

تغییرات میکروهاردنس مینای سفید شده بعد از درمان با فلوراید و کازئین فسفوپیتید آمورفوس کلسیم فسفات

دکتر محمدرضا مالکی پور^۱ - دکتر فرزانه شیرانی^۲ - دکتر پروین میرزا کوچکی^۱ - دکتر زهرا فاضل کلباسی^۳

۱- استادیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

۲- استادیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۳- دندانپزشک

چکیده

زمینه و هدف: سفید کردن دندانها باعث کاهش میکروهاردنس مینا می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات میکروهاردنس مینای سفید شده بعد از درمان با فلوراید و کازئین فسفوپیتید آمورفوس کلسیم فسفات (CPP-ACP) می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی شصت عدد دندان مولر سالم انسانی به شش گروه ده تایی تقسیم شدند. سطح اکلوزال صاف و با لاک ناخن پوشانده شد. در گروههای دوم، سوم و چهارم سفید کردن دندانها انجام شد. نمونه‌های گروههای اول و دوم به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و منفی نمونه‌های گروههای سوم و پنجم تحت درمان با وارنیش سدیم فلوراید ۵٪ و گروههای چهارم و ششم تحت درمان CPP-ACP قرار گرفتند. میکروهاردنس مینای زیر سطحی با فاصله حدود سیصد میکرون از سطح لیپال و لینگوال هر دندان بر روی سطح اکلوزال محاسبه شد. آنالیز واریانس یک سویه و پس از آزمون Tukey جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها: میکروهاردنس مینای سفید شده با اختلاف معنی‌داری از همه گروهها پایینتر بود. در دندانهای سفید شده تحت درمان با ترکیبات فلوراید یا CPP-ACP، میکروهاردنس با اختلاف معنی‌داری نسبت به مینای سفید شده افزایش یافت. درمان با CPP-ACP و فلوراید تأثیری بر افزایش میکروهاردنس مینای سالم نداشت. به کارگیری CPP-ACP و فلوراید بر مینای سفید شده تفاوتی در افزایش میکروهاردنس مینا در مقایسه با یکدیگر نشان نداد.

نتیجه‌گیری: ترکیبات فلوراید و کازئین فسفوپیتید آمورفوس کلسیم فسفات باعث افزایش میکروهاردنس مینای سفید شده می‌شوند.

کلید واژه‌ها: مینا - سفید کردن - میکروهاردنس - کازئین فسفوپیتید آمورفوس کلسیم فسفات - وارنیش فلوراید

پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۵/۲۴

اصلاح نهایی: ۱۳۹۰/۴/۱۶

وصول مقاله: ۱۳۸۹/۱۱/۱۱

نویسنده مسئول: دکتر فرزانه شیرانی، گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان e.mail: fshirani48@yahoo.com

مقدمه

استحکام آن می‌گردد. نرم شدگی سطح و از دست دادن موادمعدنی و افزایش احتمال سایش و یا پوسیدگی و کاهش مقاومت به شکست یا کاهش مقاومت به سایش دندان متعاقب سفید کردن آن گزارش شده است. (۲)، آنالیزهای میکروسکوپ الکترونی نشان داده امکان تغییرات مورفولوژیکی بر روی سطح مینا مثل اروژن و دکلسیفیکاسیون و تخلخل به دنبال سفید کردن دندانها با کاربامیدپراکساید ۱۰٪ و ۱۵٪ وجود دارد. (۳)، مطالعاتی

ملاحظات زیبایی در دندانپزشکی، در طول چند دهه اخیر توجه بیشتری را به خود معطوف ساخته است. (۱)، یکی از درمانهای محافظه کارانه زیبایی در دندانپزشکی ترمیمی Bleaching یا سفید کردن دندانهاست که نتایج بسیارخوب و قابل ملاحظه‌ای را به همراه دارد، اما بر خلاف نتایج زیبایی قابل قبول، مطالعات زیادی مشخص کرده‌اند که سفید کردن دندانها، محتوی کلسیم، فسفات و فلوراید مینا را کاهش داده و باعث افت خواص مکانیکی از جمله میکروهاردنس و

می‌باشد، سطح اکلوزال نمونه‌ها به صورت موازی با سطح افق تراش داده شد. سطح صاف ایجاد شده برای ممانعت از نفوذ مواد، با سه لایه لاک ناخن پوشانده شد و پس از خشک شدن لاک، دندانها به طور تصادفی به شش گروه ده تایی تقسیم گردیدند و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت روز در بزاق مصنوعی (Bioxtre, Belgium) قرار داده شدند. بزاق مصنوعی هر دو روز یک بار تعویض می‌شد.

گروه اول: نمونه‌های این گروه به عنوان گروه کنترل مثبت و بدون هیچ مداخله‌ای تنها به مدت هفت روز در بزاق مصنوعی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند.

گروه دوم: دندانها دو بار به فاصله هفت روز توسط کاربامید پراکساید ۳۸٪ (Opalsense Uhadent USA) به مدت ۱۵ دقیقه طبق دستور کارخانه سفید شدند. بدین صورت که نمونه‌ها با ضخامت یک میلی‌متر از ژل سفید کننده پوشانیده و توسط نایلون و سیم مسی نازک از ناحیه CEJ مهر و موم شدند. بعد از گذشت ۱۵ دقیقه دندان توسط سرنگ آب و هوا به مدت ده ثانیه شسته و خشک و به مدت هفت روز در بزاق مصنوعی نگهداری شدند. نمونه‌های این گروه به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که در این مرحله نیز محلول بزاق به فاصله دو بار یک بار تعویض می‌شد.

گروه سوم: مراحل شبیه گروه دوم بود با این تفاوت که پس از سفید کردن، دندانها توسط وارنیش سدیم فلوراید-Flor (Opal, Ultradent USA) ۵٪ به مدت پنج دقیقه پوشانیده شده و پس از خشک شدن به مدت هفت روز در بزاق مصنوعی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در دستگاه انکوباتور قرار گرفتند.

گروه چهارم: در این گروه نیز بعد از سفید کردن نمونه‌ها توسط اپلیکاتور در معرض ماده (GC Corp., Tokoyo, Japan) CPP-ACP قرار گرفتند و بعد از گذشت زمان پایه ۱۵ دقیقه، بدون هیچ گونه مرحله تمیزی و مداخله‌ای، در انکوباتور طبق شرایط نگهداری شدند.

نشان داده‌اند که سفید کردن، میزان نفوذپذیری مینای دندان را افزایش می‌دهد. (۴-۵)

این امر که استفاده موضعی فلوراید در پیشرفت و بازیابی مواد معدنی و جلوگیری از کاهش آنها مؤثر است مورد قبول بسیاری می‌باشد. ترکیبات فلوراید ممکن است بازیابی نواقص زیر ساختاری ناشی از سفید کردن دندان را با جذب و رسوب ترکیبات بزاق مثل کلسیم و فسفات حمایت کنند. (۶)، کازئین فسفوپیپتید آمورفوس کلسیم فسفات (Casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate) که از کازئین پروتئین شیر تهیه شده و کلسیم و فسفات را در فرم‌های آمورف حمل می‌کند به راحتی فسفات و کلسیم را به بافت‌های نرم پلیکل و حتی بلورهای هیدروکسی آپاتیت حمل می‌نماید و مواد مورد نیاز دندان را برای رمینرالیزه شدن به آن می‌رساند. همچنین ماده CPP-ACP، با بالا نگه داشتن غلظت موضعی کلسیم و فسفر در سطح دندان باعث کاهش دمینرالیزاسیون و افزایش رمینرالیزاسیون با تغییر رژیم غذایی پلاک می‌شود. (۷)، ACP بر روی سطح دندان باعث فعالیت آزاد کلسیم و فسفر شده و یک حالت فوق اشباع ایجاد می‌کند. وجود CPP-ACP باعث برگشت غلظت کلسیم در سطح مینا به مقادیر قبل از پوسیدگی شده و سرعت رمینرالیزاسیون R مینا را افزایش می‌دهد. (۸)، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر استفاده از فلوراید و CPP-ACP بعد از سفید کردن دندان در تغییرات ایجاد شده در میکروهاردنس مینا می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه که به صورت مداخله‌ای تجربی در آزمایشگاه انجام شد، شصت عدد دندان مولر سوم انسان که عاری از پوسیدگی یا هر نوع عیب و نقصی بودند به مدت هشت ماه تهیه و جمع‌آوری شد و در محلول تیمول ۰/۲٪ قرار داده شدند. سطوح دندانها از بقایای نسج نرم و جرم تمیز شد، سپس همه نمونه‌ها به گونه‌ای مانت شدند که تا CEJ در داخل آکريل قرار گیرند. از آنجا که برای اندازه‌گیری میکروهاردنس یک سطح کاملاً صاف از نمونه مورد نیاز

در گروه‌های مختلف مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. کمترین میزان میکروهاردنس مینا مربوط به گروهی بود که فقط سفید شده بودند و بیشترین آن مربوط به گروه سفید شده‌ای بود که تحت درمان با CPP-ACP قرار گرفته بودند. با توجه به آزمون یک نمونه‌ای Kolmogorov-Smirnov و برقراری شرط نرمال بودن و همچنین همگن بودن واریانس‌ها بین این گروه‌ها، آنالیز واریانس به عمل آمد و مشاهده گردید که حداقل بین دو گروه تفاوت معنی‌دار وجود دارد. ($P = 0.0001$)، برای بررسی اینکه کدامیک از دو گروه با هم اختلاف دارند از آزمون Tukey استفاده شد که نتایج آن در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

گروه پنجم: در این گروه همه مراحل شبیه گروه چهارم بود با این تفاوت که دندانها سفید نشدند. گروه ششم: در این گروه همه مراحل شبیه گروه سوم بود با این تفاوت که دندانها سفید نشدند. سپس لاک سطح اکوزالی نمونه‌ها به وسیله پنبه و استون پاک شده و توسط دستگاه میکروهاردنس ویکرز (Festz Germany) مورد سختی سنجی قرار گرفته و آنالیز داده‌ها با نرم افزار SPSS و آزمون One Way ANOVA و سپس آزمون Tukey HSD انجام شد.

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار میکروهاردنس مینای زیرسطحی

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار میکروهاردنس مینا در گروه‌های مختلف مطالعه

گروه	کنترل	سفید شده	سفید شده تحت درمان با فلوراید	سفید شده تحت درمان با CPP - ACP	تحت درمان با CPP - ACP	تحت درمان با فلوراید
میانگین	۳۹۴/۹۰	۳۲۹/۲۰	۴۰۳/۳۰	۴۲۸/۰۰	۴۱۹/۲۰	۴۰۹/۰۰
انحراف معیار	۲۳/۲۰	۲۲/۲۷	۱۴/۴۷	۱۸/۸۷	۲۰/۴۶	۲۲/۴۸

جدول ۲: مقادیر P.V حاصل از نتایج پس از آزمون Tukey

گروه	کنترل	سفید شده	سفید شده تحت درمان با فلوراید	سفید شده تحت درمان با CPP - ACP	تحت درمان با CPP - ACP	تحت درمان با فلوراید
کنترل	-	۰/۰۰۰	۰/۹۴۱	۰/۰۰۹	۰/۱۰۴	۰/۶۴۵
سفید شده	۰/۰۰۰	-	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
سفید شده تحت درمان با فلوراید	۰/۹۴۱	۰/۰۰۰	-	۰/۰۹۵	۰/۵۱۹	۰/۹۸۹
سفید شده تحت درمان با CPP - ACP	۰/۰۰۹	۰/۰۰۰	۰/۰۹۵	-	۰/۹۲۹	۰/۳۲۰
تحت درمان با CPP - ACP	۰/۱۰۴	۰/۰۰۰	۰/۵۱۹	۰/۹۲۹	-	۰/۸۷۵
تحت درمان با فلوراید	۰/۶۴۵	۰/۰۰۰	۰/۹۸۹	۰/۳۲۰	۰/۸۷۵	-

بحث

در این مطالعه سختی مینای زیرسطحی مورد مطالعه قرار گرفت تا قدرت نفوذ عوامل رمینرالیزه کننده قابل استفاده بر روی مینای سفید شده مورد ارزیابی قرار گیرد. مینای زیرسطحی به علت نفوذ پذیرتر بودن نسبت به مینای سطحی نقش مهمی در تراوایی مینا و استعداد آن به عوامل پوسیدگی زا و عوامل اتصال دهنده بعد از انجام بول دارد و ارزیابی سختی آن می‌تواند روشن کننده ابهاماتی در زمینه اتصال به مواد چسبنده یا استعداد به پوسیدگی و ... باشد. بعضی تحقیقات نشان داده‌اند که استفاده از کاربامیدپراکساید ۱۰٪ و هیدروژن پراکساید ۳۵٪ نفوذ پذیری مینا را افزایش می‌دهد (۹-۱۰) و تحقیقات دیگر نشان داده‌اند که استفاده از کاربامید پراکساید ۱۰٪ میکروهاردنس مینا را کاهش می‌دهد (۱۱-۱۲)، در گروه دوم این مطالعه که دندانها سفید شدند، میکروهاردنس مینا کاهش قابل توجهی داشت که این نتیجه با بسیاری از مطالعات قبلی که حتی غلظتهای مختلف ماده را استفاده می‌کردند همخوانی داشت. هر چند آزمایشهایی نشان داد هاند که هیدروژن پراکساید ۳۸٪ و ۳۵٪ باعث کاهش محتوی کلسیم مینا می‌شود، ولی کاربامید پراکساید ۱۰٪ تفاوت معنی‌داری را در کاهش کلسیم مینا نشان نمی‌دهد. (۱۳)، در همین ارتباط مطالعه‌ای نشان داده است که کاربامیدپراکساید ۱۰٪ تغییر در میکروهاردنس مینا ایجاد نمی‌کند (۱۴) که علت این اختلاف با مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل اختلاف در غلظت، مدت زمان استفاده و یا نوع و جنس دندان باشد. در گروه سوم که دندانها ابتدا سفید شدند و سپس از وارنیش فلوراید بر روی آنها استفاده شد، میزان میکروهاردنس نسبت به گروه دوم افزایش قابل توجه و معنی‌داری نشان داد. این نتیجه با مطالعه Bizhang و همکاران که افزایش میکروهاردنس دندانهای سفید شده را به دنبال فلورایدتراپی نشان می‌دهد هم خوانی داشت. (۱۵)، در ادامه Borges و همکاران در طی مطالعه‌ای افزایش قابل توجه میکروهاردنس مینا را با فلوراید پس از سفید کردن در مقایسه با درمان فلوراید قبل از سفیدکردن نشان دادند. (۱۶)

در گروه چهارم که دندانها ابتدا سفید شده و سپس از CPP-ACP استفاده شده بود، میزان میکروهاردنس در مقایسه با گروه سوم به میزان بیشتری افزایش یافت. Yamaguchi و همکارانش نیز افزایش میزان میکروهاردنس را در دندانهای دمیترالیزه گوساله بعد از قرارگیری دمیترالیزه کننده در معرض CPP-ACP گزارش کردند و در بررسی اثر این ماده بر روی مینای دندان گوساله نشان دادند که ترکیبات غیرعالی با غلظت بالا در خمیر CPP-ACP وجود دارند که باعث افزایش رمینرالیزاسیون مینا می‌گردد. (۸)

در گروه پنجم که CCP-ACP به تنهایی استفاده شد، میزان میکروهاردنس نسبت به دو گروه اول و دوم افزایش داشت. افزایش میزان این میکروهاردنس با مطالعه Rahiotis که بر روی عاج انجام شده است، همخوانی دارد. (۱۷)، مطالعه Tanbirojn و همکاران نیز در ارتباط با بررسی تغییرات سختی سطحی مینا به محلول Cola و با خمیر CPP-ACP بود نشان داد که در نمونه‌های گروه آغشته به این ماده به طور آشکار سختی بیشتر از گروه کنترل بود. این افزایش سختی سطحی به علت منبع غنی کلسیم فسفات آمورفوس است که در CPP-ACP قرار دارد. این ماده منجر به ترشح کلسیم و فسفات برای قرارگیری در سطح فوق اشباع نیز می‌گردد و بنابراین باعث افزایش و سرعت جریان رمینرالیزاسیون و سختی سطحی می‌شود. (۱۸)، در مطالعه Rehder Neto و همکاران نیز که به بررسی تأثیر عوامل رمینرالیزه کننده مثل خمیردندان معمولی - خمیر دندانهای حاوی کلسیم - سدیم فسفوسیلیکات ترکیبات CPP-ACP با و بدون فلوراید پرداخته بودند، مشخص شد که به کارگیری CPP-ACP تأثیر قابل توجهی در افزایش میکروهاردنس مینای دمیترالیزه در مقایسه با گروه کنترل و خمیر دندان معمولی و خمیر دندان حاوی کلسیم، سدیم، فسفوسیلیکات دارد ولی با فلوراید تفاوتی ندارد که با مطالعه حاضر همخوانی داشت. (۱۹)، Panich در سال ۲۰۰۹ نیز به بررسی اثر CPP-ACP و نوشابه کولا بر روی میکروهاردنس مینا به طور آزمایشگاهی پرداختند و دریافتند که CPP-ACP باعث افزایش آن می‌شود. (۲۰)

زیر سطحی رد شده و فرضیه یک که دلالت بر تأثیرپذیری سختی مینای زیر سطحی از مواد رمینرالیزه کننده مثل فلوراید و CPP-ACP دارد مورد قبول واقع می‌شود.

نتیجه‌گیری

- ۱- سفید کردن مینا با ژل کاربامید پراکساید ۳۸٪ باعث کاهش سختی مینای زیر سطحی می‌شود.
- ۲- فلوراید تراپی با ژل سدیم فلوراید ۵٪ باعث افزایش سختی مینای زیرسطحی می‌گردد.
- ۳- استفاده از CPP-ACP نسبت به فلوراید ۵٪ باعث افزایش بیشتری در سختی سطحی مینا نمی‌شود.

قدردانی و تشکر

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی می‌باشد که بدین وسیله از زحمات دست اندرکاران اجرای آن قدردانی می‌شود.

مطالعه Uysal و همکاران که به بررسی اثر این ماده و ژل فلوراید در کاهش دیمینرالیزاسیون مینا در اطراف براکت‌های مینایی پرداخت (۲۱) و همچنین مطالعه Honório و همکاران که به بررسی اثر CPP-ACP و خمیر دندانهای حاوی فلوراید معمولی در ضایعات سفید مینایی پرداخته بودند، مشاهده شد، گر چه به کارگیری ماده CPP-ACP باعث کاهش دیمینرالیزاسیون مینایی می‌گردد اما با فلوراید اختلاف قابل ملاحظه‌ای ندارد که با مطالعه حاضر همخوان می‌باشد. (۲۲)، در گروه ششم که فلورایدتراپی به تنهایی انجام شد، میزان میکروهاردنس نسبت به گروه سفید شده با اختلاف معنی‌داری افزایش یافت. این امر به علت حضور مقداری فلوراید در کنار بزاق مصنوعی و بازیابی مواد معدنی توسط مینا به شکل فلوروآپاتیت می‌باشد. ولی میکروهاردنس این گروه با سایر گروهها تفاوت معنی‌داری نداشت. با توجه به نتایج این مطالعه فرضیه صفر یا عدم تأثیرگذاری ترکیبات فلوراید و CPP-ACP بر روی میکروهاردنس مینایی

REFERENCES

1. Estafan D, Klodnitskaya L, Wolff MS. Treatment planning in esthetic dentistry requires careful listening to the patient. *Gen Dent.* 2008 May;56(3):290-2.
2. Attin T, Betke H, Schippan F, Wiegand A. Potential of fluoridated carbamide peroxide gels to support post-bleaching enamel re-hardening. *J Dent.* 2007 Sep;35(9):755-9.
3. Wiegand A, Schreier M, Attin T. Effect of different fluoridation regimes on the microhardness of bleached enamel. *Oper Dent.* 2007 Nov-Dec;32(6):610-5.
4. Josey AL, Meyers IA, Romaniuk K, Symons AL. The effect of a vital bleaching technique on enamel surface morphology and the bonding of composite resin to enamel. *J Oral Rehabil.* 1996 Apr;23(4):244-50.
5. Ghavamnasiri M, Bidar M, Rad AH, Namazikhah MS. The effect of 16 percent carbamide peroxide on enamel staining susceptibility. *J Calif Dent Assoc.* 2006 Nov;34(11):873-6.
6. Ten Cate JM. In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res.* 1990 Feb;69 Spec No:614-9; discussion 634-6.
7. Adebayo OA, Burrow MF, Tyas MJ. Effects of conditioners on microshear bond strength to enamel after carbamide peroxide bleaching and/or casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) treatment. *J Dent.* 2007 Nov;35(11):862-70.
8. Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent.* 2006 Mar;34(3):230-6.

9. Schiavoni RJ, Turssi CP, Rodrigues AL Jr, Serra MC, Pécora JD, Fröner IC. Effect of bleaching agents on enamel permeability. *Am J Dent*. 2006 Oct;19(5):313-6.
10. Murchison DF, Charlton DG, Moore BK. Carbamide peroxide bleaching: Effects on enamel surface hardness and bonding. *Oper Dent*. 1992 Sep-Oct;17(5):181-5.
11. Attin T, Müller T, Patyk A, Lennon AM. Influence of different bleaching systems on fracture toughness and hardness of enamel. *Oper Dent*. 2004 Mar-Apr;29(2):188-95.
12. Cimilli H, Pameijer CH. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on the physical properties and chemical composition of enamel. *Am J Dent*. 2001 Apr;14(2):63-6.
13. Tezel H, Ertaş OS, Ozata F, Dalgat H, Korkut ZO. Effect of bleaching agents on calcium loss from the enamel surface. *Quintessence Int*. 2007 Apr;38(4):339-47.
14. Ulukapi H. Effect of different bleaching techniques on enamel surface microhardness. *Quintessence Int*. 2007 Apr;38(4): 201-5.
15. Bizhang M, Seemann R, Duve G, Römhild G, Altenburger JM, Jahn KR, Zimmer S. Demineralization effects of 2 bleaching procedures on enamel surfaces with and without post-treatment fluoride application. *Oper Dent*. 2006 Nov-Dec;31(6):705-9.
16. Borges AB, Yui KC, D'Avila TC, Takahashi CL, Torres CR, Borges AL. Influence of remineralizing gels on bleached enamel microhardness in different time intervals. *Oper Dent*. 2010 Mar-Apr;35(2):180-6.
17. Rahiotis C, Vougiouklakis G. Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine in vitro. *J Dent*. 2007 Aug;35(8):695-8.
18. Tantbirojn D, Huang A, Ericson MD, Poolthong S. Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste. *J Dent*. 2008 Jan;36(1):74-9.
19. Rehder Neto FC, Maeda FA, Turssi CP, Serra MC. Potential agents to control enamel caries-like lesions. *J Dent*. 2009 Oct;37(10):786-90.
20. Panich M, Poolthong S. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and a cola soft drink on in vitro enamel hardness. *J Am Dent Assoc*. 2009 Apr;140(4):455-60.
21. Uysal T, Amasyali M, Koyuturk AE, Ozcan S. Effects of different topical agents on enamel demineralization around orthodontic brackets: an in vivo and in vitro study. *Aust Dent J*. 2010 Sep;55(3):268-74.
22. Honório HM, Rios D, Santos CF, Magalhães AC, Delbem AC, Buzalaf MA, Machado MA. Cross-sectional microhardness of human enamel subjected to erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges. *Caries Res*. 2010 Jan;44(1):29-32.