterli olup olmadığı kontrol edildikten sonra, 24 saat akar suda bırakıldı. Bunu; alkol serilerinde dehidratasyon, toluol serisinden geçirme, etüvde parafin inklüzyonu ve bloklama gibi rutin işlemler izledi.

Hayvan Materyali

Diş sert dokularıyla ona bağlı oluşumları gelişim dönemlerinde primer ve sekonder fluoresans yönünden incelemek; buna ek olarak sert dokuları tetrasiklin grubu ilaçlarla

işaretlemek için Winstar albino türü değişik yaş gruplarında dişi sıçanlar kullanıldı.

Bunlardan bir bölümü (kontrol grubu) doğrudan eter narkozuna alındı. Alt ve üst çeneler çıkarıldı. Alınan parçalar insan materyalinde olduğu gibi ya dekalsifiye edilmeden veya dekalsifiye edildikten sonra preparat haline getirildi.

Diğer bir bölümüne intraperitoneal yoldan "oksitetrasiklin" (Pfizer) enjekte edildi. Oksitetrasiklin hergün aynı saatte tek doz(25 mg/kg) olarak verildi. Bunların enjeksiyondan sonra; bir, iki, dört, sekiz gün gibi aralıklarla eter narkozu altında alt ve üst çeneleri çıkarıldı. Çeneler iki parça halinde; biri dekalsifiye edilmeden diğeri dekalsifiye edilmek üzere daha önce belirtilen histolojik yöntemlere göre fluoresan mikroskopu için hazırlandı.

Boyama

Sekonder fluoresans için dekalsifiye edilmemiş ve dekalsifiye edilmiş kesitler değişik fluorokrom boyalarla (acridine orange, aethacridine lactat DAB-7, rhodochrome BPC, fluorescein) boyandı.

Acridine orange'ın % 0.1'lik sudaki çözeltisi kullanıldı. Boyama süresi beş-yedi dakika idi. Boyamayı alkolde diferansiyasyon izledi.

Aethacridine lactat DAB-7 (Rivanol, Bayer): % 0.1'lik sudaki çözeltisi kullanıldı. Boyama süresi iki-dört dakika idi.

Rhodochrome B.P.C. (Rhone-Poulenc): % 0.1'lik sudaki çözeltisi kullanıldı. Boyama süresi bir-üç dakika idi.

Fluorescein (Merck): % 0.1'lik sudaki çözeltisi kullanıldı. Boyama süresi iki-beş dakika idi.

Lamlar fluoressan olmayan bir balsam (Entellan-Merck) ile kapatıldı ve Leitz fluoressan mikroskopunda incelendi. Mikrofotoğraflar için 400 Asa'lık Kodak VR 400 renkli negatif filmler kullanıldı.

BULGULAR

Bulgularımız her diş ve çevre dokuları için gerek gelişmiş halde gerek gelişim döneminde üç ayrı parametre altında belirtilmiştir.

- a) Primer fluoresans
- b) Sekonder fluoresans
- c) Tetrasiklin uygulaması.

Mine

a) Primer fluoresans: Bileme preparatlarda minenin primer fluoresansı koyu mavi-yeşildir. Ancak değişik örneklerde farklı tonda kontrast verdiği dikkati çekmiştir. Genellikle çok parlak dentinin üzerinde daha koyu bir yapı izlenimi vermektedir (Resim 1).

Hunter-Schreger çizgilerinin yer aldıkları minenin dentine yakın iç bölgesi farklı fluoresans vermektedir (Resim 2). Burada prizmaların birbirini çaprazlayan demetleri mine dış kenarına doğru boyunu boyunca uzananlardan daha beyaz ve parlaktır. Aynı şekilde mine dentin sınırına yakın olarak mine püskülleri, lamelleri ve tığları diğer alanlardan daha parlak ve beyaz olmalarıyla dikkati çekmektedir (Resim 1 ve 2).

Retzius çizgileri beyaz ve parlaktır (Resim 1). Mine dentin sınırı her iki yapı arasındaki kontrast nedeniyle oldukça belirgindir. Yer yer beyaz, ince çizgi şeklinde ayırt edilebilmektedir (Resim 1). Mine yüzeyi fluoresans farkı göstermemektedir.

Hipoplazik dişlerden alınan örneklerde mine tabakasının daha açık ve yeşil yer yer beyaz açık mavi olduğu saptanmıştır. Mine dentin sınırında beyaz fluoresan alan daha kalın ve bir bant şeklinde uzanmaktadır. Hunter-Schreger çizgilerine uyan alanlarda minenin daha açık ve beyaz fluoresans verdiği gözlenmektedir.

Retzius çizgileri beyazdır ve kalınlaşmış bulunmaktadır. Bu dişlerle ilgili bir başka bulgu da mine yüzeyinin beyaz fluoresans vermesi olmuştur (Resim 3).

Makroskopik olarak mine çürüğü gösteren dişlerden alınan kesitlerde çürük alanı kirli sarı-kahverengi fluoresans vermektedir. Çürük alanıyla çevre mine arasında kesin bir sınır olmayıp özellikle orta ve dentine yakın yerlerde bu olgunun geniş bir alana yayıldığı dikkati çekmiştir (Resim 4).

Mine çürüğü olgularında, ilgili bölgede mine-dentin sınırının genişlemiş ve beyaz-sarı olduğu dikkati çekmiştir (Resim 5).

b) Sekonder fluoresans: Bileme preparatları üzerinde minenin sekonder fluoresans açısından değerlendirilmesi amacıyla değişik boya yöntemleri denenmiş ancak hiç birinden olumlu sonuç alınamamıştır.

Demineralize edilmiş kesitlerde de minenin organik matrisini koruyabilmek teknik yönden mümkün olamamıştır.

c) Tetrasiklin uygulaması: Değişik yaş gruplarındaki sıçanlara farklı doz ve zamanlarda uygulanan oksitetrasiklin yalnız mine dentin sınırında sarı fluoresans vermiştir. Mine koyu yeşil görünmektedir. Sonuç olarak örneklerimizin hiçbirinde minede tetrasiklin birikmesi gözlenmemiştir (Resim 6).

Dentin

a) Primer fluoresans (dekalsifiye edilmemiş materyal): Dekalsifiye edilmemiş bileme preparatlarda dentin parlak mavi primer fluoresans göstermektedir. Dentin kanalcıkları parlak, beyaz görülmektedir. Czermak globuler dentin alanları beyazdır (Resim 7).

Tomes granüler tabakasının da beyaz olduğu dikkati çekmiştir (Resim 16). Gözlemlerimizde primer, sekonder ve tersiyer dentin arasında primer fluoresans açısından bir fark izlenmemiştir (Resim 7 ve 8).

Çeşitli klinik örneklerden hazırlanan kesitlerde dentinin normal primer fluoresans özelliğinden farklı kontrastlar yansıttığı gözlenmiştir. Bunlara örnek olarak bir dentin kavitesi (Resim 9) gözlenmektedir. Kavite altındaki dentin alanı hemen ona yakın bölgede beyaz açık mavi, yer yer kirli sarı veya kahverengi, daha alt bölgeler ise koyu yeşil-mavi fluoresans vermektedir.

Bu gözlemlerimiz sırasında bazı kesitlerde medikal amaçlarla alınmış tetrasikline uyan sarı bantlaşmalar dikkati çekmiştir. Bu bantlaşmalar dentin gelişimine uyan bir hat üzerinde uzanmakta ve bu bölgede dentin globüler özellik göstermektedir (Resim 10).

b) Sekonder fluoresans: Dekalsifiye edilmemiş kesitlerde uygulanan fluoresan boyalar ne topoğrafik ne strüktür

farkları yönünden olumlu sonuç vermemiştir.

Boyanmış dekalsifiye preparatlarda uygulanan boyanın tipine göre tubuler dentin ve intertubuler dentin arasında belirgin bir kontrastın çıktığı gözlenmiştir (Resim 11,12,13 ve 14).

Acridine orange ile boyanan preparatlarda interglobuler dentin sarı-turuncu boyanırken odontoblast uzantıları açık sarı fluoresans vermektedir. Kollagen lifler ve esas madde yeşil görünmektedir. Predentinde globuler dentin odakları sarı-turuncu boyanmaktadır. Bu şekilde predentin yeşil fluoresansı ile diğer dentin alanlarından ayrılmış görünmektedir (Resim 11 ve 12).

Rivanol ile boyanan preparatlarda intertubuler dentin mavi sekonder fluoresans gösterirken, dentin tubulusları beyaz fluoresans vermektedir (Resim 13).

Rhodochrome BPC ile boyanan preparatlarda tubuler dentin sarı intertubuler dentin alanları yeşil fluoresans vermektedir (Resim 14).

Kullanılan boyaların hepsinde primer, sekonder ve tersiyer dentin alanlarıyla intertubuler dentin alanları arasında kontrast farkı saptanmamıştır.

c) Tetrasiklin uygulaması: Dentinde tetrasiklin yoğunlaşması günlük dentin oluşumuna uyan birbirine paralel düzgün bantlaşmalar şeklindedir. Birbirini izleyen iki tetrasiklin bandı arasındaki dentin alanlarında dentinin mavi-yeşil primer fluoresansı fark edilebilmekte, ancak büyük büyültmede bu alanlardaki tubulusların oksitetrasiklinin fluoresansına uyan parlak sarı fluoresans verdiği gözlenmektedir (Resim 15).

Prezentin

a) Primer fluoresans: Gerek dekalsifiye edilmemiş gerek dekalsifiye kesitlerde prezentinde belirgin bir primer fluoresans özelliği tespit edilmemiştir.

b) Sekonder fluoresans: Acridine orange ile boyanmış kesitlerde prezentin dentinden ayrılmıştır ve parlak yeşil fluoresans vermektedir. Odontoblast uzantıları sarı fluoresansları ile zeminden ayrılmaktadır. Globuler dentin alanları sarı-turuncu görülmektedir (Resim 12). Kullanılan diğer fluorokromlardan hazırlanan kesitler üzerinde yapılan gözlemlerde prezentinde sekonder fluoresans ayrışması saptanmamıştır (Resim 13 ve 14).

c) Tetrasiklin uygulaması: Prezentinde belirgin bir oksitetrasiklin yoğunlaşması gözlenmemektedir.

Pulpa

Fluorokromlarla boyanmış dekalsifiye kesitlerde pulpa dokusunda rutin histolojik boyama yöntemleri ile görülebilen- den daha fazla ayrışma gözlenmektedir (Resim 11,13 ve 14).

Acridine orange ile boyanan kesitlerde; a) belirgin koyu kahverengi çekirdek ve kırmızı-turuncu sitoplazmaları ile odontoblastlar, b) koyu yeşil-kahverengi fon oluşturan esas madde; bunun içinde gömülü izlenimi veren parlak sarı pulpa damarları, c) pulpanın lifsel yapısını teşkil eden sarı-turuncu sekonder fluoresanslarıyla kollagen lifler; ve daha soluk sarı fluoresans veren fibroblastlar gözlemlenebilmektedir (Resim 11).

Rhodochrome BPC ile yapılan boyamalarda; odontoblast nukleusları koyu kahverengi boyanan sitoplazmaların içinde çok parlak sarı-yeşil fluoresans vermeleriyle kolayca fark-

edilebilmektedir. Koyu kahverengi boyanan esas madde içinde fibroblast çekirdekleri parlak sarı fluoressansları ile belirginleşmektedir (Resim 14). Bu boyada lifsel yapının çok iyi ayrıştığı (parlak sarı) dikkati çekmektedir.

Rivanol ile boyanan kesitlerde, odontoblast çekirdekleri kahverengi, sitoplazmaları yeşil-mavi fluoressans vermektedir. Pulpa dokusu içinde parlak mavi-yeşil fluoressans veren nukleusları ve sitoplazma uzantıları ile fibrositler kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (Resim 13). Esas madde kahverengi, kollagen lifler yeşil-mavi, damarlar mavi-siyah görünmektedir.

Sement

a) Primer fluoressans: Dekalsifiye edilmemiş bileme preparatlarda primer sement homogen mavi primer fluoressans vermektedir. Lameller arasında kontrast farkı seçilebilmektedir. Periodontal membrana bakan kenar bir tabaka halinde beyaz fluoressans vermektedir (Resim 16). Sekonder sement dentine yaklaşan tonda mavi fluoressans vermektedir. Sementosit kovukları daha parlak ve beyaz görülmektedir (Resim 17).

b) Sekonder fluoressans yönünden uyguladığımız boyalar primer ve sekonder sement yönünden ilginç bulgulara götürmüştür. Bu dokunun ışık mikroskopuyla ulaşılamayan ayrıntıları fluoressan mikroskopunda fluorokromlarla geniş topoğrafik ve mikrostrüktürel bir renk ayrışması sonucu gözlemlenebilmektedir.

Acridire orange ile yapılan boyamalar primer sementin apozisyonel oluşumunu açık biçimde göstermektedir (Resim 19). Dentine komşu ilk çökelen primer sement kırmızı, bunun periodontal membrana bakan yüzü dentin renginde olup sarı-yeşildir (Resim 18).

Rhodochrome BPC ile boyanan kesitlerde sementositler koyu kahverengi fluoresans vererek zeminden ayrılmaktadır. Ancak zemin dentin renginde olup iki yapı arasında ayırım yapılamamaktadır.

c) Tetrasiklin uygulaması: Değişik amaçlarla çekilmiş insan dişlerinden hazırlanan dekalsifiye edilmemiş kesitlerde medikal amaçlarla alınan tetrasikline bağlı birikimler dentinde olduğu gibi sementte de, ancak daha az belirgin biçimde, gözlenmiştir (Resim 10).

Değişik yaş gruplarındaki sıçanlara farklı doz ve zamanlarda uygulanan oksitetrasiklin sementte belirgin bir yoğunlaşma göstermemektedir (Resim 22).

Alveol kemiği

Primer fluoresans: Sıçanlardan alınan kesitlerde alveol kemiğinin mavi-yeşil fluoresans verdiği gözlenmektedir. Osteositler beyaz görünmektedir (Resim 22).

Sekonder fluoresans: Acridine orange ile boyanmış kesitlerde alveol kemiği çeşitli fluoresan renk farklılaşmaları göstermektedir (Resim 25). Kemik dinamiği ile ilgili mikrostrüktürel farklar olarak ele alabileceğimiz bu renk farklılaşmaları sarı, yeşil, kırmızı, kahverengi renkleri içermektedir. Osteositler yer yer koyu turuncu veya yeşil-sarı fluoresans veren zeminden kahverengi olmalarıyla ayrılmaktadır. Lamina duraya uyan yüzeyi kırmızı görülmektedir (Resim 18).

Kemik trabekülleri arasını dolduran bağ dokusu kırmızı, kan damarları içinde eritrositler parlak sarıdır.

Rhodochrome BPC ile boyanan kesitlerde osteositler kahverengi, bunları saran kemik alanları sement ve dentinle

aynı renk ve tonda olup sarı-yeşildir. Kan damarları içinde eritrositler parlak sarı olmalarıyla fark edilmektedirler. Rezorbsiyon alanları genelde hücrelerin zeminden iyi ayrışması sonucu osteoklastlarıyla kolaylıkla farkedilebilmektedir. İnterradiküler bölgeyle ilgili histolojik ayrıntılarda açık biçimde gözlenebilmektedir (Resim 20 ve 21).

c) Tetrasiklin uygulaması: Oksitetrasiklin uygulanmış sıçanların dentininde olduğu gibi alveol kemiğinde de bu ilacın tutunması karakteristik altın sarısı fluoresansıya belirgin biçimde gözlenebilmektedir.

Alveol kemiğinin bütünü incelendiğinde birikmenin son oluşmuş periodontal membrana bakan yüzeyinde daha yoğun olduğu dikkati çekmektedir (Resim 22).

Periodontal Membran ve Dişeti

Bu iki doku yalnız sekonder fluoresans yönünden incelenmiştir.

Acridine orange ile boyanan kesitlerde periodontal membranın lifsel yapısı yeşil-turuncu gözlenmektedir (Resim 18). Rhodochrome BPC ile boyanmış kesitlerde ise periodontal lif demetleri sarı, bunlar arasına sıkışmış fibroblastlar kahverengidir; kan damarları içlerinde parlak sarı eritrositleriyle ayırt edilmektedir (Resim 20).

Dişetiyle ilgili fluorokrom çalışmaları ışık mikroskopu tekniklerinden çok farklı olmayıp topoğrafik bir üstünlük vermemiştir. Resim 23'de Rhodochrome BPC ile boyanmış bir sıçan dişeti gözlenmektedir. Epitel sarı, epitelyal bağ belirgin, kollagen lifleri yeşil, hücreler yeşil fluoresans vermektedir.

Gelişmekte Olan Diş

a) Primer fluoresans: Dişin gelişim dönemlerini gösteren ve demineralize edilmemiş bloklardan (sıçan) alınan kesitlerde kısmen mineralize dentin ve mine matrisleri beyaz ya da yeşil primer fluoresans vermektedir (Resim 24). Kollagen lifler, hücre çekirdekleri beyaz görünmektedir. Gelişmekte olan mine ve dentin arasındaki sınır düzgün koyu yeşil bir çizgi halinde belirgindir.

b) Sekonder fluoresans: Sekonder fluoresans için demineralize edilmemiş bloklardan hazırlanan kesitler üzerine yapılan fluoresan boyalarla şu sonuçlar elde edilmiştir: Acridine orange ile yapılan boyamalarda, diş sert dokuları sarı ve benzer tonlarda, kollagen lifler sarı, hücreler parlak kahverengi, eritrositler yeşil, kemikte mineralleşme alanları siyah görülmektedir (Resim 25). Mine dentin sınırı ve pre-dentin yeşil bir çizgi halinde görülmektedir (Resim 26).

Demineralize edilmiş sıçan dişi kesitlerinde acridine orange farklı fluoresans vermektedir. Ameloblast tabakası koyu turuncu, hücre çekirdekleri siyah, mine parlak yeşil, dentin sarı-yeşil fluoresans göstermektedir. Dentin içinde mineralizasyon hattına uyan sarı bir bantlaşma görülmektedir. Odontoblast tabakası ameloblast tabakasıyla aynı fluoresansı vermektedir (Resim 27).

Demineralize edilmemiş dişlerden hazırlanmış parafin bloklardan hazırlanmış kesitlerde fluoresan boya olarak Rhodachrome BPC uygulandığında ise şu sonuçlar elde edilmiştir: Ameloblast tabakası üzerindeki stratum intermedium bol damar içermekte bunlar içinde eritrositler sarı fluoresans vermektedir. Ameloblast, odontoblast ve diğer hücre çekirdekleri sarı görülmektedir. Hepsinde sitoplazma kahverengidir. Mine ve dentin matrisleri sarı, mine-dentin sınırı ince kahverengi bir çizgi halinde uzanmaktadır. Diş pulpası

içinde kollagen lif farkedilmemektedir. Hücrelerinin sitoplazmalarının kahverengi olması nedeniyle bu rengin egemen olduğu göze çarpmaktadır (Resim 28).



TARTIŞMA

Fluoresan mikroskopuyla diş dokuları üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan bazıları diş sert dokularını bu mikroskop altında doğrudan gözlemlemeyi (primer veya otofluoresans ya da doğal fluoresans) bazıları da fluoresan boya ile boyayarak - sekonder fluoresans özelliklerini - incelemeyi amaçlar(30,39,40). Ancak günümüzde bu mikroskopla ilgili uygulamaların diş histolojisinde rutinleştiği söylene-
mez.

Fluoresan mikroskopuyla diş sert dokuları üzerinde yapılan çalışmaları yeniden değerlendirmek; ve bu mikroskopun ışık mikroskopuna olan teknik üstünlükleriyle diş histolojisi için rutinleştirilebileceği varsayımıyla yapmayı gerek gördüğümüz bu çalışmada; daha önce başka çalışmalarda belirtilmiş olanlar yanında diğer bazı farklı gözlemler yapılmıştır. Bu bölümde çeşitli gözlemler bulgularda belirtilen sıralama içinde literatür bilgileri ışığında tartışılmaya çalışılacaktır.

Bileme preparatlarda mine primer fluoresans yönünden oldukça heterojen görülmektedir. Genelde az fluoresan, koyu mavi-yeşildir (Resim 1). Ancak normal strüktürü içinde yer alan Hunter-Schreger çizgileri, mine püskülleri, lamelleri ve tığları, Retzius çizgileri gibi histolojik oluşumları farklı fluoresans (beyaz) vermektedir (Resim 1,2,3,7). Literatür içerisinde fluoresans mikroskopun sert dokuların sert-

lik derecelerini yansıtan kontrastlar verdiği çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir(7,8,9). Aynı şekilde hipoplazik dişlerin minesinin primer fluoresans yönünden önce belirtilen normal histolojik strüktürlerin kontrastına yakın olduğu belirtilmiştir (Resim 3)(31). Bu bağlamda primer fluoresans tekniği ışık mikroskopuna - boyanma güclüğü nedeniyle ortaya çıkan - topoğrafik üstünlüğü yanında mineralleşme derecesi nüanslarını da yansıtmasıyla önem taşımaktadır.

Organik matris-inorganik matris arasındaki mikrostrüktür farklarının bu mikroskopla nasıl belirginleştiği fiziksel olarak açıklık kazanmamıştır; oysa çok çeşitli klinik uzanımları dikkate alındığında bu olgunun önemi yadsınamaz. Örneğin klinik olarak tartışmalı mine mineralizasyonu defektlerine (amelogenesis imperfecta örneğinde olduğu gibi) bu yöntemle açıklık getirilebilmesi mümkün olabilmektedir.

Mine yüzeyi klinik olarak normal dişlerde fluoresans farkı göstermemekte oysa hipoplazik dişlerde beyaz fluoresans vermektedir (Resim 3). Bilindiği gibi çeşitli metodlarla yapılan çalışmalarda mine yüzeyinin normalde daha sert olduğu gösterilmiştir(66,73,74). Bu strüktür farkının primer fluoresans yöntemiyle ayrımsanamaması dikkati çekmiştir. Bu olgu sözü edilen mikrostrüktür farkının bu mikroskobun ayırım gücünün altında kaldığı şeklinde yorumlanabilir.

Mine-dentin sınırında bu iki dokunun embriyolojik kökenlerinin farklı olmasının mantığı içinde bir bazal membranın varlığı öteden beri tartışma konusu olagelmektedir. Elektron mikroskopik bulgular her iki dokunun arasında embriyolojik dönemde başlangıçta mineralleşmemiş kollagen lif içeren bir "terminal membranın" varlığını ortaya koymuşlar, bunun daha sonra mine yönünden mineralleştiğini göstermişlerdir. Bu mineralleşmenin diğer mine alanlarına kıyasla daha yoğun (sert) olduğu bu yöntemle elde edilen diğer bulgular arasındadır(67). Floresan mikroskopuyla yaptığımız gözlemler

elektron mikroskop gözlemlerine dayanan verilere ters düşer niteliktedir ve her iki doku arasında normalde ince, hipoplazik dişlerde ve çürüklü dişlerde genişleme gösteren organik natürde bir aralığın varlığını ortaya koymaktadır (Resim 3, 4,7). Yapabildiğimiz literatür araştırmamızda bu konuyla ilgili herhangi bir gözleme rastlanmamış olması önemli olduğuna inandığımız bu bulgunun karşılaştırılmasına izin vermemektedir. Bu konu üzerine tartışma bölümünün sonunda, diş gelişimiyle ilgili gözlemlerin yorumunda tekrar dönülecektir.

Hals(40) dekalsifiye edilmemiş gelişkin mine kesitleri üzerine fluoresan mikroskobu ile yaptığı gözlemlerde dentine komşu mine yüzeyini "inner enamel zone" olarak tanımlamakta ve fluoresan özellik göstermediğini, tamamen siyah şerit halinde uzandığını belirtmektedir. Bulgularımızda bu bölgede mine tarafında benzer bir fluoresans kontrastına rastlanmamış ve her iki dokuyu ayıran farklı fluoresan nitelikte (beyaz) bir sınır bölgenin varlığı gözlenmiştir.

Mine çürüğü olgularında mine-dentin sınırı denebilecek bu bölgenin daha belirgin biçimde ayırt edilebilmesi (Resim 5) yukarıda belirtilen gözlemi destekler nitelik taşımaktadır.

Demineralize edilmemiş mine kesitlerinde fluorokrom boyalar sonuç vermemektedir. Bu konuyla ilgili literatür verileri gelişkin minede sekonder fluoresansın materyal ve kullanılan boyanın pH'sına bağlı kaldığını göstermektedir(40). Bu yöntemle minenin fluoresan mikroskopta incelenebilmesi fare, köpek gibi hayvanların dişlerinde ve erken dönemde mümkün olabilmektedir. Optimal boyanırılık için pH değerinin 3-4 arasında kritik bir değer taşıdığı ancak bu pH'larda minenin sekonder fluoresans verdiği yukarıda belirtilen çalışmada gösterilmiştir.

Demineralize edilmiş gelişkin mine kesitlerinde mine- nin organik matrisini korumak ve bunu sekonder fluoresans yönünden gözlemlemek insan materyalinde teknik yönden mümkün olamamıştır. Başka materyaller üzerinde bu yönde metod ve sonuçlarıyla çelişkili çalışmalar bulunmaktadır. Böyle bir amaç için gerekli yöntemin güclüğü dikkate alındığında seçilen optik araç ne olursa olsun (fluoresan mikroskopu, elektron mikroskop) sonuçların tartışılabilirliği doğal kalmaktadır.

Değişik yaş gruplarındaki sıçanlara farklı doz ve zamanlarda uyguladığımız tetrasiklinin mine-dentin sınırında kalarak daha üst bölgelere yoğunlaşmadığı bulgularımız arasındadır (Resim 6). Ayrıca mine üzerine bir hipoplazik etki saptanmamıştır.

Tetrasiklin grubu ilaçların mineye yoğunlaşması ve bu doku üzerine hipoplazik etki yapmalarını çeşitli faktörlerin bir araya toplamasına bağlı kaldığı (ilacın serum düzeyini etkileyen faktörler, doz, süre, yaş, dişin tipi) konuya ilişkin çalışmalarda vurgulanmaktadır(2,3,5,6,7,24,28,53,63,69,71,73,75,88,89,90,100,101). Hipoplazik etkiye ancak letal dozlarda ulaşılabilir. Bu etki terapötik dozlarda materyale ve süreye bağlı kalmaktadır. Örneğin McIntost ve Storey(65) farede molar dişlerin kesici dişlere oranla daha kolay tetrasiklin hipoplazisi oluşturduklarını ve kesici dişlerdeki etkilenmenin yaşa bağlı olduğunu belirtmektedir. Bu araştırmacılar mineye yönelik bir tetrasiklin etkisinin araştırılabilmesi için en uygun parametrelerin genç fareler (4-16 günlük) 250 mg/kg/gün doz ve 6 gün süre olduğunu belirtmektedir. Ancak bu parametreler esas alındığında deney hayvanları mortalite oranı çok yükselmekte ve çalışma pratik değerini yitirmektedir. Daha yüksek yaş gruplarına geçildiğinde mine yoğunlaşması belirsizleşmekte, yoğunlaşma dentine sınırlı kalmaktadır. Bu bağlamda bulgularımız literatür verileriyle karşılaştırıldığında benzerlik göstermektedir. Öte yandan bu değişkenlik içersinde deneysel çalışmalarda

elde edilen verilerin insan materyaline uygulanabilmesinin güçlüğü ortadadır.

Dentin sert dokular içerisinde doğal fluoresans yönünden en karakteristik olanıdır ve fluoresans spektrumunun mikrostrüktüre bağlı olduğunu en açık biçimde yansıtmaktadır. İntertubuler (mineralleşmiş) alanlar kuvvetli, parlak mavi, fluoresans verirken (Resim 7), organik nitelikteki tubuler alanlar ve Tomes granül alanları parlak beyaz fluoresans vermektedir. Mine içine kadar sokulan odontoblast uzantıları (mine tığları Resim 2,7) belirgin biçimde gözlenmektedir. Buraya kadar olan noktada bulgularımız literatür bilgileriyle uyum içindedir(29,40). Mikrostrüktür yönünden aralarında fark olduğunu bilinen primer (mantle) dentin, sekonder ve tersiyer dentin alanları arasında bir tayf farkı alınmaması çelişki gibi görünüyorsa da bu mikroskobun ayırım gücünün sınırlı olmasıyla açıklanabilir ve çıplak gözle ayırt edilemeyen bu ayrıntının ortaya konması Ultraviyole spektrofotometresinin uygulama alanına girer(30,52). Mikrostrüktür farkının çok belirginleştiği çürük altında (Resim 9) bu ayırımın ortaya çıkması yukardaki varsayımı destekler niteliktedir. Mine ve dentin arasındaki bu doğal fluoresans farkı organik matris (kollagen lif) içeriğine bağlı tutulmaktadır(52).

Gözlemlerimiz sırasında terapötik dozlarda alınmış tetrasikline uyan bantlaşmalara dentinde sık rastlanmıştır. Bu bantlaşmalarda dentinde tetrasiklinin yoğunlaştığı noktalarda dentin mineralizasyonunun engellenmiş olduğu, globuler dentin alanlarının varlığı dikkati çekmiştir (Resim 10). Terapötik dozlarda alınan tetrasiklinin mineralleşmeyi engelleyip engellemediği konusu halen tartışmalıdır(9,28,53,82). Böylece gözlemlediğimiz bu olgu tetrasiklinin terapötik dozlarda da mineralleşmeyi engellediği yönündeki görüşleri destekler nitelik taşımaktadır.

Öte yandan dekalsifiye dentin fluorokromlarla stabil bağlar oluşturmakta ve uygulanan boyanın tipine göre değişen yüksek topoğrafik değeri yadsınamayacak nitelikte (Resim 11, 12,13,14) fluoressan tayfları vermektedir. Bu şekilde ışık mikroskopuyla ulaşılamayacak strüktürel ayrıntıların saptanabildiği dikkati çekmiştir.

Bu boyaların belli izoelektrik koşullara uyulduğunda dentini oluşturan komponentler arasındaki kimyasal özellikleri de ayırtılabildikleri ileri sürülmüştür(40)

Dentinde tetrasiklin yoğunlaşması günlük dentin oluşumuna uyan birbirine paralel düzgün bantlaşmalar şeklinde ortaya çıkmaktadır (Resim 6,15). Tetrasiklin grubu ilaçlar arasında yoğunlaşma derecesi veya renk farkları ya da bu yoğunlaşmanın hiç olmaması gibi parametreleri araştırmak amacıyla çeşitli deriveler arasında yaptığımız karşılaştırmalarda bunlar arasında ne çıplak gözle ayırt edilebilecek bir yoğunluk ne de renk farkı saptanamamıştır. Bu ilaçların (oksitetrasiklin, klortetrasiklin, dimetilklortetrasiklin, tetrasiklin) hepsinde tetrasiklin apozisyonel dentin oluşumuna uyan sarı bantlaşmalar şeklinde yoğunlaşmaktadır. Bu konuda literatürde bazı karmaşık bulgulara rastlanmakta, klortetrasiklinin daha az tutulduğu öne sürülmektedir(6,7,28, 48,49,82,92).

Klinik yönden çok önemli bu konu üzerinde ortak görüş; birikimin deriveler arasındaki moleküler fark bir yana çeşitli faktörlerin (serum düzeyini etkileyebilecek hastalıklar) bir araya toplanmasına bağlı olduğu yönündedir(97).

Aynı şekilde deriveler arasında doku "turnover"ına bağlı olarak giderek kaybolmaları ya da yok olmalarında farklar ortaya çıktığı da ileri sürülmüştür(63,98).

Periodik mineralleşme ve tetrasiklin yoğunlaşması eşzamanlılığından dentin oluşumunun doğal apozisyonel yapımı içinde bu dokuya yönelik dinamik çalışmalarda öteden beri yararlanılmaktadır(71,72,74,80). Bu olgu fluoresan mikroskopun diş histolojisindeki uygulama alanını genişletmiş ve dentin histofizyolojisiyle ilgili önemli bulgulara götürmüştür.

Gerek dekalsifiye edilmemiş gerek dekalsifiye kesitlerde pre dentinin doğal fluoresans göstermediği gözlemlenmiştir. Literatür bilgileriyle(40) uyuşan bu gözlemimiz pre dentinde kollagen liflerin henüz olgunlaşmamış (natif) olmasıyla açıklanabilir. Bu konu doğal fluoresans kollagen arasındaki henüz tüm ayrıntılarıyla bilinmeyen fiziksel ilişkiyi düşündürmektedir(25).

Pre dentin fluorokromlardan acridine orange ile boyandığında dentinden ayrılmaktadır (Resim 11,12). Bilindiği gibi pre dentin asıl dentinin gelişiminde bir ön safha oluşturur ve bu iki doku arasında gerek doğal fluoresans gerek sekonder fluoresans farklarının karşılaştırılmasının ayrı bir önemi vardır. Doğal fluoresans farklarını açıklamaya yönelik bir varsayımdan yukarda söz edilmişti. Sekonder fluoresan yönünden de karşılaştırıldığında farklı olmaları fluorokromların mikrostrüktürel farkları spesifik biçimde ayrıştırdıkları varsayımına götürmektedir. Ancak bu amaç için bazı standartlaşmalara (boyanın pH'sı, boyama süresi, dekalsifikasyon yöntemleri, tespit yöntemleri) uyulması gerektiği belirtilmektedir(40).

Genelde yumuşak dokular fluoresan mikroskopun doğrudan uygulama alanı sınırında kalmaktadır. Bu bağlamda bulgularımızda da belirtildiği gibi pulpa, dişeti, periodontal membran gibi oluşumlar üzerine topoğrafik bir katkısı bulunmamaktadır (Resim 11,13,14,23,24,25,28). Burada organik makromolekülleri gözlemede optimal sonuçlara götüren ancak konu

dışı tuttuğumuz bir derive yöntem olarak immünfluoresans'tan bu amaçla sıklıkla yararlanıldığı hatırlanmalıdır(61,62,64).

Sementin doğal fluoresansı üzerinde literatürde durulmadığı dikkati çekmektedir. Dekalsifiye edilmemiş bileme preparatlarda primer sement homojen mavi doğal fluoresans vermektedir. Apozisyonel oluşumu lameller arasındaki kontrast nedeniyle seçilebilmektedir. Periodontal membrana bakan kenarı ince beyaz bir tabaka halinde gözlemlenmektedir (Resim 16). Primer ve sekonder sement karşılaştırıldığında her iki yapı arasında bir doğal fluoresans farkı saptanamamaktadır. Sementositler kovukları içinde parlak beyaz görülmektedir.

Bu doku ile ilgili bulgular özetlenmek istendiğinde doğal fluoresansın bir noktaya kadar yapı benzerliklerini yansıttığı ancak gözlemsel olarak bunlar arasındaki bilinen mikrostrüktürel yapı farklarını göstermekte yeterli olmadığı söylenebilir. Primer ve özellikle sekonder sement yüzeyinde belirginleşen beyazlaşmanın periodontal membrana bakan sement yüzündeki devinimi (yapım-yıkım) yansıttığı düşünülmektedir.

Uyguladığımız fluorokrom boyalar primer ve sekonder sement düzeyinde ilginç bulgulara götürmüştür. Bu dokunun ışık mikroskobu ile ulaşılamayan bazı ayrıntılarının fluorensan mikroskopunda fluorokromlarla geniş topoğrafik ve mikrostrüktürel bir renk ayrışması verdikleri dikkati çekmiştir. Özellikle acridine orange ile yapılan boyamalar primer sementin apozisyonel oluşumunu açık biçimde göstermektedir. Aynı şekilde alveol kemiğinin periodontal membrana bakan yüzünü oluşturan kompakt kemik laminası (lamina dura) belirgin biçimde ayırt edilebilmektedir (Resim 18,19,20,21).

Değişik yaş gruplarındaki sıçanlara farklı doz ve zamanlarda uygulanan tetrasiklin türevleri sementte belirgin bir yoğunlaşma göstermemektedir. Bu, sement dinamiğinin

- normal koşullarda - alveol kemiği ve dentine kıyasla daha yavaş olmasıyla açıklanabilir(53,68).

Alveol kemiği fluoresan mikroskop altında gerek doğal gerek sekonder fluoresans yönünden dentin ve sementte yakın özellikler taşımaktadır (Resim 18,20,21). Salt topoğrafik yönden düşünülse bile bu mikroskopun ışık mikroskopuna üstünlüğü - uygulama kolaylıkları da gözönüne alındığında - yadsınamaz. Çalışmamızın değişik aşamalarında vurgulamaya çalıştığımız gibi diş histolojisi alanına giren dokuların doğal gereği getirdikleri teknik zorlukların bu mikroskopla daha kolay aşılabileceği periodonsiyum konu olduğunda daha da anlam taşımaktadır.

Alveol kemiği, devinimi gözönüne alındığında tetrasiklin uygulamaları için uygun bir materyal oluşturmaktadır(5, 14,33,34,35,41,46,50,56,70,81,95,96,97). Periyodik uygulamalarda bu yüzeyde apozisyonel bir bantlaşma gözlenmemesi yapım-yıkım dinamiğinin önemini göstermektedir (Resim 22).

Yumuşak dokular çok az ya da hiç doğal fluoresans vermemektedir. Bu nedenle fluoresan mikroskoplu çalışmalar da fluorokromlardan yararlanılmaktadır. Ancak diş organı gibi mineralleşme süreci içinde olan bir yapı söz konusu olduğunda doğal fluoresans tekniğinin önemi açıktır. Resim 24 te gözlendiği gibi çan döneminin sonunda ilk mine ve dentin organik matrislerinin çökmesi ve mineralleşme sürecinin başlangıç dönemi doğal fluoresans yöntemiyle ayrışabilmektedir. Gelişme halindeki her iki strüktür arasında daha başlangıç döneminde belirgin bir sınır (membran ?) farkedilebilmektedir.

Bu materyal söz konusu olduğunda sekonder fluoresans yönteminin morfolojik ve mikrostrüktürel üstünlükleri çok daha belirginleşmektedir.

Mine organik matrisi, mine dentin sınırı (terminal membran) dentin içinde odontoblastlar ve preentin seçik biçimde gözlemlenebilmektedir. Öte yandan mine organik matrisi, mine-dentin aralığı ve preentinin benzer tonda ayrışması diğer bir başka dikkati çeken bulgu olmuştur (Resim 25,26,27).

Diş gelişimi daha önceki çeşitli araştırmacılarca fluorokromlarla boyanmak suretiyle fluoresan mikroskopta incelenmiştir. Bu çalışmalarda da vurgulandığı üzere diş ve çevre dokularına en uygun fluorokromu acridine orange oluşturmaktadır(40).

Literatürde "Terminal membran" olarak tanımlanan mine-dentin arasındaki organik aralığın elektron mikroskopta bol kollagen içerdiği belirtilmektedir. Buraya daha sonra mine yönünden hidroksilapatit çökmesiyle aralığın kaybolduğu ve dentin ile minenin bu şekilde iç içe oluşumlarını tamamladıkları ifade edilmektedir. Gelişme döneminde mine-dentin arasında belirgin biçimde yapılanan ve mineralleşmesini geç tamamlayan bu aralığın biyolojik anlamı bilinmemekte ve tartışma konusu olmaya devam etmektedir(67).

Oluşum evresinin biraz daha ilerisinde bir başka materyal üzerinde Rhodochrome BPC ile boyadığımız bir kesitte (Resim 28) bu aralığın mine yönünde mineralleşmekte olduğu ancak tamamen yok olmayıp çok ince bir çizgi halinde varlığını sürdürdüğü gözlenmiştir. Bu olgu mine-dentin arasında gelişkinde de böyle bir aralığın bulunabileceği izlenimini vermekte ve gelişkin dişlerde bu konu ile ilgili benzer gözlemleri desteklemektedir(67).

SONUÇ VE ÖZET

Diş histogenezisi ve dokuları ile ilgili veriler çoğunlukla ışık ve elektron mikroskopu çalışmalarına dayanır. Fluoresan mikroskopu modern şekliyle başka konularda yaygın bir uygulama alanı bulmuştur ve özellikle ışık mikroskopuna kıyasla daha farklılaşmış histolojik gözlemler verdiği söylenebilir. Bu çalışmanın bir amacı fluoresan mikroskopunun diş histolojisine rutin bir yöntem olarak sokulması gibi temel bir düşünce altında sağlayacağı avantajların araştırılması olmuştur.

Primer fluoresans yanında değişik fluorokromasyon yöntemleri (sekonder fluoresans) uygulanarak bunlardan diş dokuları için en uygun düşenlerin araştırılması bir başka hedef olarak alınmıştır. Öte yandan bilindiği gibi bazı maddeler (tetrasiklin türevleri) doğal fluoresans vermekte, birer işaretleyici gibi kullanılarak bu şekilde sert dokuların oluşumu dinamik yönden incelenebilmektedir. Buna ek olarak gerek primer fluoresans gerek sekonder fluoresans yöntemleriyle sert dokulardaki mineralizasyon dereceleri yine bu yöntemle tespit edilebilmektedir. Özet olarak fluoresan mikroskopu topoğrafik çalışmalarda mikrostrüktürel doku farklarını veya defektlerini ayırtmada ve diş sert dokularının oluşumu ile ilgili dinamik çalışmalarda kolay, güvenilir bir metot izlenimi vermektedir. Bu dikkate alınarak bu mikroskopla ilgili çeşitli yöntemler gelişkin (dekalsifiye

edilmemiş ve dekalsifiye edilmiş normal ve patolojik dişler) ve embriyolojik materyal (fare) üzerinde denenmiş, sonuçlar bu konuda daha önce yapılmış olan bazı çalışmaların ışığında değerlendirilmiştir.

Primer fluoresans açısından demineralize edilmemiş bileme kesitlerde bir başka işleme gerek kalmadan çeşitli diş sert dokularının zengin bir topoğrafik renk ayrışımı içinde gözlemlenebilmesi, ışık mikroskopu ile kıyaslandığında, önemli bir katkı olarak dikkati çekmiştir. Özellikle gelişkin sert dokular içindeki mikrostrüktürel farkların normalde (mine Retzius çizgileri örneğinde olduğu gibi) ya da hipoplazik dişlerde ayrılanabilmesi bir başka önemli avantaj olarak gözükmiştir.

Bulgularımızda normal dişlerde ince, hipoplazik dişlerde kalınlaşmış mine ile dentini ayıran bir tabakanın varlığı dikkati çekmiştir ve bu tartışmalı konu literatür verileriyle karşılaştırılmıştır.

Dekalsifiye edilmemiş materyalde dentin ve sement mineye oranla daha net ve parlak primer fluoresans göstermektedir. Bu olgu kollagen lif primer fluoresans ilişkisiyle açıklanmaya çalışılmıştır. Ancak dentin ve sement içinde primer dentin, sekonder veya tersiyer dentin, primer ya da sekonder sement gibi dokusal farkların salt gözlemsel olarak ayrışmadığı dikkati çekmiş ve bu, ultraviyole ışınlarının mikrostrüktürel farkları ayırlama gücünün belli bir noktaya sınırlı kaldığı şeklinde yorumlanmıştır; böyle daha uç çalışmalar için U.V.spektrofotometresinden yararlanılabileceği hatırlatılmıştır.

Gerek dekalsifiye edilmiş gerek dekalsifiye edilmemiş kesitlerde predentinin doğal fluoresans göstermediği gözlenmiştir. literatür bilgileriyle uyuşan bu gözlemimiz predentinde kollagen liflerin henüz olgunlaşmamış (natif) olmaları

rıyla açıklanmaya çalışılmıştır.

Doğal fluoresans yöntemiyle diş histogenezisi aşamasında mineralleşme süreci içindeki dokuların organik matris-mineral matris ilişkileri ayrımlanabilmiştir.

Genelde yumuşak dokular fluoresans mikroskopunun (primer fluoresans) doğrudan uygulama alanının sınırında kalmaktadır. Bu bağlamda pulpa, dişeti, periodontal membran gibi oluşumlar üzerine topoğrafik bir katkısı bulunmamaktadır.

Gerek diş sert dokuları gerek pulpa, dişeti, periodontal membran gibi yumuşak dokuları optimal düzeyde ayrımlayan bir fluorokromasyon yöntemi bulmak amacıyla çeşitli maddeler (acridine orange, rhodochrome BPC, fluorescein, aethacridine lactat DAB-7) ve yöntemler denenmiştir. Bunlar içinde en uygun düşenin acridinre orange olduğu gözlemlenmiştir. Bu boyama yöntemiyle kısa sürede ve basit bir işlemle gerek dekalsifiye edilmemiş gerek dekalsifiye edilmiş diş materyallerinde zengin bir topoğrafik renk ayrışması ortaya çıkabilmektedir. Fluorokrom boyalarla diş dokularının gelişim sürecinde diğer ışık mikroskobu için kullanılan boyalarla kıyaslanmayacak netlikte renk ayrışımı elde edilebilmektedir.

Değişik yaş gruplarındaki sıçanlara farklı doz ve zamanlarda uyguladığımız tetrasiklin grubu ilaçların birikimi değişik parametreler (renk, yoğunlaşma, doz-süre ilişkisi, mineralleşmeyi engelleyici etkisi yönlerinden) karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Bunların mineye yoğunlaşması ve dokular üzerindeki hipoplazik etkilerinin literatürde belirtildiği gibi serum düzeyini etkileyen çeşitli faktörlere bağlı kaldığı gözlemlenmiş ve normal ve terapötik dozlarda birikimin mine dentin sınırını aşmadığı, dentin'de incremental bantlaşmalar şeklinde ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Yapım yıkım dinamiğinin hızlı olduğu alveol kortikalinde

(lamina dura) sarı fluoressan tetrasiklin yoğunlaşması dikkati çekmiştir.

Sonuç olarak diğer alanlarda yaygın biçimde kullanılmakta olan Fluoresan mikroskopu belirtilen özellikleriyle diş dokuları için gerek histogenezis aşamasında topoğrafik (rutin histolojik) gözlemlerde, mikrostrüktürel farkların ayrımlanmasında tanı yöntemi olarak, tetrasiklin grubu ilaçlarla dinamik çalışmalarda veya bunların diş sert dokuları üzerine etkilerinin araştırılmasında kullanılabilecek yararlı bir yöntem niteliği taşımaktadır.



K A Y N A K L A R

- 1- Adkins, K.F.: Alizarin red S as an intravital fluorochrome in mineralizing tissues. Stain Technol. 40:69-70, 1965.
- 2- Bachra, B.N., Fisher, H.R.A.: The effect of some inhibitors on the nucleation and crystal growth of apatite. Calcif. Tissue Res. 3:348-357, 1969.
- 3- Baker, K.L., Storey, E.: Tetracycline-induced tooth changes. Part 3 incidence in extracted first permanent molar teeth. Med.J.Aust. 1:109-113, 1970.
- 4- Berk, J.E., Ibsen, K.H., Blau, C.: Modified tetracycline fluorescence test for gastric cancer: Preliminary Results. Scand.J.Gastroent. Vol.6, pp.169-171, 1971.
- 5- Bevelander, G., Nakahara, H., Rolfe, G.K.: The effect of tetracycline on the development of the skeletal system of the chick embryo. Develop.Biol. 2:298-312, 1960.
- 6- Bevelander, G., Rolfe, G.K., Cohan, S.Q.: The effect of the administration of tetracycline on the development of teeth. J.Dent.Res., 40:1020-1024, 1961.
Bevelander G.
- 7- Bevelander, G., Nakahara, H.: Correlation between tetracycline binding and mineralization in dentin and enamel. Anat.Rec. 153:141-148, 1965.

- 8- Bjorvatn,K.: Antibiotic compounds and enamel demineralization. An in vitro study. Acta Odontol Scand 40:341-52, 1982.
- 9- Bjorvatn,K., Olsen,H.C.: The effect of penicillin and tetracycline-containing medicaments on the microhardness of human dental enamel. Acto Odontol Scand 40:299-305, 1982.
- 10- Bjorvatn,K.: In vitro study by fluorescence microscopy and microradiography of tetracycline-tooth interaction. Scand.J.Dent.Res. 91:417-424, 1983.
- 11- Björklund,A., Lindvall,O. and Svensson,L.A.: Mechanisms fluorophore formation in the histochemical glyoxylic acid method for monoamines. Histochemie, 32:113-121, 1972.
- 12- Bloom,W. and Fawcett,D.W.: A text book of histology (10. edition) pp.26, Ed. W.B. Saunders Company, 1975.
- 13- Bloom,W. and Fawcett,D.W.: Immunochemical methods. In A text book of histology pp.20 (10. ed.) W.B. Saunders Company, 1975.
- 14- Buyske,D.A.,Eisnes,H.J., Kelly,R.G.: Concentration and persistence of tetracycline and chlortetracycline in bone. J.Pharmacol.Exp.Ther. 130:150-156, 1960.
- 15- Caspersson,T., Farber,S., Foley,G.E., Kudynowski,J., Modest,E.J., Simonsson,E., Wagh,W. and Zech,L.: Chemical differentiation along metaphase chromosomes. E0ph.Cell. Res. 49:219-222, 1968.
- 16- Caspersson,T., Lomakka,G. and Zech,L.: The 24 fluorescence patterns of the human metaphase chromosomes distinguishing characters and variability. Hereditas, 67:89-102, 1971.

- 17- Caspersson, T., Lindsten, J., Lomakka, G., Moller, A. and Zech, L.: The use of fluorescence techniques for the recognition of mammalian chromosome regions. *Int.Rev. Exp.Path.* 11:1-72, 1972.
- 18- Ciancio, S.G., Mather, M.L., McMullen, J.A.: An evaluation of minocycline in patients with periodontal disease. *J.Periodontol*, 51:530-4, 1980.
- 19- Cripps, D.J., Hawgood, R.S. and Magnus, I.A.: Iodine tungsten fluorescence microscopy for porphyrin fluorescence. *Arch.Derm.* 93:129-134, 1966.
- 20- Cripps, D.J. and Peters, H.A.: Fluorescing erythrocytes and porphyrin screening tests urine, stool and blood. *Arch.Derm.* 96:712-720, 1967.
- 21- Crissman, H.A. and Steincamp, J.A.: Rapid simultaneous measurement of DNA, protein and cell volume in single cells from large mammalian cell populations. *J.Cell.Biol.* 59:766-777, 1973.
- 22- Crissman, H.A. and Tobey, R.A.: Cell-cycle analysis in 20 minutes. *Science*, 184:1297-1298, 1974.
- 23- Chong Hun Kim: A study on the effect of dentinal mineralization of the rat following 5-fluorouracil administration. *Taehan Chikwa Uisa Hyohoe Chi (South Korea)*. Vol.23, No.5, 1985.
- 24- Cohlman, S.Q., Bevlander, G., Tiamsic, T.: Growth inhibition of prematures receiving tetracycline. *Amer.J.Dis.Child.* 105:453-461, 1963.

- 25- Cowden,R.R., Curtis,S.K.: Demonstration of proteinbound sulphhydryl and disulfide groups with fluorescent mercurials, *Histochemistry* 22:247-255, 1970.
- 26- Czitober,H., Schnack,H. and Wewalka,F.: Detection of prophyryns in bone in porphria cutanea by fluorescence techniques. *Germ.med.monthly*, 13:19, 1968.
- 27- De Robertis,E.D.P. and De Robertis,E.M.F.: Fluorescence microscopy Autofluorescence and fluorochrome dyes in cell and molecular biology, seventh edition, pp.60. Saunders Comp, 1980.
- 28- Ebihara,E.: The patterns of tetracycline labelling in the human dental hard tissues. *Odontology*, 62:900-931, 1974.
- 29- Fosse,G., Justesen,N.P.B. and Wesenberg,G.B.R.: Microstructural and chemical composition of fossil mammalian teeth. *Calcif. Tissue Int.* 33:521-528, 1981.
- 30- Forziati,A.F., Kumpala,J.W., Barone,J.J.: Tooth Fluorometer. *J.Amor.Dent.Ass.* 65:663-, 1963.
- 31- Francis,M.D., Briner,W.W.: The development and regression hypomineralized areas of the rat molars. *Archs oral.biol.* 11:349-354, 1966.
- 32- Frost,H.M.: Tetracycline labeling of bone and the zone of demarcation of osteoid seams, *Can.J.Biochem.* 40:485-489, 1962.
- 33- Frost,H.M.: Measurement of human bone formation by means of tetracycline labelling. *Canad.J.Biochem.* 41:31-42, 1963.

- 34- Frost,H.M.: Tetracycline bone labelling in anotomy. Am.J. Phys.Antropol. 29:183-196, 1968.
- 35- Frost,H.M.: Tetracycline-based histological analysis of bone remodelling. Calcif. Tissue Res. 211-237, 1969.
- 36- Glick,P.L., Rowe,J.: Effects of chronic protein deficiency on the formation of the rat incisor teeth. Archs.Oral Biol. Vol.26, pp.459-466, 1981.
- 37- Gibson,C.J., Thornton,V.F., Brown,W.A.B.: Incorporation of Tetracycline into impeded and unimpeded mandibular incisors of the mouse. Calcif. Tiss.Res. 26, 29-31, 1978.
- 38- Gruden,N.: Calcium metabolism in the rat in relation to prolonged administration of tetracyclines. Calcif.Tiss. Res. 13, 41-46, 1973.
- 39- Hall,J.B., Heffercen,J.J., Olsen,N.H.: Study of fluorescent characteristics of extracted human teeth by use of a clinacol fluorometer. J.Dent.Res. 49, 431, 1970.
- 40- Hals,E.: Fluorescence microscopy of developing and adult teeth. Thesis, Odontol tidskr, 61:1-130, 1953.
- 41- Hammond,R.H., Story,E.: Measurement of growth and resorption of bone in the seventh caudal vertebra of the rat. Calc.Tiss.Res. 15:11-20, 1974.
- 42- Harcourt,J.K., Johnson,N.W., Storey,E.: In vivo incorporation of tetracycline in the teeth of man. Arch.Oral. Biol. 7:431-7, 1962.

- 43- Ibsen,K.I., Saunders,R.L., Urist,M.: Fluorometric determination of oxytetracycline in biological material. Anal Biochem. 5:505-514, 1963.
- 44- Ibsen,K.H., Urist,M.R.: The biochemistry and physiology of the tetracyclines: with special reference to mineralized tissues. Clin.orthopaed. 32:143-168, 1964.
- 45- Johnson,R.H., Mitchell,D.F.: The effect of tetracycline on the teeth and bones. J.Dent.Res. 45:86-93, 1966.
- 46- Kaitila,I., Wartivarra,J., Laitinen,O., Saxén,L.: The inhibitory effect of tetracycline on osteogenesis. J. Embryol.Exp.Morphol. 23:185-211, 1970.
- 47- Kansky,A.: Fluorescence microscopy teeth in porphyrias, photodermatoses and lead exposed persons. Arch.Dermatol. Forsch. 252:311-315, 1972.
- 48- Kawasaki,K.: On the configuration of incremental lines in human dentine as revealed by tetracycline labelling. J.Anat. 119:61-66, 1975.
- 49- Kawasaki,K., Tanaka,S., Ishikawa,T.: On the incremental lines in human dentine as revealed by tetracycline labelling. J.Anat., 123, 2, pp.427-436, 1977.
- 50- Kohn,K.W.: Determination of tetracycline by extraction of fluorescent complexes. Anal.Chem. 33:862-866, 1961.
- 51- Kosenow,W. and Treibs,A.: Lichüberempfindlichkeit und Porphyrinaemie. Z.Kinderheilk, 73:82-92, 1953.
- 52- Kosovel,Von Z., Weber,K.: Uber dre natürliche Fluoreszenz menschlicher zahne, Zahn, mund-und Kieferheilkunde Bd. 64:H.1, 1976.

- 53- Kosugi, K.: An Investigation of yellow fluorescent lines observed in human dentinal hard tissues. *Okajimas Folia Anat. Jpn.* 61(1):69-82, 1984.
- 54- Krishan, A.: Rapid flow cytophometric analysis of mammalian cell cycle by propidium iodide staining. *J. Cell. Biol.* 66:188, 1975.
- 55- Lambrou, D.B., Tahos, B.S., Lambrou, K.D.: In vitro studies of the phenomenon of tetracycline incorporation into enamel. *J. Dent. Res.* 56:1527-32, 1977.
- 56- Lawrence, L.W., De Marco, T.J., Bissada, N.F.: Alveolar bone levels in tetracycline treated and non-treated humans. *J. Dent. Res.* 62:Abstra 533, 1983.
- 57- Lerman, L.S.: Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *J. Mol. Biol.* 3:18-30, 1961.
- 58- Lerman, L.S.: The structure of the DNA-acridine complex. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 49:94-102, 1963.
- 59- Lerman, L.S.: Amino group activity in DNA-aminoacridine complexes. *J. Mol. Biol.* 10:367-380, 1964.
- 60- Lin, C.C. and Van de Sande, J.H.: Differential fluorescent staining with human chromosomes with Daunomycin and Adriamicin. The D bands. *Science*. 190:4209, 1975.
- 61- Linde, A., Jonsson, R.: Immunofluorescent localization of fibronectin in human oral mucosa. *Archs. Oral. Biol.* Vol. 27, pp. 1047-1052, 1982.
- 62- Linde, A., Johansson, S., Sonsson, R., Jontell, M.: Localization of fibronectin during dentinogenesis in rat incisor. *Archs. Oral. Biol.* Vol. 27. pp. 1069-1073, 1982.

- 63- Löfgren,C.G., Omnell,K.A., Nylén,M.U.: Effect of intra-peritoneal injections of tetracycline hydrochloride and oxytetracycline on forming enamel of rat incisors. *Calcif.Tissue.Res.* 2:145-156, 1968.
- 64- Likanmaa,P., Ranta,H., Ranta,K., Peltonen,L., Hietanen,J.: Demineralization of dentin with EDTA in organic solvent: Immunofluorescence of collagen in osteogenesis imperfecta and normal teeth. *Collagen Res.Rel.* Vol.5. pp.505-512, 1985.
- 65- McIntost,H.A., Storey,E.: Tetracycline induced tooth changes. Part 4. Discoloration and hypoplasia induced by tetracycline analogues. *Med.J.Aust.* 57:114-119, 1970.
- 66- Miles,A.E.W.: Structural and Chemical organization of teeth. Vol.1, pp.479-481. Academic Press.
- 67- Miles,A.E.W.: Structural and chemical organization of teeth. Volume 1, pp.339-340. Academic Press. New York.
- 68- Nalbandian,J.: The microscopic pattern of tetracycline fluorescence in the cementum of human teeth. *J.Biol. Buccale.* 6:27-41, 1978.
- 69- Nylén,M.U., Omnell,K.A., Löfgren,C.G.: An electron microscope study of tetracycline-induced enamel defects in rat incisor enamel. *Scan.J.Dent.Res.* 80:384-409, 1972.
- 70- Olerud,S., Lorenzi,G.I.: Triple fluorochrome labelling in bone formation and bone resorption. *J.Bone.Jt.Surg.* 52:A274-278, 1970.
- 71- Omnell,K.A., Löfgren,C.G., Nylén,M.U.: Tetracycline-induced enamel defects in the rat incisor. *Arch. Oral Biol.* 15:645-661, 1970.

- 72- Ooe,T., Gohdo,S.: The development of the human inter-radicular dentine as revealed by tetracycline-labelling. Arch.Oral.Biol. Vol.29, No.4, pp.257-262, 1984.
- 73- Ooe,T., Ogura-Futaki,Y.: Differential termination times of enamel formation on human deciduous anterior-tooth surfaces revealed by tetracycline labelling. Archs.Oral. Biol. Vol.30, No.5, pp.409-414, 1985.
- 74- Ooe,T.: Differential development and extension of hard tissue an the tooth surfaces. pp.54-60. Ishiyaku, Tokyo, 1981.
- 75- Owen,L.N.: The effect of administering tetracyclines to young dogs with particular reference to localization of the drugs in the teeth. Arch.Oral.Biol. 8:715-727, 1963.
- 76- Pack,R.C.: Lower incisor tooth development studied in protein deficient rats with intravital labelling technique. Archs.oral Biol. Vol.23, pp.1145-1149, 1978.
- 77- Passwater,R.A.: 'Guide to Fluorescence Literature.' Plenum Press, Data Division, New York, 1967, 1970.
- 78- Pearson,P.L., Bobrow,M., Vosa,C.G. and Barlow,P.B.: Quinacrine fluorecence in mammalian chromosomes. Nature (Lond.) 231:326-329, 1971.
- 79- Pearson,P.L., Bobrow,M. and Vosa,C.G.: Technique for identifying Y chromosomes in human interphase nuclei. Nature (Lond.), 226:78-80, 1970.
- 80- Peter,K., Yen,J., Show,H.: Effects of tetracycline on membranous bone growth and dentin Apposition in Young Rhesus monkeys. J.Dent.res. Vol.53, No.4, July-August, 1974.

- 81- Rasmussen,H., Bordier,P.: The Physiology and Cellular Basis of Metabolic Bone Disease. Williams Wilkins Co., Baltimore, 1974.
- 82- Rasmussen,Per.: Effect of oxytetracycline and purified calcein (DCAF) on the apposition and mineralization of rat incisor dentin. Scand.J.Dent.Res. 83:233-237, 1975.
- 83- Rigler,R.Jr.: Microfluoremetric characterisation of intracellular nucleic acids and nucleoproteins by Acridine Orange. Acta Physiol.Scand.67, Suppl.267, 1966.
- 84- Rost,F.W.D.: Fluorescence microscopy in Histochemistry ed. A.G.E. Pearse Vol.1 (fourth edition) pp.346-378. Churchill Livingstone. 1980.
- 85- Schour,I., Massler,M.: The teeth in: The rat in laboratory investigations, New York, 1949.
- 86- Solheim,T.: Pluricolor fluorescent labelling of mineralizing tissue. Scand.J.Dent. Res. 82:19-27, 1974.
- 87- Steendijk,R.: Studies on the mechanism of the fixation of the tetracycline to bone. Acta Anat.(Basel) 56:368-38, 1964.
- 88- Suga,S. and Musashi,T.: The comparative investigation of enamel mineralization by some methods Summary Odontology (Tokyo) 51:187-1963.
- 89- Suga,S., Murayama,Y. and Musashi,TK.: A study of the mineralization process in the developing enamel. Odontology (in Tokyo) 53:154-162, 1965.

- 90- Suga,S. and Murayama,Y.: Microradiographical ^{45}Ca autoradiographical and tetracycline labelling studies on the enamel mineralization of guineapigs molar. *Odonto.*(Tokyo) 53:154-162, 1965.
- 91- Suga,S. et al.: A study of the mineralization in the developing enamel of guinea-pigs. *Arch.Oral Biol.* 15:597-612, 1970.
- 92- Suga,S.: Hard tissues and tetracycline. *Odonto.*(Tokyo) 53:3, 137-143, 1965.
- 93- Suzuki,H.K., Mathews,A.: Two-colour Fluorescent labelling of mineralizing tissues with tetracycline and 2,4-bis(N,N'-(carbomethyl)aminomethyl fluorescein). *Stain Technol.* 41:57-60, 1966.
- 94- Takamatsu,T., Kitamura,T., Fujito,S.: Quantitative Fluorescence image analysis. *Acta Histochem.Cytochem.* Vol.19, No.1, 1986.
- 95- Tam,C.S.: Kinetics of bone formation: biorhythmicity demonstrated by tetracycline labelling, pp.154-157. Ph.d thesis, University of Toronto, 1976.
- 96- Tam,C.S., Harrison,J.E., Reed,R., Cruickshank,B.: Bone apposition rate as an index of bone metabolism. *Metabolism* 27:143-150, 1978.
- 97- Urist,M.R., Ibsen,K.H.: Chemical reactivity of mineralized tissue with oxytetracycline. *Arch.Path.* 76:484-496, 1963.
- 98- Westergaart,J., Nylen,M.U.: Dose and age dependent variations in effect of tetracycline on enamel formation in rat. *Scand.J.Dent.Res.* 83:209-232, 1975.

- 99- Williams,R.C., Jeffcoat,M.K., Goldhaber,P.: Tetracycline treatment of periodontal disease in the beagle dog. J.Periodontol.Res. 17:358-65, 1982.
- 100- Zussman,W.V.: Tetracycline-induced fluorescence in dentin and enamel matrix: Laboratory investigation, Vol.15, No.3, 1966.
- 101- Zussman,W.V.: Tetracycline incorporation at the growing end of the rat incisor, Arch.Oral Biol. 12:911-912, 1967.

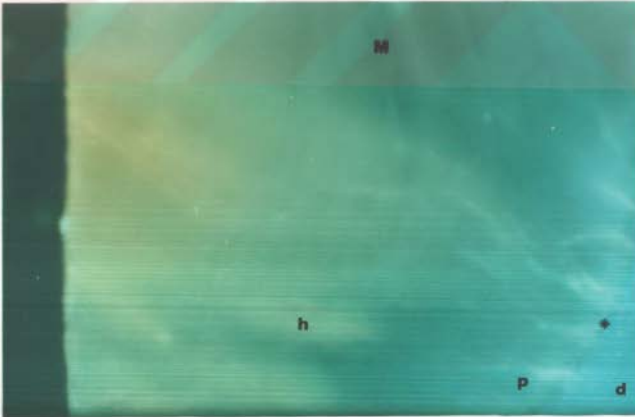


RESİMLER

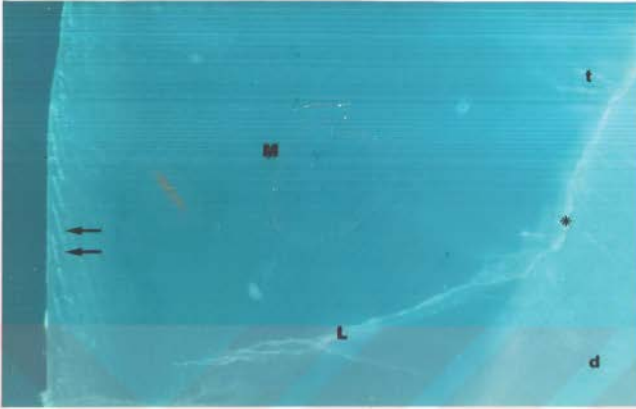




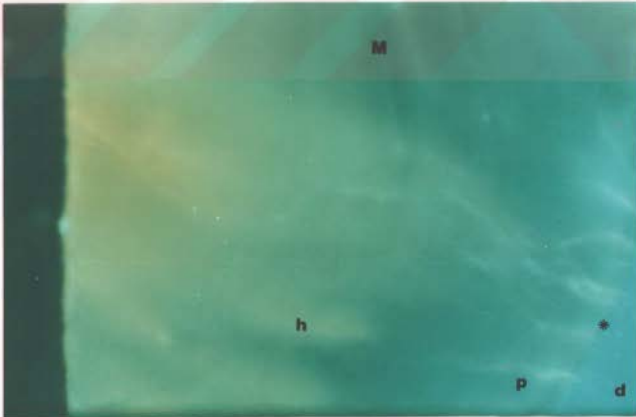
Resim 1- Mine. Primer fluoresans. İnsan dişi (normal). Bileme preparatlarda minenin (m) fluoresansı koyu mavi-yeşildir. Açık mavi parlak dentin (D) üzerinde koyu bir tabaka halinde gözlenmektedir. Retzius çizgileri (), mine lamelleri (L), mine içinde odontoblast uzantıları (mine tigli "t") parlak ve beyaz olmalarıyla dikkati çekmektedir. Mine-dentin sınırı ince beyaz çizgi şeklinde ayırtedilebilmektedir (*).



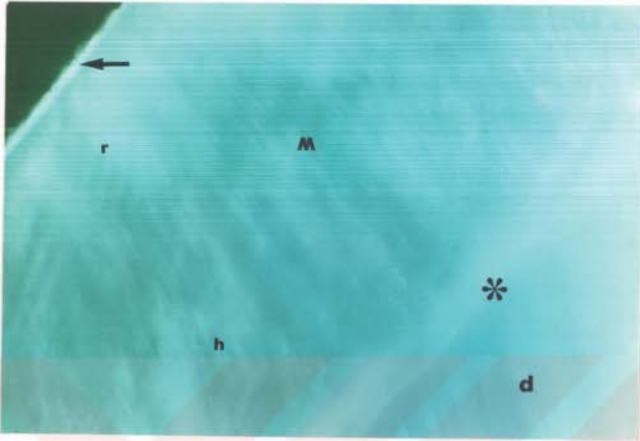
Resim 2- Mine primer fluoresans. İnsan dişi. Makroskopik olarak normal görünen bu dişte mine yüzeyinin geniş bir alanda çürüğü yansıtan sarı fluoresans verdiği bu alanlar ile Hunter-Schreger çizgilerinin yakın ilişkileri dikkati çekmiştir. Mine püskülleri (p); Hunter-Schreger çizgileri (h) beyaz görülmektedir. M=mine; D=dentin; (*)=mine-dentin sınırı



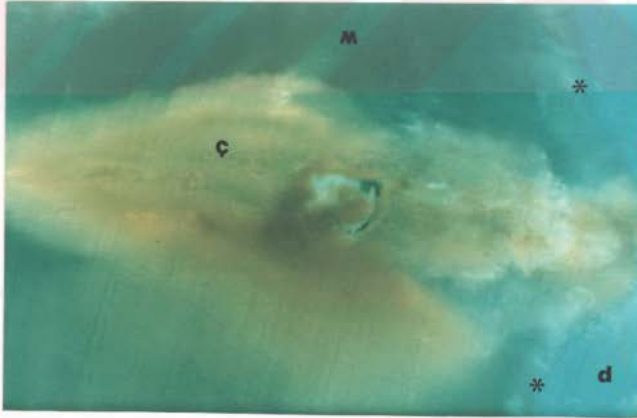
Resim 1- Mine. Primer floresans. İnsan dişi (normal). Bileme preparatlarında minenin (m) floresansı koyu mavi-yeşildir. Açık mavi parlak dentin (D) üzerinde koyu bir tabaka halinde gözlenmektedir. Retzius çizgileri (), mine lamelleri (L), mine içinde odontoblast uzantıları (mine tıgırları "t") parlak ve beyaz olmalarıyla dikkati çekmektedir. Mine-dentin sınırı ince beyaz çizgi şeklinde ayırtedilebilmektedir (*).



Resim 2- Mine primer floresans. İnsan dişi. Makroskopik olarak normal görünen bu dişte mine yüzeyinin geniş bir alanda çürüğü yansıtan sarı floresans verdiği bu alanlar ile Hunter-Schreger çizgilerinin yakın ilişkileri dikkati çekmiştir. Mine püskülleri (p); Hunter-Schreger çizgileri (h) beyaz görülmektedir. M=mine; D=dentin; (*)=mine-dentin sınırı



Resim 3- Hipoplazik diş. İnsan. Mine tabakası açık yeşil. Hunter-Schreger çizgilerine (h) uyan alanlar daha geniş ve beyaz, Retzius çizgileri (r) Resim 1'e göre daha kalın ve beyaz, mine yüzeyi () beyaz, mine-dentin sınırı (*) beyaz ve kalın, dentin mavi fluoresans vermektedir. M=mine; D=dentin.



Resim 4- Makroskopik olarak mine çürüğü (ç) gösteren insan dişlerinden alınan kesitlerde çürük alanı sarı-kahverengi fluoresans vermektedir. Mine-dentin sınırı (*) genişlemiş, beyaz-sarı yer yer kahverengi görünmektedir. M=mine; D=dentin.



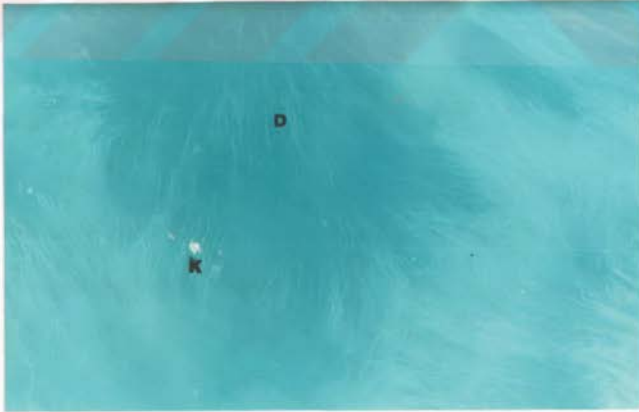
Resim 5- Mine çürüğü (ç) olgularında ilgili bölgede mine-dentin sınırının (*) genişlemiş ve beyaz sarı olduğu dikkati çekmektedir. M=mine; D=dentin.



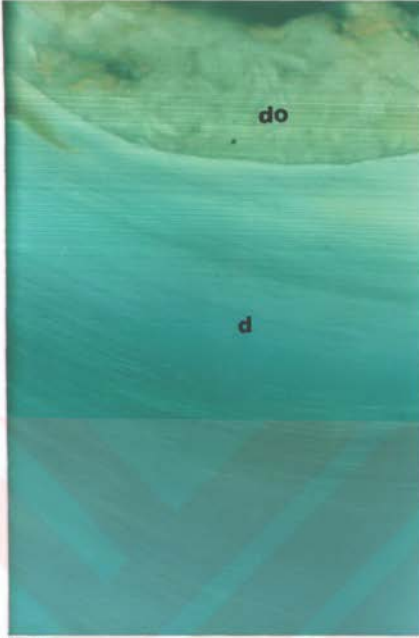
Resim 6- Mine ve tetrasiklin uygulaması. Değişik yaş gruplarındaki sıçanlara farklı doz ve zamanlarda uygulanan tetrasiklin yalnız mine-dentin sınırında sarı floresans vermiştir. (); mine koyu mavi görünmektedir ve belirgin bir tetrasiklin yoğunlaşması göstermemektedir. M=mine; D=dentin; tetrasiklin birikimi.



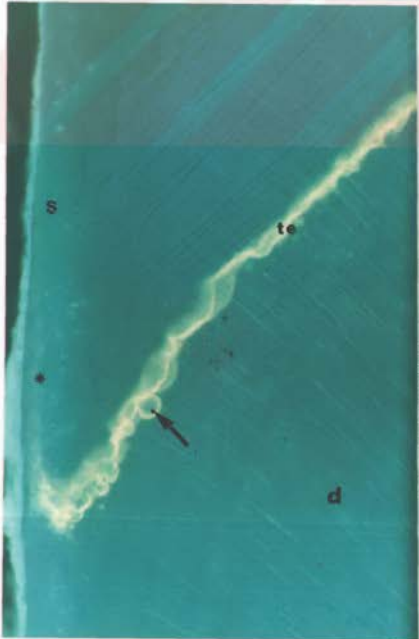
Resim 7- Dentin. Primer fluoresans. İnsan dişi (normal). Dekalsifiye edilmemiş bileme preparatlarda dentin parlak mavi primer fluoresans göstermektedir; dentin kanalcıkları (k) ve globuler dentin alanları (g) beyaz, parlaktır. Primer ve sekonder dentin arasında primer fluoresans farkı bulunmaktadır. M=mine; D=dentin, p=primer dentin; s=sekonder dentin; t=mine tıçları; *=mine-dentin sınırı.



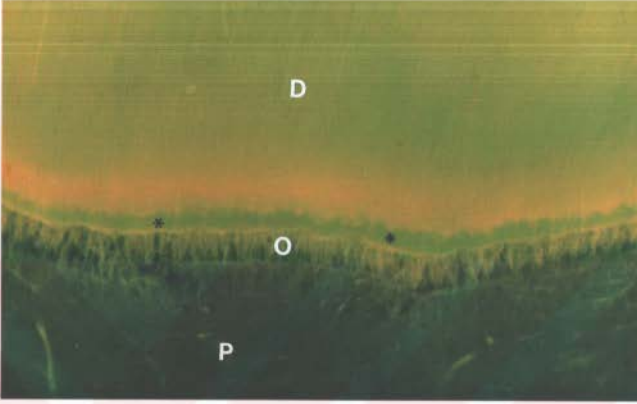
Resim 8- Tersiyer dentin. Primer fluoresans. Dekalsifiye edilmemiş materyal. Primer fluoresans yönünden tersiyer dentin diğer dentin tipleriyle aynı özelliği taşımaktadır. D=dentin; k=dentin kanalcıkları.



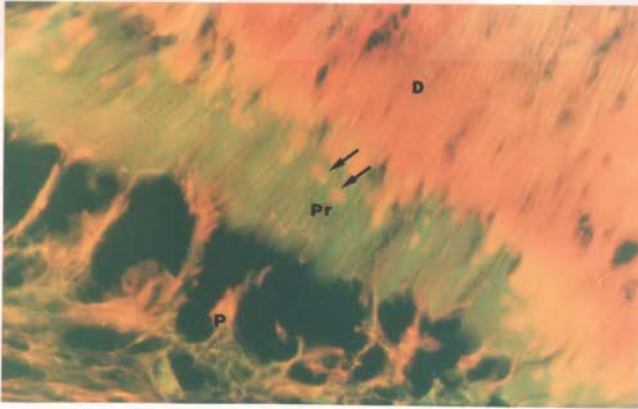
Rasim 9- Bir kavite altındaki dentin alanı. İnsan dişi (dekalsifiye edilmiş materyal). Primer fluoresans. Kavite altındaki dentin alanı hemen buna yakın bölged ebeyaz, yer yer sarı-kahverengi daha alt bölgelerde ise koyu yeşil-mavi fluoresans vermektedir. DO=dolgu; D=dentin



Rasim 10- İnsan dişi. Dekalsifiye edilmemiş preparat. Dentin-sement (kök) bölgesi. Gözlemlerimiz sırasında bazı kesitlerde medikal amaçlarla alınmış tetrasikline uyan sarı bantlaşmalar (te) dikkati çekmiştir. Bu bantlaşmalar dentin gelişimine uyan bir hat üzerinde uzanmakta ve bu bölgede dentin globuler özellik göstermektedir (). Buna ek olarak sementte de tetrasiklin yoğunlaşması gözlenmektedir (*). D=dentin; S=sement.



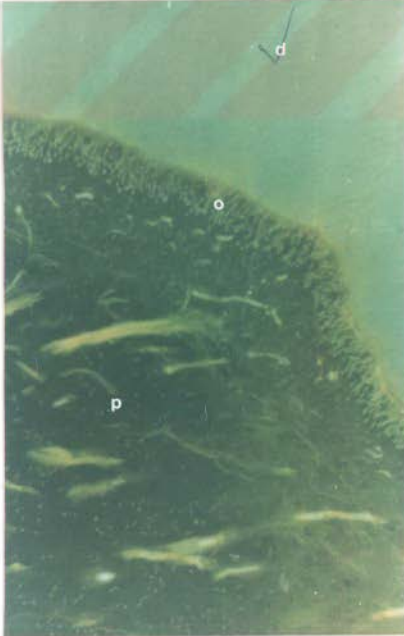
Resim 11- Fluorokromlarla boyanan dekalsifiye preparatlarda uygulanan boyanın tipine göre tubuler dentin ve intertubuler dentin arasında belirgin bir kontrastın çıktığı gözlenmiştir. Acridine orange ile odontoblast uzantıları açık sarı, predentin yeşil fluoresans vermektedir. D=dentin; O=odontoblast tabakası; (*)=predentin.



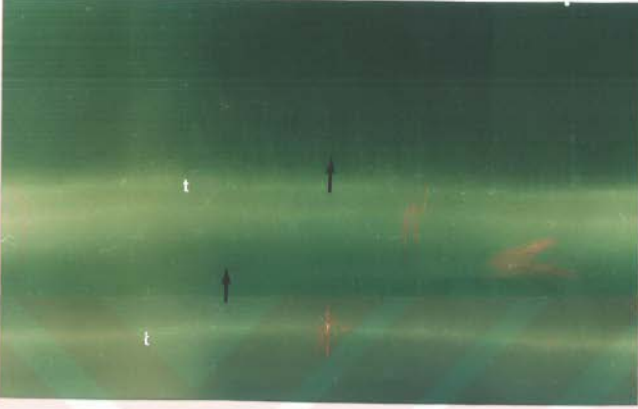
Resim 12- Resim 11'in büyütülmüşü. Predentin içinde kollagen lifler ve esas maddeye uyan intertubuler alanlar yeşil, odontoblast uzantıları sarı, dentin globülleri turuncu fluorensans göstermektedir. D=dentin; Pr=predentin; P=pulpa; ()=dentin globülleri.



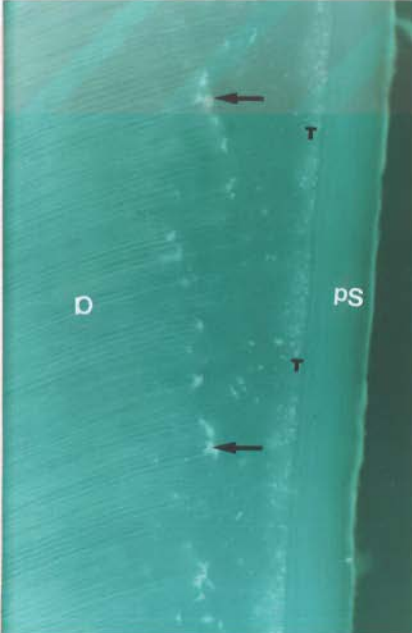
Resim 13- Dentin. Sekonder fluoresans (Rivanol). Tubuler dentin beyaz, intertubuler dentin mavi fluoresans vermektedir. Pulpada kan damarları mavimsiyah, kollagen lifler mavi-yeşil gözlenmektedir. D=dentin; O=odontoblast tabakası; P=pulpa; k=kollagen lif; =kan damarı.



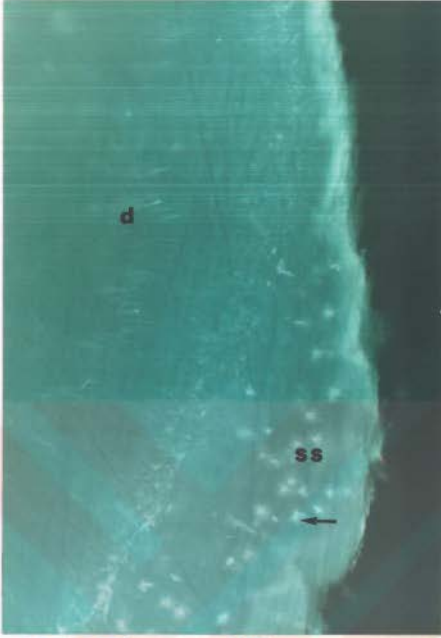
Resim 14- Dentin. Sekonder fluoresans (Rhodochrome BPC). Bu fluorokrom ile tubuler dentin sarı, intertubuler dentin yeşil fluoresans vermektedir. Odontoblast çekirdekleri sarı-yeşil, fibroblast çekirdekleri sarı, kollagen lifler parlak sarıdır. D=dentin; O=odontoblast tabakası; P=pulpa; k=kollagen lifler.



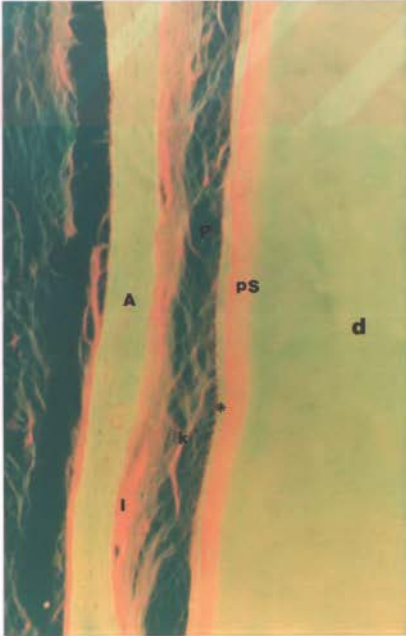
Resim 15- Dentin ve tetrasiklin uygulaması. Dentinde tetrasiklin yoğunlaşması. Günlük dentin oluşumuna uyan birbirine paralel bantlaşmalar şeklindedir. Büyütmelerde iki bant arasındaki dentin alanlarının mavi-yeşil primer fluoresans verdikleri, bu alanlardaki tubulusların içinde oksitetrasiklinin fluoresansına uyan sarı fluoresans gözlenmektedir.



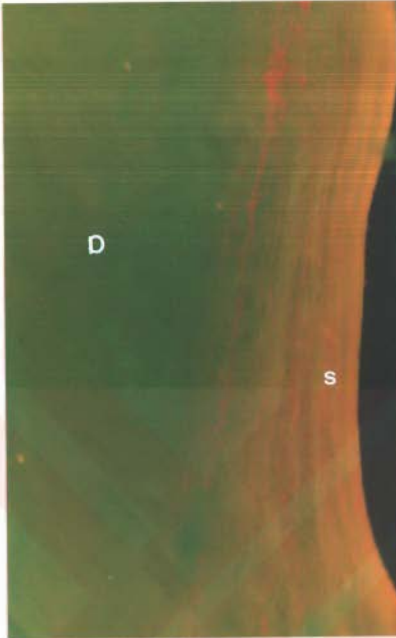
Resim 16- Primer sement. İnsan dişi bileme preparatı. Primer fluoresans. Sement mavi primer fluoresans vermektedir. Lameller arasında kontrast farkı seçilebilmektedir. Periodontal membrana komşu kenar ince beyaz bir tabaka halinde uzanmaktadır. Tomes granüler tabakası ve dentin globülleri beyaz, dentin mavidir. pS=primer sement; T=Tomes granuler tabakası; D= dentin ()=dentin globülleri.



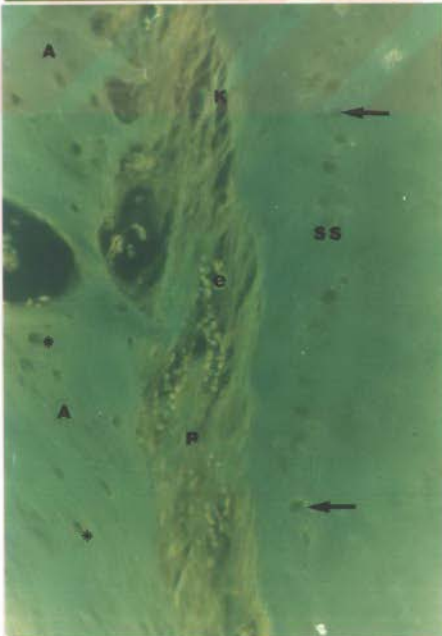
Resim 17- Sekonder sement. İnsan dişi. Bileme preparatı. Primer fluoresans. Sekonder sement dentine yaklaşan tonda mavi fluoresans vermektedir. Sementosit kovukları daha parlak ve beyaz görünmektedir. sS=sekonder sement; ()=sementosit kovukları; D=dentin



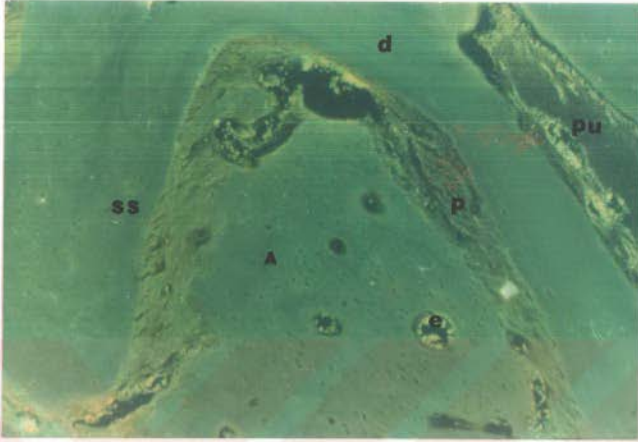
Resim 18- Primer sement, periodontal membran ve alveol kemiği. Dekalsifiye insan dişi. Sekonder fluoresans (Acridine orange). Primer sementin dentine komşu yüzü kırmızı, periodontal membrana bakan yüzü dentin renginde olup sarı yeşildir. Periodontal membranın lifsel yapısı yeşil-turuncu, alveol kemiğinin lamina duraya uyan yüzü kırmızı, ortası dentin renginde yeşildir; osteositler turuncu fluoresans vermektedir. D=dentin; pS=primer sement; P=periodontal membran; A=alveol kemiği; k=kollagen lifler; l=lamina dura; (*)=primer sementin periodontal membrana komşu yüzü



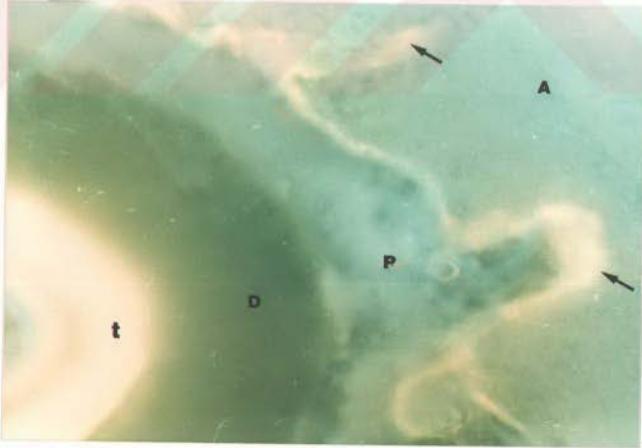
Resim 19- Sekonder sement. Sekonder fluoresans (acridine orange). Dekalsifiye edilmiş insan dişi. Sekonder sementin lameller strüktürü belirgindir. S=sement; D=dentin.



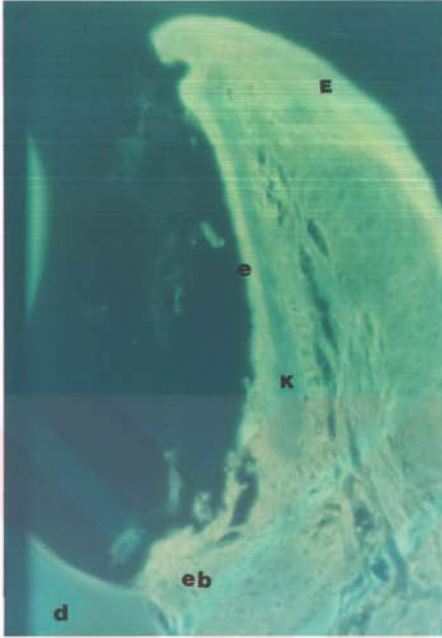
Resim 20- Sekonder sement, alveol kemiği ve periodontal membran (sıçan). Sekonder fluoresans (Rhodochrome BPC). Bu boyamada dentin ile sement ayrışmaktadır. Bu sonucunda içinde sementositler kahverengi fluoresans vermeleri ile ayırt edilebilmektedir. Periodontal lif demetleri sarı, bunlar arasına sıkışmış fibroblastlar kahverengi, eritrositler sarı olarak gözlenmektedir. Alveol kemiğinde osteositler kahverengi, bunları saran kemik alanları sement ve dentin ile aynı fluoresans özelliği vermektedir. D=dentin; sS=sekonder sement; ()=sementosit, P=periodontal membran; k=kollagen lif; e=eritrosit; A=alveol kemiği; *=osteosit



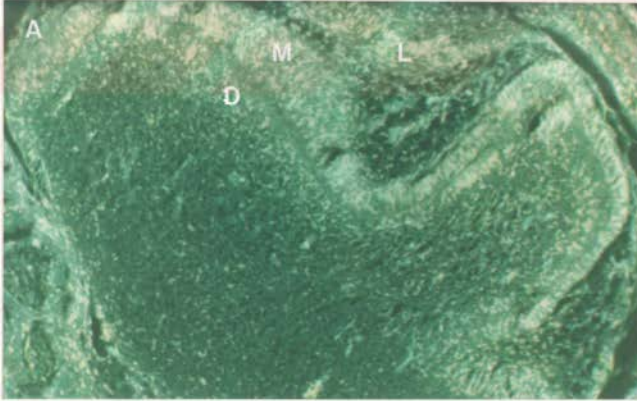
Resim 21- Alveol kemiği (sıçan). Sekonder fluoressans (Rhodochrome EPC). İnterradiküler bölge ile ilgili bu dekalsifiye kesitte alveol kemiği ile, sement ve dentin aynı fluoressans özelliği göstermektedir. Hücreler kahverengi, eritrositler sarı, kollagen lifler sarı-yeşildir. ss=sekonder sement; D=dentin; A=alveol kemiği; P=periodontal membran; e=eritrosit; Pu=pulpa



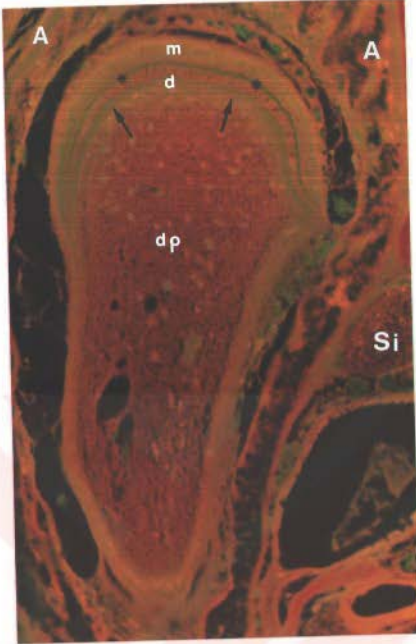
Resim 22- Alveol kemiği ve tetrasiklin uygulaması (sıçan). Bileme preparatı. Oksitetrasiklin uygulanmış sıçanların dentininde olduğu gibi alveol kemiğinde de bu ilacın tutulması karakteristik altın sarısı fluoressansı ile belirgin biçimde gözlenmektedir. Alveol kemiğinin bütünü ele alındığında birikmenin son oluşmuş periodontal membrana komşu yüzde daha yoğun olduğu dikkati çekmektedir. A=alveol kemiği; ()=alveol kemiğinde tetrasiklin yoğunlaşması.



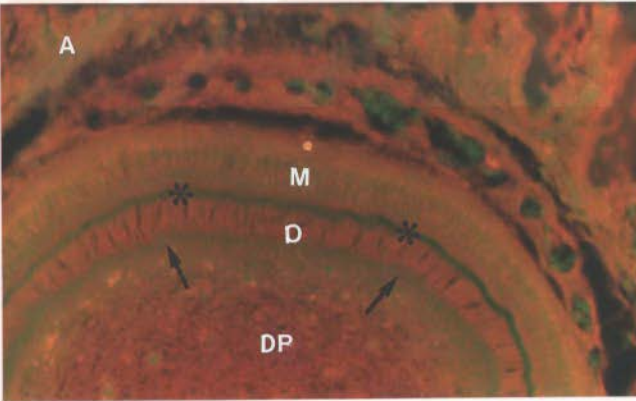
Resim 23- Dişeti (sıçan). Sekonder fluoresans (Rhodochrome BPC). E=dişeti yüzeyi epiteli; e=dişeti cebi epiteli; k=kollagen, eb=epitelyal bağ; D=diş



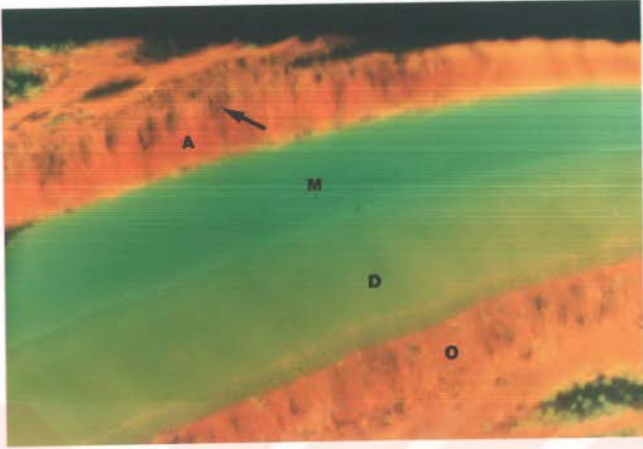
Resim 24- Gelişmekte olan diş (sıçan). Primer fluoresans. Dekalsifiye edilmeden (parafin blok) hazırlanmış kesit. Kısım mineralize dentin ve mine matrisleri beyaz-yeşil-mavi fluoresans vermektedir. kollagen lifler yeşil-mavi hücre çekirdekleri beyazdır. Mine-dentin sınırı koyu yeşil-mavi bir hat şeklinde uzanmaktadır. Op=diş pulpası; M=mine; D=dentin; *mine-dentin sınırı; Mp=mine pulpası; e=diş mine epiteli; L=lamina propria; A=alveol kemiği



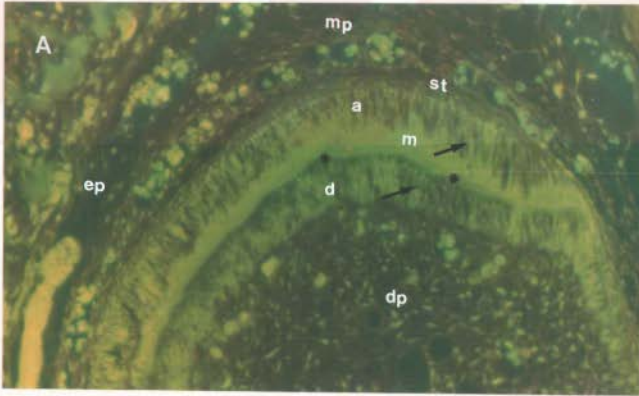
Resim 25- Gelişmekte olan diş. Dekalsifiye edilmemiş dişlerden (parafin blok) hazırlanmış kesit. Acridine orange. Diş sert dokuları sarı, mine-dentin sınırı yeşil (*), predentin yeşil (), diş pulpası turuncu, eritrositler yeşil fluoresans vermektedir. MO=mine organı; Mine=mine; D=dentin; DP=diş pulpası; A=alveol kemiği; P=periodontal membran; e=eritrosit; Si=sinir lifleri.



Resim 26- Gelişmekte olan diş (sıçan).Acridine orange. Bir önceki resimden büyütülerek alınmıştır. Buresimde mine-dentin sınırının ve predentinin yeşil fluoresans verdiği dikkati çekmektedir. A=alveol kemiği; MO=mine organı; M=mine; D=dentin; DP=diş pulpası; (*) mine-dentin sınırı; ()=predentin



Resim 27- Gelişmekte olan diş (sıçan). Demineralize edilmiş materyal. Sekonder fluoresans (Acridine orange). Ameloblast tabakası turuncu, bunların çekirdekleri kahverengi, mine parlak koyu yeşil, dentin açık yeşil-sarı, odontoblast tabakası turuncu görünmektedir. A=ameloblast tabakası; ()=ameloblast çekirdeği; D=dentin; M=mine; O=odontoblast tabakası.



Resim 28- Gelişmekte olan diş (sıçan). Dekalsifiye edilmemiş parafin blok kesiti. Sekonder fluoresans (Rhodochrome BPC). Üst planda mine organı, ortada mine-dentin oluşumu, altta diş pulpası gözlenmektedir. Ameloblast tabakası üzerindeki st.intermedium bol damar içermektedir. Ameloblast,odontoblast ve diğer hücre çekirdekleri sarı görülmektedir. Hepsinde sitoplazma kahverengidir. Mine ve dentin matrisleri sarı, mine dentin sınırı ince kahverengi bir çizgi halinde uzanmaktadır. Diş pulpası içinde kollagen lif farkedilmemekte. Hücrelerin sitoplazmalarının kahverengi olması nedeniyle bu rengin egemen olduğu göze çarpmaktadır. Mp=mine pulpası; ep=diş mine epiteli; e=eritrosit; A=alveol kemiği; st=stratum intermedium; m=mine; ()=hücre sitoplazmaları; a=ameloblast tabakası; (*)=mine dentin sınırı, d=dentin; dp=diş pulpası.

Ö Z G E Ç M İ Ő

1958 EskiŐehir doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi İstanbul'da, lise öğrenimimi Ankara KurtuluŐ Lisesinde tamamladım. 1975-76 öğrenim döneminde İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakóltesine girdim. 1981 yılı Ağustos ayında Fakólteyi bitirdim, ardından aynı Fakóltenin Histoloji ve Embriyoloji bölümünde üç yıl AraŐtırma Görevlisi olarak çalıştım. Halen S.S.K. Okmeydanı Hastanesi Diş Tedavi ve Protez Merkezinde Dişhekimisi olarak çalışmaktayım.

Evliyim, Özge isminde bir kızım var.