

# Over microscopische structuren in het tandglazuur \*)

door ir. J. N. Tekenbroek, tandarts

## Inleiding:

In de vorige vergadering van de Vereniging hadden wij het genoegen Dr. P e r d o k aan het woord te horen over submicroscopische structuren van het tandglazuur.

In zijn gewaardeerd betoog, dat men onlangs afgedrukt in het Tijdschrift voor Tandheelkunde (T v T. 1947 blz. 67) nog eens rustig heeft kunnen doornemen, werden wij in kennis gebracht met de elementaire bouwstenen van het anorganische gedeelte van het tandglazuur. Wij werden daarbij in de submicroscopische wereld binnengeleid.

Dr. P e r d o k wees er namelijk op, dat de elementair cellen, waaruit de apatietkristallen in het glazuur zijn opgebouwd, afmetingen hebben van slechts  $\pm 6$  tot 9 Angström, d.w.z. 6 tot 9 tienmillioenste deel van een millimeter. Dergelijke afmetingen liggen ver beneden de grens van hetgeen een gewone microscoop voor het menselijk oog direct waarneembaar kan maken. Het z.g. oplossende vermogen van een microscoop gaat tot een deeltje van uiterlijk 0.2 micron, d.i. 2 tienduizendste millimeter (het blote oog kan deeltjes waarnemen tot ongeveer 70 micron).

Naast het apatiet als bouwsteen van het anorganische gedeelte van het glazuur kennen wij als voornaamste bouwsteen van het organische gedeelte van het glazuur een hoornachtige stof. De submicroscopische structuur en de moleculaire bouw van de ketenvormige moleculen der keratine-achtige organische stof zijn al even interessant als die van het apatiet. Belangwekkend daarbij is bovendien de bestudering van de wijze, waarop deze stof en het apatiet aan elkaar gebonden kunnen zijn. Vanuit de submicrocosmos bouwen deze bouwstenen gezamenlijk de structuren van het tandglazuur op, zoals wij die microscopisch en macroscopisch direct kunnen waarnemen. De studie van de wijze, waarop dit geschiedt, zal ons omtrent het fysiologisch gedrag van het tandglazuur nog veel kunnen leren.

In Zwitserland heeft dit onderwerp dan ook de belangstelling getrokken o.a. van L e i m g r u b e r (Schw. Monatschr. 1946), die daaraan onlangs enige, zij het nog wat hypothetische publicaties gewijd heeft.

Om aldus vanuit het submicroscopische tot een inzicht in de opbouw van het glazuur te komen, zou men een meer moderne weg kunnen noemen. Het is niet de weg van de histologie. De histologie is in haar methode minder atomistisch; zij benadert bij haar onderzoekingen het tandglazuur van een andere zijde. Zij gaat morphologisch en genetisch

\*) Lezing Ver. v. Ned. Tandartsen.

te werk en begint de weg naar de kennis van het glazuur met de studie der tandontwikkeling.

Dit is de in de tandheelkunde meer vertrouwde weg, die wij ook hier zullen volgen door te beginnen met het in herinnering terugroepen, zij het zeer in het kort, van de glazuurvorming gedurende de odontogenese. Het doel van dit betoog is de bekende structuren van het glazuur aan de hand van preparaten naar voren te brengen en daarbij komende op de moeilijkheden, waarvoor het microscopische onderzoek van het glazuur ons stelt, te wijzen op de optische methoden, die ons daarbij te hulp komen. Geëindigd zal worden met het behandelen ener toepassing van fysieke en optische onderzoekingsmethoden voor de oplossing van een praktisch vraagstuk bij de bestudering van het glazuur. Praktisch alle ter illustrering dezer voordracht gebruikte preparaten zijn van vaderlandse bodem; velen er van zijn gemaakt door Dr. O i d t m a n n.

### *Glazuurvorming:*

In de primaire mondbocht vertoont zich in de 5-6 embryonale week een oppervlakkige proleferatie van het epitheel. Voorafgegaan door cilindervormige cellen, dringt het ectodermale mondepitheel, het mesodermale bindweefsel binnen en doet de z.g. tandlijst ontstaan. Aan deze tandlijst vormt zich een tandknop, die over het tandkapstadium uitgroeit tot de tandklok. In dit klokstadium (fig. 1) is de tandkiem geheel omgeven door embryonaal bindweefsel en verliest allengs zijn verbinding met het mondepitheel door resorptie van de epitheelcellen der tandlijst. Het bindweefsel, gelegen binnen de tandklok, vormt de papilla dentis, de bakermat van het dentine. Uit het epitheliale gedeelte van de tandkiem vormt zich het glazuurorgaan, waarbij de epitheelcellen zich in meerdere lagen differentiëren.

In een onlangs in dit Tijdschrift verschenen publicatie over de membraam van N a s m y t h (J. N. T e k e n b r o e k en A. O i d t m a n n, T.v.T. Juni 1947 blz. 223) is hierop uitvoeriger ingegaan.

Een dezer lagen, het inwendige glazuurepitheel (fig. 2) wordt gevormd door de ameloblasten, de glazuurvormers. Uit één ameloblast ontstaat één glazuurprisma, terwijl naar de algemeen aanvaarde opvatting, de interprismatische stof door de intercellulaire ruimten tussen de ameloblasten wordt gevormd.

### *Membraam van N a s m y t h:*

Het eerste structurelement van de doorgebroken en in functie zijnde tand, waarvoor aandacht gevraagd wordt, is de uitwendige glazuurbekleding, de z.g. Membraam van N a s m y t h. Voor een meer gedetailleerde behandeling van deze glazuurbekleding mag verwezen worden naar de zoëven genoemde publicatie in dit Tijdschrift.

N a s m y t h beschreef zijn membraam in 1839 en nam daaraan een tweetal lagen waar; de eerste laag direct op het glazuur gelegen is structuurloos, de tweede laag vertoont duidelijk celstructuren (fig. 3).

De structuurloze laag, die als de primaire glazuurhuid aan te duiden

is, is doorzichtig en heeft een dikte van ongeveer 1  $\mu$ . Meestal treft men op de primaire glazuurhuid grillige vormen (fig. 4), welke veroorzaakt worden door zuurbestendige restanten van de verontreinigingen op de tand. Minder vaak neemt men in de preparaten van de primaire glazuurhuid gedeelten waar, die duidelijk de afdrukken vertonen van de uiteinden der glazuurprisma en van andere structuren op het glazuerooppervlak, de perikymaties (fig. 5).

De primaire glazuurhuid bevindt zich op alle doorgebroken tanden. In de loop der jaren verdwijnt zij door mechanische invloeden o.a. door de kauwfunctie, zodat men deze glazuurbekleding niet meer op alle elementen aantreft.

De secundaire glazuurhuid bezit duidelijke celstructuren (fig. 6). Het zijn de restanten van de epitheelcellen, die bij de doorbraak door onvoldoende afstroping op het glazuur kunnen blijven liggen.

Deze cellen zijn afkomstig van het zogenaamde verenigd in- en uitwendig glazuurepitheel. De secundaire glazuurhuid is in onderscheid met de primaire glazuurhuid geen constant deel van de glazuurbekleding. In de meeste preparaten van de met zuur losgeprepareerde glazuurhuid is zij niet te vinden. Het kost inderdaad moeite om deze celstructuren te vinden.

#### *Hunter Schregerse lijnen:*

Het tandglazuur is histologisch opgebouwd uit glazuurprisma's, die alle ononderbroken van de glazuurdentinegrens naar het glazuerooppervlak verlopen. Deze prisma's hebben dus een lengte ongeveer gelijk aan de dikte van de glazuurlaag ter plaatse.

De breedte der prisma's ligt in de buurt van 4  $\mu$ . Ze zijn dus met het blote oog niet waarneembaar; daartoe zouden zij ongeveer 20 maal breder moeten zijn.

Beschouwt men een geslepen glazuerooppervlak met het blote oog dan neemt men daaraan een tweetal strepingen waar, de z.g. Hunter Schregerse lijnen en de Retziusstrepen.

Geen van beide wordt veroorzaakt doordat het glazuur ter plaatse gekleurd is of anderszins; het zijn beide demonstraties van optische verschijnselen.

De Hunter Schregerse lijnen zijn breed en verlopen met een bocht naar de cervicale rand toegekeerd van het dentine naar het glazuerooppervlak (fig. 7, 8 en 9). De Retziusstrepen zijn meer scherpe lijnen en verlopen van het dentine in meer opgaande richting naar het glazuerooppervlak (fig. 9, 14 en 18).

Wat betreft de Hunter Schregerse lijnen is iedereen het er over eens, dat deze veroorzaakt worden door de wijze waarop de glazuurprisma's in het slijpvlak gesneden zijn en wel afwisselend overlangs en dwars (fig. 10). De prisma's namelijk verlopen niet als rechte lijnen van het dentine naar het glazuerooppervlak maar als gegolfde lijnen (fig. 11). Hierdoor worden zij door een willekeurig slijpvlak afwisselend transversaal en longitudinaal gesneden, hetgeen in het schema van fig. 12

duidelijk naar voren komt. Het opvallende licht wordt in deze elkaar afwisselende zone's op verschillende wijze teruggekaatst en dit nemen wij waar als de Hunter Schregerse lijnen.

### *Retziusstrepen:*

Over de oorzaak der Retziusstrepen bestaat reeds minder eenheid van opvatting. Een bespreking daarvan brengt ons naar een van de vele optische problemen bij het microscopische onderzoek van het glazuur. Was de oorzaak van de Hunter Schregerse lijnen direct voor een ieder duidelijk aan te wijzen, dit is niet het geval bij de Retziusstrepen. Men moet een verklaring zoeken door een beredeneerde interpretatie van het microscopische beeld.

Het microscopische onderzoek van het glazuur is vol van optisch bedrog. Dit wordt voornamelijk veroorzaakt door het feit, dat geen dunne glazuurpreparaten te maken zijn.

Bij de tot nu toe daarbij gevolgde methoden is men reeds vaardig als men het brengt tot een dikte van enige tientallen microns en waar de dikte van een glazuurprisma, zoals reeds medegedeeld, ongeveer 4 micron bedraagt, is zo'n preparaat nog altijd een half dozijn tot een dozijn prisma's dik. Dit geeft zowel bij doorvallend als bij opvallend licht aanleiding tot allerlei bedriegelijke beelden door buiging en breking van het licht.

Voor het verloop van de Retziusstrepen door het glazuur zij verwezen naar de figuren 9, 12, 13, 17, 18 en 20.

Doch niet alleen de dikte van de glazuurcoupes brengt de moeilijkheden bij het glazuuronderzoek. De stoffen waaruit het glazuur is opgebouwd verschillen niet veel in brekingsindex, waardoor de inwendige structuren niet tot uitdrukking komen onder het microscoop.

En tot overmaat van ramp laat het glazuur zich moeilijk kleuren.

Slechts de aanwezige organische stof neemt wat kleurstof op maar zowel in de prisma's als in de interprismatische stof zijn door kleuring praktisch geen structuren naar voren te brengen. Men kan vaststellen, dat om al deze redenen het gewone microscoop wel te kort moet schieten bij het onderzoek naar de fijnere structuren van het glazuur.

Het is inderdaad te kort geschoten want wij weten van de fijnere structuren in het glazuur feitelijk nog niets zekers af. De opvattingen staan soms lijnrecht tegenover elkaar en vaak zijn aanwijsbare onjuistheden, berustende op verkeerde interpretatie van de optische beelden naar voren gebracht. Het glazuuronderzoek kan slechts geschieden in over moderne optische instrumenten beschikkende laboratoria en met medewerking van in de wetenschappelijke optica bedreven onderzoekers.

Alvorens over te gaan tot het wijzen op moderne optische methoden, die bij het glazuuronderzoek tegenwoordig reeds toepassing vinden en verder zullen vinden, keren wij eerst terug tot de Retziusstrepen. Daarvoor is evenwel nodig, dat het principe van het polarisatiemicroscoop

kort toegelicht wordt aangezien enkele van de volgende preparaten met behulp daarvan zijn opgenomen.

Bij gewone microscopie passeert normaal licht het object, bij polarisatie-microscopie is in het belichtingsapparaat als polarisator een nicol opgenomen, waardoor gepolariseerd licht het object passeert, d.w.z. licht dat slechts in één bepaalde richting trilt. Tussen objectief en oculair wordt nu eveneens een nicol toegevoegd, die als de analysator wordt aangeduid en die om zijn lengte-as kan draaien. Draait men nu de analysator  $90^\circ$  t.o.v. de polarisator dan staan de nicols gekruist en zal, indien er geen object onder het microscoop ligt, geen licht waar te nemen zijn door het microscoop. Bevindt zich een voorwerp onder het microscoop waarin stoffen aanwezig zijn, die anisotroop zijn, dan veroorzaken die een wijziging in de polarisatie-toestand van het doorgelaten licht, waardoor bij de gekruist staande analysator toch een deel van het licht doorgelaten wordt. Hierdoor demonstrenen dergelijke stoffen hun aanwezigheid in het object en kunnen wij het een en ander van hun structuur daarin waarnemen.

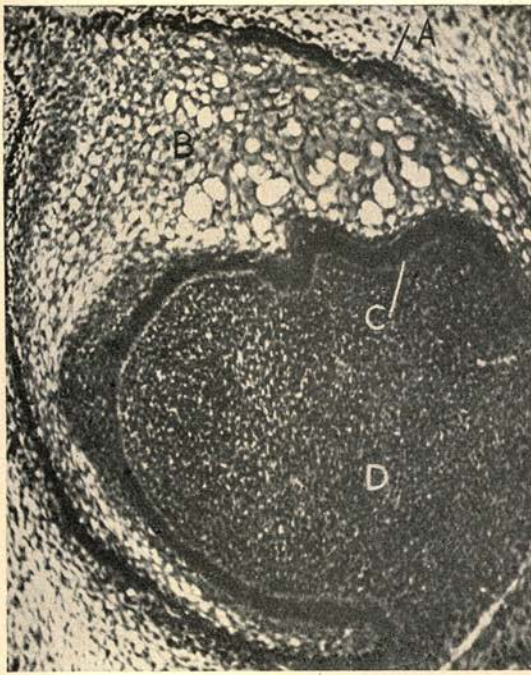
Richten wij thans onze aandacht op de Retziusstrepen. De gebruikelijke verklaring van deze strepen brengt ze in verband met een rythme in de verkalking van de glazuurprisma's.

Onder bepaalde belichtingsomstandigheden kan men in de prisma's dwarsstrepingen onderscheiden (fig. 15 en fig. 16), die men door een lichte etsing van het preparaat door zuren sterker naar voren kan brengen. Een prisma blijkt dus niet geheel homogeen in samenstelling te zijn. Er komen afwisselend plaatsen in voor met andere lichtbreking en die meer of minder bestand zijn tegen zuurwerking. Ook onder het polarisatiemicroscoop komt de dwarsstreping tot uiting (fig. 14), hetgeen eveneens wijst op een verschil in samenstelling, mogelijk op een wisselend gehalte aan organische stoffen in het prisma.

Men meent, dat bij verkalking gedurende odontogenese in de prisma's meer en minder verkalkte gebieden elkaar in een bepaald rythme (dag en nacht?) afwisselen. Een zekere samenhang, die men in de preparaten tussen de Retziusstrepen en de dwarsstreping der prisma's meent waar te nemen (beide worden b.v. door een lichte zuuretsing of bij begin van caries geprononceerder) is een van de redenen, die tot de door velen aangehangen zienswijze gevoerd heeft, dat deze beide strepingen met elkaar in verband staan. Beide zouden, zoals reeds opgemerkt, hun oorzaak hebben in een rythme bij de verkalking.

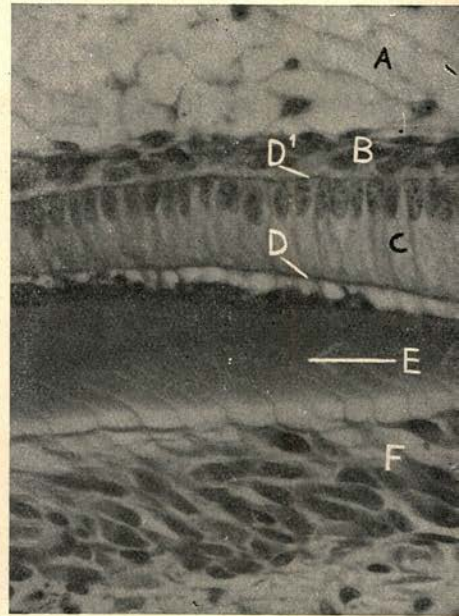
In een recente publicatie wijst Gustafson nog eens op een andere verklaring, die zich aan de figuren 17 en 18 ontleent en zijn publicatie kort laat toelichten. Een plotselinge gelijke en regelmatig terugkerende richtingswijziging in het verloop van alle prisma's gedurende de groei kan ons ook een verklaring van de Retziusstrepen brengen. De vrij scherpe aftekening van de Retziusstrepen en het beeld, dat zij onder het polarisatiemicroscoop geven, verlenen steun aan deze opvattingen.

Dr. Perdok, die zich voor ons met het polarisatie-onderzoek van



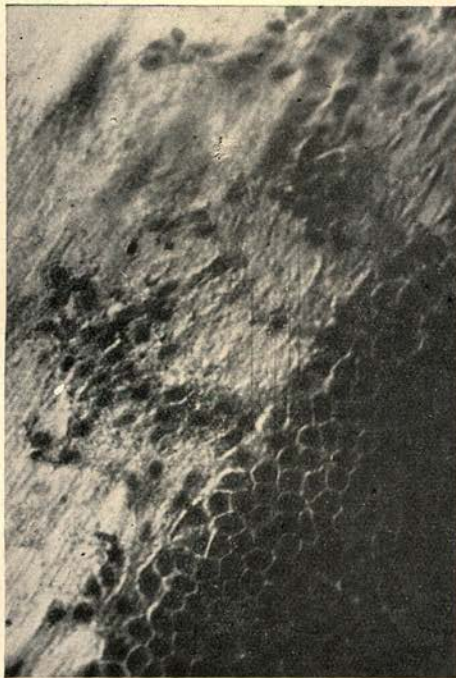
Afb. 1

Tandklokstadium. A. uitwendig glazurepitheel. B. Reticulum stellate. C. Inwendig glazurepitheel. D. Papilla dentis



Afb. 2

Ameloblasten bij begin der glazuurvorming. A. Reticulum stellate. B. Stratum intermedium. C. Ameloblasten. D. en D'. Sluitrand membranen. E. Jong dentine. F. Odontoblasten



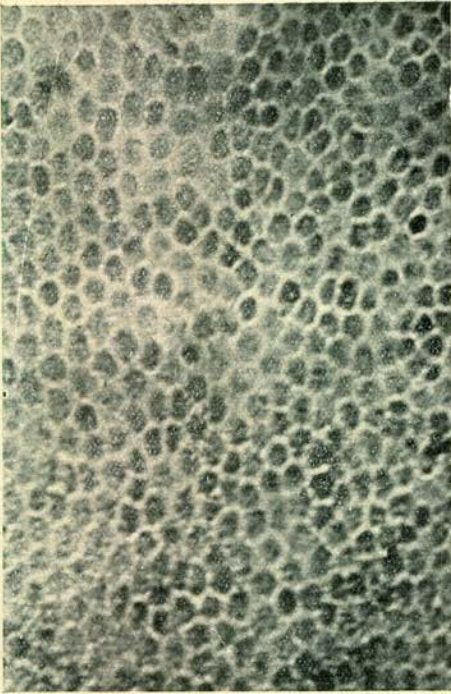
Afb. 3

Membraam van Nasmyth. Bovenste gedeelte de structuurloze laag en onderaan daarop de celstructuren van de tweede laag

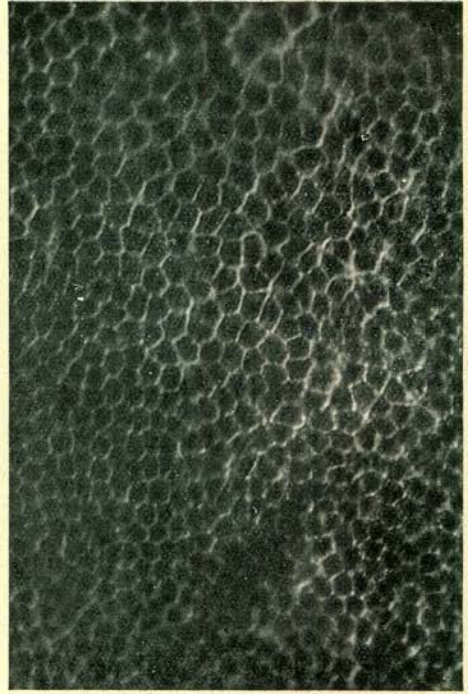


Afb. 4

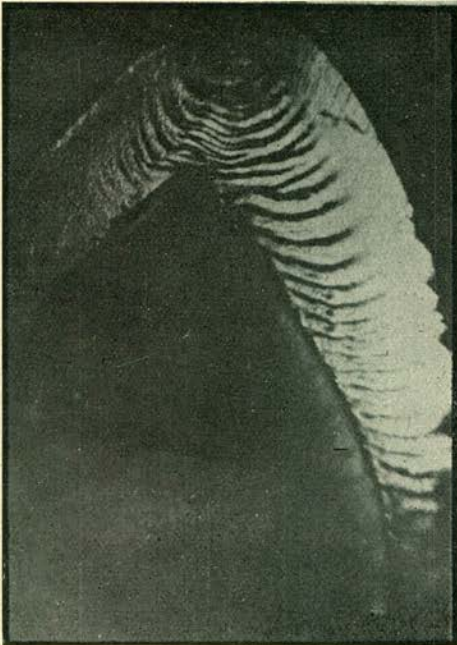
Structuurloze doorzichtige primaire glazuurhuid met daarop de zuurbestendige restanten van verontreinigingen op de tand



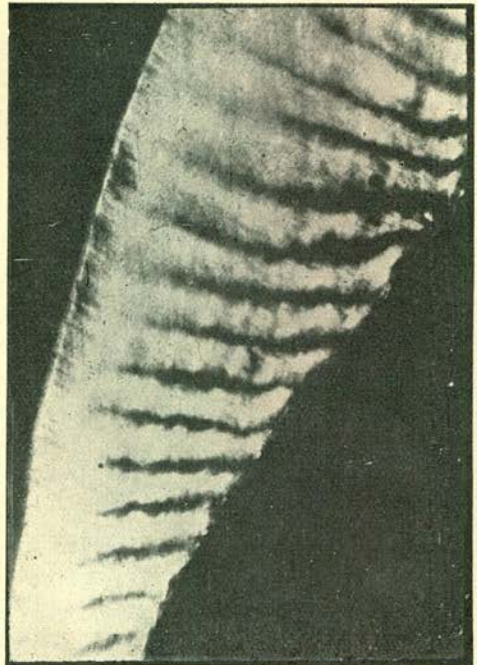
Afb. 5  
 Primaire glazuurhuid met fraaie afdrukken van de uiteinden der glazuurprisma's



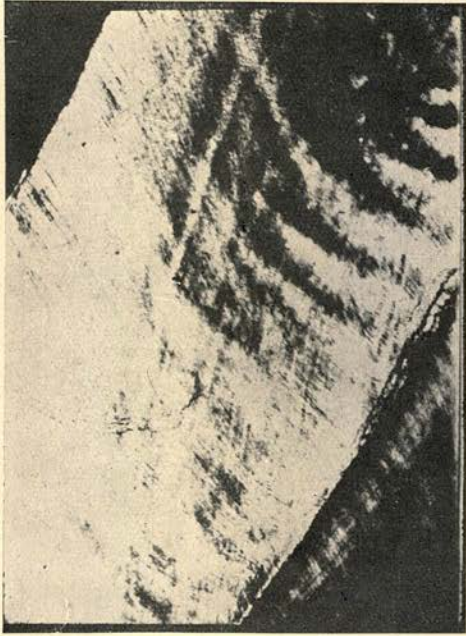
Afb. 6  
 De celstructuren, restanten van het verenigd in- en uitwendig glazuurepitheel, der secundaire glazuurhuid



Afb. 7  
 Verloop van de Hunter Schregerse lijnen met behulp van polarisatie microscopie naar voren gebracht bij een ongekleurd preparaat



Afb. 8  
 Eveneens Hunter Schregerse lijnen onder het polarisatiemicroscop



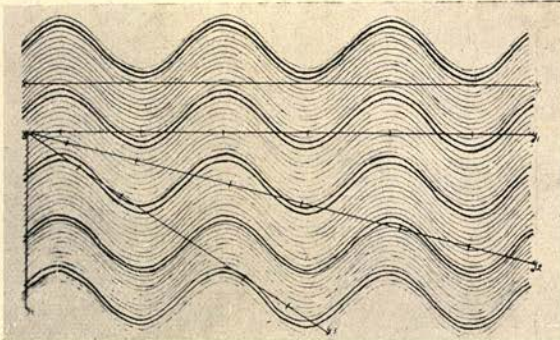
Afb. 9

Naast de Hunter-Schregerse lijnen treft men in dit preparaat een flauwe aanduiding van de Retziusstrepen in meer incisaalopende richting



Afb. 10

Hunter-Schregerse lijnen. Duidelijk zijn de prisma's afwisselend transversaal en longitudinaal gesneden



Afb. 11

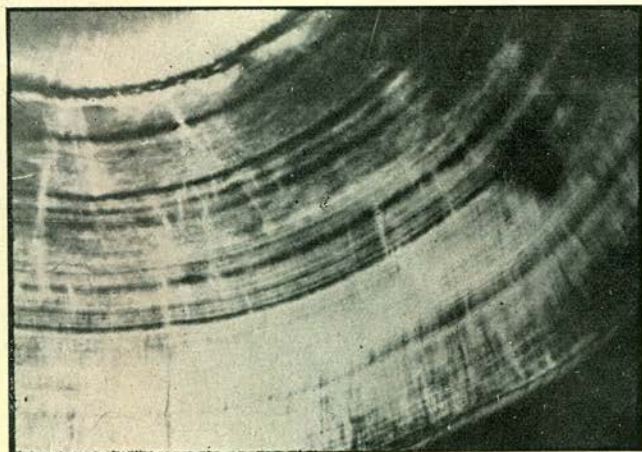
Schema, ontleend aan Gustafson, ter verklaring van het ontstaan der Hunter-Schregerse lijnen



Afb. 12

Retziusstrepen verlopen in slijpvlakken, die evenwijdig zijn aan de as van de tand in min of meer cervicaal-incisale richting (polarisatie-microscopische opname)





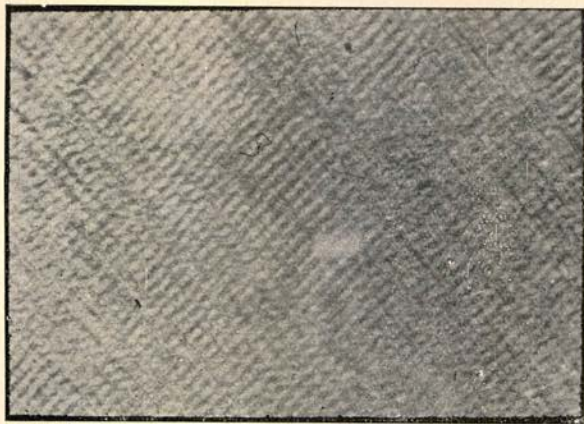
Afb. 13

Retziusstrepen verlopen in slijpvlakken loodrecht op de as van de tand, concentrisch om de glazuurdentinegrens

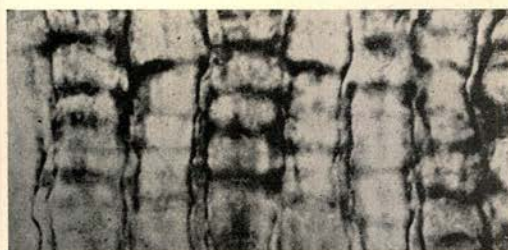


Afb. 14

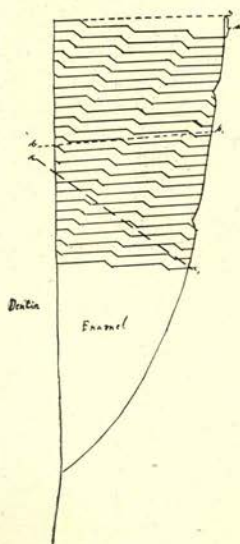
Retziusstrepen en dwarsstreping van de prisma's onder het polarisatiemicroscop



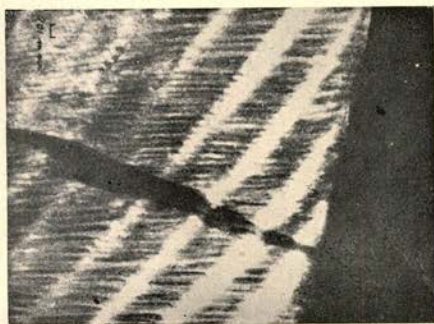
Afb. 15  
Dwarsstreping van de prisma's in het tandglazuur



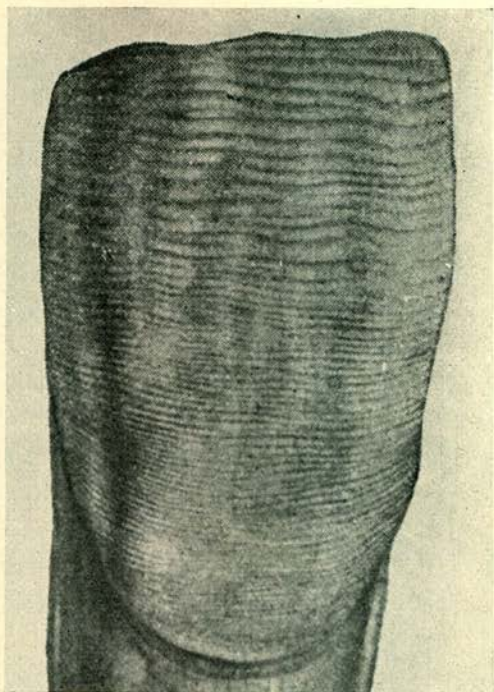
Afb. 16  
Dwarsstreping van glazuurprisma's onder grotere vergroting.  
Tussen de prismascheden ziet men hier duidelijk een bredere  
laag interprismatische stof



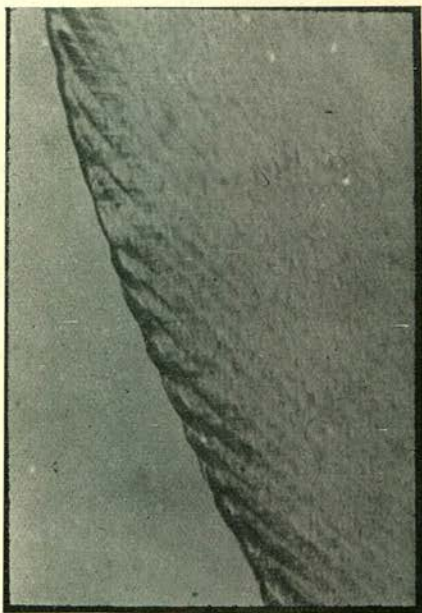
Afb. 17  
Schema, ontleend aan de publicatie  
van Gustafson hoe men zich  
door plotselinge gezamenlijke wijzi-  
ging in het verloop van de prisma's,  
het ontstaan der Retziusstrepen kan  
voorstellen



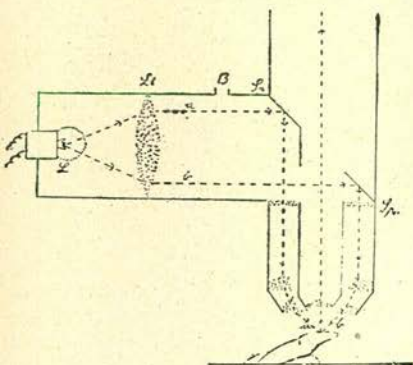
Afb. 18  
Een slijppreparaat van Gustafson, dat hij ter  
ondersteuning van deze zienswijze aanvoert



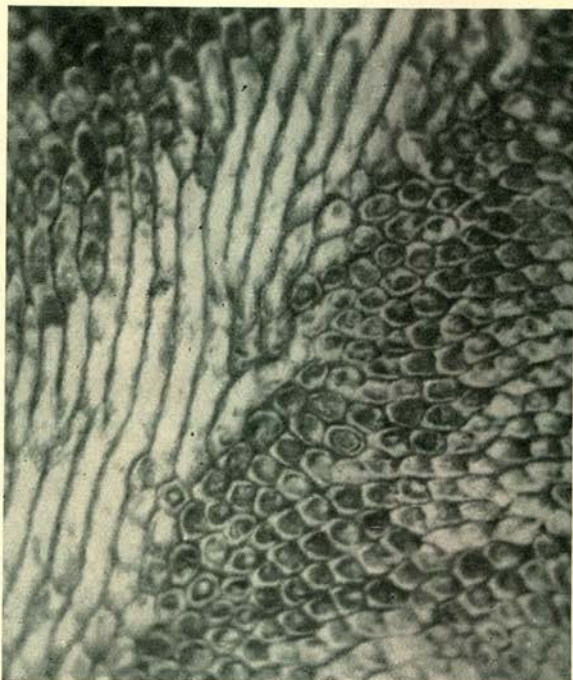
Afb. 19  
Perikymaties op het tandoppervlak (ontleend aan Preiswerck)



Afb. 20  
De samenhang van de perikymaties met de Retziusstrepen



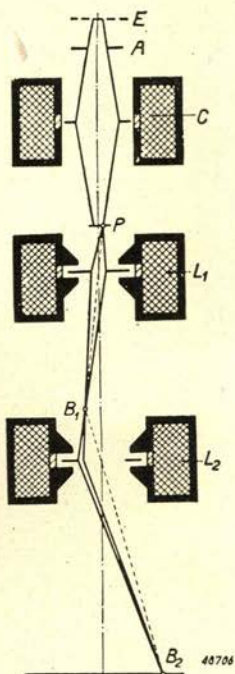
Afb. 21  
Schema van de stralengang bij de Ultrapak der firma Leitz



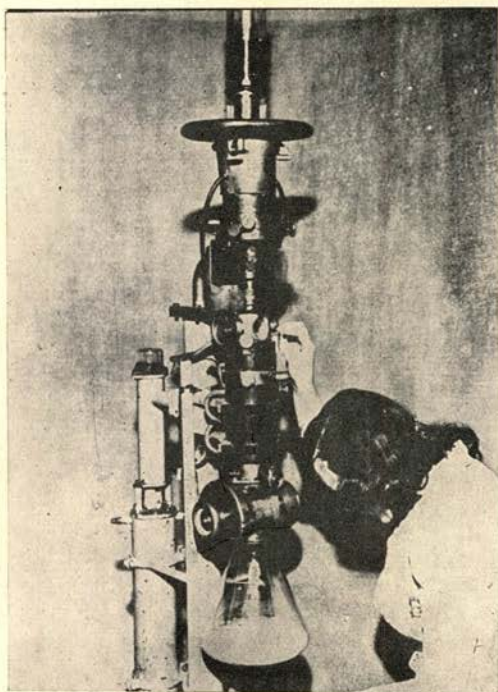
Afb. 22  
Transversaal en longitudinaal doorsneden prisma's bij Hunter Schregerse lijnen; opname met behulp van Ultrapak



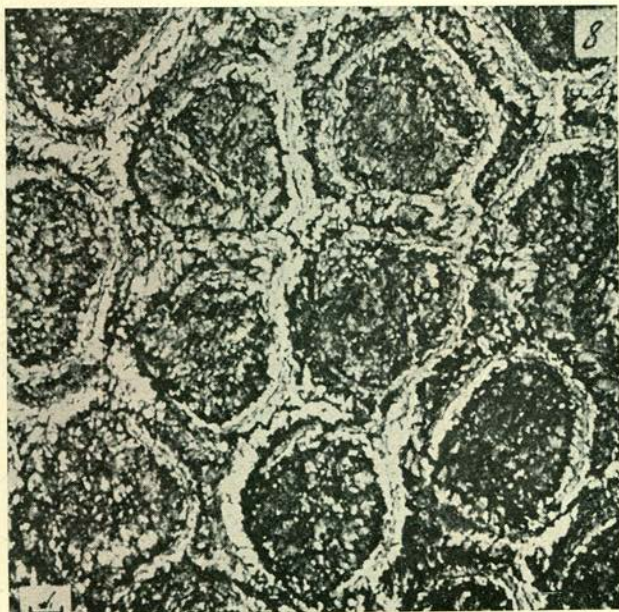
Afb. 23  
 Transversale doorsnede van Prisma's, opgenomen met het Ultrapak



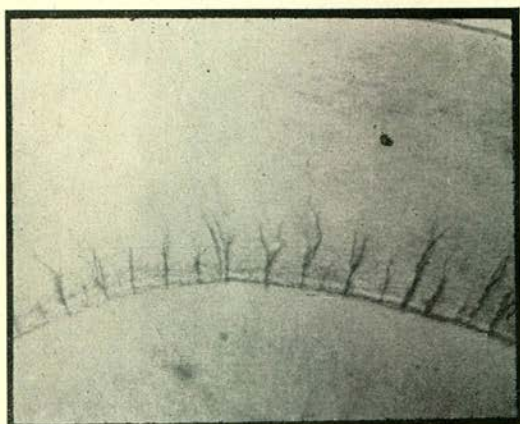
Afb. 24  
 Schema van de stralengang bij het electronen-microscop. E, electronenbron; A, diafragma; C, magnetische condensor; P, object; L<sub>1</sub>, magnetische „objectief”; L<sub>2</sub>, magnetisch „oculair”; B, beeld op fluorescentscherm of fotografische plaat



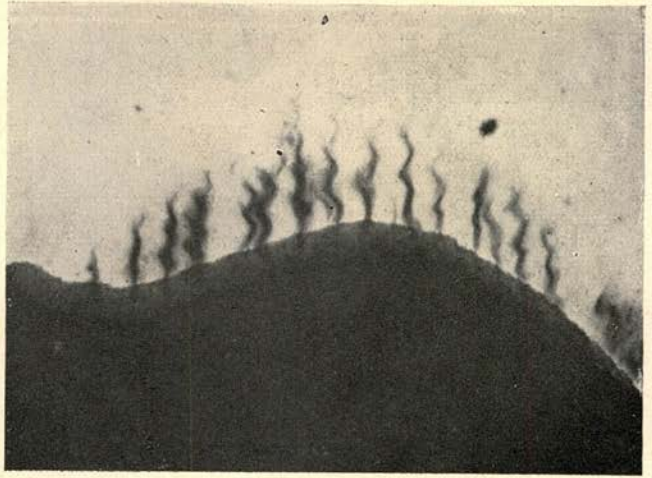
Afb. 25  
 Electronen-microscop. Bovenaan electronenbuis, onderaan glazen kolf met op de bodem fluorescerende stof



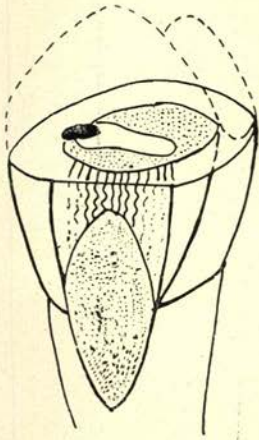
Afb. 26  
Opname met het elektronen-microscop van transversaal doorsneden  
glazuurprisma's



Afb. 27  
Tufts in een gekleurd slijpparaat



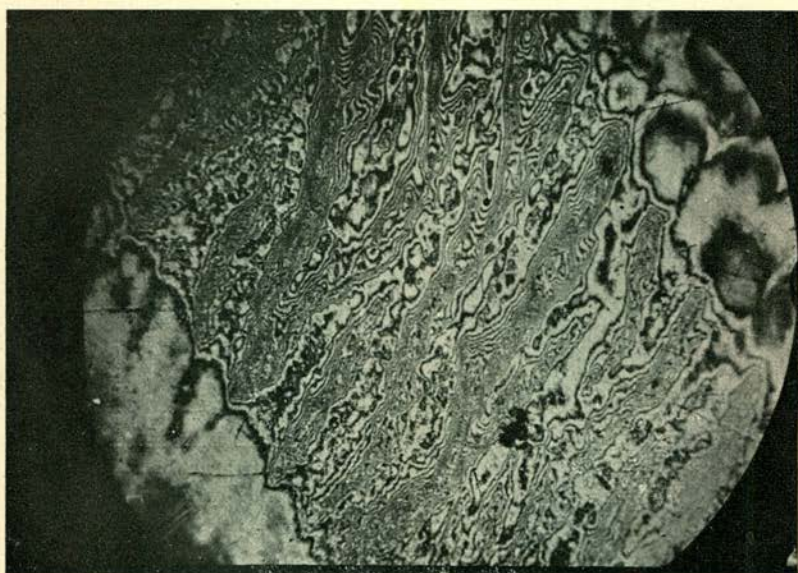
Afb. 28  
Tufts in een ontkalkt preparaat



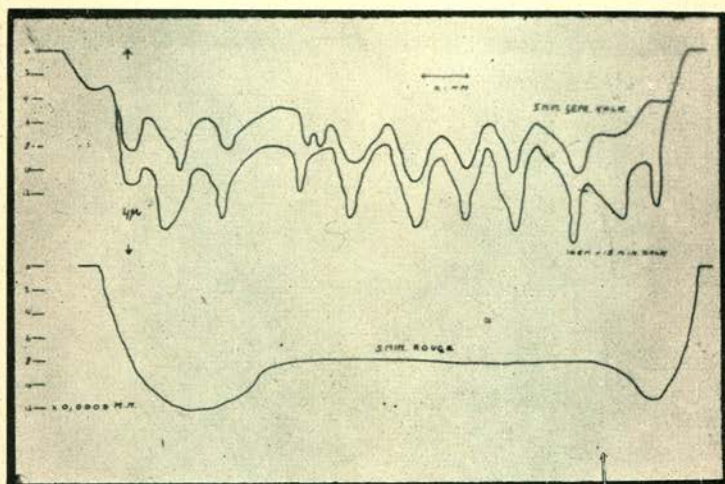
Afb. 29  
Schema van het verloop der tufts  
door het glazuur. Ontleend aan  
Gustafson



Afb. 30  
Interferentiebeeld van een met een slijpmiddelsuspensie geborsteld glazuur-  
oppervlak. (Afslijptype b uit afb. 32)



Afb. 31  
 Interferentiebeeld van een met een slijpmiddelsuspensie geborsteld glazuerooppervlak. (Afslijptype a. uit afb. 32)



Afb. 32  
 In tekening gebrachte slijpfiguren op het glazuerooppervlak. De lijnen a geven de gegolfde afslijping, zoals b.v. sommige krijtsorten veroorzaken. De lijn b geeft een ander type afslijping en wel met vlakke bodem, zoals b.v. polijstrood veroorzaakt

het glazuur bezig houdt en van wie o.a. de hier afgebeelde polarisatie-opnamen zijn, meent eveneens op optische gronden aanwijzingen te hebben dat in een gelijktijdige richtingsverandering der prisma's een mogelijke verklaring der Retziusstrepen kan gevonden worden.

Aan het glazuerooppervlak demonstreren de Retziusstrepen zich in de z.g. perikymaties (fig. 19 en 20) en zoals uit het schema (fig. 17) van Gustafson blijkt, kan hij deze met zijn opvatting in overeenstemming brengen.

### *Prisma doorsnede:*

Evenals bij het onderzoek van metalen wordt bij het microscopisch onderzoek van het tandglazuur gebruik gemaakt van opvallend licht.

Ook de metallurg staat voor het probleem, dat er geen dunne en doorschijnende coupes te maken zijn van zijn objecten. Hij polijst daarom zijn te onderzoeken metalen tot hoogglans en etst vervolgens deze oppervlakken met zuur.

De verschillende bestanddelen van het te onderzoeken metaalalliage worden daarbij met verschillende snelheid aangetast, waardoor de kristalstructuren in relief naar voren treden. Het gebruik van opvallend licht bij het microscoperen doet door schaduwwerking deze structuur duidelijker waarnemen.

Dezelfde methode vindt, zoals gezegd, bij het glazuuronderzoek toepassing. De prisma's, de interprismatische stof en de meer organische prisma-scheden worden op verschillende wijze door het zuur aangetast, waardoor de structuren zich duidelijker vertonen.

Een geperfectionneerd optisch instrument, dat alle belichtingsmogelijkheden bij het opvallende licht ten volle tot uiting kan laten komen is de Ultrapak van de firma Leitz.

In fig 21 wordt het principe van dit belichtingsapparaat schematisch aangegeven. Het lenzenstelsel a. is verstelbaar waardoor men de stralen in iedere gewenste hoek op het object kan laten vallen. Bovendien kan men door afscherming het licht van een of van meerdere zijden laten opvallen.

Het is een vrij modern apparaat en er zijn nog weinig publicaties verschenen over daarmee verrichte glazuuronderzoekingen. Men kan er zowel geëtste als gekleurde glazuerooppervlakken mede bestuderen.

In de figuren 22 en 23 worden enige door Dr. K e u n i n g, Conservator van het Histologisch Instituut der R.U. te Groningen, vervaardigde Ultrapak-opnamen gegeven van dwars doorgesneden prisma's en een detailbeeld van de Hunter Schregerische lijnen. Het zijn preparaten van menselijk glazuur vervaardigd door Dr. O i d t m a n n. Dat men zich de transversale prisma-doorsnede niet steeds zo hexagonaal moet voorstellen, komt in deze preparaten naar voren en ook dat zich tussen de prisma's in een behoorlijke dikte aan interprismatische stof kan bevinden, valt hier en daar waar te nemen. Hiervoor kan ook verwezen worden naar de figuren 16 en 27.



## *Phasen-contrast en fluorescentie microscopie:*

Door het microscoop kijkende is het menselijke oog in staat om de voorwerpen in een object, die verschillend gekleurd zijn, duidelijk naast elkaar te onderscheiden. Het menselijk oog is kleurgevoelig d.w.z. gevoelig voor het verschil in golflengte van het zichtbare licht. Eveneens kan men de structuren van een object onder het microscoop duidelijk onderscheiden als er gedeelten zijn, die meer en andere, die minder licht doorlaten. Het menselijk oog is n.l. ook gevoelig voor de intensiteit van het licht. De intensiteit hangt samen met de energie van de lichtstraal. Hoe sterker het licht, hoe groter de uitslag, de amplitudo, van de aethertrillingen.

Nu kunnen lichtstralen niet alleen verschillen in kleur d.w.z. golflengte en in intensiteit d.w.z. amplitudo, maar er is nog een andere eigenschap, waarin zij kunnen verschillen en wel in phase. Voor het phaseverschil is het menselijk oog niet gevoelig. Dit is jammer want als licht door een voorwerp onder het microscoop gaat, kan het naast kleur- en intensiteitsverschillen, ook phasenverschillen krijgen en wel doordat zich in het object stoffen kunnen bevinden met verschillende brekingsindex. Waren wij dus ook in staat die phasenverschillen van elkaar te onderscheiden, dan zouden wij naast de kleur en de intensiteit nog een derde middel hebben om structuren in het voorwerp te onderscheiden.

Het phasecontrast-microscoop van Zernike bezit een optisch systeem, waarin een phaseverschil omgezet wordt in een amplitudoverschil, dus intensiteitsverschil. Daardoor is het mogelijk gemaakt om de structuren, die phasenverschillen geven, toch aan ons oog zichtbaar te maken. Dit waardevolle, men mag wel zeggen geniale optische instrument van onze landgenoot Prof. Zernike, wordt reeds met succes toegepast bij de studie van de levende cel en draagt nog vele beloften in zich.

Ook voor de bestudering van structuren in het glazuurprisma dringt zich deze methode op, aangezien een prisma zich moeilijk laat kleuren of anderszins. In de literatuur is nog nooit een dergelijk onderzoek gepubliceerd.

Wij hebben enige tijd geleden Dr. Keuning, Conservator van het Histologisch Laboratorium te Groningen, bereid gevonden — na verkregen toestemming van Prof. de Haan — glazuuronderzoekingen met het phasecontrast-microscoop te doen. De dikte van het glazuurprisma ( $4 \mu$ ) is een grote hinderpaal.

Indien er in geslaagd wordt bruikbare resultaten met deze optische methode te bereiken, dan zal daarover gepubliceerd worden.

Een andere optische methode, die bij het glazuuronderzoek toepassing vindt, is fluorescentie-microscopie. Zij berust op het verschijnsel, dat, als sommige stoffen door Ultraviolet-licht getroffen worden, zij de energie van dit voor ons oog niet zichtbare licht in zich opnemen en lichtstralen gaan uitzenden, waarvan de golflengte wel binnen het zichtbare deel van het spectrum valt. Bevinden zich dergelijke stoffen

in een object onder het microscoop dan zullen deze hun aanwezigheid en structureel verband aan ons oog demonstreren indien men ultravioletlicht als belichtingsbron neemt.

En inderdaad blijkt de in het glazuur aanwezige organische stof de eigenschap te bezitten in ultraviolet licht en wel met een blauwe kleur te fluoresceren. De organische stof wordt in ultraviolet licht als het ware lichtgevend en demonstreert daardoor onder het microscoop haar fijnere structuren in het glazuur op fraaie wijze. Over deze methode van onderzoek van het glazuur zijn in de literatuur publicaties verschenen. Naast haar aanwezigheid in de prismascheden blijken zowel in de prisma's als in de interprismatische stof fijne vezels van organische stof aanwezig te zijn. De organische stof komt dus niet in scherp te onderscheiden gedeelten voor maar doortrekt het gehele glazuur.

In het laboratorium van Prof. B r i n k m a n te Groningen zijn wij oriënterend met dit fluorescentie-onderzoek bezig geweest. Wij hadden nog niet de beschikking over de juiste apparatuur om reproduceerbare resultaten te verkrijgen doch hopen daartoe later in staat te zijn.

### *Electronen microscopie:*

Het electronen-microscoop staat op het ogenblik nog al in de algemene aandacht, zodat U er mogelijk wel eens over gelezen zult hebben in een of ander tijdschrift.

Electronenstralen bezitten golflengten (0.1 A bij 150 V), die te klein zijn om in glazen lenzen gedispergeerd en gebroken te worden, om zodoende tot beeldvorming te worden gebracht. Bij de ons meer vertrouwde Röntgenstralen is dit eveneens het geval; Röntgenstralen zijn ook niet door lenzen te bundelen. Doordat echter een electronenstraal bestaat uit een stroom van geladen elektrische deeltjes (electronen) doet zich hier een andere fysieke mogelijkheid voor.

Laat men deze stroom van electronen door een magnetisch veld lopen dan wordt de electronenstraal daarin gebroken zoals het gewone licht door de lichtbreking in glazen lenzen. Bij de electronen-microscopie wordt van dit verschijnsel gebruik gemaakt en in plaats van glazen worden hier als het ware magnetische lenzen toegepast om tot de beeldvorming te komen (fig. 24 en 25). Deze beelden echter zijn niet direct voor het menselijk oog waarneembaar maar hiervoor moet evenals bij Röntgenstralen de bemiddeling worden ingeroepen van de fotografische plaat of het fluorescentiescherm.

Electronenmicroscopie doet thans een zegetocht door alle wetenschappelijke gebieden. Doordat de hierbij gebruikte golflengten zoveel kleiner zijn dan van het gewone licht, laten zich veel kleinere dimensies oplossen in de te onderzoeken objecten, waardoor tot nu toe niet gekende fijnere structuren daarin te voorschijn komen. In de recente Amerikaanse literatuur vindt men reeds enkele publicaties over het onderzoek van tandweefsels met behulp van het electronenmicroscoop (fig. 26).

Ons land bezit in Delft als onderdeel van de organisatie T.N.O.

(Toegepast Natuurwetenschappelijk Onderzoek) het zeer te waarderen Instituut voor Electronen Microscopie, dat zich gedurende de oorlog, afgesloten zijnde van buitenlands wetenschappelijk contact, op baanbrekende wijze heeft ontwikkeld en daarmee veel respect in het buitenland heeft afgedwongen.

Bij de T.N.O. te Delft loopt op het ogenblik een onderzoek, waarop straks teruggekomen wordt, dat in verband staat met tandglazuur.

Een medewerker aan dit onderzoek, Ir. E h r h a r d t, is bezig in samenwerking met het Instituut voor Electronenmicroscopie de mogelijkheid na te gaan van electronen-microscopie ten dienste van dit glazuuronderzoek. Dit onderzoek is nog niet zover, dat thans resultaten getoond kunnen worden. Maar mogelijk zal het Uw belangstelling hebben het een en ander te vernemen over de bij dergelijke onderzoeken gevolgde methoden.

Van een tandoppervlak wordt een afdruk genomen, hetzij door er een kunsthars op te persen, hetzij met behulp van één collodiumvliesje. De eerste methode is bij de Amerikaanse onderzoeken toegepast. Van de kunsthars-afdruk wordt weer een positief model gemaakt door er in hoog vacuum een uiterst dun laagje kwarts op te sublimeren en het aldus gevormde dunne vliesje door oplossing van de kunsthars daarvan te verwijderen. Dit dunne kwartsvliesje is direct bij het electronenmicroscop te gebruiken. Figuur 26 geeft het aldus verkregen beeld van tandglazuur van een hond. Deze figuur is ontleend aan een Amerikaanse publicatie. Naast deze methode probeert Ir. E h r h a r d t de methode uit van het afdruk nemen met behulp van collodium. Om de relieftekening op het vliesje beter te doen uitkomen wordt getracht daarop nog het volgende hulpmiddel toegepast. In hoog vacuum wordt vanuit een bepaalde richting een metaal op het vliesje gestoven. Hierdoor ontstaat een schaduwwerking, die wij zouden kunnen vergelijken met het schuin opvallende licht bij het zoëven besproken Ultrapak.

Wij bereiken met dit onderzoek in ieder geval, dat de methodiek voor electronen-microscopische onderzoeken van tandweefsels voor ons land toegankelijk gemaakt worden.

#### *Tufts en lamellen:*

Keren wij tot het glazuur terug.

Interessante structuren in het glazuur zijn de tufts en de lamellen. Tufts is de Engelse benaming — de Duitsers noemen het Büschel — een Hollandse naam zou borsteltjes kunnen zijn. Doch deze naam is minder wenselijk aangezien daardoor een verkeerd beeld van deze structuren gesuggereerd wordt. Het zijn geen borsteltjes van organische stof, alhoewel het er in gekleurde slijppreparaten of ontkalkte preparaten naar uitziet, dat er *inderdaad* borstelvormige structuren van de glazuurdentinegrens af zich in het glazuur uitstrekken (fig. 27 en 28).

In werkelijkheid zijn het zones, gelegen in vlakken, die door de lengte-as van de tand gaan en die zich golvend door het glazuur bewegen (schema fig. 30). Deze zones zijn rijker aan minder verkalkte

glazuurbestanddelen — of, wat hetzelfde is — rijker aan organische stof. Men moet zich niet voorstellen, dat de organische en anorganische stof in het glazuur scherp van elkaar gescheiden voorkomen. Alle glazuurbestanddelen, ook de meest organische, zijn doortrokken van organische stof, b.v. in de glazuurprisma's zelf kunnen met behulp van fluorescentie-microscopie met ultraviolet licht — zoals wij reeds opgemerkt hebben — strengen van organische stof aangetoond worden.

Aan de omtrek van de prisma's vindt men in de prisma-scheden een opeenhoping van organische stof. De interprismatische stof bevat minder organische stof, maar overtreft in deze op haar beurt echter de inhoud van de prisma's, die het meest verkalkt zijn.

Bij kleuring van het glazuur neemt de organische stof bij voorkeur de kleurstof aan. Hierin kan een aanwijzing gezien worden, dat de organische stof toegankelijk is voor vloeistoffen. De zones, waarin meer organische stof voorkomt en dat zijn de tufts, kleuren zich intensiever. Het zijn in de tufts vooral de prima-scheden, die zich intensiever kleuren. De prismascheden hier blijken meer organische stof te bevatten, meer doorlatend, permeabel te zijn dan de prismascheden buiten de tufts. Dat de buigingen van de tuftvlakken in het glazuur verlopen als die van de Hunter Schregerische lijnen geeft steun aan de hier besproken opvatting van de tufts. Het borstelvormige uiterlijk dat de tufts op slijpvlakken van gekleurde preparaten vertonen, laat zich verklaren door het doorschijnen van de onderliggende gekleurde lagen door het min of meer doorzichtig glazuur. In ontcalcite preparaten vooral van jonge of nog niet doorgebroken elementen kunnen de organische restanten van de tufts als franjes uitgaande van het dentine achterblijven.

De tufts vertegenwoordigen naar alle waarschijnlijkheid in het glazuur de meer permeabele banen, waarlangs de weefselvochten vanuit het dentine en ook speekselbestanddelen van buitenaf zich bewegen.

Wij naderen hier het interessante vraagstuk van de stofwisseling in het glazuur, een vraagstuk echter, dat bij deze voordracht niet aan de orde staat. Vooral in jonge en nog niet doorgebroken elementen laten de tufts zich intensief kleuren. Het jonge glazuur blijkt veel meer toegankelijk voor vloeistoffen te zijn dan oud glazuur. Door rijping en voortschrijdende verkalking van het glazuur in de loop der jaren laat het zich minder goed kleuren; de vloeistofbanen worden dan als het ware geblokkeerd. Bij voortgaande rijping wordt het glazuur aan de buitenzijde al spoedig minder doorlatend voor vloeistoffen. Het is o.a. *Leimgruber*, die er op wijst, dat de fluoor hierbij een rol zou spelen. Men kan het zeker met *Leimgruber* eens zijn, waar hij betoogt, dat de histologische bestudering van het glazuur meer fysiologisch ingesteld zal moeten worden. Hij bedoelt daarmee, dat oude uitgedroogde tanden, waarvan de histologische preparaten vaak gemaakt zijn, iets geheel anders zijn dan tanden in hun natuurlijke omgeving, de mond; tanden dus, waarin de organische stof nog zijn volle vochtgehalte bezit.

Resumerend zijn tufts gebieden in het glazuur, die rijker aan organische stof zijn doordat de prismascheden er minder verkalkt zijn en deze gebieden strekken zich van de glazuur-dentinegrens af als gegolfde vlakken, die door de as van het element gaan, in het glazuur uit.

De omvang van deze voordracht dwingt zeer kort te zijn over de lamellen.

Tussen lamellen en tufts bestaat geen essentieel verschil; wel een gradueel verschil. Lamellen zijn als het ware excessieve tufts, die o.a. verder doorlopen naar het glazuur-oppervlak.

De hier bedoelde lamellen zijn principieel iets anders dan de structuren waarvoor o.a. door Gottlieb ook de naam lamel gebruikt wordt.

Dit zijn pathohistologische structuren en staan als zodanig buiten de hier ter sprake zijnde normale glazuur-histologie.

Tot slot moge gewezen worden op een nuttige toepassing van fysische en optische methoden voor de oplossing van een praktisch probleem bij het tandglazuur.

Zoals bekend, wordt door miljoenen mensen dagelijks de mond gereinigd met behulp van middelen, die een slijpende werking uitoefenen. Zonder deze slijpmiddelen, zo luidt de officiële uitspraak van de Council of Dental Therapeutics van de Am. Dent. Ass., zijn de tanden niet goed te reinigen.

Aan de andere kant echter kunnen deze slijpmiddelen bij onvoldoende contrôle op hun hardheid, zuiverheid, korrelgrootte enz. door hun voortdurend gebruik de tandweefsels ernstig beschadigen.

Het vraagstuk van de slijpende werking op het tandglazuur is nog niet bevredigend opgelost d.w.z. dat er nog geen juiste methode bekend is om slijpmiddelen op hun slijpende werking te beoordelen.

Dit is eveneens het standpunt van de zo juist genoemde Council of Dental Therapeutics. Alle daarvoor tot nu toe gebezigde methoden — en er zijn er vele gepubliceerd — ontkomen niet aan een gerechtvaardigde kritiek. Bij een onderzoek, dat wordt uitgevoerd bij de Fysisch Technische Dienst der T.N.O. te Delft, is deze ban doorbroken. Er is bij dit onderzoek een methode uitgewerkt, die in staat stelt de door slijpmiddelen veroorzaakte afslijping van het tandweefsel tot in onderdelen van microns nauwkeurig te meten. Tevens kwam daarbij naar voren, dat deze methode in staat stelt waardevolle gegevens te verkrijgen omtrent de sterk uiteenlopende micro-hardheid en microslijtage van verschillende plaatsen en lagen van het tandglazuur en de andere tandweefsels.

Een medewerker aan dit onderzoek, Ir. E h r h a r d t, heeft deze methode naar voren gebracht en hij gaat daarbij als volgt te werk.

Een gedeelte van een tot hoogglans gepolijst tandoppervlak wordt slechts gedurende een korte tijd (5 minuten) geborsteld met een suspensie van het te onderzoeken slijpmiddel. Om de daardoor veroorzaakte geringe afslijping te bepalen, wordt een vlak glazen plaatje op het

tandoppervlak gelegd. Daarop laat men vertikaal monochromatis licht vallen, waardoor er interferentieverschijnsels optreden, die ons in staat stellen de diepte der afslijping te meten. De lichtstraal, teruggekaatst aan de onderzijde van het glasplaatje en die welke teruggekaatst wordt op de bodem van de afslijping zullen met elkaar interfereren en elkaar uitdoven als het wegverschil tussen beide lichtstralen gelijk is aan een halve golflengte of een veelvoud daarvan; in casu de halve golflengte van Na-licht, dat is  $\frac{1}{2} \times 0.6 \mu = 0.3 \mu$ . Men neemt dan onder het microscoop een donkere streep waar. Door nu het aantal van die donkere strepen van de rand af te tellen kan men in halve golflengte nauwkeurig de diepte van een afslijping meten (fig. 31 en 32).

Door het object langzaam onder het microscoop door te schuiven kan men het profiel van de afslijping uitmeten en nauwkeurig op papier in tekening gebracht worden (fig. 33).

Doet men dit, dan kan men zich niet alleen verheugen over het feit, dat men met een uiterst nauwkeurige methode te doen heeft, maar bovendien komt men er enige opmerkelijke verschijnselen mede op het spoor. Zo blijkt o.a. dat de gegolfde afslijping, die men gewoonlijk aantreft, overeenkomt met de Hunter Schregerse lijnen, doordat de longitudinaal gesneden prisma's sneller slijten dan de transversaal doorsneden prisma's.

Binnenkort zal over deze methode van onderzoek nader gepubliceerd worden.

Met deze uiteenzetting meende ik te mogen eindigen. Het was mijn bedoeling naast het behandelen van de structuren van het glazuur vooral te wijzen op de optische methoden, die voor het glazuuronderzoek ten dienste staan en tenslotte daarvan een nuttige toepassing naar voren te brengen. Ik meen, dat de conclusie gerechtvaardigd is om te verwachten, dat de moderne optische mogelijkheden de kennis van het glazuur aanzienlijk zullen helpen vermeerderen.

Zoals uit de voordracht is gebleken, worden deze onderzoekingen thans ook in ons land verricht. Ik heb daarbij de namen genoemd van de verschillende medewerkers en meen deze aan het einde der voordracht nog eens gezamenlijk onder dankzegging mijnerzijds te mogen herhalen. Het zijn Prof. Brinkman, Dr. Keuning, Dr. Perdok, Dr. Oidtmann en Ir. Ehrhardt. Zij zullen de Nederlandse tandheelkundige literatuur binnenkort kunnen verrijken met verhandelingen, waarin dieper ingegaan zal worden op de verschillende onderzoekingen, die ik slechts kort aanroerde.

Deze onderzoekingen zijn een onderdeel van een nog ruimer opgezette research, welke door gelden uit de industrie mogelijk gemaakt wordt.

Gedreven door het inzicht, dat een der middelen om ons land uit zijn huidige impasse op te heffen, bestaat in research op ruime schaal teneinde de vaderlandse producten op een zo hoog mogelijk weten-

schappelijk peil te stellen, zijn het de Medinos Prudent fabrieken te Amersfoort, die deze onderzoeken hebben tot stand doen komen.

Bij het opzetten van dit research-werk heb ik een verheugend feit kunnen vaststellen en wel, dat bij alle wetenschappelijke instellingen en laboratoria, waar ik om medewerking in deze kwam vragen, steeds grote belangstelling heb aangetroffen voor de wetenschappelijke tandheelkundige problemen en grote genegenheid tot daadwerkelijke medewerking.

Dit verheugende verschijnsel mag dan ook het beste doen verwachten voor de ontwikkeling van het wetenschappelijke tandheelkundige onderzoek in ons land.

Zeist, April 1947.