

NIEUWE INZICHTEN OVER HET ONTSTAAN VAN TANDCARIËS EN DE GLYCOGEENTHEORIE

Dr. H. EGYEDI

Voor de tweede keer is onder leiding van SOGNAES¹⁾ een monografie verschenen, waarin gezaghebbende auteurs een samenvatting geven van de belangrijke ontwikkelingen op het gebied van tandheelkundige spoorarbeid.

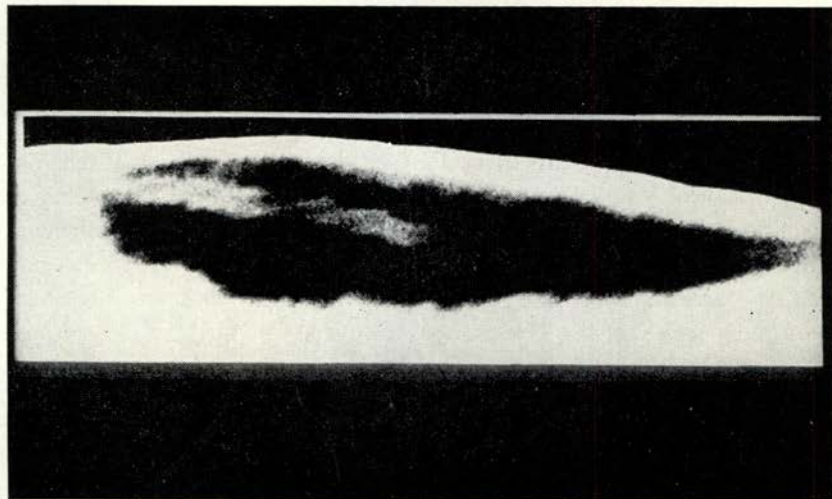
Deze monografie is een soort bezinning over de groei der inzichten in de laatste 10-15 jaar. Deze keer heeft zij als titel: „Chemistry and prevention of dental caries”. Naast vele minder belangrijke punten kon er een soort doorbraak van onze opvattingen over de cariës-genese worden geconstateerd, d.w.z. dat het cariës-proces niet aan het oppervlak van het glazuur maar in het inwendige ervan begint.

I. Ontkalking of proteolyse

De strijd ging tientallen jaren over de vraag: Wat gebeurt er het eerst: oplossing van de minerale of van de organische substantie van het glazuur. De voorstelling van zaken, die de oudere generatie nog geleerd heeft, was: zuurvorming door achtergebleven spijsresten en koolhydraten-oplossing van apatietkristallen (met elke zuurstoot een in millimicrons te meten laagje) – witte plek – caviteitsvorming. Zo ongeveer als een marmeren plaat ruw gemaakt kan worden door een druppel zoutzuur erop te laten inwerken. Van het begin af aan bestond een selectie minoriteit (BODECKER, GOTTLIEB), die een afwijkende opvatting voorstond, n.l. het cariës-proces begint met de oplossing van de interprismatische substantie. Het proces van de proteolyse kon alleen plaats vinden onder inwerking van proteolytische enzymen, geproduceerd door bacteriën. Een niet altijd duidelijk gestelde voorwaarde was dus het primair binnendringen van de plaque-bacteriën.

Deze laatste opvatting, althans een belangrijk deel ervan, heeft een onverwachte steun gekregen door microscopische observaties van een groeiend aantal onderzoekers. Zij zagen in gevallen van beginnende cariës *zonder uitzondering* een geheel intacte glazuurlaag, 30 micron breed, waarin ook met verfijnde technische middelen geen enkel teken van decalcificatie was aan te tonen. Het cariësproces begint onder dit

intacte oppervlak. Voorwaarde is evenwel dat men carieuze plekken in 't beginstadium observeert (zie afb. 1 van SOGNAES).



Afb. 1. High resolution micro-radiograph of incipient caries of enamel (Sognaes, pag. 12)

SOGNAES schrijft in het inleidend hoofdstuk: „All workers appear to have found the presence of a surprisingly intact narrow layer along the very surface of the enamel. Similarly, the evidence from all observers strongly points to the interprismatic regions and the prism-sheaths as primary pathways of penetration”.

Alle medewerkers, die zich in de monografie over het probleem uitspreken, zijn het met dit citaat eens. VON BARTHELD heeft dit in zijn experimenten in vitro ook zonder uitzondering gevonden. SOGNAES kiest geen partij ten aanzien van de vraag wat inwendig het eerst plaats vindt, maar neigt eerder tot de theorie van DARLING; andere auteurs proberen van de zuurtheorie te redden wat te redden valt. Toch worden begrippen als „critical point” niet meer met de oude nadruk verdedigd.

Het zal ook moeilijk zijn theorieën van de zuurinwerking, die gebaseerd waren op de veronderstelling van een inwerken op het tandoppervlak, staande te houden, waar het nu vaststaat dat deze zuurinwerking via een 1 micron breed 30 micron lang kanaal, gevuld met hoornsubstantie begint. Auteurs die aannemen dat inwendige ontkalking aan het ontleden

van organische substantie voorafgaat, spreken nu van „subsurface decalcification”.

De onderzoekingen van DARLING, die het bewezen acht dat niet de kalkkristallen, maar de oplosbare fractie van de organische substantie het eerst in de diepte oplost, zullen in een apart hoofdstuk worden besproken.

II. Het natuurlijke cariësproces en de inwerking van zuren.

Er schijnt bij alle auteurs eenstemmigheid te bestaan over het feit, dat het natuurlijke cariësproces en inwerking van sterk verdunde zuren of gebufferde zuuroplossingen in vitro niet van elkaar zijn te onderscheiden. Dit feit kon macroscopisch, zowel als microscopisch en eveneens met de polarisatiemicroscoop (DARLING, v. BARTHELD)²⁾ worden vastgesteld. Verondersteld kan dus worden, dat ook bij het natuurlijke cariësproces zuur via de interprismatische kanalen naar de diepte infiltreert en daar de eerste cariësverschijnselen veroorzaakt.

Het typische beeld van cariës kon dus ook verkregen worden doordat men op geëxtraheerde elementen weken of maanden verdunde zuren dan wel door agar of gelatine gebufferde geconcentreerde zuuroplossingen liet inwerken.

Er zijn verder in vitro proefnemingen verricht, die aantonen, dat het proces ook zonder bacteriën plaats kon vinden. Cultures werden met behulp van een bacteriënfilter kiemvrij gemaakt. Het zure filtraat leverde hetzelfde effect op als filtraat + bacteriën.

Dat alles betekent dus dat in vitro inwerking van zuur alle typische verschijnselen van cariës kan verwekken, dat de bacteriën ook in vivo door zuurvorming de eerste pathologische verschijnselen teweegbrengen. De vraag of dit vóór of na het binnengroeien in de interprismatische substantie plaatsvindt, blijft – ook volgens BACKER DIRKS – onbeslist.

Een aanvulling dus voor de stelling: zonder bacteriën en zonder koolhydraten geen cariës, met een tweede: zonder zuur geen cariës.

III. De onderzoekingen van Darling.^{3), 4), 5)}

A. J. DARLING (professor of dental surgery, Dental School, University of Bristol) houdt zich sinds tientallen jaren bezig met het onderzoek van beginnende cariës met behulp van microscoop, polarisatiemicroscoop en röntgenopnamen van coupes. In meer dan één opzicht zijn deze onderzoekingen uniek. Ten eerste door het aantal coupes, ten tweede door de originele methodiek om carieuze plekken te ontdekken nog voordat ze zich door witte plekken of enige verkleuring verraden. (DARLING

spreekt van een subklinisch stadium) ten derde door de ingenieuze methodiek, die hij bezigt, gebruikmakend van het betrekkelijk nieuwe histologische hulpmiddel, de polarisatiemicroscoop. Het onderzoek van de structuur der eerste carieuze veranderingen heeft hij geleidelijk opgebouwd met medewerking van bekende fysici en chemici. SOGNAES wijdt een belangrijk deel van zijn hoofdstuk aan het onderzoek van DARLING en geeft er een nauwkeurige analyse van.

De belangrijkste inzichten in de structuur van het beginnende cariësproces heeft DARLING door impregneren van de slijppreparaten met vloeistoffen van verschillende brekingsindex verkregen (voor onderzoek in de polarisatiemicroscoop) en door vergelijking van de in deze microscoop verkregen beelden met de röntgenopnamen van dezelfde preparaten. Met behulp van de eerste methode komt hij tot een nauwkeurige berekening van de grootte en het percentage van de ruimten in de verschillende delen van de aantasting (centrum, doorzichtige zone, randzones), met behulp van de laatste tot het inzicht in het ontstaan van deze microscopische of submicroscopische holten (ontkalking of oplossing van de organische substantie).

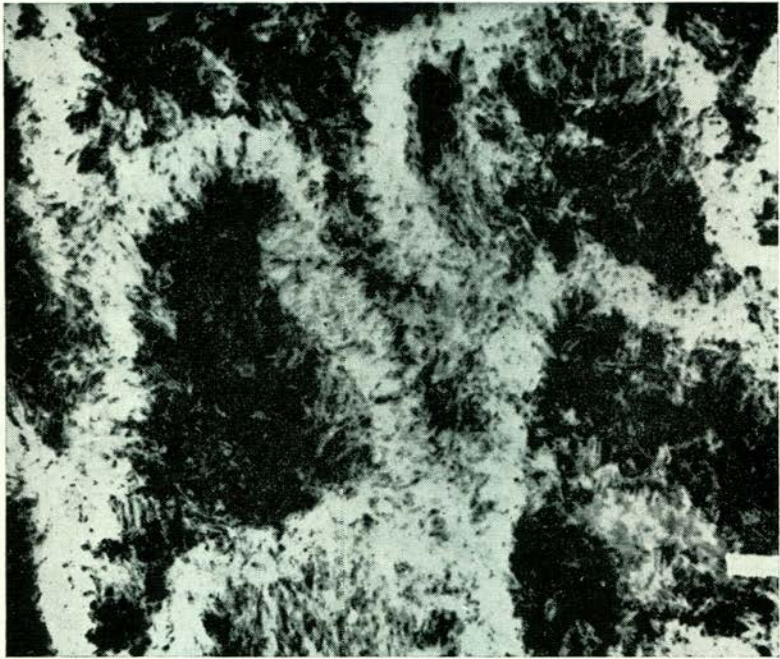
In zijn publicatie in 1956, waar hij klinisch nog juist zichtbare carieuze plekken heeft beschreven, meende hij nog dat ontkalking voorafgaat. In 1958 en sindsdien heeft hij zijn standpunt radicaal gewijzigd.

In 1963⁶⁾ (J. Dent. Res.) schreef hij onder de titel: Resistance of the enamel to dental caries: „The evidence provide strong support for the view that the attack of caries causes a primary loss of soluble organic matrix, which facilitates the demineralisation of the soluble structures, while those with an insoluble matrix remain relatively unaffected.”

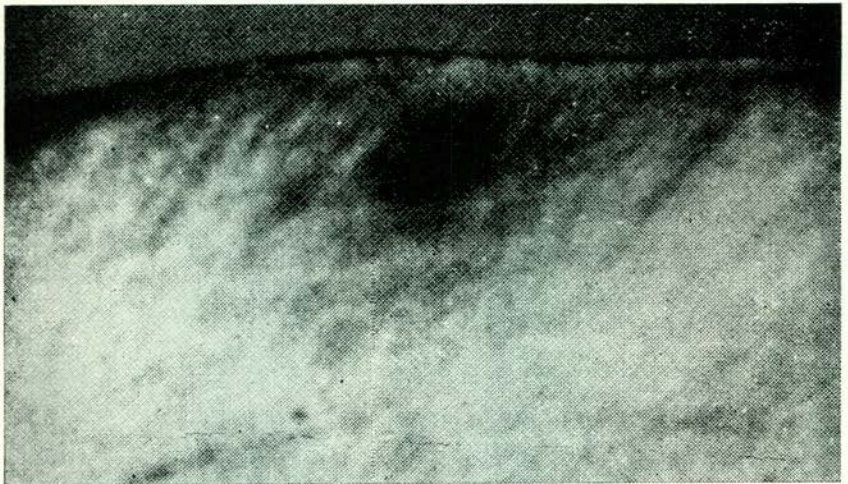
Het zou in dit verband van belang zijn de mening van Prof. PERDOK⁷⁾ hier aan te halen. Deze kristalfysicus schreef: „Want al mag dan ook bij de verdere voortschrijding van het cariësproces de oplosbaarheid van het glazuur in zuren de belangrijkste factor zijn, toch is de schrijver ervan overtuigd dat het begin van de aantasting samenhangt met het doorbreken van de proteïnebarrière om de hydroxylapatietkristallen”.

Twee foto's (afb. 2 en 3) zijn van DARLING's artikel (Brit. Dent. J. 1958) overgenomen.

Afb. 2 geeft een dwarsdoorsnede van glazuurprisma's van normaal glazuur, 10.000 maal vergroot na de ontkalking. Men ziet de (organische) prismascheden en interprismatische substantie. Afb. 3 geeft een beginnende carieuze plek in gepolariseerd licht weer. De samenvatting van SOGNAES over de resultaten van DARLING drukt enige voorzichtige skepsis uit: hij laat de mogelijkheid open dat de holten gedeeltelijk door



Afb. 2. Electronmicrograph of a transverse section of human enamel prisms, decalcified by formic acid (Brain's technique) $\times 10.000$. (Reproduced by kind permission of Dr. K. LITTLE of Oxford).



Afb. 3. The beginning of a dark zone in early caries of the enamel seen by polarised light in water (DARLING, Br. Dent. J. Aug. 1958, pag. 131).

en kiezen sterk en gezond zijn. Dit geldt zowel voor het melkgebit als voor de blijvende gebitselementen.

5. Het lichaam van zuigeling en kleuter kan in totaal ongeveer een eetlepel suiker per dag verwerken, bij groter gebruik komt het tot vorming van reservevoorraden met alle gevolgen van dien voor het tandbederf.

Ad. 1) De aanwezigheid van een alkalivast koolhydraat in een onverwacht grote hoeveelheid is bevestigd in 3 biochemische laboratoria (door STACK, SPEIRS⁹) en COOLIDGE). De hoeveelheid glycogeen bedraagt in de buitenste laag – waar de aantasting begint – 1% van het slijpsel (apatiet + organische substantie). Het organische aandeel bestaat voor minstens 25-50% uit glycogeen. De rest is hoornsubstantie (interprismatische substantie + prisma-schede). SOGNAES geeft in zijn hoofdstuk een goed résumé van de vondst van glycogeen naar aanleiding van ons artikel in het Tijdschrift voor Tandheelkunde (1956):

„STACK et al¹⁰) (STACK, v. DAATSELAAR, DE VRIES en EGYEDI) have shown that the carbohydrate content of the enamel matrix, while absolutely small, is relatively higher (compared to protein), than that of the dentin matrix. They suggest that this carbohydrate component resembles glycogen and is concentrated near the enamel surface. Here the level of a hexose fraction resistant to hot alkali was found to be thirty times as high as in the main part of the enamel”.

Ad. 2) Het gebruiken van glucose-keratine als voedingsbodem voor de plaque-bacteriën – een these die veel weerstanden heeft opgewekt, in de eerste plaats bij de bacteriologisch weinig geschoolden – stelde ik niet in absolute zin. Wèl acht ik deze voorstelling van zaken de meest waarschijnlijke. Een alternatieve mogelijkheid is aanwezig, n.l. dat door de depolymerisatie van glycogeen in glucose een vermeerdering van de DARLING'se „zones” plaats vindt. Deze werken als capillaire buizen en verhogen de doorlaatbaarheid voor plaque-bestanddelen (b.v. glucose en zuren).

Opgemerkt zij nog, dat glycogeen tegen zuren (20% melkzuur) zeer resistent is en alleen in glucose gehydrolyseerd kon worden in aanwezigheid van enzymen. Glazuurpoeder bleek bij pH = 6 in staat, om uit glycogeen in een half jaar glucose te vormen.¹¹⁾

Ad. 3) De kern van de glycogeen-theorie: het verschil in glycogeen-gehalte tussen carieuze en gave gebitten kon met sterke aanwijzingen worden ondersteund, maar niet absoluut bewezen. Deze aanwijzingen waren door analyse van apetanden¹²⁾ en enkele elementen, afkomstig van cariës-immune personen gewonnen; verder door vergelijking van het

glycogeengehalte van tanden en kiezen uit Hollandse en Indonesische klinieken.

Immune kiezen zijn uiteraard moeilijk te verkrijgen. In het onderstaande wilde ik naast elkaar stellen de door DARLING langs experimentele weg gewonnen visie op het begin van een cariës en het gepostuleerde standpunt van de glycogentheorie.

Darling's bevindingen

1. Zuur van de plaque dringt door één of meer uiteinden van de interprismatische substantie door een 30 micron lang kanaal in het intacte glazuur.

2. De „soluble protein” van STACK wordt opgelost nog voordat decalcificatie plaats vindt.

3. Het ontleden (hydrolyse) van proteïne in aminozuren vermeerderd het aantal holten van 1/10% tot 1%.

4. Na oplossing van het oplosbare deel van de organische substantie volgt ontkalking, later oplossing van de keratine.

Glycogentheorie

1. idem.

2. Niet de „soluble protein” maar het glycogeen (EGYEDI en STACK)¹³ lost het eerst op. STACK heeft de „soluble protein” en peptides in de diepere lagen gevonden. Bij zijn toenmalig onderzoek (1954) heeft hij de buitenste laag weggeslepen. En daar zit juist het glycogeen als het meest belangrijke organisch bestanddeel.

3. De depolymerisatie van glycogeen vermeerderd het aantal holten, maar verandert tegelijkertijd de keratine van de interprismatische substantie in keratineglucose. Schrijver dezes hecht meer waarde aan deze als voedingsbodem voor de bacteriën. Toch laat hij de mogelijkheid van de invloed op de toename der holten open.

4. idem.

Er bestaat een vèrgaande overeenkomst der opvattingen met uitzondering van het punt glycogeen versus „soluble protein”, waar ik meen dat *alle* argumenten ten gunste van mijn visie pleiten.

V. De glycogeen-theorie en de suikerarme voeding

Waar men in diverse plaatsen in Nederland begonnen is met propaganda voor suikerarme voeding voor babies en kleuters, is het misschien van belang de betrekkingen tussen deze en glycogeen in het licht te stellen. Schrijver dezes acht de werkzaamheid van de suikerarme voeding bewezen en deze wijze van voeding is bovendien te verwezenlijken. Een in de medische wetenschap nauwelijks geëvenaard aantal statistische, dierexperimentele en chemische bevindingen vormen samen een krachtig bewijs. Niet minder krachtig dan de bewijsvoering voor de samenhang vitamine D-rachitis.

Maar, zo zal men zich afvragen, is het effect van de suikerarme voeding op cariës aan glycogeen toe te schrijven? Er zijn critici die dit in twijfel trekken.

Zij voelen van de twee mogelijke verklaringen meer voor een alternatieve verklaring n.l. dat suiker op één of andere geheimzinnige manier als „kalkrover” optreedt en een goede verkalking van de tand kwalitatief of kwantitatief remt. Amerikaanse auteurs zoals SOGNAES en SHAW zochten zonder succes in deze richting. Men vergeet daarbij dat de samenhang: meer suiker – meer glycogeen (in alle organen) een axioma in de fysiologie is, waartegenover de andere versie een niet bewezen hypothese is die door enkele sterke aanwijzingen gevoelig uitgesloten kan worden geacht.

Conclusie:

De laatste 10 à 15 jaren zijn door het – met behulp van microscoop en scheikundige reacties – dieper doordringen in de fijne structuur van het glazuur onverwachte feiten naar voren gekomen. De door MILLER naar voren gebrachte theorie van de carieuze aanval van buitenaf behoeft een herwaardering. De ene helft van de theorie betreffende zuurvorming in de plaque bleek de weerstand der tijden goed te hebben doorstaan. De tweede helft, de ontkalking van buitenaf, kon niet worden bevestigd. In de laatste 70 jaren zijn door nieuwe methoden van onderzoek (elektronenmicroscopie, röntgenologie) wijzigingen van scheikundige en fysische inzichten naar voren gekomen, die de oorspronkelijke versie belaagden. Een vasthouden daaraan is naar mening van de schrijver een anachronisme.

De door schrijver dezes in 1952 gepostuleerde en toen in vele delen aangevochten glycogeen-theorie is door proefnemingen en waarnemingen over het ontstaan van cariës in zeer sterke mate waarschijnlijk gemaakt.

Samenvatting:

De inzichten over het ontstaan van de tandcariës zijn de laatste jaren op enige essentiële punten veranderd: het cariësproces begint niet aan het oppervlak van het glazuur, maar inwendig.

SOGNAES schrijft daarover: „All workers appear to have found the presence of a surprisingly intact narrow layer along the very surface of the enamel. Similarly the evidence from all observers strongly points to the interprismatic regions and the prism-sheats as primary pathways of penetration”.

Ook de door inwerking van zuren kunstmatig gekweekte cariës begint onder een intacte glazuurlaag in 't binnenste van het glazuur. De porte d'entrée wordt gevormd door een 30 micron lang en 1 micron breed kanaal, gevuld met hoornsubstantie + een aanzienlijke hoeveelheid (25-50% van de organische substantie) glycogeen.

De vage voorstellingen over de cariës-ontwikkeling (decalcificatie of proteolyse) beginnen vaste vormen aan te nemen, in de eerste plaats in verband met het ongeëvenaarde researchwerk van DARLING. Deze auteur heeft vele gevallen van beginnende cariës kunnen onderzoeken, nog voordat verkleuring van het glazuur optrad. Door gebruik te maken o.a. van een polarisatiemicroscop en door het impregneren van de slijppreparaten met chemische middelen van verschillende brekings-index kon hij de afmeting en kwantiteit der „spaces” in de carieuze veranderingen goed taxeren en daardoor het voortschrijden van het cariësproces in het glazuur vaststellen.

Hij komt in zijn nieuwste mededeling daarover tot de uitspraak: „The evidence provides strong support for the view that the attack of caries causes a primary loss of soluble organic matrix, which facilitates the demineralisation of the soluble structures, while those with an insoluble matrix remain relatively unaffected”.

Aan de glycogeen-theorie van EGYEDI werd door deze bevindingen naar mijn mening grote steun verleend. Er bestaat een vèrgaande overeenkomst tussen deze uitspraak van DARLING en het gepostuleerde standpunt van de glycogeen-theorie. De veronderstelling van DARLING dat de ontleding van het oplosbare proteïn van STACK het cariësproces inleidt kan moeilijk staande worden gehouden. In de buitenlaag van het glazuur hebben STACK en EGYEDI een zeer grote hoeveelheid alkalivast koolhydraat (waarschijnlijk glycogeen) gevonden. De depolymerisatie van dit polymeer door zuur hydrolyse kan de toename der DARLING'se „spaces” zeer goed verklaren. Het is een van de grondslagen van de glycogeen-theorie. Het moet in 't midden gelaten worden of de glucose als voedingsbodem voor de plaque-bacteriën dient ofwel dat de door het veranderen van macromoleculen in micromoleculen ontstane capillaire buisjes het cariësproces in de interprismatische substantie inleiden.

De theorie van MILLER heeft zijn tijd gehad. Verandering van opvattingen in de histologie, scheikunde en natuurkunde hebben de visie op het cariësprobleem verruimd; nieuwe onderzoekmethoden, zoals de toepassing van microscoop, elektronenmicroscop en röntgenstralen hebben een verdere verdieping van het inzicht mogelijk gemaakt. De ene helft van de theorie: de zuurvorming in de plaque bleek de weerstand

der tijden goed te hebben doorstaan, de tweede helft: de decalcificatie van buitenaf niet. De door schrijver dezes in 1952 gepostuleerde en toen in velerlei opzichten aangevochten glycogeen-theorie is door proefnemingen en waarnemingen over het ontstaan van cariës in hoge mate waarschijnlijk gemaakt.

Summary:

In the past few years, the view on the pathogenesis of dental caries have changed with regard to a number of fundamental points: the caries process begins, not at the surface of the enamel, but inside. SOGNAES writes on this subject: „All workers appear to have found the presence of a surprisingly intact narrow layer along the very surface of the enamel. Similarly the evidence from all observers strongly points to the interprismatic regions and the prism-sheats as primary pathways of penetration”.

Artificial caries produced by the influence of acids, too, begin underneath an intact layer of enamel, inside the enamel. The portal of entry is a canal of 30 u. length and 1 u. width, filled with a keratic substance and a considerable quantity (25-50% of the organic substance) of glycogen.

Vague conceptions of caries development (decalcification or proteolysis) are now beginning to assume a more distinct shape, primarily as a result of the unrivalled research carried out by DARLING. This author studied many cases of incipient caries even before discoloration of enamel occurred. By using a polarization microscope and by impregnating slides with chemical agents of different refractive index, he was able to evaluate adequately the dimensions and quantity of spaces in the carious structures, this enabled him to follow the progress of the carious process in the enamel.

In his latest report on the subject he writes: „The evidence provides strong support for the view that the attack of caries causes a primary loss of soluble organic matrix, which facilitates the demineralisation of the soluble structures, while those with an insoluble matrix remain relatively unaffected”.

In my opinion these findings lend a firm support to the glycogen theory of EGYEDI. There is a high degree of agreement between this statement by DARLING and the postulate presented in the glycogen theory. DARLING's assumption that decomposition of STACK's soluble protein introduces the carious process is hardly tenable. STACK and EGYEDI found a very large quantity of an alkali-fast carbohydrate (probably glycogen) in the external layer of enamel. Depolymerization of this polymer by acid hydrolysis affords a plausible explanation of the increase in Darling spaces. This is one of the principles of the glycogen theory. It must be left undiscussed whether the glucose serves as a nutrient for the plaque bacilli or whether capillary tubules arising from the transformation of macromolecules into micromolecules introduce the carious process in the interprismatic substance.

MILLER's theory is becoming obsolete. Changes in the views of histology, chemistry and physics have enlarged our vision on the caries problem; new methods of investigation, using microscope, electron microscope and X-rays, have led to a new depth of understanding. The first part of the theory (acid formation in the plaque) proves to stand up to the teeth of time; the latter part (decalcification from outside) does not. The glycogen theory postulated by this author in 1952, which at the time encountered many objections, is now becoming highly probable in view of recent experiments and observations on the pathogenesis of caries.

Literatuur:

1. R. T. SOGNAES. Chemistry and prevention of dental caries. Charles C. Thomas, Springfield (Ill.), U.S.A. 1962.
2. F. VON BARTHELD. Arch. Oral Biol., Spec. Suppl. Vol. 6: 284-303, 1961.
3. A. J. DARLING. Brit. Dent. J., Vol. 101: 289, 329, 1956.
4. A. J. DARLING. Brit. Dent. J., Vol. 105: 119-134, 1958.
5. A. J. DARLING. Arch. Oral Biol., Vol. 5: 251-271, 1961
6. A. J. DARLING. J. Dent. Res., Vol. 42, nr. 1, part 2 (Bonn Conference on Oral Biology: 495).
7. W. G. PERDOK. Belg. Tijdschr. Stom., Vol. 54, nr. 2:277-291, 1957.
8. H. EGYEDI. „Gaaf houden”, Drukkerij J. & D. van der Horst, Postbus 281, Utrecht.
9. R. L. SPEIRS. Brit. Dent. J., Oct. 20, 1959.
10. M. V. STACK, J. J. v. DAATSELAAR, L. A. DE VRIES, H. EGYEDI. Tijdschr. v. Tandheelk., Vol. 63:833, 1956.
11. H. EGYEDI. The N.Y. State Dent. J., Vol. 21:119, 1955.
12. H. EGYEDI, L. A. DE VRIES, J. J. v. DAATSELAAR. Tijdschr. v. Tandheelk., Vol. 67: 672-674, 1960.
13. H. EGYEDI en M. V. STACK. N.Y. State Dent. J., Vol. 22: 386, 1956.

Tintorettostraat 8, Amsterdam