

Literatuur:

1. Esser, J. F. S. (1917): Studies in plastic surgery of the face. *Ann. of Surgery* 65: 307-315.
2. Kiehn, C. L., Desprez, J. E., Browne, F. (1948): Maxillary osteotomy for correction of occlusion and appearance in cleft lip and palate patients. *Plastic and Reconstr. Surg.* 42: 203-208.
3. MacIntosh, R. B., Obwegeser, H. L. (1967): Praeprosthetic surgery. A scheme for its effective employment. *J. of Oral Surg.* 25: 397-413.
4. Merckx, C. A. (1965): Chirurgisch-prothetische lipobouw bij terugliggende bovenlip. Voordracht klinische avond St.

5. Radboudziekenhuis, Nijmegen, 1965 voor huisartsen, 1966 voor tandartsen.
6. Rayne, J. (1966): An improved technique for buccal inlay. *Brit J. of Plastic Surg.* 19: 124-127.
7. Schwenger, N., Wüstenfeld, E. (1970): Klinik und Histologie freier Hauttransplantate in der Mundhöhle. *Dtsch. Zahnärztl. Z.* 25: 1049-1054.
8. Tessier, D., Delbet, J. P., Pastoria, J., Aiaich, R. (1969): Sequelles labiales et nasales du bec de lièvre complet chez l'adolescent. Relations avec les malformations et déformations du maxillaire. *Ann. de Chir. Plast.* 14: 312-327.  
Geert Grooteplein, Zuid 14, Nijmegen.

## HET VERVAARDIGEN VAN ONONTKALKTE COUPES VAN MENSELIJKE GEBITSELEMENTEN

*Uit de afdeling*

*Pathologie van het Tandheelkundig Instituut  
der Rijksuniversiteit te Utrecht.*

*Hoofd: Dr. W. J. Visser.*

W. J. VISSER  
H. VAN DEN HUL  
S. A. DUURSMA\*)

Was het tot voor een klein aantal jaren nog onmogelijk om met een microtoom coupes te snijden van onontkalkt bot, door toepassing van nieuwe inbedtechnieken (kunsthars), die o.a. door Schenk (1965) zijn beschreven, kunnen met betrekkelijk geringe moeite fraaie onontkalkte botcoupes worden verkregen (afb. 6). Pogingen om op deze manier ook coupes van onontkalkte tanden te snijden, zijn tot nu toe altijd mislukt omdat het glazuur – zelfs met het hardste microtoommes – niet te snijden is; het verpulvert namelijk.

In dit artikel wordt beschreven, hoe op de afdeling Pathologie coupes van onontkalkte tanden worden vervaardigd, zonder gebruik te maken van een microtoom.

Hoewel door Mutschelknauss (1967) eveneens een methode is beschreven voor het maken van onontkalkte coupes van tanden, hebben wij gemeend onze methode niet onvermeld te moeten laten, niet zo zeer omdat ze onafhankelijk van die van Mutschelknauss is ontwikkeld, maar omdat ze minder ingewikkelde apparatuur vereist, minder tijd kost en bovendien het pulpaweefsel beter weergeeft. Om een ieder, die deze methode wil navolgen, zoveel mogelijk ter wille te zijn

zullen wij trachten de techniek exact weer te geven. Als materiaal is elk gebitselement – eventueel met omgevend weefsel – geschikt. De gang van zaken is als volgt:

1. Direct na extractie wordt de tand met behulp van een sneldraaiende diamantzaag\*\*) doormidden gezaagd en wel zo, dat de pulpa net wordt aangesneden (afb. 1).

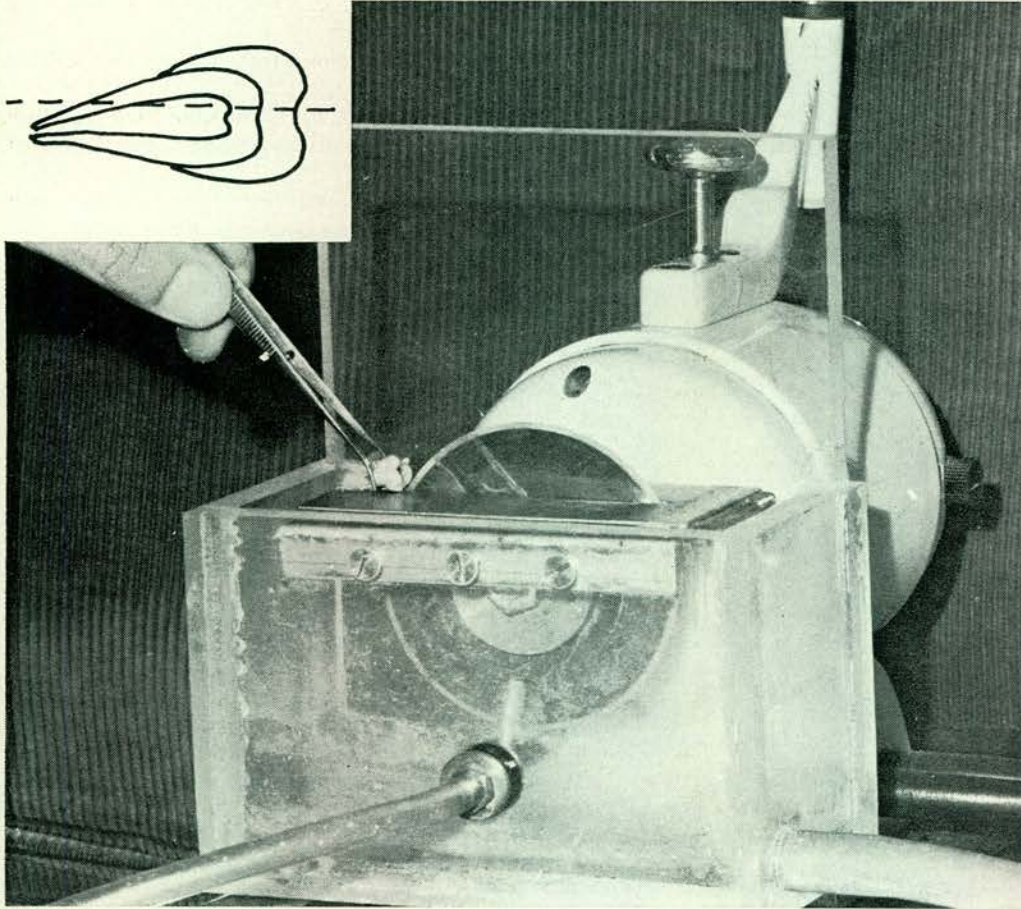
N.B. De zaag kan ook worden aangedreven met een zwaardere motor, maar dan moet een overbrenging worden aangebracht om het toerental van de diamantzaag op  $\pm 6000$  toeren per minuut te brengen. In alle gevallen dient de zaag met water te worden gekoeld. Met behulp van een waterstraalpomp kan het koelwater uit de opvangbak worden afgezogen.

2. Het 2/3 deel van de tand, waarvan de pulpa net is aangesneden, wordt gedurende 10 dagen gefixeerd in

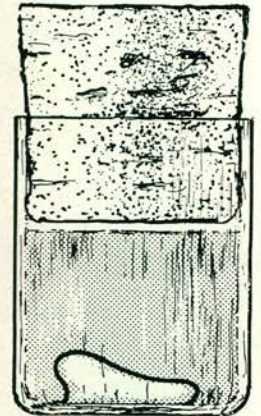
\*) Dr. S. A. Duursma, internist Academisch Ziekenhuis te Utrecht.

\*\*) U.N. Diamantschijven,  $\varnothing$  80 mm, dikte 0,200 mm, asgat 20 mm, korrel 280. (Bruyaux N.V., postbus 4064, Amsterdam-O.)





Afb. 1



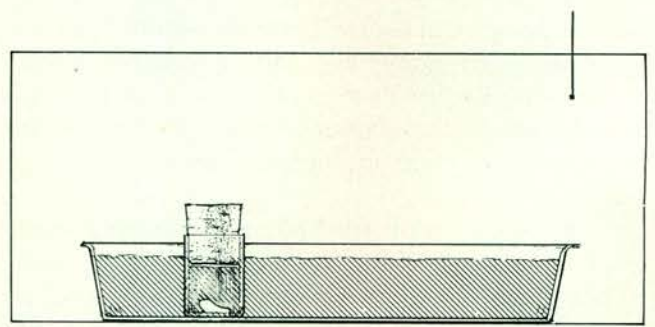
Afb. 2

een 10% formaline oplossing, eventueel in 40% alcohol.\*)

3. Met behulp van de onder 1. genoemde zaag worden enkele, zoveel mogelijk planparallele, plakjes afgezaagd van 2-3 mm dik.

4. Spoelen in leidingwater gedurende 24 uur.

5. Het ontwateren geschiedt volgens nevenstaande alcoholenreeks. Eventueel kan basische fuchsine\*\* worden toegevoegd (0,5 gr. basische fuchsine in 100 ml alcohol).



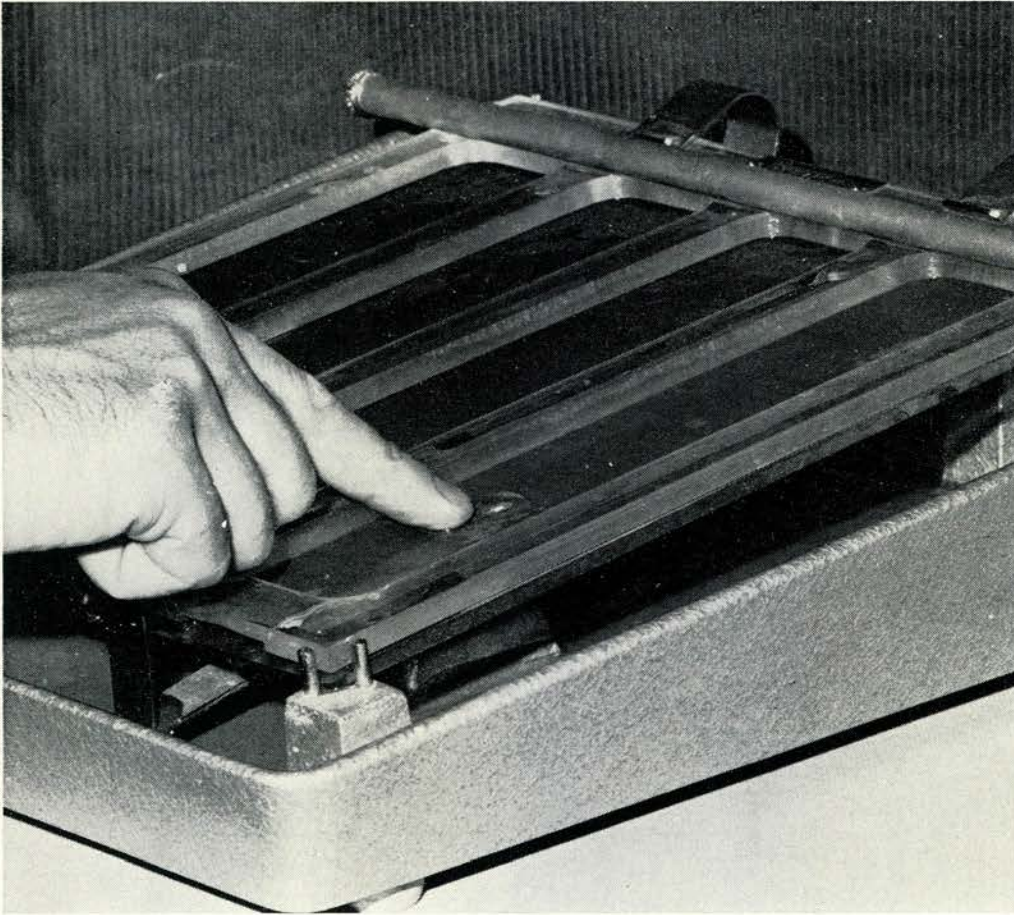
Afb. 3

Alcohol 50%	(+ basische fuchsine)	24 uur;
Alcohol 70%	(+ basische fuchsine)	24 uur;
Alcohol 80%	(+ basische fuchsine)	24 uur;
Alcohol 96%	(+ basische fuchsine)	24 uur;
Alcohol absoluut	(+ basische fuchsine)	24 uur.

\*) Voor de Goldnerkleuring is fixatie in 40% alcohol het meest geschikt.

\*\*) Indien men later de coupes volgens Goldner wil kleuren, dient het basisch fuchsine te worden weggelaten.





Afb. 4

6. Na het ontwateren komen de plakjes in een vetoplossend mengsel van absolute alcohol en chloroform (3:1), gedurende  $3 \times 24$  uur. Het mengsel wordt elke dag (dus tweemaal) ververs.

7. De plakjes worden nu  $3 \times 24$  uur in aceton geplaatst. Ook de aceton wordt elke dag ververs.

8. Vanuit de aceton komen de plakjes gedurende 24 uur in een mengsel van de volgende samenstelling:  
10 cc methylmetacrylaat\*) (monomeer-vloeistof);  
2,5 cc plastoïd N\*\*) (vloeistof).

Dit mengsel bevindt zich in een glazen flesje met een zo vlak mogelijke bodem. Het flesje wordt met een kurk, waarvan de onderkant tot dicht boven het vloeistofoppervlak reikt, afgesloten (afb. 2). In dit mengsel blijft het plakje 24 uur.

9. Daarna wordt het mengsel vervangen door één van iets gewijzigde samenstelling:

15 cc methylmetacrylaat;  
225 mg benzoylperoxyde\*\*\*);  
3,75 cc plastoïd N.

N.B. Bij het aanmaken van dit mengsel wordt eerst het benzoylperoxyde (poeder) in het methylmetacrylaat opgelost (roeren met glasstaaf) daarna wordt de plastoïd N toegevoegd.

\*) Methylmetacrylaat „B.D.H.”. (Brunschwig Chemie, Amsterdam.)

\*\*) Plastoïd N (zum einbetten fetthaltiger Knochen, Röhm & Haas Pharma GmbH, Darmstadt).

\*\*\*) Benzoylperoxyde is een poeder dat hier geen water mag bevatten; het wordt in de stoof bij  $40^{\circ}\text{C}$  bewaard. Niet bij hogere temperaturen vanwege ontploffingsgevaar!





Afb. 5

Het flesje wordt nu in een waterbad in een stoof van  $40^{\circ}$  geplaatst (afb. 3). Na 2 of 3 dagen is het geheel gepolymeriseerd. Een dunne laag aan het oppervlak blijft veelal zacht. Het plaatsen in een waterbad heeft warmte-afgifte bij de polymerisatie tot gevolg en voorkomt voor een belangrijk deel de vorming van lucht-bellen rondom het specimen.

10. Met een hamer wordt het glas stuk geslagen. Over-tollig kunsthars rondom het element wordt nu zover mogelijk weggezaagd, waarna het geheel geschikt is om in plakjes te worden gezaagd. Dit laatste kan ge-schieden met behulp van de onder 1. genoemde dia-

mantzaag of uit de hand. Deze coupes zijn  $\pm 1$  mm dik. Dunnere en meer planparallele coupes ( $\pm 100\mu$ ) kan men maken met een Isomet zaagmachine. \*)

11. Met de hand wordt het plakje, met behulp van wa-terbestendig schuurpapier van afnemende korrelgroot-te, dun geschuurd (afb. 4).

Bij het slijpen uit de hand dient men er zorg voor te dragen dat glazuur, dentine en pulpaweefsel een af-nemende dikte hebben, hetgeen men kan bereiken door de vingertop te verplaatsen. Het pulpaweefsel wordt zo dun geslepen dat onder de microscoop het normale histologische aspect van pulpaweefsel ont-staat. Vaak is het nodig, onder de loep de pulpa extra bij te schuren met een stukje fijn schuurpapier in een pincet (afb. 5).

12. Om eventuele korrels en vuil van de coupe te ver-

\*) Isomet, no. 11-1180 AB low speed saw. Buchler Ltd. Apparatus for Metallurgy/Geology, 2120 Greenwood St, Evanston, Illinois 60204, U.S.A. (Viba N.V., Den Haag.)



wijderen, wordt ze een aantal keren gespoeld met gedestilleerd water, waaraan enkele druppels lodaline zijn toegevoegd. Eventueel kunnen met een watje persisterende partikeltjes van de coupe worden verwijderd.

13. De coupe wordt, indien ze reeds was voorgekleurd met basische fuchsine,  $\pm$  7 min. nagekleurd met Lichtgrün. De oplossing heeft de volgende samenstelling:

- 0,1 gr. Lichtgrün\*);
- 100 cc aqua dest.;
- 0,2 cc ijsazijn.

14. De coupe wordt nu even gedompeld in absolute alcohol en afgevoeld met filtreerpapier. De coupe wordt, zodra ze droog is, onmiddellijk op een objectglaasje gelegd waarop zich een druppel H.S.R.\*\*\*) bevindt. Daarna laat men nog een druppel H.S.R. op de coupe vallen. Onder de loep wordt nog even gecontroleerd of er luchtbellens in het plakmiddel zitten, daarna wordt het dekglasje op de coupe gelegd. Eventueel kan men de coupe onder een wasknijper laten drogen.

N.B. Indien de coupe ongekleurd is gebleven, kan ze gekleurd worden volgens Goldner. Deze methode is elders beschreven (Duursma e.a., 1969). Deze kleuring lukt alleen bij zeer dunne coupes. Wanneer de coupe niet de juiste kleur vertoont, verdient het aanbeveling na de kleuring nog even met fijn schuurpapier na te schuren.

In afb. 7 t/m 20 zijn een aantal voorbeelden\*\*\*) te zien van het histologische aspect van op boven beschreven wijze vervaardigde ontkalkte coupes.

\*) Lichtgrün. (O.P.G., Europalaan 2, Utrecht.)

\*\*) H.S.R. (Salm & Kipp, Keizersgracht 642-644, Amsterdam-C.)

\*\*\*) Deze voorbeelden staan afgebeeld op de pagina's 468 en 469.

### Discussie

De ontkalkte coupes hebben de volgende voordelen boven ontkalkte coupes:

1. glazuur, dentine, cement en pulpweefsel komen tegelijk voor in één coupe;
2. bijzondere structuren, zoals plaque, tandsteen en vulmaterialen blijven bewaard;
3. de coupes zijn geschikt voor fluorescentiemicroscopie en microradiografie;
4. de coupes zijn geschikt voor de bestudering van de uitbreiding van carieuze processen;
5. de coupes zijn geschikt voor het onderwijs.

De ontkalkte coupes hebben de volgende nadelen:

1. van een element kunnen slechts enkele coupes worden gemaakt (2 tot 5 indien men het pulpweefsel erbij wil hebben);
2. in een aantal gevallen treden in de laatste fase van het schuren defecten op.

### Samenvatting:

Een methode wordt beschreven om van gebitselementen, met betrekkelijk eenvoudige apparatuur, dunne ontkalkte coupes te vervaardigen. De voor- en nadelen van deze methode worden besproken.

### Summary:

Title: The preparation of non-decalcified sections of human teeth.

This paper describes a method of preparing these non-decalcified sections of human teeth, with the aid of relatively simple equipment. The advantages and disadvantages of this method are discussed.

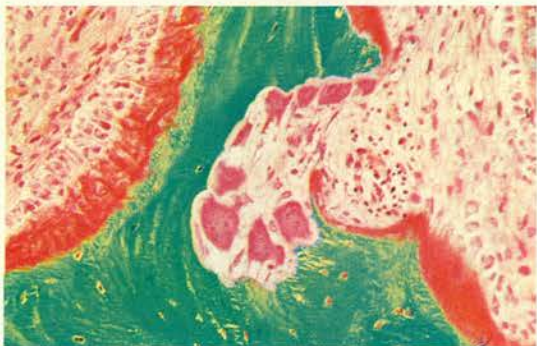
### Literatuur:

1. Duursma, S. A. e.a. (1969): A bone biopsy procedure. Calc. Tiss. Res. 4: 269-273.
2. Mutschelknauss, R. e.a. (1967): Ein Beitrag zur Herstellung Histologischer Präparate nicht entkalkter Zahn- und Kieferpräparate. Deutsche Zahn- Mund- Kieferheilk. 49, 11/12: 437-446.
3. Schenk, R. (1965): Zur histologischen Verarbeitung von unentkalkten Knochen. Acta Anat. (Basel) 60: 3-19.

Adres: Dr. W. J. Visser,  
Ockeghemlaan 1, Bilthoven,  
Drs. H. van den Hul,  
Groenedijk 1a, de Meern,  
Dr. S. A. Duursma,  
Wethouder Schaaplaan 33,  
Bunnik.



Afb. 6 Microtoomcoupe (onontkalkt) van bot uit crista iliaca van een patiënt met een nierlijden (dialyse-patiënt). Duidelijk zijn te onderscheiden gemineraliseerd bot (groen) osteoïd (rood) osteoclasten en osteoblasten. (Goldnerkleuring.)



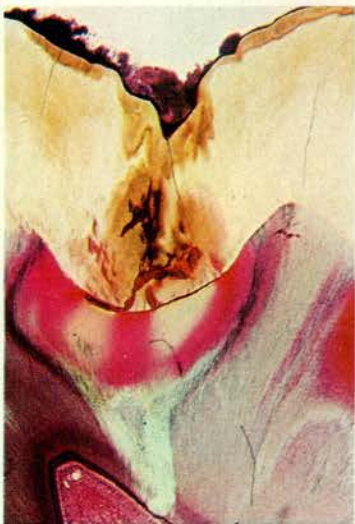
Afb. 6



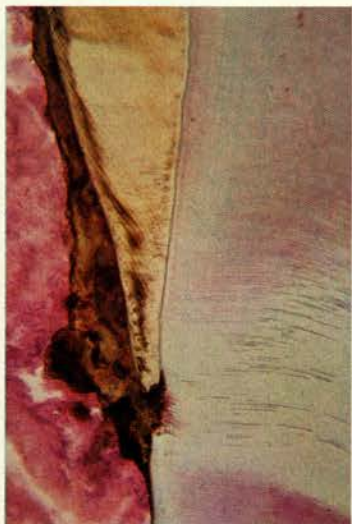
Afb. 7



Afb. 8



Afb. 9



Afb. 10



Afb. 11



Afb. 12



Afb. 13

Afb. 7 Slijpcoupe van een onontkalkt element. Te onderscheiden zijn: glazuur, dentine en pulpaweeftsel. Er zijn twee carieuze defecten. (Basische fuchsine-Lichtgrün.)

Afb. 8 Slijpcoupe. Carieus defect in glazuur en dentine. (Basische fuchsine-Lichtgrün.)

Afb. 9 Slijpcoupe molaar. Carieus proces in glazuur en dentine. Gedemineraliseerd glazuur is bruin gekleurd. Langs de glazuur-dentinegrens breidt het carieuze proces zich uit. In het dentine zijn twee zones te onderscheiden. Het deel waarin de basische fuchsine is binnengedrongen, is mogelijk het deel van het dentine dat gedemineraliseerd c.q. geïnfecteerd is. (Basische fuchsine-Lichtgrün.)

Afb. 10 Slijpcoupe. Plaque, tandsteen en beginnende cariës op de glazuurcementgrens. (Basische fuchsine.)

Afb. 11 Slijpcoupe. Deel van het glazuuroppervlak met plaque en gedemineraliseerd glazuur (bruin) waarin groeijlijnen en dwarsstreping duidelijk is te zien. (Basische fuchsine.)

Afb. 12 Slijpcoupe. Plaque en gedeeltelijke demineralisatie van het oppervlakkige glazuur. In het dentine zijn de interglobulaire ruimten paars gekleurd. De barsten in het glazuur zijn artefacten. (Basische fuchsine-Lichtgrün.)

Afb. 13 Slijpcoupe. Element met amalgaamvulling. Onder de vulling bevindt zich nog carieus dentine. (Basische fuchsine-Lichtgrün.)

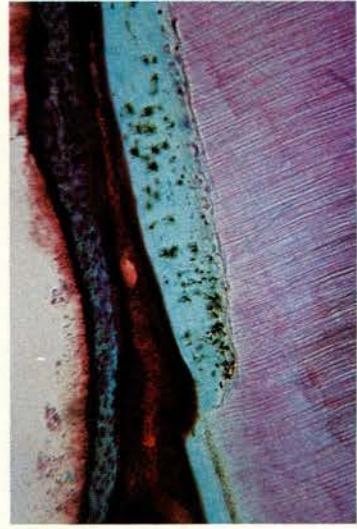




Afb. 14



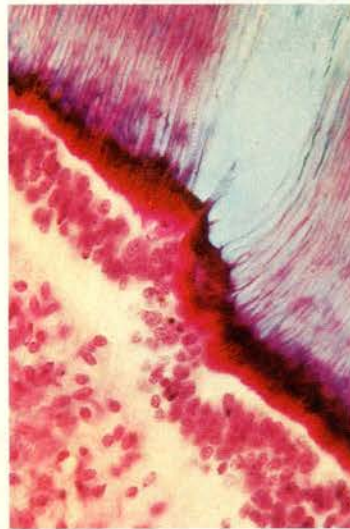
Afb. 15



Afb. 16



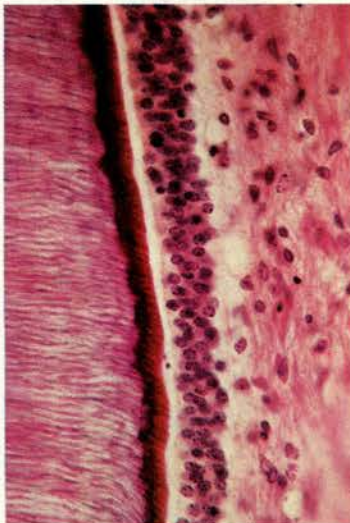
Afb. 17



Afb. 18



Afb. 19



Afb. 20

Afb. 14 Slijpcoupe. Molaar met carieus proces. Er is een beginnende reactief dentinevorming. (Goldner.)

Afb. 15 Slijpcoupe. Tandsteen met plaque. (Basische fuchsine-Lichtgrün.)

Afb. 16 Slijpcoupe. Cement (groen) met cementocytenholten. Het cement vervangt, voor een deel, voorheen geresorbeerd, dentine. (Basische fuchsine-Lichtgrün.)

Afb. 17 Slijpcoupe molaar met enkele carieuze defecten. (Basische fuchsine-Lichtgrün.)

Afb. 18 Deelvergroting afb. 17. De basische fuchsine is niet in de dentinekanaaltjes van de „tract” gedrongen. Er is enige onregelmatigheid in de afzetting van predentine.

Afb. 19 Slijpcoupe. Globulaire mineralisatie van het dentine. (Goldnerkleuring.)

Afb. 20 Slijpcoupe. Dentine, predentine, odontoblasten en pulpaweefsel. Het predentine is paars gekleurd. (Basische fuchsine.)