

BELA MRLJA- IZMEĐU PREVENCIJE I TERAPIJE

Dejan Marković,¹ Tamara Perić,¹ Bojan Petrović²

¹ *Klinika za dečiju i preventivnu stomatologiju, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu*

² *Klinika za stomatologiju Vojvodine, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu*

Sažetak

Savremeni principi minimalno invazivne stomatologije fokusirani su na prevenciju i ranu dijagnostiku oboljenja. U kariologiji ovakav pristup podrazumeva opsežnu analizu rizika za nastanak karijesa, kontrolu mikroorganizama dentalnog plaka, modifikaciju dijetetskog režima, kao i spoljašnju i unutrašnju remineralizaciju putem savremenih profilaktičkih i restaurativnih materijala koji otpuštaju fluoride. Mogućnost kontrole karijesa forsiranjem procesa remineralizacije u biofilmu na površini zuba predstavlja jedno od najznačajnijih dostignuća savremene stomatologije. Rana detekcija karijesne lezije i zaustavljanje akutnog toka obezbeđuju odlaganje operativnog tretmana (preparacija i restauracija kaviteta) do trenutka sigurne pojave kaviteta. U prevenciji i profilaksi karijesa danas su dostupna brojna hemioprofilaktička sredstva, kao i stomatološki materijali koji oslobađaju fluoride, kalcijum i fosfate u dužem vremenskom periodu.

White spot lesion - between prevention and therapy

Minimally invasive approach in cariology comprises a comprehensive caries-risk assessment, early caries detection, modification of the oral microflora, external and internal remineralization, and patient education. Today, numerous materials that release fluoride, calcium and phosphate throughout a considerable period of time are available for the caries prevention and prophylaxis.

The possibility of fluoride to prevent caries is one of the most studied topics in dentistry. The objective of fluoride application is to inhibit plaque bacteria, inhibit demineralization and enhance remineralization. Although there is a good evidence base for fluoride anticaries

effect, recent studies show certain limitations in the remineralization of white spot lesions. A remaining concern regarding the use of fluoride is the risk for fluorosis.

Apart from fluoride, there must be sufficient calcium and phosphate ions present before the enamel is possible to remineralize. The most examined calcium phosphate remineralization technology is the one based on casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP). In dental plaque CPP-ACP binds onto the surfaces of bacterial cells, as well as to the components of the intercellular plaque matrix. Incorporation of casein peptides into the plaque will increase the content of calcium and phosphate up to five fold by forming a stable solution that is supersaturated with respect to the calcium phosphates. The increase in plaque calcium and phosphate ions and ion pairs would balance any fall in pH, thereby preventing enamel demineralization.

Considering the infective nature of caries process, antibacterial agents (chlorhexidine), xylitol and replacement therapy (probiotics) have been suggested for the caries treatment. The aim of this approach is to attain the caries-preventive effect by decreasing the number of cariogenic microorganisms. However, data on the efficacy of these methods are controversial, so it is early to determine their potential to prevent new caries lesions and to arrest existing lesion.

Prevencija i rana dijagnostika oboljenja osnovni je postulat savremene stomatologije. Minimalno invazivni pristup u kariologiji podrazumeva opsežnu analizu rizika za nastanak karijesa, kontrolu mikroorganizama dentalnog plaka, modifikaciju dijetetskog režima, kao i spoljašnju i unutrašnju remineralizaciju putem savremenih profilaktičkih i restaurativnih materijala koji otpuštaju fluoride.

Najraniju fazu karijesa zuba predstavlja

početna lezija (*caries incipiens*), koja se ogleda u histološkim promenama gleđi. Početna karijesna lezija gleđi često se klinički teško prepoznaje. Serijom *in vivo* eksperimenata¹⁻³ utvrđeno je da se početna karijesna lezija klinički uočava tek nakon dve nedelje nesmetanog formiranja oralnog biofilma. Makroskopski se na površini zuba primećuje neprozirna, jasno ograničena promena, bela mrlja. Sa stanovišta preventivne stomatologije, rana identifikacija početne karijesne lezije gleđi od neprocenjivog je značaja, jer tokom ove faze oboljenje ima reverzibilan karakter.

Mogućnost kontrole karijesa forsiranjem procesa remineralizacije u biofilmu na površini zuba predstavlja jedno od najznačajnijih dostignuća savremene stomatologije. Rana detekcija karijesne lezije i zaustavljanje akutnog toka obezbeđuju odlaganje operativnog tretmana (preparacija i restauracija kaviteta) do trenutka sigurne pojave kaviteta. U prevenciji i profilaksi karijesa danas su dostupna brojna hemioprofilaktička sredstva, kao i stomatološki materijali koji oslobađaju fluoride, kalcijum i fosfate u dužem vremenskom periodu.

Preventivno-profilaktička sredstva u kontroli početne karijesne lezije

Fluoridi

Mogućnost prevencije karijesa različitim jedinjenjima fluora predstavlja jedno od najviše proučavanih pitanja u savremenoj stomatologiji. Sistemski primenjeni fluoridi u periodu razvitka zuba direktno se ugrađuju u kristalnu strukturu hidroksiapatita, formirajući manje rastvorljive apatitne kristale- fluorapatit i fluorhidroksiapatit.^{4,5} Lokalno aplikovani fluoridi ostvaruju značajnu ulogu u periodu posteruptivne maturacije gleđi kada se, zajedno sa drugim hemijskim elementima, akumuliraju u njenom najpovršnijem sloju. Relativno male količine fluorida se dodatno ugrađuju nakon završene maturacije.⁶

Lokalno aplikovani fluoridi ostvaruju tri osnovna mehanizma dejstva: inhibiciju bakterijskog metabolizma, inhibiciju procesa demineralizacije i pospešivanje procesa remineralizacije. Ova dejstva moguća su zahvaljujući prisustvu fluorida u pljuvački, dentalnom plaku na površini zuba i u

interkristalnoj tečnosti gleđi ili dentina. Fluoridi mogu da se akumuliraju u dentalnom plaku u koncentracijama i iznad 100 ppm,⁷ a njihova koncentracija u plaku je 50 do 100 puta veća nego u ukupnoj pljuvački.⁸ Koncentracija fluorida u rastvoru, neophodna za odvijanje procesa remineralizacije, manja je od one potrebne za inhibiciju demineralizacije ili za ispoljavanje antibakterijskog efekta.⁹

Prisustvo fluorida u površinskom sloju gleđi čini je otpornijom na kariogene nokse. Mada je najpoželjniji oblik fluorida fluorhidroksiapatit, osnovna reakcija koja se odvija prilikom lokalne aplikacije fluorida je transformacija površinskog hidroksiapatita u kalcijum-fluorid. Ova reakcija je uslovljena mnogobrojnim faktorima kao što su: koncentracija fluorida, pH rastvora i dužina kontakta sa gleđi.⁷ Depozicija kalcijum-fluorida nije trajan proces. Relativno brz gubitak fluorida javlja se tokom prvih 24 sata,¹⁰ a zatim se postepeno nastavlja tokom 15 dana.^{11,12} Ipak, usled prisustva fosfata i sloja bogatog proteinima na površini gleđi, kalcijum-fluorid se sporije razlaže u usnoj duplji nego u vodenom rastvoru, pa će svaka profesionalna aplikacija rezultirati manjom osetljivošću gleđi na inicijaciju i progresiju karijesnog procesa. Kalcijum-fluorid može delovati i kao depo fluorida neophodnih za remineralizaciju gleđi.¹³

Čak i male količine lokalno aplikovanih fluorida (1 ppm) redukuju rastvorljivost karbonatnog apatita na nivo rastvorljivosti hidroksiapatita.¹⁴ Ukoliko se tokom oslobađanja kiselih metabolita u plaku nalaze i fluoridi, difundovaće zajedno sa jonima vodonika u subpovršinske slojeve gleđi, gde će se adsorbovati na površinu kristala apatita. Delimično demineralizovane površine kristala početne karijesne lezije gleđi ponašaju se kao jezgra nove mineralizacije. Fluoridi pospešuju procese remineralizacije adsorbujući se na površinu kristala i privlačeći, pre svega, jone kalcijuma, a zatim i fosfatne jone iz pljuvačke i tečnosti dentalnog plaka. Ovo dovodi do formiranja novog mineralnog sloja koji ne sadrži karbonate, već se po sastavu nalazi između hidroksiapatita i fluorapatita i mnogo je slabije rastvorljiv u poređenju sa karbonatnim apatitom.^{14,15} Ipak, uprkos nesumnjivoj efikasnosti fluorida, novija istraživanja ukazuju na izvesna ograničenja remineralizacionih procesa nakon njihove primene usled nedovoljne koncentracije dostupnih

kalcijumovih i fosfatnih jona u biofilmu. Takođe, usled niske rastvorljivosti fluorida u prisustvu salivarnog kalcijuma i fosfata, nastupa brzo taloženje jona na površini karijesne lezije, što blokira dalju penetraciju minerala ka telu lezije.¹⁶

Antibakterijska sredstva (hlorheksidin)

Efikasnost hlorheksidina u kontroli dentalnog plaka dokazana je mnogobrojnim istraživanjima. Pri nižim koncentracijama, hlorheksidin narušava osmotski ekvilibrijum dovodeći do izlaska kalijuma i fosfora iz bakterijske ćelije i bakteriostatičkog efekta, dok pri višim koncentracijama nastupa precipitacija citoplazmatskog sadržaja i ćelijska smrt. Hlorheksidin pokazuje efikasnost protiv širokog spektra mikroorganizama dentalnog plaka, uključujući i *Streptococcus mutans*. Hlorheksidin je danas dostupan u obliku rastvora, pasti za zube, gelova, impregniranog zubnog konca, lakova, itd, pri čemu se najveći inhibicioni efekat na *Streptococcus mutans* postiže pomoću lakova sa hlorheksidinom, zatim gelovima i rastvorima za ispiranje usta.¹⁷

Uticaj hlorheksidina na redukciju karijesa još uvek je predmet kontroverzi, pre svega zbog različitih koncentracija i ispitivanih oblika primene. Usled nedostatka dugotrajnih kliničkih istraživanja, kao i jasno definisanih, standardizovanih protokola, u stručnoj literaturi po ovom pitanju ne postoji konsenzus.¹⁸ Van Rijkom i sar.¹⁹ su meta-analizom istraživanja, objavljenih između 1975. i 1994. godine, o karijes-inhibicionom efektu hlorheksidina u obliku gelova, rastvora i pasti ustanovili ukupnu redukciju karijesa od 46%. Rozier²⁰ je pokazao efikasnost hlorheksidina u obliku gela u populaciji sa visokim karijes-rizikom. Međutim, novija literatura²¹ ne pruža jedinstven zaključak o efikasnosti lakova sa hlorheksidinom. Frekvencija aplikovanja ovih lakova je izgleda od velikog značaja. Na osnovu pregleda literature zaključeno je da lakovi sa hlorheksidinom pokazuju umeren karijes-inhibicioni efekat ukoliko se aplikuju u intervalima od 3-4 meseca, kao i da njihov efekat biva oslabljen oko druge godine nakon poslednje aplikacije.²²

Imajući u vidu da hlorheksidin ne ispoljava remineralizacioni potencijal, već ostvaruje

efekat na oralne streptokoke, antibakterijski tretman najčešće zahteva sadejstvo fluorida.²³ Ipak, uprkos potrebi za razvojem i usavršavanjem novih proizvoda, hlorheksidin zaslužuje mesto jednog od najmoćnijih antibakterijskih sredstava koja se koriste u prevenciji i profilaksi karijesa.

Ksilitol

Ksilitol spada u grupu voluminoznih zaslađivača koji bakterijska vrsta *Streptococcus mutans* ne može da metaboliše,²⁴ usled čega su odstupanja oralnog pH značajno manja, te okruženje favorizuje neacidogene bakterije. Ksilitol takođe inhibira adheziju *Streptococcus mutans* za zube, zbog čega se preporučuje u kontroli vertikalne transmisije oralnih streptokoka.^{25,26} Sistematična upotreba žvakaćih guma sa ksilitolom dovodi do značajne redukcije relativnog rizika za nastanak karijesa,²⁷ kao i do zaustavljanja ili usporavanja razvoja karijesne lezije,²⁸ a još jedan pozitivan efekat je stimulacija salivacije žvakanjem. Veliki broj studija ukazuje da je primena ksilitola, pre svega u formi žvakaćih guma, efikasna u kontroli karijesa.²⁹ S druge strane, pojedini istraživači na osnovu pregleda literature zaključuju da objavljene studije o upotrebi žvakaćih guma sa ksilitolom ili sorbitolom ne pružaju jedinstven zaključak, te da su na ovom polju neophodna dodatna klinička istraživanja.³⁰

Probiotici (zamenska terapija)

Pristup prevenciji i ranoj terapiji karijesa pomoću probiotika podrazumeva selektivno dejstvo na (odonto)patogene bez narušavanja preostalog oralnog ekosistema.³¹ Jedan od značajnijih primera ovakvog pristupa predstavlja genetska modifikacija *Streptococcus mutans* koji ne produkuje mlečnu kiselinu, ali i dalje opstaje u usnoj duplji.^{32,33} Teorijski, avirulentni mikroorganizmi u usnoj duplji domaćina potpuno bi zamenili *Streptococcus mutans* koji izaziva oboljenje blokiranjem adherentnih tačaka, kompeticijom za hranu ili drugim mehanizmom. Najnoviji pristup u zamenskoj terapiji podrazumeva genetsku modifikaciju oralnih bakterija u smislu oslobađanja alkalnih metabolita i održavanja povoljne pH vrednosti oralnog biofilma.³⁴ Još

jednu mogućnost predstavlja redukcija broja patogena pomoću tzv. ciljanih antimikroba ili antimikrobnih peptida specifično (selektivno) usmerenih na *Streptococcus mutans*.^{35,36}

Sa stanovišta primene zamenske terapije u prevenciji karijesa kod ljudi, postavlja se pitanje kada bi trebalo izvršiti implantaciju modifikovanog soja. Pretpostavka je da bi adekvatan period bio neposredno nakon nicanja zuba, a pre infekcije virulentnim sojem.³⁷ Takođe, pitanje minimalno infektivne doze, kontrole transmisije novog soja unutar populacije, kao i pitanje apsolutne sigurnosti ovakvog pristupa još uvek nije definisano, pa je još uvek rano govoriti o mogućim efektima zamenske terapije u prevenciji i kontroli karijesa kod ljudi.

Poslednjih godina objavljeno je nekoliko kliničkih istraživanja u kojima je evaluiran efekat svakodnevnog konzumiranja namirnica (mlečni proizvodi, dražeje) obogaćenih probioticima na oralno zdravlje. Ustanovljena je smanjena kolonizacije usne duplje vrstom *Streptococcus mutans*,³⁸⁻⁴² kao i vrstom *Candida albicans*,^{42,43} a dva istraživanja^{42,44} pokazala su redukciju karijesa. Neželjeni efekti primene probiotskih kultura nisu uočeni. Takođe, mlečni proizvodi koji se obično koriste kao nosači probiotskih kultura ostvaruju dodatni puferski efekat.⁴⁵ S druge strane, probiotici primenjeni u obliku rastvora ili dražeja nisu pokazali efekat na broj oralnih streptokoka.⁴⁶ Zbog toga su, uprkos nesumnjivom potencijalu, na ovom polju neophodna dodatna, dobro kontrolisana klinička istraživanja sa pažljivo odabranim i definisanim bakterijskim sojevima, kao i njihovim nosačima.

Jedinjenja kalcijum-fosfata

Interesovanje za ulogu derivata kalcijum-fosfata u etiologiji karijesa potiče još iz 1930-ih godina, kada su obavljena i prva istraživanja. Tada je postavljena hipoteza da je povećana incidenca karijesa delom rezultat konzumiranja industrijski obrađene hrane, jer se prilikom obrade gube „prirodni protektivni agensi”, pre svega kalcijum-fosfati koji ostvaruju antikarijesni efekat.¹⁴¹ Šezdesetih godina prošlog veka prvi put je predložena upotreba suplemenata kalcijuma i fosfata u ishranu kako bi se sprečio nastanak karijesa.⁴⁷

Upotreba kalcijum-fosfata u prošlosti nije

postizala željenu kliničku efikasnost usled niske rastvorljivosti ovog jedinjenja, a posebno u prisustvu jona fluora. Nerastvorljive kalcijum-fosfate nije lako aplikovati niti lokalizovati na površini zuba za duži vremenski period, a za rastvaranje ovih jedinjenja i oslobađanje jona sposobnih da difunduju u subpovršinsku leziju gleđi neophodno je prisustvo kiseline. Zbog suštinski niske rastvorljivosti kalcijum-fosfata, a posebno kalcijum-fluorid-fosfata, veoma niske koncentracije oslobođenih kalcijumovih i fosfatnih jona će se inkorporirati u dentalni plak ili lokalizovati na površini zuba.⁴⁸

Danas, aktuelan koncept remineralizacije početne karijesne lezije gleđi preparatima na bazi kalcijum-fosfata podrazumeva tehnologije u kojima je kalcijum-fosfat dostupan u formi različitih kompleksnih jedinjenja.

Kalcijum-natrijum-fosfosilikat

Kompleks kalcijum-natrijum-fosfosilikat (NovaMin[®]) sastoji se od čestica bioaktivnog stakla koje se u dodiru sa oralnim tečnostima rastapaju, otpuštajući pri tome jone kalcijuma, natrijuma i fosfata. Bioaktivno staklo lako adherira za gleđ, a oslobođeni joni natrijuma dovode do porasta lokalnog pH do nivoa neophodnog za formiranje hidroksiapatita (pH=7), čime se omogućava remineralizaciono dejstvo kompleksa. Slobodni joni kalcijuma i fosfata nakon toga se talože na površini gleđi u formi kristalnog hidroksikarbonatnog apatita.⁴⁹

U eksperimentalnim uslovima, paste za zube sa fluoridima sa dodatkom kompleksa kalcijum-natrijum-fosfosilikat pokazale su veći remineralizacioni potencijal u poređenju sa standardnim pastama za zube (1100 ppm F).⁵⁰ Međutim, klinička efikasnost ovog kompleksa u prevenciji i terapiji početne karijesne lezije do sada nije utvrđena.

Neorganska jedinjenja kalcijuma i fosfata (amorfni kalcijum-fosfat)

Klinička primena amornog kalcijum-fosfata (Enamelon[™] tehnologija) podrazumeva odvojenu aplikaciju kalcijumove soli (npr. kalcijum-sulfat) i soli fosfata (npr. amonijum-fosfat). U usnoj duplji dve soli se mešaju sa pljuvačkom, što rezultira u trenutnoj precipitaciji amornog kalcijum-fosfata ili, u prisustvu jona fluora, amornog kalcijum-fluorofosfata. Amorfni kalcijum-fosfat se dalje transformiše u termodinamski stabilniju kristalnu fazu- hidroksiapatit, ali su pre toga joni kalcijuma i fosfata dostupni za procese

remineralizacije.⁴⁸

Nanokompleks kazeinski fosfopeptid-amorfni kalcijum-fosfat (CPP-ACP) i kazeinski fosfopeptid-amorfni kalcijum-fluorofosfat (CPP-ACFP)

Zbog nestabilne prirode amornog kalcijum-fosfata, neophodno je bilo definisati nosače ovog jedinjenja koji bi omogućili stabilizaciju kalcijumovih i fosfatnih jona, kao i dugotrajno prisustvo ovih jona na površini zuba putem adhezije za pelikulu ili plak.

Poznato je da mleko i mlečni proizvodi spadaju u grupu tzv. antikariogenih namirnica, a kao sastojci odgovorni za ovu aktivnost identifikovani su kazein, kalcijum i fosfati.⁵¹⁻⁵⁵ Mogućnost primene kazeina iz kravljeg mleka kao dodatka sredstvima za prevenciju karijesa opsežno je ispitivana, sa ciljem da se iskoristi osobina ovog jedinjenja kao biološkog nosača kalcijuma i fosfata.⁵⁶ Međutim, organoleptička svojstva ovog jedinjenja i veoma visoka koncentracija potrebna za ispoljavanje antikariogenog dejstva (17%) ograničavaju njegovu upotrebu.⁵⁷ S druge strane, utvrđeno je da razlaganje kazeinata tripsinom ne narušava sposobnost ovog proteina da učestvuje u prevenciji demineralizacije gleđi⁵⁸ i da kazeinski fosfopeptidi oslobođeni na ovaj način pokazuju izraženu sposobnost stabilizacije kalcijumovih i fosfatnih jona u rastvoru.⁵⁹

Antikariogeni efekat nanokompleksa CPP-ACP zasniva se na sposobnosti ovog jedinjenja da se inkorporira u dentalni plak, gde se vezuje za površinu bakterijskih ćelija, kao i za komponente intercelularnog matriksa.⁶⁰ Inkorporacija CPP-ACP u plak povećava sadržaj kalcijumovih i fosfatnih jona i do pet puta, odnosno deluje kao rezervoar jona koji održava supersaturaciju plaka ovim mineralima

u odnosu na gleđ. U uslovima pada pH plaka, CPP-ACP deluje kao pufer sprečavajući moguću demineralizaciju gleđi.⁶¹ Analizom oralnog biofilma formiranog u *in situ* modelu pomoću svetlosnog mikroskopa ustanovljeno je da CPP-ACP odlaže formiranje i maturaciju biofilma, što se objašnjava kompeticijom CPP-ACP i salivarnih komponenti u vezivanju za površinu zuba.⁶²

Remineralizacioni potencijal nanokompleksa CPP-ACP opsežno je ispitivan u *in situ* studijama koje su pokazale izuzetan antikariogeni efekat CPP-ACP i CPP-ACFP.⁶⁰⁻⁶⁹ Poredeći efekat 2% rastvora CPP-ACP i rastvora NaF različitih koncentracija pomoću mikroradiografije i mikrodenzitometrije, Reynolds i sar.⁶⁸ su pokazali da CPP-ACP ostvaruje značajno bolji remineralizacioni potencijal u poređenju sa 1100 ppm F i približno isti nivo remineralizacije u poređenju sa 2800 ppm F. Pri tome je rastvor 2% CPP-ACFP pokazao apsolutno superioran efekat, budući da je ostvareni stepen remineralizacije bio za 156% veći u odnosu na 1100 ppm F.⁶⁸

Zaključak

U prevenciji i terapiji početne karijesne lezije danas su dostupna mnogobrojna hemioprofilaktička sredstva. Problem u izboru adekvatnih preventivno-profilaktičkih mera predstavlja nedostatak dugotrajnih kliničkih istraživanja, a usled toga terapija je najčešće bazirana na iskustvu kliničara. Ipak, sa razvojem istraživanja i pojavom novih dokaza o efikasnosti opisanih sredstava očekuju se i jasno definisani protokoli za prevenciju oboljenja u različitim populacionim grupama.

LITERATURA

1. Holmen L, Thylstrup A, Årtun J. Clinical and histological features observed during arrestment of active enamel carious lesions in vivo. *Caries Res* 1987; 21:546-554.
2. Haris NO, García-Godoy F: Primary Preventive Dentistry, 6th ed. Pearson Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey, 2004.
3. Featherstone JDB. Delivery challenges for fluoride, chlorhexidine and xylitol. *BMC Oral Health* 2006; 6:S8.
4. Brun C. Uptake and retention of fluoride by intact enamel in vivo after application of neutral sodium fluoride. *Scand J Dent Res* 1973; 81:92-100.
5. Chandler S, Chiao CC, Fuerstenau DW. Transformation of calcium fluoride for caries prevention. *J Dent Res* 1982; 61:403-407.
6. Featherstone JD, Glana R, Shariati M, Shields CP. Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res* 1990; 69:620-625.
7. Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res* 2008; 42:88-97.
8. Emilson CG. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. *J Dent Res* 1994; 73:682-691.
9. Van Rijkom HM, Truin GJ, Van't Hof MA. A meta-analysis of clinical studies on the caries-inhibiting effect of chlorhexidine treatment. *J Dent Res* 1996; 75:790-795.
10. Zhang Q, van Palenstein-Helderman WH, van't Hof MA, Truin G-J. Chlorhexidine varnish for preventing dental caries in children, adolescents and young adults: a systematic review. *Eur J Oral Sci* 2006; 114:449-455.
11. Pihlanto-Leppala A, Söderling E, Mäkinen KK. Expulsion mechanism of xylitol 5-phosphate in *Streptococcus mutans*. *Scand J Dent Res* 1990; 98:112-119.
12. Isokangas P, Soderling E, Pienihakkinen K, Alanen P. Occurrence of dental decay in children after maternal consumption of xylitol chewing gum, a follow-up from 0 to 5 years of age. *J Dent Res* 2000; 79:1885-1889.
13. Mäkinen KK, Mäkinen PL, Pape HR Jr, Allen P, Bennett CA, Isokangas PJ, Isotupa KP. Stabilisation of rampant caries: polyol gums and arrest of dentine caries in two long-term cohort studies in young subjects. *Int Dent J* 1995; 45:93-107.
14. Lingström P, Holm AK, Mejäre I, Twetman S, Söder B, Norlund A, Axelsson S, Lagerlöf F, Nordenram G, Petersson LG, Dahlgren H, Källestål C. Dietary factors in the prevention of dental caries: a systematic review. *Acta Odontol Scand* 2003; 61:331-340.
15. Anderson MH, Shi W. A probiotic approach to caries management. *Pediatr Dent* 2006; 28:151-153.
16. Anusaviace KJ. Present and future approaches for the control of caries. *J Dent Educ* 2005; 69:538-554.
17. Çağlar E, Sandalli N, Twetman S, Kavaloglu S, Ergeneli S, Selvi S. Effect of yogurt with *Bifidobacterium* DN-173 010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. *Acta Odontol Scand* 2005; 63:317-320.
18. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T, Korpela R, Meurman JH. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res* 2001; 35:412-420.
19. Stecksén-Blicks C, Sjöström I, Twetman S. Effect of long-term consumption of milk supplemented with probiotic lactobacilli and fluoride on dental caries and general health in preschool children: a cluster-randomized study. *Caries Res* 2009; 43:374-381.
20. Lynch RJM, ten Cate JM. Effect of calcium glycerophosphate on demineralization in an in vitro biofilm model. *Caries Res* 2006; 40:142-147.
21. Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Austr Dent J* 2008; 53:268-273.
22. Young RD. Size and exposure time on tooth mineralization from NovaMin-containing dentifrices. NovaMin Research Memo. San Antonio: Southwest Research Institute, 1998.
23. Reynolds EC, Johnson IH. Effect of milk on caries incidence and bacterial composition of dental plaque in the rat. *Arch Oral Biol* 1981; 26:445-451.
24. Reynolds EC, Black CL. Cariogenicity of a confection supplemented with sodium caseinate at a palatable level. *Caries Res* 1989; 23:368-370.
25. Reynolds E. 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; 26: 1120-1127.
26. 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; 82:206-211.
27. 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; 36:272-280.
28. Perić T. Antikarijesni potencijal kalcijum-fosfata kod osoba sa hipofunkcijom pljuvačnih žlezda. Doktorska disertacija. Stomatološki fakultet. Beograd, 2011.
29. Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Walker GD, Morgan MV, Reynolds C. Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2008; 87:344-348.