

EXPERIMENTELE GRONDSLAG DER GLYCOGEENTHEORIE VAN GLAZUURCARIES *)

DOOR DR. H. EGYEDI

Inleiding

In het December-nummer van het Tijdschrift voor Tandheelkunde 1952 (pag. 896) heeft schrijver dezes zijn theorie over het ontstaan van tandcaries uiteengezet. Hierbij werden getallen gepubliceerd betreffende het glucose- en glucosamine-gehalte van glazuur en dentine, en verschillen in dit opzicht aangetoond tussen Hollandse en Indonesische tanden.

De gevonden getallen waren echter klein, daar de bepalingen werden verricht in waterig extract zonder het apatiet van te voren te verwijderen, waardoor een deel van de organische substantie niet ontsloten was. Zodoende lagen de gevonden getallen dicht bij de betrouwbaarheids-grens der gebruikte reagentia. Een correctie en aanvulling met verbeterde techniek was dus dringend nodig.

De bedoeling van dit artikel is:

1. om de sedertdien uitgevoerde experimenten te beschrijven, experimenten die een onverwacht duidelijke bevestiging van de theorie vormden;
2. baserend op de discussie, die volgde op schrijver's lezing in Amsterdam, de belangrijkste tegenwerpingen op de theorie te bespreken.

Voorgeschiedenis

Sedert de onderzoekingen van B ö d e c k e r is er in de laatste tientallen jaren een steeds groeiende belangstelling voor de organische bestanddelen der tanden, in het bijzonder voor het koolhydraatgedeelte te constateren. In cariesreferaten der laatste jaren vindt men dan ook meestal een sectie betreffende koolhydraten in de tandweefsels.

Verscheidene auteurs opperden een verband met het cariesproces. Bijvoorbeeld M i l t o n B. E n g e l:

„The demonstration of an acid-soluble carbohydrate-protein complex as one of the components of developing enamel matrix is regarded as particularly significant for the understanding of the pathogenesis of dental caries.” (Journ. Dent. Res. 1948).

Zonder in te gaan op hun onderzoekingen wilde ik voorts alleen de namen noemen van R o s e b u r y, P i n c u s en R o g e r s, die zich op dit terrein verdienstelijk maakten.

*) Dit artikel werd ter publicatie aangeboden aan „Dental Items of Interest”.

Bijzonder diepgaande en nauwkeurige onderzoeken heeft S t a c k verricht. Deze vermeldde op het F.D.I.-congres 1952 te Londen een hoog glucosegehalte van het glazuur (4,45 % van het organische gedeelte van het glazuur, in enkele fracties zelfs tot 10% toe t.o. 1,3 % in het tandbeen). In mijn onderzoeken ging ik ten dele te werk volgens de door S t a c k voor dentine aangegeven methode (Brit. Dent. Journ. April 1951).

De onderscheidene auteurs komen tot zeer verschillende uitkomsten; ter illustratie diene dat P i n c u s ongeveer $4 \times$ zoveel glucosamine in de dentine vond als S t a c k. Dit ten gevolge van verschillende methodiek, o.a. reagentia en bewerking van het materiaal.

Eigen experimenten¹

- a. Verkrijgen van materiaal (glazuur en dentine)
- b. Bewerking van het materiaal, d.w.z. geschikt maken voor analyse
- c. Glycogeenbepaling met J_2 van het HCl-extract
- d. Glycogeenbepaling in het organische restant
- e. Anthronreactie
- f. Anthronbepalingen in het zure extract
- g. Anthronreactie in het organische restant

a. *Verkrijgen van materiaal (glazuur en dentine)*

In aanmerking genomen de verschillende gepubliceerde methodes gaf schrijver dezès er de voorkeur aan, het glazuur voorzichtig onder controle van een loupe te beslijpen met een diamantsteen. Voor het verkrijgen van dentine werd van ronde boren gebruik gemaakt.

Eerst werden de elementen met diamantschijven in 4 à 8 stukken gesneden en de inhoud van het wortelkanaal nauwkeurig met vijlen verwijderd.

Misschien is de bromoformmethode nauwkeuriger; de meningen hieromtrent zijn echter nog verdeeld.

b. *Bewerking van het materiaal, d.w.z. geschikt maken voor analyse*

Apatiet werd opgelost door het slijpsel van gezond tandbeen en glazuur te behandelen met $10 \times$ hoeveelheid N-zoutzuur. Gedurende 36 uur werd de suspensie glazuur-zoutzuur resp. dentine-zoutzuur in de ijskast bewaard. Daarna afcentrifugatie; de vloeistof en de organische resten werden apart behandeld, eerst met J_2 (uitsluitend op glycogeen), daarna met anthron (op gezamenlijke koolhydraten). De organische restanten werden voor de bepalingen gewassen en gedroogd in een exsiccator bij 0° .

c. *Glycogeenbepaling met J_2 van het HCl extract*

De vloeistof bevat voornamelijk $CaCl_2$, opgelost collageen en koolhydraten. Er werden semi-quantitatieve bepalingen gedaan met jodium. Dit is echter een vrij grove reactie, hoewel waarschijnlijk volkomen specifiek. Dentine en glazuur gaven beide een zeer duidelijke rood-bruine reactie.

In de verdunningsreeks vertoonden dentine (Holland) en dentine

(Indonesië) geen duidelijk verschil, hoewel de reactie in het eerste geval wel iets sterker was.

Bij het glazuur was het verschil zeer sterk: glazuur (Holland) gaf een veel donkerder kleur dan glazuur (Indonesië). Kleurgelijkheid trad op bij $2 \times$ verdunnen van glazuur (Holland).

Volgens deze reactie zou glazuur (Holland) $2 \times$ meer glycogeen bevatten dan glazuur (Indonesië). Dit grote verschil werd bij de anthronreactie (glycogeen + andere koolhydraten) niet gevonden: het bedroeg slechts 30% (alleen voor de HCl oplossing).

d. *Glycogeenbepaling in het organische restant*

Gevolgd werd de meest gangbare methode om glycogeen in het weefsel van andere bestanddelen, ook van glucose, te bevrijden en in zuivere vorm te winnen: $1\frac{1}{2}$ uur koken met 40% KOH. In oplossing gaat het aanwezige glycogeen, dat met 96% alcohol wordt neergeslagen. Het neerslag werd nog eens met 60% alcohol gezuiverd.

Glycogeenbepaling in het neerslag met de anthronreactie gaf de volgende percentages:

Dentine (Holl.) 0,98 % Gl. Holl. 9,1 %

Dentine (Ind.) 0,84 % Gl. Ind. 5,6 %

e. *De anthronreactie*

De anthronreactie voor de bepaling van koolhydraten is sedert een jaar of vijf in gebruik, de laatste tijd ook voor bloedsuiker-, glycogeen- en insulinebepalingen.

De gevoeligheidsgrens ligt volgens de onderzoeken, verricht in het Biochemisch Laboratorium van de Univ. Kliniek voor Inwendige Ziekten van het Binnengasthuis te Amsterdam en volgens eigen contrôle, bij 0,02 mg/ml, overeenkomende met de Folinreactie. Deze reactie heeft haar populariteit ten opzichte van de Folinreactie en andere koperhydroxyde-reacties vermoedelijk te danken aan het feit, dat zij in sterk zuur medium wordt uitgevoerd en dat het zuur, hetwelk eventueel gebruikt wordt voor weefseldestructie en hydrolyse van de poly- en disacchariden zoals bij de hier beschreven bepalingen, niet geneutraliseerd hoeft te worden. In vele gevallen is de anthronreactie dus gevoeliger dan de Folinreactie omdat er geen extra vloeïstof voor de neutralisatie aan behoefte te worden toegevoegd.

De specificiteit is in zoverre minder dan die bij Folin, dat hier ook koolhydraat-derivaten, b.v. glucosamine in het proces betrokken zijn, zodat b.v. het bloedsuiker-gehalte 30% hoger komt te liggen. In het hier beschreven geval is dit echter van voordeel.

Auteur had het geluk dat zijn onderzoeken in een biochemisch laboratorium konden verricht worden, waar te voren in verband met insulinebepalingen proeven waren verricht om foutenbronnen bij de anthronreactie uit te schakelen. (o.l.v. L. A. de Vries). Deze proeven gelukten volledig.

De verrichte contrôlebepalingen bij de beschreven onderzoeken

gaven met stijgende hoeveelheden glycogeen een rechte lijnige grafiek (Mej. v. D a a t s e l a a r).

Bij de oorspronkelijke opgave van de anthronreactie werd als warmtebron opgegeven: de reactiewarmte, ontstaan door vermenging van H_2SO_4 met het extract. Deze hoeveelheid warmte varieert nogal en is van groot belang voor de uitslag der bepaling. Daarom werd het stelsel afgekoeld in koud water en daarna in waterbad tot $80^\circ C$ verwarmd. (20 min.). De anthron-koolhydraatbepalingen van dentine en glazuur zijn niet gecompliceerder dan b.v. de bloedsuikerbepalingen van F o l i n en kunnen in elk biochemisch laboratorium worden uitgevoerd.

Anthronreactie: anthron in aethylacetaat + H_2SO_4 + te onderzoeken materiaal.

Benodigde Reagentia:

- 1) Zwavelzuur: 5 delen 96% H_2SO_4 p.a., worden onder roering en afkoeling uitgeschonken in 2 delen aqua dest.
- 2) 2% anthron, opgelost in aethylacetaat.

Methode:

In centrifugebuizen, afgekoeld in water, pipetteert men 0,5 cc HCl-extract resp. aqua dest., resp. standaard glycogeen-oplossing. Na toevoeging van 7 cc H_2SO_4 (zie hierboven) wordt goed gemengd en afgedraaid. De bovenstaande vloeistof wordt zo volledig mogelijk afgeschonken in reageerbuizen en na toevoeging van 0,5 cc anthronoplossing gedurende 20 minuten op $80^\circ C$ in een waterbad verhit. Na afkoeling wordt in een Evelyncolorimeter bij $620 m\mu$ afgelezen.

f. Anthronbepalingen in het zure extract

$\frac{1}{2}$ cc van het HCl extract wordt behandeld met 7 cc ($5H_2SO_4 + 2H_2O$). Er ontstaat een dik neerslag, bestaande uit $CaSO_4$, waarin echter ook opgelost collageen en waarschijnlijk ook glycogeen meegetrokken is. Deze glycogeenhoeveelheid ontsnapt evenwel de waarnemingen (zie analyse der uitkomsten).

Na afcentrifugatie van het neerslag wordt $\frac{1}{2}$ cc anthron (opgelost in aethylacetaat) toegevoegd en het koolhydraatgehalte colorimetrisch afgelezen.

De uitkomsten waren:

Dentine (Holland)	0,75 %	koolhydraten
„ (Indonesië)	0,68 %	„
Glazuur (Holland)	4%	„
„ (Indonesië)	3,1 %	„

Dit betreft dus die koolhydraatfractie, die oploste in het zoutzuur waarmee het glazuur resp. dentineslijpsel ontsloten werd en die dus mee oploste met het apatiet.

g. Anthronreactie in het organische restant

Het grootste deel van de organische tussenstof en het glycogeen loste

niet met het apatiet mee op in het zoutzuur. De bepaling van dit deel der koolhydraatfractie is echter zeer eenvoudig daar de organische substantie wel oplost in de gebruikte concentratie zwavelzuur. Dit gebeurt volledig binnen enkele minuten, zodat afcentrifugeren niet nodig is en de anthronreactie direct kan worden uitgevoerd.

Ook verdwijnt hier niet een deel der koolhydraten in een of ander neerslag zoals bij de hiervoor genoemde bepaling (f).

De gevonden getallen waren hier:

Dentine (Holland)	1,1	%	koolhydraten
„ (Indonesië)	1,0	%	„
Glazuur (Holland)	12,5	%	„
„ (Indonesië)	7,0	%	„

Analyse der experimenten

Résumé gang van zaken:

Men neme een bepaalde gewichts-hoeveelheid gezond glazuur- of dentineslijpsel en voege hier zoutzuur aan toe. In oplossing gaan het apatiet + een deel der organische substantie. Achter blijft het grootste deel der organische substantie. Oplossing en residu worden afzonderlijk behandeld (zie f. resp. g.) met H_2SO_4 en een oplossing van anthron in aethylacetaat.

Men verkrijgt tenslotte een oplossing met een groene kleur van een bepaalde diepte.

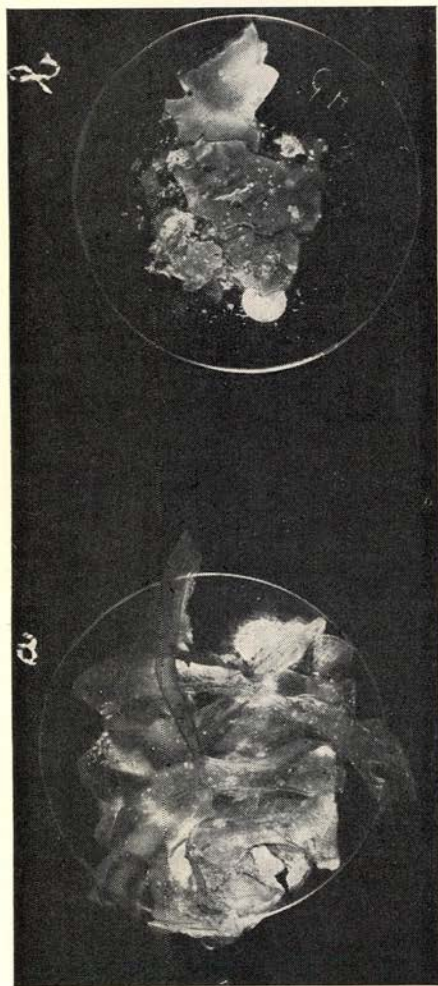
Het percentage koolhydraten van deze oplossing kan colorimetrisch worden afgelezen. De absolute hoeveelheid koolhydraten is hieruit te berekenen, daar de gewichtshoeveelheid slijpsel bekend is en dus ook het koolhydraatgehalte van de organische matrix van glazuur en dentine.

Opgemerkt moet worden, dat zowel bij de dentine- als bij de glazuur-bepalingen koolhydraten verloren gaan (glycogeen?) n.l. in het $CaSO_4$ -neerslag, dat ontstaat door toevoeging van zwavelzuur aan de zoutzure apatietoplossing.

De werkelijke koolhydraathoeveelheden zijn dus groter dan de hier vermelde, de verschillen tussen Indonesische en Hollandse tanden dus ook, waar het schrijver dezes ten slotte om gaat.

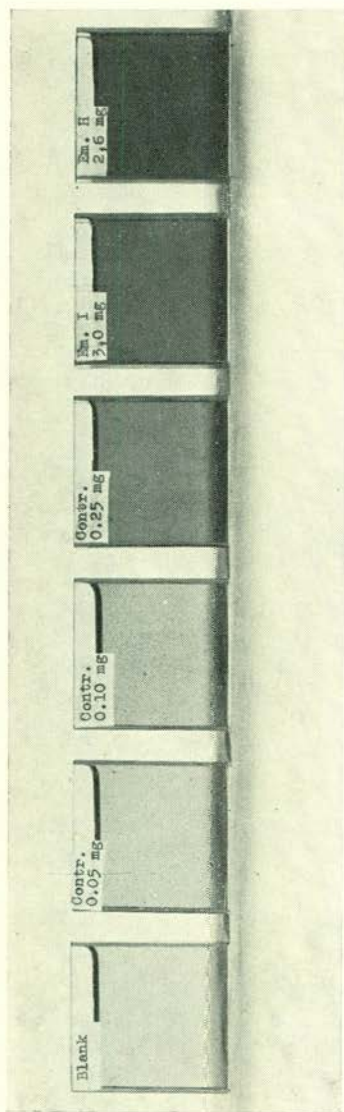
De definitieve percentages zijn dus:

	Dentine (Holl.)	Dentine (Ind.)
HCl oplossing	0,75 %	0,68 %
organisch residu	1,1 %	1,0 %
Totaal	1,85 %	1,68 %
	Glazuur (Holl.)	Glazuur (Ind.)
HCl oplossing	4 %	3,1 %
organisch residu	12,5 %	7,0 %
Totaal	16,5 %	10,1 %



Plaat I

Organisch restant van a. dentine en b. glazuur, nadat het apatiet met zuur was verwijderd. Na drogen in exsiccator ziet het collageen van dentine er uit als doorzichtige vellen van handelsgelatine; de organische substantie van het glazuur is amorph en ondoorzichtig.



Plaat II

Anthronreactie met het organisch restant van glazuur (Holland) en glazuur (Indonesië). Totale hoeveelheden in alle cuvetten 8 ccm. De eerste cuvette is blanco proef van de reagentia zonder koolhydraten ($\frac{1}{2}$ cc anthron in aethylacetaat, 2 cc water, 5 cc geconc. zwavelzuur en nog eens $\frac{1}{2}$ cc water). De 2de, 3de en 4de cuvette. De hier genoemde reagentia met stijgende hoeveelheden glycoceen. (0,05 mgr tot 0,25 mgr).

5de cuvette 3 mgr. organische resten van glazuur (Indonesië) }
 6de cuvette 2,6 mgr. organische resten van glazuur (Holland) } vermengd met de hier gemelde reagentia.

Dit zijn dus de omgerekende waarden, de percentages koolhydraat van het organische deel der tanden.

Men kan dus wat het dentine betreft een verschil aan koolhydraat-gehalte van 10% en wat het glazuur betreft een verschil van 64% constateren.

Alvorens de drie eindconclusies uit bovenstaande getallen te trekken zij eerst nog iets opgemerkt omtrent de aard der tanden die werden gebruikt. De Hollandse tanden hebben een geraamd cariespercentage van 98%. De Indonesische tanden zijn afkomstig van stedelijke klinieken, terwijl de stedelijke bevolking een cariesfrequentie vertoont, die hoger ligt dan die op het platteland, n.l. $\pm 30\%$. Er zijn ook Indo-Europese tanden bij met een cariespercentage van bijna het Hollandse zodat het percentage van de door ons gebruikte tanden op ± 50 geschat kan worden. De cariesimmunitet is dus wel zeer relatief en verwacht kan worden, dat de verschillen groter zouden zijn bij tanden afkomstig van het Indonesische platteland.

Drie belangrijke conclusies zou ik uit de gedane experimenten willen trekken:

1. De koolhydraten vormen een zeer belangrijk deel van de organische substantie der tanden, vooral van het glazuur (10% resp. 16,5%).
2. Het tandbeen, dat ook in het latere leven nog aan de stofwisseling deelneemt, vertoont een veel geringere percentage koolhydraat dan het glazuur (1,85 resp. 1,68%) en ook is het verschil tussen Indonesische en Hollandse tanden hierbij geringer.
3. De koolhydraten bestaan voor ca $\frac{3}{4}$ uit glycogeen en niet uit glycoproteïnen, zoals door alle auteurs tot nog toe werd aangenomen (Zie punt D).

Dit pleit dus voor schrijver's opvatting dat het koolhydraat *tijdens de maturatie* wordt vastgezet en geïmmobiliseerd en daar, althans in het glazuur waarin geen stofwisseling plaats vindt, voor de rest van het leven gefixeerd blijft.

En passant zij nog opgemerkt dat de absolute hoeveelheden koolhydraat in dentine en glazuur nauwelijks verschillen waardoor dus een eventueel meeslijpen van een geringe hoeveelheid dentine bij het glazuur geen grote fout in de uitkomst tot gevolg heeft.

Tot slot zij nogmaals herhaald dat een deel der koolhydraten aan de waarneming ontsnapt, dus dat de getallen aan de lage kant zijn. (ad.f.).

Discussie na afloop der lezing in Amsterdam

Het lijkt schrijver niet wenselijk hier de gehele discussie weer te geven die volgde op zijn lezing van 16 Sept. te Amsterdam. De antwoorden waren te uitgebreid en ook onvolledig. Het zij hem vergund van de woordelijke weergave af te wijken en zijn antwoorden met de sedertdien gevormde nieuwe inzichten aan te vullen (cf. Tijdschr. Tandh. 59 : 905, 1952). De belangrijkste vragen worden hier dus behandeld.

Backer Dirks: Hoeveel glucose bevindt zich in het glazuur; hoe stelt referent het zich voor dat het in het glazuur gevormde melkzuur voldoende geconcentreerd is tot decalcificatie van binnen uit?

Antwoord: Het glazuur van Hollandse tanden bevat minimaal 16½ % koolhydraten, grotendeels in de vorm van glycogeen en ruimschoots voldoende om de organische voedingsbodem geschikt te maken voor binnengroei van (ramificerende?) bacteriesoorten en productie van zuur, dat het apatiet van binnen uit aanvreet.

Backer Dirks: Waarom zullen de bacteriën in het glazuur groeien waar ze in de plaques meer organisch materiaal hebben?

Antwoord: De bacteriën groeien daar, waar ze voldoende voedingsstoffen vinden. Dus in de plaques maar ook ramificerend in de diepte. Er zij hier gewezen op de beschrijving van „wortels” in de suiker-agar-voedingsbodems bij pathogene schimmels en het meegroei van bacteriën in de door de schimmels gepraeformeerde banen (Egyedi, Centr. Bl. f. Bakteriologie 1922 Heft 7/8).

Backer Dirks: Welk bewijs is er dat het glucose *prae-* en niet *post-*eruptief in het glazuur is gekomen; glucose diffundeert zeer gemakkelijk door het glazuur. Wil men dit uitmaken dan moet men elementen vóór de doorbraak onderzoeken.

Antwoord: Het diffunderen van glucose met moleculen die 3 × groter zijn dan die van ureum in het glazuur, is niet bewezen en wordt door referent onwaarschijnlijk geacht. Een sterke aanwijzing, dat glucose *prae-*eruptief in het glazuur komt, is de omstandigheid, dat referent bij waterige extractie van glazuurpoeder slechts 10% van de aanwezige glucose verkreeg; verder het feit, dat ¾ van de glucose in het glazuur in de vorm van glycogeen aanwezig is.

Van Hartingsvelt: Trekt de mogelijkheid in twijfel dat de bacteriën in het intacte glazuur, zijnde een aaneengesloten formatie, kunnen binnengroeien. De prismascheden in het apatiet zijn slechts enkele Å dik, niet voldoende om ruimte te bieden aan de bacteriën.

Antwoord: De prismascheden zijn dikker en er bestaat een veel bredere interprismatische organische substantie. Het volumepercentage van de organische substantie bedraagt 2—5%. Er zij gewezen op de door de referent geprojecteerde platen van Frisbie, Nuckolls et al. met in de organische substantie binnengroeiende bacteriën, vooral ook op de baanbrekende onderzoeken van Sognnaes (J. Dent. R. 1948 en 1949).

Met voorzichtige decalcificatie is het hem gelukt de structuur van de volumineuze organische substantie in het glazuur weer te geven.

Van Hartingsvelt: Glycogeen is een stabiele substantie. Zonder enzymen is deze stof door zuur moeilijk te hydrolyseren. Het zuur worden van het email is geen langzaam proces, zoals referent het

zich voorstelt maar een vlug indringen in het glazuur bij voldoende lage p^H aan het oppervlak.

Antwoord: Glycogeen is inderdaad een stabiele substantie, stabielere dan auteur vroeger dacht. Toch bleek bij oriënterende experimenten, dat 2 minuten koken van glycogeen met ac. lact. tot ontleding van glycogeen en vorming van glucose leidt (Trommerse reactie). Of er in het glazuur substanties zitten, die katalytisch medewerken weet men niet. Enzymen zijn eventueel ook aanwezig. Auteur houdt vol, dat het zuur worden van keratine-achtige organische substantie in het glazuur een kwestie van maanden of jaren is.

Van Hartingsvelt: Een p^H van 5 of hoger is voldoende voor decalcificatie van buiten af.

Antwoord: Auteur is van tegengestelde mening. Er zij hier nog gewezen op de belangrijke in vivo experimenten van Nygaard-Ostby (Norsk. tannl. for Tid. Maart 1951) die er zeer sterk op wijzen dat zelfs een p^H van 4,— onvoldoende is voor decalcificatie.

v. d. Sterr: Wat denkt referent van de waarnemingen van Turner, dat cariesimmunitet ook kan optreden bij een ruime voeding, en hoe denkt referent over de vondsten en de theorie van Pincus?

Antwoord: Om op de eerste vraag te kunnen antwoorden, moest ik alle factoren en omstandigheden van de waarneming kennen. Ik blijf dus het antwoord schuldig.

Voor de vondsten en de daarop gebaseerde theorieën van Pincus geldt hetzelfde als voor de andere bestaande theorieën. Zij verklaren enkele symptomen van het ziektebeeld caries maar niet de hoofdzaken: de geografische en historische verspreiding.

Practisch alle waarnemingen wijzen in de richting van de door auteur opgestelde theorie. Minder caries in weeshuizen en internaten, nagenoeg geen caries bij de aan de hongergrens levende primitieven, de bijna evenredige verhouding tussen weelde van een volk en caries.

Het verslag van de discussie wil schrijver besluiten met enkele klassieke zinnen uit het referaat van J. H. Shaw in Intern. Dent. Journ.:

Strong evidence exists for both human beings and experimental animals, that undersuitable circumstances during formation, teeth can be developed which are highly resistant to decay in the presence of oral environments of theoretically overwhelming caries producing properties.

Similarly data have been reported to indicate that teeth can be produced which are highly susceptible to teeth decay, when exposed to oral environments of theoretically low caries producing powers.

Samenvatting

Auteur beschrijft de experimenten uitgevoerd ter bepaling van het koolhydraatgehalte in glazuur en dentine.

Hij vond in Indonesische tanden en kiezen minder koolhydraten dan in Hollandse; bovendien een onverwacht hoog percentage koolhydraten in het glazuur tegenover een relatief laag gehalte in het tandbeen. Tegenover de tot nog toe geopperde vermoedens kon worden vastgesteld dat de koolhydraten in dentine en glazuur voor *ca* $\frac{3}{4}$ uit *glycogeen bestaan*, en dat *ca* 10% van de organische substantie in het glazuur van Hollandse tanden door glycogeen wordt gevormd.

Hij maakt uit deze vondsten enkele gevolgtrekkingen naar aanleiding van zijn opvattingen t.a.v. caries.

Verder geeft hij weer de discussie, volgend op een door hem gehouden lezing te Amsterdam, waarbij hij zijn antwoord echter aanvult met gegevens uit het eerste deel van het artikel hierboven.

Ten slotte is het schrijver een behoefte, zijn bijzondere dank uit te spreken aan het adres van Prof. Dr J. C. G. Borst en Dr. N. Lubsen voor de hem geboden gelegenheid om de in Utrecht begonnen experimenten in de Universiteits-kliniek voor Inwendige Ziekten in het Binnengasthuis te Amsterdam voort te zetten. Verder aan het adres van heer L. A. de Vries, leider van het Biochemisch Laboratorium van de Kliniek, wiens wetenschappelijke medewerking het oplossen van de talrijke problemen heeft mogelijk gemaakt, die zich voordeden bij het aanpassen van de anthonreactie aan het onderzoek in het sterk apatiet-houdend medium en niet het minst bij de kwantitatief analytische wegingen en metingen. Zonder zijn bekwame medewerking had schrijver zich voor onoverkomelijke moeilijkheden geplaatst gezien.

Dank is schrijver ook verschuldigd aan de analyste van het Laboratorium, mej. J. J. van Daatselaar, voor haar toegewijde, kundige en nauwgezette medewerking, die op hoge prijs wordt gesteld.

Summary

Experiments, carried out to determine the carbohydrate content of the enamel and dentine, are reported.

The author found less carbohydrates in Indonesian teeth than in Dutch teeth. Moreover, the proportion of carbohydrates in the enamel was surprisingly high in comparison with the relatively low content of the dentine.

Contrary to the hypotheses suggested up to now, it was found that approximately $\frac{3}{4}$ of the carbohydrates in dentine and enamel consists of glycogen and that about 10% of the organic substance in the enamel of Dutch teeth is glycogen.

From these findings the author has drawn some conclusions with regard to his views on caries.

In addition, the discussion following a lecture delivered by the author in Amsterdam is reported, the replies being supplemented, however, with data given in the first part of the above paper.