

## Perspectieven van het cariesonderzoek

door Dr. E. Hecht

Terwijl Alexander Schmidt op vrijwel onontgonnen terrein zijn onderzoekingen over de bloedstolling begon, welke later met de aanvullingen door Hammarsten, Pekelharing en Morawitz tot de klassieke theorie der bloedstolling zouden leiden, bouwde naar analogie hiervan W. D. Miller ongeveer gelijktijdig zijn chemisch-parasitaire theorie der caries op. In dit verband wil ik wijzen op de literatuur der oudheid (Plinius, Celsus), die nog slechts historische waarde heeft, terwijl zij — gezien ons tegenwoordig handelen — soms een grotere belangstelling had verdiend.

Zowel de klassieke theorie der bloedstolling als de chemisch-parasitaire theorie der caries hadden sindsdien heftige aanvallen te verduren. Beide raakten door talrijke nieuwe theorieën tijdelijk op de achtergrond en er ontwikkelde zich een stadium van anarchie. Naderhand zijn nieuwe technieken (ultracentrifugatie, electrophorese, verdelingschromatographie e.a.) in het onderzoek betrokken en deze hebben ons, wat de bloedstolling betreft, belangrijke nieuwe gegevens verschaft. Mogelijkerwijs zou dit ook bij het onderzoek betreffende de tandcaries met behulp der nieuwe, in Amerika ver ontwikkelde techniek van de kweek van kiemvrije dieren het geval kunnen zijn.

Teneinde enkele mogelijkheden omtrent de toepassing van deze techniek beter te kunnen verklaren, zal ik eerst de belangrijkste cariestheorieën in het kort de revue laten passeren.

Op grond van eigen onderzoek lijkt het tegenwoordig waarschijnlijk, dat de bloedstolling, zoals deze in werkelijkheid verloopt, veel nauwer verwant zal zijn met de klassieke theorie dan met een der

vele hedendaagse eendagsvliegen van theorieën en het laat zich aanzien, dat ook de theorie van de nestor van het cariesonderzoek zich als een niet in te nemen bastion zal handhaven.

De definitie der caries door W. D. Miller als „ein chemisch-parasitärer Zerstörungsprozess am Zahn, zu dessen Entwicklung mehrere Faktoren rein örtlicher Art oder örtlicher und allgemeiner Art zusammen wirken müssen” is moeilijk ad absurdum te voeren. Miller was van mening, dat de anorganische bestanddelen van het glazuur en van de dentine oplossen in zuren, die door bacteriën uit achtergebleven voedseldeeltjes in groefjes, kuiltjes, fissuren enz. worden gevormd.

Inderdaad worden bij een  $p^H$  kleiner dan 5 noemenswaardige hoeveelheden anorganisch materiaal opgelost en men stelde tenslotte hiervoor verantwoordelijk de lactobacillus acidophilus en wel omdat deze in de mondholte voorkomt en zelfs een  $p^H$  van minder dan 4 kan overleven. Buitendien kan dit micro-organisme uit koolhydraten melkzuur produceren en tevens is bekend, dat suiker zowel de groei van lactobac. acidophilus als ook de ontwikkeling van de caries begunstigt.

De zuurvormende en daarmee decalcificatie tot stand brengende micro-organismen alleen kunnen echter het ontstaan der caries niet verklaren. De zuurproductie komt immers vanzelf tot stilstand zodra het zuur als Ca-zout geneutraliseerd is. Teneinde hiervoor een uitweg te vinden werd in aansluiting op de primaire decalcificatie door zuur een secundaire invasie aangenomen van andere micro-organismen, die de rest van het weefsel zouden moeten aantasten. Aan bepaalde proeven in vitro kan men voor de theorie van Miller niet voldoende steun ontleenen, omdat de verkregen uitkomsten in tegenwoordigheid van speeksel niet gelden. Bovendien kunnen onhygiënische, bacteriënrijke monden vrij van caries zijn en uit experimenten op ratten bleek, dat zuur-vormende bacteriën, al of niet gepaard gaande met tandcaries, aanwezig kunnen zijn. Ook de Bantoenegers, die voornamelijk van zure melk leven, vertonen ondanks dit bijzondere aanbod van melkzuurbacteriën geen caries.

Terwijl nu volgens Miller en zijn aanhangers de primaire actie bij het ontstaan der caries aan de acidogene bacteriën is toe te schrijven en de voltooiing van het carieuze proces aan de secundaire invloed op de proteïnematrix aan andere bacteriën wordt overgelaten, vindt volgens de school van B ö d e c k e r de initiale aan-

val door proteolytische bacteriën plaats. Men meende nl. vastgesteld te hebben, dat in het vroege stadium der tandcaries voornamelijk organische substantie verloren gaat en dat pas *na* een zekere primaire destructie der organische matrix het verlies aan anorganische substantie overheerst. Hoewel wij inderdaad micro-organismen leerden kennen, die in het speeksel voorkomen en uit carieuze elementen geïsoleerd kunnen worden (*Pincus*) en die proteïne in het glazuur kunnen aantasten of in staat zijn kraakbeen te proteolysen, werd van andere zijde ontkend, dat levende bacteriën het glazuur kunnen doordringen. *Gottlieb* concludeert uit zijn onderzoekingen over de „undermining caries” en over de progressieve caries onder een restauratie, dat proteolytische bacteriën een primaire invasie in de lamellen van het glazuur kunnen geven en zich langs geschikte wegen in het proteïne van de dentine uitbreiden, maar hij wijst er ook op, dat bij de verklaring van de belangrijkste factoren der caries-praedispositie ook de klassieke theorie der decalcificatie door zuur dient te worden behouden.

Het is niet mogelijk, het gehele ontwikkelingsproces der carieslaesie met een enkel mechanisme te verklaren en wij mogen een reeks van factoren, die hieraan deel kunnen nemen, niet over het hoofd zien. *Leicester* (1949) noemt in zijn boek: „Biochemistry of the Teeth” in dit verband naast de aanwezigheid van zuurproducerende en proteolytische bacteriën o.a. het substraat waarop deze hun activiteit kunnen ontplooiën, de condities betreffende de tandplaque, de putjes en de fissuren, die het contact met de oppervlakte van het glazuur onderhouden, verder bijzonderheden van de tand zelf: stand, occlusie en praedisponerende structuren zoals deze bij onvolledige verkalking der prisma's in het glazuur, bij hypoplasieën door stoornis der Ca-stofwisseling en tengevolge van chemische verschillen (gehalte aan Ca, F, Mg en eventuele andere elementen) aanwezig zijn.

Hieruit blijkt duidelijk hoe gecompliceerd het cariesprobleem is en hoe weinig verantwoord het zou zijn één enkele factor als oorzaak der caries te willen opvatten. Dit neemt echter niet weg, dat een verdere studie van de samenwerkende factoren in de toekomst van groot belang kan zijn voor de cariesprophylaxe door het elimineren van een dezer gekoppelde factoren.

Naast de reeds genoemde groepen van cariestheorieën zij ook nog de aandacht gevestigd op de opvattingen van onderzoekers, die voor het ontstaan der caries niet de zure stofwisselingsproducten der

bacteriën, maar hun enzymssystemen verantwoordelijk stellen. Zo plaatst b.v. E g g e r s-L u r a de phosphatasen, de oxydatie-enzymen en de eiwit-synthetiserende enzymen der levende en dode bacteriën alsmede de enzymen van het speeksel op de voorgrond en vat de caries op als een soort van pathologisch resorptie-proces, dat met de physiologische resorptie van het melkgebit door de enzymen van het bloed te vergelijken zou zijn. De caries is dus volgens E g g e r s-L u r a geen afbraak, maar een opbouw tot gecompliceerde, oplosbare structuren uit eenvoudige onoplosbare producten, waarvoor de tand de grondstoffen levert. E g g e r s-L u r a maakt van een aantal bekende feiten op handige wijze gebruik om zijn theorie te steunen, waarbij het soms moeilijk is, zich met al zijn gevolgtrekkingen van biochemische aard te verenigen.

Een laatste groep van onderzoekers ziet in het cariesprobleem een pathologische storing van het biologische systeem: bloed-tand-speeksel en bij de theorieën op die basis worden de exogene en locale factoren in het algemeen ten zeerste verwaarloosd.

Tenslotte moet er nog de aandacht op worden gevestigd, dat een duidelijke invloed van de voeding, van vitamines en bepaalde mineralen op de ontwikkeling van de caries niet mag worden ontkend.

De cariesfrequentie neemt toe naarmate de natuurlijke voeding door een meer verfijnde kost wordt vervangen. Wij beschikken over gegevens, dat met de invasie der Romeinen in Midden-Europa — waarmede de verspreiding van de verfijnde keuken der Romeinen gepaard ging — de gezondheidstoestand van de gebitten der bevolking opvallend achteruit ging. Omgekeerd kan een gedwongen terugkeer tot een eenvoudigere levenswijze en voeding de cariesfrequentie gunstig beïnvloeden, zoals dit b.v. gedurende de 30-jarige oorlog en gedurende de laatste wereldoorlog het geval was.

Recente statistieken spreken een duidelijke taal over de ongunstige invloed op de status van het gebit door het contact ener bevolking met de z.g. civilisatie. Ik wijs hierbij op de tabel uit de dissertatie van P. L. H o o g l a n d (Amsterdam 1948) omtrent de cariesfrequentie in Zwitserse verkeerscentra zoals St. Moritz en de bevolking der afgelegen dalen (29.8 resp. 4.6 % carieuze elementen), van de Eskimobevolking in de omgeving der havens t.o.v. de geïsoleerde binnenlandse bevolking (13 resp. 0.09 % carieuze elementen) en meer soortgelijke gegevens.

Een vergelijking van onze voeding met die van onze voorouders,

resp. met die ener meer afgezonderd levende bevolking vertoont grote verschillen. Tegenover het zachte wittebrood uit weinig uitgemalen tarwe, afkomstig van de modernste broodfabrieken, dat, nog afgezien van het verlies aan waardevolle minerale stoffen en vitaminen, slechts geringe eisen aan de kauwfunctie stelt, staat een hard brood uit 100 % uitgemalen graan, door de verbruiker zelf na zuurdeeggisting bereid. De bereiding van onze warme maaltijden, vergeleken met vroeger, levert eveneens soortgelijke tekortkomingen op. De caries-bevorderende invloed van de geraffineerde suiker der moderne fabrieken in tegenstelling tot honing, de zoetstof bij uitnemendheid van onze voorouders en tot de minder „gezuiverde” suikerproducten is voldoende bekend. O s b o r n e toonde overigens ook in vitro aan, dat witte suiker, in tegenstelling tot „crude cane juice”, samen met speeksel in staat is tanden te decalcificeren.

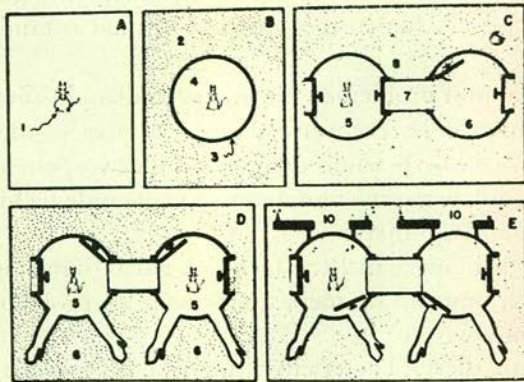
Een groot aantal problemen nu, waarvan de oplossing in verband met het bovenstaande zeer wenselijk geacht moet worden, zal in de toekomst aan een beslissend onderzoek onderworpen kunnen worden door gebruik te maken van de reeds genoemde techniek van het fokken van kiemvrije dieren.

Na de beschrijving van deze techniek zal ik dan nog op enkele mogelijkheden omtrent de toepassing ervan bij problemen van het cariesonderzoek wijzen.

De gedachte, dieren bacteriëenvrij te fokken is niet nieuw en reeds ten tijde van P a s t e u r, toen de vraag acuut werd of dieren zonder bacteriën kunnen leven, werden de eerste pogingen dienaangaande ondernomen. N u t t a l e n T h i e r f e l d e r (1897) en ook M e t s c h n i k o f f en zijn leerlingen beschikten reeds over kiemvrije („privé de germes”) kippen. In 1928 begon J a m e s R e y n i e r s met soortgelijke experimenten en nadat hij op typisch Amerikaanse wijze zijn onderzoek wist te financieren, beschikt hij tegenwoordig over een prachtig complex van instituten met de bedoeling kiemvrije caviae, ratten, muizen, katten, honden, konijnen, apen en andere dieren te fokken. De resultaten worden in de Lobund-Reports (*Laboratories of Bacteriology, University Notre Dame in Indiana*) gepubliceerd.

Onze belangstelling gaat in het bijzonder uit naar het fokken van ratten en hamsters en wij dienen ons te realiseren, dat deze dieren met behulp van de keizersnede steriel moeten worden verkregen, tot volwassen dieren moeten worden grootgebracht en dan geduren-

de lange perioden van experimenteren steriel gehouden en door verschillende generaties steriel gefokt moeten worden. Terwijl kippen vrij gemakkelijk steriel uit de bebroede eieren kunnen worden verwijderd en zich meteen met gesteriliseerd voedsel zelf kunnen voeden, zijn zoogdieren, die met behulp van de sectio caesarea worden verkregen, van moedermelk verstoken en hulpeloos als kinderen. De pasgeboren dieren moeten gedurende de eerste drie weken om het uur gespeend en ter bevordering der urinelozing en defaecatie na iedere voeding worden gemasseerd. Van iedere worp wordt een dier na fijnhakken bacteriologisch onderzocht en van de dieren, die afhankelijk van de uitslag hiervan al of niet in leven worden gehouden, worden de excreta geregeld op

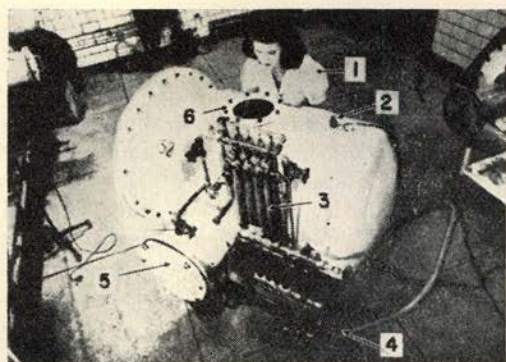


Afb. 1

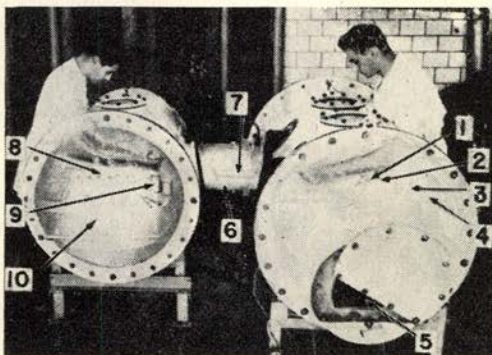
infecties nagegaan. Een worp van 6 witte ratten eist gedurende de eerste 30 dagen niet minder dan 500 werkuren. Met het oplossen der buitengewoon moeilijke voedingsproblemen waren 15 jaren gemoeid en in verband daarmee werden er 50 verschillende diëten uitgewerkt.

Afb. 1 illustreert het principe van R e y n i e r s' kiemvrij systeem („germ free system”).

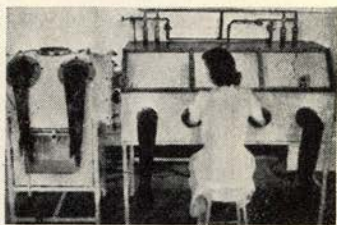
Het door sectio caesarea kiemvrij verkregen dier (A) wordt van de geïnfecteerde omgeving (2 in B) in een kiemvrije kweekeenheid (4): „germ free rearing unit” geïsoleerd. In deze eenheid (B) zou het dier kunnen blijven zo lang het aanwezige voedsel nog niet is verbruikt en zo lang de verontreiniging der eenheid de verplaatsing van het dier in een andere omgeving nog niet wenselijk maakt. Zal het dier echter worden verplaatst, dan wordt een nieuwe eenheid aangesloten (C), de voedselautoclaaf ervan (7) van het nodige voorzien en bij geopende klep (tussen 6 en 7) met stoom onder druk gesterili-



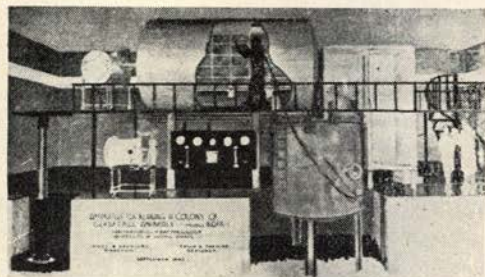
Afb. 2



Afb. 3



Afb. 4



Afb. 5

Deze afbeeldingen zijn overgenomen uit de LOBUND-reports van November 1946

seerd. D demonstreert het totale steriele systeem, nadat inmiddels ook de andere klep, die de verbinding tussen de oorspronkelijke en de nieuw daarbij gekomen eenheid mogelijk maakt, werd geopend. Deze wordt van binnen geopend met behulp van rubberhandschoenen, die aan de eenheid bevestigd zijn en met deze samen gesteriliseerd werden. De genoemde handschoenen worden gedurende het aantrekken gekeerd (vergel. Afb. 4). Het dier in kwestie kan dan in de nieuwe eenheid hetzij overgebracht worden resp. zich zelf verplaatsen en de oorspronkelijke eenheid kan, door op gelijke wijze de sluis hiervan te sluiten, worden verwijderd. Deze manipulatie kan ad infinitum worden herhaald. In E is de toe- en afvoer van steriele lucht aangeduid (10).

Afb. 2 toont een analyste, die met behulp van rubberhandschoenen in de kiemvrije kweekeenheid bezig is. Verder betekenen 2 de stroomtoevoer voor licht enz., 3 de filterspiralen voor de voorziening van steriele lucht, 4 een wagen ter verplaatsing der kweekeenheid, 5 de autoclaaf met dubbele wanden voor het inbrengen van voedsel resp. voor de aansluiting met een soortgelijke kweekeenheid en 6 een venster ter observatie der dieren resp. van het te verrichten werk. De afgebeelde eenheid heeft een lengte van 105 cm en een doorsnede van 80 cm. Een ander gebruikelijk model met 4 in plaats van 2 rubberhandschoenen bezit een lengte van 240 cm.

Afb. 3 toont een combinatie van de zojuist beschreven „germ free rearing unit” (links) met een iets ruimere operatie-eenheid. Het te opereren dier (1) wordt bij 5 ingebracht en met behulp van een kraan tot aan de steriliteitsbarrière uit cellophaan (2) opgetild. 3 en 4 stellen de thermocauter resp. de operatievlakte voor. Twee vensters verzekeren het zicht van de operateur tijdens de sectio caesarea. De operatief verkregen dieren worden door de operateur in de schaal (7) in de voedselautoclaaf (6) gedeponereerd en door de assistent in aparte potjes (8) overgebracht. 9 en 10 betekenen de bekertjes resp. de opslagruijnte voor voedsel.

Afb. 4 toont de analyste, die met behulp der rubberhandschoenen in een „rearing hood” bezig is een dier te spenen. Deze goedkopere eenheid beschikt voor sterilisatiedoeleinden over 2 ultravioletlampen aan het plafond en onder de werkvlakte. Links onderaan een oud model van een operatie-eenheid.

Afb. 5 geeft schematisch het systeem weer voor de kiemvrije teelt van grotere groepen van dieren. Deze bevinden zich in standaardkooien in de grote horizontale cylinder. Links van deze is een „germ free rearing unit” zichtbaar, waarmede dieren op steriele wijze verwijderd kunnen worden. De toegang tot deze grote cylinder is alleen met behulp van een duikerpak door de met sterk bactericide zephiraanchlorideoplossing (1 : 500) gevulde tank mogelijk.



De kosten van het systeem (Afb. 5), samen met 16 eenheden voor de kiemvrije kweek (Afb. 2) en een operatie-eenheid (Afb. 3 rechts) met toebehoren en apparaturen, bedragen 100.000 dollar. De salarissen voor het minimaal vereiste personeel van 21 personen (8 voeders, 4 man sterilisatiepersoneel, 1 machinist, 2 bacteriologen met 4 assistenten en 2 opzichters) zijn in deze prijs niet inbegrepen, evenmin die voor de onmisbare biochemicus en patholoog.

Het is zonder meer duidelijk, dat deze geperfectioneerde methode veelzijdige nieuwe perspectieven opent en om deze reden is er ook reeds een intensieve samenwerking tussen Lobund en andere instituten voor het bestuderen van virusziekten, vitaminewerkingen, voedings- en kankerproblemen en andere. Maar ook voor het caries-onderzoek opent dit nieuwe niet te overziene mogelijkheden.

Door gedoseerde en specifieke infecties zou een dieper inzicht in de betekenis der acidogene en proteolytische bacteriën voor het ontstaan der caries verkregen kunnen worden. Welke der beide oefenen de initiële aanval uit? Komt deze slechts door beider gelijktijdige samenwerking tot stand? Is deze primaire aanval de specifieke prestatie van *Lactobacillus acidophilus* of (en) ook van andere melkzuurbacteriën, melkzuurstreptococci, coli-aerogene soorten, aerobe en anaerobe rottingsbacteriën enz.? Zijn het de bacteriën als zodanig of de enzymen van deze, welke een essentiële rol spelen? Onderzoekingen van deze aard zouden ons in staat kunnen stellen een nader gepreciseerd standpunt tegenover de verschillende cariestheorieën in te nemen.

Maar ook de rol van het speeksel zou aan een nader onderzoek onderworpen kunnen worden. Kan uitschakelen van het speeksel door operatief verwijderen der speekselklieren alleen of slechts in samenwerking met bacteriën caries tot stand brengen?

Zijn bepaalde voedingsfactoren op zich zelf of slechts in samenwerking met bacteriën, en zo ja, met welke bacteriën, in staat caries te verwekken? Proeven met gedoseerde toevoegingen van vitaminen zouden nog duidelijker inzicht kunnen verschaffen omtrent al of niet vereiste voorziening van bepaalde vitaminen voor de ontwikkeling van een normaal gebit. Ook zou de merkwaardige observatie nader onderzocht kunnen worden, dat bepaalde diëten een verhoogde cariesfrequentie bij de jongen tot stand brengen, terwijl de moederdieren zelf caries-vrij blijven.

Hoewel bekend is, dat er op tandheelkundig gebied reeds een nauwe samenwerking tussen Lobund en de Zöllerkliniek van de

Universiteit te Chicago bestaat, zijn — voor zover mij bekend — tot op heden nog geen resultaten dienaangaande gepubliceerd. Mogelijkerwijs zijn enkele der bovengenoemde suggesties reeds onderwerp van onderzoek.

Het lijkt mij van groot belang voor de ontwikkeling van ons inzicht in het wezen van het caries-probleem, om van de resultaten dezer kweekmethode nauwlettend kennis te nemen. Met het oog op de enorme kosten van de kiemvrije teelt volgens R e y n i e r s zullen wij Nederlanders bij dit onderzoek helaas een vrij passieve rol moeten vervullen.