

*Uit het Farmacologisch Laboratorium der
Rijksuniversiteit Utrecht, Vondellaan 6*

NATRIUM-CARBOXYMETHYL CELLULOSE EN HET MONDEPITHEEL

PROF. DR. L. A. VAN DER WOERD

Als men een geneesmiddel, een anestheticum of een desinfectans, in een oplossing gedurende enige tijd in de mond wil laten inwerken, maakt men de waterige substantie soms „dikker en slijmiger” door middel van tragacanth, natrium-carboxymethyl cellulose (vaak als C.M.C. aangegeven), of met behulp van dextran.

Tegen het gebruik van dextran als verdikkingsmiddel heb ik bezwaren. Dextran toch is een stof die levensreddend kan werken en intraveneus moet worden toegediend als er te veel vocht uit het vaatstelsel is verloren (shock); volgens mij mag men een dergelijke belangrijke stof nooit voor wisselasjes gebruiken. Wordt de stof vaak gebruikt, dan is er kans dat iemand eens gesensibiliseerd wordt en als een dergelijke persoon dan vanwege een traumatische shock dextran intraveneus wordt toegediend, krijgt hij er een allergische reactie bij, hetgeen een uitermate gevaarlijke complicatie kan zijn.

Nu heeft men tegen het gebruik van C.M.C. in röntgencontrastmiddelen ook wel bezwaren gemaakt. In de tuba Faloppii en in de bronchi zou het reuscellen hebben verwekt. Is het in de mond onschuldig? Van een schadelijke invloed lager in de tractus digestivus is niets beschreven, men kan het als laxans en antacidum gebruiken. Maar een onderzoek naar eventuele gevaren in de mond is, voorzover ik heb kunnen nagaan, nooit verricht. Daarom heb ik deze controle uitgevoerd.

Als proefopstelling heb ik gekozen het chronisch toedienen van de stof door bij ratten de gingiva en naaste omgeving er mede te „poetsen” met behulp van een waterverfpenseel nummer 2. Er werd telkens een bepaald aantal „slagen” volvoerd met een kracht zo groot, dat de penseelharen ongeveer dwars omgebogen waren. Door dit poetsen blijft het farmacon een tijdlang in de mond evenals dit bij spoelen door een patiënt het geval is; bovendien zou men C.M.C. in een tandpasta kunnen gebruiken, deze toepassing kan dan eveneens met het experiment worden vergeleken.

Het is mogelijk dat de testes een beschermende invloed uitoefenen, de hydan-

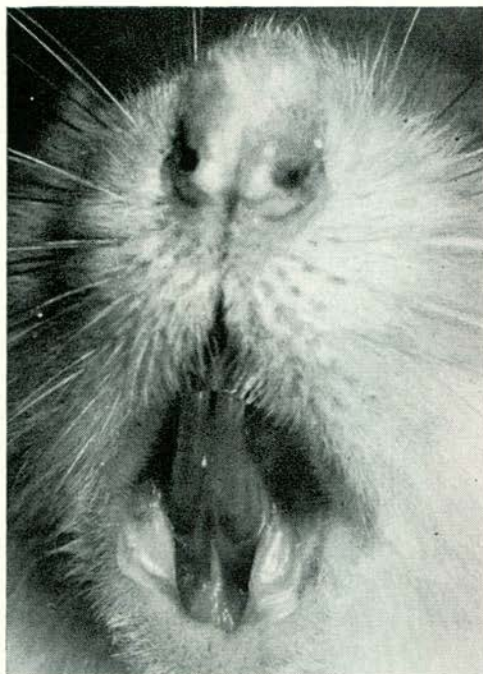


foto 1

Het vestibulum oris van een rat is hier zichtbaar doordat de onderlip naar voren is getrokken.

De zakvorm en het frenulum onderin, zijn duidelijk te zien. Van de ondersnijtanden is het „iets licht doorlatend” gedeelte te zien, de witte harde punten gaan schuil achter de snijtanden van de bovenkaak die bijna niet opvallen omdat het voorvlak bruin van kleur is.

toine-derivaten kunnen de gingiva van een volwassene minder goed aanpakken dan van pubers of jongere patiënten. Behalve op gewone mannelijke dieren is daarom gewerkt met castraten. Schildklierloosheid verhoogt de kans op ontsteken van de gingiva, daarom is een groep schildklierloze dieren in de proef opgenomen. Nu heb ik ook nog een groep gecastreerde schildklierloze ratten in het onderzoek betrokken. Voor het invoeren van deze groep heb ik geen goede positieve argumenten. Er is geen aanwijzing dat deze dieren erger zullen reageren dan dieren die alleen maar schildklierloos zijn, er zijn echter evenmin argumenten om aan het tegengestelde te denken.

Er zijn, wat de behandelingsduur betreft, drie soorten proeven verricht;

I gedurende één maand op normale dieren;

II gedurende 2 maanden op normale en geopereerde dieren;

III gedurende 4 maanden op normale en geopereerde dieren.

Na afloop van de proef werden de ratten met lichtgas gedood, de gehele kop

gefixeerd in de vloeistof volgens BOUIN, later ontkalkt met 5% salpeterzuur, ingebed in paraffine en na snijden gekleurd met haemaluin en eosine.

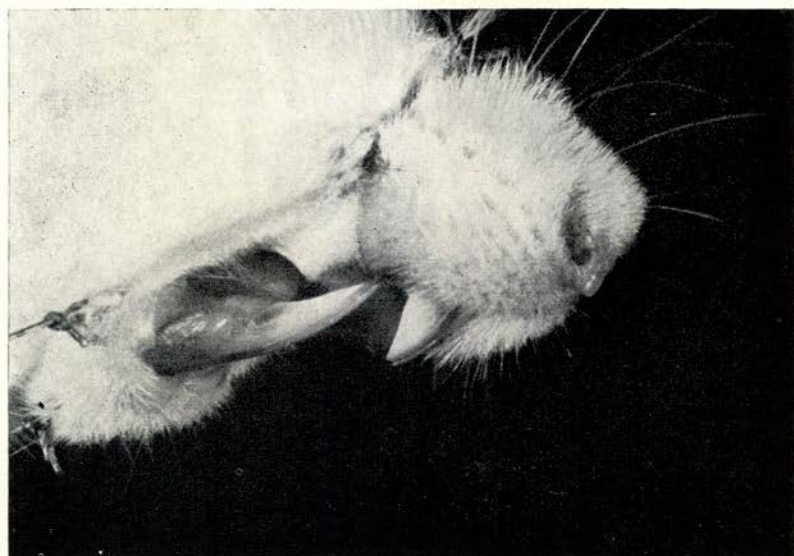


foto 2

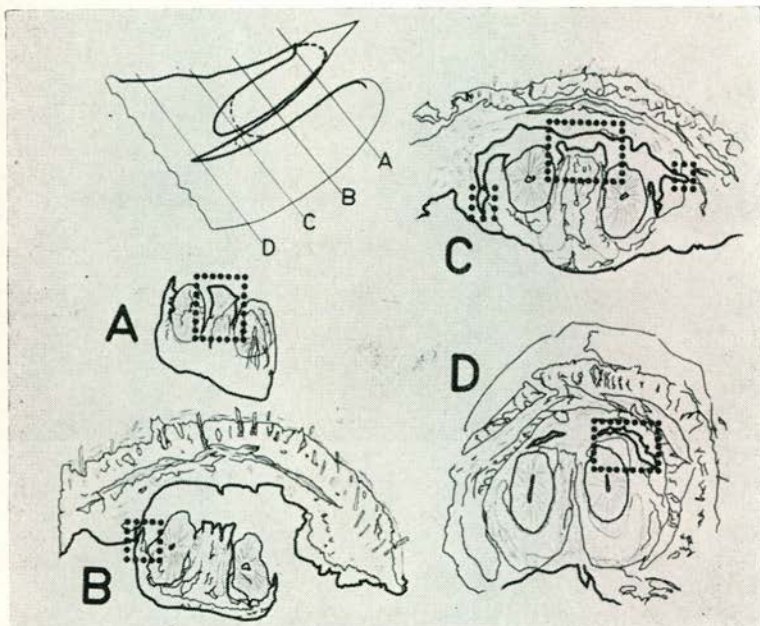
Met één teugel aan de bovenlip en twee aan de onderlip wordt zodanig getrokken dat het vestibulum oris open is; het cavum buccale blijft onzichtbaar. De onderkaak is iets naar achter getrokken, de witte punten op de ondersnijtanden liggen, als geen tractie wordt uitgeoefend, dicht bij de bovensnijtanden waarvan men hier de witte zijvlakken ziet.

Als plaats van toediening was gekozen het vestibulum oris, dit is bij knaagdieren een zakje dat de onderlip vóór de snijtanden vormt (zie foto's). Om goed de verschillende toestanden te kunnen vergelijken, is het onderzoek beperkt tot een tiental goed te vinden plaatsen (2 mediaan, 4 dubbelzijdig) die zijn aangegeven in afbeelding 3.

Het wegnemen van de schildklier geschiedde onder een binoculair-loupe; als narcoticum werd gebruikt aethylurethaan 10% in water 1 ml/100 g lich. gew. intraperitoneaal. Na afloop van de ingreep werd intraperitoneaal toegediend 5 ml van de volgende oplossing: 5 gram glucose met 5 ml 20% calcium galactogluconaat en aqua dest. ad 50 ml. De volgende dag werden de ratten nogmaals zo ingespoten en deze vloeistof werd hun ook gedurende een week als drinken aangeboden. Dagelijks werden de dieren op hun algemene toestand bekeken en eenmaal per week werden ze gewogen. Zodra in zekere mate te zien was of de operatie goed kon zijn verlopen, werd een uitgezocht gedeelte der dieren gecastreerd. Voordat het toedienen der stoffen begon werden de ratten weer nauwkeurig

geïnspecteerd, de dieren waarbij vermoedelijk de extirpatie niet volledig was geweest, werden uit de proef genomen.

Een *schurftkuur* was nodig in de tweede en derde proef. Van enkele geprobeerde methoden bleek de volgende te voldoen. In een glazen bak werd een warme 2% oplossing van Scabixan in water gebracht (een 1½% oplossing geeft nog wat recidief). De waterlaag moet minstens 10 cm diep zijn; laat een rat in de bak zwemmen, het dier kan niet tegen de glazen wand er uit klimmen en duikt onder



Afb. 3 Plaatsen waar het effect van C.M.C. werd onderzocht.

Op het eerste schema ziet men van links-boven naar rechts-onder: de mondbodem, de snijtand, het vestibulum oris en de onderlip (vgl. foto 2). In dit schema is de laterale zijde van het interdentale weefsel a.h.w. naar lateraal getrokken, anders zou het achter de tand verstopt blijven.

De dikste getrokken lijn stelt voor het mondepitheel, de dikke streepjeslijn, boven in de snijtand, de top van de interdentale papil. De dunne streepjeslijn (bij lijn C) geeft aan waar ongeveer de zijgrens van het vestibulum wordt getroffen, de stippellijn de frenulum-bovengrens. De lijnen A, B, C en D geven de richting aan van de (uit serie coupes) gekozen sneden voor onderzoek.

Gelet werd in vlak A alleen op de interdentale papil. In vlak B: links zowel als rechts, de gingiva lateraal van de snijtand, iets voor de verbinding met de wang compleet wordt.

In vlak C is het weefsel om de snijtanden verbonden met de lip. Hier werd gelet op het epitheel van de interdentale papil en op dat bij de omslagplooien naar achter en naar de zijanten, zowel links als rechts. In vlak D is het epitheel voordat het te schuin wordt doorsneden bij de bodem van het zakje (links en rechts) bekeken.

om een andere uitweg te zoeken. Als dit is gebeurd wordt het dier uit de vloeistof genomen en in een schone bak met droog houtmot gezet. Gedurende een dag zijn de dieren wat onrustig. Als men het dier niet „onder duwt” maar zelf laat duiken, krijgt de rat de vloeistof niet in de luchtwegen. Het wachten kan wel veel geduld vergen, maar de geopereerde dieren kan men maar niet zo direct vervangen.

Van de *gebruikte stoffen* is natrium-carboxymethyl cellulose een mengelmoes van grotere en kleinere moleculen waardoor verschillende fabriekscharges iets van elkander kunnen afwijken. De door mij gebruikte C.M.C. was de „middelvisceuse” natrium-carboxymethyl cellulose geleverd door de Amsterdamsche Chinine Fabrik. Gemaakt werd een dikke gelei, een 5% oplossing in water, welke in porties van ongeveer 3 ml in kleine wijdmonds flesjes werd gedaan en gesteriliseerd. Voor het gebruik werd met een spatel iets uit een flesje genomen in een porseleinen schaalte gedaan en in brokjes gedeeld die ongeveer 1/20 ml groot waren. Zo'n stukje werd op een schoon penseel genomen, en vanaf ongeveer de punt van de snijtand tot de bodem van het vestibulum oris en terug gestreken; „op en neer” geldt als één slag.

Op de zelfde manier werd gehandeld met een gelatine oplossing (5% gelatine voor geneeskundig gebruik).

Aangezien in de mond de C.M.C. niet alléén wordt toegepast, maar als drager van farmaca, heb ik er ook stoffen aan toegevoegd. Om een hypertonisch product na te bootsen werd bij de C.M.C.-gelei 5% NaCl gevoegd; in een andere serie werd in het product NaJ tot een sterkte van 1% gedaan.

Iedere groep dieren had eigen penselen die na elk gebruik werden schoon-gemaakt en dan meer dan 20 uren werden bewaard in een stoof die ongeveer 110°C was.

De te gebruiken schildklierloze ratten werden op een „klinisch beeld” uitgezocht. Als bij de operatie een follikelkje uit de klier in de wond komt wanneer de klier van het pincet losraakt, dan wordt het a.h.w. geïmplanteerd; groeit het uit tot 16 follikels, dan is het dier al weer practisch normaal. Dit moge niet vaak voorkomen, maar dat er iets uitgroeit zodat het dier niet geheel athyreotisch is doch slechts hypothyreotisch, gebeurt vaak. Bij stofwisselingsproeven met door mij van hun schildklier beroofde ratten (in 1955 in het farmacologisch laboratorium te Leiden), meende ik aan het uiterlijk der dieren iets van de mate van schildklierhoudendheid te kunnen zien; ik noteerde de rangschikking die ik meende waar te nemen, gaf de notitie af aan PROF. DR. S. E. DE JONGH; daarna werden door DR. E. NOACH de dieren ingespoten met radioactief jodium en de halsstreek op het stapelen van deze stof onderzocht, waarna hij zijn resultaat afgaf. De waarnemingen aan het uiterlijk van het dier en die met de radioactieve stof, gaven een gelijke rangschikking. Wat ik zag heb ik nooit gepubliceerd aangezien ik me niet zeker voelde of datgene wat ik onder woorden kon brengen wel alles was wat ik zag. Behalve het achterblijven in groei ziet men iets aan de haren. Het is alsof de haargroei niet verminderd maar wel vertraagd is. Haren vallen regelmatig uit en bij de knaagdieren verloopt dit golfsgewijs. Als de haarvervinging te traag verloopt ziet men dan een golf van kaalheid. Hoe beter schildklierloos, hoe duidelijker de kale plekken, hoe langer de kaalheids-golf. Daarna komt haar terug en het lijkt er op dat nu het uitvallen ook te traag verloopt; men ziet plaatsen waar het haar te dicht, te dik en ook wat te wit is. De kaalheid ziet men het duidelijkste op de buik, de binnenkanten der poten, rondom de staartwortel en rondom de neus. Een

„schild” van dikke beharing ziet men het duidelijkste om de staartwortel en iets minder om de neus en nog minder op de buik.

Dieren die niet goed achter bleven in groei, die niet duidelijk een golf van kaalheid vertoonden en geen mooie „schilden” ontwikkelden, heb ik uit de proef verwijderd.

In een eerste proef werden ratten met een lichaamsgewicht tussen 144 en 172 gram, gedurende een maand gepoetst (100 slagen per dag, 25 werkdagen). Vergeleken werd gelatine 5% in water, met C.M.C. 5% in water en alleen water. Er werd geen invloed op het epitheel waargenomen.

Voor de tweede proef werden bij 26 uit een groep van 35 dieren, wegende tussen 175 en 200 gram, de schildklier weggenomen; twee weken later werd een aantal gecastreerd. Negen weken na de schildklierextirpatie was bij vele dieren de kaalheid duidelijk (alle dieren, maar vooral de schildklierlozen, hadden zwaar te lijden van schurft en luis, een schurftkuur werd toen uitgevoerd). Twaalf weken na de extirpatie werden de dieren voor de proef uitgezocht, 21 waren klinisch goed schildklierloos. Gedurende twee maanden werden de dieren „gepoetst” op de werkdagen; 200 slagen per behandeling. Het proefschema omvat de dieren aangegeven in tabel I.

Tabel I. Aantal dieren in de tweede proef opgenomen.

| soort | behandeld met: | | | |
|-----------------------------------|----------------|----------------------|---------------------|-------|
| | 5% C.M.C. | 5% C.M.C. 5% NaCl | 5% C.M.C. 1% NaJ | Water |
| schildklierloos | 3 | 3 | 3 | 2 |
| schildklierloos en gecastreerd | 3 | 3 | 3 | 1 |
| gecastreerd | 2 | 2 | 2 | 2 |
| normaal | 1 | 1 | 1 | 1 |

Een schadelijke invloed werd niet waargenomen. Aangezien het aantal dieren wel wat klein is om tot de conclusie te komen dat de stof op het epitheel niet veel kwaad kan, werd nog een zwaardere proef genomen.

Voor de derde proef werd van 60 ratten (120-180 g wegende) de schildklier weggenomen. Eén overleed binnen 24 uren, 4 veel later, 11 werden afgekeurd zodat er tenslotte 44 goed schildklierloze dieren overbleven. 6 weken na de operatie was weer een algemene schurftkuur nodig, een week later werd een gedeelte der dieren gecastreerd; 16 weken na de schildklierextirpatie begon de behandeling die 4 maanden duurde, op

iedere werkdag werd de gingiva met 200 slagen behandeld. Om de schadelijke invloed te vergroten kregen een aantal dieren (zie tabel II) bovendien één injectie met het product onder het epitheel ter plaatse van de normale behandeling. De dieren ondergingen daarna nog 10 weken behandeling, gedurende welke tijd de schade van de injectie zou kunnen genezen of verergeren. Na de sectie was histologisch noch een teken van ontsteking, noch van degeneratie, noch symptomen van woekering waar te nemen. Van de injectie was niets meer te bespeuren.

Behalve naar het epitheel werd natuurlijk ook wel op de omgeving gelet en het viel op dat er geen blijken waren van verbeterde doorbloeding die men toch aan een behandeling met hypertonische NaCl of NaJ toeschrijft. Dit kan twee oorzaken hebben, ten eerste: door de fixatie en ontkalking zijn in mijn proeven de vaten sterker samengeknepen dan bij andere onderzoekers, maar dat kan ik als oorzaak haast niet aannemen want deze invloed werkt ook bij de controledieren; ten tweede: bij chronische toediening ontstaat een nieuw evenwicht en gaat het effect op de doorstroming verloren.

Tabel II. Aantal dieren in de derde proef genomen.

| soort | Ingewreven met: | | | Water |
|-----------------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|-------|
| | 5% C.M.C. | 5% C.M.C. 5% NaCl | 5% C.M.C. 1% NaJ | |
| schildklierloos | 5 (1) | 5 (1) | 4 (1) | 5 |
| schildklierloos en gecastreerd | 5 (2) | 5 (2) | 5 (2) | 2 |
| gecastreerd | 2 (1) | 2 (1) | 2 (1) | — |
| normaal | 2 (1) | 2 (1) | 2 (1) | 2 |

Tussen haakjes is aangegeven het aantal der dieren dat behalve het inwrijven ook nog een injectie kreeg.

Hypoparathyreoidie

Meestal hebben ratten in de buurt van de aortaboog kleine bijschildkliertjes. Bij sommige stammen treft men deze kliertjes minder aan en een enkele maal ontbreken ze. Als men dan de schildklier met de hier in of aan zittende bijschildklieren wegneemt, treedt hypoparathyreoidie op.

Dit was bij deze door het T.N.O.-proefdierenbedrijf geleverde ratten een paar maal het geval. Spontaan kan dan een snijtand bij een proefdier breken. Dit werd waargenomen op de 111e-113e-120e-131e-184e en 195e dag na de operatie. Het herstellen gaat echter zeer vlot en als men niet geregeld de bek bekijkt, is de kans groot dat men het verschijnsel niet vindt. Het aangroeien duurde in de waargenomen gevallen 5-7-7-5-4-7 dagen. Op na de sectie gemaakte röntgen-foto's van de

koppen, was niet te zien dat de dieren die breekbare snijtanden toonden, een duidelijk ontcalcite schedel hadden.

Deze terloops gedane waarnemingen waren te gering in getal voor verdere bewerking.

Conclusie:

Natrium-carboxymethyl kan, volgens beschreven proeven op ratten, veelvuldig op het mondepitheel worden gebracht zonder schade te verwekken.

Samenvatting:

Op mannelijke ratten werd onderzocht of veelvuldig wrijven met natrium-carboxymethyl cellulose, alleen of gecombineerd met 5% NaCl of 1% NaJ, in het vestibulum oris op normaal mondepitheel en op epitheel waarvan de weerstand misschien verminderd was door schildklierextirpatie en/of castratie, schadelijk kon zijn. Gelet werd op verschijnselen van ontsteking, degeneratie of woekering. Geen schade kon worden vastgesteld.

Tevens worden beschreven enkele kenmerken van langdurig schildklierloze ratten en een zelfs bij deze dieren goed bruikbare schurftkuur-

Summary:

No signs of inflammation, benign or malignant degeneration are observed after rubbing sodium-carboxymethyl cellulose 5% in water only, or with 5% NaCl or with 1% NaJ, on the gingiva of the vestibulum oris of male rats (normal, thyroidectomized, castrated, castrated-thyroidectomized), daily for 1, 2, or 4 months.