

CPP-ACP'nin Remineralizasyon Potansiyelinin İncelenmesi

Assessment of Remineralization Potential of CPP-ACP

Fatma AYTAÇ,^a
Hande ERKLİ,^a
Ceren KOSER,^a
Engin ERSÖZ^a

^aRestoratif Diş Tedavisi AD,
Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi,
Ankara

Geliş Tarihi/Received: 19.11.2011
Kabul Tarihi/Accepted: 09.12.2011

Yazışma Adresi/Correspondence:
Hande ERKLİ
Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi,
Restoratif Diş Tedavisi AD, Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
herkli@hotmail.com

ÖZET Amaç: Günümüzde dental erozyonun görülme sıklığı giderek artmaktadır. Uzun vadeli dental sağlığın devam ettirilebilmesi için dental erozyonun önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Diyet asitleri, dental erozyonun en önemli dış kaynaklı etiyolojik faktörleridir. Dental erozyonu önlemek ve tedavi etmek için etkili ajanların araştırılması gerekmektedir. Sütteki kazeinden elde edilen fosfopeptidler tarafından stabilize edilen amorf formdaki kalsiyum fosfatlar (kazein fosfopeptid-amorf kalsiyum fosfat CPP-ACP) remineralizasyonda etkili olabilmektedirler. Bu çalışmanın amacı, asitli bir içeceğin (kola) minede meydana getirdiği erozyona karşı CPP-ACP'nin remineralizasyon potansiyelinin yapay tükürükle karşılaştırılmasıdır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada kullanılmak amacıyla çürüksüz üst santral dişler (n=20) artıklardan temizlendi, kökleri kesilerek uzaklaştırıldı ve labial yüzeyleri yukarı bakacak şekilde kronlar horizontal olarak akrilik bloklara gömüldü. Silikon karbid kâğıtlar (600, 800, 1200 grit) kullanılarak yüzeyler düzeltildi. Dişler rastgele iki gruba ayrıldı (n=10) ve başlangıç Vicker's sertlik değerleri ölçüldü. Birinci ve 2. gruptaki tüm örnekler erozyon süreci için, 15 mL kolada (pH=2,3) 10 dakika, daha sonra da 30 mL yapay tükürükte (pH=7,05) 60 dakika bekletildi. Bu işlem dört kez tekrarlandı ve sertlik değerleri ölçüldü. Birinci gruptaki örnekler CPP-ACP (Tooth Mousse, GC Corp., Tokyo, Japonya) 0., 8. ve 24. saatlerde 3 dakika uygulandı ve uygulamalar arasında yapay tükürükte bekletildi. İkinci gruptaki örnekler yapay tükürükte bekletildi. Uygulamayı takiben iki grup için de sertlik değerleri ölçüldü ve kaydedildi. Sonuçlar tek yönlü ANOVA, çift yönlü ANOVA ve post-hoc Bonferroni analizleri ile istatistiksel olarak değerlendirildi. **Bulgular:** Çalışmanın sonuçlarına göre, erozyon sürecinden sonra ölçülen ortalama sertlik değerleri ile başlangıç ortalama sertlik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır. Birinci ve 2. grupta erozyondan sonra sertlik değerleri düşmüştür (p<0,05). Remineralizasyon işleminden sonra sertlik değerlerinde her iki grupta da artış gözlenmiştir (p<0,05), ancak 1. grupta daha yüksek bulunmuştur (p<0,05). **Sonuç:** CPP-ACP, mine yüzeyinde kolanın oluşturduğu erozyona karşı etkili bir remineralizasyon meydana getirmektedir.

Anahtar Kelimeler: CPP-ACP; remineralizasyon; erozyon; yüzey sertliği

ABSTRACT Objective: The aim of this study was to compare of remineralization potential of CPP-ACP with artificial saliva against enamel erosion caused by acidic beverages. **Material and Methods:** In order to use in the experiment, noncarious maxiller centrals cleaned, and roots were removed (n=20). Then the teeth were embedded horizontally in acrylic blocks with labial surfaces facing up. Surfaces were flattened using silicone-carbid paper (600, 800, 1200 grid). The teeth were randomly divided into two groups (n=10) and baseline Vicker's hardness values were measured. For the erosion process, the samples were immersed in 15 mL cola (pH=2,3) for 10 min. and then 30 mL artificial saliva (pH=7,05) for 60 min. This process was repeated four times and hardness values were measured. CPP-ACP (Tooth Mousse, GC Corp., Tokyo, Japan) was applied to the samples in group 1 for 3 min. at 0, 8 and 24 h. and the samples stored in artificial saliva during hour intervals. The samples in group 2 stored in artificial saliva. Hardness values were measured for both groups. **Results:** According to the results of the study, there was statistically significant difference between the mean hardness values measured at baseline and after the erosion process. After erosion, the hardness values decreased for group 1 and 2. After remineralization hardness values were increased in both groups, but it was higher in group 1. **Conclusion:** CPP-ACP achieve an effective remineralization on preventing enamel erosion produced by cola.

Key Words: CPP-ACP; remineralization; erosion; surface hardness

Eroziv diş aşınması ya da dental erozyon; bakteri etkinliği olmadan yalnızca asitlerin etkisiyle diş yüzeyinde lokalize olarak görülen kimyasal bir süreçtir.^{1,2} Diş sert dokuları, ağız ortamında birbirini takip eden demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsüne maruz kalmaktadır. Döngüler arasındaki denge bozulduğunda demineralizasyon baskın hale geçer ek diş yüzeyinde yıkıma neden olmaktadır.^{3,4} Asidik içecekler, meyve suları, gazlı içecekler, sporcu içecekleri ve şarapların yaygın kullanımı ve kolay ulaşılabilir olması nedeni ile erozyon görülme sıklığının arttığı düşünülmektedir.^{5,6} Alkolsüz içecek tüketimi 1990-2000 yılları arasında yılda %2-3, toplamda %56 oranında artmıştır.⁷ Meydana gelen erozyonun şiddetini erozyona neden olan ortamın kimyasal özellikleri, diş dokularının asitlere maruz kalma sıklığı gibi birçok faktör, belirlemektedir. Erozyon aynı zamanda tükürük içeriği, akış hızı, tamponlama kapasitesi, dişin mineral içeriği gibi koruyucu mekanizmaların etkinliği ile de ilişkilidir.¹ Dişin aside dayanıklılığının artırılması ve remineralizasyon süreci de koruyucu faktörler arasındadır. Remineralizasyon sürecinin ilerlemesi için kalsiyum, fosfat ve florür gibi tükürük bileşenlerine de ihtiyaç duyulmaktadır.⁸ Tükürüğün diş erozyonundan korunmadaki en önemli faktör olduğu düşünülmektedir.⁹ Tükürük, erozyon oluşumu süresince; eroziv ajanın seyreltilmesi ve ağızdan uzaklaştırılması, nötralize edilmesi ve tamponlanması, tükürükteki kalsiyum ve fosfatla mine minerallerinin çözünme hızının azaltılması gibi birçok koruyucu mekanizma da rol alır.¹⁰

Son çalışmalarda, kazein fosfopeptid-amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP)'ın demineralizasyon sürecini azalttığı ve remineralizasyon sürecini hız-

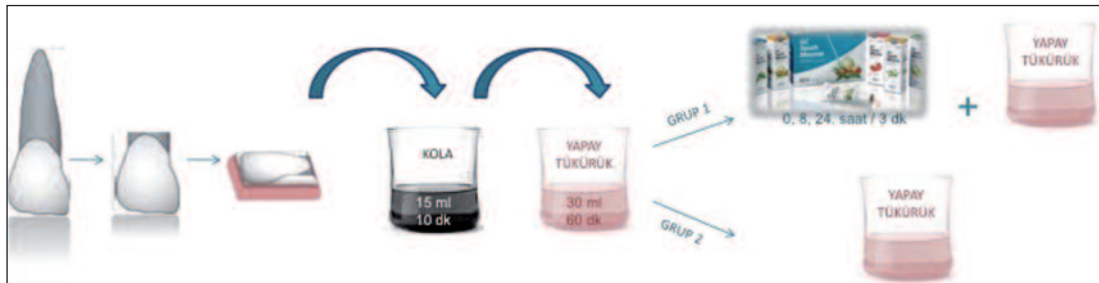
landırdığı bildirilmiştir. CPP-ACP bu etkisini kazein sayesinde gösterir. Kazein, asit karakterli ortamlarda uyum gösterebilen bir aminoasittir. Asidik pH'da ACP, CPP'den ayrılır ve tükürükteki kalsiyum ve fosfat miktarını artırır.^{11,12} Yapılan bazı in-vitro çalışmalarda, CPP-ACP solüsyonları mine yüzey altı lezyonlarında dikkate değer miktarda remineralizasyon oluşumunu sağladığı gözlenmiştir.¹³ CPP-ACP, mine lezyonlarını azaltmak amacıyla gargaralar, şekersiz sakızlar ve sporcu içeceklerinin içerisine başarıyla eklenmiştir.¹⁴

Bu çalışmanın amacı, CPP-ACP'nin asitli bir içeceğin minede meydana getirdiği erozyonu remineralize etme potansiyeli ile yapay tükürüğün remineralizasyon potansiyelinin karşılaştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deney düzeneği Şekil 1'de görülmektedir. Çalışmada 20 adet çürüksüz ve defektsiz üst santral diş kullanıldı. Diş çekiminden sonra dişler yumuşak doku ve debrislerden temizlendi, çatlak, hipoplazi ve beyaz lezyon varlığı açısından değerlendirildi. Dişlerin kökleri yüksek hızla dönen elmas bir frezle kesildi ve kron kısımları epoksi rezin bloklarının içine horizontal şekilde gömüldü. Labial yüzler, 600-800 ve 1200-grit silikon kâğıtlarla düzeltilip parlatıldı ve örnekler rastgele olacak şekilde iki gruba ayrıldı (n=10).

Demineralizasyon için asitli bir içecek (Coca-Cola, İstanbul; Türkiye), remineralizasyon için ise; Tooth Mousse (GC. Corp, Tokyo; Japonya) ve yapay tükürük (Ksantan sakızı 0,92 g/L, potasyum klorid 1,2 g/L, Sodyum klorid 0,85 g/L, magnezyum klorid 0,05 g/L, kalsiyum klorid 0,13 g/L, dipotasyum hidroj en ortofosfat 0,13 g/L, metil p-hidroksibenzoat



ŞEKİL 1: Deney düzeneği.

(Renkli hali için Bkz. <http://dishekimligi.turkiyeklinikleri.com/>)

0,35 g/L) (Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Ankara; Türkiye) kullanıldı. Bu çalışmada kullanılan materyaller Tablo 1'de görülmektedir.

Örnekler hazırlanıp gruplandırıldıktan sonra başlangıç Vickers sertlik değerleri ölçüldü (HSV 1000 Mikrosertlik Cihazı Bulut Makine Sanayi Tic. Ltd. Şti, İstanbul; Türkiye). Tüm örnekler 15 mL kolada 10 dakika boyunca bekletildi ve distile suyla yıkandı. Yıkama sonrasında tüm örnekler 30 mL yapay tükürük içerisinde 60 dakika boyunca oda ısısında bekletildi.¹⁵ Bu işlem dört kez tekrarlandı.¹⁵ Erozyon sürecinden sonra her örneğin Vickers sertlik değerleri ölçüldü.

Remineralize edici ajan örneklerin yüzeyine diş fırçası kullanılmadan, mine yüzeyini örtecek şekilde; 0., 8. ve 24. saatlerde 3 dakika boyunca uygulandı. CPP-ACP yüzeyden uzaklaştırıldıktan sonra örnekler distile suyla yıkandı ve tekrar yapay tükürük içerisinde bekletildi. Remineralizasyon süreci yalnızca grup 1'deki örnekler uygulandı; grup 2'deki örnekler yalnızca yapay tükürükte bekletildi. Daha sonra Vickers sertlik değerleri ölçüldü.

Grupların ortalama değerleri arasındaki fark tek yönlü ANOVA, çift yönlü ANOVA ve post-hoc Bonferroni analizleri ile değerlendirildi ($p<0,05$).

BULGULAR

Başlangıç, demineralizasyon öncesi ve remineralizasyon sonrası mine sertlik değerleri Tablo 2'de görülmektedir. Tek yönlü ANOVA, grupların baş-

langıç değerleri arasında istatistiksel bir fark olmadığını göstermiştir ($p>0,05$).

Demineralizasyon işleminden sonra yüzey sertlik değerleri anlamlı derecede azalmıştır ($p<0,05$). Tek yönlü ANOVA, gruplar arasında fark olmadığını göstermiştir ($p>0,05$).

Remineralizasyon uygulamalarından sonra her iki grupta da ortalama mikrosertlik değerleri artmıştır. Ancak çift yönlü ANOVA ve post-hoc Bonferroni testine göre grup 1 (CPP-ACP+yapay tükürük) daha yüksek yüzey sertlik değerleri göstermiştir. Sonuç, Şekil 2'de görülmektedir.

TARTIŞMA

Demineralizasyon ve remineralizasyon süreçleri dişlerin mineral dengesini, buna bağlı olarak da yüzey mikrosertlik değerlerini değiştirir.¹⁶ Çalışmamızda kullandığımız örneklerin başlangıç yüzey sertliği değerleri birbirleriyle uyum göstermektedir. Elde ettiğimiz başlangıç yüzey sertliği değerleri Wongkhantee ve ark.nın başlangıç değerlerine yakın olsa da, Panich ve ark. ile Cuy ve ark.nın başlangıç değerlerinden daha düşüktür.¹⁷⁻¹⁹ Mine yüzeyi genellikle prizmatik ve mine alt yüzeyine göre daha fazla mineralize olmuştur ancak; çalışmamızda mine yüzeyi zımparalar yardımı ile tamamen uzaklaştırılmıştır. Bu tür yüzeyler ağız ortamında bulunmaz. Prizma içermeyen mine sıklıkla süt dişlerinde bulunurken, doğal dişlerde çığneme ve oral hijyen uygulamaları nedeni ile açığa

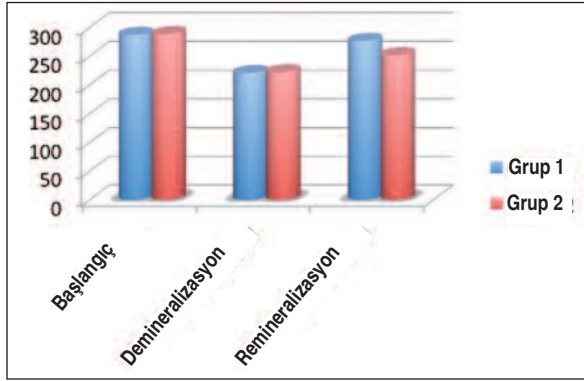
TABLO 1: Çalışmada kullanılan materyaller.

Materyal	Üretici firma	İçerik	pH
Cola	Coca-Cola İçecek AŞ, İstanbul/Türkiye	Su, şeker (sakkaroz/glikoz şurubu), karbondioksit, renklendirici (karamel), asitliği düzenleyici (fosforik asit), coca-cola özütü, kafein.	2,30
Kazein fosfopeptid-Amorf kalsiyum fosfat (Tooth mousse)	GC CPRP, Tokyo/Japonya	Saf su, gliserol, kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat, d-sorbitol, sodyum karboksimetil selüloz, propilen glikol, silikon dioksit, titanyum dioksit, xylitol, fosforik asit, tatlandırıcı, çinko oksit, sodyum sakkarin, etil p-hidroksibenzoat, magnezyum oksit, guar sakızı, propil p-hidroksibenzoat, butil p-hidroksibenzoat.	6,90
Yapay tükürük	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	Ksantan sakızı 0,92 g/L, potasyum klorid 1,2 g/L, sodyum klorid 0,85 g/L, magnezyum klorid 0,05 g/L, kalsiyum klorid 0,13 g/L, dipotasyum hidrojen ortofosfat 0,13 g/L, metil p-hidroksibenzoat 0,35 g/L	7,05

TABLO 2: Grupların Vickers sertlik değerleri ortalama ve standart sapmaları.

	Başlangıç	Demineralizasyon sonrası	Remineralizasyon sonrası
Grup 1	286,72±30,47 ^a	220,516±28,32 ^b	276,098±29,65 ^a
Grup 2	287,925±31,42 ^a	221,882±37,64 ^b	251,113±33,88 ^{a,b}

Aynı satır ve sütündeki aynı harfler arasında istatistiksel fark yoktur.

**ŞEKİL 2:** Grupların Vickers sertlik değerleri (VHN).

(Renkli hali için Bkz. <http://dishekimligi.turkiyeklinikleri.com>)

çıkabilmektedir.¹⁶ Azalmış yüzey sertlik değerleri; genellikle fluoroapatit içeren hipermineralize tabakanın zımparayla uzaklaştırılmış olması nedeni ile ortaya çıkmış olabilir.¹⁸ Bu çalışmada yüzeylerin zımparalanmasının nedeni; örneklerin doğal farklılıklarının azaltılması ve örneklerin asit ataklarına karşı verdiği yanıtların standardize edilmesidir.¹⁴

Erozyon nedeni ile dişlerde görülen demineralizasyon; diş yüzeyi ve asitlerin sıklıkla temas etmesi sonucunda oluşur. Asit içerikli gıdaların sık tüketilmesi ve çalışma ortamında bulunan asidik kirleticiler erozyonun oluşmasına neden olan dışsal faktörlerdir.²⁰ Modern toplumlarda, gazlı içeceklerin, sporcu içeceklerinin, meyve sularının ve meyve çaylarının tüketiminin artması nedeni ile dışsal faktörler daha fazla önem kazanmıştır.²¹ Klinik gözlemler, dişlerin asitlerle temas süresinin tüketilen içecek miktarından daha kritik olduğunu göstermiştir. Gazlı içeceklerin tüm baloncuklar patlayana kadar ağızda tutulduğu bilinmektedir. Bu nedenle gazlı olmayan içeceklere göre dişlerde daha uzun süre temas halinde olmaktadır.²²⁻²⁴ İçeceklerin toplam asit miktarı, asit tipi, fosfat konsantrasyonu, içeceklerin kalsiyum ve florid içeriği

erozyon gelişimi üzerinde modifiye edici bir etkiye sahiptir.^{25,26} de Carvalho Sales-Peres ve ark.nın yaptıkları bir çalışma, içeceklerin pH değerlerinin eroziv potansiyelleri üzerinde daha büyük etkiye sahip olduğunu, Coca-Cola'nın diğer gazlı içeceklerle karşılaştırıldığında en düşük pH değerine sahip olduğunu göstermiştir (2,9).²⁷

Devlin ve ark. Coca-Cola'nın ortalama yüzey sertliği değerlerini düşürdüğünü, ancak bu değerlerin yapay tükürük uygulamasıyla bir miktar yükseldiğini ortaya koymuşlardır.²⁸ Eisenburger ve ark.nın yaptığı in vitro bir çalışmada, sitrik asit uygulamasıyla demineralize edilen dişlerin 6 saat boyunca yapay tükürükte saklanmasıyla yeniden eski sertliğine kavuştuğu gösterilmiştir.²⁹ Bizim çalışmamızda da grup 2'nin remineralizasyon süreci için yapay tükürük kullanılmıştır. Yapay tükürüğün potasyum klorid, sodyum klorid, magnezyum klorid, kalsiyum klorid ve potasyum dihidrojen fosfat içeriği remineralizasyona yardımcı olmaktadır.¹⁸ Demineralizasyon uygulamasından sonra grup 2'nin ortalama yüzey sertliği değeri 221,882 iken, remineralizasyon uygulamasından sonra 251,113 değerine yükselmiştir. Bulgularımız bu çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir.^{28,29}

Birçok çalışma, CPP-ACP'nin özelliklerini tanımlamaktadır.³⁰⁻³² CPP-ACP, kalsiyum bağlama kapasitesini kalsiyum difüzyon katsayısını düşürerek arttırmaktadır. Bu etki, karyojenik atak boyunca plaktan ayrılan kalsiyum seviyesini azaltmaktadır.^{33,34} CPP, Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu- küme dizisini içerir, bu dizi ACP'nin stabil hale getirilmesini sağlamaktadır. CPP, ACP nanokümelere yapılandırmak amacıyla bağladığı artık fosforeril aracılığı ile nükleasyon ve faz değişimi sırasında kritik boyutun korunmasını sağlar.¹⁵ ACP diş yüzeyinde serbest kalsiyum ve fosfat aktivitesinin tamponlanmasını, buna bağlı olarak da demineralizasyonu azaltan ve remineralizasyonu arttıran aşırı doymuş halin sürdürülmesini sağlamaktadır.¹² CPP-ACP solüsyonları in vitro çalışmalarda da mine lezyonlarının remineralizasyonu konusunda başarılı sonuçlar göstermiştir.³⁵ Bizim çalışmamızda da, remineralizasyon uygulamasından sonra grup 1'in (CPP-ACP+yapay tükürük) Vickers sertlik değerleri grup 2'ye (yapay tükürük) oranla daha yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızın sonuçlarına göre CPP-ACP, mine yüzeyinde kolanın oluşturduğu erozyona karşı yapay tükürükten daha etkili bir remineralizasyon meydana getirmiştir.

Bu bulgular, CPP-ACP'nin remineralizasyon etkisini araştıran diğer çalışmaların sonuçları ile örtüşmektedir.^{18,36,37}

SONUÇ

Sonuç olarak, CPP-ACP'nin remineralizasyon etkinliğinin yapay tükürüğe oranla daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu bulgular yapılan birçok çalışmanın sonucunu desteklemektedir.^{12,38-42}

KAYNAKLAR

- Hemingway CA, Parker DM, Addy M, Barbour ME. Erosion of enamel by non-carbonated soft drinks with and without toothbrushing abrasion. *Br Dent J* 2006;201(7):447-50.
- Lussi A, Hellwig E, Zero D, Jaeggi T. Erosive tooth wear: diagnosis, risk factors and prevention. *Am J Dent* 2006;19(6):319-25.
- 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.
- Barbour ME, Finke M, Parker DM, Hughes JA, Allen GC, Addy M. The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. *J Dent* 2006;34(3):207-13.
- Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. Human enamel erosion in constant composition citric acid solutions as a function of degree of saturation with respect to hydroxylapatite. *J Oral Rehabil* 2005;32(1):16-21.
- 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.
- West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil* 2000;27(10):875-80.
- Imfeld T. Prevention of progression of dental erosion by professional and individual prophylactic measures. *Eur J Oral Sci* 1996;104(2 Pt 2):215-20.
- Hara AT, Lussi A, Zero DT. Biological factors. *Monogr Oral Sci* 2006;20:88-99.
- Lussi A, Jaeggi T. Erosion-diagnosis and risk factors. *Clin Oral Invest* 2008;12(1):5-13.
- Reynolds EC. The prevention of sub-surface demineralization of bovine enamel and change in plaque composition by casein in an intra-oral model. *J Dent Res* 1987;66(6):1120-7.
- 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.
- Hedge MN, Moany A. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: A quantitative energy dispersive X-ray analysis using scanning electron microscopy: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2012;15(1): 61-7.
- Adebayo OA, Burrow MF, Tyas MJ. An SEM evaluation of conditioned and bonded enamel following carbamide peroxide bleaching and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) treatment. *J Dent* 2009;37(4):297-306.
- Poggio C, Lombardini M, Dagna A, Chiesa M, Bianchi S. Protective effect on enamel demineralization of a CPP-ACP paste: an AFM in vitro study. *J Dent* 2009;37(12):949-54.
- Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 1983;17(5):385-91.
- Wongkhantee S, Patanapiradej V, Maneenut C, Tantbirojn D. Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials. *J Dent* 2006;34(3):214-20.
- Panich M, Poolthong S. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and a cola soft drink on in vitro enamel hardness. *J Am Dent Assoc* 2009;140(4):455-60.
- Cuy JL, Mann AB, Livi KJ, Teaford MF, Weihs TP. Nanoindentation mapping of the mechanical properties of human molar tooth enamel. *Arch Oral Biol* 2002;47(4):281-91.
- Meurman JH, Frank RM. Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Res* 1991;25(2):81-7.
- Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res* 2004;38(Suppl 1):34-44.
- Hunter ML, West NX, Hughes JA, Newcombe RG, Addy M. Erosion of deciduous and permanent dental hard tissue in the oral environment. *J Dent* 2000;28(4):257-63.
- Nunn JH. Prevalence of dental erosion and the implications for oral health. *Eur J Oral Sci* 1996;104(2 Pt 2):156-61.
- Zero DT. Etiology of dental erosion-extrinsic factors. *Eur J Oral Sci* 1996;104(2):162-77.
- Behrendt A, Oberste V, Wetzel WE. Fluoride concentration and pH of iced tea products. *Caries Res* 2002;36(6):405-10.
- Lussi A, Jäggi T, Schärer S. The influence of different factors on in vitro enamel erosion. *Caries Res* 1993;27(5):387-93.
- de Carvalho Sales-Peres SH, Magalhães AC, de Andrade Moreira Machado MA, Buzalaf MA. Evaluation of the erosive potential of soft drinks. *Eur J Dent* 2007;1(1):10-3.
- Devlin H, Bassiouny MA, Boston D. Hardness of enamel exposed to Coca-Cola and artificial saliva. *J Oral Rehabil* 2006;33(1):26-30.
- Eisenburger M, Addy M, Hughes JA, Shellis RP. Effect of time on the remineralisation of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. *Caries Res* 2001;35(3):211-3.
- Schübach P, Neeser JR, Golliard M, Rouvet M, Guggenheim B. Incorporation of caseinoglycomacropeptide and caseinophosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci. *J Dent Res* 1996;75(10):1779-88.
- 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.
- Mazzaoui SA, Burrow MF, Tyas MJ, Dashper SG, Eakins D, Reynolds EC. Incorporation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate into a glass-ionomer cement. *J Dent Res* 2003;82(11):914-8.
- Rose RK. Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. *Arch Oral Biol* 2000;45(7):569-75.

34. Rose RK. Binding characteristics of *Streptococcus mutans* for calcium and casein phosphopeptide. *Caries Res* 2000;34(5):427-31.
35. Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 1997;76(9):1587-95.
36. Garberoglio R, Cozzani G. In vivo effect of oral environment on etched enamel: a scanning electron microscopic study. *J Dent Res* 1979;58(9):1859-65.
37. Gedalia I, Ionat-Bendat D, Ben-Mosheh S, Shapira L. Tooth enamel softening with a cola type drink and rehardening with hard cheese or stimulated saliva in situ. *J Oral Rehabil* 1991;18(6):501-6.
38. 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 phosphate. *J Dent Res* 2001;80(12):2066-70.
39. 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.
40. 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.
41. 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.
42. 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.