

De vroegtijdige herkenning van storingen in het fysiologisch evenwicht der mondholte die tot het ontstaan van caries leiden

Door H. VAN HARTINGSVELT

Wanneer wij spreken over caries, dan roept dit woord voorstellingen op, die afhangen van onze individuele ervaringen, van de kennis, die wij van dit onderwerp hebben en zelfs van onze stemming. Er zijn n.l. weinig woorden in de tandheelkunde in gebruik, die zo een veelheid van begrippen in zich sluiten als juist dit. Zo kan ik mij voorstellen, dat een tandarts, verstrikt in de monotonie van de schooltandheelkunde, zich het eerst een beeld van de fissuurcaries voor de geest haalt. Daarentegen zal de orthodontist zich bij dit klankbeeld een voorstelling vormen van een schots en scheef staand kindergebit, met vele retentieplaatsen, met een slechte natuurlijke tandreiniging en veel proximale caries. Misschien denkt een collega in militaire dienst het eerst aan bacterie-invasies, pionierpilze of ondermijning van het glazuur. Een ander weer ziet spookbeelden van ziekenfondsformulieren en denkt bij het woord caries aan een gatenvullend ambtenaar, die tegen zijn wil geperst is in een systeem tot massarepartitie van carieuze tandlaesies.

Teneinde niet langs elkaar heen te praten is het goed, gezien de ruimte rond het woord caries, eerst een definitie te geven van hetgeen in het volgende betoog onder caries zal worden verstaan.

Hier dan verstaan we onder caries uitsluitend een irreversibel ziekteproces van het glazuur, waarvan anorganische zowel als organische bestanddelen in oplossing gaan onder invloed van in de mondvloeistof plaats vindende pathologische enzymatische processen.

De tandbeencaries, die toch klinisch van zoveel belang is, wordt hier buiten beschouwing gelaten, omdat dit betoog juist gewijd is aan de initiale caries, het begin van het pathologisch gebeuren. De dentinecaries is reeds een secundair verschijnsel, volgend op de aantasting van het glazuur, want ieder carieus proces begint aan de oppervlakte van de tand. Bij een gezond element is dit de oppervlakte van het glazuur. Nog steeds duiken er auteurs op, die de these van het uitwendig begin der caries menen te moeten bestrijden. De scheppers dezer theorieën geven hiermede blijk van een zekere mate van eigenwijsheid en van een onkunde van physische grondbegrippen, die te vergelijken is met overeenkomstige eigenschappen van een Amerikaanse secte, welke als grondbeginsel aanneemt, dat wij niet op een bolle, doch in een holle aarde wonen en die hierop hun wereldstelsel bouwen. U begrijpt, dat ik mij niet geroepen voel zulke weinig gefundeerde opvattingen te bestrijden en te weerleggen. Natuurlijk wil hiermede niet gezegd zijn, dat er geen factoren vanuit de pulpa, via het dentine op het glazuur werkzaam kunnen zijn, die een rol spelen bij de carieuze aantasting van het glazuuroppervlak, doch dit is een geheel ander chapter.

Ik vermoed, dat er thans in het brein van een aantal collegae enige weerleggingen van deze in het algemeen aanvaarde opvatting aan het opwellen zijn. Ik geef aanstands toe, dat ik hier mijn zienswijze op niet-wetenschappelijke wijze naar voren heb gebracht, doch dit terwille van de beperking aan mijn betoog gesteld.

Zo zullen velen van U weten, dat b.v. Nord van mening is, dat caries wel door exogene oorzaken ontstaat, doch dat de eerste oplossing der apatiet-kristallen als regel plaats vindt in de diepere gedeelten van de barsten, tufts en lamellen van het glazuur. Hoe onwaarschijnlijk dit na het voorgaande velen Uwer uit mijn mond in de oren mogen klinken, ontken ik de juistheid van zijn zienswijze niet. Want zij is een bevestiging van de mijne. Alleen legt collega Nord het accent op de proteolyse bij de initiale caries en ik leg de klemtoon op de oplossing der apatietkristallen. Op theoretische gronden, die collega Nord in zijn beschouwingen niet vermeldt en die ik alsnog hoop aan te stippen, ben ik van mening, dat waarschijnlijk bij de veelvuldig voorkomende structuurfouten van het glazuur, de apatiet-oplossing *wel eens* in de diepere lagen van het glazuur beginnen kan. Deze plekken beschouw ik evenwel min of meer als een uitbreiding van het oppervlak, daar zij samenhangen met het oppervlakte membraan.

Wat ik in Nord's theorie wel meen te moeten bestrijden is het volstrekte karakter, dat aan zijn zienswijze inhaerent is. Het is n.l. onjuist, dat het begin van de eerste apatiet-oplossing *altijd* het eerste in de diepere lagen van het glazuur, in de barsten en lamellen en tufts en fissuren plaats grijpt. Er zijn n.l. twee vormen van glazuurcaries; een welke met de apatietoplossing aan de oppervlakte van het glazuur begint en een, welke uitgaat van de organische partijen, die het glazuur bevat. Van de eerste vorm geef ik U hier enige voorbeelden, die ik in de literatuur ben tegengekomen, van de laatste vorm zal ik U nog enige foto's laten zien, doch hiervoor verwijs ik naar de verzameling, die Nord ter ondersteuning van zijn theorie heeft aangelegd.

Iedere caries begint bij het glazueroppervlak, dit is voor ieder ingewijde onbetwistbaar. Zoals een zoutkristal in water oplost, doordat telkens ionenlaag na ionenlaag van de buitenkant van het kristal door de bewegingsenergie der moleculen en door de elektrische ladingen der deeltjes van het oplosmiddel wordt afgevreten, zo ziet men bij caries de eerste aantasting beginnen bij het glazueroppervlak. Hetgeen niet zeggen wil, dat het cariesproces nu ook in overige opzichten te vergelijken zou zijn met het oplossen van een zoutkristal.

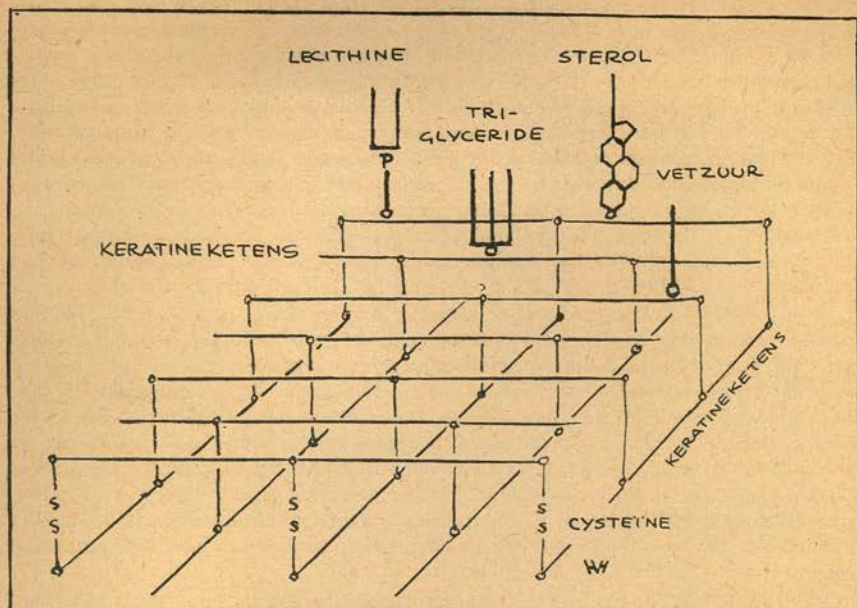
Bij het beginstadium van de caries hebben we dus in de eerste plaats te maken met het glazueroppervlak en het is daarom van het grootste belang, dat men een gedetailleerde voorstelling heeft van dit oppervlak. Ik zal thans in het kort U met enige bijzonderheden van dit oppervlak vertrouwd maken, voorzover wij deze kennis kunnen verkrijgen uit de gegevens, die uit de literatuur ten dienste staan.

Men kan drie verschillende typen van glazueroppervlak onderscheiden, n.l.:

- 1e. Het oppervlak van het glazuur van tanden die pas doorgebroken zijn en dat bedekt is met het oorspronkelijke cuticula dentis, het laatste afscheidingsproduct der ameloblasten.
- 2e. Het oppervlak van het glazuur, waarvan het membraan is afgesloten of op andere wijze verdwenen.
- 3e. Het oppervlak van het glazuur, waarop zich een secundair huidje heeft gevormd. (Tekenbroek 1944). Niet te verwarren met primaire en secundaire glazuurhuid (Gottlieb 1921).

Lit analogie met membranen, die beter bestudeerd zijn dan het cuticula dentis of de membraan van Nasmyth, zoals b.v. die der rode bloedcellen, kan naar grote waarschijnlijkheid worden besloten, dat dit membraan evenals dergelijke andere bestaat uit een rooster van langgestrekte, elkaar kruisende eiwitmoleculen met het karakter van keratine of hoornstof, waaraan verschillende lange vetachtige moleculeketens geadsorbeerd of door middel van sterkere chemische krachten gebonden zijn, welke moleculen in het algemeen loodrecht op het oppervlak zijn gericht. De zure groepen der vetzuren zullen aangetrokken worden door de watermoleculen en de koolwaterstof-

Schema van een membraanoppervlak



In dit schema ziet men de eiwitmoleculen voor de eenvoud der tekening afgebeeld als rechte lijnen. In werkelijkheid zijn de moleculen zigzag of in bochten geslingerd. Zij vormen echter lange ketens, die gekruist in lagen over elkaar liggen. De moleculen der verschillende lagen zijn door middel van zijketens aan elkaar gekoppeld, waarbij b.v. de S atomen van het cysteine een rol spelen kunnen.

Aan het oppervlak zijn vetzuren en lipoiden, zoals lecithine, verschillende triglyceriden en sterolen geadsorbeerd.

resten zullen zich aan soortgelijke groepen van de eiwitmoleculen hechten. Aan de kant van het glazuur zal het membraan door verbindingen met de interprismatische stof en met de vrije valenties van het kristaloppervlak zijn vastgehecht. (F i s h 1932) (L e i m g r u b e r 1946).

Er zijn reeds zeer veel proeven en proefreeksen met dierlijke membranen genomen. In de werking der membranen ligt n.l. een van de vele geheimenissen der levende stof besloten, daar membranen een selectieve permeabiliteit vertonen, d.w.z. zij laten al naar hun chemische constitutie bepaalde ionen en moleculen door, terwijl andere deeltjes soms hardnekkig tegengehouden worden. Met de celdood gaat dikwijls de selectieve permeabiliteit voor verschillende stoffen verloren. Hoewel het membraan van Nasmith niet direct als een levend membraan moet worden beschouwd, daar het meer een afscheidingsproduct van de cellen is dan een werkelijk vlies zoals dit om een levende cel zit, is het toch dienstig erop te wijzen, dat het membraan van Nasmith wel degelijk een belangrijke physiologische functie vervullen kan. Men denke hier aan bepaalde proeven, waarbij het werd geïsoleerd en ermee dialyses werden uitgevoerd. Het bleek doorlaatbaar voor melkzuur, keukenzout, cystine en een weinig voor glucose. Oplosbaar zetmeel werd niet doorgelaten (P i n c u s 1937). De hypothese, dat verschillende andere ionen worden doorgelaten wint aan waarschijnlijkheid nu men inmiddels weet, dat het glazuur bij de doorbraak van de tanden nog niet volledig is gevormd.

Het eigenlijke glazuur bestaat in hoofdzaak uit apatietkristallen, waarvan de c-assen loodrecht op het oppervlak staan. Dit is men te weten gekomen, door onderzoek in gepolariseerd licht. Men kan n.l. met behulp van alkaliën de linksdraaiende collagene fibrillen in het dentine oplossen. De apatietkristallen blijven dan over en uit de resul-

terende rechtsdraaiing kan men de richting der kristalassen leren kennen. Ook het glazuur is bij deze onderzoeken betrokken geweest (Keil 1935). De grootte der kristallen is van een orde van 10^{-4} c.m., d.w.z. 0.001 mm. De doorsnede der glazuurprisma's is ongeveer 0.006 mm, zodat in de glazuurprisma's enige van zulke kristaleenheden naast elkaar voorkomen. (Brandenburger en Schinz 1946). De orde van grootte der apatietkristallen in het glazuur is ongeveer honderd maal die van dentine en van been. De hardheid van het glazuur houdt hiermede nauw verband. In het glazuurprisma zijn de kristaleenheden waarschijnlijk gescheiden door sporen van organische substantie, welke onder het fluorescentiemicroscop zichtbaar kunnen worden gemaakt. De prisma's zijn onderling gescheiden door een schede van organische stof, waarschijnlijk bestaande uit langgestrekte ketens van een keratine-achtig eiwit. Deze ketens zijn onderling verbonden en de tussenliggende ruimten opgevuld met apatietkristallen. (Meyer, Orban, Gustavson, Leimgruber).

Op het oppervlak van een mediale snijtand, hetwelk men op ongeveer 2 cm^2 kan schatten, komen dus ongeveer 5,5 miljoen glazuurprisma's uit. Bij een kristalgrootte van 0.01 mm, bevat een enkel prisma ongeveer 36 kristallen, die met hun c-assen loodrecht op het oppervlak staan, naast elkaar. D.w.z., dat er ten naaste bij 200 miljoen apatiet kristalletjes met hun c-assen loodrecht op het glazuuroppervlak staan. Ieder kristalletje is opgebouwd uit kristaleenheden, of elementaire cellen, waarvan de a-assen $9,40 \text{ \AA}$ groot zijn. In de breedte van een kristal liggen daarom ruw geschat 500 hexagonale eenheden naast elkaar. Op het glazuuroppervlak liggen aldus om en nabij $250.000 \times 200 \times 10^6$ of 50 biljoen hexagonale kristaleenheden van het apatiet naast elkaar. Dit om enig denkbeeld van het absorptieoppervlak van het glazuur te krijgen.

Om de kristallen bevindt zich een geadsorbeerde laag van ionen en watermoleculen, waartussen nog verschillende ionen zijn opgelost. De aanwezigheid van deze geadsorbeerde laag laat zich verklaren uit de onderverzadigdheid van de elektrische krachten aan het oppervlak der apatietkristallen, die ongetwijfeld een sterke invloed uitoefenen op de watermoleculen, waarin de positieve en negatieve elektrische spanningen elkaar immers ook niet opheffen, zodat apatietoppervlak en watermoleculen elkaar aantrekken. Het glazuur bevat in vivo dan ook altijd water, hetgeen een belangrijke rol speelt bij het binnendringen van glazuur-aantastende ionen.

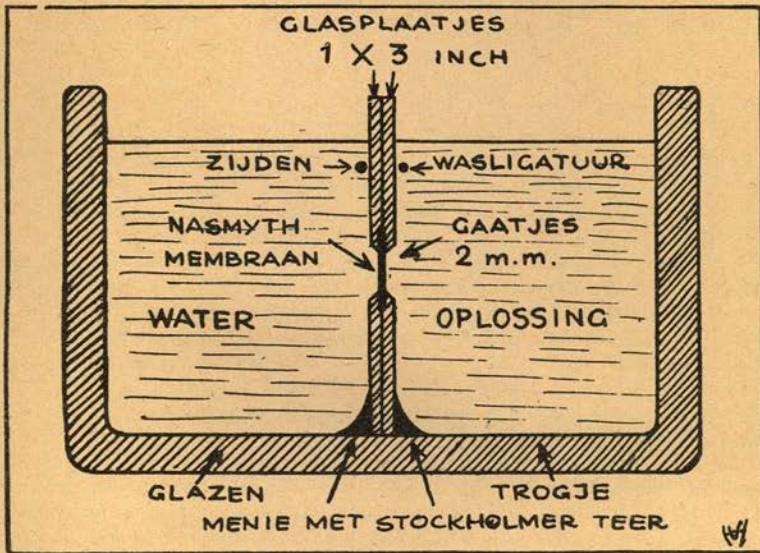
Proeven met het kweken van tandkiemen in vitro (Glasstone 1936) en proeven waarbij uit de groeiende tand de pulpa in de kaak werd geëxtirpeerd en omgekeerd, proeven waarbij het glazuurorgaan gedeeltelijk werd verwijderd (Lefkowitz, Shapiro, Bödecker 1947), proeven met isotopen e.d., wijzen er op, dat de pulpa een zeer belangrijke invloed heeft bij de verkalking van het glazuur, want deze verkalking blijkt niet plaats te vinden, wanneer de pulpa is verwijderd. Zelfs nog maanden na de vorming van het volledige glazuurprisma blijken vanuit de pulpa door het dentine en het dentine-glazuurmembraan, dat ook waarschijnlijk een selectieve permeabiliteit heeft, Ca^{++} en P_4^{--} -ionen naar het glazuur te worden getransporteerd teneinde de apatietvorming te vervolmaken. De ameloblast dient blijkbaar voornamelijk als constructeur van de organische glazuurmatrix.

Bovendien weet men hoe het glazuur vanuit de mondvloeistof ionen kan opnemen. Het is een plausibele veronderstelling om het membraan van Nasmyth een functie toe te kennen, waarbij het nog niet geheel gerijpte glazuur behoed wordt tegen snelle aantasting vanuit de mondvloeistof, doordat ionen, nodig voor de bouw van de prisma's niet zo gemakkelijk in de mondvloeistof kunnen diffunderen. Omgekeerd kunnen ionen vanuit de mondvloeistof door het membraan worden doorgelaten, welke ionen van uitzonderlijk belang zijn voor de rijping van het glazuur. Er is veel met membranen, weinig met het membraan van Nasmyth geëxperimenteerd. Hierbij heeft men soms een verklaring kunnen vinden voor bepaalde selectieve permeabiliteiten. De meeste dezer verschijnselen zijn echter nog in het duister gehuld en zij zullen pas volkomen opgehelderd worden, wanneer de détailkennis van de structuur van membranen groter is. In de literatuur zijn slechts een paar beschrijvingen te vinden, die enig licht werpen op de permeabiliteit van het cuticula dentis. (Permeability of natural membranes, Davson and Danielli 1943). Eensdeels is de moeilijke

preparatie-techniek hier schuld aan (Pincus 1937). Aan de andere kant biedt zulk een onderzoek grote mogelijkheden, daar het waarschijnlijk kan worden geacht, dat de eigenschappen van dit membraan bij een geëxtraheerd element slechts weinig zullen verschillen van de eigenschappen in vivo, mits men maar voorkomt, dat de tand uitdroogt en het membraan bij het vrij maken van het oppervlak van het glazuur door het zuur niet wordt beschadigd. In dit verband zou ik nog willen wijzen op het zwellen van het cuticula dentis bij inwerking van zuren.

Het membraan van Nasmyth kan nog geruime tijd een beschermende invloed uitoefenen na doorbraak van een element, zodat het glazuur ruimschoots gelegenheid krijgt tot een rustige rijping. Het duurt enige tijd voor het element in occlusie komt en actief in de kauwactie wordt betrokken. Het ligt voor de hand, dat de positie in

Dialyseproef met het Nasmyth membraan volgens Pincus.



De opstelling toont de techniek die gevolgd is om de doorlaatbaarheid van het Nasmyth membraan voor verschillende moleculen en ionen te bepalen. Een van de grootste moeilijkheden bestaat natuurlijk in het ongeschonden vrij prepareren van het membraan. Dit bereikt men door met zuren het glazuur op te lossen en het vrij gekomen membraan met de uiterste voorzichtigheid in een waterdruppeltje over het gaatje in het glasplaatje te brengen en daarna het tweede glasplaatje erover te leggen. Daarna worden de beide plaatjes met behulp van zijde ligatuur op elkander gebonden en op de aangegeven wijze in het trogje vastgemaakt.

de kaak het tempo bepaalt, waarin een element zijn membraan verliest, hetgeen wel eens de oorzaak zou kunnen zijn van het verschil wat men meent waar te nemen bij de werking van fluor op fronttanden en op kiezen. (Bibby 1946).

Tenslotte is het glazuur op vele plaatsen door slijtage van het membraan beroofd. Men heeft dan het naakte apatiet voor zich liggen. Dit is de normale toestand, die men ter wille van de eegvoud maar stilzwijgend aanvaardt bij alle theoretische uiteenzettingen, die tegenwoordig om de inwerking van verschillende ionen op het tandoppervlak worden gegeven, en die ook hier verder zullen worden aangenomen.

Microscopische studies hebben tot de overtuiging geleid, dat zich in sommige gevallen een secundair membraan kan vormen. De tanden, die buiten het slijmvlies steken als rotsen in de zee, zijn in deze nieuwe fase tengevolge van hun plaatsing waarschijnlijk bedekt met een mucineachtig eiwit, een afscheidingsproduct van het slijmvlies. Zoals men weet worden de slijmvliesen beschermd door slijm, een verbinding

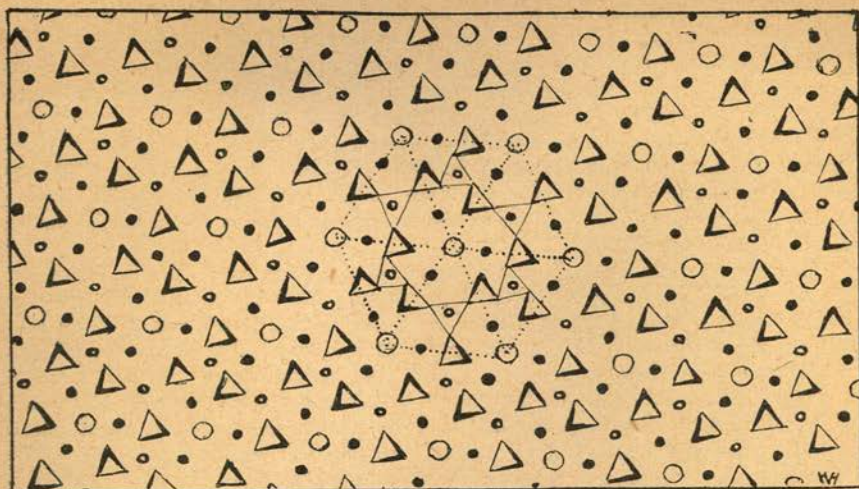
van eiwit en mucine. Dit mucine heeft een paar suikerachtige molecuulgroepen die door wateronttrekking esterachtig verbonden zijn met zwavelzuur en op een andere plaats in het molecule met azijnzuur. Bepaalde enzymen kunnen het mucine door hydrolyse splitsen, waardoor het zuur gaat reageren. Men begrijpt, dat een dergelijke stof, door de natuur uitgevonden als beschermer der slijmvliezen niet een ideaal beschermingsproduct is voor het apatiet, hetwelk juist buitengewoon gevoelig is voor zuurwerkingen. Bovendien kan het mucine met spijsresten, fungi en bacteriën een kleverige massa vormen, die tot de tandheelkundig beruchte mucineplaques leidt, waarin zonder twijfel de mucine aan de zuurvorming deel heeft. Met Ca^{++} -ionen geeft mucine een neerslag, zodat men hier misschien een ander aangrijppingspunt heeft voor de vorming van secundaire membranen. Hoe dit overigens ook zij, in de loop der evolutie is de natuur er blijkbaar niet in geslaagd een methode te bedenken, die met gelijke zekerheid zowel slijmvliezen als glazuur beschermt.

Reeds werd opgemerkt, dat de apatietkristallen omgeven zijn door geadsorbeerde ionen en water. Wij weten, dat elk oppervlak min of meer bedekt is met een laag ionen. Uit electro-osmotische verschijnselen, waarvan Perrin in 1903 een verklaring heeft gegeven, weten we, dat siliciumhoudende stoffen zoals glas, OH-ionen aan hun oppervlak adsorberen. Aangezien de elektrische ladingen aan het apatietoppervlak op overeenkomstige wijze onverzadigd zijn als het oppervlak van siliciumverbindingen, is redelijkerwijze de opvatting gewettigd, dat ook het apatiet OH-ionen adsorbeert. De OH-ionen houden dan een deel van de watermoleculen vast, die zich tussen de mazen van de organische substantie en de apatietkristallen bevinden. Dit water geeft ionen gelegenheid, op gemakkelijke wijze het glazuur binnen te dringen. Door de sterke polariteit der moleculen doet het ook hier dienst als oplosmiddel. Vooral ionen die klein zijn, zullen van deze gelegenheid profiteren. Reeds is in vorige bijeenkomsten de structuur van het apatiet ter sprake gekomen (Perdok 1946). We zullen hier dus niet op terugkomen. Het valt bovendien buiten het bestek van deze voordracht om na te gaan, welke de fysische eigenschappen van verschillende ionen zijn en welke kansen zij hebben om het apatiet binnen te dringen. Ik zal mij hierom beperken tot het opsommen van de belangrijkste voorwaarden, die de mogelijkheid tot binnendringen bepalen.

- 1e. De grootte der ionen, die gegeven wordt door de plaats in het periodiek systeem der elementen, bij elementaire ionen en de watermantel, die ze met zich mee slepen.
- 2e. De lading, die bij elementaire ionen in hoofdzaak bepaald is door het gemak, waarmede het ion zijn buitenste electronenniveau tot een stabiel achtstal kan completeren.
- 3e. De grootte van het molecule bij samengestelde ionen.
- 4e. Het gemak, waarmede deze ionen kunnen worden onttrokken aan het zich in het glazuur bevindende water door het apatiet.

Deze laatste voorwaarde is afhankelijk van enige eigenschappen der apatietstructuur. Men weet, dat het leeuwenandeel van het apatiet in het glazuur hydroxylapatiet is. Dit is opgebouwd uit de ionen Ca^{++} , PO_4^{--} en OH^- . Nu kunnen zich met andere ionen mengkristallen vormen, zodat de structuur van het hydroxylapatiet wordt gewijzigd. Dit is mogelijk, wanneer de grootte der ionen niet te veel afwijkt van die van de ionen in het hydroxylapatiet, wanneer zij bovendien in hetzelfde kristalroostertype passen en de som der elektrische ladingen van het apatiet niet gewijzigd wordt.

Hier interesseert ons nu het feit, dat apatiet niet oplost in een alkalisch en wel in een zuur milieu. Nu weten we, dat het karakteristieke van een zuur milieu de aanwezigheid van een overmaat van H^+ -ionen is. Deze ionen behoren tot de kleinste want op zichzelf zijn het niets dan waterstofkernen of protonen. Zij slepen echter een in verhouding grote hoeveelheid water met zich mede, waardoor in oplossing de effectieve grootte aanzienlijk toeneemt. Door hun kleinheid dringen ze gemakkelijk het glazuur binnen. Zolang slechts de apatietstructuur intact blijft zullen ze hier geen schade aanrichten. Doch wanneer er een overmaat van H^+ -ionen het glazuur binnendringt, dan zullen ze de apatietstructuren in elkaar doen storten, doordat de H^+ -ionen



- Ca ion
- Ca ion in dieper laag
- OH ion
- △ PO₄ ion

De apatietstructuur kan men zich denken opgebouwd te zijn uit verschillende lagen. Afwisselend vindt men loodrecht op de c-as:

Laag 1: Een laag van Ca-ionen gerangschikt in de hoekpunten van honingraatachtig in elkaar sluitende regelmatige zeshoeken. (Met o in de fig. aangegeven).

Laag 2: Een laag bestaande uit OH, Ca en PO₄-ionen, gerangschikt als in de fig. aangegeven. Hierbij liggen twee der in de PO₄-ionen aanwezige O-atomen in dit vlak en de twee andere er boven en beneden. (Aangegeven door dikke punt in de driehoekjes).

De OH-ionen liggen gerangschikt in gelijkzijdige driehoeken.

De PO₄- en Ca-ionen liggen op de zijden dezer driehoeken, elk weer in de hoekpunten van gelijkzijdige driehoeken.

Laag 3: Weer een laag Ca-ionen als in laag 1 boven de zwaartepunten der genoemde gelijkzijdige driehoeken.

Laag 4: Een laag als 2, echter 60° gedraaid om een der OH-ionen ten opzichte van laag 2 in het vlak loodrecht op de c-as.

De volgende lagen zijn regelmatige herhalingen van laag 1, 2, 3 en 4.

OH-ionen aan het rooster gaan onttrekken en op deze wijze de gehele kristaltralie wordt afgebroken.

Van het grootste belang nu is het te weten, wanneer deze afbraak begint. Reeds is naar voren gebracht, dat de ladingen aan het kristaloppervlak niet verzadigd zijn. Het kristaloppervlak draagt hierdoor een elektrische lading. Aan de andere kant bevat de mondvoelstof ook positief en negatief geladen ionen, afkomstig van het water zelf en de daarin opgeloste electrolyten. Opgeloste stoffen en ionen bevinden zich normaliter in een evenwicht, waarbij evenveel moleculen dissociëren als er ionenparen recombineren.

Nu is bekend, dat het oplosmiddel water zelf ook aan dissociaties deelneemt. De meest op de voorgrond tredende dezer dissociaties is die in H⁺ en OH⁻ ionen. Aangezien het water altijd in overmaat aanwezig is, is het ionenproduct, nader gepreciseerd als het product van de concentraties van H⁺ en OH⁻ ionen, constant. D.w.z., dat er bij een overmaat van H⁺ ionen zich OH⁻ ionen met H⁺ ionen verenigen tot H₂O moleculen, zodat de OH⁻ ionen in de oplossing verminderen. Dat wil tevens zeggen, dat het aantal negatieve ladingen in de oplossing vermindert en de oplossing als geheel dus sterker positief geladen wordt. De verhouding tussen H⁺ en OH⁻ ionen

bepaalt dus de lading van het waterig milieu. Deze lading is te vergelijken met de lading van een oplossing met bekende concentratie van H^+ -ionen. Hierop berust in principe elke elektrische methode tot bepaling van de zuurgraad of pH.

Wanneer nu H^+ -ionen door een of ander proces aan de mondvlloeistof worden toegevoegd, dan ontstaat tenslotte een zuurgraad, waarbij de ladingen aan de oppervlakte van de apatietkristallen van het glazuur en de lading van de mondvlloeistof elkaar opheffen. Bij deze zuurgraad ligt het iso-electrische punt van het glazuur. Hoewel dit punt bij geen absoluut constante pH ligt; het is o.a. afhankelijk van bepaalde adsorptie, zoals die van F^- -ionen, is het toch van uitzonderlijk belang, omdat de oplossing van het apatiet een aanvang neemt, wanneer de zuurgraad van het milieu dit punt overschrijdt.

Misschien zijn sommigen de mening toegedaan, dat het iso-electrische effect, dat het glazuur vertoont, in eerste instantie op rekening van de in het glazuur aanwezige eiwitten moet worden gebracht. Gezien de ondergeschikte massa van de organische stof ten opzichte van de hoeveelheid apatiet in het glazuur, ben ik van mening, dat in hoofdzaak deze kristallen bovengenoemd effect bewerkstelligen.

Globaal gaat dit als volgt: De H^+ -ionen verenigen zich met geadsorbeerde OH^- -ionen en de OH^- -ionen van het apatiet tot H_2O . Deze reactie vindt het eerste plaats, omdat de OH^- -ionen een grote affiniteit tot de H^+ -ionen hebben. Het proton, de naakte waterstofkern, dringt diep in de electronenmantel van de zuurstof binnen. Vervolgens is het OH^- -ion slechts door één valentie aan het apatiet gebonden in tegenstelling tot de PO_4^{3-} -ionen en bovendien worden alle OH^- -ionen uit het plaatselijk milieu gelimineerd door de vorming van H_2O . De PO_4^{3-} -ionen gaan bij dit proces secundair in oplossing, evenals de Ca^{++} -ionen. Ze verenigen zich met H^+ -ionen ten dele tot zure phosphaat-ionen, welke gemakkelijk oplossen en uit het glazuur diffunderen. De rest van de Ca^{++} -ionen, die geen plaats vinden in de zure phosphaten, worden opgevangen door de zuurresten van de zuren, die de H^+ -ionen hebben geleverd.

Ik weet, dat de juistheid van de cariëstheorie der zuurvorming in twijfel getrokken is (Gins 1943). Ik hoop evenwel, dat men mij niet van conservatisme beticht, wanneer ik mijn beschouwingen op een klassieke basis plaats. Het is niet de liefde tot de tandheelkundige klassieken, die mij hiertoe drijft, doch de overtuiging, dat mijns inziens de theorie van Miller, hoewel op enigszins afwijkende wijze geïnterpreteerd, door moderne onderzoekingen tot nu toe op geen enkele wijze in haar fundamenten is aangetast.

Het is duidelijk, dat in dit zeer vereenvoudigde schema reeds een groot aantal andere factoren in het spel wordt betrokken.

Het zij mij vergund de meest op de voorgrond tredende dezer factoren hier op te sommen, zonder ze in detail te behandelen.

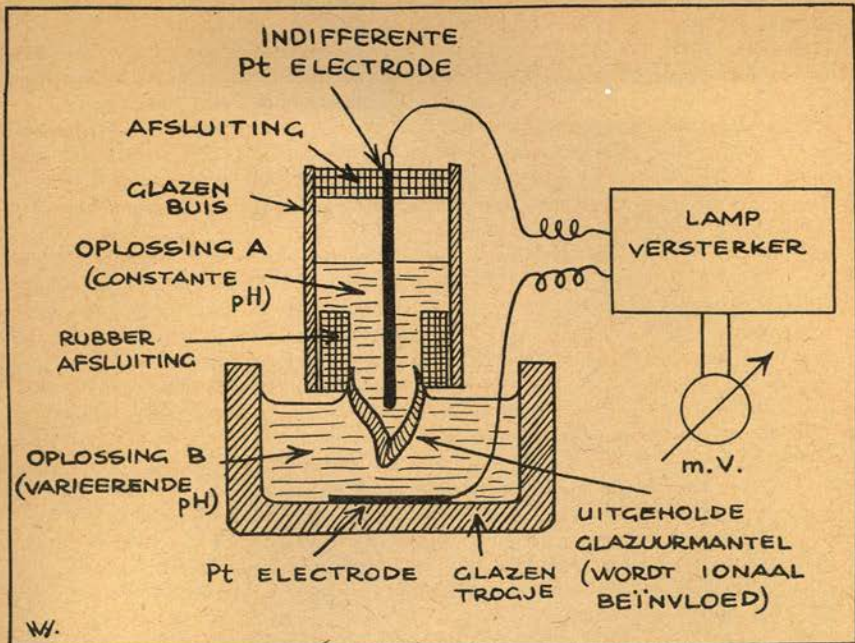
1e. Het iso-electrische punt van het glazuur ligt, zoals reeds gezegd, individueel bij een verschillende zuurgraad, daar het afhankelijk is van de mengroosters, die zich aan het oppervlak van de apatietkristallen hebben gevormd. Men denke aan het ontstaan van Fluor-apatieten, van CaF kristallen aan de oppervlakte e.d. factoren, waarvan sommige U bekend zullen zijn. (Gould 1945).

Bovendien is dit punt door adsorpties aan de oppervlakte aan verschuivingen onderworpen. (Adler, Klein, Lindsay 1938) (Volker 1940).

Voorts is de mogelijkheid niet uitgesloten, ja zelfs waarschijnlijk, dat zich bindingen tussen het apatiet en de organische substanties in het glazuur vormen, die de onderzadigde negatieve restladingen verzadigen en de oppervlaktelading van het apatiet wijzigen. (Leimgruber 1946).

2e. In de praktijk is de oplossing van het apatiet afhankelijk van de aard van de zuren, die in het spel zijn. Verschillende proeven zijn hiermede genomen en verscheidene publicaties zijn hierover verschenen. Tot mijn spijt is mij geen publicatie bekend, waaruit blijkt, dat dit probleem in de kern is aangepakt. Dit vraagstuk houdt n.l. nauw verband met de oplosbaarheidsproducten van de Ca zouten der in aanmerking komende zuren, zoals melkzuur, boterzuur, pyrodruivenzuur, oxaalzuur e.d. en de zure phosphaten en carbonaten en de onderlinge correlaties tussen deze oplosbaarheidsproducten.

Proefopstelling ter bepaling van het iso-electrische punt van het tandglazuur.



Voorgestelde methodiek voor de bepaling van de physische wijzigingen in het glazuur. A is b.v. een oplossing met een constante pH, die de pH van pulpaweefsel nabij komt. In oplossing B wordt de pH langzaam naar het zuur verschoven door toevoegen van zuur. Hierdoor neemt het verschil in spanning tussen het glazuuroppervlak en de vloeistof B af, totdat de pH bereikt is die behoort bij het iso-electrische punt van het glazuur.

Even beneden het iso-electrische punt zal de spanningscurve een knik vertonen, daar de H-ionen worden opgevangen door de OH-ionen van het apatiet, deze hieruit zullen worden losgemaakt, er water wordt gevormd en zouten in oplossing gaan. Het spanningsverschil neemt dus niet in evenredigheid toe met de toevoeging van H-ionen.

Op deze wijze kan men nagaan bij welke pH het iso-electrische punt ligt. Het is duidelijk, dat een dergelijk systeem talrijke mogelijkheden biedt. Zo moet het b.v. mogelijk zijn variaties van het iso-electrische punt te meten, die veroorzaakt worden door verschillen in samenstelling van het glazuuroppervlak, verschillende soorten van mengkristallen, adsorpties e.d.

Eveneens zal men de invloed na kunnen gaan van wijziging in de samenstelling van de zure vloeistof. Zo zal men o.a. kunnen controleren of toevoeging van Ca^{++} en PO_4^{--} -ionen het apatiet bij een sterker zuurgraad doet oplossen. Men zal ook kunnen nagaan, in hoeverre verschillende zuurresten van de in aanmerking komende organische zuren het proces beïnvloeden.

Op deze wijze zal men een schat van gegevens kunnen verkrijgen, welke slechts zeer moeizaam of in het geheel niet uit klinische observaties kunnen worden afgeleid. Noodzakelijk is het, invloeden van buiten het systeem zoveel mogelijk af te schermen. Zo zal o.m. moeten worden verhinderd, dat de CO_2 uit de lucht de pH zal kunnen beïnvloeden. Ook dient gezorgd voor een prima millivoltmeter, met uitstekende ingebouwde weerstanden en betrouwbare versterkerbuizen, welke in finesses volgens de regelen der electronica is gebouwd.

3e. Het proces is afhankelijk van het tempo der plaatselijke zuurvorming. Hierbij spelen een rol: de speekselhoeveelheid, de viscositeit, de oppervlaktespanning en de mogelijkheid tot de vorming van mucine plaques. De snelheid en aard van de bacteriëngroei, de aard der symbiose en de aanwezigheid van lysesozymen, agglutininen en andere stoffen die de bacteriëngroei remmen, zijn ook pionnen in het spel. Daaren-

boven de aanwezigheid van buffers in het speeksel, d.w.z. de mogelijkheid die sommige in het speeksel opgeloste stoffen bieden om H^+ ionen op te vangen, zoals zure phosphaten en carbonaten.

Bovendien is de oxydatieve werking van het speeksel een factor van betekenis, daar zij eveneens de elektrische lading van de mondvoelstof beïnvloedt. Want iedere oxydatie en reductie brengt een verschuiving van ladingen met zich mee. Voorts wordt het tempo der locale zuurvorming nog bepaald door de aard van het gebruikte voedsel.

4e. De caries-dispositie staat in verband met de kwaliteit van het glazuur. Hier zijn het erfelijke, hormonale en voedingsfactoren in de prae-eruptieve periode die bepalend zijn. Men denke hier aan minerale bestanddelen in de voeding, aan vitamines enz.

5e. Tenslotte spelen mechanische factoren een rol. Men denke hier aan retentieplaatsen van spijsresten, kauwvermogen, natuurlijke en kunstmatige tandreiniging, consistentie van het voedsel etc.

De veelheid der factoren die bij het cariesvraagstuk een rol spelen, maken dit probleem tot een van de ingewikkeldste polycasuale problemen die de medische wereld ooit zijn voorgelegd. Het is niet waarschijnlijk, dat dit probleem door een of andere methode plotseling zal worden opgelost, omdat hier vele oorzakenketens parallel lopen, zonder dat er onderling voldoende centrale knooppunten zijn. (Over pluricausaliteit zie wijsgerig werk van Jordan). Toch is het mogelijk de bij dit probleem betrokken factoren in een aantal, zij het dan correlatieve categorieën te rangschikken.

Het zijn:

I. Exogene (ten opzichte van het individu):

- a. Direct op het tandoppervlak werkend (voeding, ionale beïnvloeding van het glazuur).
- b. Indirect, via het darmkanaal op de formatie en structuur van de tanden werkend (voeding).

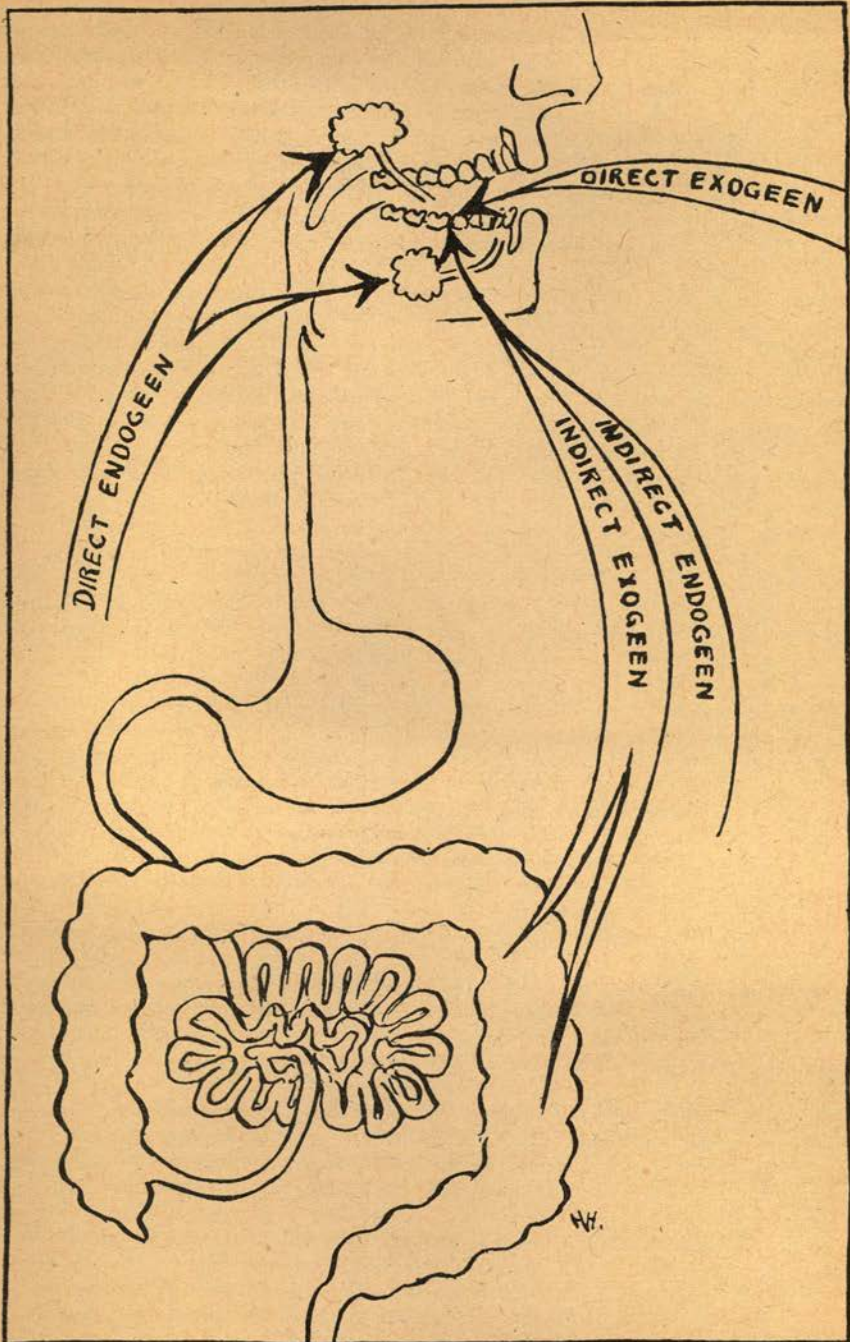
II. Endogene (ten opzichte van het individu):

- a. Direct op het tandoppervlak werkend (speekselfactoren).
- b. Indirect op formatie en structuur werkend (erfelijkheid, hormonen).

Hierbij valt dus te bedenken, dat deze factoren zodanig in elkaar gestrengeld zijn, dat de exogene factoren altijd de endogene beïnvloeden.

Het is mogelijk in sommige dezer factorencomplexen in te grijpen en hierdoor een verandering te brengen in de graad van cariesdispositie. Het meest succesvol is wel de verbetering van het glazuur posteruptief met behulp van F^- ionen en de hieruit voortvloeiende verminderde cariesgevoeligheid. Ons is met de fluorbehandeling een machtig hulpmiddel geschonken in de strijd tegen het tandbederf. Doch tegelijk hiermede doet zich de urgentie gevoelen om onze diagnostische methodiek in de practijk te herzien. Onze prophylaxis zal zich in de eerste plaats richten op het jonge kind en de kleuter, het mensje zonder tandbederf. Tot nu toe heeft zich de tandheilkundige diagnostiek beperkt tot het constateren van de aanwezigheid van defecten. De methodiek van spiegel, sonde en Röntgenfoto is natuurlijk zeer belangrijk bij gebrek aan beter, doch zij is erger dan de geschiedenis van het kalf en de put. Hier wordt n.l. de put niet gedempt, maar slechts het kalf eruit gevist. Op deze wijze kan de meest idealistische opvatting van de tandheilkunst geen verbetering in de algemene situatie brengen, welke thans kortweg rampzalig te noemen is. Hoe uit dit tandheilkundig Linggadjadi te geraken? Dit is mogelijk door het invoeren van een betrouwbare diagnostische methodiek, die vroegtijdig iedere cariesdispositie aanwijst. Ons aller streven dient dan ook op dit doel gericht te zijn, opdat we met zo min mogelijk energieverpilling een optimum aan prophylactisch effect bereiken. Ik zou hier een stimulans willen geven aan ons aller idealisme om naast het realisme van de kleutercaries ons oog te richten op andere zaken, die de moeite meer dan waard zijn: vroegtijdige diagnostiek en in aansluiting hierop prophylaxis. Dit is slechts mogelijk door een grondige verdieping onzer kennis, een verbetering in de tandheilkundige opleiding die naturen met de aanleg hiervoor drijft in de richting van een weloverwogen en syste-

De manier waarop verschillende oorzakencomplexen der caries dentis kunnen werken op het glazuur.



Het schema toont de verschillende mogelijkheden, die het organisme bezit om de tandstructuur te beïnvloeden.

matische research. Hier ligt de oplossing voor het wereldtekort aan tandartsen, van het ziekenfondsprobleem en van vele andere zaken, waarmede professie en overheden verlegen zitten.

Wij moeten daarom over een meetmethode kunnen beschikken, waarmede men op nauwkeurige wijze de kans op het ontstaan van caries kan nagaan. Dergelijke meetmethodes staan bekend onder de naam cariestests. In hoofdzaak zijn aan deze tests twee eisen te stellen en wel: een grote mate van trefzekerheid en een eenvoudige, praktische techniek. Men kan van geen enkele van de gebruikte technieken zeggen, dat ze 100 % trefzekerheid bieden. Dit is om verschillende redenen a priori ook niet te verwachten. Ten eerste kan een factor of factorencomplex worden gemeten, dat niet beantwoordt aan het gemiddelde over een langere periode. Deze foutenbron kan kleiner worden gemaakt door het nemen van een serie tests met een kortere of langere tussentijd.

Ten tweede moet men de betrouwbaarheid van een cariestest afleiden uit het optreden van nieuwe caries. „Nieuwe Caries” is echter niet exact vast te stellen, daar zich niet laat bepalen, wanneer glazuur irreversibel is opgelost. Men neemt gewoonlijk aan, dat zulks bij iedere krijtvlak het geval is. Maar krijtvlakken zijn approximaal niet te vinden. Bovendien moeten hier altijd normen worden aangelegd, die onvermijdelijk een sterk subjectief accent hebben. Men komt dus voor de moeilijkheid te staan, dat men de graad van de betrouwbaarheid van een meetmethode wil vaststellen met behulp van een ijstechniek, waarvan men de graad van betrouwbaarheid ook niet kent. Ten derde wordt de zaak gecompliceerd, doordat men bij de cariestests gewoonlijk slechts een enkele factor of een enkel factorencomplex meet, n.l. het tempo der zuurvorming of hiermede in verband staande factoren. Daar er echter altijd nog andere factorencomplexen werkzaam zijn, zal het duidelijk zijn, dat indien deze zich gedurende de proeftijd wijzigen, er nog verdere onzekerheden zullen optreden. De totale onzekerheid bij de overeenstemming tussen het resultaat van de test en de cariestoename is een product van de afzonderlijke onzekerheden. Tenslotte bestaat het gevaar, dat men bij zijn tests oorzaak en gevolg verwisselt.

Niettegenstaande het feit, dat er binnen een bepaalde marge geen overeenstemming te verkrijgen is tussen meting en cariestoename in individuele gevallen, kan men toch uit een groot aantal proeven zekere conclusies trekken, die een stimulans vormen om op de ingeslagen weg voort te gaan. Bovendien is het niet zo erg, wanneer bij een test, die op actieve caries wijst, de toename van de caries werkelijk nihil is dan wanneer een test negatief is en de cariestoename inderdaad toch plaatsvindt. Gelukkig ligt het in de aard van sommige cariestests, vooral degenen die hier onder synthetische tests zijn begrepen, dat zij eerder tot het eerste dan tot het laatste neigen. Over dit type komen wij nog te spreken.

Welke weg bij het uitwerken van een testmethode kan worden gevolgd, laat zich uit de theorie afleiden.

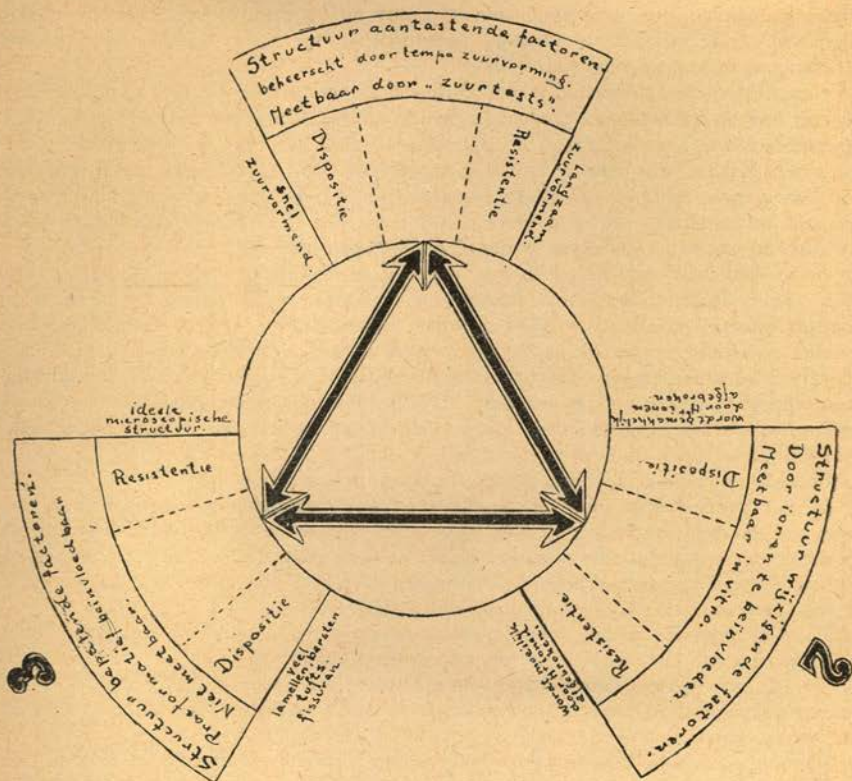
De formatieve factoren, de indirect exogene en endogene factoren, zijn niet geschikt om een testmethode op te bouwen, daar zij te weinig positieve aangrijpingspunten bieden. De toestand van de oppervlakte der apatiestructuren en de ionenretentie, die voor een groot gedeelte de afweerkracht bepaalt, is vooralsnog in vivo niet te controleren.

Slechts het milieu der tandelementen, de mondvloeistof, waarin talrijke exogene en endogene factoren verdisconteerd zijn, is geschikt om gevolgtrekkingen te maken over cariesdispositie of cariesresistentie. In dit milieu heeft de vorming van schadelijke zuren plaats en wordt de zuurgraad tot voorbij het iso-electrische punt van het glazuur verschoven.

Bij de zuurvorming zijn het in eerste instantie de koolhydraten die als grondstoffen kunnen worden beschouwd. Zonder u hier te willen bezwaren met een gedetailleerde uiteenzetting, moet men toch enige fundamentele zaken begrijpen of althans weten, alvorens men in staat is de grondbeginselen van verschillende cariestests te begrijpen. Want nagenoeg alle zijn gebaseerd op de zuurvorming en op factoren, die met de zuurvorming in verband staan.

De zuurvorming uit koolhydraten verloopt van het zetmeel, waarvan de grote

1



De in de tekst behandelde factorencomplexen beïnvloeden elkander wederzijds. Hierdoor ontstaat een marge bij de testresultaten. Het is daarom mogelijk, dat men in een bepaald overgangsgebied zowel cariesresistentie als cariesdispositie vindt. Dit vindt dan zijn oorzaak in verschuivingen bij de factorencomplexen 2 en 3. Momenteel kan men uit een cariestest met een uitslag in het overgangsgebied niet afleiden, of er caries dispositie is of niet.

Factorencomplex 2 kan men posteruptief beïnvloeden. Men weet dat men factorencomplex 3 praeëruptief kan beïnvloeden, doch dat wijziging na de doorbraak vrijwel uitgesloten is.

Voorlopig zullen de cariestests dus een marge laten zien, ook de synthetische tests, die slechts een factorencomplex onderzoeken, waarbinnen met zekerheid geen uitsluitel is te verkrijgen over het al dan niet aanwezig zijn van cariesresistentie.

moleculen afgebroken worden tot de zure eindproducten, geheel enzymatisch. Talrijke enzymen zijn voor deze ontleding nodig. Want ook deze afbraak, gelijk bijna alle andere in de physiologische chemie, verloopt in étappes. Voor elke étappe is een ander enzym nodig. In de eerste étappes worden de enzymen door het speeksel zelf geleverd. Voor de ontleding van de laatste produceren bacteriën de benodigde enzymen.

In de natuur komen in het zetmeel, dat opgebouwd is uit lange ketens van glucoseringen, tussen deze ringen onderling twee soorten van koppeling voor, de α vorm en de β vorm, welke tot een andere ruimtelijke bouw van het molecule leiden. Voor de eerste étappe van ontleding behoeft de ene vorm van binding een enzym, het

α amylase, dat met behulp van een watermolecule het zetmeel hydrolyseert tot dextrine, hetgeen eveneens nog een stof is met lange moleculen uit ringketens van glucose bestaande en α maltose, slechts uit twee glucoseringen opgebouwd met een α koppeling. Van belang is het nu te weten, dat het α amylase Ca^{++} ionen nodig heeft voor zijn werking en deze ionen aan de oplossing onttrekt. Voorts heeft dit enzym een vrij sterke oxydatieve werking, waardoor in tegenwoordigheid van bepaalde zouten, zuren kunnen ontstaan.

Het andere bindingstype der glucoseringen in het zetmeel behoeft voor zijn ontleding een enigszins anders geconstitueerd enzym, het β amylase, dat minder dextrine produceert, maar in hoofdzaak β maltose, dat weer uit twee β gekoppelde glucoseringen bestaat. Dit enzym wordt juist geremd door Ca^{++} ionen, heeft pas een optimum van werking bij een sterke zuurgraad (pH : 3) en bevat waarschijnlijk tryptofaan, het aminozuur met een indol ringsysteem. Dit β amylase werkt minder sterk oxyderend, zodat bij hydrolyse eerder alcoholgroepen ontstaan.

Beide enzymen komen voor in het speeksel, de onderlinge verhouding echter wisselt. Het is duidelijk, dat een overmaat van α amylase ongunstig moet werken op de cariesdispositie, want een eerste wordt het eerste stadium van de zetmeelontleding sneller doorlopen, zodat ook sneller zuur wordt gevormd, ten tweede zal bij aanwezigheid van sommige zouten (Ca CO_3 wordt genoemd) sneller ongunstige bijproducten ontstaan (b.v. oxaalzuur) en ten derde zal bij voldoende zuurvorming Ca^{++} aan de oplossing worden onttrokken, de ionen evenwichten verschoven en het apatiet makkelijker Ca^{++} ionen afgeven.

Hier dient evenwel de zaak niet te somber te worden opgevat!

In het zetmeel kan men gewoonlijk n.l. twee bestanddelen onderscheiden, het amylose en het amylopectine. De verschillen tussen beide bestanddelen zijn de chemici niet op alle punten duidelijk, doch het staat vast, dat het amylopectine esterachtig gebonden fosforzuur bevat en tussen de gehele zemeelstructuur nog verschillende ionen, o.a. ook Ca^{++} ionen, aanwezig zijn.

Deze Ca^{++} ionen ondersteunen zeker de werking der α amylase, zodat er minder Ca^{++} ionen aan het medium onttrokken zullen worden.

De PO_4 — groepen aan de andere kant, zullen een dergelijk handje helpen bij de verschillende étappes van de enzymatisch-bacteriële ontleding der glucose, die nog ter sprake komt.

Met dat al hebben we hier de eerste aangrijpingspunten voor enige cariestests. Zij kunnen op verschillende wijzen worden gerealiseerd.

I. Men meet het tryptofaangehalte van het speeksel. Weinig tryptofaan wijst op weinig β amylase en meer α amylase, dus een caries dispositie. Veel tryptofaan op β amylase en dus weinig caries.

II. Men kan de reductiekracht van het speeksel electrisch meten en de val hiervan bij zetmeelontleding nagaan. Snelle val der reductiepotentiaal betekent sterke oxydatie, α amylase, caries. Langzame val der redoxpotentiaal daarentegen, minder sterke oxydatie, aanwezigheid van β amylase, caries afwezig. (Turner, Crowell 1947).

III. Men meet de diastatische index. Dit is de snelheid der zetmeelontleding en dextrinevorming uit met jodium gekleurd zetmeel in tegenwoordigheid van speeksel. Snelle dextrinevorming, veel α amylase, veel caries. Langzame dextrinevorming, meer β amylase, weinig caries. (Florestano 1942).

De tweede fase der zetmeelontleding bestaat in de splitsing van maltose door het enzym maltase. In het speeksel komt een maltase voor, dat hoofdzakelijk α maltose hydrolyseert tot glucose. Waarschijnlijk komt ook een enzym voor, dat β maltose splitst en ook hieruit glucose produceert. Tot nu toe hebben deze enzymen te weinig houvast geboden aan de onderzoekers, zodat zich op deze ontleding geen cariestest liet bouwen.

Hiermede is de werking van het ptyaline ($\alpha + \beta$ amylase + maltase) beëindigd.

In de volgende serie van ontledingen komen de enzymen van de mondbacteriën in actie. De glucose doorloopt bij de ontleding tot melkzuur vijf stadia. Bij elk dezer étappes van ontleding is een ander enzym nodig. De ene bacterie levert wat meer

van het ene bepaalde enzym, de andere weer wat meer van een ander enzym. De ontleding vindt nagenoeg uitsluitend plaats in het lichaam der bacteriën, want de bacteriën putten hier hun energie uit. De symbiose van bacteriën is hier daarom van groot belang. Toch hebben velen gemeend de snelle zuurvorming hoofdzakelijk te moeten toeschrijven aan één soort: de bacillus acidophilus, die in grote aantallen bij caries-dispositie aanwezig zou zijn, (Bunting).

Al deze enzymen hebben om naar behoren te functionneren één gemeenschappelijke eis, n.l. PO_4^{---} -ionen, daar de tussenproducten tussen glucose en de zure eindproducten gevormd, alle fosforverbindingen zijn. In meer alkalisch reagerende media, zullen de benodigde phosphorionen wel uit verschillende organische verbindingen in vrijheid worden gesteld met behulp van in de mondvlloeistof aanwezige phosphatasen, enzymen met een verschillend karakter, al naar gelang van de verbinding die ze aangrijpen en de zuurgraad van het milieu, doch alle overeenstemmend in de eigenschap, dat ze phosphorhoudende ionen vrijmaken met hun activator magnesium. (Eggers, Lura 1946). In zure media zullen de PO_4^{---} -ionen aan het milieu worden onttrokken, de ionenevenwichten verschuiven en het apatiet, dat reeds door H^+ -ionen is aangetast zal weer makkelijker PO_4^{---} afgeven, waardoor de reactie wederom versnelt en de zuurvorming toeneemt.

Uit de bacterieel enzymatische phase der zuurvorming zijn verschillende tests te destilleren.

IV. Het meten van de Ca^{++} en PO_4^{---} -ionen-concentratie in het speeksel, kan een uitgangspunt zijn voor het bepalen van de cariesdispositie. Veel Ca^{++} en PO_4^{---} -ionen hangen samen met cariesresistentie, weinig met een dispositie. (Turkheim 1926) (Price 1932).

V. Een andere test verkrijgt men door het oplossingsvermogen van apatiet in een zuurvormend speeksel te meten. Dit heeft geleid tot een vrij betrouwbare, doch voor de praxis te ingewikkelde test, welke volgens de onderzoekingen 92 % treffers boekte. (Fosdick 1937).

VI. Ook het tellen van de bacillus acidophilus heeft een behoorlijke trefkans (ong. 70 %), doch is ook te tijdrovend. (Bunting 1928) (Hill 1939) (Winkler en Backer Dirks 1946).

VII. Men heeft ook een methode uitgewerkt om de concentratie van facto bacillus acidophilus te meten door de neerslag met speciale agglutinen na te gaan (Candy 1942).

VIII. Voorts heeft men de enzymwerking van de bacteriën als test trachten te gebruiken. (Belding 1941).

Het ligt voor de hand, dat men aandacht heeft geschonken aan de mogelijkheid die het speeksel biedt tot locale zuurvorming. Bekend is, dat deze gemeenlijk in de plaques plaats vindt.

IX. Zo heeft men het koolhydraatgehalte van het mucine trachten te meten. (Gore 1935). Hoog koolhydraatgehalte, veel mucine en plaques, cariesdispositie. Weinig mucine, caries resistentie.

De snelheid, waarmede zuur gevormd wordt is slechts weinig afhankelijk van de oorspronkelijke zuurgraad van het speeksel. Deze biedt dan ook geen houvast voor een cariestest.

Anders is het gesteld met de mogelijkheid die het speeksel biedt om H^+ -ionen op te vangen.

X. Men heeft hiertoe reeds lang geleden de alkali-reserve van het speeksel, d.w.z. de hoeveelheid titreerbare alkali van het speeksel gemeten. (Marshall 1917). Deze hangt samen met de aanwezigheid van buffers, als zure phosphaten en carbonaten. Het is te verwachten, dat bij een grotere alkaliereserve een geringer cariesdispositie aanwezig is.

XI. Men heeft ook getracht correlaties na te speuren tussen het NH_3 gehalte van het speeksel en de cariesfrequentie. De laatste tijd is men van mening, dat het NH_3 gehalte ten dele afkomstig is van het ureum dat het speeksel bevat, althans hiermede nauw verband houdt. Het speeksel van cariesresistente personen heeft men dan ook bevonden rijker te zijn aan NH_3 . (Grove 1924).

XII. Ook heeft men de reststikstof van het speeksel gemeten (Weinmann 1938). Dit hangt wederom samen met het eiwit, NH_3 en ureumgehalte. Men heeft bij cariesresistenten ongeveer 15 % hogere waarden gevonden dan bij gevallen met een cariesdispositie.

XIII. Anderen weer hebben de CO_2 capaciteit van het speeksel bepaald, dat is de hoeveelheid CO_2 die het speeksel kan bevatten. Is deze waarde groot, dan zal ook de buffering door zure carbonaten in sterker mate plaats vinden. Bij cariesresistenten is dus een groter CO_2 capaciteit te verwachten dan bij caries gedisponeerden. (Karshan 1931) (Hubbel 1933).

Hiernaast heeft men vastgesteld, dat tegelijk met de zuurvorming ook de eiwit oplosende of proteolytische kracht van het speeksel een bepaald gewicht in de schaal der cariesbalans kan leggen. Deze invloed is o.m. te verklaren door aan te nemen, dat de oplossing der eiwitmatrix van het glazuur samengaat met de oplossing der apatietkristallen. Misschien hebben sommige aminozuren nog een Ca^{++} ionenbindende werking, zodat ze de oplossing van de apatietkristallen kunnen helpen bespoedigen. Doch in ieder geval staat deze eigenschap verre ten achter bij de Ca^{++} ionenbinding door de sterke organische zuren. Sommigen nemen aan, dat de eiwitoplossende enzymen worden geproduceerd door coccen, waaronder de staphylococcus pyogenus aureus de voornaamste boosdoener zou zijn. (Gottlieb 1944) (Crawford 1946).

XIV. Reeds twintig jaar geleden heeft men op de proteolytische werking van het speeksel de aandacht gevestigd en men heeft menen waar te nemen, dat de eiwitten uit gepoederd glazuur bij cariesdispositie sterker worden afgebroken. (Stöcker 1925).

Het is hier aan de orde om enige opmerkingen te plaatsen die een theoretische steun kunnen vormen voor de theorie van Nord. De proteolytische werking der ecto- en endoenzymen van sommige bacteriën heeft n.l. nog een ander aspect. Proteolyse wil zeggen: afbraak der eiwitketens tot afzonderlijke aminozuren. Het is bij het proces van de caries niet in eerste instantie van belang, welk eiwit aan proteolyse is onderworpen, of dit nu keratine is, of het albuminoïde conchioline, dat volgens Lartschneider de voornaamste bouwsteen van het organische deel van het glazuur is of wel de gluten, die het tarwemeel bevat. Mits de zuurvormende bacteriën, behalve het koolhydraat dat zij voor hun groei nodig hebben tevens het benodigde eiwit krijgen. Onderzoekingen van de laatste tijd hebben uitgewezen, dat eiwitfragmenten en wel hoofdzakelijk aminozuren, veel sterker de bacteriegroei stimuleren, dan de gave eiwitmoleculen. Vooral tryptophaan schijnt hier een grote rol te spelen.

Hierdoor wordt het duidelijk, dat wanneer aminozuren, waaronder tryptophaan, aanwezig zijn, welke zuren worden geproduceerd door de werking van de enzymen der proteolytische bacteriën, en bovendien glucose wordt toegevoegd als afbraakproduct der samengestelde koolhydraten, een groter zuurproductie plaatsvindt. Deze voorwaarde nu is dikwijls aanwezig in spleten, barsten en lamellen van het glazuur. Hierdoor wordt het begrijpelijk, dat er in de diepere lagen soms een intenser zuurvorming en dientengevolge ook gemakkelijker aantasting van het apatiet plaatsvindt.

Op het eerste gezicht lijkt de bewering van zoëven, dat weinig tryptophaan in het speeksel op een cariesdispositie wijst, in tegenspraak met mijn opmerking, dat bacteriegroei juist plaatsvindt in ontleedde eiwitten, die veel tryptophaan bevatten. Men bedenke evenwel, dat het in het eerste geval om in eiwit gebonden en in het tweede geval om vrije tryptophaan gaat. Overigens heeft men hier weer één van de vele voorbeelden, hoe moeilijk het is om bij deze subtiele evenwichten op de resultaten van analytische testmethodes af te gaan.

Bovendien is het gebleken, dat het glazuur in de oppervlakkige lagen dikwijls beter „verkalkt” is. Juister geformuleerd betekent dit, dat de apatietkristallen in de oppervlakkige lagen van het glazuur dichter op elkaar geplakt zitten. Ook hierdoor zal het glazuur in de diepere lagen gemakkelijker worden aangetast.

Dit wil echter niet zeggen dat altijd eerst de eiwitten van het glazuur zullen moeten worden afgebroken om de afbraak van het apatiet in te leiden. Aminozuren kunnen ook van buiten, b.v. in mucineplaques, worden gevormd onder de gezamenlijke invloed van speekselproteolyse en bacterieproteolyse. Het is duidelijk, dat in dit geval niet

eerst een afbraak van de organische glazuurmatrix aan die van het apatiet vooraf behoort te gaan.

Nu hebben al de hier opgesomde factoren en de hierop gebaseerde tests gemeen, dat ze uit een groot aantal werkzame factoren één of enkele uitkiezen voor de meetmethode. Het zijn dus tests, die van een aprioristische analyse uitgaan. Dit zou geen bezwaar ontmoeten, wanneer men bij het cariesproces met een enkelvoudig causaal verband te maken had, doch in werkelijkheid lopen verschillende causale processen parallel, al zijn ze door zijdelingse verbanden verenigd. Zij zullen ons dus immer een onvolledig beeld geven van de zuurvorming en de oplossing van de apatietkristallen in vivo, tenzij er een test wordt bedacht, die aansluit bij een gemeenschappelijk knooppunt van causale relaties.

Een maximale bruikbaarheid van een test is daarom te verwachten, wanneer men in vitro het gezamenlijk effect der werkzame factoren weet te behouden. Het zwaartepunt ligt hier bij de snelheid der locale zuurvorming. Slechts wanneer alle factoren, die hierbij in het spel zijn, worden gemeten door hun gemeenschappelijk effect na te gaan, pas dan zal men gegevens verkrijgen die directe praktische waarde hebben. Want de snelheid der locale zuurvorming bepaalt de kans, dat op sommige plaatsen in het gebit een zuurgraad ontstaat die het iso-electrische punt van het glazuur voorbij streeft. Tests waarmee een dergelijk onderzoek beoogd wordt zijn synthetisch van opzet, aangezien zij niet in eerste instantie de afzonderlijke factor willen naspeuren, die het meest de snelheid der locale zuurvorming beïnvloedt. In de literatuur zijn enige van zulke tests beschreven.

XV. Het eerst willen we de test van Belding noemen. Hij gebruikt als zuurvormend medium havermeel tezamen met broodinfusie, glucose en bouillon. Deze test heeft het voordeel, dat de beginphase van de zetmeelontleding er bij wordt betrokken. (Belding 1937).

XVI. Vervolgens de test van Snyder. Deze meet de zuurwerking van het speeksel met glucose-agar. (Snyder 1941).

XVII. Messerli heeft deze test verbeterd, door in plaats van agar, bouillon te nemen. Het medium bleef zodoende helderder, gassen bleven minder in de cultuur hangen etc. (Messerli 1946).

Men kan, en dit laat zich uit een kritische beschouwing van al deze onderzoeken afleiden, de beste overeenstemming tussen al dan niet bestaande cariesdisposities en test verwachten, wanneer ook de werkelijkheid in vitro zo volkomen mogelijk wordt nagebootst.

D.w.z., dat men de verhouding tussen de hoeveelheid voedingsbodem en de hoeveelheid toegevoegd speeksel, zo gunstig mogelijk moet kiezen. Dat men van gekookte tarwe uitgaat, in welke toestand tarwemeel bijna altijd geconsumeerd wordt nadat het met water tot op kooktemperatuur verhit is geweest en waardoor de grote zetmeelkorrels uiteenvallen in het eigenlijke zetmeel en de kleverige eiwitten (gluten), zo dient ook het tarwemeel voor de test te zijn gekookt, daar zetmeel en eiwitdelen daardoor in lossere verband komen te liggen en colloïdaal worden opgelost, zodat chemisch betere aangrijpingspunten voor de enzymatische ontleding worden gevormd.

Daarom dient vooral niet te worden vergeten om aan de testvloeistof een weinig onopgeloste apatietkristallen, afkomstig van gepoederd glazuur, toe te voegen, welke bij voldoende zuurvorming de PO_4 -iontekorten kunnen aanvullen. Men moet bovendien zorgen, dat de tests plaats vinden bij temperaturen van $37^\circ C$.

Voorts doet men verstandig, vreemde stoffen, zoals indicatoren als broomcresolgroen pas toe te voegen, wanneer men de reacties meet.

En tenslotte moet men alle kneepjes en cautelen in acht nemen, die algemeen noodzakelijk worden geacht bij het afnemen van speeksel, want dergelijke kneepjes kunnen het resultaat beïnvloeden.

Zoals wij reeds zagen, wil dit nog niet zeggen, dat een synthetische test, die aan alle gestelde eisen voldoet, nu ook een volkomen weerspiegeling is van de cariesdispositie. Dit komt omdat er naast het factorencomplex, dat het tempo der zuurvorming bepaalt, nog twee andere factorencomplexen werkzaam zijn. Dit zijn het factorencomplex dat de structuur van het glazuur bepaalt en het factorencomplex

dat de structuur van het glazuur vermag te wijzigen. Het eerste dezer complexen is tot stand gekomen in een prae-eruptieve periode onder invloed van exo- en endo-geen *indirecte* factoren. Het tweede wordt verwezenlijkt onder invloed van exo- en endo-geen *directe* factoren.

Deze complexen veroorzaken de moeilijkheid, welke normen men moet aannemen en op welke wijze een synthetische test in de praktijk kan worden gebruikt.

Wat de norm betreft: dit vraagstuk is niet gemakkelijker, maar ook niet moeilijker dan het bepalen van welke normale variatiebreedte ook. Ik zou willen voorstellen deze normale variatiebreedte uitsluitend te bepalen uit de gemeten maandelijkse gemiddelden bij volkomen cariesresistente individuen. Deze personen moeten aan de eisen voldoen, dat zij caries noch vullingen hebben in een proeftijd van enige jaren. Men voorkomt hiermede de moeilijkheid, die men ondervindt bij de vaststelling van initiële caries. Men sluit tevens de mogelijkheid uit, dat toevallige tijdelijke verschuivingen in bepaalde concentraties het gemiddelde doorslaggevend beïnvloeden.

Wil men daarenboven nog de invloed van structuur wijzigende factoren zoveel mogelijk uitsluiten, dan kiese men zijn proefpersonen uit jeugdige individuen, waarbij het glazuur zeker nog niet volledig gerijpt is, dus bij kleuters van 2 tot 6 jaar. Zulke kinderen hebben een zeer overzichtelijk gebit en het is daarom niet waarschijnlijk, dat er caries aan onze aandacht zal ontsnappen. Ook spelen positiefactoren nog een geringe rol. Bij kleuters zullen dus meer dan bij grotere kinderen en volwassenen de structuurbepalende factoren de onbekenden zijn.

Om de grenzen van de norm te bepalen, moet men daarnevens uitgaan van een tweede serie eveneens zeer jeugdige proefpersonen, die in geringe mate caries hebben, hetgeen zeer goed te beoordelen is over een tijdvak van vier jaar. De testresultaten der cariesresistenten en die der cariesgedisponeerden zullen elkaar nu ten dele overlappen. In dit overlappende gebied bespeurt men de invloed van structuurbepalende en structuurwijzigende factoren.

De op deze wijze vastgestelde norm bepaalt in eerste instantie de practische bruikbaarheid der synthetische tests. Met de test kan men vroegtijdig vaststellen of er physiologische evenwichtsverstoringen aanwezig zijn, die tot caries kunnen leiden. Voorts in welke mate zulke evenwichtsverstoringen aanwezig zijn.

Naar gelang deze proeven uitvallen, kan men b.v. zijn maatregelen treffen in verband met Fluor-ionenprophylaxis. Men is in staat zich los te maken van het simpele inspenselen van het glazuur, hetwelk geen enkel intellectueel werker op de duur zal kunnen bevredigen, daar de resultaten zonder tests niet voldoende controleerbaar zijn. Men kan de frequentie van de fluorbehandelingen regelen naar de aanwezige cariesdispositie.

Een korte opmerking lijkt mij hier op zijn plaats over de cariesprophylaxis met gefluoreerde tandpasta's. Het is mogelijk ook op deze wijze de zuur-tolerantie van het email te vergroten, waardoor één bepaalde factor en zeker niet de onbelangrijkste, systematisch wordt uitgeschakeld. De uitwerking der glazuurwijzigende factoren kan zo aanmerkelijk worden verminderd. Men verbeelde zich nu echter niet, aan het einde te zijn van de mogelijkheden die de wijziging van de emailstructuur met fluor biedt. Want eerst dan heeft men de gelegenheid zijn aandacht te richten op het prophylactische effect, die andere ionale wijzigingen van het glazuur kunnen teweeg brengen.

Hoewel de glazuurbepalende factoren in hoofdzaak indirect endo-geen werkzaam zijn, blijkt de mogelijkheid te bestaan ook deze posteruptief direct exo-geen te beïnvloeden.

Gottlieb, die dit factorencomplex tot het beslissende verheft, en de overige, niettegenstaande sprekende feiten, als onbelangrijk schijnt te verwaarlozen doet dit door impregneren der organische partijen met kleurloze zilverpreparaten, die de bacteriëngroei in deze regionen opheffen. Men kan ook de regelmatige gebitscontrole van de testresultaten laten afhangen. Wanneer men een assistente traint in een dergelijke methode van onderzoek, kan men zeer veel tijd sparen met onnodige behandelingen en onderzoek. Op de duur zullen zeker ook de gereduceerde hoeveelheden vullingen meewerken om verschillende problemen der tandheelkunde tot een oplossing te brengen.

Pas wanneer wij de algemene cariesdispositie hebben gemeten uit het tempo der zuurvorming, zal het mogelijk zijn in sommige gevallen te bepalen bij welke factoren hier het zwaartepunt ligt. Misschien is het in de toekomst mogelijk, ook deze factoren te beïnvloeden en te leren beheersen. Thans zijn we echter nog op geen stukken na zover. In ieder geval zal men dan zijn toevlucht moeten nemen tot analytische testmethodes. Vooralnog zijn deze, zoals ik op theoretische gronden hier heb uiteengezet, niet degenen waarop onze aandacht in eerste instantie zal zijn gericht.

Ik ben thans aan het einde van mijn voordracht gekomen. Ik heb hier de ontwikkelingsrichting der moderne cariestheorieën mogen schetsen en aan de hand hiervan de caries beschouwd. Ik heb de physiologische veranderingen die hiermede samenhangen nagegaan en ben hiervan uitgaande, op logische gronden gekomen tot een methode van onderzoek, die tot het opsporen van cariesdisposities leidt. Ik hoop, dat ik U heb mogen doordringen van het belang dat de gehele tandheelkunde heeft bij de practische mogelijkheden die een cariestest kan bieden. Ik ben hierbij opzettelijk niet ingegaan op de techniek van het onderzoek. Hiervoor ontbrak ten eerste de tijd, ten tweede viel dit enigszins buiten de gestelde grenzen, en ten derde was ik bang, genoodzaakt te zijn, verschillende fysisch-chemische verschijnselen met U te moeten behandelen die bij velen van U enigermate zijn vervaagd. Oppervlakkig heb ik moeten zijn, omdat het terrein van de cariestheorie langzamerhand tot een speciale wetenschap in de tandheelkunde is uitgegroeid. Op hun juiste waarde schatten van de verschillende cariestheorieën in hun onderlinge samenhang vereist een vrij uitgebreide kennis van physica scheikunde en fysische chemie, kristallographie, physiologische chemie, biologie, bacteriologie, histologie en nog op verscheidene andere gebieden, welke kennis niet uit een samenvattend tandheelkundig leerboek is te putten. De ervaring heeft mij geleerd dat het geruime tijd duurt, voor men voldoende kennis op dit gebied heeft vergaard om tot een oordeel te komen. Velen van U verkeren in de mening, zeker niet ten onrechte, dat ons onderwijs niet is ingesteld op de moeilijkheden die men ontmoet bij bestudering van de moderne tandheelkundige literatuur in verband met het cariesvraagstuk. Het gevolg is, dat verscheiden collega's zich afzijdig houden van deze problemen en ze naast zich neerleggen als buiten de praktijk liggende. Ik zou hier de wens uit willen spreken, dat de verbreding van de tandheelkundige opleiding ook in dit opzicht de zo noodzakelijke verbetering moge brengen.

SAMENVATTING

In het eerste gedeelte van de voordracht werd betoogd, dat de caries een pathologisch proces is, waarbij H⁺-ionen van buiten af het glazuur binnendringen en de apatietkristallen worden afgebroken. Het mechanisme van dit proces werd in grote lijnen nagegaan. Geconcludeerd werd, dat het tempo der locale zuurvorming hierbij van essentieel belang moet worden geacht, dat evenwel andere factorencomplexen als glazuurwijzigende en glazuurbepalende werkzaam zijn, waardoor het cariesprobleem in feite een polycasueel probleem is.

In het tweede gedeelte werd nagegaan welke factoren zoal verantwoordelijk gesteld zijn voor de zuurvorming en het tempo hiervan, en welke van deze factoren geschikt zijn als uitgangspunt voor een cariestest. Op logische gronden werd aannemelijk gemaakt, dat men theoretisch de beste overeenstemming van de testresultaten met de werkelijke graad van cariesdispositie kan verwachten, wanneer men het gehele complex van factoren dat de zuurvorming beïnvloedt, overbrengt en nabootst in vitro. Een dergelijke testmethode wordt synthetisch genoemd, omdat zij gesteund wordt door het polycasuale karakter der werkelijkheid, waarvan slechts een volledig beeld kan worden verkregen door synthese der uit analyse verkregen gegevens.

SUMMARY

In the first part of the lecture was argued, that caries is a pathological process, at which H⁺ions penetrate to enamel from the outside and the apatite crystals are broken down. The mechanism of this process was outlined. The conclusion was, that the rapidity of the local acid production may be considered as a point of essential importance. Nevertheless other complex factors are active, as enamel changing and enamel determining factors. For in fact caries is a polycasual problem.

In the second part several factors were traced that may be responsible for the formation of acid and its rapidity, and which factors are suited as starting point for a caries test. Logical argumentation made it acceptable, that theoretically the best conformity between the test-results and the real degree of caries susceptibility may be expected, when the complex of factors that is active at the formation of acid is transferred and imitated in vitro. Such a method of a caries test is called a synthetic one, because it is supported by the polycasual character of reality, of which one can get a complete image only by synthesis of analytically obtained facts.

GERAADPLEEGDE LITERATUUR

1. Abderhalden Lehrbuch der physiologischen Chemie. Basel 1946.
2. v. Arkel Moleculen en kristallen. Den Haag 1946.
3. Badanes The rôle of fungi in deposits upon the teeth. D.C. 1933.
4. Beevers, Mc Intire ... The atomic structure of fluor apatite and its relation to that of tooth and bone material. Mineralogic. Mag. 1946.
5. Belding A preliminary report announcing the discovery of an additional link in the aethiologic chain of dental caries. I.o.I. 1937.
6. Berke Studies in human enamel. D.C. 1936.
7. Bibby Use of fluorine in prevention of dental caries. J.A.D.A. 1947.
8. Bödecker The modified dental caries index. J.A.D.A. 1939.
9. Brandenberger,
Schinz Ueber die Natur der Verkalkungen bei Mensch und Tier und das Verhalten der anorganischen Knochensubstanz im Falle der hauptsächlich menschlichen Knochenkrankheiten. Basel 1946.
10. Bunting The rôle of bacillus acidophilus in dental caries. J.A.D.A. 1925.
11. Davson, Danielli ... Permeability of natural membranes. Cambridge 1943.
12. v. Deirse Schadelijkheid van geretineerde koolhydraten voor den levenden tand. T.v.T. 1933.
13. Driac Die Entstehung und Verhütung der Zahnkaries. Z.f.S. 1947.
14. Eggers Lura..... Odontologische Undersøgelser over Spyttets enzymer. København 1944.
15. Fish, Mc. Clean Immunity to organisms of dental caries. D.C. 1934.
16. Florestano, Faber,
James Studies on the relationship between diastatic activity of saliva and incidence of dental caries. J.A.D.A. 1941.
17. Florkin Introduction à la biochimie générale. Paris 1946.
18. Fosdick, Hansen,
Wessinger The reductase activity of various mouth organisms. J.A.D.A. 1937.
19. Fosdick, Hansen,
Epple Enamel decalcification by mouth organisms and dental caries. A suggested test for caries susceptibility. J.A.D.A. 1937.
20. Fosdick, Campaigne Some chemical differences between the saliva of caries immune and that of caries susceptible patients. J.A.D.A. 1939.
21. Frey-Wissling Submicroscopische Morphologie des Protoplasmas und seine Derivate. Berlin 1938.

22. Gassmann Leitfaden für die qualitative und quantitative chemische Analyse der Knochen und Zähne. Bern 1937.
23. Gassmann Der Kristallaufbau der Knochen und der Zähne und seine Beziehungen zur Rachitis und Zahn-caries. Bern 1937.
24. Gerould Electron microscope study of the mechanism of fluorine disposition in teeth. J.D.R. 1945.
25. Glasstone The development of tooth germs in vitro. J.o.Anat. 1936.
26. Gins Bakteriologische Betrachtungen zur Karies. Aetiologie. D.Z.W. 1943.
27. Gore Saliva and enamel decalcification. D.C. 1935.
28. Gottlieb A new concept of the caries problem and its clinical application. J.A.D.A. 1944.
29. Grove The biochemical aspect of dental caries. D.C. 1934.
30. Grove Chemical study of human saliva indicating that ammonia is an immunizing factor in dental caries. J.A.D.A. 1935.
31. Gustavson The structure of human dental enamel. Göteborg 1945.
32. Gysi, Nishimura Histologische Untersuchungen über die Anfänge der Zahnkaries, speziell der Karies des Schmelzes. S.M.f.Z. 1926.
33. Hadley A quantitative method for estimating the bacillus acidophilus in the saliva. J.D.R. 1933.
34. Harndt Speichelrhodanid in Beziehung zu Vorgängen in der Mundhöhle. D.Z.M.K. 1937.
35. Hill Salivary factor which influences growth of lactobacillus acidophilus and is an expression of susceptibility or resistance to dental caries. J.A.D.A. 1939.
36. Jeanneret Ueber der gefleckten Schmelz. S.M.f.Z. 1941.
37. Jeanneret Ueber den Kariestest. S.M.f.Z. 1943.
38. Jordan Encyclopedisch handboek van het moderne denken. p. 108. Arnhem 1942.
39. Jordan De causale verklaring van het leven. Amsterdam 1942.
40. Kanner Organic constituents of enamel. A polarographic study. J.A.D.A. 1939.
41. Keil Ueber der Feinbau der harten Zahnsubstanzen nach Untersuchungen in polarisiertem Licht. D.Z.M.K. 1935.
42. Keil Der menschliche Zahnschmelz in kariösen Zustand. D.Z.M.K. 1937.
43. Kesel and all The biologic production and therapeutic use of ammonia in the oral cavity in relation to dental caries prevention. J.A.D.A. '46.
44. Klein, Amberson A physico chemical study of the structure of the dental enamel. J.D.R. 1929.
45. Kovaliv, Held Influence du fluor sur la resistance de l'émail dentaire. S.M.f.Z. 1947.
46. Krasnow Biochemical analysis of saliva in relation to caries. D.C. '36.
47. Kruyt Colloids. New York 1927.
48. Lefkowitz Shapiro, Bödecker Experimental amelotomy. J.D.R. 1947.

49. Leimgruber Kariesprophylaxe. S.M.f.Z. 1945.
 50. Leimgruber Das Schmelzprisma. S.M.f.Z. 1945.
 51. Leimgruber Der mechanismus der normalen Schmelzreifung. S.M.f.Z. 1946.
 52. Mee Physical chemistry. Londen 1934.
 53. Messerli Ueber verschiedene Speicheluntersuchungen und ihre Eignung zu einem Kariestest. S.M.f.Z. 1946.
 54. Miller Microorganisms of the human mouth. New York 1890.
 55. Nord De oorzaak der tandcaries. T.v.T. 1946.
 56. Orban Oral histology and embryology. St. Louis 1944.
 57. Pincus B.D.J. 1937. Geciteerd volgens Wellings.
 58. Price Experimental basis for new theory of dental caries D.C. 1932.
 59. Prins Grondbeginselen van de hedendaagse natuurkunde. Groningen 1946.
 60. Polonowsky Biochemie medicale. Paris 1941.
 61. Sandoz La physiopathologie du calcium. S.M.f.Z. 1945.
 62. Schmidt, W. J. Ueber Bedeutung und Herstellung kollagenfreier Knochenschliffe. Z. j. Mikrosk. 1933. Geciteerd naar Keil.
 63. Snyder A simple colorometric method for the diagnosis of caries activity. J.A.D.A. 1941.
 64. Tauber Activators an inhibitors of enzymes. Ergeb. d. Enzymforsch. 1935.
 65. Teekenbroek Nadere beschouwing over de mondcosmetica. T.v.T. 1944.
 66. Türkheim Ueber den sogenannten Schmelzstoffwechsel. Z.f.S. 1925.
 67. Turner, Crowell Dental caries and tryptophane deficiency. J.D.R. 1947.
 68. Wellings Practical microscopy of the teeth and associated parts. Londen 1938.
 69. Wannenmacher Diffusionsvorgänge in den harten Zahnsubstanzen ins besondere im Zahnschmelz. D.Z.M.K. 1939.
 70. Weisberger Saliva incubated with glucose as a replacement for tryptophane in a synthetic medium supporting the production of acid by lactobacillus acidophilus. J.D.R. 1946.
 71. Winkler, Backer Dirks Lactobacillen en caries. T.v.T. 1946.
 72. Winkler Mottled enamel, fluor en tandcaries. T.v.T. 1946.
 73. Witthaus Cariesproblemen. T.v.T. 1944.
 74. Zander Use of silver nitrate in the treatment of caries. J.A.D.A. 1941.

- D.C. = Dental Cosmos.
 Io.I. = Items of Interest.
 J.A.D.A. = Journal of the American Dental Association.
 T.v.T. = Tijdschrift voor Tandheelkunde.
 Z.f.S. = Zeitschrift für Stomatologie.
 J.D.R. = Journal of Dental Research.
 D.Z.W. = Deutsche Zahnärztliche Wochenschrift.
 S.M.f.Z. = Schweizerische Monatschrift für Zahnheilkunde.
 D.Z.M.K. = Deutsche Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde.
 Jo.Anat. = Journal of Anatomy.
 Z.f. Mikrosk. = Zeitschrift für Mikroskopie.