

W.D. Miller:

## Pioneren som løste kariesgåten

Av tannlegene Elin Giertsen og Svein Jacobsen

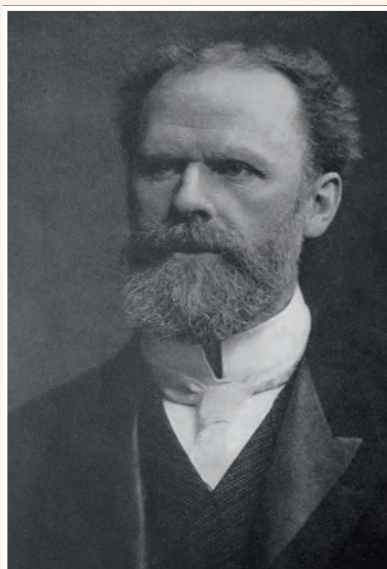
Tallrike kariesteorier hadde versert i over to tusen år før W.D. Miller i 1889 lanserte den kjemoparasittære kariesteorien, som i store trekk fremdeles er like gyldig i dag.

**M**iller oppsummerte selv i sin bok de årsakene til karies som var blitt foreslått før 1889.

Det var fordervete væsker som samlet seg i tennene, ernæringsforstyrrelser, inflammasjon, ormer, forråtnelse av matrester på tannoverflater, kjemisk oppløsning av tennene på grunn av syrer, parasitter, galvanisk strøm og diverse andre årsaker, som for eksempel sukker. Ingen av disse teoriene kunne forklare hvordan karies utviklet seg. Det viste seg imidlertid at de kjemiske og parasittære kariesteoriene dannet grunnlaget for den kjemoparasittære kariesteorien. Den fikk gjennom Millers eksperimenter en solid vitenskapelig basis.

### DEN KJEMISKE KARIESTEORIEN •

I de 18. og 19. århundrer støttet mange forskere ideen om at tenner ble dekal-sifisert av syrer som oppsto i munnhulen. Feilaktig trodde man at anorganiske syrer var ansvarlige for dekal-sifiseringen. Eksperimentell behandling av tenner med både fortennet salpetersyre og svovelsyre demineraliserte riktig nok alltid emaljen, men ingen kunne forklare hvordan syrene kunne oppstå i munnen. Et populært forsøk på forklaring var at ammoniakk, som ble dannet ved forråtnelse av proteiner fra føde, ble oksidert til salpetersyre. Noen trodde også at syrene stammet fra magesekken eller fra sur mat og drikke, som så ble blandet med slim eller sali-



*Willoughby D. Miller (1853–1907).*

va. Problemet var at utseendet på en dentinlesjon som man laget eksperimentelt ved syrebehandling, var helt annerledes enn både det makroskopiske og mikroskopiske bildet av en dentinlesjon dannet i munnhulen. Kjemisk nedbryting av tennene på grunn av syrer kunne derfor bare være en del av forklaringen.

### DEN PARASITTÆRE

**KARIESTEORIEN •** Hollandske Antonie van Leeuwenhoek (1632–1723) ble berømt for sin interesse for mikroskop, som han stadig forbedret, og han bygde hundrevis av dem gjennom sitt liv. Han var den første som beskrev protozoer og bakterier, som han kalte «animalcules». Disse fant han i avskrap fra sine egne tenner og i spytt. van Leeuwenhoek fikk stor anerkjennelse for sitt arbeid med å karakterisere den alminnelige mikrobiotaen i munnhulen

og fire typer orale bakterier med forskjellig form: korte og lange staver, kokker og spiroketer. Han antydte også at mikroorganismer var delaktige i kariesprosessen. Hans arbeid fikk imidlertid liten praktisk betydning, fordi det var umulig å forklare hvordan disse bakteriene kunne bidra til å løse opp harde tannvev.

Etter 1840 mente flere forskere at orale mikroorganismer forårsaket karies, men de kunne ikke forklare hvordan dette foregikk. Den parasittære teorien fikk et mer solid grunnlag i 1867 da de to tyske legene Leber og Rottenstein publiserte en kort bok om emnet. De trodde fremdeles at karies startet med syreangrep av anorganiske syrer. Samtidig mente de at levende organismer var nødvendige for den videre progresjonen så snart dentinet var blitt dekal-sifisert. Dette mente de både på grunn av dentinlesjonenes karakteristiske utseende og fordi mikroorganismer alltid var til stede i kariøst dentin. Samme året viste den franske forskeren Magitot i laboratorieforsøk at fermentering av sukrose førte til oppløsning av emalje. Interessen for den parasittære teorien avtok imidlertid inntil de britiske forskerne Milles og Underwood presenterte sine synspunkter på en konferanse i London i 1881. De forkastet den kjemiske teorien basert på anorganiske syrer. De mente at syrene som førte til karies ble produsert av mikroorganismer, og at de to faktorene mikroorganismer og syrer alltid spilte en rolle helt fra starten av et kariesangrep.

Den parasittære kariesteorien fikk bred støtte, men ingen kunne forklare på hvilken måte mikroorganismene

forårsaket sykdommen. Teorien var således bare basert på empiri og ikke på bevis. Spiren til den kjemoparasittære kariesteorien var likevel sådd.

#### MIKROBIOLOGIENS UTVIKLING SOM VITENSKAP OG GRUNNLAG FOR MILLERS ARBEID

• I 1836 ble det for første gang foreslått at fermentering var et resultat av aktiviteter fra levende mikroorganismer. Før denne tiden trodde man at gjæring var en spontanreaksjon av proteiner i fermenterende væsker. Gjær ble ansett for å være et produkt av gjæringen og ikke det stoffet som var ansvarlig for prosessen. «Vitalteorien» som ble foreslått i 1836, ble forkastet av de ledende kjemikerne på denne tiden. Kjemikerne hadde gjort stor fremgang med å syntetisere organiske molekyler, og urea var det første. Enhver «vital prosess» ble av datidens ledende kjemikere beskrevet som en ren kjemisk reaksjon.

Franskmannen Louis Pasteur (1822–1895) var utdannet kjemiker og ble berømt blant annet for sitt banebrytende arbeid innen mikrobiell fysiologi. Pasteur startet sitt forskningsarbeid med fermentering i 1854 på en praktisk måte, da en bekjent spurte ham om råd i forbindelse med mislykket industriell øl- og vinproduksjon, der det ble dannet syrer i stedet for alkohol. Problemet var alvorlig og kan forklare hvorfor Pasteurs første publikasjon på dette området handlet om bakterienes produksjon av melkesyre og ikke om gjærsoppenes alkoholproduksjon. Gjennom en nær uangripelig rekke eksperimentelle bevis og praktiske resultater påviste Pasteur at gjæring er et resultat av spesifikk mikrobiell aktivitet. I 1858 fremsatte den tyske kjemikeren Moritz Traube ideen om at gjæringen ble katalysert av en kjemisk katalysator, som var et løselig ferment syntetisert av levende gjærsopper. Fermentet ble senere kalt enzym (enzym = i gjær). Men det var først i 1897, to år etter Pasteurs død, at det endelige vitenskapelige beviset kom når det gjaldt enzymer. Da viste den tyske kjemikeren Eduard Buchner at en ekstrakt

av knuste gjærceller omdannet sukker til alkohol. Dette funnet forente omsider de motstridende oppfatningene til kjemikerne og vitalistene.

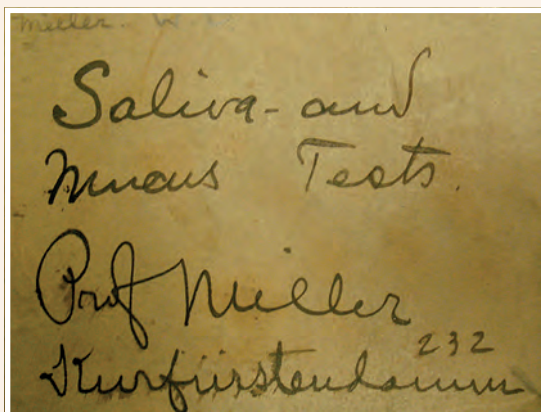
Pasteur brukte sin nyervervete kunnskap på en praktisk måte til å behandle vin og øl for sine «sykdommer». Dette førte til oppdagelsen av pasteurisering, som innebærer å hemme ukontrollert gjæring av mikroorganismer gjennom moderat oppvarming og rask nedkjøling. Metoden førte til kontrollert fermentering av alkohol og flere andre gjæringsprodukter og var et enormt fremskritt i matvareindustrien. Pasteur avviste også for godt den mangeårige teorien om spontan generasjon, det vil si at levende mikroorganismer kunne oppstå spontant i råtnende organisk materiale. Pasteurs arbeid la dermed et solid grunnlag for teorien om at mikroorganismer forårsaker sykdom.

Den tyske legen Robert Koch (1843–1910) var en av Europas ledende mikrobiologer i slutten av det 19. århundret, og deler med blant andre Pasteur æren for å ha skapt den moderne bakteriologi. Med sin medisinske bakgrunn var han spesielt interessert i hvordan spesifikke mikrober

kunne gjenkjennes, og hvordan de kunne forårsake infeksjonssykdommer. Koch gjorde mange forbedringer av mikrobielle dyrkingsmetoder, og særlig innføringen av faste næringssubstrater fikk stor praktisk betydning. Dette gjorde bakteriologiens raske vekst mot slutten av det 19. århundret mulig. Gelatin, som først ble brukt, smeltet både ved høye temperaturer og av bakterielle enzymer. Konen til en av Kochs assistenter, Frau Hesse, foreslo da å forsøke agar, fordi puddinger hun laget med agar ikke smeltet i sommervarmen. Det viste seg at agar, som opprinnelig ble innført av hollendere fra Indonesia, var et utmerket middel. Ideen til en annen nyvinning kom fra Petri, som også var en av Kochs assistenter. For å unngå kontaminering, foreslo han å legge lokk på agarskålene. Denne enkle innretningen ble en stor forbedring, og petriskålene som bærer hans navn, brukes i dag på alle mikrobiologiske laboratorier verden over. Sist, men ikke minst, forbedret de også sammensetningen av næringsstoffene som ble brukt til dyrking. De nye dyrkingsteknikkene gjorde det nå mulig å isolere og identifisere mikroorganismer.



Miller i sitt private laboratorium etter 1898.



Forsiden på en av Millers notisbøker.

Kochs laboratorium var et av de første laboratoriene som isolerte en sykdomsfremkallende mikroorganisme. Arbeidet med sykdommen miltbrann (anthrax), som på denne tiden angrep sauebestanden hardt, ga det endelige beviset på at miltbrannsporen forårsaker sykdommen. Uten å vite om hverandre arbeidet både Pasteur og Koch samtidig med etiologien til miltbrann, men dette arbeidet fikk liten oppmerksomhet fordi sykdommen først og fremst rammer drøvtyggende dyr.

Det store vendepunktet innenfor mikrobiell sykdomsetiologi kom i 1882 da Koch oppdaget årsaken til tuberkulose. Sykdommen var den viktigste dødsårsaken på denne tiden og rammet 1/3 av verdens befolkning. Fremstående patologer var skeptiske fordi de mente at tuberkulose var en tumor. Etter at Koch holdt et mesterlig foredrag ved Universitetet i Berlin om årsaken til tuberkulose, fikk han bred anerkjennelse over hele verden. Han oppdaget senere årsaken til flere andre infeksjonssykdommer, og reformulerte de kriterier (Henle – Kochs postulater) som må være oppfylt for å bevise årsaken til en mikrobiell sykdom.

**MILLERS LIV TIL HAN BLE TANNLEGE OG ORAL MIKROBIOLOG** • Willoughby Dayton Miller (1853–1907) var bondesønn født i Alexandria, Ohio, USA. Han studerte matematikk og fysikk ved Universitetet i Michigan, Ann Arbor fra 1871 til 1875 og bestemte seg for å studere videre i Europa. Mens han

studerte i Edinburgh i Skottland gikk banken hans konkurs, og han mistet nesten alle pengene sine. Miller reiste så til Berlin hvor han fortsatte sine studier, men han trengte også å tjene penger på grunn av den bekymringsfulle økonomiske situasjonen han hadde havnet i. Det var vanskelig for Miller å skaffe seg arbeid, men han var heldig og ble kjent med den amerikanske tannlegen Frank Abbot. Dr. Abbot hjalp Miller med å få jobb som oversetter, samtidig som han ba Miller om å undervise hans kone og datter. Hvor mye naturvitenskap konen og datteren lærte vet man ikke, men han forlovet seg med datteren Caroline Abbot. Miller fattet også interesse for sin kommende svigerfars yrke, og med økonomisk støtte fra denne, dro han tilbake til USA for å studere odontologi. Våren 1879 fullførte Miller tannlegeutdanningen ved Philadelphia Dental College. Deretter dro han tilbake til Berlin og giftet seg med Caroline samme året. Her arbeidet han som assistent i svigerfarens praksis samtidig som han fortsatte å studere naturfag, medisin og spesielt mikrobiologi. Miller ble således den første tannlegen med grundig skoloring innen naturvitenskapelige fag.

**MILLER OG DEN KJEMOPARASITTÆRE KARIESTEORIEN** • Flere av de mest berømte bakteriologene i slutten av det 19. århundret var elever av Koch, og Miller ble en av dem. Han fikk et lite laboratorium i nærheten av Kochs institutt ved Universitetet i Berlin. Her brukte han sine kunnskaper innen naturfag og som tannlege, og kombinerte et mangfold av datidens teknikker og mikrobielle dyrkingsmetoder til sine utallige eksperimenter. Av Koch lærte han å isolere, farge og identifisere mikroorganismer.

Miller førte sammen synene fra de kjemiske og parasittære kariesteoriene til den kjemoparasittære kariesteorien. Han beviste eksperimentelt at levende orale mikroorganismer omdanner karbohydrater fra maten til organiske syrer, som løser opp emalje, dentin og sement. Han viste at tre faktorer var

nødvendige for kariesutvikling – orale mikroorganismer, karbohydrater som mikroorganismene fermenterer og organiske syrer som et resultat av fermenteringen. Han påviste videre to viktige funksjoner til orale mikroorganismer – syreproduksjon og proteolyse, som Miller kalte «peptonizing action».

I motsetning til sin læremester Koch, som mente at enhver spesifikk sykdom kunne tilskrives en bestemt mikrobe, hevdet Miller at det ikke bare var én mikroorganisme som var ansvarlig for kariesutvikling. Han trodde at enhver syreproduserende mikroorganisme eller grupper av syreproduserende mikroorganismer kunne være ansvarlige for sykdommen. Feilaktig mente han imidlertid at det var frie syrer i munnen som førte til karies.

I tillegg til de syreproduserende bakteriene og soppene fant Miller mikroorganismer i saliva og i dentinlesjoner som produserte en alkalisk reaksjon, og som hovedsakelig virket på «albuminous» materiale (proteiner). Han forklarte ødeleggelsen av det organiske materialet i dentin som ble liggende igjen etter dekalsifisering, som proteolyse. Han fant at forskjellige typer mikroorganismer (korte og lange staver, kokker og filamenter) invaderte kariøst dentin, men at han ikke kunne trekke slutninger om disse mikroorganismenes funksjoner ut fra deres morfologi. Med datidens metode (litmuspapir) kunne ikke Miller skille mellom ulike organiske syrer. Han påviste alltid melkesyre i dype dentinlesjoner.

Feilaktig hevdet Miller at stivelse var mer kariøgent enn sukrose. Han mente også at såkalt «bakerkaries» som ble observert, skyldtes inhalasjon av støv fra mel. Dette begrunnet Miller med at stivelse var mer klebrig enn sukrose, og at sukrose var lett løselig. Retrospektivt kan dette funnet forklares ut fra Millers testsystem. Han inkuberte i laboratoriet forskjellige typer matvarer, ulike karbohydrater eller sukkerarter sammen med saliva, som inneholder en blandet oral mikrobiota. Han identifiserte melkesyre som produkt i karbohydrat-saliva blandingene. I hans eksperimen-



telle system uten diffusjonsbarrierer ble det dannet større mengder melkesyre fra stivelse enn fra sukrose. Et riktig funn var imidlertid at jo mer bearbeidet stivelsen var, jo mer kariogen var den.

Mellom 1881 og 1907 publiserte Miller 164 artikler i tyske, amerikanske og engelske tidsskrifter. Av de få bøkene han skrev er den mest kjente «Die Mikroorganismen der Mundhöhle» som ble utgitt på tysk i 1889. Året etter kom en redigert og utvidet amerikansk versjon av boken som i dag er best kjent internasjonalt og mest sitert, med tittelen «The micro-organisms of the human mouth» og med undertittelen «The local and general diseases which are caused by them». Mest berømt er boken på grunn av Millers beskrivelser av kariesetiologi. Miller oppsummerte selv sin teori som: «Dental decay is a chemico-parasitical process consisting of two distinctly marked stages: decalcification, or softening of the tissue, and dissolution of the softened residue. In the case of enamel, however, the second stage is practically wanting, the decalcification of the enamel practically signifying its total destruction.»

Miller var også en fremragende histopatolog. Han beskrev både de mikrobiologiske og fysikalsk-kjemiske forandringene i de harde tannvevene under kariesutvikling og resultatene av sine histologiske undersøkelser av kariøst dentin og infeksjoner i pulpa. Dette gjorde ham til en foregangsmann i moderne odontologisk forskning.

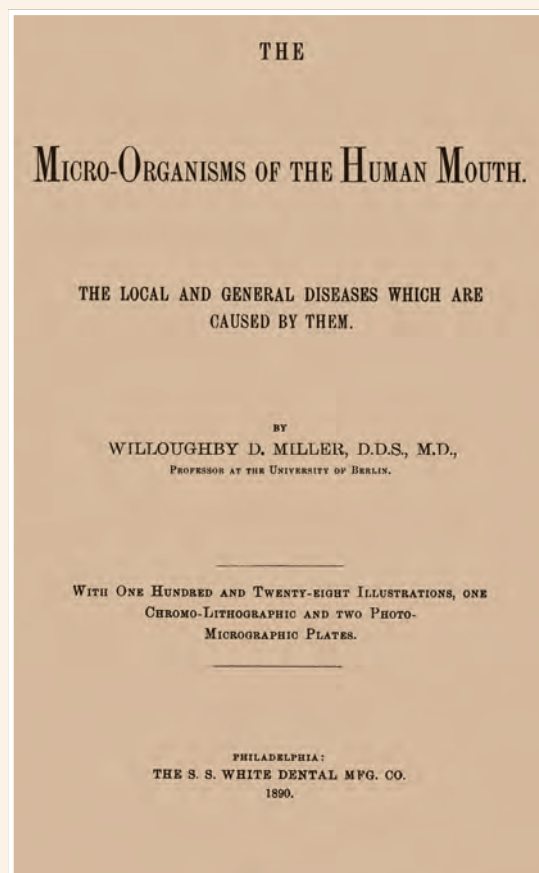
#### INNVENDINGER MOT MILLERS

**KARIESTEORI** • To av Millers samtidige landsmenn og kolleger, Greene Vardiman Black (1836–1915) og James Leon Williams (1852–1932), var blant flere som hadde innvendinger mot Millers syn på at frie syrer i munnen produsert i sa-

liva eller av frittflytende mikroorganismer var ansvarlige for kariesutvikling. De hevdet at syrene som forårsaket karies ble dannet lokalt på tannoverflater. De beskrev det gelatinøse tannbelegget, dentalt plakk, som de mente lokaliserte mikroorganismer og deres metabolske produkter på glattflatene, og dermed hindret syrer i å bli nøytralisert, vasket bort eller svelget. Dette kunne forklare hvorfor lokaliserte kaviteter også ble dannet på glattflater og ikke bare på retensjonssteder som i fissurer og approssimalt. Uttrykk som «gelatinous substance», «glutinous-like mass of fungi» og «zooglea formation» (zooglea = mikroorganismer som er limt sammen av en geléliknende masse) ble brukt.

Black strevde med å definere egenkapene til et kariogent plakk uten å vite dets kjemiske sammensetning. I 1906 skrev Black: «I do not mean accumulations of micro-organisms loosely held together on the surface of the tooth, inspissated mucus on the teeth, greasy accumulations on teeth, or any of these things; I mean a substance that is gelatinoid or gelatin-like, but not gelatin. Not soluble or meltable as gelatin, but which has the appearance of the latter. This material is formed by the same micro-organisms which produce the acids that cause caries». Dentalt plakks mest fremtredende karaktertrekk ble beskrevet som muligheten for å danne organiske syrer fra spaltbare karbohydrater og evnen til å syntetisere ekstracellulær materie. Allerede på denne tiden ble det foreslått at den geléliknende massen var ekstracellulære polysakkarider produsert av mikroorganismer i plakk.

I dag kan det synes underlig at Miller ikke lyttet til de velbegrunnede teoriene til blant andre G.V. Black og J.L. Williams fordi han hadde rett i så mange av



Figur 4. Forsiden på Millers berømte bok fra 1890.

sine fortolkninger. Forklaringen var kanskje at Miller hadde mindre klinisk erfaring enn Black og Williams. Black er kjent som grunnleggeren av en standardisert konserverende tannpleie og for uttrykket «extension for prevention», mens Williams var en forgrunnsfigur innen dental protetikk.

#### KARIESPROFYLAKSE SOM EN FØLGE AV DEN NYE KARIESTEORIEN •

Den nye kariesteorien ga støtet til kariesprofylakse. Miller beskrev kariesproflyktiske tiltak både med hensyn til mekanisk tannrengjøring, kosttiltak og bruk av antimikrobielle midler som en foregangsmann i moderne profylakse. Han påpekte for eksempel munnskylle-

væskers begrensede effekter mot orale mikroorganismer og mulige skadelige virkninger på oral mukosa. Han understreket betydningen av mekanisk tannrengjøring før bruk av et antimikrobielt middel. Det er videre interessant at Miller for over 120 år siden blant mange antimikrobielle midler også testet munnskyllevæsken Listerine®.

Millers teori førte til et skifte i tannpastaindustrien. Utover den første halvdel av det 20. århundret ble det produsert alkaliske tannpleiemidler i et forsøk på å nøytralisere syredannelse i plakk. Urea var blant de første aktive tilsetningsstoffer som ble tilført tannpasta sammen med ammoniumfosfat, men det viste seg at disse stoffene var virkningsløse til å forebygge syreproduksjon i plakk, plakkdannelse eller kariesutvikling.

#### NOEN MILEPÆLER I KARIES MIKROBIOLOGI ETTER MILLER •

Mellom 1907 og 1964 var det ingen store fremskritt som belyste den mikrobielle årsaken til karies, bortsett fra at laktobaciller i en periode ble ansett for å være hovedårsaken til sykdommen på grunn av deres syreproduserende og syretolerante egenskaper, og fordi de regelmessig ble isolert fra dentinkaries. Bakgrunnen for dette var at mange av Millers samtidige og etterkommere ikke godtok hans syn på at flere orale mikroorganismer kunne forårsake karies. Man lette derfor etter én ansvarlig «spesifikk» type kariesbakterie tilsvarende Kochs funn om sykdommers monoinfeksiose natur.

Betydningen av dentalt plakk og sukrose ble fort glemt etter Blacks og andres arbeid. Ikke før rundt 1960 gjenopptok flere anerkjente orale mikrobiologer i Europa og USA dette arbeidet og viste betydningen av dentalt plakk og ekstracellulære polysakkarider for kariesutvikling, og spesielt av sukrose og orale streptokokker for initial emaljekarier. Dette la grunnlaget for en «spesifikk plakkhypotese», hvor emaljekaries av mange ble ansett for å være en monoinfeksjon forårsaket av mutans streptokokker. Streptococcus mutans ble påvist av den britiske tannlegen Clarke allerede i 1924.

Dentalt plakk, som i dag synonymt kalles dentale biofilmer, fikk igjen en fornelse 30 år senere da «den økologiske plakkhypotesen» ble lansert i 1994. Denne vektlegger betydningen av mikroorganismenes vekstbetingelser, som i siste instans synes å være avgjørende for interaksjoner med verten, og som resulterer i helse eller sykdom. Den økologiske plakkhypotesen er den som undervises i dag, og som faktisk er i tråd med det «multiple» mikrobielle synet på kariesetiologi som Miller hevdet allerede i 1889.

#### Takk

Takk til «Sindecuse Museum of Dentistry, School of Dentistry, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA» som velvillig ga tillatelse til å trykke portrettet av Miller og forsiden på en av hans notisbøker. Takk til Dr. med. Felix Blankenstein ved Charité Universitätsmedizin Berlin, Tyskland som velvillig ga tillatelse til å trykke bildet av Miller i sitt laboratorium. Takk til Håkon Størmer ved Det odontologiske fakultet, Universitetet i Oslo for redigering av illustrasjonene.

#### Referanser

1. Black GV. Dental society of the state of New York. Dent Cosmos 1906; 48: 1037–8. In: Dental society of the state of New York. 38<sup>th</sup> Annual Meeting. Dent Cosmos 1906; 48: 1023–42.
2. Burnett GW, Scherp HW. Oral microbiology and infectious disease. A textbook for students and practitioners of dentistry. Baltimore: The Williams & Wilkins Company; 1957.
3. Gibbons RJ. Bacteriology of dental caries. J Dent Res 1964; 43: 1021–8.
4. Giertsen E. Plakkhemmende stoffer – er de effektive? Nor Tannlegeforen Tid 1996; 106: 484–90.
5. Guggenheim B. Extracellular polysaccharides and microbial plaque. Int Dent J 1970; 20: 657–78.
6. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. Adv Dent Res 1994; 8: 263–71.
7. Miller WD. The micro-organisms of the human mouth. The local and general diseases which are caused by them. Unaltered reprint of the original work by Willoughby D. Miller (1853–1907) published in 1890 in Philadelphia. With an introductory essay by Klaus G. König (Nijmegen). Basel: Karger; 1973.