

GLAZUURHYPOPLASIEËN EN PIGMENTATIES VAN
GLAZUUR EN DENTINE WAARGENOMEN BIJ MELK-
ELEMENTEN VAN TWEE JONGE KINDEREN

W. J. VISSER¹⁾, G. J. VAANDRAGER²⁾, M. T. JANSEN³⁾ en I. MOLENAAR⁴⁾

Inleiding

Zodra de ontwikkeling van de tand zo ver is dat enig dentine is gevormd, beginnen de ameloblasten met de aanleg van de glazuurmatrix. Vrijwel gelijktijdig wordt deze matrix gemineraliseerd en wel in de richting waarin de ameloblasten zich terugtrekken. Deze mineralisatie, die bij de glazuur-dentine grens begint, brengt het mineraal gehalte van de matrix op 25-30 % (initiële verkalking van de matrix). Aan de top van de elementen begint, nadat aldaar de vorming van de matrix voltooid is, een tweede mineralisatie. Deze brengt het mineraalgehalte van de matrix op 96 %, waardoor het zeer harde glazuur ontstaat. Hierin zijn de mineralen in onoplosbare kristallijne toestand aanwezig. (zie ORBAN, B.: Oral Histology and Embryology 1953).

In afb. 1 kan men de tandontwikkeling van de eerste melkincisief en de eerste melkmolaar in de onderkaak op het moment van de geboorte, aflezen. Men vindt dat de maturatie aan de toppen reeds is begonnen, terwijl de matrixvorming nog niet overal voltooid is.

Storingen in bovengeschetste vorming van het glazuur kunnen in glazuurdefecten (hypoplasieën) resulteren waarvan de uitgebreidheid en de localisatie nauw samenhangen met het tijdstip en de duur van de opgetreden storing.

Sedert de ontdekking van de neonatale lijn (SCHOUR, 1936) is men in staat, glazuur en dentine in twee, door deze neonatale lijn gescheiden gebieden te verdelen, waarvan het ene vóór en het andere na de geboorte is

1) W. J. VISSER, instructeur bij de Afdeling Pathologie van het Tandheelkundig Instituut te Utrecht.

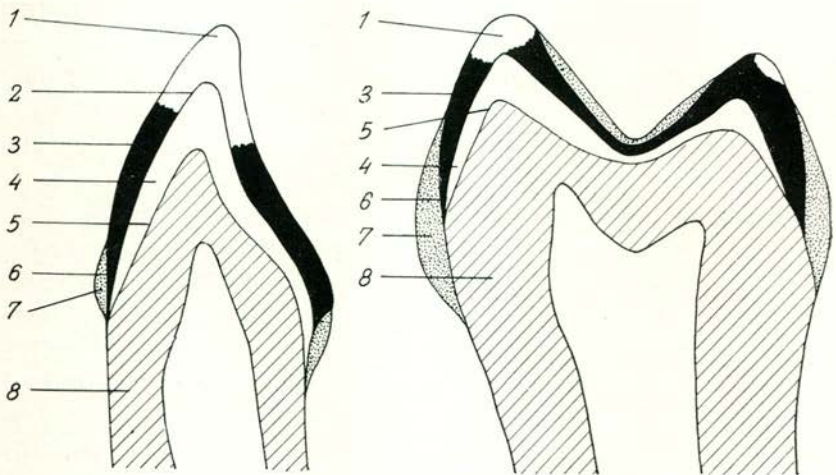
2) Dr. G. J. VAANDRAGER, chef de clinique van de Kinderafdeling van het St. Lambertus Ziekenhuis te Helmond.

3) Prof. Dr. M. T. JANSEN, hoofd van het laboratorium voor histologie en microscopische anatomie te Utrecht.

4) Dr. I. MOLENAAR, hoofd van het centrum voor medische electronenmicroscopie te Utrecht.

gevormd. De neonatale lijn in het glazuur sluit bij de glazuur-dentine grens vrijwel op die van het dentine aan. Aan de hand van de plaats van het glazuurdefect kan men nu iets zeggen over het tijdstip waarop het moet zijn ontstaan.

Hypoplasieën van het glazuur kunnen het gevolg zijn van een storing in de vorming of van de maturatie van de matrix. Het is nl. zo, dat een niet goed aangelegde matrix de oorzaak kan zijn dat de latere verkalking niet normaal kan plaats vinden waardoor, bij voldoende aanwezigheid van geschikte mineralen, toch glazuurhypoplasieën kunnen optreden.



Afb. 1. Tandontwikkeling op het moment van de geboorte (naar SCHOUR).

1. gerijpte top.
2. glazuur-dentine grens.
3. glazuurmatrix (nog niet gerijpt).
4. prenataal gevormde dentine.
5. geboortelijn in de dentine.
6. geboortelijn in het glazuur.
7. glazuurmatrix die na de geboorte nog wordt aangelegd.
8. dentine dat na de geboorte nog wordt gevormd.

Verder is gebleken, dat de functie van de ameloblasten (matrixvormers) door de Ca-spiegel van het bloed beïnvloed kan worden (KRONFELD, 1949). Wat de etiologie van de glazuurhypoplasieën betreft vindt men in de literatuur een groot aantal factoren genoemd die alle als min of meer oorzaaklijk voor het ontstaan ervan kunnen gelden: voedseldeficiënties, exanthemateuze ziekten, ontstekingen aan de periapex van melkelementen (Tur-

nerse tanden), hypoparathyreoïdie, darmstoornissen, luchtweginfecties, congenitale lues (Hutchinsonse tanden), traumata, erfelijke factoren, premature geboorte, sommige antibiotica (WALLMAN, HILTON 1962).

Verkleuringen van elementen kunnen door pigmenten van uit- en inwendige herkomst veroorzaakt worden. Tot de eerste groep behoren o.a. pigmenten afkomstig van tabak, bacteriën, voedsel en ijzer bevattende medicamenten. Tot de tweede groep behoren o.a. pigmenten die men vindt bij traumata, endocrine stoornissen, bloedziekten, leverziekten en na toediening van sommige antibiotica en devitalisatiemiddelen. In het geval dat pigmentatie veroorzaakt wordt door leverziekten, bloedziekten e.d. bestaat het pigment uit bloedkleurstoffen zoals biliverdine en bilirubine. Pigmenten, gevonden na toediening van tetracycline, bestaan ook uit tetracycline of producten hiervan (WALLMAN, HILTON 1962, TI TI LOO, et al 1957, J. WEYMAN en J. REUNIE PORTEOUS 1962). Vermeld dient nog te worden dat bij hypocalificatie van het glazuur, bv. bij fluorosis, de kans op het binnendringen en vasthechten van gekleurde stoffen groter is dan bij normale elementen.

Casuïstiek

Aan de kinderarts werd advies gevraagd over opvallend gele en enigszins afgebrokkelde melkelementen bij een tweeling.

Anamnese.

De tweeling, GASTON en YVONNE, werd op 1-12-'59 prematuur geboren in de 33ste week van de graviditeit. Het gewicht bedroeg resp. 1300 en 1310 gram; de lengte van beiden was 38 cm. T.g.v. een waarschijnlijk fysiologische icterus neonatorum waren beide kinderen enkele dagen na de geboorte geel geworden. Een Rhesus antagonisme was er niet. GASTON maakte in februari 1960 een ernstige infectie door van de bovenste luchtwegen. Van 1 tot 7 maart 1960 werd hij hiervoor behandeld met tetracycline (4×40 mgr. achromycine per dag). Zowel GASTON als YVONNE kregen tot en met resp. 11 en 10 dagen na de geboorte profylactisch tetracycline (10 mgr achromycine per dag). De moeder is een half jaar na de geboorte overleden aan subacute glomerulo nephritis; in 1957 werd bij de moeder het nierlijden geconstateerd. In de familie komt verder geen nier- of botlijden voor, behalve bij de vader van de vader die op oudere leeftijd moeilijk was gaan lopen en x-benen had. Er zijn geen bijzondere tandafwijkingen in de familie.

„Klinisch onderzoek”.

Bij het algemeen onderzoek in oktober 1961 waren beide kinderen iets te klein, resp. 82 en 80 cm (normaal 86 cm). Beide kinderen toonden de hieronder beschreven afwijkingen van het gebit. GASTON had een strabismus convergens van het linker oog; hij trok iets met het rechter beentje. Overigens waren er bij het algemeen onderzoek geen afwijkingen.

Het laboratoriumonderzoek leverde geen aanknopingspunten voor een metabole skeletziekte, met name niet voor rachitis, hypo-parathyreoïdie of hyperparathyreoïdie. De waarden van calcium in bloed en urine waren normaal; de terugresorptie van fosfaat was goed; een röntgenfoto van de pols bij een van de twee toonde geen afwijkingen. Als enige abnormale bevinding werd bij beide kinderen enkele malen een iets verhoogd ureum- en ook creatininegehalte van het bloed gevonden; de verdere nierfunctie proeven waren normaal; er was ook geen pathologische aminozuuruitscheiding in de urine.

Status localis

Zowel bij GASTON als YVONNE vindt men geel verkleurde en enigszins afgebokkelde elementen (afb. 2a, 2b). Bij GASTON zijn de gele verkleuringen aanwezig in het bovenste deel van de kroon, zowel bij de molaren als bij de incisieven. Bij YVONNE vooral in het bovenste deel van de mola-



Afb. 2a



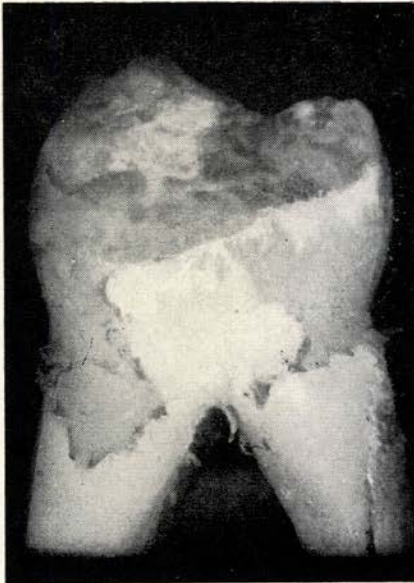
Afb. 2b

Afb. 2a. GASTON. Toestand gebit in november 1961, vlak voor de extractie van de m_1 i.s.

Afb. 2b. YVONNE. Toestand gebit in maart 1962, vlak voor de extractie van de m_1 i.s.

ren (afb. 3a, 3b), terwijl bij haar de incisieven in boven- en onderkaak nauwelijks pigmentatie vertonen, zeker niet aan het incisale kroongedeelte. Glazuurdefecten bestaan bij GASTON en YVONNE. Bij GASTON vallen deze grotendeels samen met de gele verkleuringen. Bij YVONNE maken de front-

tanden hierop een uitzondering. Op gipsmodellen zijn de glazuurdefecten zwart gemaakt (afb. 4a, 4b). Wanneer de tandontwikkeling normaal is en de geboorte à terme kunnen postnatale stoornissen niet meer van invloed zijn op het incisale kroongedeelte van de frontelementen. Als we aannemen dat de storing, die bij GASTON vooral glazuurdefecten aan het incisale kroongedeelte van de incisieven heeft veroorzaakt, postnataal is geweest, kunnen we dit alleen maar verklaren door de premature geboorte in aanmerking te nemen. G. STEIN (1936) vond bij 16 prematuur geboren kinderen in 8 gevallen defecten van het glazuur aan het incisale kroongedeelte van de fronttanden. Daar bij GASTON en YVONNE het cervicaal gelegen glazuur normaal is weten we ook dat de storing van tijdelijke aard is geweest. Of de incisieven van YVONNE, die klinisch geen glazuurdefecten vertonen, dit in histologisch opzicht wel doen, kon niet worden vastgesteld. Tot extractie van frontelementen is niet overgegaan.



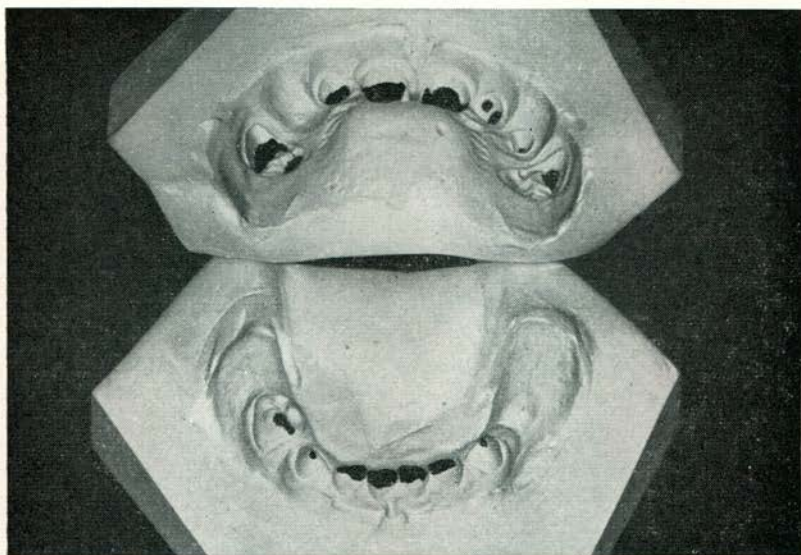
Afb. 3a. GASTON. m₁ i.s.



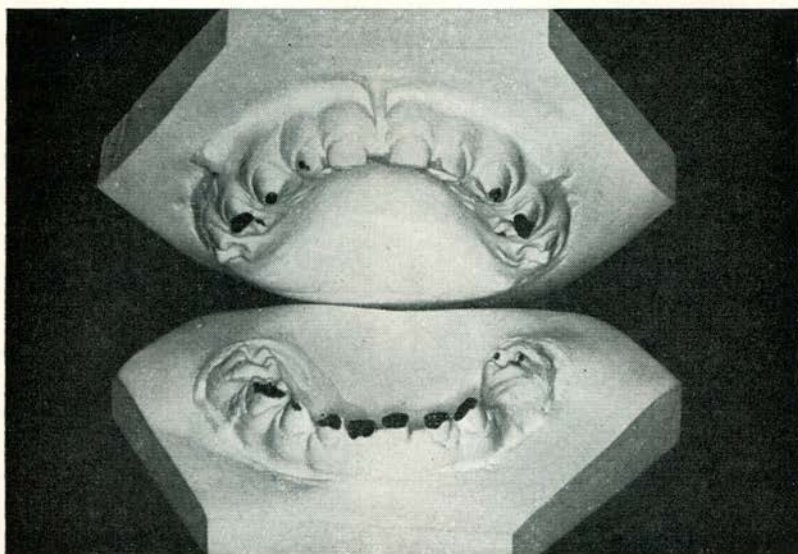
Afb. 3b. YVONNE. m₁ i.s.

Röntgenonderzoek

Op de röntgenfoto's die bij GASTON gemaakt zijn kan men een deel van de glazuurdefecten terugvinden. De dentine vertoont geen afwijking. De kiemen van de blijvende elementen vertonen evenmin afwijkingen.



Afb. 4a. GASTON. Gipsmodel waarop glazuurhypoplasieën zwart zijn gemaakt. Afdruk is gemaakt in juni 1962.



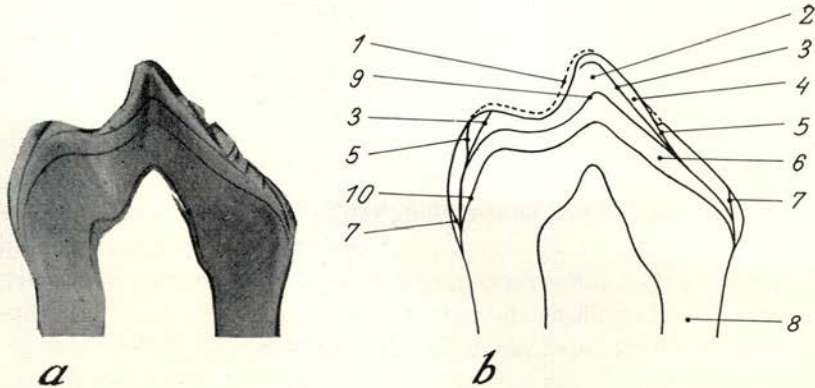
Afb. 4b. YVONNE. Gipsmodel waarop glazuurhypoplasieën zwart zijn gemaakt. Afdruk is gemaakt in juni 1962.

Het onderzoek van de elementen

Van de geëxtraheerde elementen zijn paraffine- en zaagcoupes gemaakt. De (ontkalkte) paraffinecoupes zijn histologisch onderzocht. De (onontkalkte) zaagcoupes zijn gebruikt voor microscopisch onderzoek, waarbij o.a. gebruik is gemaakt van gepolariseerd licht. Verder zijn deze coupes nog gebezigd voor microspectrofotometrisch, fluorescentie en micro-radiografisch onderzoek.

Microscopie

De paraffinecoupes zijn met H.E. gekleurd. Histologisch ziet men bij beide elementen normaal gevormde dentine en een normaal pulpa-weefsel. De laag predentine is niet verbreed, hetgeen bij rachitische elementen wel het geval kan zijn.



Afb. 5a

Afb. 5b

Afb. 5a. GASTON. Zaagcoupe van de m_1 i.s.

Afb. 5b.

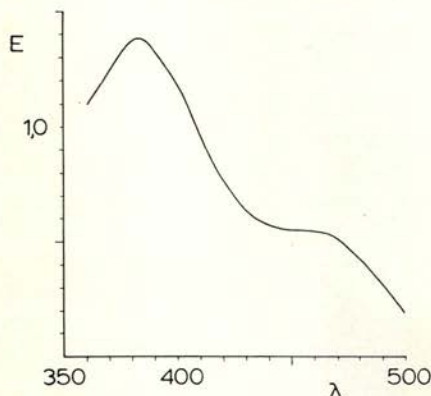
1. contour van het element indien geen glazuurdefecten.
2. prenataal gevormde dentine.
3. glazuur-dentine grens.
4. prenataal gevormd glazuur.
5. geboortelijn in het glazuur.
6. dentinestroom door twee gele lijnen begrensd en gevormd in de eerste 3 maanden na de geboorte.
7. geprononceerde groeilijn in het glazuur aansluitend bij de onderste gele lijn in de dentine.
8. dentine na de 3e maand (na de geboorte) gevormd.
9. bovenste gele lijn in de dentine, deze valt samen met de geboortelijn in de dentine.
10. onderste gele lijn in de dentine.

In het microscopische beeld van de zaagcoupes zien we dat bij beide elementen de glazuurdefecten aan het bovenste deel van de kroon liggen, (zie bijv. bij de molaar van GASTON afb. 5a, 5b). De geboortelij n in het glazuur is duidelijk te zien. Occlusaal ontbreekt een klein deel van de dentine hetgeen vermoedelijk het gevolg is van abrasie. Het glazuur, dat beneden de neonatale lij n ligt, is normaal gevormd. Een prenatale storing van de glazuurvorming is er dus niet. Verder ziet men bij GASTON in de dentine een vrij smalle geel gekleurde lij n (in de figuur donker) die op de glazuurdentinegrens aansluit bij de neonatale lij n in het glazuur en een die hier ongeveer evenwijdig mee loopt $\pm 0,42$ mm lager. Deze laatste lij n ziet men ook weer bij de glazuur-dentinegrens aansluiten bij een meer geprononceerde lij n in het glazuur. Bij YVONNE vindt men slechts één gele lij n, die aansluit bij de neonatale lij n in het glazuur. In ligging komt ze dus overeen met de eerste gele lij n in het element van GASTON. Daar de gemiddelde afstand tussen de twee gele lij nen bij GASTON $\pm 0,42$ mm bedraagt en het dentine $\pm 4 \mu$ per dag groeit (JENKINS 1954, SCHOUR en HOFMAN 1939) zal de tweede lij n $\pm \frac{420}{4} = \pm 105$ dagen na de geboorte gevormd zijn.

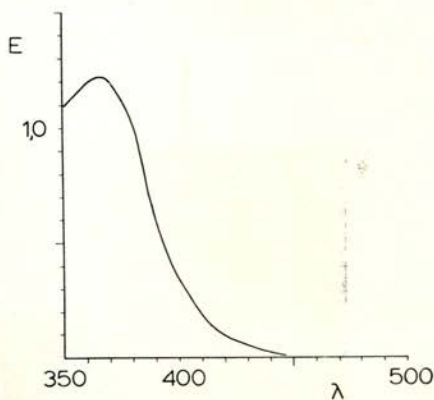
Microspectrofotometrisch onderzoek

Om na te gaan wat de samenstelling van de in de dentine gevonden lij nen is, onderzochten wij dunne zaagcoupes microfotometrisch. Hierbij wordt de door de stof veroorzaakte lichtuitdoving (extinctie, E) gemeten bij verschillende golflengten (λ). In afb. 6 is de door een microscoop opgenomen extinctie-curve van de lij n uit het element van YVONNE weergegeven (dergelijke curven werden verkregen van de twee lij nen in de tand van GASTON). Men vindt een top bij ongeveer 380μ (d.w.z. in het nabije ultraviolet) en een „schouder” tussen 430 en 470μ , in het blauw. Het is deze absorptie in het blauw die voor de gele kleur van de lij n verantwoordelijk is, want de extinctie in het ultraviolet wordt door het oog niet opgemerkt. Een dergelijk verloop van de extinctiekromme kan door een enkele stof teweeg gebracht worden, maar men moet nog eerder denken aan de mogelijkheid van een mengsel van twee stoffen, ieder met een eigen enkele top in het absorptiespectrum. Wanneer wij nu het gevonden spectrum trachten te verklaren uit de aanwezigheid van natuurlijke kleurstoffen blijkt dit slechts mogelijk te zijn door de veronderstelling, dat zich in de lij nen zowel bilirubine (abs. max. 450μ) als biliverdine (abs. max. 380μ) bevinden. Dit is ook biochemisch geen onredelijke hypothese, daar deze stoffen chemisch verwant zijn en elders in het lichaam ook tezamen kunnen voorkomen.

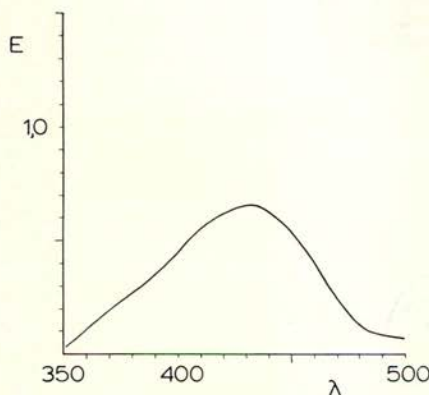
Een andere mogelijkheid wordt geboden door de tetracycline die aan beide kinderen kort na de geboorte en bij GASTON bovendien drie maanden later is toegediend (BOOTHE C. S. 1953, CONOVER, C. S. 1953). Tetracycline¹⁾ zelf heeft een absorptietop bij 370 μ (afb. 7). Bovendien verandert het althans in de reageerbuis gemakkelijk in anhydrotetracycline met een absorptiemaximum bij 430 μ (afb. 8). Als men tijdens dit proces, op het ogenblik dat de helft van de tetracycline is omgezet in anhydrotetracycline, het absorptiespectrum opneemt, vindt men de curve van afb. 9.



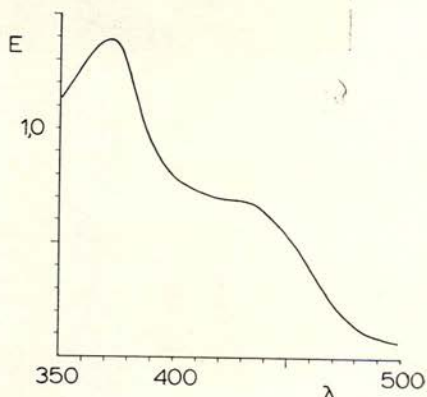
Afb. 6. Absorptiecurve van de gele lijn in de dentine van YVONNE'S molaar.



Afb. 7. Absorptiecurve van tetracycline in oplossing.



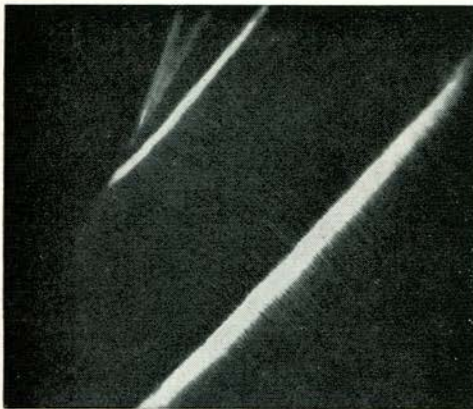
Afb. 8. Absorptiecurve van anhydrotetracycline in oplossing.



Afb. 9. Absorptiecurve van een mengsel van gelijke delen tetracycline en anhydrotetracycline in oplossing.

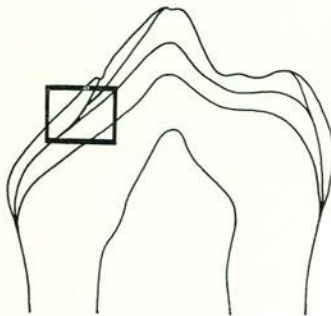
¹⁾ Prof. dr. P. SORGDRAGER te Utrecht stelde ons een monster zuivere tetracycline ter beschikking, waarvoor wij hem dank zeggen.

De overeenkomst van deze kromme met die van de lijnen in de tanden (figuur 6) is treffend. Het enige verschil is gelegen in een verschuiving naar langere golflengte van de top resp. de schouder in het geval van de tanden. Deze verschuiving ontzenuwt overigens de hypothese dat wij ook in de tanden met tetracycline en anhydrotetracycline te maken hebben allerminst, want wij moeten bij de vergelijking van absorptiecurven verkregen aan een zuivere oplossing van een kleurstof met die opgenomen aan dezelfde kleurstof in een andere toestand, bijvoorbeeld gebonden aan eiwit of kalkzouten, altijd rekening houden met deze mogelijkheid. Het ontbreken van de verschuiving in geval wij met galkleurstoffen te maken zouden hebben maakt het juist wat minder aantrekkelijk het gevonden spectrum



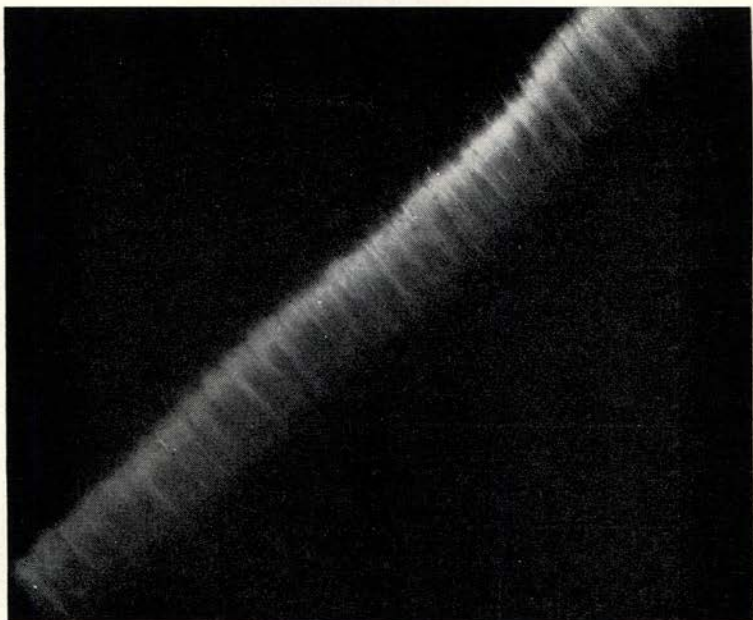
a

Afb. 10a. Fluorescentieopname van de twee lijnen in het element van GASTON. Let ook op het diffuse fluorescentiebeeld in het prenatiaal gevormde glazuur.



b

Afb. 10b. Schets ter oriëntatie van figuur 10a.



Afb. 11a. Fluorescentieopname van de tweede lijn uit figuur 10a sterker vergroot.



Afb. 11b. Opname in blauw licht van hetzelfde veld als in figuur 11a: op de plaats van de fluorescentie is nu de absorptie van de gele kleurstof in de lijn te zien.

aan deze stoffen toe te schrijven, want dat de kleurstof stevig verankerd ligt in het weefsel is duidelijk uit de weerstand die hij biedt aan al onze pogingen hem er uit op te lossen. De metingen aan de tanden laten overigens niet die nauwkeurigheid toe waarbij men, op grond van deze metingen alleen, een keuze tussen de twee mogelijkheden zou kunnen doen.

Fluorescentieonderzoek

Het onderzoek van de tanden met de fluorescentiemicroscoop liet zien dat de lijnen in de dentine helder geel fluoresceren (afb. 10a, 10b en 11a, 11b). Het is bekend dat tetracycline in weefsels geel fluoresceert, terwijl biliverdine noch bilirubine een dergelijke fluorescentie vertonen. Men zou nog kunnen denken aan de mogelijkheid dat het verwante urobiline, gebonden aan metaalionen, verantwoordelijk was voor de fluorescentie maar spectrofotometrisch onderzoek van het fluorescentielicht gaf wel overeenstemming te zien met de fluorescentie van zuiver tetracycline doch niet met die van het urobilinezinkcomplex.

In het glazuur werd een zwakke, niet duidelijk aan de lijnen gebonden fluorescentie in dezelfde tint als die van de dentinelijnen gezien. Een scherpe localisatie van kleurstoffen ter plaatse van de groeizone zoals in dentine is in glazuur met zijn volkomen andere wijze van vorming ook nauwelijks te verwachten.

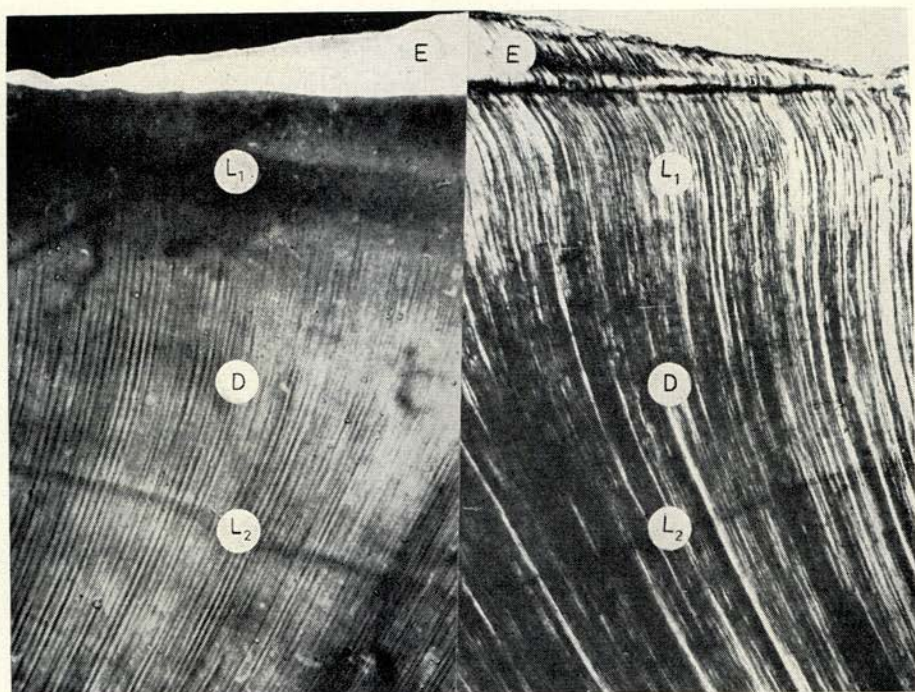
Microradiografisch onderzoek

Het leek ons van belang te onderzoeken of met de gekleurde lijnen tevens onregelmatigheden in de verkalking van de dentine gepaard gingen. Daarom werd van een slijpcoupe van het element van GASTON een microradiogram vervaardigd en wel door de slijpcoupe op een zeer fijnkorrelige emulsie te leggen en te doorstralen met zeer zachte röntgenstralen van 5 KV, geproduceerd door een Philips microradiograaf CMR 5. Daarna werd de slijpcoupe nog eens apart in blauw licht onder het lichtmicroscoop gefotografeerd en vervolgens werden beide afbeeldingen, precies op dezelfde vergroting naast elkaar spiegelbeeldig weergegeven (afb. 12). Men ziet dat in het microradiogram een sterke absorptie in het glazuur (E) bestaat en in de dentine (D) de dentinekanaaltjes zichtbaar zijn.

Voorts vallen de twee lijnen (L1 en L2) op, waarbij op te merken is dat met elk van de lijnen in de lichtmicroscopische opname een lijn met geringe absorptie, dus met een hypocalcificatie in het microradiogram, correspondeert.

Discussie

De resultaten van bovenstaande onderzoeken pleiten sterk voor de



Afb. 12. Micro-röntgenfoto (links) en microfoto in blauw licht (rechts) van eenzelfde veld in een slijppreparaat (GASTON). De rechtse opname is spiegelbeeldig afgedrukt en tegen de linkse aangepast (zie tekst).

veronderstelling dat de in 't oog lopende gele lijnen in de dentine veroorzaakt worden door tetracycline resp. anhydrotetracycline. De klinisch waarneembare gele kleur van de elementen zal voor een deel het gevolg zijn van de aanwezigheid van externe pigmenten die zich in de gebieden van het hypoplastische glazuur hebben afgezet.

Reeds kort na het in gebruik komen van tetracycline en verwante verbindingen aureomycine en terramycine was gebleken dat deze stoffen in de groeizones van de harde weefsels (been, dentine) voorgoed worden neergelegd. Daardoor konden zij gebruikt worden als indicatoren van het groeipatroon van deze weefsels. Een dergelijk experiment werd ongewild verricht bij GASTON, die met een tussenpoos van 3 maanden, tetracycline toegediend kreeg, zodat het tempo van de groei van zijn dentine aan de afstand van de twee gele, fluorescerende lijnen kan worden afgelezen. De uit de afstand berekende tijd (105 dagen) komt goed overeen met de werkelijke: 90-97 dagen.

Het is echter gebleken, dat deze markering van de groei van verkalkende weefsels niet geheel onschuldig is. Er zijn waarnemingen die wijzen op schade toegebracht aan het weefsel (been, dentine) dat tijdens de tetracycline toediening groeide, (o.a. BEVELANDER, 1961). Onze microradiografische waarnemingen laten ook zien dat de gele lijnen minder goed verkalkt zijn.

Bij onze patiëntjes moeten we er echter rekening mee houden dat de glazuurdefecten mede het gevolg zijn geweest van de storingen t.g.v. de premature geboorte. Desalniettemin lijkt het ons nuttig om te wijzen op het risico dat de toepassing van tetracycline, zeker bij prematuren en zeer jonge kinderen, oplevert.

Tenslotte zij nog vermeld dat de storingen t.g.v. tetracyclinetoediening die bij been- en dentinevorming in de groeizones optreden, bij deze kinderen, indien ze geen tetracycline meer toegediend krijgen, hoogstwaarschijnlijk geen afwijkingen aan het blijvende gebit zullen veroorzaken daar op het moment van de geboorte en kort daarna bij de blijvende elementen de vorming van harde structuren nog niet of nauwelijks begonnen is.

Summary

In two year old twins (a boy and a girl, born 7 weeks prematurely) yellow pigmentations and enamel hypoplasia were observed in the front teeth and the first molars (Figs. 2-4). Ground sections of the first molars revealed a slight and diffuse staining of the enamel and the sharp localization of the yellow colouring matter in one (the girl) or two (the boy) lines in the dentin (9 and 10 in Fig. 5). The line common to the boy and the girl coincided with the neonatal line whereas the second line in the boy ran ca. 0.4 mm more apically. Both children were given tetracycline 10 days after birth. The boy had a second treatment with the drug 3 months later.

Microspectrophotometry of the lines yielded an extinction curve (Fig. 6) similar to that of a mixture (Fig. 9) of equal parts of tetracycline (Fig. 7) and anhydrotetracycline (Fig. 8).

The lines were brightly fluorescent under ultraviolet light in the tinge characteristic of tetracycline. (Figs. 10a and 11a. Fig. 10b shows the orientation of Fig. 10a, Fig. 11b is a photomicrograph of the area of Fig. 11a, taken with blue light, in which the yellow line is darker than the unstained dentin).

Microradiography discloses that the lines correspond with zones containing less mineral salt than the remainder of the dentin (Fig. 12, the left hand half is a microradiogram, the right hand half represents the same area, printed mirror-wise, as seen in blue light).

The results extend recent observations on tetracycline staining of deciduous teeth in children in that they demonstrate, first, the presence of the drug and of a derivative in the stained areas, and second, the impairment of the calcification of the zones stained.

Literatuur:

1. BEVELANDER, G., ROLLE, G. K. en COHLAN, S. Q. (1961). *J. Dent. Res.* 40, 1020.
2. BOOTHE, J. H., et al. *I.A.C.S.* 75, 4621 (1953).
3. CONOVER, L. H. et al. *I.A.C.S.* 75, 4622 (1953).
4. JENKINS, G. W., *The physiology of the mouth.* 2e druk blz. 89. (1954).
5. KRONFELD, R., *Histopathology of the teeth and their surrounding structures* (1949) 3e druk, blz. 46.
6. ORBAN, B., *Oral histology en embryology* (1953), 3e druk, blz. 89, 97.
7. SCHOUR, I., *J.A.D.A.* vol. 23, blz. 1946 (1936).
8. SCHOUR, I., en HOFMAN, M. M. *J. Dent. Res.* 18, 91, 161, (1939).
9. TI TI LOO, TITUS E. D., RALL, D. P. *Science* 126, 253 (1957).
10. WALLMAN, I. S., en HILTON, H. B., (1962) *LANCET*, i, 827.
11. WEYMAN, J. en REUNIE PORTEOUS, J. *Brit. Dent. J.* 113, 51, (1962).

Nic. Beetsstraat 22, Utrecht