

مقایسه میزان تام آنتی اکسیدان بزاق در بیماران مبتلا به آفت‌های دهانی راجعه

دکتر آرش عزیزی^{۱*} - دکتر سمیرا شاه‌سیاه^۲ - دکتر اسماء مدهنی^۳

۱- دانشیار گروه آموزشی بیماری‌های دهان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران

۲- استادیار گروه آموزشی اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز

۳- دندانپزشک

Comparison of amount of salivary total antioxidant in patients with recurrent aphthous stomatitis

Arash Azizi¹, Samira Shah Siah², Asma Madhani³

1- Associate Professor, Department of Oral Medicine, School of Dentistry, Azad University of Medical Sciences, Tehran

2- Assistant Professor, Department of Endodontics, School of Dentistry, Ahvaz University of Medical Sciences,

3- Dentist

Background and Aims: Recurrent aphthous stomatitis (RAS) is the most common oral mucosal inflammatory disease. The frequency of RAS is as much as 20% in the general population. The cause of RAS is not yet fully understood. Antioxidant is a material which has ability to preserve molecules from damage and also can delay the start of it. The aim of this study was to compare the saliva level of total antioxidant status (TAS) in RAS patients with that of normal subjects.

Materials and Methods: In this case-control study, 25 patients with aphthous stomatitis were considered as the case group and 25 healthy subjects as control group. The case and control groups were matched by sex and age. Total antioxidant status (TAS) saliva levels were measured in two groups by spectrophotometer. The data were analyzed with independent sample t-test.

Results: The mean and standard deviation of TAS in case group was $1.64 \pm 0.64 \mu\text{mol/L}$ and in control group was $1.49 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$. There was not significant difference between case and control groups ($P=0.464$).

Conclusion: Results of this study showed that there was no statistically significant difference between RAS patients and healthy subjects in saliva antioxidant status levels.

Key Words: Recurrent aphthous stomatitis; Antioxidant; Saliva

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2012;25(1):14-18

چکیده

زمینه و هدف: آفت راجعه دهانی یک بیماری التهابی محدود به مخاط دهان می‌باشد. تقریباً ۲۰٪ کل جمعیت به این بیماری مبتلا هستند علت آفت کاملاً شناخته نشده است. آنتی‌اکسیدان ماده‌ای است که دارای توانایی برای حفظ مولکول‌ها از آسیب است و می‌تواند شروع آن را به تاخیر اندازد. هدف از انجام این مطالعه مقایسه ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدان در بیماران مبتلا به آفت دهانی راجعه و افراد سالم بود.

روش بررسی: مطالعه حاضر از نوع مورد مقطعی-تحلیلی بود. افراد مطالعه به صورت دو گروه انتخاب شدند: ۲۵ بیمار مبتلا به آفت به عنوان گروه مورد و ۲۵ شخص غیرمبتلا به آفت به عنوان گروه شاهد. هر دو گروه از لحاظ سن و جنس مشابه شدند. ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان بزاق این افراد به روش اسپکتروفوتومتری در دو گروه اندازه‌گیری شد. در نهایت داده‌ها با آزمون Independent sample t-test آنالیز شدند.

یافته‌ها: میانگین و انحراف معیار ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان بزاق در گروه مورد $1.64 \pm 0.64 \mu\text{mol/L}$ و در گروه شاهد $1.49 \pm 0.3 \mu\text{mol/L}$ بود و ما بین دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0.464$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه تفاوت معنی‌داری بین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان بزاق در بیماران مبتلا به آفت دهانی و افراد سالم نشان نداد.

کلید واژه‌ها: آفت دهانی راجعه؛ آنتی‌اکسیدان؛ بزاق

وصول: ۹۰/۰۴/۲۰ اصلاح نهایی: ۹۰/۱۱/۰۹ تأیید چاپ: ۹۰/۱۱/۱۴

* مولف مسوول: نشانی: تهران- پاسداران- نیستان دهم- دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی- گروه آموزشی بیماری‌های دهان
تلفن: ۰۹۱۲۳۱۳۱۷۵۵ نشانی الکترونیک: drarashazizi@yahoo.com

مقدمه

آفت دهانی یا (RAS) Recurrent aphthous stomatitis شایع‌ترین علت زخم‌های راجعه دهانی می‌باشد. آفت دهانی در حدود ۲۰ درصد کل جمعیت را درگیر می‌سازد. این ضایعات محدود به مخاط دهان هستند و بیشتر در مخاط گونه و لب مشاهده می‌شوند. اولین بروز RAS غالباً در دهه دوم زندگی پیش می‌آید. عمده‌ترین فاکتورهای شناخته شده در ایجاد آفت، وراثت، نارسایی خونی و اختلالات ایمنولوژیک می‌باشند (۱). به نظر می‌رسد نارسایی‌های خونی به ویژه در مورد آهن، فولات و ویتامین B₁₂ سرم در برخی از بیماران مبتلا به RAS یک عامل اتیولوژیک باشد (۲). فاکتورهای دیگر شامل تروما، استرس روحی- روانی، اضطراب و نگرانی و آلرژی به غذاهاست (۳). آنتی‌اکسیدان ماده‌ای است که بتواند از آسیب اکسیداتیو به یک مولکول هدف جلوگیری نماید یا آن را به تاخیر اندازد. همه مولکول‌های موجود در بدن جانداران شامل لیپیدها، پروتئین‌ها، نوکلئیک اسیدها و کربو هیدرات‌ها قابلیت آن را دارند که در معرض اکسیداتیو قرار گیرند (۴).

آنتی‌اکسیدان‌های معمول شامل: ویتامین‌های A، E، C و ترکیبات مشخصی که کاروتنوئید نامیده می‌شوند، می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌ها به جلوگیری از تخریب سلول‌های سالم با پایدار کردن رادیکال‌های آزاد کمک می‌کنند، زمانی که آنتی‌اکسیدان‌ها به اندازه کافی برای انجام عمل پراکسیداسیون وجود نداشته باشند، رادیکال‌های آزاد شروع به صدمه زدن به سلول‌های سالم می‌کنند و مشکلاتی مانند صدمه به سلول‌های ایمنی را در پی دارد که باعث افزایش ریسک ابتلا به عفونت می‌شود. به طور کلی پراکسیداسیون عمل مفیدی است به این علت که به بدن کمک می‌کند تا سلول‌هایی که از عمر مفید آنها گذشته و همچنین میکروب‌ها و انگل‌ها را از بین ببرد، ولی در صورتی که پراکسیداسیون به صورت چک نشده رها شود، سلامت سلول‌ها را به خطر می‌اندازد. تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که هر آنتی‌اکسیدان به طور منحصر به فردی برای سیستم ایمنی ارزش دارد، بنابراین سطح بالای یک آنتی‌اکسیدان به اندازه فعالیت متوسط تمامی آنتی‌اکسیدان‌ها در کنار هم، مؤثر نیست (۵). در یک مطالعه که در سال ۲۰۰۳ توسط Cimen و همکاران انجام شد وضعیت اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در نمونه‌های اریتروسیت و پلاسما بیماران با آفت

دهانی راجعه (RAS) در مقایسه با گروه کنترل تعیین شد (۶). ۲۲ بیمار با RAS و ۲۳ کنترل سالم بررسی شدند. سطح Superoxide dismutase، Glutathione peroxidase (GSHPx)، Catalase (CAT)، Malondialdehyde (MDA) و Antioxidant potential (AOP) در پلاسما و اریتروسیت بیماران مبتلا به RAS و گروه کنترل اندازه‌گیری شد. در این مطالعه کاهش سطح CAT، GSHPx و AOP در اریتروسیت و کاهش سطح MDA در پلاسما در بیماران با RAS در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت. این مطالعه معتقد بود سیستم دفاعی آنزیماتیک و غیرآنزیماتیک آنتی‌اکسیدان‌ها در بیماران مبتلا به RAS لطمه دیده است.

در یک مطالعه که در سال ۲۰۰۵ توسط Saral و همکاران انجام شد، سطح ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان سرم و بزاق (C، E، A) و پراکسیداسیون چربی در بیماران با آفت‌های راجعه ارزیابی شد (۷). در این مطالعه ۳۰ بیمار مبتلا به RAS و ۲۰ نفر به عنوان کنترل سالم بررسی شدند. سطح ویتامین‌های A، E و C در هر دو مایع در بیماران آفتی نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری پایین‌تر بود. سطح Maloandialdehyde (MDA) سرم و بزاق در گروه بیماران مبتلا به آفت دهانی نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری بالاتر بود. این مطالعه اولین مقایسه مخصوص سطح آنتی‌اکسیدان‌های بزاق و خون در بیماران مبتلا به آفت دهانی بود و نشان داد که قدرت آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی در این بیماران آسیب دیده است.

در مطالعه‌ای که توسط Karıncaoglu و همکاران انجام شد سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان Superoxide dismutase (SOD)، Catalase (CAT)، Glutathione peroxidase (GSHPx) پلاسما و بزاق و به علاوه اسیداوریک بزاق را در بیماران مبتلا به RAS و گروه کنترل بررسی کردند (۸). ۳۲ نفر با ابتلا به آفت‌های دهانی و ۳۰ نفر شخص سالم در این مطالعه انتخاب شده بودند. در گروه بیماران آفتی اگرچه سطح پلاسمایی CAT/SOD پایین‌تر بود ولی سطح GSHPx نسبت به گروه کنترل بالاتر بود. غلظت بزاقی GSHPx/CAT/SOD در بیماران آفتی بیشتر از گروه کنترل بود. اسید اوریک بین گروه RAS و کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت.

Naziroglu و Kokcam ویتامین آنتی‌اکسیدان E در پلاسما و RBC بیماران بهجت را بررسی کردند (۹) و شواهدی را درباره کاهش

دهان را نداشتند.

پس از توضیح کار به بیماران و کسب رضایت‌نامه از ایشان، از آزمودنی‌ها ۵ cc بزاق گرفته شد. زمان جمع‌آوری بزاق ساعت ۹ تا ۱۱ صبح بود و بیماران بایستی ۲ ساعت قبل از نمونه‌گیری، غذا نخورده و نیاشامیده باشند (۱). بیماران بزاق غیرتحریکی خود را در یک لوله آزمایش استریل شده خالی نمودند، درپوش لوله آزمایش بلافاصله گذاشته شده و بلافاصله به فریزر منتقل و تا زمان انجام آزمایش، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

پس از تکمیل نمونه‌های لازم، بزاق‌های فریز شده به آزمایشگاه انتقال داده شدند. برای اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان به وسیله اسپکتروفتومتر، کیت Randox ساخت انگلستان مورد استفاده قرار گرفت و آنتی‌اکسیدان کلی موجود در نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ nm اندازه‌گیری شد. در پایان، داده‌ها توسط آزمون Independent sample t-test مورد آنالیز قرار گرفتند.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر گروه کنترل شامل ۲۵ فرد غیرمبتلا به آفت بود که شامل ۶۴ درصد زن (۱۶ نفر) و ۳۶ درصد مرد (۹ نفر) می‌شد. گروه مورد از لحاظ سنی با گروه کنترل یکسان بود. میانگین سنی در افراد گروه شاهد $34/8 \pm 5/6$ و در گروه مورد $25/6 \pm 5/2$ سال بود. براساس نتایج به دست آمده از اسپکتروفتومتری مقادیر سطح بزاقی ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدان‌ها در بیماران مبتلا به آفت راجعه دهانی $1/64 \pm 0/64 \mu\text{mol/L}$ و گروه شاهد $1/49 \pm 0/3$ اندازه‌گیری شد، که پس از آنالیز توسط آزمون Independent sample t-test با توجه به یافته‌های به دست آمده تفاوت آماری معنی‌داری در ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدان‌ها در بیماران مبتلا به آفت راجعه دهانی و افراد غیرمبتلا به آفت یافت نشد ($P=0/464$).

بحث و نتیجه‌گیری

آفت راجعه دهانی یک بیماری التهابی مخاط دهان است، از طرفی نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در پیشگیری از بروز ضایعات دهانی همواره مورد بحث بوده است (۵). در بررسی حاضر بین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان در بیماران مبتلا به آفت راجعه دهانی و افراد سالم تفاوت معنی‌داری

آنتی‌اکسیدان‌های آنزیماتیک و غیرآنزیماتیک در ایجاد بیماری بهجت با خصوصیت التهابی‌اش به دست آوردند.

در مطالعه‌ای که در ژاپن انجام شد Ogura و همکاران رژیم غذایی بیماران آفتی را با گروه سالم مقایسه کردند (۱۰). از میان ۲۱۲۹ نمونه از بیمارستان دندانپزشکی ۱۱۸ بیمار تجربه ۴ بار در سال یا بیشتر ابتلا به آفت را گزارش دادند. بیماران پرسشنامه‌ای راجع به دفعات دریافت ۳۳ نوع غذا دریافت کردند و در نهایت ۲ گروه با هم مقایسه شدند. نتایج تفاوت معنی‌داری از میزان کلسیم، آهن، ویتامین B₁ و C دریافتی در غذای روزانه بیماران آفتی را در مقایسه با گروه سالم نشان می‌داد به طوری که سطح این مواد در گروه آفتی پایین‌تر بود.

با توجه به موارد فوق و تاثیر آنتی‌اکسیدان‌ها بر روی عوامل خونی و ترمیم اپی‌تلیالی و با توجه به اینکه آفت نیز یک زخم سطحی و تخریب اپی‌تلیالی موضعی می‌باشد، در این مطالعه به اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌های کلی بزاق در بیماران آفتی پرداختیم.

روش بررسی

تحقیق حاضر از نوع مقطعی تحلیلی بود. حجم نمونه براساس مطالعات قبلی و با توجه به مراجعه‌کنندگان بیماران آفتی به بخش بیماری‌های دهان، در زمان ابتلا ایشان در یک مقطع یک‌ساله و مشاوره با متخصص آمار، ۲۵ نفر انتخاب شد. پس از هماهنگی‌های لازم با بخش بیماری‌های دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، ۲۵ نفر (۱۶ زن و ۹ مرد) با متوسط سنی $35/6$ از میان بیماران ۲۰-۴۰ ساله مراجعه کرده به این بخش که با شکایت از زخم دهانی به این بخش مراجعه کرده بودند و توسط اساتید بخش از روی علائم کلینیکی آفت دهانی تشخیص داده شده بود، انتخاب شدند. ملاک انتخاب بیماران آفتی، داشتن سابقه بیش از سه بار آفت در طول یک‌سال بود. گروه شاهد از بین دیگر بیماران مراجعه نموده به این بخش که فاقد آفت دهانی بودند و از نظر سن و جنس با گروه مورد تطابق داشتند انتخاب شدند. بیماران کاملاً در جریان کار تحقیقاتی قرار می‌گرفتند و از آنها رضایت‌نامه کتبی دریافت می‌شد. همچنین قابل ذکر است که طرح مذکور در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه مورد تایید قرار گرفت. هیچ یک از افراد (کنترل و مورد) سابقه مصرف سیگار، الکل یا دارو یا ابتلا به بیماری‌های سیستمیک و سایر ضایعات

پژوهش حاضر در تناقض می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط Bartel و همکاران انجام شد، تاثیر تجویز LongoVital در جلوگیری از آفت راجعه دهانی مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۲). LV یک قرص گیاهی است که ویتامین‌هایی مثل ویتامین A، E، C، D به آن اضافه شده است. در نهایت تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه دریافت‌کننده LV و دریافت‌کننده Placebo مشاهده نشد که نتیجه این تحقیق با نتیجه این پژوهش همخوانی دارد. Kolseth و همکاران طی آزمایش‌هایی مشابه آزمایش Bartel به بررسی اثر LV در جلوگیری از آفت راجعه پرداختند (۱۳). نتایج به دست آمده حاکی از این بود که در گروه دریافت‌کننده LV کاهش معنی‌داری در تعداد بازگشت‌های آفت به وجود آمد و در ۳۱ درصد افراد در طول دوره تحقیق بازگشت ضایعه آفتی را نداشتند و ویتامین‌هایی مانند E و C در طول دوره درمان در خون افراد آفتی افزایش پیدا کرد. نتایج این مطالعه با نتیجه پژوهش حاضر در تضاد است.

در تمام پژوهش‌های گذشته به جز مورد اول که به طور خاص به بررسی وضعیت آنتی‌اکسیدان کلی در بزاق بیماران دارای آفت راجعه دهانی پرداخته بود و با نتایج پژوهش حاضر کاملاً مطابق است، سایر مطالعات بر روی اجزای خاصی از آنتی‌اکسیدان‌ها صورت گرفته است از سوی دیگر در مطالعه حاضر مقادیر بزاقی آنتی‌اکسیدان تام در هر دو گروه افراد سالم و افراد بیمار در محدوده نرمال آن ($1/3-1/77 \mu\text{mol/L}$) که در بروشور کیت ذکر شده بود، بوده است. نتایج این پژوهش نشان داد که سطح بزاقی ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان‌ها بین افراد مبتلا به آفت راجعه دهانی و افراد سالم تفاوت معنی‌داری ندارند. اگرچه ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان در بیماران مبتلا به آفت راجعه اندکی بیشتر از افراد سالم بود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه افرادی که ما را در انجام این تحقیق یاری رساندند، قدردانی می‌گردد. این مقاله نتیجه پایان‌نامه دانشجویی به شماره ۲۳۶ دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز می‌باشد.

مشاهده نشد. در بین مطالعات موجود تاکنون فقط یک مورد مطالعه مشابه توسط Caglayan و همکاران در سال ۲۰۰۸ صورت گرفته است که در این مطالعه ۵۰ بیمار دارای RAS و ۲۵ بیمار سالم شرکت کرده بودند و نتایج این آزمایش حاکی از این بود که تفاوت آماری معنی‌داری در ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان و سایر پارامترهای استرس اکسیداتیو در بین دو گروه سالم و بیمار، مشاهده نشد (۱۱). آنها به این نتیجه رسیدند که آنتی‌اکسیدان‌ها در بروز این بیماری التهابی، تاثیر خاصی ندارند و انواع اکسیژن فعال در اتیولوژی RAS نقشی ندارند که این یافته با نتایج این پژوهش همخوانی کامل دارد. سایر مطالعات غالباً بر روی سطح اجزای آنتی‌اکسیدان‌ها در افراد مبتلا به این بیماری انجام گرفته است. برای مثال Karıncaoglu و همکاران در سال ۲۰۰۵ به این نتیجه رسیدند که غلظت بزاقی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که شامل Superoxide dismutase و Glutathion peroxidase، Catalase است در بیماران آفتی بیشتر از سطح این آنزیم‌ها در گروه کنترل است، البته این مقدار تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود (۸). این مطالعه از جهاتی با این پژوهش همخوانی دارد، زیرا در این پژوهش نیز با اینکه تفاوت معنی‌داری در مقدار آنتی‌اکسیدان دو گروه مورد مطالعه مشاهده نشده است، ولی میزان آنتی‌اکسیدان در گروه مورد بیشتر از میزان آن در گروه شاهد است. استدلال Karıncaoglu و همکاران در افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بزاق افراد آفتی بر این اساس بود که در زمان بروز آفت، مکانیسم دفاعی بزاق که از طریق عوامل آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کند، باعث می‌شود که کل بدن آنتی‌اکسیدان ذخیره‌ای خود را به منطقه مورد نیاز بفرستد و همین امر باعث افزایش عوامل آنتی‌اکسیدانی در بزاق می‌شود و می‌توان گفت که کاهش سطوح این آنزیم‌ها در پلاسما به خاطر این تغییرات است (۸).

Saral و همکاران (۷) در یک مطالعه مورد-شاهدی به بررسی سطح ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان سرم و بزاق در بیماران دارای آفت راجعه دهانی پرداختند. در این مطالعه سطح ویتامین‌های A، E و C در بزاق افراد آفتی نسبت به گروه کنترل سالم به طور معنی‌داری پایین‌تر بود و نشان‌دهنده این موضوع بود که قدرت آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی در این بیماران آسیب دیده است. نتایج این مطالعه با نتایج

منابع:

- 1- Greenberg MS, Glick M. *Burket's oral medicine diagnosis & treatment*. 11th ed. Hamilton: BC Decker Co; 2008;63-5.
- 2- Compilato D, Carrocio A, Calvino F, Di Fede G, Campisi G. Haematological deficiencies in patients with recurrent aphthosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010;24(6):667-73.
- 3- Garcia BG, Cardoso MF, De faria O, Gomez RS, Mesquita RA. A case report of pernicious anemia and recurrent aphthous stomatitis. *J Contemp Dent Pract*. 2009;10(2):83-9.
- 4- Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ. *Modern nutrition in health and disease*. 10th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2006;685-92.
- 5- Arikan S, Durusoy C, Akalin N, Haberal A, Seckin D. Oxidant /antioxidant status in recurrent aphthous stomatitis. *Oral Dis*. 2009;15(7):512-5.
- 6- Cimen MY, Kaya TI, Eskandari G, Tursen u, Ikizogiu G , Atik U. Oxidant / antioxidant status in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Clin Exp Dermatol*. 2003;28(6):647-50.
- 7- Saral Y, Coskun BK, Ozturk P, Karatas F, Ayar A. Assessment of salivary and serum antioxidant vitamins and lipid peroxidation in patients with recurrent aphthous ulceration. *Tohoku J Exp Med*. 2005;206(4):305-12.
- 8- Karıncaoglu Y, Batcioglu K, Erdem T, Esrefoglu M, Genc M. The levels of plasma and salivary antioxidants in the patient with recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Pathol Med*. 2005; 34(1):7-12.
- 9- Kokcam I, Naziroglu M. Effects of vitamin E supplementation on blood antioxidant levels in patients with Behçet's disease. *Clin Biochem*. 2002;35(8):633-9.
- 10- Ogura M, Yamamoto T, Morita M, Watanabe T. A case-control study on food intake of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;91(1):45-9.
- 11- Caglayan F, Miloglu O, Altun O, Erel O, Yilmaz AB. Oxidative in stress and myeloperoxidative levels in saliva of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Oral Dis*. 2008;14(8):700-4.
- 12- Bratel J, Hakeberg M, Jontell M. The effect of LongoVital on recurrent aphthous stomatitis in a controlled clinical trial. *Oral Health Prev Dent*. 2005;3(1):3-8.
- 13- Kolseth I, Herlofson BB, Pedersen A. Norwegian Longovital and recurrent aphthous ulceration: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Oral Dis*. 2005;11(6): 374-8.