



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ  
СТУДИЈЕ КЛИНИЧКЕ МЕДИЦИНЕ

**Утицај газираних пића на тврда  
зубна ткива –*in vitro* студија**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ментор: Проф. др Ивана Стојшин      Кандидат: Зорица Панић

Нови Сад, 2018. године

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ**  
**МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Zorica Panić
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof.dr Ivana Stojšin, vandredni profesor na Katedri za stomatologiju (Bolesti zuba i endodoncija), Medicinski fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Uticaj gaziranih pica na tvrda zubna tkiva – <i>in vitro</i> studija
Jezik publikacije: JP	Srpski (ćirilica)
Jezik izvoda: JI	Srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Autonomna Pokrajina Vojvodina
Godina: GO	2018.
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Srbija, 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3

Fizički opis rada: FO	7 poglavlja / 134 stranice / 57 slika / 11 grafikona/ tabela 19 / 117 referenci
Naučna oblast: NO	Stomatologija
Naučna disciplina: ND	Bolesti zuba i endodoncija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	gazirani napici; dentin; skening elektronska mikroskopija; erozija zuba; zubna gleđ; komponente zuba; in vitro metode
UDK	616.314.14:663.64]-076
Čuva se: ČU	Biblioteka Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad, Srbija
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	<p>Značajan porast prevalence dentalnih erozija u savremenom društvu, zahteva sve više pažnje ka istraživanju njihove etiologije i preventivnih mera koje se mogu preduzeti. Cilj ove studije bio je da se ispita erozivni potencijal gaziranih napitaka i njihov uticaj na zubna tkiva, tokom različitih vremenskih intervala.</p> <p>Stepen kiselosti izražen pH vrednostima za svaki ispitivani napitak (gaziranu vodu „Knjaz Miloš“, Coca-Cola-u i Schweppes Bitter Lemon), određen je odmah po otvaranju ambalaže sa napitkom, nakon 5 i 60 minuta kao i nakon 12 i 24 sata od potapanja zubnih uzoraka. U ovoj studiji posmatrane su mikroskopske promene proučavanjem skening elektronske mikrofotografije spoljašnje površine gleđi, kao i uzdužni presek gleđi i dentina zuba nakon izlaganja gore navedenim napicima 5 i 60 minuta, 12 i 24 sata kao i 7 i 30 dana, ali i makroskopske promene boje i strukture gleđi u svim navedenim vremenskim intervalima. Za određivanje stepena nastalih mikroskopskih i makroskopskih promena primenjene su individualno prilagođene skale.</p> <p>Početna pH vrednost svih ispitivanih napitaka je niža od kritične pH vrednosti za demineralizaciju gleđi. Sa porastom vremena od potapanja zubnih uzoraka u napitke, njihova pH vrednost značajno raste. Na SEM mikrofotografijama gleđi i dentina se uočavaju promene u morfologiji, čiji intenzitet zavisi od</p>

	<p>vrste napitka i vremena koje je uzorak u njemu proveo. Centralni tip demineralizacije prisutan je kod uzoraka potopljenih u kiselu vodu i Coca Cola napitak a periferni kod Schweppes Bitter Lemon. Intenzitet promena zubnih tkiva raste u funkciji vremena, ali statistički značajna razlika ne postoji između svih vremenskih intervala. Zubi koji su bili izloženi delovanju gazirane vode „Knjaz Miloš“ ne pokazuju izmene u makroskopskom izgledu, za razliku od zuba koji su tretirani Coca-Cola-om i Schweppes Bitter Lemon-om čiji intenzitet izmenjenosti raste u funkciji vremena, s tim da je statistički značajna razlika prisutna između pojedinih vremenskih intervala. S obzirom na erozivni potencijal i promene koje gazirani napitci izazivaju u <i>in vitro</i> условима, potrebno je preduzeti odgovarajuće preventivne mere kako bi se smanjio njihov uticaj na zube u <i>in vivo</i> uslovima.</p>
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	16.04.2015.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	

University of Novi Sad  
Medical Faculty  
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	Ph.D thesis
Author: AU	Zorica Panić
Mentor: MN	Ivana Stojšin, MD, Ph.D, Associate professor, Medical Faculty, University of Novi Sad
Title: TI	Influence of carbonated beverages on dental hard tissues - in vitro investigation
Language of text: LT	Serbian (cyrillic)
Language of abstract: LA	English/ Serbian
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Autonomous Province of Vojvodina
Publication year: PY	2018.
Publisher: PU	Author reprint
Publication place: PP	Serbia, 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3

Physical description: PD	number of chapters 7/ pages 134/ pictures 57/ graphic 11 / tables 19 / references 117
Scientific field SF	Dentistry
Scientific discipline SD	Operative dentistry
Subject, Key words SKW	Carbonated Beverages; Dentin; Microscopy, Electron, Scanning; Tooth Erosion; Dental Enamel; Tooth Components; In Vitro Techniques
UC	616.314.14:663.64]-076
Holding data: HD	Library of Medical Faculty Novi Sad, Serbia 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3
Note: N	
Abstract: AB	<p>Due to the fact that prevalence of dental erosion significantly increased in modern society, it is important to investigate its etiological factors and all available preventive measures. The aim of this study was to investigate erosive potential of carbonated beverages and their influence on dental hard tissues, during different intervals. The acidity or pH level was measured for each beverage (carbonated water „Knjaz Milos“, Coca-cola and Schweppes Bitter Lemon), on opening of the bottle, after 5 minutes and 60 minutes, and after 12 hours and 24 hours immersion of tooth samples in adequate beverage. In this study, microscopic changes of dental tissues were examined using a scanning electron microphotography of outer surface of enamel and longitudinal section of enamel and dentin, after exposure to beverages during 5 and 60 minutes, 12 and 24 hours, and 7 and 30 days, as well as macroscopic shanges of tooth color and srtucture at same intervals. Individually adopted scales were used for grading of the severity of microscopic and macroscopic changes.</p> <p>Initiated pH value of each tested beverage was lower than critical pH for enamel demineralisation. SEM images of enamel and dentin showed different morfology changes, which intensivity depanded on type of beverages and time that sample were stored. Central type of demineralisation was visible on samples treated with carbonated water and</p>

	<p>Coca-Cola, while peripheral type of demineralisation was detected on samples treated with Schweppes Bitter Lemon. The intensity of alterations of dental tissues increased during time, but there was not statistically significant difference between all intervals. There wasn't detected macroscopic changes on teeth stored in carbonated water, while teeth treated with Coca-Cola and Schweppes Bitter Lemon showed changes which intensity increased during time, but statistically significant difference between all intervals wasn't detected. Due to erosive potential and changes influenced by carbonated beverages <i>in vitro</i>, preventive measures are necessary for reducing their effect on teeth <i>in vivo</i>.</p>
<p>Accepted on Senate on: AS</p>	<p>April 16<sup>th</sup>, 2015.</p>
<p>Defended: DE</p>	
<p>Thesis Defend Board: DB</p>	

## Захвалница

Током рада на овом малом пројекту била је потребна подршка и стрпљење многих особа, како би се обезбедило његово успешно завршавање.

Пре свега, желела бих да изразим велику захвалност својој менторки, проф. др Ивани Стојшин на свему што ме научила, како у току основних спудија, тако и у току израде ове докторске дисертације. Велико хвала на сталном подсећању на значај завршетка започетог рада, како у свакодневном животу, тако и у мом научно-истраживачком раду. Хвала на уложеном труду, вољи, стрпљењу, бројним стручним саветима, дискусијама и помоћи коју ми је пружила током израде ове дисертације. Велико хвала и на томе што ми је, несвесно, својим радом и љубављу према овој темапици, дала идеју за ово истраживање. Хвала на пријатељском приступу и слободи при писању, како ове дисертације, тако и осталих научних радова. Хвала на дивним тренуцима проведеним на Клиници за стоматологију, и омогућавању да унапређујем како теоријско знање, тако и практичне вештине.

Захваљујем се породици Далмација, драгим Божи и Јели, који су омогућили реализацију микроскопског испитивања и који су ми пружили све облике подршке при раду на овој дисертацији.

Хвала господину Милошу Бокорову на неизмерном стрпљењу и труду који је уложио прилоком рада на скенинг електронском микроскопу, као и на бројним сугестијама приликом снимања микрофотографија.

На крају, али не и мање важно...

Од срца се захваљујем мојим родитељима на безусловној подршци и на свим одрицањима која су била потребна током свих година мог школовања. Хвала што су успели да, и у најтежим тренуцима, не посустану у подстицањима да завршим започети рад.

Хвала осталој родбини и пријатељима на стрпљењу, разумевању и бескрајној подршци.



## Садржај

1. Увод.....	1
1.1 Газирани напитци.....	1
1.1.1 Историја газираних напитака.....	1
1.1.2 Утицај газираних напитака на здравље и њихов састав.....	3
1.2 Хистологија зубних ткива.....	5
1.2.1 Хистологија глеђи.....	5
1.2.2 Хистологија дентина.....	8
1.3 Утицај газираних напитака на зубна ткива.....	11
1.4 Денталне ерозије.....	12
1.4.1 Хемијски механизам настанка денталних ерозија.....	12
1.4.2 Хистопатолошки аспекти и клиничка слика ерозивних промена.....	16
1.4.3 Преваленца ерозивних промена .....	17
1.4.4 Етиологија денталних ерозија.....	18
1.4.5 Фактори који модификују ерозивне промене и превентивне мере.....	19
1.4.5.1 Фактори понашања.....	20
1.4.5.2 Биолошки фактори.....	20
1.4.5.3 Хемијски фактори.....	22
1.4.6. Терапија денталних ерозија.....	24
2. Циљ, хипотеза и научна оправданост.....	25
3. Материјал и методе .....	26
3.1 Мерење рН вредности газираних напитака.....	26
3.2 Микроскопско испитивање.....	26
3.3 Макроскопско испитивање.....	28
3.4 Анализа података.....	28
3.4.1 Анализа измерених рН вредности.....	28
3.4.2 Анализа резултата микроскопског испитивања.....	29
3.4.3. Анализа резултата макроскопског испитивања.....	29
4. Резултати .....	30
4.1 Резултати мерења рН вредности испитиваних напитака.....	30
4.2 Резултати микроскопског испитивања.....	32

4.2.1 Приказ и опис СЕМ микрофотографија.....	32
4.2.2 Степен измењености узорака појединачно за сваки временски интервал.....	86
4.2.3 Измењеност узорака у зависности од дужине временског интервала, посебно за сваки испитивани напитака.....	92
4.3 Резултати макроскопског испитивања.....	95
4.3.1 Приказ и опис макрофотографија.....	95
4.3.2 Степен измењености макроскопског изгледа зуба појединачно за сваки временски интервал.....	98
4.3.3 Анализа разлике у степену измењености зуба између временских интервала, за сваки напитака посебно.....	101
5. Дискусија.....	104
5.1 Дискусија методологије.....	104
5.2 Дискусија резултата мерења рН вредности газираних напитака.....	106
5.3 Дискусија микроскопског испитивања.....	110
5.4 Дискусија макроскопског испитивања.....	117
6. Закључак.....	121
6.1 Закључак мерења рН вредности испитиваних напитака.....	121
6.2 Закључци микроскопског испитивања.....	121
6.2.1 Закључци квалитативне анализе скенинг електронских микрофотографија.....	121
6.2.2 Закључци квантитативне анализе скенинг електронских микрофотографија.....	123
6.3 Закључци макроскопског испитивања.....	124
6.3.1 Закључци квалитативне анализе макрофотографија.....	124
6.3.2 Закључци квантитативне анализе макрофотографија.....	125
7. Литература .....	126

## 1. Увод

Континуирани развој нутриционизма и бројна истраживања у области хране и напитака довела су и до бројних измена у свакодневној исхрани. Оне подразумевају измене у врсти и количини конзумираних напитака, начину на који се конзумирају и њиховој улози у исхрани, а најизраженије од промена су смањено конзумирање млека и повећано конзумирање газираних и негазираних освежавајућих напитака (1).

### 1.1 Газирани напици

#### 1.1.1 Историја газираних напитака

Конзумирање безалкохолних пића у различитим облицима заступљено је вековима уназад са циљем да се задовоље потребе људског организма за хидратацијом. Најдоступнији извор хидратације је вода, али у ранијим временима потрошња воде је била ризична, због честе контаминације микроорганизмима. Епидемије колере, дизентерије и других болести које се преносе водом биле су уобичајене у многим европским градовима пре двадесетог века. Ароматизовани напици са додатком јечма датирају од 1320. године, а најранији подаци о конзумирању лимунаде потичу из Енглеске од 1663. године. Производња пенушавих алкохолних пића, као што су пиво и вино, где се угљен-диоксид добија директно процесом ферментације, документована је 1693. године, када је *Dom Perignon* произвео шампањац. Неколико бања је било познато по садржају воде која је природно газирана и током седамнаестог века расте интерес научника за истраживањем гаса који изазива овај пенушави ефекат. *Brownrigg* је 1741. године произвео газирану воду користећи бикарбонатне соли. Откриће вештачке газиране воде, добијене растварањем  $\text{CO}_2$  под притиском приписује се др *Joseph Priestley*-у крајем 1760. године. Комерцијални развој производње газираних вода текао је брзо, упоредо са тадашњим научним и технолошким развојем (2). Производња газираних пића је брзо постала популарна широм Европе. *Paul, Schewepe* и *Gosse* су започели успешан посао у Женеви, који су после 1792.

године проширили на друге градове, Лондон и Бристол. У САД-у првим комерцијалним произвођачем газиране воде сматра се *Benjamin Silliman*, професор хемије на колеџу у Јејлу, који је у партнерству са *Mr Twining*-ом, започео продају 1807. године (2).

Током деветнаестог века популарност освежавајућих газираних напитака нагло је расла, а са тим и број различитих укуса. Тако је већ 1885. године апотекар *Dr John S. Pemberton* осмислио тоник *French Wine Cola*, веома сличан данашњој Кока-Коли. Он је садржао састојке из лишћа коке, чији је дериват кокаин и биљке кола, која је богат извор кофеина (3). Временом је *Pemberton* из њега избацио алкохол, додао друге биљне есенције и добио нови сируп без имена, који је лечио главобољу. *Asa G. Candler* је 1892. године преузео производњу овог напитка и основао *Coca-Cola Company* у Атланти, са веома агресивном маркетиншком кампањом за овај „хранљиви напиток и тоник“ (2).

Широм света регистровано је повећано конзумирање газираних напитака, поготово код млађе популације (4,5). Продаја газираних напитака последњих десет година порасла је за 56 %, и очекује се да ће наставити да расте 2-3% годишње у наредном периоду (6). Просечна дневна потреба човека за водом је 2-3 литра, а у западним земљама више од половине дневно унете течности чине освежавајући напаци, који подразумевају газиране и воћне сокове (7). Истраживања у САД-у су показала да преко четрдесет процената предшколске деце пије дневно више од 250 милилитара газираних напитака, а у узрасту од 12-19 година старости конзумирање се повећава на преко 750 милилитара код особа мушког пола, односно преко 500 милилитара код особа женског пола (8). Подаци из 2013. године показују да се у Великој Британији конзумирају 103 литра газираних напитака по глави становника годишње, а 2007 конзумирало се 94.3 литра (9). У Аустралији конзумирање газираних напитака чини 15 % од укупне количине конзумираних заслађених напитака код деце узраста 2-3 године. Тај проценат расте са повећањем старосне границе, па код деце узраста 4-8 година износи 23,4 %, код деце од 9-13 година износи 38,4 %, а у старосној групи од 14-16 година чак 41,7 % (10). Студија из 2015. године показује да 58% студената конзумира газиране напитке два пута дневно, 17% три пута дневно, 12% конзумира више од три пута дневно (11).

### 1.1.2 Утицај газираних напитака на здравље и њихов састав

Повећано конзумирање вештачки заслађених напитака, који подразумевају газираних и вештачке воћне сокове, могу допринети повећању епидемије гојазности, која представља највећи глобални здравствени проблем и повезана је са повећаним ризиком од настанка неинфективних болести, као што су дијабетес, метаболички синдром, неалкохолна болест јетре и кардиоваскуларне компликације (12). Конзумирање освежавајућих напитака и даље је контроверзна тема за јавно здравље и јавну политику. Продаја освежавајућих напитака је забрањена у школама у Великој Британији и Француској, а у САД-у у великим школским системима, као што су у Лос Анђелесу, Филадельфији и Мајамију продаја освежавајућих пића је забрањена или строго ограничена (13). Освежавајући напаци, укључујући и газирани пића, обично се састоје од воде, којој се додају: заслађивачи ( $8 \div 12\%$ , w / v), угљен-диоксид ( $0,3 \div 0,6\%$  w / v), киселине ( $0,05 \div 0,3\%$  w / v), ароме ( $0,1 \div 0,5\%$  w / v), боје ( $0 \div 70$  ppm), хемијски конзерванси (чија је примена законски ограничена), антиоксиданти ( $<100$  ppm), и / или средства за постизање ефекта пенушања (нпр. сапонини до  $200$  mg / ml). Поједини састојци могу бити штетни по здравље уколико се конзумирају у великим количинама, а уопштено, највећа забринутост постоји у вези са повећаним уносом конзерванаса и заслађивача (14).

Најчешће газирани напаци садрже 90% или више воде, при чему произвођачи најчешће користе дејонизовану воду како би се избегао утицај остатака хлора на укус напитака. Садржај шећера у освежавајућим напацима је између 1% и 12 %, при чему су сахароза, глукоза и фруктоза, у различитим облицима, најчешће коришћени природни угљени хидрати. Осим поменутих, од природних угљених хидрата, као заслађивач користи се и трехалоза, која има велику термостабилност и широки опсег рН стабилности (14).

Услед забринутости због утицаја поменутих шећера на здравље људи, укључујући и орално здравље, у производњи освежавајућих напитака, који се означавају као напаци „без додатог шећера“, користе се алтернативни заслађивачи (15). Најчешће коришћени заслађивачи (са дозвољеном максималном

дозом у земљама Европске уније су: аспартам (600mg/L), ацесулфам К (350mg/L), сукралоза (300mg/L) и сахарин (80mg/L) (16).

Угљен-диоксид је нетоксичан, инертан гас који је практично без укуса и лако доступан са аспекта економичности. Растворен у води формира угљену киселину, од које потиче киселост газираних воде и других газираних напитака. Карбонизација је процес сједињавања течности са гасом угљен-диоксида (17). Код су у питању газирани напитци, овај процес варира од 1.5 до 5 g/l (14). Осим тога, када карбонизација пређе одређени ниво, угљен-диоксид има и улогу конзерванса (17).

Додавање киселина је саставни део производње газираних пића, при чему је кисела компонента најчешће трећа по реду кад је у питању концентрација састојака у пићу. Киселе компоненте имају примарну функцију у смањењу осећаја жеђи, која је резултат стимулације лучења пљувачке у устима. Осим тога, киселине имају и улогу конзерванса, јер смањују рН вредност напитка, и улогу појачивача укуса, у зависности од осталих присутних компоненти. Најчешће употребљаване су лимунска, винска, јабучна, фосфорна и ортофосфорна киселина (17). Код већине напитака, лимунска киселина се користи као регулатор киселости, с обзиром да има и додатне погодности-повећава активност додатних антиоксиданата и арома. Фосфорна киселина је једина неорганска киселина која је нашла широкоу примену у преради хране (17). Има снажан утицај на рН вредност и најчешће се користи да обезбеди карактеристичан укус кола напитцима.

Примена боја у производњи газираних напитака обезбеђује следеће функције: чине да производ буде више привлачан у погледу естетике, помаже у корекцији природних промена у боји или промена које се догађају приликом прераде или складиштења пића, доприноси одржавању квалитета по коме је пиће препознатљиво. Постоје три основне групе боја у прехранбеној индустрији: природне, вештачке и карамел боје. Њихова примена у земљама Европске уније мора бити у складу са прописима о адитивима у исхрани (14).

Ароме се састоје од смеше ароматичних супстанци, пажљиво одабраних да пренесу одговарајућу поруку сензорним рецепторима потрошача. Конзерванси се дефинишу као супстанце које инхибирају или успоравају раст микроорганизама или кварање хране које је у вези са микроорганизмима, или маскирају било какве

показатеље таквог процеса. Поред угљен-диоксида који доприноси инхибицији раста микроорганизама, као конзерванси у газираним напацима користе се и сорбати и диметил дикарбонат (17).

Састав испитиваних газираних напитака је следећи:

- Соса-Сола: вода, високо фруктозни сируп, шећер, угљен-диоксид мин. 2 g/l, боја (Карамел E150d), фосфорна киселина, природне ароме укључујући кофеин.
- Schweppes Bitter Lemon: вода, високо фруктозн сируп, сок од лимуна (1.5 %) из концентрисаног сока, угљен-диоксид (мин. 2 g/l), екстракт лимуна, лимунска киселина, ароме (укључујући кинине, max. 85 mg/l), конзерванс (Калијум-сорбат), антиоксиданс: аскорбинска киселина, стабилизатори.
- Газирана минерална вода „Књаз Милош“: природна газирана минерална вода са додатим угљен-диоксидом и присутним минералима (натријум, калцијум, магнезијум, калијум, гвожђе) и солима (хидрокарбонати, силикати, хлориди, сулфати, флуориди).

## 1.2 Хистологија зубних ткива

### 1.2.1 Хистологија глеђи

Глеђ је ткиво које покрива анатомску круницу и његова дебљина је различита у различитим деловима зуба (18). Најдебља је у инцизалној и оклузалној зони. Дебљина у овој зони варира зависно од класе којој зуб припада: 2 милиметра (у пределу инцизалне ивице), 2.3-2.5 милиметара (у пределу квржице премолара) и 2.5-3.0 милиметра (у пределу квржица молара). По хемијском саставу, глеђ је високо минерализовано ткиво које тежински садржи 95%-98% неорганске материје. Хидроксиапатит, у облику кристалне решетке, је најзаступљенији минерал и заступљен је волуменски 90%-92%. Остали минерали и елементи у траговима су присутни у малим количинама. Преостали део глеђне супстанце чини органски садржај (1%-2%) и вода (око 4%) тежински, односно укупно приближно 6% волуменски (19).

Структурно, глеђ се састоји од глеђних шипки или призми, које су највећи структурни елементи, и од везујуће супстанце између њих (18). На попречном

пресеку глеђне призме се разликују зона округле главе или тела и зона репа. Округли део сваке призме лежи између репова две суседне призме. Главе или тела призми су ближе инцизалној ивици или оклузалној површини, док је реп призме оријентисан цервикално. Глава призме је најшири део, ширине око 5 микрона, док реп као издужени, тањи део има ширину око 1 микрона. Цела призма, на попречном пресеку, подразумевајући и главу и реп, је дуга око 9 микрона (19). Простор између призми или ткз. кошуљице је већи између кристала који имају различиту оријентацију и тамо где се реп једне призме сусреће са телом друге призме. Овај простор се делимично састоји и од органских материја (18).

Број глеђних призми је различит, од 5 милиона, колико их имају доњи секутићи, до 12 милиона, колико их имају горњи молари. Оне су густо паковане и испреплетене, са таласастим правцем пружања, и свака се пружа од глеђно-дентинске границе до спољашње површине зуба. Уопште, призме су оријентисане перпендикуларно и према глеђно-дентинској граници, и површини зуба, осим у цервикалној регији сталних зуба, где су оријентисане ка споља, благо ка апикалној регији (18). Њихов дијаметар расте од глеђнодентинске границе ка површини зуба у размери 1:2 (19).

Глеђне призме се састоје од сегмената, који су међусобно одвојени тамним линијама које дају глеђи пругаст изглед. Овакав сегментиран изглед призме имају јер се глеђни матрикс формира у фазама. Ови сегменти имају јединствену ширину која износи 4 микрона. Код недовољно калцификоване глеђи или након деловања благе киселине, ове попречне пруге постају израженије и видљивије (19).

Структурне компоненте глеђних призми су милиони малих, издужених кристала апатита који се разликују по облику и величини. Кристали су густо збијени и оријентисани по одређеним правилима, што даје снагу и посебну структуру глеђним призамама (18). Они се пружају паралелно са уздужном осом глеђних призми, али су присутна и одступања у правцу пружања до 40 °. Кристали који су распоређени периферније или у пределу репа призме, нагети су ка латерално под углом од 65° у односу на уздужну осу призме (18). Осетљивост ових кристала на деловање киселина повезана је са њиховом оријентацијом. С обзиром да је процес разградње израженији у централном пределу главе глеђне призме, регија репа и периферије главе су релативно отпорни на напад киселина.



Кристали су неправилног облика, са просечном дужином од 1600 А и преосечном ширином од 200 до 400 А. Сваки кристал је обавијен органским матриksom (18).

Глеђне призме имају таласаст, спирални правац пружања посматрано од дентина ка глеђној површини, где се завршавају на удаљености од неколико микрометара од површине зуба. Глеђне призме ретко имају прави радијални правац, већ се наизменично таласају у смеру и супротно од смера казаљке на сату у односу на радијални правац, и то у свим деловима круне зуба (18). Промене у правцу пружања глеђних призми стварају оптички појаву која је названа *Hunter-Schreger*-ове траке или линије. Оне се појављују у виду наизменично распоређених светлих и тамних поља, различите дебљине, која се разликују по пропустљивости и органском садржају. С обзиром да се правац пружања глеђних призми разликује код појединих зуба, *Hunter-Schreger* линије такође показују варијације у погледу броја и распореда (18).

Глеђне ресе су хипокалцификоване области глеђних призми и супстанце између њих, које се појављују у пределу глеђно-дентинске границе и пружају се у глеђи до једне трећине њене дебљине. Садрже већу количину резидуалних глеђних протеина у односу на остатак глеђи (20). Ове структуре полазе из дентина, и протежу се у глеђ у правцу уздужне осовине зубне круне и могу имати улогу у ширењу зубног каријеса. То су уске, тракасте стуктуре чији унутрашњи крај може незнатно да залази у дентин. Настају због промене у правцу пружања глеђних призми, што доводи до промене у односу глеђних призми и супстанце између њих и стварања слабо минерализованих подручја (19).

Глеђне ламеле су танке, листолике структуре, некада видљиве и голим оком. Пружају се од површине глеђи према глеђнодентинској граници, некада допирући до ње (20). Оне углавном садрже органски материјал, и представљају неправилно минерализовану глеђ. То је такође слаба тачка за продор бактерија и развој каријеса. Постоје три типа глеђних ламела: тип А (састоје се од хипоминаерализованог сегмента глеђне призме), тип Б (састоје се од дегенерисаних ћелија), тип Ц (појављује се код зуба у ницању, када се пукотине на глеђи попуне са органским садржајем и дебрисом из пљувачке). Чешће су присутне у цервикалној регији и представљају слабу тачку за продор бактерија и развој каријеса (19). Продужени одонтбласта некада прелазе глеђнодентинску

границу, продиру у глеђ, завршавају се задебљањем на крајевима и називају се глеђна вретена. Они могу имати улогу рецептора за бол (19).

Глеђне призме се формирају линеарно, узастопним померањем глеђи. Настале разлике у структури и минерализацији се називају *Retzius*-ове стије и сматрају се прстеновима раста. На попречном пресеку зуба, Ретзиус-ове стрије се појављују као концентрични кругови, а на вертикалном пресеку линија пресеца квржице и инцизалну област у симетричним луковима падајући косо ка цервикалној регији и достижући глеђнодентинску границу. Када су ови кругови непотпуни на површини глеђи, наизменичне бразде се формирају и називају се *Pickerill*-ове линије (18). На површини глеђи *Retzius*-ове стије формирају плитке хоризонталне жлебове, перикимате, који окружују круну зуба (20). Површина где се спајају глеђ и дентин се зове глеђнодентинска граница, Таласастог је изгледа, са врховима таласа који су оријентисани према глеђи. Округласте пројекције глеђи попуњавају плитка удубљења у дентину. Глеђнодентинска граница је хипоминерализована зона (18).

Глеђ нема способност регенерације након разградње, јер амелобласти подлежу дегенерацији након стварања глеђних призми. Последња активност амелобласта је секреција мембране која покрива крајеве глеђних призми. Овај слој је познат као *Nasmyth*-ова мембрана или примарна глеђна кутикула. Ова мембрана покрива зубе у ницању и бива уклоњена током звакања и чишћења зубне површине. Иако је глеђ веома чврста и густа структура, она је ипак пропустљива за поједине јоне и молекуле. Пролазак ових молекула изгледа да се одвија кроз структурне јединице које су хипоминерализоване и богате у органском садржају, као што су глеђне кошуљице и глеђне пукотине (18).

### 1.2.2 Хистологија дентина

Дентин је тврдо зубно тково које чини највећи део запремине и обезбеђује оквирни облик и форму зуба. Танак слој дентина се формира пре почетка стварања глеђи и цемента, тако да он одређује облик крунице и величину и број коренова зуба. Дентин садржи 65 % неорганске материје, и 35 % органске. Волуменски, зрео, формиран дентин садржи приближно 45% неорганске, 33% органске материје и 22% воде. Неорганску компоненту чине кристали

хидроксиапатита и неколико елемената у траговима. Кристали хидроксиапатита су много мањи од оних у глеђи. Органску компоненту углавном чине влакна колагена тип I и молекули мукополисахарида, гликозаминогликана, протеогликана и фосфопротеина, са малим количинама сулфата, хондроитинсулфата, нерастворљивих липида и протеина. Целом дебљином дентина протежу се дентински тубули, који садрже цитоплазматске продужетке пореклом од одонтобласта, због чега се дентин сматра виталним ткивом које реагује на стимулусе. Структуру дентина чине следеће компоненте: цитоплазматски продужетци одонтобласта, дентински тубули и дентински матрикс (19).

Цитоплазматски продужетци одонтобласта су смештени у дентинским каналићима, док су тела одонтобласта смештена на периферији зубне пулпе, уз дентин. Њихов дијаметар се смањује са удаљавањем од површине пулпе, где износи од 3 до 4 микрона, до спољашње површине дентина, где износи 1 микрон. Тело ћелије одонтобласта има дијаметар око 7 микрона и дужину око 40 микрона. Неки продужетци одонтобласта се протежу целом дебљином дентина, док су у неким деловима продужетци облитерисани минералним депозитима (19).

Дентински тубули, који садрже поменута Томесова влакна, протежу се од површине пулпе према периферији дентина, све до глеђи у пределу глеђнодентинске границе, односно цемента у пределу цементнодентинске границе. Они су сигмоидалног облика и закривљене структуре, осим у пределу врха корена, инцизалне ивице и врха квржице зуба, где су тубули углавном равни. Због оваквог закривљеног облика, дужина дентинских тубула је већа од дебљине дентина. Дебљина дентина је од 3 до 10 мм. Дијаметар дентинских тубула је већи на пулпарној страни (1.5-3 микрона), него у близини глеђнодентинске границе (1 микрон) (19). Број тубула по јединици површине је већи у близини пулпе, где износи 45,000 to 65,000/mm<sup>2</sup>, у односу на број тубула према глеђнодентинској граници, где износи 29,500 to 35,000/mm<sup>2</sup> (21). Тубули се гранају у близини глеђнодентинске границе и ове латералне гране се називају каналикули или микротубули. Они се одвајају под правим углом од главног тубула и имају дијаметар 1 микрон или мање и залазе у инертубуларни дентин, пружајући се некад и до суседног тубула (19).

Дентински матрикс садржи колагена влакна распоређена у виду мреже. Након калцификације, колагена влакна бивају покривена кристалима хидроксиапатита и групишу се у две морфолошке целине: перитубуларни и интертубуларни дентин. Перитубуларни дентин или интратубуларни дентин непосредно окружује дентинске тубуле и формира њихов зид. Има више минералног садржаја, а мање колагених влакана од интертубуларног дентина. Неки истраживачи сматрају да калцификовани зид тубула облаже унутрашња танка органска мембрана, која је састављена углавном од гликозаминогликана и назива се *lamina limitans*. Већи део масе дентина чини интертубуларни дентин, смештен између тубула, односно перитубуларног дентина. Иако је високо минерализован, овај матрикс садржи густо испреpletену мрежу влакана колагена тип 1. Кристали хидроксиапатита, који су дуги око 0.1 микрон, се формирају дуж колагених влакана, са уздужном осом паралелном са колагеним влакном (19).

Разлика између интертубуларног и перитубуларног дентина су присутне у структури и саставу (22). Садржај неорганске материје у перитубуларном дентину је за 40 % већи него у интертубуларном дентину (21). Колаген тип 1 је најзаступљенији протеин у интертубуларном дентину (до 90 %), док су неколагена влакна присутна у перитубуларном дентину. Разлике постоје и у саставу неколагених влакана између две врсте дентина. Кристали интертубуларног дентина формирају плочасте структуре, дебљине 2-5 nm и дужине 60 nm. На већем увећању, интертубуларни кристали имају изглед као иглице, распоређени су на површини колагених влакана паралелно са њиховом уздужном осом. Такође кристали насумице испуњавају простор између влакана. Деминерализацијом интертубуларног дентина остаје густа мрежа колагених влакана, прекривена неколагеним протеинима. Перитубуларни дентин садржи кристале следећих димензија:  $a=36\text{ nm}$ ,  $b=25\text{ nm}$  и  $c=9.75\text{ nm}$ . Они формирају прстен око лумена тубула. Након благе деминерализације колагена влакна нису видљива, али је присутна танка мрежа неколагених влакана и фосфолипоида (22).

Током одонтогенезе, одонтобласти су кључни у процесу стварања примарног дентина, све док зуб није у функцији (22). Током дентиногенезе одонтобласти се, стварајући колагени матрикс, померају од глеђнодентинске границе ка унутрашњости према пулпи. Минерализација колагеног матрикса

постепено прати његово стварање. Последњи формиран слој дентина је неминерализован и окренут увек ка пулпарној страни, непосредно уз тела одонтобласта, и назива се предентин (18). Када се успостави контакт између квржица антагониста, почиње стварање секундарног дентина и наставља се током живота. Примарни и секундарни дентин се разликују у морфологији и S-закривљености тубула која је израженија у секундарном дентину, због постепеног смањења простора за одонтобласте (22).

### 1.3 Утицај газираних напитака на зубна ткива

Газирани напици представљају опасност за здравље зуба из два разлога:

-због ниске рН вредности и високог пуферског капацитета ови напици могу изазвати појаву денталних ерозија;

-микроорганизми денталног плака користе шећер из газираних напитака за своје метаболичке потребе и производе органске киселине које могу узроковати деминерализацију зубних ткива и настанак каријеса (7).

Прекомерно конзумирање киселих, шећером богатих напитака представља фактор ризика за разградњу зубних ткива и настанак ерозивних и каријесних промена (23,24). У *in vitro* условима, с обзиром на одуство бактерија денталног плака, могуће је испитивати само ерозивни потенцијал газираних напитака и, уколико садрже пигменте, утицај на пребојеност зуба.

Денталне ерозије представљају патолошки, хронични, иреверзибилни и локализовани губитак тврдог зубног ткива који настаје као последица дејства киселих супстанци (небактеријског порекла) (25-28). У њиховој етиологији значајно место припада газираним напицима (7,23,28-37). Мета анализа студија о преваленци денталних ерозија показује да је конзумирање газираних напитака повезано са повећаним ризиком од настанка денталних ерозија, чак су у неким студијама газирани напици наведени као главни узрок повећане учесталости појаве денталних ерозија код младих људи (38).

Ерозивни потенцијал газираних напитака зависи од више фактора, међу којима су најважнији њихова рН вредност и пуферски капацитет (7,23,31,39). Заједничко за све газиране напитке је присуство угљен-диоксида и рН вредност испод нивоа критичне вредности рН (5.5) при којој долази до разградње

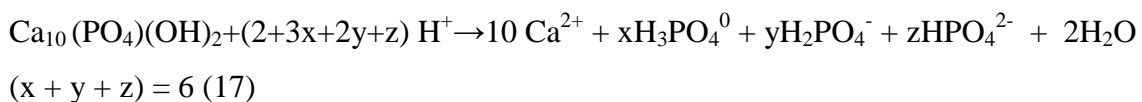
хидроксиапатита (8,24,40-42). Мехурићи који су карактеристични за ове напитке, настају захваљујући угљен-диоксиду који је растворен у води под притиском (8,24,40). Температура и притисак утичу на претварање раствореног угљен-диоксида у гас, па приликом отварања амбалаже у којој се налази газирани напиток долази до ослобађања угљен-диоксида и стварања мехурића (40). Угљен-диоксид је одговоран за ниске рН вредности свих газираних напитака, јер се растворен у води разлаже на  $\text{HCO}_3^-$  и  $\text{H}^+$  (24,40). Поред тога, киселим својствима већине газираних напитака доприносе и додате киселине (24,35).

Пљувачка неутрализује кисели садржај у устима у року од 20-30 минута, па појединачни киселински напад не представља ризик за разградњу зубних ткива (24,29). Због тога деловање газираних напитака на зубна ткива зависи од учесталости и навика у конзумирању (7,29,43). Њихово конзумирање на дневном нивоу резултира чешћом појавом ерозија (код 61.23% испитаника) у односу на конзумирање на недељном нивоу (код 17.65% испитаника) (44). Код 90.4% испитаника, који пију газиране напитке 2 пута дневно, присутне су промене у виду денталних ерозија (43). Тај проценат је мањи код особа које пију ове напитке једном дневно и износи 48.8, а код оних који их конзумирају једном седмично проценат оболелих од денталних ерозија износи 14. Начин конзумирања је такође важан, па њихово задржавање у устима повећава ризик за настанак ерозивних промена 2.7 пута (43).

## 1.4 Денталне ерозије

### 1.4.1 Хемијски механизам настанка денталних ерозија

Са хемијског аспекта, ерозије су изазване или јонима водоника који потичу од јаких/слабих киселина, или анјонима, који делују као хелирајући агенси и могу да вежу калцијум и граде са њим комплексе. Водоникови јони, који потичу од киселина које дисосују у води, нападају кристале минерала и директно их разграђују, било реагујући са карбонатним или фосфатним јонима (38). Реакција хидроксиапатита са водониковим јонима може се представити на следећи начин:



Овде је изостављен фосфатни јон,  $\text{PO}_4^{3-}$ , јер је његова концентрација веома мала. Пропорционална заступљеност осталих облика фосфата (x,y,z) зависи од рН вредности. Реакција зубних минерала је слична наведеној, али такође укључује претварање угљеникових јона у угљен-диоксид и воду

$$\text{CO}_3^{2-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{CO}_2 (\text{gas}) + \text{H}_2\text{O} \quad (45).$$

Унутар глеђи, неки јони хидроксиапатита могу бити замењени различитим субституентима, нпр. калцијум може бити замењен натријумом, магнезијумом, цинком; јони фосфата могу бити замењени карбонатним јонима; хидроксилне групе може заменити флуорид. Ови субституенти мењају особине хидроксиапатита, поготово кад је у питању његова растворљивост при ниским рН вредностима. Делови кристала у којима је калцијум дефицитан, а карбонатни јони заступљени у већој мери, су подложнији просецу деминерализације под утицајем киселина, док флуорид (који замењује хидроксилну групу) повећава њихову отпорност на поменути процес (46).

Степен разградње хидроксиапатита расте са падом рН вредности и такође зависи од концентрације  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  и  $\text{OH}^-$  у раствору. Када рН вредност падне до нивоа критичне рН вредности, која се дефинише као рН при којој је раствор засићен у односу на одређене минерале, зубна глеђ је у стању равнотеже и не долази ни до разградње ни до преципитације минерала. Испод критичне рН вредности систем постаје незасићен и створени су услови за разградњу минерала (46). Критична рН вредност зависи и од растворљивости испитиваних минерала и од концентрације (или од активности) важних минералних састојака у раствору. Кад су у питању минерали зуба, посматрају се калцијум, фосфат и у мањој мери активност флуора, јер они одређују степен сатурације раствора, који је главни покретач реакција дисоцијације и преципитације (21).

С обзиром да денталне ерозије, по дефиницији, представљају растварање зубне супстанце у одсуству зубног плака, концентрација калцијума и фосфатних јона у јелу и пићу има важну улогу у настанку ерозивних промена, јер заједно са рН вредношћу одређују степен засићености окружујућег раствора у односу на глеђ и дентин (21). Када је средина која окружује зубну површину у малој мери незасићена у односу на минерале зуба, долази до иницијалне деминерализације површине која је праћена локалним повећањем рН вредности и повећањем

концентрације јона у течности која окружује зубне минерале. Као резултат тога, средина непосредно уз зуб постаје засићена минералима и не наставља се даља деминерализација. Продужено излагање киселим садржајима (нпр. када пацијент задржава напитање у усној дупљи) поспешује процесе разградње, јер семистатички раствор који непосредно окружује зубне минерале бива замењен, без поновног достизања нивоа засићења (21).

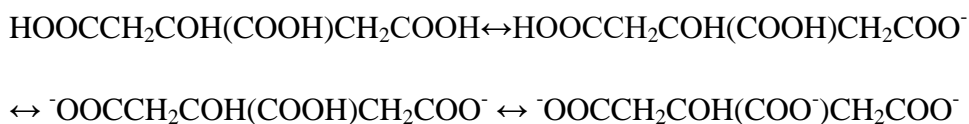
Киселине које углавном делују са настанак ерозивних промена су: унутрашње (хлороводонична киселина) и спољашње: сумпорна (бактеријски продукт), фосфорна (присутна у Кола напиту), сирћетна (сирће, кисели краставци), млечна (сир, јогурт, вино), јабучна (јабукe, грожђе, вино), винска (грожђе, индијска урма, вино), лимунска (тропско воће), аскорбинска киселина (витамин С као суплемент у храни и пићу). Све ове киселине садрже водоникове јоне који разлажу зубне минерале (45). Најбољи показатељ јачине киселине је њена рКа вредност, која представља негативни логаритам од константе дисоцијације киселине-Ка. Када је рН вредност раствора једнака вредности рКа слабе киселине, киселина је заступљена у раствору у облику анјона 50% и у облику недисосоване киселине 50 %, обезбеђујући водоникове јоне у раствору. У случају ерозија, када водоникови јони реагују са минералима апатита, долази до поремећаја равнотеже између наведених облика киселине и до већег ослобађања јона водоника који настављају ерозивни процес (38).

Хлороводонична и сумпорна киселина спадају у групу јаких киселина, јер при свим рН вредностима оне у потпуности дисосују на  $H^+$  и  $Cl^-$ , или  $SO_4^{2-}$  јоне. Преостале киселине, које имају улогу у настанку ерозивних промена, су слабе киселине. При ниским рН вредностима, оне остају готово у потпуности у недисосованом облику. Са повећањем рН вредности, киселине постепено дисосују. Сваки молекул киселине може да обезбеди један  $H^+$  јон (сирћетна, млечна), два  $H^+$  јона (јабучна, винска) или три  $H^+$  јона (лимунска, фосфорна). Слабе киселине, због постепене дисоцијације, имају улогу пуфера, тако да се супротстављају променама рН вредности. Када је рН вредност једнака вредности рКа, снага пуфера је највећа. Полубазне киселине имају пуферску способност при широком опрегу рН вредности: нпр. лимунска киселина са три вредности рКа: 1.13, 4.74, и 6.42, је добар пуфер при рН вредностима од 2.1-7.4. Снага пуфера је



повезана са укупном концентрацијом киселине и може бити вреднована на различите начине, користећи различите методе титрације са базама као што је натријум-хидроксид. Пуферски капацитет мери снагу пуфера при одређеној рН вредности раствора, док се титрацијом мери снага пуфера при датој рН вредности раствора и нешто већој рН вредности, обично 5.5-7 (45). Пуферски капацитет је у вези са концентрацијом недисосоване киселине у пићу и храни и што је његова вредност већа, више је времена потребно да пљувачка неутрализује киселину и више ће минерала бити растворено (46).

Лимунска киселина у води је присутна као смеша јона водоника, киселих анјона (цитрата), и недисосованих молекула киселине, при чему је количина сваког од њих одређена константом дисоцијације киселине и рН вредношћу раствора. Јони водоника реагују са карбонатима и/или фосфатима доводећи до ослобађања јона са површине кристала и директног нагризања захваћене површине. Осим овог деловања јона водоника, цитрати могу да граде комплексе са калцијумом доводећи такође до његовог ослобађања са површине кристала. Према томе, лимунска киселина има двоструко деловање и веома је разарајућа за зубне површине (38). Лимунска киселина има три рКа вредности, по један за сваки облик присутан у раствору, као што је наведено у једначини:



Цитратни јони могу бити присутни у сваком наведеном облику у раствору. Када су два или чак сва три водоникова јона ослобођена из молекула, формира се комплекс са калцијумом по принципу тродимензионалне електростатичке интеракције сваке од СОО- група са јонима калцијума, делујући као хелатори. То значи да лимунска киселина при мањим рН вредностима, као што је 2, ослобађа водоникове јоне који директно нападају површину минерала, док при већој вредности рН, нпр. 7, цитратни јони повлаче калцијум са површине кристала, делујући као хелатори. При средњој рН вредности оба механизма су присутна (38).

Фосфорна киселина има три рКа вредности и осим тога веже калцијум у раствору. При нижим рН вредностима, фосфорна киселина ослобађа водоникове

јоне, док при већим рН вредностима гради везу са калцијумом. Има двоструки механизам деловања, као и лимунска киселина, са разликом што цитрати формирају јаче комплексе са калцијумом због њихове релативне вредности и тродимензионалног облика молекула (38).

#### **1.4.2 Хистопатолошки аспекти и клиничка слика ерозивних промена**

Ерозивна деминерализација глеђи је центрипетални процес који на почетку доводи до делимичног губитка минерала са површине, узрокујући повећање храпавости (47). Уколико се деловање киселине настави долази до даљег губитка минерала из дубљих слојева, док је на преосталој површини и даље присутна парцијална деминерализација. На попречном пресеку, на површини је присутан танак, деминерализован слој глеђног ткива, са варијацијама у његовој структури и обиму, зависно од стадијума ерозије. Делимични губитак минерала са површине зуба доводи до смањења тврдоће и чини еродирану површину осетљивом на деловање физичких агенаса. Када је у узрапредовалом стадијуму ерозивних промена, дошло до смањења волумена зубних ткива, размекшани слој и даље постоји на површини преосталог ткива. Дебљина и тврдоћа овог размекшалог површинског слоја достиже одређени стадијум, које се не мења без обзира на даљи губитак ткива са површине зуба (21).

Деловање киселина на глеђ може изазвати три типа микроморфолошких промена. Тип I подразумева растварање средишњег дела, док периферни део глеђних призми остаје очуван. Тип II разградње глеђног ткива даје супротну микроморфолошку слику на којој је периферни део растворен док централни део глеђних призми проминира. Тип III подразумева разградњу поља и области на површини глеђи, чија топографија није у вези са морфологијом зубних призми (48).

Када је дентин изложен деловању киселина, неорганиски садржај се раствара, док остаје очувана органска компонента. У зависности од времена излагања и врсте деминерализујућег агенска, на површини се ствара потпуно деминерализована зона, испод које је најпре делимично деминерализован, а затим и здрав дентин (21). Деминерализација дентина прво почиње на споју интер и перитубуларног дентина, док са продужењем ерозивног напада долази до угибања

и стапања дентинских тубула, што на крају резултира потпуним губитком перитубуларног дентина.

Појам денталних ерозија обухвата две фазе класификоване као „ерозија“, која подразумева само размекшавање зубне површине, и „ерозивно трошење зуба“, које представља унапредовалу фазу у којој долази до губитка ткива на зубној површини (49). Преостали размекшали слој има малу отпорност како на даље деловање ерозивних агенаса, тако и на механичке силе које узрокују абразивно и атриционо трошење зубних ткива. Ерозивне промене могу бити откривене у обе фазе, применом аналитичких метода у лабораторији, али визуелно, односно клинички је могуће дијагностиковати тек у фази „ерозивног трошења зуба“. С обзиром да се абразија и атриција могу сматрати физиолошким процесима, а ерозије патолошким процесом због укључености киселина, разлика између патолошког и физиолошког трошења зуба се поставља у односу на године старости пацијента, степен трошења и присуство бола и дисколорација. У сваком случају, дијагноза се поставља на основу детаљне анамнезе, која се односи на све етиолошке факторе денталних ерозија, и клиничког прегледа (50).

Најчешћа локализација ерозивних промена су лабијална и палатинална површина горњих зуба, нарочито предњих, и оклузална површина доњих молара. На глатким површинама знаци ерозивних промена подразумевају присуство глатких, сјајних, некада матираних подручја на зубној површини, уз одсуство перикимата и присуство интактне глеђи уз маргиналну гингиву (51). У напреднијој фази промена, конвексне површине постају заравњене или се стварају широка и плитка удубљења која изазивају естетске проблеме и дентинску хиперсензитивност. Кад су у питању оклузалне/инцизалне лезије, први знаци су слични као на глатким површинама зуба. У напреднијој фази, стварају се шоњаста удубљења и ивице рестаурација се издижу изнад површине зубних ткива, а у крајњој фази долази до потпуног губитка оклузалне морфологије (52).

### **1.4.3 Преваленца ерозивних промена**

У савременом друштву забележен је значајан пораст преваленце денталних ерозија (4,5,21,53-58). Епидемиолошке студије показују да 16 % одраслих има ерозивне промене на вестибуларним површинама, док су ерозивне промене на

оклузалним површинама, код којих је експониран дентин, регистроване код 30 % особа старости 26-30 година и код 43 % особа старости 46-50 година (30). Студија о преваленци денталних ерозија код деце предшколског узраста, старости 5 година, у Грчкој показала је следеће резултате: 69 % деце има денталне ерозије на горњим предњим зубима, који су и најчешће захваћени; 42 % испитане деце има промене на доњим моларима; док доњи предњи зуби имају најмању преваленцу од 6 % (53). Резултати обимне студије о преваленци трошења зубног ткива у Европи, укључујући и ерозије, објављени су 2013 године. Вредности BEWE (Basic erosive wear examination) индекса су коришћене за одређивање преваленце трошења зубног ткива на букалној/весибуларној и лингвалној/палатиналној зубној површини код младих Европљана, старости од 18-35 година. Вредност BEWE индекса 0 регистрована је код 1368 пацијената (42,9 %), 1 код 883 (27,7 %), 2 код 831 (26,1 %), 3 код 105 (3,3 %). Постоје велике разлике у вредности индекса између различитих земаља, са највећим степеном трошења зубног ткива код становника Велике Британије (54). Студија у Хелсинкију је показала да половина испитаника има ерозивне промене. Код 33,4% ове испитане популације присутни су изражени ерозивни дефекти (вредност BEWE индекса 2 и 3). Код петине испитаника овакве вредности BEWE индекса пронађене су у горњем предњем секстанту (59).

#### **1.4.4 Етиологија денталних ерозија**

Према етиологији, денталне ерозије се могу поделити на егзогене, ендogene и идиопатске, с обзиром да киселине које узрокују ерозивни процес могу бити спољашњег и унутрашњег порекла.

Ендogene ерозије настају када желудачна киселина или кисели желудачни садржај доспева у усну дупљу као последица повраћања, гастроезофагеалног рефлукса или руминације (46). Повраћање може бити спонтано и повезано са другим медицинским стањима, попут гастроинтестиналних поремећаја (пептички улкус, гастритис), трудноће, изазвано лековима, дијабетеса, поремећаја нервног система, анорексије или булимије нервозе. Гастроезофагеални рефлукс подразумева ретроградно враћање желудачног садржаја изнад доњег езофагеалног сфинктера. Ово стање може бити повезано са другим стањима, која такође

доприносе ерозивном трошењу зуба, као што су руминација, хронични алкохолизам и обољења исхране (38). Желудачна киселина има рН вредност 1-1.5 и велики пуферски капацитет па има и много агресивније деловање у односу на киселине унете путем исхране (38,46).

Егзогене ерозије најчешће настају због утицаја киселина које у усну дупљу доспевају путем хране и пића, мада оне могу бити и професионалне и медикаментозне природе. Спољашње киселине из исхране заузимају најважније место у етиологији ерозивних промена, с обзиром на стални тренд повећања конзумирања киселих напитака: газираних пића, воћних сокова, спортских напитака и вина (26,50). Осим њих, постоји и низ прехранбених намирница које имају ниску рН вредност, и које зависно од навика конзумирања, такође могу допринети настанку ерозивних промена. Здрав начин живота такође је доведен у везу са повећаним ризиком од денталних ерозија, јер исхрана богата свежим воћем и поврћем, уз бављење спортом доводе до дехидратације организма и повећања потребе за конзумирањем напитака са ниском вредношћу рН (60). Прекомерно конзумирање неких биљних чајева, чија је рН вредност 2.6-3.9 такође повећава ризик од ерозивних промена (60). Неки лекови, као што је аспирин или они који садрже витамин С имају ерозивни потенцијал, уколико се конзумирају на начин који обезбеђује продужен контакт зубне површине и лека. Професионални фактори и фактори животне средине могу утицати на настанак денталних ерозија, као нпр. код професионалних пливача, дегустатора вина, запослених у индустрији који су изложени кислим испарењима (60).

#### **1.4.5 Фактори који модификују ерозивне промене и превентивне мере**

Ерозивни потенцијал или ерозивност је појам који означава штетни утицај киселих супстанци на минерализована зубна ткива. Он зависи не само од хемијске структуре и физичких особина самог производа, већ и од природног оралног окружења (биолошких фактора) и индивидуалних навика у конзумирању (навика понашања) (61).

#### **1.4.5.1 Фактори понашања**

Поред чињенице да већина киселих напитака, прехранбених намирница и лекова поседује ерозивни потенцијал, они неће у сваком случају имати клинички ерозивни ефекат, односно неће довести до развоја ерозивних промена (45). Фактори понашања који одређују фреквенцију и дужину трајања изложености зубних ткива ерозивним агенсима су од великог значаја. Прекомерно и често конзумирање киселих напитака и хране, навике попут њиховог пијучкања, задржавања и мућкања у устима, често конзумирање алкохола и неких психоактивних супстанци, повећавају ризик од настанка ерозија (46). Време конзумирања напитака са ерозивним потенцијалом такође је важно, јер конзумирање пред спавање или током ноћи представља додатни ризик због смањеног лучења пљувачке у том периоду (38,45). Навике у одржавању оралне хигијене такође су важне, јер абразивне процедуре, као што је четкање зуба, могу уклонити деминерализовани слој зубног ткива. У вези са тим, веома је важно колико је времена прошло након ерозивног деловања, као и врста четкице и зубне пасте које се користе (25).

Превентивне мере којима се смањује излагање зубних ткива деловању киселина подразумевају избегавање њиховог конзумирања између главних obroka, као и избегавање навика у конзумирању које продужавају контакт киселина са зубним ткивима, испирање усне дупље водом након конзумирања киселих напитака и намирница, конзумирање лекова у облику који се гута, без задржавања у устима (25,26). Кад су у питању мере којима се смањује механичко трошење еродираних зубних површина, оне подразумевају избегавање четкања зуба најмање 30-60 минута након излагања ерозивним агенсима, примена меких четкица уз мали притисак приликом прања зуба, примена зубних паста са малим абразивним потенцијалом и већом концентрацијом флуора (25,50).

#### **1.4.5.2 Биолошки фактори**

Биолошки фактори, који могу имати утицај на настанак и напредовање ерозивних промена на зубима, су: особине зубних ткива и њихова структура,

положај зуба и анатомија околних меких ткива, особине и састав пљувачке и денталне пеликуле (38,46).

Ерозивни агенси имају различито деловање на глеђ и на дентин, као и на сталне у односу на млечне зубе. Због високог садржаја минерала у глеђи, приликом деловања ерозивних агенаса, долази до трајног губитка деминерализоване зубне структуре, при чему се стварају лезије конкавног облика на њеној површини. Кад је у питању дентин, деловање ерозивних агенаса доводи до стварања спољашњег деминерализованог органског слоја, који има улогу баријере, како за даљу дифузију киселине, тако и за ослобађање минерала из дубљих слојева, успоравајући даљи ток ерозије (38). Брзина деминерализације дентина се смањује са повећањем слоја деминерализованог органског матрикса, док је ерозивни процес глеђи линеаран у односу на функцију времена (25). Зубна ткива млечних зуба имају мању дебљину у односу на сталне зубе, тако да ерозивни агенси брже узрокују огољавање дентина и развој унапредовалих ерозивних промена (25).

Различит положај зуба утиче на њихову осетљивост на ерозивне нападе, тако да су површине зуба које су локализоване ближе великим пљувачним жлездама, као нпр. лингвалне површине дољих предљих зуба, мање подложне настанку ерозивних промена. Такође околна мека ткива, нпр. језик, могу имати абрадирајуће дејство на деминерализоване зубне површине (46).

Пљувачка има важну улогу у превенцији ерозивних процеса: због великог пуферског капацитета доводи до неутрализације киселина, повећано лучење као одговор на киселе стимулусе доводи до испирања и уклањања киселине са зубних површина и обезбеђује стварање заштитне пеликуле на зубној површини (25,46). Пљувачка је презасићена глеђним минералима и представља резервоар за калцијум и фосфате, који су неопходни за процесе реминерализације. Смањено лучење пљувачке и смањење њеног пуферског капацитета су повезани са већим ризиком од настанка ерозивних промена (46). Пљувачка омогућава стварање зубне пеликуле, која представља физичку баријеру за ерозивне агенсе. Састоји се од протеинског слоја који се формира на површини зуба и има улогу дифузне баријере или пропустљиве мембране, спречавајући директан контакт киселине са зубним површинама (25,38,52).

Стимулација лучења пљувачке доприноси повећању пуферске активности бикарбоната и повећању садржаја минерала, што стимулише редепозицију калцијума и фосфата на површину зубних ткива. Осим локалних стимулуса, као што су гуме за жвакање без шећера, могу се користити субституенти пљувачке са неутралном рН вредношћу, који су засићени зубним минералима. С обзиром да четкање зуба уклања стечену пеликулу, пацијентима са повећаним ризиком од денталних ерозија се препоручује примена неабразивних паста за зубе, као и избегавање прања пре конзумирања ерозивних агенаса (25,38,52).

### 1.4.5.3 Хемијски фактори

Хемијски фактори који утичу ток ерозивних процеса су: врста и концентрација киселине у раствору, рН вредност агенса, његов пуферски капацитет, присуство хелирајућих агенаса и концентрација фосфата, калцијума и флуорида.

Утицај апликације висококонцентрованих флуорида на превенцију денталних ерозија је доказана у бројним *in vitro* и *in situ* студијама, али клиничке студије још увек не дају подршку овом тврђењу (25). Уколико је флуорид присутан у усној дупљи током процеса де и ре-минерализације, долази до стварања флуороапатита или флуорохидроксиапатита, који је мање растворљив од хидроксиапатита. Неке студије показују да апликација флуорида, без уклањања протективне пеликуле, пре ерозивног утицаја има највећи протективни ефекат. Стварање слоја богатог калцијум-флуоридом на зубној површини има улогу баријере за киселе агенсе. Овај слој обезбеђује и додатне минерале који могу бити растворени током деловања киселина, пре него што оне дођу у контакт са зубним ткивима која су испод овог слоја (38). Испитивања утицаја тетрафлуорида су показала да  $TiF_4$  има инхибиторно дејство на настанак ерозивних промена, што се не приписује само флуориду, већ и титанијуму (62).

Једна од превентивних стратегија која се може применити у циљу редукције ерозивног потенцијала киселих напитака је суплементација јонима калцијума, фосфата и флуорида (25). Мала промена у степену засићења, која се постиже додавањем калцијума (и мале количине фосфата), без промене рН



вредности, може смањити ерозивни потенцијал напитака у *in vitro* условима. Раствор једнопроцентне лимунске киселине (pH 2.2), суплементован са различитим концентрацијама калцијума, фосфата и/или флуорида има смањен ерозивни потенцијал. Исти је ефекат уколико су у путању освежавајући напици (38). Смањење ерозивног потенцијала раствора лимунске киселине постиже се додавањем или самог калцијума у концентрацији 1.0 mmol/l, или додавањем комбинације 0.5 mmol/l калцијума, 0.5 mmol/l фосфата и 0.031 mmol/l флуорида (63). Сок од наранџе (pH 4.0), коме је додат калцијум у концентрацији од 40 mmol/L и фосфат 30 mmol/L, неће имати ерозивно деловање на глеђ, с обзиром на степен засићења пића јонима калцијума и фосфата (24,37). Насупрот томе, концентрација самог фосфата не игра значајну улогу у ерозивној разградњи млечних зуба, као ни код сталних. Веома ерозивни напици, као што су Соса-Сола и Pepsi, имају висок садржај фосфорне киселине, па самим том и високу концентрацију фосфатних јона (64).

Газираним напицима могу бити додати и метални јони ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$ ) за које се сматра да смањују њихов ерозивни потенцијал, мада то захтева велику опрезност с обзиром на њихов могући токсични ефекат (65). Калцијум из хидроксиапатита може бити замењен са гвожђем, који има инхибиторно деловање на процес деминерализације. Испирање са растворима гвожђа након ерозивног напада значајно смањује ерозивни гудитак зубних ткива. Међутим, додавање гвожђа освежавајућим напицима ствара метални укус ових напитака, може узроковати пребојеност зуба, а и високе концентрације гвожђа, које се и користи у студијама приликом испитивања протективног дејства, у клиничким условима могу имати токсичан ефекат (25). Ерозивни потенцијал освежавајућих напитака може бити смањен модификацијом количине и типа киселина које су у њима присутне, нпр. коришћење малеинске уместо лимунске киселине (25). Хидроколоидни полисахариди, који је у прехранбеној индустрији користе као стабилизатори, додати киселим напицима у малој концентрацији повећавају њихову вискозност и смањују ерозивни потенцијал (66,67).

#### 1.4.6. Терапија денталних ерозија

Мултифакторијална природа денталних ерозија чини њихов третман комплексним (68). Идентификација етиолошких фактора је најважнији корак у збрињавању денталних ерозија. Након тога следи комплетан клинички третман који обухвата превентивне и ресторативне мере (69). Ресторативне мере су индиковане када је нарушен интегритет зуба, када естетика није задовољавајућа, или постоји дентинска хиперсензитивност и изглед да се експонира пулно ткиво (70). У почетном стадијуму, ерозивно трошење зуба захвата само глеђно ткиво и не постоји хиперсензитивност зуба. У овом случају ресторативне методе могу бити индиковане због естетских проблема и/или због превенције даље прогресије ерозивног процеса. Директни композитни испуни или, у напреднијем стадијуму, керамичке фасете се сматрају терапијом избора (38). Уколико су ерозивне промене захватиле целу дентицију, комплетна протетска реконструкција је једино решење (68).

## 2. Циљ, хипотеза и научна оправданост

Циљеви ове *in vitro* студије су:

1) одредити рН вредност газираних напитака (Coca-Cola-e, Schweppes Bitter Lemon-а и газиране воде „Књаз Милош“), пре потапања зубних узорака и после њиховог вађења из напитка, након одређеног временског интервала;

2) утврдити степен измењености структуре глеђи и дентина на узорцима зуба који су били изложени деловању газираних напитака (Coca-Cola-e, Schweppes Bitter Lemon-а и газиране воде „Књаз Милош“) у одређеном временском периоду;

3) регистровати промене у макроскопском изгледу зуба које настају под утицајем газираних напитака (Coca-Cola-e, Schweppes Bitter Lemon-а и газиране воде „Књаз Милош“).

Радне хипотезе су:

1) рН вредност газираних напитака (Coca-Cola-e, Schweppes Bitter Lemon-а и газиране воде „Књаз Милош“) значајно расте, након потапања зубних узорака, у функцији времена;

2) постоји значајна повезаност између степена измењености структура глеђи и дентина на узорцима зуба, који су били изложени деловању газираних напитака и функције времена, у *in vitro* условима;

3) постоји значајна повезаност између степена измењености макроскопског изгледа зуба под утицајем газираних напитака (Coca-Cola-e, Schweppes Bitter Lemon-а и газиране воде „Књаз Милош“) и функције времена, у *in vitro* условима.

Ерозивни потенцијал газираних напитака зависи од њихове рН вредности и пуферског капацитета. Напици са нижом рН вредношћу обично имају већи ерозивни ефекат на зубне структуре; мада њихов ерозивни потенцијал у великој мери зависи од пуферског капацитета. Испитивање ерозивног потенцијала ових напитака и њиховог могућег утицаја на зубна ткива је важно због увођења клиничких смерница и превентивних мера, које су у вези са повећаним конзумирањем газираних напитака, поготово у млађој популацији. Резултати добијени овим истраживањем могли би послужити као подстицај за примену различитих метода којима би се смањио ерозивни потенцијал ових напитака.

### **3. Материјал и методе**

За извођење овог експеримента употребљени су екстраховани импакирани трећи молари. Након екстракције, зуби очишћени од мекоткивног дебриса, дезинфиковани са 5.25 % NaOCl у трајању од једног сата и чувани у физиолошком раствору на собној температури до почетка експеримента.

#### **3.1 Мерење рН вредности газираних напитака**

За мерење рН вредности Coca-Cola-e, Schweppes Bitter Lemon-a и газиране воде „Књаз Милош“ коришћен је рН мерач - Економик рН009. Прво мерење урађено је одмах после отварања амбалаже напитка, пре потапања узорака, на собној температури од 23°C. Друго мерење је урађено након 5 минута од потапања зубних узорака, треће након 60 минута, четврто након 12 сати и пето мерење након 24 сата од отварања напитка и потапања узорака. Пре сваког мерења, урађена је калибрација рН метра на вредности 4 и 9.2, применом стандардних пуферских раствора.

#### **3.2 Микроскопско испитивање**

За микроскопско испитивање промена глеђи и дентина користиће се 120 узорака, добијених дељењем 30 екстрахованих трећих молара. Крунични део зуба се засеће дијамантским сврдлом дуж лонгитудиналне и трансверзалне фисуре, а затим се циркуларном шајбном, у пределу врата зуба, одваја крунични од коренског дела. Крунични део се длетом и чекићем дели на четири једнака дела и, на тај начин, ће се од сваког зуба добити по 4 узорка. Три узорка ће бити укључена у експерименталну групу, по један за сваки од испитиваних напитака, а четврти узорак је контролни. На сваком узорку посматраће се промене на глеђној и на дентинској површини.

Узорци из експерименталне групе биће изложени деловању Coca-Cola-e, Schweppes Bitter Lemon-a и газиране воде „Књаз Милош“ , а узорци из контролне групе биће потопљени у дестиловану воду. При томе се мора водити рачуна да се узорци добијени од једног зуба групишу тако да се по један узорак третира Coca-Cola-ом, Schweppes Bitter Lemon-ом, газираном водом „Књаз Милош“ и

дестилованом водом, исти временски период. На тај начин је могуће упоређивати узорке из експерименталне групе са контролним, јер су сви добијени од једног зуба и имају идентичан састав и карактеристике.

Узорци ће бити подељени у шест група (по 20 узорака) у односу на време експозиције одређеним напитцима. Прва група биће изложена деловању газираних напитака 5 минута, друга 60 минута, трећа 12 сати, четврта 24 сата, пета 7 дана и шеста 30 дана, с тим да се у петој и шестој групи узорака на свака 24 сата сипа свеж напитака у који су потопљени узорци. Због тога ће се рН вредност сваког напитка мерити после 5 минута, 60 минута, 12 сати и 24 сата. У свакој групи, 15 узорака је експерименталних (5 за сваки испитивани напитака), а 5 је контролних. Узорци ће бити потопљени у 250 милилитара Соса-Соле-е, 250 милилитара Schwepes Bitter Lemon-а Швепса и 250 милилитара газиране воде „Књаз Милош“, а контролни узорци у 250 милилитара дестиловане воде. Прва група узорака биће извађена из посуде са напитком после 5 минута, друга после 60 минута, трећа после 12 сати, четврта после 24 сата, пета после 7 дана и шеста после 30 дана. Узорци се прво испирају млазом воде из славине, а након тога се испирају са физиолошким раствором у три млаза. Свака четвртина зуба ће бити осушена у вакуум апарату, фиксирана за одговарајуће носаче и напарена златом. Припремљени узорци ће бити посматрани на скенинг електронском микроскопу ЈЕОЛ, ЈСМ 6460 ЛВ, и то на увећању од 500, 5000 и 10000 пута. Глеђ ће бити посматрана на спољашњој површини квржице и на пресеку, према глеђно-дентинској граници. Дентин ће такође бити посматран у пределу глеђно-дентинске границе, на попречном пресеку.

Степен ерозивих промена на узорцима се одређује на следећи начин:

- 0- нема промена на основним структурним јединицама посматраних ткива;
- 1- морфолошке јединице су препознатљиве, уз заобљеност линија лома на узорцима;
- 2- губитак јасне границе између морфолошких јединица;
- 3- потпуни губитак структуре, морфолошке јединице нису препознатљиве.

Посматрањем насталих промена упоређује се степен измењености морфологије зубних ткива узорака из експерименталне групе са узорцима из

контролне групе. На овај начин, могуће је поредити ерозивно дејство напитака на зубна ткива, и утврдити који од њих има највећи ерозивни потенцијал.

### **3.3 Макроскопско испитивање**

За макроскопско испитивање биће потребно 60 екстрахованих импактираних трећих молара, који ће бити фотографисани пре почетка експеримента. За фотографисање ће се користити фотоапарат Canon PowerShot G1 X Mark II, на удаљености од 20 центиметара од зуба, при дневној светлости. Узорци ће бити подељени у три групе (по 20 зуба). Прва група ће бити потопљена у 250 милилитара Coca-Cola-e, друга у 250 милилитара Schweppes Bitter Lemon-a, трећа у 250 милилитара газиране воде „Књаз Милош”. После 5 минута зуби ће бити извађени из напитка, остављени да се осуше и након тога биће фотографисани. Узорци се затим враћају у одговарајући напитака, и поступак се понавља после 60 минута, 12 сати, 24 сата, 7 дана и после 30 дана (на свака 24 сата сипа се свеж напитака). Поређењем фотографија зуба пре и после потапања у одговарајуће напитке, може се утврдити степен промена у макроскопском изгледу зуба, уз примену следеће скале:

- 0- нема промена у спољашњем изгледу зуба,
- 1- измењена боја зуба, уз очуван спољашњи интегритет глеђи, без видљивих дефеката на површини,
- 2- измењена боја зуба и видљиви дефекти на површини глеђи настали услед процеса деминерализације и губитка ткива

### **3.4 Анализа података**

#### **3.4.1 Анализа измерених рН вредности**

За испитивање статистички значајне разлике у рН вредностима примењена је једносмерна анализа варијансе са поновљеним мерењима. Даљом *post hoc* анализом је испитано да ли разлике постоје и између појединачних мерења.

### **3.4.2 Анализа резултата микроскопског испитивања**

За анализу добијених вредности степена измењености ткива употребљена је једносмерна анализа варијансе (ANOVA). Након тога је помоћу *post hoc* теста утврђено између којих група постоји статистички значајна разлика, јер ANOVA мери само општу разлику, али то не значи да се свака од група и међусобно разликује.

### **3.4.3. Анализа резултата макроскопског испитивања**

Резултати добијени у посматрању промена макроскопског изгледа зуба анализирани су Једносмерном анализом варијансе и помоћу Т теста за поновљена мерења.

## 4. Резултати

### 4.1 Резултати мерења рН вредности испитиваних напитака

Резултати мерења рН вредности за газирану воду „Књаз Милош“ дати су у Табели 1 и Графикону 1.

Табела 1. Степен киселости газиране воде „Књаз Милош“ исказан рН вредностима

	Аритметичка средина	Стандардна девијација
пре потапања узорка	5.4500	0.29907
после 5 минута	5.5900	0.24698
после 60 минута	5.8900	0.27669
после 12 сати	6.9700	0.04830
после 24 сата	7.7600	0.25906

Једносмерна анализа варијансе показује да између група постоји статистички значајна разлика ( $F=756.667$ ,  $p<0.01$ ). Резултати добијени једносмерном анализом варијансе за поновљена мерења указују на разлику у оквиру свих пет мерења. Резултати добијени даљом *post hoc* анализом указују да између свих група постоје статистички значајне разлике.

Измерене рН вредности за Соса-Сола напитака, у различитим временским интервалима, дати су у Табели 2 и Графикону 1.

Табела 2. Степен киселости Соса-Сола напитака исказан рН вредностима

	Аритметичка средина	Стандардна девијација
пре потапања узорка	2.4300	0.12517
после 5 минута	2.5800	0.14757
после 60 минута	2.6900	0.21833
после 12 сати	2.9100	0.18529
после 24 сата	3.0800	0.19889

Резултати једносмерне анализе са поновљеним мерењима показују да између група постоји статистички значајна разлика ( $F= 35.774$ ,  $p<0.01$ ). *Post hoc* анализа показује да између свих мерења постоје статистички значајне разлике.



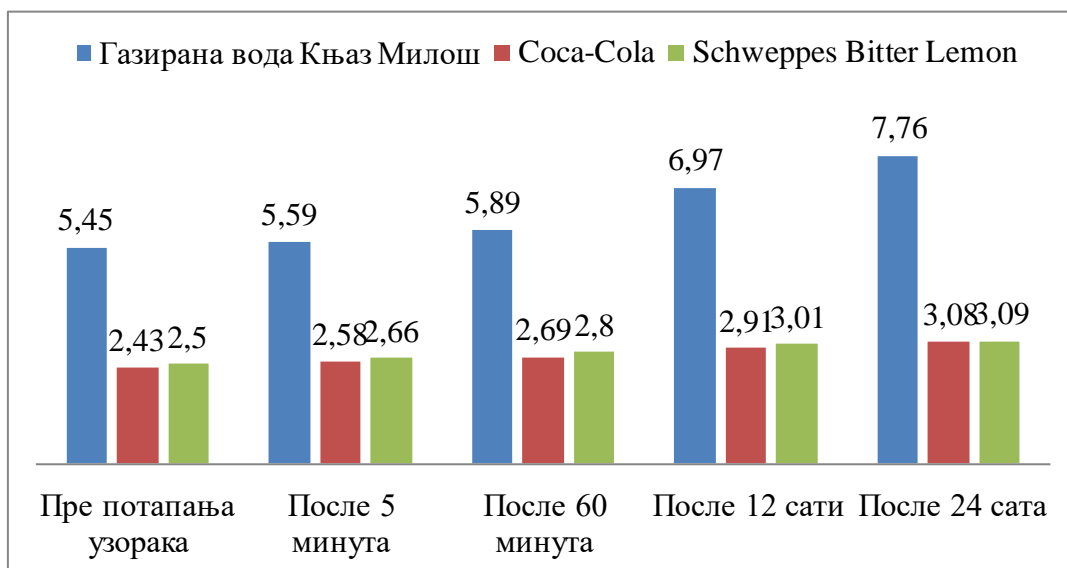
Измерене рН вредности за Schweppes Bitter Lemon су приказане у Табели 3 и Графикону 1.

Табела 3. Степен киселости Schweppes Bitter Lemon-а исказан рН вредностима

	Аритметичка средина	Стандардна девијација
пре потапања узорака	2.5000	0.14907
после 5 минута	2.6600	0.16465
после 60 минута	2.8000	0.14907
после 12 сати	3.0100	0.07379
после 24 сата	3.0900	0.05676

Једносмерном анализа варијансе је показала да између група постоје статистички значајне разлике  $F=169.997$ ,  $p<0.01$ . Резултати *post hoc* теста показују да статистички значајне разлике постоје између сваког мерења.

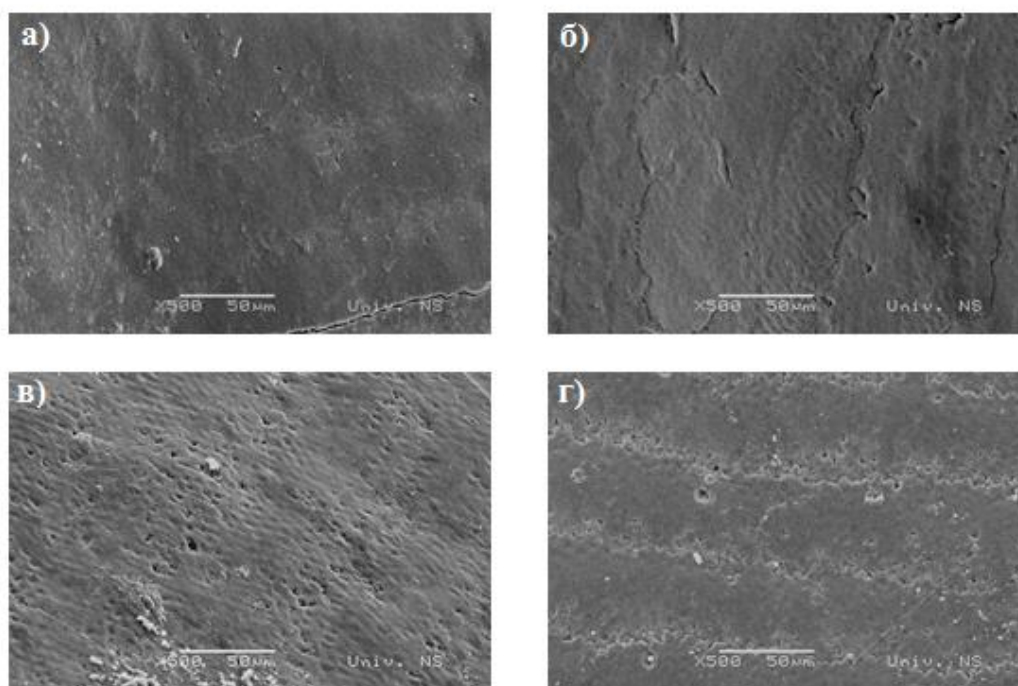
Графикон 1. Степен киселости испитиваних напитака исказан рН вредностима у различитим временским интервалима



## 4.2 Резултати микроскопског испитивања

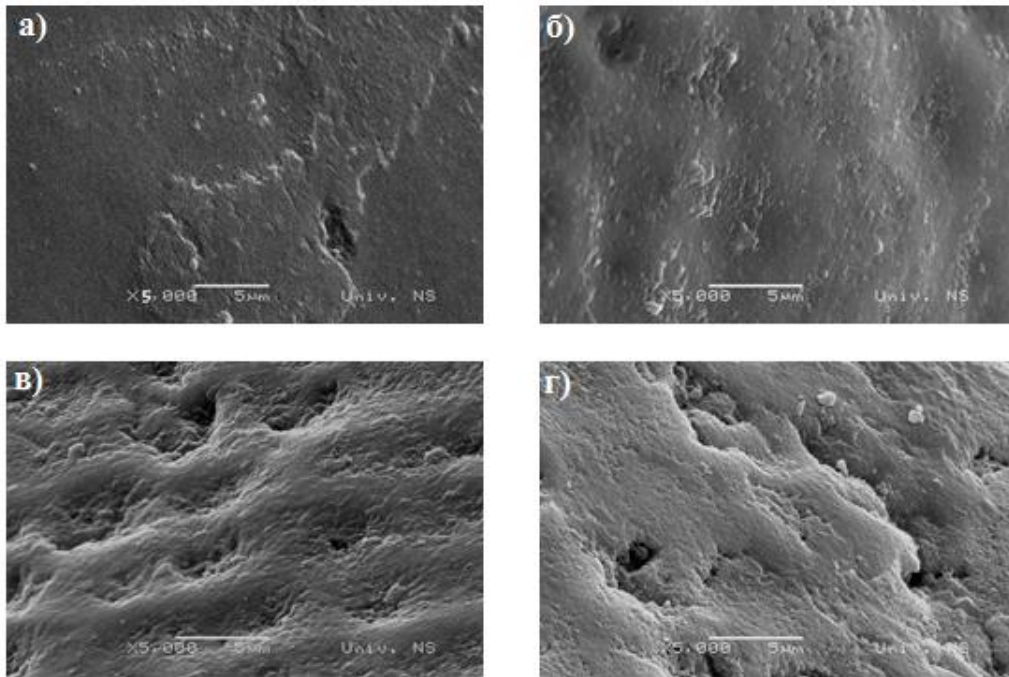
### 4.2.1 Приказ и опис СЕМ микрофотографија

Скенинг електронски микроскоп се често користи за утврђивање и описивање ерозивних промена на зубним ткивима. У наставку су приказане репрезентативне СЕМ микрофотографије глеђи и дентина, контролних и експерименталних узорака.



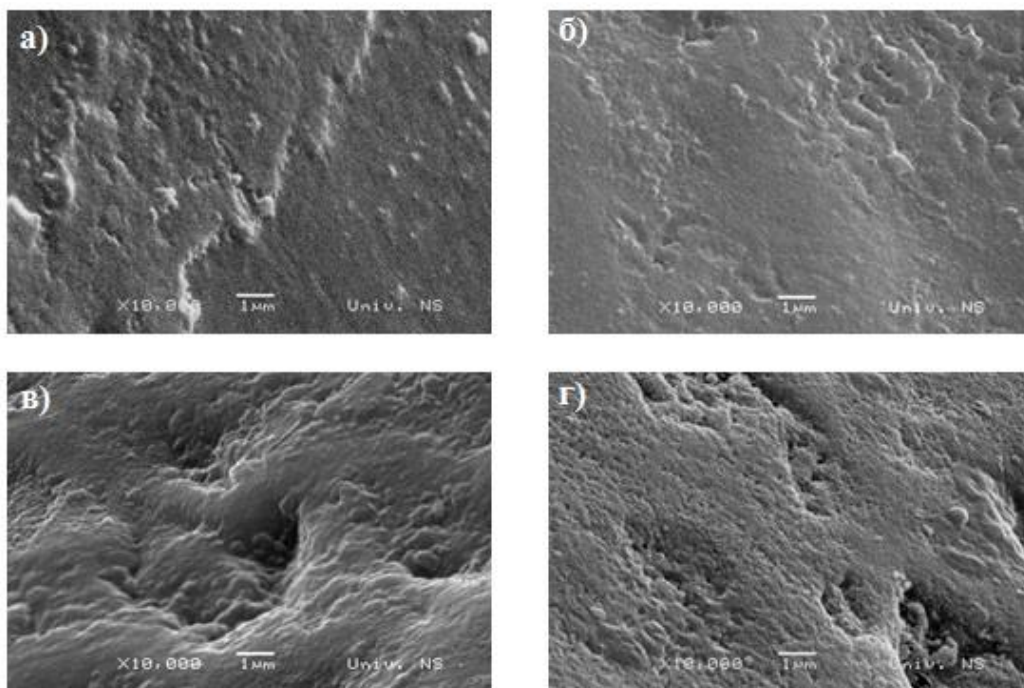
Слика 1. СЕМ микрофотографија површине глеђи (x500), након 5 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Сола напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

На СЕМ микрофотографији глеђи узорка који је био потопљен у дестиловану воду уочава се гладак, аморфан површински слој апризматичне глеђи. У појединим деловима се виде слабо изражене перикимате. На другом узорку апризматични слој је местимично уклоњен и уочавају се поља са слабо израженом саћастом структуром и проминирајућом интерпризматичном супстанцом. Површина глеђи узорака који су третирани напицима Соса-Сола и Schweppes Bitter Lemon је порозна, апризматични слој скоро у потпуности уклоњен, са местимично израженом саћастом структуром и појавом пора и удубљења на површини.



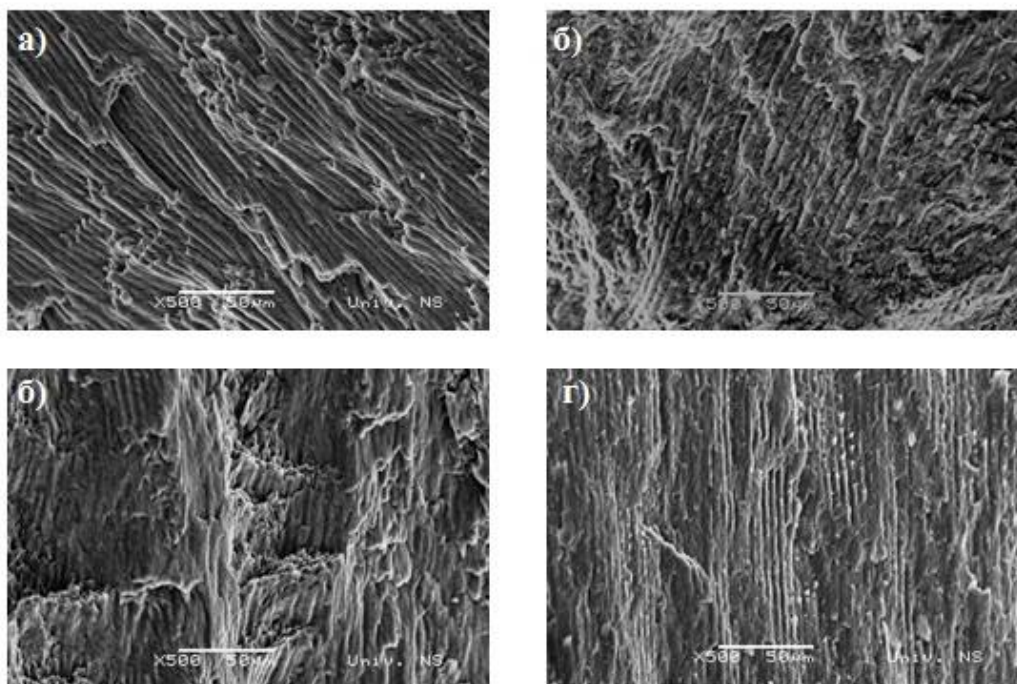
Слика 2. СЕМ микрофотографија површине глеђи (x5000), након 5 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

СЕМ микрофотографија глеђи контролног узорка на већем увећању показује гладак слој апризматичне глеђи. Површина је интактна и непромењена. Површина глеђи изложене деловању газиране воде показује појаву плитких удубљена, која би одговарала позицији глава глеђних призми. Узорци који су били изложени деловању Coca-Cola-e и Schweppes Bitter Lemon-a показују губитак апризматичног слоја са површине глеђи и појаву различитих дефеката на површини, у виду пукотина и удубљења. Цела површина има порозан изглед.



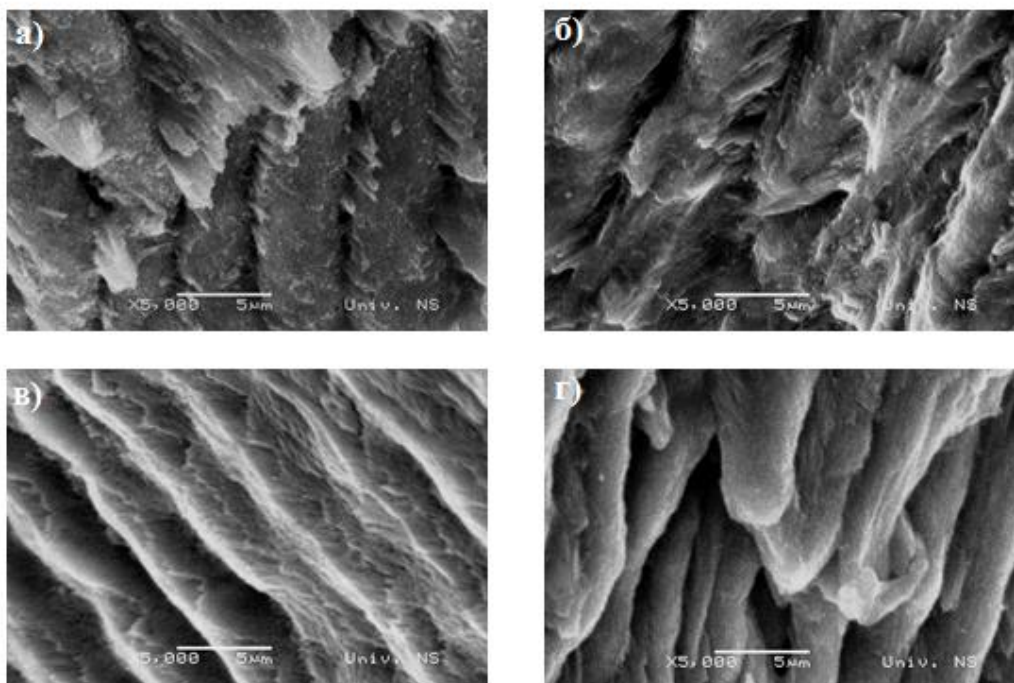
Слика 3. СЕМ микрофотографија површине глеђи (x10 000), након 5 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

СЕМ микрофотографија глеђи узорка који је био изложен деловању дестиловане воде показује глатку површину здравог глеђног ткива. Микрофотографије узорка третираним газираним водом не показује значајне промене у морфологији у односу на контролни узорак. Структура глеђи изложене деловању напитака Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon показују губитак интегритета површинског слоја, порозност површине и појаву удубљења различите дубине.



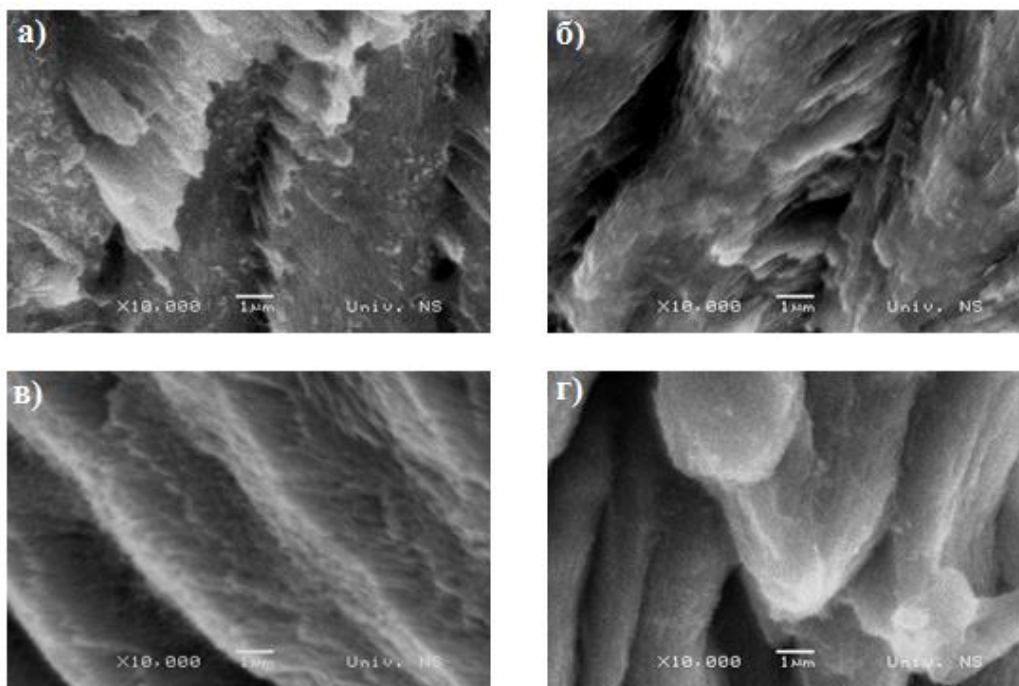
Слика 4. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x500), након 5 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

СЕМ микрофотографија уздужног пресека контролног узорка јасно показује очувану морфолошку структуру. Виде се глеђне призме које су јасно дефинисане. Линеје лома су оштре и рецкаве. На уздужном пресеку глеђи узорка који је био изложен деловању киселе воде глеђне призме су видљиве, уз заобљене линије лома. На узорку који је био изложен деловању Соса-Соса напитака присутна су поља на којима су границе између глеђних призми нејасне и где се оне међусобно спајају и попримају стопљен изглед. Schweppes Bitter Lemon доводи до стапања глеђних призми, али су местимично присутна и поља где су глеђне призме видљиве и где је структура препознатљива.



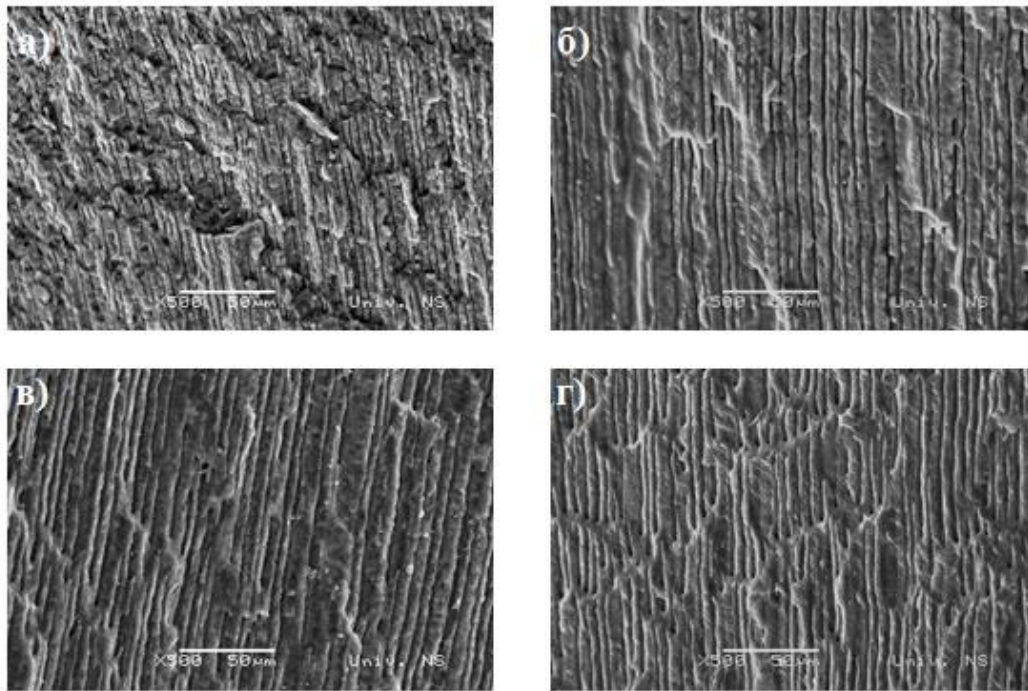
Слика 5. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x5000), након 5 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schwebbes Bitter Lemon-а.

СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи контролног узорка показује јасно ограничене глеђне призме. Линије лома су оштре, рецкаве и јасне. На узорку који је био изложен деловању газиране воде виде се глеђне призме, између којих се појављује интерпризматични простор. Линије лома су нејасне и заобљене. На уздужном пресеку узорка који је био изложен деловању Соса-Соса напитака губе се јасне границе између глеђних призми, оне се међусобно стапају и имају таласаст изглед. Четврти узорак који је третиран Schwebbes Bitter Lemon-ом показује заобљене ивице лома, глеђне призме су препознатљиве и раздвојене интерпризматичним простором.



Слика 6. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x10 000), након 5 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

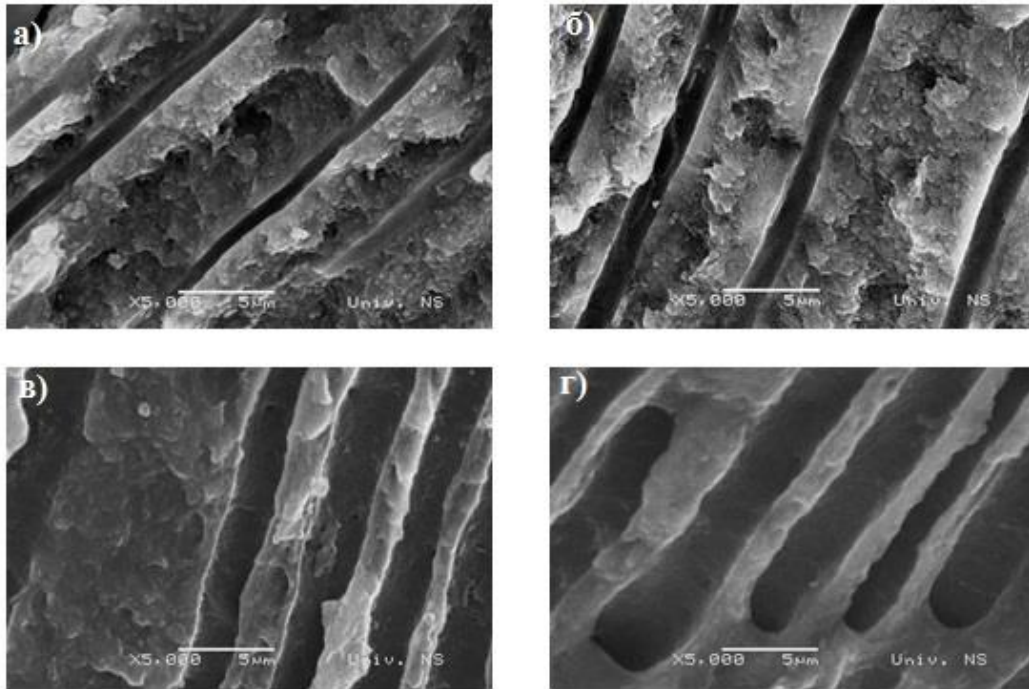
На увећању од 10 000, СЕМ микрофотографије показују глеђне призме међусобно раздвојене интерпризматичном супстанцом. Код узорка који је био изложен деловању газиране воде интерпризматична супстанца је изгубљена и појављује се интерпризматични простор. На уздужном пресеку глеђи узорака који су били изложени деловању напитака Соса-Соса и Schweppes Bitter Lemon назире се остаци глеђних призми, оне се међусобно стапају, без јасне границе између њих. Линије лома су заобљене.



Слика 7. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x500), након 5 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schverpes Bitter Lemon-a.

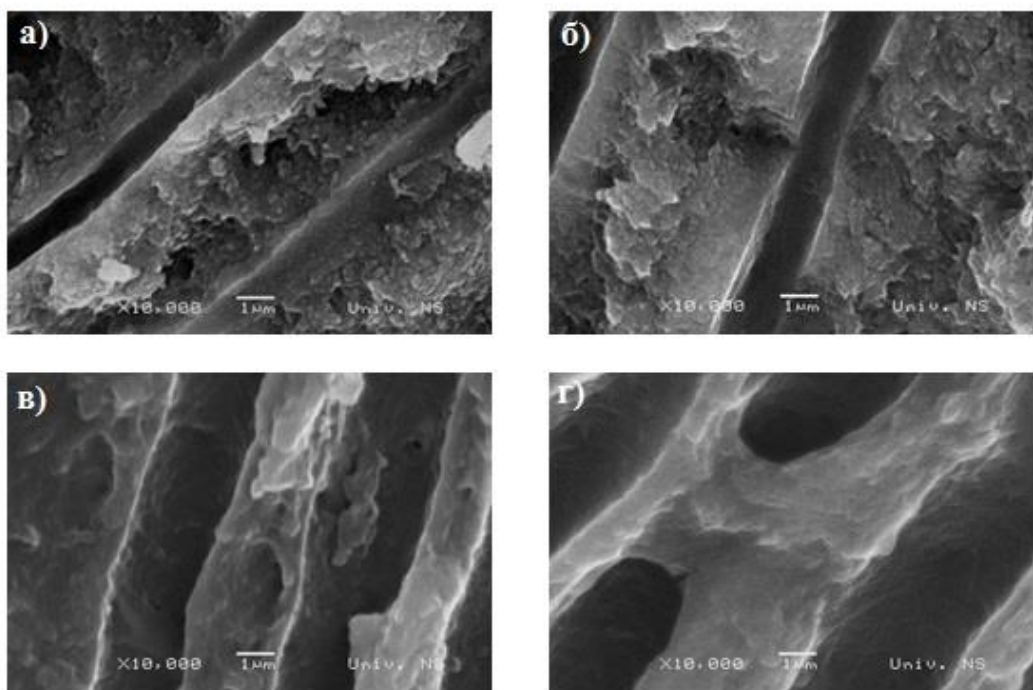
На СЕМ микрофотографији уздуђног пресека дентина контролног узорка уочавају се дентински тубули са скоро праволинијским правцем пружања, окружени перитубуларним и инертубуларним дентином. Линије лома су јасне и оштре. Уздужни пресек узорка који је био изложен деловању газиране воде показује местимично поља на којима се губе границе између тубула и инертубуларне супстанце. Узорци који су третирани Соса-Солa-ом и Schverpes Bitter Lemon-ом показују проширене дентинске тубуле, уз заобљеност линија лома.





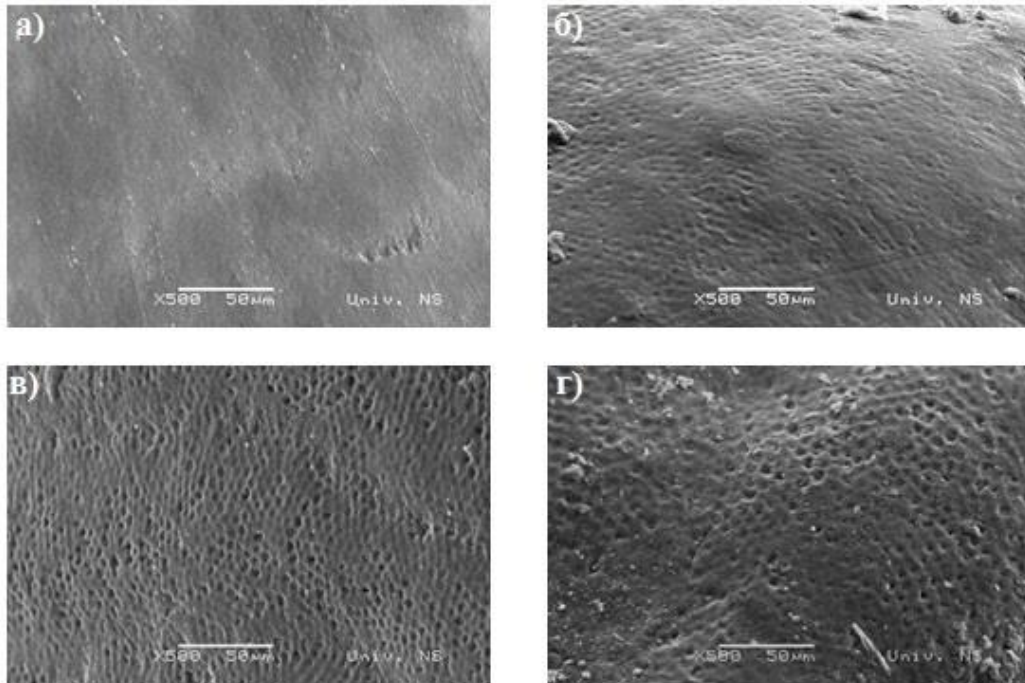
Слика 8. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x5000), након 5 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

На СЕМ микрофотографијама уздужног пресека узорака који су били изложени деловању дестиловане и газиране воде виде се јасно структурне јединице дентина: тубули, перитубуларни и интертубуларни дентин. На уздужном пресеку узорака који су третирани напацима Соса-Соса и Schweppes Bitter Lemon уочавају се проширени дентински тубули који су међусобно раздојени танком интертубуларном супстанцом, на којој се не разликују перитубуларни и интертубуларни дентин.



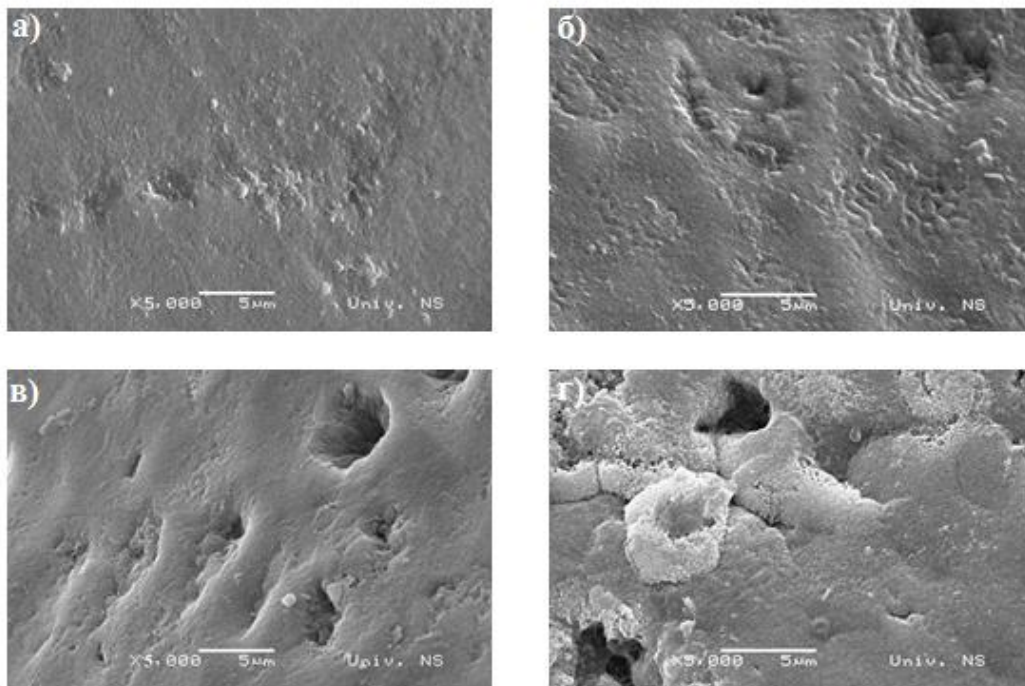
Слика 9. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x10 000), након 5 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

СЕМ микрофотографије контролног узорка и узорка који је био изложен деловању газиране воде показују дентинске тубуле, јасно ограничене перитубуларним и интертубуларним дентином. На узорцима који су третирани напитама Соса-Соса и Schweppes Bitter Lemon виде се проширени дентински каналићи, а уместо интертубуларног и перитубуларног дентина присутне су танке интертубуларне преграде.



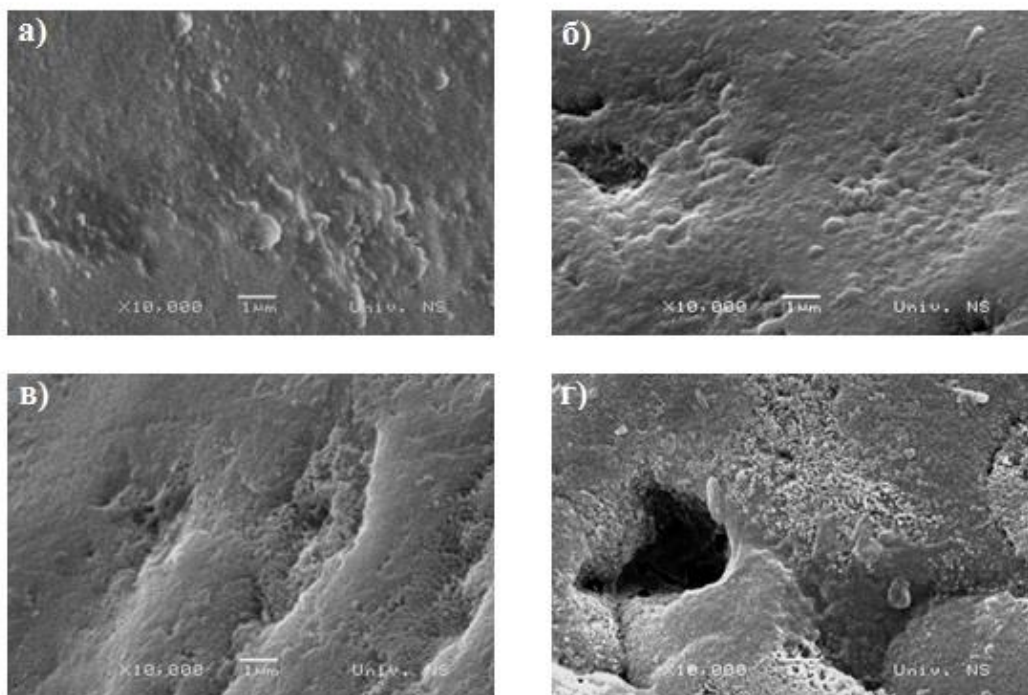
Слика 10. СЕМ микрофотографија површине глеђи (x500), након 60 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

Површина глеђи контролног узорка је интактна, са присутним слабо израженим перикиматама. На површини глеђи изложене деловању газиране воде присутна су плитка удубљења која местимично имају сањаст изглед. Преостала два узорка која су била изложена деловању напитака Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon показују потпуни губитак апризматичне глеђи и појаву изражених удубљења која целој површини дају сањаст изглед.



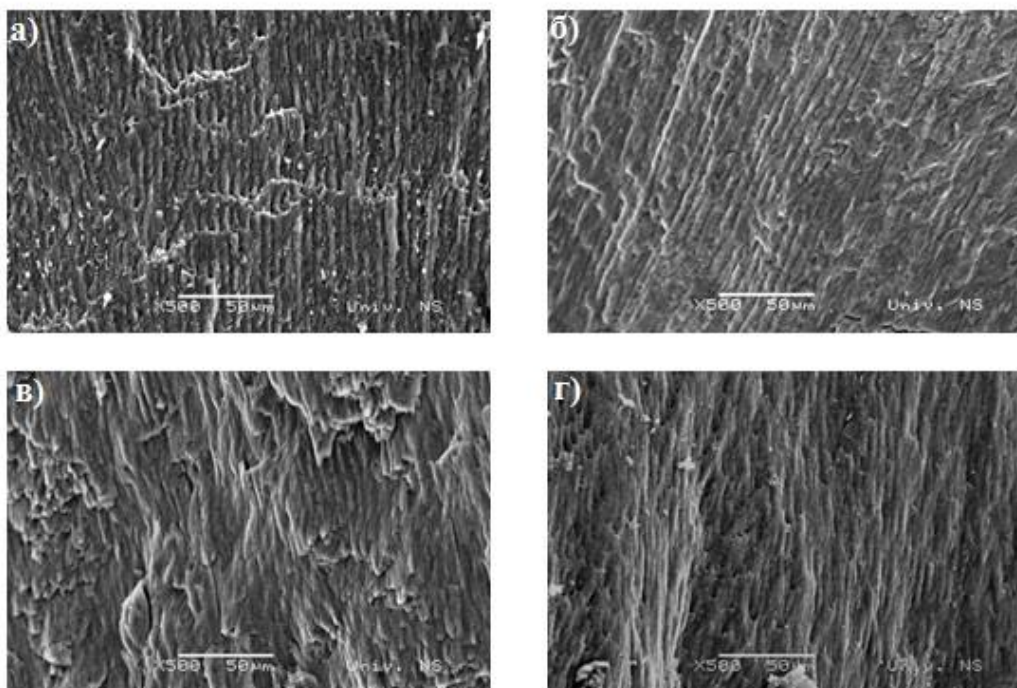
Слика 11. СЕМ микрофотографија површине глеђи (x5000), након 60 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

На већем увећању, СЕМ микрофотографија контролног узорка показује интактну површину глеђи са видљивом перикиматом на централном делу. На узорку третираним газираном водом Књаз Милош уочавају се плитка удубљења. Преостала два узорка која су била изложена деловању Соса-Солa и Schweppes Bitter Lemon напитака показују изражену порозност површине уз појаву дефеката различитих димензија.



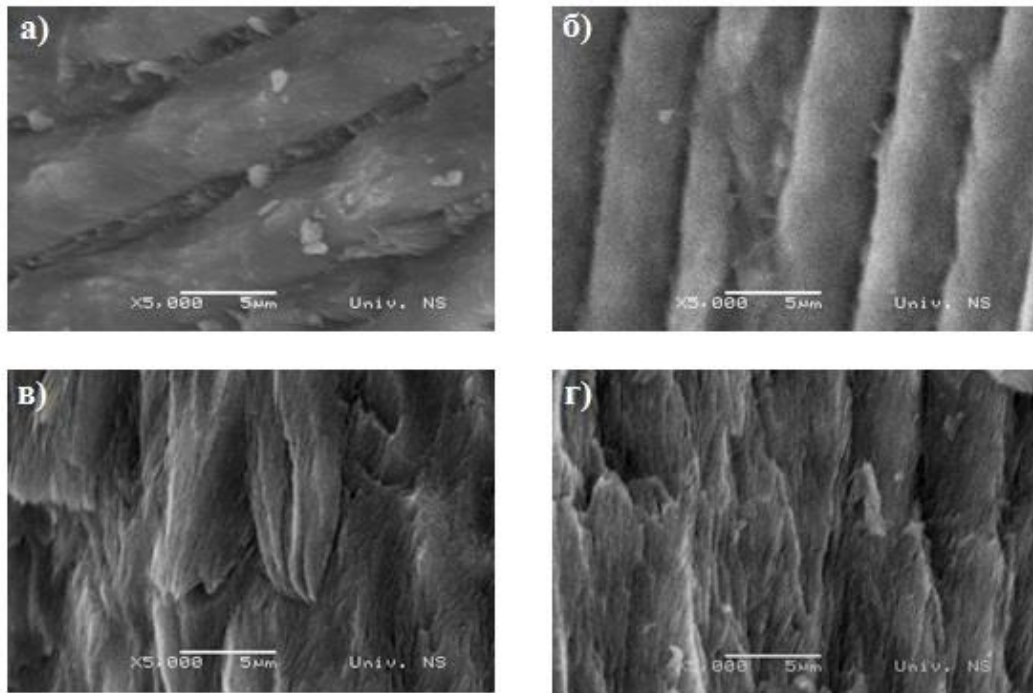
Слика 12. СЕМ микрофотографија површине глеђи (x10 000), након 60 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

СЕМ микрофотографија контролног узорка показује интактан површински слој глеђи. На узорку који је био изложен деловању газиране воде присутни су плитки дефекти на површини. На трећем узорку изгубљен је аморфни површини слој и површина има порозан изглед. На четвртном узорку видљив је дефект у виду кратера окружен порозном површином.



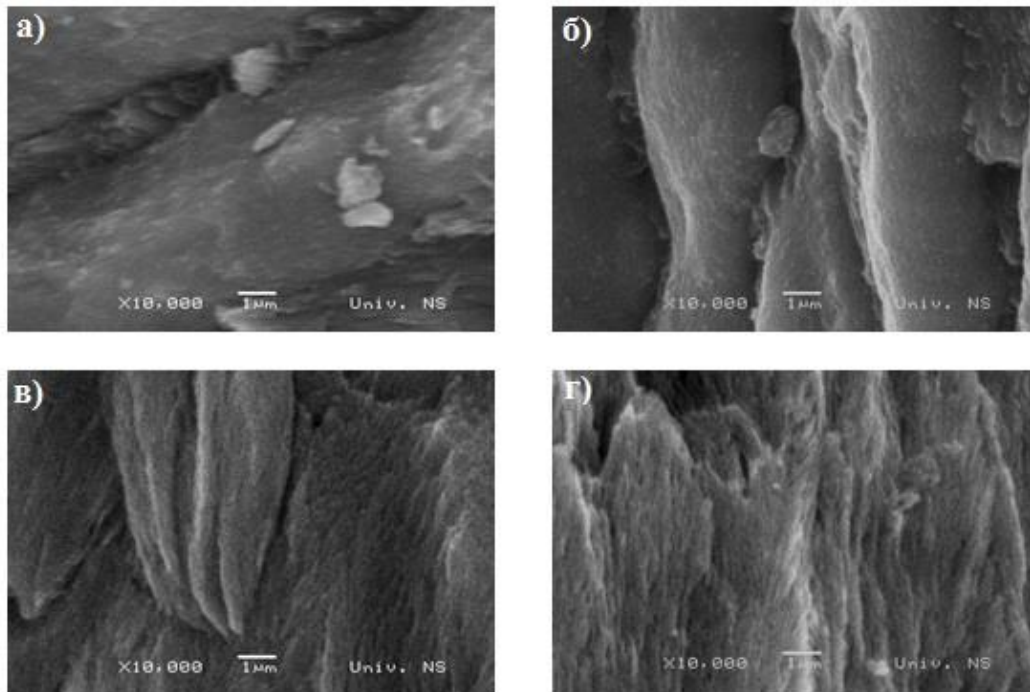
Слика 13. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x500), након 60 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Сола напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

На лонгитудиналном пресеку глеђи контролног узорка виде се снопови глеђних призми скоро праволнијског правца пружања. Ивице лома су оштре. На узорку који је третиран газираним водом виде се глеђне призме различитог правца пружања, са присутним зонама које имају стопљен изглед, где се губи јасна граница између призми. Узорак који је био изложен деловању Соса-Сола напитака показује стопљеност структурних елемената, односно глеђних призми. Ивице лома су нејасне и заобљене. На четвртом узорку морфолошки елементи су скоро у потпуности изгубљени, назире се правац пружања глеђних призми, али се граница између њих губи. Ивице лома су нејасне.



Слика 14. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x5000), након 60 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

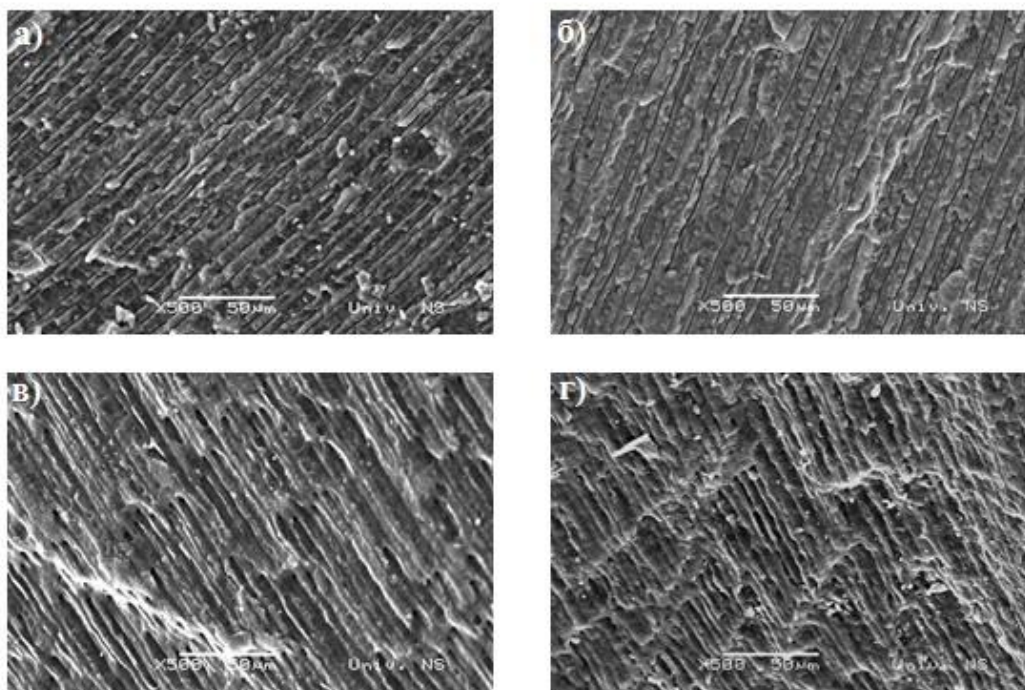
На већем увећању на контролном узорку јасно су видљиве глеђне призме и интерпризматична супстанца. Код узорка који је био изложен деловању газиране воде глеђне призме су уочљиве, а интерпризматична супстанца је изгубљена. Преостала два узорка показују нејасну и непрепознатљиву структуру. Код трећег узорка призматична структура је у потпуности избрисана, док се код четвртог узорка местимично назиру остаци глеђних призми.



Слика 15. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x10 000), након 60 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

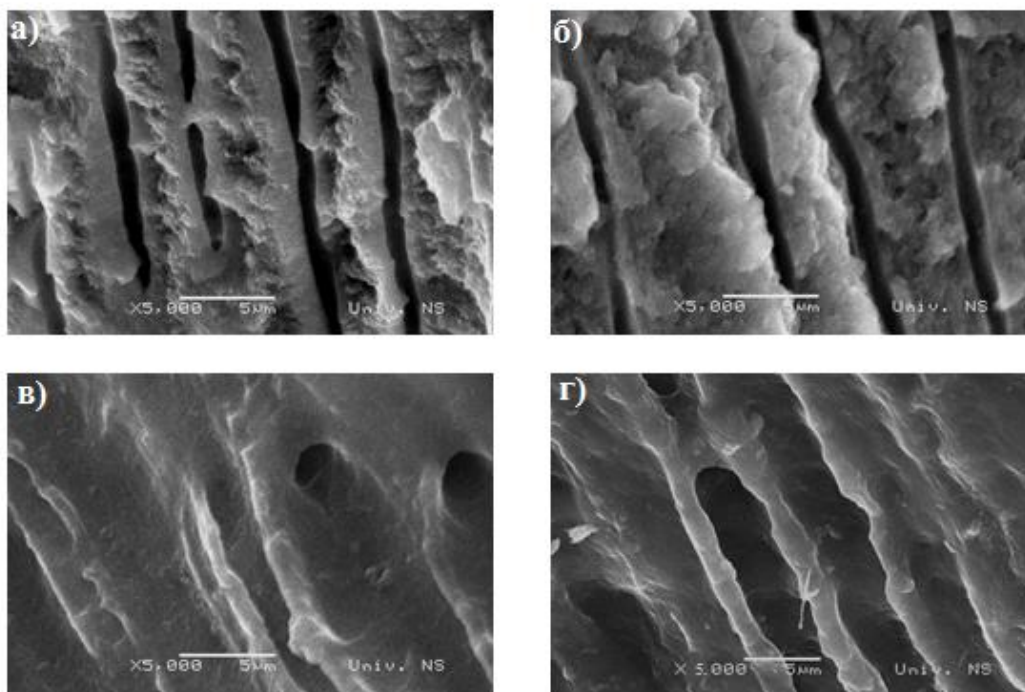
На контролном узорку су уочљиве глеђне призме, раздвојене интерпизматичном супстанцом. Код узорка који је третиран газираним водом такође су видљиве глеђне призме, а интерпизматична супстанца је изгубљена. Преостала два узорка показују површину без уочљивих структурних елемената глеђи, призме су непрепознатљиве, док преостали кристали имају неправилан и хаотичан распоред.





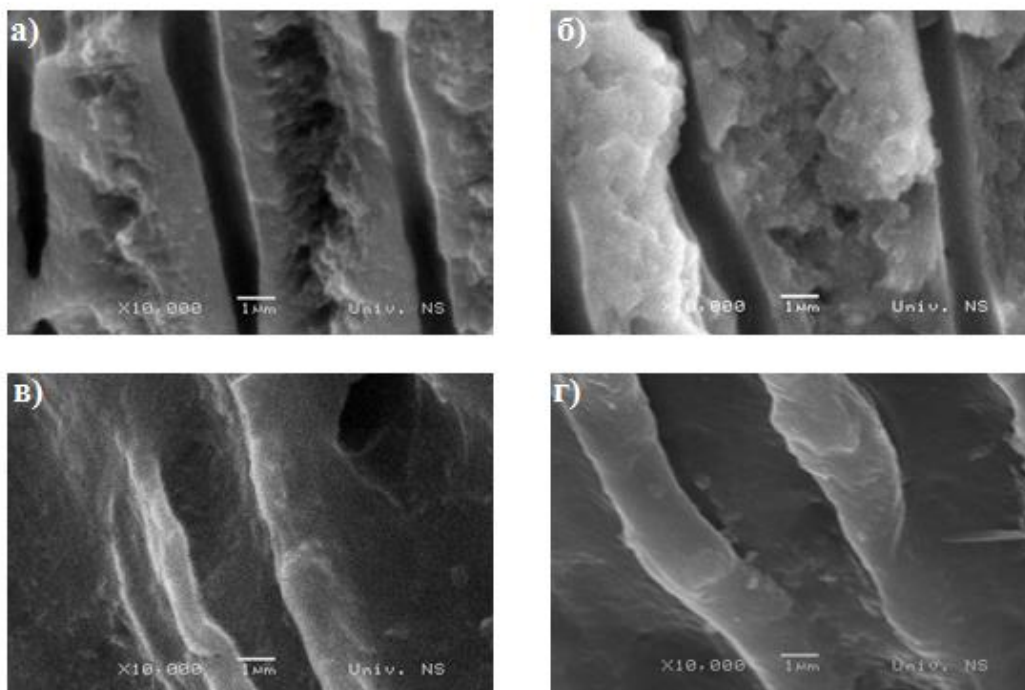
Слика 16. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x500), након 60 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Уздужни пресек дентина контролног узорка показује дентинске тубуле праволинијског правца пружања, међусобно раздвојене интерубуларним дентином. На узорку који је био изложен деловању газиране воде виде се местимично зоне са стопљеним изгледом. Линије лома су заобљене. Преостала два узорка показују присутне, али измењене дентинске тубуле, проширеног лумена. Местимично су присутна поља где су тубули стољени са околним ткивом. Линије лома су слабо изражене и заобљене.



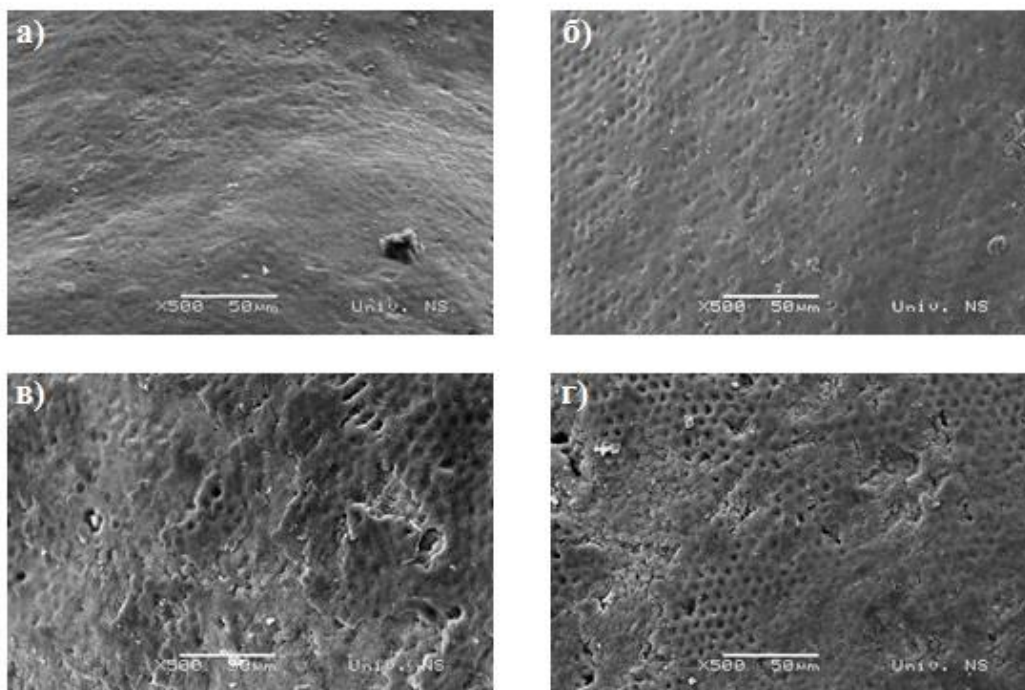
Слика 17. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x5000), након 60 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Сока-Сола напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

На већем увећању, први и други узорак показују јасно видљив перитубуларни и интертубуларни дентин и јасно ограничене дентинске тубуле. На уздужном пресеку дентина након 60 минута деловања Сока-Сола напитака виде се остаци интертубуларног дентина у виду танких преграда. Отвори дентинских каналића су проширени. Узорак који је третиран Schweppes Bitter Lemon-ом показује проширене дентинске тубуле, перитубуларни дентин је у потпуности изгубљен, а дентински каналићи су међусобно раздвојени остацима интертубуларног дентина.



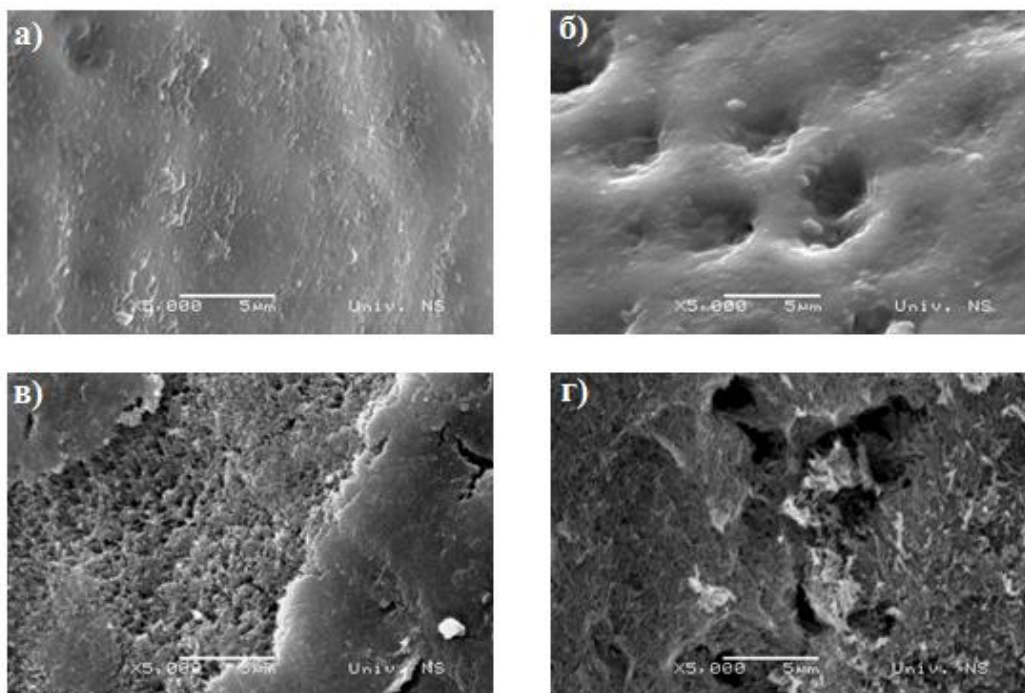
Слика 18. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x10 000), након 60 минута излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

Контролни узорак и узорак који је третиран газираном водом показују дентинске каналиће између којих је интертубулатни дентин. СЕМ микрофотографије уздужног пресека дентина узорка који је третиран Соса-Солa напитаком показује истањен интертубуларни дентин који је местимично у равни са околним ткивом. Отвор дентинског каналића је проширен. На четвртом узорку који је третиран Schweppes Bitter Lemon-ом тубули су проширеног лумена, интертубуларни дентин је присутан у виду такних преграда.



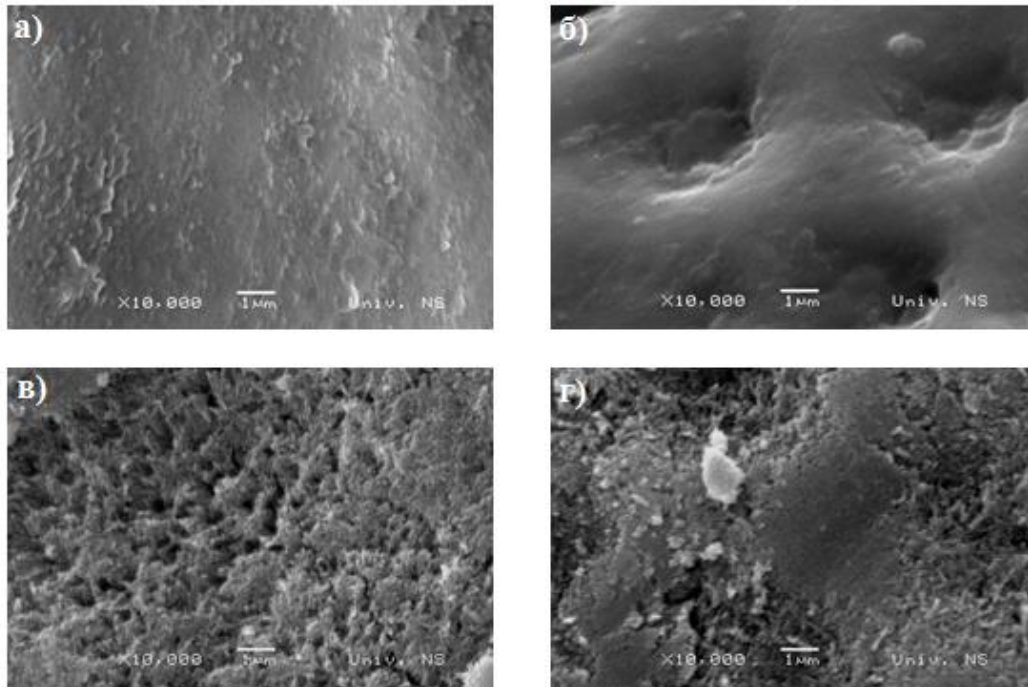
Слика 19. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x500), након 12 сати излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б)газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напиптка, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Површина глеђи контролног узорка је глатка и интактна. На спољашњој површини глеђи узорка који је третиран газираним водом смењују се зоне са глатком и интактном површином и поља са саћастом структуром где су удубљена средишта глеђних призми. Сlike трећег и четвртог узорка показују потпуни губитак апризматичне глеђи. Местимично је видљива саћаста структура, а местимично дефекти неправилног облика, различитих димензија.



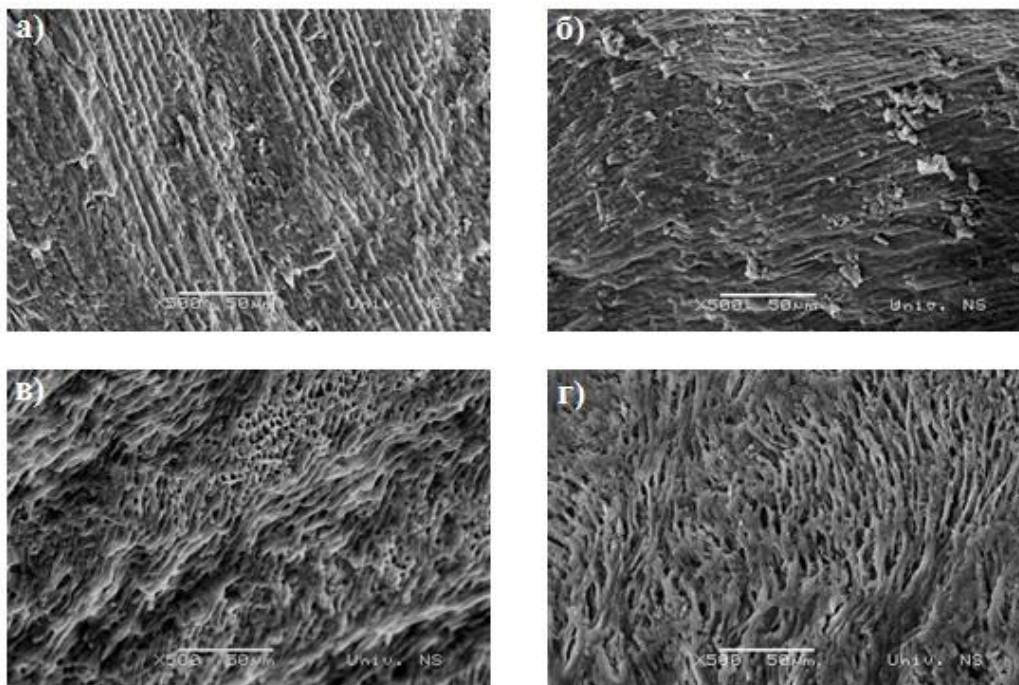
Слика 20. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x5000), након 12 сати излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

На увећању од 5000 контролни узорак показује глатку површину, са интактним слојем апризматичне глеђи. Узорак који је третиран газираном водом има плитка удубљења на површини. Преостале две микрофотографије узорака који су третирани Соса-Солa и Schweppes Bitter Lemon напацима показују потпуни губитак структуре површинског слоја глеђи са неправиланим распоредом преосталих кристала хидроксиапатита.



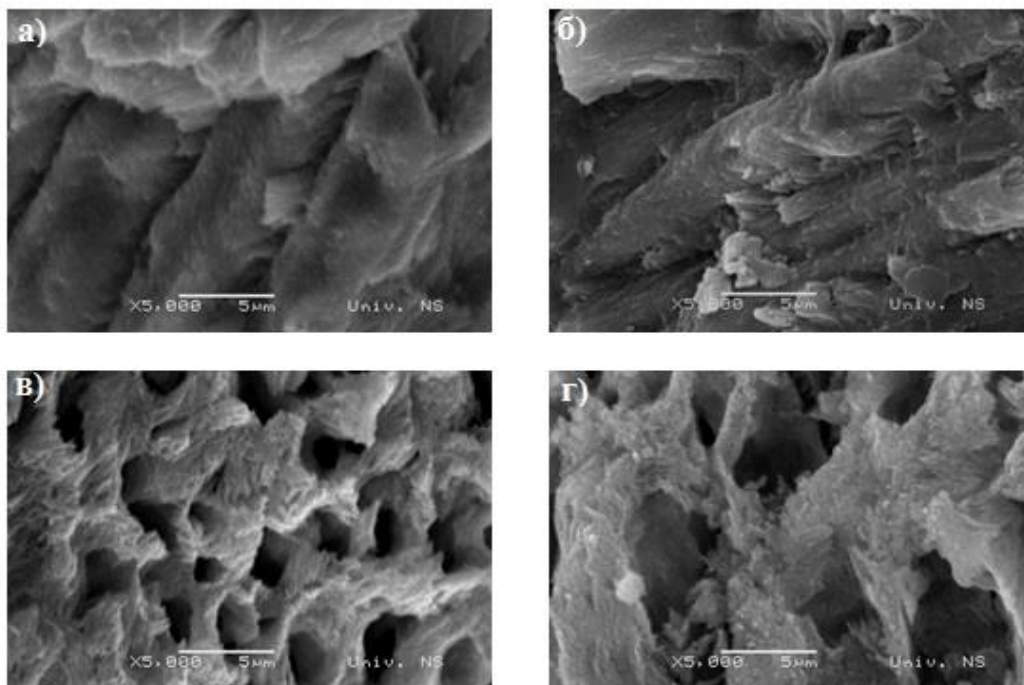
Слика 21. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x10 000), након 12 сати излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Површински слој глеђи контролног узорка је интактан. Други узорак третиран газираном водом карактерише појава удубљења између којих се издиже интерпризматична супстанца. На површини трећег и четвртог узорка слој апризматичне глеђи је изгубљен и структура није препознатљива, уз неправилан распоред преосталих кристала.



Слика 22. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x500), након 12 сати излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schwepes Bitter Lemon-а.

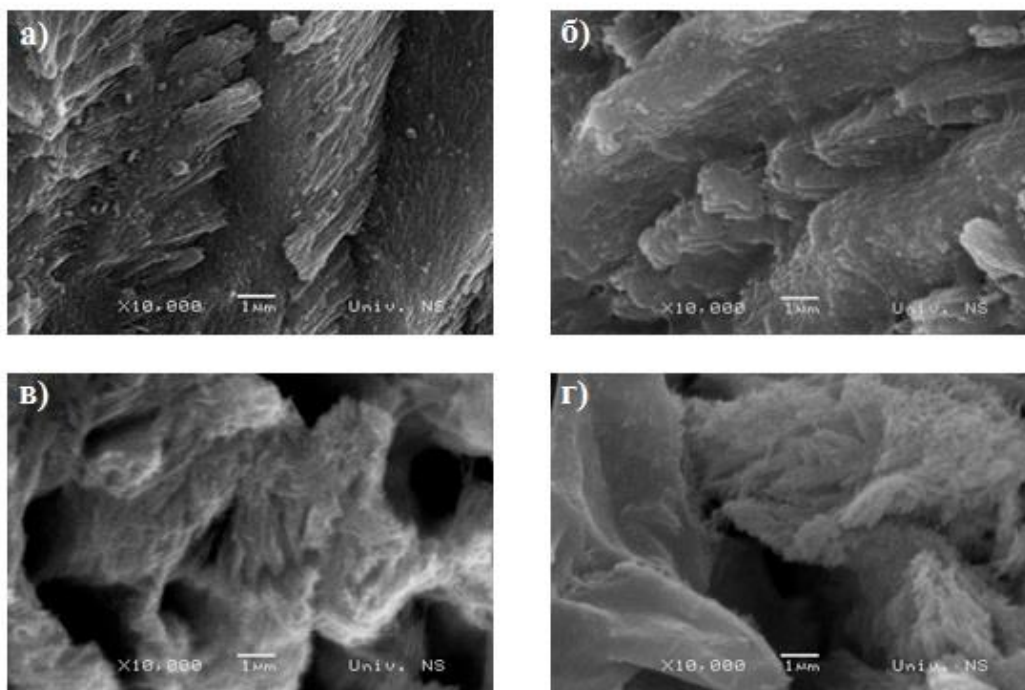
СЕМ микрофотографија контролног узорка показује снопове глеђних призми праволинијског правца пружања. Узорак који је третиран газираном водом показује местимично поља где се губи граница између глеђних призми које имају стопљен изглед. Линије лома су заобљене. На узорку који је био изложен деловању Соса-Соса напитака таласасто се пружају зоне где се глеђне призме стапају међусобно и зоне где се види централни тип деминерализације. Линије лома нису уочљиве. Уздужни пресек глеђи узорка који је третиран Schwepes Bitter Lemon-ом показује глеђне призме са разграђеним централним делом, које имају различит правац пружања, уз појаву пукотина које их раздвајају. Линије лома нису уочљиве.



Слика 23. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x5000), након 12 сати излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

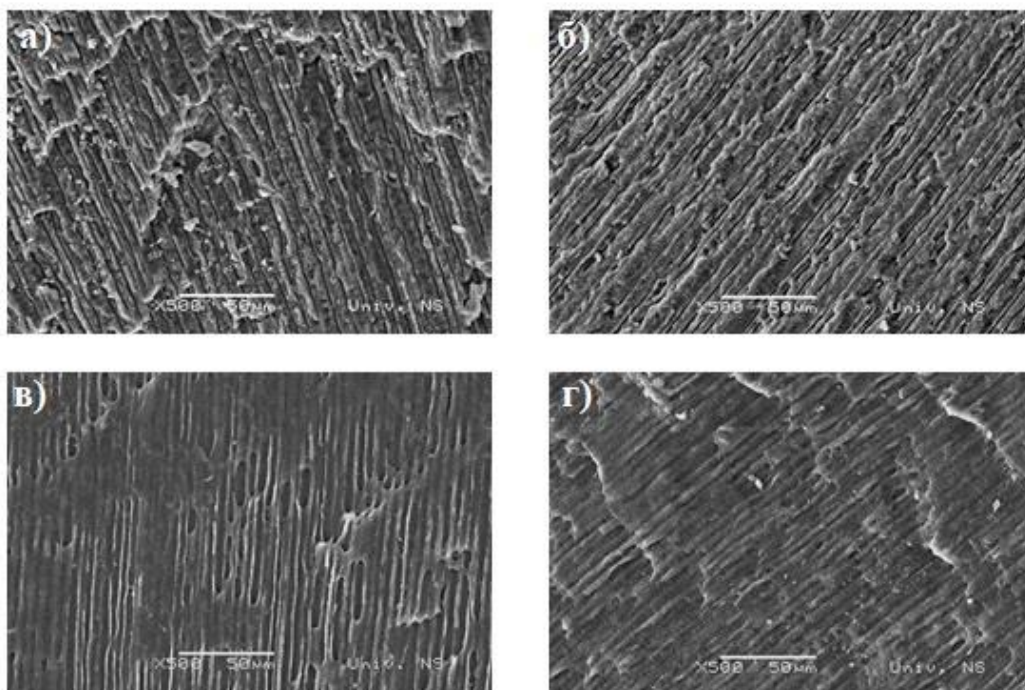
На уздужном пресеку контролног узорка виде се глеђне призме и између проминира интерпризматична супстанца. Линије лома су оштре и јасне. Узорак који је био изложен деловању газиране воде показује стапање глеђних призма са интерпризматичном супстанцом, при чему су ове структуре, као и линије лома, и даље уочљиве. СЕМ микрофотографије преостала два који су третирани напацима Соса-Соса и Schweppes Bitter Lemon показују потпуни губитак анатомо-морфологије, глеђне призме нису уочљиве. Линије лома су изгубљене.





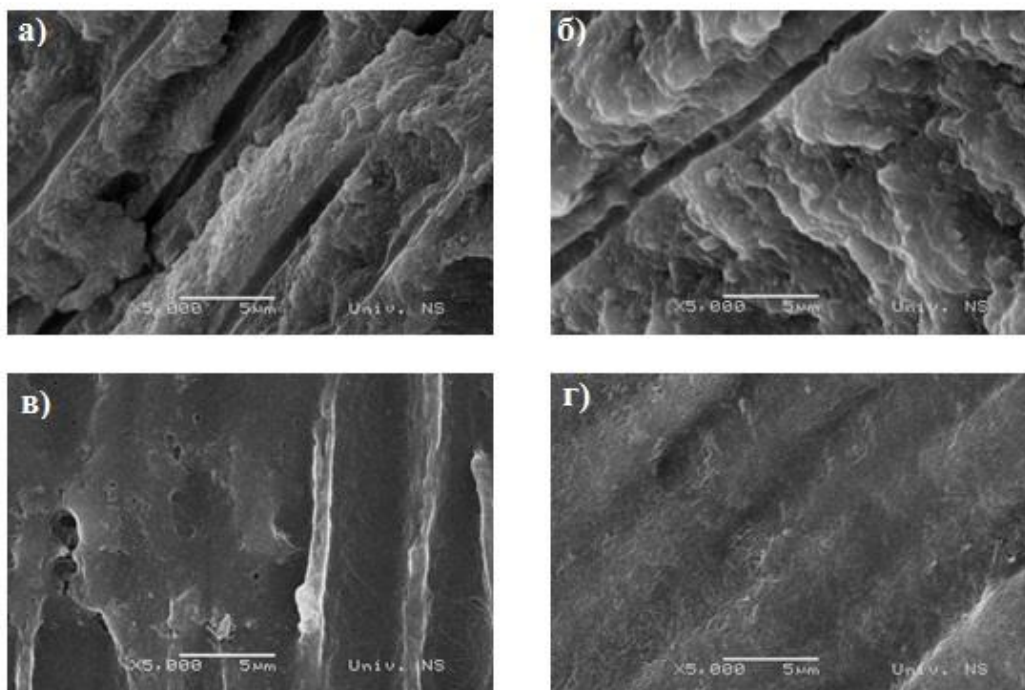
Слика 24. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x10 000), након 12 сати излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Сока-Сола напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

На увећању од 10 000 прва микрофотографија показује лонгитудинални пресек глеђи контролног узорка са уочљивим глеђним призмама и са оштрим ивицама лома. На узорку који је третиран газираном водом глеђне призме и интерпризматична супстанца су препознатљиви, уз заобљеност линија лома. СЕМ микрофотографије глеђи узорака који су били изложени деловању напитака Сока-Сола и Schweppes Bitter Lemon показују непрепознатљиву структуру, цела површина има порозан изглед, са хаотичним распоредом кристала.



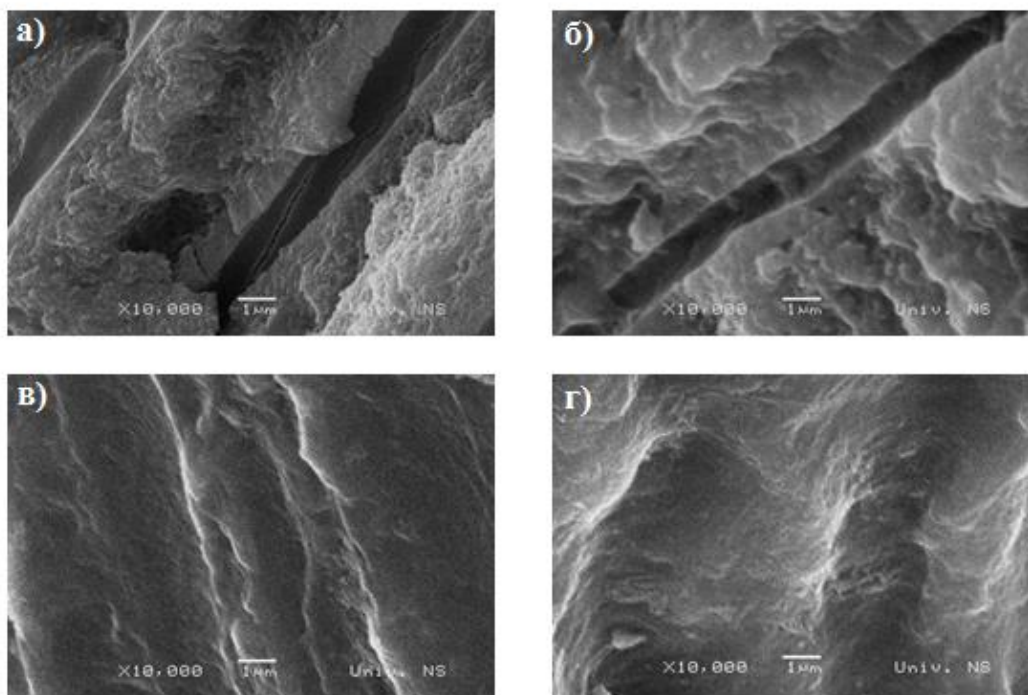
Слика 25. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x500), након 12 сати излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Сола напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

СЕМ микрофотографија првог узорка показује уздужни пресек дентина са присутним тубулима и интертубуларним дентином. Линије лома су јасне и оштре. На узорку који је третиран газираном водом уочавају се зоне са јасно видљивим дентинским тубулима, али су присутне и зоне где су тубули стопљени са околном интертубуларном супстанцом. На уздужном пресеку узорка који је био изложен деловању Соса-Сола напитка уочавају се остаци интертубуларног дентина у виду танких интертубуларних преграда које се местимично стапају са проширеним дентинским тубулима. На четвртном узорку изложеном деловању Schweppes Bitter Lemon-а виде се трагови дентинских каналића окружени „стопљеним“ интертубуларним дентином. Линије лома су заобљене.



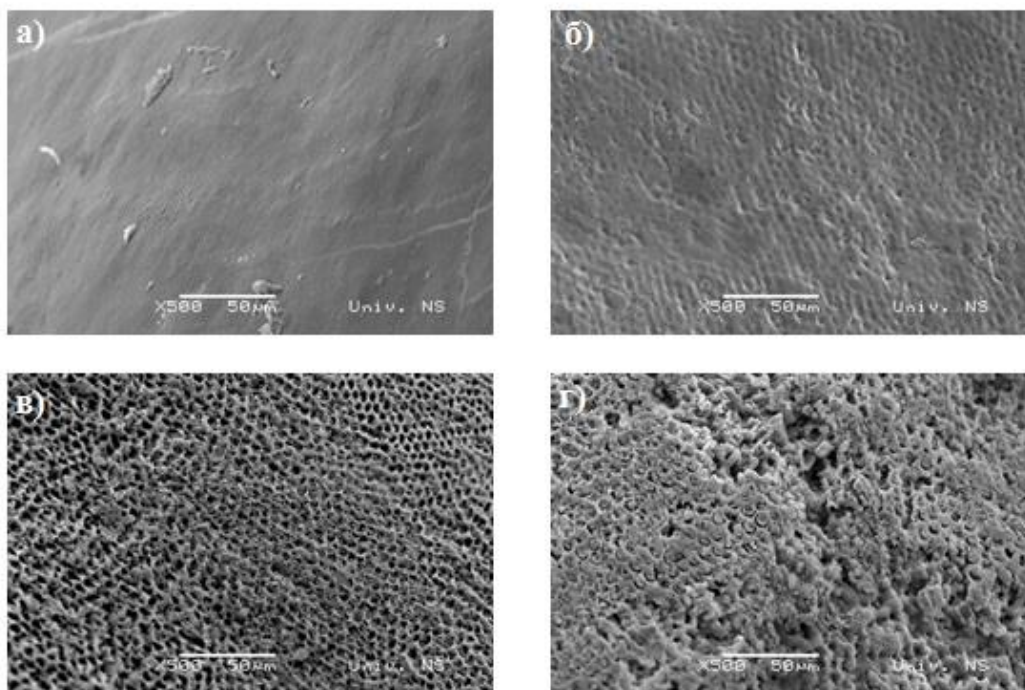
Слика 26. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x5000), након 12 сати излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

На већем увећању СЕМ микрофотографија контролног узорка показује дентинске тубуле окружене перитубуларним дентином и интертубуларним дентином. Линије лома су јасне и оштре. Узорак који је третиран газираном водом показује дентински каналић окружен интертубуларним дентином. На узорку који је био изложен деловању Соса-Соса напитака интертубуларна супстанца је на појединим местима у потпуности изгубљена, а негде присутна у виду истањених преграда. Уздужни пресек дентина четвртог узорка је скоро у потпуности заравњен, мада се назире локализација дентинских тубула.



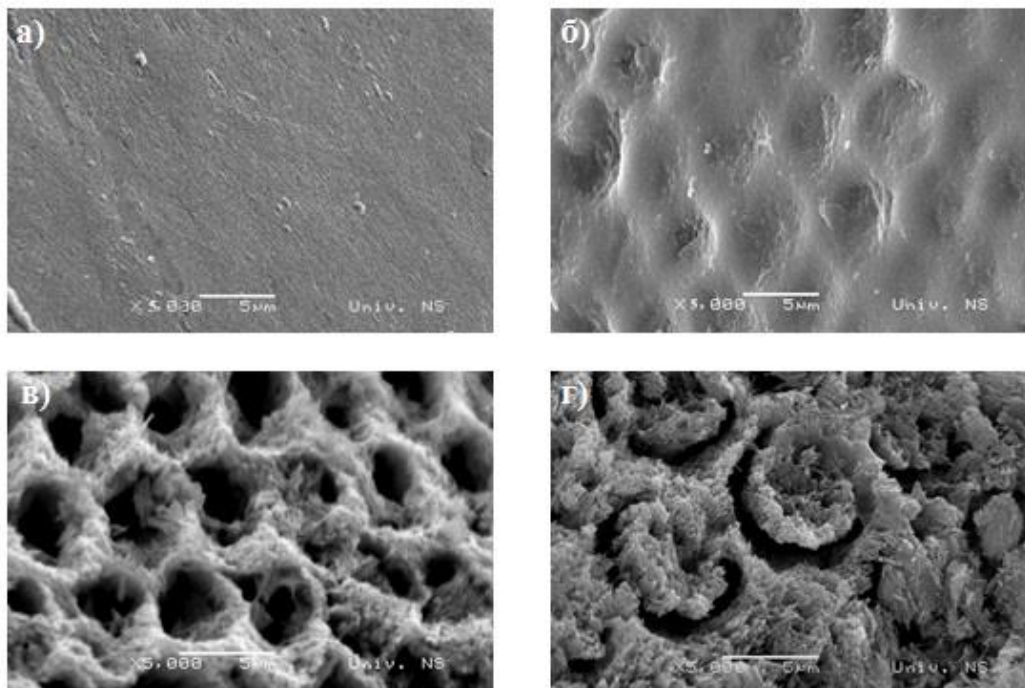
Слика 27. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x10 000), након 12 сати излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б)газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

Код контролног узорка видљиви су дентински тубули, перитубуларни и инертубуларни дентин. Линије лома су оштре и јасне. На другом узорку губи де граница између перитубуларног и инертубуларног дентина. Структурни елементи дентина узорака који су били изложени деловању напитака Соса-Солa и Schweppes Bitter Lemon су у потпуности изгубљени, назире се трагови дентинских тубула, који заједно са остацима инертубуларне супстанце имају таласаст изглед.



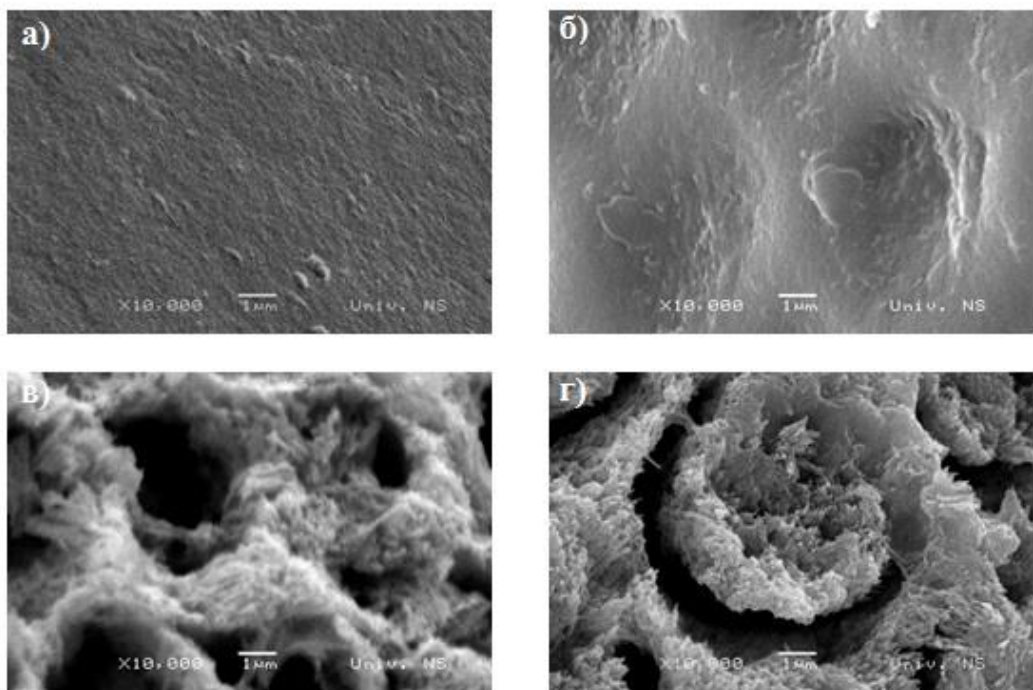
Слика 28. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x500), након 24 сата излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б)газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

Површина глеђи контролног узорка је глатка и интактна. На површини узорка који је третиран газираним водом присутна су плитка удубљена која дају површини саћаст изглед. На узорку третираним Соса-Солa напитком доминирају поља са разграђеним централним деловима глеђних призми између којих проминира интерпризматична супстанца. На узорку третираним Schweppes Bitter Lemon напитком видљива су поља где су периферне зоне глеђних призми растворене па протрудирају њихова средишта, а присутна се и зоне са дефектима неправилног облика.



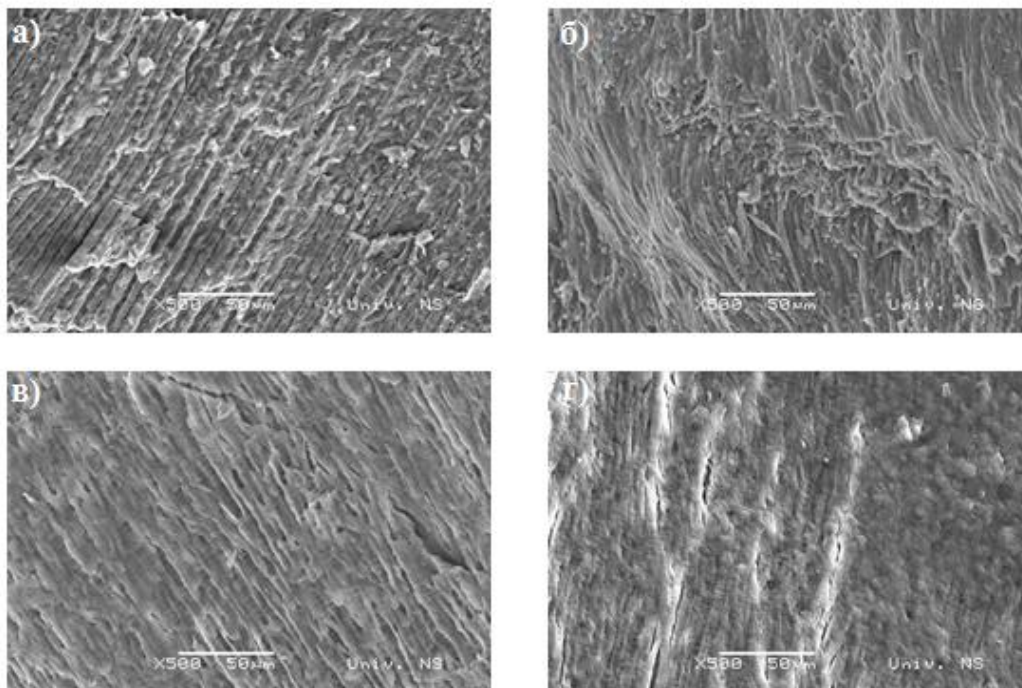
Слика 29. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x5000), након 24 сата излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напиптка, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Контролни узорак показује гладак и аморфан површински слој глеђи. Узорак који је третиран газираном водом показује површину са слабо израженом саћастом структуром. На површини глеђи третиране Coca-Cola напиптком рзграђена су средишта глеђних призми између којих се види порозна итерпризматична супстанца. Узорак који је био изложен деловању Schweppes Bitter Lemon-a показује разграђене периферне делове глеђних призми.



Слика 30. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x5000), након 24 сата излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

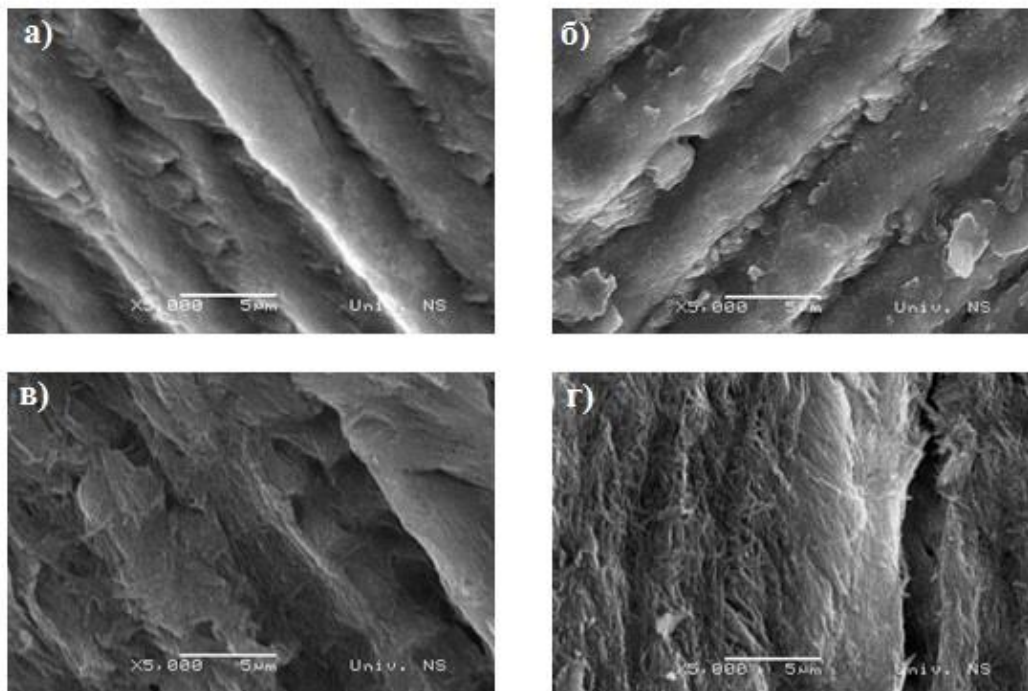
На већем увећању виде се промене исте као и на претходним сликама. Површина контролног узорка је глатка. На узорку третираним газираном водом се види слабо изражена структура пчелињег саћа, са удубљењима у централним деловима глеђних призми. Трећи узорак покаује разорена средишта глеђних призми, док се на четвртом узорку види деминерализована периферија глеђних призми са проминирајућим централним делом.



Слика 31. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x500), након 24 сата излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

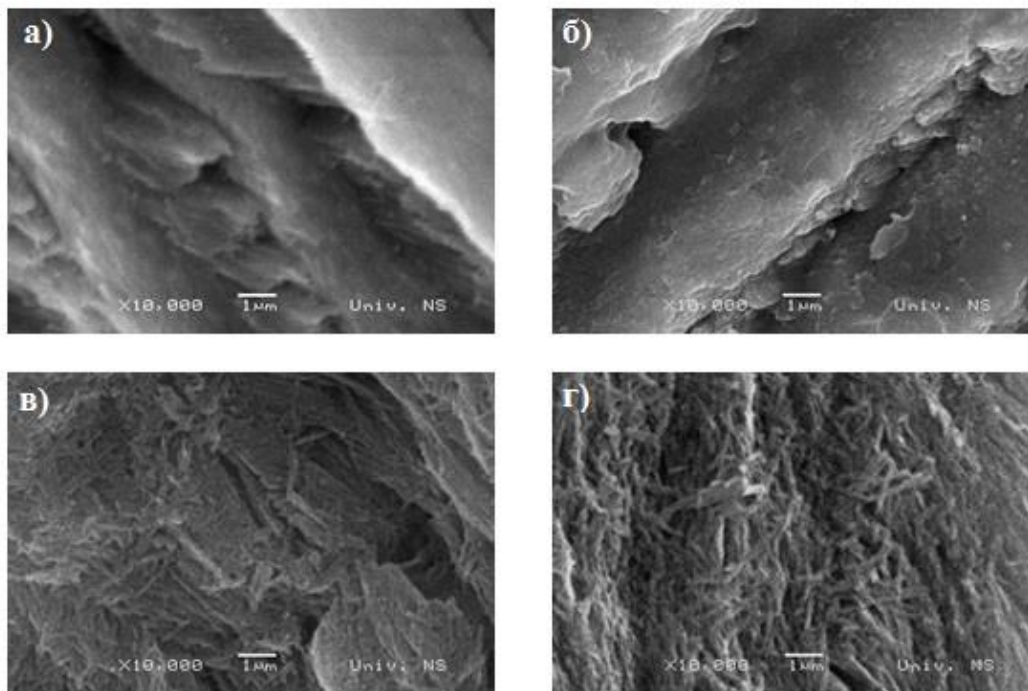
На уздужном пресеку глеђи контролног узорка уочавају се снопови глеђних призми, праволинијског правца пружања. Виде се линије лома које су оштре и јасне. Снопови глеђних призми узорка који је третиран газираном водом имају „стопљен“ изглед, са заобљеним линијама лома. Уздужни пресек глеђи узорка који је третиран Соса-Солa напитком показује трагове снопова глеђних призми. Линије лома нису уочљиве. Четврти узорак показује безструктурну заравњену површину, са појавом пукотина. Линије лома такође нису уочљиве.





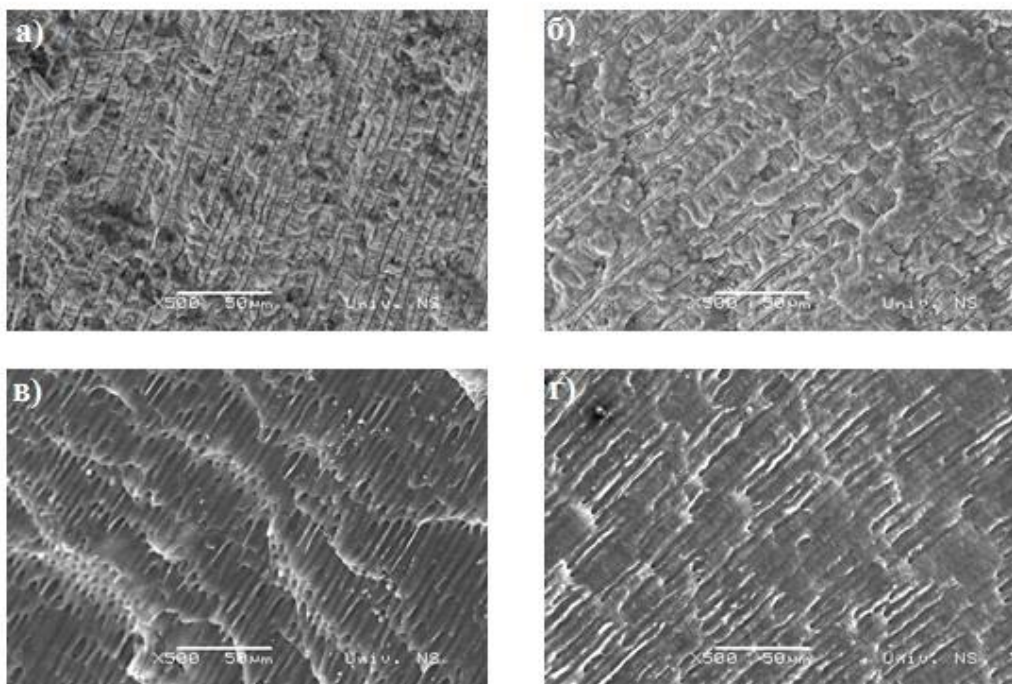
Слика 32. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x5000), након 24 сата излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

На већем увећању, контролни узорак показује јасно видљиве глеђне призме и интерпризматичну супстанцу. Линије лома су оштре и јасне. Код узорка који је био потпљен у газирану воду интерпризматична супстанца је стопљена са глеђним призмама. Линије лома нису јасно дефинисане. На уздужном пресеку узорка који су третирани Соса-Соса и Schweppes Bitter Lemon напитаком не препознају се структурне јединице.



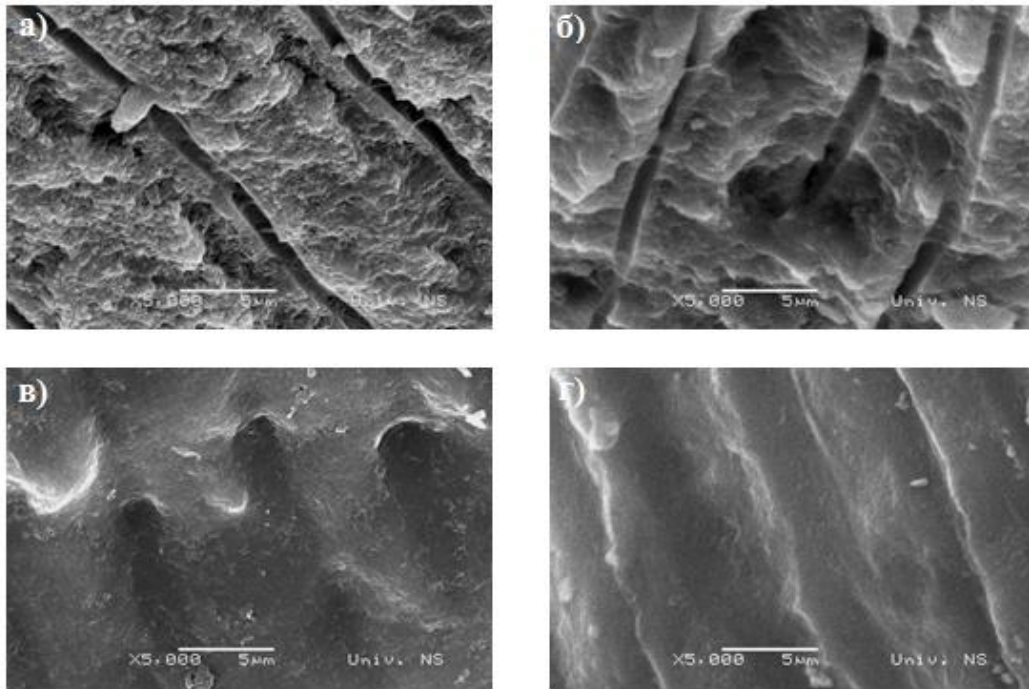
Слика 33. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи ( $\times 10\,000$ ), након 24 сата излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напипка, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Контролни узорак показује глеђне призме, ограничене интерпризматичном супстанцом. На уздужном пресеку узорка третираним газираним водом видљиве су глеђне призме, док интерпризматична супстанца има „стопљен“ изглед. На узорцима третираним Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon напипцима видљив је потпуни губитак структуре, преостали кристали хидроксиапатита имају неправилан и хаотичан распоред.



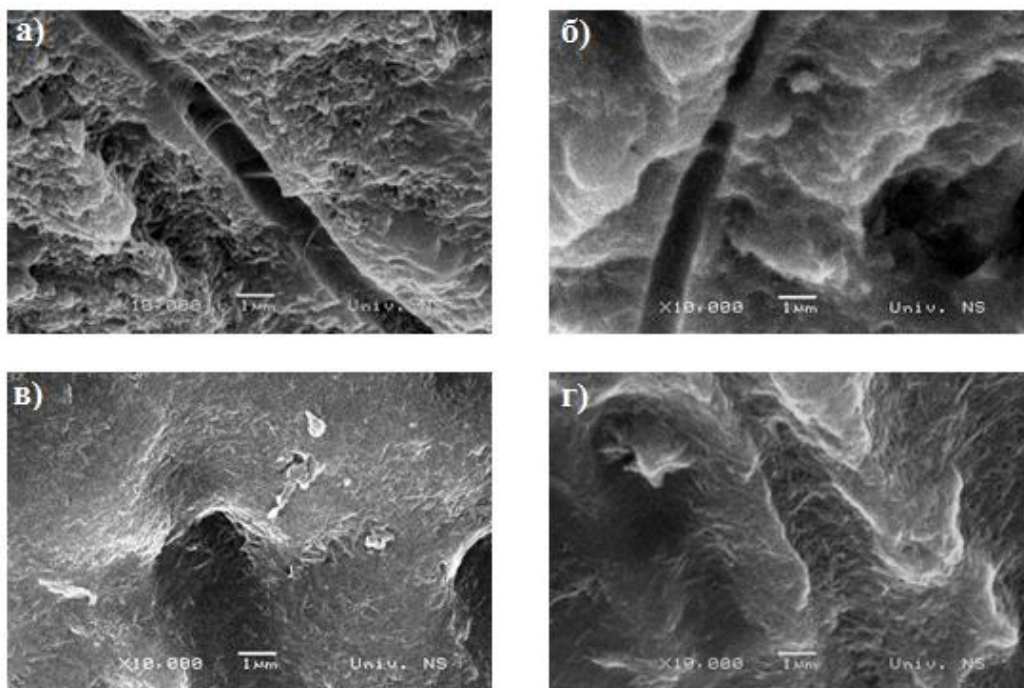
Слика 34. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x500), након 24 сата излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

На контролном узорку уочавају се дентински тубули окружени интертубуларном супстанцом. Уздужни пресек дентина узорка који је третиран газираним водом садржи поља где се тубули стапају са околним структурама. На узорку који је третиран Coca-Cola напитаком уочавају се проширени дентински тубули, уз хомогенизовање линија лома које дају пресеку таласаст изглед. На четвртом узорку местимично су присутна поља где је интертубуларни дентин у потпуности заравњен са тубулима, а на појединим местима је присутан у виду танких преграда. Линије лома су нејасне и заобљене.



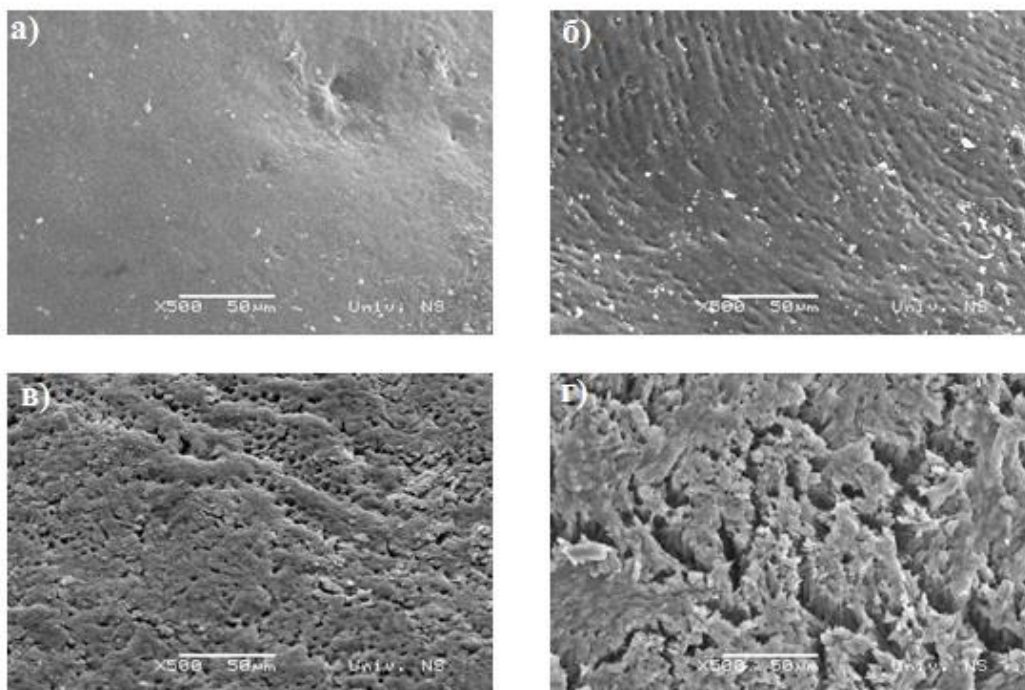
Слика 35. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x5000), након 24 сата излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б)газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Дентин контролни узорак показује анатоомо-морфологију здравог дентина, видљиве и јасно ограничене дентинске тубуле, перитубуларни и интертубулатни дентин. На узорку третираним газираним водом такође су видљиви дентински тубули, али интертубуларна супстанца има стопљен изглед. На трећем и четвртом узорку тубули су скоро у потпуности избрисани, а интертубуларна супстанца није уочљива.



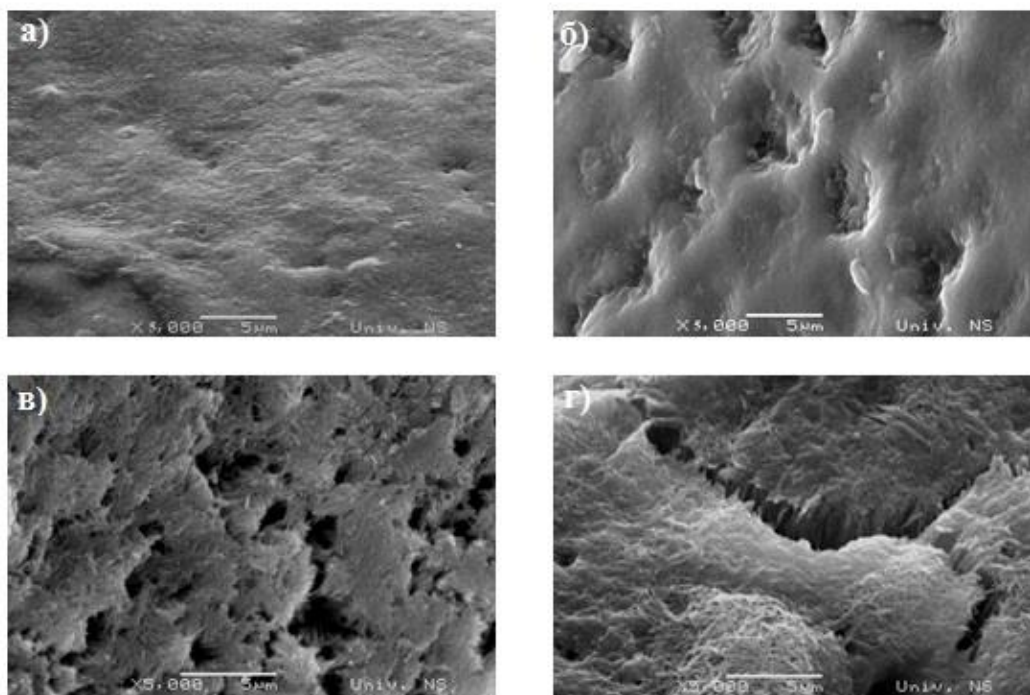
Слика 36. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина ( $\times 10\ 000$ ), након 24 сата излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Прва СЕМ микрофотографија показује дентинске тубуле ограничене перитубуларним дентином, на који се наставља инертубуларни дентин. На узорку третираним газираним водом виде се дентински каналићи, док инертубуларна супстанца има „стопљен“ изглед. Узужни пресек дентина трећег узорка је заравњен, уз уочљиве отворе дентинских тубула који су стопљени и затворени. Четврти узорак показује потпуни губитак анатоомо-морфологије.



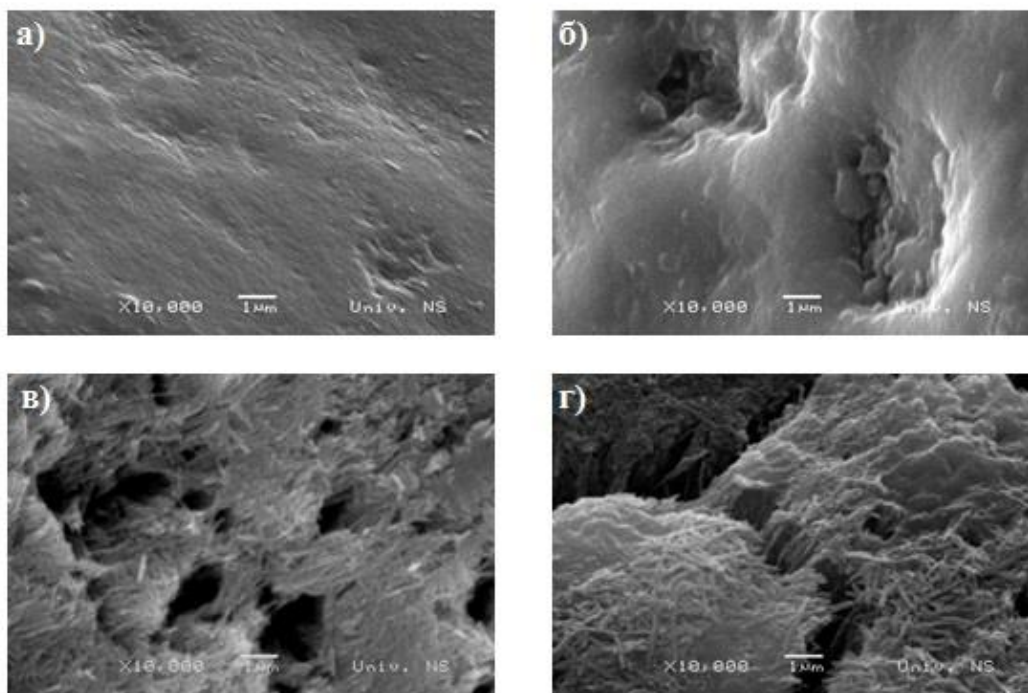
Слика 37. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x500), након 7 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Површина глеђи контролног узорка је глатка и интактна. Узорак који је био изложен деловању газиране воде карактерише се појавом удубљења која местимично дају површини сањаст изглед. Узорак који је био изложен деловању Coca-Cola напитка показује површину која је порозна, неаморфна, „стопљеног изгледа“ са појавом зона где су удубљена средишта глеђних призми окружена осрацима интерпризматичне супстанце. Четврти узорак показује потпуно разорену структуру са дубоким пукотинама и кратерима.



Слика 38. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x5000), након 7 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

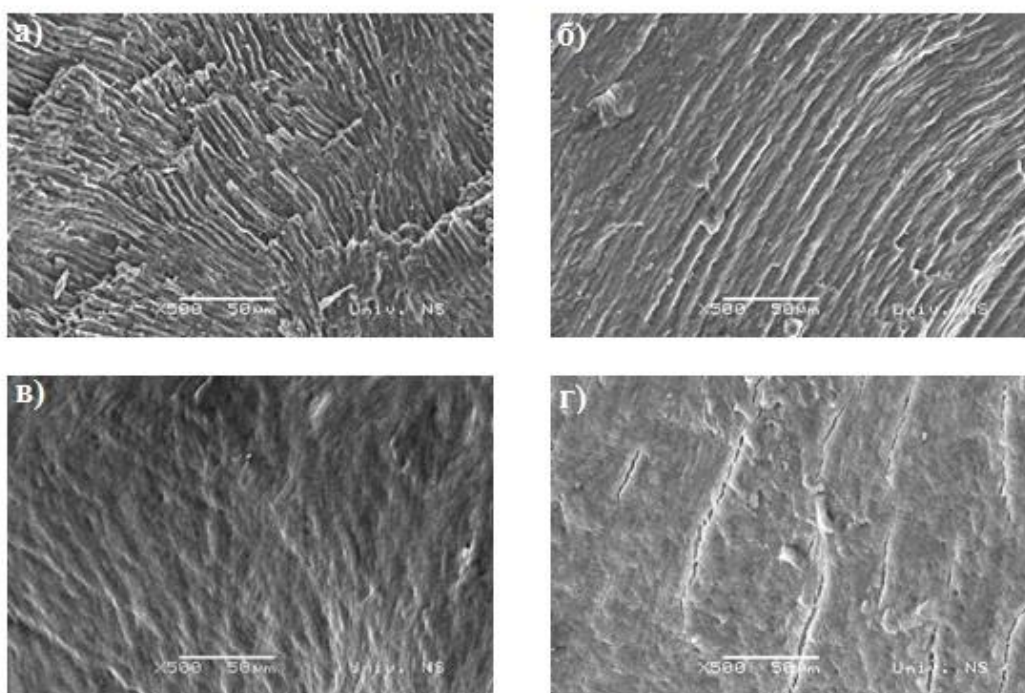
СЕМ микрофотографија контролног узорка показује глатку површину глеђи, са интактним слојем апризматичне глеђи. На узорку који је био потопљен у газирану воду овај слој је изгубљен, са удубљеним средишњим деловима глеђних призми. Узорци који су третирани напацима Соса-Солa и Schweppes Bitter Lemon показују порозну, разорену површину са неправилних распоредом преосталих кристала хидроксиапатита и појавом пукотина различитих димензија.



Слика 39. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x10 000), након 7 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

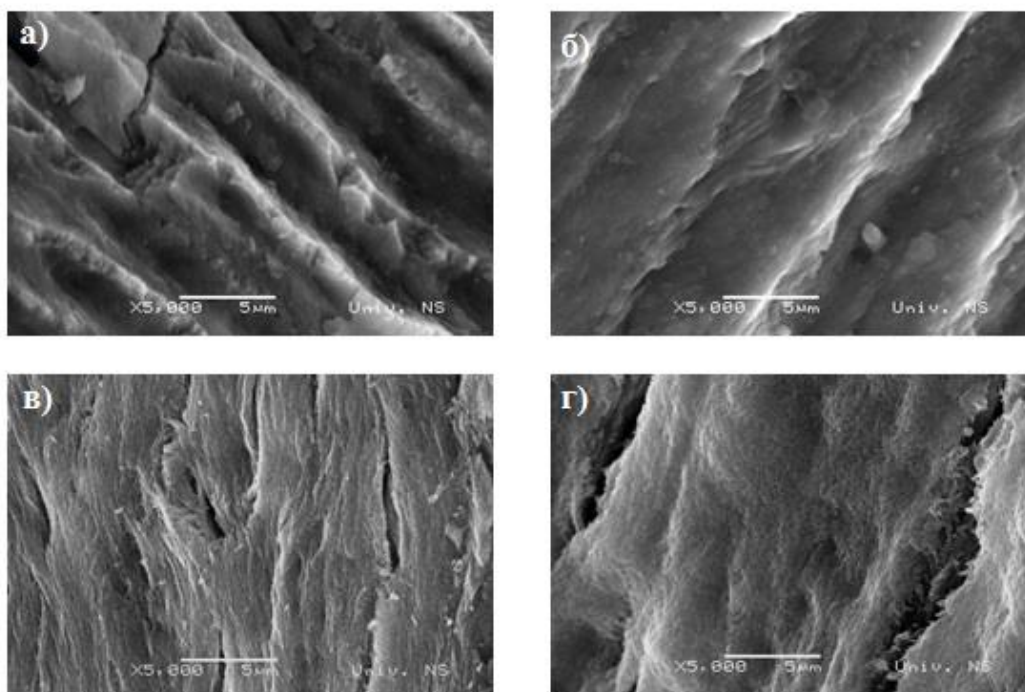
Површина глеђи контролног узорка је глатка. Други узорак показује удубљења у централном делу глеђних призми и проминирајући интерпризматичи простор. На површини узорка који су третирани напцима Соса-Солa и Schweppes Bitter Lemon морфологија је у потпуности разорена, структура је порозна са бројним пукотинама.





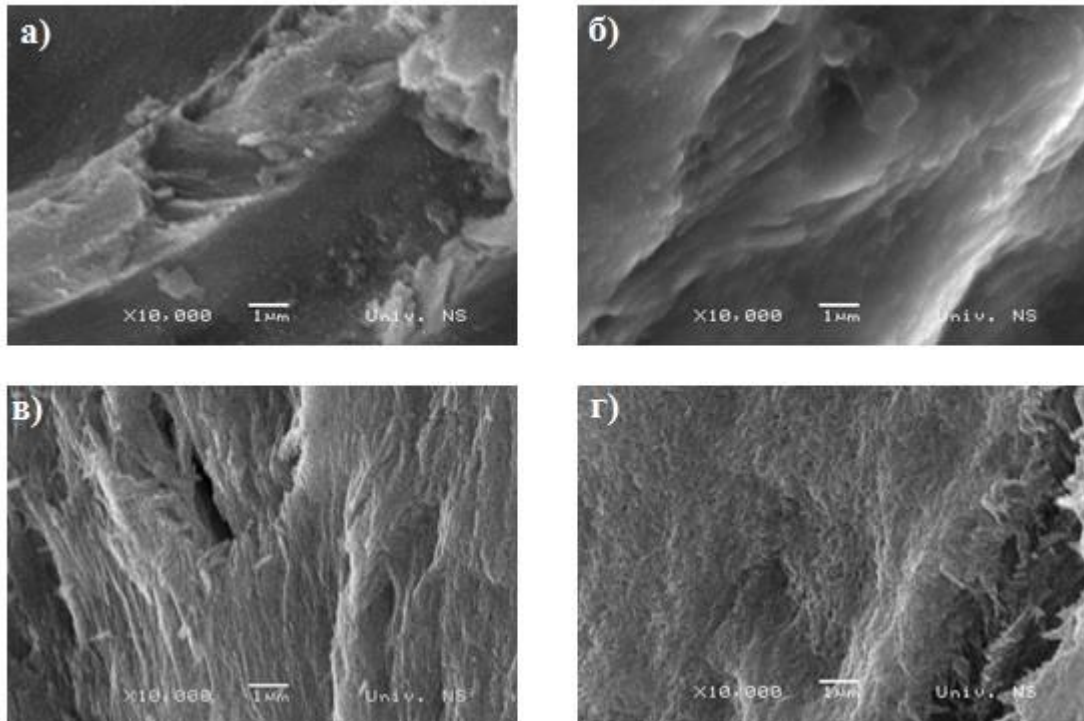
Слика 40. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x500), након 7 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Сола напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Контролни узорак показује снопове глеђних призми који се пружају у различитим правцима, са оштрим линијама лома. На другом узорку се уочавају глеђне призме које се стапају међусобно и које нису јасно ограничене. Линије лома нису уочљиве. Уздужни пресек глеђи узорака који су третирани Соса-Сола и Schweppes Bitter Lemon напитама показују заравњену површину где снопови глеђних призми нису препознатљиви. На четвртном узорку се на заравњеној површини појављују пукотине различитих димензија. Линије лома су изгубљене.



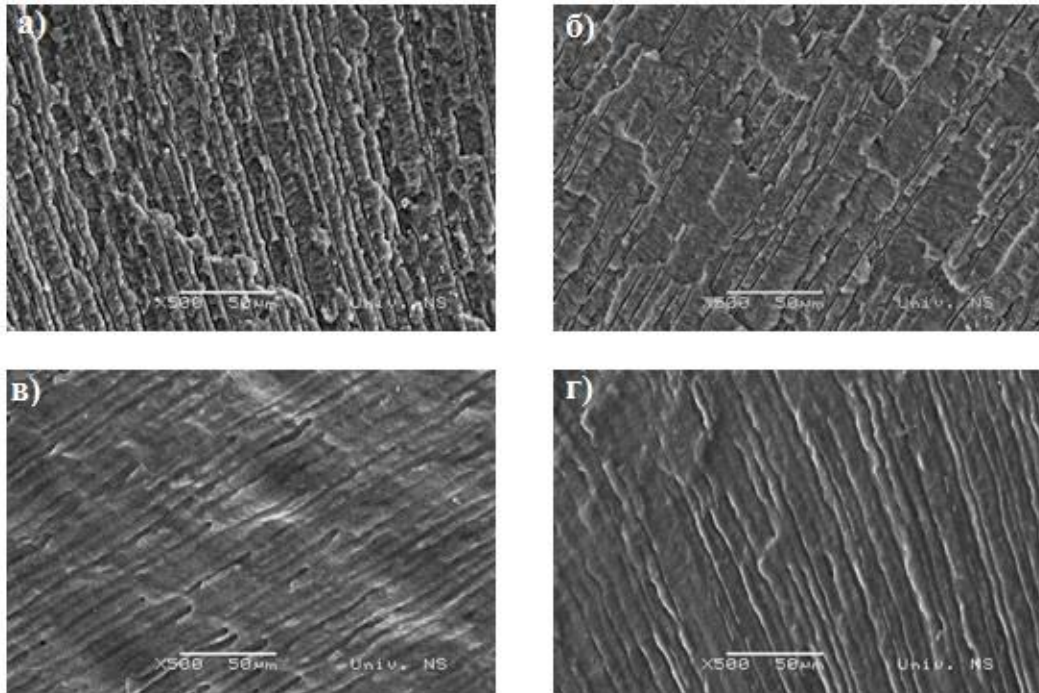
Слика 41. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x5000), након 7 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

На већем увећању контролног узорка јасно се виде лежишта глеђних призми, уз оштре и рецкаве линије лома. На уздужном пресеку узорка третираним газираном водом уочавају се трагови глеђних призми, које се стапају са интерпризматичном супстанцом. На трећем и четвртном узорку структуре су непрепознатљиве, глеђ је порозна са појавом пукотина различитих димензија.



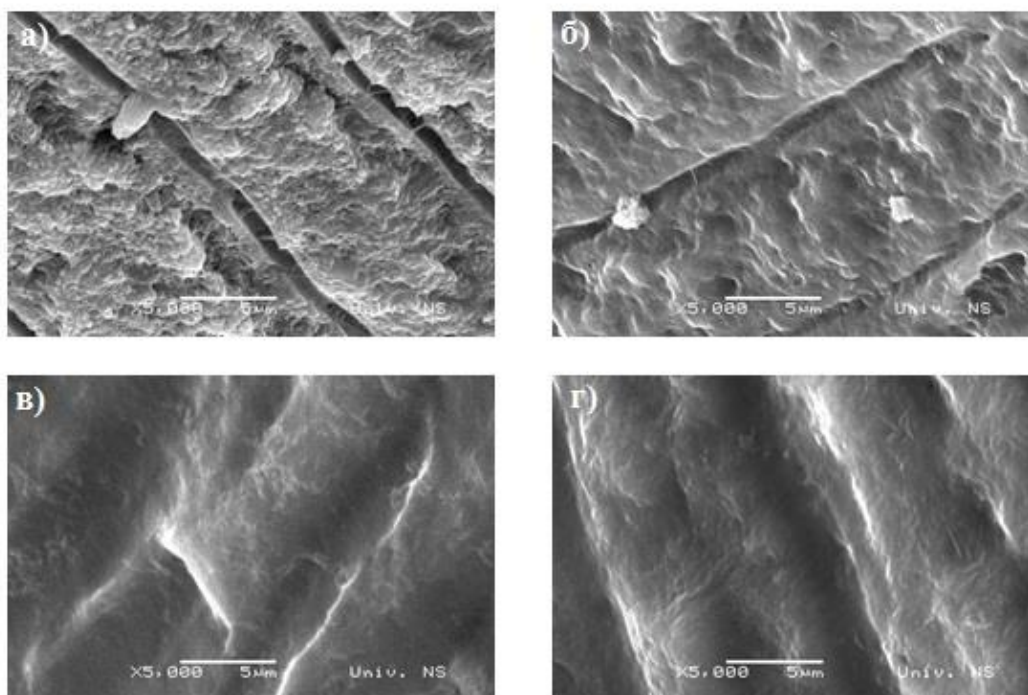
Слика 42. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x10 000), након 7 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи контролног узорка показује лежишта глеђних призми и између њих интерпризматичну супстанцу. Ивице лома су оштре и јасне. Уздужни пресек узорка који је третиран газираним водом је заравњен, без препознатљивих структурних елемената. Преостала два узорка који су били изложени деловању напитака Соса-Соса и Schweppes Bitter Lemon карактеришу се порозном површином, са присутним пукотинама и хаотичним распоредом кристала хидроксиапатита.



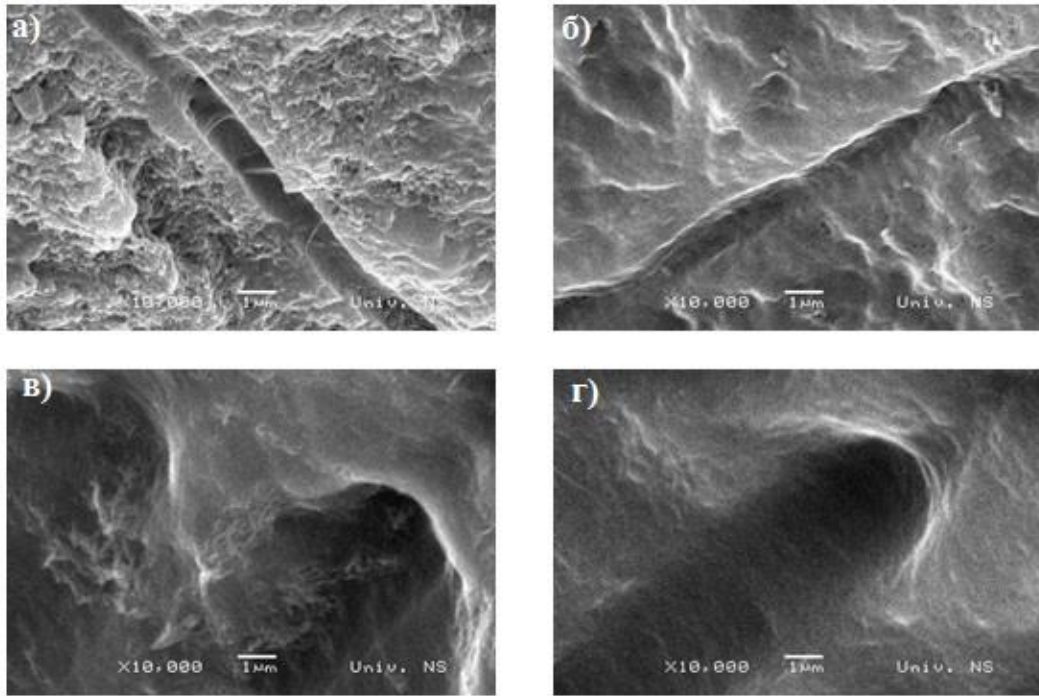
Слика 43. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x500), након 7 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

Уздужни пресек дентина контролног узорка показује непромењено ткиво, са очуваним дентинским тубулима и околном супстанцом. На другом узорку су уочљива поља са стопљеним структурним елементима, где се не виде дентински тубули. На узорцима третираним Соса-Соса и Schweppes Bitter Lemon напитаком дентински тубули су проширени. Интертубуларни дентин показује губитак морфолошких карактеристика, уз заобљеност линија и површине лома.



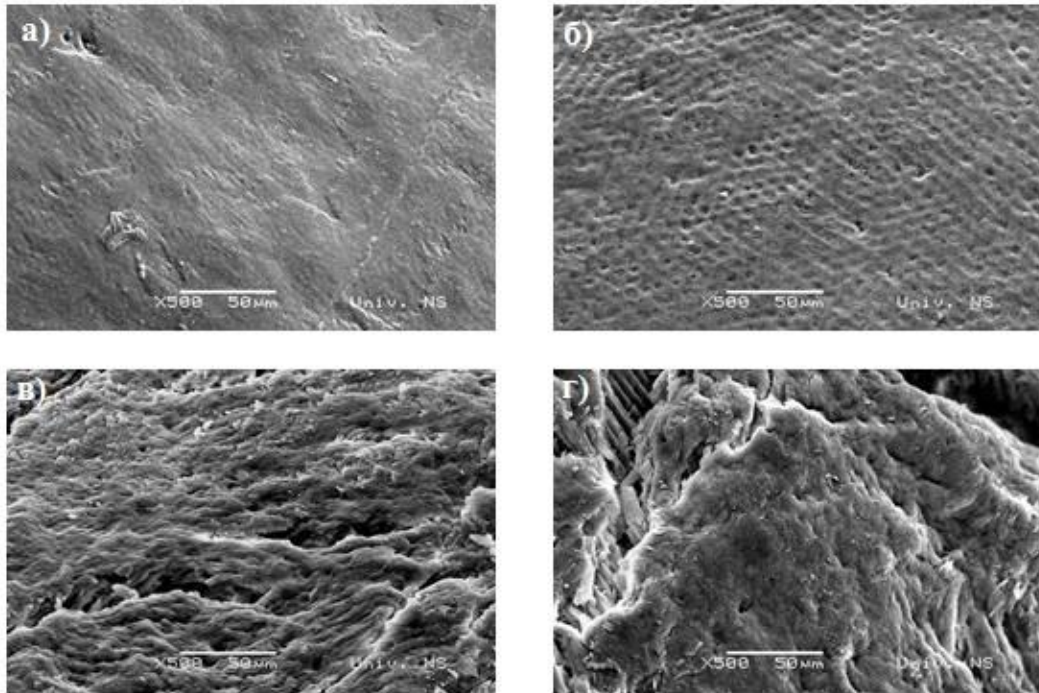
Слика 44. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x5000), након 7 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

На већем увећању, контролни узорак показује структуру здравог дентина. На уздужном пресеку дентина узорка који је третиран газираним водом тубули нису јасно ограничени у односу на интертубуларну супстанцу. Перитубуларни и интертубуларни дентин нису уочљиви. Преостала два узорка, која су била изложена деловању Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon напитка показују измењену, заравњену површину. Граница између перитубуларног и интертубуларног дентина није видљива, линије лома су заобљене, а дентински тубули попримају олучаст изглед. Отвори дентинских каналикула су затопљени.



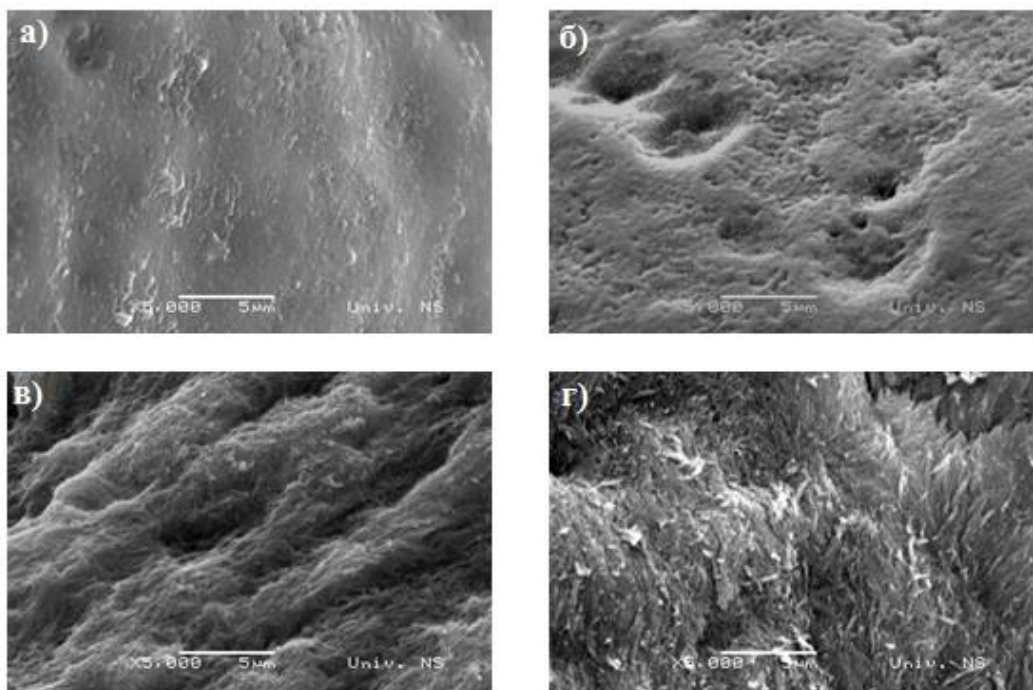
Слика 45. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x10000), након 7 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Контролни узорак показује структуру здравог дентина, са тубулима, перитубуларним и инертубуларним дентином. На уздужном пресеку дентина другог узорка дентински каналић се без јасне границе наставља на инертубуларну супстанцу. Цела површина има „стопљен изглед“. Узорци третирани напцима Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon показују заравњену површину лома са олучастим удубљењима уместо дентинских тубула.



Слика 46. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x500), након 30 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б)газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

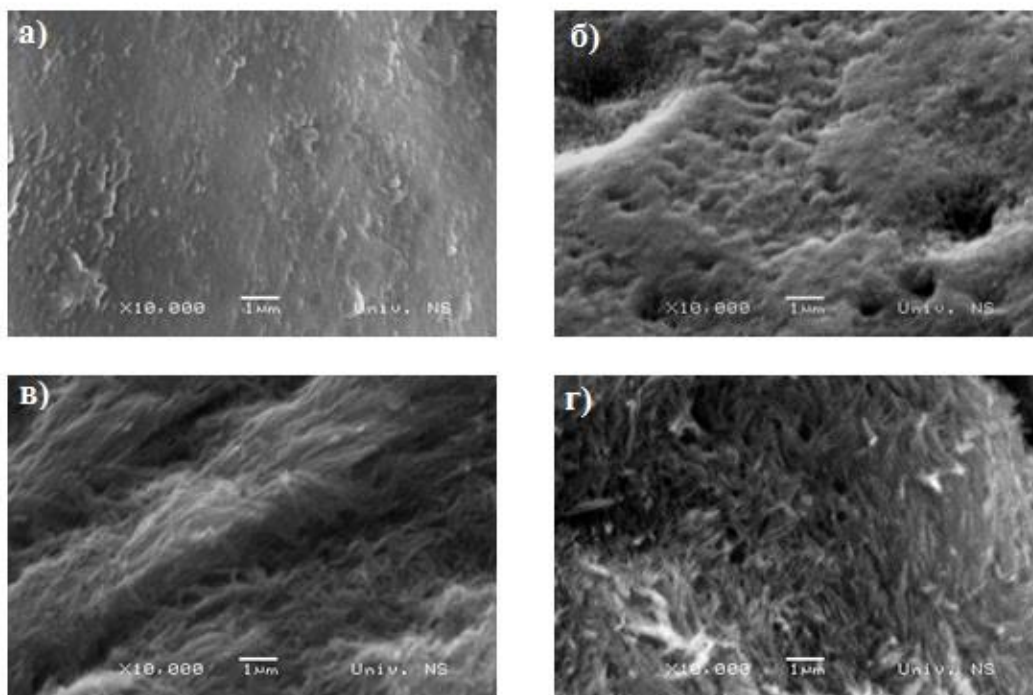
Контролни узорак показује глатку површину и аморфну површину, са слабо израженим перикиматама. Узорак третиран газираним водом показује порозну површину са удубљењима која по локализацији одговарају главама глеђних призми и видљивом саћастом структуром. Узорак третиран Coca-Cola напитком показује порозну површину „стопљеног“ изгледа, са бројним пукотинама. Површина глеђи узорка који је био изложен деловању Schweppes Bitter Lemon-а такође изгледа „стопљено“, са присутном пукотином у којој се види уздужни пресек остатака глеђних призми.



Слика 47. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи (x5000), након 30 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б)газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

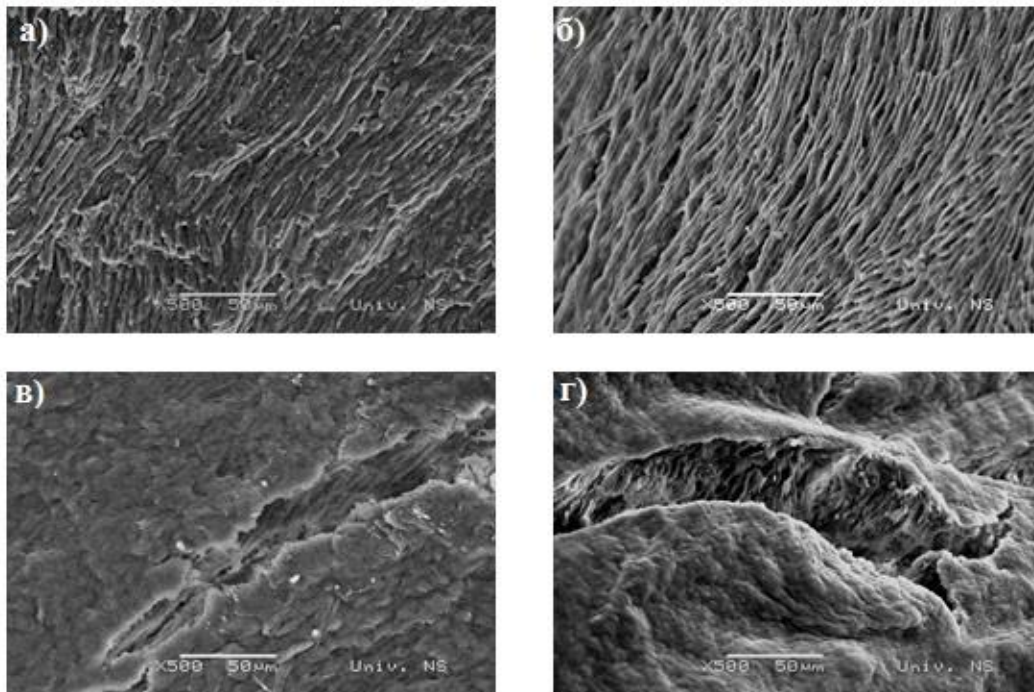
Површина глеђи контролног узорка је глатка и аморфна, са интактним слојем апризматичне глеђи. СЕМ микрофотографија глеђи узорка који је третитан газираном водом показује површину која је порозна са видљивим дефектима у виду удубљења различитих димензија. Преостала два узорка који су третирани напицима Соса-Солa и Schweppes Bitter Lemon показују разорену структуру са неправилним распоредом преосталих кристала хидроксиапатита.





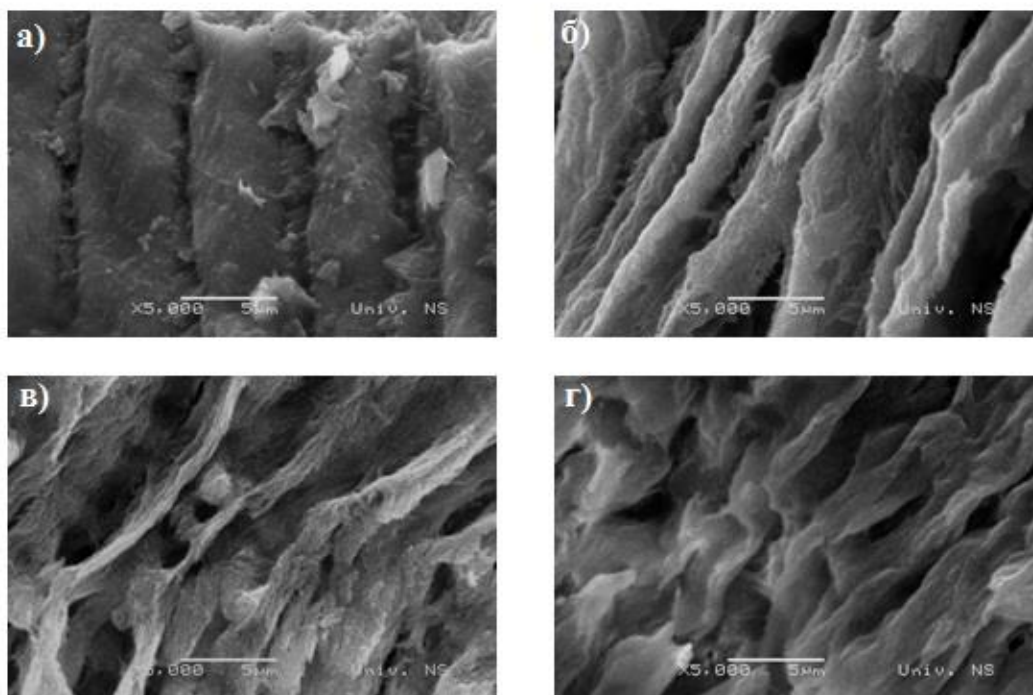
Слика 48. СЕМ микрофотографија спољашње површине глеђи ( $\times 10\,000$ ), након 30 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б)газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Сола напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

На увећању од 10 000 површина глеђи контролног узорка је глатка, са интактним слојем апризматичне глеђи. На узорку који је третиран газираним водом види се порозна површина са удубљењима различитих димензија. СЕМ микрофотографије узорка који су били изложени деловању напитака Соса-Сола и Schweppes Bitter Lemon показује кристале хидроксиапатита без дефинисаног распореда.



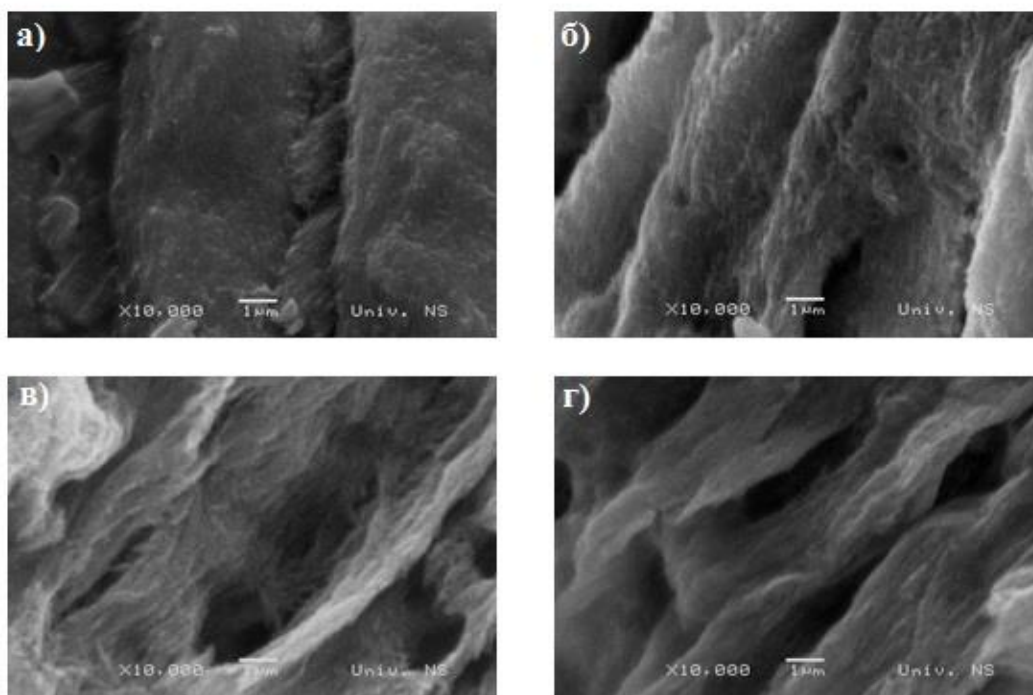
Слика 49. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x500), након 30 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Соса напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

На уздужном пресеку глеђи контролног узорка уочавају се снопови глеђних призми различитог правца пружања. Линије лома су уочљиве. СЕМ микрофотографија узорка који је третиран газираном водом показује глеђне призме растреситог и „проређеног“ распореда, између којих недостаје интерпризматична супстанца. Линије лома нису уочљиве. Структурне јединице на уздужном пресеку узорка који су били потопљени у Соса-Соса и Schweppes Bitter Lemon напитака су стопљене и непрепознатљиве, као и линије лома.



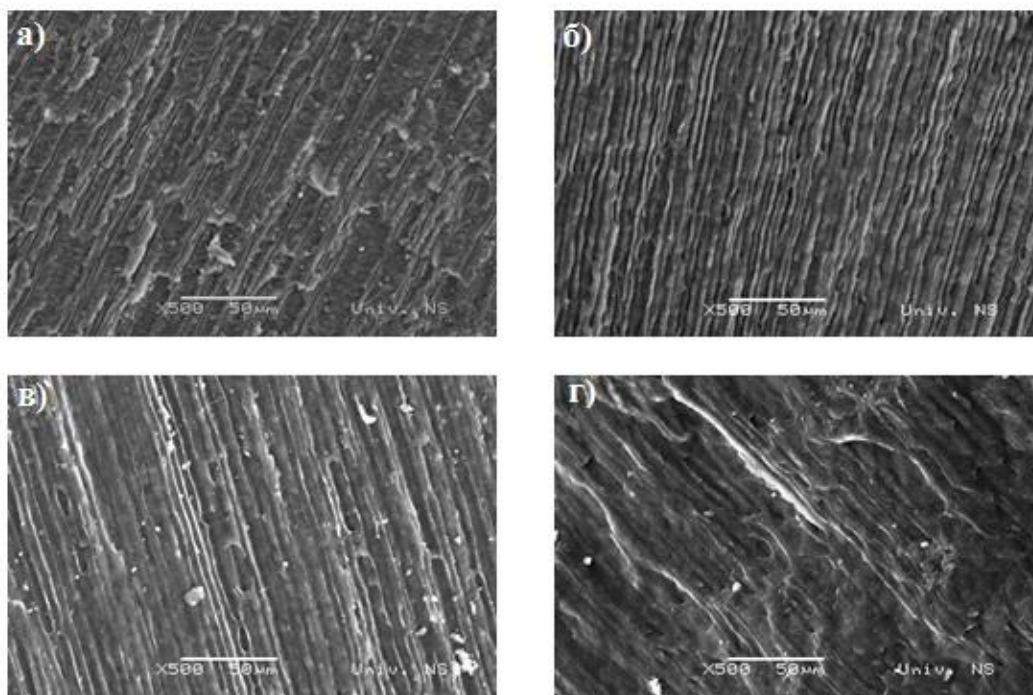
Слика 50. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи (x5000), након 30 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитка, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

На увећању од 5000, на контролном узорку су видљиве анатомо-морфолошке јединице, глеђне призме и интерпризматична супстанца. Линије лома су оштре и јасне. Сlike уздужног пресека глеђи експерименталних узорака, који су третирани газираном водом, Соса-Солa-ом и Schweppes Bitter Lemon-ом показују ткиво где нису видљиви структурни елементи глеђи. Главе глеђних призми делују деминерализовано тј. недостају, а интерпризматична супстанца нема нормалну морфологију и делује заобљено. Површине изгледају порозно, са видљивим пукотинама и непрепознатљивим линијама лома.



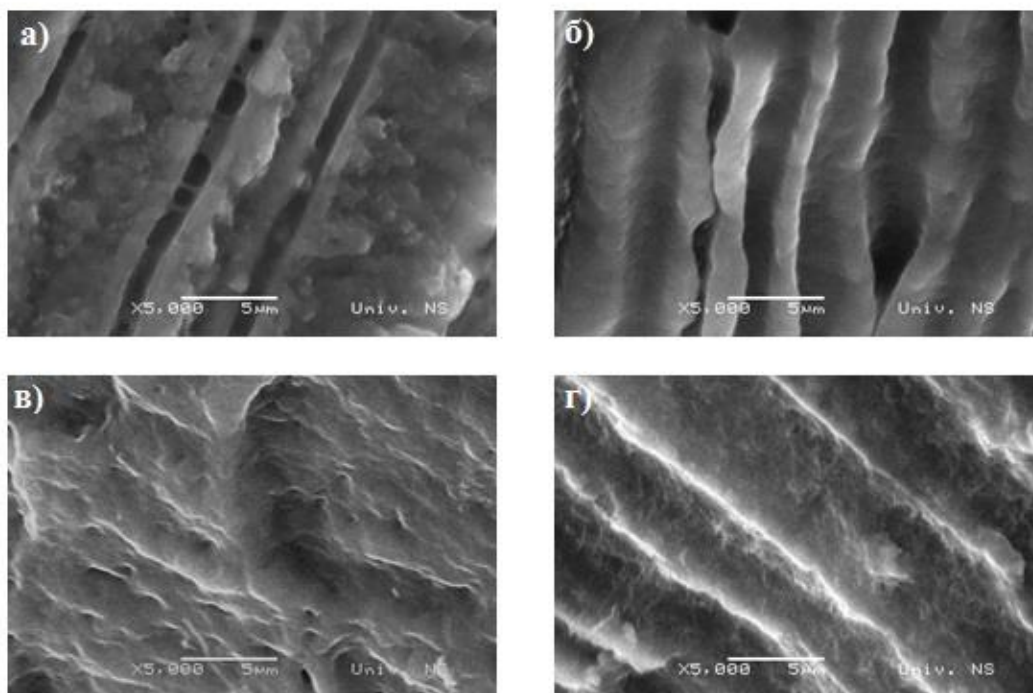
Слика 51. СЕМ микрофотографија уздужног пресека глеђи ( $\times 10000$ ), након 30 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Coca-Cola напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-a.

Контролни узорак показује глеђне призме и интерпризматичну супстанцу. СЕМ микрофотографије узорака који су третирани газираним водом, Coca-Cola-ом и Schweppes Bitter Lemon-ом показују ткиво непрепознатљиве морфологије, са видљивим пукотинама и дефектима различитих димензија.



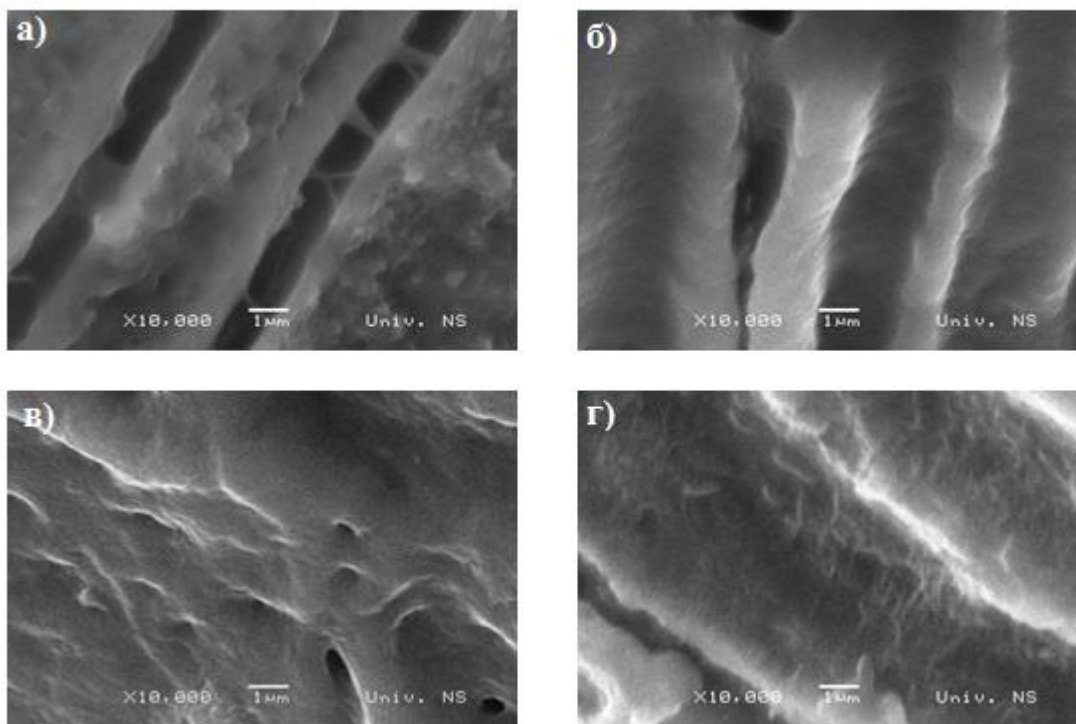
Слика 52. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x500), након 30 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Сока-Сола напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

На уздужном пресеку дентина контролног узорка уочавају се дентински тубули окружени интертубуларном супстанцом. Уздужни пресек узорка који је третиран газираним водом показује проширене дентинске тубуле и интертубуларну супстанцу „стопљеног“ изгледа. Код узорка третираним Сока-Сола напитком местимично се виде остаци дентинских тубула, а местимично су они потпуно избрисани. На узорку третираним Schweppes Bitter Lemon напитком морфолошке јединице су на целој површини избрисане и непрепознатљиве.



Слика 53. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина (x5000), након 30 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Сола напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

На већем увећању, на уздужном пресеку дентина контролног узорка уочавају се дентински тубули окружени перитубуларним и интертубуларним дентином. На узорку који је третиран газираном водом видљиви су проширени дентински каналићи, раздвојени танким интертубуларним преградама. На СЕМ микрофотографији узорка који је био изложен деловању Соса-Сола напитака не уочавају се структурни елементи дентинског ткива. На четвртом узорку видљиви су трагови интертубуларног дентина који дају површини таласаст изглед.



Слика 54. СЕМ микрофотографија уздужног пресека дентина ( $\times 10\ 000$ ), након 30 дана излагања деловању напитака: а) дестиловане воде, б) газиране воде „Књаз Милош“, в) Соса-Солa напитака, г) Schweppes Bitter Lemon-а.

Уздужни пресек дентина контролног узорка на увећању од 10 000 показује дентиско ткиво са структурним елементима: тубули, перитубуларни и интертубуларни дентин. Узорак који је био изложен деловању газиране воде показује проширене дентинске тубуле и истањену интертубуларну супстанцу. Узорци који су третирани напитама Соса-и Соса и Schweppes Bitter Lemon су без структурних елемената дентинског ткива.

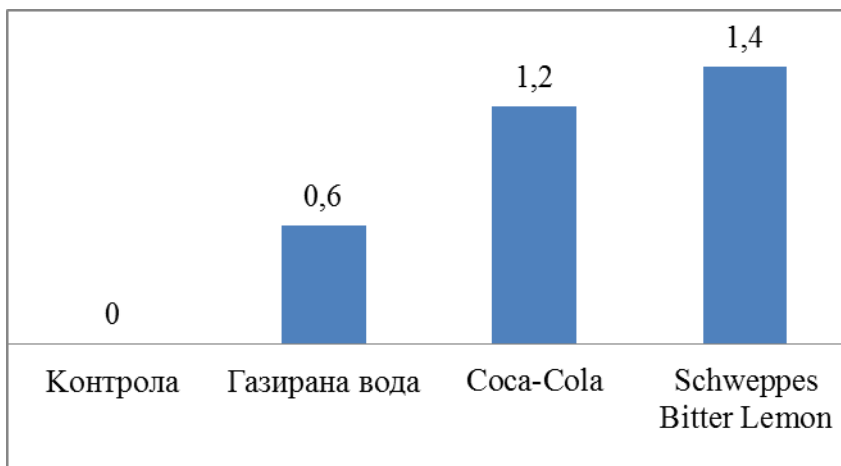
#### 4.2.2 Степен измењености узорака појединачно за сваки временски интервал

Обрадом добијених података, везаних за степен измењености глеђи и дентина, за сваки испитивани напитака након временског интервала од 5 минута, добијени су подаци приказани у Табели 4. Ради боље визуелне перцепције резултати су приказани и графички (Графикон 2.).

Табела 4. Интензитет измењености ткива након 5 минута деловања напитака

	Аритметичка средина	Стандардна девијација	Минимална вредност	Максимална вредност	F	Значајност
Контрола	0.0000	0.00000	0.00	0.00	35.000	0.000
Газирана вода	0.6000	0.50709	0.00	1.00		
Coca-Cola	1.2000	0.41404	1.00	2.00		
Schweppes Bitter Lemon	1.4000	0.50709	1.00	2.00		

Графикон 2. Интензитет измењености ткива након 5 минута деловања напитака



Интензитет измењености глеђи и дентина након 5 минута деловања напитака исказан аритметичком средином за газирану воду износи 0.6 јединица, за Coca-Cola напитака износи 1.2 јединице, док је за узорке третиране Schweppes Bitter Lemon-ом та вредност 1.4 јединице.

Шефеов „post hoc“ тест показује да постоји статистички значајна разлика између контролне и осталих група, затим између узорака који су третирани газираном водом и осталих група. Узорци третирани напитама Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon међусобно се не разликују и могу се сврстати у једну



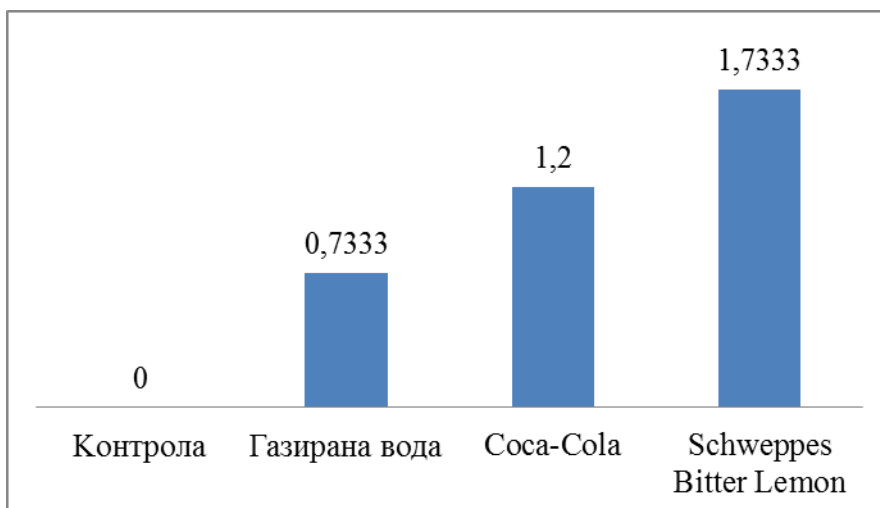
групу која се статистички значајно разликује од осталих група. На нивоу значајности 0.000, F износи 35.0.

У Табели 5. и Графикону 3. приказане су вредности интензитета измењености ткива након 60 минута деловања напитака.

Табела 5. Интензитет измењености ткива након 60 минута деловања напитака

	Аритметичка средина	Стандардна девијација	Минимална вредност	Максимална вредност	F	Значајност
Контрола	0.0000	0.00000	0.00	0.00	44.212	0.000
Газирана вода	0.7333	0.45774	0.00	1.00		
Coca-Cola	1.2000	0.56061	0.00	2.00		
Schweppes Bitter Lemon	1.7333	0.45774	1.00	2.00		

Графикон 3. Интензитет измењености ткива након 60 минута деловања напитака



Интензитет измењености глеђи и дентина након 60 минута деловања напитака исказан аритметичком средином за газирану воду износи 0.7333 јединица, за Coca-Cola напитака износи 1.2 јединице, док је за узорке третиране Schweppes Bitter Lemon-ом та вредност 1.7333 јединице.

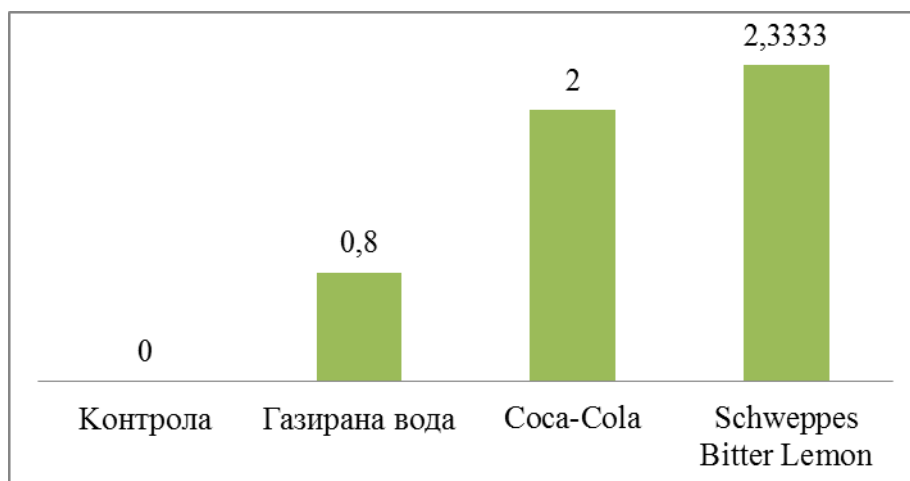
Шефев пост хос тест показује да се све групе међусобно разликују статистички значајно. За нови значајности 0.000, F износи 44.212.

У Табели 6. и Графикону 4. приказане су вредности интензитета измењености ткива након временског интервала од 12 сати.

Табела 6. Интензитет измењености ткива након 12 сати деловања напитака

	Аритметичка средина	Стандардна девијација	Минимална вредност	Максимална вредност	F	Значајност
Контрола	0.0000	0.00000	0.00	0.00	71.291	0.000
Газирана вода	0.8000	0.41404	0.00	1.00		
Coca-Cola	2.0000	0.65465	1.00	3.00		
Schweppes Bitter Lemon	2.3333	0.61721	1.00	3.00		

Графикон 4. Интензитет измењености ткива након 12 сати деловања напитака



Интензитет измењености глеђи и дентина након 12 сати деловања напитака исказан аритметичком средином за газирану воду износи 0.8 јединица, за Coca-Cola напитака износи 2 јединице, за узорке третиране Schweppes Bitter Lemon-ом та вредност износи 2.3333 јединице.

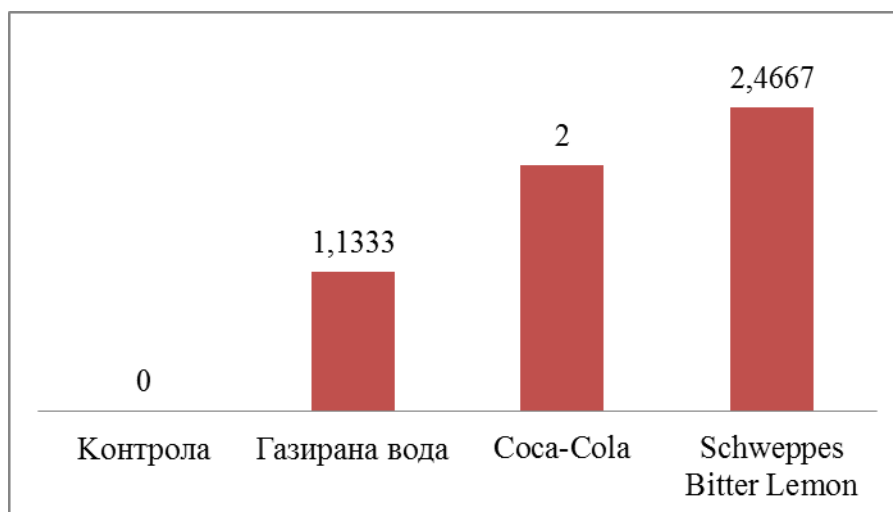
Шефеов post hoc тест показује да након 12 сати нема разлике између степена измењености узорака који су третирани Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon напацима. Остале групе се разликују статистички значајно. На нову значајности 0.000, F износи 71.291

У Табели 7. и Графикону 5. приказане су вредности интензитета измењености ткива након временског интервала од 24 сата.

Табела 7. Интензитет измењености ткива након 24 сата деловања напитака

	Аритметичка средина	Стандардна девијација	Минимална вредност	Максимална вредност	F	Значајност
Контрола	0.0000	0.00000	0.00	0.00	73.373	0.000
Газирана вода	1.1333	0.63994	0.00	2.00		
Coca-Cola	2.0000	0.37796	1.00	3.00		
Schweppes Bitter Lemon	2.4667	0.63994	1.00	3.00		

Графикон 5. Интензитет измењености ткива након 24 сата деловања напитака



Интензитет измењености глеђи и дентина након 24 сата деловања напитака исказан аритметичком средином за газирану воду износи 1.1333 јединице, за Coca-Cola напитака износи 2 јединице, за узорке третиране Schweppes Bitter Lemon-ом та вредност износи 2.4667 јединица.

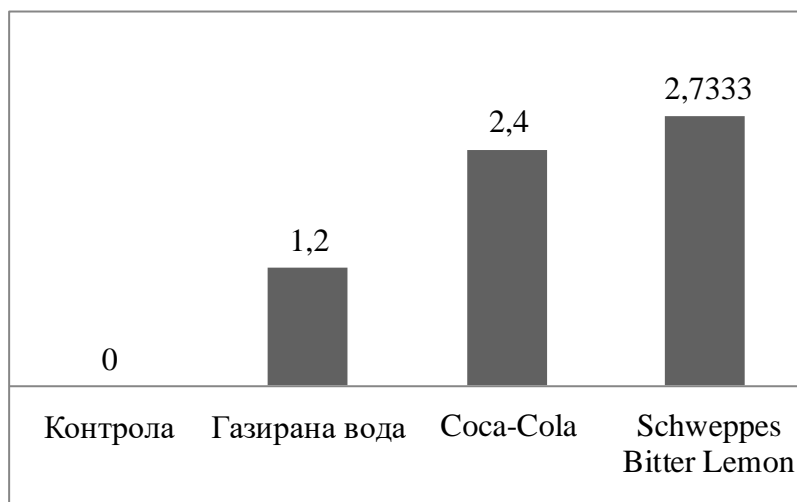
Шефеов *post hoc* тест показује да не постоји статистички значајна разлика у степену измењености морфологије код узорака који су потопљени у Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon напитака. Између осталих група постоји статистички значајна разлика. На нивоу значајности 0.000, F износи 73.373.

У Табели 8. и Графикону 6. приказане су вредности за интензитет измењености ткива након временског интервала од 7 дана.

Табела 8. Интензитет измењености ткива након 7 дана деловања напитака

	Аритметичка средина	Стандардна девијација	Минимална вредност	Максимална вредност	F	Значајност
Контрола	0.0000	0.00000	0.00	0.00	145.537	0.000
Газирана вода	1.2000	0.41404	1.00	2.00		
Соса-Соса	2.4000	0.50709	2.00	3.00		
Schweppes Bitter Lemon	2.7333	0.45774	2.00	3.00		

Графикон 6. Интензитет измењености ткива након 7 дана деловања напитака



Интензитет измењености глеђи и дентина након 7 дана деловања напитака исказан аритметичком средином за газирану воду износи 1.2 јединице, за Соса-Соса напитака износи 2.4 јединице, за узорке третиране Schweppes Bitter Lemon-ом та вредност износи 2.7333 јединице.

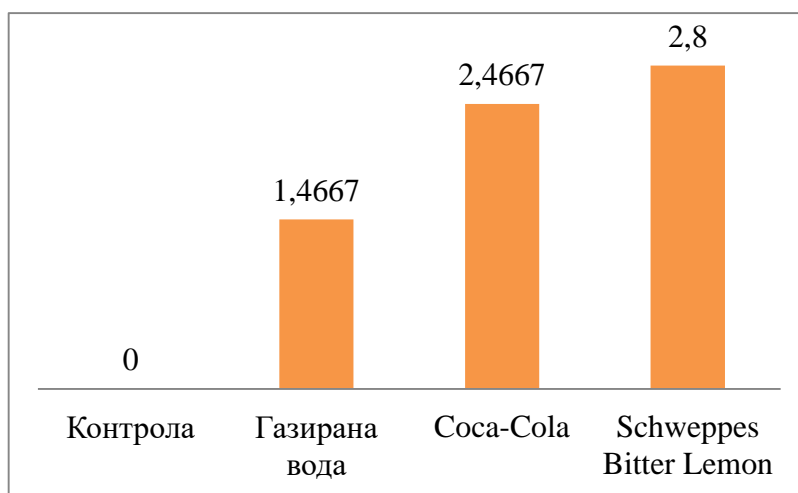
Шефеов *post hoc* тест показује да се узорци који су били потопљени у Соса-Соса и Schweppes Bitter Lemon напитака могу сврстати у једну групу која се значајно разликује у односу на остале. Остале групе се разликују статистички значајно. За ниво значајности 0.000, F износи 145.537.

У Табели 9. и Графикону 7. приказане су вредности за интензитет измењености ткива након временског интервала од 30 дана.

Табела 9. Интензитет измењености ткива након 30 дана деловања напитака

	Аритметичка средина	Стандардна девијација	Минимална вредност	Максимална вредност	F	Значајност
Контрола	0.0000	0.00000	0.00	0.00	95.734	0.000
Газирана вода	1.4667	0.74322	1.00	3.00		
Coca-Cola	2.4667	0.51640	2.00	3.00		
Schweppes Bitter Lemon	2.8000	0.41404	2.00	3.00		

Графикон 7. Интензитет измењености ткива након 30 дана деловања напитака



Интензитет измењености глеђи и дентина након 30 дана деловања напитака исказан аритметичком средином за газирану воду износи 1.4667 јединица, за Coca-Cola напитака износи 2.4667 јединица, за узорке третиране Schweppes Bitter Lemon-ом та вредност износи 2.8 јединица.

Шефев *post hoc* тест показује да се узорци који су третирани напцима Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon понашају као једна група која се разликује статистички значајно у односу на контролну групу и групу узорака који су третирани газираном водом. За ниво значајности 0.000, F износи 95.734.

#### 4.2.3 Измењеност узорака у зависности од дужине временског интервала, посебно за сваки испитивани напитаk

Вредновањем степена измењености површина пресека на СЕМ микрофотографији, према методологији раније дефинисаној као и обрађивањем добијених података, види се да се узорци који су третирани газираним водом разликују статистички значајно ( $F=5.547$ ,  $p<0.001$ ) у зависности од дужине времена током којег су третирани напитаком, што је приказано у Табели 10.

Табела 10. Измењеност узорака деловањем газираним водом у различитим временским интервалима.

Дужина деловања напитака на узорке	Аритметичка средина	Стандардна девијација	Минимална вредност	Максимална вредност
5 минута	0.6000	0.50709	0.00	1.00
60 минута	0.7333	0.45774	0.00	1.00
12 сати	0.8000	0.41404	0.00	1.00
24 сата	1.1333	0.63994	0.00	2.00
7 дана	1.2000	0.41404	1.00	2.00
30 дана	1.4667	0.74322	1.00	3.00
Укупно	0.9889	0.60882	0.00	3.00

Post hoc тест показује да статистички значајна разлика постоји између степена измењености након 5 и 60 минута деловања газираним водом и након 30 дана деловања овог напитака.

Вредновањем степена измењености површина пресека на СЕМ микрофотографији, као и обрађивањем добијених података, види се да се узорци који су третирани Соса-Солa-ом разликују статистички значајно ( $F=17.854$ ,  $p<0.001$ ), у зависности од дужине времена током којег су третирани напитаком, што је приказано у Табели 11.

Табела 11. Измењеност узорака деловањем Coca-Cola напитка у различитим временским интервалима.

Дужина деловања напитка на узорке	Аритметичка средина	Стандардна девијација	Минимална вредност	Максимална вредност
5 минута	1.2000	0.41404	1.00	2.00
60 минута	1.2000	0.56061	0.00	2.00
12 сати	2.0000	0.65465	1.00	3.00
24 сата	2.0000	0.37796	1.00	3.00
7 дана	2.4000	0.50709	2.00	3.00
30 дана	2.4667	0.51640	2.00	3.00
Укупно	1.8778	0.71623	0.00	3.00

Post hoc тест показује да се интензитет измењености ткива након 5 минута и након 60 минута разликује статистички значајно од интензитета измењености у осталим временским интервалима.

Вредновањем степена измењености површина пресека на СЕМ микрофотографији, као и обрађивањем добијених података, види се да се узорци који су третирани Schweppes Bitter Lemon-ом разликују статистички значајно ( $F=17.353$ ,  $p<0.001$ ), у зависности од дужине времена током којег су третирани напитком, што је приказано у Табели 12.

Табела 12. Измењеност узорака деловањем Schweppes Bitter Lemon напитка у различитим временским интервалима.

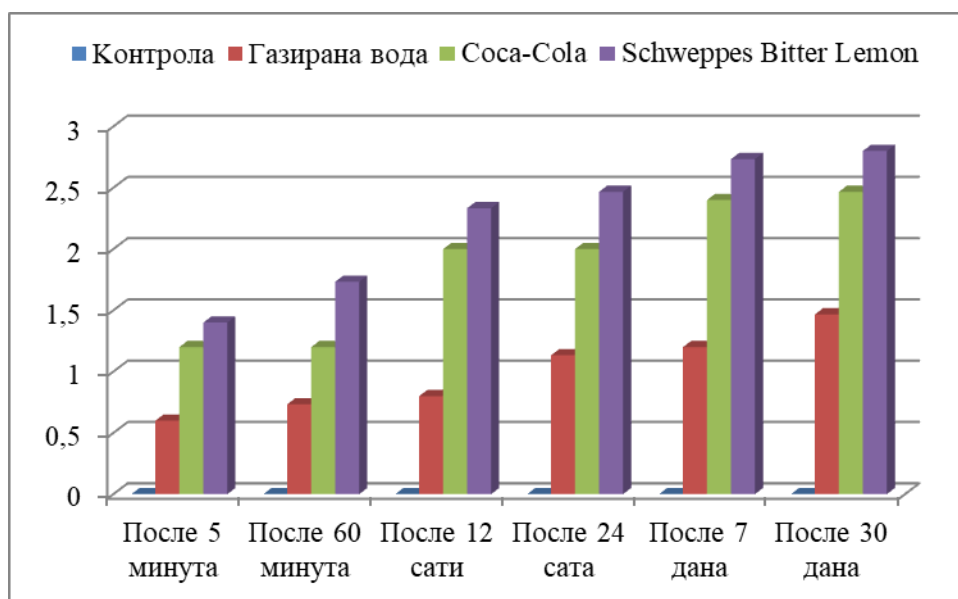
Дужина деловања напитка на узорке	Аритметичка средина	Стандардна девијација	Минимална вредност	Максимална вредност
5 минута	1.4000	0.50709	1.00	2.00
60 минута	1.7333	0.45774	1.00	2.00
12 сати	2.3333	0.61721	1.00	3.00
24 сата	2.4667	0.63994	1.00	3.00
7 дана	2.7333	0.45774	2.00	3.00
30 дана	2.8000	0.41404	2.00	3.00
Укупно	2.2444	0.72377	1.00	3.00

Post hoc тест показује да се узорци након 5 и 60 минута деловања напитка не разликују статистички значајно, затим да се узорци након 60 минута и 12 сати деловања Schweppes Bitter Lemon-а не разликују статистички значајно. Узорци који су били изложени деловању напитка 24 сата, 7 дана и 30 дана не разликују се

статистички значајон од узорака третираних овим напитком 12 сати, али се разликују од узорака третираним 5 минута и 60 минута.

Графикон 8. показује интензитете промена глеђи и дентина које настају деловањем испитиваних газираних напитака у свим временским интервалима.

*Графикон 8. Интензитет измењености ткива у свим временским интервалима.*

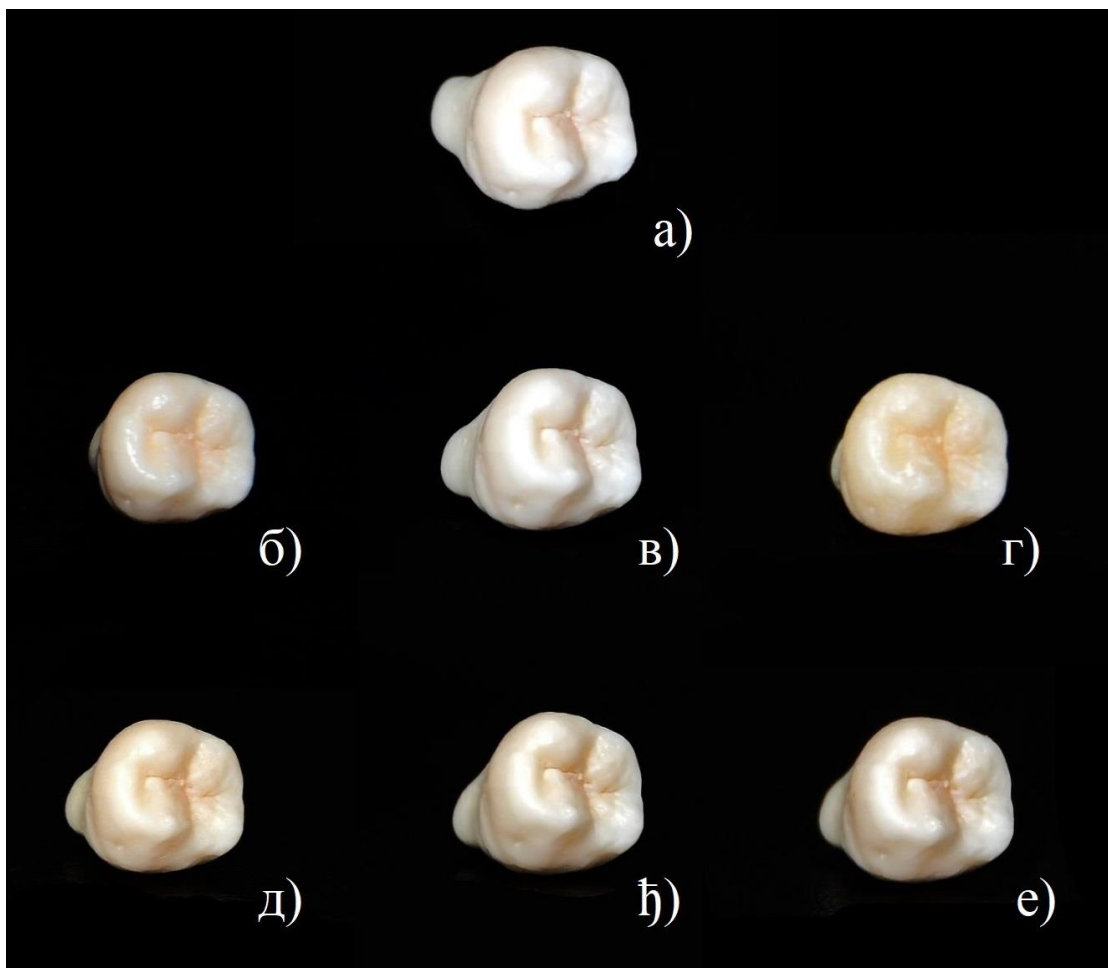




## 4.3 Резултати макроскопског испитивања

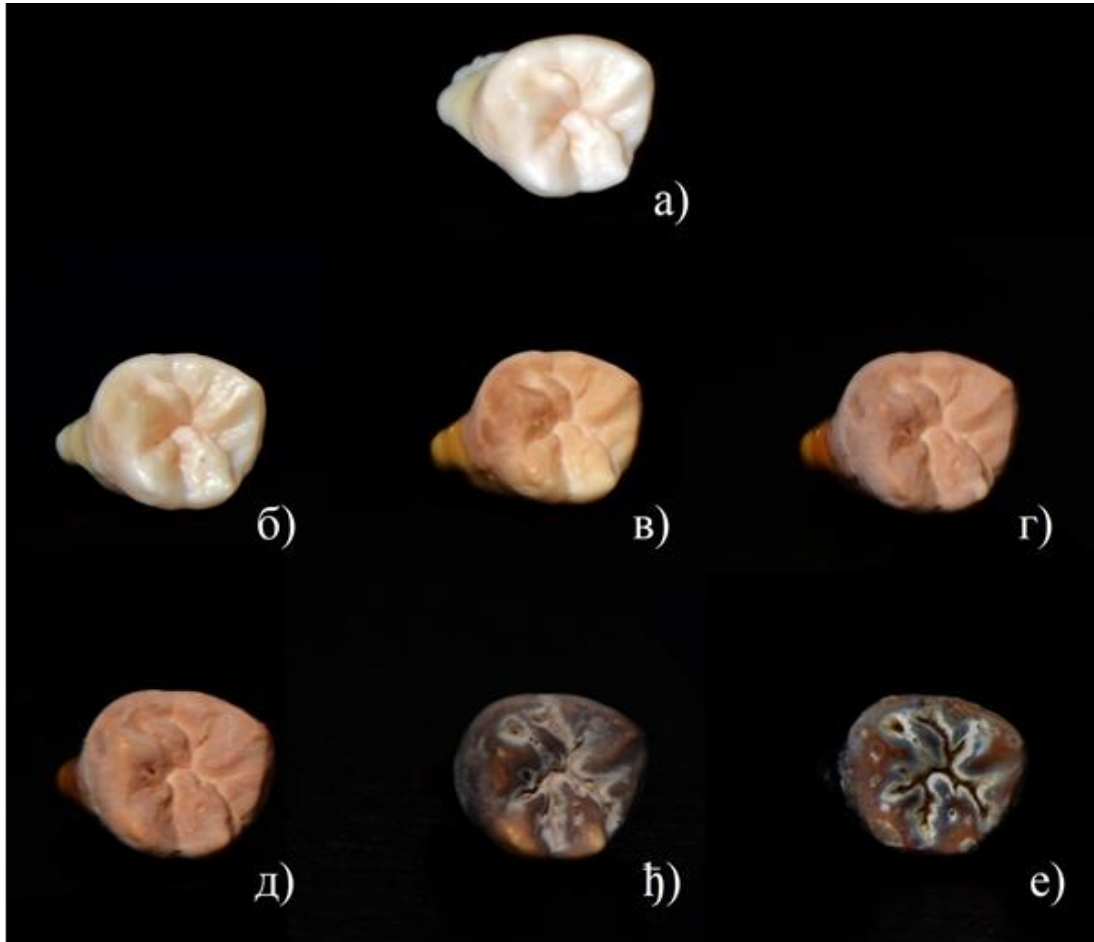
### 4.3.1 Приказ и опис макрофотографија

На Сликама 55., 56. и 57. приказани су зуби пре и након третирања испитиваним газираним напицима.



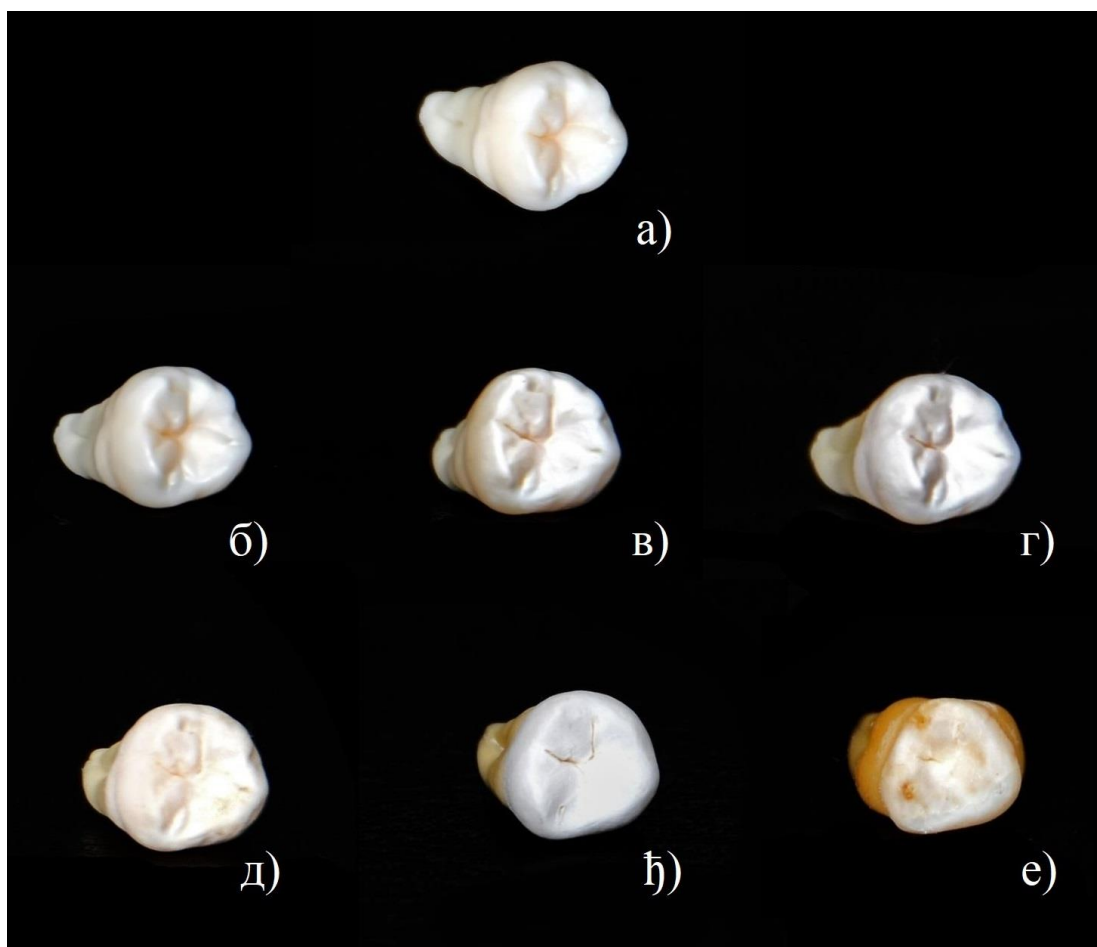
Слика 55. Макрофотографски приказ зуба: а) пре потапања, б) 5 минута, в) 60 минута, г) 12 сати, д) 24 сата, ђ) 7 дана, е) 30 дана након потапања у газирану воду „Књаз Милош“.

Зуб под обележјем а) на Слици 55. је беличаст, интактан, са јасном морфологијом његове оклузалне површине. Зуби обележени са б), в), г), д), ђ), е) не показују промену боје зуба, као ни промене у морфологији. Њихова површина је глатка, сјајна, без уочљивих дефеката.



Слика 56. Макрофотографски приказ зуба: а) пре потапања, б) 5 минута, в) 60 минута, г) 12 сати, д) 24 сата, ђ) 7 дана, е) 30 дана након потапања у Соса-Сола напитака.

Зуб под обележјем а) на Слици 56. је природне, беличасте боје, са јасним морфолошним елементима на оклузалној површини. Након 5 минута деловања круница постаје жућкасто пребојена, а након 60 минута, 12 сати и 24 сата добија баронкасту боју. Након 7 дана и 30 дана зуб постаје пребојен црно-браон нијансама, са видљивим дефектима дуж фисура на оклузалној површини.



Слика 57. Макрофотографски приказ зуба: а) пре потапања, б) 5 минута, в) 60 минута, г) 12 сати, д) 24 сата, њ) 7 дана, е) 30 дана након потапања у Schweppes Bitter Lemon.

Зуб под обележјем а) на Слици 57. је интактан, сјајне, беличасте боје. Након 5 минута деловања напитка зуб је непромењеног изгледа. После 60 минута и 12 сати зуб постаје кредасто беле боје, а након 24 сата деловања напитка површина глеђи изгледа без сјаја, поприма матиран изглед. Елементи на оклузалној површини зуба, након 7 дана деловања напитка, нису јасно изражени, а дуж централне фисуре видљиве су пукотине. Зуб под обележјем е) показује остатке глеђи на оклузалној површини, док је на осталим површинама крунице зуба она у потпуности изгубљена.

#### 4.3.2 Степен измењености макроскопског изгледа зуба појединачно за сваки временски интервал

Обрадом добијених података, везаних за степен измењености макроскопског изгледа зуба, појединачно за сваки временски интервал, добијени су подаци приказани у Табели 13.

Табела 13. Степен измењености макроскопског изгледа зуба у различитим временским интервалима.

Дужина деловања напитка		Сума квадрата	Степени слободe	Квадрат средина	F тест	Значајност
5 минута	Између група	1.900	2	0.950	9.417	0.000
	Унутар група	5.750	57	0.101		
	Укупно	7.650	59			
60 минута	Између група	10.433	2	5.217	84.957	0.000
	Унутар група	3.500	57	0.061		
	Укупно	13.933	59			
12 сати	Између група	14.233	2	7.117	37.735	0.000
	Унутар група	10.750	57	0.189		
	Укупно	24.983	59			
24 сата	Између група	27.100	2	13.550	79.215	0.000
	Унутар група	9.750	57	0.171		
	Укупно	36.850	59			

Једносмерна анализа варијансе показује да се степен измењености зуба разликује у зависности од врсте напитка, у временски интервалима од 5 минута, 60 минута, 12 сати и 24 сата. За период након 7 дана и 30 дана није било могуће израчунати разлику, јер код групе зуба који су третирани газираним водом су све вредности 0, док су код зуба који су третирани напицима Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon све вредности 2.

У Табели 14. Приказане су вредности интензитета измењености макроскопског изгледа зуба након 5 минута изложености деловању испитиваних напитака.

Табела 14. Интензитет измењености макроскопског изгледа зуба након 5 минута деловања напитака.

	Аритметичка средина	Минимална вредност	Максимална вредност	F	Значајност
Контрола	0.00	0.00	0.00	9.417	0.000
Газирана вода	0.00	0.00	0.00		
Coca-Cola	0.40	0.00	1.00		
Schweppes Bitter Lemon	0.05	0.00	1.00		

Просечна вредност степена измењености макроскопског изгледа зуба који су били изложени деловању газиране воде, у трајању од 5 минута, износи 0.00 јединица. Ова вредност је 0.05 јединица за зубе који су третирани Schweppes Bitter Lemon-ом, односно 0.40 за зубе који су третирани Coca-Cola напитком. На нивоу значајности 0.000, F износи 9.417. Post hoc тест показује да се зуби третирани газираном водом и Schweppes Bitter Lemon-ом разликују статистички значајно од групе зуба који су третирани Coca-Cola напитком.

У Табели 15. Приказане су вредности интензитета измењености макроскопског изгледа зуба након 60 минута изложености деловању испитиваних напитака.

Табела 15. Интензитет измењености макроскопског изгледа зуба након 60 минута деловања напитака.

	Аритметичка средина	Минимална вредност	Максимална вредност	F	Значајност
Контрола	0.00	0.00	0.00	84.957	0.000
Газирана вода	0.00	0.00	0.00		
Coca-Cola	0.95	0.00	1.00		
Schweppes Bitter Lemon	0.15	0.00	1.00		

Просечна вредност интензитета измењености макроскопског изгледа зуба након 60 минута деловања газиране воде износи 0.00, након излагања Coca-Cola напитку 0.95, док за зубе третиране Schweppes Bitter Lemon-ом та вредност износи 0.15. На нивоу значајности 0.00, F износи 84.957.

Post hoc тест показује да се зуби третирани газираним водом и Schweppes Bitter Lemon-ом значајно разликују у односу на зубе који су третирани Coca-Cola напитком.

У Табели 16. Приказане су вредности интензитета измењености макроскопског изгледа зуба након 12 сати изложености деловању испитиваних напитака.

*Табела 16. Интензитет измењености макроскопског изгледа зуба након 12 сати деловања напитака.*

	Аритметичка средина	Минимална вредност	Максимална вредност	F	Значајност
Контрола	0.00	0.00	0.00	37.735	0.000
Газирана вода	0.00	0.00	0.00		
Coca-Cola	1.10	1.00	2.00		
Schweppes Bitter Lemon	0.95	0.00	2.00		

Просечна вредност интензитета измењености зуба након 12 сати деловања газиране воде износи 0.00, након излагања Coca-Cola напитку та вредност је 1.10, док за зубе третиране Schweppes Bitter Lemon-ом износи 0.95. F износи 37.735, а ниво значајности је 0.00. Post hoc тест показује да се зуби третирани газираним водом значајно разликују у односу на зубе који су третирани Schweppes Bitter Lemon-ом и Coca-Cola напитком.

У Табели 17. Приказане су вредности интензитета измењености макроскопског изгледа зуба након 24 сата изложености деловању испитиваних напитака.

*Табела 17. Интензитет измењености макроскопског изгледа зуба након 24 сата деловања напитака.*

	Аритметичка средина	Минимална вредност	Максимална вредност	F	Значајност
Контрола	0.00	0.00	0.00	79.215	0.000
Газирана вода	0.00	0.00	0.00		
Coca-Cola	1.40	1.00	2.00		
Schweppes Bitter Lemon	1.45	1.00	2.00		

Просечна вредноста интензитета измењености зуба након 24 сата деловања газиране воде износи 0.00, након излагања Соса-Сола напитку та вредност је 1.40, док за зубе третиране Schweppes Bitter Lemon-ом износи 1.45. F износи 79.215, а ниво значајности је 0.00. Post hoc тест показује да се, након 24 сата деловања напитка, зуби третирани газираном водом значајно разликују у односу на зубе који су третирани Schweppes Bitter Lemon-ом и Соса-Сола напитком.

#### 4.3.3 Анализа разлике у степену измењености зуба између временских интервала, за сваки напитање посебно

Једносмерном анализом варијансе са поновљеним мерењима показано је да нема промена у макроскопском изгледу зуба који су третирани газираном водом, без обзира на временски интервал.

Када су у питању зуби који су третирани Соса-Сола напитком, постоји статистички значајна разлика између временских интервала  $F(1,19)=1262.348$ ,  $p<0.001$  (Табела 18.).

Табела 18. Степен измењености макроскопског изгледа зуба деловањем Соса-Сола напитка.

Соса-Сола	Аритметичка средина	Стандарда девијација
Пре потапања у напитање	0.0000	0.00000
После 5 минута	0.4000	0.50262
После 60 минута	0.9500	0.22361
После 12 сати	1.1000	0.30779
После 24 сата	1.4000	0.50262
После 7 дана	2.0000	0.00000
После 30 дана	2.0000	0.00000

T тест за поновљена мерења показује да се почетна вредност разликује статистички значајно од сваког каснијег мерења. Након 5 минута степен измењености се разликује статистички значајно од почетне вредности ( $t=3.559$ ,  $p<0.01$ ), након 60 минута та разлика је још већа ( $t=19.000$ ,  $p<0.01$ ), као и након 12 сати ( $t=15.983$   $p<0.01$ ) и 24 сата ( $t=12.457$   $p<0.01$ ).

Статистички значајна разлика постоји између степена измењености макроскопског изгледа зуба након 5 минута деловања напитка у односу на степен измењености након 60 минута ( $t=4.819$ ,  $p<0.01$ ), као и након 12 сати ( $t=6.658$ ,  $p<0.01$ ) и 24 сата ( $t=6.164$ ,  $p<0.01$ ). Интензитет промена које настају након 60 минута не разликује се статистички значајно од вредности након 12 сати, али се разликује статистички значајно од вредности након 24 сата ( $t=3.943$ ,  $p<0.05$ ). Између степена измењености након 12 сати и 24 сата деловања напитка постоји статистички значајна разлика ( $t=2.854$ ,  $p<0.05$ ).

Зуби који су третирани Schveppes Bitter Lemon-ом такође показују статистички значајну разлику, зависно од времена током којег су били изложени његовом деловању  $F(1,19)=667.452$ ,  $p<0.001$  (Табела 19.).

Табела 19. Степен измењености макроскопског изгледа зуба деловањем Schveppes Bitter Lemon-а.

Schveppes Bitter Lemon	Аритметичка средина	Стандарда девијација
Пре потапања у напиток	0.0000	0.00000
После 5 минута	0.0500	0.22361
После 60 минута	0.1500	0.36635
После 12 сати	0.9500	0.68633
После 24 сата	1.4500	0.51042
После 7 дана	2.0000	0.00000
После 30 дана	2.0000	0.00000

T тест за поновљена мерења показује да не постоји статистички значајна разлика између почетене вредности и вредности која показује степен измењености макроскопског изгледа зуба након 5 минута и 60 минута деловања Schveppes Bitter Lemon-а. Почетна вредност се разликује статистички значајно од вредности након 12 сати ( $t=6.190$ ,  $p<0.01$ ) и након 24 сата деловања напитка ( $t=12.704$ ,  $p<0.01$ ).

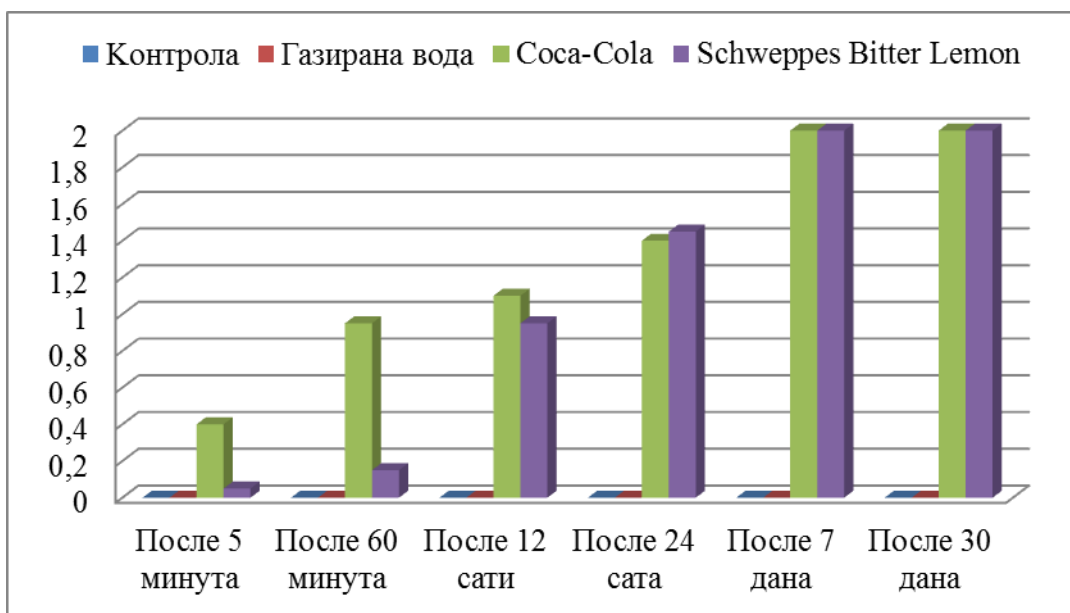
Степен измењености макроскопског изгледа зуба након 5 минута се разликује статистички значајно у односу на степен измењености након 12 сати ( $t=5.604$ ,  $p<0.01$ ) као и након 24 сата деловања напитка ( $t=10.466$ ,  $p<0.01$ ). Статистички значајна разлика постоји и између вредности након 60 минута у



односу на вредности након 12 сати ( $t=5.141$ ,  $p<0.01$ ) и 24 сата ( $t=10.177$ ,  $p<0.01$ ). Разлика је забележена између вредности након 12 сати и 24 сата деловања Schweppes Bitter Lemon-a ( $t=2.939$ ,  $p<0.01$ ).

На Графикону 11. приказан је интензитет измењености макроскопског изгледа зуба деловањем испитиваних напитака за све временске интервале.

*Графикон 11. Интензитет измењености макроскопског изгледа зуба деловањем испитиваних напитака, у свим временским интервалима.*



## 5. Дискусија

### 5.1 Дискусија методологије

Денталне ерозије су постале чест узрок губитка зубне супстанце код деце и одраслих у свим деловима света. Различити фактори ризика, међу које спада и конзумирање газираних напитака у већој количини дужи временски период, узрокују губитак тврдих зубних ткива, што се негативно одражава на оралну функцију и естетику (71). Због тога се у овом истраживању испитује утицај често конзумираних газираних напитака у нашој популацији на тврда зубна ткива, у *in-vitro* условима. Газирана вода „Књаз Милош“, Соса-Cola и Schweppes Bitter Lemon су одабрани због велике популарности, али и због различитог састава.

Доступне су бројне технике за процену губитка тврдих зубних ткива узрокованог ерозивним агенсима. Оне се могу поделити на: *in-vitro*, *in-vivo* и *in-vitro/in-vivo* технике. У *in-vitro* технике спадају: квалитативне (скенинг електронска микроскопија, поларизована светлосна микроскопија, неконтактна конфокална ласер скенинг микроскопија), квантитативне (површинска профилометрија, неконтактна ласерска профилометрија, скенинг акустична микроскопија, попречна микрорадиографија, контактна микрорадиографија помоћу X-зрака, јонска хроматографија) и семи-квантитативне методе (секундарна јонска спектроскопија, и микродензитомеријско посматрање). *In-vivo* технике представљају златни стандард кад су у питању епидемиолошка испитивања и предност им је процена ерозивних промена директно у устима пацијента. Оне обухватају квалитативне (клинички преглед и фотографисање, и коришћење индекса за описивање степена измењености) и квантитативне методе (колориметријско испитивање). *In-vitro/in-vivo* технике које се користе за испитивање ерозивних промена карактеришу се високим степеном прецизности и поузданости. У ове технике спадају семи-квантитативне (светлосла флуоресценција, оптичка кохерентна томографија) и квантитативне методе (атомска апсорпциона спектроскопија, дигитални рН метар, ултразвучна и хемијска анализа) (72).

У складу са техничким могућностима, у овом истраживању коришћене су следеће методе: примена дигиталног рН метра за мерење рН вредности испитиваних напитака; посматрање зубних ткива помоћу скенинг електронског микроскопа ради утврђивања евентуалне измењености деловањем испитиваних напитака; фотографисање екстрахованих импактираних умњака ради визуелизације измена у њиховом макроскопском изгледу.

Важан показатељ ерозивног потенцијала напитака је њихова рН вредност (72). Током овог истраживања коришћен је дигитални рН метар за квалитативно одређивање рН вредности газираних напитака. Мерна рН електрода се користи са референтном електродом повезаном са електронским мерачем који мери активност водоникових катјона производећи мале напоне и приказујући резултат на малом екрану (6). Мерење рН вредности је рађено одмах након отварања амбалаже са напитком и након 5 минута, 60 минута, 12 сати и 24 сата од потапања узорака, ради утврђивања евентуалне промене ерозивног потенцијала у функцији времена, због дејства водоникових јона у смислу деминерализације чврстих зубних ткива. Мерење рН вредности није рађено након 7 дана и 30 дана због мењања напитка у који је потопљен узорак на сваких 24 сата.

Примена скенинг електронског микроскопа је једна од првих техника коришћених за утврђивање промена на тврдим зубним ткивима у *in-vitro* условима (72). Скенинг електронски микроскоп је један од најчешће коришћених уређаја за квалитативно оцењивање микроскопских промена површине глеђи и дентина које су у вези са ерозивним процесом (73). За одређивање степена измењености површине може се користити индивидуално прилагођена скала (73). У овој студији, за процену степена разградње тврдих зубних ткива, примењена је индивидуална скала са четири вредности. Посматрањем зуба макроскопски испитује се да ли се промене које се виде помоћу скенинг електронског микроскопа одражавају на њихов макроскопски изглед у морфолошком смислу, али и у промени боје.

*In vitro* студије представљају технике које обезбеђују већу осетљивост, специфичност и тачност у мерењу губитка зуба у поређењу са *in vivo* техникама. Међутим, *in vitro* студије могу само да имитирају, али не и да обезбеде идентичне интра-оралне услове (72). Током лабораторијског испитивања, зуби се излажу

деловању напитака одређен временски период, без разматрања начина конзумирања напитка, његовог проласка кроз усну дупљу током гутања, неутрализације од стране пљувачке и њеног реминерализационог потенцијала (74). У усној дупљи, храна и напаци се тренутно мешају са пљувачком па и њихова рН вредност тренутно расте (75). Због тога је веома тешко обезбедити *in vivo* услове оралног окружења за испитивање, као и направити директну везу између добијених *in vitro* резултата са ефектима конзумирања напитака код људи (76).

Степен разградње зубних ткива деловањем газираних напитака прогресивно расте са порастом времена током којег су изложени ерозивном нападу (77-81). У вези с тим, узорци су анализирани након шест временских интервала: 5 минута, 60 минута, 12 сати, 24 сата, 7 дана и 30 дана; ради утврђивања разлика у степену измењености зубних ткива при посматрању скенинг електронских микрофотографија, али и макроскопског изгледа зуба.

С обзиром на просечну дневну потрошњу газираних напитака од 25 јединица (625 ml) и време задржавања у устима од пет секунди, укупно време излагања напитку би износило 22,750 секундни ( 380 минута или 6.3 сата) сваке године (82). У условима који постоје у усној дупљи, може се сматрати да је време излагања зуба деловању напитка приближно 20 секунди, пре него дође до испирања пљувачком; то значи да на годишњем нивоу време изложености износи 90.000 секунди (што је 1500 минута или 25 сати) (82). Временски интервали од 24 сата и 7 дана, из ове студије, могу се упоредити са једном и са седам година, уколико се газирани напаци конзумирају на предходно наведени начин. Поједини аутори сматрају да је, с обзиром на време задржавања напитка у устима (20 секунди) и на просечно конзумирање газираних напитака, временски интервал од 5 минута упоредив са дневном изложеношћу зуба овим напацима (83).

## **5.2 Дискусија степена киселости газираних напитака**

Измерене вредности за све испитиване напитке (газирану воду, Соса-Сола-у и Schweppes Bitter Lemon) показују да је најнижа рН вредност измерена пре потапања узорака, односно одмах након отварања амбалаже са напитком, а највиша рН вредност је измерена након 24 сата од потапања узорака. Мерења

након 5 минута, 60 минута, 12 сати и 24 сата показују да са порастом времена од отварања напитка расте и рН вредност. Пораст рН вредности газираних напитака, након отварања амбалаже и ослобађања угљен-диоксида, забележен је и у студији NJ Cochrane-а и сарадника (84). Током процеса карбонизације, угљен-диоксид се под притиском од 1.5 бар - колики је у амбалажи, раствара у води и ствара угљену киселину, узрокујући пад рН вредности напитка (3,84). Отварањем амбалаже и изједначавањем притиска са атмосферским, који је 1 бар, смањује се и концентрација раствореног угљен-диоксида (3).

На промену рН вредности може утицати и реакција хидроксиапатита са водониковим јонима, што доводи до смањења њихове концентрације. Водоникови јони, који потичу од киселина које дисосују у води, разграђују кристале минерала, било реагујући са карбонатним или фосфатним јонима (36). Када су кристали хидроксоапатита у контакту са водом, они се у мањој мери разграђују, ослобађајући калцијумове, фосфатне и хидроксилне јоне. Овај процес траје док вода не постане засићена јонима у односу на хидроксиапатит, када се успоставља равнотежа између растварања минерала и повратне реакције, преципитације минерала. Када су зубна ткива окружена киселим раствором, њихова растворљивост је повећана из два разлога. Први је реакција водоникових јона са хидроксилним јонима и стварање воде, по једначини :  $H^+ + (OH)^- \leftrightarrow H_2O$ . Други разлог је реакција водоникових јона са неорганским фосфатом. Он је у растворима присутан у четири различита облика,  $H_3PO_4$ ,  $H_2PO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$  и  $PO_4^{3-}$ , чија заступљеност зависи од рН вредности. Са смањењем рН вредности опада концентрација  $PO_4^{3-}$ , који једини доприноси засићењу раствора у односу на хидроксиапатит (85).

Измерене рН вредности испитиваних напитака, одмах након отварања, показују да Coca-Cola (рН-2.43) и Schweppes Bitter Lemon (рН-2.5) имају вредност знатно нижу од критичне рН вредности при којој долази до деминерализације зубних ткива, док је просечна рН измерена за газирану воду Књаз Милош 5.45. Напици који се конзумирају у САД-у, а који по саставу одговарају испитиваним напицима, имају сличне и рН вредности: Perrier газирана минерална вода (5.25), Coca-Cola Classic ( $2.37 \pm 0.03$ ) и Schweppes Tonic Water ( $2.54 \pm 0.03$ ) (86).

Кад је у питању газирана вода, разлика аритметичких средина између рН вредности пре потапања узорка и измерене рН вредности после 24 сата износи 2.21  $p < 0.01$ . Почетна рН вредност газиране воде од 5.45 потиче од угљене киселине. Након отварања амбалаже, ослобађање угљен-диоксида из газиране воде доводи до пораста рН вредности, па након 24 сата њена просечна рН вредност постаје 7.76. Слични резултати добијени су у студији аутора Sang-Кеом Kim-а и сарадника, из 2015. године, где рН вредност газиране воде, након отварања амбалаже у којој је напитање износи 5.17, а након ослобађања угљен-диоксида она расте до 7.88 (87). Потенцијал газиране минералне воде да разгради хидроксиапатит након ослобађања угљен-диоксида опада за 61% (88).

Разлика у аритметичкој средини рН вредности Соса-Сола напитка измерених одмах након отварања амбалаже и измерених након 24 сата од потапања напитања износи 0.65,  $p < 0.05$ . Киселост и ниска почетна рН вредност Соса-Сола напитка потичу од угљене и фосфорне киселине. За разлику од газиране воде, код које рН вредност порасте за 2.21 након 24 сата, због ослобађања угљен-диоксида, Соса-Сола показује мањи пораст рН вредности од 0.65 за исти временски период. Ово се може објаснити присуством додате фосфорне киселине у Соса-Сола-и, која је одговорна за ниске рН вредности и висок ерозивни потенцијал овог напитка и након 24 сата од отварања амбалаже. Пораст рН вредности Соса-Сола напитка, од 2.37 након отварања, до 2.41 након 5 сати добијен је у студији аутора Medhat A. El-Zainy-а и сарадника у Египту (31). Истраживање NJ Cochrane-а и сарадника показује да декарбонизација Соса-Сола-е доводи до пораста рН вредности за 0.47. Они сматрају да се декарбонизација постиже остављањем напитка током ноћи након отварања амбалаже (84). Због тога се ти резултати могу упоредити са измереном рН вредности након 12 сати у овој студији, која је за 0.48 већа од почетне вредности. Насупрот овим резултатима, постоје и студије у којима је забележен пад рН вредности за Сола напитке након 5 минута и 60 минута, у поређењу са измереном вредношћу одмах након отварања напитка (89). У сваком случају, тешко је компарирати добијене резултате из овог истраживања са другим студијама, јер сваки истраживач има свој протокол рада. Нема протокола за уједначено истраживање у вези са ерозивним потенцијалом газираних напитања.

За Schweppes Bitter Lemon разлика између аритметичких средина рН вредности, између првог и последњег мерења износи 0.59,  $p < 0.05$ . У студији Mettler-а S. и сарадника почетна рН вредност износи 2.7 (90). То се разликује од резултата добијених у овој студији, где рН вредност измерена пре потапања узорака износи 2.5. Овај напиток, осим угљене киселине, чија концентрација опада након отварања амбалаже у којој је напиток, садржи и додате киселине, лимунску и аскорбинску. Због њиховог присуства, ниска почетна рН вредност одржава се и након 24 сата од отварања напитка и потапања узорака у њега.

С обзиром да ерозивне промене зуба настају при вредностима рН од 2.0 до 4.0, а деминерализација зубних ткива почиње када рН вредност падне испод 5.5, уколико је спољашња средина незасићена минералима, напаци се могу поделити у три групе: са високим ерозивним потенцијалом ( $pH < 3.0$ ), средњим ерозивним потенцијалом ( $pH: 3.0-3.99$ ), минималним ерозивним потенцијалом  $pH \geq 4.0$  (86). Према овој подели, Coca-Cola и Schweppes Bitter Lemon спадају у напитке са високим ерозивним потенцијалом, док газирана вода има минимални ерозивни потенцијал.

Међутим, ерозивни потенцијал киселих намирница не зависи само од њихове рН вредности, на њега значајно утиче и садржај минерала, пуферски капацитет и хелаторске особине хране и напитака (64,73,77,91). Осим тога, на ерозивни потенцијал напитака утиче и његова вискозност (92). Формула и састав комерцијалних Cola напитака је строго чувана индустријска тајна, са оскудним подацима о киселости на њиховим потрошачким паковањима. Познавајући критичну рН вредност за разградњу хидроксиапатита, као и то да кисели напаци захтевају појачано лучење алкалне пљувачке за њихову неутрализацију, важно је познавати рН вредност Cola и других газираних напитака, јачину њихових киселина, као и пуферски капацитет и колико је потребно алкалних супстанци за промену њихове рН вредности (24). У *in vitro* условима, нижа рН вредност повезана је са већим губитком глеђи (77). Пуферски капацитет и киселост напитка одређена титрацијом имају већи значај за *in vivo* студије. Rinki Hans и сарадници сматрају да је након конзумирања Pepsi напитка потребно 13 минута да би се рН вредност пљувачке вратила на почетну вредност, пре конзумирања (92). Ерозивни потенцијал напитка у току конзумирања, док је у усној дупљи, зависи од његове

pH вредности; а колико дуго ће pH вредност у усној дупљи остати на ниском нивоу, након гутања, зависи од киселости напитка одређене титрацијом (93).

### 5.3 Дискусија микроскопског испитивања

Студије *in vivo* показују да је утицај освежавајућих напитака на здравље зуба у корелацији са временом излагања киселим утицајима, које зависи од учесталости конзумирања и навика у пијењу (41). Прогресивна разградња зубних ткива и ултраструктуре глеђи са порастом времена излагања газираним напитцима показана је и у *in vitro* студијама, укључујући и оне које су засноване на СЕМ анализи (23,94).

СЕМ микрофотографије контролних узорака показују структуру здравих зубних ткива, са очуваним свим структурним јединицама. Спољашња површина глеђи показује аморфан и гладак слој апризматичне глеђи. Површинска структура глеђи, посматране помоћу електронског микроскопа, мења се током година. Код неизниклих зуба на површини глеђи је присутан безструктурни слој који брзо нестаје након ницања зуба услед абразије, ерозије и атриције. На уздужном пресеку виде се јасно снопови глеђних призми, уз оштре и јасне линије лома. Термин „глеђне призме“ није адекватан јер структурни елементи глеђи немају правилан геометријски облик и нису хексагоналне (95). Према новој терминологији, основна организација структурних елемената глеђи сисара базира се на шипкама или штаповима, приближно цилиндричног облика, између којих се налази интерцилиндрични простор. Глеђне шипке се састоје од кристала чија је уздужна осовина, у највећем броју, паралелна са уздужном осовином глеђне шипке. Простор између њих састоји се од кристала који имају другачију оријентацију у односу на кристале који граде глеђне шипке. Разлика у оријентацији је изражена у приближно три четвртине обима шипке. У овој регији границу између шипки и простора око њих представља уски простор који садржи органске материје и који представља омотач глеђних шипки (95).

За такву структуру глеђи одговорни су амелобласти. То су ћелије порекла унутрашњег глеђног органа које на почетку амелогенезе луче активно глеђне протеине, који се таложу и учествују у стварању делимично минерализованог иницијаног слоја глеђи, који не садржи глеђне шипке. У њиховом формирању и



организацији учествују цитоплазматски продужеци амелобласта, Томесови наставци. Проксимални делови наставака луче матрикс који окружује дисталне делове наставака и који ће касније представљати простор око глеђних шипки. Лучењем протеина из дисталних делова наставака ствара се матрикс који ће учествовати у стварању глеђних штапова. Формирању глеђних штапова увек претходи стварање околног матрикса, јер простор где ће се формирати глеђни штапови мора прво бити дефинисан. Приликом стварања спољашњих слојева глеђи, амелобласти се мењају, постају краћи и губе дисталне делове Томесових наставака, који су и одговорни за стварање глеђних штапова. Због тога је завршни слој глеђи, баш као и иницијални слој, апризматичан.

Током амелогенезе, стварања и раста кристала важну улогу имају протеини глеђи. Сматра се да амелогенини стварају супрамолекуларне скупове, тз. наносфере, који окружују кристале дуж њихове лонгитудиналне осовине и видљиви су на пресеку глеђи помоћу електронског микроскопа, као гранулирани матрикс између кристала. На основу биохемијских карактеристика и распореда протеина глеђи, неамелогенински протеини (амелобластин и енамелин) имају улогу усмеравања током стварања глеђних кристала. Амелогенин регулише раст кристала по ширини и спречава њихово међусобно спајање, и мора бити уклоњен како би се омогућило накнадни раст кристала током сазревања (95).

Уздужни пресек здравог дентина показује такође оштре и јасне линије лома, и дентинске тубуле ограничене перитубуларним и интертубуларним дентином.

Дентински тубули, у којима леже продужеци одонтобласта, пружају се целом дебљином дентина. Структура дентинских тубула зависи од правца пружања одонтобласта током дентиногенезе, који се померају ка унутрашњој пулпи. Тубули су окружени слојем хиперминерализованог перитубуларног дентина. Механизам његовог стварања још увек није познат. Овај хиперминерализовани слој је веома уочљив када се пресеци дентина посматрају помоћу светлосног или скенинг електронског микроскопа. Око перитубуларног дентина налази се интертубуларни дентин који се састоји од густо испреплетене мреже влакана колагена тип I, у којој се налазе депозити кристала

хидроскиапатита. Влакна су распоређена насумично у равни која се пружа приближно под правим углом у односу на дентинске тубуле (95).

За формирање дентина одговорни су одонтобласти. Упоредо са променама у унутрашњем глеђном епителу, дешавају се и промене у суседној денталној папили. Диференцијацијом ектомезенхималних ћелија настају прво преодонтобласти, а затим одонтобласти. Након диференцијације одонтобласта следи формирање органског матрикса. Први знаци процеса дентиногенезе су колагена или Korff-ова влакна, која се састоје од колагена тип III, који је нејпре повезан са фибронектином. Одонтобласти настављају да расту и производе влакна колагена тип I која су оријентисана паралелно са будућом глеђнодентинском границом. Тако настаје слој предентина. Затим одонтобласти развијају ћелијске наставке, Томесова влакна, који остају у формираном дентинском матриксу, док се одонтобласти померају ка пулпи. Минерализација почиње стварањем појединачних кристала који се међусобно спајају стварајући континуирани слој минерализованом матрикса (95).

Глеђ и дентин експерименталних узорака показују промене различитог интензитета, у зависности од врсте напитка и временског интервала током ког су узорци били изложени њиховом деловању, што је последица деминерализације ткива, како на површини, тако и у дубљим слојевима. Након понављаног или дуготрајног деловања киселина, глеђ постаје деминерализована, и губи површинску структуру (43). Киселине се обично налазе у стању равнотеже, где су у раствору присутни и дисосовани и недисосовани облици молекула киселина.  $H^+$  јони нападају површину глеђи, започињу ерозивни процес и формирају мале поре на површини (96). То доводи до деминерализације слоја глеђи испод површине, што доводи до њеног омекшавања (97). Разградњом минерала троше се  $H^+$  јони, доводећи до пораста рН вредности. Унутар пора, где се дешава разградња, рН вредност брзо расте због размере између велике површине минерала и малог волумена течности унутра пора. Због тога ће се брзо зауставити разградња уколико раствор не може да се одупре промени рН вредности, односно има мали пуферски капацитет (43).

Различити типови деминерализације глеђи која се уочава под скенинг електронским микроскопом условљени су различитом оријентацијом кристала.

Кристали се брже растварају на крајевима у односу на њихове стране, због тога су кристали који се пружају перпендикуларно у односу на површину глеђи најположнији разградњи. Типови деминерализације I и II могу се објаснити различитом инклинацијом кристала у пределу глеђних шипки и кристала у простору око њих у односу на површину глеђи (95). Тип I подразумева разградњу централног дела глеђних призми, док тип II представља растварање њиховог периферног док централни део глеђних призми проминира. Деминерализација III типа одликује се површинама неправилног изгледа, где глеђне призме нису уочљиве (48). На СЕМ микрофотографијама приказаним у овој студији могу се видети сви типови деминерализације, мада доминирају узорци са деминерализацијом тип I. На узорцима који су третирани испитиваним напитцима 24 сата виде се типови I и II, што потврђује различиту инклинацију кристала на површинама које су посматране. Поља са израженим III типом деминерализације местимично се могу видети на већини узорака.

Деловање Соса-Сола напитка на површину зуба, у трајању од 10 минута, изазива значајне промене: пукотине су јасно видљиве употребом скенинг електронског микроскопа и цела површина има храпав изглед, указујући на ерозивну разградњу (98). Прогресивна разградња глеђи са порастом времена излагања Сола напицима доказана је у студији Carolina-е Paes Torres и сарадника (23). Њихови резултати показују да након 7 дана понављања циклуса потапања узорака у напиток (3 пута по 5 минута сваки дан), деминерализациони процес захвата целу површину глеђи, али је нешто израженији у интерпризматичној регији. Након 60 дана понављања циклуса, површина глеђи показује губитак структуре, призме су тешко препознатљиве; за разлику од узорака потопљених у вештачку пљувачку, где је глеђ покривена аморфним апризматичним слојем (23).

За разлику од глеђи, код које ерозивни процес узрокује губитак ткива, приликом ерозије дентина на контактної површини ствара се перзистентан деминерализован колагени матрикс (99). Уколико се настави деловање киселине, овај слој постаје дебљи, што значи да дифузија киселина ка унутрашњости и дифузија продуката минерала ка спољашњости, између површине и деминерализованог поља је спорија, па је и цео процес деминерализације у даљем току спорији (100). СЕМ студије обезбеђују квалитативну анализу

деминерализационог процеса површине дентина кроз посматрање специфичних морфолошких и структурних особина који карактеришу сам дентин, као што су отвори и димензије тубула, присуство или одсуство перитубуларног дентина, промене органске мреже колагена (101,102). Површина дентина који је третиран Соса-Сола напитком показује тубуле већих димензија у односу на нетретиране узорке, због деминерализације перитубуларног дентина (37,38). Када је дентин изложен деловању раствора 0.034 mekV/g фосфорне киселине (pH 2.6), или 0.038 mekV/g лимунске киселине (pH 2.8), у временским интервалима од 30 секунди до 60 минута, прво се растварају минерали са границе перитубуларни/интертубуларни дентин. Након тога, долази до разградње перитубуларног дентина и ширења дентинских каналића, а преостала интертубуларна супстанца је порозна и неравна (103).

Овакве промене у структури зубних ткива, настале деловањем испитиваних напитака, последица су њиховог ерозивног потенцијала. Сви газирани напаци садрже угљену киселину која настаје растварањем угљен-диоксида (41). Ерозивни потенцијал газираних воде, коришћене у овом експерименту је мали јер осим угљене киселине, не садржи додатне друге киселине. Газирани минерална вода има већи ерозивни потенцијал у поређењу са обичном минералном водом, али је он и даље веома мали; за разлику од кола напитака чији је ерозивни потенцијал и до стотину пута већи од газираних воде (88). Према томе, карбонизација напитака не игра важну улогу у одређивању њиховог ерозивног потенцијала, на њега много већи утицај имају друге додатне киселине (88). Добијени резултати који показују мањи степен деминерализације је на ткивима која су била изложени деловању газираних минералних воде у поређењу са другим газираним пићима у сагласности су са резултатима Ј Рагу-а и сарадника и Вану Динџер-а и сарадника (88,104). Чак и након 7 и 30 дана изложености газираној води, морфолошке јединице тврдих зубних ткива и даље су видљиве, што говори у прилог ниском ерозивном потенцијалу газираних воде.

Киселост и ерозивни потенцијал преостала два тестирана напитка условљени су додатним киселинама, као што је фосфорна киселина која је присутна у Соса-Сола напитку и лимунска и аскорбинска киселина пристне у Schweppes Bitter Lemon-у. Теоријски посматрано, обе киселине, и фосфорна и

лимонска имају велики ерозивни потенцијал јер приликом потпуне дисоцијације једног молекула киселине долази до ослобађања три водоникова јона (105). Тешко је одредити да ли врста киселине утиче на степен разградње зубних ткива, јер је немогуће направити поређење између два различита газирана напитка која садрже различит тип киселина и имају различите рН вредности (89). Неке *in vitro* студије показују да лимонска киселина има већи ерозивни потенцијал од фосфорне (106). Насупрот томе, има и оних у којима је губитак глеђи узрокован напитком који садржи лимонску киселину и има вишу рН вредност мањи у поређењу са кола напитком, који садржи фосфорну киселину и има нижу рН вредност (83). Лимонска киселина има двоструко деловање и снажно дејство на зубну површину. То значи да лимонска киселина при нижим рН вредностима, ослобађа водоникове јоне који директно нападају површину минерала, док при већим рН вредностима цитратни јони доводе до ослобађања калцијума са површине кристала. Фосфорна киселина обезбеђује јоне водоника при нижим рН вредностима и ослобађа калцијум при већим рН вредностима. Цитрати међутим, стварају комплексе са калцијумом због своје релативне масе и тродимензионалног облика молекула (73). Важан фактор у ерозивном деловању напитака представља рН вредност, али хелација има велики утицај на ерозију зубних ткива при вишим рН вредностима (106).

У овом истраживању, узорци који су третирани Schweppes Bitter Lemon-ом показују незнатно већи степен измењености морфологије у односу на узорке третиране Соса-Сола, у свим временски интервалима. Ова разлика је статистички значајна само за узорке који су били изложени њиховом деловању 60 минута. У осталим временским интервалима разлика између група узорака третираним Соса-Сола и Schweppes Bitter Lemon напицима није статистички значајна, већ они формирају једну групу која се статистички значајно разликује од контролне групе и групе узорака третираних газираним водом. Са повећањем времена изложености ефекти оба напитка постају једнаког интензитета, односно доводе до стварања потпуно деминерализованог слоја и губитка структурних јединица. То говори у прилог њиховом великом ерозивном потенцијалу.

Квантитативне *in vitro* студије показују директну везу између дужине деловања газираних напитака и губитка тврдих зубних ткива (77-80). За разлику

од квантитативних студија, у овој студији узорци су посматрани помоћу скенинг електронског микроскопа, који обезбеђује квалитативну анализу, а затим измењеност ткива вреднована помоћу скале од 0 до 3, која не обезбеђује велику прецизност. То је био једини расположив начин за вредновање насталих промена на узорцима и поређење степена измењености морфологије глеђи и дентина.

Када се анализира ерозивни потенцијал газираних воде посебно, у односу на време деловања, мала разлика постоји између узорака који су били изложени деловању газираних воде 5 минута, 60 минута и 12 сати. То се може довести у везу са смањењем ерозивног потенцијала газираних воде након отварања напитка, јер већ након 5 минута од отварања рН вредност расте преко 5.5. Чак и након 30 дана деловања овог напитка на зубна ткива, морфолошки елементи су и даље препознатљиви, што значи да карбонизација напитака није повезана са њиховим високим ерозивним потенцијалом.

Ткива која су била изложена деловању Соса-Солa напитка показују исти интензитет измењености након 5 минута и 60 минута, који се огледа у измењеним, али препознатљивим морфолошким јединицама и заобљеним линијама лома. Узорци који су третирани овим напитком 12 сати и 24 сата такође имају исти степен измењености који се огледа у губитку јасне границе између морфолошких елемената. Овакве једнаке вредности након 5 минута и 60 минута, затим једнаке вредности након 12 сати и 24 сата последица су мале прецизности примењене скале за мерење степена измењености. Након 7 дана и 30 дана деловања напитка промене су најинтензивније и огледају се у губитку границе између структурних јединица.

Код узорака који се били изложени деловању Schwepes Bitter Lemon-а забележено је повећање степена измењености зубних ткива са порастом времена изложености. Након 7 дана и 30 дана деловања напитка регистроване вредности указују на потпуни губитак структуре и ткива постају непрепознатљива. На узорцима који су били изложени деловању овог напитка 30 дана било је тешко пронаћи адекватну површину глеђи са посматрање и анализу, јер је она у великој мери изгубљена, остала су местимично присутна „острвца“ глеђи.

## 5.4 Дискусија макроскопског испитивања

Фотографије зуба који су били изложени деловању газиране воде показују да нема промена у боји и морфологији зуба чак ни након 30 дана деловања овог напитка на зубе. То се може објаснити малим ерозивним потенцијалом газиране воде и одсуством пигмената. Анализа макроскопских фотографија зуба који су третирани Соса-Сол-ом и Schweppes Bitter Lemonом показује да дуготрајно деловање ових напитака узрокује промене у боји зуба и појаву дефеката на њиховој површини. Деловањем Соса-Сол-е зуби постају браонкасто пребојени, јер овај напиток садржи карамел боју, док деловањем Schweppes Bitter Lemon-а глеђ добија кредасто белу боју, због присуства лимунске киселине. Соса-Сол спада у групу „обојених“ напитака која изазивају спољашњу пребојност зуба, док је лимунска киселина, која је присутна у Schweppes Bitter Lemon-у, саставни део појединих средстава за избељивање зуба (107,108).

У циљу добијања нумеричких података које је могуће даље статистички обрађивати, за оцену измењености макроскопског изгледа зуба, примењена је скала према којој је највећи степен измењености дефинисан променом боје и структуре. Након 5 минута и 60 минута деловања напитака, пребојеност зуба третираних Schweppes Bitter Lemon-ом је незнатна, а дефекти нису видљиви, па се ови зуби разликују статистички значајно од зуба третираних Соса-Сол напитком. То се може објаснити присуством карамел боје, која у комбинацији са киселинама присутним у Соса-Сол напитку, интензивно боји површину зуба и након кратког временског интервала. Због интензивније кредасто беле пребојености глеђи зуба третираних Schweppes Bitter Lemon-ом која настаје након 12 сати и 24 сата деловања напитака, губи се разлика кад је у питању степен измењености макроскопског изгледа између зуба који су третирани Соса-Сол напитком и Schweppes Bitter Lemon-ом.

Комбинација различитих киселина и пигмената у газираним пићима утичу на појаву екстерне промене боје зуба, тј дисколорације. Shereen S.Azer и сарадници су показали да степен и врста дисколорације зуба не зависе само од присутних пигмената, већ и од рН вредности конзумираних намирница. У *in vitro* условима, кисели раствори са пигментима изазивају значајну пребојеност зубних ткива, за разлику од неутралних и алкалних раствора са пигментима који не

узизивају изражену пребојеност. Према томе, супстанце са ниском рН вредношћу не само да нарушавају интегритет глеђи, већ повећавају интензитет пребојености коју изазивају пигменти из хране и пића (109). Деловањем киселих освежавајућих напитака површина глеђи постаје храпава и мењају се њене механичке и физичке особине (110). Деминерализационе промене чине глеђ подложнијом пребојавању, због пенетрације боја испод површинског слоја (108). Резултати студије Muhammet Karadas-a и сарадника показују да Соса-Солa, у поређењу са другим напитцима који изазивају пребојеност зуба (црвено вино, чај и кафа) има најнижу рН вредност и највише оштећује површину глеђи, па изазива и најинтензивнију пребојеност након месец дана деловања (111). То је у сагласности са резултатима ове студије где након седам дана и тридесет дана делова Соса-Солa напитка зуби постају интензивно тамно-бран пребојени.

У овој студији није мерен интензитет пребојености зуба, већ је само регистровано да ли она постоји или не. Студија Kai Chiu Chan-a и осталих, која испитује интензитет дисколорације, показује да што је више времена зубно ткиво изложено деловању Солa напитака, то је израженија пребојеност (112). Они су показали и да је пребојеност цемента значајно израженија него код дентина, а код дентина је израженија у односу на глеђ (112). *In vivo* студије показују да 41% испитаника који конзумирају газиране напитке више од 250 милилитара седмично имају изражену пребојеност предњих зуба (91).

Након 7 дана и 30 дана деловања Соса-Солa-e и Schweppes Bitter Lemon-a на зубе долази до нарушавања површинског интегритета зуба. Појава дефеката на импактираним умњацима изазвана је деминерализацијом и нестанком глеђног ткива. Губитак глеђи посебно је изражен код зуба који су били изложени деловању Schweppes Bitter Lemon-a, код којих се глеђ „топи“ идући од глеђно-цементне границе према оклузалној површини. То се може објаснити цињеницом да је глеђ најтања у пределу врата зуба, где прво и нестаје. Губитком глеђи долази до експонирања дентина. Иако деминерализација дентина почиње при већим рН вредностима у односу на глеђ, већи губитак ткива је присутан код глеђи. Ово се може објаснити чињеницом да дентин има више органске материје, пре свега колагена у односу на глеђ. Ова мрежа колагена се не разлаже под утицајем



киселине и има заштитни утицај спречавајући даљу разградњу минерала са површине дентина након одређеног времена (113).

Пораст преваленце денталних ерозија указује на потребу спровођења здравствене едукације и примене профилактичких мера (114). С обзиром на то да више узрока денталних ерозија може бити присутно истовремено или се наизменично појављују, идентификација коначног етиолошког фактора је скоро немогућа (41). За разлику од зубног каријеса, ерозивне промене обично захватају већи број зуба. То чини рехабилитацију пацијента много комплекснијом и скупљом и захтева мултидисциплинарни приступ (48). Многи клиничари не препознају ерозивне промене у раном стадијуму, већ тек када лезија постане очигледна, па чак узрокује и експонирање дентина. Само половина стоматолога и студента стоматологије у Јемену је показала адекватно познавање денталних ерозија у раном стадијуму, узроке и могуће превентивне мере. Киселе напитке као могуће узрочнике ерозивних промена навело је 41% стоматолога клиничара и 51.9% студената стоматологије (115). Појава денталних ерозија у раном добу може компромитовати функцију и естетику дентиције током целог живота. Због тога је веома важна рана клиничка дијагноза праћена адекватним ресторативним поступцима (116).

Испитивање ерозивног потенцијала популарних напитака је важно због увођења клиничких водича који се тичу навика у конзумирању напитака и развој потенцијално безбеднијих напитака, посебно за дечији узраст (23). Ова студија не обезбеђује апсолутне податке о губитку тврдих зубних ткива узрокованим деловањем газираних напитака у усној дупљи, јер нису симулирани природни услови који у њој постоје. Резултати који су приказани у овој студији показују да до оштећења долази на микроскопском нивоу, у *in vitro* условима, и потврђују да дуготрајно излагање газираним напицима узрокује ерозивне промене које могу бити повезане са озбиљним клиничким проблемима. С обзиром на чињеницу да се продаја напитака не може ограничити, важно је да се препозна прекомерно конзумирање газираних напитака као етиолошки фактор за развој денталних ерозија. Савети у вези са навикама у исхрани и превентивне мере су од великог значаја за пацијенте код којих постоји ризик од настанка денталних ерозија.

Резултат профилактичких мера попут смањења или елиминације киселих напитака из исхране (поготово код деце и адолесцената), у великој мери зависи од воље пацијента, па је важно размотрити смањење ерозивног потенцијала киселих напитака модификацијом њиховог састава. Додавање калцијума се показало као ефикасан метод, па би се то могло разматрати као један од приступа за смањење учесталости денталних ерозија (61,117).

Како би се спречило даље ширење денталних ерозија потребан је двоструки приступ: индивидуални у виду саветовања пацијента и општи који је усмерен на целу популацију. Подједнако је важно ефикасна комуникација како са самим пацијентом, тако и са породицом и целом популацијом, јер успех превентивних мера строго зависи од њиховог разумевања стања и спремности за сарадњу. Отпорност зубних ткива на деловање ерозивних агенаса је индивидуална, због тога не постоји општа препорука колико киселих напитака појединац може попити без последица по орално здравље (117). Уколико су дијагностиковане ерозије спољашњег порекла, редукција уноса киселих супстанци ће спречити даље напредовање промена, што у неким случајевима захтева промену начина живота, не само појединца већ и читаве породице. Различите кампање промоције здравог начина живота би требало више пажње да посвете унапређењу оралног здравља и у оквиру тога и превенцији денталних ерозија.

## **6. Закључак**

### **6.1 Закључак мерења рН вредности испитиваних напитака**

1. Степен киселости газиране воде „Књаз Милош“, исказана рН вредношћу напитка, опада у функцији времена и показује значајну разлику између свих мерених интервала.
2. Степен киселости Соса-Сола напитка, исказана рН вредношћу, опада у функцији времена и показује значајну разлику између свих мерених интервала.
3. Степен киселости Schweppes Bitter Lemon-a, исказана рН вредношћу напитка, опада у функцији времена и показује значајну разлику између свих мерених интервала.

### **6.2 Закључци микроскопског испитивања**

#### **6.2.1 Закључци квалитативне анализе скенинг електронских микрофотографија**

Скенинг електронске микрофотографије зубних узорака потопљених у газирану воду „Књаз Милош“ показују да:

1. Апризматична глеђ губи своју дебљину, долази до појаве шољастих удубљења па површина поприма саћасту структуру, која се у функцији времена губи стапањем присутних елемената, да би након тридесет дана цела површина глеђи постала порозна.
2. Уздужни пресек глеђи показује присуство глеђних призми и интерпризматичне супстанце са незнатно заобљеним линијама лома након пет минута; степен заобљености се у функцији времена повећава, као што се истовремено губи граница између глеђних призми и интерпризматичне супстанце. Стакласт изглед уздужног пресека се губи и површина постаје порозна након тридесет дана деловања напитка.
3. Промене на перитубуларном и интертубуларном дентину постају уочљиве већ након пет минута. У функцији времена долази до губитка перитубуларног дентина што утиче на повећање дијаметра дентинских тубула. Интертубуларни дентин се такође истањује. Након тридесет дана

губи се анатоомо-морфологија здравог дентина. Посматрана површина делује глатко и заобљено.

Скенинг електронксе микрофотографије зубних узорака потопљених у Соса-Сола напитака показују да:

1. Након пет минута деловања Соса-Сола напитка апризматична глеђ губи своју дебљину. На појединим местима виде се шољаста удубљења која посматраној површини дају сањаст изглед, што је последица централног типа деминерализације. У функцији времена дефекти на површини глеђи постају израженији, цела површина је порозна, уз потпуни губитак морфологије након тридесет дана деловања напитка.
2. На узужном пресеку глеђи, након пет минута изложености деловању Соса-Сола напитка, долази до стапања глеђних призми са интерпризматичном супстанцом, уз заобљеност линија лома. Границе између морфолошких јединица се потпуно губе након 7 дана и посматрана површина не даје утисак уздужног пресека глеђи. Хомогеност и порозност су основне карактеристике посматраног узужног пресека након седам и тридесет дана деловања напитка.
3. На уздужном пресеку дентина након пет минута деловања Соса-Сола напитка уочавају се структурни елементи, уз заобљеност линија лома и повећан дијаметар дентинских тубула. У функцији времена препознатљивост структуре је све слабије изражена. Долази до губитка перитубуларног дентина, интертубуларни дентин постаје истањен, линије лома су заобљене, дентински тубули попримају изглед жлебова, а улази у дентинске каналикуле постају затопљени.

Скенинг електронксе микрофотографије зубних узорака потопљених у Schверрес Bitter Lemon показују да:

1. Након петоминутног излагања површина глеђи није глатка, на месту шољастих удубљења назире се позиције глава глеђних призми, а површина постаје порозна. У функцији времена губи се апризматична глеђ и површина поприма пенасту структуру. На овим узорцима се уочава периферни тип деминерализације. Пенеста структура постаје још

порознија те поприма игличаст изглед, уз потпуни губитак морфологије након тридесет дана.

2. На уздужном пресеку глеђи узорака који су третирани Schweppes Bitter Lemon-ом након пет минута линије лома постају заобљене. Структура је препознатљива и након шездесет минута, да би се у функцији времена потпуно изгубила и попримила изглед порозне површине.
3. Уздужни пресек дентина након пет минута показује интензиван губитак перитубуларног дентина, заобљеност линија лома, истањеност интертубуларног дентина који делује као преграда између изразито проширених дентинских тубула. Површина постаје порозна и валовита. Након двадесте и четири сата порозност се губи и површина постаје сјајна, изгланцана али рељефна.

#### **6.2.2 Закључци квантитативне анализе скенинг електронских микрофотографија**

1. Степен измењености глеђи и дентина након пет минута излагања испитиваним напицима показује значајну разлику између контролне групе и свих осталих група, али и између газираних воде и свих осталих група.
2. Степен измењености глеђи и дентина након пет минута изложености Coca-Cola-и и Schweppes Bitter Lemon-у се међусобно не разликује и узорци се могу сврстати у једну групу која се значајно разликује од осталих група узорака.
3. Интензитет измењености глеђи и дентина након шездесет минута излагања испитиваним напицима показује да се све групе узорака међусобно значајно разликују.
4. Интензитет измењености глеђи и дентина након дванаест сати изложености испитиваним напицима показује да нема значајне разлике између узорака потапаних у Coca-Cola-у и Schweppes Bitter Lemon. Између осталих група постоји значајна разлика.
5. Интензитет измењености глеђи и дентина након двадесет четири сата, седам дана и тридесет дана изложености испитиваним напицима показује значајну разлику између контролне групе и свих осталих група узорака, као и између газираних воде и осталих група узорака.

6. Интензитет измењености глеђи и дентина након двадесет четири сата, седам дана и тридесет дана излагања испитиваним напацима не показује значајну разлику између узорака који су били потопљени у Coca-Cola-у и Schweppes Bitter Lemon.
7. Вредновањем степена измењености зубних ткива узорака који су третирани газираним водом „Књаз Милош“, на скенинг електронској микрофотографијама, може се закључити да постоји разлика у степену измењености у зависности од дужине деловања напитка. Статистички значајна разлика постоји у степену измењености ткива након пет и шездесет минута и након седам и тридесет дана.
8. Интензитет измењености ткива узорака који су третирани Coca-Cola напитком пет и шездесет минута се значајно разликује од интензитета измењености ткива у осталим временским интервалима.
9. Степен измењености глеђи и дентина узорака који су третирани Schweppes Bitter Lemon-ом показују да је дошло до формирања група у односу на временске интервале. Постоји значајна разлика у степену измењености зубних ткива између узорака третираних овим напитком пет минута у односу на узорке након дванаест сати, двадесет четири сата, седам дана и тридесет дана. Не постоји разлика између узорака након пет минута и шездесет минута, као што не постоји статистички значајна разлика у степену измењености између узорака након дванаест сати, двадесет четири сата, седам дана и тридесет дана.

### **6.3 Закључци макроскопског испитивања**

#### **6.3.1 Закључци квалитативне анализе макрофотографија**

1. Зуби потопљени у газираним водом „Књаз Милош“ не показују макроскопске промене ни боје ни структуре у функцији времена, односно у свим посматраним временским интервалима.
2. Зуби потопљени у Coca-Cola-у показују макроскопски видљиве промене и боје и морфологије крунице зуба. Промене се интензивирају у функцији времена.

3. Зуби третирани Соса-Сола напитком након пет минута постају жућкасто пребојени, да би након шездесет минута постали светло браон боје. У функцији браон боја постаје све тамнија.
4. Морфологија крунице зуба потопљеног у Соса-Сола напиток се мења макроскопски јер долази до продубљивања јамица и фисура, а рељефност нагиба кврџица се губи, док се врхови кврџица заобљавају и спуштају.
5. Зуб потопљен у Schweppes Bitter Lemon макроскопски показује промену боје и морфологије крунице зуба. Промене се интензивирају у функцији времена.
6. Глеђ зуба потопљеног у Schweppes Bitter Lemon постаје кредасто бела након шездесет минута излагања деловању овог напитка. У функцији времена крунични део постаје жућкаст због губитка глеђи и експонирања дентина.

### **6.3.2 Закључци квантитативне анализе макрофотграфија**

1. Степен макроскопске измењености зуба третираних газираним водом „Књаз Милош“ након дванаест сати, двадесет четири сата, седам дана и тридесет дана се значајно разликује од зуба третираних Соса-Сола напитком и Schweppes Bitter Lemon-ом.
2. Степен измењености зуба третираних газираним водом „Књаз Милош“ и Schweppes Bitter Lemon-ом након пет и шездесет минута значајно се разликују од групе зуба третираних Соса-Сола напитком.
3. Зуби третирани Соса-Сола напитком показују значајну макроскопску разлику између испитиваних временских интервала, изузев између шездесет минута и дванаест сати.
4. Зуби потпољени у Schweppes Bitter Lemon не показују значајну разлику у макроскопској измењености зуба између почетне вредности и након пет и шездесет минута. Степен измењености макроскопског изгледа глеђи након дванаест сати, двадесет четири сата, седам дана и тридесет дана се значајно разликује у односу на почетну вредност.

## 7. Литература

1. Annapurna K, Adil A, Prabu D, Sunayana M, Preethi A. Dental hard tissue erosion rates and soft drinks – A gender based analysis in Chennai city, India. *The Saudi Journal for Dental Research*. 2014;5:21–7.
2. Steen D, Ashurst PR, editors. *Carbonated soft drinks: formulation and manufacture*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2006.
3. Bajduk D, Gutman I, Lončarević M. Hemijski sastav kola napitaka. *Hem Preg*. 2005;46(3): 53-7.
4. Asmyhr Ø, Grytten J, Holst D. Occurrence of risk factors for dental erosion in the population of young adults in Norway. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2012; 40: 425–31.
5. Sardana V, Balappanavar AY, Patil GB, Kulkarni N, Sagari SG, Gupta KD. Impact of a modified carbonated beverage on human dental plaque and salivary pH: An in vivo study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2012 Jan-Mar;30(1):7-12.
6. West N.X, Hughes J.A, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil*. 2000 Oct;27(10):875-80.
7. Tahmasebi J.F, Duggal M, Malik-Kotru G. Soft drinks and dental health: A review of the current literature. *Jour of Dent*. 2006 Jan;34(1): 2–11.
8. Owens BM, Kitchens M. The erosive potential of soft drinks on enamel surface substrate: an in vitro scanning electron microscopy investigation. *J Contemp Dent Pract*. 2007 Nov;8(7):11-20
9. The 2014 UK Soft Drinks Report [database on the Internet]. London: The British Soft Drinks Association. 2014 - [cited 2016 Mar 8]. Available from: [http://www.britishtsoftdrinks.com/write/mediauploads/publications/revised\\_bsd\\_a\\_annual\\_report\\_2014.pdf](http://www.britishtsoftdrinks.com/write/mediauploads/publications/revised_bsd_a_annual_report_2014.pdf)
10. Hafekost K, Mitrou F, Lawrence D, Zubrick SR. Sugar sweetened beverage consumption by Australian children: implications for public health strategy. *BMC Public Health* [serial on the Internet]. 2011 Dec [cited 2016 Aug 12];22;11:[about 10 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3260330/>
11. Gupta R, Solanki A, Sharma S, Gumber P, Sharma A, Upadhyay R. A Knowledge, Attitude and Practices of Soft Drinks among Adolescent Students and their Dental Health:A Questionnaire Study. *Int J Dent Health Concern*. 2015;1:1-5.
12. Mirmiran P, Ejtahed HS, Bahadoran Z, Bastan S, Azizi F. Sugar-Sweetened Beverage Consumption and Risk of General and Abdominal Obesity in Iranian Adults: Tehran Lipid and Glucose Study. *Iran J Public Health*. 2015 Nov;44(11): 1535-43.



13. Vartanian LR, Schwartz MB, Brownell KD. Effects of Soft Drink Consumption on Nutrition and Health: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Public Health*. 2007 Apr;97(4):667-75.
14. Kregiel D. Health Safety of Soft Drinks: Contents, Containers, and Microorganisms *Biomed Res Int* [serial on the Internet]. 2015 Jan [cited 2016 Aug 12] :[about 15 p.]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/128697/>
15. Serpen JY. Comparison of sugar content in bottled 100% fruit juice versus extracted juice of fresh fruit. *Food and Nutrition Sciences*. 2012;3:1509–13.
16. Fitch C, Keim KS; Academy of Nutrition and Dietetics. C. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J Acad Nutr Diet*. 2012 May;112(5):739-58.
17. Ashurst PR, editor. *Chemistry and technology of soft drinks and fruit juices*. 3rd ed. Chichester: John Wiley & Sons; 2016.
18. Roberson TM, Heymann H, Swift JR. *Sturdevant's art and science of operative dentistry*. 4th ed. St. Louis: Mosby Inc; 2002.
19. Chandra S. *Textbook of dental and oral histology with embryology and MCQs*. New Delhi : Jaypee; 2007.
20. Hand AR, Marion E. *Fundamentals of oral histology and physiology*. Chichester: John wiley & sons; 2014.
21. Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E. Dental Erosion – An Overview with Emphasis on Chemical and Histopathological Aspects. *Caries Res*. 2011;45(1):2–12.
22. Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: Structure, composition and mineralization: The role of dentin ECM in dentin formation and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed.)*. 2011;3:711–35.
23. Torres C.P, Chinelatti M.A, Gomes-Sliva J.M, Rizoli F.A, Oliveira M.A, Palma-Dibb R.G et al. Surface and subsurface erosion of primary enamel by acid beverages over time. *Braz Dent J*. 2010; 21(4): 337-45.
24. Borjian A, Ferrari CC, Anouf A, Touyz LZ. Pop-Cola Acids and Tooth Erosion: An In Vitro, In Vivo, Electron-Microscopic, and Clinical Report . *Int J Dent* [serial on the Internet]. 2010 [cited 2014 Aug 12];2010:[about 12 p.]. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ijjd/2010/957842/>
25. Wiegand A., Rios D. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci*. 2009;17(2):75-86.
26. Yan-Fang R. Dental Erosion: Etiology, Diagnosis and Prevention [pdf form on the Internet]. *The Dentistry IQ Network*; 2011 Apr [cited 2016 Sep 9]. Available from: <http://www.rdhmag.com/etc/medialib/new-lib/rdh/site-images/volume-31/issue-8/1108RDH075-085.pdf>

27. Ganss C, Young A, Lussi A. Tooth wear and erosion: Methodological issues in epidemiological and public health research and the future research agenda. *Community Dent Health*. 2011 Sep;28(3):191-5.
28. Pereira HA, Leite Ade L, Italiani Fde M, Kato MT, Pessan JP, Buzalaf MA. Supplementation of soft drinks with metallic ions reduces dissolution of bovine enamel. *J Appl Oral Sci*. 2013 Jul-Aug;21(4):363-8.
29. Sanchez GA, Fernandez de Preliasco MV. Salivary pH changes during soft drinks consumption in children. *Int J Paediatr Dent*. 2003;13:251-7.
30. 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.
31. El-Zainy M.A, Halawa A, Rabea A. The Effect of Some Carbonated Beverages on Enamel of Human Premolars (Scanning and Light Microscopic Study). *J Am Sci*. 2012; 8(3):632-43.
32. Jensdottir T, Arnadottir IB, Thorsdottir I, Bardow A, Gudmundsson K, Theodors A. et al. Relationship between dental erosion, soft drink consumption, and gastroesophageal reflux among Icelanders. *Clin Oral Invest*. 2004; 8:91–6.
33. Cheng R, Yang H, Shao MY, Hu T, Zhou XD. Dental erosion and severe tooth decay related to soft drinks: a case report and literature review. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2009 May;10(5):395-9.
34. Gambon DL, Brand HS, Nieuw Amerongen AV. Soft drink, software and softening of teeth - a case report of tooth wear in the mixed dentition due to a combination of dental erosion and attrition. *Open Dent J*. 2010 Oct;4:198-200.
35. Hasselkvist A, Johansson A, Johansson AK. Dental erosion and soft drink consumption in Swedish children and adolescents and the development of a simplified erosion partial recording system. *Swed Dent J*. 2010;34(4):187-95.
36. González-Aragón Pineda ÁE, Borges-Yáñez SA, Lussi A, Irigoyen-Camacho ME, Angeles Medina F. Prevalence of erosive tooth wear and associated factors in a group of Mexican adolescents. *J Am Dent Assoc*. 2016 Feb;147(2):92-7.
37. Tschammler C, Müller-Pflanz C, Attin T, Müller J, Wiegand A. Prevalence and risk factors of erosive tooth wear in 3-6 year old German kindergarten children- A comparison between 2004/05 and 2014/15. *J Dent*. 2016 Sep;52:45-9.
38. Salas MM, Nascimento GG, Vargas-Ferreira F, Tarquinio SB, Huysmans MC, Demarco FF. Diet influenced tooth erosion prevalence in children and adolescents: Results of a meta-analysis and meta-regression. *J Dent*. 2015 Aug;43(8):865-75.
39. Li H, Zou Y, Ding G. Dietary factors associated with dental erosion: a meta-analysis. *PLoS One* [serial on the Internet]. 2012 [cited 2014 Sep 01];7(8):[about 10 p.]. Available from: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0042626>

40. Johnson T, Gerson L, Hershcovici T, Stave C, Fass R. Systematic review: the effects of carbonated beverages on gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010 Mar;31(6):607-14.
41. Kato MT1, Buzalaf MA Iron supplementation reduces the erosive potential of a cola drink on enamel and dentin in situ. *J Appl Oral Sci.* 2012 May-Jun;20(3):318-22.
42. Navarro R1, Vicente A, Ortiz AJ, Bravo LA. The effects of two soft drinks on bond strength, bracket microleakage, and adhesive remnant on intact and sealed enamel. *Eur J Orthod.* 2011 Feb;33(1):60-5.
43. Hamasha AA, Zawaideh FI, Al-Hadithy RT. Risk indicators associated with dental erosion among Jordanian school children aged 12-14 years of age. *Int J Paediatr Dent.* 2014 Jan;24(1):56-68.
44. Kannan A, Adil Ahmed MA, Duraisamy P, Manipal S, Adusumil-lil P. Dental hard tissue erosion rates and soft drinks – a gender based analysis in Chennai city, India. *Saudi J Dental Res.* 2014;5(1):21–7.
45. Amaechi BT, editor. *Dental Erosion and Its Clinical Management.* Springer; 2015.
46. West NX, Joiner A. Enamel mineral loss. *J Dent.* 2014 Jun;42 Suppl 1:S2-11.
47. Nekrashevych Y, Stösser L: Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. *Caries Res* 2003; 37: 225–31.
48. Heymann HO, Swift EJ Jr, Ritter AV. *Sturdevant's Art & Science of Operative Dentistry.* 6th ed. Elsevier Health Sciences; 2012.
49. Huysmans MC, Chew HP, Ellwood RP. Clinical studies of dental erosion and erosive wear. *Caries Res.* 2011;45(Suppl 1):60-8.
50. Comar LP, Salomao PMA, de Souza BM, Magalhães AC. Dental erosion: an overview on definition, prevalence, diagnosis and therapy. *Braz Dent Sci.* 2013 Jan an/Mar;16 (1):6-17.
51. Lussi A, Jaeggi T. Erosion diagnosis and risk factors. *Clin Oral Investig.* 2008 Mar;12(Suppl 1):S5–13.
52. Lussi A, Ganss C. *Erosive tooth wear From Diagnosis to therapy.* 2nd ed. Karger; 2014.
53. Mantonanaki M, Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E, Papaioannou W. Dental erosion prevalence and associated risk indicators among preschool children in Athens, Greece. *Clin Oral Investig.* 2013 Mar;17(2):585-93
54. Bartlett DW, Lussi A, West NX, Bouchard P, Sanz M, Bourgeois D. Prevalence of tooth wear on buccal and lingual surfaces and possible risk factors in young European adults. *J Dent.* 2013;41:1007–13.
55. Fung A, Brearley Messer L. Tooth wear and associated risk factors in a sample of Australian primary school children. *Aust Dent J.* 2013 Jun;58(2):235-45.
56. Mehta SB, Banerji S, Millar BJ, Suarez-Feito J-M. Current concepts on the management of tooth wear: part 1. Assessment, treatment planning and strategies

- for the prevention and passive management of tooth wear. *Br Dent J* 2012; 212:17–27.
57. Manaf ZA, Lee MT, Ali NH, Samynathan S, Jie YP, Ismail NH, Bibiana Hui Ying Y, Wei Seng Y, Yahya NA. Relationship between Food Habits and Tooth Erosion Occurrence in Malaysian University Students. *Malays J Med Sci.* 2012 Apr;19(2): 56-66.
  58. Sener Y, Botsali MS, Kucukyilmaz E, Tosun G, Altunsoy M. Influence of soft drinks on dental enamel: An in vitro study. *J Pediatr Dent.* 2013;1:42-5.
  59. Vered Y, Lussi A, Zini A, Gleitman J, Sgan-Cohen HD. Dental erosive wear assessment among adolescents and adults utilizing the basic erosive wear examination (BEWE) scoring system. *Clin Oral Investig.* 2014 Nov;18(8):1985-90.
  60. Picos AM, Chisnoiu AM, LasserreJF, Spinei A, Chisnoiu RM, Picos A. Dental erosion -literature update. *Human & Veterinary Medicine.* 2013;5(3):135-41.
  61. Stefański T, Postek-Stefańska L. Possible ways of reducing dental erosive potential of acidic beverages. *Aust Dent J.* 2014 Sep;59(3):280-8.
  62. Hove LH, Young A, Tveit AB. An in vitro study on the effect of TiF(4) treatment against erosion by hydrochloric acid on pellicle-covered enamel. *Caries Res.* 2007;41(1):80-4.
  63. Attin T, Weiss K, Becker K, Buchalla W, Wiegand A: Impact of modified acidic soft drinks on enamel erosion. *Oral Dis* 2005;11:7–12.
  64. Lussi A, Carvalho TS. Analyses of the Erosive Effect of Dietary Substances and Medications on Deciduous Teeth. *PLoS One* [serial on the Internet]. 2015 Dec [cited 2016 sept 10];23;10. Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0143957>
  65. Pereira HA, Leite Ade L, Italiani Fde M, Kato MT, Pessan JP, Buzalaf MA. Supplementation of soft drinks with metallic ions reduces dissolution of bovine enamel. *J Appl Oral Sci.* 2013 Jul-Aug;21(4):363-8.
  66. Aykut-Yetkiner A, Wiegand A, Bollhalder A, Becker K, Attin T. Effect of acidic solution viscosity on enamel erosion. *J Dent Res* 2013;92:289–94.
  67. Aykut-Yetkiner A1, Wiegand A, Ronay V, Attin R, Becker K, Attin T. In vitro evaluation of the erosive potential of viscosity-modified soft acidic drinks on enamel. *Clin Oral Investig.* 2014 Apr;18(3):769-73.
  68. Al-Salehi SK. Restorative Management of Intrinsic and Extrinsic Dental Erosion. *J Indian Prosthodont Soc.* 2014 Dec;14(Suppl 1):215-21.
  69. Pandey A, Kalra A, Jaggi N), Malik SN, Alam MK. Wasting Disease: Erosion! A Diagnosis, Prevention and Management. *International Medical Journal.* 2014 Oct;21: 490-2.
  70. Wang X, Lussi A. Assessment and management of dental erosion. *Dent Clin North Am.* 2010;54(3):565-78.

71. Kumar S, Acharya S, Mishra P, Debnath N, Vasthare R. Prevalence and risk factors for dental erosion among 11- to 14-year-old school children in South India. *J Oral Sci.* 2013;55(4):329-36.
72. Joshi M, Joshi N, Kathariya R, Angadi P, Raikar S. Techniques to Evaluate Dental Erosion: A Systematic Review of Literature. *J Clin Diagn Res.* 2016 Oct;10(10):1-7.
73. Lussi A, editor. *Dental Erosion from Diagnosis to Therapy. Monogr Oral Sci.* 1st ed. Basel: Karger; 2006.
74. Caneppele TM, Jeronymo RD, Di Nicoló R, de Araújo MA, Soares LE. In Vitro assessment of dentin erosion after immersion in acidic beverages: surface profile analysis and energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry study. *Braz Dent J.* 2012;23(4):373-8.
75. Trivedi K, Bhaskar V, Ganesh M, Venkataraghavan K, Choudhary P, Shah S, Krishnan R. Erosive potential of commonly used beverages, medicated syrup, and their effects on dental enamel with and without restoration: An in vitro study. *J Pharm Bioallied Sci.* 2015 Aug;7 Suppl 2:S474-80.
76. Owens BM, Mallette JD, Phebus JG. Effects of Carbonated Cola Beverages, Sports and Energy Drinks and Orange Juice on Primary and Permanent Enamel Dissolution. *Austin J Dent [serial on the Internet].* 2014 [cited 2017 Oct 6]; 1(1): [about 7 p.]. Available from: [austinpublishinggroup.com/dentistry/download.php?file=fulltext/jd-v1id1004.pdf](http://austinpublishinggroup.com/dentistry/download.php?file=fulltext/jd-v1id1004.pdf)
77. Wang YL, Chang CC, Chi CW, Chang HH, Chiang YC, Chuang YC, et al. Erosive potential of soft drinks on human enamel: an in vitro study. *J Formos Med Assoc.* 2014 Nov;113(11):850-6.
78. Tadakamadla J, Kumar S, Ageeli A, Vani NV. Enamel solubility potential of commercially available soft drinks and fruit juices in Saudi Arabia. *The Saudi Journal for Dental Research.* 2015;6(2):106-9.
79. Sener Y, Botsali MS, Kucukyilmaz E, Tosun G, Altunsoy M. Influence of soft drinks on dental enamel: An in vitro study. *J Pediatr Dent* 2013;1:42-5.
80. Wang CP, Huang SB, Liu Y, Li JY, Yu HY. The CPP-ACP relieved enamel erosion from a carbonated soft beverage: An in vitro AFM and XRD study. *Arch Oral Biol.* 2014 Mar;59(3):277-82.
81. Barac R, Gasic J, Trutic N, Sunaric S, Popovic J, Djekic P et al. Erosive Effect of Different Soft Drinks on Enamel Surface in vitro: Application of Stylus Profilometry. *Med Princ Pract.* 2015;24(5):451-7.
82. von Fraunhofer JA, Rogers MM. Dissolution of dental enamel in soft drinks. *Gen Dent* 2004; 52(4): 308-12.
83. Haghgou HR, Haghgoo R, Asdollah FM. Comparison of the microhardness of primary and permanent teeth after immersion in two types of carbonated beverages. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2016 Jul-Aug;6(4):344-8.

84. Cochrane NJ, Cai F, Yuan Y, Reynolds EC. Erosive potential of beverages sold in Australian schools. *Aust Dent J*. 2009 Sep;54(3):238-44.
85. Dawes C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc*. 2003 Dec;69(11):722-4.
86. Reddy A, Norris DF, Momeni SS, Waldo B, Ruby JD. The pH of beverages available to the American consumer. *J Am Dent Assoc*. 2016 April; 147(4): 255–63.
87. Kim SK, Park SW, Kang SM, Kwon HK, Kim BI. Assessment of the erosive potential of carbonated waters. *J Korean Acad Oral Health*. 2015 Dec;39(4):273-9.
88. Parry J, Shaw L, Arnaud MJ, Smith AJ. Investigation of mineral waters and soft drinks in relation to dental erosion. *J Oral Rehabil*. 2001 Aug;28(8):766-72.
89. Nyan M, Win A, Tun YA, Kyi YMS, Sone K, Phyo T et al. Acidity and effect on enamel dissolution of ten commonly consumed soft drinks/beverages in Myanmar. *Myanmar Dental Journal*. 2017; 24(1): 27-31.
90. Mettler S, Rusch C & Colombani PC. Osmolality and pH of sport and other drinks available in Switzerland. *Schweizerische Zeitschrift fur Sportmedizin und Sporttraumatologie*. 2006; 54: 92–95.
91. Zimmer S, Kirchner G, Bizhang M, Benedix M. Influence of Various Acidic Beverages on Tooth Erosion. Evaluation by a New Method. *PLoS one* [serial on the Internet]. 2015 Jun [cited 2017 Oct 6];10;6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4452714/>
92. Hans R, Thomas S, Garla B, Dagli RJ, Hans MK. Effect of Various Sugary Beverages on Salivary pH, Flow Rate, and Oral Clearance Rate amongst Adults. *Scientifica* [serial on the Internet]. 2016 [cited 2017 Oct 6]. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/scientifica/2016/5027283/#B12>
93. Tenuta LMA, Fernandez CE, Brandao ACS, Cury JA. Titratable acidity of beverages influences salivary pH recovery. *Braz Oral Res*. 2015;29(1):1-6.
94. Grando LJ, Tames DR, Cardoso AC, Gabilan NH. 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;30:373-8.
95. Nanci A. *Ten Cate's Oral histology*. 9th ed. St.Louis; Elsevier:2008.
96. Baumann T1, Carvalho TS1, Lussi A1. The effect of enamel proteins on erosion. *Sci Rep* [serial on the Internet]. 2015 Oct [cited 2017 Oct 12];5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4606565/>
97. Shellis RP, Barbour ME, Jesani A, Lussi A. Effects of buffering properties and undissociated acid concentration on dissolution of dental enamel in relation to pH and acid type. *Caries Res*. 2013;47(6):601-11.
98. Jameel RA, Khan SS, Rahim ZHA, Bakri MM, Siddiqui S. Analysis of dental erosion induced by different beverages and validity of equipment for identifying early dental erosion, in vitro study. *JPakMed Assoc*. 2016 Jul; 66(7):843-8

99. Ganss C, Schlueter N, Hardt M, von Hinckeldey J, Klimek J. Effects of toothbrushing on eroded dentine. *Eur J Oral Sci.* 2007;115:390–6.
100. Shellis RP, Barbour ME, Jones SB, Addy M. Effects of pH and acid concentration on erosive dissolution of enamel, dentine and compressed hydroxyapatite. *Eur J Oral Sci.* 2010;118: 475–82
101. Poggio C, Lombardini M, Vigorelli P, Ceci M. Analysis of dentin/enamel remineralization by a CPP-ACP paste: AFM and SEM study. *Scanning.* 2013 Nov-Dec;35(6):366-74.
102. Poggio C, Lombardini M, Vigorelli P, Colombo M, Chiesa M. The role of different toothpastes on preventing dentin erosion: an SEM and AFM study®. *Scanning.* 2014 May-Jun;36(3):301-10.
103. Meurman JH, Drysdale T, Frank RM. Experimental erosion of dentin. *Scand J Dent Res.* 1991 Dec;99(6):457-62.
104. Dinçer B, Hazar S, Sen BH. Scanning electron microscope study of the effects of soft drinks on etched and sealed enamel. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002; 122(2): 135-41.
105. Stefański T, Postek-Stefańska L. Possible ways of reducing dental erosive potential of acidic beverages. *Aust Dent J* 2014; 59(3): 280-8.
106. West NX, Hughes JA, Addy M. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. *J Oral Rehabil* 2001; 28(9): 860-4
107. Jahanbin A, Basafa M, Moazzami M, Basafa B, Eslami N. Color Stability of Enamel following Different Acid Etching and Color Exposure Times. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2014; 8(2): 67–70.
108. Zantner C, Beheim-Schwarzbach N, Neumann K, Kielbassa AM. Surface microhardness of enamel after different home bleaching procedures. *Dent Mater.* 2007 Feb;23(2):243-50.
109. Azer SS, Hague AL, Johnston WM. Effect of pH on tooth discoloration from food colorant in vitro. *J Dent.* 2010;38 Suppl 2:S106-9.
110. Kazmi S, Mughal A, Habib M, Ayaz M, Tariq H, Arshman Khan M. Effects on the enamel due to the carbonated drinks- a SEM study. *Pakistan Oral & Dental Journal* 2016 April-Jun; 36(2):221-25.
111. Karadas M, Seven N. The effect of different drinks on tooth color after home bleaching. *Eur J Dent.* 2014 Apr;8(2):249-53.
112. Chan KC, Hormati AA, Kerber PE. Staining calcified dental tissues with food. *J Prosthet Dent.* 1981 Aug;46(2):175-8.
113. Kannan A, Govindarajan V. The ill effect in the oral health among the adults due to the consumption of aerated drinks. *J Evid Based Med Healthc.* 2017;4(43):2656-8.
114. Strużycka I, Rusyan E, Bogusławska-Kapała A. Prevalence of dental erosion in young adults aged 18 years in Poland. *Przegl Epidemiol.* 2014;68(4):689-93.
115. Al-Ashtal A, Johansson A, Omar P, Johansson AK. Awareness and knowledge of dental erosion among Yemeni dental professionals and students. *BMC Oral*

Health [serial on the Internet]. 2015 Oct [cited 2017 Aug 10];8;15(1):[about 8 p.]. Available from:

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4599026/pdf/12903\\_2015\\_Article\\_103.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4599026/pdf/12903_2015_Article_103.pdf)

116. Gulati P, Mittal M. Frequent Consumption of Soft Drinks and Dental Erosion: A Literature Review. BAOJ Dentistry [serial on the Internet]. 2016 [cited 2017 Sep 5];2;3:[about 5 p.]. Available from:  
<https://pdfs.semanticscholar.org/1bfa/de65109ea0bd505f01462575f2e0b9a9b213.pdf>
117. Koch G, Poulsen S, Espelid I, Haubek D, editors. Pediatric Dentistry: A Clinical Approach. 3rd ed. Chichester: John Wiley & Sons; 2016.