

Účinek fluoridovaného mléka na progresi povrchových kariézních lézí na kořeni zubu *in vitro* při cyklických změnách pH prostředí

Ivančaková R., Harless J. D., Hogan M. M., Wefel J. S.

Stomatologická klinika LF UK a FN, Hradec Králové,
přednostka doc. MUDr. V. Hubková, CSc.
Dows Institute for Dental Research, College of Dentistry, University
of Iowa, USA

Souhrn

Cílem práce bylo zhodnocení účinku samotného mléka a fluoridovaného mléka s obsahem 2,5 a 5,0 ppm fluoru na progresi a remineralizaci kariézních lézí na povrchu zubního kořene při cyklických změnách pH prostředí. Kariézní léze na kořeni zubu byly vytvořeny za použití kyseliny mléčné při pH 4,6. Takto vytvořené léze byly podíl- ně nařezány a analyzovány pomocí mikroskopie v polarizovaném světle (PLM) a mikroradiografie (MRG). Jedno- tlivé vzorky byly potom pokryty acidorezistentním lakem kromě vytvořené kazivé léze. Kariézní léze byly násled- ně vystaveny působení vody, mléka nebo fluoridovaného mléka v průběhu cyklických změn pH prostředí – demineralizace a remineralizace po dobu 2 týdnů. Po skončení experimentu byly léze opět hodnoceny pomocí PLM a MRG. Obě metody prokázaly signifikantní redukci progresse kazivé léze (33,2%), a to jak v případě mléka samot- ného, tak mléka fluoridovaného ve srovnání s kontrolou (voda). Kvantitativní mikroradiografie (MRG) sledovala změny minerálního obsahu a distribuce minerálů uvnitř léze. Výsledky potvrdily předpokládaný protektivní efekt fluoridovaného mléka na kaz zubního kořene, neboť došlo jak k redukci progresse léze tak ke zvýšení obsahu mine- rálů uvnitř léze.

Klíčová slova: fluoridované mléko - kaz kořene - cyklické změny pH - demineralizace - remineralizace

Ivančaková R., Harless J. D., Hogan M. M., Wefel J. S.: Effect of Fluoridated Milk on Progression of Root Surface Lesions *in vitro* under pH Cycling Conditions

Summary. The aim of this study was to assess the effect of milk with 0, 2.5 or 5 ppm F- on progression and remineralization of caries-like root-surface lesions using a pH cycling model. The root-surface lesions were created utilizing a partially saturated lactic acid buffer at pH 4.6. Longitudinal sections were cut through the lesion and analyzed using polarized light microscopy (PLM) and microradiography (MRG). The sections were then coated with an acid resistant varnish, except the outer natural surface that would be exposed to water, milk or fluo- ridated milk for 2 weeks and cycled in a de- and remineralizing system. The lesions were characterized again by PLM and MRG after treatment. A significant reduction in lesion progression (33.2%) was found by PLM and MRG after treatment with either non-fluoridated or fluoridated milk when compared to the control group. Using quan- titative MRG, mineral change and distribution in the lesions were recorded. A possible protective effect of fluori- dated milk on root surface caries was supported by a reduction in the progression of the lesions and an increase in the mineral content within the lesion.

Key words: fluoridated milk - root caries - pH cycling - demineralization - remineralization

Prakt. zub. Lék., roč. 55, 2007, č. 4, s. 67–72.

ÚVOD

Fluoridy hrají důležitou roli v prevenci kazu skloviny a dentinu. Fluoridové ionty podobně jako ve sklovině vedou k redukci kazivých lézí na povrchu kořene zubu, omezují progresi těchto lézí a podporují jejich remineralizaci, což opakovaně potvrdily klinické i laboratorní studie [13, 25, 2, 11]. Několik klinických studií potvrdilo, že fluo- ridace vody [3, 4, 14], fluoridové výplachy [24] a používání fluoridové zubní pasty [15] vedly

k poklesu výskytu kariézních lézí na povrchu kořene zubu.

Preventivní účinek fluoridovaného mléka ve vztahu ke kazu skloviny byl prokázán jak na řadě klinických studií, tak experimentálně v laboratoři [20]. Zatím však nebyly publikovány žádné informace, týkající se možného preventiv- ního účinku fluoridovaného mléka na kaz kořene, resp. dentinu. Biologickou dostupnost iontů fluo- ru z fluoridovaného mléka potvrdily práce, prová- děné jak *in vitro*, tak *in vivo* [19, 8]. Mléko samot-

né je bohaté na vápenaté a fosfátové ionty, tuky a bílkoviny a studie prováděné in vitro prokázaly schopnost mléka remineralizovat kariézní léze ve sklovině [17].

Histopatologie kazu kořene je odlišná od kazu sklovin. Na rozdíl od sklovin je remineralizace dentinu poněkud složitější. Při destrukci dentinu nedochází pouze ke ztrátám minerálů, ale také k rozrušení kolagenové matrix proteolytickými enzymy [6]. Proto remineralizace dentinu je ovlivněna množstvím zbylých minerálů, organické matrix a ultrastrukturální přestavbou zubních tkání.

Pozitivní role fluoridů na mineralizaci zubních tkání je dobře známá. Není však zřejmé, zda mléko, bohaté na vápník a fosfáty, bude potencevat nebo naopak blokovat účinek fluoridů na tvorbu kariézních defektů postihujících zubní kořen. Cílem této práce bylo zhodnotit efekt mléka samotného a mléka s obsahem 2,5 a 5 ppm fluoru na progresi a remineralizaci povrchových kořenových lézí na modelu imitujícím cyklické změny pH prostředí tak, jak je tomu v ústní dutině.

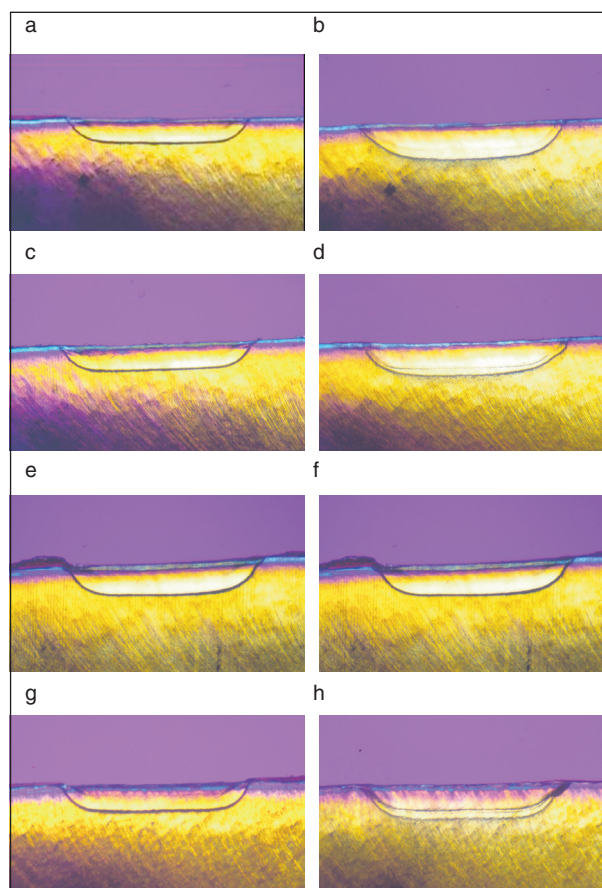
MATERIÁL A METODIKA

Roztoky

Demineralizační a remineralizační roztoky byly připraveny rozpuštěním daných chemických látek v deionizované vodě. Demineralizační roztok obsahoval 2,2 mM CaCl_2 , 2,2 mM NaH_2PO_4 a 0,05 M kyselinu octovou. pH roztoku bylo upraveno na hodnotu 4,6 pomocí 1M KOH. Remineralizační roztok obsahoval 1,5 mM CaCl_2 , 0,9 mM NaH_2PO_4 , 0,15 M KCl a jeho pH bylo upraveno na hodnotu 7. Tyto roztoky jsou shodné s těmi, které ve svých studiích používali TenCate a Duijsters (1982). Testoványi roztoky bylo pasterované mléko s obsahem 2% tuku, fluoridované mléko s 2,5 ppm fluoru a 2% tuku a fluoridované mléko s 5 ppm fluoru a 2% tuku. K přípravě fluoridovaného mléka byl použit běžně dostupný standardní roztok fluoru (Orion Research, Beverly, Mass., USA) obsahující 100 ppm NaF. Veškeré mléko bylo zakoupeno v místní obchodní síti v Iowa City, Iowa, USA.

Příprava kariézních lézí

K přípravě kariézních lézí byly použity extrahované lidské moláry. Zuby byly nejprve očištěny od zbytků měkkých tkání a prohlédnuty, zda nejsou poškozeny mechanicky, či zda nejsou v gingivální třetině zubní korunky napadeny zubním kazem. Zubní korunky poté byly pokryty barevným lakem na nehty, odolným v kyselém prostředí tak, že na zdravém, intaktním povrchu kořene bylo ponecháno úzké okénko široké přibližně 1 mm a dlouhé 5 až 6 mm. Po dokonalém zaschnutí laku byly zuby ponořeny do demineralizačního roztoku (300 ml) na dobu 96 hodin, aby došlo k vytvoření kariézních lézí o hloubce



Obr. 1. Mikrofotografie v polarizovaném světle in vitro vytvořených kariézních lézí na povrchu kořene zubu po demineralizaci (obrázky na levé straně) a po 2 týdnech experimentu (obrázky na pravé straně) u kontrolní skupiny (a,b), u samotného mléka (c,d), mléka + 2,5 ppm F (e,f) a mléka + 5 ppm F (g,h).

zhruba 150-180 μm . Takto vytvořená léze na povrchu kořene byla longitudinálně nařezána vodou chlazeným diamantovým kotoučem na jednotlivé řezy o síle přibližně 100-150 μm pomocí Silverston-Taylorova mikrotomu. Jednotlivé řezy byly poté vyjmuty a uchovány v deionizované vodě.

Pro vlastní studii bylo vybráno 40 řezů, na kterých byly kazivé léze uniformní pokud se týká hloubky, minerálních ztrát a tloušťky cementu. Hloubka lézí byla měřena pomocí mikroskopie v polarizovaném světle (PLM). Mikroradiografie (MRG) byla použita ke stanovení hloubky a obsahu minerálů uvnitř jednotlivých kazivých defektů. Všechny řezy zubních tkání byly před a po dobu mikroskopického vyšetření uchovávány pouze v deionizované vodě. Před zahájením vlastního pokusu byl každý řez za použití stereomikroskopu pokryt vrstvičkou transparentního laku kromě původního zevního povrchu zubu. Pro lepší manipulaci byla ke každému řezu připevněna dentální nit. Jednotlivé řezy kořenem zubu byly náhodně rozděleny do 4 skupin, 10 řezů v každé skupině.

Testované skupiny

Ve skupině 1 byla pokusným roztokem deionizovaná voda a tato skupina sloužila jako kontrola. U skupiny 2 bylo tzv. léčebným roztokem samotné mléko s obsahem 2% tuku, zatímco ve skupině 3 a 4 bylo použito fluoridované mléko. Ve skupině 3 bylo testováno fluoridované mléko s obsahem 2,5 ppm fluoru a ve skupině 4 s obsahem 5 ppm fluoru.

Model imitující cyklické změny pH

Schéma cyklických změn pH bylo stanoveno přibližně tak, aby korespondovalo s dynamikou pH ústního prostředí. Každý cyklus zahrnoval 4 hodiny demineralizace, 6 hodin byly léze vystaveny účinku jednotlivých testovaných roztoků a 14 hodin remineralizace po dobu 2 týdnů. Demineralizační a remineralizační roztoky byly čerstvě připravovány každý třetí den, testované roztoky (250 ml pro každou skupinu) byly připravovány denně čerstvé a kontinuálně byly promíchávány po celou dobu trvání experimentu.

Techniky použité pro hodnocení experimentu

Všechny řezy s vytvořenými kariézními lézemi byly po skončení experimentu hodnoceny pomocí PLM ve vodním médiu (Olympus BH-2 s PM10AD mikrofotografický systém, Olympus Corp., Lake Success, N.Y., USA). Mikrofotografie každé léze byly zhotovovány před a po 2týdenním experimentu na modelu imitujícím cyklické změny pH.

Jejich hloubka byla měřena promítnutím mikrofotografií na podložku přes digitální zpětný projektor. Léze vyfotografované před a po vlastním experimentu byly promítány za stejných podmínek na jednu a tutéž podložku a zakreslením hloubky lézí jsme zjišťovali jejich progresi. Mikroradiografy jsme zhotovovali fixací jednotlivých řezů na aluminiový proužek se stupňovitě dělenou denzitou. Poté jsme vše připevnili na fotografický film Kodak a jednotlivé vzorky jsme ozařovali dávkou 70 kV a 3 mA po dobu 2,5 minuty (Faxitron Model 43855A). K vyvolání filmu jsme použili standardní chemikálie dodávané firmou Kodak. Mikroradiografy byly vyhodnoceny pomocí CCD kamery a systému pro analýzu mikroradiografických obrázků (Image Pro Plus, 4.1, MediaCybernetics, Silver Spring, Md., USA). Pro radiografické měření denzity jednotlivých lézí před a po experimentu jsme použili odpovídající zobrazovací software. Jednotlivá měření denzity byla převedena pomocí speciálně konstruovaného počítačového programu, který využitím stupnice denzity na aluminiovém proužku kalkuloval obsah minerálů uvnitř lézí a porovnával ho s minerálním obsahem zdravé tkáně 26,5. Předpokládali jsme, že minerální obsah zdravé tkáně zubního kořene je 47% v/v. Výsledky byly vyhodnoceny jako hodnoty ΔZ a jednotkami byly vol% μm . Změny, ke kterým došlo v průběhu experimentu, byly porovnávány mezi všemi čtyřmi skupinami. Všechna měření hloubky lézí a minerál-

ní denzity byla prováděna od původního horního okraje léze, který jsme standardně značili vodorovnou přímkou. Tím jsme minimalizovali chyby, kdy v důsledku vysychání lézí dochází k jejich smrštění.

Statistické hodnocení

Pro deskriptivní statistiku jsme použili průměrné hodnoty jednotlivých měření u všech experimentálních skupin a standardní odchylku. Statistické hodnocení jsme prováděli pomocí ANOVA testu a Student-Newman-Keuls testu, který porovnával rozdíly mezi jednotlivými skupinami (GraphPad InStat 3.00 pro Windows 95, GraphPad Software, San Diego, Calif. USA). Hladina statistické významnosti pro všechny testy byla stanovena $p < 0,05$.

VÝSLEDKY

Obrázek 1 znázorňuje kariézní léze na povrchu kořene zubu zobrazené pomocí PLM. Obrázky na levé straně představují léze vzniklé po iniciální demineralizaci (pre-treatment), na pravé straně jsou potom zobrazeny identické léze po 2 týdnech cyklických změn pH prostředí (post-treatment). Na obrázcích jsou patrné rozdíly mezi jednotlivými skupinami, tj. kontrolní skupinou (obr. 1a, b), skupinou, kde testovacím roztokem bylo samotné mléko (obr. 1c, d), skupinou mléko + 2,5 ppm F (obr. 1e, f) a skupinou mléko + 5,0 ppm F (obr. 1g, h). V případě, že k uchování jednotlivých řezů ve vlhkém prostředí byla použita voda, hodnocení pomocí PLM umožnilo přímé stanovení hloubky kariézních lézí, neboť hranice mezi tělem léze a zdravou tkání byla zřetelná. Po 2 týdnech experimentu došlo u všech lézí k jejich prohloubení ve srovnání s původním defektem.

V tabulce 1 jsou uvedeny průměrné hodnoty hloubky kariézních lézí v jednotlivých experimentálních skupinách před a po experimentu měřené pomocí PLM, rozdíly mezi skupinami a jejich statistická významnost. Podobné výsledky, pokud se týká hloubky lézí, jsme získali při použití MRG. Pomocí vodorovné přímky, kterou jsme označili původní okraj léze od kterého se pak měřila vlastní hloubka, jsme minimalizovali chybu, vzniklou smrštěním léze v důsledku jejího vysychání. Hloubka kariézních lézí u kontrolní skupiny se zvětšila podstatně více ($p < 0,05$) ve srovnání s ostatními třemi experimentálními skupinami. K nejmenší progresi lézí došlo u skupiny, kde experimentálním roztokem bylo mléko s 5,0 ppm F (skupina 4). U této skupiny se hloubka kariézních defektů zvětšila pouze o 16 %, což byl statisticky významný rozdíl oproti všem ostatním skupinám, včetně skupiny mléko + 2,5 ppm F. Samotné mléko mělo přibližně stejný účinek jako mléko s 2,5 ppm F.

V tabulce 2 jsou uvedeny hodnoty obsahu minerálů (ΔZ) uvnitř těla léze před a po experimentu získané pomocí kvantitativní mikroradiografie. Vzestup hodnoty ΔZ znamená zvýšenou

Tab. 1. Hloubka kariézních lézí na povrchu zubního kořene v μm (průměr \pm SD). Hodnoty zjištěné pomocí mikroskopie v polarizovaném světle (PLM)

Skupina	N	PRE	POST	Zvětšení hloubky	%	Porov. skupin
1	10	172.5 \pm 21.5	229.5 \pm 22.9	57.0 \pm 7.1	33.2 \pm 4.9	A
2	10	163.5 \pm 8.5	199.0 \pm 9.9	35.5 \pm 6.4	21.7 \pm 4.3	BC
3	10	159.0 \pm 11.5	192.5 \pm 9.5	33.5 \pm 4.1	21.1 \pm 3.5	C
4	10	169.0 \pm 12.5	196.5 \pm 11.3	27.5 \pm 4.2	16.4 \pm 3.5	D

$$\% = (\text{post} - \text{pre}) / \text{pre} * 100$$

Tab. 2. Změny obsahu minerálů uvnitř těla kariézní léze (ΔZ) (průměr \pm SD). Hodnoty zjištěné pomocí kvantitativní mikroradiografie (MRG)

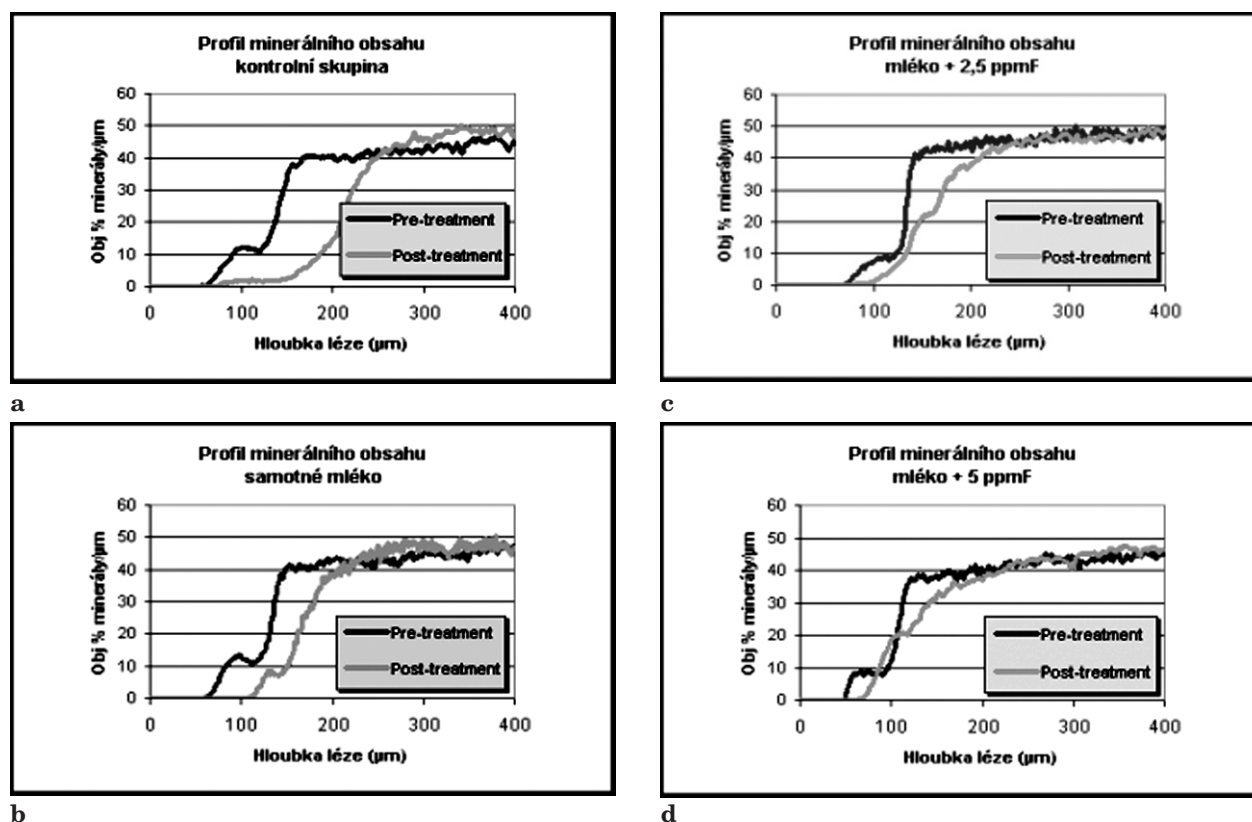
Skupina	N	PRE ΔZ	POST ΔZ	Vzestup ΔZ	%	Porov. skupin
1	10	5665 \pm 599	7702 \pm 353	2038 \pm 498	37.0 \bar{I} 11.5	A
2	10	5355 \pm 373	7125 \pm 265	1770 \pm 379	33.5 \bar{I} 8.7	ABC
3	10	5545 \pm 726	6667 \pm 830	1123 \pm 789	21.2 \bar{I} 16.6	C
4	10	5456 \pm 898	6781 \pm 689	1325 \pm 489	25.9 \bar{I} 12.5	ABC

minerální ztrátu z oblasti kazivé léze. K minerálním ztrátám došlo u všech zkoumaných skupin v důsledku cyklických změn pH prostředí, ale v těch skupinách, kde experimentálním roztokem bylo mléko samotné nebo fluoridované mléko, byly minerální ztráty menší v porovnání s kontrolní skupinou (skupina 1). Statisticky významný rozdíl v minerálních ztrátách oproti kontrole byl zaznamenán pouze u skupiny 3 ($p < 0,05$). Výsledky získané pomocí MRG naznačují, že jak mléko samotné, tak fluoridované, by mohlo mít protektivní účinek na kaz zubního kořene a byly podobné těm, které jsme získali pomocí PLM. Pří-

klady minerálního profilu kariézní léze z každé skupiny stanovené před a po 2týdenním experimentu jsou znázorněny na grafu 1. Na těchto křivkách lze zaznamenat povrchovou ztrátu minerálů (smrštění) jako vzdálenost mezi začátkem křivky (0 μm) na ose x a bodem, kde byly poprvé minerály detekovány (50 – 75 μm).

DISKUSE

Vysoký obsah vápníku v mléku (1200 mg/l) vedl v minulosti k domněnce, že u fluoridovaného



Graf 1. Minerální profily identických lézí po demineralizaci (pre-treatment) a po 2 týdnech experimentu (post-treatment) u kontrolní skupiny (a), samotného mléka (b), mléka + 2,5 ppm F (c) a mléka + 5 ppm F (d).

mléka dochází k interakci mezi vápenatými a fluoridovými ionty a následné precipitaci fluoridu vápenatého. Pozdější výzkum v této oblasti však prokázal, že pokud se koncentrace fluoru ve fluoridovaném mléku pohybuje v rozmezí 2-5 ppm (mg/l), k této precipitaci nedochází. U fluoridovaného mléka je pouze malé množství vápníku (80 mg/l) ve formě volných iontů [12], což je nedostatečné pro tvorbu precipitátů fluoridu vápenatého.

Naše výsledky prokázaly statisticky významnou redukci progresu kariézních lézí na kořeni zubu, pokud tyto byly vystaveny působení nefluoridovaného i fluoridovaného mléka ve srovnání s kontrolní skupinou. Řada studií prokázala, že pozitivní účinek fluoridů je závislý na dávce [9], což se projevuje tvorbou minerálních bariér uvnitř těla léze. Heilman a spol. [11] popsali tvorbu minerálních bariér v případě, že fluor byl přítomen v demineralizačním a remineralizačním roztoku. Jiní autoři popisují vzestup obsahu minerálů jak uvnitř těla léze, tak na jejím povrchu [1, 2, 16, 18]. Tyto experimenty se však prováděly za poněkud odlišných podmínek. Buďto byly kořenové léze trvale ponořeny v demineralizačním roztoku, nebo byla v experimentu použita mnohem vyšší koncentrace fluoru.

V porovnání s výsledky studií, hodnotících účinek fluoridů při remineralizaci kariézních defektů na kořeni zubu, byla tvorba minerálních bariér v našem experimentu mnohem méně patrná. To lze vysvětlit tím, že jsme studii prováděli v prostředí cyklických změn pH, kdy pravidelně docházelo k opětovné demineralizaci. Další příčinou by mohla být skutečnost, že koncentrace fluoridů v našem experimentu byly podstatně nižší ve srovnání s pracemi, kde je popisována zřetelná tvorba minerálních bariér.

Ačkoli profil minerálního obsahu neukázal žádný ostrý vzestup charakterizující zvýšenou depozici minerálů v těle léze, přesto lze jak mléko samotné tak fluoridované považovat za prospěšné ve vztahu k rozvoji kazivých defektů na povrchu kořene zubu. Toto lze vysvětlit několika faktory. Za prvé, koncentrace fluoridů v mléce je limitována, abychom předešli tvorbě precipitátů fluoridu vápenatého. Koncentrace 5,0 ppm fluoru, použitá v našem experimentu, je relativně nízká ve srovnání s koncentrací fluoridů v zubních pastách a fluoridových roztocích používaných k výplachům ústní dutiny. Za druhé, remineralizace může být také podmíněna časem, po který jsou zubní tkáně v kontaktu s látkou navozující mineralizaci. Doba trvání našeho experimentu, 2 týdny, při cyklických změnách pH prostředí zřejmě nebyla dostatečná pro manifestaci podstatnějších změn uvnitř těla kazivé léze.

Možná se může zdát překvapivé, že mléko samotné mělo téměř stejný protektivní účinek jako mléko s obsahem 2,5 ppm fluoru. Vápník obsažený v mléce může potencovat remineralizační účinek roztoku při cyklických změnách pH prostředí. Je také možné, že existuje určitá minimální koncentrace fluoridů, kdy ještě lze hovořit o protektivním účinku. Ať se jedná o jakýkoli

mechanismus, pozitivní účinek fluoridovaného mléka byl v naší studii prokázán tím, že došlo k statisticky významné redukci progresu kariézních lézí.

Přesto, že naše práce je zaměřena zejména na lokální účinek fluoridovaného mléka, je důležité připomenout, že fluoridované mléko představuje rovněž zdroj systémové fluoridové suplementace, podobně jak tomu je v případě fluoridované vody. Epidemiologické studie prokázaly, že u jedinců žijících v oblastech s fluoridovanou vodou došlo až k 50% redukci výskytu kazu na povrchu zubního kořene [4, 14]. Důraz na prevenci kazu kořene by neměl být podmíněn pouze vyšší rozpustností dentinu, ale také tím, že ošetření těchto defektů je velmi obtížné.

To je důležité zvláště pro dospělé jedince, kteří jsou vystaveni zvýšenému riziku vzniku kazu kořene v důsledku vyššího počtu gingiválních recesů a obnažených ploch na kořeni zubu.

Fluoridované mléko má zřejmě významný ochranný účinek na zubní sklovinu. Řada klinických studií potvrdila ochranný efekt fluoridovaného mléka v případě kazu skloviny u dětí. Naše studie přinesla první výsledky dokumentující ochranný účinek fluoridovaného mléka na dentin v daných experimentálních podmínkách. Pokud se tyto výsledky potvrdí klinicky, fluoridované mléko může hrát významnou roli v prevenci zubního kazu u dětí i dospělých. Další výzkum je zapotřebí k potvrzení této domněnky a ke stanovení koncentrace fluoridů, která by byla dostatečná v prevenci kazu na povrchu kořene zubu.

LITERATURA

1. **Arends, J., Christoffersen, J., Ruben, J., Jongebloed, W. L.:** Remineralization of bovine dentine *in vitro*: The influence of the fluoride content in solution on mineral distribution. *Caries Res.*, 23, 1989; s. 309-314.
2. **Arends, J., Ruben, J. L., Christoffersen, J., Jongebloed, W. L., Zuidgeest, T. G. M.:** Remineralization of human dentine *in vitro*. *Caries Res.*, 24, 1990, s. 432-435.
3. **Brustman, B.:** Impact of exposure to fluoride-adequate water on root surface caries in the elderly. *Gerodontology*, 1986, 2, s. 203-207.
4. **Burt, B. A., Ismail, A. I., Eklund, S. A.:** Root caries in an optimally fluoridated and a high fluoride community. *J. Dent. Res.*, 65, 1986, s. 1154-1158.
5. **Chow, L. C., Takagi, S., Tung, W., Jordan, T. H.:** Digital image analysis assisted microradiography: Measurement of mineral content of caries lesion in teeth. *J. Res. NIST*, 96, 1991, s. 203-214.
6. **Clarkson, B. H., Hall, D. L., Heilman, J. R., Wefel, J. S.:** Effect of proteolytic enzymes on caries lesion formation *in vitro*. *J. Oral. Pathol.*, 15, 1986, s. 423-429.
7. **Clarkson, B. H., Feagin, F. F., McCurdy, S. P., Sheetz, J. H., Speirs, R.:** Effect of phosphoprotein moieties on the remineralization of human root caries. *Caries Res.*, 25, 1991; s. 166-173.
8. **Cutress, T. W., Suckling, G. W., Coote, G. E., Gao, J.:** Uptake of dietary fluoride from milk into the developing teeth of sheep (abstract). *J. Dent. Res.*, 74, 1995, s. 564.
9. **Ettinger, R. L., Bergman, W., Wefel, J. S.:** Effect of fluoride on overdenture abutments. *Am. J. Dent.*, 1994, 7, s. 17-21.
10. **Feagin, F. F., Graves, C. N.:** Evaluation of the effect of fluoride in acidified gelatin gel on root surface lesion development *in vitro*. *Caries Res.*, 22, 1988, s. 145-149.

11. **Heilman, J. R., Jordan, T. H., Warwick, R., Wefel, J. S.:** Remineralization of root surfaces demineralized in solutions of differing fluoride levels. *Caries Res.*, 31, 1997, s. 423-428.
12. **Holt, C., Dagleish, D. G., Jennes, R.:** Calculation on the ionic equilibria in milk diffusate and comparison with experiment. *Anal. Biochem.*, 113, 1981, s. 154-163.
13. **Hoppenbrouwers, P. M. M., Driessens, F. C. M., Broggren, J. M. P. M.:** The mineral solubility of human tooth roots. *Arch. Oral. Biol.*, 32, 1987, s. 319-322.
14. **Hunt, R. J., Eldridge, J. B., Beck, J. D.:** Effect of residence in a fluoridated community on the incidence of coronal and root caries in an older adult population. *J. Publ. Health Dent.*, 49, 1989, s. 138-141.
15. **Jensen, M. E., Kohout, F.:** The effect of a fluoridated dentifrice on root and coronal caries in an older adult population. *J. Am. Dent. Assoc.*, 117, 1988, s. 829-832.
16. **Kawasaki, K., Ruben, J., Tsuda, H., Huysmans, M. C. D. N. J. M., Takagi, O.:** Relationship between mineral distribution in dentine lesions and subsequent remineralization *in vitro*. *Caries Res.*, 34, 2000, s. 395-403.
17. **McDougall, W. A.:** Effect of milk on enamel demineralization and remineralization *in vitro*. *Caries Res.*, 11, 1977, s. 166-172.
18. **Mukai, Y., Lagerweij, M. D., TenCate, J. M.:** Effect of a solution with high fluoride concentration on remineralization of shallow and deep root surface caries *in vitro*. *Caries Res.*, 35, 2001, s. 317-324.
19. **Phillips, P. C.:** Fluoride availability in fluoridated milk system. *Caries Res.*, 29, 1995, s. 237.
20. **Stephen, K. W., Banoczy, J., Pakhomov, G. N.:** Milk fluoridation for the prevention of Dental Caries. WHO/BDMF; Geneva, 1996.
21. **Ten Cate, J. M., Duijsters, P. P. E.:** Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesion. *Caries Res.*, 16, 1982, s. 201-210.
22. **TenCate, J. M., Buijs, M. J., Damen, J. J. M.:** pH-cycling of enamel and dentin lesions in the presence of low concentrations of fluoride. *Eur. J. Oral. Sci.*, 103, 1995, s. 362-367.
23. **Toth, Z., Ginter, Z., Banoczy, J., Phillips, P. C.:** The effect of fluoridated milk on human dental enamel in an *in vitro* demineralization model. *Caries Res.*, 31, 1997, s. 212-215.
24. **Wallace, M. C., Retief, D. H., Bradley, E. L.:** The 48-month increment of root caries in an urban population of older adults participating in a preventive dental program. *J. Publ. Health Dent.*, 53, 1993, s. 133-137.
25. **Wefel, J. S., Clarkson, B. H., Heilman, J. R.:** Histology of root surface caries: in Thylstrup A., Leach S. A., Quist A. (eds): *Dentine and dentine reactions in the oral cavity*. Oxford, IRA Press, 1987, s. 117-125.
26. **Wefel, J. S., Heilman, J. R., Jordan, T. H.:** Comparison of *in vitro* root caries models. *Caries Res.*, 29, 1995, s. 204-209.

MUDr. Romana Ivančaková, CSc.
Stomatologická klinika LF UK a FN
Sokolská 581
500 06 Hradec Králové
e-mail: ivancakova@lfhk.cuni.cz

Psychiatrická léčebna Horní Beřkovice přijme okamžitě do pracovního poměru samostatně pracujícího lékaře stomatologa pro zubní ambulanci. Možnost zkráceného pracovního úvazku, případně dohody o pracovní činnosti. Vhodné i pro pracující důchodce.

Požadavky: zákon č. 95/2004 Sb.

Platové podmínky dle nařízení vlády 564/2006 Sb.

Kontakt: reditel@plberkovice.cz
 jana.zimanova@plhberkovice.cz
 telefon: 416 808 111