

Forschung · Wissenschaft Recherche · Science

Publisher Herausgeber Editeur

Schweizerische Zahnärzte-
Gesellschaft SSO
Société Suisse
d'Odonto-Stomatologie
CH-3000 Bern 7

Editor-in-chief Chefredaktor Rédacteur en chef

Adrian Lussi, Bern

Editors Redaktoren Rédacteurs

Urs Belser, Genève
Andreas Filippi, Basel
Rudolf Gmür, Zürich

Assistant Editors Redaktions-Assistenten Rédacteurs assistants

Brigitte Zimmerli, Bern
Klaus Neuhaus, Bern

Adresse der wissenschaftlichen Redaktion

Prof. Adrian Lussi
Klinik für Zahnerhaltung,
Präventiv- und Kinder-
zahnmedizin
Freiburgstr. 7, 3010 Bern

Advisory board Gutachtergremium Comité de lecture

T. Attin, Zürich
P. Baehni, Genève
J.-P. Bernard, Genève
C.E. Besimo, Basel
M.M. Bornstein, Bern
D. Bosshardt, Bern
S. Bouillaguet, Genève
U. Brägger, Bern
W. Buchalla, Zürich
D. Buser, Bern
M. Cattani, Genève
B. Ciucchi, Genève
K. Dula, Bern
D. Ettlin, Zürich
G. Eyrich, Zürich
J. Fischer, Zürich
L.M. Gallo, Zürich
U. Gebauer, Bern
R. Glauser, Zürich
W. Gnoinski, Zürich
T. Göhring, Zürich

K.W. Grätz, Zürich
Ch. Hämmerle, Zürich
N. Hardt, Luzern
T. Imfeld, Zürich
K.H. Jäger, Basel
J.-P. Joho, Genève
R. Jung, Zürich
S. Kiliaridis, Genève
I. Krejci, Genève
J.Th. Lambrecht, Basel
N.P. Lang, Bern
T. Lombardi, Genève
H.U. Luder, Zürich
H. Lüthy, Neuchâtel
C. Marinello, Basel
G. Menghini, Zürich
R. Mericske-Stern, Bern
J. Meyer, Basel
J.-M. Meyer, Chêne-Bougeries
T. Mitsiadis, Zürich
A. Mombelli, Genève
W. Mörmann, Zürich
F. Müller, Genève
S. Palla, Zürich
S. Paul, Zürich

T. Peltomäki, Zürich
M. Perrier, Lausanne
Ch. Ramseier, Bern
M. Richter, Genève
H.F. Sailer, Zürich
G. Salvi, Bern
J. Samson, Genève
U.P. Saxer, Zürich
J.-P. Schatz, Genève
S. Scherrer, Genève
P.R. Schmidlin, Zürich
J. Türp, Basel
H. van Waes, Zürich
P. Velvart, Zürich
T. von Arx, Bern
T. Waltimo, Basel
F. Weber, Zürich
R. Weiger, Basel
A. Wichelhaus, Basel
A. Wiskott, Genève
M. Zehnder, Zürich
H.F. Zeilhofer, Basel
N.U. Zitzmann, Basel

KLAUS W. NEUHAUS
ADRIAN LUSSI

Klinik für Zahnerhaltung,
Präventiv- und Kinderzahnmedizin
Universität Bern

Korrespondenzadresse
Dr. Klaus W. Neuhaus
Klinik für Zahnerhaltung,
Präventiv- und Kinderzahnmedizin
Freiburgstrasse 7
3010 Bern
Tel. +41 31 632 49 74
Fax +41 31 632 98 75
E-Mail: klaus.neuhaus@zmk.unibe.ch

Schweiz Monatsschr Zahnmed 119:
110–116 (2009)

Zur Veröffentlichung angenommen:
30. August 2008

Casein Phosphopeptid – Amorphes Calciumphosphat (CPP-ACP) und seine Wirkung auf die Zahnhartsubstanz

Schlüsselwörter: Recaldent, Remineralisation, Prävention, Kaugummi, Erosionen

Zusammenfassung Produkte mit Caseinphosphopeptid-haltigen, amorphen Calciumphosphat-Nanokomplexen (CPP-ACP) finden zunehmend in häuslichen Zahnpflegeprodukten (Zahnpasten, Kaugummis, Mundspüllösungen), aber auch in zahnärztlichen Füllungsmaterialien Verwendung. Sie sollen stark remineralisationsfördernd sein und somit eine Rolle bei der Kariesprophylaxe und -therapie sowie bei der Therapie von Erosionen spielen.

Aber auch bei Zahnhalshypersensibilität und Mundtrockenheit wird von einer Verbesserung der klinischen Symptomatik durch CPP-ACP-Produkte berichtet.

Dieser Artikel zeichnet den Weg vom Milchprotein Casein zum CPP-ACP nach, beschreibt mögliche Wirkmechanismen und unterzieht die vorhandene Literatur einer kritischen Würdigung.

Einleitung

Zyklische Prozesse der Demineralisation und Remineralisation prägen die der Mundhöhle exponierten Zahnoberflächen und bilden im Normalfall ein chemisches dynamisches Gleichgewicht. Überwiegt die demineralisierende Phase, spricht man von Karies, wenn Bakterien mit verantwortlich gemacht werden können, und von Erosion, wenn keine Bakterien beteiligt sind. Strategien, um diese Dysbalance frühzeitig zu regulieren, verfolgen einen präventiven Ansatz (Vermeiden von Risikofaktoren wie zu häufige Zuckeraufnahme und/oder Säureexposition; Ruptur des Pellikels mit dem oberflächlichen Biofilm durch Zahnreinigung) sowie einen therapeutischen. Dieser therapeutische Ansatz fokussierte in den letzten Jahrzehnten auf die Gewährleistung einer optimalen Bioverfügbarkeit von Fluorid. Lag ursprünglich der Schwerpunkt auf einer systematischen Trinkwasserfluoridierung, so sind es heute vor allem fluoridierte Zahnpasten und die Speisesalzfluoridierung, die dies ermöglichen (für eine Übersicht s. SMfZ 08/2005). Eine Hauptwirkung der Fluoride besteht in der Bildung einer leicht löslichen Calciumfluoriddeckschicht auf der Zahnoberfläche, welche die Remineralisation demineralisierter Zahnhartsubstanz beschleunigt. In den letzten Jahren wurde ein weiterer Therapieansatz verfolgt, der eine Remineralisation der Zahnoberfläche durch modifizierte, calcium- und phosphatreiche Milchproteine (CPP-ACP) vorsieht.

Dieser Übersichtsartikel zeichnet die Entwicklung vom einfachen Milchprotein zum CPP-ACP nach, beschreibt mögliche Wirkungsmechanismen und unterzieht die vorliegende Literatur einer kritischen Würdigung. Grundlage war eine syste-

matische elektronische Literatursuche in den Datenbanken MEDLINE, Cochrane Library und MEDPILOT mit den Suchbegriffen «CPP-ACP», «CPP-ACFP», «Tooth Mousse», «Recaldent», «casein» (nur in Kombination mit anderen Suchbegriffen), «milk protein» und «remineralization/remineralisation» sowie ihrer Kombinationen (respektive ihrer deutschen Schreibweise für die Suche in MEDPILOT). Es schloss sich eine Handsuche nach dem Schneeballprinzip an, wobei insgesamt 122 Artikel identifiziert wurden. Eine Auswahl von relevanten Studien (n=43) berücksichtigte vor allem kontrollierte klinische Studien und qualitativ hochwertige *In-vitro*-Studien, mit dem Ziel, die derzeit bestverfügbare Evidenz sowie auch zukünftiges Entwicklungspotenzial anschaulich zu machen.

Kariesprotektion durch Milch

Milch wirkt trotz seines relativ hohen Anteils an Milchzucker über verschiedene Mechanismen antikariogen (GUGGENHEIM ET AL. 1999; NEUHAUS ET AL. 2005). Da Milch eine in Bezug auf die biologischen Calciumphosphate (Brushit, Tricalciumphosphat, Octacalciumphosphat, amorphes Calciumphosphat) übersättigte Lösung darstellt (REYNOLDS & STOREY 1979), aus denen bei der Remineralisation Hydroxylapatit kristallisiert, sinkt in ihrer Gegenwart die Löslichkeit des Zahnschmelzes. Die Demineralisation wird somit erschwert, und die Remineralisation von Zahnschmelz begünstigt (ARNOLD ET AL. 2003). Ein demineralisationsfördernder pH-Abfall nach Milchkonsum ist vernachlässigbar gering (JENKINS & FERGUSON 1966; FROSTELL 1970; EDGAR ET AL. 1975; RUGG-GUNN ET AL. 1985). Die bei bakterieller Fermentation von Milchzucker entstehenden organi-

schen Säuren werden zu einem gewissen Grad dadurch abgepuffert, dass nicht Protein-gebundener Stickstoff in der Milch zu alkalischen Endprodukten katabolisiert wird (MOR & MCDUGALL 1977). In einem Rattenexperiment wurde gezeigt, dass die Verfütterung kariogener Nahrung durch die gleichzeitige Gabe von Milch zu einem Kariesrückgang führte (REYNOLDS & JOHNSON 1981). Ein ähnliches Ergebnis lieferte auch die Untersuchung von THOMSON ET AL. (1984), die zeigte, dass Milch das kariogene Potenzial von zuckerhaltigen Nahrungsmitteln senken konnte.

Kariesprophylaktische Wirkung von Milchproteinen

Aufgrund dieser Beobachtungen rückten die Milchproteine in den Fokus der wissenschaftlichen Aufmerksamkeit. So wurden die in Milch enthaltenen Phosphoproteine auf antikariogene Eigenschaften untersucht. Für mehrere dieser Proteine wurde *in vitro* eine antikariogene Wirkung nachgewiesen. Als wirksames antikariogenes Protein wurde das Proteose-Pepton identifiziert (GRENBY ET AL. 2001). Die Nahrungsmittelkonzentration dieses Proteins ist allerdings nicht hoch genug, um *in vivo* eine antikariogene Wirksamkeit entfalten zu können. Dagegen scheint Molke aus Hüttenkäse ein stärkeres Demineralisationshindernis als gereinigte Proteose-Peptide darzustellen und weist somit wahrscheinlich ein grösseres Potenzial für die Praxis auf (GRENBY ET AL. 2001).

Eine besondere Stellung unter den Milchproteinen nimmt das Casein ein, für das schon früh eine Reduktion der Kariesaktivität im Tierversuch nachgewiesen wurde (SCHWEIGERT ET AL. 1946a; SCHWEIGERT ET AL. 1946b; BAVETTA & McCLURE 1957; HOLLOWAY ET AL. 1961). In diesen frühen Studien wurde die unlösliche Säure Casein-HCl verwendet, für welche hohe Konzentrationen zum Nachweis einer antikariogenen Wirksamkeit benötigt werden. Daher schien der praktische Wert von Casein zunächst fraglich, zumal da es einen unangenehmen Geschmack aufweist (REYNOLDS & BLACK 1987; REYNOLDS ET AL. 1995) und in Milch oder Milchprodukten nicht in entsprechend hoher Konzentration vorliegt.

Die Hauptfraktionen des Caseins in Kuhmilch bestehen zu 54% aus α_s -, zu 32% aus β - und zu einem geringeren Anteil auch aus κ -Casein. Diese Polypeptidketten unterscheiden sich in der Anordnung ihrer Aminosäuren. α_s -Casein kann je nach Grad der Phosphorylierung (Vorliegen von Phosphatresten innerhalb der Polypeptidkette) in weitere Subtypen unterteilt werden. Für die Zahnmedizin bemerkenswert ist die Tatsache, dass verschiedene Caseine wie α_{s1} -Casein, β -Casein und κ -Casein eine starke Bindungsaffinität zu Hydroxylapatit aufweisen und somit die Löslichkeit von Hydroxylapatit senken können (REYNOLDS ET AL. 1982). Für κ -Casein wurde *in vitro* die Hemmung der Adhärenz von Streptokokken auf speichelbedecktes Hydroxylapatit (VACCA-SMITH ET AL. 1994) sowie auch die Hemmung des Bindungsvermögens und der Enzymaktivität von Glycosyltransferase bei Streptokokken nachgewiesen (VACCA-SMITH & BOWEN 1995). Ein kariesprotektiver Effekt von κ -Casein kann somit einerseits aufgrund einer verringerten extrazellulären Polyglykan-Matrixbildung und andererseits aufgrund der Konkurrenz mit Speichelproteinen um Bindungsstellen am Schmelz, die letztlich zu bakterieller Anti-Adhärenz führt, angenommen werden (VACCA-SMITH & BOWEN 2000). Die nichtglykosylierte, phosphorylierte Form des κ -Casein, das ebenfalls in Kuhmilch vorkommende Kappacin, ist in der Lage, das Wachstum von *S. mutans in vitro* zu inhibieren (MALKOLSKI ET AL. 2001). GRENBY ET AL. (2001) konnten in *In-vitro*-Untersuchungen dagegen nachweisen, dass Milch auch dann antika-

riogene Eigenschaften besitzt, wenn man den Caseinanteil komplett eliminiert. Sie zeigten auch, dass Casein alleine keinen wirksamen Schutz gegen einen Säureangriff bei pH 4,2 auf Hydroxylapatit hatte, wobei es *in vitro* keinen Vorteil gegenüber der Kontrollgruppe ohne Casein bot. In einer Serie von Tierversuchen hingegen wurde die Karies-inhibitorische Wirkung von Casein in Mizellenstruktur als Nahrungsbeigabe dadurch belegt, dass eine kariogene Plaque (mit *S. sobrinus*) sich so veränderte, dass das Wachstum eines weniger kariogenen Keims (*A. viscosus*) begünstigt wurde (GUGGENHEIM ET AL. 1999). *In vitro* wurde nachgewiesen, dass bestimmte Caseinate sowie calcium- und phosphatreiche Caseinmizellen in der Lage sind, Albumin aus dem Speichelpellikel zu verdrängen und somit die Adhärenz sowohl von *S. sobrinus* als auch von *S. mutans* an Rinderzahnschmelz signifikant zu verringern (NEESER ET AL. 1994; SCHÜPBACH ET AL. 1996).

Entwicklung des CPP-ACP und CPP-ACFP

In einer *In-situ*-Untersuchung mit Rinderschmelzproben stellte REYNOLDS (1987) fest, dass α_{s1} -Casein eine durch mikrobielle Plaque verursachte und normalerweise zu erwartende unter der Oberfläche liegende (*subsurface*) Demineralisation («Kreidefleck») komplett inhibierte. Er wies in dieser Studie gleichzeitig eine Affinität von α_{s1} -Casein zu Calcium und Phosphat nach. Da diese Ionen sich in maturierter Plaque anreichern, steigt der Anteil an α_{s1} -Casein in der Plaque und damit der Karies-inhibitorische Effekt. Der Einbezug von α_{s1} -Casein, welches durch das Verdauungsenzym Trypsin gespalten wird und dadurch etwa zehnmal kleiner ist, zeigte sich als richtungweisend für weitere Studien. Von den so hergestellten spezifischen Peptiden ist eines besonders wirksam und wurde im Folgenden als Wirkstoff Recaldent™ patentiert (REYNOLDS 1991). Zudem hat das durch Trypsin gespaltene α_{s1} -Casein gegenüber unbehandeltem α_{s1} -Casein den Vorteil, dass es nicht unangenehm schmeckt und gleichzeitig weniger allergisierende Antigene präsentiert (AMETANI ET AL. 1987). Darüber hinaus ist es als Casein-Phosphopeptid(CPP)-Kolloidkomplex klein genug, um durch vergrösserte Schmelzporen auch in den Kreidefleck diffundieren zu können. CPP besitzt die bemerkenswerte Eigenschaft, Calcium und Phosphationen in einer Lösung zu stabilisieren (CROSS ET AL. 2005): Unter alkalischen Bedingungen bei pH 7,0–9,0 wird eine grosse Anzahl an Calcium-, Phosphat- und Hydroxylionen gebunden. Die an CPP gebundenen Calcium- und Phosphationen weisen ein charakteristisches stöchiometrisches Verhältnis auf, welches den Schluss zulässt, dass sie in der spezifischen Form von amorphem Calciumphosphat (ACP) vorliegen. ACP ist eine von verschiedenen Calcium-Phosphat-Verbindungen (Hydroxylapatit, Octacalciumphosphat, Tricalciumphosphat, ACP und Dicalciumphosphatdihydrat). Während ACP in alkalischen übersättigten Lösungen dazu neigt, zu präzipitieren, werden ACP-Nanocluster durch CPP in einer metastabilen Lösung stabilisiert, was eine erhöhte Bioverfügbarkeit von Calcium- und Phosphationen bei einem pH-Wert unter 7,0 zur Folge hat (REYNOLDS 1998). Diese Bindungskapazität zu ACP scheint von der charakteristischen Phosphoserylpeptid-Gruppe Ser(P)₃-Glu₂ innerhalb des Moleküls abzuhängen (HUQ ET AL. 1995, 2003). In einem Tierversuch mit Ratten, in dem in einer Versuchsgruppe diese Phosphopeptide selektiv aus dem CPP-Molekül entfernt wurden, verlor CPP seine antikariogene Wirkung vollständig (REYNOLDS ET AL. 1995). Im gleichen Versuch wies die Versuchsgruppe die höchste antikariogene Aktivität auf, bei der CPP-ACP mit 500 ppm Fluorid versetzt wurde. CPP-ACP

und Fluorid schienen synergistisch zu wirken. Stöchiometrische Analysen ergaben, dass CPP in Anwesenheit von Calcium-, Phosphat- und Fluoridionen sowohl ACP [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O}$] als auch ACFP [$\text{Ca}_2\text{FPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$] in Abhängigkeit vom molaren Verhältnis der Ionen sowie vom pH-Wert der Lösung stabilisiert (REYNOLDS 1998). Ein molares Verhältnis von 1:1 der beiden Phasen ACP und ACFP [also $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \times \text{H}_2\text{O} : \text{Ca}_2\text{FPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$] ergibt eine Stöchiometrie von $\text{Ca}_{2+3}(\text{PO}_4)_{2+1}\text{F} = \text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$, also Fluorapatit. Tatsächlich beträgt das Verhältnis ACP:ACFP unter neutralen Bedingungen aber etwa 2:1, was eine Stöchiometrie von $\text{Ca}_{2 \times 3+2}(\text{PO}_4)_{2 \times 2+1}\text{F} \times \text{H}_2\text{O} = \text{Ca}_8(\text{PO}_4)_5\text{F} \times \text{H}_2\text{O}$ zur Folge hat (COCHRANE ET AL. 2008). Dieses Molekül wurde als amorphes Calciumfluorophosphat (ACFP) identifiziert. Jüngst wurde in einer *In-vitro*-Untersuchung nachgewiesen, dass CPP-ACFP bei einem pH-Wert von 4,5–5,5 ein deutlich grösseres Remineralisationspotenzial hatte als CPP-ACP (COCHRANE ET AL. 2008). Es wurde vorgeschlagen, dass die ungeladenen Moleküle CaHPO_4 und HF bei niedrigem pH-Wert einem Aktivitätsgradienten unterliegen. Dieser bewirkt eine Diffusion von Calcium-, Fluorid- und Phosphationen auch in die *Subsurface*-Bereiche. Dort präzipitieren Ca^{2+} , F^- und PO_4^{3-} und ermöglichen durch Besetzen freier Valenzen entlang der C-Achse der demineralisierten Hydroxylapatit-ähnlichen Struktur des Zahns eine von aussen nach innen ablaufende Remineralisation der kariösen Läsion. In einer kürzlich publizierten *In-situ*-Studie erzielte eine Zahnpaste mit der Kombination aus 1100 ppm F^- und 2% CPP-ACP die höchsten Remineralisationswerte im Vergleich zu einer Zahnpaste mit 2800 resp. 1100 ppm F^- , einer Mundspülung mit 450 ppm F^- und 2% CPP-ACP sowie einer fluoridfreien Zahnpaste mit 2% CPP-ACP (REYNOLDS ET AL. 2008). Dabei wurden die Schmelzproben während 14 Tagen viermal täglich für eine Minute mit den entsprechenden Agentien behandelt.

Kariesprophylaxe und Karietherapie von *White-Spot*-Läsionen *in situ* und *in vivo*

CPP-ACP-Nanokomplexe weisen *in situ* remineralisationsfördernde und die Schmelzdemineralisation inhibierende Eigenschaften auf (REYNOLDS 1997). Die Ergebnisse einiger *In-situ*-Untersuchungen mit Kaugummis mit dem Wirkstoff Recaldent™ (s. o.) belegen die Wirksamkeit von CPP-ACP in Bezug auf die Remineralisation initialer kariöser Läsionen. Die Beimengung von CPP-ACP in Sorbitol- oder Xylitol-Kaugummis führte dosisabhängig zu einer Remineralisation von *White-Spot*-Läsionen auf palatinal getragenen humanen Schmelzproben um bis zu 152% nach 14 Tagen Anwendung bei vierstündiger täglicher Expositionsdauer (SHEN ET AL. 2001). IJIMA ET AL. (2004) zeigten in einer *In-situ*-Studie mit Recaldent-Kaugummis, dass durch CPP-ACP remineralisierte Schmelzareale resistenter gegen Säureattacken waren als Schmelzareale, die nur durch Kaugummi ohne CCP-ACP remineralisiert wurden. Die Hinzufügung von Zitronensäure zu einem CPP-ACP-Kaugummi resultierte in einer anderen *In-situ*-Studie, bei der humane Schmelzproben palatinal getragen wurden, zu signifikant grösserer Remineralisation als zuckerfreie Kaugummis mit Zitronensäure oder Kaugummi ohne Zitronensäure und CPP-ACP (CAI ET AL. 2007). Demgegenüber konnten SCHIRRMETTER ET AL. (2007) in einer randomisierten Cross-over-Studie *in situ* keinen Unterschied in der Wirkung verschiedener zuckerfreier Kaugummis mit CPP-ACP, einer anderen Calciumformulierung und ohne Calciumzusatz auf künstliche Initialkaries an Rinderzähnen finden. Als Ursache kann angenommen werden, dass die Schmelzproben in dieser Versuchsanordnung vestibulär

getragen wurden. Andererseits ist es möglich, dass die Remineralisierung in dieser Studie dadurch behindert wurde, dass die künstliche Karies durch Zugabe von Diphosphonaten erzeugt worden war. Die Autoren dieser Studie folgerten, dass das Kauen von zuckerfreien CPP-ACP-Kaugummis bei bukkalen und palatinalen Initialläsionen nicht zu gleich guter Remineralisation führe, bzw. dass die CPP-ACP-Konzentrationen bukkal und palatinal nicht gleich hoch seien. *In-situ*-Studien weisen neben der Problematik der Lokalisation der Schmelzproben auch die Schwäche auf, dass der Faktor der Remineralisation durch den Speichel untergewichtet wird. Je kürzer die Schmelzproben getragen werden, umso mehr entfernt man sich von den realen Bedingungen, wie sie in der Mundhöhle vorherrschen. Vergleicht man die Ergebnisse der Studie von SHEN ET AL. (2001), in der die Schmelzproben für 160 Minuten während 10 Tagen *in situ* waren, mit Daten aus einer älteren Veröffentlichung (LEACH ET AL. 1989), so zeigt sich, dass der Remineralisationsgrad von künstlichen Initialläsionen durch den Speichel bei Kauen von Sorbitol-Kaugummis (ohne CPP-ACP) sogar höher sein kann, wenn die Proben kontinuierlich für 21 Tage im Mund belassen werden. Insofern sind die Ergebnisse derjenigen Studien problematisch, deren negativer Kontrollwert, nämlich die Remineralisation durch den natürlichen Speichel, deutlich unter erzielbaren Werten liegt und somit untergewichtet ist. Indem die Verweildauer von Schmelzproben in der Mundhöhle zwar optimal auf das Testprodukt angepasst wird, die Möglichkeiten durch natürliche Remineralisation aber gleichzeitig nicht ausgeschöpft werden, ergibt sich ein Zerrbild, welches nur eingeschränkt Schlussfolgerungen und Empfehlungen für die Klinik bedingen kann.

Ein weiterer Faktor, der in den meisten zitierten Studien nicht genügend berücksichtigt wird, ist die Erhöhung der Speichelfliessrate durch CPP-ACP. BOTS ET AL. (2004) massen eine ungefähre Verdopplung der Speichelfliessrate bei acht verschiedenen Kaugummis. Hingegen wurde von SHEN ET AL. (2001) beschrieben, dass das Kauen von CPP-ACP-Kaugummis die Speichelfliessrate bei 10 Probanden um das 4–7-fache anhebt. Insofern ist die Annahme eines zusätzlichen Wirkmechanismus von CPP-ACP durch eine starke Erhöhung der Speichelfliessrate legitim.

Die Adhärenz von CPP-ACP scheint hingegen durch eine erhöhte Speichelfliessrate nicht beeinträchtigt zu sein. Nach einer Mundspülung mit CCP-ACP konnten bis zu drei Stunden später noch hohe Konzentrationen von CPP in der Plaque sowohl auf der Bakterienmembran als auch in der extrazellulären Matrix nachgewiesen werden (REYNOLDS ET AL. 2003). Der so aufrechterhaltene Konzentrationsgradient von Calcium- und Phosphationen ermöglichte eine Remineralisation von Kreideflecken. Eine andere Darreichungsform von CCP-ACP als Lutschbonbon führte *in situ* ebenfalls zu erhöhter Remineralisation von *subsurface* Läsionen (CAI ET AL. 2003). Dabei wurde für ein Lutschbonbon mit 3 Massenprozent CPP-ACP eine Verdopplung der Remineralisation im Gegensatz zu einem Lutschbonbon mit 1 Massenprozent gemessen. Die Remineralisationsrate durch CPP-ACP ist also konzentrationsabhängig, aber nicht linear. Stärkere Konzentrationen CPP-ACP an der Oberfläche stellen offensichtlich eine Diffusionsbarriere dar.

In einer *In-vivo*-Untersuchung bei Kindern wurde unmittelbar nach Debonding festsitzender kieferorthopädischer Apparaturen die Behandlung der vorhandenen *White-Spot*-Läsionen mit CPP-ACP (Topacal C-5, NSI Dental, Hornsby, Australien) und 0,05% Natriumfluorid mittels Laserfluoreszenz verglichen (ANDERSSON ET AL. 2007). In beiden Gruppen konnte eine etwa gleiche Regression der *White-Spot*-Läsionen festgestellt werden.

Die Zahl der vollständig verschwundenen Kreideflecke hingegen war in der mit CPP-ACP behandelten Gruppe signifikant geringer als in der mit Natriumfluorid (64% gegenüber 23%). Vom visuellen Eindruck her zeigte die Gruppe mit CPP-ACP nach einem Beobachtungszeitraum von zwölf Monaten ansprechendere ästhetische Resultate. Die Schwäche in dieser Studie liegt in der geringen Anzahl der Probanden (n=13) sowie einer Ungleichverteilung der stärker sichtbaren Kreideflecke. Die grösste Reduktion der stärkeren Kreideflecke wurde in dieser Studie durch die Applikation von Fluorid erzielt (Zahnpaste oder Mundspülung), nicht durch CPP-ACP.

Einen minimalinvasiven Ansatz zur Therapie von *White-Spot*-Läsionen verfolgten ARDU ET AL. (2007). Sie beschrieben eine Methode, die stärker mineralisierte Oberflächenzone der Kreideflecke durch Mikroabrasion abzutragen und die verbleibende Zahnhartsubstanz durch tägliche häusliche Anwendung von CPP-ACP zu remineralisieren.

Hypersensitivität

GC Tooth Mousse™, eine pastenähnliche Formulierung mit 10% CPP-ACP, wirkt laut Herstellerangaben gegen Hypersensitivität, wenn es direkt nach einer Parodontalbehandlung mit Scaling und Root Planing (SRP) auf die Wurzeloberflächen gebracht wird. Hierzu fehlen kontrollierte klinische Studien vollständig. Es liegen jedoch Studien zu amorphem Calciumphosphat (ACP) vor, aus denen bedingt Rückschlüsse möglich sind. In einer Placebo-kontrollierten Split-Mouth-Untersuchung konnte für eine Zahnpaste mit ACP keine Reduktion der Hypersensibilität nach SRP gefunden werden, die über die Reduktion in der Placebogruppe hinausging (YATES ET AL. 1998). Hingegen führte die Zugabe von ACP in ein 16%iges Carbamidperoxid-Bleichgel in einer Doppelblindstudie mit 50 Probanden zu einer signifikanten Reduktion der Hypersensitivität nach 14-tägigem home bleaching mit einer Schiene (GINIGER ET AL. 2005). ACP kann in Verbindung mit Natriumcarbonat Hydroxylapatitkristalle ausbilden (MATHEW & TAKAGI 2001) und reduziert nach topischer Applikation die thermische und taktile Sensitivität freiliegenden Dentins (TUNG & EICHMILLER 1999). CPP-ACP wurde einem Fallbericht zufolge bei einer Patientin mit Dentalfluorose nach einem minimalinvasiven Eingriff mit Mikroabrasion und Bleaching erfolgreich eingesetzt und verminderte die postoperative Sensitivität (NG & MANTON 2007).

Erosionen

Anhand von oberflächlichen Mikrohärtbestimmungen konnte für diverse Milchprodukte eine erosionshemmende Wirkung nachgewiesen werden (LUSSI ET AL. 2004). Eine demineralisationshemmende und remineralisationsfördernde Wirkung wurde für die CPP-ACP-haltige Paste Tooth Mousse™ (GC International, Tokyo, Japan) in einer *In-vitro*-Untersuchung mit humanen Dentinproben nachgewiesen (RAHIOTIS & VOUGIOUKLAKIS 2007). Die Verfügbarkeit von Calcium- und Phosphationen aus einer übersättigten Lösung in unmittelbarer Nachbarschaft zur Zahnhartsubstanz scheint für diesen Effekt verantwortlich zu sein.

Die Strategie einer Einzelanwendung mit Tooth Mousse™ und Pronamel®/Proschemelz® (Wirkstoffe sind Fluorid und Kaliumnitrat) zur Bildung einer vor Erosion schützenden Schicht wurde von REES ET AL. (2007) untersucht. Schmelzproben wurden mit einer Schicht Tooth Mousse™ oder Pronamel® behandelt und anschliessend in ein Bad mit 37 °C warmem destilliertem Wasser für 15 Minuten gelagert. Die Kontrollzähne wurden

nur für 15 Minuten in destilliertes Wasser gelegt. Alle Schmelzproben wurden anschliessend für eine Stunde mit 0,25%iger Zitronensäure behandelt. Der Schmelzverlust wurde profilometrisch ermittelt. Während der durchschnittliche Zahnhartsubstanzverlust mit 5,02 µm ermittelt wurde, fiel der Schmelzverlust sowohl bei Tooth Mousse™ mit 3,38 µm als auch bei Pronamel® mit 2,6 µm signifikant geringer aus. Die Autoren wiesen jedoch darauf hin, dass dieses Ergebnis mit Vorsicht zu behandeln sei. Man könne nicht annehmen, dass ein Patient die Paste für 15 Minuten ruhig im Mund liegen lasse. Zudem würde klinisch dieser Prozess noch durch das Pellikel modifiziert. Aber auch der Säureangriff auf den Schmelz falle klinisch sicher nicht so stark aus wie in dieser *In-vitro*-Studie.

Eine kürzlich veröffentlichte Studie (RAMALINGAM ET AL. 2005) zeigte eine signifikante Verringerung des erosiven Potenzials eines Sportgetränkes, das mit CPP-ACP versetzt war. In dieser *In-vitro*-Untersuchung betrug die Konzentration von CPP-ACP lediglich 0,09%. Mit steigenden CPP-ACP-Konzentrationen korrelierten ein steigender pH-Wert sowie eine sinkende Menge titrierbarer Säure. Damit waren diese Ergebnisse vergleichbar mit anderen, die die Zugabe von Calcium zu experimentellen Sportgetränken verglichen. Diese zeigten nur minimale Erosionen im Vergleich zu konventionellen, kommerziell erhältlichen Sportgetränken (VENABLES ET AL. 2005). Aus *In-vitro*-Untersuchungen ist bekannt, dass an sich erosive Getränke, sofern sie mit Calcium und Phosphat versetzt und in Bezug auf die Zahnhartsubstanz übersättigt werden, ihr erosives Potential verlieren (FEATHERSTONE & LUSSI 2006). Der pH-Wert alleine entscheidet also nicht über das erosive Potenzial eines Getränkes oder Nahrungsmittels. Dieses ergibt sich vielmehr aus einem Zusammenspiel von pH-Wert, Calcium-, Phosphat- und Fluoridgehalt. Lösungen, die in Bezug auf Zahnschmelz übersättigt sind, können diesen nicht erodieren. Daher gibt es heute Orangensäfte, die mit Calcium versetzt sind und somit Zahnschmelz nicht auflösen können. Die Zugabe von Calcium zu einem sauren Johannisbeersaft verminderte die erosive Wirkung des Saftes in einer einfach verblindeten *In-situ*-Studie signifikant (HUGHES ET AL. 1999). Auch die Follow-up-Untersuchungen dieser Studie zeigten zu jedem Untersuchungszeitpunkt anhand von Schmelzprofilometrie, dass der Schmelzverlust in der Gruppe des mit Calcium versetzten Saftes signifikant unter dem anderer Gruppen war, bei denen die Getränke nicht mit Calcium angereichert waren (WEST ET AL. 2003).

Eine andere CPP-ACP-haltige Paste (Topacal C-5), deren Wirkstoff chemisch nicht identisch ist mit Recaldent™, wurde mit NaF (250 ppm NaF), Topacal C-5 und NaF, AmF (12.500 ppm AmF) und einer Kontrollgruppe in einem *In-vitro*-Erosionsmodell untersucht (LENNON ET AL. 2006). Nur in der Gruppe mit Aminfluorid konnte nach sieben respektive nach 14 Tagen anhand von Profilometrie ein gegenüber allen anderen Gruppen signifikant geringerer Schmelzverlust festgestellt werden. Bei allen anderen Gruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede untereinander. Es kann angenommen werden, dass aufgrund des niedrigen pH-Wertes von 2,3 in dieser Untersuchung die Affinität der Milchproteine an den Schmelz vermindert wurde. Dies könnte der Grund dafür sein, dass weder Topacal alleine noch in Verbindung mit 250 ppm Fluorid in der Lage waren, einen Schutz gegen einen erosiven Säureangriff zu bilden. In einer weiteren *In-vitro*-Untersuchung wurde der Effekt von GC Tooth Mousse™ auf zuvor mit Apfelsaft erodierte Schmelzoberflächen mit einer Elektronenstrahlmikroskopie quantitativ und mittels REM qualitativ gemessen (WILLERSHAUSEN ET AL. 2008). Die CPP-ACP-Paste führte dabei zu einer geringfügigen, nicht signifikanten Verbesserung des

Mineralgehaltes. Auch nach Anwendung der CPP-ACP-Paste gab es kaum Unterschiede im Erosionsmuster im Vergleich zur Kontrollgruppe mit NaCl. Demgegenüber fanden OSHIRO ET AL. (2007) in einem *In-vitro*-Versuch bei Zähnen, die mit zehnfach verdünntem Tooth Mousse™ behandelt wurden, deutlich geringere ausgeprägte Demineralisationsmuster als in der Kontrollgruppe. Im Unterschied zur vorigen Studie wurden hier die Zähne mit Tooth Mousse™ behandelt, bevor sie demineralisiert wurden. Diese Tatsache spricht eher für einen protektiven als einen therapeutischen Effekt einer CPP-ACP-Paste.

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit von Ultraschall im Dentin ändert sich in Abhängigkeit von Mineralisationsgrad und histologischen Strukturen (LEES 1971). Mit dieser Methode wurde der Einfluss einer Paste mit CPP-ACP auf Dentindemineralisation untersucht (YAMAGUCHI ET AL. 2007). Vierundzwanzig bovine Schneidezähne wurden in vier Gruppen unterteilt. Eine Gruppe wurde zweimal pro Tag für jeweils zehn Minuten in eine ungesättigte 0,1-M-Milchsäurepufferlösung bei pH 4,75 getaucht. Zwei weitere Gruppen wurden zweimal pro Tag für jeweils zehn Minuten in eine zehnfach verdünnte Suspension von Tooth Mousse™ und einer Placebopaste gegeben. Nach 21 respektive 28 Tagen war die Ultraschallgeschwindigkeit im Dentin der Placebo- wie der Demineralisationsgruppe signifikant verringert. In der Gruppe mit Tooth Mousse™ wurden hingegen keine Veränderungen der Schallgeschwindigkeit registriert. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen belegten ebenfalls eine stärkere Remineralisation der Zahnoberfläche. Die Autoren schlussfolgerten eine demineralisationshemmende Wirkung einer zehnfach verdünnten Suspension mit Tooth Mousse™. Die Demineralisationslösung bei einem pH-Wert von 4,75 erlaubte eine gute Affinität zum Substrat. Das Vorhandensein von Pastenresten in Dentintubuli kann nicht ausgeschlossen werden. Weitere Studien sollten diesen Erosionsschutzmechanismus auch bei etwas stärkerem Säureabfall untersuchen. Mit derselben Methode konnte die gleiche Forschergruppe sogar eine Steigerung der Ultraschall-Transmissions-Geschwindigkeit für bovinen Schmelz nach Behandlung mit Tooth Mousse™ feststellen (YAMAGUCHI ET AL. 2006). Daraus wurde für CPP-ACP eine remineralisationsfördernde Wirkung gefolgert. Die gleiche Wirkung wurde in einem weiteren Experiment bestätigt, bei welchem bovine Schneidezähne während acht Minuten mit Cola demineralisiert und anschließend unter anderem mit einer CPP-ACP-Paste (Prospec™-MI-Paste, GC Corporation, Tokyo, Japan) behandelt wurden (TANTBIROJN ET AL. 2008). Knoop-Härtemessungen zeigten, dass der durch Cola zunächst erweichte Schmelz nach 24 bis 48 Stunden mit vier jeweils dreiminütigen Interventionen mit CPP-ACP signifikant härter war als in den Vergleichsgruppen mit einer Mundspülung, künstlichem Speichel alleine oder künstlichem, mit 1 ppm Fluorid versetztem Speichel.

Glasionomermaterial (GIZ) mit CPP-ACP

Vor einigen Jahren wurden die Ergebnisse einer Studie veröffentlicht, bei der *in vitro* ein GIZ mit 1,56 m% CPP-ACP mit einem konventionellen GIZ verglichen wurde (MAZZAOUI ET AL. 2003). Der mit CPP-ACP modifizierte GIZ wies dabei eine um ein Drittel höhere Bindung an Dentin, eine um ein Viertel höhere Kompressionskraft, eine weniger poröse Oberfläche sowie eine grössere Abgabe von Calcium-, Phosphat- und Fluoridionen auf. Künstliche initiale kariöse Läsionen um die mit GIZ gefüllten Areale wiesen im polarisierten Licht bei der Kontrollgruppe signifikant grössere Demineralisationsareale auf als in der Testgruppe. Ferner war die Abbindezeit für den

GIZ mit CPP-ACP um 40 s verlängert. Typ-2-Frakturen (partielle adhäsive und partielle kohäsive Frakturen) kamen in der Testgruppe hingegen häufiger vor als in der Kontrollgruppe.

Xerostomie

Eine häufige Folge von Strahlentherapie der Mund-, Kiefer-Gesichtsregion ist eine verminderte Speichelflussrate (SHIBOSKI ET AL. 2007), welche ein erhöhtes Kariesrisiko bedingt. Weitere Krankheiten oder Zustände, die mit Xerostomie einhergehen, sind das Sjögren-Syndrom (DELALEU ET AL. 2005) oder die Medikation mit trizyklischen Antidepressiva (CIANCIO 2005). Mundspüllösungen mit 0,05% Natriumfluorid (MEYEROWITZ & WATSON 1998) zur beschleunigten Remineralisation und Verminderung der Demineralisation gelten zusammen mit Methoden, den Speichelfluss anzuregen (FOX 2004), als Therapiestrategie der Wahl. Liegt ein verminderter Speichelfluss vor, so kann häufig die Remineralisation wegen der niedrigeren Konzentrationen an Calcium- und Phosphationen in der Mundhöhle nicht in gewünschtem Mass erfolgen. Daher wurde ein etwas weniger aggressives Fluoridregime angeregt, falls diese Ionen anderweitig bioverfügbar gemacht würden (PAPAS ET AL. 1999). So wurde in einer randomisierten klinischen Studie mit 124 Probanden mit Xerostomie der Einfluss einer Spüllösung mit Caseinderivat/Calciumphosphat (CD/CP) (Dentacal, NSI Pty Ltd, Hornsby, Australien) mit einer anderen Spüllösung mit 0,05% Natriumfluorid verglichen (HAY & THOMSON 2002). Der Beobachtungszeitraum lag bei zwölf Monaten. In Bezug auf die Karieszuwachsrate gab es in diesem Zeitraum keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen. Die Testgruppe schnitt nicht besser ab als die Kontrollgruppe, sondern tendenziell schlechter, da hier mehr Zähne extrahiert werden mussten. Laut Autoren mag dies aber an dem höheren Prozentsatz an Studienteilnehmern mit Sjögren-Syndrom liegen, bei denen bereits zu Studienbeginn eine höhere Karies- und Füllungsflächenrate vorlag. Anders als bei Patienten mit Mundtrockenheit nach Strahlentherapie, bei denen in der Regel vorgängig eine chirurgische dentoalveoläre Sanierung vorgenommen wird, versucht man bei Patienten mit Sjögren-Syndrom einen möglichst langen Zahnerhalt, was die unterschiedliche Ausgangslage erklärt. In einer Folgeuntersuchung wurden 38 Patienten mit schwerer Xerostomie aus diesem Patientengut einer Fragebogenuntersuchung unterzogen (HAY & MORTON 2003). Die Ergebnisse zeigten, dass die Patienten, die CD/CP in Sprayform applizierten, subjektiv ein gegenüber Fluoridspülungen besseres Feuchtigkeitsempfinden in der Mundhöhle wahrnahmen. Die Autoren schlussfolgerten, dass CD/CP in Sprayform für Patienten mit schwerer Xerostomie zur Kariesprävention und zur Befeuchtung des Mundraumes geeignet ist.

In Bezug auf das bei Mundtrockenheit vermehrte Auftreten von Wurzelkariesläsionen liegt ein Fallbericht vor, in dem eine viel versprechende Karieskontrolle durch eine kombinierte CPP-ACP/photoaktivierte Desinfektion (PAD) beschrieben ist (VLACIC ET AL. 2007). Die abendliche Applikation von CPP-ACP wurde durch PAD-Massnahmen zu Behandlungsbeginn und nach 1, 2, 3, 6 und 12 Monaten ergänzt. Der Behandlungserfolg wurde mittels Laserfluoreszenz ermittelt und zeigte eine statistisch hochsignifikante Reduktion der Messwerte.

Ausblick und kritische Würdigung der Literatur

Die Recaldent™-Technologie wird heute vom Cadbury-Schweppes-Konzern unterstützt und erfährt so eine massive Vermarktung. Erste Marketingfolge zeichnen sich bereits ab:

So gibt die neuseeländische Armee jedem Rekruten täglich zwei Recaldent-Kaugummis, um auch im Feld unter suboptimalen Mundhygienebedingungen eine wirksame Kariesprophylaxe zu ermöglichen (NEW ZEALAND HERALD 2007). Die Literatur belegt in zahlreichen *In-vitro*-, *In-situ*- und zunehmend auch in *In-vivo*-Untersuchungen eine Wirksamkeit von CPP-AC(F)P in mehreren klinischen Belangen. So erfreulich diese Tatsache ist, fällt doch auf, dass das Gros der Studien aus dem Forscherteam des Patenthalters für Recaldent™ stammt. Dies stellt unter wissenschaftlichen Gesichtspunkten einen Bias, also eine mögliche Befangenheit dar. Je nach Studiendesign wurden auch Ergebnisse publiziert, die einen positiven Effekt von CPP-ACP auf initiale Karies (SCHIRRMETTER ET AL. 2007) oder Erosionen (LENNON ET AL. 2006) nicht zulassen. Problematisch erscheinen ferner Ergebnisse aus *In-situ*-Studien, die optimal auf das Testprodukt adjustiert sind, aber deren negative Kontrollen (also Proben, die nur durch den Speichel alleine remineralisiert werden) konstant untergewichtet sind. In Zukunft werden weitere Studien – wünschenswert wären kontrollierte klinische Studien – zeigen müssen, ob die viel versprechenden *in-vitro*- und *In-situ*-Untersuchungen einen praktikablen und effizienten Einsatz von CPP-ACP in der Prävention und Therapie initialer kariöser Läsionen, Erosionen, Xerostomie und Hypersensitivität rechtfertigen.

Summary

NEUHAUS K W, LUSSI A: Casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) and its effect on dental hard tissues (in German). Schweiz Monatsschr Zahnmed 119: 110–116 (2009)

Dental products with casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate-nanocomplexes (CPP-ACP) are used in several tooth products (toothpastes, chewing gums, mouthrinses) and are as well used in dental filling material. CPP-ACP containing products are supposed to enhance remineralisation of dental hard tissues and thus might play a major role in prevention and therapy of initial caries or erosively dissolved enamel. Furthermore, also in hypersensitive teeth and even cases of hyposalivation, CPP-ACP containing products are supposed to improve the clinical condition. This article aims at three goals: point out the evolution of CPP-ACP out of milk casein; description of possible biochemical effects of CPP-ACP on dental hard tissues; critical review of the current literature.

Résumé

Des produits dentaires à base de phosphopeptide de caséine – de nanocomplexes de phosphate de calcium amorphe (CPP-ACP) sont proposés sous différentes formes (dentifrices, chewing-gums, solutions de rinçages) et sont également utilisés dans un produit d'obturation de cavité. Les substances contenant du CPP-ACP sont censées favoriser la reminéralisation de l'émail et de la dentine et pourraient ainsi jouer un rôle majeur dans la prévention et le traitement des caries initiales et des dents présentant des signes d'érosion. En plus les substances contenant du CPP-ACP pourraient également améliorer la situation clinique des dents hypersensibles et des cas d'hyposalivation. Cet article poursuit trois buts: mettre en évidence la transformation de la caséine en CPP-ACP, décrire les effets supposés du CPP-ACP sur les tissus dentaires durs et revoir de façon critique la littérature actuelle.

Literatur

- AMETANI A, KAMINOGAWA S, SHIMIZU M, YAMAUCHI K: Rapid screening of antigenically reactive fragments of alpha s1-casein using HPLC and ELISA. *J Biochem* 102: 421–425 (1987)
- ANDERSSON A, SKOLD-LARSSON K, HALLGREN A, PETERSSON L G, 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* 5: 229–233 (2007)
- ARDU S, CASTIONI N V, BENBACHIR N, KREJCI I: Minimally invasive treatment of white spot enamel lesions. *Quintessence Int* 38: 633–636 (2007)
- ARNOLD W H, CERMAN M, NEUHAUS K, GAENGLER P: Volumetric assessment and quantitative element analysis of the effect of fluoridated milk on enamel demineralization. *Arch Oral Biol* 48: 467–473 (2003)
- BAVETTA L A, McCLURE F J: Protein factors and experimental rat caries. *J Nutr* 63: 107–117 (1957)
- BOTS C P, BRAND H S, VEERMAN E C, VAN AMERONGEN B M, NIEUW AMERONGEN A V: Preferences and saliva stimulation of eight different chewing gums. *Int Dent J* 54: 143–148 (2004)
- CAI F, MANTON D J, SHEN P, WALKER G D, CROSS K J, YUAN Y, REYNOLDS C, REYNOLDS E C: 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* 41: 377–383 (2007)
- CAI F, SHEN P, MORGAN M V, REYNOLDS E C: Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Aust Dent J* 48: 240–243 (2003)
- CIANCIO S G: Medications: a risk factor for periodontal disease diagnosis and treatment. *J Periodontol* 76: 2061–2065 (2005)
- COCHRANE N J, SARANATHAN S, CAI F, CROSS K J, REYNOLDS E C: Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res* 42: 88–97 (2008)
- CROSS K J, HUQ N L, PALAMARA J E, PERICH J W, REYNOLDS E C: Physicochemical characterization of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplexes. *J Biol Chem* 280: 15362–15369 (2005)
- DELALEU N, JONSSON R, KOLLER M M: Sjogren's syndrome. *Eur J Oral Sci* 113: 101–113 (2005)
- EDGAR W M, BIBBY B G, MUNDORFF S, ROWLEY J: Acid production in plaques after eating snacks: modifying factors in foods. *J Am Dent Assoc* 90: 418–425 (1975)
- FEATHERSTONE J D, LUSSI A: Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci* 20: 66–76 (2006)
- FOX P C: Salivary enhancement therapies. *Caries Res* 38: 241–246 (2004)
- FROSTELL G: Effects of milk, fruit juices and sweetened beverages on the pH of dental plaques. *Acta Odont Scand* 28: 609–622 (1970)
- GINIGER M, MACDONALD J, ZIEMBA S, FELIX H: The clinical performance of professionally dispensed bleaching gel with added amorphous calcium phosphate. *J Am Dent Assoc* 136: 383–392 (2005)
- GRENBY T H, ANDREWS A T, MISTRY M, WILLIAMS R J: Dental caries-protective agents in milk and milk products: investigations in vitro. *J Dent* 29: 83–92 (2001)
- GUGGENHEIM B, SCHMID R, AESCHLIMANN J M, BERROCAL R, NEESER J R: Powdered milk micellar casein prevents oral colonization by *Streptococcus sobrinus* and dental caries in rats: a basis for the caries-protective effect of dairy products. *Caries Res* 33: 446–454 (1999)
- HAY K D, MORTON R P: The efficacy of casein phosphoprotein-calcium phosphate complex (DC-CP) [Dentalcal] as a mouth moistener in patients with severe xerostomia. *N Z Dent J* 99: 46–48 (2003)
- HAY K D, THOMSON W M: 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* 93: 271–275 (2002)
- HOLLOWAY P J, SHAW J H, SWEENEY E A: Effects of various sucrose-casein ratios in purified diets on the teeth and supporting structures in rats. *Arch Oral Biol* 3: 185–200 (1961)
- HUGHES J A, WEST N X, PARKER D M, NEWCOMBE R G, ADDY M: Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink. 3. Final drink and concentrate, formulae comparisons in situ and overview of the concept. *J Dent* 27: 345–350 (1999)
- HUQ N L, CROSS K J, REYNOLDS E C: A 1H-NMR study of the casein phosphopeptide alpha s1-casein(59–79). *Biochim Biophys Acta* 1247: 201–208 (1995)

- HUQ N L, CROSS K J, REYNOLDS E C: Nascent helix in the multiphosphorylated peptide alphaS2-casein(2-20). *J Pept Sci* 9: 386-392 (2003)
- IJIMA Y, CAI F, SHEN P, WALKER G, REYNOLDS C, REYNOLDS E C: Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res* 38: 551-556 (2004)
- JENKINS G N, FERGUSON D B: Milk and dental caries. *Br Dent J* 120: 472-477 (1966)
- LEACH S A, LEE G T, EDGAR W M: Remineralization of artificial caries-like lesions in human enamel in situ by chewing sorbitol gum. *J Dent Res* 68: 1064-1068 (1989)
- LEES S: Ultra-sonics in hard tissues. *Int Dent J* 21: 403-417 (1971)
- LENNON A M, 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* 40: 154-157 (2006)
- LUSSI A, JAEGGI T, ZERO D: The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res* 38 Suppl 1: 34-44 (2004)
- MALKOLSKI M, DASHPER S G, O'BRIEN-SIMPSON N M, TALBO G H, MACRIS M, CROSS K J, REYNOLDS E C: Kappacin, a novel antibacterial peptide from bovine milk. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 2309-2315 (2001)
- MATHEW M, TAKAGI S: Structures of biological minerals in dental research. *J Res Natl Inst Stand Technol* 106: 1035-1044 (2001)
- MAZZAOUI S A, BURROW M F, TYAS M J, DASHPER S G, EAKINS D, REYNOLDS E C: Incorporation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate into a glass-ionomer cement. *J Dent Res* 82: 914-918 (2003)
- MEYEROWITZ C, WATSON G E, 2ND: The efficacy of an intraoral fluoride-releasing system in irradiated head and neck cancer patients: a preliminary study. *J Am Dent Assoc* 129: 1252-1259 (1998)
- MOR B M, MCDUGALL W A: Effects of milk on pH of plaque and salivary sediment and the oral clearance of milk. *Caries Res* 11: 223-230 (1977)
- NEESER J R, GOLLIARD M, WOLTZ A, ROUVET M, DILLMANN M L, GUGGENHEIM B: In vitro modulation of oral bacterial adhesion to saliva-coated hydroxyapatite beads by milk casein derivatives. *Oral Microbiol Immunol* 9: 193-201 (1994)
- NEUHAUS K, MEYER J, WEIGER R, ARNOLD W H: Milchfluoridierung – wo stehen wir heute? *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 115: 1019-1025 (2005)
- NEW ZEALAND HERALD: Defence Force fighting tooth decay. Auckland, July 17, 2007
- NG F, MANTON D J: Aesthetic management of severely fluorosed incisors in an adolescent female. *Aust Dent J* 52: 243-248 (2007)
- OSHIRO M, YAMAGUCHI K, TAKAMIZAWA T, INAGE H, WATANABE T, IROKAWA A, ANDO S, MIYAZAKI M: Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. *J Oral Sci* 49: 115-120 (2007)
- PAPAS A, RUSSELL D, SINGH M, STACK K, KENT R, TRIOL C, WINSTON A: Double blind clinical trial of a remineralizing dentifrice in the prevention of caries in a radiation therapy population. *Gerodontology* 16: 2-10 (1999)
- RAHIOTIS C, VOUGIOUKLAKIS G: Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine in vitro. *J Dent* 35: 695-698 (2007)
- RAMALINGAM L, MESSER L B, REYNOLDS E C: Adding casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate to sports drinks to eliminate in vitro erosion. *Pediatr Dent* 27: 61-67 (2005)
- REES J, LOYN T, CHADWICK B: Pronamel and tooth mousse: an initial assessment of erosion prevention in vitro. *J Dent* 35: 355-357 (2007)
- REYNOLDS E C: The prevention of sub-surface demineralization of bovine enamel and change in plaque composition by casein in an intra-oral model. *J Dent Res* 66: 1120-1127 (1987)
- REYNOLDS E C: Anticariogenic phosphopeptides patent 5,015,628. In *The University of Melbourne* (1991). (Victorian Dairy Industry Authority, Australia).
- REYNOLDS E C: Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 76: 1587-1595 (1997)
- REYNOLDS E C: Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist* 18: 8-16 (1998)
- REYNOLDS E C, BLACK C L: Reduction of chocolate's cariogenicity by supplementation with sodium caseinate. *Caries Res* 21: 445-451 (1987)
- REYNOLDS E C, CAI F, COCHRANE N J, SHEN P, WALKER G D, MORGAN M V, REYNOLDS C: Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 87: 344-348 (2008)
- REYNOLDS E C, CAI F, SHEN P, WALKER G D: Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res* 82: 206-211 (2003)
- REYNOLDS E C, CAIN C J, WEBBER F L, BLACK C L, RILEY P F, JOHNSON I H, PERICH J W: Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 74: 1272-1279 (1995)
- REYNOLDS E C, JOHNSON I H: Effect of milk on caries incidence and bacterial composition of dental plaque in the rat. *Arch Oral Biol* 26: 445-451 (1981)
- REYNOLDS E C, RILEY P F, STOREY E: Phosphoprotein inhibition of hydroxyapatite dissolution. *Calcif Tissue Int* 34 Suppl 2: S52-S56 (1982)
- REYNOLDS E C, STOREY E: A review on the effect of milk and dental caries. *Aust J Dairy Technol* 34: 175-180 (1979)
- RUGG-GUNN A J, ROBERTS G J, WRIGHT W G: Effect of human milk on plaque pH in situ and enamel dissolution in vitro compared with bovine milk, lactose, and sucrose. *Caries Res* 19: 327-334 (1985)
- SCHIRRMAYER J F, SEGER R K, ALTENBURGER M J, LUSSI A, HELLWIG E: Effects of various forms of calcium added to chewing gum on initial enamel carious lesions in situ. *Caries Res* 41: 108-114 (2007)
- SCHÜPBACH P, NEESER J R, GOLLIARD M, ROUVET M, GUGGENHEIM B: Incorporation of caseinoglycomacropptide and caseinophosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci. *J Dent Res* 75: 1779-1788 (1996)
- SCHWEIGERT B S, PORTS E, SHAW J H, ZEPPLIN M, PHILLIPS P H: Dental caries in the cotton rat. VIII. Further studies on the dietary effects of carbohydrate, protein and fat on the incidence and extent of carious lesions. *J Nutr* 32: 405-412 (1946a)
- SCHWEIGERT B S, SHAW J H, ZEPPLIN M, ELVEHJEM C H: Dental caries in the cotton rat. VI. The effect of the amount of protein, fat and carbohydrate in the diet on the incidence and extent of carious lesions. *J Nutr* 31: 439-447 (1946b)
- SHEN P, CAI F, NOWICKI A, VINCENT J, REYNOLDS E C: Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 80: 2066-2070 (2001)
- SHIBOSKI C H, HODGSON T A, SHIP J A, SCHIÖDT M: Management of salivary hypofunction during and after radiotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 103 Suppl: S66 e61-19 (2007)
- TANTBIROJN D, HUANG A, ERICSON M D, POOLTHONG S: Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste. *J Dent* 36: 74-79 (2008)
- THOMSON M E, DEVER J G, PEARCE E I: Intra-oral testing of flavoured sweetened milk. *N Z Dent J* 80: 44-46 (1984)
- TUNG M S, EICHMILLER F C: Dental applications of amorphous calcium phosphates. *J Clin Dent* 10: 1-6 (1999)
- VACCA-SMITH A M, BOWEN W H: The effect of milk and kappa casein on streptococcal glycosyltransferase. *Caries Res* 29: 498-506 (1995)
- VACCA-SMITH A M, BOWEN W H: The effects of milk and kappa-casein on salivary pellicle formed on hydroxyapatite discs in situ. *Caries Res* 34: 88-93 (2000)
- VACCA-SMITH A M, VAN WUYCKHOUSE B C, TABAK L A, BOWEN W H: The effect of milk and casein proteins on the adherence of streptococcus mutans to saliva-coated hydroxyapatite. *Archs Oral Biol* 39: 1063-1069 (1994)
- VENABLES M C, SHAW L, JEUKENDRUP A E, ROEDIG-PENMAN A, FINKE M, NEWCOMBE R G, PARRY J, SMITH A J: Erosive effect of a new sports drink on dental enamel during exercise. *Med Sci Sports Exerc* 37: 39-44 (2005)
- VLACIC J, MEYERS I A, WALSH L J: Combined CPP-ACP and photoactivated disinfection (PAD) therapy in arresting root surface caries: a case report. *Br Dent J* 203: 457-459 (2007)
- WEST N X, HUGHES J A, PARKER D M, MOOHAN M, ADDY M: Development of low erosive carbonated fruit drinks. 2. Evaluation of an experimental carbonated blackcurrant drink compared to a conventional carbonated drink. *J Dent* 31: 361-365 (2003)
- WILLERSHAUSEN B, SCHULZ-DOBRICK B, AZRAK B, GLEISSNER C: In-vitro-Studie zur Überprüfung einer möglichen Remineralisation durch caseinphosphopeptidhaltige, amorphe Calciumphosphatkomplexe (CPP-ACP). *DZZ* 63: 134-139 (2008)
- 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* 41: 204-207 (2007)
- YAMAGUCHI K, MIYAZAKI M, TAKAMIZAWA T, INAGE H, MOORE B K: Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent* 34: 230-236 (2006)
- YATES R, OWENS J, JACKSON R, NEWCOMBE R G, ADDY M: A split-mouth placebo-controlled study to determine the effect of amorphous calcium phosphate in the treatment of dentine hypersensitivity. *J Clin Periodontol* 25: 687-692 (1998)