

# Citotoksični, genotoksični i optički učinak komercijalnih pasta za izbjeljivanje zubi

---

**Zorica Vladislavić, Nada**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Dental Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Stomatološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:127:898823>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-03**



*Repository / Repozitorij:*

[University of Zagreb School of Dental Medicine Repository](#)





Sveučilište u Zagrebu

STOMATOLOŠKI FAKULTET

Nada Zorica Vladislavić

**CITOTOKSIČNI, GENOTOKSIČNI I  
OPTIČKI UČINAK KOMERCIJALNIH  
PASTA ZA IZBJELJIVANJE ZUBI**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2023.



Sveučilište u Zagrebu

STOMATOLOŠKI FAKULTET

Nada Zorica Vladislavić

**CITOTOKSIČNI, GENOTOKSIČNI I  
OPTIČKI UČINAK KOMERCIJALNIH  
PASTA ZA IZBJELJIVANJE ZUBI**

DOKTORSKI RAD

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Kristina Peroš, dr. med. dent.

Komentor:

Izv. prof. dr. sc. Antonija Tadin, dr. med. dent.

Zagreb, 2023.



University of Zagreb

SCHOOL OF DENTAL MEDICINE

Nada Zorica Vladislavić

**CYTOTOXIC, GENOTOXIC AND  
OPTICAL EFFECT OF COMMERCIALY  
AVAILABLE WHITENING  
TOOTHPASTES**

DOCTORAL DISERTATION

Supervisor:

Associate Professor Kristina Peroš

Co-supervisor:

Associate Professor Antonija Tadin

Zagreb, 2023.

Rad je ostvaren na Katedri za restaurativnu dentalnu medicinu i endodonciju Studija dentalne medicine Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Lektorica hrvatskog jezika: Branka Sinčić, mag. philol. croat. i franc.

Lektorica engleskog jezika: Anđela Vladislavić, prof. engleskog jezika i povijesti

**Sastav Povjerenstva za ocjenu doktorskog rada:**

1. prof. dr. sc. Ivana Miletić, predsjednica
2. prof. dr. sc. Nada Galić, član
3. izv. prof. dr. sc. Lidia Gavić, član

**Sastav Povjerenstva za obranu doktorskog rada:**

1. prof. dr. sc. Ivana Miletić, predsjednica
2. prof. dr. sc. Nada Galić, član
3. izv. prof. dr. sc. Lidia Gavić, član
4. doc. dr. sc. Krešimir Bašić, zamjenski član

Datum obrane rada: 8.12.2023.

Rad sadrži: 111 stranica

28 slika

14 tablica

2 CD-a

Rad je vlastito autorsko djelo koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora poslijediplomskog doktorskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

*Veliko hvala mojoj mentorici, profesorici Antoniji Tadin, mom učitelju, uzoru, eruditu, na svemu što je učinila za mene pružajući mi nesebičnu potporu od samoga početka mog profesionalnog iskustva do danas. Hvala za svaku pomoć, strpljenje, uloženi trud i riječ utjehe u najzahtjevnijim trenucima i izazovima tijekom izrade ovog doktorskog rada. Hvala Vam na svemu.*

*Hvala od srca mojoj dragoj profesorici i mentorici Kristini Peroš na iskazanom povjerenju, podršci i inspiraciji tijekom ovog znanstvenog putovanja.*

*Zahvaljujem prof. dr. sc. Željku Verzaku i prof. dr. sc. Davoru Želježiću na iskazanoj susretljivosti i pomoći.*

*Mojoj dragoj lektorici i prije svega velikoj prijateljici, Branki Sinčić, veliko hvala na konstruktivnim kritikama i ispravcima tijekom završnog oblikovanja ovog doktorskoga rada.*

*Hvala mojoj obitelji.*

*Posebno hvala mom Đaniju, suprugu i životnom suputniku, na razumijevanju, strpljenju te bezrezervnoj podršci tijekom svih ovih godina.*

*Naposljetku, hvala mom ocu Matku i sestri Ivani što smo uvijek bili jedno i kad nas je život naučio da može biti okrutan. Hvala što ste me naučili da uvijek ponosno i hrabro koračam kroz život. Hvala mojima Marici, Brunu, Zdravku i Nini.*

*Bez vas ne bih bila to što jesam.*

*Mojim sinovima Petru, Mateju, Kristianu i nećakinji Marti.*

*I...*

*Mojim dvjema najsajnijim zvijezdama na nebeskom svodu, Miri i Mladenu.*

## SAŽETAK

### Citotoksični, genotoksični i optički učinak komercijalnih pasta za izbjeljivanje zubi

Ovo istraživanje provedeno je u kliničkim uvjetima s ciljem analize citotoksičnog i genotoksičnog djelovanja komercijalno dostupnih izbjeljujućih zubnih pasta na stanice bukalne mukoze te njihov optički učinak izbjeljivanja na zubima. Objedinjena je evaluacija subjektivnog i objektivnog učinka te potencijalno toksičnog učinka izbjeljujućih zubnih pasta dostupnih na tržištu. U istraživanju je ispitivano deset zubnih pasta (devet izbjeljujućih: Colgate Max Expert White [CMEW], Signal Daily White [SDW], Himalaya Sparkly White Herbalis [HSHW], Signal White System [SWS], Rembrandt Deeply White + Peroxide [RDWP], Splat Extreme White [SEW], Splat White Plus [SWP], Biobaza Deep White [BDW], Dondont Black Shine [DBS], i jedna neizbjeljujuća – Kalodont Multi Repair [kontrola]). Evaluirao se optički učinak izbjeljivanja testiranih pasta (promjena boje zuba –  $\Delta E^*_{ab}$ ,  $\Delta E_{00}$  i promjena indeksa bjeline –  $\Delta WI_D$ ) i njihov toksični učinak uz pomoć bukalnog mikronukleus testa u četiri vremenske točke: T0 – inicijalna vrijednost, T1 – 30 dana od početka tretmana, T2 – 60 dana od početka tretmana i T3 – 30 dana nakon prestanka tretmana, te zadovoljstvo ispitanika tretmanom i korištenom zubnom pastom. Rezultirajuća promjena za boju zuba i promjene indeksa bjeline ukazuju na klinički značajnu promjenu boje zuba i povećanu bjelinu za sve testirane izbjeljujuće zubne paste u svim vremenskim razdobljima korištenja u usporedbi s osnovnim vrijednostima, pri čemu su izbjeljujuće zubne paste koje su u svom sastavu imale kombinaciju abraziva i kemijskih sastojaka pokazale najveći izbjeljujući učinak – HSHW, SEW, RDWP i CMEW. Genotoksični parametri nisu pokazali biološki značajne promjene u nijednom testiranom razdoblju za korištene zubne paste, dok su citotoksični parametri (broj stanica s karioreksijom i kondenziranim kromatinom) pokazali statistički značajno povećanje broja stanica zahvaćenih toksičnim djelovanjem u T1 i T2 periodu u usporedbi s inicijalnom vrijednosti za tri izbjeljujuće zubne paste koje su u svom sastavu imale peroksid – CMEW, RDWP i SEW. Međutim, u T3 nije postojala razlika između udjela stanica zahvaćenih toksičnim djelovanjem u odnosu na T0. Ispitanici koji su koristili izbjeljujuću zubnu pastu SEW za vrijeme trajanja studije u konačnici su bili najzadovoljniji dobivenom bojom zubi. Rezultati istraživanja ukazuju da postoji pozitivna korelacija između izbjeljujućih zubnih pasta koje u svom sastavu imaju perokside s povećanjem citotoksičnosti tijekom razdoblja korištenja.

**Ključne riječi:** izbjeljujuće zubne paste, mikronukleus test, stanice bukalne mukoze, spektrofotometar, CIELAB, CIEDE2000,  $WI_D$ , zadovoljstvo

## ABSTRACT

### Cytotoxic, genotoxic and optical effects of commercially available whitening toothpastes

In the last decade, there has been an increasing trend in the use of oral hygiene products that contain bleaching substances. Whitening toothpastes, rinses, paint-on gels, chewing gums, trays with gel activated by light and whitening strips represent an alternative method of removing and controlling tooth discolorations. Unlike professional teeth whitening which takes place under the supervision of doctors in controlled conditions, these products are available in over the counter drugstores. Irrational use of these products can cause a potential risk for human health. In order to investigate the effectiveness and potential harm of commonly available whitening toothpastes, this research conducted in *in vivo* conditions represent a detail analysis of potentially toxic effects on buccal mucosa cells and whitening performances on teeth surfaces of commercially available whitening toothpastes with different substances. In this prospective, randomized controlled study with parallel groups, 199 healthy individuals participated and divided into 10 test groups depending on used toothpaste (Colgate Max Expert White [CMEW], n=20; Signal Daily White [SDW], n=20; Himalaya Sparkly White Herbalis [HSWH], n=20; Signal White System [SWS], n= 20; Rembrandt Deeply White + Peroxide [RDWP], n=20; Splat Extreme White [SEW], n=20; Splat White Plus [SWP], n=21, Biobaza Deep White [BDW], n=18; Dontodent Black Shine [DBS], n= 20; and Kalodont Multi Repair [control], n=20). The optical whitening effect of the tested pastes, their toxic effect was evaluated using the buccal micronucleus cytome assay (BMCyt assay) at four times at different time intervals: T0- initial value; T1, 30 days after the beginning of using whitening toothpaste; T2, 60 days after the beginning of using whitening toothpaste; and T3, 90 days from the start of treatment (30 days after completing the treatment)- the follow-up period, and the respondents' satisfaction with the treatment and toothpaste used. The obtained data were analyzed by Kolmogorov-Smirnov test, Levene's test, two-way analysis of variance (ANOVA) for repeated measures (two-way ANOVA), one-way analysis of variance (one way ANOVA), Tukey's test and multiple regression analysis. A statistically significant value difference was observed in the  $\Delta L^*$  coordinate for all tested whitening toothpastes compared to the control toothpaste (classified as conventional toothpaste) after 30 and 60 days of use ( $P < 0.05$ ), for  $\Delta b^*$  values after 30 and 60 days of use ( $P < 0.05$ ), and for  $\Delta a^*$  values after 30 days of continuous use ( $P < 0.05$ ). The resulting change in tooth color ( $\Delta E^*_{ab}$ ,  $\Delta E_{00}$ ) and whiteness index change ( $\Delta WI_D$ ) reveal a clinically significant tooth color change and increased whiteness for all tested



whitening toothpastes for evaluated time points in comparison to baseline values. The only exception was Signal white system (SWS) which showed that tooth color change is below the perceptible limit (PT) for T3 vs.T0 ( $\Delta E^*_{ab} = 1.14$ ,  $\Delta WI_D = 0.44$ ,  $\Delta E_{00} = 0.71$ ).

Genotoxic parameters didn't show biologically significant changes in any tested time period for the used toothpastes, while cytotoxic parameters (number of cells with karyorexia and condensed chromatin) showed a statistically significant increase ( $P < 0.05$ ) at T1 and T2 compared to baseline for three peroxide containing toothpaste Colgate Max Expert White (CMEW), Rembrandt Deeply White + Peroxide (RDWP) and Splat Extreme White (SEW). Statistically significant difference neither for genotoxic parameters nor for cytotoxic parameters between groups for the same sampling time. The same applies for the genotoxic parameters for all the ten groups between sampling times. The statistically significant difference ( $P < 0.05$ ) was observed only for cytotoxic parameters (cells with condensed chromatin and cells with karyorrhexis) between sampling times for the following whitening toothpastes: CMEW - karyorrhexis (increase: T1 vs. T0; T2 vs. T0;), CMEW - condensed chromatin (increase: T1 vs.T0; T2 vs.T0; decrease: T3 vs.T1; T3 vs. T2;), RDWP - karyorrhexis (increase: T1 vs.T0; T2 vs.T0; decrease: T3 vs.T1; T3 vs. T2;), RDWP - condensed chromatin (increase: T1 vs. T0; T2 vs. T0; T2 vs. T1; T3 vs. T0; decrease: T3 vs. T1; T3 vs. T2;), SEW - karyorrhexis (increase: T1 vs.T0; T2 vs.T0; decrease: T3 vs.T1; T3 vs. T2;) and SEW - condensed chromatin (increase: T1 vs. T0; T2 vs. T0; T2 vs. T1; T3 vs. T0; decrease: T3 vs. T1; T3 vs. T2).

Participants who used Splat Extreme White whitening toothpaste (SEW) for the duration of the research were ultimately the most satisfied with the color of their teeth. The research results proved that whitening toothpastes with abrasives, enzymes, peroxides, activated charcoal and their combinations can achieve a perceptible whitening effect, whitening toothpastes that had a combination of abrasives and chemical ingredients (peroxide and/or enzymes) showed the highest whitening effect- HSWH, SEW, RDWP and CMEW, toothpastes with peroxide in their composition- CMEW, RDWP and SEW showed a significant increase in cytotoxic parameters (number of cells with condensed chromatin and karyorexia) only during the period of their use, none of the tested whitening toothpaste showed a genotoxic effect on the oral mucosa cells, there is positive correlation between whitening toothpastes that have peroxides in their composition with an increase in cytotoxicity during the period of use- toothpastes with peroxides had the most significant whitening effect and showed increase in cytotoxicity during their use only.

**Keywords:** whitening toothpastes, micronucleus cytome assay (BMCyt assay), buccal mucosal cells, spectrophotometer, CIELAB, CIEDE<sub>2000</sub>, WI<sub>D</sub>, patient satisfaction

## SADRŽAJ:

1. UVOD .....	1
1.1. Povijest zubnih pasta .....	2
1.1.1. Zubne paste za izbjeljivanje .....	3
1.2. Sastojci zubnih pasta .....	4
1.2.1. Fluoridi .....	4
1.2.2. Nefluoridni antikarijesni sastojci .....	5
1.2.3. Sastojci koji djeluju protiv gingivitisa .....	6
1.2.4. Sastojci protiv stvaranja kamenca .....	6
1.2.5. Sastojci protiv zadaha.....	6
1.2.6. Sastojci za sprječavanje dentalne erozije .....	7
1.2.7. Sastojci za olakšavanje preosjetljivosti zubi .....	7
1.2.8. Modifikator viskoznosti i reologije .....	7
1.2.9. Površinske aktivne tvari .....	7
1.2.10. Sredstva za zadržavanje vlage.....	8
1.2.11. Okusi .....	8
1.2.12. Konzervansi.....	8
1.2.13. Zasladivači .....	8
1.2.14. Bojila.....	9
1.2.15. Voda .....	9
1.3. Izbjeljujući sastojci zubnih pasta .....	9
1.3.1. Abrazivi.....	9
1.3.2. Enzimi .....	12
1.3.3. Peroksidi.....	12
1.3.4. Optički pigmenti.....	14
1.3.5. Aktivni ugljen.....	15
1.4. Uzroci obojenja zuba .....	16
1.4.1. Unutarnja (intrinzična) obojenja .....	16
1.4.2. Vanjska (ekstrinzična) obojenja .....	18
1.4.3. Internalizirana obojenja.....	18
1.5. Ljudsko oko i percepcije boje u ljudskom oku.....	20
1.6. Određivanje boje zuba .....	22
1.7. Utjecaj zubnih pasta za izbjeljivanje na zubnu površinu.....	27
1.8. Mikronukleus test .....	28

1.9.	Psihofizički kriteriji u procjeni dentalne estetike i bjeline zuba.....	32
2.	HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	35
3.	MATERIJALI, ISPITANICI I METODOLOGIJA .....	38
3.1.	Izvedbeni plan studije .....	39
3.2.	Ispitanici .....	39
3.3.	Materijali i metode.....	43
3.4.	Mjerenje boje zubi i procjena zadovoljstva sudionika i nuspojava izbjeljivanja zubnih pasta .....	46
3.5.	Ispitivanje toksičnosti izbjeljujućih zubnih pasti parametrima citotoksičnosti i genotoksičnosti .....	47
3.6.	Uzorkovanje stanica .....	48
3.7.	Statistička obrada podataka .....	49
4.	REZULTATI.....	50
4.1.	Optički rezultati izbjeljivanja komercijalno dostupnim zubnim pastama s izbjeljujućim supstancijama .....	51
4.2.	Rezultati zadovoljstva tretmanom i korištenom zubnom pastom.....	54
4.3.	Rezultati bukalnog mikronukleus testa i parametara citotoksičnosti .....	57
4.4.	Rezultati višestruke regresijske analize odnosa kliničkog ishoda izbjeljivanja i parametara mikronukleus testa .....	64
4.5.	Rezultati višestruke regresijske analize odnosa objektivnog kliničkog ishoda izbjeljivanja i zadovoljstva ispitanika.....	72
5.	RASPRAVA .....	76
5.1.	Izbjeljujući efekt zubnih pasti s različitim izbjeljujućim sastojcima u kliničkim/ <i>in</i> <i>vivo</i> uvjetima.....	77
5.2.	Evaluacija subjektivnog učinka ispitivanih izbjeljujućih zubnih pasti s različitim izbjeljujućim sastojcima – zadovoljstvo ispitanika tretmanom i korištenom zubnom pastom.....	84
5.3.	Citotoksičnost i genotoksičnost izbjeljujućih zubnih pasti.....	86
6.	ZAKLJUČCI.....	92
7.	POPIS CITIRANE LITERATURE .....	95
8.	ŽIVOTOPIS.....	108

## POPIS SKRAĆENICA

<b>ASA</b>	Američko društvo anesteziologa (engl. <i>American Society of Anesthesiologists</i> )
<b>ADA</b>	Američka stomatološka udruga (engl. <i>American Dental Association</i> )
<b>ACE</b>	Angiotenzin-konvertirajući enzim
<b>AT</b>	Prag prihvatljivosti (engl. <i>Acceptability Threshold</i> )
<b>BDW</b>	Biobaza Deep White; izbjeljujuća zubna pasta
<b>BMCyt</b>	Bukalni mikronukleus test (engl. <i>Buccal Micronucleus Cytome Assay</i> )
<b>CIE</b>	Međunarodna komisija za rasvjetu (engl. <i>International Commission on Illumination</i> )
<b>CIEDE<sub>2000</sub></b>	Formula za izračun razlike u boji (engl. <i>Color Difference Formula</i> )
<b>CIELAB</b>	Prostor boja
<b>CIEXYZ</b>	Prostor boja kroz tristimulusne vrijednosti
<b>CMEW</b>	Colgate Max Expert White; izbjeljujuća zubna pasta
<b>CPP-ACP</b>	Kazein fosfopeptid-amorfni kalcijev fosfat (engl. <i>Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Flouride Phosphate</i> )
<b>DAPI</b>	4',6-diamino-2-fenilindolom
<b>DBS</b>	Dontodent Black Shine; izbjeljujuća zubna pasta
<b>DNK</b>	Deoksiribonukleinska kiselina (engl. <i>Deoxyribonucleic Acid</i> )
<b>EDTA</b>	Etilen-diamin-tetraoctena kiselina
<b>FCF</b>	Sintetski organski spoj koji se koristi kao plavo bojilo (E 133) (engl. <i>Brilliant blue FCF</i> )
<b>FDA</b>	Agencija za hranu i lijekove (engl. <i>Food and Drug Administration</i> )
<b>FFG</b>	Sintetski organski spoj koji se koristi kao zeleno bojilo (engl. <i>Feulgen Fast Green FFG</i> )
<b>HGF</b>	Humani gingivni fibroblasti (engl. <i>Human Gingival Fibroblasts</i> )
<b>HSWH</b>	Himalaya Sparkly White Herbalis; izbjeljujuća pasta za zube

<b>HUMN, HUMN<sub>x</sub>L</b>	Projekti međunarodne suradnje na ispitivanju mikronukleusa humanih limfocita i bukalnih stanica ( <i>engl. International Collaboration Projects on Human Micronucleus Assays in Lymphocytes and Buccal Cells</i> )
<b>MIH</b>	Molarnoincizalna hipomineralizacija
<b>MLSI</b>	Macpherson Lobene Stain Index
<b>MN</b>	Mikronukleus
<b>MTT</b>	Metiltetrazolinski test
<b>OTC</b>	Bezreceptni medicinski proizvodi ( <i>engl. Over the Counter Products</i> )
<b>PEG</b>	Polietilen glikol
<b>PPG</b>	Polipropilen glikol
<b>PT</b>	Prag zamjetljivosti ( <i>engl. Perceptibility Threshold</i> )
<b>PVP</b>	Polivinilpirolidon
<b>RDA</b>	Preporučena količina abraziva ( <i>engl. Relative Dentin Abrasion</i> )
<b>RDWP</b>	Rembrandt Deeply White + Peroxide; izbjeljujuća zubna pasta
<b>RGB</b>	Model boja ( <i>engl. Red, Green, Blue Color Value</i> )
<b>R<sub>T</sub></b>	Funkcija rotacije
<b>SD</b>	Standardna devijacija
<b>SDW</b>	Signal Daily White; izbjeljujuća pasta za zube
<b>SEW</b>	Splat Extreme White; izbjeljujuća zubna pasta
<b>SLS</b>	Natrijev lauril sulfat ( <i>engl. Sodium lauryl sulphate</i> )
<b>SWP</b>	Splat White Plus; izbjeljujuća zubna pasta
<b>SWS</b>	Signal White System; izbjeljujuća zubna pasta
<b>WI<sub>D</sub></b>	Index bjeline
<b>ΔWI<sub>D</sub></b>	Razlika indeksa bjeline za stomatologiju temeljena na CIELAB prostoru boja
<b>β</b>	Regresijski koeficijent

<b>P</b>	Statistička značajnost
<b><math>\Delta L</math></b>	Razlika u svjetlosti boje
<b><math>\Delta C</math></b>	Razlika u kromatičnosti boje (engl. <i>Chroma</i> )
<b><math>\Delta H</math></b>	Razlika u nijansi boje (engl. <i>Hue</i> )
<b><math>\Delta E_{ab}</math>, <math>\Delta E_{00}</math></b>	Ekvilibrijska udaljenost; brojčana razlika u referentnim točkama prostora boja
<b><math>L^*</math></b>	Oznaka za svjetlinu (engl. <i>Luminance</i> )
<b><math>a^*</math></b>	Oznaka za položaj zelene i crvene boje u prostoru boja
<b><math>b^*</math></b>	Oznaka za položaj plave i žute boje u prostoru boja
<b><math>S_L</math>, <math>S_C</math>, <math>S_H</math></b>	Težinske funkcije za prilagođavanje ukupne razlike u boji
<b><math>K_L</math>, <math>K_C</math>, <math>K_H</math></b>	Parametrijski faktori koji predstavljaju korekcije za eksperimentalne uvjete

## **1. UVOD**



## 1.1. Povijest zubnih pasta

Svijest o dentalnoj higijeni i njezi zubi seže daleko u povijest. Zubne paste i prašci ne smatraju se suvremenim sredstvom dentalne higijene jer je potreba za njegom zubi i upotrebom mješavina za njihovo čišćenje zabilježena davno u povijesti. Prvi oblici prašaka i pasta za zube datiraju još u vrijeme od 3000 do 5000 godina prije Krista. Egipćani su s ciljem uklanjanja naslaga na zubima prvi razvili mješavinu za zube koja je sadržavala pepeo u prahu od volova kopita, mirisne smole, ljuske jajeta i plavca. Vodu su dodavali u samom trenutku korištenja. Perzijanci su otprilike 1000 godina prije Krista, miješajući izgorjele ljuske puževa, školjaka, gipsa, začinskog bilja i meda, njegovali svoje zube. Naknadno su Grci i Rimljani, koji su preferirali abrazivnija sredstva, koristili razmrvljene kosti i ljuske školjkaša. Rimljani su, također, s ciljem poboljšanja okusa i preveniranja lošeg zadaha, uključivali sastojke i arome kao što su ugljen u prahu i kora drveća. Nedostaci mješavina za dentalnu higijenu vjerojatno su bili visok stupanj abrazivnosti i loš okus same mješavine. Tristo do petsto godina prije Krista, Kina i Indija već su naveliko koristile prah/pastu za zube. S ciljem poboljšavanja okusa, u Kini su dodavali arome ginsenga, paprene metvice i soli (1).

Moderni zubni prašci počeli su se razvijati u 18. stoljeću kada su se u njih počeli dodavati sastojci kao što su tvari za pjenjenje i soli. Boraks (natrij-borat ili natrij-tetraborat ili dinatrij-tetraborat) je mineral i sol borne kiseline, koja se dodavala krajem 18. stoljeća s ciljem postizanja povoljnog učinka pjenjenja. Natrij-bikarbonat, ili popularno soda bikarbona, koristio se kao baza većine prašaka za zube. Početkom 19. stoljeća počeo se dodavati glicerol koji je pretvarajući prašak u pastu sprječavao isušivanje te je sama pasta postala prihvatljivija za upotrebu. Masovnu proizvodnju pasta za zube i njihovu distribuciju u staklenkama započelo je 1873. godine društvo Colgate and Co., a 1892. dr. Washington Sheffield iz Connecticuta je prvi put stavio pastu za zube u tubu. Godine 1914. prvi put su dodani fluoridi, međutim, Američka stomatološka udruga (engl. *American Dental Association*, ADA) je odbacila njihovu upotrebu. Tek 1960. godine ADA je pristala na upotrebu fluorida u pastama za zube. Nakon 2. svjetskog rata, natrijev lauril sulfat (engl. *Sodium Lauryl Sulphate*, SLS), kao najčešće korišten surfaktant naširoko nalazi svoju primjenu u zubnim pastama do današnjeg dana. Osamdesetih godina dvadesetog stoljeća u upotrebu ulaze sredstva za sprječavanje zubnog kamenca i kontrolu stvaranja supragingivnog plaka (1).

Nezaobilazno sredstvo za dentalnu higijenu su zubne četkice koje omogućuju aplikaciju zubne paste. Prve oblike „štapića” za žvakanje aplicirali su Babilonci kao rudimentarni oblik

četkice za zube te oni datiraju još u vrijeme od 3500 godina prije Krista. Prva četkica za zube nastala je u Kini 1600. godine. Krajem 18. i početkom 19. stoljeća ponovno se uvelo četkanje zubi uz prve naznake modernih četkica za zube. Prvi patent za zubnu četkicu pripisuje se H. N. Wadsworthu (Sjedinjene Američke Države, SAD), 1857. godine, koji je koristeći se svinjskim čekinjama napravio prvu zubnu četkicu. Masovna proizvodnja takvih četkica započela je tek krajem 19. stoljeća. Tehnološkim napretkom, prirodne svinjske čekinje zamijenila su sintetička vlakna (najčešće najlonska). Prva električna četkica za zube razvijena je 1939. godine u Škotskoj, ali na tržištu se pojavila tek 60-ih godina 20. stoljeća. Daljnjim razvojem tehnologije i industrije dolazi do primjene i razvoja drugih sastojaka u zubnim pastama i modernizacije četkica za zube (1-4).

### **1.1.1. Zubne paste za izbjeljivanje**

Bijela, prirodna boja zubi često se s vremenom gubi zbog nakupljanja/taloženja obojenja od kave, čajeva, vina, duhana, pigmentiranih sastojaka u hrani, ali i fiziološkog procesa starenja zbog nakupljanja sekundarnog dentina koji proizvode odontoblasti perifernog dijela zubne pulpe. Izbjeljivanje zubi može se provoditi u ordinacijama dentalne medicine pod nadzorom liječnika, tzv. *in-office* izbjeljivanje, ili kod kuće od strane samih pacijenata (tzv. *over-the-counter*) (5).

Zubne paste s izbjeljujućim učinkom razvijale su se s ciljem kontrole i uklanjanja vanjskih zubnih obojenja, dok je njihov učinak u uklanjanju unutrašnjih obojenja predmet rasprave brojnih istraživača. Izbjeljujući sastojci u zubnim pastama dijele se na mehaničke, kemijske i optičke sastojke ovisno o njihovu mehanizmu djelovanja, a paste često u sastavu imaju kombinaciju kemijskih i mehaničkih sastojaka s ciljem sinergističkog djelovanja (5). U tablici 1 prikazani su najčešće korišteni izbjeljujući sastojci u komercijalnim i profesionalnim proizvodima za izbjeljivanje zubi (6).

Tablica 1. Izbjeljujući sastojci u proizvodima za dentalnu upotrebu i njihov mehanizam djelovanja. Preuzeto i modificirano od Epple M, Meyer F, Enax J A. Critical Review of Modern Concepts for Teeth Whitening. Dent J (Basel). 2019.;7(3):79.

<b>IZBJELJUJUĆI SASTOJAK</b>	<b>MEHANIZAM DJELOVANJA</b>
<b>Abrazivi (npr. hidratirani silicijev dioksid, perlit, aluminij)</b>	Mehaničko uklanjanje vanjskih obojenja/mrlja
<b>Sredstva za sprječavanje taloženja (npr. polifosfati, natrijev citrat)</b>	Prevenција nakupljanja obojenja, sprječavanje taloženja kamenca na mjestima gdje bi se vanjska obojenja mogla taložiti
<b>Kalcijevi fosfati (npr. hidroksilapatit)</b>	Prianjanje čestica bijelog kalcijevog fosfata na površinu zuba, sprječavanje vezivanja bakterija/plaka na zubima
<b>Optička sredstva (npr. plavi pigment – <i>blue covarine</i>)</b>	Pomicanje spektra apsorpcije i refrakcije boje sa žute na plavu
<b>Enzimi (npr. papain, bromelain)</b>	Razgradnja proteina (hidroliza peptidnih veza)
<b>Peroksidi (npr. vodikov peroksid, kalcijev peroksid)</b>	Oksidacija organskih obojenja
<b>Poliaspartat</b>	Inhibira nastajanje plaka
<b>Surfaktanti (npr. natrijev lauril sulfat)</b>	Uklanjanje hidrofobnih spojeva s površine zuba

Zubne paste s izbjeljujućim sastojcima ne preporučuju se pacijentima s kliničkim nalazom erozije, abrazije zubi ili recesije gingive, kao i onim pacijentima koji u svojoj medicinskoj anamnezi imaju povijest gastroezofagotrahealnog refluksa (7).

## **1.2. Sastojci zubnih pasta**

### **1.2.1. Fluoridi**

Fluoridi predstavljaju najčešće aktivne spojeve dodane u zubnim pastama. Zubnim pastama počeli su se dodavati otkad je dokazan njihov antikarijesni učinak, kako u endogenoj

tako i u topikalnoj primjeni. Koncentracija fluoridnih spojeva u različitim dijelovima svijeta, ovisno o zakonu zemlje ili regije je različita. Tako je u Europskoj uniji (EU) dostupno ukupno 20 različitih fluoridnih spojeva i njihovih mješavina koji se koriste u kozmetičke svrhe. U SAD-u se fluoridi koriste kao lijek i kao takvi su dopušteni u samo tri spoja. Smjese različitih fluoridnih spojeva nisu dopuštene, a za razliku od EU-a zubne paste moraju sadržavati određenu razinu biološki dostupnih fluorida. U gotovo svim ostalima dijelovima svijeta moguće je naći samo tri osnovna fluoridna spoja – natrijev fluorid, natrijev monofluorofosfat ili kositreni fluorid (3).

Koncentracija dozvoljenih fluoridnih spojeva također je zakonski regulirana. U Europi zubne paste mogu sadržavati maksimalno 1500 ppm fluorida (koncentracije u relativnim proporcijama), a zubne paste namijenjene djeci u dobi od 6 godina i manje od 250 do 1500 ppm fluorida. U SAD-u su dopuštene niže koncentracije fluorida zbog statusa lijeka koji fluoridni spojevi imaju u toj zemlji. Tako je najveća dopuštena koncentracija fluorida za dob iznad 2 godine 1150 ppm, a koncentracije unutar zubnih pasta su od 850 do 1150 ppm fluorida (3).

### **1.2.2. Nefluoridni antikarijesni sastojci**

Zubne paste s kazein fosfopeptidom-amorfnim kalcijevim fosfatom (engl. *Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Flouride Phosphate*, CPP-ACP) predstavljaju biološki dostupne kalcijeve i fosfatne ione s ciljem sprječavanja demineralizacije tvrdih zubnih struktura i poticanjem remineralizacije. Osim što CPP-ACP imamo u obliku pasti, na tržište dolaze i u sastavu žvakaćih guma. S obzirom na to da sadrže mliječni protein (kazein), osobe s poviješću alergije na mlijeko ne bi ga smjele upotrebljavati. Od ostalih čimbenika sa sličnim učinkom imamo nanohidroksiapatil, arginin bikarbonat i trikalcijev fosfat (3).

### **1.2.3. Sastojci koji djeluju protiv gingivitisa**

Antiplak sastojci u oralnoj upotrebi moraju imati sposobnost produljenog zadržavanja na oralnim površinama i polaganog otpuštanja (supstantivnost) te široki antimikrobni spektar djelovanja s niskom toksičnošću i visokom kompatibilnošću s drugim sastojcima u zubnim pastama (3).

Najčešće primjenjivani sastojci koji imaju antimikrobni učinak su triklosan, klorheksidin, kositreni klorid/fluorid i cinkov citrat/klorid (3). Triklosan/kopolimer u zubnim pastama reducira plak i gingivitis, a klorheksidin, koji ima široku antimikrobnu aktivnost, pokazao se učinkovitijim u kontroli stvaranja plaka od triklosana (8, 9). Cinkov citrat 2 %-tni s 0,3 %-tnim triklosanom u konvencionalnim zubnim pastama s fluoridima u usporedbi 0,3 % / 2 %-tnim kopolimerom pokazuju značajnu razliku u smanjenju održivosti bakterija u plaku 12 sati nakon četkanja (10).

### **1.2.4. Sastojci protiv stvaranja kamenca**

Kontrola mineralizacije supragingivnog plaka postiže se inhibitorima rasta kristala. Takvi inhibitori uključuju pirofosfate, fosfonate, cinkove soli te kopolimer metil vinil etera i maleičnog anhidrida (3). Uloga pirofosfata je da inhibiraju rast jezgara mikroskopskih kristala kalcijeva fosfata koji su nađeni u zubnom plaku, a da pri tome ne utječu na remineralizaciju ranih karijesnih lezija (11). Uz to oni vežu i slobodni kalcij iz sline i sprječavaju da se taloži na površini zuba (12).

### **1.2.5. Sastojci protiv zadaha**

Zubne paste koje u svom sastavu sadrže triklosan/kopolimer/natrijev fluorid su učinkovite u redukciji bakterija u ustima, uključujući i sumporne spojeve u zadahu. Soli cinka se najčešće koriste za te svrhe jer, uz posjedovanje antimikrobnih svojstava, reagiraju s hlapljivim spojevima sumpora te ih pretvaraju u nestabilne cinkove soli (3). Triklosan (kloksifenol) je klorirani bifenolni antiseptik djelotvoran protiv gram pozitivnih i većine gram

negativnih bakterija, te protiv gljivica. Također, fluoridi koji se dodaju zbog antikarijesnog učinka djeluju i baktericidno (12).

### **1.2.6. Sastojci za sprječavanje dentalne erozije**

Natrijevi ili kositreni fluoridi su najčešće korišteni sastojci u zubnim pastama za koje se vjeruje da su učinkoviti u sprječavanju dentalne erozije (3).

### **1.2.7. Sastojci za olakšavanje preosjetljivosti zubi**

Dentinska preosjetljivost je relativno česta pojava koja se može pojaviti na jednom ili više zubi, a liječi se stroncijevim solima (acetat, klorid), kositrenim fluoridom, kalcij natrijevim fosfosilikatom („bioglass”) i arginin bikarbonatom u kombinaciji s kalcijevim karbonatom. Mehanizam njihova djelovanja je u zatvaranju dentinskih tubulusa te interferenciji u provođenju živčanih impulsa. Za desenzibilizaciju se koriste i soli kalija, citrata i nitrata. Njihova koncentracija u zubnim pastama je relativno visoka (oko 5 % ukupnog volumena) te utječu na negativan okus (gorčinu) zubne paste (3).

### **1.2.8. Modifikator viskoznosti i reologije**

Karboksimetilceluloza, hidroksietilceluloza, karagenan, ksantanska guma, celuloza guma i umreženi poliakrilati su najčešće korišteni modifikatori viskoznosti i reologije. Imaju svrhu proizvodnje gela koji sadrži homogenu raspodjelu svih sastojaka paste za zube te sprječavaju razdvajanje komponenata tijekom dugih razdoblja skladištenja. Koriste se u koncentracijama od 0,5 do 2,0 % ukupnog volumena (3).

### **1.2.9. Površinske aktivne tvari**

Natrijev lauril sulfat (engl. *Sodium Lauryl Sulphate*, SLS) najčešće je korišteni surfaktant u zubnim pastama te pripada skupini anionskih surfaktanata, a kokamidopropil

najčešći je amfoterni surfaktant/deterdžent. Koriste se u koncentracijama od 0,5 do 2,5 % ukupnog volumena. Osim što pjene zubne paste, surfaktanti pomažu u intraoralnoj disperziji pasta i u micelizaciji njezinih hidrofobnih sastojaka (sastojci protiv plaka i pojačivači okusa) (3). Sapuni ili deterdženti dodaju se zubnim pastama kako bi snizili površinsku napetost, razvili pjenu i djelovali antimikrobno (12).

#### **1.2.10. Sredstva za zadržavanje vlage**

Glicerol i sorbitol su najčešće korišteni humektanti zbog svoje kompatibilnosti s ostalim sastojcima zubnih pasta. Zaslužni su za glatki, sjajni i homogeni izgled zubne paste (3).

#### **1.2.11. Okusi**

Okusi mente, cimeta, limuna i različiti biljni okusi su najčešće upotrebljavani u zubnim pastama. Koriste se u koncentracijama između 0,3 i 2,0 % ukupnog volumena. Najskuplji su i najnestabilniji sastojci, a dodaju se iz kozmetičkih i okusnih razloga te prikrivaju neugodan okus surfaktanata (3).

#### **1.2.12. Konzervansi**

Natrijev benzoat, etil i metil paraben najčešće su korišteni konzervansi. Dodaju se u koncentracijama od oko 0,2 %, a kombiniraju se sa zubnim pastama koje ne sadrže ionski surfaktant (3). Dodaju se zubnim pastama kako bi se spriječio razvoj bakterija unutar tube, odnosno pakiranja paste. Oni ne razvijaju antiseptički učinak na bakterije u usnoj šupljini (12).

#### **1.2.13. Zasladivači**

Saharin je umjetni zasladivač koji se najčešće koristi u zubnim pastama. Ksilitol se također može smatrati zasladivačem iako je njegova primarna uloga u prevenciji karijesa.

Dodaju se u koncentracijama manjim od 0,5 % ukupnog volumena, a ksilitol u koncentraciji od oko približno 10 % ukupnog volumena (3).

#### **1.2.14. Bojila**

Titanijev dioksid u koncentraciji od približno 1 % ukupnog volumena koristi se za dobivanje bijele jezgre paste, a umjetne boje u koncentraciji od otprilike 0,1 % ukupnog volumena dodaju se u svrhu dobivanja obojenih pruga ili obojene jezgre (3). Boja mora imati jednak vijek trajanja kao i pasta. U zubne paste dodaju se boje koje se rabe i u prehrambenoj industriji (12).

#### **1.2.15. Voda**

Pročišćena voda je najjeftiniji sastojak zubnih pasta. Važno je otapalo za anorganske aktivne sastojke i fluoride (3).

### **1.3. Izbjeljujući sastojci zubnih pasta**

#### **1.3.1. Abrazivi**

Abrazivi su netopive komponente koje se dodaju zubnim pastama s ciljem mehaničkog uklanjanja mrlja, plaka i ostataka hrane sa zubnih površina. Uz sredstva za pjenjenje pridonose mehaničkom uklanjanju zubnoga plaka kao i mehaničkom uklanjanju vanjskih obojenja. Namijenjeni su čišćenju i poliranju zubi uz mogućnost uklanjanja mekih naslaga i vanjskih obojenja ostavljajući za sobom glatku i sjajnu površinu zuba nakon čišćenja. Najčešće korišteni abrazivi u zubnim pastama su hidratirani silicijev dioksid, kalcijev karbonat, dikalcijev fosfat dihidrat, kalcijev pirofosfat, natrijev metafosfat, aluminij, perlit (70 – 75 % silicijev dioksid), natrijev bikarbonat i nano-hidroksilapatit (3, 13). Oblik, veličina, tvrdoća čestica te raspodjela veličine, koncentracija i primjena sila tijekom akta četkanja zubi utječu na postupak i djelotvornost čišćenja. Obično su to zubne paste srednje (RDA 60 – 100) do visoke (RDA > 100) abrazivnosti (13). Paste za zube čija je vrijednost RDA (engl. *Relative Dentin Abrasion*)



ispod 250 općenito su prihvaćene kao sigurne (5). Većina korištenih zubnih pasta imaju srednju abrazivnu vrijednost (RDA 60 – 100). Prema FDA (engl. *Food and Drug Administration*) gornja prihvatljiva vrijednost za abrazivnost čestica je 200, a prema ADA 250 (14). RDA vrijednosti numerički su navedene u tablici 2. Izbjeljujuće zubne paste u svom sastavu većinom imaju RDA vrijednosti abrazivnih čestica između 90 i 150 (14, 15).

Hidratirani silicijev dioksid i kalcijev karbonat su najčešće korišteni abrazivi i obično se koriste u koncentracijama između 8 i 20 % w/w, dok se natrijev bikarbonat može koristiti u više od 50 % ukupnog volumena (3). Dikalcijev fosfat dihidrat i kalcijev pirofosfat se također koriste, ali se zajedno s kalcijevim karbonatom ne bi smjeli miješati s natrijevim fluoridom iz zubne paste zbog loše bioraspodjelivosti fluora (3). Hidratirani silicijev dioksid ima i prioritet izbora kao abraziv koji se koristi u gelovima, a aluminij i perlit imaju polirajuća svojstva. S obzirom na to da imaju veliki učinak abrazivnosti na zubnim površinama, aluminij i perlit se u niskoj koncentraciji (oko 1 – 2 % ukupnog volumena) koriste u kombinacijama s uobičajenim abrazivima i/ili s kemijskim izbjeljujućim sredstvima (3). Perlit (amorfno silikatno staklo) se primjerice u proizvodnji zbog svoje visoke abrazivnosti kombinira s malim abrazivnim česticama koje su primjenjive u izbjeljujućim zubnim pastama (14). Pickles i suradnici te Collins i suradnici su u svojim istraživanjima inkorporirali u pasti za izbjeljivanje perlit s kalcijevim karbonatom te dobili značajne rezultate u uklanjanju vanjskih mrlja s površine zubi, što ide u prilog učinkovitosti abrazivnih sustava s izbjeljujućih svojstvima u pastama za zube (16, 17). Zubna pasta koja u sebi sadrži perlit, koji je između ostaloga *pH* neutralan i kemijski inertan, učinkovitija je u uklanjanju mrlja sa zuba te prevenciji nastanka mrlja u odnosu na pastu za zube koja sadrži samo silicijev dioksid kao abraziv (18). S obzirom na visoku abrazivnost, perlit i aluminij je potrebno koristiti s dozom opreza. Ograničena svojstva abraziva u izbjeljujućim zubnim pastama je ta što ne zahvaćaju sve obojene površine zubi kao što su aproksimalne plohe zuba, gingivalna područja i područja malookluzije. Također, problem je i u veličini abrazivnih čestica. Oblik, veličina, određena raspodjela tvrdoće i veličine abrazivnih čestica te primjena sila prilikom akta četkanja utječu na sam postupak čišćenja. Ukoliko su abrazivne čestice prevelike, prilikom akta četkanja dolazi do isklizavanja abrazivnih čestica iz čekinja zubne četkice te one kao takve posljedično ne mogu ostvariti adekvatan učinak (5).

Sintetičke čestice hidroksilapatita, biomimetička sredstva koja se koriste u zubnoj njezi, imaju abrazivno djelovanje, a zbog svoje sličnosti strukturi zuba izbjeljujući učinak se ne pripisuje samo poliranju već i toj sličnosti zubnoj strukturi (15, 19, 20). Dabangolu i suradnici su u *in vitro* uvjetima s česticama hidroksilapatita postigli dobre rezultate izbjeljivanja na

ekstrahiranim ljudskim premolarima, ali sam učinak/razlog izbjeljivanja praktički je nepoznat (21). Čestice hidroksilapatita također predstavljaju obećavajuću alternativu kemijskim sredstvima za izbjeljivanje te predstavljaju dobru prevenciju dentinske preosjetljivosti nakon korištenja konvencionalnih tehnika izbjeljivanja zuba.

Tablica 2. Numeričke RDA vrijednosti u zubnim pastama. Preuzeto i modificirano od Relative Dentin Abrasivity (RDA) [Internet], Distinctive Dentistry, 2020 [citirano 15.7.2023.]. Dostupno na: <https://www.davidmartindds.com/blog/relative-dentin-abrasivity-rda>.

<b>RDA vrijednosti</b>	
<b>0–70</b>	Mala abrazivnost
<b>70–100</b>	Srednja abrazivnost
<b>100–150</b>	Visoka abrazivnost
<b>150–250</b>	Gornja prihvatljiva granica

### 1.3.2. Enzimi

Enzimi biljnog podrijetla predstavljaju revoluciju u higijeni usne šupljine. Imaju snažno djelovanje protiv nastanka obojenja/mrlja na zubima bez prisutnosti kemijskih izbjeljivača. Izbjeljujući efekt proteolitičkih enzima se postiže razgradnjom proteina jer je većina molekula pigmentata vezana za pelikulu koja sadrži protein. Bromelain, proteolitički enzim dobiven iz ananasa (lat. *Ananas comosus*) učinkovito uklanja obojenja zuba. Papain, ekstrakt iz papaje (lat. *Carica papaya*) u kombinaciji s bromelainom postiže značajan učinak izbjeljivanja. Hidrolizom pelikule, papain i bromelain preveniraju akumulaciju bakterija i mrlja na zubnim površinama. Zubne paste koje sadrže papain su približno pH neutralne (pH oko 7), pa kod pacijenata koji imaju problema s preosjetljivošću zubi i kod kojih su paste za zube s abrazivima kontraindicirane predstavljaju najbolju alternativu u izbjeljivanju zubi i kontroli zubnih obojenja. Neutralna pH vrijednost zubnih pasta koje sadrže papain garantiraju enzimatsku aktivnost bez straha od mogućnosti demineralizacije zubne cakline. Uspoređujući zubne paste biljnog podrijetla s komercijalno dostupnim kemijskim pastama za izbjeljivanje, Kalliath i suradnici dokazali su da zubne paste biljnog podrijetla daju slični izbjeljujući efekt kao i konvencionalne kemijske zubne paste za izbjeljivanje i to s manjim promjenama na caklini zuba (23). Patil i suradnici su koristili zubne paste s enzimskim komponentama (papain i bromelain) te ih uspoređivali s abrazivnim komponentama u pastama (perlit/kalcijev karbonat). Obje paste pokazale su se učinkovitima u uklanjanju mrlja, ali paste s enzimima su postigle bolje rezultate u usporedbi s abrazivima (24). Ranije, u *in vitro* i *in vivo* studijama uočeno je da su proteolitički enzimi u zubnim pastama, papain i bromelain, učinkovitiji u uklanjanju vanjskih obojenja u odnosu na kontrolne skupine (25, 26).

Lizozimi i peroksidaze se također koriste u zubnim pastama. Bitno je istaknuti da kod korištenja enzimima poseban naglasak treba staviti na uvjete skladištenja. Većina enzima stabilna je samo kratko vrijeme na sobnoj temperaturi. Čak i tijekom proizvodnog procesa te pri temperaturama prijevoza i skladištenja može doći do njihove inaktivacije (6).

### 1.3.3. Peroksidi

Vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ) je najčešće korišten peroksid za izbjeljivanje zubi. Koristi se u različitim koncentracijama, a osim njega koriste se i karbamid peroksid, natrijev perborat i

njihove kombinacije. Prilikom kontakta sa zubnom površinom dolazi do kemijske reakcije, tj. razgradnje peroksidnih spojeva. Postoje dvije kemijske teorije koje objašnjavaju izbjeljujući efekt vodikova peroksida. Aktivni vodikov peroksid se razlaže u  $H_2O$  i  $O_2$  te, u prisutnosti  $OH^-$  aniona, formira perhidroksilni radikal ( $HO_2$ ) u kratkom periodu. Normalno oksidacijsko djelovanje vodikova peroksida ovisi o pH vrijednosti. U bazičnom pH stvara se više perhidroksilnog radikala koji ima jaču oksidacijsku moć za razliku od kiseloga pH, gdje se stvara više superoksidnog aniona. Iz tog razloga se u sredstvima za izbjeljivanje nastoji postići bazični ili barem neutralni pH. Velika oksidativna snaga slobodnog radikala razlaže makromolekule pigmentata zubnog obojenja u manje molekule obojenja, a jednostavnije molekule nastale postupkom izbjeljivanja reflektiraju više svjetla, mijenjajući izgled zuba u svjetliju nijansu (27, 28). Druga teorija mehanizma djelovanja peroksida je da otvara ugljični prsten pigmentiranih molekula pretvarajući ih u lance svjetlije boje. Žuti ugljikovi spojevi s dvostrukom vezom se pretvaraju u gotovo bezbojne hidroksilne spojeve (29). Koncentracije vodikova peroksida u sredstvima za izbjeljivanje zubi su različite, od 3 do 38 %. Smatra se da peroksidi prilikom kontakta sa zubnom površinom ili prodirući u zubno tkivo razaraju molekule pigmentata, proizvodeći na taj način izbjeljujući efekt kemijskom reakcijom (13). Izbjeljivanje karbamid peroksidom se razlikuje od izbjeljivanja vodikovim peroksidom. Karbamid peroksid razgrađuje se na ureu [ $CO(NH_2)_2$ ] i vodikov peroksid. Tako se npr. raspadom 10 % karbamid peroksida oslobađa 6,6 % uree + 3,4 % vodikova peroksida (30). Urea se poslije razlaže na ugljikov dioksid ( $CO_2$ ) i amonijak ( $NH_3$ ), a vodikov peroksid na  $H_2O$  i  $O_2$  formirajući, kao nusproizvod kemijske reakcije, perhidroksilne radikale  $HO_2$  (30). Komercijalno dostupni proizvodi na bazi peroksida (engl. *Over-The-Counter*) u različitim koncentracijama pokazali su se učinkovitima u uklanjanju zubnih obojenja. Nema dovoljno dokaza da su zubne paste s peroksidima dovoljno djelotvorne jer je koncentracija peroksida u takvim pastama obično niska (obično 1 % za vodikov peroksid ili 0,5 – 0,7 % za kalcijev peroksid), te se u kombinaciji s kratkim vremenom djelovanja prilikom četkanja zuba dovodi u pitanje uklanjanje unutrašnjih obojenja. Sigurno je to da mogu izbijeliti pelikulu na površini zuba (5). Ipak, korištenje 1 % vodikova peroksida i natrijeva bikarbonata u zubnim pastama značajno je smanjilo žutu boju zuba (os  $b^*$ ) i povećalo svjetlinu zuba ( $L^*$ ) u *in vitro* uvjetima u usporedbi s kontrolnom skupinom koja je sadržavala natrijev bikarbonat (31). Zubne paste s 0,5 % kalcijeva peroksida pokazale su se učinkovite u reduciranju prirodnih vanjskih obojenja u usporedbi s placebo pastom za zube nakon 6 tjedana korištenja (32). Kalcijev peroksid u kombinaciji s kalcijevim karbonatom u zubnoj pasti pokazao se značajno učinkovit u uklanjanju obojenja tijekom šestotjednog korištenja (33). Studije su dokazale i da natrijev hidrogenkarbonat (soda

bikarbona) u kombinaciji s peroksidima u zubnim pastama ima dobar izbjeljujući učinak. Natrijev hidrogenkarbonat je biološki kompatibilan s kapacitetima puferiranja kiselina, u visokim koncentracijama djeluje antibakterijski te ima relativno malu abrazivnost, a prednost mu je i niska cijena. Kao dio svakodnevne oralne higijene, pasta za zube na bazi sode bikarbone je poželjna, alternativna ili dodatna mjera za uklanjanje i izbjeljivanje zubnih obojenja. Predstavlja i sigurni sastojak te ima niski abrazivni potencijal u kontaktu sa zubnim površinama. Zubna pasta s peroksidom i natrijevim bikarbonatom pokazala se značajno učinkovitijom u uklanjanju egzogenih obojenja naspram konvencionalne paste koristeći se mjerenjem pomoću modificiranog Macpherson Lobene Stain Indexa (MLSI) i Vita Classical ključa boja (34).

#### 1.3.4. Optički pigmenti

Plavi pigment (engl. *Blue Covarine*) stvara odmah vidljiv optički učinak izbjeljivanja uslijed taloženja plavog pigmenta na površini cakline. Plavi kovarin je sastavljen od modificiranog silicija i plavog pigmenta. Pomicanjem spektra apsorpcije i refrakcije boje sa žute na plavu daje se dojam svjetlijih zubi. Plava boja poništava žutu na spektru boja kreirajući tako vizualni doživljaj bjeljih zubi. Taj mehanizam izbjeljujuće aktivnosti objasnili su u studijama Kleber i suradnici i Gerlach i suradnici, u kojima su prikazali kako je pomak žuto-plave osi ( $b^*$  os) važniji za percepciju bijelih i svjetlijih zubi nego povećanje svjetline ( $L^*$  os) ili promjene u zeleno-crvenoj osi ( $a^*$  os) unutar CIELab prostora boja (31, 35, 36). Collins i suradnici pokazali su u kliničkoj studiji, analizirajući digitalne fotografije zubi, da četkajući jedanput dnevno zube sa zubnom pastom koja sadrži plavi pigment može dati značajan i trenutačni učinak u redukciji žute boje ( $b^*$  os) i povećati bjelinu zuba u odnosu na početnu vrijednost (37). U prilog tomu idu i rezultati dobiveni istraživanjem u kojem je nakon 2 tjedna korištenja paste za zube koja je sadržavala plavi pigment zubna površina postala svjetlija u usporedbi s početnom bojom. Također su pokazali značajnu i trenutačnu redukciju u  $b^*$  osi (žuto-plava) u usporedbi s početnim mjerenjem i kontrolnom skupinom (38). Koncentracije plavog pigmenta u zubnim pastama su od značajne važnosti. Naime, zubne paste s većim koncentracijama plavog pigmenta učinkovitije su od onih koje sadrže manje koncentracije tog pigmenta (39, 40). Promatrajući  $b^*$  os, Tao i suradnici dokazali su da veće koncentracije plavog pigmenta u pastama daju bolje rezultate u usporedbi s onima koje imaju manju koncentraciju tog pigmenta, kao i od onih koje uopće ne sadrže plavi pigment u svom sastavu (39). Redukcija u  $a^*$  osi kod korištenja plavog pigmenta daje statistički značajnu razliku samo netom nakon

četkanja. Koncentracija plavog pigmenta u zubnim pastama je bitan čimbenik u trenutačnoj percepciji bjeline zubi, ako se tomu nadoda sintetski organski spoj poput „brilliant Blue FCF” koji se koristi kao plavo bojilo za prerađenu hranu, lijekove, dodatke prehrani i kozmetiku, inače poznat i kao E 133, dobije se trenutačni i perceptibilni izbjeljujući učinak svakim trenutkom korištenja (40). U *in vitro* uvjetima zadržavanje plavog pigmenta na površini zuba procijenjeno je na samo 120 minuta u vodenom okružju. S obzirom na to da se vrijednosti  $\Delta b^*$  nisu značajno promijenile nakon 60 i 120 minuta ispiranja vodom, nagađa se da bi optički učinak mogao trajati duže od tog vremena (41). Ipak, dugotrajnost i stabilnost učinka izbjeljivanja u *in vivo* uvjetima mogu biti drukčiji i potrebno ih je dalje istraživati.

### 1.3.5. Aktivni ugljen

Aktivni ugljen je nanokristalni oblik ugljena s visokom specifičnom površinom ( $>1000 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ) i velikim brojem pora u nanometarskom rasponu (6). Može se dobiti grijanjem organskih materijala poput ugljena ili drva. Djeluje na velikoj površini te upravo zbog toga ima mogućnost apsorpcije pigmenata i mrlja odgovornih za promjenu boje zuba. Smatra se da zbog visoke apsorpcijske sposobnosti zubne paste na bazi ugljena mogu utjecati na fluoridne sastojke u pastama za zube. Naime, aktivni ugljen u zubnim pastama u kombinaciji s fluoridima može utjecati na smanjenje remineralizacijskih sposobnosti cakline, a posljedično smanjiti njenu otpornost na karijes i procese trošenja zuba (42). Vjeruje se da bi aktivni ugljen, s obzirom na to da se koristi kao apsorber teških metala i otrova u medicini te kao antidot kod akutnih trovanja, mogao biti i dobar sastojak za apsorpciju tvari odgovornih za neugodni zadah – halitozu (42). Međutim, takve bi se teze trebale istražiti te znanstveno potkrijepiti. Isto kao što bi adsorpcijski mogao djelovati na tvari koje uzrokuju halitozu, tako bi mogao imati i apsorpcijski utjecaj na mirise i ulja koji se dodaju zubnim pastama isto s ciljem uklanjanja neželjenih mirisa (42).

Paste za zube i prašci na bazi ugljena za izbjeljivanje naveliko su dostupni u ljekarnama, supermarketima i internetskim trgovinama. Brooks i suradnici su u svom pregledu literature uočili da se 96 % proizvoda na bazi ugljena promoviraju kao proizvodi s izbjeljujućim efektom, remineralizacijskim i antibakterijskim svojstvima iako nema znanstveno utemeljenih dokaza da su ova sredstva učinkovita u izbjeljivanju zubi (43). Savjetuje se dobro upoznavanje sa sastojcima zubnih pasti s izbjeljujućim supstancijama te je potrebno dati prednost provjerenim

proizvođačima prilikom njihova odabira s ciljem njihove sigurne upotrebe prilikom uklanjanja obojenja te kontrole nastajanja novih obojenja zubi uzrokovanih kromatogenima iz hrane i pića (43).

Vaz i suradnici su u istraživanju u laboratorijskim uvjetima procjenjivali izbjeljujući efekt paste za zube na bazi ugljena te ustanovili da postoji mali izbjeljujući efekt, međutim ti rezultati su temeljeni na subjektivnim procjenama u promjeni boje koristeći se Vita Classical Shade ključem boja (44). U usporedbi s konvencionalnom metodom izbjeljivanja zubi s 10 % karbamid peroksidom, aktivni ugljen u kombinaciji s kokosovim uljem nije učinkovit kao sredstvo za izbjeljivanje zubi iako se pokazalo da postoji određeni stupanj izbjeljivanja (45).

#### **1.4. Uzroci obojenja zuba**

Vidljivi dio tvrde zubne strukture u ustima (kruna zuba) sastoji se od cakline, dentina i zubne pulpe. Bilo kakva obojenja u tom dijelu zuba uzrokuju promjene u percepciji optičkih svojstava zuba kao što su transmisija i refleksija svjetlosti. Ovisno o etiologiji, pojavnosti, lokaciji i vrsti obojenja te afinitetu kromogena na samu zubnu površinu, obojenja dijelimo na vanjska, unutarnja i internalizirana obojenja zuba (46).

##### **1.4.1. Unutarnja (intrinzična) obojenja**

Unutarnje promjene boje nastaju nakon strukturalnih promjena sastava ili debljine tvrdih zubnih tkiva (cakline i/ili dentina). Normalna boja zuba određena je plavim, zelenim i ružičastim nijansama cakline te je poduprta žutom do smeđom nijansom dentina ispod nje (47). Poznato je da brojne metaboličke bolesti i sistemski faktori utječu na razvoj denticije te uzrokuju promjene boje. Razni traumatski podražaji mogu utjecati na boju zuba i to u preeruptivnoj i posteruptivnoj fazi nicanja zuba, kao i endodontski terapijski postupci na zubima tijekom života. Tako imamo podjelu unutarnjih obojenja na šest podgrupa: a) metabolička, b) hereditarna, c) jatrogena, d) traumatska, e) idiopatska i f) uzrokovana fiziološkim procesom starenja (47). Ekološki i nasljedni čimbenici u nastajanju unutarnjih obojenja prikazani su u tablici 3 (47).

Tablica 3. Ekološki i nasljedni čimbenici koji utječu na nastajanje unutarnjih obojenja zubi. Preuzeto i modificirano od Mortazavi H, Baharvand M, Khodadoustan A. Colors in tooth discoloration: a new classification and literature review. *Int J Clin Dent*. 2014;7(1):17–27.

Ekološki		Nasljedni	
<b>Prenatalni/Intrauterini</b>	Postnatalni	Ograničeni samo na zube	Udruženi sa sistemskim oboljenjima
<b>Majčina terapija lijekovima (tetraciklini)</b>	Terapija lijekovima (tetraciklini, fluoridi)	<i>Amelogenesis imperfecta</i>	<i>Epidemolysis bullosa</i>
<b>Infekcija majke</b>	Hematopoetski	<i>Dentinogenesis imperfecta</i>	<i>Porfiria congenita</i>
<b>Toksemija u trudnoći</b>	poremećaji <i>Erythroblastosis fetalis</i> <i>Icterus gravis neonatorum</i> Srpasta anemija Talasemija Infekcije Ospice, vodene kozice Šarlah Nutritivni deficit	Dentinska displazija	<i>eritropoetica</i> <i>Osteogenesis imperfecta</i>

Velik broj antibiotika, antimikotika, antiaritmika, ACE inhibitora, sedativa i esencijalnih ulja mogu uzrokovati obojenja zubi. Osim na zubima potiču pigmentacije i u drugim tkivima kao što su oralna sluznica, nokti, koža i kosti, međutim samo 3 – 8 % dugoročnih korisnika bude pogođeno (47). Lijekovi koji uzrokuju zubna obojenja prikazani su u tablici 4 (47).



Tablica 4. Prikaz lijekova koji utječu na pojavu zubnih obojenja. Preuzeto i modificirano od Mortazavi H, Baharvand M, Khodadoustan A. Colors in tooth discoloration: a new classification and literature review. Int J Clin Dent. 2014;7(1):17–27.

<b>Ciprofloxacín</b>	Pentamidín
<b>Clarithromicin</b>	Perindopril
<b>Co-amoxiclave</b>	Propafenon
<b>Enalapril</b>	Quinapril
<b>Eterično ulje</b>	Ramipril
<b>Etidronate</b>	Terbinafini
<b>Fosinopril</b>	Tetraciklini
<b>Metronidazol</b>	Trandolapril
<b>Minociklin</b>	Zopiclone
<b>Penicilini</b>	

#### 1.4.2. Vanjska (ekstrinzična) obojenja

Vanjske promjene boje nastaju uslijed odlaganja kromogena iz hrane na površinu cakline ili unutar pelikule. Potencijalni izvori obojenja su: kava, čaj, crno vino, gazirana pića, pigmentirani sokovi (borovnice, cikla, višnja) i cigarete. Sredstva za ispiranje usta na bazi klorheksidina kod parodontno kompromitiranih osoba, pogotovo kod većih koncentracija toga kationskog antiseptika, mogu uzrokovati vanjska obojenja zubi. Podrijetlo vanjskih obojenja može biti a) metalno – indirektno obojenje i b) nemetalno – direktno obojenje (46).

#### 1.4.3. Internalizirana obojenja

Internalizirana obojenja su posljedica prodora vanjskih kromogena u unutarnju zubnu supstancu, koji mogu prodrijeti kroz razvojne ili stečene defekte u caklini i dentinu te porozne površine izloženog dentina. Opisuju promjene u normalnoj boji zuba uzrokovane karijesom (od bijelih lezija do opsežnih crnih diskoloracija), trošenjem zubi (parafunkcije, lom cakline uz rub ispuna), gingivnom recesijom, napuknućima, kemijskim oštećenjima zuba i primjenom raznih restaurativnih materijala (siva i crna obojenja oko amalgamskih ispuna). Unutarnja, vanjska i

internalizirana obojenja zuba produciraju različite pigmente u zubnim strukturama, kako je prikazano u tablici 5 (47).

Tablica 5. Prikaz obojenja zubi i boje koju produciraju. Preuzeto i modificirano od Mortazavi H, Baharvand M, Khodadoustan A. Colors in tooth discoloration: a new classification and literature review. Int J Clin Dent. 2014;7(1):17–27.

<b>Tip diskoloracije</b>	<b>Boja koju producira</b>
<i>Unutarnji metabolički uzroci</i>	
<b>Kongenitalna eritropoetska porfirija</b>	Crvena/smeđa ili ljubičasta/smeđa
<b>Alkaptonurija</b>	Smeđa
<i>Nasljedni uzroci</i>	
<b>Amelogenesis imperfecta</b>	Žuto-smeđa ili tamnožuta
<b>Dentinogenesis imperfecta</b>	Plavo-smeđa (opalescentna)
<b>Dentinska displazija</b>	Smeđa
<i>Jatrogeni uzroci</i>	
<b>Tetraciklinska obojenja</b>	Žuta, smeđa, plava, crna ili siva
<b>Minociklinska obojenja</b>	Smeđa
<b>Ciprofloksacinska obojenja</b>	Zelena
<b>Fluoroza</b>	Bijela, žuta, siva ili crna
<i>Traumatski uzroci</i>	
<b>Hipoplazija cakline</b>	Žuto-smeđa ili bijela potpovršinski
<b>Dentinska hiperkalcifikacija</b>	Žuta, žuto-smeđa
<b>Krvarenje unutar pulpne komore</b>	Sivo-smeđa, crno-ružičasta
<b>Interna resorpcija</b>	Ružičasta
<i>Idiopatski uzroci</i>	
<b>Molarno incizalna hipomineralizacija (MIH)</b>	Bijelo-žuta, smeđa
<b>Vanjska obojenja</b>	
<i>Nemetalna (direktna obojenja)</i>	
<b>Čaj, kava i druga hrana</b>	Smeđa do crna
<b>Cigarete</b>	Žuta
<b>Plak/loša oralna higijena/kromatogene bakterije</b>	Žuta, smeđa, zelena
<i>Metalna (indirektna obojenja)</i>	

<b>Željezne soli (polivalentne metalne soli)</b>	Crna
<b>Bakrene soli</b>	Zelena
<b>Srebrni nitrat</b>	Siva
<b>Kalijev permanganat</b>	Ljubičasta do crna
<b>Kositar</b>	Crna
<b>Nikal</b>	Zelena
<b>Kadmij</b>	Žuta do smeđa
<b>Jod</b>	Crna
<b>Internalizirani uzroci</b>	
<i>Razvojni nedostaci</i>	
<b>Hipoplazija cakline</b>	
<b>Hipokalcifikacija cakline</b>	
<b>Fluoroza</b>	
<i>Stečeni defekti</i>	
<b>Zubna istrošenost i gingivna recesija</b>	Žuta
<b>Zubni karijes</b>	Bijele pjege, narančasta, smeđa do crna
<b>Restauracije</b>	Smeđa, siva, crna

### 1.5. Ljudsko oko i percepcije boje u ljudskom oku

Ljudsko oko je osjetilni parni organ pomoću kojeg primamo preko 80 % informacija iz okoline. Pretvara svjetlosne podražaje u električne živčane impulse koji se optičkim živcem prenose do zatiljnog dijela mozga, gdje se nalazi centar za vid. Ljudskim vidom razlikujemo boju i percepciju dubine. Vidni kut ljudskog oka je 200° te može razlikovati veliki opseg boja (oko 10 milijuna nijansi). Razvija se u najranijem embrionalnom razvoju oko 20. dana gestacije kada dolazi do nastanka ocnog mjehurića – *vesicule ophtalmice*, osnove za daljnji razvoj oka. Građu oka možemo podijeliti na pomoćni aparat oka te njegove vanjske i unutarnje dijelove. Vanjski dijelovi oka su: bjeloočnica, šarenica, zjenica, a unutarnji: rožnica, leća, spojnica, žilnica, vidni živac, žuta pjega i mrežnica. Pomoćni aparat oka čine: kapci, suzni aparat, spojnica, vanjski mišići oka, očna šupljina, pokosnica, masno tkivo, krvne i limfne žile te živci. Na mrežnici se nalaze dvije vrste fotoreptorskih stanica – štapići i čunjići koji preko vidnog

živca prenose vizualni signal u mozak (48). Fototransdukcija je postupak u kojem se, uz pomoć fotoreceptora, hvata svjetlost i najmanja količina energije pretvara u neuralni odgovor. Fotoreceptori u ljudskom oku odgovorni za boju koncentrirani su oko središnjeg područja mrežnice (lat. *fovea centralis*). Veličina područja oko *fovee centralis* (vidno polje) je važno za usporedbu boja. Vidno polje promatrača definirano je određivanjem kuta koji zahvaća vidno polje (48). Štapići (skotopni vid) služe za gledanje uz vrlo slabo osvjetljenje te stvaraju samo crno-sivu sliku, dok čunjići (fotopni vid) stvaraju obojenu sliku. Štapići su najosjetljiviji na svjetlo valne duljine 505 nm, a čunjići na svjetlo valne duljine 555 nm. Dakle, s pomoću čunjića u mrežnici raspoznajemo boje. Prvi je Hermann Helmholtz (1821.–1894.) ukazao da čovjek ima tri skupine čunjića: čunjići osjetljivi na „crvenu” svjetlost, čunjići osjetljivi na zelenu svjetlost i čunjići osjetljivi na plavu svjetlost. Svaka se druga boja može stvoriti slaganjem crvene, zelene i plave svjetlosti (49).

Boja je vidni osjet ovisan o frekvenciji zračenja koji nastaje kao posljedica ponašanja svjetla na površini objekta koji promatramo. Nastaje kao rezultat interakcije svjetlosti s površinom medija. Ljudsko oko zapaža vidljivo zračenje, elektromagnetske valove valne duljine od približno 380 do 780 nm. Osjet ljubičaste boje izazvan je zračenjem s duljinom vala od 390 do 450 nm (najveća frekvencija, najkraća valna duljina), modre (plave) boje zračenjem od približno 450 do 500 nm, zelene od 500 do 570 nm, žute od 570 do 600 nm, narančaste od 600 do 620 nm i crvene od 620 do 780 nm (najniža frekvencija, najdulja valna duljina). Prirodna svjetlost je polikromatična što znači da je sastavljena od kontinuiranog niza boja, tj. zračenja između 380 i 760 nm, koja se rastavljaju na komponente boja – sunčev spektar. Bijela, crna i siva boja su akromatske boje jer nemaju svojstveno valno područje, već ovise o stupnju osvjetljenosti, tj. sposobnosti površine da jače ili slabije upija sva valna područja bijele svjetlosti. Boja nekog tijela ovisi o sposobnosti apsorpcije i refleksije njegove površine. Kad boja dopre do očiju, njena energija apsorbira se fotoreceptorima u mrežnici i pretvara u signal koji se interpretira u mozgu (50).

Početkom 20. stoljeća, razvojem industrija u kojoj je boja igrala veliku ulogu (grafička, računalna, tekstilna, automobilska, itd.) raste sve veće zanimanje za bročanim određivanjem boja u odnosu na određeni vizualni podražaj. Da bi se to postiglo trebalo je sve boje koje čovjek vidi objektivno bročano opisati i smjestiti ih smisljeno u neki sustav. To se postiglo eksperimentalnim putem, a boje su prezentirane u tzv. prostoru boja (51-53).

## 1.6. Određivanje boje zuba

Boja se definira trima dimenzijama koje je definirao američki slikar, umjetnik i izumitelj Albert Henry Munsell (1858.–1918.). Prema Munsellovu sustavu uređenosti boja, ona se definira vrijednostima nijansa (engl. *Hue*), svjetlina (engl. *Value*) i zasićenost (engl. *Chroma*). Pritom *hue* označava osnovni ton boje (crvena, žuta, zelena i plava), *value* predstavlja svjetlinu ili tamnoću određenog tona boje, od potpuno crne do čiste bijele boje, a *chroma* predstavlja stupanj zasićenosti, tj. intenzitet određenog tona boje (53).

Ljudsko oko percipira boju zuba kao ukupnu svjetlost koja se odbija od cakline i onu koja se disperzira i reflektira s cakline i dentina (50). Prilikom odabira boje zuba bitno je voditi računa o translucenciji, opalescenciji i fluorescenciji svjetla na površini zuba. Caklina zuba odgovorna je za *value*, translucenciju i opalescenciju, dok je dentin zaslužan za *hue*, *chromu* i fluorescenciju (50). Ovisno o vrsti mjernog instrumenta pri odabiru boje zuba razlikujemo subjektivnu vizualnu metodu procjene boje zuba i objektivne metode mjerenja zuba koje koriste matematički izračun. Mjerna pomagala i instrumente, prema tome, dijelimo na komercijalne ključeve boja, spektrofotometre, kolorimetre, spektroradiometre te tehnike digitalne analize fotografije. Ključ boja predstavlja konvencionalni alat za određivanje boje. Predstavlja brzu i komercijalno prihvatljivu metodu određivanja boje zuba, međutim zbog subjektivne procjene boje ne smatra se potpuno pouzdanom metodom. Dakako tomu pridonosi metamerizam, refleksija svjetlosti i individualna karakterizacija prirodnih zubi, koji dodatno pridonose varijabilnosti u obliku sjene (54). Ostali parametri kao što su umor, slabovidnost, zamor očiju i iskustvo promatrača mogu utjecati na odabir boje, a samim time i kompatibilnosti boje zuba s ostalim zubima u zubnom nizu. U nekolicini prvotnih istraživanja autori su naveli nedostatke ključa boja kao što su neadekvatnost i nelogična distribucija raspoloživih boja u ključu boja, nedostatak dosljednosti pri odabiru boja uz pomoć ključa boja među doktorima dentalne medicine i s njima te nemogućnost interpretacije i usporedbe rezultata dobivenih uz pomoć ključa boja sa specifikacijom boja Commission internationale de l'éclairage (54-57). Danas se kliničari u svojoj praksi redovito koriste ključem boja pri odabiru boje zuba, a ako se tomu pridoda i mjerenje boje nekom od objektivnih metoda evaluacije, npr. spektrofotometrom, dobivamo najpouzdaniji i najobjektivniji alat kojim određujemo boju zuba. Najpoznatiji i najkorišteniji ključ boja koji se koristi svugdje u svijetu je ključ boja Vita Classical (VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen, Njemačka) koji se sastoji od 16 nijansi poredanih od najsvjetlije do najtamnije (B1 – D4) i 3D Master Toothguide (VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen,

Njemačka) dizajniran 1998. godine sa širim i ujednačenim rasponom boja i njihovom boljom raspodjelom u 26 uzoraka raspoređenih u 5 skupina (53).

Naspram konvencionalnog, vizualnog određivanja boje uz pomoć ključa boja, uvedeno je digitalno određivanje boje uz pomoć spektrofotometra. Spektrofotometri su precizni, visoko pouzdani mjerni instrumenti koji detektiraju boju mjerenjem promjena u refleksiji ili transmisiji valnih duljina u razmacima od 1 do 25 nm duž vidnog spektra. Pretvaraju spektralnu refleksiju u koordinate boje (CIEXYZ, CIELAB ili CIELCH) i različite vrijednosti boje zubi. Sadrže vlastiti izvor optičkog zračenja, sredstva za širenje svjetla, optički sustav za mjerenje, detektor i sredstvo za konverziju svjetlosti uz pomoć kojeg se dobiva signal koji se može analizirati. Samim time, mogućnost pogreške svedena je na minimum. U usporedbi s vizualnim metodama i konvencionalnim tehnikama, ustanovljeno je da spektrofotometri nude 33 %-tno povećanje točnosti i više objektivno podudaranje u 93,3 % slučajeva (58). Također, bolji rezultati zabilježeni su u otprilike 47 % slučajeva koristeći se spektrofotometrom u odnosu na vizualnu metodu (59). Na tržištu postoji nekoliko vrsta spektrofotometara, a neki od najpoznatijih su Vita Easyshade Compact (VITA Zahnfabrik, Bad Säckingen, Njemačka), Crystaleye (Olympus, Japan), Shade –X (X-Rite, Grandville, MI, SAD) i SpectroShade Micro (MHT Optic Research, Niederhsali, Švicarska).

Kolorimetri su instrumenti koji mjere tristimulusne vrijednosti (CIE XYZ) filtrirajući pritom reflektiranu svjetlost objekta u crvena, zelena i plava područja vidljivog spektra i pretvarajući ih u CIELAB vrijednosti. Manje su precizni od spektrofotometra, a za razliku od spektrofotometra bilježe samo tri osnovna podatka boje – svjetlinu, nijansu te stupanj zasićenosti. Ključni optički element kolorimetra je izvor svjetlosti i detektor koji se sastoji od tri filtera koji se usklađuju s CIE funkcijom mjerenja boje ili s njihovom linearnom kombinacijom (60). Prednosti kolorimetara pri mjerenju su pouzdanost, ponovljivost i točnost pri mjerenju razlike u boji, a nedostaci su to što imaju mogućnost mjerenja samo ravnih površina, što nije slučaj kod zubi koji mogu imati anomalije na svojoj površini, pa to dovodi do pogrešnih mjernih vrijednosti i lošeg međusobnog instrumentiranja (60). Primjer kolorimetra je ShadeVision (X-Rite, Grandville, MI, SAD).

Spektroradiometri su uređaji koji mjere radiometrijske količine zračenja koje se emitiraju ili reflektiraju iz objekata duž vidljivog spektra. Njihove kolorimetrijske vrijednosti izražene su svjetlošću i osvjetljenjem za jedinice zračenja te se mogu pretvoriti u koordinate (CIEXYZ, CIELAB, CIELCH) (60). Razlike između spektrofotometra i spektroradiometra su u tome što spektroradiometri u sebi nemaju ugrađen vlastiti izvor svjetlosti te su beskontaktni mjerni

uređaji. Upravo to što su beskontaktni smatra se njihovom prednošću, međutim dostupno je znatno manje studija izrađenih na temelju spektrometrijske analize od ostalih metoda mjerenja. Razlozi za to su visoka cijena i postavljanje posebnih uvjeta osvjetljenja jer nemaju svoj vlastiti izvor svjetlosti.

Digitalna kamera i sustavi za obradu slike predstavljaju najjednostavniju metodu određivanja boje zubi i vrlo često se koriste u modernoj dentalnoj medicini. Osim beskontaktnog mjerenja, prednosti su te što mogu procijeniti boje cijele površine zuba bez obzira na zakrivljenost, brzo i jednostavno se koriste, moguća je pohrana svih podataka pa u svakom trenutku postoji mogućnost arhiviranja i naknadno korištenje dobivenih podataka. Mogućnost pogrešaka je svedena na minimum, jer su subjektivni parametri poput promatrača i okoline isključeni. Nedovoljna analiza svih sastavnica boja smatra se njihovim nedostatkom (61). Softveri kao što su Adobe Photoshop (Adobe Systems Inc., San Jose, SAD) izdvajaju RGB vrijednost i pretvaraju ih u  $L^* a^* b^*$  ili  $L^* c^* h^*$  vrijednost (62). Digitalna slika se preporučuje kao dobra alternativa spektrofotometrija i kolorimetrija, iako su metode i spektrofotometrije i analize digitalne slike dale usporedivu i objektivnu procjenu praćenja izbjeljujućeg efekta (63). Nedostaci su rijetko opisani u literaturi, međutim metamerizam bi mogao biti potencijalni problem jer metamerizam je pojava koja se javlja kada dva materijala imaju identičnu boju pod jednim osvjetljenjem, a različite boje pod drugim osvjetljenjem. Izuzevši unutarnja obojenja, digitalno snimanje korisno je za mjerenje vanjskih obojenja i određivanje nijansi boje zuba (60).

Commission internationale de l'éclairage (CIE) je 30-ih godina 20. stoljeća definirala standardni izvor svjetla koji uz standardnog promatrača omogućuje izračun vrijednosti boje. Godine 1976. uvodi se CIELAB sustav s ciljem opisivanja svih boja vidljivih ljudskom oku. CIELAB sustav sadrži tri koordinate. Os z je akromatska i prikazuje svjetlinu  $L^*$  (engl. *Luminance*) od 0 do 100, gdje je 0 vrijednost za crnu, a 100 za čistu bijelu. Os x i y su kromatske i prikazuju položaj zelene i crvene boje ( $-a^*$  do  $a^*$ ) i plave i žute boje ( $-b^*$  do  $b^*$ ). Brojčane razlike između dviju  $L^* a^* b^*$  točaka u prostoru boja izračunavaju se ekvilibrijskom udaljenošću  $\Delta E_{ab}$ :

$$\Delta E_{ab} = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (1)$$

Gornja formula je ažurirana 2000. godine (CIEDE2000,  $\Delta E_{00}$ ):

$$\Delta E_{00} = \sqrt{\left(\frac{\Delta L'}{K_L S_L}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C}\right)^2 + \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H}\right)^2 + R_T \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C}\right) \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H}\right)} \quad (2)$$

$\Delta L'$ ,  $\Delta C'$  i  $\Delta H'$  predstavljaju razlike u svjetlosti, kromatičnosti i nijansi. Težinske funkcije ( $S_L, S_C, S_H$ ) prilagođavaju ukupnu razliku u boji, dok parametarski faktori ( $K_L, K_C, K_H$ ) predstavljaju korekcije za eksperimentalne uvjete. Funkcija rotacije ( $R_T$ ) uzima u obzir interakciju između razlika vrijednosti *chroma* i *hue* u plavom području (60).

U dentalnoj literaturi nije definirano kolika mora biti točna razlika u boji ( $\Delta E$ ) da bi bilo primjetljivo oku promatrača, ali u preglednom radu Khashayara i suradnika zaključeno je da već razlika u boji  $\Delta E_{ab} = 1$  može biti prag na kojem će 50 % promatrača uočiti promjenu boje (64).

Određujući razliku u promjeni boje, ispitivani perceptibilni pragovi mjereni za promjenu boje zubi razlikuju su od autora do autora. Tako su prvi Ruyter i suradnici 1987. godine, vrijednost  $\Delta E_{ab} = 3,3$ , označili kao granicu pri kojoj se uočava promjena boje (65). U novijim istraživanjima određene su perceptibilne granice na kojima 50 % ispitanika vidi promjenu boje. Tako su Paravina i suradnici 2015. godine determinirali perceptibilnu vrijednost za  $\Delta E_{ab} = 1,2$  i  $\Delta E_{00} = 0,8$  (66). Perez i suradnici su razvili uniformnu formulu indeksa bjeline za stomatologiju temeljenu na CIELAB prostoru boja (67). Iz toga proizlazi sljedeća formula:

$$WI_D = 0,511 * L - 2,324a^* - 1,100b^*, PT \text{ za } \Delta WI_D = 0,7 \quad (3)$$

Temeljem ove formule u svom kasnijem radu Perez i suradnici definirali su perceptibilnu razliku učinka izbjeljivanja  $\Delta WI_D > 0,72$  (68).

Kleber i suradnici te Gerlach i suradnici prikazali su kako je pomak žuto-plave osi ( $b^*$  os) važniji za percepciju bijelih i svjetlijih zubi nego povećanje svjetline ( $L^*$  os) ili promjene u zeleno-crvenoj osi ( $a^*$  os) unutar CIELAB prostora boja (31, 35, 36). Pregled ispitivanih pragova  $\Delta E$  vrijednosti po literaturama prikazan je u tablici 6 (69).



Tablica 6. Pregled ispitivanih pragova  $\Delta E$  vrijednosti po literaturama. Označene vrijednosti prikazane su za zube. Preuzeto i modificirano od Paravina RD, Perez MM, Ghinea R. Acceptability and perceptibility thresholds in dentistry: A comprehensive review of clinical and research applications. J Esthet Restor Dent. 2019;31(2):103-12.

<b>Autori</b>	<b>Časopis, godina</b>	<b>Glavni nalazi</b>
<b>Ruyter i suradnici</b>	Dent Mater, 1987.	50:50 % AT: $\Delta E_{ab} = 3,3$
<b>Johnston i Kao</b>	J Dent Res, 1989.	Match/Mismatch: $\Delta E_{ab} = 3,7/6,8$
<b>Douglas i suradnici</b>	J Prosthet Dent, 1998.	50:50 % PT/AT: $\Delta E_{ab} = 0,4/1,7$
<b>Ragain i Johnston</b>	Color Res Appl, 2000.	50:50 % AT: $\Delta E_{ab} = 2,7$
<b>Ragain i Johnston</b>	J Esthet Restor Dent, 2001.	50:50 % AT: $\Delta E_{CMC} = 2,3$
<b>Douglas i suradnici</b>	J Prosthet Dent, 2007.	50:50 % PT/AT: $\Delta E_{ab} = 2,6/5,5$
<b>Lindsey i Wee</b>	J Dent., 2007.	50:50 % AT: $\Delta L^* = 1,0$ ; $\Delta a^* = 1,0$ ; $\Delta b^* = 2,6$
<b>Wee i suradnici</b>	J Prosthet Dent, 2007.	$\Delta E_{00}$ , $\Delta E_{CMC}$ nadmašeno $\Delta E_{ab}$
<b>Da Silva i suradnici</b>	J Prosthet Dent, 2008.	100 % AT: $\Delta E_{ab} = 2,7$
<b>Ishikawa-Nagai i suradnici</b>	J Dent, 2009.	100 % PT: $\Delta E_{ab} = 1,6$
<b>Ghinea i suradnici</b>	J Dent, 2010.	50:50 % PT/AT: $\Delta E_{ab} = 1,7/3,5$
<b>Pérez i suradnici</b>	J Dent, 2011.	50:50 % AT: $\Delta E_{00} = 1,9$
<b>Alghazali i suradnici</b>	J Dent, 2012.	50:50 % PT/AT: $\Delta E_{ab} = 1,9/4,2$
<b>Dietschi i suradnici</b>	Aust Dent J, 2012.	50:50 % PT/AT: $\Delta E_{ab} = 1,1/3,3$
<b>Paravina i suradnici</b>	J Esthet Restor Dent, 2015.	50:50 % PT/AT: $\Delta E_{00} = 0,8/1,8$ ; $\Delta E_{ab} = 1,2/2,7$
<b>Thoma i suradnici</b>	Int J Perio Rest Dent, 2016.	100 % PT: $\Delta E_{ab} = 1,9$
<b>Westland i suradnici</b>	J Dent, 2017.	50:50 % PT/ $\Delta WIO$ : $\Delta L^* = 1,1/2,8$ ; $\Delta a^* = 3,2/6,5$ ; $\Delta b^* = 1,1/3,1$
<b>Pérez i suradnici</b>	Dent Mater, 2019.	50:50 % PT/AT: $\Delta WID = 0,7/2,6$
<b>Salas i suradnici</b>	Dent Mater, 2018.	50:50 % PT/AT: $\Delta TP_{00} = 0,6/2,6$ ; $\Delta TP_{ab} = 1,3/4,4$

### 1.7. Utjecaj zubnih pasta za izbjeljivanje na zubnu površinu

Zubne paste s izbjeljujućim učincima mogu uzrokovati promjene na zubnoj caklini ili pridonijeti nastanku takvih promjena. Najčešće korišteni sastojci za izbjeljivanje u zubnim pastama su abrazivi koji imaju svrhu uklanjanja i sprječavanja taloženja vanjskih obojenja na površini zuba. Abrazivnost zubnih pasta se očituje u karakteristikama samih abrazivnih čestica uključenih u njihov sastav kao što su veličina, oblik, tvrdoća i raspodjela čestica te sama topivost tih čestica u vodi. Velika zrna natrijeva bikarbonata zbog svoje visoke i brze topivosti u vodi nemaju značajan utjecaj na abraziju, dok su netopive abrazivne čestice imale značajan utjecaj na hrapavost promatrane površine (70, 71). Zubne paste mogu proizvesti sličnu abrazivnost iako sadrže različite abrazive i to zbog razlike u veličini abrazivnih čestica, ali i ostalih karakteristika (71). Promatrajući promjene na cakline životinjskog podrijetla tijekom četkanja sa zubnim pastama različitih RDA vrijednosti (male, umjerene, srednje do visoke) pokazalo se da svi abrazivi imaju sličan utjecaj na promjenu hrapavosti zubne površine bez obzira na RDA vrijednost abraziva unutar zubne paste (72, 73). Za procjenu hrapavosti površine u istraživanju koje je provedeno na 20 goveđih zuba u *in vitro* uvjetima, dokazano je da pasta za zube s izbjeljujućim sastojcima ima statistički značajnu pojavu abrazivnosti na površini cakline (74). U studijama u kojima je promatran utjecaj konvencionalnog izbjeljivanja zubi s različitim koncentracijama peroksida u kombinaciji s abrazivima pokazalo se da korištenje obama metodama istovremeno utječe na pojavu hrapavosti cakline. Tako su Melo CF i suradnici ustanovili da je krajnja hrapavost ljudske zubne cakline bila značajno veća u odnosu na početne vrijednosti, a mikrotvrdoća značajno niža od početne mikrotvrdoće koristeći kombinaciju 10 %-tnog karbamid peroksida i abrazivnih zubnih pastu u vremenskom razdoblju od 2 tjedna (75). 10 %-tni karbamid peroksid i 10 %-tni vodikov peroksid nemaju utjecaj na hrapavost zubne cakline, ali dolazi do povećanja hrapavosti zubne površine upotrebom abraziva u zubnim pastama (76). Čak ni veće koncentracije samog karbamid peroksida (35 %) nemaju utjecaj na hrapavost cakline, ali u kombinaciji s četkanjem zubi s abrazivnim zubnim pastama uzrokuju promjene u caklini (77). Rode SM i suradnici su u *in vitro* studiji pokazali da je zubna pasta s hidroksidom i abrazivima u svom sastavu prouzročila veću promjenu u hrapavosti površine cakline, što posljedično može uzrokovati neželjene reakcije kod pacijenata (78). Pokazalo se da korištenje zubnih pasta za izbjeljivanje nakon nekoga od konvencionalnog (kemijskog) tretmana izbjeljivanja može biti ključan faktor u izmjenama hrapavosti zubne površine. Veliki utjecaj na pojavu povećane hrapavosti ima utjecaj i pH vrijednost korištene zubne paste.

Alkalna pH vrijednost ima manji utjecaj na zubnu površinu za razliku od pasta s niskim pH vrijednostima. Međutim, ako se prethodno zubna caklina izbjeljuje konvencionalnim putem peroksidima, neutralne i alkalne pH vrijednosti pasta za izbjeljivanje uzrokovat će alteracije hrapavosti zubne površine (72). Posebnu dozu opreza prilikom korištenja zubnih pasta za izbjeljivanje treba imati kada postoje patološka stanja zubne cakline koja rezultiraju ireverzibilnim otapanjem zubne površine bez utjecaja bakterija kao što je to slučaj u eroziji cakline. Pri djelovanju kiselina dolazi do fizičko-mehaničkih promjena u svojstvima cakline te joj se smanjuje tvrdoća i modul elastičnosti. Smatra se da je kritična pH vrijednost u ustima od 5,5 ključna za početak demineralizacijskog procesa. U svim nižim pH vrijednostima dolazi do omekšavanja površine zuba, što posljedično uzrokuje prvotno destrukciju cakline, a kasnije i dentina. Zubne paste s visokim abrazivnim potencijalom trebalo bi izbjegavati i kod pacijenata koji imaju visoki rizik za nastanak zubne erozije, posebice kod endogenih stanja poput želučanog refluksa. Studija Mosquim i suradnika je pokazala kako komercijalno dostupne zubne paste za izbjeljivanje mogu potaknuti erozivno trošenje cakline, posebno one koje sadrže pirofosfat i hidratiranu siliku, a neke od izbjeljujućih pasta povećavaju trošenje već erodiranog dentina (79). Ipak, rezultati istraživanja koje su proveli Simoes i suradnici ne podržavaju pretpostavku da četkanje zubi pastama za izbjeljivanje povećava stupanj erozivnog zubnog trošenja u usporedbi s uobičajenim pastama za zube (80). U literaturi nema dovoljno dokaza da bi se moglo sa sigurnošću reći da zubne paste za izbjeljivanje uzrokuju erozivno zubno trošenje te bi se trebala provesti dodatna ispitivanja na tu temu uzimajući u obzir sve veću zabrinutost oko erozivnih promjena zubi suvremenog čovjeka.

## **1.8. Mikronukleus test**

Devedesetih godina prošlog stoljeća, 1997. godine, razvio se međunarodni projekt pod nazivom „The Human micronucleus project” – skraćeno HUMN ([www.humn.org](http://www.humn.org)), program međunarodne suradnje s ciljem proučavanja frekvencije mikronukleusa u ljudskoj populaciji, procjene učinka i značaja rezultata dobivenih testom za karcinogenezu. Inicijalni fokus projekta bio je analiza mikronukleusa u perifernim limfocitima kod pojedinaca izloženih karcinogenim spojevima i onih koji nisu bili izloženi. Kao krajnji ciljevi HUMN projekta bili su standardizacija metodologije, definicija osnovne frekvencije mikronukleusa, učinak demografskih, genetskih i metodoloških čimbenika na učestalost pojavljivanja mikronukleusa te u konačnici utvrđivanje povezanosti povećane frekvencije mikronukleusa s povećanim

rizikom za razvoj karcinoma (81). Kasnijim analizama različitih laboratorija diljem svijeta potvrđeno je da povećana frekvencija mikronukleusa u ljudskim limfocitima korelira s povećanjem rizika od nastanka karcinoma (82). Sežući u povijest, prvi put su Stich HF i suradnici predložili evaluaciju mikronukleusa upotrebljavajući uzorke bukalne sluznice (83). Od tada se, kada je prvi put predložen, bilježi povećano zanimanje za primjenu bukalnog mikronukleus testa u istraživanjima kao relevantnog biomarkera genetskih oštećenja (84). Kako je još zabilježeno u članku Holland N i suradnika, više od 40 laboratorija iz mnogih zemalja koristilo se ili se trenutačno koristi ovim testom (84). Također, broj objavljenih članaka raste iz godine u godinu. Godine 2007. koordinacijska skupina HUMN-a odlučila je pokrenuti ekvivalentni projekt fokusiran na analizu ljudskog mikronukleus testa u bukalnim epitelnim stanicama u svrhu osiguranja komplementarne metode za mjerenje mikronukleusa u tkivu koji je lako dostupan i ne zahtijeva kulturu tkiva. Taj novi internacionalni projekt sada je poznat kao humani MN test u oljuštenim stanicama (HUMNx1) (85).

Mikronukleus test je nespecifičan kvantitativni test koji se koristi za procjenu genotoksičnog učinka. Mikronukleus testom se gledaju stanice u mitozu te su nam za njegovu evaluaciju potrebne stanice koje se često dijele. Ako u trenutku mitoze stanice izložimo nekom agensu koji bi mogao oštetiti genetički materijal, taj agens smatramo genotoksičnim. U takvom genetičkom materijalu koji smo izložili genotoksičnom agensu, nakon mitoze, primjećujemo malu jezgricu (mikronukleus) koja potječe od acentričnih kromosomskih fragmenata ili čitavih kromosoma zaostalih u anafazi nuklearne diobe. Njihova prisutnost ukazuje na indukciju oštećenja kromosoma ili proteina diobenog vretena i, sukladno tomu, koristi se kao mjera strukturnih i numeričkih aberacija kromosoma. Prednost mikronukleus testa na epitelnim stanicama bukalne sluznice je u tome što je brz, jednostavan, relativno jeftin, osjetljiv te korelira s rizikom od razvoja karcinoma. Mjerenja oštećenja stanica obavljaju se mikroskopom okometrijski ili s pomoću sustava za analizu slike u kojima je epifluorescencijski mikroskop povezan s računalom. Kao *in vivo* mjera oštećenja genoma u ljudskim stanicama, mikronukleusi mogu biti detektirani u limfocitima, eritrocitima ili oljuštenim epitelnim stanicama – npr. koje su uzorkovane s bukalne sluznice. Stanice bukalne sluznice predstavljaju prvu barijeru prilikom ingestije kancerogena koji se u tijelo unose oralnim putem, stoga se stanice oralnog epitela smatraju poželjnim ciljnim mjestom za rano genotoksično otkrivanje promjena uzrokovanih kancerogenim agensima koji mogu uzrokovati karcinome. Smatra se da 90 % ljudskih karcinoma potječe iz epitelnih stanica, stoga bi se bukalna sluznica mogla koristiti za praćenje ranih genotoksičnih zbivanja (86). Uz to, bukalna sluznica predstavlja lako dostupno tkivo koje

se može koristiti za uzorkovanje stanica na minimalno invazivan način te je u istraživanjima korišteno za procjenu brzine diobe proliferirajućih bazalnih stanica, njihove genske stabilnosti i sklonosti staničnoj smrti (86). Potrebno je naglasiti i to da je propusnost bukalne sluznice 4 – 4000 puta veća od propusnosti kože s obzirom na to da je sluznica dobro opskrbljena vaskularnom mrežom i limfnom drenažom, te se sama eliminacija štetnih tvari odvija brže nego što je to slučaj kod apsorpcije i eliminacije preko cijelog gastrointestinalnog sustava (87).

Oralni epitel je mnogoslojni pločasti, a sastoji se od 4 strukturalna sloja. Gledajući od usta prema submukozi razlikujemo: *stratum corneum* (rožnati sloj), *stratum granulosum* (zrnati sloj), *stratum spinosum* (trnasti sloj) i *stratum geminativum* (bazalni sloj). Bazalni sloj se sastoji od jednog sloja stanica različitih oblika koje se mitotskom aktivnošću dijele i koje su odgovorne za stanje epitela koji se sazrijevanjem ljušti i obnavlja. U epitelnim stanicama, mikronukleusi ukazuju na genotoksične događaje u bazalnom sloju 1 – 3 tjedna ranije, koliko je potrebno da se primarna oštećenja DNK fiksiraju na razini kromatina. Učestalost pojave mikronukleusa je mjera lomova kromosoma u ranim stadijima dijeljenja stanica ili oštećenja proteina diobenog vretena zaduženih za pravilnu razdiobu kromatida u dvije novonastale stanice nakon diobe. Njihov broj se povećava uz kancerogene agense daleko prije pojave kliničkih simptoma. Kako bi se pojavnost mikronukleusa mogla pravilno interpretirati potrebno je imati adekvatne informacije o izlaganju genotoksičnim agensima kao što je vrsta toksina, trajanje izloženosti toksinima, početak izlaganja toksinima, kao i spol, godine, genotip i pušenje. Biomarkeri vezani za mikronukleus test povezani su s povećanim rizikom za ubrzano starenje, nastanak karcinoma i nastanak neurodegenerativnih bolesti (88, 89).

Mikroskopski gledajući stanice klasificiramo na sljedeći način:

1. Normalna (diferencirana) stanica: jezgra je jednolično obojena, ovalnog ili kružnog oblika, manja od citoplazme. Bazalne stanice se razlikuju po tome što su veće. Nema ni jedne druge strukture osim jezgre koja sadrži deoksiribonukleinsku kiselinu, skraćeno DNK (engl. *Deoxyribonucleic Acid*, DNA) (89).
2. Stanica s mikronukleusom: prisutnost glavne jezgre i manjih struktura optički i morfološki jednakih jezgri, ali manjih od nje – mikronukleusa. Mikronukleus mora biti manji od trećine promjera jezgre i potpuno odvojen od nje (89).
3. Binuklearna stanica: stanica s dvije jezgre koje su istog intenziteta obojenja, oblika i veličine. Obično su jezgre u neposrednoj blizini ili kontaktu. Njihovo oblikovanje povezano je s interferencijom tijekom postupka na kraju stanične diobe i ukazuje na nepravilnosti u frekvenciji diobe stanica (90).

4. Stanica s karioreksijom: jezgru karakterizira gusto nakupljanje kromatina, stanica nema integritet jezgre te jezgra može pokazivati ekstenzivnu fragmentiranost što ukazuje na uznapređovalu nuklearnu fragmentaciju. Ova stanica možda prolazi naprednu fazu apoptoze, međutim to je još nejasno (89).
5. Stanica s kondenziranim kromatinom: karakterizira je intenzivno obojena jezgra pri čemu se pojavljuju kromatinski agregati. Ovakve stanice su angularne i plosnate s citoplazmom koja je veličine završno diferencirane stanice. Jezgre pokazuju prugasti uzorak kondenziranog kromatina. Predstavlja stadij apoptoze koji se događa zbog brze proteolize nuklearnih matriksnih proteina (90).
6. Stanica s piknotičkom jezgrom: pojavljuje se jezgra male veličine i s velikom gustoćom nuklearnog materijala koji je jednolično raspoređen i intenzivno obojen. Jezgra je obično promjerom jedne do dvije trećine jezgre u normalnim, terminalno diferenciranim stanicama. Biološko značenje stanice s piknotičkom jezgrom još uvijek nije poznato, ali se smatra da predstavljaju apoptotičku staničnu smrt (89).
7. Stanice s kariolizom: predstavljaju napredni stadij nekroze i apoptoze. Stanice nemaju jezgru koja sadrži DNK niti druge strukture koje se mogu obojiti. Pozitivna korelacija između stanica s piknotičkom jezgrom i kariolizom ukazuje da se stanice s kariolizom dobivaju iz kondenziranih kromatinskih stanica ili posredno iz stanica s piknotičkom jezgrom (89).
8. Stanica s jezgrinim pupom: jezgra predstavlja snažno suženje u svojem krajnjem dijelu formirajući pup podrijetla od jezgre. Takvi pupovi imaju istu teksturu, žarišnu ravninu i intenzitet obojenja kao i glavna jezgra. Njihov promjer je obično veličine jedne trećine ili jedne četvrtine glavne jezgre, a ponekad mogu biti i do veličine glavne jezgre. Tolbert i suradnici opisali su ih kao „broken egg” (91). Jezgrini pupovi predstavljaju amplifikaciju DNK, izlučivanje dijelova genetičkog materijala koji je amplificiran ili dijelova genetičkog materijala koji na kratkom segmentu, uslijed brojnih oštećenja, sadrži mnogo reparacijskih kompleksa (89).

Uzorkovanje bukalne sluznice može se provoditi drvenom ili metalnom špatulom, četkicama za zube, a najefikasnijima su se pak pokazale citološke četkice koje prikupljaju velik broj stanica. Prikupljene stanice se fiksiraju na predmetnom stakalcu nakon čega se boje specifičnim bojama za DNK kao što su Feulgen–Fast Green boja, May–Grunwald Giemsa (Giemsa) boja, fluorescentne boje, diamidino2-fenilindol (DAPI), akridin narančaste, Hoechst i propidij jodid. Bojanje Feulgen tehnikom smatra se adekvatnijim bojenjem zbog jasnog i

transparentnog izgleda citoplazme i DNK specifičnosti te bolje vizualizacije same jezgre (92). Odabiru Feulgen-Fast Green (skraćena FFG) bojenja preparata je naklonjeno mnogo istraživača zbog jasne identifikacije DNK i jasnog transparentnog izgleda citoplazme koji omogućuje identifikaciju mikronukleusa te je konzistentan i specifičan za DNK (84). Pri uzimanju uzoraka valja uzeti u obzir da više čimbenika utječe na broj mikronukleusa u oralnim epitelnim stanicama, a to su vrijeme prikupljanja uzorka, metoda fiksacije i bojanja uzorka, veličina i izbor uzorka stanica, način analize preparata i postojanost drugih anomalija jezgre u normalnim i promijenjenim stanicama. Algoritam za broj stanica računa se po obojenom uzorku na predmetnom stakalcu. Preporučuje se pregled 1000 stanica, a ukoliko se među njima pronađe manje od 5 stanica s mikronukleusima treba povisiti broj na 2000 do maksimalno 3000 (91). U zadnjim desetljećima, broj ovakvih testiranja se povećao zbog praktičnosti testiranja, relativno jednostavne mogućnosti uzimanja uzoraka i testiranja potencijalnih toksičnih tvari. U dentalnoj medicini mikronukleus testom analizirana je citotoksičnost konvencionalnih zubnih pasta, pasta s fluoridima i SLS-om kao i pasta za izbjeljivanje, citotoksičnost restaurativnih dentalnih materijala, utjecaj sredstava za ispiranje usta i fluoridnih zubnih pasta, rendgenskog zračenja (skraćena RTG), dentalnih implantata i ortodontskih naprava (93-101). Camargo i suradnici uočili su u istraživanju *in vitro* da paste za zube s izbjeljujućim sastojcima pokazuju veći genotoksični učinak na gingivne fibroblaste u odnosu na konvencionalne/regularne zubne paste (74). Tadin i suradnici primijetili su da izbjeljujuće zubne paste pokazuju ograničeni, biološki beznačajni genotoksični učinak na epitelne stanice bukalne sluznice (94). Analizirajući 16 komercijalno dostupnih zubnih pasta, Ghapanachi i suradnici, u studiji *in vitro*, ustanovili su da su sve zubne paste imale citotoksičan učinak, ali u različitom opsegu (102). Povećanjem izloženosti (s 1 na 5 minuta) povećavala se i citotoksičnost zubne paste.

### **1.9. Psihofizički kriteriji u procjeni dentalne estetike i bjeline zuba**

Izgled i boja zubi od velike su važnosti u estetici lica. Lijepi i njegovani zubi predstavljaju prioritet kod pacijenata, stoga ne čudi sve učestalija potražnja za estetskim zahvatima u dentalnoj medicini. Posljednjih godina fokus dentalne medicine usmjeren je na što veći stupanj estetike zubi. Težnja za besprijevnim izgledom rezultirala je sve većom potražnjom za preparatima za izbjeljivanje zuba, što za profesionalnim tretmanima izbjeljivanja, što za kućnim metodama izbjeljivanja i održavanja bjeline zuba. Primjenom znanosti o boji u stomatologiji dostupan je precizan i točan opis boje i bjeline zuba, što dentalnim stručnjacima omogućava

točnu specifikaciju boje zuba, praćenje izbjeljivanja zubi, mogućnost adekvatnih odabira estetskih materijala u restaurativnoj i protetskoj stomatologiji. Napretkom tehnologije pristup analizi estetike donje trećine lica postaje sve jednostavniji i praktičniji. Uz to, računalna tehnologija omogućuje nam arhiviranje i analiziranje dobivenih podataka, što nam omogućuje jednostavnije usporedbe i postignuća prije, za vrijeme i nakon dentalnih estetskih postupaka. Estetski rezultati ne ovise samo o materijalima, već i o samom pristupu pacijentu i njegovim željama za poboljšanjem izgleda. Za stvaranje ugodnog dojma u očima promatrača od dominantne su važnosti centralni incizivi te njihov odnos prema cijelom licu jer su oni obično u fokusu promatrača. Izbjeljivanje na vitalnim zubima je tehnika s trenutačnim rezultatima, što poboljšava pacijentov izgled i samopoštovanje. Društvene interakcije, samopoštovanje i psihološko zdravlje povezano je s izgledom zuba i privlačnosti lica. Na to utječu individualne sklonosti, kulturološki i sociodemografski čimbenici (103). Ako se naruši neka od komponenata estetike zubi, bilo zbog dentalnih bolesti ili trauma, dolazi do gubitka samopouzdanja s posljedičnim gubitkom mentalnog i tjelesnog zdravlja. Boja zubi predstavlja bitan čimbenik u određivanju zadovoljstva samim izgledom s posebnom kozmetičkom važnosti. Smatra se da je bojom zub nezadovoljno oko 30 % pacijenata (104, 105). Subherwal i suradnici procjenjivali su utjecaj boje kože i vrijednosti boje zubi na privlačnost osmijeha te su ustanovili da ispitanici nisu opazili najsvjetliju nijansu zubi i nisu uočili da je sva boja kože jednako atraktivna sa svjetlijim i bijelim zubima (106). Iako se estetika lica zasniva na individualnoj percepciji, prisutan je objektivni, fiziološki proces starenja koji utječe na boju zubi uslijed cjeloživotnog odlaganja sekundarnog dentina vitalnog zuba. Mlada caklina je hrapava i jače reflektira svjetlost i zbog toga imamo dojam da su zubi svjetliji. Starenjem dolazi do fiziološkog odlaganja sekundarnoga dentina što zube čini dodatno tamnijima. Stariji zubi uslijed četkanja i funkcionalnog trošenja postaju sve glađi pa im se pojačava ton, a gubi svjetlina. Analizirajući karakteristike ličnosti, pokazalo se da je privlačnost lica povezana sa psihološkim karakteristikama kao što je ekstrovertiranost, samouvjerenost i samopoštovanje (107). Feingold je pokazao kako je ona povezana s osobinama ličnosti kao što su dominacija, emocionalna stabilnost, inhibicija, anksioznost i samopoštovanje (108). Dong i suradnici zaključili su da postoji povezanost između privlačnosti osmijeha i osobnih karakteristika ekstrovertiranosti i male anksioznosti (109). Kershaw i suradnici su primijetili da su bjelji zubi povezani s visokom razinom socijalne kompetencije, intelektualne sposobnosti, emocionalne i psihološke ravnoteže (110). Martin J. i suradnici su pomoću Million Index of Personality Styles za prepoznavanje karakteristika ličnosti ustanovili da su svi ispitanici željeli postići umjerenu promjenu boje zubi, a rezultat izbjeljivanja bio je zadovoljavajuć kod svih ispitanika (111). Samo je rezultat jedne



karakteristike (ekstrovertiranost) pokazao značajnu povezanost sa zadovoljstvom (112). Angel i suradnici koristili su niske (6 %) i visoke (37,5 %) koncentracije peroksida u izbjeljivanju zubi te dobivenu boju uspoređivali s mjerenjem samopercepcije i psihosocijalnim utjecajem postupka izbjeljivanja (PIDAQ) (113). Zabilježeno je da je izbjeljivanje sa 6 % peroksida učinkovito, uključujući i stabilnost dobivene boje tijekom 3 mjeseca, praćeno pozitivnim psihosocijalnim učinkom i pojačanom percepcijom samoga sebe, iako je tradicionalno izbjeljivanje s 35 % peroksida objektivno učinkovitije (113).

## **2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

Svrha istraživanja je procijeniti učinkovitost izbjeljivanja te citotoksični i genotoksični potencijal na stanicama oralne sluznice različitih komercijalno dostupnih izbjeljujućih zubnih pasta ovisno o njihovim sastavnicama.

Pregledom dostupne literature nije pronađeno nijedno opsežno *in vivo* istraživanje u kojem se istovremeno uspoređivala razlika u učinku izbjeljivanja većeg broja komercijalno dostupnih zubnih pasta s različitim aktivnim izbjeljujućim supstancijama. Nadalje, prema dosadašnjim saznanjima, nije provedeno nijedno *in vivo* istraživanje procjene citotoksičnog i genotoksičnog učinka zubnih pasta na oralnoj sluznici s navedenim izbjeljujućim aktivnim tvarima. U ovoj studiji analiziran je učinak izbjeljivanja više komercijalno dostupnih zubnih pasta za izbjeljivanje na bazi peroksida (urea peroksid, vodikov peroksid), enzima, abraziva i ugljena te njihove kombinacije u CIELAB prostoru boja te učestalost pojavnosti mikronukleusa i drugih jezgrinih anomalija u bukalnim stanicama ispitanika, prije, tijekom i nakon prestanka korištenja zubnih pasta. Učestalost pojavnosti jezgrinih anomalija uspoređena je s učinkom izbjeljivanja. Evaluacijom subjektivnog (zadovoljstvo ispitanika bojom zubi nakon tretmana, štetnih učinaka na meka i tvrda zubna tkiva) i objektivnog učinka ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta E_{00}$  i  $\Delta WI_D$ ) te potencijalno toksičnog učinka izbjeljujućih zubnih pasta od velike je pomoći praktičarima u preporuci proizvoda za svakodnevno održavanje boje zubi kod kuće. Dobiveni rezultati u ovom znanstvenom istraživanju korisni su pri određivanju kriterija prilikom odabira i preporuke zubnih pasta s različitim izbjeljujućim sastojcima kao i u ukazivanju na mogućnost pojave potencijalnog rizika pri njihovu korištenju.

Primarni ciljevi istraživanja bili su:

- Procijeniti učinkovitost izbjeljivanja komercijalno dostupnih zubnih pasta s učinkom izbjeljivanja preko CIELAB vrijednosti –  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , promjenu boje –  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta E_{00}$  i izbjeljujući indeks –  $WI_D$  u različitim vremenima korištenja;
- Usporediti parametre učinkovitosti izbjeljivanja (CIELAB vrijednosti –  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  promjenu boje –  $\Delta e_{ab}$ ,  $\Delta E_{00}$  i izbjeljujući indeks –  $WI_D$ ) između ispitivanih komercijalno dostupnih zubnih pasta s učinkom izbjeljivanja;
- Procijeniti citotoksični i genotoksični učinak komercijalno dostupnih zubnih pasta s učinkom izbjeljivanja na stanicama bukalne sluznice mikronukleus testom u različitim vremenima korištenja;
- Usporediti citotoksični i genotoksični učinak između ispitivanih komercijalno dostupnih zubnih pasta s učinkom izbjeljivanja.

Sekundarni ciljevi rada bili su:

- Usporediti citotoksični i genotoksični učinak između ispitivanih komercijalno dostupnih zubnih pasta s obzirom na učinkovitost izbjeljivanja;
- Procijeniti zadovoljstvo ispitanika korištenom komercijalno dostupnom zubnom pastom s učinkom izbjeljivanja (postignuta boja zubi, stabilnost postignute boje, duljina tretmana, udobnost tijekom tretmana i ukupno zadovoljstvo);
- Usporediti zadovoljstvo različitih ispitanika korištenom komercijalno dostupnom zubnom pastom s učinkom izbjeljivanja s obzirom na ispitivane parametre izbjeljivanja;
- Procijeniti moguće štetne učinke ispitivanih komercijalno dostupnih zubnih pasta s učinkom izbjeljivanja preko različitih senzacija na tvrda zubna tkiva ili oralnu sluznicu koje su ispitanici osjetili tijekom upotrebe testiranih zubnih pasta.

Hipoteze istraživanja bile su sljedeće:

1. Ispitivane komercijalno dostupne zubne paste s učinkom izbjeljivanja neće utjecati na promjenu boje zubi (izbjeljivanje zubi) u ispitivanom vremenu;
2. Ispitivane zubne paste neće pokazati genotoksični i citotoksični učinak na stanicama oralne sluznice.

### **3. MATERIJALI, ISPITANICI I METODOLOGIJA**

### 3.1. Izvedbeni plan studije

Istraživanje je provedeno na Katedri za restaurativnu dentalnu medicinu i endodonciju Studija dentalne medicine Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Ispitanici su bili zaposlenici i studenti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Protokol studije odobrili su Etičko povjerenstvo Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (br. 05-PA-30-9 / 2018) i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu (Klasa: 003-08/17-03/0001, Ur. br. 2181-198-03-04-17-0063 i Klasa: 003-08/20-03/0005, Ur.br. 2181-198-03-04-20-0067) koji su također potvrdili da je studija u potpunosti u skladu s etičkim načelima, uključujući Helsinšku deklaraciju Svjetskoga medicinskog udruženja (verzija 2013.). Studija je registrirana u klinička istraživanja (ClinicalTrials.gov, ID broj studije: NCT04460755). Sudjelovanje u studiji bilo je dobrovoljno, anonimno i bez naknade. Svi sudionici upoznali su se sa svrhom i ciljem istraživanja te su dali svoj informirani pristanak u pisanom obliku prije uključivanja u studiju.

### 3.2. Ispitanici

Ispitanici koji su se prijavili za sudjelovanje u istraživanju odabrani su na temelju sljedećih kriterija za uključivanje i isključivanje. Kriteriji za uključivanje u studiju bili su starost od 18 godina ili više, nepušači, dobrog oralnog i općeg zdravlja (ASA I kategorija iz sustava klasifikacije fizičkog statusa) i oralne higijene, sa svih šest vitalnih prednjih maksilarnih zubi bez karijesa i nadomjestaka, najmanje jednim zubom s nijansom A3 ili tamnijom, bez cervikalnih lezija ili protetskih zahvata te bez parodontne bolesti. U studiju se nisu uključivale trudnice ili dojilje, osobe s obojenim zubima (npr. tetraciklin obojenje, dentalna fluoroza), osjetljivošću zubi, recesijom gingive, osjetljivošću zubi, bolestima oralne sluznice, zubnim karijesom, protetskom, ortodontskom i implantatskom terapijom, poviješću alergije na bilo koji oralnohigijenski proizvod te osobe koje su prethodno podvrgnute bilo kojem tretmanu za izbjeljivanje zuba. Od svih ispitanika uzeta je detaljna medicinska anamneza putem upitnika Svjetske dentalne federacije (The World Dental Federation, FDI; FDI upitnik o zdravlju) i dentalna anamneza, a u strukturirani upitnik, predviđen za ovo istraživanje, ispitanici su unijeli odgovore vezane za njihovu prehranu, navike pušenja, konzumaciju alkohola, uzimanje lijekova i RTG zračenje. Demografski podaci ispitanika podijeljenih po skupinama ovisno o korištenju zubnih pasti navedeni su u tablici 7.

Tablica 7. Demografski podaci ispitanika podijeljenih po skupinama prema korištenoj zubnoj pasti

Korištena zubna pasta	N	Spol		Godine
		Muški ( %)	Ženski ( %)	
<b>Kontrola</b>	20	7 (35,0 %)	13 (65,0 %)	29,25 (6,48)
<b>CMEW</b>	20	10 (50,0 %)	10 (50,0 %)	27,40 (9,20)
<b>SDW</b>	20	9 (45,0 %)	11 (55,0 %)	32,60 (8,59)
<b>HSWH</b>	20	8 (40,0 %)	12 (60,0 %)	26,80 (4,70)
<b>SWS</b>	20	9 (45,0 %)	11 (55,0 %)	29,45 (5,82)
<b>RDWP</b>	20	7 (35,0 %)	13 (65,0 %)	31,55 (8,40)
<b>SEW</b>	20	8 (40,0 %)	12 (60,0 %)	27,00 (7,69)
<b>SWP</b>	21	8 (38,1 %)	13 (61,9 %)	26,76 (5,53)
<b>DBS</b>	20	4 (20,0 %)	16 (80,0 %)	27,10 (6,00)
<b>BDW</b>	18	9 (50 %)	9 (50,0 %)	37,06 (9,41)

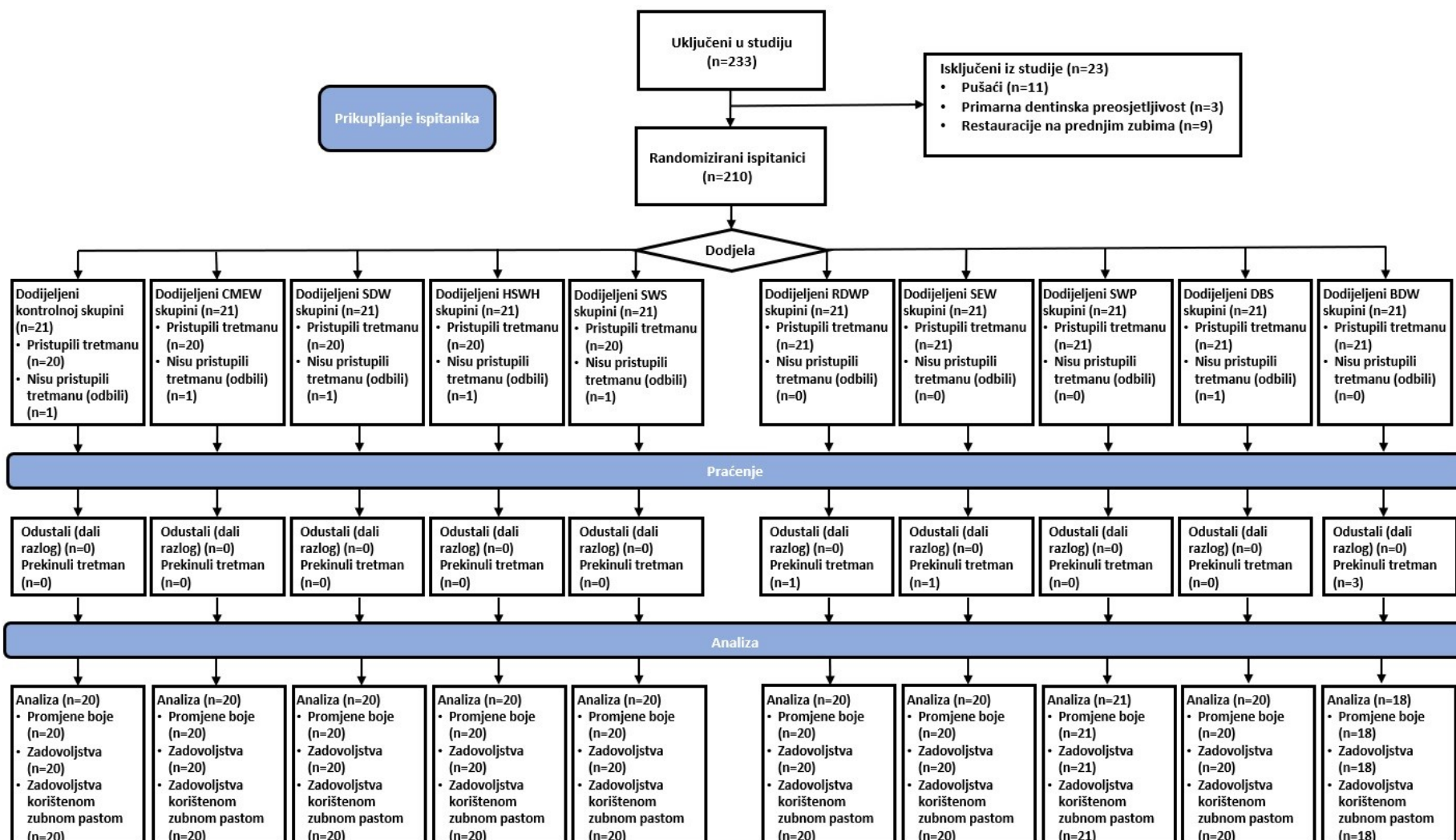
Podaci su prikazani cijelim brojevima, postocima i standardnom devijacijom (SD).

Skraćenice: Kalodont Multi Repair, Control; Colgate Max Expert White, CMEW; Splat Extreme White, SEW; Rembrandt Deeply White + Peroxide, RDWP; Splat White Plus, SWP; Himalaya Sparkly White Herbalis, HSWH; Signal Daily White, SDW; Signal White System, SWS; Dontodent Black Shine, DBS; Biobaza Deep White, BDW; standardna devijacija, SD.

Primarni ishod studije (vrijednosti  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta E_{00}$ ) smatran je varijablom koja se koristila za izračun veličine uzorka. Veličina uzorka izračunata je preko  $\Delta E_{ab}$  razlike između eksperimentalne i kontrolne skupine (114). Minimalna veličina uzorka izračunata je izmjenom razlikom promjene boje ( $\Delta E_{ab}$  nakon mjesec dana korištenja zubne paste) između eksperimentalne (SWS) i kontrolne skupine u pilot-studiji. Provedena je analiza snage s 80 % snage i 95 % intervala pouzdanosti. Uzimajući u obzir veličinu dobivenog učinka (Cohenov  $d = 0,96$ ), najmanje 15 sudionika po skupini bilo je potrebno uključiti u istraživanje. Zbog mogućnosti gubitka ili odbijanja sudjelovanja tijekom trajanja studije inicijalni broj ispitanika povećan je za 50 % ( $n = 22$  po skupini). Svi ispitanici su dodijeljeni određenoj skupini nasumičnim odabirom pomoću računalnog softvera (115). Ovom se metodom osigurala ravnoteža u veličini uzorka među skupinama. Popis kodova sudionika unijet je u softver i distribuiran u deset unaprijed određenih skupina s obzirom na ispitivanu zubnu pastu ( $n = 22$ ). Budući da je glavni provoditelj istraživanja (onaj koji je mjerio učinak izbjeljivanja i toksičnost) bio zaslijepljen, imenovan je koordinator ispitivanja odgovoran za randomizaciju i dodjelu intervencije.

U studiji je u konačnici nakon isključivanja i odustajanja pojedinih ispitanika sudjelovalo 199 osoba (79 muškaraca, 120 žena) koje su zadovoljile sve navedene kriterije. Dijagram tijekom regrutacije sudionika i praćenja prikazan je na slici 1.





Slika 1. Dijagram tijeka istraživanja

### 3.3. Materijali i metode

Ovo istraživanje podijeljeno je u dva dijela. Prvi dio istraživanja bio je usmjeren na procjenu objektivnog optičkog učinka različitih komercijalno dostupnih zubnih pasti za izbjeljivanje s različitim supstancijama u kliničkim/*in vivo* uvjetima. Procjena zadovoljstva pacijenta korištenom zubnom pastom evaluirana je upitnikom dodijeljenim na kraju studije. Drugi dio istraživanja bio je usmjeren na procjenu citotoksičnosti i genotoksičnosti testiranih zubnih pasti s izbjeljujućim supstancijama na uzorcima epitelnih stanica (stanice bukalne sluznice) kroz parametre mikronukleus testa i drugih jezgrinih anomalija prema Thomas i suradnicima (88).

Istraživanje je trajalo četiri mjeseca. Svi ispitanici su na početku istraživanja koristili istu vrstu zubne paste – konvencionalnu/neizbjeljujuću Kalodont Multi Repair (Saponia, Osijek, Hrvatska) tijekom 30 dana kako bi svi imali istu startnu poziciju i zadovoljili razdoblje ispiranja (engl. *Washout Period*). Nakon toga ispitanici su bili nasumično podijeljeni u deset skupina. Devet skupina koristilo je različitu robnu marku komercijalno dostupne zubne paste s učinkom izbjeljivanja s različitim sastavnicama: Colgate Max Expert White (Colgate-Palmolive Company, New York, SAD), Signal Daily White (Unilever House, London, Ujedinjeno Kraljevstvo – UK), Himalaya Sparkly White Herbalis (The Himalaya Drug Company, Makali, Indija), Signal White System (Unilever House, London, UK), Rembrandt Deeply White + Peroxide (Rembrandt Trust Proprietary Limited, Johannesburg, Južna Afrika), Splat Extreme White (Splat-Cosmetica, Moskva, Rusija), Splat White Plus (Splat-Cosmetica, Moskva, Rusija), Deep White (Biobaza, Sveta Nedelja, Hrvatska) i Dontodent Black Shine (Dm-drogerie, Karlsruhe, Njemačka), dok je istodobno kontrolna skupina nastavila koristiti zubnu pastu klasificiranu kao konvencionalnu/neizbjeljujuću pastu za zube, Kalodont Multi Repair (Saponia, Osijek, Hrvatska). Sudionici su koristili ispitivane zubne paste tijekom dva mjeseca, nakon čega su još jedan mjesec svi koristiti istu zubnu pastu s početka istraživanja, konvencionalnu/neizbjeljujuću Kalodont Multi Repair (Saponia, Osijek, Hrvatska). Prije početka korištenja, sudionici su dobili pisane upute o korištenju dobivene zubne paste (dva puta dnevno, ujutro i navečer, tri minute po 1 g ( $\approx 2$  cm)). Ispitanicima je također demonstrirano četkanje zubi modificiranom Bassovom tehnikom četkanja zubi koju su primjenjivali tijekom trajanja studije. Svi sudionici su koristili istu vrstu četkice za zube tijekom istraživanja (Splat Professional Complete Medium, Splat-Cosmetica, Moskva, Rusija). Svim sudionicima je inicijalno napravljeno profilaktičko čišćenje mekih i tvrdih zubnih naslaga prije početka studije. Završno poliranje izvedeno je gumicom za poliranje i finom pastom (Proxyt RDA 7, Ivoclar

Vivadent, Schaan, Lihtenštajn). Tijekom studije sudionici nisu koristili nijednu drugu zubnu pastu osim one koja je bila testirana. Također nisu smjeli koristiti ostala sredstva za oralnu higijenu, poput tekućina za ispiranje usta ili fluorida. Ispitivane zubne paste navedene su u tablici 8.

Tablica 8. Zubne paste korištene i ispitivane tijekom istraživanja

Zubna pasta	Proizvođač	Sredstva za izbjeljivanje zuba	Sastojci
<b>Kalodont Multi Repair (Neizbjeljujuća/konvencionalna)</b>	Saponia, Osijek, Hrvatska	Abrazivi	Glicerin, PEG-8, Hidratizirani silicijev dioksid, Kalijev nitrat, Voda, Silicijev dioksid, Dikalcijev fosfat, Natrijev lauril sulfat, Aroma, Tetrakalij, Pirofosfat, Natrijev saharin, DMDM hidratacija, Ksantanska guma, Benzil alkohol, Limonen, Linalol, CI 77891, Natrijev monofluorofosfat (1000 ppm F)
<b>Colgate Max Expert White (Izbjeljujuća)</b>	Colgate-Palmolive Company, New York, SAD	Vodikov peroksid, Abrazivi	Glicerin, Propilen glikol, PEG / PPG-116/66 Kopolimer, PEG-12, PVP, Natrij lauril sulfat, Silicijev dioksid, Aroma, Natrijev saharin, Fosforna kiselina, BHT, CI 74160, Kalcijev pirofosfat, Tetranatrijev pirofosfat, Natrijev monofluorofosfat (1450 ppm F)
<b>Signal Daily White (Izbjeljujuća)</b>	Unilever House, London, UK	Abrazivi, Natrijev bikarbonat	Voda, Sorbitol, Kalcijev karbonat, Hidratizirani silicijev dioksid, Natrijev lauril sulfat, Aroma, Natrijev fosfat, Celulozna guma, Benzil alkohol, Natrijev saharin, Propilen glikol, Glicerin, CI 74160, CI 74260, Natrijev monofluorofosfat (1450 ppm)
<b>Himalaya Sparkly White Herbalis (Izbjeljujuća)</b>	The Himalaya Drug Company Makali, Bengaluru	Bromelain, Papain, Abrazivi	Sorbitol, Voda, Glicerin, Silicijev dioksid, Natrijev lauril sulfat, Ksantanska guma, Titanov dioksid, Aroma, Natrijev saharin, Natrijev benzoat, Kalijev sorbat, Mentol, Ekstrakt araka, Ekstrakt ljuske badema, Ulje kore cimeta, Ulje pupoljka klinčića, Timol, Limunska kiselina, Eugenol
<b>Signal White System (Izbjeljujuća)</b>	Unilever House, London, UK	Abrazivi	Voda, Hidrogenirani škrobni hidrolizat, Kalcijev karbonat, Hidratizirani silicijev dioksid, Natrijev lauril sulfat, Aroma, Celulozna guma, Benzil alkohol, Trinatrijev fosfat, Natrijev saharin, Glicerin, CI74160, Natrijev monofluorofosfat (1450 ppm)
<b>Rembrandt Deeply White + Peroxide (Izbjeljujuća)</b>	Rembrandt Trust Proprietary Limited, Johannesburg, Južna Afrika	Urea peroksid, Papain, Natrijev citrat, Abrazivi	Glicerin, Modificirani škrob u hrani, Aroma, Silicijev dioksid, Propilen glikol, Kokoamidopropil betain, Natrijev lauril sulfat, Karbomer, Natrijev saharin, Kalcijev dinatrij EDTA, Hidratizirani silicijev dioksid, Aluminijski hidroksid, Natrijev monofluorofosfat (0,884% ukupnog volumena)
<b>Splat Extreme White (Izbjeljujuća)</b>	Splat-Cosmetica, Moskva, Rusija	Urea peroksid, Papain, Abrazivi	Voda, Hidrogenirani škrobni hidrolizat, PEG-8, Natrijev lauril sulfat, Hidrogenirano palmino ulje, Hidratizirani silicijev dioksid, Aroma, PVP, Ksantanska guma, PEG-200, Natrijev metilparaben, Natrijev saharin, Natrijev fluorid (500 ppm), Titanov dioksid, Lecitin CI 73360, CI 16255, Limonen
<b>Splat White Plus (Izbjeljujuća)</b>	Splat-Cosmetica, Moskva, Rusija	Papain, Abrazivi	Voda, Hidrogenirani škrobni hidrolizat, Kalijev nitrat, Hidratizirani silicijev dioksid, Kalcijev pirofosfat, Dikalcijev fosfat dihidrat, PEG-8, Pentanatrijev trifosfat, Aroma, Natrijev koko-sulfat, Celulozna guma, Titan dioksid, Natrijev lauroil, Natrijev lauroil sarkozinat, PVP, Natrijev metilparaben, Natrijev saharin, Mentol, Limonen, Natrijev monofluorofosfat (1000 ppm F)
<b>Deep White (Izbjeljujuća)</b>	Biobaza, Sveta Nedelja, Hrvatska	Abrazivi, Ugljen	Hidratizirani silicijev dioksid, Voda, Sorbitol, Ekstrakt korijena petolista srčenjaka, Lauril glukozid, Glicerin, Ekstrakt lista paprene metvice, Titan dioksid, Ksantanska guma, Aroma (Metvica), Ugljen u prahu, Aroma (Slatki korijen), Mentol, Kalijev sorbat, Limunska kiselina, Eugenol, Limonen
<b>Dontodent Black Shine (Izbjeljujuća)</b>	Dm-drogerie, Karlsruhe, Njemačka	Abrazivi, Ugljen	Voda, Sorbitol, Hidratizirani silicijev dioksid, Propilen glikol, Pentanatrijev trifosfat, Tetrakalijev fosfosfat, Natrijev C-14-16 olefin sulfonat, Dinatrijum fosfosfat, Aroma, Ksantanska guma, Ugljen u prahu, Natrijev fluorid, Natrijev saharin, Limonen, Natrijev fluorid (1450 ppm F)

Skraćenice: EDTA, etilendiamintetraoctena kiselina; PEG, polietilen glikol; PPG, polipropilen glikol; PVP, polivinilpirolidon.

### 3.4. Mjerenje boje zubi i procjena zadovoljstva sudionika i nuspojava izbjeljivanja zubnih pasta

Procjena boje zubi provodila se pomoću digitalnog spektrofotometra Vita Easyshade (VITA Easyshade V, Vita Zahnfabrik, Bad Säckingen, Njemačka) u četiri vremenske točke: T0 – prije tretmana (početna vrijednost); T1 – 30 dana nakon početka korištenja paste; T2 – 60 dana nakon početka korištenja paste; i T3 – 90 dana od početka studije (30 dana nakon završetka korištenja ispitivane zubne paste). Koristeći se prosječnim načinom rada mjerenja, izvela su se tri mjerenja na gornjim središnjim i bočnim sjekutićima i očnjacima (13, 12, 11, 21, 22, 23; n = 6). Vrijednosti CIELAB L\*, a\*, b\* zabilježene su za sve razmatrane zube u tri mjerenja. Prosjek triju vrijednosti zabilježen je kao izmjerena srednja vrijednost za statističku analizu. Između mjerenja, vrh sonde spektrofotometra u potpunosti je bio uklonjen s površine zuba i ponovno postavljen sa svako sljedeće mjerenje. Očitavanje parametara izvođeno je u srednjoj trećini labijalne površine zuba, u istom okruženju i istim uvjetima osvjetljenja. Boja se procijenila CIELAB prostorom boja. Os L\* odgovara svjetlini i varira od 0 (crna) do 100 (bijela). Osi a\* i b\* povezane su s bojom i zasićenošću, a\* varira od crvene – pozitivne do zelene – negativne, a b\* od žute – pozitivne do plave – negativne (116).

Delta ( $\Delta$ ) E je pojedinačni broj koji predstavlja „udaljenost” između dvije boje i izračunat je na temelju promjena parametara L\*, a\*, b\*, pomoću CIELAB formule (1), odnosno CIEDE2000 formule (2) u kojoj  $\Delta L'$ ,  $\Delta C'$  i  $\Delta H'$  označavaju razliku u svjetlini, zasićenosti i nijansi između dvaju uzoraka. Težinske funkcije ( $S_L$ ,  $S_C$  i  $S_H$ ) su kompenzacijske vrijednosti za svjetlinu, kromatičnost i ton (koordinate L\*, a\*, b\*). Parametrijski faktori ( $K_L$ ,  $K_C$  i  $K_H$ ) su korekcije koje se odnose na uvjete promatranja boje, dok je rotacijska funkcija ( $R_T$ ) izraz za rotaciju tona, tj. interakcija između vrijednosti *chroma* i *hue* u plavoj regiji (116).

Indeks bjeline ( $WI_D$ ) izračunat je s pomoću formule (3). Razlike u boji u različitim vremenskim točkama analizirane su s pomoću vrijednosti  $\Delta WI_D$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  i  $\Delta b^*$  za svaku skupinu i između skupina (60, 116, 117).

Za mjerenje boje izradila se prozirna akrilatna folija (DURAN®, Scheu-Dental, Iserlohn, Njemačka) za svakoga ispitanika ponaosob. Perforacija promjera od 6 mm izrađena je na srednjoj trećini površine zuba za svaki razmatrani zub. Na taj su se način sva mjerenja standardizirala za svakog ispitanika. Sva mjerenja boje zubi objektivno je izvršio glavni ispitivač koji nije imao uvid u korištenu robnu marku zubne paste koju koristi pojedini sudionik.

Na kraju studije (mjesec dana nakon korištenja ispitivanih zubnih pasta) sudionici koji su koristili pastu za izbjeljivanje zubi dobili su upitnik u kojem su procijenili svoje zadovoljstvo tretmanom za izbjeljivanje. Sudionici su bili zamoljeni da ocijene svoje zadovoljstvo svakom karakteristikom (konačna boja zubi, stabilnost boje, duljina tretmana, udobnost tijekom liječenja i ukupno zadovoljstvo) na Likerovoj skali od 5 stupnjeva, od 1 = „Vrlo nezadovoljan” do 5 = „Vrlo zadovoljan”. Uz to, sudionici su dobili upitnik o vlastitim percepcijama štetnih učinaka/reakcija na zube ili zubno meso koje su osjetili tijekom upotrebe zubnih pasta, namjeri da ih ponovno koriste i namjeri da ih preporuče svojim prijateljima i obitelji. Bilježeni podražaji koje su osjetili tijekom korištenja izbjeljujućih zubnih pasta su: pečenje sluznice, iritacija, preosjetljivost zuba, neugodan okus zubne paste, neugodna tekstura zubne paste, osjećaj hrapavosti zuba, prisutnost ulceracija, iritacija, promjena okusa, ljuštenje sluznice i suhoća usta (112). Na navedena pitanja, sudionici su odgovarali kategorijski (da, ne, ne znam). Upitnici o zadovoljstvu korištenom zubnom pastom pripremljeni su uz modifikacije prema sličnim istraživanjima provedenim na temu izbjeljivanja i korištenja zubnih pasta (112, 118).

### **3.5. Ispitivanje toksičnosti izbjeljujućih zubnih pasta parametrima citotoksičnosti i genotoksičnosti**

Drugi dio istraživanja provodio se uzorkovanjem i analizom briseva bukalne sluznice kod svakog ispitanika skupljanjem uzoraka epitela bukalne sluznice neposredno prije početka korištenja ispitivane zubne paste te 30 i 60 dana od početka korištenja, te 30 dana nakon prestanka korištenja (T0 – prije tretmana / početna vrijednost; T1 – 30 dana nakon početka korištenja paste; T2 – 60 dana nakon početka korištenja zubne paste; T3 – 90 dana od početka studije (30 dana nakon završetka korištenja ispitivane zubne paste). Brisevi su prikupljeni od istih ispitanika i u istom vremenskom razdoblju kada se mjerila boja zubi spektrofotometrom. Od svih sudionika istraživanja zatraženo je da se jedan sat prije uzorkovanja suzdrže od jela te konzumacije alkoholnih pića. Neposredno prije uzimanja uzorka svi ispitanici su dva puta ispirali usnu šupljinu vodovodnom vodom tijekom jedne minute s ciljem odstranjivanja odljuštenih mrtvih stanica.

### 3.6. Uzorkovanje stanica

Uzorkovanje stanica izvršilo se četiri puta u različitim vremenskim razmacima. Prvi bris uzet je prije početka istraživanja te je naznačen kao T0 – početna vrijednost (mjesec dana od korištenja konvencionalne neizbjeljujuće zubne paste, kontrole). Drugi bris bukalne sluznice uzet je nakon mjesec dana korištenja izbjeljujućih zubnih pasti te je označen kao T1. Treći bris stanica bukalne sluznice, označen kao T2, uzet je nakon dva mjeseca korištenja izbjeljujućih zubnih pasti te je, u konačnici, četvrti bris (T3) uzet mjesec dana nakon prestanka korištenja pasti – 30 dana od kraja provedenog istraživanja. Bris bukalnih stanica uzet je primjenom citološke četkice (Cytobrush Plus, GmbH, Dietramszell-Linden, Njemačka), nježnim četkanjem bukalne sluznice obostrano tijekom 30 sekundi. Uzorci su prebačeni u 15-mililitarske plastične tube s ohlađenom fiziološkom otopinom (5 ml) te centrifugirani. Na kraju centrifugiranja, stanice su izuzete u malom volumenu otopine za fiksaciju metanol/octene kiseline u omjeru 3:1 uz dodatak pet kapi dimetil sulfoksida. Nakon toga, stanice su prenijete na očišćena predmetna stakalca te ostavljena na sobnoj temperaturi tijekom 24 sata. Uzorci stavljeni na mikroskopska stakalca izrađeni su u duplikatu. Uzorci su potom bojani Feulgen/Fast green metodom bojenja. Protokolarno, uzorci su obrađeni u 5 mol/L HCl, isprani destiliranom vodom i osušeni. Nakon aplikacije Schiffova reagensa preparati su isprani destiliranom vodom te je na njih apliciran Fast Green u koncentraciji od 1,0 % (w/v), DPX, te su pokriveni pokrovnicom. Materijal korišten u ovom dijelu istraživanja proizveli su Biognost (Biognost d.o.o., Zagreb, Hrvatska) i Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka). Uzeti uzorci kodirani su od strane neovisnog koordinatora koji nije bio uključen u istraživanje te su pohranjeni u kutije za mikroskopska stakalca na sobnoj temperaturi do trenutka mikroskopiranja. Za svakog ispitanika analizirano je 2000 stanica svjetlosnim mikroskopom Olympus CX40 (Olympus, Tokio, Japan) pod povećanjem od 400 x prema Thomas-Fenechovu protokolu (88). Prilikom analize uzoraka slijedila su se pravila prema HUMNxl kriterijima (85). Protokol nalaže pregled minimalno 1000 stanica unutar kojih se određuje broj anomalija povezanih sa staničnim odumiranjem i jezgrenim anomalijama koje ukazuju na kromosomsku nestabilnost ili oštećenje DNK. Sukladno tomu analizirano je 2000 diferenciranih stanica po predmetnom stakalcu. Kao parametri genotoksičnosti evaluirani su broj binuklearnih stanica koje ukazuju na poremećaj stanične diobe te stanica s mikronukleusima i jezgrinim pupovima koje predstavljaju odgovarajuće mjere kromosomskog oštećenja i oštećenja DNK. Stanice s kondenziranim kromatinom, karioreksijom (stanična smrt sa značajkom raspadanja jezgre;

raspadanje u manje dijelove), piknozom (zgušnjavanje) i kariolizom (propadanje) klasificirane su kao markeri ranog do kasnog stadija apoptoze i stanične smrti te prikazuju citotoksični učinak (84, 92, 119).

### 3.7. Statistička obrada podataka

Za analizu podataka korišten je SPSS programski paket verzija 25,0 (SPSS Inc., Chicago, IL, SAD). Svi podaci prikazani su u obliku tablica i grafičkog prikaza. Normalnost podataka ispitana je Kolmogorov-Smirnovim testom. Homogenost varijance za svaku testiranu varijablu testirana je s pomoću Levenova testa. Ovisno o raspodjeli podataka kvantitativni (numerički) podaci su prikazani u obliku raspona, aritmetičke sredine i standardne devijacije, odnosno medijana i interkvartilnog raspona, dok su kategorijski podaci (kvalitativni) prikazani kroz apsolutne frekvencije i pripadajuće udjele izražene cijelim brojem i postotkom. U skladu s dobivenim podacima primjenjivane su odgovarajuće parametrijske ili neparametrijske statističke metode u obradi podataka. Tako su se razlike u boji u različitim vremenskim točkama (CIELAB vrijednosti –  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , izbjeljujući indeks –  $WI_D$ , parametri mikronukleus testa,  $\Delta WI_D$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  i  $\Delta b^*$ ) za svaku skupinu i između skupina analizirane dvosmjernom analizom varijance (ANOVA) za ponavljana mjerenja. Usporedba zadovoljstva ispitanika tretmanom između zubnih pasta ispitivana je jednosmjernom (*one-way*) analizom varijance (ANOVA) i Tukeyevim testom. Model višestruke linearne regresije korišten je za procjenu utjecaja prediktorskih varijabli (demografske varijable, objektivni klinički ishodi izbjeljivanja, prehrambene navike) na ovisne varijable (zadovoljstvo sudionika i parametre mikronukleus testa). Paretovi dijagrami korišteni su za prikaz višestruke linearne regresije, prikazane kao  $t$ - vrijednosti. Statistička značajnost postavljena je na  $P < 0,05$ .



## **4. REZULTATI**

#### 4.1. Optički rezultati izbjeljivanja komercijalno dostupnim zubnim pastama s izbjeljujućim supstancijama

Srednje vrijednosti promjena (delti) po pojedinoj koordinati prostora boja ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  i  $\Delta b^*$ ) za svako testirano razdoblje od početne vrijednosti do dobivenih vrijednosti prikazani su u tablici 9. Značajna vrijednosna razlika u koordinati  $\Delta L^*$  pokazala se za sve testirane izbjeljujuće zubne paste u odnosu na kontrolnu zubnu pastu (klasificiranu kao konvencionalna zubna pasta) nakon 30 i 60 dana korištenja ( $P \leq 0,05$ ), za  $\Delta b^*$  vrijednosti nakon 30 i 60 dana korištenja ( $P \leq 0,05$ ), a za  $\Delta a^*$  vrijednosti nakon 30 dana kontinuiranog korištenja ( $P \leq 0,05$ ). Rezultati srednjih vrijednosti za ukupnu promjenu boje ( $\Delta E_{ab}$  i  $\Delta E_{00}$ ) i izbjeljujući index ( $\Delta WI_D$ ) za svako testirano razdoblje od inicijalne vrijednosti do dobivenih vrijednosti prikazani su u tablici 10. Vrijednosti  $\Delta E^*_{ab} \geq 1,2$ ,  $\Delta WI_D \geq 0,72$  i/za  $\Delta E_{00} \geq 0,8$  smatraju se vizualno perceptibilnim vrijednostima vidljivim ljudskom oku, što se označava kao klinički značajnom promjenom boje zubi. Rezultirajuća promjena za boju zubi ( $\Delta E^*_{ab}$ ,  $\Delta E_{00}$ ) i promjene indeksa bjeline ( $\Delta WI_D$ ) otkrivaju klinički značajnu promjenu boje zubi i povećanu bjelinu za sve testirane izbjeljujuće zubne paste procjenjivane u svim vremenskim razdobljima korištenja u usporedbi s osnovnim vrijednostima. Jedina iznimka je zubna pasta Signal White System (SWS) koja je pokazala da je promjena boje zubi ispod perceptibilne granice (PT) za vremensko razdoblje T3 u odnosu na T0 ( $\Delta E^*_{ab} = 1,14$ ,  $\Delta WI_D = 0,44$ ,  $\Delta E_{00} = 0,71$ ). Općenito, četkanje izbjeljujućim zubnim pastama u usporedbi s kontrolnom skupinom (konvencionalnom/neizbjeljujućom) rezultira smanjenjem zubnih obojenja ( $P \leq 0,05$ ).

Tablica 9. Prikaz promjene boje za parametre  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  i  $\Delta b^*$  po skupini u različitim evaluacijskim razdobljima izražene srednjom vrijednosti i standardnom devijacijom

Parametri boje	Korištene zubne paste									
	Kontrola	CMEW	SDW	HSWH	SWS	RDWP	SEW	SWP	DBS	BDW
<b><math>\Delta L^*</math> vrijednost</b>										
T1 – T0	-0,07 (0,60) <sup>Aa</sup>	3,31 (2,31) <sup>Ab</sup>	1,14 (1,39) <sup>Ac</sup>	3,00 (2,86) <sup>Ac</sup>	0,74 (0,87) <sup>Ab</sup>	2,31 (2,01) <sup>Ad</sup>	3,46 (1,41) <sup>Ad</sup>	2,07 (1,58) <sup>Ab</sup>	0,84 (1,61) <sup>Ab</sup>	0,88 (1,33) <sup>Ab</sup>
T2 – T0	-0,05 (0,55) <sup>Aa</sup>	2,43 (2,09) <sup>Bbf</sup>	0,97 (1,32) <sup>Ace</sup>	1,75 (2,40) <sup>Bbd</sup>	0,60 (1,03) <sup>Aac</sup>	1,35 (1,97) <sup>Bb</sup>	2,99 (1,65) <sup>Bf</sup>	2,10 (2,19) <sup>Aed</sup>	0,56 (1,57) <sup>Aac</sup>	0,61 (1,26) <sup>Aac</sup>
T3 – T0	0,08 (0,49) <sup>Aaf</sup>	1,47 (1,87) <sup>Cb</sup>	0,52 (1,49) <sup>Bacde</sup>	0,72 (2,01) <sup>Cd</sup>	0,02 (0,77) <sup>Bace</sup>	0,49 (1,52) <sup>Cad</sup>	2,25 (1,30) <sup>C</sup>	0,92 (1,85) <sup>Cbdf</sup>	0,03 (1,1) <sup>Bace</sup>	0,09 (1,13) <sup>Bace</sup>
<b><math>\Delta a^*</math> vrijednost</b>										
T1 – T0	0,04 (0,17) <sup>Aa</sup>	-0,37 (0,80) <sup>ABbcd</sup>	-0,20 (0,47) <sup>ABbf</sup>	-0,38 (0,53) <sup>Abe</sup>	-0,14 (0,43) <sup>ABadfg</sup>	-0,22 (0,84) <sup>ABbg</sup>	-0,42 (0,29) <sup>Abh</sup>	-0,47 (0,69) <sup>ABceh</sup>	-0,14 (0,42) <sup>Aadfg</sup>	-0,22 (0,59) <sup>ABbg</sup>
T2 – T0	0,04 (0,18) <sup>Aa</sup>	-0,36 (0,40) <sup>Abcd</sup>	-0,23 (0,48) <sup>Abcd</sup>	-0,38 (0,61) <sup>Abcd</sup>	-0,10 (0,99) <sup>Aab</sup>	-0,21 (1,37) <sup>Aabc</sup>	-0,41 (0,32) <sup>Ac</sup>	-0,51 (0,68) <sup>Ad</sup>	-0,08 (0,46) <sup>Aab</sup>	-0,19 (0,56) <sup>Aabc</sup>
T3 – T0	0,01 (0,19) <sup>Aa</sup>	-0,23 (0,60) <sup>Babcd</sup>	-0,13 (0,43) <sup>Babcd</sup>	-0,06 (0,50) <sup>Bab</sup>	0,00 (0,96) <sup>Bac</sup>	-0,08 (1,45) <sup>Bace</sup>	-0,34 (0,44) <sup>Abde</sup>	-0,30 (0,72) <sup>Bd</sup>	-0,07 (0,51) <sup>Aac</sup>	-0,10 (0,52) <sup>Bace</sup>
<b><math>\Delta b^*</math> vrijednost</b>										
T1 – T0	0,20 (0,76) <sup>Aa</sup>	-0,73 (1,56) <sup>ABd</sup>	-1,18 (1,87) <sup>ABcd</sup>	-1,46 (1,67) <sup>Ac</sup>	-0,80 (1,83) <sup>ABcd</sup>	-1,46 (1,69) <sup>ABc</sup>	-1,21 (1,59) <sup>ABcd</sup>	-0,58 (2,30) <sup>ABbd</sup>	-0,77 (1,15) <sup>ABd</sup>	-1,00 (1,70) <sup>ABcd</sup>
T2 – T0	0,06 (0,58) <sup>Aa</sup>	-0,73 (1,09) <sup>Ab</sup>	-1,00 (0,92) <sup>Abc</sup>	-1,37 (1,98) <sup>Ac</sup>	-0,73 (1,44) <sup>Ab</sup>	-1,72 (2,22) <sup>Ad</sup>	-1,25 (1,46) <sup>ABcd</sup>	-0,82 (1,75) <sup>Abc</sup>	-0,67 (1,08) <sup>Ab</sup>	-1,03 (1,20) <sup>Abc</sup>
T3 – T0	0,04 (0,63) <sup>Aa</sup>	-0,29 (1,51) <sup>Ba</sup>	-0,31 (0,92) <sup>Ba</sup>	-0,67 (1,56) <sup>ABa</sup>	-0,41 (1,23) <sup>Aa</sup>	-1,20 (2,63) <sup>Ba</sup>	-1,17 (1,54) <sup>Aa</sup>	-0,42 (1,52) <sup>Ba</sup>	-0,51 (1,02) <sup>A</sup>	-0,38 (1,42) <sup>Ba</sup>

Različita velika slova u redu označavaju statistički značajnu razliku između evaluacijskih razdoblja korištenja zubnih pasti, a različita mala slova u redu statistički značajnu razliku između korištenih zubnih pasti ( $P < 0,05$ ).

Skraćenice: Kalodont Multi Repair, Kontrola; Colgate Max Expert White, CMEW; Splat Extreme White, SEW; Rembrandt Deeply White + Peroxide, RDWP; Splat White Plus, SWP; Himalaya Sparkly White Herbalis, HSWH; Signal Daily White, SDW; Signal White System, SWS; Dontodent Black Shine, DBS; Biobaza Deep White, BDW; T0, inicijalna vrijednost; T1, 30 dana od početka tretmana; T2, 60 dana od početka tretmana; T3, 90 dana od početka tretmana (30 dana nakon prestanka tretmana) –prateće razdoblje.

Tablica 10. Prikaz promjene boje parametrima  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$  i  $\Delta WI_D$  po skupini u različitim evaluacijskim razdobljima izražene srednjom vrijednosti i standardnom devijacijom

Parametri boje	Korištene zubne paste									
	Kontrola	CMEW	SDW	HSWH	SWS	RDWP	SEW	SWP	DBS	BDW
<b><math>\Delta E_{00}</math> vrijednost</b>										
T1 – T0	0,45 (0,45) <sup>Aa</sup>	2,55 (1,63) <sup>Ab</sup>	1,47 (0,97) <sup>Ace</sup>	2,56 (1,80) <sup>Ab</sup>	1,08 (0,81) <sup>Ae</sup>	2,17 (1,32) <sup>Abd</sup>	2,61 (1,02) <sup>Ab</sup>	1,95 (1,16) <sup>Accd</sup>	1,10 (0,72) <sup>Ae</sup>	1,53 (0,71) <sup>Ace</sup>
T2 – T0	0,40 (0,38) <sup>Aa</sup>	1,95 (1,27) <sup>Bb</sup>	1,18 (0,78) <sup>Bc</sup>	1,99 (1,43) <sup>Bb</sup>	1,12 (0,83) <sup>Ac</sup>	2,06 (1,40) <sup>Ab</sup>	2,35 (1,06) <sup>Bb</sup>	1,93 (1,44) <sup>Ab</sup>	1,14 (0,61) <sup>Ac</sup>	1,35 (0,64) <sup>Ac</sup>
T3 – T0	0,36 (0,39) <sup>Aa</sup>	1,36 (1,31) <sup>Cb</sup>	0,88 (0,23) <sup>Ac</sup>	1,39 (1,10) <sup>Cb</sup>	0,71 (0,88) <sup>Bac</sup>	1,72 (1,42) <sup>Bbd</sup>	1,87 (0,96) <sup>Cd</sup>	1,42 (1,08) <sup>Bb</sup>	0,85 (0,51) <sup>Bac</sup>	1,10 (0,64) <sup>Ac</sup>
<b><math>\Delta E_{ab}</math> vrijednost</b>										
T1 – T0	0,69 (0,74) <sup>Aa</sup>	3,75 (2,24) <sup>Abd</sup>	2,40 (1,63) <sup>Ace</sup>	3,99 (2,64) <sup>Ab</sup>	1,82 (1,48) <sup>Ac</sup>	3,34 (1,99) <sup>Abf</sup>	3,96 (1,60) <sup>Ab</sup>	3,10 (1,87) <sup>Adef</sup>	1,75 (1,17) <sup>Ac</sup>	2,42 (1,22) <sup>Ace</sup>
T2 – T0	0,59 (0,56) <sup>Aa</sup>	2,96 (1,89) <sup>Bb</sup>	1,84 (1,19) <sup>Bc</sup>	3,25 (2,23) <sup>Bbd</sup>	1,84 (1,28) <sup>Ac</sup>	3,26 (2,21) <sup>Abd</sup>	3,61 (1,60) <sup>Abd</sup>	3,01 (2,15) <sup>Abd</sup>	1,82 (0,94) <sup>Ac</sup>	2,12 (1,06) <sup>Ac</sup>
T3 – T0	0,54 (0,62) <sup>Aa</sup>	2,05 (2,06) <sup>Cbcg</sup>	1,34 (1,36) <sup>Cbd</sup>	2,27 (1,70) <sup>Cceg</sup>	1,14 (1,38) <sup>Bd</sup>	2,75 (2,32) <sup>Bef</sup>	2,90 (1,55) <sup>Bce</sup>	2,22 (1,56) <sup>Bfg</sup>	1,36 (0,83) <sup>Bd</sup>	1,44 (1,08) <sup>Bbd</sup>
<b><math>\Delta WI_D</math> vrijednost</b>										
T1 – T0	-0,35 (0,90) <sup>Aa</sup>	3,36 (3,13) <sup>Abce</sup>	2,38 (2,38) <sup>Abdf</sup>	3,98 (2,87) <sup>Ac</sup>	1,60 (2,36) <sup>Ad</sup>	3,31 (3,38) <sup>Abc</sup>	4,09 (2,23) <sup>Acf</sup>	2,80 (3,00) <sup>Ae</sup>	1,30 (1,71) <sup>Ad</sup>	2,30 (2,69) <sup>Abdf</sup>
T2 – T0	-0,32 (0,77) <sup>Aa</sup>	2,90 (2,03) <sup>Abc</sup>	2,15 (1,67) <sup>Ab</sup>	3,31 (3,08) <sup>Bc</sup>	1,36 (2,90) <sup>A</sup>	3,08 (4,66) <sup>Ab</sup>	3,88 (1,98) <sup>Ab</sup>	3,17 (2,77) <sup>Abc</sup>	1,09 (1,69) <sup>A</sup>	2,19 (1,89) <sup>Ab</sup>
T3 – T0	-0,03 (0,90) <sup>Aa</sup>	1,63 (2,44) <sup>Bb</sup>	0,92 (1,46) <sup>Bab</sup>	1,29 (2,44) <sup>Cbc</sup>	0,44 (2,72) <sup>Bacd</sup>	1,78 (5,22) <sup>Bbd</sup>	3,25 (2,22) <sup>Bc</sup>	1,85 (2,40) <sup>Bb</sup>	0,67 (1,83) <sup>Bacd</sup>	1,06 (2,27) <sup>Bab</sup>

Različita velika slova u redu označavaju statističku značajnost u razlici između evaluacijskih razdoblja korištenja zubnih pasti, a različita mala slova u redu statističku značajnost u razlici između korištenih zubnih pasti ( $P < 0,05$ ).

Skraćenice: Colgate Max Expert White, CMEW; Splat Extreme White, SEW; Rembrandt Deeply White + Peroxide, RDWP; Splat White Plus, SWP; Himalaya Sparkly White Herbalis, HSWH; Signal Daily White, SDW; Signal White System, SWS; Dontodent Black Shine, DBS; Biobaza Deep White, BDW; T0, inicijalna vrijednost; T1, 30 dana od početka tretmana; T2, 60 dana od početka tretmana; T3, 90 dana od početka tretmana (30 dana nakon prestanka tretmana) –prateće razdoblje.

#### 4.2. Rezultati zadovoljstva tretmanom i korištenom zubnom pastom

Srednje vrijednosti i standardne devijacije zadovoljstva ispitanika testiranom zubnom pastom i karakteristikama tretmana prikazani su tablično. Zadovoljstvo ispitanika karakteristikama izbjeljujućeg tretmana i stavovi ispitanika o korištenim zubnim pastama prikazani su u tablicama 11 i 12.

Ispitanici koji su koristili izbjeljujuću zubnu pastu Splat Extreme White za vrijeme trajanja studije u konačnici su bili najzadovoljniji postignutom bojom zubi ( $P = 0,017$ ). Učinkom izbjeljivanja zadovoljnima se izjasnilo 80 % ispitanika koji su koristili upravo tu izbjeljujuću pastu za zube, a ujedno je ta zubna pasta pokazala najbolje i najduže izbjeljujuće performace u svim fazama ispitivanja uz održivost stabilnosti postignute boje tijekom pratećeg razdoblja. Za njom slijede i one zubne paste koje osim peroksida u svom sastavu sadrže druge kemijske supstancije – HSWH (70 %), RDWP (60 %), SWP (61,9 %), CMEW (55 %). Najmanje zadovoljnima izjasnili su se ispitanici koji su tijekom istraživanja koristili zubne paste s abrazivima – SDW (50 %) i SWS (45 %) i ugljenom DBS (55 %) i BDW (50 %) (tablica 12).

Preosjetljivost zubi, kao najučestaliju opću senzaciju prilikom korištenja izbjeljujućih pripravaka, u ovoj studiji prijavilo je 40 % ispitanika tijekom korištenja izbjeljujuće zubne paste Rembrandt Deeply White + Peroxide (RDWP), 20 % ispitanika koji su koristili zubnu pastu Colgate Max Expert White (CMEW) te 15 % ispitanika koji su koristili zubnu pastu Splat Extreme White (SEW). Izbjeljujuće zubne paste koje su pokazale veću incidenciju preosjetljivosti zubi kod ispitanika u svom sastavu imale su perokside, premda je zabilježena prisutnost preosjetljivosti i tijekom korištenja zubnih pasti s ostalim kemijskim supstancijama, Himalaya Sparkly White Herbalis – 20 % ispitanika (tablica 12).

Tablica 11. Zadovoljstvo ispitanika karakteristikama izbjeljujućeg tretmana

Zadovoljstvo ispitanika	Korištene zubne paste									P vrijednost
	CMEW	SDW	HSWH	SWS	RDWP	SEW	SWP	DBS	BDW	
<b>Konačna boja zubi</b>	3,35 (0,67) <sup>a</sup>	3,15 (1,09) <sup>a</sup>	3,35 (0,67) <sup>a</sup>	3,25 (1,12) <sup>a</sup>	3,70 (1,13) <sup>b</sup>	4,15 (0,67) <sup>c</sup>	3,43 (0,98) <sup>ac</sup>	2,70 (0,66) <sup>a</sup>	2,06 (1,06) <sup>a</sup>	0,017*
<b>Postojanost boje</b>	3,10 (0,85) <sup>ac</sup>	2,85 (0,99) <sup>ac</sup>	3,05 (0,69) <sup>ac</sup>	2,85 (1,31) <sup>ac</sup>	3,35 (1,23) <sup>abd</sup>	3,70 (0,73) <sup>bd</sup>	3,33 (0,66) <sup>ad</sup>	2,40 (0,83) <sup>c</sup>	2,28 (0,58) <sup>c</sup>	0,059
<b>Duljina tretmana</b>	3,85 (0,59) <sup>ac</sup>	3,55 (0,76) <sup>a</sup>	3,65 (0,75) <sup>ac</sup>	3,60 (1,10) <sup>ac</sup>	3,75 (0,91) <sup>ac</sup>	3,95 (0,69) <sup>ac</sup>	3,95 (0,67) <sup>ac</sup>	2,60 (1,05) <sup>b</sup>	3,56 (0,92) <sup>a</sup>	0,517
<b>Udobnost tijekom trajanja tretmana</b>	3,70 (0,80) <sup>a</sup>	4,05 (0,69) <sup>a</sup>	4,10 (0,85) <sup>b</sup>	3,50 (1,54) <sup>d</sup>	3,85 (1,23) <sup>a</sup>	4,45 (0,69) <sup>b</sup>	4,14 (0,48) <sup>b</sup>	2,70 (1,53) <sup>c</sup>	3,22 (0,88) <sup>d</sup>	0,051
<b>Ukupno zadovoljstvo</b>	3,70 (0,87) <sup>a</sup>	3,80 (0,95) <sup>a</sup>	4,10 (0,78) <sup>b</sup>	3,70 (1,17) <sup>a</sup>	3,75 (1,07) <sup>a</sup>	4,10 (0,72) <sup>b</sup>	3,76 (0,63) <sup>a</sup>	2,80 (1,01) <sup>c</sup>	3,11 (0,68) <sup>c</sup>	0,586

Podaci su prikazani standardnom devijacijom (SD).

\*Statistička značajnost testirana je jednosmjernim ANOVA testom ( $P < 0,05$ ).

Različita mala slova u redu označavaju statističku značajnost između korištenih zubnih pasti na temelju Tukeyeva post-hoc testa.

Skraćenice: Colgate Max Expert White, CMEW; Splat Extreme White, SEW; Rembrandt Deeply White + Peroxide, RDWP; Splat White Plus, SWP; Himalaya Sparkly White Herbalis, HSWH; Signal Daily White, SDW; Signal White System, SWS; Dontodent Black Shine, DBS; Biobaza Deep White, BDW; standardna devijacija, SD.

Tablica 12. Stavovi ispitanika o korištenim zubnim pastama te apsolutna i relativna učestalost podražaja koje su osjetili tijekom njihove uporabe

Senzacija/stav	Korištene zubne paste								
	CMEW (n = 20)	SDW (n = 20)	HSWH (n = 20)	SWS (n = 20)	RDWP (n = 20)	SEW (n = 20)	SWP (n = 21)	DBS (n = 20)	BDW (n = 18)
<b>Sviđa mi se korištena zubna pasta</b>	18 (90 %)	16 (80 %)	18 (90 %)	14 (70 %)	17 (85 %)	18 (90 %)	20 (95,2 %)	12 (60 %)	16 (89 %)
<b>Pečenje</b>	4 (20 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (5 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<b>Iritacija</b>	2 (10 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	4 (20 %)	4 (22 %)
<b>Osjetljivost zubi</b>	4 (20 %)	1 (5 %)	4 (20 %)	4 (20 %)	8 (40 %)	3 (15 %)	2 (9,5 %)	2 (10 %)	2 (11 %)
<b>Neugodan okus</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	2 (9,5 %)	6 (30 %)	2 (11 %)
<b>Neugodna tekstura (pjeskovita, gruba, ljepljiva)</b>	2 (10 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	8 (40 %)	0 (0 %)
<b>Hrapavost površine zubi</b>	2 (10 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	6 (30 %)	0 (0 %)
<b>Ljuštenje, hrapavost oralne sluznice (obraz, jezik, usne, zubno meso)</b>	0 (0 %)	1 (10 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (10 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	6 (30 %)	0 (0 %)
<b>Suhoća usta, žed</b>	0 (0 %)	1 (5 %)	3 (15 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (5 %)	1 (4,7 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<b>Aftozne ulceracije u usnoj šupljini/rane</b>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<b>Svrbež/trnci/promjena okusa u ustima (obrazi, jezik ili usne)</b>	4 (20 %)	1 (5 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	1 (5 %)	0 (0 %)	1 (4,7 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<b>Učinak izbjeljivanja</b>	11 (55 %)	10 (50 %)	14 (70 %)	9 (45 %)	12 (60 %)	16 (80 %)	13 (61,9 %)	11 (55 %)	9 (50 %)
<b>Ponovio bi postupak</b>	17 (85 %)	18 (90 %)	19 (95 %)	14 (70 %)	17 (85 %)	18 (90 %)	20 (95,2 %)	14 (70 %)	15 (83 %)
<b>Preporučio bi postupak</b>	16 (80 %)	15 (75 %)	19 (95 %)	15 (75 %)	15 (75 %)	19 (95 %)	20 (95,2 %)	14 (70 %)	15 (83 %)

Podaci su prikazani kao cijeli broj i postotak.

Skraćenice: Colgate Max Expert White – CMEW; Splat Extreme White – SEW; Rembrandt Deeply White + Peroxide – RDWP; Splat White Plus – SWP; Himalaya Sparkly White Herbalis – HSWH; Signal Daily White – SDW; Signal White System – SWS; Dontodent Black Shine, DBS; Biobaza Deep White, BDW; standardna devijacija, SD.

### 4.3. Rezultati bukalnog mikronukleus testa i parametara citotoksičnosti

Srednja vrijednost (standardna devijacija) parametara oštećenja DNK (broj stanica s mikronukleusima, jezgrinim pupovima i binuklearnih stanica) u 2000 pregledanih bukalnih epitelnih stanica ispitanika testirane skupine za svako vremensko razdoblje mjerenja prikazana je u tablici 13, a srednja vrijednost (standardna devijacija) citotoksičnih parametara (broj stanica s kariolizom, karioreksijom, piknozom i kondenziranim kromatinom) u tablici 14. Rezultati bukalnog mikronukleus testa (engl. *Buccal Micronucleus Assay*; *BM Cyt Assay*) prikazani su kao genotoksični parametri kromosomalnih i DNK biomarkera oštećenja u prikazu broja stanica s mikronukleusima, binuklearnim stanicama i stanicama s jezgrinim pupovima te kao citotoksični parametri (indikator stanične smrti i apoptoze) u prikazu broja stanica s kondenziranim kromatinom, broja stanica s karioreksijom, broja stanica s kariolizom i broja stanica s piknozom. Genotoksični parametri nisu pokazali biološki značajne promjene ni u jednom testiranom vremenskom razdoblju za korištene zubne paste, dok su citotoksični parametri (broj stanica s karioreksijom i kondenziranim kromatinom) pokazali statistički značajno povećanje broja ( $P < 0,05$ ) u vremenskom razdoblju T1 i T2 u usporedbi s inicijalnom vrijednosti za tri izbjeljujuće zubne paste koje su u svom sastavu imale peroksid (urea/vodikov peroksid) – Colgate Max Expert White (CMEW), Rembrandt Deeply White + Peroxide (RDWP) i Splat Extreme White (SEW). Statistički značajna razlika za isto vrijeme uzorkovanja nije dobivena ni za genotoksične ni za citotoksične parametre između ispitivanih skupina. Isto vrijedi i za genotoksične parametre za svih deset ispitivanih skupina između vremena uzorkovanja. Statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) uočena je samo za citotoksične parametre stanica s kondenziranim kromatinom i stanica s karioreksijom između vremena uzorkovanja za sljedeće izbjeljujuće zubne paste: CMEW – karioreksija (povećanje: T1 naspram T0; T2 naspram T0; smanjenje: T3 naspram T1; T3 naspram T2), RDWP – karioreksija (povećanje: T1 naspram T0; T2 naspram T0; smanjenje: T3 naspram T1; T3 u odnosu na T2), RDWP – kondenzirani kromatin (povećanje: T1 u odnosu na T0; T2 u odnosu na T0; T2 u odnosu na T1, T3 u odnosu na T0; smanjenje: T3 u odnosu na T1; T3 u odnosu na T2), SEW – karioreksija (povećanje: T1 naspram T0, T2 naspram T0; smanjenje: T3 naspram T1, T3 naspram T2) i SEW – kondenzirani kromatin (povećanje: T1 naspram T0; T2 naspram T0; T2 naspram T1; T3 u odnosu na T0; smanjenje: T3 u odnosu na T1; T3 u odnosu na T2).



Tablica 13. Prikaz genotoksičnih parametara (broj stanica s mikronukleusima, jezgrinim pupovima i broj binuklearnih stanica) u vremenskim razdobljima T0, T1, T2 i T3

Genotoksični parametri	Korištene zubne paste									
	Kontrola	CMEW	SDW	HSWH	SWS	RDWP	SEW	SWP	DBS	BDW
<b>Broj stanica s mikronukleusima</b>										
<b>T0</b>	1,51 (1,22) <sup>Aa</sup>	1,69 (0,85) <sup>Aa</sup>	1,77 (0,73) <sup>Aa</sup>	1,64 (1,13) <sup>Aa</sup>	1,87 (0,82) <sup>Aa</sup>	1,87 (1,14) <sup>Aa</sup>	1,79 (1,15) <sup>Aa</sup>	1,84 (0,96) <sup>Aa</sup>	1,75 (0,87) <sup>Aa</sup>	1,60 (1,32) <sup>Aa</sup>
<b>T1</b>	1,48 (1,17) <sup>Aa</sup>	1,56 (0,83) <sup>Aa</sup>	1,77 (0,82) <sup>Aa</sup>	1,52 (1,08) <sup>Aa</sup>	1,75 (0,83) <sup>Aa</sup>	1,73 (1,09) <sup>Aa</sup>	1,68 (1,20) <sup>Aa</sup>	1,78 (1,00) <sup>Aa</sup>	1,60 (0,87) <sup>Aa</sup>	1,46 (1,26) <sup>Aa</sup>
<b>T2</b>	1,50 (1,23) <sup>Aa</sup>	1,55 (0,87) <sup>Aa</sup>	1,69 (0,79) <sup>Aa</sup>	1,50 (1,10) <sup>Aa</sup>	1,84 (0,81) <sup>Aa</sup>	1,74 (1,11) <sup>Aa</sup>	1,66 (1,18) <sup>Aa</sup>	1,83 (0,96) <sup>Aa</sup>	1,62 (0,88) <sup>Aa</sup>	1,46 (1,26) <sup>Aa</sup>
<b>T3</b>	1,47 (1,17) <sup>Aa</sup>	1,60 (0,88) <sup>Aa</sup>	1,73 (0,80) <sup>Aa</sup>	1,54 (1,06) <sup>Aa</sup>	1,84 (0,80) <sup>Aa</sup>	1,78 (1,13) <sup>Aa</sup>	1,71 (1,16) <sup>Aa</sup>	1,86 (0,98) <sup>Aa</sup>	1,65 (0,94) <sup>Aa</sup>	1,51 (1,27) <sup>Aa</sup>
<b>Broj stanica s jezgrinim pupom</b>										
<b>T0</b>	2,52 (0,85) <sup>Aa</sup>	2,58 (0,97) <sup>Aa</sup>	2,64 (0,79) <sup>Aa</sup>	2,75 (1,05) <sup>Aa</sup>	2,51 (0,84) <sup>Aa</sup>	2,78 (1,01) <sup>Aa</sup>	2,50 (0,65) <sup>Aa</sup>	2,63 (0,49) <sup>Aa</sup>	2,48 (0,86) <sup>Aa</sup>	2,64 (0,68) <sup>Aa</sup>
<b>T1</b>	2,59 (1,27) <sup>Aa</sup>	2,40 (1,18) <sup>Aa</sup>	2,48 (1,08) <sup>Aa</sup>	2,70 (1,17) <sup>Aa</sup>	2,43 (0,99) <sup>Aa</sup>	2,46 (1,24) <sup>Aa</sup>	2,31 (1,04) <sup>Aa</sup>	2,66 (1,19) <sup>Aa</sup>	2,69 (0,74) <sup>Aa</sup>	2,51 (0,88) <sup>Aa</sup>
<b>T2</b>	2,62 (1,18) <sup>Aa</sup>	2,43 (1,36) <sup>Aa</sup>	2,52 (0,93) <sup>Aa</sup>	2,72 (1,13) <sup>Aa</sup>	2,46 (1,33) <sup>Aa</sup>	2,64 (1,17) <sup>Aa</sup>	2,33 (1,26) <sup>Aa</sup>	2,60 (1,15) <sup>Aa</sup>	2,79 (0,85) <sup>Aa</sup>	2,61 (1,22) <sup>Aa</sup>
<b>T3</b>	2,48 (1,07) <sup>Aa</sup>	2,47 (1,20) <sup>Aa</sup>	2,45 (1,16) <sup>Aa</sup>	2,58 (1,07) <sup>Aa</sup>	2,45 (1,17) <sup>Aa</sup>	2,48 (1,30) <sup>Aa</sup>	2,41 (1,10) <sup>Aa</sup>	2,39 (1,04) <sup>Aa</sup>	2,70 (0,74) <sup>Aa</sup>	2,74 (1,19) <sup>Aa</sup>
<b>Broj binuklearnih stanica</b>										
<b>T0</b>	6,85 (4,69) <sup>Aa</sup>	6,91 (5,74) <sup>Aa</sup>	6,44 (5,08) <sup>Aa</sup>	7,03 (5,46) <sup>Aa</sup>	6,28 (2,79) <sup>Aa</sup>	7,13 (4,82) <sup>Aa</sup>	6,85 (3,32) <sup>Aa</sup>	6,90 (3,50) <sup>Aa</sup>	6,36 (4,68) <sup>Aa</sup>	6,39 (4,68) <sup>Aa</sup>
<b>T1</b>	6,93 (4,73) <sup>Aa</sup>	6,92 (5,73) <sup>Aa</sup>	6,53 (5,19) <sup>Aa</sup>	7,14 (5,44) <sup>Aa</sup>	6,36 (2,86) <sup>Aa</sup>	7,18 (4,87) <sup>Aa</sup>	6,91 (3,28) <sup>Aa</sup>	7,01 (3,50) <sup>Aa</sup>	6,44 (4,72) <sup>Aa</sup>	6,46 (4,64) <sup>Aa</sup>
<b>T2</b>	6,87 (5,43) <sup>Aa</sup>	6,98 (5,72) <sup>Aa</sup>	6,52 (5,18) <sup>Aa</sup>	7,13 (5,43) <sup>Aa</sup>	6,33 (2,84) <sup>Aa</sup>	7,21 (4,91) <sup>Aa</sup>	6,95 (3,26) <sup>Aa</sup>	7,04 (3,49) <sup>Aa</sup>	6,47 (4,73) <sup>Aa</sup>	6,53 (4,63) <sup>Aa</sup>
<b>T3</b>	6,97 (5,29) <sup>Aa</sup>	6,89 (5,62) <sup>Aa</sup>	6,39 (5,07) <sup>Aa</sup>	7,10 (5,45) <sup>Aa</sup>	6,26 (2,80) <sup>Aa</sup>	7,10 (4,90) <sup>Aa</sup>	6,88 (3,35) <sup>Aa</sup>	6,93 (3,52) <sup>Aa</sup>	6,32 (4,73) <sup>Aa</sup>	6,34 (4,74) <sup>Aa</sup>

Različita velika slova u redu označavaju statistički značajnu razliku između evaluacijskih razdoblja korištenja zubnih pasti, a različita mala slova u redu statistički značajnu razliku između korištenih zubnih pasti ( $P < 0,05$ ).

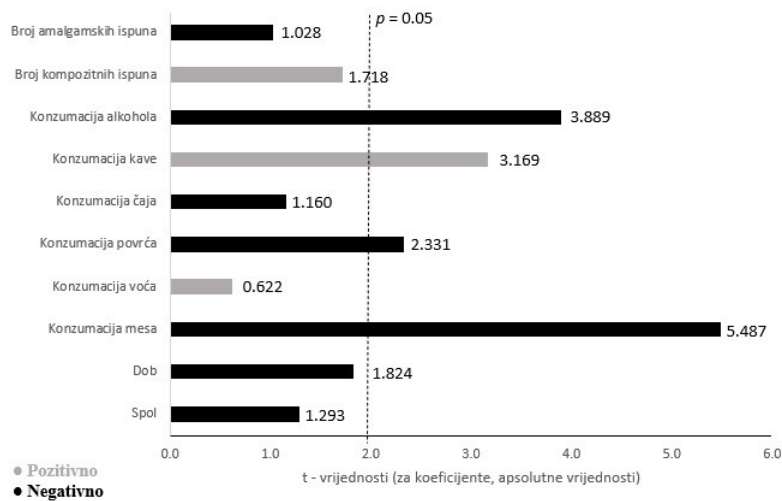
Skraćenice: Kalodont Multi Repair, Kontrola; Colgate Max Expert White, CMEW; Splat Extreme White, SEW; Rembrandt Deeply White + Peroxide, RDWP; Splat White Plus, SWP; Himalaya Sparkly White Herbalis, HSWH; Signal Daily White, SDW; Signal White System, SWS; Dontodent Black Shine, DBS; Biobaza Deep White, BDW; T0, inicijalna vrijednost; T1, 30 dana od početka tretmana; T2, 60 dana od početka tretmana; T3, 90 dana od početka tretmana (30 dana nakon prestanka tretmana) – prateće razdoblje.

Tablica 14. Prikaz citotoksičnih parametara (broj stanica s kariolizom, karioreksijom, piknotičkom jezgrom i kondenziranim kromatinom) u vremenskim razdobljima T0, T1, T2 i T3

Citotoksični parametri	Korištene zubne paste									
	Kontrola	CMEW	SDW	HSWH	SWS	RDWP	SEW	SWP	DBS	BDW
<b>Broj stanica s kariolizom</b>										
T0	103,21 (38,36) <sup>Aa</sup>	104,53 (36,82) <sup>Aa</sup>	104,81 (38,52) <sup>Aa</sup>	111,25 (37,69) <sup>Aa</sup>	111,58 (37,63) <sup>Aa</sup>	110,49 (35,58) <sup>Aa</sup>	106,18 (34,21) <sup>Aa</sup>	111,37 (35,21) <sup>Aa</sup>	109,39 (38,69) <sup>Aa</sup>	110,50 (26,40) <sup>Aa</sup>
T1	103,13 (38,34) <sup>Aa</sup>	107,04 (36,18) <sup>Aa</sup>	107,31 (38,07) <sup>Aa</sup>	114,74 (29,53) <sup>Aa</sup>	113,76 (37,52) <sup>Aa</sup>	113,96 (31,51) <sup>Aa</sup>	108,89 (34,82) <sup>Aa</sup>	112,48 (35,03) <sup>Aa</sup>	112,90 (38,95) <sup>Aa</sup>	113,94 (28,80) <sup>Aa</sup>
T2	103,90 (39,68) <sup>Aa</sup>	107,40 (36,37) <sup>Aa</sup>	107,38 (38,28) <sup>Aa</sup>	114,33 (28,69) <sup>Aa</sup>	113,21 (37,65) <sup>Aa</sup>	112,15 (30,71) <sup>Aa</sup>	108,36 (34,38) <sup>Aa</sup>	111,87 (35,07) <sup>Aa</sup>	112,34 (38,40) <sup>Aa</sup>	113,36 (26,89) <sup>Aa</sup>
T3	103,44 (38,79) <sup>Aa</sup>	105,45 (36,57) <sup>Aa</sup>	106,91 (38,39) <sup>Aa</sup>	112,84 (30,83) <sup>Aa</sup>	112,64 (37,62) <sup>Aa</sup>	111,12 (33,29) <sup>Aa</sup>	106,98 (33,44) <sup>Aa</sup>	110,78 (35,41) <sup>Aa</sup>	110,27 (39,03) <sup>Aa</sup>	111,42 (25,32) <sup>Aa</sup>
<b>Broj stanica s karioreksijom</b>										
T0	15,41 (7,43) <sup>Aa</sup>	15,07 (7,30) <sup>Aa</sup>	15,14 (7,20) <sup>Aa</sup>	15,88 (6,50) <sup>Aa</sup>	15,12 (7,58) <sup>Aa</sup>	14,86 (6,95) <sup>Aa</sup>	15,50 (7,63) <sup>Aa</sup>	15,26 (7,49) <sup>Aa</sup>	15,78 (6,39) <sup>Aa</sup>	15,23 (7,59) <sup>Aa</sup>
T1	15,63 (7,48) <sup>Aa</sup>	16,84 (9,43) <sup>Ba</sup>	16,14 (7,23) <sup>Aa</sup>	16,88 (8,72) <sup>Aa</sup>	16,08 (9,17) <sup>Aa</sup>	16,77 (8,17) <sup>Ba</sup>	17,40 (7,42) <sup>Ba</sup>	15,48 (7,30) <sup>Aa</sup>	16,62 (6,34) <sup>Aa</sup>	15,46 (7,35) <sup>Aa</sup>
T2	15,81 (7,44) <sup>Aa</sup>	16,60 (9,26) <sup>Ba</sup>	15,59 (7,29) <sup>Aa</sup>	16,84 (8,18) <sup>Aa</sup>	16,11 (8,88) <sup>Aa</sup>	16,94 (8,05) <sup>Ba</sup>	17,50 (7,53) <sup>Ba</sup>	15,97 (7,31) <sup>Aa</sup>	16,88 (5,62) <sup>Aa</sup>	15,73 (7,34) <sup>Aa</sup>
T3	15,50 (7,24) <sup>Aa</sup>	16,00 (7,74) <sup>ABa</sup>	15,25 (7,79) <sup>Aa</sup>	16,01 (8,11) <sup>Aa</sup>	15,98 (8,99) <sup>Aa</sup>	15,76 (7,73) <sup>Aa</sup>	16,00 (7,03) <sup>Aa</sup>	15,25 (7,20) <sup>Aa</sup>	16,34 (6,10) <sup>Aa</sup>	15,64 (7,51) <sup>Aa</sup>
<b>Broj stanica s piknotičkom jezgrom</b>										
T0	3,76 (1,54) <sup>Aa</sup>	3,43 (1,76) <sup>Aa</sup>	3,77 (1,69) <sup>Aa</sup>	3,23 (1,63) <sup>Aa</sup>	3,89 (1,29) <sup>Aa</sup>	3,61 (2,32) <sup>Aa</sup>	3,53 (1,71) <sup>Aa</sup>	3,74 (2,20) <sup>Aa</sup>	3,42 (1,23) <sup>Aa</sup>	3,60 (2,10) <sup>Aa</sup>
T1	3,83 (1,42) <sup>Aa</sup>	3,83 (2,12) <sup>Aa</sup>	3,84 (1,55) <sup>Aa</sup>	3,68 (2,19) <sup>Aa</sup>	3,88 (2,31) <sup>Aa</sup>	3,96 (1,55) <sup>Aa</sup>	3,83 (1,98) <sup>Aa</sup>	3,94 (2,18) <sup>Aa</sup>	3,65 (1,30) <sup>Aa</sup>	4,08 (2,14) <sup>Aa</sup>
T2	3,90 (1,31) <sup>Aa</sup>	3,83 (2,15) <sup>Aa</sup>	3,82 (1,77) <sup>Aa</sup>	3,71 (2,21) <sup>Aa</sup>	3,97 (2,32) <sup>Aa</sup>	3,95 (2,18) <sup>Aa</sup>	4,01 (2,14) <sup>Aa</sup>	3,90 (2,15) <sup>Aa</sup>	3,73 (1,55) <sup>Aa</sup>	4,06 (2,33) <sup>Aa</sup>
T3	3,81 (1,87) <sup>Aa</sup>	3,67 (1,46) <sup>Aa</sup>	3,61 (2,49) <sup>Aa</sup>	3,46 (1,90) <sup>Aa</sup>	3,79 (1,88) <sup>Aa</sup>	3,73 (2,19) <sup>Aa</sup>	3,83 (2,16) <sup>Aa</sup>	3,89 (2,25) <sup>Aa</sup>	3,82 (1,66) <sup>Aa</sup>	3,72 (2,29) <sup>Aa</sup>
<b>Broj stanica s kondenziranim kromatinom</b>										
T0	41,12 (10,80) <sup>Aa</sup>	40,25 (14,91) <sup>Aa</sup>	39,89 (11,22) <sup>Aa</sup>	40,43 (12,99) <sup>Aa</sup>	40,93 (13,21) <sup>Aa</sup>	38,78 (12,61) <sup>Aa</sup>	39,21 (15,55) <sup>Aa</sup>	40,52 (11,46) <sup>Aa</sup>	40,28 (10,53) <sup>Aa</sup>	40,62 (14,81) <sup>Aa</sup>
T1	41,62 (11,83) <sup>Aa</sup>	41,60 (15,45) <sup>Ba</sup>	40,25 (11,33) <sup>Aa</sup>	40,93 (13,18) <sup>Aa</sup>	41,36 (13,41) <sup>Aa</sup>	41,82 (12,19) <sup>Ba</sup>	43,75 (15,11) <sup>Ba</sup>	40,98 (11,32) <sup>Aa</sup>	40,85 (10,67) <sup>Aa</sup>	41,24 (14,71) <sup>Aa</sup>
T2	41,33 (11,68) <sup>Aa</sup>	41,44 (14,99) <sup>Ba</sup>	40,39 (11,46) <sup>Aa</sup>	40,86 (13,23) <sup>Aa</sup>	41,44 (13,44) <sup>Aa</sup>	42,51 (12,17) <sup>Ca</sup>	44,32 (15,09) <sup>Ca</sup>	41,10 (11,61) <sup>Aa</sup>	40,96 (10,84) <sup>Aa</sup>	41,35 (14,83) <sup>Aa</sup>
T3	41,15 (11,28) <sup>Aa</sup>	40,43 (15,49) <sup>Aa</sup>	40,21 (11,13) <sup>Aa</sup>	40,64 (12,95) <sup>Aa</sup>	41,41 (13,34) <sup>Aa</sup>	40,17 (12,35) <sup>Da</sup>	42,71 (14,87) <sup>Da</sup>	41,05 (11,38) <sup>Aa</sup>	40,84 (10,48) <sup>Aa</sup>	40,70 (14,72) <sup>Aa</sup>
<p>Različita velika slova u redu označavaju statistički značajnu razliku između evaluacijskih razdoblja korištenja zubnih pasti, a različita mala slova u redu statistički značajnu razliku između korištenih zubnih pasti (<math>P &lt; 0,05</math>).</p> <p>Skraćenice: Kalodont Multi Repair, Kontrola; Colgate Max Expert White, CMEW; Splat Extreme White, SEW; Rembrandt Deeply White + Peroxide, RDWP; Splat White Plus, SWP; Himalaya Sparkly White Herbalis, HSWH; Signal Daily White, SDW; Signal White System, SWS; Dontodent Black Shine, DBS; Biobaza Deep White, BDW; T0, inicijalna vrijednost; T1, 30 dana od početka tretmana; T2, 60 dana od početka tretmana; T3, 90 dana od početka tretmana (30 dana nakon prestanka tretmana) –prateće razdoblje.</p>										

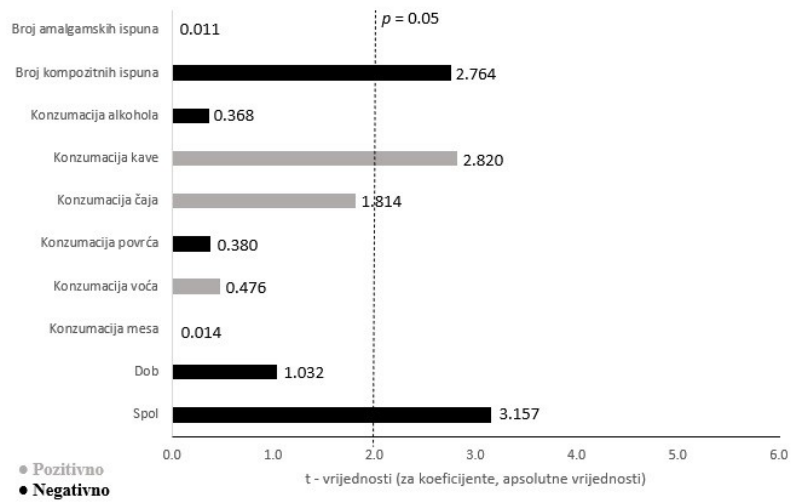
Rezultati regresijske analize ovisnosti parametara mikronukleus testa (citotoksičnih parametara) kao nezavisnih varijabli o sociodemografskim čimbenicima i prehrabnim navikama kao prediktorskim varijablama prikazan je u obliku Paretovih dijagrama i *t*-vrijednosti na slikama 2, 3, 4 i 5.

Uočava se statistički značajan utjecaj konzumacije alkohola ( $\beta = -0,122$ ,  $SE = 1,578$ ,  $P \leq 0,001$ ), konzumacije kave ( $\beta = 0,095$ ,  $SE = 0,671$ ,  $P = 0,002$ ), konzumacije povrća ( $\beta = -0,079$ ,  $SE = 2,104$ ,  $P = 0,002$ ) te konzumacije mesa ( $\beta = -0,169$ ,  $SE = 1,823$ ,  $P \leq 0,001$ ) na broj stanica s kariolizom.



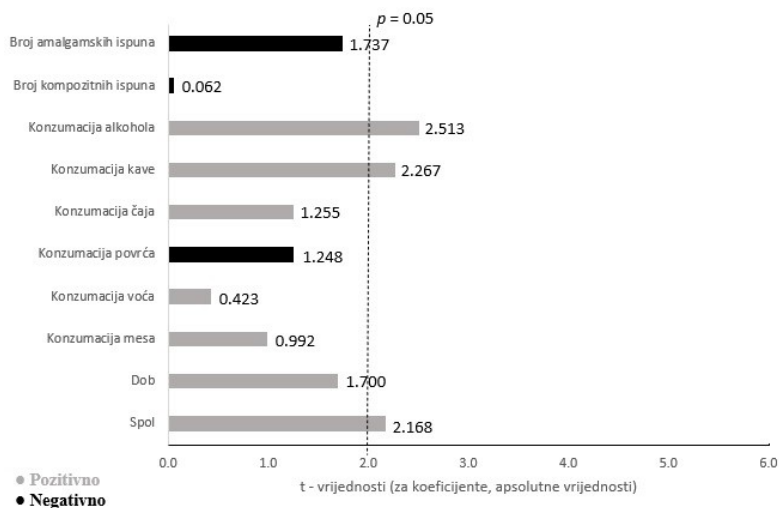
Slika 2. Pareto dijagram povezanosti pojave stanica s kariolizom s prediktorskim varijablama

Uočava se statistički značajan utjecaj broja kompozitnih ispuna ( $\beta = -0,089$ ,  $SE = 0,075$ ,  $P = 0,006$ ), konzumacije kave ( $\beta = 0,086$ ,  $SE = 0,136$ ,  $P = 0,005$ ) te spola ( $\beta = -0,101$ ,  $SE = 0,469$ ,  $P = 0,002$ ) na broj stanica s karioreksijom.



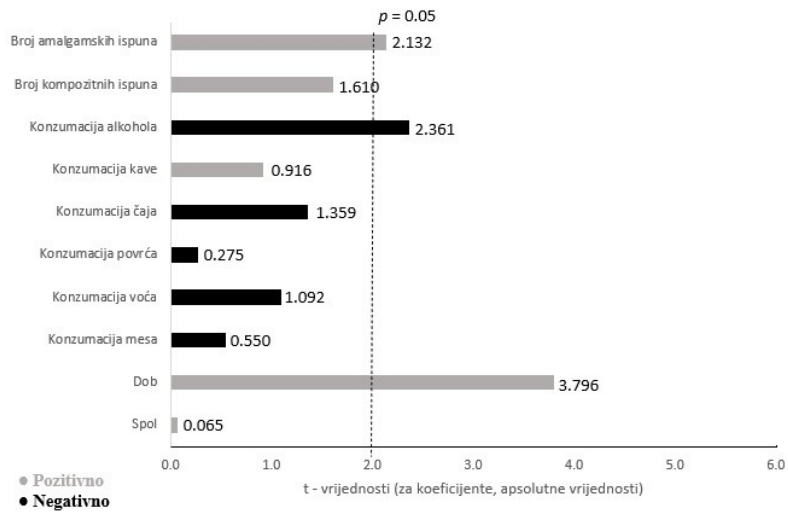
Slika 3. Pareto dijagram povezanosti pojave stanica s karioreksijom s prediktorskim varijablama

Uočava se statistički značajan utjecaj konzumacije alkohola ( $\beta = 0,08$ ,  $SE = 0,079$ ,  $P = 0,012$ ), konzumacije kave ( $\beta = 0,069$ ,  $SE = 0,034$ ,  $P = 0,024$ ) te spola ( $\beta = 0,069$ ,  $SE = 0,116$ ,  $P = 0,03$ ) na broj stanica s piknotičkom jezgrom.



Slika 4. Pareto dijagram povezanosti pojave stanica s piknotičkom jezgrom s prediktorskim varijablama

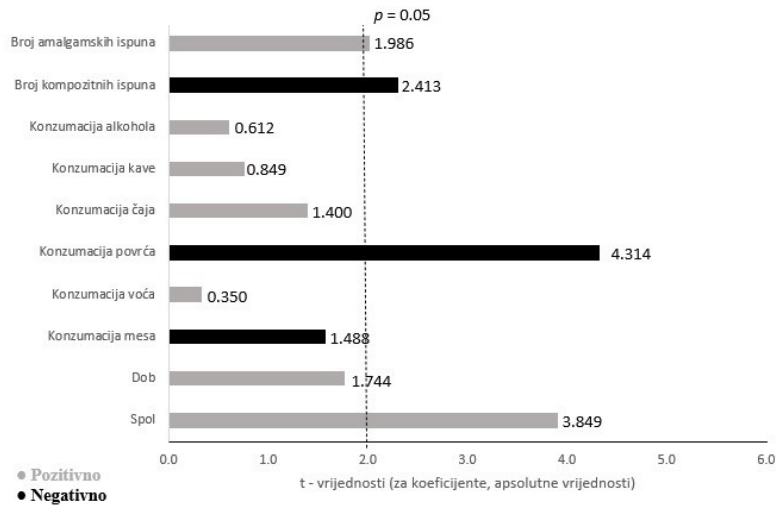
Uočava se statistički značajan utjecaj broja amalgamskih ispuna ( $\beta = 0,064$ ,  $SE = 0,28$ ,  $P = 0,033$ ), konzumacije alkohola ( $\beta = -0,075$ ,  $SE = 0,571$ ,  $P = 0,018$ ) te dobi ( $\beta = 0,116$ ,  $SE = 0,05$ ,  $P \leq 0,001$ ) na broj stanica s kondenziranim kromatinom.



Slika 5. Pareto dijagram povezanosti pojave stanica s kondenziranim kromatinom s prediktorskim varijablama

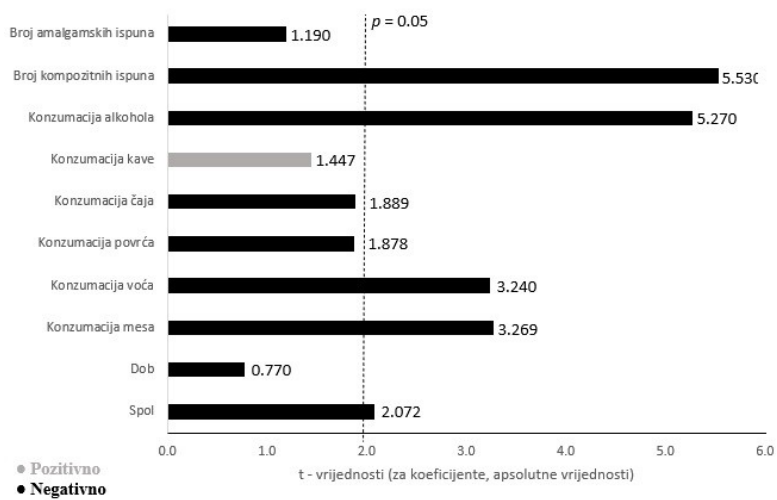
Rezultati regresijske analize ovisnosti parametara mikronukleus testa (genotoksičnih parametara) kao nezavisnih varijabli o sociodemografskim čimbenicima i prehrabnim navikama kao prediktorskim varijablama prikazani su u obliku Paretovih dijagrama i  $t$ -vrijednosti na slikama 6, 7 i 8.

Uočava se statistički značajan utjecaj broja amalgamskih ispuna ( $\beta = 0,059$ ,  $SE = 0,022$ ,  $P = 0,049$ ), broja kompozitnih ispuna ( $\beta = -0,077$ ,  $SE = 0,011$ ,  $P = 0,016$ ), konzumacije povrća ( $\beta = -0,148$ ,  $SE = 0,061$ ,  $P \leq 0,001$ ) te spola ( $\beta = 0,121$ ,  $SE = 0,067$ ,  $P \leq 0,001$ ) na broj stanica s mikronukleusom.



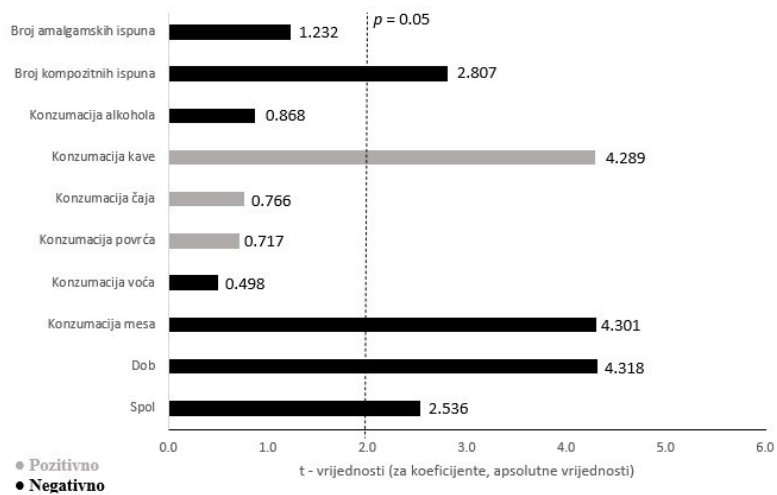
Slika 6. Pareto dijagram povezanosti pojave stanica s mikronukleusom s prediktorskim varijablama

Uočava se statistički značajan utjecaj broja kompozitnih ispuna ( $\beta = -0,173$ ,  $SE = 0,046$ ,  $P \leq 0,001$ ), konzumacije alkohola ( $\beta = -0,164$ ,  $SE = 0,197$ ,  $P \leq 0,001$ ), konzumacije voća ( $\beta = -0,111$ ,  $SE = 0,223$ ,  $P = 0,001$ ), konzumacije mesa ( $\beta = -0,099$ ,  $SE = 0,227$ ,  $P = 0,001$ ) te spola ( $\beta = -0,064$ ,  $SE = 0,212$ ,  $P = 0,038$ ) na broj binuklearnih stanica.



Slika 7. Pareto dijagram povezanosti pojave binuklearnih stanica s prediktorskim varijablama

Uočava se statistički značajan utjecaj broja kompozitnih ispuna ( $\beta = -0,089$ ,  $SE = 0,009$ ,  $P = 0,005$ ), konzumacije kave ( $\beta = 0,129$ ,  $SE = 0,016$ ,  $P \leq 0,001$ ), konzumacije mesa ( $\beta = -0,133$ ,  $SE = 0,042$ ,  $P \leq 0,001$ ) te dobi ( $\beta = -0,131$ ,  $SE = 0,003$ ,  $P \leq 0,001$ ) i spola ( $\beta = -0,080$ ,  $SE = 0,054$ ,  $P = 0,011$ ) na broj stanica s jezgrinim pupovima.

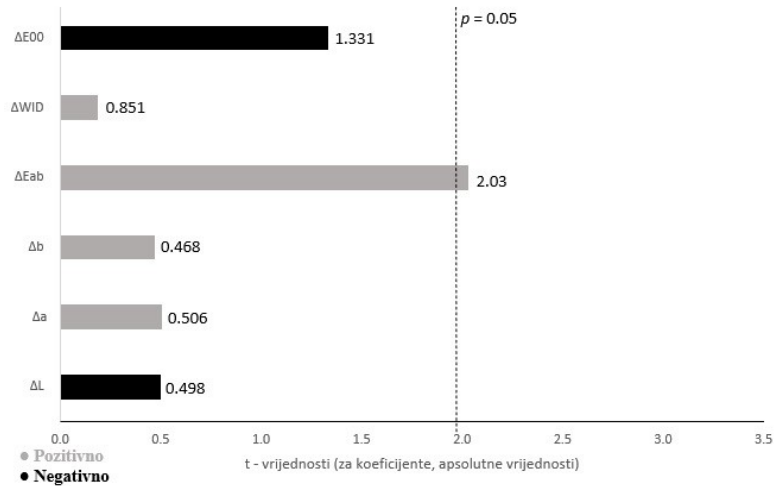


Slika 8. Pareto dijagram povezanosti pojave stanica s jezgrinim pupovima s prediktorskim varijablama

#### 4.4. Rezultati višestruke regresijske analize odnosa kliničkog ishoda izbjeljivanja i parametara mikronukleus testa

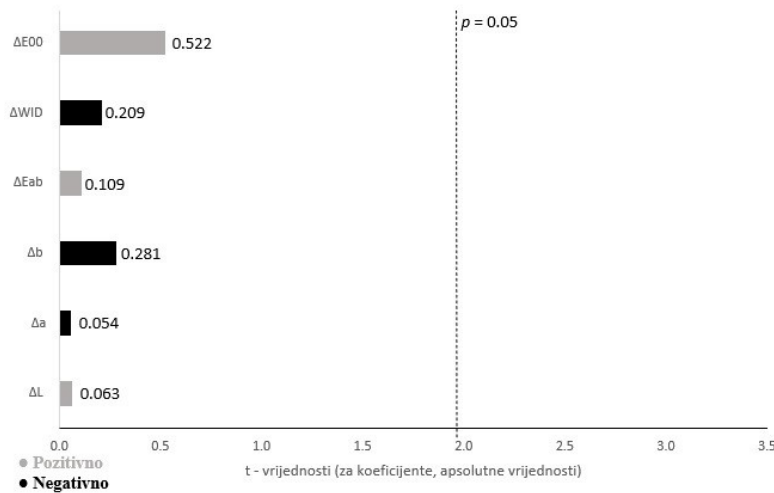
Odnos vrijednosti objektivnog kliničkog ishoda izbjeljivanja kao prediktorskih varijabli i ovisnih varijabli (parametri mikronukleus testa) kroz vremenska razdoblja T1 i T2 utvrđen je modelom višestruke regresijske analize te je prikazan u obliku Paretova dijagrama i  $t$ -vrijednosti na slikama 9-22.

Uočava se statistički značajan utjecaj parametra  $\Delta E_{ab}$  na broj stanica s mikronukleusima ( $\beta = 0,290$ ,  $SE = 0,072$ ,  $P = 0,043$ ) u vremenskom razdoblju T1.



Slika 9. Pareto dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s mikronukleusom u razdoblju T1

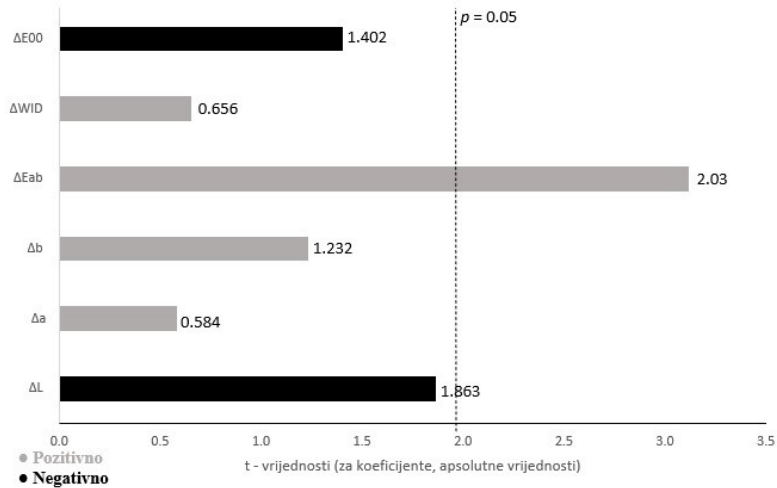
Nijedan klinički parametar izbjeljivanja ( $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$ ) nije pokazao statistički značajnu povezanost s binuklearnim stanicama u vremenskom razdoblju T1.



Slika 10. Pareto dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i binuklearnih stanica u razdoblju T1

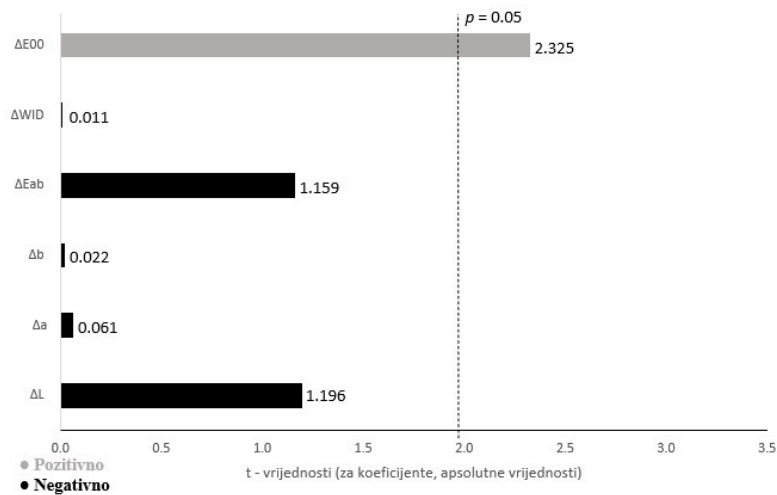
Uočava se statistički značajan utjecaj parametra  $\Delta E_{ab}$  na broj stanica s jezgrinim pupovima ( $\beta = 0,443$ ,  $SE = 0,085$ ,  $P = 0,002$ ) u vremenskom razdoblju T1.





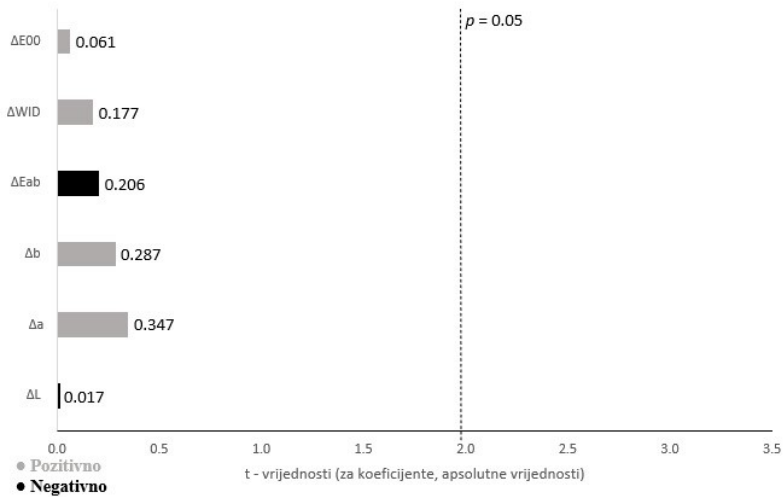
Slika 11. Paretov dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta W_{ID}$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s jezgrenim pupovima u razdoblju T1

Uočava se statistički značajan utjecaj  $\Delta E_{00}$  na broj stanica s kariolizom ( $\beta = 0,166$ ,  $SE = 2,446$ ,  $P = 0,247$ ) u vremenskom razdoblju T1.



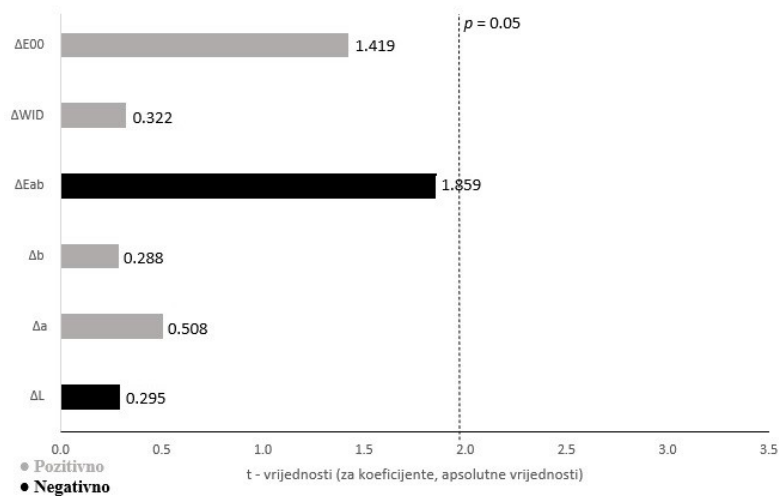
Slika 12. Paretov dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta W_{ID}$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s kariolizom u razdoblju T1

Nijedan klinički parametar izbjeljivanja ( $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta W_{ID}$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$ ) nije pokazao statistički značajnu povezanost s brojem stanica s karioreksijom u vremenskom razdoblju T1.



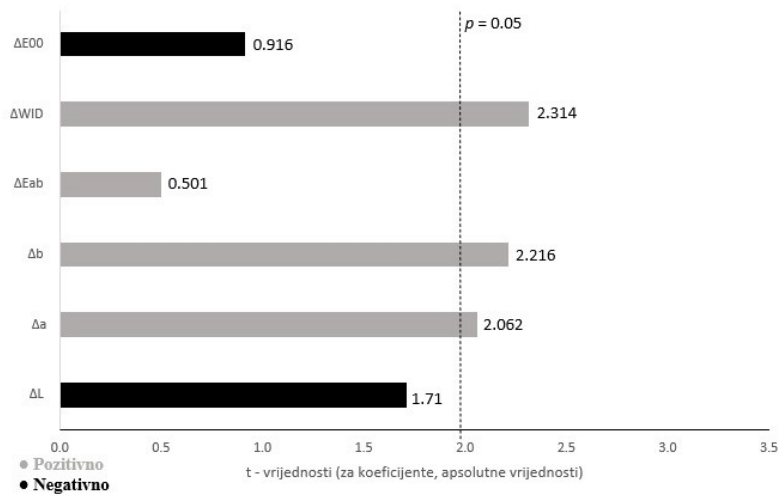
Slika 13. Paretov dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s karioreksijom u razdoblju T1

Nijedan klinički parametar izbjeljivanja ( $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$ ) nije pokazao statistički značajnu povezanost s brojem stanica s kondenziranim kromatinom u vremenskom razdoblju T1.



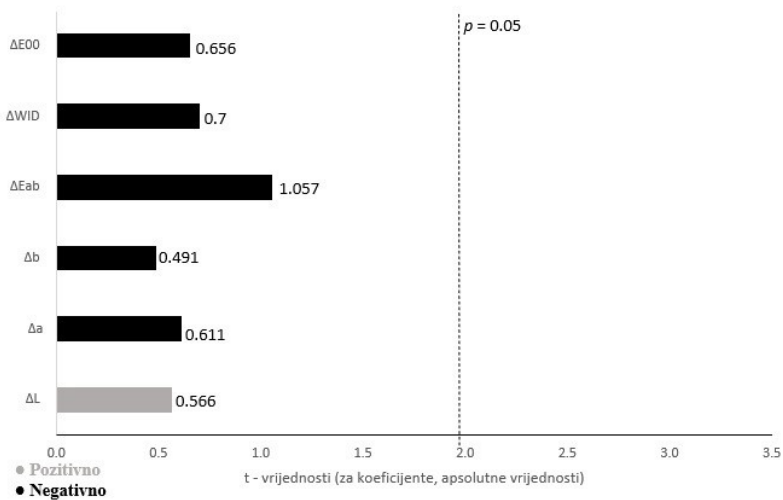
Slika 14. Paretov dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s kondenziranim kromatinom u razdoblju T1

Uočava se statistički značajna povezanost parametara  $\Delta a$ ,  $\Delta b$  i  $\Delta WID$  na broj stanica s piknozom ( $\Delta a - \beta = 0,371$ ,  $SE = 0,587$ ,  $P = 0,039$ ;  $\Delta b - \beta = 0,551$ ,  $SE = 0,133$ ,  $P = 0,027$ ;  $\Delta WID - \beta = 0,865$ ,  $SE = 0,248$ ,  $P = 0,088$ ) u vremenskom razdoblju T1.



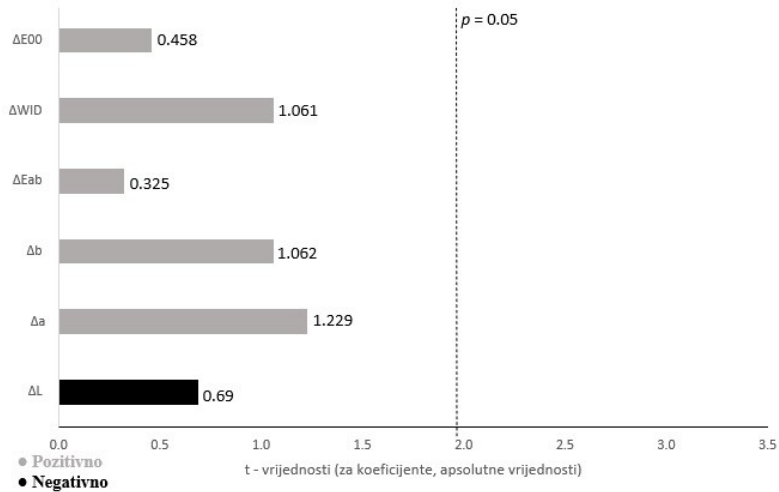
Slika 15. Pareto dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s piknozom u razdoblju T1

Nijedan klinički parametar izbjeljivanja ( $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$ ) nije pokazao statistički značajnu povezanost s brojem stanica s mikronukleusom u vremenskom razdoblju T2.



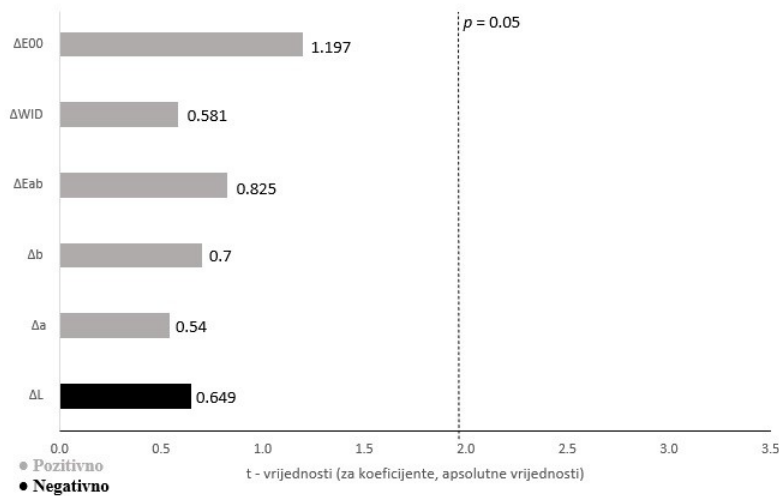
Slika 16. Pareto dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s mikronukleusom u razdoblju T2

Nijedan klinički parametar izbjeljivanja ( $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$ ) nije pokazao statistički značajnu povezanost s brojem binuklearnih stanica u vremenskom razdoblju T2.



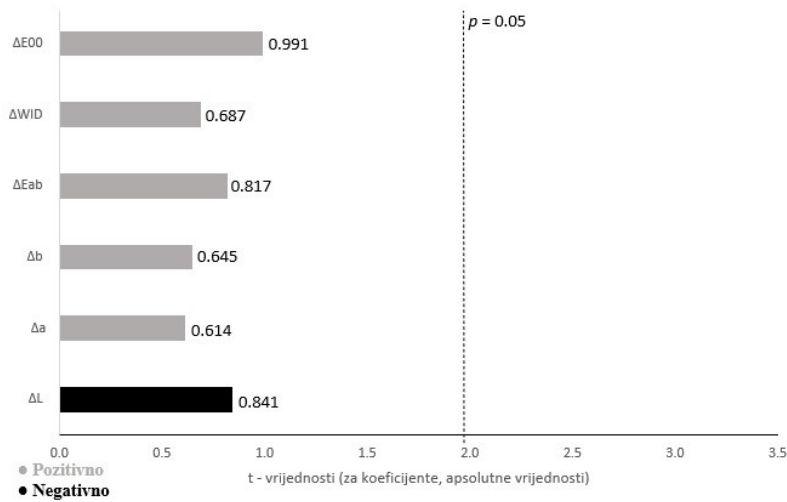
Slika 17. Paretov dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta W_{ID}$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i binuklearnih stanica u razdoblju T2

Nijedan klinički parametar izbjeljivanja ( $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta W_{ID}$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$ ) nije pokazao statistički značajnu povezanost s brojem stanica s jezgrinim pupovima u vremenskom razdoblju T2.



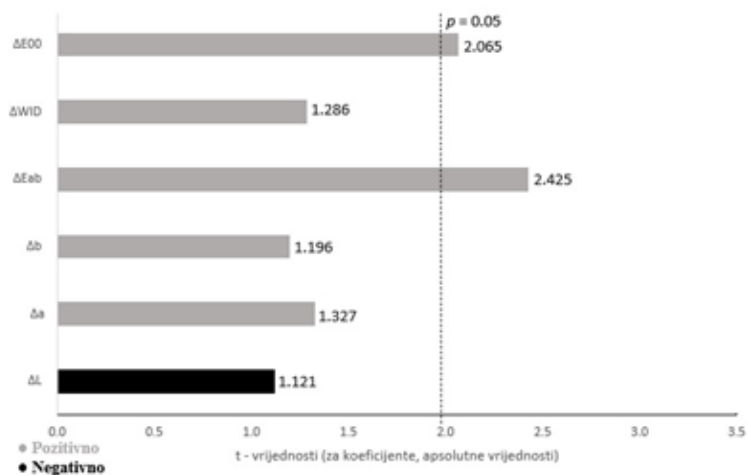
Slika 18. Paretov dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta W_{ID}$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s jezgrinim pupovima u razdoblju T2

Nijedan klinički parametar izbjeljivanja ( $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta W_{ID}$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$ ) nije pokazao statistički značajnu povezanost s brojem stanica s kariolizom u vremenskom razdoblju T2.



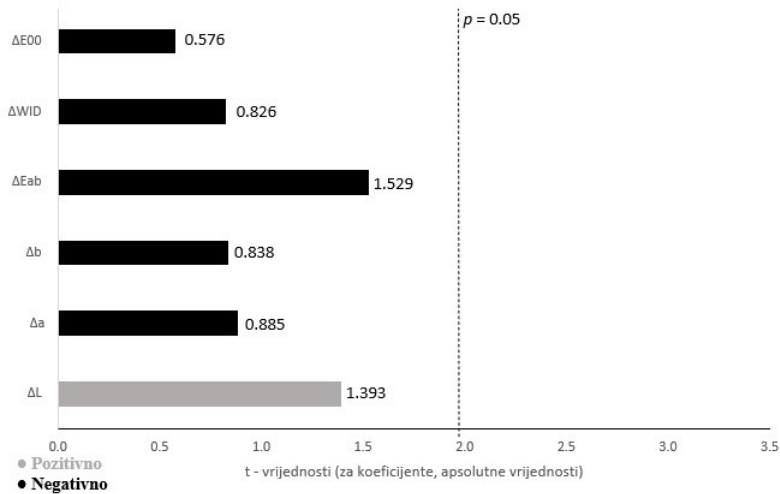
Slika 19. Pareto dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta W_{ID}$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s kariolizom u razdoblju T2

Uočava se statistički značajna povezanost parametra  $\Delta E_{ab}$  ( $\beta = 0,384$ ,  $SE = 0,663$ ,  $P = 0,015$ ) i  $\Delta E_{00}$  ( $\beta = 0,325$ ,  $SE = 1,015$ ,  $P = 0,105$ ) na broj stanica s karioreksijom u vremenskom razdoblju T2.



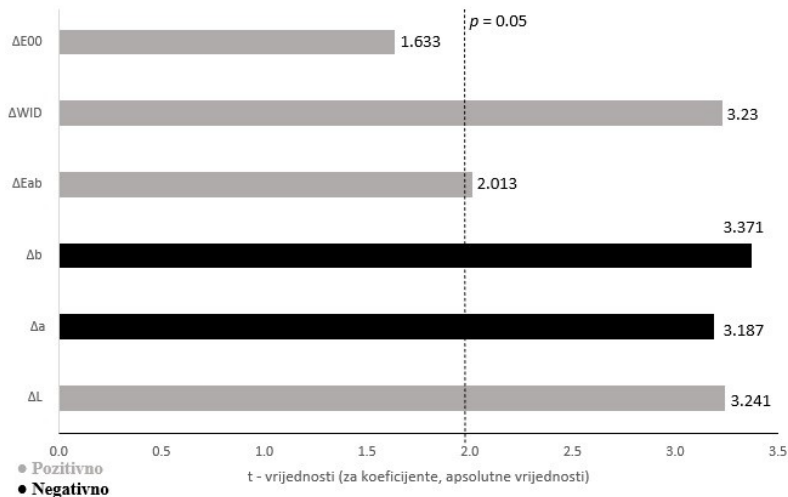
Slika 20. Pareto dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta W_{ID}$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s karioreksijom u razdoblju T2

Nijedan klinički parametar izbjeljivanja ( $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta W_{ID}$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$ ) nije pokazao statistički značajnu povezanost s brojem stanica s kondenziranim kromatinom u vremenskom razdoblju T2.



Slika 21. Paretov dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s kondenziranim kromatinom u razdoblju T2

Uočava se statistički značajan utjecaj parametara  $\Delta WID$  ( $\beta = 2,519$ ,  $SE = 0,563$ ,  $P = 0,001$ ),  $\Delta E_{ab}$  ( $\beta = 0,317$ ,  $SE = 0,173$ ,  $P = 0,044$ ),  $\Delta b$  ( $\beta = -1,561$ ,  $SE = 0,615$ ,  $P = 0,001$ ),  $\Delta a$  ( $\beta = -1,459$ ,  $SE = 1,309$ ,  $P = 0,001$ ) i  $\Delta L$  ( $\beta = 0,888$ ,  $SE = 0,289$ ,  $P = 0,001$ ) na broj stanica s piknozom u vremenskom razdoblju T2.

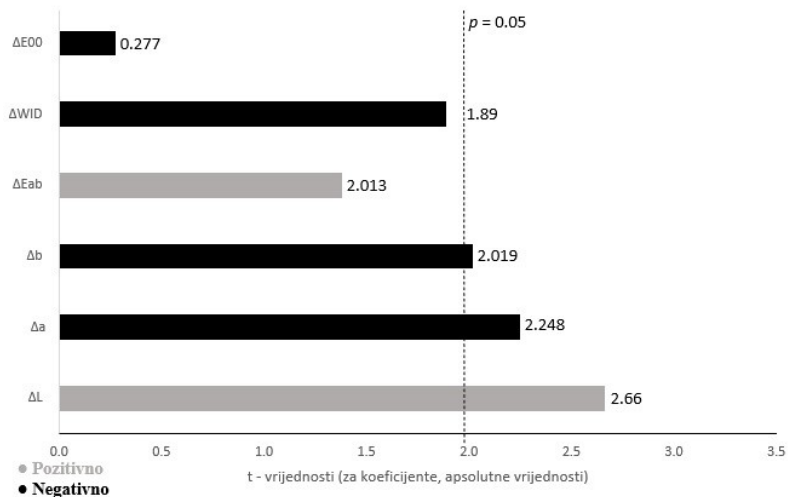


Slika 22. Paretov dijagram povezanosti parametara izbjeljivanja  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i stanica s piknozom kao prediktorskom varijablom u razdoblju T2

#### 4.5. Rezultati višestruke regresijske analize odnosa objektivnog kliničkog ishoda izbjeljivanja i zadovoljstva ispitanika

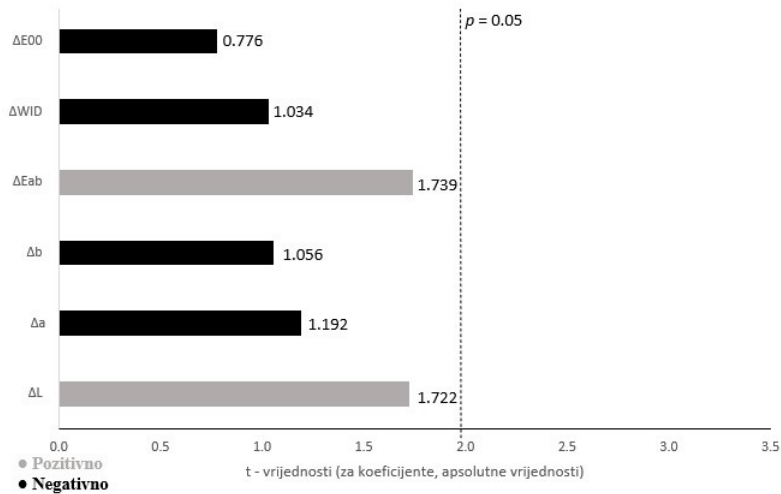
Odnos vrijednosti objektivnog kliničkog ishoda izbjeljivanja i zadovoljstva ispitanika (dugotrajnost boje, duljina tretmana, postignuta boja, udobnost te zadovoljstvo ukupnim tretmanom) utvrđen je modelom višestruke regresijske analize i prikazan je u obliku Paretova dijagrama i *t*-vrijednosti na slikama 23-28.

Uočava se statistički značajna povezanost parametara  $\Delta L$  ( $\beta = 0,437$ ,  $SE = 0,144$ ,  $P = 0,008$ ),  $\Delta a$  ( $\beta = -0,771$ ,  $SE = 0,656$ ,  $P = 0,025$ ) i  $\Delta b$  ( $\beta = -0,685$ ,  $SE = 0,308$ ,  $P = 0,004$ ) sa zadovoljstvom ispitanika postignutom bojom zubi.



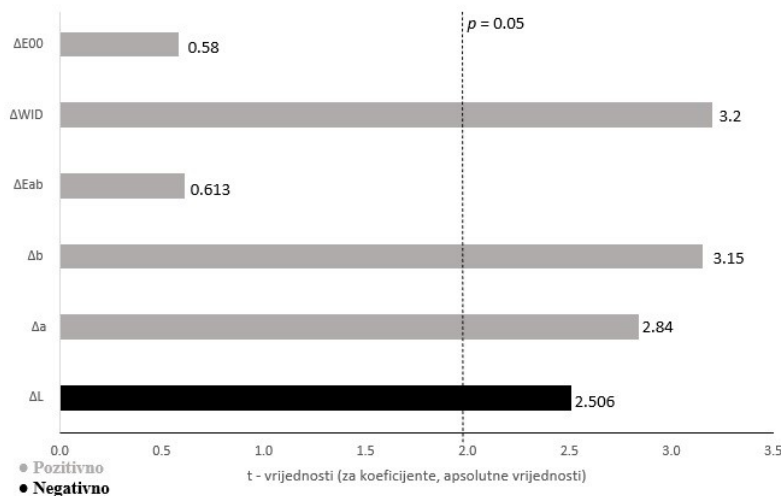
Slika 23. Rezultati višestruke regresijske analize odnosa vrijednosti  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i zadovoljstva postignutom bojom

Nijedan klinički parametar izbjeljivanja nije pokazao statistički značajnu povezanost sa zadovoljstvom ispitanika s dugotrajnosti postignute boje zubi.



Slika 24. Rezultati višestruke regresijske analize odnosa vrijednosti  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i zadovoljstva ispitanika postignutom dugotrajnosti boje

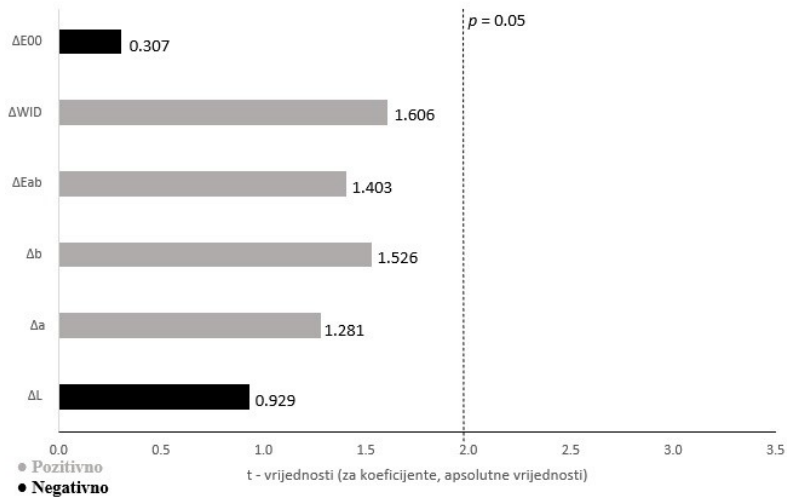
Uočava se statistički značajna povezanost parametara  $\Delta WID$  ( $\beta = 1,795$ ,  $SE = 0,282$ ,  $P = 0,001$ ),  $\Delta a$  ( $\beta = 0,977$ ,  $SE = 0,653$ ,  $P = 0,005$ ),  $\Delta b$  ( $\beta = 1,071$ ,  $SE = 0,307$ ,  $P = 0,002$ ) i  $\Delta L$  ( $\beta = 0,413$ ,  $SE = 0,144$ ,  $P = 0,012$ ) i ukupnog zadovoljstva duljinom tretmana.



Slika 25. Rezultati višestruke regresijske analize odnosa vrijednosti  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i ukupnog zadovoljstva duljinom tretmana

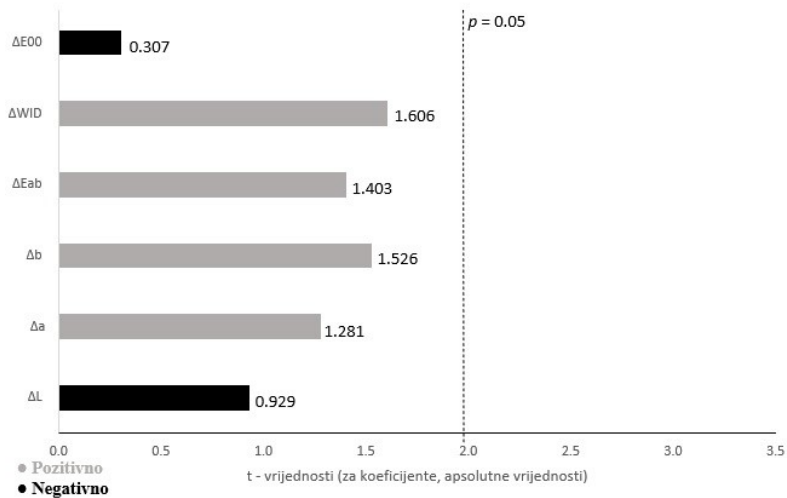
Nijedan klinički parametar izbjeljivanja nije pokazao statistički značajnu povezanost sa zadovoljstvom ispitanika udobnošću tretmana.





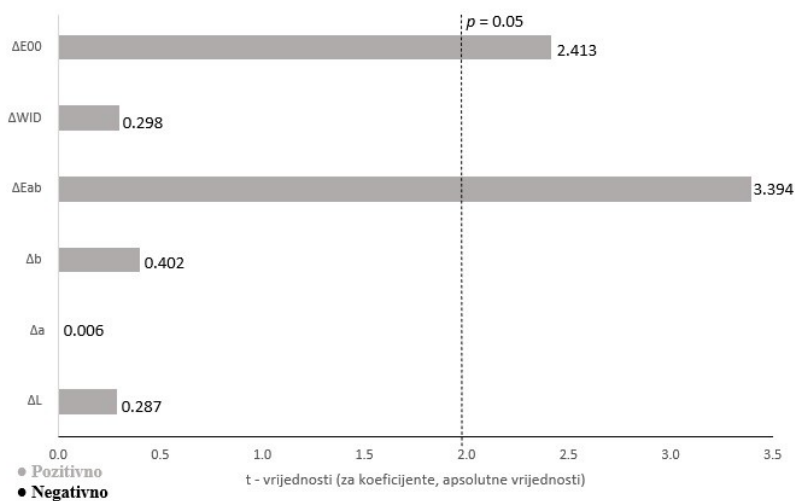
Slika 26. Rezultati višestruke regresijske analize odnosa vrijednosti  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i zadovoljstva ispitanika udobnošću tretmana

Nijedan klinički parametar izbjeljivanja nije pokazao statistički značajnu povezanost sa zadovoljstvom ispitanika ukupnim izbjeljujućim tretmanom.



Slika 27. Rezultati višestruke regresijske analize odnosa vrijednosti  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i zadovoljstva ispitanika ukupnim izbjeljujućim tretmanom

Uočava se statistički značajna povezanost parametara  $\Delta E_{00}$  ( $\beta = 0,319$ ,  $SE = 0,165$ ,  $P = 0,016$  i  $\Delta E_{ab}$  ( $\beta = 0,464$ ,  $SE = 0,108$ ,  $P = 0,001$ ) sa zadovoljstvom ispitanika cjelokupnim istraživanjem.



Slika 28. Rezultati višestruke regresijske analize odnosa vrijednosti  $\Delta E_{00}$ ,  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta WID$ ,  $\Delta b$ ,  $\Delta a$  i  $\Delta L$  i zadovoljstva ispitanika cjelokupnim istraživanjem

## **5. RASPRAVA**

Osnovni ciljevi ovog doktorskog rada bili su procijeniti i usporediti učinkovitost izbjeljivanja komercijalno dostupnih zubnih pasta s učinkom izbjeljivanja koristeći se različitim parametrima izbjeljivanja (CIELAB vrijednosti –  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , promjena boje –  $\Delta E_{ab}$ ,  $\Delta E_{00}$  i izbjeljujući indeks –  $WI_D$ ) te procijeniti njihov citotoksični i genotoksični učinak na stanice bukalne sluznice koristeći se pri tome mikronukleus testom. Također, cilj je bio procijeniti i usporediti zadovoljstvo ispitanika korištenom komercijalno dostupnom zubnom pastom s učinkom izbjeljivanja.

Hipoteza istraživanja bila je da ispitivane komercijalno dostupne zubne paste s učinkom izbjeljivanja neće utjecati na promjenu boje zubi (izbjeljivanje zubi) u ispitivanom razdoblju te da neće pokazati genotoksični i citotoksični učinak na stanice oralne sluznice.

Rezultati istraživanja pokazali su da izbjeljujuće zubne paste s abrazivima, enzimima, peroksidima, aktivnim ugljenom i njihovim kombinacijama mogu postići perceptibilni izbjeljujući učinak. Rezultati su također pokazali da samo zubne paste s peroksidom u svom sastavu mogu utjecati na povećanje citotoksičnih parametara tijekom razdoblja korištenja, dok ni za jednu zubnu pastu rezultati nisu pokazali genotoksični učinak. Prema dobivenim rezultatima, početne hipoteze su odbačene, odnosno djelomično odbačene.

Prilikom pisanja ove rasprave, uvidom u dostupnu literaturu, do sada nijedno istraživanje nije obuhvatilo cjelokupnu evaluaciju citotoksičnog, genotoksičnog i optičkog učinka izbjeljujućih zubnih pasta s različitim sastojcima koje su dostupne na tržištu. Povezujući sve te komponente u jedinstvenu cjelinu ovaj rad predstavlja originalni znanstveni doprinos te pridonosi novim saznanjima o učinkovitosti izbjeljivanja komercijalno dostupnim zubnim pastama s različitim sastojcima i sigurnosti njihove primjene.

### **5.1. Izbjeljujući efekt zubnih pasta s različitim izbjeljujućim sastojcima u kliničkim/*in vivo* uvjetima**

Deset vrsti zubnih pasta uključenih u ovo istraživanje (devet izbjeljujućih i jedna neizbjeljujuća/konvencionalna) raspodijeljenih nasumičnim odabirom, istražene su i evaluirane koristeći se parametrima izbjeljivanja u *in vivo*/kliničkim uvjetima. Nulta hipoteza da ispitivane komercijalno dostupne zubne paste s učinkom izbjeljivanja neće utjecati na promjenu boje zubi (izbjeljivanje zubi) u ispitivanom razdoblju je odbačena. Glavni kvantitativni parametri za prihvaćanje ili odbacivanje nulte hipoteze bili su: povećanje ukupne

svjetline zubi uz pomoć  $\Delta L^*$  parametra na osi  $L^*$  koja odgovara svjetlini te numerički varira od 0 (crne) do 100 (bijele), približavanje boje zubi od žute k nuli izračunavajući  $\Delta b^*$  na osi  $b^*$  kojoj je raspon od žute – pozitivne do plave – negativne, promjena crvenila izračunavajući  $\Delta a^*$  te približavajući se nuli na osi  $a^*$  koja varira od crvene – pozitivne do zelene – negativne u evaluaciji boje zubi te izračunavajući ukupnu promjenu boje, distancu, uz pomoć  $\Delta E_{ab}^*$  i  $\Delta E_{00}$ . Procjena je izvršena u različitim razdobljima tijekom tretmana (T1, T2, T3) u usporedbi s početnom bojom zubi (T0) kod primjene izbjeljujućih zubnih pasti s različitim izbjeljujućim supstancijama/sastavnicama. Pozitivna vrijednost  $\Delta L$  ( $L_{T_{x+1}} - L_{T_x}$ ) između mjerenja dovodi do činjenice da zubi postaju bjelji. Sukladno procjeni boje, negativna vrijednost  $\Delta b$  ( $b_{T_{x+1}} - b_{T_x}$ ) i  $\Delta a$  ( $a_{T_{x+1}} - a_{T_x}$ ) između mjerenja nameće zaključak da boja zubi postaje manje žuća i manje crvena. Manje vrijednosti  $\Delta b^*$  i  $\Delta a^*$ , uz istodobno povećanje vrijednosti  $\Delta L^*$ ,  $\Delta E_{ab}^*$  i  $\Delta E_{00}$  nameću zaključak većeg izbjeljujućeg efekta. U potpunjući rezultat izbjeljivanja u svrhu potkrjepljivanja dobivenih rezultata, u ovom istraživanju korišten je parametar indeksa bjeline  $\Delta WID$ . U okviru studije, gledajući cjelokupne rezultate, utvrđeni su statistički različiti učinci na temelju gore navedenih parametara, ovisno o sastojku za izbjeljivanje u pasti za zube za testirane skupine i između skupina. Temeljem dobivenih rezultata nulta hipoteza je odbačena. U usporedbi s nekolicinom kliničkih istraživanja, u ovom se istraživanju istaknuti učinak izbjeljivanja zubnih pasti za izbjeljivanje zubi dominantno pokazuje u povećanju svjetline ( $\Delta L$ ) i do određene mjere u smanjenju žutila ( $\Delta b$ ), dok su promjene u crvenilu ( $\Delta a$ ) zanemarive (120-122). Iz usporedbe dobivenih rezultata između ispitivanih skupina s kontrolnom skupinom može se zaključiti da perceptibilna razlika učinka izbjeljivanja (tj.  $\Delta E_{ab}^* > 1,2$ ,  $\Delta WID > 0,72$  i  $\Delta E_{00} > 0,8$ ) postoji za svaku kombinaciju sastojaka za izbjeljivanje (tj. korištenu zubnu pastu za izbjeljivanje) razmatranu u istraživanju. Kod svih je postignut najveći učinak izbjeljivanja testirane paste za izbjeljivanje zubi nakon 30 dana (T1) korištenja. Što se tiče rezultata kontrolne skupine, tj. zubne paste bez aktivnih izbjeljujućih supstancija, tijekom početnog mjerenja i opservacijskog praćenja (T1 – T3) za sve je parametre ostalo očekivano – nepromijenjeno. Nakon 60 dana korištenja (T2) kod testiranih skupina zabilježeno je lagano smanjenje učinka izbjeljivanja, dok je u vremenskom razdoblju praćenja T3 (30 dana od prestanka korištenja zubnih pasti) učinak izbjeljivanja smanjen kod svih testiranih skupina, iako je i dalje zadržan perceptibilni izbjeljujući učinak u usporedbi s inicijalnim mjerenjem boje zubi. Dobiveni rezultati dokazuju povećanje svjetline zubi nakon 30 dana upotrebe izbjeljujućih zubnih pasti, što u konačnici predstavlja uočljivi izbjeljujući učinak. Uočena je razlika ovisno o sastojcima među izbjeljujućim sastojcima zubne paste. Najveći vidljivi učinak izbjeljivanja na temelju  $\Delta E_{ab}^*$  nakon 30 dana korištenja dokazan je za zubnu pastu za izbjeljivanje koja u

svom sastavu osim abraziva sadrži enzime bromelain i papain – Himalaya Sparkly White Herbalis (HSWH) (3,99). To dokazuje znatno povećanje svjetline uz istovremenu redukciju žutila u najvećoj mjeri. Gotovo isti učinak izbjeljivanja nakon 30 dana korištenja zabilježen je kod zubne paste koja u svom sastavu ima urea peroksid i enzim papain – Splat Extreme White (SEW) (3,96), nakon koje slijedi zubna pasta s vodikovim peroksidom – Colgate Max Expert White (CMEW) (3,75) te zubna pasta s urea peroksidom, enzimom (papainom) i natrijevim citratom Rembrandt Deeply White + Peroxide (RDWP) (3,34). Sukladno tomu, nameće se zaključak da su osim abraziva, peroksidi i enzimi u najvećoj mjeri zaslužni za ostvarivanje izbjeljujućeg efekta, što dokazuje dominantno povećanje svjetline. Ipak, zubne paste koje u svom sastavu sadrže enzime (HSWH, SEW, RDWP) pokazuju znatnu redukciju žutila. Nasuprot tomu, jedina zubna pasta koja sadrži samo enzim papain, Splat White Plus (SWP), nije pokazala znatnu redukciju žutila. Izračun parametara  $\Delta W_{ID}$  i  $\Delta E_{00}$  i usporedba s parametrom  $\Delta E_{ab}$  upućuje na isti zaključak o učinkovitosti pasti za izbjeljivanje zubi, blago dajući prednost pasti za zube s urea peroksidom i enzimom Splat Extreme White (SEW) ( $\Delta W_{ID} = 4,09$  i  $\Delta E_{00} = 2,61$ ) naspram paste s enzimima bez peroksida u svom sastavu – Himalaya Sparkly White Herbalis (HSWH) ( $\Delta W_{ID} = 3,98$  i  $\Delta E_{00} = 2,56$ ) nakon 30 dana korištenja paste. Procjenjuje se da promjena boje zubi dokazana s  $\Delta E_{ab}$  i  $\Delta E_{00}$  i izbjeljujućim indeksom  $\Delta W_{ID}$  dovodi do istih perceptibilnih izbjeljujućih rezultata sve dok istovjetna mjerenja u CIELAB sustavu ukazuju na povećanje svjetline praćenjem parametra  $\Delta L^*$  i smanjenje žutila praćenjem parametra  $\Delta b^*$ . Klinički značajni rezultati dobiveni ovim istraživanjem za zubne paste s enzimima i peroksidima u skladu su s opisanim rezultatima povezanim s istraživanjima o zubnim pastama koje u svom sastavu imaju peroksidge (34, 123-128). Za razliku od toga i navedenih istraživanja, neki od autora tvrde da je koncentracija peroksida u zubnim pastama niska te da se u kombinaciji s kratkim vremenom ekspozicije ne može postići interno izbjeljivanje (13, 129). Ovim istraživanjem dokazane su promjene boje na razini površine zuba (caklini), a ne na razini internog izbjeljivanja jer izbjeljujuća sredstva u pastama za zube ne prodiru duboko unutar cakline i dentina kao što je slučaj s izbjeljivanjem s visokim koncentracijama peroksida u gelovima za izbjeljivanje uz pomoć udlaga unutar kojih se oni apliciraju. U preglednom radu Joinera istaknuto je nekoliko istraživanja u kojima zubne paste s 1 %-tnim peroksidom u svom sastavu postižu izbjeljujuće učinke u *in vitro* uvjetima (5). Antón i suradnici tvrde da paste za zube koje sadrže vodikov peroksid ne mogu smanjiti pigmentacije žute boje, što utvrđuje parametar  $\Delta b^*$ , a posljedično to dovodi do kliničke odsutnosti u učinku izbjeljivanja zubi (130). Međutim, posebnu razliku čini povećanje svjetline preko parametra  $\Delta L^*$ , što ipak daje perceptibilnu razliku u boji. Rezultati dobiveni ovim

istraživanjem za paste za zube uključene u istraživanje u skladu su i s onim što je navedeno kad je riječ o povećanju svjetline, iako se elaboracijom rezultata korištene paste za zube s vodikovim peroksidom (CMEW) javlja i smanjenje žutila koje je, iako u manjoj mjeri od većine ostalih testiranih pasti za izbjeljivanje zubi, ipak prisutno, tj. postojeće. Zaključci slični tima nakon 30 dana korištenja mogu se izvesti i iz rezultata nakon 60 dana korištenja. Općenito, unatoč nešto slabijim rezultatima za većinu promatranih CIELAB I  $\Delta W_{ID}$  parametara u usporedbi s onima nakon 30 dana korištenja, još uvijek je potvrđeno da zubna pasta s urea peroksidom i enzimom papainom (SEW), pasta s enzimima papainom i bromelainom (HSWH), pasta s urea peroksidom, pasta s enzimom papainom i natrijevim citratom (RDWP) te pasta s vodikovim peroksidom (CMEW) imaju najveći učinak izbjeljivanja. Teško je uočiti malu degradaciju učinka izbjeljivanja na temelju tih trenutačnih saznanja. Ipak, bitno je napomenuti da su enzimi u pastama za zube vrlo nestabilne komponente. Većina enzima stabilna je kratko vrijeme na sobnoj temperaturi, čak i tijekom procesa proizvodnje, a do inaktivacije može doći i prilikom promjena temperature tijekom transporta i skladištenja (6). Kao što je bilo i za očekivati, rezultati nakon 30 dana od prestanka korištenja zubnih pasti pokazali su veliku degradaciju izbjeljujućeg efekta bez obzira na sastojak unutar izbjeljujuće zubne paste. Ipak, izbjeljujući učinak zadržan je korištenjem paste za zube koja sadrži ureu peroksid i enzim papain (SEW). Degradacija izbjeljujućeg učinka nametnula je zaključak da je učinak izbjeljivanja zubnih pasti ograničenog trajanja te zahtijeva povremeno ponavljanje tretmana ako se želi zadržati izbjeljujući učinak. Najslabiji učinak izbjeljivanja dokazan je kod korištenja izbjeljujućih zubnih pasti koje su u svom sastavu imale samo abrazive – Signal Daily White (SDW) i Signal White System (SWS), kao i zubnih pasti s ugljenom u svom sastavu – Biobaza Deep White (BDW) i Dontodent Black Shine (DBS). Torres i suradnici u svom su istraživanju u *in vitro* uvjetima evaluirali učinak izbjeljujućih zubnih pasti i vodica za ispiranje koje su sadržavale samo abrazive kao izbjeljujuće supstancije (131). Za razliku od testiranih zubnih pasti s abrazivima korištenih u ovom istraživanju, nisu dokazali statistički značajnu razliku u promjeni boje analizirajući parametre  $\Delta L^*$ ,  $\Delta b^*$  i  $\Delta E^*_{ab}$  u odnosu na kontrolnu skupinu. Zanimljivo je i to što u njihovom istraživanju rezultati impliciraju veće smanjenje žutila i za kontrolnu skupinu i za skupinu koja je koristila izbjeljujuću zubnu pastu ( $\Delta b - 2,5$  u srednjoj vrijednosti) u usporedbi s rezultatima ove studije ( $-1,8 < \Delta b < 0,31$  u srednjoj vrijednosti za skupine koje su koristile izbjeljujuće zubne paste s abrazivima uz zanemarivo povećanje žutila za kontrolnu skupinu). Daljnja usporedba ukazuje na to da rezultati u Torresovoj studiji impliciraju blagi pad svjetline ( $-0,79 < \Delta L^* < -0,27$  u srednjoj vrijednosti) i klinički značajnu promjenu boje zubi ( $\Delta E^*_{ab} > 1,2$ ) za obje skupine na objema mjernim točkama (131). Naprotiv,

rezultati ove studije otkrivaju značajno povećanje svjetline za paste s abrazivima ( $0,02 < \Delta L < 1,14$  u srednjoj verziji) u usporedbi s kontrolnom skupinom (zanemariva promjena svjetline za bilo koju mjernu točku). Razliku u dobivenim rezultatima opravdava činjenica da je ovo istraživanje provedeno u *in vivo* uvjetima, dok je istraživanje Torresa i suradnika provedeno u *in vitro* uvjetima (131). U kliničkom istraživanju Horna i suradnika, u kojem je evaluiran izbjeljujući potencijal triju vrsta zubnih pasti s abrazivima mjereći pri tome promjenu svjetline  $\Delta L$  i ukupnu promjenu boje  $\Delta E^*_{ab}$ , samo je jedna izbjeljujuća pasta postigla statistički značajno poboljšanje svjetline u usporedbi s ostalim izbjeljujućim pastama ( $P < 0,001$ ), što se pripisalo različitom sadržaju abraziva u zubnoj pasti (132). Kad je riječ o zubnim pastama s abrazivima u ovom istraživanju, obje paste koje su sadržavale abrazive u svom sastavu (SDW i SWS) pokazale su statistički značajne promjene u odnosu na kontrolnu, neizbjeljujuću zubnu pastu. Također, pokazalo se da imaju statistički beznačajnu razliku među sobom. Vrlo slični rezultati dobiveni su za zubne paste koje su sadržavale ugljen (BDW i DBS). Ukupna promjena boje u studiji Horna i suradnika pokazala se zanemarivom za sve testirane izbjeljujuće zubne paste ( $\Delta E^*_{ab} < 1,15$ ) te nije u skladu s rezultatima ove studije za paste za izbjeljivanje koje sadrže samo abrazive u svom sastavu ( $\Delta E^*_{ab} < 2,4$  u srednjoj vrijednosti) (132). Ukupna razlika u promjeni boje može se objasniti dužim razdobljem korištenja pasti u ovoj studiji (30 dana naspram 15 dana). Oba rezultata ove studije i Hornova istraživanja ukazuju na slab i nikakav izbjeljujući učinak u *in vivo* uvjetima zubnih pasti koje u svom sastavu imaju abrazive kao izbjeljujuće supstancije. Pintado-Palomino i suradnici izvršili su kliničku procjenu promjene boje zubi preko parametra  $\Delta E^*_{ab}$  za zubne paste s abrazivima kroz vremensko razdoblje od četiri tjedna evaluirajući rezultate spektrofotometrom uz pomoć CIELAB sustava (133). Statistički značajne razlike u rezultatima između triju zubnih pasti nije bilo. Kada se usporede rezultati zubnih pasti s abrazivima u ovoj studiji, pokazali su klinički veće i značajnije promjene u ukupnoj boji zubi (najniži  $\Delta E^*_{ab} > 4,3$  u srednjoj vrijednosti) za sve testirane izbjeljujuće zubne paste.

U ovom dijelu istraživanja elaboriran je učinak izbjeljivanja različitih kombinacija sastojaka i izbjeljujućih supstancija koji su dio komercijalno dostupnih pasti za izbjeljivanje zubi. Rezultati iz ovog dijela istraživanja nameću zaključak da izbjeljujuće, komercijalno dostupne paste za zube koje sadrže kombinaciju abraziva i kemijskih supstancija (peroksida i/ili enzima) nadmašuju one koje sadrže samo abrazive i ugljen u svom sastavu. Također, procijenjeno je da paste sa sličnim sastavom rezultiraju sličnim rezultatima u izbjeljujućem učinku. Analizom mjerenja podrazumijeva se da se učinak izbjeljivanja paste za zube



prvenstveno temelji na povećanju parametara svjetline uz istodobno smanjenje žutila. Izbjeljujuće zubne paste koje su u svom sastavu imale enzime dokazano su smanjile komponentu žutila naspram onih bez enzima u svom sastavu. Zaključno, istraživanje je dokazalo da komercijalno dostupne izbjeljujuće zubne paste uključene u studiju mogu postići izbjeljujući efekt postižući pri tome osjetnu bjelinu zubi tijekom vremena korištenja. Zubne paste koje u svom sastavu sadrže kombinaciju abraziva i kemijskih agensa (peroksida i/ili enzima) dokazano su postigle najbolji učinak izbjeljivanja. Iako postoji tendencija slabljenja izbjeljujućeg učinka mjesec dana nakon tretmana, učinak je još uvijek značajan. Prilikom pisanja ove rasprave te pregledom dostupne literature nije pronađeno nijedno toliko opsežno *in vivo* istraživanje u kojem je istovremeno uspoređivana razlika u učinku izbjeljivanja većeg broja komercijalno dostupnih zubnih pasti s različitim aktivnim izbjeljujućim supstancijama. Na temelju evaluacije i elaboracije parametara izbjeljivanja dobivenih rezultata s kritičkim pristupom nameće se zaključak da se korištenje zubnih pasti za izbjeljivanje zubi može rado preporučiti u praksi s ciljem dobivanja svjetlije boje zubi ili pak održavanja prirodne bjeline zubi. Pri tome nije na odmet naglasiti da zubne paste koje u svojem sastavu posjeduju kemijske agense ujedno postižu i najbolji učinak.

Pregledom dostupne literature uočena je nekolicina radova u kojima je analizirana izbjeljujuća učinkovitost zubnih pasti koje su u svom sastavu imale kemijske supstancije kao što su enzimi i peroksidi. Da bi se razumio mehanizam njihova djelovanja, važno je i znati kako dolazi do samih obojenja na caklinskoj površini zubi. Često su zubna obojenja inkorporirana u pelikulu, tanki i homogeni film koji pokriva tvrde zubne strukture. Proteolitički enzimi, kao što su bromelain i papain, mogu učinkovito ukloniti pigmentacije ugrađene u takve strukture te na taj način postići izbjeljujući učinak povećavajući svjetlinu zuba uz istodobnu redukciju žutila. Glavni učinak enzimske aktivnosti temelji se na aktivnom uklanjanju obojenja, reduciranju plaka i snažnoj protuupalnoj aktivnosti. Papain i bromelain su cisteinske proteaze (endopeptidaze) koje nalazimo u plodu ananasa (*Ananas comosus*) i papaji (*Carica papaya*). Oni uklanjaju površinska obojenja i reduciraju nakupljanje plaka hidrolizom peptidnih veza. Zanimljiv je podatak da je pronađena veća koncentracija enzima papaje u nezrelim plodovima papaje nego u zrelih plodovima (23). Enzimi iz papaje i ananasa predstavljaju prirodne i sigurne sastojke u izbjeljujućim zubnim pastama koje ih sadrže. Izbjeljujuće zubne paste koje su u svom sastavu imale enzime kao aktivne izbjeljujuće sastojke u literaturi su istraživane u *in vivo* i u *in vitro* uvjetima (23-26). Nijedno od tih istraživanja nije uključivalo spektrofotometrijsku analizu uključujući CIELAB sustav. Nasuprot tomu, istraživači su izvršili

analizu jedinice svjetline u vrijednosti osvjetljenja koristeći se računalnim alatom Adobe Photoshop, odredili nijansu zubi uz pomoć 3D ključa boja te ocjenjivali opseg obojenja koristeći se pri tome Macpherson Lobene Stain Indexom (23-26). Valja napomenuti da je metoda evaluacije boje uz pomoć CIELAB sustava objektivnija od metode mjerenja uz pomoć gore navedenih sustava korištenih u uspoređivanim studijama. Kalliath C i suradnici su u 14-dnevnoj studiji u *in vitro* istraživanju koristili zubne paste biljnog sastava te su dokazali sličan učinak izbjeljivanja u usporedbi s konvencionalnim kemijskim izbjeljujućim zubnim pastama uz naglasak na to da zubne paste biljnog podrijetla uzrokuju manje promjena na zubnoj caklini u usporedbi s kemijskim zubnim pastama (23). Iako u ovoj studiji nije istraživana utjecaj izbjeljujućih sastavnica na zubnu površinu kao u navedenoj, rezultati izbjeljivanja dobiveni u ovoj studiji idu u prilog zubnim pastama biljnog podrijetla. Također, neutralna pH vrijednost (oko 7) osigurava učinkovitu enzimsku aktivnost bez štetnih posljedica na površinu zuba (134). Kalyana i suradnici dokazali su značajno uklanjanje vanjskih obojenja korištenjem enzimske zubne paste na bazi papaina i bromelaina, dok su Patil i suradnici pokazali bolju učinkovitost enzima u uklanjanju vanjskih obojenja naspram abraziva (perlita i kalcijeva karbonata) (24, 26). Iz navedenih istraživanja možemo zaključiti da proteolitički enzimi mogu postići zadovoljavajući izbjeljujući efekt bez oštećenja tvrdih zubnih struktura (24, 26). Učinkovitost zubnih pasti s peroksidima u svom sastavu dokazala je nekolicina autora. Ghassemi i suradnici dokazali su 61,6 %-tnu redukciju obojenja tijekom šestotjednog razdoblja korištenja zubne paste s 1 %-tnim peroksidom i natrijevim bikarbonatom u svom sastavu (34). Boju su, za razliku od ovog istraživanja, evaluirali samo koristeći se ključem boja. Slične rezultate dobili su Isaac i suradnici te Kakar i suradnici koji su u svojim istraživanjima koristili zubnu pastu s 1 %-tnim vodikovim peroksidom te ju uspoređivali s neizbjeljujućom zubnom pastom (123, 124). Sharma i suradnici su u vremenskom razdoblju od 2 do 6 tjedana dokazali izbjeljujući potencijal zubne paste s 1 %-tnim vodikovim peroksidom i silikom (abraziv) u usporedbi s konvencionalnom zubnom pastom (125). Yankel i suradnici su pokazali da je zubna pasta s peroksidom i sodom bikarbonom učinkovitija u kontroli vanjskih zubnih obojenja u usporedbi sa zubnom pastom koja u svom sastavu sadrži samo siliku (abraziv) (126). Ghassemi i suradnici su testirali zubnu pastu s kalcijevim peroksidom te uočili znatnu redukciju zubnih obojenja tijekom petodnevnog korištenja (127). Sopakar i suradnici su u šestotjednom kliničkom ispitivanju uočili statistički značajan izbjeljujući učinak uz redukciju vanjskih obojenja korištenjem zubne paste s 1,0 %-tnim vodikovim peroksidom (128). Također, korištenjem zubne paste s 3 %-tnim karbamid peroksidom u kombinaciji s 5 %-tnim enzimom laktoperoksidazom, Llena C. i suradnici pokazali su izbjeljujući potencijal s tendencijom stabilizacije boje nakon devetotjednog

praćenja boje koristeći se CIELAB sustavom mjerenja (135). Važno je naglasiti da je ukupna dozvoljena koncentracija vodikova peroksida u zubnim pastama u svijetu ograničena na 1 % ukupne težine, dok je u Europskoj uniji dozvoljena koncentracija od 0,1 % ukupne težine (3). Neki autori tvrde da je koncentracija peroksida u zubnim pastama niska (pri tome se misli na 1 % vodikova peroksida i 0,5 – 0,7 % karbamid peroksida) te da u kombinaciji s kratkim vremenom ekspozicije prilikom akta četkanja mogu izbjeliti samo pelikulu na površini zuba (13, 129). Nasuprot tomu, u Joinerovu preglednom radu naznačeni su radovi koji dokazuju izbjeljujući efekt zubnih pasti koje su u svom sastavu imale 1 %-tni peroksid (5).

Dio istraživanja ima i nekoliko ograničenja. Ako se pogledaju dobiveni rezultati u ovom istraživanju, uočava se pojava velikih standardnih devijacija koje se odnose na srednje vrijednosti za evaluirane parametre, a to se može opravdati heterogenim uzorcima boje zubi sudionika na početku istraživanja, tj. u studiju nisu uključeni ispitanici s istom bojom zubi. Također, evaluirana je boja više zubi (n=6), a ne po jednog za svaku skupinu ispitanika. U budućim istraživanjima, prilikom uključivanja sudionika u studiju moglo bi se razmatrati uzimanje ispitanika s istom bojom zubi ili čak ciljanom bojom zubi (nijansom) u svrhu dobivanja homogenije skupine ispitanika. Kao poželjna tema ispitivanja različitih zubnih pasti s izbjeljujućim sastavnicama, moglo bi se razmotriti i uzimanje uzoraka u *in vitro* uvjetima za određeni zub ili za specificirani zubni par.

## **5.2. Evaluacija subjektivnog učinka ispitivanih izbjeljujućih zubnih pasti s različitim izbjeljujućim sastojcima – zadovoljstvo ispitanika tretmanom i korištenom zubnom pastom**

Izbjeljivanje vitalnih zubi podrazumijeva estetsku tehniku s trenutačnim rezultatima što uljepšava konačan pacijentov izgled i samopoštovanje. Psihološko zdravlje, samopoštovanje te društvene interakcije povezani su s izgledom zubi i privlačnosti samog lica, a na to uvelike utječu individualne sklonosti, sociodemografski i kulturološki čimbenici (103). Ako se naruši neka od komponenata estetike zubi, zbog dentalnih bolesti, trauma, nasljednih ili hereditarnih bolesti, dolazi do gubitka samopouzdanja s posljedičnim gubitkom mentalnog i tjelesnog zdravlja. Neki autori procijenili su da je sa samom bojom zuba nezadovoljno čak oko 30 % pacijenata (104, 105). Kershaw S. i suradnici primijetili su da su bjelji zubi povezani s visokom razinom socijalne kompetencije, intelektualne sposobnosti te emocionalne i psihološke ravnoteže (110). Iako je konvencionalno izbjeljivanje zubi s visokim postotkom peroksida

objektivno učinkovitije, zabilježeno je da je i ono s nižim koncentracijama učinkovito, uključujući i stabilnost dobivene boje tijekom tri mjeseca što je praćeno pozitivnim socioekonomskim učinkom i pojačanom percepcijom samoga sebe (113).

U ovom istraživanju nisu se koristila sredstva s visokim postotkom peroksida u svom sastavu, koja se uobičajeno koriste za izbjeljivanje zubi. Unatoč tomu, dokazano je da su i proizvodi s malim postotkom peroksida, konkretno u ovom slučaju izbjeljujuće zubne paste, učinkoviti proizvodi za postizanje izbjeljujućeg učinka na zubima. Prema rezultatima ovog istraživanja najzadovoljniji ispitanici prilikom ocjene konačne boje zubi su upravo oni ispitanici koji su koristili zubnu pastu Splat Extreme Whitening (SEW) koja u svom sastavu ima urea peroksid. Učinkom izbjeljivanja zadovoljnima se izjasnilo 80 % ispitanika koji su koristili tu pastu za zube, a upravo ta zubna pasta pokazala je najbolje i najduže izbjeljujuće performace u svim fazama ispitivanja te je održana stabilnost postignute boje tijekom pratećeg razdoblja. Za njom slijede i one zubne paste koje osim peroksida u svom sastavu sadrže druge kemijske supstancije – HSWH (70 %), RDWP (60 %), SWP (61,9 %), CMEW (55 %). Ta činjenica ide u prilog zaključku da su za izbjeljujući efekt odgovorni kemijski sastojci u izbjeljujućim zubnim pastama. Najmanje zadovoljnima izjasnili su se ispitanici koji su tijekom istraživanja koristili zubne paste s abrazivima – SDW (50 %) i SWS (45 %) te s ugljenom – DBS (55 %) i BDW (50 %).

Nekoliko autora kao neželjeni efekt izbjeljivanja zubi navodi preosjetljivost zubi nakon izbjeljujućih tretmana na zubima, međutim oni su za razliku od ove studije koristili druge tehnike izbjeljivanja s većim postotkom izbjeljujućeg sredstva (peroksida) u svom sastavu (136-140). Jedna od najčešćih nuspojava tijekom korištenja preparata za izbjeljivanje zubi je, osim iritacije gingive, dentinska preosjetljivost. Fiorillo i suradnici navode da je estetski učinak izbjeljivanja uvijek prisutan i kod kuće i u profesionalnim uvjetima te da samo izbjeljivanje zubi poboljšava samu kvalitetu života pacijenata, iako navode da sami postupak izbjeljivanja zubi treba izbjegavati kod osoba koje pate od zubne preosjetljivosti (141). Preosjetljivost zubi u većini je slučajeva prolaznog karaktera te nestaje u roku od nekoliko dana nakon tretmana izbjeljivanja (142). Razlog tomu je hiperemija pulpe koja je prolaznog karaktera. Incidencija preosjetljivosti zubi u studijama je različita, a varira u rasponu od 0 do 100 % (143). Ipak, većina studija navodi prevalenciju osjetljivosti od 15 do 80 % (140). U ovoj studiji 40 % ispitanika prijavilo je osjetljivost zubi tijekom korištenja zubne izbjeljujuće paste Rembrandt Deeply White + Peroxide (RDWP), 20 % ispitanika koji su koristili zubnu pastu Colgate Max Expert White (CMEW) te 15 % ispitanika koji su koristili zubnu pastu Splat Extreme White

(SEW). Preosjetljivost prilikom korištenja tih izbjeljujućih zubnih pasti može biti povezana s peroksidom koji je sastavni dio tih zubnih pasti, iako je 20 %-tna preosjetljivost zubi zabilježena i kod ispitanika koji su koristili zubne paste Himalaya Sparkly White Herbalis (HSWH) i Signal White System (SWS), što pak može biti rezultat utjecaja abraziva koje te zubne paste imaju u svom sastavu na zube. Ne treba isključiti činjenicu da i ostali sastojci u zubnim pastama mogu prouzročiti osjetljivost zubi, stoga se ne može eksplicitno zaključiti da su isključivo abrazivi i peroksidi u sastavu zubnih pasti odgovorni za njezin nastanak. Za tu tvrdnju potrebno je napraviti dodatna istraživanja na tu temu.

Naglasak u ovom istraživanju jest i ta činjenica da su se testirane zubne paste koristile tijekom dvomjesečnog razdoblja, što ipak nije uobičajena preporuka u praksi, stoga preosjetljivost zubi može biti uzrokovana upravo time. Stručna preporuka za uobičajene izbjeljujuće paste je ta da se koriste najduže tijekom četverotjednog razdoblja, osim ako procjena stručne osobe nije drukčija (24). Ovdje su se izbjeljujuće zubne paste koristile tijekom dvomjesečnog razdoblja u svrhu istraživanja.

### **5.3. Citotoksičnost i genotoksičnost izbjeljujućih zubnih pasti**

Rezultati u ovom istraživanju pokazali su da paste za zube s različitim sastojcima za izbjeljivanje nemaju genotoksični učinak (statistički značajna razlika u broju mikronukleusa, binukleiranih stanica ili nuklearnih pupova nije pronađena ni između razdoblja evaluacije unutar iste skupine ni između skupina za ista razdoblja evaluacije), dok je za neke od njih – Colgate Max Expert White (CMEW), Rembrandt Daily White + Peroxide (RDWP) i Splat Extreme White (SEW) utvrđen citotoksični učinak u smislu statistički značajne razlike u broju stanica s karioreksijom i kondenziranim kromatinom između razdoblja uzorkovanja. Na temelju te činjenice nulta hipoteza je djelomično odbačena.

Statistički značajno povećanje broja stanica s karioreksijom i stanica s kondenziranim kromatinom pokazalo se nakon 30 dana (T1) i 60 dana (T2) korištenja zubne paste u usporedbi s osnovnim uzorkovanjem u T0. Nadalje, rezultati ukazuju na statistički značajno povećanje broja stanica s kondenziranim kromatinom čak i u T2 u usporedbi s T1 za RDWP i SEW. Oba citotoksična parametra smanjena su u razdoblju praćenja (T3) za sve tri spomenute zubne paste za izbjeljivanje. Zanimljivo je da nije primijećena statistički značajna razlika za te tri paste u odnosu na kontrolnu neizbjeljujuću pastu (Kalodont Multi Repair) kao ni za jednu drugu

testiranu pastu za izbjeljivanje zubi. Na temelju tih rezultata može se procijeniti da je blagi citotoksični učinak moguć za sve ispitivane zubne paste za izbjeljivanje, dok je samo za neke od njih (CMEW, RDWP, SEW) taj učinak statistički značajan.

Razlike između razdoblja evaluacije triju zubnih pasta za izbjeljivanje nadalje ukazuju na izravnu korelaciju između razdoblja primjene zubne paste i uočenih promjena. Na kraju, važno je istaknuti da sve tri paste za izbjeljivanje zubi koje pokazuju statistički značajnu razliku za dva citotoksična parametra (karioreksija i kondenzirani kromatin) u svom sastavu sadrže perokside (vodikov peroksid i urea peroksid) kao aktivni sastojak za izbjeljivanje. Takav nalaz implicira da peroksidi dominantno utječu na otkriveni citotoksični učinak triju zubnih pasta za izbjeljivanje.

Zbog, prema trenutačnim saznanjima, ograničenog broja studija u vrijeme pisanja ove rasprave (74, 78, 94, 102, 145) u dostupnoj literaturi koja analizira učinak citotoksičnosti i genotoksičnosti zubnih pasti klasificiranih kao izbjeljujućih, ovo istraživanje uspoređeno je s istraživanjima koja su procjenjivala slične učinke drugih *over-the-counter* proizvoda i profesionalnih sredstava za izbjeljivanje zubi.

Dobiveni rezultati u ovoj studiji u skladu su s onima koje su objavili Rode i suradnici (78). Primjenom mikronukleus testa u *in vitro* uvjetima procjenjivali su genotoksični i citotoksični učinak zubnih pasti za izbjeljivanje. Kao i rezultati u ovoj studiji, njihovi rezultati upućuju na nepostojanje genotoksičnog potencijala izbjeljujućih zubnih pasti, ali uz istodobno postojanje elemenata citotoksičnog potencijala. Citotoksični potencijal na fibroblastima gingive pokazale su fluoridirane izbjeljjujuće zubne paste uz izravnu povezanost s koncentracijom zubne paste (veća koncentracija zubne paste uzrokovala je pojavu citotoksičnosti). Temeljem rezultata dobivenih istraživanjem, njihov zaključak implicira da je citotoksičnost zubnih pasti uglavnom uzrokovana fluoridima u njihovu sastavu. Nasuprot tomu, rezultati ovog istraživanja nameću zaključak da je povećanje citotoksičnih parametara (u smislu karioreksije i kondenziranog kromatina) dominantno uzrokovano peroksidom u sastavu izbjeljjujućih zubnih pasti, unatoč tomu što je koncentracija peroksida u zubnim pastama obično niska, odnosno 1 % vodikova peroksida ili 0,5 – 0,7 % kalcijeva peroksida (5, 13). Međutim, ovdje je važno naglasiti da su svi testovi u ovom istraživanju provedeni s uvijek istom koncentracijom paste za zube za sva evaluacijska razdoblja uzorkovanja. Zbog te činjenice, isključivo temeljem rezultata ovog istraživanja, ni utjecaj drugih sastojaka poput fluorida ne može se u potpunosti zanemariti. Slične rezultate citotoksičnog učinka zubnih pasti u istraživanju Rodea i suradnika dobili su Camargo i suradnici koristeći se mikronukleus testom kao metodom evaluacije u *in vitro*

uvjetima na fibroblastima kineskog hrčka te su prijavili da je viša koncentracija paste za zube uzrokovala citotoksičnost u stanicama V79 (74, 78). U svom radu su citotoksičnost izbjeljujućih pasti za zube prikazali postotkom preživljenja stanica. Najveći stupanj citotoksičnosti pokazala je zubna pasta Colgate Whitening, koja je pokazala postotak preživljenja stanica manji od 5 %. Na temelju te činjenice zaključili su da izbjeljujuće zubne paste uzrokuju najveću citotoksičnost među testiranim zubnim pastama. Za razliku od rada Rodea i suradnika i ovog istraživanja, Camargo i suradnici navode postojanje genotoksičnog učinka izbjeljujućih zubnih pasti (74, 78). Naime, u svojoj studiji *in vitro*, koristeći se pri tome metil tetrazolinskim testom (MTT test) na fibroblastima ljudske gingive (HGF-1), izvijestili su da se izbjeljujuća zubna pasta Oral-B, koja u svom sastavu ima fluoride i abrazive kao glavni izbjeljujući sastojak, pokazala ujedno i najgenotoksičnijom pastom. Iako u ovom istraživanju nije provedeno ispitivanje izbjeljujuće zubne paste Oral-B, ispitivane su druge paste za zube s abrazivima i fluoridima u svom sastavu. Bez obzira na sastojke izbjeljujućih zubnih pasti, rezultati ovog istraživanja upućuju na zaključak da ispitivane izbjeljujuće zubne paste ne uzrokuju genotoksične promjene na stanicama bukalne sluznice. U svojoj studiji Bruno i suradnici koristili su MTT test u *in vitro* uvjetima i izvijestili su da su sve testirane zubne paste, uključujući izbjeljujuću pastu Colgate Luminous White, klasificirane kao visoko citotoksične – vitalnost stanica pokazala se nižom od 50 % (112). Oni su naglasili da se smanjenje vitalnosti stanica, implicirajući pritom citotoksičnost, može pripisati različitim komponentama u pastama za zube, bilo samim bilo kombiniranim. Ovo istraživanje upućuje na gotovo isti zaključak, no ukazuje na to da su peroksidi dominantno odgovorni za citotoksičnost testiranih izbjeljujućih zubnih pasti. U istraživanju Tadin i suradnika uspoređivana je toksičnost izbjeljujućih i konvencionalnih zubnih pasti te je samo jedna od testiranih pokazala značajan porast stanica s mikronukleusom nakon 60 dana korištenja – zubna pasta Colgate Whitening (94). Izvijestili su da izbjeljujuće zubne paste mogu uzrokovati genotoksični učinak na epitelnim bukalnim stanicama, ali dobivene rezultate su klasificirali kao ograničene i biološki beznačajne. Rezultati ovog istraživanja upućuju na to da evaluirane izbjeljujuće zubne paste uopće ne pokazuju genotoksični potencijal. U studiji *in vitro* na stanicama mišjih fibroblasta L929 koju su objavili Torrado i suradnici, na temelju rezultata MTT testa, istaknuto je da komercijalno dostupna zubna pasta Crest Extra Whitening nije uzrokovala postotak inhibicije veći od 50 % te da se citotoksičnost nije povećavala s trajanjem procesa (145). Temeljem rezultata ovog istraživanja, citotoksičnost triju testiranih izbjeljujućih zubnih pasti (CMEW, RDWP i SEW) bila je izravno povezana s vremenom korištenja. Ghapanachi i suradnici u studiji *in vitro* testirali su citotoksičnost 16 komercijalno dostupnih pasti za zube na primarnim epitelnim stanicama usne

šupljine i HeLa stanicama te ustanovili da su sve testirane zubne paste imale citotoksičan učinak, ali u različitom opsegu (102). Uočili su da se s povećanjem izloženosti (s 1 na 5 minuta) povećala i citotoksičnost zubne paste, što pak upućuje na zaključak da je citotoksično ponašanje bilo u pozitivnoj korelaciji s trajanjem izloženosti. Gotovo iste rezultate, ali s različitim koncentracijama vodikova peroksida, prijavili su Farkuwa i suradnici za različito trajanje izloženosti na kultiviranim ljudskim gingivnim fibroblastima (HGFs) (146). Njihovi rezultati pokazali su da niska koncentracija vodikova peroksida (0,0015 %) nije imala utjecaj na preživljavanje stanica nakon 30 minuta izloženosti, ali zabilježili su smanjenu stopu preživljavanja stanica nakon 60 minuta izloženosti. Niža koncentracija vodikova peroksida (0,00015 %) nije utjecala na preživljavanje stanica ni nakon 60 minuta. Koncentracija od  $\geq 0,15$  % vodikova peroksida utjecala je na preživljavanje stanica nakon 90 sekundi izlaganja. Objekti studije pokazale su korelaciju između razine stupnja citotoksičnosti i vremena izloženosti (102, 146). Štoviše, neki kemijski sastojci poput vodikova peroksida značajno su povećali citotoksični učinak čak i u kratkom vremenskom razdoblju izloženosti. Iako točne koncentracije peroksida i drugih aktivnih sastojaka u testiranim izbjeljujućim zubnim pastama nisu uspoređivane u ovom istraživanju zbog nedostupnosti podataka (tvorničke tajne testiranih zubnih past), rezultati upućuju na gotovo isti zaključak kao i u navedenima, ali za različite vremenske intervale izlaganja (1 – 5 minuta u odnosu na 2 mjeseca korištenja) (102, 146). Važno je naglasiti da je u ovom istraživanju pasta za zube uvijek bila u kontaktu s bukalnom sluznicom u istom trajanju (3 minute za svaku primjenu paste za zube) tijekom trajanja istraživanja pa je magnituda dnevne aplikacije zubnih pasti uvijek bila jednaka tijekom 2 mjeseca korištenja.

Koncentracije vodikova peroksida u drugim sredstvima za izbjeljivanje za profesionalnu i komercijalnu upotrebu su različite (3 – 38 %). Prema tome, u literaturi su dostupni i podaci o njihovoj potencijalnoj toksičnosti. Del Real Garcia i suradnici u svojoj su studiji procijenili utjecaj izlaganja trakama za izbjeljivanje s 10 % vodikova peroksida na genotoksičnost i oksidacijska oštećenja (147). Zaključili su da trake s 10 % vodikova peroksida pokazuju povećanu razinu NAs u oralnim epitelnim stanicama i razinu 8-OhdG u slini što uzrokuje oksidacijsko oštećenje DNA. S obzirom na te rezultate, preporučuje se pažljivo i racionalno samoinicijativno rukovanje tim sredstvima za izbjeljivanje zubi. Za razliku od njih, Monteiro i suradnici, koji su procjenjivali genotoksični potencijal koncentracije od 10 % vodikova peroksida u gelovima za kućno izbjeljivanje zaključili su da ne postoje nikakve naznake genotoksičnog učinka primjene takvog sredstva na 30 minuta tijekom 14 dana korištenja (148).



Klarić i suradnici istraživali su genotoksični učinak dvaju izbjeljujućih sredstava s vodikovim peroksidom na stanice oralne sluznice te su oba pokazala potencijalni genotoksični učinak (149). Važno je spomenuti da je koncentracija vodikova peroksida u primjenjivanim izbjeljujućim sredstvima bila veća od njegove koncentracije u izbjeljujućim zubnim pastama – 25 % i 38 %. Visoka koncentracija peroksida dopuštena je samo kod profesionalne aplikacije sredstava u kontroliranim uvjetima i pod nadzorom liječnika. To ne vrijedi za proizvode sa znatno nižom koncentracijom peroksida kao što je to slučaj s izbjeljujućim zubnim pastama. Općenito, bitno je uvijek imati na umu da vodikov peroksid može interferirati s DNA i povećati koncentraciju reaktivnih kisikovih vrsta i slobodnih radikala, što dovodi do posljedičnog oštećenja DNA (150, 151). Znanstveno povjerenstvo EU-a za sigurnost potrošača (SCCP 2007) zaključilo je da su proizvodi s 0,1 % vodikova peroksida ili ispuštanjem do 0,1 % vodikova peroksida sigurni za upotrebu s obzirom na njihove sustavne i lokalne učinke u usnoj šupljini i mukoznoj sluznici (152). U ovom istraživanju nijedna od testiranih pasti za izbjeljivanje zubi koje su u svom sastavu sadržavale kemijske tvari (perokside i/ili enzime; CMEW, HSWH, RDWP, SEW i SWP), abrazive (SDW i SWS) i ugljen (BDW i DBS) nisu pokazale statistički značajno povećanje genotoksičnih parametara. Uspoređujući rezultate ovog istraživanja s prethodno navedenim studijama, može se zaključiti da je koncentracija peroksida u zubnim pastama za izbjeljivanje dovoljno niska da ne uzrokuje nikakve genotoksične učinke.

Općenito, neželjeni učinci na stanice oralne mukoze mogu se izravno povezati s prisutnošću fluorida i njihovom koncentracijom u proizvodima za oralnu higijenu, ali i uz natrijev lauril sulfat, triklosan, natrijev monofluorofosfat, silicijev dioksid, natrijev benzoat, konzervanse, boje i arome u proizvodima za oralnu higijenu (95, 100, 102, 153). Prilikom citotoksične i genotoksične analize izbjeljujućih zubnih pasti važno je i napomenuti da komponente poput okolišnih, bioloških, demografskih čimbenika, kao i profesionalne izloženosti nekim toksinima, mogu biti predilekcijski čimbenici za pojavu povišenih toksičnih parametara testiranih u *in vivo* uvjetima. U ovom istraživanju, rezultati multiple regresije pokazali su značajnu povezanost genotoksičnih parametara s demografskim i životnim čimbenicima kao mogućim prediktorima (broj stanica s mikronukleusom sa spolom, konzumacijom alkohola i brojem amalgamskih i kompozitnih ispuna; binuklearne stanice s konzumacijom alkohola i brojem kompozitnih ispuna; jezgri pupovi sa spolom, konzumacijom kave i brojem kompozitnih ispuna). Također, citotoksični parametri pokazali su značajnu povezanost s demografskim i životnim čimbenicima kao mogućim prediktorima (broj stanica s kondenziranim kromatinom s godinama, konzumacijom alkohola i brojem amalgamskih ispuna; broj stanica s karioreksijom

sa spolom, konzumacijom kave i brojem kompozitnih ispuna; karioliza s konzumacijom mesa, kave i alkohola; piknoza sa spolom i konzumacijom alkohola i kave).

Rezultati u ovom istraživanju ukazuju na povezanost povećanja citotoksičnosti u testiranim pastama za zube i sadržaja peroksida. Naime, zubne paste za izbjeljivanje, koje su pokazale povećanje citotoksičnosti, u svom su sastavu sadržavale peroksid (ureu ili vodikov peroksid). Očekivano, prestankom korištenja zubnih pasti s peroksidima zabilježen je pad citotoksičnih parametara. Naši rezultati upućuju na to da bi citotoksični učinak zubnih pasta mogao biti posljedica peroksida u njihovu sastavu, iako se ne može isključiti utjecaj drugih komponenti/sastojaka u pastama za izbjeljivanje zubi, posebno u kombinaciji s peroksidima u njihovu sastavu. U kliničkom stanju, dobiveni rezultati testiranih zubnih pasta za izbjeljivanje ukazuju na ograničen, biološki beznačajan citotoksični učinak na stanice bukalne sluznice.

Ovo istraživanje ima nekoliko ograničenja. Istraživanjem nije obuhvaćeno testiranje pojedinačnih komponenti/sastojaka zubnih pasti i njihove točne koncentracije u njima pa je prijedlog da se u budućim istraživanjima razmotri pojedinačna evaluacija komponenti te se zasebno ispita utjecaj na preživljavanje stanica i u *in vitro* uvjetima, npr. koristeći se metiltetrazolinskim testom (MTT) i ljudskim gingivnim fibroblastima (HGF). Osim toga, bilo bi poželjno analizirati i uzorke gingive ili orofarinksa kako bi se dobio još bolji uvid u potencijalnu toksičnost izbjeljujućih zubnih pasti koje za vrijeme akta četkanja dolaze u kontakt s većom površinom oralne mukoze. Potrebno je više *in vivo/in vitro* studija kako bi se istražila biokompatibilnost pojedinačnih sastojaka i njihovih koncentracija u izbjeljujućim zubnim pastama. U konačnici, krajnjim potrošačima važno je obratiti pozornost na sastojke koji se nalaze u izbjeljujućim zubnim pastama da bi se eventualno izbjegli nepoželjni učinci na zube i oralnu mukožu.

## **6. ZAKLJUČCI**

Temeljem prikazane svrhe istraživanja, hipoteza i rezultata dolazimo do sljedećih zaključaka:

1. Izbjeljujuće zubne paste s abrazivima, enzimima, peroksidima, aktivnim ugljenom i njihovim kombinacijama mogu postići perceptibilni izbjeljujući učinak;
2. Izbjeljujuće zubne paste koje su u svom sastavu imale kombinaciju abraziva i kemijskih sastojaka (peroksida i/ili enzima) pokazale su najveći izbjeljujući učinak – HSWH, SEW, RDWP i CMEW;
3. Izbjeljujuće zubne paste koje sadrže kombinaciju abraziva i kemijskih supstancija (peroksida i/ili enzima) nadmašuju učinak izbjeljivanja onih koje sadrže samo abrazive i ugljen;
4. Iako dolazi do smanjenja izbjeljujućeg učinka uslijed prestanka korištenja izbjeljujućih pasti, mjesec dana nakon prestanka njihova korištenja izbjeljujući efekt je i dalje značajan;
5. Nakon prestanka korištenja izbjeljujućih zubnih pasti, u pratećem razdoblju, stabilnost dobivene boje održana je samo kod zubne paste koja je u svom sastavu imala urea peroksid, enzim papain i abrazive (SEW);
6. Zubne paste s peroksidom u svom sastavu – CMEW, RDWP i SEW – pokazale su značajno povećanje citotoksičnih parametara (stanice s kondenziranim kromatinom i stanice s karioreksijom) samo tijekom razdoblja njihova korištenja, te se u kliničkom smislu dobivene citotoksične promjene ne mogu smatrati značajnima;
7. Nijedna od testiranih izbjeljujućih zubnih pasti nije pokazala genotoksični učinak (broj stanica s mikronukleusom, broj stanica s nuklearnim pupovima te binuklearne stanice) na stanice oralne mukoze;
8. Općenito, izbjeljujuće zubne paste koje u svom sastavu imaju abrazive, peroksidge i/ili enzime, aktivni ugljen i njihove kombinacije pokazale su se sigurnima za korištenje tijekom dužeg vremenskog razdoblja;
9. Postoji pozitivna korelacija između izbjeljujućih zubnih pasti koje u svom sastavu imaju peroksidge s povećanjem citotoksičnosti tijekom razdoblja korištenja – zubne paste s peroksidima imale su najznačajniji izbjeljujući učinak te su pokazale i povećanje citotoksičnosti isključivo za vrijeme njihova korištenja;
10. Ispitanici koji su bili najzadovoljniji konačnim izbjeljujućim učinkom su oni koji su koristili zubnu pastu s urea peroksidom, enzimima i abrazivima – SEW;
11. Neželjene učinke tijekom korištenja zubnih pasti u obliku dentinske preosjetljivosti prijavili su/izrazili ispitanici koji su koristili pastu za zube RDWP (urea peroksid, papain

i abrazivi) – njih 40 %, dok je 20 % ispitanika isto prijavilo za izbjeljujuće zubne paste CMEW (sastav: vodikov peroksid i abrazivi), HSWH (sastav: enzimi i abrazivi) i SWS (sastav: abrazivi);

12. Kontinuirano korištenje izbjeljujućih zubnih pasti s različitim sastojcima tijekom vremenskog razdoblja od 2 mjeseca pokazalo se učinkovitim u vidu postignutih izbjeljujućih performansi bez štetnog učinka na oralnu mukozu.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Fischman SL. The history of oral hygiene products: how far have we come in 6000 years? *Periodontol* 2000. 1997;15:7-14.
2. Jardim JJ, Alves LS, Maltz M. The history and global market of oral home-care products. *Braz Oral Res.* 2009;23 Suppl 1:17-22.
3. Lippert, F. An Introduction to Toothpaste – Its Purpose, History and Ingredients pages 1-14; In *Toothpastes, Monographs in Oral Science, Vol. 23.* Editor(s): van Loveren C. (Amsterdam) 2013.
4. Horseman RE. The her-story of toothpaste. *J Calif Dent Assoc.* 2006;34(9):770,769.
5. Joiner A. Whitening toothpastes: a review of the literature. *J Dent.* 2010;38 Suppl 2:e17-24.
6. Epple M, Meyer F, Enax J. A Critical Review of Modern Concepts for Teeth Whitening. *Dent J (Basel).* 2019;7(3):79.
7. Demarco FF, Meireles SS, Masotti AS. Over-the-counter whitening agents: a concise review. *Braz Oral Res.* 2009;23 Suppl 1:64-70.
8. Riley P, Lamont T. Triclosan/copolymer containing toothpastes for oral health. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013(12):CD010514.
9. Arief EM, Adnan NBD, Awang RAR. The effect of chlorhexidine and triclosan on undisturbed plaque formation for 72 hours duration. *J Dentofasial.* 2010; 9:1-5.
10. Adams SE, Theobald AJ, Jones NM, Brading MG, Cox TF, Mendez A i sur. The effect of a toothpaste containing 2% zinc citrate and 0.3% Triclosan on bacterial viability and plaque growth in vivo compared to a toothpaste containing 0.3% Triclosan and 2% copolymer. *Int Dent J.* 2003;53(6 Suppl 1):398-403.
11. Mellberg JR. Fluoride dentifrices: current status and prospects. *Int Dent J.* 1991;41(1):9-16.
12. Linčir I, Rošin-Grget K. Pripravci za higijenu usne šupljine i farmakoterapijski dodaci. *Acta stomatol Croat.* 1998;32(2):337-50.
13. Maldupa I, Brinkmane A, Rendeniece I, Mihailova A. Evidence based toothpaste classification, according to certain characteristics of their chemical composition. *Stomatologija.* 2012;14(1):12-22.
14. Subramanian S, Appukuttan D, Tadepalli A, Gnana PP, Victor DJ. The role of abrasives in dentifrices. *J Pharm Sci and Res.* 2017;9(2):221-4.
15. Enax J, Epple M. Synthetic Hydroxyapatite as a Biomimetic Oral Care Agent. *Oral Health Prev Dent.* 2018;16(1):7-19.

16. Pickles MJ, Evans M, Philpotts CJ, Joiner A, Lynch RJ, Noel N, Laucello M. In vitro efficacy of a whitening toothpaste containing calcium carbonate and perlite. *Int Dent J.* 2005;55(3 Suppl 1):197-202.
17. Collins LZ, Naeeni M, Schäfer F, Brignoli C, Schiavi A, Roberts J, Colgan P. The effect of a calcium carbonate/perlite toothpaste on the removal of extrinsic tooth stain in two weeks. *Int Dent J.* 2005;55(3 Suppl 1):179-82.
18. Joiner A, Pickles M.J., Matheson J.R., Weader E, Noblet L, Huntington E. Whitening toothpastes: effects on tooth stain and enamel. *Int Dent J.* 2002;52:424-30.
19. Schlagenhaut U, Kunzelmann KH, Hannig C, May TW, Hösl H, Gratza M i sur. Impact of a non-fluoridated microcrystalline hydroxyapatite dentifrice on enamel caries progression in highly caries-susceptible orthodontic patients: A randomized, controlled 6-month trial. *J Investig Clin Dent.* 2019;10(2):e12399.
20. Niwa M, Sato T, Li W, Aoki H, Aoki H, Daisaku T. Polishing and whitening properties of toothpaste containing hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med.* 2001;12(3):277-81.
21. Dabanoglu A, Wood C, García-Godoy F, Kunzelmann KH. Whitening effect and morphological evaluation of hydroxyapatite materials. *Am J Dent.* 2009;22(1):23-9.
22. Relative Dentin Abrasivity (RDA) [Internet], Distinctive Dentistry, 2020 [citirano 15.7.2023.]. Dostupno na: <https://www.davidjmartindds.com/blog/relative-dentin-abrasivity-rda/>
23. Kalliath C, Mukunda A, Pynadath M, Venugopal V, Prethweeraj J. Comparison between the effect of commercially available chemical teeth whitening paste and teeth whitening paste containing ingredients of herbal origin on human enamel. *Ayu.* 2018;39(2):113-17.
24. Patil PA, Ankola AV, Hebbal MI, Patil AC. Comparison of effectiveness of abrasive and enzymatic action of whitening toothpastes in removal of extrinsic stains - a clinical trial. *Int J Dent Hyg.* 2015;13(1):25-9.
25. Chakravarthy P, Acharya S. Efficacy of extrinsic stain removal by novel dentifrice containing papain and bromelain extracts. *J Young Pharm.* 2012;4(4):245-9.
26. Kalyana P, Shashidhar A, Meghashyam B, Sreevidya KR, Sweta S. Stain removal efficacy of a novel dentifrice containing papain and Bromelain extracts--an in vitro study. *Int J Dent Hyg.* 2011;9(3):229-33.
27. Fasanaro TS. Bleaching teeth: history, chemicals, and methods used for common tooth discolorations. *J Esthet Dent.* 1992;4(3):71-8.



28. Frysh H, Bowles WH, Baker F, Rivera-Hidalgo F, Guillen G. Effect of pH on hydrogen peroxide bleaching agents. *J Esthet Dent*. 1995;7(3):130-3.
29. Khoroushi M, Aghelinejad S. Effect of postbleaching application of an antioxidant on enamel bond strength of three different adhesives. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(7):e990-6.
30. Matis BA, Cochran MA, Wang G, Eckert GJ. A clinical evaluation of two in-office bleaching regimens with and without tray bleaching. *Oper Dent*. 2009;34(2):142-9.
31. Kleber CJ, Putt MS, Nelson BJ. In vitro tooth whitening by a sodium bicarbonate/peroxide dentifrice. *J Clin Dent*. 1998;9(1):16-21.
32. Ayad F, Arcuri H, Brevilieri E, Laffi S, Lemos AM, Yoshioka M i sur. Efficacy of two dentifrices on removal of natural extrinsic stain. *Am J Dent*. 1999;12(4):164-6.
33. Guttiganur N, Devanoorkar A, Mulla S, Aspilli S. Evaluation of Extrinsic Stain Removing Efficacy of Snowdent Whitening Multifunction Toothpaste. *J Dent Sci*. 2018;6(4):33-8.
34. Ghassemi A, Hooper W, Vorwerk L, Domke T, DeSciscio P, Nathoo S. Effectiveness of a new dentifrice with baking soda and peroxide in removing extrinsic stain and whitening teeth. *J Clin Dent*. 2012;23(3):86-91.
35. Gerlach RW, Gibb RD, Sagel PA. A randomized clinical trial comparing a novel 5.3% hydrogen peroxide whitening strip to 10%, 15%, and 20% carbamide peroxide tray-based bleaching systems. *Compend Contin Educ Dent Suppl*. 2000;(29):S22-8; quiz S42-3.
36. Gerlach RW, Barker ML, Sagel PA. Objective and subjective whitening response of two self-directed bleaching systems. *Am J Dent*. 2002;15 Spec No:7A-12A.
37. Collins LZ, Naeeni M, Platten SM. Instant tooth whitening from a silica toothpaste containing blue covarine. *J Dent*. 2008;36 Suppl 1:S21-5.
38. Al Awdah AS, Habdan A, Al Baqami G, Al Bani W. The Effect of Bleaching Toothpastes Containing Blue Covarine on Enamel Color. *EC Dental Scienc*. 2017:127-33.
39. Tao D, Smith RN, Zhang Q, Sun JN, Philpotts CJ, Ricketts SR, Naeeni M, Joiner A. Tooth whitening evaluation of blue covarine containing toothpastes. *J Dent*. 2017;20-24.
40. Tao D, Sun JN, Wang X, Zhang Q, Naeeni MA, Philpotts CJ, Joiner A. In vitro and clinical evaluation of optical tooth whitening toothpastes. *J Dent*. 2017;25-28.

41. Joiner A, Philpotts CJ, Alonso C, Ashcroft AT, Sygrove NJ. A novel optical approach to achieving tooth whitening. *J Dent.* 2008;36 Suppl 1:S8-14.
42. Greenwall LH, Greenwall-Cohen J, Wilson NHF. Charcoal-containing dentifrices. *Br Dent J.* 2019;226(9):697-700.
43. Brooks JK, Bashirelahi N, Reynolds MA. Charcoal and charcoal-based dentifrices: A literature review. *J Am Dent Assoc.* 2017;148(9):661-70.
44. Vaz VTP, Jubilato DP, Oliveira MRM, Bortolatto JF, Floros MC, Dantas AAR, Oliveira Junior OB. Whitening toothpaste containing activated charcoal, blue covarine, hydrogen peroxide or microbeads: which one is the most effective? *J Appl Oral Sci.* 2019;27:e20180051.
45. Franco MC, Uehara J, Meroni BM, Zuttion GS, Cenci MS. The Effect of a Charcoal-based Powder for Enamel Dental Bleaching. *Oper Dent.* 2020;45(6):618-623.
46. Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *Br Dent J.* 2001;190(6):309-16.
47. Mortazavi H, Baharvand M, Khodadoust A. Colors in tooth discoloration: a new classification and literature review. *Int J Clin Dent.* 2014;7(1):17–27.
48. Kaplan HJ. Anatomy and function of the eye. *Chem Immunol Allergy.* 2007;92:4-10.
49. Ivanišić I. Oko kao optički instrument (sveučilišni preddiplomski završni rad). Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Odjel za fiziku; 2015. 27 str.
50. Tarle Z. i sur. *Restaurativna dentalna medicina. 1. izdanje.* Zagreb: Medicinska naklada; 2019.
51. Cochrane S. The Munsell Color System: a scientific compromise from the world of art. *Stud Hist Philos Sci.* 2014;47:26-41.
52. Joiner A. Tooth colour: a review of the literature. *J Dent.* 2004;32(1):3-12.
53. Baltzer A, Kaufmann-Jinoian V. The Determination of the Tooth Colors-special reprint. *Quintessence Publ.* 2004;30(7):726-40.
54. Parameswaran V, Anilkumar S, Lylajam S, Rajesh C, Narayan V. Comparison of accuracies of an intraoral spectrophotometer and conventional visual method for shade matching using two shade guide systems. *J Indian Prosthodont Soc.* 2016;16(4):352-58.
55. Sproull RC. Color matching in dentistry. II. Practical applications of the organization of color. *J Prosthet Dent.* 1973;29(5):556-66.
56. van der Burgt TP, ten Bosch JJ, Borsboom PC, Plasschaert AJ. A new method for matching tooth colors with color standards. *J Dent Res.* 1985;64(5):837-41.

57. Seghi RR, Johnston WM, O'Brien WJ. Performance assessment of colorimetric devices on dental porcelains. *J Dent Res.* 1989;68(12):1755-9.
58. Paul S, Peter A, Pietrobon N, Hämmerle CH. Visual and spectrophotometric shade analysis of human teeth. *J Dent Res.* 2002;81(8):578-82.
59. Fani G, Vichi A, Davidson CL. Spectrophotometric and visual shade measurements of human teeth using three shade guides. *Am J Dent.* 2007;20(3):142-6.
60. Joiner A, Luo W. Tooth colour and whiteness: A review. *J Dent.* 2017;67S:S3-S10.
61. Knösel M, Attin R, Jung K, Brunner E, Kubein-Meesenburg D, Attin T. Digital image color analysis compared to direct dental CIE colorimeter assessment under different ambient conditions. *Am J Dent.* 2009;22(2):67-72.
62. Caglar A, Yamanel K, Gulsahi K, Bagis B, Ozcan M. Could digital imaging be an alternative for digital colorimeters? *Clin Oral Investig.* 2010;14(6):713-8.
63. Peskersoy C, Tetik A, Ozturk VO, Gokay N. Spectrophotometric and computerized evaluation of tooth bleaching employing 10 different home-bleaching procedures: In-vitro study. *Eur J Dent.* 2014;8(4):538-45.
64. Khashayar G, Bain PA, Salari S, Dozic A, Kleverlaan CJ, Feilzer AJ. Perceptibility and acceptability thresholds for colour differences in dentistry. *J Dent.* 2014;42(6):637-44.
65. Ruyter IE, Nilner K, Moller B. Color stability of dental composite resin materials for crown and bridge veneers. *Dent Mater.* 1987;3(5):246-51.
66. Paravina RD, Ghinea R, Herrera LJ, Bona AD, Igiel C, Linninger M i sur. Color difference thresholds in dentistry. *J Esthet Restor Dent.* 2015;27 Suppl 1:S1-9.
67. Pérez Mdel M, Ghinea R, Rivas MJ, Yebra A, Ionescu AM, Paravina RD i sur. Development of a customized whiteness index for dentistry based on CIELAB color space. *Dent Mater.* 2016;32(3):461-7.
68. Perez MM, Herrera LJ, Carrillo F, Pecho OE, Dudea D, Gasparik C i sur. Whiteness difference thresholds in dentistry. *Dent Mater.* 2019;35(2):292-7.
69. Paravina RD, Pérez MM, Ghinea R. Acceptability and perceptibility thresholds in dentistry: A comprehensive review of clinical and research applications. *J Esthet Restor Dent.* 2019;31(2):103-12.
70. Lima DA, Silva AL, Aguiar FH, Liporoni PC, Munin E, Ambrosano GM i sur. In vitro assessment of the effectiveness of whitening dentifrices for the removal of extrinsic tooth stains. *Braz Oral Res.* 2008;22(2):106-11.
71. Pascaretti-Grizon F, Mabilleanu G, Chappard D. Abrasion of 6 dentifrices measured by vertical scanning interference microscopy. *J Appl Oral Sci.* 2013;21(5):475-81.

72. Hilgenberg SP, Pinto SC, Farago PV, Santos FA, Wambier DS. Physical-chemical characteristics of whitening toothpaste and evaluation of its effects on enamel roughness. *Braz Oral Res.* 2011;25(4):288-94.
73. da Silva EM, Maia JNDSMD, Mitraud CG, Russo JDES, Poskus L., Guimarães JGA. Can whitening toothpastes maintain the optical stability of enamel over time? *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20160460.
74. Camargo SE, Jóias RP, Santana-Melo GF, Ferreira LT, El Achkar VN, Rode Sde M. Conventional and whitening toothpastes: cytotoxicity, genotoxicity and effect on the enamel surface. *Am J Dent.* 2014;27(6):307-11.
75. Melo CF, Manfroi FB, Spohr AM. Microhardness and roughness of enamel bleached with 10% carbamide peroxide and brushed with different toothpastes: an in situ study. *J Int Oral Health.* 2014;6(4):18-24.
76. Özkan P, Kansu G, Özak ST, Kurtulmuş-Yılmaz S, Kansu P. Effect of bleaching agents and whitening dentifrices on the surface roughness of human teeth enamel. *Acta Odontol Scand.* 2013;71(3-4):488-97.
77. Worschech CC, Rodrigues JA, Martins LR, Ambrosano GM. In vitro evaluation of human dental enamel surface roughness bleached with 35% carbamide peroxide and submitted to abrasive dentifrice brushing. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(4):342-8.
78. Rode SM, Sato TDP, Matos FS, Correia AMO, Camargo SEA. Toxicity and effect of whitening toothpastes on enamel surface. *Braz Oral Res.* 2021;35:e025.
79. Mosquim V, Martines Souza B, Foratori Junior GA, Wang L, Magalhães AC. The abrasive effect of commercial whitening toothpastes on eroded enamel. *Am J Dent.* 2017;30(3):142-6.
80. Simões ACCD, Dionizio A, Câmara JVF, Sabino-Arias IT, Levy FM, Ventura TMO i sur. Do commercial whitening dentifrices increase enamel erosive tooth wear? *J Appl Oral Sci.* 2020;28:e20190163.
81. Fenech M, Holland N, Chang WP, Zeiger E, Bonassi S. The HUman MicroNucleus Project--An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res.* 1999;428(1-2):271-83.
82. Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N i sur. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis.* 2007;28(3):625-31.
83. Stich HF, San RH, Rosin MP. Adaptation of the DNA-repair and micronucleus tests to human cell suspensions and exfoliated cells. *Ann N Y Acad Sci.* 1983;407:93-105.

84. Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmueller S i sur. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat Res.* 2008;659(1-2):93-108.
85. Fenech M, Holland N, Zeiger E, Chang WP, Burgaz S, Thomas P i sur. The HUMN and HUMN<sub>x</sub>L international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and buccal cells--past, present and future. *Mutagenesis.* 2011;26(1):239-45.
86. Surrallés J, Autio K, Nylund L, Järventaus H, Norppa H, Veidebaum T i sur. Molecular cytogenetic analysis of buccal cells and lymphocytes from benzene-exposed workers. *Carcinogenesis.* 1997;18(4):817-23.
87. Galey WR, Lonsdale HK, Nacht S. The in vitro permeability of skin and buccal mucosa to selected drugs and tritiated water. *J Invest Dermatol.* 1976;67(6):713-7.
88. Thomas P, Fenech M. Buccal micronucleus cytome assay. *Methods Mol Biol.* 2011;682:235-48.
89. Torres-Bugarín O, Zavala-Cerna MG, Nava A, Flores-García A, Ramos-Ibarra ML. Potential uses, limitations, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. *Dis Markers.* 2014;2014:956835.
90. Bolognesi C, Knasmueller S, Nersesyan A, Thomas P, Fenech M. The HUMN<sub>x</sub>L scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay - an update and expanded photogallery. *Mutat Res.* 2013;753(2):100-113.
91. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat Res.* 1992;271(1):69-77.
92. Jalayer Naderi N. Reporting an Experience: Improving the Feulgen Staining Technique for Better Visualizing of Nucleus. *Iran J Pathol.* 2018;13(1):106-7.
93. Cunha AS, Castillo WO, Takahashi CS, Küchler EC, Segato RAB, da Silva LAB, Romano FL i sur. Genotoxic and cytotoxic effects of Haas appliance in exfoliated buccal mucosa cells during orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 2018;88(5):590-5.
94. Tadin A, Gavic L, Zeravica A, Ugrin K, Galic N, Zeljezic D. Assessment of cytotoxic and genotoxic effects of conventional and whitening kinds of toothpaste on oral mucosa cells. *Acta Odontol Scand.* 2018;76(1):64-70.
95. Tadin A, Gavic L, Govic T, Galic N, Zorica Vladislavic N, Zeljezic D. In vivo evaluation of fluoride and sodium lauryl sulphate in toothpaste on buccal epithelial cells toxicity. *Acta Odontol Scand.* 2019;77(5):386-93.

96. Altoukhi DH, Alaki S, El Ashiry E, Nassif O, Sabbahi D. Genotoxicity and cytotoxicity of cone beam computed tomography in children. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):427.
97. Amini F, Farhadi S, Shahbeik S, Mahvash Mohammadi M, Rakhshan V. Effects of fixed orthodontic treatment with and without chlorhexidine mouthwash on vitality of oral mucosal cells reflected by cell nuclear indexes: A preliminary 3-phase before-after clinical trial. *Int Orthod*. 2023;21(1):100722.
98. Tadin A, Galic N, Mladinic M, Marovic D, Kovacic I, Zeljezic D. Genotoxicity in gingival cells of patients undergoing tooth restoration with two different dental composite materials. *Clin Oral Investig*. 2014;18(1):87-96.
99. Brzović Rajić V, Želježić D, Malčić Ivanišević A, Verzak Ž, Baraba A, Miletić I. Cytotoxicity and genotoxicity of resin based dental materials in human lymphocytes in vitro. *Acta Clin Croat*. 2018;57(2):278-85.
100. Puizina Mladinic E, Puizina J, Gavic L, Tadin A. Clinical Prospective Assessment of Genotoxic and Cytotoxic Effects of Fluoride Toothpaste and Mouthwash in Buccal Mucosal Cells. *Biomedicines*. 2022;10(9):2206.
101. Radovic M, Gavic L, Jerkovic D, Zeljezic D, Puizina J, Srzentic I i sur. Clinical Prospective Assessment of Genotoxic Effects of Dental Implants in Gingival Epithelial Cells. *Acta Stomatol Croat*. 2022;56(3):222-34.
102. Ghapanchi J, Kamali F, Moattari A, Poorshahidi S, Shahin E, Rezazadeh F, Khorshidi H, Jamshidi S. In vitro comparison of cytotoxic and antibacterial effects of 16 commercial toothpastes. *J Int Oral Health*. 2015;7(3):39-43.
103. Akarlan ZZ, Sadik B, Erten H, Karabulut E. Dental esthetic satisfaction, received and desired dental treatments for improvement of esthetics. *Indian J Dent Res*. 2009;20(2):195-200.
104. Ingber FK. You are never fully dressed without a smile. *J Esthet Restor Dent*. 2006;18(2):59-60.
105. Goyal MK, Goyal S, Hegde V, Balkrishana D, Narayana AI. Recreating an esthetically and functionally acceptable dentition: a multidisciplinary approach. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2013;33(4):527-32.
106. Sabherwal RS, Gonzalez J, Naini FB. Assessing the influence of skin color and tooth shade value on perceived smile attractiveness. *J Am Dent Assoc*. 2009;140(6):696-705.
107. Van der Geld P, Oosterveld P, Van Heck G, Kuijpers-Jagtman AM. Smile attractiveness. Self-perception and influence on personality. *Angle Orthod*. 2007;77(5):759-65.

108. Feingold A. Good-looking people are not what we think. *Psychological Bulletin*. 1992; 111(2):304–41.
109. Dong JK, Jin TH, Cho HW, Oh SC. The esthetics of the smile: a review of some recent studies. *Int J Prosthodont*. 1999;12(1):9-19.
110. Kershaw S, Newton JT, Williams DM. The influence of tooth colour on the perceptions of personal characteristics among female dental patients: comparisons of unmodified, decayed and 'whitened' teeth. *Br Dent J*. 2008;204(5):E9; discussion 256-7.
111. Martin J, Rivas V, Vildósola P, Moncada L, Oliveira Junior OB, Saad JR i sur. Personality style in patients looking for tooth bleaching and its correlation with treatment satisfaction. *Braz Dent J*. 2016;27(1):60-5.
112. Bruno M, Taddeo F, Medeiros IS, Boaro LC, Moreira MS, Marques MM i sur. Relationship between toothpastes properties and patient-reported discomfort: crossover study. *Clin Oral Investig*. 2016;20(3):485-94.
113. Angel P, Bersezio C, Estay J, Werner A, Retamal H, Araya C, Martin J, Fernández E. Color stability, psychosocial impact, and effect on self-perception of esthetics of tooth whitening using low-concentration (6%) hydrogen peroxide. *Quintessence Int*. 2018;49(7):557-66.
114. Jiang N, Zhang C, Agingu C, Attin T, Cheng H, Yu H. Comparison of Whitening Dentifrices on the Effectiveness of In-office Tooth Bleaching: A Double-blind Randomized Controlled Clinical Trial. *Oper Dent*. 2019;44(2):138-45.
115. Suresh K. An overview of randomization techniques: An unbiased assessment of outcome in clinical research. *J Hum Reprod Sci*. 2011;4(1):8-11.
116. Luo MR, Cui G, Rigg B. The development of the CIE 2000 colour-difference formula: CIEDE2000. *Color Research & Application*. 2001;26(5):340-50.
117. Chang JY, Chen WC, Huang TK, Wang JC, Fu PS, Chen JH, Hung CC. Evaluating the accuracy of tooth color measurement by combining the Munsell color system and dental colorimeter. *Kaohsiung J Med Sci*. 2012;28(9):490-4.
118. Klaric Sever E, Budimir Z, Cerovac M, Stambuk M, Par M, Negovetic Vranic D, Tarle Z. Clinical and patient reported outcomes of bleaching effectiveness. *Acta Odontol Scand*. 2018;76(1):30-8.
119. Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E i sur. Buccal micronucleus cytome assay. *Nat Protoc*. 2009;4(6):825-37.

120. Derdilopoulou FV, Zantner C, Neumann K, Kielbassa AM. Evaluation of visual and spectrophotometric shade analyses: a clinical comparison of 3758 teeth. *Int J Prosthodont.* 2007;20(4):414-6.
121. Karpinia KA, Magnusson I, Sagel PA, Zhou X, Gerlach RW. Vital bleaching with two at-home professional systems. *Am J Dent.* 2002;15 Spec No:13A-18A.
122. Trakyali G, Ozdemir FI, Arun T. Enamel colour changes at debonding and after finishing procedures using five different adhesives. *Eur J Orthod.* 2009;31(4):397-01.
123. Isaacs RL, Bartizek RD, Owens TS, Walters PA, Gerlach RW. Maintenance of tooth color after prophylaxis: comparison of three dentifrices. *J Clin Dent.* 2001;12(2):51-5.
124. Kakar A, Rustogi K, Zhang YP, Petrone ME, DeVizio W, Proskin HM. A clinical investigation of the tooth whitening efficacy of a new hydrogen peroxide-containing dentifrice. *J Clin Dent.* 2004;15(2):41-5.
125. Sharma N, Galustians HJ, Qaqish J, Rustogi K, Zhang YP, Petrone ME i sur. Comparative tooth whitening and extrinsic tooth stain prevention efficacy of a new dentifrice and a commercially available tooth whitening dentifrice: six-week clinical trial. *J Clin Dent.* 2004;15(2):52-7.
126. Yankell SL, Emling RC, Petrone ME, Rustogi K, Volpe AR, DeVizio W i sur. A six-week clinical efficacy study of four commercially available dentifrices for the removal of extrinsic tooth stain. *J Clin Dent.* 1999;10(3 Spec No):115-8.
127. Ghassemi A, Vorwerk L, Hooper W, Cirigliano A, DeSciscio P, Nathoo S. Extrinsic stain removal effectiveness of a new whitening dentifrice. *J Clin Dent.* 2015;26(3):72-5.
128. Soparkar P, Rustogi K, Zhang YP, Petrone ME, DeVizio W, Proskin HM. Comparative tooth whitening and extrinsic tooth stain removal efficacy of two tooth whitening dentifrices: six-week clinical trial. *J Clin Dent.* 2004;15(2):46-51.
129. Hasson H, Ismail AI, Neiva G. Home-based chemically-induced whitening of teeth in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;(4):CD006202.
130. Antón ARS, Lima MJP, Araújo RPC. Hydrogen peroxide toothpaste: Whitening action? *Rev Odonto Ciênc.* 2009;24(2):161-7.
131. Torres CR, Perote LC, Gutierrez NC, Pucci CR, Borges AB. Efficacy of mouth rinses and toothpaste on tooth whitening. *Oper Dent.* 2013;38(1):57-62.
132. Horn BA, Bittencourt BF, Gomes OM, Farhat PA. Clinical evaluation of the whitening effect of over-the-counter dentifrices on vital teeth. *Braz Dent J.* 2014;25(3):203-6.



133. Pintado-Palomino K, Vasconcelos CV, Silva RJ, Fressatti AL, Motta BJ, Pires-DE-Souza FC, Tirapelli C. Effect of whitening dentifrices: a double-blind randomized controlled trial. *Braz Oral Res.* 2016;30(1):e82.
134. Lopes MC, Mascarini RC, da Silva BM, Flório FM, Basting RT. Effect of a papain-based gel for chemomechanical caries removal on dentin shear bond strength. *J Dent Child (Chic).* 2007;74(2):93-7.
135. Llana C, Oteo C, Oteo J, Amengual J, Forner L. Clinical efficacy of a bleaching enzyme-based toothpaste. A double-blind controlled clinical trial. *J Dent.* 2016;44:8-12.
136. Chemin K, Rezende M, Loguercio AD, Reis A, Kossatz S. Effectiveness of and Dental Sensitivity to At-home Bleaching With 4% and 10% Hydrogen Peroxide: A Randomized, Triple-blind Clinical Trial. *Oper Dent.* 2018;43(3):232-40.
137. Rossi B, Freitas PM, Tedesco TK, Gonçalves F, Ferreira LS. Tooth color changes and sensitivity in patients undergoing dental bleaching with 10% hydrogen peroxide using customized trays or strips: a randomized clinical trial. *Minerva Stomatol.* 2018;67(2):55-61.
138. Rahal V, Gallinari MO, Barbosa JS, Martins-Junior RL, Santos PHD, Cintra LTA i sur. Influence of skin cold sensation threshold in the occurrence of dental sensitivity during dental bleaching: a placebo controlled clinical trial. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20170043.
139. Briso ALF, Rahal V, Azevedo FA, Gallinari MO, Gonçalves RS, Frascino SMB i sur. Neurosensory analysis of tooth sensitivity during at-home dental bleaching: a randomized clinical trial. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20170284.
140. Bonafé E, Bacovis CL, Iensen S, Loguercio AD, Reis A, Kossatz S. Tooth sensitivity and efficacy of in-office bleaching in restored teeth. *J Dent.* 2013;41(4):363-9.
141. Fiorillo L, Laino L, De Stefano R, D'Amico C, Bocchieri S, Amoroso G i sur. Dental whitening gels: Strengths and weaknesses of an increasingly used method. *Gels.* 2019;5(3):35.
142. Heinisch C, Larsson K, Mattsson J, Karlsson S, Alstad T, Bruzell E. Patient Satisfaction and Complications of Over-the-Counter Bleaching Products. *J Oral Hyg Health.* 2015;3:176.
143. Browning WD, Blalock JS, Frazier KB, Downey MC, Myers ML. Duration and timing of sensitivity related to bleaching. *J Esthet Restor Dent.* 2007;19(5):256-64; discussion 264.

144. Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching--a critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003;14(4):292-304.
145. Torrado A, Valiente M, Zhang W, Li Y, Muñoz CA. Cytotoxicity of a new toothpaste based on an ion exchange resin mixture. *Am J Dent.* 2005;18(4):267-9.
146. Furukawa M, JR KK, Yamada M, Senda A, Manabe A, Miyazaki A. Cytotoxic Effects of Hydrogen Peroxide on Human Gingival Fibroblasts In Vitro. *Oper Dent.* 2015;40(4):430-9.
147. Del Real García JF, Saldaña-Velasco FR, Sánchez-de la Rosa SV, Ortiz-García YM, Morales-Velazquez G, Gómez-Meda BC i sur. In vivo evaluation of the genotoxicity and oxidative damage in individuals exposed to 10% hydrogen peroxide whitening strips. *Clin Oral Investig.* 2019;23(7):3033-46.
148. Monteiro MJF, Lindoso JBC, de Oliveira Conde NC, da Silva LM, Loguercio AD, Pereira JV. Evaluation of the genotoxic potential of different delivery methods of at-home bleaching gels: a single-blind, randomized clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2019;23(5):2199-06.
149. Klaric E, Par M, Profeta I, Kopjar N, Rozgaj R, Kasuba V i sur. Genotoxic effect of two bleaching agents on oral mucosa. *Cancer Genomics Proteomics.* 2013;10(5):209-15.
150. Rezende M, De Geus JL, Loguercio AD, Reis A, Kossatz D. Clinical Evaluation of Genotoxicity of In-office Bleaching. *Oper Dent.* 2016;41(6):578-86.
151. López-Lázaro M. Dual role of hydrogen peroxide in cancer: possible relevance to cancer chemoprevention and therapy. *Cancer Lett.* 2007;252(1):1-8.
152. Survey and risk assessment of teeth-whitening products for personal use [Internet], Ministry of Environment of Denmark, 2021 [citirano 15.7.2023.]. Dostupno na: <https://www2.mst.dk/Udgiv/publications/2021/09/978-87-7038-340-0.pdf>
153. Rantanen I, Jutila K, Nicander I, Tenovuo J, Söderling E. The effects of two sodium lauryl sulphate-containing toothpastes with and without betaine on human oral mucosa in vivo. *Swed Dent J.* 2003;27(1):31-4.

## **8. ŽIVOTOPIS**

Nada Zorica Vladislavić, doktorica dentalne medicine, specijalistica endodoncije s restaurativnom stomatologijom, rođena je 25. travnja 1988. godine u Splitu. Osnovnu školu „Manuš” i V.gimnaziju „Vladimir Nazor” završila je u Splitu, nakon čega je 2007. godine upisala Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu – smjer Dentalna medicina, koji je završila 2012. godine. Za vrijeme studija bila je demonstrator na kolegiju Fiksna protetika, aktivni član Fakultetskog vijeća te član studentske organizacije „Zubić vila”.

Nakon završetka fakulteta odradila je pripravnički staž te je nakon položenog stručnog ispita radila u privatnim ordinacijama dentalne medicine u Splitu. U listopadu 2017. godine upisala je poslijediplomski doktorski studij na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. U srpnju 2019. godine zaposlila se u Stomatološkoj poliklinici u Splitu te započela specijalističko usavršavanje iz endodoncije s restaurativnom stomatologijom na Zavodu za bolesti zubi Klinike za stomatologiju KBC-a Zagreb. U listopadu 2019. godine upisala je poslijediplomski specijalistički studij Dentalna medicina na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. U prosincu 2022. godine položila je specijalistički ispit te stekla titulu specijalista endodoncije s restaurativnom stomatologijom.

Aktivno sudjeluje na brojnim domaćim i međunarodnim kongresima iz područja endodoncije i restaurativne dentalne medicine, autorica je i koautorica u nekoliko znanstvenih časopisa i kongresnih priopćenja. Članica je Hrvatske komore dentalne medicine i Hrvatskog društva za minimalno intervencijsku dentalnu medicinu Hrvatskog liječničkog zbora.

## POPIS OBJAVLJENIH RADOVA

### Radovi u Current Contents-u:

1. **Zorica Vladislavić N**, Vladislavić J, Franić I, Tadin A. Cytotoxicity and genotoxicity of whitening toothpastes in buccal mucosal cells: a randomized controlled trial. Clin Oral Investig. 2023. <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05241-6> (članak dostupan u online veziji)<sup>1,2</sup>
2. **Zorica Vladislavić N**, Tadin A, Gavić L, Jerković D, Franić I, Verzak Ž. In vivo evaluation of whitening toothpaste efficiency and patient treatment satisfaction: a randomized controlled trial. Clin Oral Investig. 2021;26(1):739-50.<sup>1,2</sup>
3. Tadin A, Gavić L, Gović T, Galić N, **Zorica Vladislavić N**, Želježić D. In vivo evaluation of fluoride and sodium lauryl sulphate in toothpaste on buccal epithelial cells toxicity. Acta Odontol Scand. 2019;77 (5):386-93.<sup>3</sup>
4. Jerković D, Tadin A, Gavić L, **Zorica Vladislavić N**, Grgić N, Macan D. Effect of orally administered magnesium on postoperative pain level and trismus after surgical removal of the lower third molars: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Clin Oral Investig. 2020;24(12):4649-59.<sup>4</sup>

### Ostali znanstveni radovi:

1. Ivkosić I, Gavić L, Jerković D, Macan D, **Zorica Vladislavić N**, Galić N, Tadin A. Knowledge and Attitudes about Dental Trauma Among the Students of the University of Split. Acta Stomatol Croat. 2020;54(3):302-13.<sup>5</sup>

---

<sup>1</sup> Rad proizašao iz doktorata

<sup>2</sup> JCR kvartil u godini objave rada: JCR Q2

<sup>3</sup> JCR kvartil u godini objave rada: JCR Q3

<sup>4</sup> JCR kvartil u godini objave rada: JCR Q1

<sup>5</sup> SJR kvartil u godini objave rada: SJR Q3

### Kongresna priopćenja:

1. **Zorica Vladislavić N**, Tadin A, Gavić L, Jerković D, Franić I, Verzak Ž. *In vivo* procjena učinka zubnih pasta za izbjeljivanje i zadovoljstvo pacijenta tretmanom. Sažetci 4. kongresa s međunarodnim sudjelovanjem Zavoda za endodonciju i restaurativnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u suorganizaciji Hrvatskog društva za minimalno intervencijsku dentalnu medicinu HLZ-a, 23.-24.10.2020., Zagreb. Acta Stomatol Croat. 2020;54(4):449.
2. **Zorica Vladislavić N**, Ivkošić I, Gavić L, Tadin A. Knowledge and experience of dental trauma: cross-sectional survey among students at the University of Split, Croatia. Sažetci 6. Međunarodnog kongresa Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, 28.-29.2.2020., Zagreb. Acta Stomatol Croat. 2020;54(2):215-6.
3. Gović T, Gavić L, Želježić D, Galić N, **Zorica Vladislavić N**, Tadin A. Procjena toksičnosti natrij lauril sulfata iz zubnih pasta na oralnim stanicama *in vivo*. Sažetci 4. Međunarodnog kongresa Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, 2.-3.3. 2018., Zagreb. Acta Stomatol Croat.2018;166-7.
4. **Zorica Vladislavić N**, Jurković I, Gavić L, Jerković D, Kovačić I, Tadin A. Procjena citogenetskih oštećenja u stanicama oralne sluznice dentalnih tehničara mikronukleus testom. Sažetci 4. Međunarodnog kongresa Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, 2.-3.3. 2018., Zagreb. Acta Stomatol Croat. 2018;52(4):167.
5. **Zorica Vladislavić N**, Franić I, Gavić L, Tadin A. Assessment of cytotoxic and genotoxic effect of whitening toothpastes in buccal mucosal cells. Sažetci 6. kongresa s međunarodnim sudjelovanjem Zavoda za endodonciju i restaurativnu stomatologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u suorganizaciji Hrvatskog društva za minimalno intervencijsku dentalnu medicinu HLZ-a, 21.-22.10. 2022. Zagreb. Acta Stomatol Croat. 2022;56(4):443-4.

### Udžbenik:

1. Duplančić R, Poklepović Peričić T, **Zorica Vladislavić N**, Puizina E, Gavić L. Metode prevencije zubnog karijesa. U: Tadin A, Gavić L, ur. Prevencija u dentalnoj medicini. Zagreb: Medicinska naklada; 2021. str. 45-80.