

Comparing the Enamel Hardness By Using MI Varnish™ With Recaldent™ Before And After Bracket Bonding.

(Comparación De La Dureza Del Esmalte Utilizando Mi Varnish™ Con Recaldent™ Antes Y Después De La Adhesión Del Bracket.)

María Rojas-Foronda¹, Oscar Alcázar-Aguilar^{2*}, Sandra Pastor-Arenas¹, Valery Infantes- Vargas¹, Carlos Linares-Weilg³, Carlos Temoche-Rosales³, Martha Rodríguez- Vargas³, Gina León-Untiveros¹.

¹Universidad Privada Norbert Wiener, Lima, Perú.

²Carrera de Medicina Humana, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Científica del Sur, Lima, Perú.

³Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Abstract

Background: The purpose of this study was to evaluate the *in vitro* efficacy of MI Varnish™ with Recaldent™ (CPP-ACP-Casein Phosphopeptide with calcium and amorphous phosphate) in preventing enamel demineralization before and after

bracket placement. **Material and Methods:** The sample consisted of 40 teeth placed in artificial saliva, divided into 4 groups of 10 teeth each: a first group did not use CPP- ACP, but a second group used CPP- ACP, both were thermocycled for 500 cycles. A third group did not used CPP-ACP, while a fourth group did, both were thermocycled for 1000 cycles. The t-student statistical test was applied. **Results:** The group without CPP-ACP for 500 cycles showed a starting average enamel hardness of 326,42+/- 39,62 HV (Kg/mm²) and a final average enamel hardness of 226,42 +/-35,18 HV (Kg/mm²), i.e., the enamel hardness decreased. The group with CPP-ACP showed a starting average enamel hardness of 310,28 +/- 41,13 HV (Kg/mm²) and a final average enamel hardness of 293,51 +/- 41,37 HV (Kg/mm²). The group without CPP- ACP for 1000 cycles showed a starting mean enamel hardness of 307,98 +/- 39,62 HV (Kg/mm²) and a final enamel hardness of 230,33 +/- 47,83 HV (Kg/mm²). The enamel hardness decreased more than the one for 500 cycles. Pieces with CPP-ACP showed a starting mean enamel hardness of 311,83 +/- 24,02 HV (Kg/mm²) and a final enamel hardness of 263,61 +/- 32,29 HV (Kg/mm²). **Conclusions:** Tooth enamel hardness for 500 cycles was higher with CPP-ACP.

Keywords: Demineralization, enamel, microhardness, Recaldent™.

RESUMEN

Introducción: el presente estudio evalúa la eficacia *in vitro* de MI Varnish™ con Recaldent™ (Fosfopéptido de la caseína con calcio y fosfato amorfo, CPP-ACP) para prevenir la desmineralización del esmalte antes/después de colocar el brácket. **Materiales y métodos:** la muestra comprende 40 dientes en saliva artificial divididos en cuatro grupos de diez cada uno. A un primer grupo no se le aplicó CPP-ACP, pero a un segundo grupo, sí. Ambos se sometieron a 500 ciclos de termociclado. Un tercer grupo fue tratado sin CPP-ACP y un cuarto grupo, con CPP-ACP, sometiéndose ambos a 1000 ciclos de termociclado. Se utilizó la prueba t de student. **Resultados:** a 500 ciclos la dureza inicial promedio del grupo sin CPP-ACP presentó 326.42 +/- 39.62 HV (kg/mm²) y una dureza final promedio de 226.42 +/-35.18 HV (kg/mm²), es decir, la dureza del esmalte disminuyó. El grupo con CPP-ACP reveló una dureza promedio inicial de 310.28 +/- 41.13 HV (kg/mm²) y una dureza promedio final de 293.51 +/- 41.37 HV (kg/mm²). A los 1000 ciclos, la dureza media inicial de las piezas sin CPP-ACP alcanzó

307.98 +/- 39.62 HV (kg/mm²); y la dureza final, 230.33 +/- 47.83 HV (kg/mm²). La dureza del esmalte disminuyó más que en 500 ciclos. La dureza media inicial de las piezas con CPP-ACP fue de 311.83 +/- 24.02 HV (kg/mm²) y una dureza final de

263.61 +/- 32.29 HV (kg/mm²). **Conclusiones:** A los 500 ciclos la dureza del esmalte dental fue mayor con CPP-ACP.

PALABRAS CLAVE

Desmineralización, esmalte, microdureza, Recaldent™.

Introducción

Se ha observado que los pacientes de ortodoncia desarrollan lesiones de manchas blancas debido a una caída en el pH oral (1). La mancha blanca, que afecta a un 96 % de los pacientes de ortodoncia (2), se diagnostica con frecuencia como un efecto secundario no deseado del tratamiento con aparato fija (3). La desmineralización del esmalte puede ocurrir por un déficit en la higiene bucal durante el procedimiento de ortodoncia (4). El flúor unido al calcio en el diente previene la adhesión bacteriana, produce cambios en la fermentación bacteriana de los azúcares (5). y, finalmente, cambia la estructura del esmalte dental dándole más dureza y protección contra los ácidos. La forma más común para prevenir la desmineralización dental es aplicar

barniz de flúor (6). Por ejemplo, MI Varnish™ con Recaldent™ es un barniz biodisponible que contiene iones de calcio, fosfato y flúor que protege las superficies dentales (7) gracias a la tecnología patentada por Recaldent™ (8). MI Varnish™ con Recaldent™ fortalece el esmalte, mientras que su pH neutro (6.6) aumenta la resistencia ácida del esmalte y evita la desmineralización dental (9). Debido a su baja viscosidad, fluye fácilmente hacia lugares de difícil acceso y no requiere preparación ni profilaxis (10). Para realizar el proceso de termociclado se requiere un aparato

□utilizado en biología molecular□ denominado máquina de PCR o reciclador térmico de PCR, el cual permite aplicar a las muestras ciclos de temperatura y así generar una reacción en cadena de la polimerasa de amplificación de ADN (11). Asimismo, para este caso, sirve para el envejecimiento de las piezas dentarias a fin de estudiar el comportamiento y durabilidad de los materiales, simulando condiciones de largo plazo en un corto periodo (12). El propósito de este trabajo fue evaluar la eficacia del MI Varnish™ con Recaldent™ (CPP-ACP-Fosfopéptido de la caseína con calcio y fosfato amorfo) *in vitro* en la desmineralización del esmalte dental antes y después de la colocación de bráquets.

Materiales Y Métodos

1. **Para el almacenamiento, alojamiento y preparación de las muestras:** Las muestras incluyeron premolares sanos, sin caries, ni desmineralización los que se sumergieron en un recipiente de vidrio transparente de 5 ml, con saliva artificial de 5.5 de pH marca Salival® (composición cloruro de sodio 0.084 g, cloruro de potasio 0.120 g, cloruro de calcio dihidratado 0.015 g, cloruro de magnesio hexahidratado 0.005 g, carboximetilcelulosa sódica 0.375 g, propilenglicol 4.000 g, metil parabeno 0.100 g, propil parabeno 0.010 g, agua purificada c.s.p. 100.00 ml) a 4 °C durante tres meses. El propósito de este procedimiento fue buscar el medio más similar al bucal. Se realizó el corte con disco de carburo para separar la corona de la raíz; luego, se montaron las muestras en matriz acrílica marca NIC-TONE® (3 cm x 1.5 cm x 1.5 cm). Se cubrió el cuello y se dejó al descubierto la corona clínica.

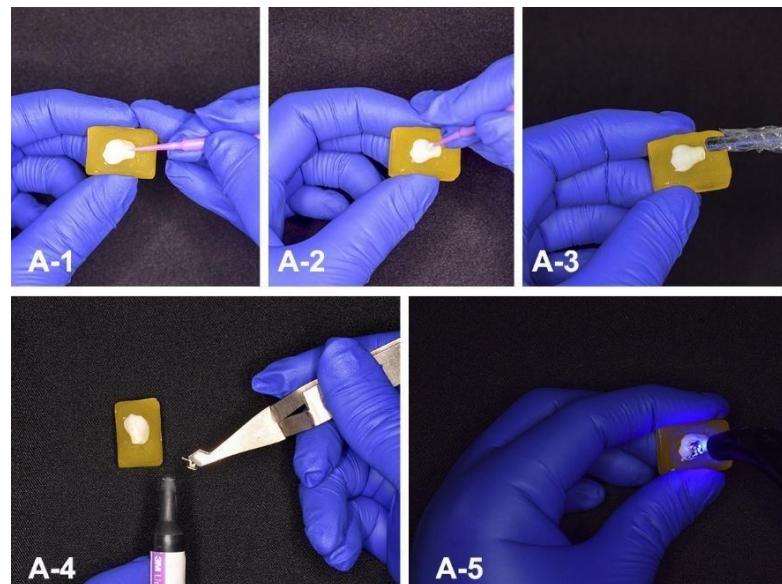
2. **Condicionamiento de la superficie del esmalte y cementación de los brackets:** Se realizó una profilaxis a todas las piezas dentarias utilizando una piedra pómex, un cepillo profiláctico Robinson y una pieza de mano marca NSK® de baja velocidad; se

3. secaron las piezas con una gasa estéril. Posteriormente, se tomó la lectura antes de aplicar CPP-ACP (Fosfopéptido de la caseína con calcio y fosfato amorfo). En estas piezas se acondicionó el esmalte con ácido fosfórico al 37 % por 15 segundos; en seguida, se enjuagó con agua por 30 segundos y, finalmente, se secó con aire comprimido. En las superficies vestibulares, se aplicó una capa de adhesivo 3M® Unitek Transbond™ XT St. Paul, Minnesota, EE. UU. con un microaplicador desechable Microbrush Plus®. Posteriormente, la resina se colocó sobre la base del bráquet con un FP3®, se presionó contra la superficie vestibular y se eliminó el exceso

con ayuda del microaplicador. Para polimerizar las piezas por veinte segundos se necesitó una lámpara Ortholux™ Luminous LED con una intensidad de 1600 mW/cm^2 (3M® Unitek Ortholux™) y una longitud de onda de 450 mm, aplicada a una distancia de aproximadamente 5 mm.

Figura A (1-5)

Acondicionamiento de la superficie vestibular del diente para la fijación del bracket.



4. **Aplicación de CPP-ACP (Fosfopéptido de la caseína con calcio y fosfato amorfo):** Se aplicó la pasta Mi Paste y el flúor barniz al grupo de piezas dentarias.

Figura B

Vista frontal: Aplicación al grupo que le corresponde CPP-ACP (Fosfopéptido de la caseína con calcio y fosfato amorfo)

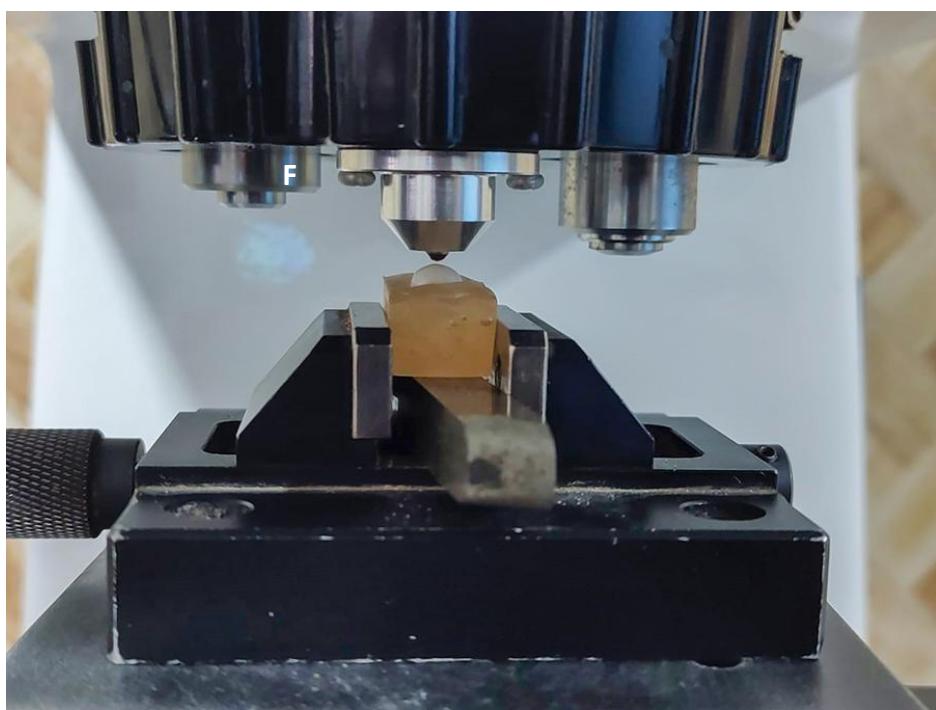


5. **Termociclado de las muestras:** Para llevar a cabo este proceso de baños de agua fría y caliente se empleó una máquina digital marca SIEMENS, con temperatura regulada entre 5 °C, 37 °C y 55 °C según la norma técnica. El movimiento del recorrido fue automático y se programó para los grupos con y sin CPP-ACP (Fosfopéptido de la caseína con calcio y fosfato amorfo) en 500 ciclos y 1000 ciclos. La exposición a cada baño duró al menos veinte segundos y el tiempo de transferencia entre baños se prolongó de cinco a diez segundos.

6. Lectura de la microdureza del esmalte en el grupo de muestras con y sin CPP- ACP-Fosfopéptido de la caseína con calcio y fosfato amorfó. Con el fin de verificar la microdureza del esmalte HV (kg/mm^2) alrededor del bracket antes y después del cementado, se utilizó el probador de microdureza (Electronic Micro- Vickers hardness testing machine, Digital Vernier, LG-HV-1000, Mitutoyo - 200 mm). Cada pieza dentaria recibió se sometió a una carga de 50 g por quince segundos. Se tomó como referencia tres puntos equidistantes (distancia de 0.2 a 0.5 mm en partes equidistantes al primer punto) de la muestra; se analizaron y se obtuvo un promedio de las tres interdenticiones realizadas en la cara vestibular de los dientes.

Figura C

Medición de la microdureza del esmalte antes y después del pegado de brackets. (probador de microdureza (Electronic Micro-Vickers hardness testing machine, Digital Vernier, LG-HV-1000, Mitutoyo - 200 mm).



Metodología

Se seleccionó una muestra de cuarenta dientes. En una ficha con columnas se completaron los datos: el código en representación de la pieza dentaria, se midió y registró la dureza del esmalte al inicio y después del cementado del bracket. Se dividió la muestra en cuatro grupos escogidos aleatoriamente con diez dientes cada uno.

G1: Primer grupo sin CPP-ACP, sometido a 500 ciclos de termociclado. G2: Segundo grupo con CPP-ACP, sometido a 500 ciclos de termociclado. G3: Tercer grupo sin CPP-ACP, sometido a 1000 ciclos de termociclado. G4: Cuarto grupo con CPP-ACP, sometido a 1000 ciclos de termociclado.

El procedimiento de termociclado permitió obtener el envejecimiento artificial de las muestras producto de los cambios térmicos de frío a calor de manera alterna, así como tener una proyección en el tiempo. Sin duda, el termociclado constituye una herramienta muy útil para solucionar diversos problemas en relación con el análisis de los materiales en Odontología.

Resultados

Se efectuó un análisis descriptivo e inferencial para evaluar la dureza del esmalte dental. Para determinar la normalidad se realizó la prueba de t de student. Se demostró que los datos tienen una distribución normal ($p < 0.05$), por lo que se aplicaron pruebas paramétricas.

Tabla 1

Dureza del esmalte para dientes tratados sin y con CPP-ACP(Fosfopéptido de la caseína con calcio y fosfato amorfo) a 500 ciclos.

		Sin CPP-ACP	Con CPP-ACP
Inicial	Media	326.42	310.28
	DS	39.62	41.13
	<i>p_valor*</i>	0.383	
Final	Media	226.42	293.51
	DS	35.18	41.37
	<i>p_valor*</i>	0.001	
<i>p_valor**</i>		< 0.001	0.007

Nota:

DE= desviación estándar; * t de student independiente; ** t de student relacionadas; p<0,05

Tabla 1. Se observó que la dureza del esmalte dental a los 500 ciclos sin CPP-ACP disminuyó y reveló un promedio de inicio de 326.42 +/- 39.62 HV (kg/mm²) y un promedio final de 226.42 +/- 35.18 HV (kg/mm²). Posteriormente, el grupo que recibió CPP-ACP logró un promedio inicial de 310.28 +/- 41.13 HV (kg/mm²) frente a un promedio final de 293.51 +/- 41.37 HV(kg/mm²). Se comprobó que el CPP-ACP contribuye a mejorar la dureza del esmalte dental; cuyo valor fue de p <0.05.

Tabla 2

Dureza del esmalte para dientes tratados sin y con CPP-ACP (Fosfopéptido de la caseína con calcio y fosfato amorfo) a 1000 ciclos.

		Sin CPP-ACP	Con CPP-ACP
Inicial	Media	307.98	311.83
	DS	39.62	24.02
	<i>p_valor*</i>	0.797	
Final	Mean	230.33	263.61
	DS	47.83	32.29
	<i>p_valor*</i>	0.085	
<i>p_valor**</i>		< 0.001	< 0.001

Nota:

DE= desviación estándar; * t de student independiente; ** t de student relacionadas; p<0,05

Tabla 2. La dureza del esmalte dental a los 1000 ciclos sin CPP-ACP registró un promedio inicial de 307.98 +/- 39.62 HV (kg/mm²) y un promedio final de 230.33 +/- 47.83 HV (kg/mm²). De esta manera, la disminución de la dureza del esmalte dental resultó mucho mayor frente a las piezas tratadas con CPP-ACP a los 1000 ciclos, cuyo promedio inicial alcanzó 311.83 +/-24.03 HV (kg/mm²) y el promedio final 263.61 +/- 32.29 HV (kg/mm²). Se concluyó que el uso de CPP-ACP ayuda a mantener y/o mejorar la dureza del esmalte dental de usarse antes y después del cementado de los brackets.

Discusión

Un efecto común en el tratamiento de la ortodoncia fija es la desmineralización del esmalte que se manifiesta en forma de lesiones blancas. Estudios previos han examinado la eficacia de varios agentes remineralizantes para tratar estas manchas blancas (13). Por esta razón, nos hemos centrado en ver la eficacia del flúor que contiene CPP-ACP para prevenir la desmineralización antes y después del pegado de los brackets (14). Este caso es similar a otros estudios que han comparado diferentes flúores y su eficacia.

Uno de estos estudios es el de Casimiro et al., quienes compararon la liberación del flúor de diferentes barnices como, por ejemplo, MI Varnish™ expuesto a bebidas de consumo. Ahí la máxima liberación se observó en MI Varnish™ a las ocho horas con bebidas carbonatadas (15). Por otro lado, Rangarajan et al., confrontaron la eficacia *in vivo* del barniz Michigan (MI), que contiene fosfopéptido de caseína (CPP) y fosfato de calcio amorfo (ACP) además de Fluoritop □ compuesto de fluoruro de sodio (5 % NaF)□, en la prevención y remineralización de las manchas alrededor de los bráquets de ortodoncia en los días 28 y 56 tras su aplicación. Aquí no se encontró significancia estadística entre la efectividad de MI Varnish™ y Fluoritop, excepto en la región cervical donde MI Varnish™ resultó ser más efectivo que Fluoritop en la prevención de la mancha blanca

(16). Flynn et al., evaluaron el efecto de MI Varnish™ (GC America Inc. Alsip, IL) y ProSeal (Reliance Orthodontic Products, Itasca, IL). Los selladores de fosfopéptido de caseína (CPP) y fosfato de calcio amorfo (ACP) previenen la formación de manchas blancas en pacientes de ortodoncia en quienes se estudió el efecto de protección. En este estudio se concluyó que los selladores MI Varnish™ y ProSeal brindaron una protección comparable a doce meses de tratamiento (17). Nayafi et al., evaluaron el efecto de la desmineralización de dos concentraciones de barniz de xilitol. Se determinó que el efecto a corto plazo del barniz de xilitol al 10 % sobre el control de la

caries fue significativamente mayor que el barniz de xilitol al 20 % y el placebo, pero similar al barniz de flúor. Sin embargo, el efecto a largo plazo del xilitol al 10 % resultó ser mejor que el del barniz de fluoruro (18). Pithon et. al. analizaron la efectividad de los productos que contienen fosfato de calcio amorfo (CPP-ACP) de fosfopéptido de caseína para la prevención y el tratamiento de lesiones de manchas blancas activas en pacientes con ortodoncia. Si bien los productos que contenían CPP-ACP no diferían de otros productos que contenían fluoruro, estos lograron reducir la mancha blanca y neutralizar el pH alrededor del aparato de ortodoncia. Se evidenció que los productos que contienen CPP-ACP previenen y tratan de manera eficaz la mancha blanca alrededor de los dientes (19). En el presente estudio, se observó que la dureza del esmalte dental a los 500 ciclos sin CPP-ACP disminuyó. Finalmente, se demostró que el CPP-ACP mejoró ostensiblemente la dureza del esmalte dental con un valor de $p < 0.05$. La dureza del esmalte dental a los 1000 ciclos sin CPP-ACP disminuyó mucho más que en las piezas tratadas con CPP-ACP. Al comparar el entorno clínico en otros estudios, los productos con CPP-ACP no resultaron mejores que otros productos que contienen fluoruro para reducir las manchas blancas y neutralizar el pH alrededor de los brackets. Al haber más ciclos, el valor de la dureza disminuyó, pues al someter la muestra al termociclado por un mayor tiempo, el producto se degradó y el esmalte se debilitó. El presente estudio también determina que CPP-ACP (Fosfopéptido de la caseína con calcio y fosfato amorfo) favorece la dureza del esmalte dental antes y después de cementar los brackets a 500 y 1000 ciclos de termociclado.

Referencias

1. Mei L, Chieng J, Wong C, Benic G, Farella M. *Factors affecting dental biofilm in patients wearing fixed orthodontic appliances*. Prog Orthod. 2017; 18:4.
2. Benson F, Parkin N, Dyer F, Declan T Millett, Germain P. *Fluorides for preventing early tooth decay (demineralized lesions) during fixed brace treatment*. Cochrane Database Syst Rev. 2019 Nov 17;2019(11).
3. Heshmat H, Banava S, Mohammadi E, Kharazifard M, Mojtabahedzadeh F. *The effect of recommending a CPP-ACPF product on salivary and plaque pH levels in orthodontic patients: a randomized cross-over clinical trial*. Acta Odontol Scand. 2014 Nov; 72(8):903-907.
4. Nalbantgil D, Oztoprak M, Cakan D, Bozkurt K, Arun T. *Prevention of demineralization around orthodontic brackets using two different fluoride varnishes*. Eur J. Dent. 2013 Jan;7(1):41–47. PMID: 23408742; PMCID: PMC3571508.
5. Al Dehailan L, Martínez-Mier E, Lippert F. *The effect of fluoride varnishes on caries lesions: an in vitro investigation*. Clin Oral Investig. 2016 Sep;20(7):1655-62. doi: 10.1007/s00784-015-1648-4. Epub 2015 Nov 10. PMID: 26556573.
6. Mishra S. *Comparative Evaluation of Shear Bond Strength of Orthodontic Brackets on Pretreatment with CPPACP, Fluor Protector and Phosflur: An In-vitro Study*. J Clin Diagn Res. 2014 May;8(5):ZC01-5. doi: 10.7860/JCDR/2014/7702.4312. Epub 2014 May 15. PMID: 24995233;

- PMCID: PMC4080054.
7. Juárez-López M, Hernández-Palacios R, Hernández-Guerrero J, Jiménez-Farfán D, Molina-Frechero N. *Efecto preventivo y de remineralización de caries incipientes del fosfopeptido de caseína fosfato de calcio amorfo* [Preventive and remineralization effect over incipient lesions of caries decay by phosphopeptide- amorphous calcium phosphate]. Rev Invest Clin. 2014 Mar-Apr;66(2):144-51. Spanish. PMID: 24960324.51.
 8. Sonesson M, Brechter A, Abdulraheem S, Lindman R, Twetman S. *Fluoride varnish for the prevention of white spot lesions during orthodontic treatment with fixed appliances: a randomized controlled trial*. Eur J Orthod. 2020 Jun 23;42(3):326-330. doi: 10.1093/ejo/cjz045. PMID: 31197364.
 9. Hamdan W, Badri S, El Sayed A. *The effect of fluoride varnish in preventing enamel demineralization around and under orthodontic bracket*. Int Orthod. 2018 Mar;16(1):1-11. doi: 10.1016/j.ortho.2018.01.005. Epub 2018 Mar 2. PMID: 29503143.
 10. Baik A, Alamoudi N, El-Housseiny A, Altuwirqi A. *Fluoride varnishes for preventing occlusal dental caries: A review*. Dent J (Basel). 2021; 9:64.
 11. Pithon M, Dos Santos M, Andrade C, Leão Filho J, Braz A, De Araujo R, Tanaka O, Fidalgo T, Dos Santos A, Maia L. *Effectiveness of varnish with CPP-ACP in prevention of caries lesions around orthodontic brackets: an OCT evaluation*. Eur J Orthod. 2015 Apr;37(2):177-82. doi: 10.1093/ejo/cju031. Epub 2014 Jul 4. PMID: 24997026.
 12. Alexandria A, Vieira T, Pithon M, Da Silva Fidalgo T, Fonseca-Gonçalves A, Valença A, Cabral L, Maia L. *In vitro enamel erosion and abrasion-inhibiting effect of different fluoride varnishes*. Arch Oral Biol. 2017 May; 77:39-43. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.01.010. Epub 2017 Jan 27. PMID: 28167334.
 13. Fernández C, Tenuta L, Del Bel Cury A, Nóbrega D, Cury J. *Effect of 5,000 ppm Fluoride Dentifrice or 1,100 ppm Fluoride Dentifrice Combined with Acidulated Phosphate Fluoride on Caries Lesion Inhibition and Repair*. Caries Res. 2017;51(3):179-187. doi: 10.1159/000453624. Epub 2017 Feb 22. PMID: 28222429.
 14. Reddy R, Manne R, Sekhar G, Gupta S, Shivaram N, Nandalur K. *Evaluation of the Efficacy of Various Topical Fluorides on Enamel Demineralization Adjacent to Orthodontic Brackets: An In Vitro Study*. J Contemp Dent Pract. 2019 Jan 1;20(1):89-93. PMID: 31058619.
 15. Casimiro-Iriarte S, Chiok-Ocaña L. *Fluoride release from fluoride varnishes exposed to commonly consumed beverages: An in vitro study*. J Clin Exp Dent. 2023 Mar 1;15(3):e187-e194. doi: 10.4317/jced.60022. PMID: 37008237; PMCID: PMC10062470.
 16. Rangarajan S, Vikram N, Dhayananth X, Rajakumar P, Venkatachalapathy S, Karikalan N. *Efficacy of Fluoride Varnish with Casein Phosphopeptide and Amorphous Calcium Phosphate vs Fluoride Varnish in Prevention of White Spots Lesion in fixed Orthodontic Patients: In Vivo Study*. J Contemp Dent Pract. 2022 Nov 1;23(11):1100-1105. doi: 10.5005/jp-journals-10024-3404. PMID: 37073932.
 17. Flynn L, Julien K, Noureldin A, Buschang P. *The efficacy of fluoride varnish vs a filled resin sealant for preventing white spot lesions during orthodontic treatment*. Angle Orthod. 2022 Mar 1;92(2):204-212. doi: 10.2319/052521-418.1. PMID: 34679162; PMCID: PMC8887398.
 18. Zarif Najafi H, Shavakhi M, Pakshir H. *Evaluation of the preventive effect of two concentrations of xylitol varnish versus fluoride varnish on enamel demineralization around orthodontic brackets: a randomized controlled trial*. Eur J Orthod. 2022 May 24;44(3):243-251. doi: 10.1093/ejo/cjab049. PMID: 34379121.
 19. Pithon M, Baião F, Sant'Anna L, Tanaka O, Cople-Maia L. *Effectiveness of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate-containing products in the prevention and treatment of white spot lesions in orthodontic patients: A systematic review*. J Investig Clin Dent. 2019 May;10(2): e12391. doi: 10.1111/jicd.12391. Epub 2019 Jan 24. PMID: 30680921.