

کازئین فسفو پپتید- آمورفوس کلسیم فسفات و نقش آن در سلامت دهان و دندان

دکتر مریم غفورنیا*، دکتر مریم حاج نوروز علی تهرانی¹

چکیده

کازئین فسفو پپتید -آمورفوس کلسیم فسفات Casein Phosphopeptides یا (CPP-ACP) ماده‌ای زیست فعال با پایه محصولات شیر است که از دو بخش ACP و CPP تشکیل شده است. CPP از پروتئین کازئین شیر تهیه شده، توانایی قابل توجهی جهت تثبیت کلسیم و فسفات در محلول و در نتیجه افزایش سطح کلسیم فسفات در پلاک دندانی را دارد. این ماده با مکانیسم باف کردن توسط فعالیت یون کلسیم و فسفات به حفظ وضعیت فوق اشباع مواد معدنی در مینا کمک کرده، میزان دمنرالیزاسیون آنرا کاهش ورمینرالیزاسیون را بهبود می‌بخشد. به این صورت که کلسیم و فسفات از طریق CPP حرکت کرده، وارد منشورهای مینایی می‌شوند و کریستال‌های آپاتیت را دوباره شکل می‌دهند.

مطالعات آزمایشگاهی حیوانی و انسانی نشان داده‌اند که CPP-ACP دارای خاصیت درمانی در پوسیدگی‌های دندانی، ضایعات لکه سفید، مینای هیپومینرالیزه، فلوروزیس‌های خفیف، حساسیت دندان، اروژن و پیشگیری از تجمع پلاک اطراف براکت‌ها و دیگر اپالینس‌های ارتودنسی می‌باشد. این ماده بلوغ طبیعی پس از رویش دندان را تسهیل می‌کند و از آن جایی که مشتقی از شیر است جهت حفاظت دندان‌های شیری در زمانی که انجام مراقبت‌های دندانی مشکل است، مطلوب می‌باشد. نوع فاقد فلوراید این محصول به خصوص برای کودکان زیر 2 سال مفید است. با توجه به این که در این کودکان استفاده از محصولات حاوی مقادیر متوسط یا بالای فلوراید به علت سمیت آن‌ها غیر مجاز است، هر مقدار بلع این ماده ایمن می‌باشد. CPP-ACP را می‌توان به عنوان ماده افزودنی به غذاها، نوشیدنی‌ها، آدامس، خمیر دندان و دهان‌شویه‌ها جهت کنترل پوسیدگی اضافه کرد.

این مطالعه، بر مکانیسم عمل و خواص درمانی CPP-ACP مروری دارد.

کلید واژه‌ها: CPP-ACP، سلامت دندان، پوسیدگی دندانی.

* دستیار دندان پزشکی کودکان، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان (مؤلف مسئول)
maryam_ghafournia@yahoo.com

1: استادیار دندان پزشکی کودکان و مرکز تحقیقات دکتر ترابی‌نژاد، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

این مقاله در تاریخ 87/7/6 به دفتر مجله رسیده. در تاریخ 87/8/20 اصلاح شده و در تاریخ 87/9/5 تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان پزشکی اصفهان
1387، 4(4): 211 تا 218

معرفی

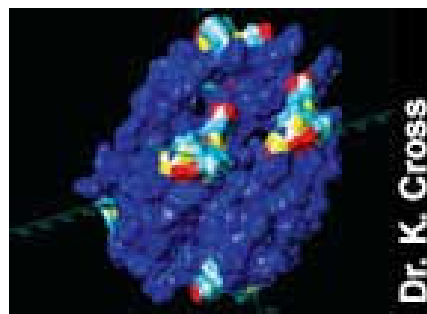
در محیط دهانی ساختار دندان تحت شرایط دمنیرالیزاسیون و رمنیرالیزاسیون قرار می‌گیرد. اگر این تعادل به هم بخورد، دمنیرالیزاسیون پیشرفت کرده، منجر به تخریب ساختار دندان می‌شود [1].

محصولات لبنی مثل شیر و پنیر جهت پیشگیری از پوسیدگی‌های دندانی شناخته شده‌اند. تحقیقات نشان داده است که جزء پروتئینی کازئین مسؤوّل این اثر است [2].

محصول تجاری GC Tooth Mousse (GC Co. Japan) مخلوطی نرم، مرطوب، بدون قند با پایه آب و به شکل کرم موضعی (شکل 1) [3، 4]، (GC Tooth Mousse) با پایه یک نانو کمپلکس از پروتئین شیر، کازئین فسفو پپتید آمورفوس کلسیم فسفات (تکنولوژی Recaldent)، در دسترس است (شکل 2) [3، 5، 6]. CPP-ACP از دو بخش ACP و CPP تشکیل شده است [7].



شکل 1. کرم موضعی GC Tooth Mousse



شکل 2. مدل مولکولی کمپلکس CPP-ACP

کازئین فسفو پپتید شامل توالی -ser(p)-ser(p)-ser(p)-glu-glu می‌باشد [8].

CPP-ACP اولین بار در استرالیا در دانشگاه ملبورن توسعه

پیدا کرد. پروفسور Eric Reynolds تحقیقات گسترده‌ای برای تولید کمپلکس CPP-ACP در لابراتوار با استفاده از کازئین شیر انجام داد. دانشگاه ملبورن حق انحصاری ثبت CPP-ACP را در بسیاری از کشورها دارد. این ماده پس از معرفی در اواخر سال 2002 به سرعت تبدیل به ماده‌ای با موارد استفاده بسیار زیاد به عنوان پوشش موضعی دندان توسط دندان‌پزشکان گردید [9، 10].

محصول تجاری GC Tooth Mousse شامل ترکیب شیمیایی آب خالص، گلیسرول، CPP-ACP، D-sorbitol، SiO₂، H₂O، Propylene glycol، CMC-Na، Xylitol، MgO₂، Guar gum، Sodium saccharin، ZnO₂، Bytyl p-Propyl p-hydroxy benzoate، H₃PO₄، Ethyl p-hydroxy benzoate و hydroxy benzoate می‌باشد [7].

سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA)، CPP-ACP را ماده‌ای ایمن معرفی کرده است. بلع آن ایمن و تمام گروه‌های سنی می‌توانند از آن استفاده کنند. از آن جا که این ماده حاوی لاکتوز نمی‌باشد، بیماران که مبتلا به عدم تحمل لاکتوز هستند، می‌توانند آن را استفاده کنند. CPP-ACP در بیماران که به پروتئین‌های شیر، بنزوات یا ترکیبات دیگر این ماده حساسیت دارند، نباید استفاده شود [7].

مکانیسم عمل

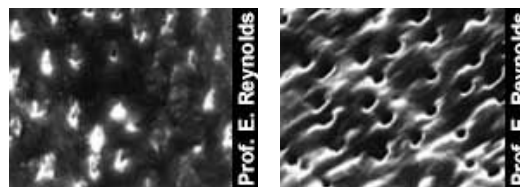
پتانسیل رمنیرالیزاسیون CPP-ACP در مطالعات حیوانی [11، 12]، [13-16] in vitro و [17-20] in vivo نشان داده شده است.

GC Tooth Mousse به بافت نرم، پلاک، پلیکل و هیدروکسی آپاتیت متصل می‌شود و کلسیم و فسفات آمورف را به بزاق و مایع پلاک منتقل می‌کند [7]. PP از طریق فسفو سرین‌های موجود در ترکیب خود به کلسیم فسفات باند می‌شود و اجازه تشکیل خوشه‌های کوچکی از کلسیم فسفات آمورف (ACP) را می‌دهد، بدون آن که به اندازه بحرانی مورد نیاز برای رشد کریستالی و در نتیجه رسوب کلسیم فسفات برسد و به این

مدارکی وجود دارد که CPP-ACP می‌تواند از چسبندگی

صورت کلسیم فسفاتی که به طور طبیعی غیر محلول قوی است، در حضور این پپتید (CPP) به صورت محلول در دسترس قرار می‌گیرد [21-24].

مکانیسم ضد پوسیدگی CPP-ACP، لوکالیزه کردن ACP در سطح دندان است که فعالیت یون‌های آزاد کلسیم و فسفات را خنثی می‌کند [26، 25، 10، 3]. کازئین فسفوپپتید نه تنها کلسیم فسفات آمورف را تثبیت می‌کند بلکه به ماکرو مولکول‌های بیوفیلم سطح دندان نیز باند می‌شود و به عنوان یک منبع ذخیره یون‌های کلسیم فسفات عمل می‌کند [28، 27، 21-24]. کلسیم فسفات آمورف از لحاظ بیولوژیک فعال است و توانایی آزاد کردن یون‌های کلسیم فسفات به منظور حفظ سطح فوق اشباع را دارد؛ بنابراین پروسه دیمینرالیزاسیون را کاهش و ریمینرالیزاسیون را افزایش می‌دهد (شکل 3) [29-34، 2، 9، 23].



شکل 3. عاج دیمینرالیزه پس از کاربرد CPP-Acp

یون‌های کلسیم فسفات از فاز مایع به آسانی از طریق ضایعه متخلخل انتشار می‌یابند و در کریستال‌های مینایی، به نسبت معدنی‌زدایی شده رسوب می‌کنند و کریستال‌های آپاتیت را دوباره شکل می‌دهند [9].

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که غلظت بالاتر CPP-ACP منجر به ریمینرالیزاسیون بیشتر می‌شود [35، 18، 11، 10].

CPP-ACP به پلاک باند می‌شود و به طور قابل توجهی کلسیم را در پلاک افزایش می‌دهد [36]؛ منبع ذخیره بزرگی برای کلسیم در پلاک می‌شود و اجازه ریمینرالیزاسیون سریع‌تر سوبسترای مینا را می‌دهد [14، 3]. مدارکی وجود دارد که غلظت بالای کلسیم آزاد خارج سلولی می‌تواند اثر باکتریسیدال یا باکتریواستاتیک داشته باشد [36، 37]. امکان دارد CPP-ACP با حفظ غلظت بالای کلسیم آزاد، اثر ضد پلاک تشدید شده‌ای داشته باشد [36].

مواد معدنی تشکیل شود که شروع به مسدود کردن توبول‌ها می‌کند[7].

کاربرد CPP-ACP بر سطوح عاجی توانایی پیش‌گیری از دمینرالیزاسیون عاجی را دارد؛ بنابراین کاربرد آن برای پیشگیری از پوسیدگی ریشه دندان پیشنهاد می‌شود[9].

همچنین در مطالعه‌ای در بیماران مبتلا به خشکی شدید دهان، نتایج مثبتی در رابطه با کارژین فسفوپیتید آمورفوس کلسیم فسفات در دهان‌شویه جهت پیشگیری از پوسیدگی[41] و مرطوب نگه داشتن دهان[42] نشان داده است[10].

کاربرد بالینی CPP-ACP به عنوان ماده‌ای برای درمان هیپومینرالیزاسیون مورد بررسی قرار گرفته است[43] که می‌تواند ظاهر ضایعات لکه سفید را بهبود بخشد. همچنین می‌تواند مناطق هیپومینرالیزه و دیگر نواقص مانند دکلسیفیکاسیون ارتودنتیک، فلوروزیس سطحی و کم عمق را بازسازی نماید[7].

استفاده از این ماده به طور معمول طی دوره کامل درمان ارتودنسی توصیه می‌شود؛ چرا که می‌تواند از تجمع پلاک اطراف براکت‌ها، آرچ وایر و اپالینس‌های دیگر جلوگیری کند و به بزاق در بافر کردن اسید تولید شده توسط پلاک کمک نماید[7].

روش کاربرد

بیماران می‌توانند این نوع از خمیر بهداشتی دهان را به دو روش استفاده نمایند: با تری و بدون تری (swab، مسواک یا انگشت) (شکل 4)[44، 1]. استفاده 2 بار در روز به مدت 10 دقیقه با خمیر CPP-ACP رقیق شده باعث افزایش رمینرالیزاسیون مینا می‌شود[1]. ابتدا خمیر روی سطح دندان قرار داده می‌شود و 10-15 دقیقه دست نخورده باقی می‌ماند؛ اگر بیمار دندان را با آن مسواک کند، زمان تماس با مینا ممکن است کاهش یابد[4]. حداقل زمان استفاده 3 دقیقه است ولی هر چقدر مدت طولانی‌تری روی دندان باقی بماند، نتایج بهتری می‌دهد. بیمار می‌تواند از زبان جهت قرارگیری خمیر روی تمامی سطوح دندان‌ها کمک بگیرد. بهتر است خمیر شسته نشود و در محل باقی بماند تا به طور آهسته در طی شب حل شود؛ ضمن این که تا نیم ساعت پس از مصرف، بیمار باید از خوردن و آشامیدن پرهیز کند[7].

استرپتوکوک‌های پوسیدگی‌زا (چسبندگی استرپتوکوک موتانس و استرپتوکوک سابرینوس) به سطح دندان از طریق شرکت در پلیکل برای مبادله آلبومین ممانعت به عمل آورد[36، 38، 10، 6]؛ همچنین این ماده باعث تأخیر در بلوغ بیوفیلم می‌شود[5]. خاصیت بافرینگ CPP-ACP توجهی برای اثر پیشگیری‌کننده از دمینرالیزاسیون آن دارد. گزارش شده است که کارژین توانایی بافر کردن اسید پلاک، چه مستقیم و چه غیر مستقیم، از طریق کاتابولیسیم باکتری‌ها را دارد. به نظر می‌رسد که این ماده اسید آمینه‌های بازی را که توانایی جذب یون‌های پروتون را دارند، آزاد می‌کند[25].

اثرات درمانی

مطالعات آزمایشگاهی حیوانی و انسانی نشان داده‌اند که کارژین فسفو پیتید آمورفوس کلسیم فسفات فواید مهمی در پروتوکول درمانی دارد[7].

این ماده دارای خاصیت درمانی در پوسیدگی‌های دندان، ضایعات لکه سفید، مینای هیپومینرالیزه، فلوروزیس‌های خفیف، حساسیت دندان، اروژن و پیشگیری از تجمع پلاک اطراف براکت‌ها و دیگر اپالینس‌های ارتودنسی دارد. در سال‌های اخیر مطالعات آزمایشگاهی حیوانی و انسانی insitu نشان داد که CPP-ACP خواص ضد پوسیدگی نیز دارد[10].

مدارک اخیر نشان می‌دهد که یک بار کاربرد Tooth Mousse می‌تواند اروژن مینا در مقابل اسید سیتریک و همچنین خاصیت اروژیو نوشیدنی‌های اسیدی را با بالا بردن سطح کلسیم در بزاق و پلاک دندان و کاهش pH بحرانی لازم برای انحلال مواد معدنی مینا کاهش دهد[40، 39، 29، 25، 7، 6، 3]، رمینرالیزاسیون مینا به دنبال اروژن توسط نوشیدنی‌های با پایه کولا را تحریک کرده، عاج را در مقابل اروژن اسیدی که سایش را القاء می‌کند، محافظت می‌نماید[4].

به علاوه، CPP-ACP منجر به کاهش سایش دندان از نوع اتریشن در هر دو محیط اسیدی و نزدیک به خنثی می‌شود[6]. همچنین نقشی در کنترل افزایش حساسیت عاج سرویکالی دارد[4] و حساسیت را از طریق رمینرالیزاسیون کاهش می‌دهد[1]. وقتی در سطح عاج اکسپوز به کار می‌رود باعث می‌شود اجزای پروتئینی با قوت باند شوند[9] و در ادامه سدی از



شکل 4. راه‌های استفاده از خمیر بهداشتی دهان

CPP-ACP در ترکیب با مواد مختلف

CPP-ACP ماده‌ای ایمن برای کاربرد در محصولات مراقبت دهانی، محصولات حرفه‌ای دندان پزشکی، مواد درمانی و مواد غذایی می‌باشد [43]. CPP-ACP را می‌توان به عنوان ماده افزودنی به غذاها، نوشیدنی‌ها، آدامس، قرص، خمیردندان و دهان‌شویه‌ها جهت کنترل پوسیدگی اضافه کرد [1]. این ماده با کمک به پیش‌گیری از بیماری‌های دندانی، به میزان قابل توجهی در ارتقاء و حفظ سلامت دهان شرکت می‌کند [1، 44]. زمانی که در آدامس‌های بدون قند قرار می‌گیرد می‌تواند مستقل از تعداد دفعات مصرف و مدت زمان جویدن، به بیشترین میزان ضایعات زیر سطحی مینا را رمینرالیزه کند [19، 45، 18، 10]. میزان مواد معدنی را بعد از قرار گرفتن در معرض اسید افزایش دهد [10]، به طور قابل توجهی پیشرفت پوسیدگی‌های پروگزیمالی را کاهش و مهار آن‌ها را افزایش دهد [46] و همچنین غلظت کلسیم و فسفات بزاق و پلاک را بالا ببرد [47-49].

مطالعات دیگر نشان داده‌اند که CPP-ACP در دهان‌شویه به طور قابل توجهی سطح یون‌های کلسیم و فسفات را در پلاک بالای لثه‌ای از طریق باند شدن CPP به پلیکل بزاقی و سطح باکتری در بیوفیلم پلاک افزایش می‌دهد [51، 50، 17، 1].

CPP-ACP در مواد غذایی بدون داشتن اثر سوء بر طعم غذا به کار می‌رود؛ به همین علت اولین کاندیدا برای درمان رمینرالیزاسیون است [52] و امکان دارد که این محصول در آینده به یک ماده ضد پوسیدگی مهم تبدیل شود [53، 14].

مقایسه با فلوراید

هر کدام از پتانسیل‌های عملکردی CPP-ACP (مه‌ار دمنیرالیزاسیون، افزایش رمینرالیزاسیون، کاهش چسبندگی و اثر باکتریوستاتیک/باکتریوسیدال) آینه اثرات مشابه مفیدترین ماده ضد پوسیدگی یعنی فلوراید است [36، 14].

GC Tooth Mousse معمولی بدون فلوراید است، به ویژه برای کودکان زیر 2 سال مناسب است و بلع هر مقدار از این ماده ایمن می‌باشد؛ در صورتی که محصولات با میزان فلوراید طبیعی یا زیاد در این گروه سنی کمتر اندیکه است. ماده‌ای ایمن برای دندان‌های کودکان است، طعم خوبی دارد و به خوبی توسط کودکان تحمل می‌شود [7]. مدارکی وجود دارد که در حیوانات آزمایشگاهی بعد از هضم، CPP در مدفوع [28، 27] به علت مقاومت پروتولیتیک پپتیدها یافت می‌شود [56-54].

مطالعات نشان داده‌اند که CPP-ACP جهت خنثی کردن اسید نسبت به خمیر دندان‌های حاوی فلوراید کفایت بیشتری دارد [10]؛ همچنین در مقایسه با فلوراید به تنهایی، خاصیت رمینرالیزه کننده بیشتری دارد [6].

CPP-ACP هیچیک از اثرات ناخوشایند استفاده بیش از حد فلوراید (فلوروزیس در دوزهای متوسط و سمیت در دوزهای بالاتر) را نشان نمی‌دهد [36، 14].

مطالعات متعددی فواید مصرف ترکیبی CPP-ACP و فلوراید را ثابت کرده‌اند. در یک مطالعه *in vitro* وقتی خمیر حاوی CPP-ACP متعاقب خمیر دندان فلورایددار در یک چرخه اروزو به کار رفت، میزان از دست رفتن مینا کمتر از زمانی بود که فلوراید (250-500 ppm) و CPP-ACP به تنهایی به کار رفتند. آن‌ها همچنین نشان دادند که مقاومت مینای اکسپوز شده به CPP-ACP در برابر اسید، زمانی که فلوراید نیز اضافه شود، بیشتر می‌شود. این مطالعات پیشنهاد می‌کنند اگر CPP-ACP بعد از خمیر دندان فلورایددار استفاده شود، فواید فلوراید و CPP-ACP هر دو بهبود خواهد یافت؛ احتمال دارد این امر به علت توانایی CPP-ACP برای مداخله با یون‌های فلوراید در ایجاد

یک خاصیت ضد پوسیدگی مضاعف از طریق تشکیل فاز آمورفوس P-F-Ca تثبیت شده باشد [10]. همچنین فلوراید در جهت اصلاح ساختار کریستالین دندان، تشکیل فلوروآپاتیت و تسریع رمینرالیزاسیون عمل می‌کند [59-57، 15]. محصولی جداگانه به نام GC MI Paste Plus (Minimum intervention) تولید شده است که حاوی 900 ppm فلوراید می‌باشد [60].

نقش CPP-ACP در دندان‌های کودکان

CPP-ACP از شیر گاو مشتق شده است. ماده‌ای ایمن برای دندان‌های کودکان است و طعم مطبوعی برای آن‌ها دارد، لذا جهت حفاظت از دندان‌های شیری در زمانی که انجام مراقبت‌های دهانی مشکل است، ایده‌آل می‌باشد. سطح بالای کلسیم و فسفات در بزاق فرایند بلوغ پس از رویش دندان‌ها را تسهیل کرده، به طور روزانه مواد معدنی از دست رفته را جایگزین می‌کند.

بنابراین انتظار می‌رود که CPP-ACP در کودکان با ریسک بالای پوسیدگی که عادات رعایت بهداشت خوب دهان را ندارند، مؤثر باشد [10].

نتیجه‌گیری

تشخیص پوسیدگی‌ها در مراحل اولیه و جلوگیری از پیشرفت آن‌ها از وظایف مهم دندان‌پزشک کودکان می‌باشد. از آن جا که CPP-ACP نقش مؤثری در کاهش پوسیدگی و جلوگیری از ایجاد و پیشرفت اروژن (با توجه به افزایش مصرف غذاها و نوشیدنی‌های اسیدی در کودکان و نوجوانان) دارد؛ با توجه به ایمن بودن این ماده در صورت بلع توسط کودکان زیر 2 سال، انتظار می‌رود که دندان‌پزشکان از خواص این ماده آگاهی داشته، با کاربرد آن، به ویژه در کودکان با ریسک بالا و فاقد عادات رعایت بهداشت خوب دهان، ضایعات پوسیدگی را در مراحل اولیه متوقف نمایند و مانع از پیشرفت آن‌ها گردند

References

1. Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. J Dent 2006; 34(3): 230-6.

2. White JM, Eakle WS. Rational and treatment approach in minimally invasive dentistry. *J Am Dent Assoc* 2000; 131(1): 13-9.
3. Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Aust Dent J* 2008; 53(3): 268-73.
4. Sudjalim TR, Woods MG, Manton DJ, Reynolds EC. Prevention of demineralization around orthodontic brackets in vitro. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007; 131(6): 705-9.
5. Rahiotis C, Vougiouklakis G, Eliades G. Characterization of oral films formed in the presence of a CPP-ACP agent: an in situ study. *J Dent* 2008; 36(4): 272-80.
6. Piekarz C, Ranjitkar S, Hunt D, McIntyre J. An in vitro assessment of the role of Tooth Mousse in preventing wine erosion. *Aust Dent J* 2008; 53(1): 22-5.
7. Azarpazhooh A, Limeback H. Clinical efficacy of casein derivatives: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc* 2008; 139(7): 915-24.
8. Cai F, Manton DJ, Shen P, Walker GD, Cross KJ, Yuan Y, et al. Effect of addition of citric acid and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to a sugar-free chewing gum on enamel remineralization in situ. *Caries Res* 2007; 41(5): 377-83.
9. Rahiotis C, Vougiouklakis G. Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine in vitro. *J Dent* 2007; 35(8): 695-8.
10. Kumar VL, Itthagarun A, King NM. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Aust Dent J* 2008; 53(1): 34-40.
11. Andersson A, Skold-Larsson K, Hallgren A, Petersson LG, Twetman S. Effect of a dental cream containing amorphous cream phosphate complexes on white spot lesion regression assessed by laser fluorescence. *Oral Health Prev Dent* 2007; 5(3): 229-33.
12. Ardu S, Castioni NV, Benbachir N, Krejci I. Minimally invasive treatment of white spot enamel lesions. *Quintessence Int* 2007; 38(8): 633-6.
13. Schirmermeister JF, Seger RK, Altenburger MJ, Lussi A, Hellwig E. Effects of various forms of calcium added to chewing gum on initial enamel carious lesions in situ. *Caries Res* 2007; 41(2): 108-14.
14. Rose RK. Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. *Arch Oral Biol* 2000; 45(7): 569-75.
15. Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Walker GD, Morgan MV, et al. Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2008; 87(4): 344-8.
16. Ramalingam L, Messer LB, Reynolds EC. Adding casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to sports drinks to eliminate in vitro erosion. *Pediatr Dent* 2005; 27(1): 61-7.
17. Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD. Retention in Plaque and Remineralization of Enamel Lesions by Various Forms of Calcium in a Mouthrinse or Sugar-free Chewing Gum. *J Dent Res* 2003; 82(3): 206-11.
18. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of Enamel Subsurface Lesions by Sugar-free Chewing Gum Containing Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphat. *J Dent Res* 2001; 80(12): 2066-70.
19. Lijima Y, Cai F, Shen P. Acid resistance of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing CPP-ACP. *Caries Research* 2004; 38(6): 551-6.
20. Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Aust Dent J* 2003; 48(4): 240-3.
21. Holt C. Casein micelle substructure and calcium phosphates interactions studied by sephacryl column chromatography. *J Dairy Sci* 1998; 81(11): 2994-3003.
22. Holt C, Wahlgren NM, Drakenberg T. Ability of a beta-casein phosphopeptide to modulate the precipitation of calcium phosphate by forming amorphous dicalcium phosphate nanoclusters. *Biochem J* 1996; 314 (Pt 3): 1035-9.
23. Reynolds EC. US Patent 5015628- Anticariogenic phosphopeptides [on line]. The University of Melbourne Victorian Dairy Industry Authority; [cited 1991 May 14]. Available from URL: <http://www.patentstorm.us/patents/5015628/description.html>.
24. Reynolds EC, Riley PF, Adamson NJ. A selective precipitation purification procedure for multiple phosphoserine-containing peptides and methods for their identification. *Anal Biochem* 1994; 217(2): 277-84.
25. Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Kurokawa H. Ultrasonic determination of the effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate paste on the demineralization of bovine dentin. *Caries Res* 2007; 41(3): 204-7.
26. Rahiotis C. In vitro and in situ evaluation of action mechanism of a remineralizing agent (CPP-ACP) on hard dental tissues [PhD Thesis]. Athens: University of Athens; 2006.

27. Reynolds EC. US Patent 6780844- Calcium phosphopeptide complexes [on line]. The University of Melbourne; [cited 2004 August 24]. Available from URL: <http://www.patentstorm.us/patents/6780844.html>.
28. Cross KJ, Huq NL, Bicknell W, Reynolds EC. Cation-dependent structural features of beta-casein-(1-25). *Biochem J* 2001; 356(Pt 1): 277-86.
29. Tantbirojn D, Huang A, Ericson MD, Poolthong S. Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste. *J Dent* 2008; 36(1): 74-9.
30. Reynolds EC. Anticariogenic complex of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides; a review. *Spec Care Dentist* 1998; 18(1): 8-16.
31. Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by CPP-ACP solutions. *J Dent Res* 1997; 76(9): 1587-95.
32. Oshiro M, Yamaguchi K, Takamizawa T, Inage H, Watanabe T, Irokawa A, et al. Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. *J Oral Sci* 2007; 49(2): 115-20.
33. Gagnaire V, Pierre A, Molle D, Leonil J. Phosphopeptides interacting with colloidal calcium phosphate isolated by tryptic hydrolysis of bovine casein micelles. *J Dairy Res* 1996; 63(3): 405-22.
34. Reynolds EC, Walsh LJ. Additional aids to remineralization of tooth structure .In: Mount GJ, Hume WR, Editors. Preservation and restoration of tooth structure. Queensland: Knowledge Books and software; 2005 .p. 111-8.
35. Walker G, Cai F, Shen P, Reynolds C, Ward B, Fone C, et al. Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dairy Res* 2006; 73(1): 74-8.
36. Rose RK. Binding characteristics of Streptococcus mutans for calcium and casein phosphopeptide. *Caries Res* 2000; 34(5): 427-31.
37. Kobayashi H, Van Brunt J, Harold FM. ATP-linked calcium transport in cells and membrane vesicles of Streptococcus faecalis. *J Biol Chem* 1978; 253(7): 2085-92.
38. Schupbach P, Neeser JR, Golliard M, Rouvet M, Guggenheim B. Incorporation of caseinoglycomacropptide and caseinophosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci. *J Dent Res* 1996; 75(10): 1779-88.
39. Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH, et al. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995; 74(6): 1272-9.
40. Reynolds EC, Black CL, Cai F, Cross KJ, Eakins D, Huq NL, et al. Advances in enamel remineralization: casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Clin Dent* 1999; 10(2): 86-8.
41. Hay KD, Thomson WM. A clinical trial of the anticaries efficacy of casein derivatives complexed with calcium phosphate in patients with salivary gland dysfunction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93(3): 271-5.
42. Hay KD, Morton RP. The efficacy of casein phosphoprotein-calcium phosphate complex (DC-CP) [Dentacal] as a mouth moisturizer in patients with severe xerostomia. *N Z Dent J* 2003; 99(2): 46-8.
43. Cross KJ, Huq NL, Reynolds EC. Casein phosphopeptides in oral health--chemistry and clinical applications. *Curr Pharm Des* 2007; 13(8): 793-800.
44. Schafer F, Nicholson JA, Gerritsen N, Wright RL, Gillam DG, Hall C. The effect of oral care feed-back devices on plaque removal and attitudes towards oral care. *Int Dent J* 2003; 53(6 Suppl 1): 404-8.
45. Manton DJ, Walker GD, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by the use of three commercially available sugar-free gums. *Int J Paediatr Dent* 2008; 18(4): 284-90.
46. Morgan MV, Adams GG, Bailey DL, Tsao CE, Fischman SL, Reynolds EC. The anticariogenic effect of sugar-free gum containing CPP-ACP nanocomplexes on approximal caries determined using digital bitewing radiography. *Caries Res* 2008; 42(3): 171-84.
47. Finn SB, Jamison HC. The effect of a dicalcium phosphate chewing gum on caries incidence in children: 30-month results. *J Am Dent Assoc* 1967; 74(5): 987-95.
48. Richardson AS, Hole LW, McCombie F, Kolthammer J. Anticariogenic effect of dicalcium phosphate dihydrate chewing gum: results after two years. *J Can Dent Assoc (Tor)* 1972; 38(6): 213-8.
49. Itthagarun A, King NM, Yiu C, Dawes C. The effect of chewing gums containing calcium phosphates on the remineralization of artificial caries-like lesions in situ. *Caries Res* 2005; 39(3): 251-4.
50. Rose RK, Turner SJ. Fluoride-induced enhancement of diffusion in streptococcal model plaque biofilms. *Caries Res* 1998; 32(3): 227-32.
51. Rose RK, Dibdin GH. Calcium and water diffusion in single-species model bacterial plaques. *Arch Oral Biol* 1995; 40(5): 385-91.
52. Tung MS, Eichmiller FC. Dental application of amorphous calcium phosphates. *J Clin Dent* 1999; 10(1 Spec No): 1-6.

53. Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 1997; 76(9): 1587-95.
54. Rees J, Loyn T, Chadwick B. Pronamel and tooth mousse: an initial assessment of erosion prevention in vitro. *J Dent* 2007; 35(4): 355-7.
55. Sato R, Noguchi T, Naito H. Casein phosphopeptide (CPP) enhances calcium absorption from the ligated segment of rat small intestine. *J Nutr Sci Vitaminol* 1986; 32(1): 67-76.
56. Kasai T, Iwasaki R, Tanaka M, Kiriya S. Caseinphosphopeptides (CPP) in feces and contents in digestive tract of rats fed casein and CPP preparations. *Biosci Biotechnol Biochem* 1995; 59(1): 26-30.
57. Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilized solutions of Calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res* 2008; 42(2): 88-97.
58. Cross KJ, Huq NL, Stanton DP, Sum M, Reynolds EC. NMR studies of a novel calcium, phosphate and fluoride delivery vehicle –alpha-casein (59-79) by stabilized amorphous calcium fluoride phosphate nanocomplexes. *Biomaterials* 2004; 25(20): 5061-9.
59. Lennon AM, Pfeffer M, Buchalla W, Becker K, Lennon S, Attin T. Effect of a casein/calcium phosphate containing tooth cream and fluoride on enamel erosion in vitro. *Caries Res* 2006; 40(2): 154-7.
60. Pulido MT, Wefel JS, Hernandez MM, Denehy GE, Guzman-Armstrong S, Chalmers JM, et al. The inhibitory effect of MI paste, fluoride and a combination of both on the progression of artificial caries-like lesions in enamel. *Oper Dent* 2008; 3(5): 550-5.