

بررسی اروژن ناشی از نوشابه‌های ایرانی و خارجی بر روی مینای دندانهای دائمی به

روش میکروسکوپ الکترونی و استریومیکروسکوپی

دکتر مسعود فلاحتیزاد قاجاری^{*}، دکتر سپیده نبوی رضوی^{**}

چکیده

سابقه و هدف: اروژن ناشی از اسیدهای با منشأ خارجی و نوشابه‌های اسیدی به دمینرالیزاسیون و از بین رفتن تدریجی لایه سطحی مینا منجر می‌شود. هدف مطالعه حاضر بررسی پتانسیل اروژن نوشابه موجود در بازار ایران به نام‌های زمزم کولا، زمزم نارنجی، پیسی و میراندا به روش اسکن الکترون میکروسکوپی می‌باشد.

مواد و روشها: در این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی دو نوشابه ایرانی زمزم کولا و زمزم پرتقالی و دو نمونه خارجی پیسی و میراندا (مشابه ترکیبات نوشابه‌های ایرانی) مورد بررسی قرار گرفتند. از هر نوع نوشابه، ۱۰ عدد دندان پره مولر سالم که برای درمان ارتوپدنی کشیده شده بودند به طور تصادفی به سه گروه A و B و C (هر گروه ۴۰ دندان) تقسیم شدند. مدت زمان exposure هر گروه از دندان‌ها به نوشابه‌ها یا محلول‌ها به ترتیب زیر بود: گروه A: ۱۵ دقیقه گروه B: ۴۵ دقیقه و گروه C: ۱۲ دقیقه. هر یک از سه گروه A و C به چهار زیر گروه (هر زیر گروه ۱۰ دندان) تقسیم شدند و هر زیر گروه در معرض یکی از چهار نوشابه داخلی یا خارجی قرار گرفت. سطح expose شده به نوشابه‌ها در مورد همه دندان‌ها یک نیم‌دایره به قطر ۵ میلی‌متر روی سطح باکال آنها بود. از هر یک از ۱۲ گروه دو نمونه دندان به طور تصادفی انتخاب شده و با میکروسکوپ الکترونی (SEM) مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: در این تحقیق درجات متفاوتی از انحلال پریسم‌های مینایی با SEM نشان داده شد که نشان‌دهنده از دست رفتن سر Prism‌ها و آنها در مدت زمان exposure کوتاه و سپس تخریب tail (دم منشورهای مینایی) در مدت زمان exposure طولانی بود. با افزایش مدت زمان incubation، میزان، وسعت و عمق اروژن در تصاویر SEM افزایش نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق نشان داد تمام نوشابه‌ها پتانسیل اروژیو نسبتاً بالایی روی مینای دندانهای دائمی از خود نشان می‌دهند.

کلید واژگان: اروژن، مینا، نوشابه‌های گاز دار، میکروسکوپ الکترونی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۷/۲۶ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸۵/۸/۲۷ تاریخ ثبیت مقاله: ۱۳۸۵/۸/۲۷

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۶، ۱۹۴-۱۸۸

مقدمه

از نظر کلینیکی تشخیص اروژن از روی تخریب مکانیکال دندان که از abrasion یا attrition ناشی می‌شود، مشکل است. وقتی این فرآیندهای تخریبی با هم همزمان همزمان باشند - که بیشتر اوقات چنین است - اروژن تحت تاثیر attrition از نظر دور می‌ماند(۵,۶). از طرف دیگر ثابت شده که اروژن باعث کاهش مقاومت مینا و عاج به سایش و تخریب می‌گردد(۷). بنابراین سطح دندان اروژن یافته بیشتر مستعد تخریب ناشی از نیروهای مکانیکال است، چرا که

دندان‌ها تحت فرآیند متناظری از دمینرالیزاسیون و رمینرالیزاسیون در حفره دهان قرار می‌گیرند که در حالت نرمال این دو فرآیند باید در تعادل باشند(۱,۲). وقتی محیط دهان شرایطی دارد که دمینرالیزاسیون غالب می‌شود، تخریب سطحی مینا به طور پیشرونده‌ای به وقوع می‌پیوندد. به خصوص اسید خارجی این تعادل را به سمت ایجاد اروژن سوق می‌دهد. پروسه اروژن به دمینرالیزاسیون سطحی و سپس تخریب کامل لایه سطحی مینا منجر می‌گردد(۳,۴).

طرح مصوب معاونت پژوهشی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

*نویسنده مسئول: دانشیار گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده و مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

E-mail:ma_fa_36@yahoo.com

** متخصص دندانپزشکی کودکان.

شكل، اندازه یا گروه، در معرض محصولات مورد آزمایش قرار گرفتند.

در ریشه دندان‌ها، برای سهولت غوطه‌ور ساختن، سوراخی ایجاد و یک تکه نخ به طول ۱۰ سانتی‌متر به هر یک متصل گشت. سپس هر یک از دندان‌ها بعد از برداشتن برچسب نیم‌دایره‌ای، به تنها یی در قوطی‌های در دار شسته شده با آب م قطر که حاوی ۲۰ میلی‌لیتر از نوشابه بودند، به مدت زمان مورد نظر غوطه‌ور شدند. ظرف‌ها در دمای اتاق و تحت حرکت‌های یکنواخت ماشین روتاتور قرار گرفتند.

پس از غوطه‌ور ساختن دندان‌ها در مدت زمان‌های ذکر شده، برای برداشتن کلوئیدین سطح آنها در حمام سونیک برای هر گروه، ابتدا دندان‌ها در استن قرار گرفته، با آب م قطر و سپس با محلول دترژانت طبیعی و در آخر با الكل به مدت یک ساعت شسته شدند. سپس از هر یک از زیرگروه‌ها، دو نمونه به طور تصادفی انتخاب شده و پس از یک هفته نگهداری در فرمالین (جهت پیشگیری از انتقال عفونت احتمالی هنگام تهیه برش) برش خوردن. بدین ترتیب که ریشه آنها قطع و تاج دندان‌ها از بعد با کولینگوآلی به دو نیمه تقسیم شد. در مورد همه دندان‌ها، نیمه باکالی برای آنالیز SEM توسط یک ماشین Sputer تحت پوششی از طلا به ضخامت ۲۰ نانومتر قرار گرفتند. برای بررسی نمای هیستولوژیک (SEM) هر یک از نمونه‌ها معرفی الگوهای مختلف اچینگ لازم به نظر می‌رسد. الگوهای اچینگ چهار نوع می‌باشند(۱۰):

Type I: شایع‌ترین نوع می‌باشد و در آن تخریب core rod های منشورهای مینایی صورت می‌گیرد.

Type II: در آن محیط اطراف راده‌ها برداشته می‌شود و core دست نخورده باقی می‌ماند.

Type III: از دو نوع دیگر شیوع کمتری دارد. الگوی اچینگ در آن نامنظم و غیر مشخص است.

Type IV: ترکیبی از دو نوع I, II type است. یعنی در بعضی از راده‌ها، core از بین رفته و در بعضی دیگر اطراف rod از بین می‌رود.

ساختمان باقیمانده مینا بعد از اروژن، مینای نرم شده یا به طور نسبی دمینرالیزه شده می‌باشد(۸). بنابراین قبل از اینکه تحریکات مکانیکال باعث از دست رفتن بافت نرم شده دندان شوند رمینرالیزاسیون مینا باید با استفاده از روش‌هایی صورت گیرد.

هدف این مطالعه صرفاً بررسی پتانسیل اروژن ۴ نوشابه موجود در بازار ایران به نامهای زمزم کولا، زمزم نارنجی، پیپسی و میراندا به روش اسکن الکترون میکروسکوپی بود.

مواد و روشها

در این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی دو نوشابه ایرانی به نامهای زمزم کولا و زمزم پرتقالی و دو نوشابه خارجی به نامهای: پیپسی و میراندا مورد بررسی قرار گرفتند. از هر نوع نوشابه، ۱۰ عدد به طور اتفاقی از فروشگاه‌های بزرگ در نقاط مختلف شهر خردباری گردید.

دندان‌های پره مولر با تاج‌های کاملاً سالم از نظر کلینیکی که در عرض ۴ ماه گذشته و به منظور ارتودنسی کشیده شده بودند با روش مکانیکال از جرم، دبری و خون پاک شدند و توسط استریومیکروسکوپ با بزرگنمایی $\times 50$ برای وجود هرگونه اختلالات مینایی، ضایعات پوسیدگی میکروسکوپیک و Crack مورد بررسی قرار گرفتند. از میان آنها ۱۲۰ عدد به عنوان نمونه انتخاب شدند. دندان‌ها قبل از انجام آزمایش در الكل ۹۶ درجه نگهداری می‌شدند.

دندانها به طور تصادفی به سه گروه C, B, A (هر گروه ۴ دندان) تقسیم شدند. مدت زمان exposure هر گروه از دندان‌ها به نوشابه‌ها یا محلول‌ها به ترتیب زیر بود:

گروه A: ۱۵ دقیقه گروه B: ۴۵ دقیقه و گروه C: ۱۲ ساعت.

هر یک از سه گروه A, B و C به چهار زیر گروه (هر زیر گروه ۱۰ دندان) تقسیم شدند که هر زیر گروه در معرض یکی از چهار نوشابه داخلی و خارجی قرار گرفت. دندان‌ها بعد از تمیز شدن کامل در یک حمام سونیک با آب م قطر، الكل و استون به مدت ۲ ساعت برای آزمایش آماده شدند(۹).

یک برچسب نیم دایره‌ای به قطر ۵ میلی‌متر روی سطح باکال هر دندان چسبانده شد. تمام سطوح باقیمانده تاج دندان‌ها با کلوئیدین مقاوم به اسید (لاک ناخن) پوشانده شدند. به این ترتیب، سطوح مساوی از هر یک از دندان‌ها صرف نظر از

یافته‌ها

نواحی دست نخورده مینا بودند.

پسی بعد از ۱۲ ساعت:

الگوی اچینگ در یکی از نمونه‌ها type I با شدت (+++++) sever و در دیگری type III و با شدت (++) moderate بود.

در هر دو نمونه در حاشیه طرفی ضایعات expose شدن prismها در طول محور طولی‌شان قابل مشاهده بود که این مسئله نشان دهنده تخریب شدید مینا است
تغییرات مینای سطحی تحت اثر میراندا

بعد از ۱۵ دقیقه:

در یکی از نمونه‌ها، الگوی اچینگ I type mild با شدت (++) و در نمونه دوم الگوی اچینگ IV type IV و شدت آن (++) moderate بود.

نواحی دست نخورده در مورد هر دو نمونه به صورت جزایری از مینای سالم در میان نواحی eroded دیده می‌شدند.

میراندا بعد از ۴۵ دقیقه:

تفاوت بین نواحی کمتر تخریب شده و بیشتر تخریب شده مینا کمتر شده بود. در بعضی نواحی مینا تخریب شدید و در بعضی دیگر تخریب کمتر نشان می‌داد.

بررسی سطح مینای دندان‌هایی که در نوشابه‌ها غوطه‌ور شدند نشان داد که این سطوح دچار تغییرات قابل توجهی بر روی مینا شدند که به طور مستقیم با نوشابه‌ها و زمان غوطه‌ور شدن آنها در ارتباط بود. میزان تغییرات حاصل به سه دسته (mild) (+++), (moderate) (++) و (severe) (++++) تقسیم شدند. در سطح نرم‌المل مینا، ساختمان‌های طبیعی مثل شیارها، خطوط پری کیماتا، فرورفتگی‌ها و شکاف‌های کوچکی دیده شدند.

تغییرات مینای سطحی تحت اثر پسی

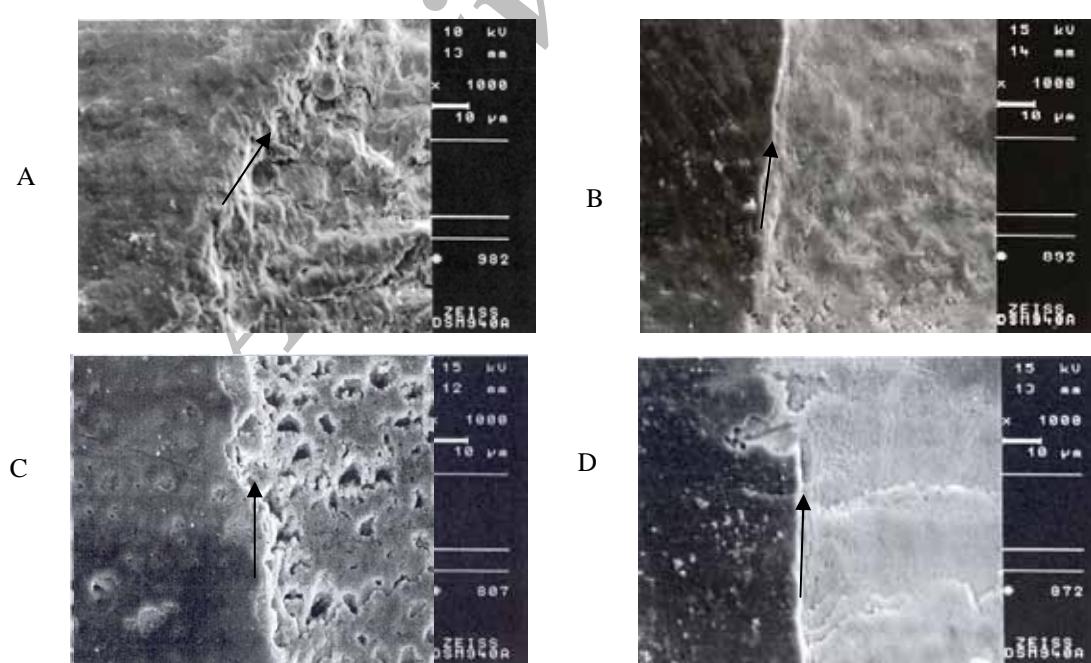
بعد از ۱۵ دقیقه:

الگوی اچینگ در یکی از نمونه‌ها type III و با شدت (++) Mild دیده شد.

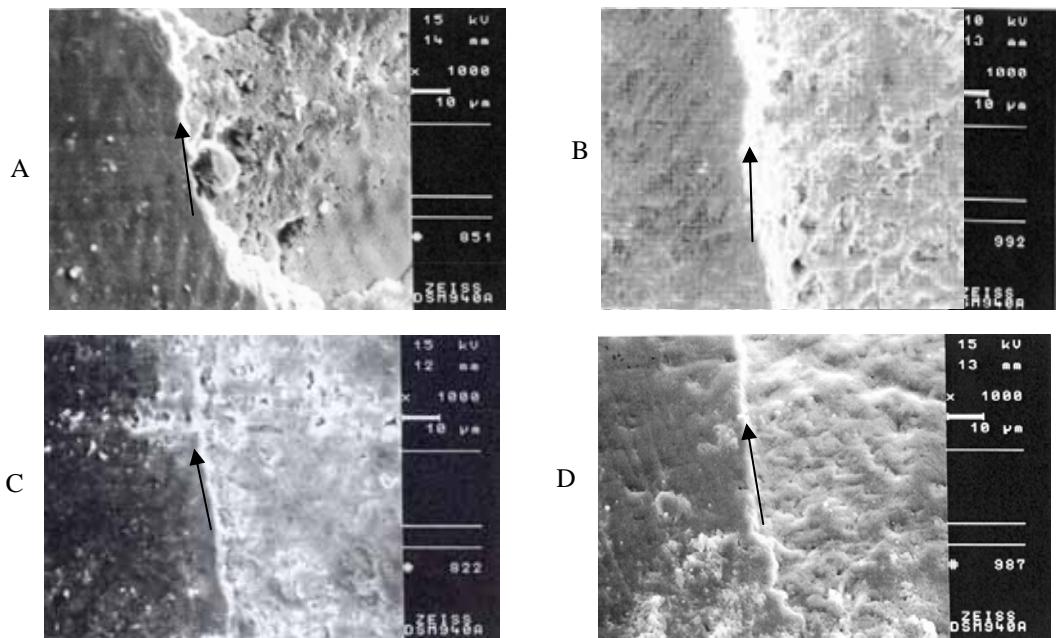
در نمونه دوم الگوی اچینگ IV type IV و شدت آن Mild بود (+++). در مورد این نمونه نواحی ای از مینای دست نخورده به شکل جزایری از مینای سالم دیده می‌شد.

پسی بعد از ۴۵ دقیقه:

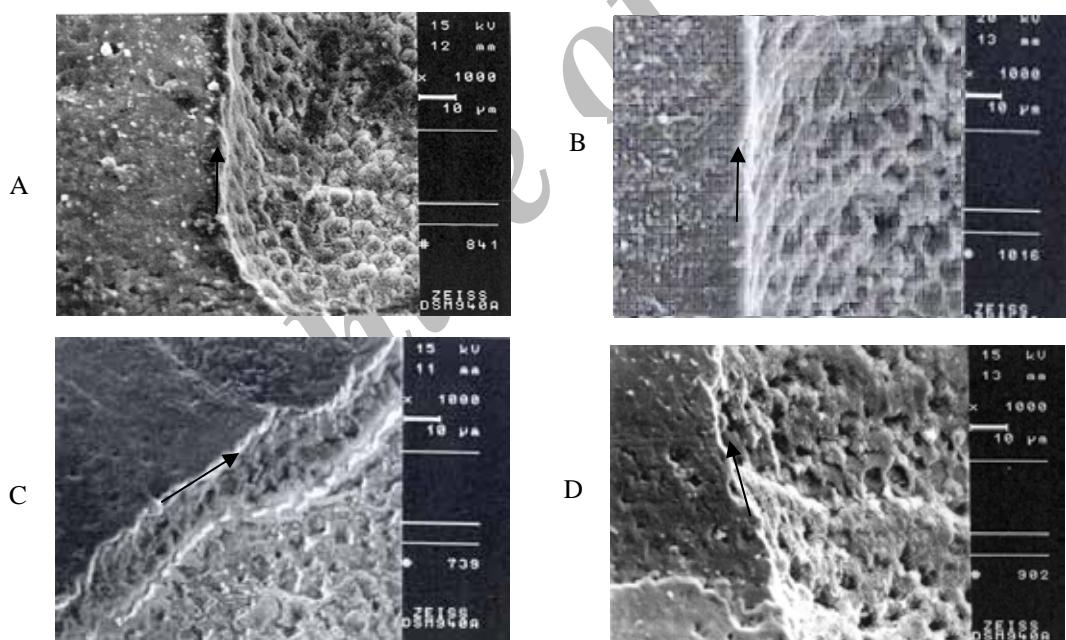
الگوی اچینگ در یکی از نمونه‌ها type II و در دیگری I type mild دیده شد. در مورد نمونه اول (++) دیده شد. الگوی اروژن نامنظم بود اما نواحی تأثیر پذیرفته بیشتر از



شکل ۱- نمای SEM مینای دندان پس از ۱۵ دقیقه exposure به (A) پسی، (B) میراندا، (C) زمزم کولا، (D) زمزم نارنجی.
(سمت راست فلش مینای اروژن یافته و سمت چپ مینای سالم).



شکل ۲- نمای SEM مینای دندان پس از ۴۵ دقیقه exposure به (A) پیپسی، (B) میراندا، (C) زمزم کولا، (D) زمزم نارنجی.
(سمت راست فلش مینای اروزن یافته و سمت چپ مینای سالم).



شکل ۳: نمای SEM مینای دندان پس از ۱۲ ساعت exposure به (A) پیپسی، (B) میراندا، (C) زمزم کولا، (D) زمزم نارنجی.
(سمت راست فلش مینای اروزن یافته و سمت چپ مینای سالم).

در هر دو نمونه، الگوی اچینگ، I type و از نظر شدت severe (++++) بود. مینای تحت اثر این نوشابه تخریب شدیدی را نشان داد.

در هر دو نوع نمونه، الگوی اچینگ، IV type بود با این تفاوت که در یکی شدت moderate (++) و در دیگری شدت تخریب mild (+++) می باشد.
میراندا بعد از ۱۲ ساعت:

نواحی عمیق ضایعات یک نمای rogous نشان می‌دهد که این یافته مطابق با نتایج مطالعه Grando (۱۹۹۶) و Frank و Meurman (۱۹۷۲) می‌باشد (۹،۱۱).

در ۱۲ ساعت، عمق ضایعات به صورت همگون اروژن را نشان می‌دادند. در حاشیه ضایعات Prismها در طول محور طولی شان بصورت expose شده دیده می‌شدند. در نمای SEM بعد از ۱۲ ساعت ضایعات اروژن شدید و عمیقی مشاهده می‌شد به طوری که prism head و prism tail ها هر دو تخریب شده بودند.

در دندان‌هایی که ۱۵ دقیقه در میراندا غوطه‌ور بودند الگوی اروژن ناهمگون بود و سه عمق متفاوت از اروژن را نشان می‌داد که خود نشانده نواحی خفیف، متوسط و شدیدی از اروژن روی مینا بود. تخریب ناشی از میراندا به طور عمده در ناحیه Prism sheath ها بود.

همین الگو در ۴۵ دقیقه با عمق و شدت بیشتری دیده شد. در ۱۲ ساعت در عمیق‌ترین قسمت ضایعات ایجاد شده، Prism head و prism sheath هایی ایجاد شده بود.

در مورد زمزم نارنجی در ۱۵ دقیقه جزایر از مینای intact در احاطه سطوح مینایی eroded دیده می‌شد. در ۴۵ دقیقه وسعت سطوح مینایی eroded نسبت به سطوح دست نخورده مینا بیشتر شده، مینای eroded نمای آتشفسان را نشان می‌داد. در ۱۲ ساعت، نمای آتشفسان در زمینه مینایی دیده شد. در نمای SEM غالباً تصاویر taper شدن Prism را تشکیل می‌داد. الگوی تخریب شامل taper شدن Prismها بود. در مورد نمای SEM دندان‌های expose شده به زمزم کولا در ۱۵ دقیقه، نمای تخریب ناهمگون بود. به طوری که قسمت‌های تحت تأثیر عمدتاً به شکل taper شدن prism tails ها بودند. در ۴۵ دقیقه این نما وسعت بیشتری را در سطح مینایی expose شده نسبت به مینایی eroded بود اشغال می‌کرد.

در ۱۲ ساعت، میزان اروژن ناشی از زمزم کولا نسبت به ۱۵ دقیقه و ۴۵ دقیقه بسیار شدیدتر و عمیق‌تر بود. اطرافها و آنها taper شده بود و head و sheath و Prismها بیشتری تخریب شده بود. بنابراین تمام نوشابه‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر تحت عنوان نوشابه‌های اروزیو Tail و اطراف Head منشورهای مینایی بود و

تغییرات سطح مینا تحت اثر زمزم کولا بعد از ۱۵ دقیقه

الگوی اچینگ در یکی از دو نمونه type III با شدت (+++) و در دیگری type IV باشد moderate (++++) بود. زمزم کولا بعد از ۴۵ دقیقه

در مورد یکی از نمونه‌ها الگوی اچینگ I type با شدت moderate (++) و در دیگری III type و با شدت mild (++) بود.

زمزم کولا بعد از ۱۲ ساعت

الگوی اچینگ در هر دو نمونه I type و در یکی moderate (++) و در دیگری severe (++++) بود.

تغییرات سطح مینا تحت اثر زمزم نارنجی بعد از ۱۵ دقیقه

در مورد هر دو نوع نمونه، طرح اچینگ IV type، یکی با شدت mild (++) و دیگری moderate (++) بود. در صد قسمت‌های سالم و دست نخورده مینا نسبت به قسمت‌های تخریب شده بیشتر بود.

زمزم نارنجی بعد از ۴۵ دقیقه

بعد از این مدت نسبت نواحی تخریب شده به نواحی دست نخورده در مورد هر دو نمونه افزایش داشت. الگوی اچینگ در مورد نمونه اول I type با شدت mild (++) و در مورد نمونه دوم II type با شدت mild (++) بود.

زمزم نارنجی بعد از ۱۲ ساعت

الگوی تخریبی ضایعات در نمونه اول I type و در نمونه دوم IV type بود. هر دو از نظر شدت تخریب با درجه moderate (++) طبقه‌بندی می‌شدند.

بحث

در نماهای SEM، هر ۴ نوشابه مورد بررسی پتانسیل اروژن نسبتاً بالایی از خود نشان دادند. الگوی ناهمگون اروژن با جزایر از انامل دست نخورده که در دندان‌های expose شده به پیپسی در ۱۵ دقیقه دیده می‌شدند با میزان بیشتری در دندان‌هایی که بمدت ۴۵ دقیقه در معرض آن بودند دیده می‌شدند. در نمای ۴۵ دقیقه exposure، شیارهایی دیده می‌شوند که نشان‌دهنده تخریب غلاف Head و اطراف Tail منشورهای مینایی بود و

از طرفی مشخص شده است فلورایدی که به نوشابه‌ها افزوده می‌شود باعث عقب افتادن پیشرفت اروژن می‌گردد. در مطالعاتی که روی مدل‌های حیوانی انجام شده مشخص شده که حضور فلوراید در نوشیدنی‌ها، اندازه و شدت ضایعات اروژن را کاهش می‌دهد(۱۵-۱۷).

در درمان‌های کلینیکی در مواجهه با ضایعات دردناک همراه با حساسیت بیش از حد که از expose بودن عاج ناشی می‌باشد، استفاده از فلوراید به صورت موضعی رایج است. فلوراید باعث افزایش مقاومت عاج به اسید شده، از طرفی می‌تواند اثر درمانی خود را از طریق بستن توبول‌های عاجی نیز اعمال کند(۱۸).

نتیجه‌گیری

- ۱) تمام نوشابه‌های مورد بررسی در این مطالعه قابلیت اروژن را از خود نشان دادند.
- ۲) تغییرات ناشی از اروژن محدود به ناحیه پنجره نیم‌دایره‌ای بود که در معرض نوشابه‌ها بودند.
- ۳) در مورد تمامی نوشابه‌ها، با افزایش زمان غوطه‌وری دندان تخریب ناشی از اروژن بیشتر می‌باشد.
- ۴) نمای غالب انحلال prism‌های مینایی بود که در آن سر و غلاف پریسم‌ها انحلال یافته و در مراحل بعدی tail آنها انحلال پیدا کرده بود. با افزایش مدت زمان غوطه‌وری میزان تخریب تمام ساختمان‌های prism‌ها افزایش می‌یابد.

تقدیر و تشکر

محققین بر خود لازم می‌دانند از آقایان دکتر حیدری و الماسی مسئولین بخش پاتولوژی و SEM دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی که در تهیه نمونه‌های SEM همکاری نمودند، از مرحوم دکتر استپان الکسانیان که در تفسیر تصاویر SEM سخاوتمندانه و استادانه راهنمایی نمودند، همچنین از حمایت علمی و مالی معاونت پژوهشی دانشکده دندانپزشکی تشکر و قدردانی نمایند.

طبقه‌بندی می‌شوند. تغییرات در نمای SEM مینا محدود به نواحی expose به نوشابه‌ها بود. بنابراین محدوده مینای سالم و مینای تخریب شده (اروژن یافته) به خوبی مشخص بود.

درجات تخریب مینا و حلال Prism‌ها در مورد نوشابه‌های مختلف متفاوت بود اما در مورد هر ۴ نوشابه با افزایش زمان غوطه‌وری شدت تخریب ناشی از اروژن افزایش می‌یافتد.

نمای غالب انحلال prism‌های مینایی نمایی بود که در آن head و sheath prism‌ها ابتدا انحلال یافته بودند و در مراحل بعدی tail آنها انحلال پیدا کرده بود. با افزایش مدت زمان غوطه‌وری، میزان تخریب تمام ساختمان‌های prism‌ها افزایش می‌یابد. اما آنچه در کلینیک اتفاق می‌افتد با شرایط invitro کاملاً متفاوت است. در رابطه با علت ایجاد الگوهای سطحی اچینگ متفاوت هنوز بحث وجود دارد. قابل قبول ترین نظریه این است که الگوی اچینگ به جهت‌گیری کریستال‌ها بستگی دارد(۱۰).

مطالعات ultrastructural بر روی حلالیت کریستال‌ها نشان داد که کریستال‌ها بیشتر در ناحیه انتهای حل می‌شوند تا از کناره‌ها. بنابراین کریستال‌هایی که عمود بر سطح مینا می‌باشند نسبت به اچینگ حساس هستند. از طرفی تغییرات ناحیه‌ای نیز می‌توانند نقش داشته باشند. چرا که به نظر می‌رسد نواحی مشابه روی دندان‌های کترالترال الگوی اچینگ مشابه داشته باشند. همچنین شواهدی مبنی بر اثرگذاری طبیعت متفاوت مواد اج کننده روی نوع الگوی اچینگ وجود دارد(۹).

در شرایط کلینیکی تخریب ناشی از erosion, attrition, abrasion مجموعه پیچیده‌ای می‌سازند که عامل اصلی مسبب ایجاد تخریب دندانی در آن قابل تشخیص نیست. این موضوع بخصوص در مورد ضایعات ایجاد شده در ناحیه سرویکال دندان‌ها صدق می‌کند. در این موارد اروژن به عنوان علت زمینه‌ای ممکن است در لوای attrition یا abrasion از نظر دور ماند.

مطالعات انجام شده بر روی فرآیند دمینزالیزاسیون در رابطه با پوسیدگی‌ها نشان داده‌اند که پوشش پروتئینی ناشی از بzac باعث کاهش انحلال آپاتیت می‌گردد(۱۲-۱۴).

References

1. Tencate JM, Arends J: remineralization of artificial enamel lesions in vitro. *Caries Res* 1977;11:277-286.
2. Gonzalez-Cabezas C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM, et al: Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy. *Caries Res* 1998;32:385-392.
3. Imfeld T: Dental erosion; Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci* 1996;104:151-155.
4. Moss SJ: Dental erosion. *Int Dent J* 1998;48:526-539.
5. Lewis KJ, Smith BGN: The relationship of erosion and attrition in extensive tooth tissue loss. *Br Dent J* 1973;135:400-404.
6. Johansso A, Haraldson T, Omar R, Kiliaridis S, Carlsson GE: An investigation of soma factors associated with occlusal tooth wear in a selected high-wear sample. *Scand J Dent Res*;101:407-415.
7. Davis WB, Winter PJ: The effect of abrasion on enamel and dentine after exposure to dietary acid. *Br Dental J* 1980;148:253-256.
8. Smith BG: Dental erosion, attrition and abrasion. *Practitioner* 1975;214(1281):347-355.
9. LJ, Grando DR, Tames AC, Cardoso, NH, Gabilan: In vitro study of enamel erosion caused by soft drinks and lemon juice in Deciduous teeth analysed by stereomicroscopy and scanning electron microscopy. *Caries Res* 1996;30:373-378.
10. Ten cate AR, Richard: Oral histology: Development, structure and function. 6th Ed. St. Louis: The C.V. Mosby Co. 2003;Chap7:190.
11. Meurman JH, Frank RM: Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion .*Caries Res* 1191;25:1-6.
12. Zahradník RT, Moreno EC, Burke EJ: Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. *J Dent Res* 1977;55:664- 670.
13. Moreno EC, Zahradník RT: Demineralization and remineralization of dental enamel. *J Dent Res* 1979;58:896-903.
14. Voegel JC, Belcourt A, Gillmeth S: Dissolution of hydroxyapatites treated with salivary glycoproteins and fluoride. *Caries Res* 1981;15:243-9.
15. Sorvari R, Kivaranta I, Luoma H: Erosive effect of a sport drink mixture with and without addition of fluoride and magnesium on the molar teeth of rats. *Scand J Dent Res* 1988;96:226-231.
16. Sorvari R: Effects of various sport drink modifications on dental caries and erosion in rats with controlled eating and drinking pattern. *Proc Finn Dent Soc* 1989;85:13-20.
17. Sorvari R, Meurman JH, Alakuijala P, Frank RM: Effect of fluoride varnish on enamel erosion in vitro. *Caries Res* 1994;28:227-232.
18. Addy M, Mostafa P: Dentine hypersensitivity I. Effects produced by the uptake invitro of metal ions, fluoride and formaldehyde on to dentine. *J Oral Rehabil* 1988;15:575-585.