

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Projevy intolerance kovů na sliznici dutiny ústní
Guisela Irene Huamán Gabriel

Bakalářská práce
2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Guisela Irene Huamán Gabriel**
Osobní číslo: **C12337**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Název tématu: **Projevy intolerance kovů na sliznici dutiny ústní**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Seznamte se s literárními zdroji zaměřenými na intoleranci dentálních náhrad v dutině ústní, zejména kovů. Jak je sliznice ovlivněna přítomností dentálních náhrad?
2. Diskutujte roli imunitního systému (tj. buněk, molekul a mechanismů) v obranných reakcích na sliznici dutiny ústní. Popište patologické stavy probíhající na sliznici (infekce, zánět).
3. Vypracujte přehled metod vhodných ke sledování imunopatologických projevů intolerance.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Původní zdroje z webových databází <http://isiknowledge.com/>,
<http://www.pubmed.gov>, <http://www.sciencedirect.com/> ne starší 10 let.**

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**

Katedra biologických a biochemických věd

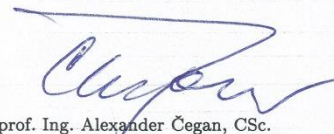
Datum zadání bakalářské práce: **28. listopadu 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce: **7. července 2017**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 14. března 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a to zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu se směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Guisela Irene Huamán Gabriel

Poděkování:

Na prvním místě bych chtěla poděkovat Bohu za moudrost i sílu potřebnou ke splnění mého snu, dále svým rodičům, kteří mi i přes velkou vzdálenost poskytovali podporu a byli tu vždy pro mě. Dále mé školitelce Mgr. Marcele Slovákové, Ph.D. za cenné rady a Zdeňce Vasilkové i všem, co mi pomohli a podporovali mě.

ANOTACE

Práce se zaměřuje na projevy imunopatologických mechanismů na sliznici dutiny ústní, které jsou způsobeny kovy (např. nikl, kobalt, rtuť, titan, platina) obsaženými v dentálních náhradách. A také se zabývá obrannými reakcemi imunitního systému proti těmto prvkům, dále uvádí metody vhodné ke sledování imunopatologických projevů intolerancí daných kovů.

KLÍČOVÁ SLOVA

Přecitlivělost, imunopatologie, kov, sliznice, Melisa

TITLE

Manifestation of intolerance metals on oral mucosa

ANNOTATION

The work focuses on the manifestations of immunopathological mechanisms of the oral mucosa caused by metals (e.g. nickel, cobalt, mercury, titanium, platinum) contained in the dental replacement. And also deals with defensive reactions of the immune system against these elements, it also shows appropriate immunochemical methods for the determination of the metals.

KEYWORDS

Hypersensitivity, immunopathology, metal, mucous membranes, Melisa

OBSAH

0. ÚVOD.....	12
1. SLIZNICE DUTINY ÚSTNÍ	13
1.1. Anatomická struktura ústní dutiny	13
1.2. Hlavní funkce sliznic.....	14
1.3. Mikroflóra ústní dutiny	14
2. IMUNOLOGICKÁ BARIÉRA	16
2.1. Humorální mechanismy	16
2.1.1. Cytokiny.....	16
2.1.2. Komplement.....	17
2.1.3. Imunoglobuliny.....	17
Imunoglobulin A	18
Imunoglobulin G	19
Imunoglobulin E a D	19
Imunoglobulin M.....	19
2.2. Buněčné mechanismy.....	20
2.2.1. Žírné buňky.....	20
2.2.2. NK buňky.....	20
2.2.3. Fagocyty.....	20
2.2.4. T lymfocyty.....	21
3. IMUNOLOGICKÉ ZÁNĚTLIVÉ MECHANISMY	23
3.1. Akutní zánětlivý proces.....	23
3.1.1. Cévní projevy.....	23
3.1.2. Leukodiapedéza	24
3.1.3. Chemotaxe	25
3.1.4. Fagocytóza	25
3.2. Chronický zánět	26
3.3. Chemické mediátory zánětu	26
4. IMUNOPATOLOGICKÉ REAKCE.....	28
4.1. Přecitlivělost.....	28
4.2. Klasifikace imunopatologických reakcí.....	28
4.2.1. Typ I: Imunopatologická reakce s účastí IgE protilátek	28
4.2.2. Typ II: Imunopatologická reakce s protilátkou IgM a IgG.....	28

4.2.3.	Typ III: Imunopatologická reakce s tvorbou imunokomplexů	29
4.2.4.	Typ IV: Imunopatologická reakce buněčné zprostředkované	29
5.	KOVOVÉ LÁTKY ZPŮSOBUJÍCÍ IMUNITNÍ REAKCE	31
5.1.	Rtuť	32
5.2.	Titanium	35
5.3.	Níkl.....	36
5.4.	Kobalt.....	39
5.5.	Zlato	40
5.6.	Platinová skupina	41
5.7.	Zinek	43
6.	VYŠETŘOVACÍ METODY U REAKCÍ Z PŘECITLIVĚLOSTI NA KOVY	45
6.1.	Kožní testy a epikutánní testy	45
6.2.	Vyšetření metodou ELISA	46
6.3.	Screeningový test léky stimulovaných lymfocytů	47
6.4.	Vyšetření metodou imunostimulačního testu paměťových lymfocytů	47
6.5.	Testování lymfocytární transformace	48
6.6.	Průtoková cytometrie	48
7.	ZÁVĚR.....	49
8.	SEZNAM LITERATURY.....	50

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

MALT	slizniční imunitní systém
NK	buňky přirození zabíječi, natural killer
d-MALT	difusní slizniční lymfatická tkáň
o-MALT	organizovaná slizniční lymfatická tkáň
GALT	střevní lymfatická tkáň
BALT	brochiální lymfatická tkáň
CD	diferenciační antigen, ang. cluster of differentiation
IgG	imunoglobulin G
IgE	imunoglobulin E
IgM	imunoglobulin M
IgD	imunoglobulin D
Th	pomocný T lymfocyt, helper T cell
sIg	sekreční imunoglobulin
CSR	rekombinantní změna třídy imunoglobulinu
PIgR	polymeric immunoglobulin receptor
IFN	interferony
IL	interleukiny
G-CSF	granulocytární kolonie stimulující růst faktor, ang. granulocyte colony-stimulating factor
M-CSF	makrofagní kolonie stimulující růst faktor, ang. macrophage colony-stimulating factor
TGF	transformující růstový faktor, ang. transforming growth factor
MHC	hlavní histokompatibilní komplex, ang. major histocompatibility complex
APC	buňka předkládající antigen, ang. antigen-presenting cell
DC	dendritická buňka, ang. dendritic cell
ITAM	aktivační motiv imunoreceptorů založený na tyrosinu, ang. immunoreceptor tyrosine-based activation motif.
ADCC	buněčná cytotoxicita závislá na protilátkách, ang. antibody dependent cellular cytotoxicity
KIR	inhibiční receptor NK buněk, ang. killer inhibitory receptor

gp	glykoprotein
TNF	faktor nekrotizující nádory, ang. tumor necrosis factor
PAF	faktor aktivující krevní destičky, ang. platelet activating factor
ICAM	mezibuněčná adhezivní molekula, ang. intercellular adhesive molecule
VCAM	cévní adhezivní molekula, ang. vascular cell adhesion molecule
LFA	adhezivní molekula leukocytů, ang. leukocyte-function-associated antigen
VLA	pozdní aktivační antigen, ang. very late activation antigen
PECAM	adhezivní molekula destiček a endotelií, CD31, ang. platelet endothelial cell adhesion molecule
BPI	protein baktericidní zvyšující permeabilitu, ang. bacterial permeability increasing protein
PGE	prostaglandin E
HETE	hydroxyeikosatetraenové kyseliny, ang. hydroxyeicosatetraenoic acid
HSP60	heat shock protein 60
EtHg	ethylrtuť
MeHg	methylyrtuť
HgIA	syndrom indukovaný Hg
LBT	lupus band test
PEEK	polytheretherketone
FUDM	často používané dentální materiály
ACRG	skupiny odpovědi kompatibilní alergie
PFG	predisponující faktor skupiny
TLR 3,4	receptory skupiny Toll, ang. toll-like receptors
(NF)-κB	nukleární faktor kappa B, ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
Melisa	imunostimulační test paměťových lymfocytů, ang. memory lymphocyte immunostimulation assay
XFMS	rentgenový fluorescenční mikroskop a spektrometr, ang. X-ray fluorescence microscope and spectrometry
HLA-DR	hlavní lidský (histokompatibilní), ang. antigen (human leukocyte antigen)
TMA	titanium molibdenum slitina
DLST	test na léky stimulující lymfocyty, ang. drug lymphocyte stimulation tests

PPP	palmoplantární pustulóza ang. palmopantar pustulosis
ICDRG	mezinárodní pracovní skupiny pro výzkum kontaktní dermatitidy, ang. international contact dermatitis research group
EECDRG	evropské pracovní skupiny pro ekologii a kontaktní dermatitidu, ang. european environmental and contact dermatitis reseach group
DLSTs	screeningový test léky stimulující lymfocyty
LTT	testování transformace lymfocytů
ELISA	enzymová imunoanalýza na pevné fázi, ang. enzyme-linked immunosorbent assay

0. ÚVOD

Při zkoumání tohoto tématu jsem si uvědomila, že jen málokdo zkoumá ústní sliznici. Výzkumy jsou nejvíce zaměřeny na zuby nebo obecně na trávicí systém a slinné žlázy. Ale když si člověk uvědomí, že takový malý otvor má schopnost k tomu, aby člověk komunikoval s ostatními, zjistí, že je velice důležitý. Je hlavní vstupní branou, umožňuje přijímat potravu (zdravou i nezdravou) a zabraňuje člověku onemocnět některými infekcemi. Je to proto, že je zde slizniční imunitní systém (MALT), který obsahuje imunoglobuliny, cytokiny, buňky NK a lymfocyty.

Pečuje o nás od narození díky specifickým a nespecifickým reakcím imunitních mechanismů. V současnosti není úplně jisté, zda je vždy nutná přítomnost nějakého druhu imunoglobulinu, jenž by přecitlivělou reakci nebo intoleranci vyvolal [1]. Ale pro správnou funkci imunitního systému je vždy potřeba přítomnost T-lymfocytů, monocytů a makrofágů. 15 - 30 % americké populace trpí nějakou formou přecitlivělosti [2]. Existují kovy, které jsou nezbytné pro tělo v malém množství, ale jiné v našem systému nehrají žádnou roli. Tato práce má za cíl demonstrovat rizika kovů pro použití v ústní dutině.

Zadáním pro vypracování této práce bylo sledovat reakce imunitního systému ve sliznici dutiny ústní, aby bylo možné pochopit mechanismy intolerance dentálních náhrad.

V první části této práce jsou popsány základní fakta o imunitním systému, obranných mechanismech, imunitní obranné bariéře imunopatologických reakcích sliznice na kovové látky. Zkoumá se tu, jaké druhy kovů jsou příčinou imunitních reakcí v ústech, které látky obsahují tyto kovy. Dále, které z nich jsou v ústní dutině nejškodlivější, a které způsobují alergickou reakci. Dále, jak tyto kovy přicházejí do styku s ústní sliznicí prostřednictvím potravin, ústní vody, pitné vody, amalgamu či zubní protézy.

Rovněž se zde bude zkoumat, jak se imunopatologický mechanismus uplatní, tedy co v důsledku způsobuje intoleranci.

Dalším tématem jsou vyšetřovací metody, kterými se sledují imunopatologické projevy hypersenzitivity.

1. SLIZNICE DUTINY ÚSTNÍ

Slizniční lymfatická tkáň našeho těla je největší orgán. Sliznice kryje části našeho těla uvnitř a vně, jako je např. sliznice dutiny ústní a nosní, dýchacích cest a trávicího traktu. MALT se rozlišuje podle své funkční autonomie a místa, kde se nachází. Proto se rozlišuje například střevní lymfatickou tkáň (GALT) a bronchiální lymfatická tkáň (BALT). Slizniční systém se ve velké míře účastní obranných mechanismů lidského těla proti cizorodým látkám, které organismus vnímá jako antigen. MALT je charakterizován převahou imunoglobulinu IgA na sliznicích a v sekretech dutiny ústní.

1.1. Anatomická struktura ústní dutiny

Trávicí systém začíná dutinou ústní, která má z pohledu embryonálního vývoje původ ektodermový. Je tvořena tvrdým patrem (*palatum durum*) a měkkým patrem (*palatum molle*), zuby, rty, připojenými svaly a také slinnými žlázami.

Slinné žlázy produkují sliny, které pomáhají chemickou formou získávat živiny a jsou součástí imunitního systému. Existují dva typy slinných žláz, velké a podružné. Velké slinné žlázy jsou příušní, podčelistní a podjazykové. Podružné žlázy jsou složeny z malých a početných acinů, které se nacházejí v podslizniční a slizniční vrstvě různých oblastí ústní dutiny. Slinné žlázy udržují vlhko a kluzko v ústní sliznici. Ve slinách se nacházejí elektrolyty, enzymy, růstové faktory a imunoglobuliny.

Ústní dutina je tvořena čtyřmi vrstvami: sliznicí, podsliznicí, svalovým a vazivovým obalem. Střevní lymfatická tkáň (GALT) je tvořena různými tkáněmi, a pod ní se nalézají lymfatické folikuly. Jsou rozmístěny do dvou skupin: organizovaná lymfatická tkáň (o-MALT) a difusní lymfatická tkáň (d-MALT), které jsou tvořeny T lymfocyty, B lymfocyty, makrofágy, neutrofilny, eozinofily a žírnými buňkami. Struktura lymfatické tkáně o-MALT je organizovaná, zatímco u d-MALT je difuzně rozptýlena ve sliznici a v podsliznici.

Epitel dutiny ústní se určuje podle různých kritérií. Dle funkce se jedná o krycí vnitřní povrch, dále o žlázový epitel, obklopený pouzdrzem z pojivové tkáně, přijímající různé druhy látek a vylučující nový produkt. Podle dělení dle tvaru a počtu vrstev se jedná o mnohavrstvený dlaždicový epitel.

Epitel se skládá z keratinocytů a dendrických buněk. Melanocyty se průběhem času stávají eozinofilní bariérou - jsou zrohovatělé. Merkelovy buňky, Langerhansovy buňky a přechodné látky, které jsou tvořeny granulocyty, lymfocyty a monocyty, pronikají do epitelové tkáně. Langerhansovy buňky plní funkci zpracovávání antigenů a prezentování peptidových fragmentů pro T lymfocyty. Langerhansovy a dendritické buňky patří mezi antigeny. Vícevrstvený dlaždicový epitel se dále dělí na krycí typ sliznice rohovatějící - sliznice rtů, měkké patro, spodní strana jazyka, a žvýkací typ sliznice - tvrdé patro a dásně.

Pojivová tkáň se liší v závislosti na místě výskytu, buď je připojena k okostici (*periostu*), či pokrývá podsliznici (*submukózu*). Obsahuje smyslové receptory a do ní zasahující hlavové nervy, které plní smyslovou inervaci sliznice dutiny ústní a žvýkacích svalů. Nejvýznamnější hlavové nervy jsou trojklanný nerv (*nervus trigeminus*), jazykohltanový nerv u kořene jazyka (*nervus glossopharyngeus*) a bloudivý nerv (*nervus vagus*) [3].

1.2. Hlavní funkce sliznic

Hlavní funkcí slizničního imunitního systému je bariérová ochrana, která brání vstupu mikroorganismů do lidského těla [4]. Slizniční imunitní systém v užším slova smyslu tvoří zejména mukózní lymfatický systém, MALT. Ve sliznici je hladká svalovina, která umožňuje kontrakci sliznice proti podsliznici, čímž pomáhá s posunem hlenu a tráveniny. o-MALT je místem indukce imunitní reakce a d-MALT je především efektorovou částí [3 - 5].

V epitelu jsou intraepiteliální T lymfocyty CD8+, které potlačují nežádoucí reakce proti potravinovým antigenům. Především T lymfocyty typu $\gamma\delta$ udržují a regulují integritu sliznic, což znamená nárůst a regeneraci epitelových buněk a sekreci cytokinů.

Eliminace patogenů a opsonizace mikroorganismů se děje jen díky primárnímu humorálnímu mechanismu nebo sekundárnímu buněčnému mechanismu. Ten je zase aktivován díky vrozenému mechanismu produkujícímu cytokiny, které aktivují adaptivní imunitu [4].

1.3. Mikroflóra ústní dutiny

Mikroflóra dutiny ústní závisí výrazně na vnitřních a vnějších faktorech. Tento systém pracuje s otevřeným růstem v určité přítomnosti mikroorganismů a zejména v toku slin. Pokud jde o mikroorganismy v ústní dutině, mohou být jak aerobní, tak anaerobní.

Antibióza je rovnováha mikrobiálního ekosystému v ústech. Tuto roli plní laktoferin, který zabraňuje růstu bakterií, je tvořen neutrofilů a syntetizován epitelovými buňkami. Některé typy mikroorganismů tzv. autochtonní, se nacházejí jen v ústní dutině. Těmi jsou například bakteroidy, aktinomycety a spirochety.

Při narození je dítě vystaveno všemožným vnějším i vnitřním mikroorganismům. V době, kdy začíná konzumovat potravu se v ústní dutině objeví *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus sanguis*. Když dítěti rostou zuby, objeví se ostatní mikroorganismy jako *Streptococcus mutans*, laktobacily a další. Většina z nich jsou aerobní bakterie. Důvod, proč se objeví více bakterií na povrchu zubů, je tvorba bakteriálního plaku (zubní mikrobiální povlak). Tyto bakterie mohou být patogenní, proteolytické, dočasné či obytné [6].

2. IMUNOLOGICKÁ BARIÉRA

Mechanismus, který pomáhá udržovat rovnováhu ústní dutiny, je obnova orálního epitelu sliznice. Mikroorganismy z mikroflóry jsou patogenní či nepatogenní, a některé pronikají až k podsliznici.

Sliny jsou také antibakteriální bariérou, je tvořena mucinem, který je základním elementem obsahujícím některé enzymy. Mucin se skládá z různých glykoproteinů a pokrývá slizniční epitel [7].

2.1. Humorální mechanismy

Hlavní humorální složky specifické imunity jsou imunoglobuliny, které patří ke gamaglobulinové frakci plazmatických bílkovin. Tyto jsou produkovány zralými plazmatickými buňkami.

Nejvýznamnějším imunoglobulinem je imunoglobulin A (IgA) pro svou důležitou roli ve sliznici, a je přítomen v celém trávicím ústrojí. Hlavní složky, které dále působí jako nespecifický humorální mechanismus, jsou imunoglobuliny G (IgG), imunoglobuliny E (IgE) a imunoglobuliny M (IgM), které jsou vždy přítomny ve slizniční antimikrobiální bariéře. Jejich funkcí je neutralizace mikrobů a dále aktivace komplementu [5, 8, 9].

2.1.1. Cytokiny

Cytokiny jsou regulátory imunitního systému, ovlivňují trvání i intenzitu imunitních reakcí. Stimulují sekreci imunoglobulinů. Cytokiny jsou klasifikovány podle jejich původu, struktury a funkcí.

Účinky cytokinů jsou široké, např. pleiotropní, redundantní, synergické nebo antagonistické. Působení cytokinů v buňkách může být autokrinní, kdy regulují sami sebe přes pozitivní zpětnou vazbu, dále parakrinní, působící na buňky v okolí, a endokrinní působení, které ovlivňuje vzdálené buňky nebo orgány prostřednictvím transportu přes krevní oběh.

Podle svého původu se cytokiny člení na interleukiny IL-1 až IL-32, které jsou odpovědné za aktivaci leukocytů. Dále chemokiny IL-8, interferony (IFN) α , β a γ , které jsou důležité

v neadaptivním antivirovém mechanismu. A také faktory stimulující kolonie G-CSF, M-CSF, GM-CSF, růstové faktory TGF α i jiné [5].

2.1.2. Komplement

Komplement je soustava 30 sérových a membránových proteinů, při jejichž vzájemné reakci dojde k pohlcení patogenů a také k vyvolání silné zánětlivé reakce. Na místech infekce se aktivují předchůdci proenzymu. Komplementový systém je aktivován kaskádou aktivních enzymů. Aktivace komplementu je dána třemi cestami - klasickou, alternativní a lektinovou. Hlavní funkcí komplementu je opsonizace cizí částice pro fagocyty, kteří mají na sobě navázány komplementové receptory. Mezi další funkce komplementu patří chemotaxe, která má za úkol aktivaci a přitažlivost fagocytů. A dále při osmotické lýze dojde k poničení membrány bakterie membranolýtickými komplexy tvořenými proteiny komplementu [5, 8, 9].

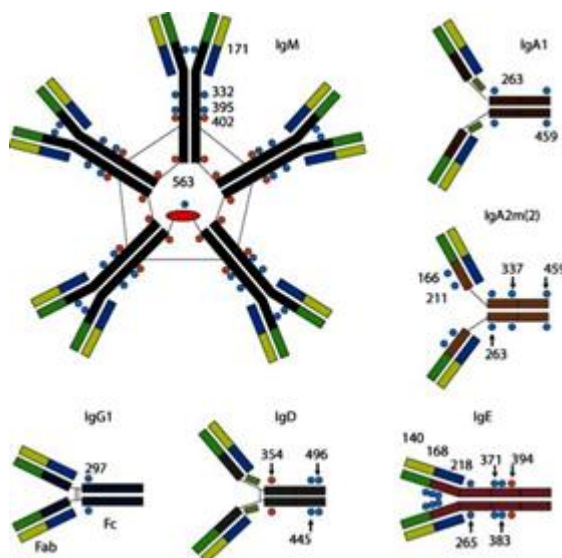
2.1.3. Imunoglobuliny

Imunoglobuliny jsou produkty plazmatických buněk, které se diferencují z aktivovaných B lymfocytů s podporou Th₂ buněk. Důsledkem podpory Th₂ buněk je transformace a migrace lymfocytů do druhého folikulu, kde se diferencují na plazmatické blastocyty, paměťové buňky a některé B lymfocyty, které zůstávají v germinálních centrech během shody maturace. Navíc plazmatické blastocyty migrují do kostní dřeně, kde jsou transformovány a umožňují aktivaci efektorových buněk. Tvoří přibližně 2000 molekul imunoglobulinů za sekundu [4, 10]. Pokud jsou receptory spojeny s imunoglobuliny, nazývají se sekreční komponenty sIgA a sIgM. Mnohé z nich se nacházejí v mateřském mléce, na epitelu sliznice a v slzách. Jak uvádí Prof. RNDr. Václav Hořejší, CSc., mezi nejvýznamnější sekreční komponentu mateřského mléka patří sIgA. Dále popisuje hlavní funkci sIgA, kterou je neutralizace infekčních mikroorganismů v trávicím traktu novorozence [5]. Kromě toho vazba IgA komplexu s Fc-receptory v určitých buňkách vyvolá imunitní reakci až do té míry, že generuje imunitní eliminaci proti antigenům neboli patogenům.

Primární a sekundární humorální odpověď protilátek se liší množstvím a typem afinitního isotypu imunoglobulinu po stanovenou dobu. Primární humorální odpověď je pomalejší, projeví se v prvních několika dnech, ale zároveň potřebuje nějaký čas pro předchozí proces klonální expanze, kde je více převládající imunoglobulin IgM. Sekundární humorální odpověď je rychlejší, tvořená B lymfocyty specifickými k antigenu a T lymfocyty v přítomnosti různých

faktorů. Sekundární imunitní odpověď se projeví za kratší dobu v porovnání s prvním setkáním organismu s antigenem, a to kvůli změně tvorby IgM na IgG při izotipovém přesmyku. Nejvýraznější vlastností sekundární odpovědi je vyšší výskyt protilátek IgG a také přítomnost dalších izotopů, které jsou výsledkem rekombinantní změny třídy (CSR).

Hlavní funkcí imunoglobulinů a protilátek je schopnost rozpoznávat antigeny. A to je úlohou idiotypu. Imunoglobuliny jsou tvořeny čtyřmi řetězci. Dva těžké, které jsou delší, a dva lehké řetězce, navzájem jsou propojené disulfidovými vazbami. Každý řetězec má variabilní a konstantní oblasti. A každá oblast se skládá z různého počtu aminokyselin. Existují dva typy lehkých řetězců - kappa nebo lambda, a pět typů těžkých řetězců, podle kterých jsou imunoglobuliny klasifikovány – α (IgA), γ (IgG), ϵ (IgE), δ (IgD) a μ (IgM) [7, 11]. Jejich rozdílnost lze vidět na obrázku 1.



Obrázek 1: Schéma imunoglobulinů IgA, IgG, IgE, IgD, IgM [12].

Imunoglobulin A

IgA je dimer $(HL)_2$ tvořen dvěma těžkými řetězci alfa. Pro vytvoření dimeru je nutné propojit J-řetězcem. IgA je na povrch epitelu transportován polymerní Ig receptorem (pIgR), který se váže na řetězec J, procesem označeným transcytóza IgA. Část poly IgR zůstane částí sekrečního sIgA, který mu zabraňuje v degradaci. Sekreční sIgA pokryjí slizniční epitel k udržení jeho stavu [13].

V lidském organismu se vyskytují 2 typy IgA: IgA1 a IgA2. IgA1 je imunoglobulin, který se liší od IgA2 přítomností tzv. nožičky. IgA1 je dimerem, je součástí jak séra, tak i povrchu

sliznic. Častěji se vyskytuje ve formě IgA1, která tvoří až 90 procent IgA, a pochází ze slizničních plazmocytů. IgA2 se nachází v kostní dřeni, kde se i tvoří, z celkového IgA tvoří asi 10 procent. Sekreční sIgA lze nalézt zejména na sliznici, působí proti patogenům v mateřském mléce, slzách, slinách a krvi [11, 14].

Imunoglobulin G

IgG je monomer, který obsahuje těžké řetězce gamma. Jsou nejhojnější a jediní z imunoglobulinů, kteří mohou procházet placentou, vyznačují se aktivací komplementového systému a fagocytózy. IgG vstupuje do krevního oběhu nenarozeného dítěte z matky. Tvoří podtřídy, IgG1 je přítomen u virových reakcí a působí aktivaci komplementu. Podobně i IgG2 je přítomen při virových infekcích a vyskytuje se hlavně u bakterií bohatých na sacharidy. Na rozdíl od předchozích podtříd IgG3 reaguje na toxiny produkované bakteriemi a váže se dobře na Fc-receptory. IgG4 vůbec neaktivuje komplement a má nižší afinitu na Fc receptory fagocytů [5, 11].

Imunoglobulin E a D

IgE a IgD jsou také monomery (LH)₂. IgE obsahuje těžké řetězce epsilon a hraje důležitou roli při alergické reakci, zejména parazitní reakci. Přestože role imunoglobulinu IgD je neznámá, je známo, že hraje roli v tvorbě receptorů B lymfocytů pro antigen.

Imunoglobulin M

IgM je pentamer tvořený těžkými mí řetězci. Tento pentamer je tvořen J řetězcem a obsahuje cystinový zbytek. Umístěn je na povrchu B lymfocytů. Je nejvýraznější protilátkou v primární humorální odpovědi a vede k aktivaci systému komplementu. Existuje rozdíl mezi slizničním imunoglobulinem IgA a IgM. IgM je náchylný k proteolytickým rozkladům ve střevě, IgA nemá schopnost aktivovat komplement [8,10 - 11].

2.2. Buněčné mechanismy

2.2.1. Žírné buňky

Žírné buňky se nachází převážně v epitelu, například v gastrointestinálním traktu. Tyto buňky mají vnitřní granula obsahující histaminy, proteázy a cytokiny, které způsobují zánět. Kromě toho, aktivované žírné buňky vylučují mediátory např. prostaglandin, leukotrien, které indukují akumulaci neutrofilů po zánětu. Proto se říká, že zánět průdušek způsobuje alergické astma [5, 19].

2.2.2. NK buňky

NK (Natural killers) buňky podporují přirozené reakce v epitelu sliznice střevního traktu. Usnadňují rychlou sekreci cytokinů po signálu z APC. Tyto buňky jsou antibakteriální a protivirové, protože mají schopnost jakoukoli poškozenou buňku usmrtit nebo zlikvidovat. Pro jejich vznik během infekcí je nutná přítomnost IL-2.

NK buňka je producentem perforinů a granzymů, a na jejím povrchu leží stimulační a inhibiční receptory. Stimulační receptory jsou Fc-receptory vázající sekvenci ITAM (aktivační motiv imunoreceptoru založený na přítomnosti tyrosinu). Fc-receptory, známé také jako CD16, vykazují specifitu, rozpoznávají, kdy chybí nějaký izotop, a tak vytvoří signál a aktivují cytotoxické mechanismy, známé spíše jako cytotoxická reakce, které jsou závislé na protilátkách (ADCC). Další skupinou jsou inhibiční receptory, které jsou tvořeny buď imunoglobuliny, zvané také KIR (killer inhibitor receptor) anebo C-lektinové receptory. Inhibiční receptory rozpoznávají MHC I. třídy. Pokud jsou v pořádku a bez jakékoliv modifikace, vysílají NK buňkám negativní signál čili nezpůsobují jejich aktivaci [5, 20].

2.2.3. Fagocyty

Patří mezi ně neutrofilní granulocyty, eosinofilní granulocyty, monocyty a makrofágy. Jejich funkce se uplatňuje zejména při zánětlivých reakcích a u nespecifické imunity. Granulocyty mají jako hlavní úkol chránit proti bakteriální infekci. Tyto vykonají svoji efektorovou funkci okamžitě. Neutrofilů zastupují kolem 60-70% většiny leukocytů v krvi. Mají kratší dobu životnosti než makrofágy. Neutrofilů vykonávají jako základní funkci fagocytózu s následným zničením patogenů. Eosinofily se uplatňují především proti infekcím způsobeným parazity.

Monocyty a makrofágy pohlcují aktivně zbytky buněk zahynulých apoptózou, nádorových buněk a mikroorganismů.

2.2.4. T lymfocyty

T lymfocyty dozrávají v brzlíku. Na povrchu lymfocytů jsou proteiny, které mohou sloužit jako receptory pro cytokiny, adhezivní bílkoviny, komplex CD3, pro aktivaci lymfocytů. TCR (receptor T lymfocytů pro antigen) má dvě hlavní funkce: účastní se při zrání lymfocytů v brzlíku, a v periferních lymfoidních tkáních slouží k rozpoznání antigenů, aby uskutečnil proliferaci lymfocytů na subklony: efektorové buňky a paměťové buňky. T lymfocyty jsou specifické, protože specificky rozpoznávají antigen. Existují dva typy TCR: typ $\alpha\beta$ a typ $\gamma\delta$. TCR $\alpha\beta$ nesou na povrchu molekuly CD8 koreceptor pro hlavní histokompatibilní komplex glykoproteinů I. třídy (MHC I. třídy), nebo CD4 koreceptor pro MHC II. třídy. Tyto se nacházejí ve větším množství než TCR $\gamma\delta$. TCR $\gamma\delta$ se nachází na sliznici, v krvi a v tkáni pouze v zastoupení 5 procent.

Většina CD4 T lymfocytů jsou pomocné T lymfocyty (Th), které se liší v subpopulaci TH1 (IL-2, IFN), TH2 (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13), TH17, T-regulační. Existuje mechanismus imunoregulace mezi TH1 a TH2. Při včasné reakci (Th1) je charakterizována sekrecí IL-2, IFN- β a IFN- γ . IFN- γ zvyšuje produkci IL-12, který je produkován DC a makrofágy a zároveň IFN- γ inhibuje Th2 [15]. IFN- β aktivuje neutrofile. IL-2 stimuluje růst B a T lymfocytů. TH1 v B-buňkách indukuje produkci opsonizujících protilátek. Proto urychluje včasnou reakci a lokální záněty. Zatímco pozdější odpověď (TH2) je vyvolaná IL-4. IL-4 je faktorem růstu T lymfocytů a stimuluje změnu třídy imunoglobulinu (IgG, IgE). IL-10 je faktor růstu B lymfocytů a inhibuje vznik TH1. TH2 aktivuje B-buňky k produkci neutralizačních protilátek různým způsobem. Th17 podporuje akutní zánět, což znamená, že dojde ke shlukování neutrofilů v místě infekce [16 -18].

CD8 lymfocyty se vyvíjejí do cytotoxických T lymfocytů, které jsou destruktivní. V uzlině naivní CD8 T lymfocyty jsou aktivovány DC prezentujícím antigenem. Většina CD8 T lymfocytů jsou silně spojeny s kodocytom prostřednictvím interakce APC. V APC jsou molekuly adheze a kostimulační molekuly. Existují různé cytotoxické mechanismy: první z nich je založen na přítomnosti granulí obsahující granzymy a perforin, který má schopnost tvořit póry v membráně cílového kodocytu a následuje apoptóza. Druhá je interakce mezi

Fasling a Fas (CD59) vede k apoptotické smrti. Třetí mechanismus obsahuje lymfotoxin, který útočí na infikované ale i zdravé buňky [18].

3. IMUNOLOGICKÉ ZÁNĚTLIVÉ MECHANISMY

Zánět je reakcí hostitele na cizorodý organismus a nejen ten, dále také na antigeny, alergeny, a další. Zánět je komplexním tkáňovým procesem v těle probíhajícím ve vaskulární pojivové tkáni, vedoucím k eliminaci patogenních činitelů a opravení poškozené tkáně způsobené násobením příčin. Zánět je bezprostřední a nespecifický, později se může vyvinout ve specifickou reakci - zánětlivé ložisko (ohnisko nákazy). Akutní zánět je charakterizován čtyřmi kardinálními příznaky: teplo, zčervenání, otok tkáně a bolest. Poprvé je popsal Aulus Cornelius Celsus. Klinický obraz zánětu doplnil ztrátou funkce Quintiliano z Ibérie. Tyto příznaky akutního zánětlivého procesu způsobují mediátory. Později Sir Thomas popsal záněty vyvolané chemickými látkami, např. histaminem. Díky tomuto objevu bylo možno provést mnoho studií zkoumajících působení protizánětlivých léků [10, 21, 22].

Zánět má dvě významné fáze: akutní a chronickou. Akutní fáze zánětu je charakterizována průběhem v krátké době, skládá se ze 3 hlavních částí. První částí je modifikace kalibru vlásečnice, a proto se zvyšuje krevní průtok (erytémem a teplotou). Druhou částí je produkce exsudátu - tekutiny a plazmové bílkoviny způsobující edém, dále strukturální změna mikrocév. Třetí částí je migrace bílých krvinek, zejména neutrofilů do poraněné oblasti, kde se hromadí. Chronická fáze zánětu probíhá delší dobu, jeho hlavními vlastnostmi je přítomnost lymfocytů a makrofágů, proliferace cév, fibróza a nekróza [22, 23].

3.1. Akutní zánětlivý proces

3.1.1. Cévní projevy

Po poranění nastává krátké nekonzistentní období arteriální vasokonstrikce, poté následuje vasodilatace arterií. V místě poranění vznikají nová řečiště arterií. Tímto způsobem se zvyšuje průtok krve, který je příčinou místního zarudnutí a zvýšení tepla. Následně se zpomalí oběh kvůli propustnosti mikrovaskulárních cév. Hlavním rysem akutního zánětu je cévní filtrace - exsudace. Exsudát bohatý na bílkoviny prochází do extravaskulární tkáně. Pokles kapalin v intravaskulární tkáni způsobuje stázi (hromadění buněk v malé dilatované cévě, může probíhat podle intenzity stimulace několik minut, až 15-30 minut). Tím se snižuje intravaskulární osmotický tlak a zvyšuje intersticiální osmotický tlak, také se zvyšuje

hydrostatický sekundární tlak, což vede k úniku a akumulaci tekutiny v intersticiálních tkáních. Toto hromadění extravaskulární tekutiny se nazývá otok.

Mechanismus prostupu endotelu je aktivován histaminem, leukotrienem, bradycinem, látkou P a dalšími chemickými mediátory. Cévní filtrace je reverzibilní a obvykle trvá od expozice mediátoru (histamin a látka P) 15-30 minut, nazývaná také jako okamžitý odpověď. Dalším mechanismem je kontrakce epitelu, je dána působením vazoaktivních mediátorů. Posledním mechanismem je reorganizace cytoskeletu kapilár a žil působením cytokinů jako jsou Interleukin-1 a tumor nekrotizující faktor.

3.1.2. Leukodiapedéza

V průběhu posledního mechanismu cévního projevu začíná první krok leukodiapedézy, což je leukocytární marginalizace, způsobená cytokiny, jako je IL-1 a TNF, které aktivují endotel a indukují syntézu nových bílkovin jako E-selektin, a také zvyšují projev adhezivních molekul. Leukocyty, a především neutrofilů se akumulují podél endotelu (Obrázek 2).

Také jiné mediátory, jako je histamin, trombin a PAF, stimulují rychlou distribuci E-selektinu. Tak se neutrofilů, monocytů a T lymfocytů dočasně spojují s E-selektiny a tím i k endotelu. Neutrofilů, monocytů, lymfocytů se spojují s P-selektiny, které jsou přítomny jak v epitelu tak i v krevních destičkách. Tento proces je znám jako kutálení a je dočasný. Následují trvalé procesy. Endotelová přilnavost probíhá za účasti molekul adheze ICAM-1 a VCAM 1. Dále jsou potřeba integriny, což jsou glykoproteiny, které se nachází v neutrofilech, monocytech a lymfocytech, jako LFA-1. Pro vyšší afinitu fixace leukocytů musí být aktivovány chemokiny, aby zesílily fixaci integrinů. ICAM-1 způsobí změnu nastavení LFA-1, získá tak trvalou adhezi. Adheze je podmínkou pro transmigraci. Během zánětu je vidět nárůst počtu spojení mezi LFA-1 / ICAM-1 a VLA-4 / VCAM-1. Což umožní diapédeza, v tomto kroku leukocyty procházejí přes intersticiální endotel pomocí adhezivních molekul, které se spojují mezi sebou. Například PECAM-1 umožňuje pohyb leukocytů v intersticiu a pokračovat podél bazální membrány. Navíc jsou přítomny protilátky, které neutralizují extravasaci, působí proti adhezivním molekulám. Bazální membrány mohou být degradovány sekrecí kolagenázy.

Celulární exsudace se liší v závislosti na fázi zánětlivé léze, a také může dojít ke zpožděné reakci organismu. Většinou proniknou k místu zánětu převážně neutrofilů, což trvá mezi 6 až 24 hodinami, následně jsou nahrazeny monocyty, do 24 až 48 hodin od vzniku zánětu. Přestože neutrofilů mají krátký život, asi 24-48 hodin, pak nastane jejich apoptóza.

3.1.3. Chemotaxe

Při chemotaxi a leukocytární aktivaci leukocyty migrují do oblasti poranění pod chemickým gradientem chemotaxického podnětu (pochází z místa úrazu, zruší počáteční stimulaci). Chemotaxické faktory mohou být exogenní (např. bakteriální produkty) a endogenní agenti (např. cytokiny - IL-8, složky komplementu C5a, C3, metabolity kyseliny arachidonové, leukotrien B4). Úlohou agentů chemotaxe je upevnění specifických receptorů, které se nacházejí v leukocytech, a produkce sekundárních projevů.

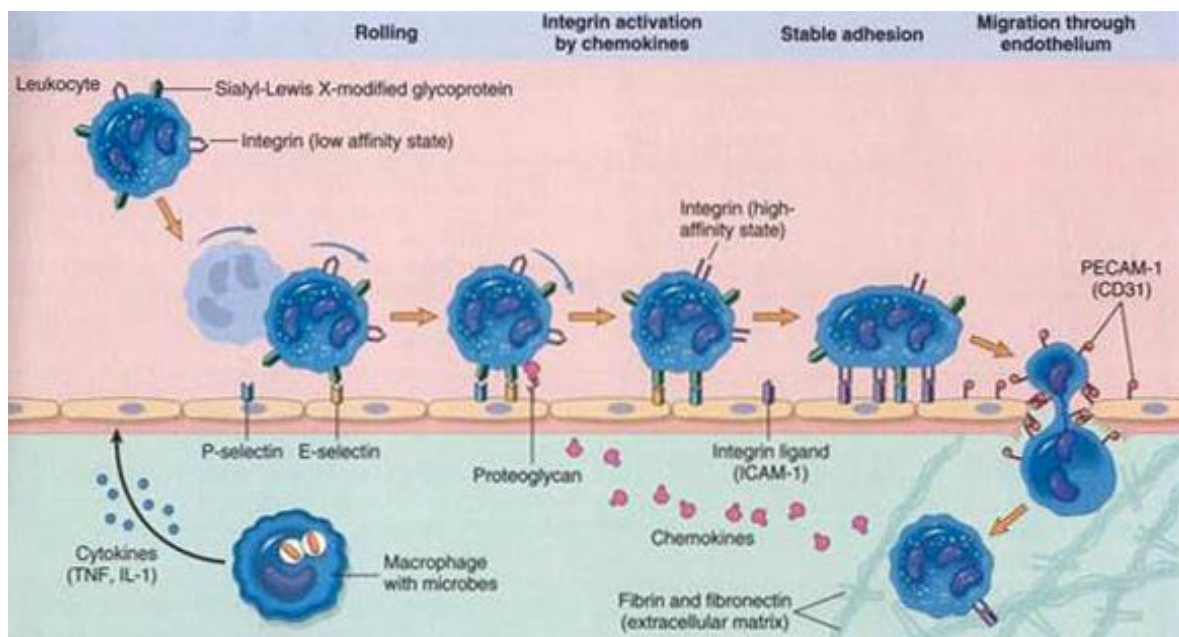
3.1.4. Fagocytóza

Fagocytóza probíhá ve třech fázích: V první fázi probíhá rozpoznávání a uchycování částic, které budou pohlcovat leukocyty. Ke zvýšení fagocytární účinnosti probíhá opsonizace, obložení mikroorganismy. Nejdůležitějšími opsoniny jsou Fc fragment imunoglobulinu IgG, kolektiny a opsonizační C3b fragment C3 (to je speciální neopsonická fagocytóza, protože poznává bakteriální polysacharidy bez pomoci protilátek nebo komplementu).

Ve druhé fázi dochází k pohlcení částic, vzniku fagocytární vakuoly. Tento proces umožňují receptory FcγR, které jsou přítomny v leukocytech. Cytoplazma se rozšiřuje kolem částice, která bude fagocytována. Během tohoto procesu leukocyty nebo monocyty granulují. A nakonec zůstává částice obalená buněčnou membránovou cytoplazmou, známá jako fagosom.

Ve třetí fázi nastává zničení a degradace fagosomu. Pro tento enzymatický proces je nezbytná přítomnost kyslíku. Ačkoli je výroba dioperoxidu nízká, dochází k ničení bakterií. Azurofilní granula aktivují halogenační systém s peroxidem, tvoří tak účinný baktericidní mechanismus. Ale existují i jiné mechanismy ničení, dle podílu látek přítomných v granulích, jako: baktericidní protein BPI, kationický protein, jež zvyšují propustnosti externí membrány mikroorganismu.

Bakterie jsou degradovány acidickými hydrolázami z azurofilních granulí ve fagolysozomech. Zánět končí, když je eliminován problematický stimul a zmizí, nebo jsou inhibovány mediátory. V průběhu třetí fáze fagocytózy se zároveň aktivuje reparační proces tkáně a eliminace poškození tkáně, za což zodpovídají fagocyty, zejména makrofágy. Na reparačním procesu se podílejí aktivační mechanismy fibroplastické, aktivace angiogeneze, regenerace a remodelace tkání [10, 22].



Obrázek 2: Schéma akutního zánětlivého procesu. Leukodiapedéza, chemotaxe a fagocytóza [22].

3.2. Chronický zánět

Jestliže zánět pokračuje po dostatečně dlouhou dobu, stává se chronickým. V tomto období současně probíhá aktivní zánět, poškození tkáně makrofágy a zároveň oprava tkáně. Cytokin TGF- β je hlavním mediátorem fibrózy, který aktivuje proliferaci fibroblastů. Fibroblasty nahradili funkční poškozené tkáně za fibrózní tkáně. Tento klinický obraz je charakterizován přítomností mononukleárních lymfocytů, monocytů a plazmatických buněk. V této chronické fázi zánětu se nalézá granulomatózní zánět, při kterém se hromadí makrofágy k proměně v buňkách epitelu, obklopené mononukleárními leukocyty. Mezi nejznámější chronické onemocnění patří tuberkulóza, sarcoidosis a berylióza.

3.3. Chemické mediátory zánětu

Mediátory zánětu buněčného původu jsou například vazoaktivní aminy, histamin a serotonin způsobují rozšíření cév. Glykoproteiny, opsininy a integriny, stimulují chemotaxi a diapédezu.

Eikosanoidy, prostaglandiny typu PGE, zvyšují cévní propustnost, působí na mediátory bolesti a horečky, také tyto vyvolává prostacyklin. Kyseliny HETE patří mezi eikosanoidy, které stimulují chemotaxi. Leukotrieny mají stejnou funkci jako HETE kyseliny a jsou jejich aktivátory.

Při poškození tkáně jsou fosfolipidy membrány proměněny fosfolipázami na kyselinu arachidonovou. Tato kyselina se enzymem cyklooxygenázou promění na PGE₂, ten je syntetizován různými enzymy a vzniká prostacyklin, který je projevem cévního tonusu. PGE je také mediátorem bolesti.

Mediátory zánětu původem od plazmatického proteinu jsou kininy, komplementový kaskádový soubor proteinů, koagulační systém, a tromboxany účastníci se koagulace a destičkového shlukování [22].

4. IMUNOPATOLOGICKÉ REAKCE

4.1. Přecitlivělost

Přecitlivělost na neantigenní materiály například na rtuťové částičky byla popsána ve třech směrech. Prvním z nich je výrazná odpověď organismu. Druhým je odpověď, která není okamžitě rozpoznána obranným mechanismem. A třetí je neobvyklá, kdy je odpověď slabší, než jsou příznaky. Ti, co prováděli studii v této oblasti, se rozhodli rozlišovat mezi přecitlivělostí na alergen a citlivostí na kovy, které se také říká chemická intolerance a nemá žádný specifický proces. Z toho vyplývá, že tolerance je schopnost odolávat aktivitě, dokud nepřesáhne určitou míru, kdy ztrácí svou vrozenou toleranci. Látka se stává netolerovanou, což označujeme jako chemickou citlivost [24 - 27].

4.2. Klasifikace imunopatologických reakcí

Poškození struktur lidského těla příslušným způsobem a posloupností jedné nebo několika imunologických reakcí, které ovlivňují tkáň, se nazývá imunopatologická reakce. Ta je klasifikována dvěma způsoby: dle převládajících efektorových mechanismů se dělí na humorální a buněčnou. Druhá klasifikace je klasická, podle Coombsa a Gella (1963). Dělí se na 4 typy imunopatologických mechanismů. První tři jsou humorální a poslední buněčný [25, 27, 28].

4.2.1. Typ I: Imunopatologická reakce s účastí IgE protilátek

Známa je také jako atopie. Při opakovaném kontaktu s alergenem dochází k aktivaci degranulace žírných buněk. Projevy mohou být lokální (alergická rýma, atopická dermatitida) nebo systémové (anafylaktický šok). Určité faktory přispívají k imunopatologické reakci, například vliv prostředí nebo genetická predispozice, ale i infekce [27, 28]. Reakce se může projevit otokem orofaciální oblasti a dále může způsobit dýchací potíže, zejména u horních cest dýchacích [29].

4.2.2. Typ II: Imunopatologická reakce s protilátkou IgM a IgG

Nazývá se také cytotoxická, vzniká tehdy, kdy tyto protilátky mohou vytvořit jiné protilátky nekontrolovaným způsobem; a to buď protilátky proti sobě samým, tzv. autoprotilátky, nebo

protilátky proti antigenům jiného těla, např. při krevní transfuzi, nebo antigenům plodu (nekompatibilita Rh faktoru). Protilátky rozpoznají buňky a spojí se s nimi a snaží se je eliminovat svými cytotoxickými mechanismy, a když se jim to nepovede, vede to k dalšímu účinku blokování protilátek (k perniciozní anémii, diabetu) anebo ke stimulaci protilátek (Gravesova Basedowova choroba) [26 -28].

4.2.3. Typ III: Imunopatologická reakce s tvorbou imunokomplexů

Tvoří se za přítomnosti antigenu, protilátek a komplementu, které adherují k epitelu. Imunokomplexová reakce nevzniká okamžitě, trvá 10 až 14 dní, než se autoantigeny odstraní. Větší přítomnost těchto antigenů bývá v ledvinách nebo epiteliálních buňkách, kde tvoří poškozené imunokomplexy (např. sérová nemoc, glomerulonefritida, kryoglobulinemie či revmatoidní artritida). Po aktivaci komplementu přicházejí na řadu neutrofily a degranulace žírných buněk [26 -28].

4.2.4. Typ IV: Imunopatologická reakce buněčně zprostředkované

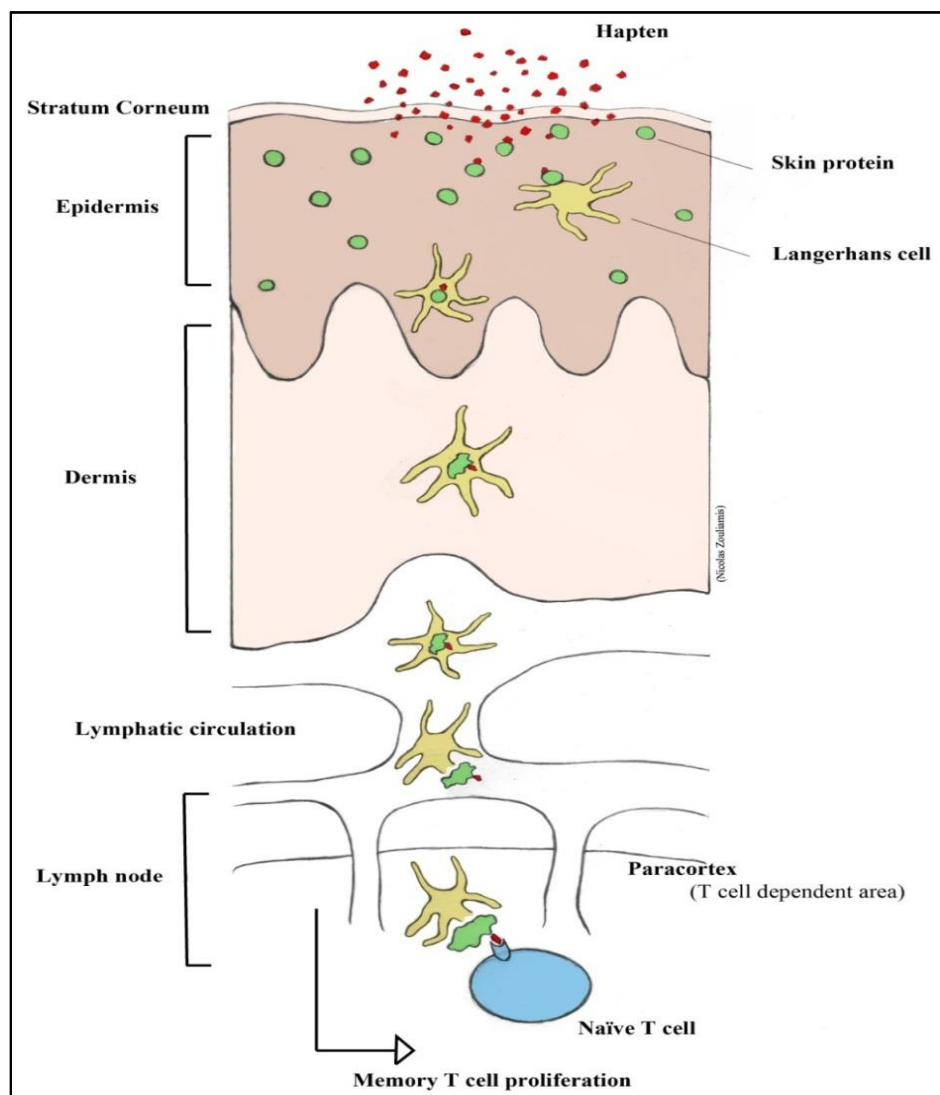
Existují 4 subtypy imunopatologických reakcí buněčně zprostředkovaných. Prvním typem je reakce oddáleného typu (DTH), je charakterizována poškozováním tkání infekcí. Jedná se o buněčnou imunitní odpověď zprostředkovanou T lymfocyty, monocyty a makrofágy. Místní reakce se objevuje 12 až 72 hodin po styku s antigenem. Buňky TH1 poté migrují do místa kontaktu a vzájemně se stimulují s makrofágy. Příkladem jsou tuberkulinová reakce a lepra.

Dalším typem je reakce buněčná cytotoxická, charakterizuje ji eliminace buněk poškozených viry. Při této reakci se aktivují cytotoxické T lymfocyty (CD8+) a Th17, které produkují IL-7 IL-21, IL-22, dochází ke kombinaci s reakcí prozanětlivých buněk z DTH a následnému rozkladu pozměněných buněk. Tyto buňky se uplatňují u eliminace virové infekce (tj. virových exantémů). Příkladem jsou hepatitida způsobená CD8+ a Th1 lymfocyty, odmítnutí transplantovaného orgánu a také kontaktní dermatitida, která je způsobená stejným typem mechanismu DTH ale jsou přítomny Tc a Th17 a způsobují ji chemikálie (trinitrofenol, dichlorbenzen).

Třetím typem je reakce na cizí těleso, která se vyznačuje fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Neantigenní cizorodý materiál může způsobit reakci, která probíhá při přímém kontaktu materiálu s tkáněmi, například oční čočky a kloubní náhrady. Lepší biokompatibilitu vykazují hydrofilní materiály s negativním nábojem. V první fázi reakce se na povrch materiálu hromadí

proteiny, ve druhé fázi dojde k rozpoznání imunitním systémem. Makrofágy produkující IL-1 a TNF vyvolávají lokální i systémovou reakci [5, 26 -28]. Na obrázku 3 je znázorněna přecitlivělost typu IV [28].

Čtvrtým typem je reakce při sepsi, dochází k ní při aktivaci systémových monocytů. Monocyty a makrofágy produkují cytokin TNF, který je hlavním faktorem vazodilatace, zvýšení permeability a ztráty plazmatické tekutiny, a septického šoku. TNF způsobí vyčerpání koagulačních faktorů. Celkový proces vede k multiorgánovému selhání, tedy až ke smrti.



Obrázek 3 Imunopatologická reakce typu IV [28].

5. KOVOVÉ LÁTKY ZPŮSOBUJÍCÍ IMUNITNÍ REAKCE

Těžké kovy jsou látky, které mohou poškodit imunitní systém lidí a způsobují některé poruchy jako je přecitlivělost. Žádné cizí těleso v lidském těle není zcela inertní. V tomto případě se kovové ionty průběhem času uvolní do okolí v ústní dutině [30]. Kovy ve stopovém množství stálým kontaktem se sliznicí dutiny ústní vedou k intoleranci [31, 32]. Navíc kovy mají také vysokou afinitu k imunologickému systému, i k pojivové a nervové tkáni [30]. Ke kontaktu s kovem dochází například při nošení rovnátek, zubních náhrad, používání syntetické pryskyřice, implantátů obsahujících nikl (Ni), chrom (Cr), rtuť (Hg), palladium (Pd), kobalt (Co), zlato (Au), zinek (Zn), titan (Ti) a měď (Cu) [15, 32 -35], při užívání ústní vody, požívání potravin, při použití vakcíny a aplikací kosmetických výrobků [31]. Kontakt zubní náhrady s kovem a tkáně lze pozorovat na obrázku 4.

Jedna třetina potravinových alergií se rozvíjí v dětství [36]. V jistém ohledu souvisejí s intolerancí na kovy z potravin. Tito lidé se stávají v průběhu času nesnášenlivými vůči potravinám. Tyto alergeny mohou změnit místo zánětu na ústní a gastrointestinální prostředí [31, 32].

Téměř 90% české populace používá amalgamové výplně. Amalgamy obsahují 50% rtuti a dále obsahují stříbro, zinek a měď [30]. Amalgamy jsou většinou příčinou nejčastějších alergií. Trvalý kontakt mezi imunologickým systémem sliznic a částicemi kovů vytváří galvanickou korozi, známou také jako galvanismus. Toto elektrochemické napětí urychluje rozpouštění materiálu a jeho oxidaci [30, 37].

Studie, která si klade za cíl sledovat účinky, které s sebou přináší galvanismus způsobený kovy v dutině ústní, na faktory slinné imunitní obrany, byla provedena se 4 skupinami. Tyto skupiny byly vybrány na základě jejich klinického záznamu a vyšetření, měření galvanických proudů a slinných odběrů IgA1, IgA2, sIgA, lysosomů, protilátek IgA proti chaperonu 60 (AntiIgA / HSP60). Během analýzy se vzalo v úvahu, že galvanické patologické napětí by bylo maximálně 5 μ A [37, 38]. Pacienti trpěli zánětem, ústní lézí, lichenoidní dermatitidou, korozi, pachutí kovu v ústech a jinými nepříjemnými pocity.

Výsledky potvrzují, že galvanické články mohou přispět k zánětu sliznice dutiny ústní. Autoři si všimli také velkého rozdílu v úrovních imunoglobulinů mezi pacienty s galvanickými problémy a těmi, kteří nemají žádné patologické galvanické napětí. Lze pozorovat určité zlepšení po odstranění výplní [30].

Dalším experimentem, kterým se zkoumalo potenciální zvýšení nebo snížení hladiny diferenciačních antigenů CD3, CD19, CD11a, CD18, CD69 a CD95 vystavenými galvanickým proudům 3, 10, 20 μA a galvanickému napětí o velikosti 80, 200 a 300 mV. Vše bylo měřeno metodou nepřímé imunofluorescence. Experiment prokázal, že nepříjemné pocity v ústech jsou způsobeny ionty kovů v dutině ústní a galvanismem. Stálé dlouhodobé vystavení galvanického článku pod určitým proudem a napětím může generovat pokles a poruchu na proliferaci CD3, CD19, CD11a, CD18, CD95 a aktivaci CD69 [38].



Obrázek 4 Kontakt mezi dentální náhradou zubu vyrobenou z kovu a amalgámovou výplní [28].

5.1. Rtut'

Tento kov byl používán k léčbě syfilis v Evropě, i v současné době se stále nachází v některých vakcínách [39,40], také se používá v dentálních amalgamech [15]. Některé zubní amalgámy obsahují čisté rtuti více než 50 procent [15]. Ale existují i jiné slitiny rtuti s jinými kovy, jako například se zinkem, mědí a stříbrem [34]. Typ rtuti, který způsobuje více škody na ústní sliznici, je organická rtuť [15, 39, 40]. Organická sloučenina rtuti jako thimerosal obsahuje ethylrtuť (EtHg). Methylrtuť (MeHg), fenylrtuť i ethylrtuť jsou lépe vstřebávány v zažívacím traktu. MeHg, jak některé studie prokázaly, způsobuje zvýšení IL-4 a IgE [15, 41]. Ethylrtuť (EtHg) může potlačit lymfatickou proliferaci, způsobuje snížení splenocytů, snížení produkce B lymfocytů [42], zvýšení IL-4 mRNA v raných fázích. Vyvolává produkci autoprotilátek proti fibrillarínu [41], inhibuje aktivaci T lymfocytů a B lymfocytů, proto je charakteristickým imunosupresorem [15]. Přesto používání ethylrtuti také může způsobit lymfoproliferaci s aktivací polyklonálních B lymfocytů závisících na T lymfocytech [41, 43]. Hyperimmunoglobulinémie indukuje TNF- α , IL-6, a IL-12p70 sekrety z buněk dendritů, Th2 (IL-

5 a IL-3) se zvyšuje a snižuje Th1 (TNF- γ) [15], produkce prozánětlivých cytokinů, jako jsou TNF- α , IL-1, IL-6 a IL-10. Což znamená aktivaci komplementového imunitního systému [15, 41].

Anorganická rtuť, jako je chlorid rtuťnatý HgCl₂, vyvolává nejen proliferaci T lymfocytů, ale také umožňuje, že T lymfocyty mohou uniknout od IFN-alfa, totiž jejich apoptózy [41]. Autoimunita vyvolaná anorganickou rtuť (HgIA), lymfoproliferace s aktivací polyklonálních B lymfocytů závislou na T lymfocytech, hypergamaglobulinemií - zvýšení IgG1 a IgE v séru [15], produkce protilátek proti fibrillinu a protilátky proti chromatinu [15, 41], může také vést k rozšíření IL-4 mRNA v séru, a také zvýšení IL-2 a IFN- γ [15]. Při pokusu, kdy byly myši vystaveny působení anorganické rtuti, se objevila autoimunita vyvolaná rtuť [42].

EtHg je odpovědný za imunosupresivní účinek v reakcích, po třech týdnech se změnil tento efekt na imunostimulační [15, 42]. Toto lze vidět v léčbě prováděné na myších s EtHg a MeHg [41]. Ukazuje se, že tyto komponenty mají mnohem větší imunosupresivní vliv než anorganická Hg [15, 30, 41, 42]. Nicméně není známo, jakým procesem se mění EtHg na anorganickou Hg [15, 40, 41]. Anorganická rtuť se může proměnit na elementární. Obvykle je vyloučena ve formě anorganické, stolicí, močí a v potu [15, 39]. Může být vyloučena i v malých množstvích do mateřského mléka [44].

Anorganická rtuť se nachází v mase ze skotu, který se pásal na pastvinách v oblastech dolů na zlato [40], organická jako MeHg se nachází v rybách [15], EtHg je součástí vakcín jako konzervační látka, také se nachází v antibakteriálních přípravcích [15, 39]. Elementární rtuť není absorbována perorální cestou, jen pokud není ústní sliznice poškozena [39, 44].

Některé studie ukazují určitou souvislost mezi mužskou neplodností a vystavením anorganické rtuti. Dentální amalgámy, jejichž hlavní součástí je rtuť, mohou nepříznivě působit na mužskou plodnost, indukovat zánět [15, 44]. Pokles plodnosti byl pozorován i v důsledku působení olova a candia. Vystavení nízkým dávkám HgCl₂ může poškodit kognitivní schopnosti a také vést k chronickým onemocněním [45], způsobuje i nefrotoxicitu [15].

Syndrom indukovaný Hg (HgIA) je dán Hg²⁺, který je v podobě HgCl₂, indukuje autoimunitní onemocnění s aktivací polyklonálních B a T lymfocytů. Po nějaké době po aplikaci injekce HgCl₂, probíhají fáze rezistence generované supresorovými CD8⁺ T lymfocyty. Pomocí studie byla prokázána v T lymfocytech, monocytech a B lymfocytech ranná syntéza glutathionu způsobená v souvislosti s nízkou koncentrací Hg²⁺ [15, 34, 40, 41,

44]. Za zmínku stojí, že organická Hg může způsobit nevhodnou proliferaci CD4 T lymfocytů [41].

Pokud se rtuť používá v nižších koncentracích, není cytotoxická [15]. Rtuť zvyšuje intracelulární hladinu Ca^{2+} v T lymfocytech. Tyto inhibují toxicitu rtuti, ale zároveň rtuť indukuje apoptózu, a dokonce i nekrózu. Ca^{2+} zvyšuje počet kyslíkových radikálů v mitochondriální membráně. Rtuť vyvolává změny ve fibrillarínu a abnormální produkci tohoto proteinu, který je součástí MHC II. třídy. Při setkání MHC II. třídy a CD4 T lymfocytů dochází k intoleranci T lymfocytů [15, 44].

Organická rtuť je toxická hlavně pro nervovou soustavu, škodí DNA, přerušuje neurální migraci a generuje arytmií. Lze tím říci, že indukuje buněčnou smrt v imunitním systému [15]. Avšak při nižší koncentraci se rtuť stává imunomodulátorem, o čemž je zmínka ve studii Druet 1978. Kdy u potkanů a myši propuklo lymfoproliferativní onemocnění s aktivací polyklonálních B lymfocytů závisících na T lymfocytech, zvýšení hladiny imunoglobulinu v séru, produkcí autoprotilátek a depozicí komplexu [41, 42], včetně zvýšení makrofágů a dendritických buněk (DC) v lamina propria [43].

Zubní náhrady mají vzájemnou interakci s fyziologickými tekutinami [29]. Studie provedená zde v Čechách ukázala, že dentální kovy vyvolávají orální léze. Analýza byla provedena pomocí náplast'ové testů u 25 pacientů s orálními lézemi, z nichž 15 bylo alergických na nějaký kov. Z těchto 25 pacientů 19 trpělo lézí na ústní sliznici, 4 na hřbetu jazyka a 2 na rtech. U 18 pacientů se vytvořily orální léze. V této studii byla nejvýraznějším činitelem rtuť. Na prvním místě se umístila rtuť a amalgám, obojí s 24 %, následované niklem a palladiem s 16 %, kobalt 12 % a zlato 8 %. Pacienti se rozhodli nahradit své amalgámové výplně a zubní kovové náhrady jiným materiálem. Následně u nich došlo k rychlému zlepšení stavu [35].

V dalším výzkumu prováděném na potkanech se ukazují léze v bukalní sliznici způsobené rtutí, což vyvolává vznik syndrom podobný lupu u ústní sliznice. Studie sestávala ze tří úrovní, aby potvrdila pozoruhodný růst MHC II. třídy, infiltraci makrofágů a DC kolem bazální membrány, také místní sekrece IL-4 na počátku léze. A nakonec se zjistilo spojení IgG na povrchu epitelu jazyka ve fázi II a III v LBT (Lupus band test) [43].

Alergická reakce je velmi běžná u zubařů a toxikologů, v odborné literatuře je často popisována do podrobností. Rtuť v různých formách způsobuje složité i jednoduché změny u imunitního systému člověka [15].

5.2. Titanium

Naše tělo může být vystaveno 50 ppm titanu. Tento přechodný kov ve formě oxidu titaničitého se používá v zubním lékařství, a také u implantátů v ortopedii [28, 29, 46-49]. Je doporučen pro použití u zubních náhrad nebo výplní díky jeho biokompatibilitě [29, 46, 48] také se používá v kosmetice, lécích a potravinách [47, 48]. Může způsobovat alergii typu IV a typu I [47].

Titanové ionty se spojí s nativními bílkoviny a tvoří alergen. Tyto ionty způsobí proces elektrochemické koroze [29, 48]. Vzhledem k tomu, že alergeny jsou rozpoznávány Langerhansovými buňkami, je pak tendence působit přecitlivělost typu IV. Částice titanu způsobují aktivaci makrofágů, T lymfocytů, degranulaci žírných buněk a bazofilů, sekreci cytokinů, zejména IL-17 a IL-22 [29, 46-48] a absenci B lymfocytů [46].

Slitiny titanu jsou nejčastěji používané v zubních implantátech [29, 46, 48]. Když se nacházejí v zubních slitinách nečistoty, mohou tyto látky být příčinou vzniku alergické reakce [29]. Reakce přecitlivosti na titan má větší afinitu v přítomnosti ostatních slitin kobalt-chromu, amalgámu a zlata. U pacientů s alergií na jiné kovy je větší pravděpodobnost reakce na titan [50]. Po implantaci se rozvíjejí alergické příznaky místní nebo celkové, jako je zarudnutí vně i uvnitř úst, svědění, dermatitida a kožní reakce - ekzém [29, 47, 48, 51]

Alternativami nahrazujícími titan v zubním lékařství jsou polyetheretherketone (PEEK) [46], FUDM (často používané dentální materiály), hydroxyapatit, tantal, zirkonia, akrylové polymery, akrylové monomery [48]. Dalšími náhradami jsou implantáty ze slitin neušlechtilých kovů, jako nikl-chrom, kobalt-chrom, nikl-titan nebo biomateriály [46, 47].

Ačkoliv autor Goutam uvádí ve své studii, že mnohé výzkumy potvrdily, že titan působí jako alergen, jsou prostředky pro diagnózu citlivosti na používaný titan velmi omezené [46].

Výsledky studie *in vivo* 1500 pacientů prokázaly, že 9 z 35 vybraných pacientů s náhradami, tedy 0,6% vykázalo pozitivní reakci. Pro tuto skupinu pacientů proběhl výběr dle klinických indikátorů. 16 pacientů bylo vybráno na základě ACRG (skupiny odpovědí kompatibilní alergie) a 19 bylo vybráno podle PFG (predisponující faktor skupiny). Z pacientů má alergii na titan 50% ze skupiny podle ACRG a 5,3% podle PFG, úhrnem bylo 9 pacientů alergických na titan. Po oznámení výsledků se pacienti rozhodli pro léčbu. Při studii se používali Prick testy a testy epikutánní. V testu se používal poměr složek 0,1% a 5% oxidu titaničitého s vazelínou, dále oxid titaničitý a 5% vazelíny, a také 0,1% a 5% kov titanu ve vodném roztoku. Výsledky

epikutánního testu byly vidět později. U sedmi pacientů se projevila přecitlivělost typu I a IV. 2 pacienti mají jen typ IV. Navíc autor Sicília a jeho kolegové rozebírají, že se v sedmi případech našla multialergie, např. na nikl, chrom a léky. Byl pozorován edém glottis u jednoho pacienta, u dalších dvou exfoliace implantátů. A proto se doporučuje udělat kožní test před zavedením zubní náhrady, aby se zabránilo rozvoji alergie, a dále používat jiné druhy materiálů [48].

Metoda imunostimulačního testu paměťových lymfocytů (Melisa) byla použita při vyšetření přecitlivělosti na titan. V této studii bylo z 56 pacientů pouze 54 pacientů s předběžnou analýzou náplastovým testem (patch testy). Všichni pacienti ukázali negativní odpověď. Vyšetření s Melisa testem na 10 typů kovů, včetně titanu, prokázalo u 35% čili 21 pacientů pozitivní reakci na titan, jinak řečeno přecitlivělost titanu. Po vyměnění náhrad je pozorováno zlepšení stavu [49]. Tím studie dokazuje, že náplastový test na vyšetření přecitlivělosti titanu není přesný.

5.3. Nikl

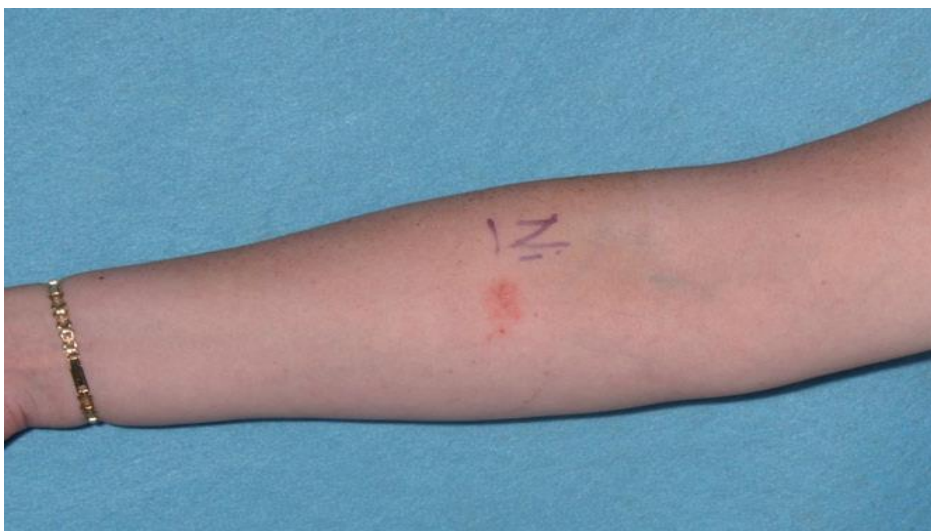
V roce 1930 se začal nikl používat v dentální medicíně, např. ortodontický oblouk ortodontické dráty, kroužky obsahující 8-12% niklu, 17-22% chromu a další kovy [31]. Tento chemický prvek je nejčastější příčinou kožních alergií, přesto je stále obvykle používán v zubním lékařství [32, 34, 52, 53]. Slitina nikl-titan způsobuje změny na sliznici ještě častěji. Element nikl je navíc přítomen v některých potravinách, jako v čokoládě, sójovém mléce a ovesných vločkách [31]. Na stomatologické nástroje se používá korozi vzdorná ocel obsahující nikl, injekční jehly obsahují 8-10% niklu [52, 54].

Autor Saito prokazuje důležitou roli, kterou hraje receptor podobný genu Toll (TLR 4). U pacientů vystavených niklu se aktivuje TLR4, který vyvolává aktivaci buněčného faktoru (NF)- κ B a interferonového regulačního faktoru 3, který indukuje proliferaci prozánětlivých cytokinů. Dochází k nahromadění makrofágů a dendritických buněk, CD4+ a CD8+ T lymfocytů [32, 55]. Nikl má důležitou roli při zranění a aktivaci Langenharsových buněk a buněk dendritických [32]. U kontaktní dermatitidy na nikl se ukazuje vysoká hladina IL-22 [46], lymfocyty reagují silněji proti niklu než titanu, toto je vidět v Melisa testu [49]. Pokud by se přidalo zlato k niklu, mohou vyvolat imunitní vrozenou odpověď [32].

Molekulární mechanismus imunitních buněk a epitelu před expozicí niklu není přesně znám [32]. K přecitlivělosti dochází působením iontů niklu ve slitinách, vytvářejí přecitlivělost typu VI ve dvou fázích. První fází je senzibilizace, kdy ionty niklu proniknou kůží a aktivují epiteliální buňky produkující cytokiny. Tyto aktivují T lymfocyty, antigen prezentující buňky (APC), jako jsou Langerhansovy buňky nebo dendrické buňky. Tyto buňky migrují do lymfatických uzlin k představení haptenu nativním CD4+ T lymfocyty. V případě vystavení stejnému alergenu dochází ke druhé fázi - stimulaci. Příznaky přecitlivělosti byly pozorovány mezi 48-72 hodinami nebo až týdny. Tentokrát alergen může aktivovat přímo specifické lymfocyty, které přechází přímo do krve [31, 32].

Autor Shukoor ve svém zkoumání jmenuje možná rizika použití stomatologických prostředků obsahujících nikl u lidí alergických na tento kov. Mezi těmito riziky je nefropatie, cytotoxicita, genotoxicita, karcinogenita, změny DNA [31]. Nemělo by se zapomínat, že společným působením s dalšími faktory jako např. tabákovým kouřem, alkoholem, ústní vodou, dochází k ještě většímu poškození [31, 52]. Ve studii autora Hevariho a jeho kolegů se ukazuje, že se nezvyšuje genotoxicita [52]. Ale v jiné studii bylo zjištěno, že korozivzdorná ocel může způsobit poškození DNA a být toxická pro fibroblasty [56].

Konkrétní klinický případ ukazuje použití analýzy patch testem se síranem nikelnatým v různých koncentracích. Při 1% a 3% reagoval pacient ihned, při 5% po 20 minut vykazoval erytém a otok. Po 96 hodinách musel být kožní test odstraněn na pacientovu žádost, kdy již nemohl snášet obtíže, a byl pozorován ekzém. To znázorňuje obrázek 5. Test ověřil dva typy přecitlivělosti, typu I a IV dohromady. Řešením tohoto případu bylo, že pacient bude používat rukavice při manipulaci s předměty obsahujícími nikl, dále odstraní ze své stravy potraviny s obsahem niklu [54].



Obrázek 5 Po 96 hodinách je vidět ekzém jako reakce po náplastovém testu s 5% sulfátem nikelnatým [54].

Studie, která byla provedena u 56 lidí, sledovala citlivost na titan náplastovým testem, který ověřoval citlivost na 10 kovů. Výsledkem bylo dokázání přecitlivělosti na nikl u 10 náplastových testů. Jeden z těchto pacientů si nechal odstranit náhrady obsahující nikl (brackets), ale po 6 měsících pokračovaly příznaky alergie, akné a únava. Poté byl vyzkoušen Melisa test, při kterém byla negativní reakce na nikl a další kovy, ale byla zjištěna pozitivní reakce na titan. Pacient změnil materiál náhrad za syntetický materiál bez kovů a pozoroval rychlé zlepšení stavu [49]. Nestačí tedy jen jeden typ testu. Je možné, že pacient byl alergický na oba kovy.

V další studii se použily v ortodontických aparátech obloukové dráty s obsahem nikl-titanu. Aplikovaly se 25 zdravým lidem s cílem zjistit změny v slizničních buňkách. Závěrem bylo, že nebyl častý výskyt velkých změn na sliznici, nedošlo ani k poškození DNA, to znamená, že nikl není genotoxický. Frekvence mikrojádra byla $9,2 \pm 6,37$ u každých 1 000 buněk a potom frekvence byla $6 \pm 5,7$ u každých 1 000 buněk, bylo měřeno mikronukleárním testem [52].

V jiné studii se zkoumala přecitlivělost na kovy pomocí patch testů. Ve 22,8% byla sledována přecitlivělost na nikl. Dalším kovem způsobujícím přecitlivělost zejména u žen bylo paladium [33]. U dalších pacientů s ústním onemocněním se testovaly náplastové testy, kdy byla pozorována pozitivní reakce na nikl u 8 z 24 pacientů s orálním lichen planus, u 2 z 12 pacientů s ze zánětem rtu (cheilitis) [34]. Lichen planus je zánětlivé onemocnění, které postihuje sliznici a místa v okolí ústního otvoru, kdy se vytváří kožní léze nebo vyrážka. V této studii se také porovnává poměr výskytu monosensibilizace niklu a monosensibilizace

paladia, kde u niklu je pětikrát vyšší, navíc je potvrzen reakcemi přecitlivělosti na nikl. Ve stejné práci je poukázáno na existenci pozitivního vztahu mezi ekzémem a monosensibilizací niklu. Dále se zjistilo, že kovová chuť je patologickým potenciálem, spolu s xerostomií může přispět ke zvýšení iontů kovů (niklu, paladia) v organismu [53].

Pacient, který trpěl cheilitidou (zánětem rtu), otoky rtů a trudovitostí, sledoval po změně náhrady zlepšení stavu. Kromě náplastových testů byl proveden test i pomocí XFMS (regentový fluorescenční mikroskop a spektrometr) (Obrázek 7). XFMS potvrdil přítomnost niklu (87.52%), náplastový test intoleranci niklu (83,35%). Metodou imunohistochemie normálních dásňových tkání byla pozorována přítomnost lymfocytů a dendrických buněk. Při přítomnosti slitin jako Ni-Cr, Co-Cr, zlata a titanu v ústní dutině jako součásti zubních náhrad, byla pozorována nažloutlá barva na bukální sliznici v důsledku zvýšení HLA-DR [33].

Vhodným řešením je nahradit nikl-titanové a titan-molibdenové slitiny (TMA), čistý titan, nebo čisté zlato, za nejvhodnější keramický materiál jako polykrystalin, oxid hlinitý, oxid zirkoničitý nebo plastové polymery [31]. Příznaky snižuje užívání léků jako jsou antihistaminika a prednisolon [31, 54].

5.4. Kobalt

Kobalt se nachází ve zdravotnických pomůckách, v jídle, také se používá jako součást zubních korunek nebo zubních oblouků, porcelánových zubních náhrad s podílem taveného kovu, v rentgenové terapii. Předpokládá se, že tento kov není tak vysoce agresivním alergenem, protože nebylo popsáno mnoho případů přecitlivělosti na kobalt.

Kobalt je většinou vdechován jako oxid kobaltnatý a tímto způsobem se dostává do organismu, kde následně poškozují plíce. Dalším způsobem je vstřebání z trávicího ústrojí. Kobalt je rozpustný, rychle se vstřebává do tenkého střeva. Je vylučován močí nebo stolicí. V časných ranních hodinách probíhá vylučování rychleji, později se zpomaluje. Ale určité množství může zůstat přítomné v krvi a částech našeho těla [57, 32]. Přesto organismus nevykazuje vysokou citlivost na tento kov [57].

V testu DLST je pozorována proliferace lymfocytů a syntéza DNA při buněčném dělení [58]. Při imunohistochemických analýzách se nalézají vysoké hladiny histokompatibilních antigenů (HLA-DR) v gingivální tkáni [33]. Pacienti s cheilitidou vykazují pozitivní reakci na náplastové testy v 50 % případů [34]. Na obrázku 6 je možné vidět pacienta s cheilitidou před léčením a po léčbě. Kobalt může inhibovat produkci T a B lymfocytů.

V jednom případě v Číně se vyvinula u 58-letého pacienta palmoplantární pustulóza (PPP) způsobená alergií na kobalt, přesně se jednalo o slitinu kobalt-chromu. Tento pacient měl typické příznaky pro alergii na kov, navíc se mu odlupovala kůže na rukou a nohou. Náplastový test ukázal vysoké procento přecitlivělosti na chlorid kobaltnatý. Nejsou známe žádné předchozí alergie čínského pacienta na jakýkoliv kov. Byla analyzována jeho zubní korunka, aby bylo zjištěno množství obsaženého kovu. Obsah přítomného kobaltu byl 63,3 %, následován chromem s obsahem 30 %. Náplastový test ukázal pouze pozitivní reakci na kobalt, k ověření byl použit DLST test a zjistila se silná reakce na chlorid kobaltnatý. Po odstranění korunky vykazoval pacient celkové zlepšení stavu a následně úplné uzdravení [58]. Další studie prokázala silnou reakci HLA-DR na slitiny chrom-kobaltu. Reakci můžeme pozorovat jak náplastovým testem tak i na XFMS. Pozitivní reakce byla pozorována v 73,96 % na kobalt. Původní korunka s kobaltem byla nahrazena keramickou [33].

Alternativou je odstranění kovu nebo změna původce PPP [58]. Všechny kovové náhrady, které generují alergie je nutno vyměnit za jiný materiál nebo je odstranit [33].



Obrázek 6 Pacient s cheilitidou, stav sliznic a tkání před léčbou, s náhradou obsahující kov a stav po léčbě a výměně náhrady za keramický můstek [33].

5.5. Zlato

Jak autor Alhgren uvádí, dřívější studie zjistily blízkou souvislost mezi alergií na zlato a využíváním zlata v amalgámových výplních nebo náhradách u pacientů s dermatitidou [53, 59]. Získat pozitivní odpověď na tento prvek trvá přibližně 7 dní [35, 59].

Studie ukazuje, že používání zlata v zubním lékařství a akumulace kovů jako nikl, měď či rtuť, může generovat vrozenou odpověď keratinocytů. Tyto keratinocyty obsahují TLR3, které mohou dráždit sliznice nebo kůži [32, 60]. Tyto kovy mohou vyvolat místní podráždění, svědění, zánět i vývoj adaptivní imunity. Ionizované zlato se může chovat podobně jako virové dsRNA produkující TLR3 [60]. Není klinicky prokázáno, že hladina zlata v ústní sliznici souvisí s koncentrací zlata v krvi [59].

V Koreji nikdy předtím nebyly hlášeny případy alergické kontaktní dermatitidy vyvolané kovy u pacientů s onemocněními ústní dutiny. Tento výzkum zahrnoval účast 44 pacientů, kteří trpí na ústní léze, přestože nemají žádný zaznamenaný případ atopické alergie na kovy v lékařské dokumentaci, především je myšleno zlato a nikl. Nejčastější onemocnění těchto pacientů je orální lichen planus v 54,5%, následován cheilitidou v 27,3%. Z těchto 44 pacientů 70,5% vykazovalo pozitivní reakci na nějaký kov, 25% pozitivních reakcí představovalo reakci na thiosíran zlatitý sodný (gold sodium thiosulfate), také na síran nikelnatý (nickel sulfate) se stejným podílem a 15,9% na kobalt [34].

Studie se pokusila dokázat rozdíl mezi lézemi dutiny ústní, což se ale nepodařilo prokázat. Pouze bylo zjištěno, že 25% z 44 kontrolovaných pacientů onemocnělo kontaktní alergií na zlato. Ve výzkumu byly použity náplast'ové testy. Tyto léze byly způsobeny zlatem obsaženým na povrchu náhrad, v celokovových korunkách z čistého zlata. Velký rozdíl mezi pacienty s lézí a kontrolní skupinou nebyl zaznamenan, to mohlo být z důvodu, že pacienti z kontrolní skupiny byli kuřáci a mohlo to ovlivnit výsledky [59].

5.6. Platinová skupina

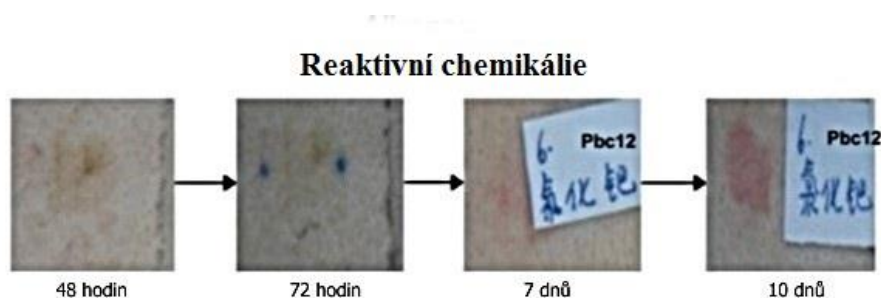
Platinová skupina (platina, palladium, rhodium a iridium) je známa tím, že vyvolává hypersensitivitu typu IV v dýchacím systému a většinou i dermatologického typu I. Tyto prvky se vyskytují ve šperkařském průmyslu, v přístrojích, v nástrojích zubních lékařů, v zubních korunkách a zubních můstcích [23, 53].

Většina případů přecitlivělostí jsou vyvolány palladiem, mezi onemocnění jím způsobené patří ústní léze, orální lichenoid, stomatitida, gingivitis (zánět dásní), cheilitida, suchost v ústech neboli xerostomie. Na obrázku č. 7 lze sledovat postupující přecitlivělost jako výsledek

pozitivní reakce na patch test. Palladium je nestabilní kov, který se může snadno rozpouštět v ústní dutině a její sliznici [34], indukuje proliferaci lymfocytů produkcí cytokinů (IL-5 a IL-3) [53].

Náplast'ové testy prokázaly pozitivní reakce na zlato (thiosíran zlatitý sodný), hexahdrát síranu sodného, chlorid palladnatý u pacientů s ústními lézemi. Na palladium byly 3 pozitivní reakce z testovaných 44 pacientů [34]. Proběhla studie v Chile s účastí 23 pacientů, kteří již měli kontaktní dermatitidu způsobenou kovy, měli zubní výplně, ale netrpěli žádným druhem ústní léze [23]. To potvrzuje, že není nutné, aby se u lidí s hypersenzitivitou typu IV objevovaly ústní léze. Ale další studie provedená zde v Evropě dokazuje, že většina kovů vyvolává nějaký druh ústní léze [53].

V další studii s náplast'ovým testem provedeným dle evropských norem a doplněným zubním screeningem se prováděly testy na amalgam, indium, iridium, mentol, kyselinu sorbovou a platinu. Tato studie probíhala v České republice a bylo zjištěno, že palladium zapříčinilo přecitlivělost u 16% z 25 pacientů s lichenoidními lézemi, kdy se tato přecitlivělost umístila na 4. místě nejčastějších výskytů [35]. Obrázek 7 ukazuje použití náplast'ového testu s pozitivní reakcí na kov palladium.



Obrázek 7 Náplast'ový test - vývoj alergických příznaků u pacientů s pozitivní reakcí na kov palladium po 48 hod., 72 hod., 7 a 10 dnech [33].

Studie konající se v Chile ke zjištění vlivu přecitlivělosti typu I (atopie) na přecitlivělosti IV k dentálním materiálům, byla provedena u 40 atopických a 40 neatopických pacientů. Dospěli k závěru, že neexistuje významná souvislost. Frekvence citlivosti mezi atopickými a neatopickými pacienty neprokázaly velký rozdíl - 67,5% vs 55%. Avšak v 21,25% byla pozitivní reakce na chlorid palladnatý z celkového počtu pacientů (80 pacientů), kterým byl prováděn patch test obsahující 20 druhů alergenů. Navíc k negativní kontrole obsahoval

vazelínu podle doporučení Mezinárodní pracovní skupiny pro výzkum kontaktní dermatitidy (ICDRG) a evropské pracovní skupiny pro ekologii a kontaktní dermatitidu (EECDRG) [23].

Výzkum probíhající v několika evropských zemích, prováděné u celkem 906 pacientů, zjistilo, že 24,3% je pozitivní na palladium a 25,2% na nikl. Studie proběhla konkrétně k analýze dvou kovů použitím následujících látek - 3% Na_2PdCl_4 a $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, podle rady ICDRG. Navíc byl pozorován u 9,3% jedinečný vztah mezi zubní korunkou a monosensibilizací na palladium. Také se ukazují v 10,2% ústní projevy. K ústním lézím, které se vztahují k niklu a palladiu, patří xerostomie a kovová chuť. Podle tohoto výzkumu lze říci, že akumulace kovových iontů je příčinou xerostomie. Přecitlivělost na palladium je častější u pacientů s citlivou pokožkou a reaktivní na kovy, také u pacientů s ústním onemocněním a ekzémem [53].

5.7. Zinek

Zinek je makronutrient nezbytný pro náš organismus, denní doporučené množství je 0,5-1 mg/kg na den pro děti a pro dospělé 15-30 mg/kg na den. Tento prvek se používá k léčbě v dermatologii v jeho různých sloučeninách: síran zinečnatý, octan zinečnatý, oxid zinečnatý, pyrrithion zinku, kalamín (zinková masť), také jako součást šamponu proti lupům. Používá se k léčbě acrodermatitis enteropathica, což je vzácné kožní onemocnění spojené s nedostatkem zinku (Danboltův-Clossův syndrom) [61] a také k léčbě orálního lichenu planus [62]. Tento prvek je vylučován stolicí a v menším množství močí a potem [61].

Zinek moduluje funkci makrofágů, neutrofilů a činnosti fagocytů a zánětlivých cytokinů. Pro své protizánětlivé vlastnosti je využíván k léčbě dermatózy, buď orální nebo parenterální cestou. Autor Gupta doporučuje, aby při použití byly dodrženy denní doporučené dávky pro děti i dospělé [61].

Zvláštní případ pacienta z Japonska dokazuje, že palmoplantární pustulóza (PPP) je chronické onemocnění způsobené přecitlivělostí na nikl [63] a také přecitlivělostí kobaltu [33]. Tento pacient má dentální výplně s obsahem různých druhů kovů jako je zlato, indium, stříbro, palladium, měď, cín a zinek. Byl proveden standardní patch test s chloridem zinečnatým a ověření DLST (síran zinečnatý indexem stimulace 1880%). Oba výsledky byly pozitivní na přítomnost zinku. Pro zlepšení stavu pacienta byly vyměněny zubní výplně. V rámci další

léčby mu nebyly předepsány žádné léky a nebyla doporučena další léčba. Po 4 týdnech se pacient cítil lépe [63]

Další výzkum zkoumal způsoby, jak léčit orální lichen planus, což jsou změny postihující bazální membrány, vysvětlující se apoptózou keratinocytů, která vzniká působením CD8+ T lymfocytů, s pomocí ústní vody obsahující zinek a fluocinolon (fluocinolon-acetonid). Srovnával experimentální skupinu, která používala ústní vodu se zinkem se skupinou používající ústní vodu bez zinku. Obě skupiny velice intenzivně zareagovaly zlepšením a zmenšením lézí. Ústní voda s obsahem 0,2% zinku a mastí fluocinolon je účinnější. Tato studie sledovala 20 pacientů, deset pacientů po dobu dvou měsíců třikrát denně používalo 10 ml ústní vody s 0,2% zinku a mastí fluocinolonem, druhá polovina užívala dvakrát denně po dobu 2 měsíců placebo s mastí [62].

U případu vyskytujícího se zde v Čechách v roce 2009 měl pacient příznaky mozkové mlhy (brain fog). Byla mu provedena toxikologická analýza, Melisa test, sérologický test k určení nějakého mikroorganismu. Byla zjištěna přítomnost chlamydií. Podstoupil léčbu, ale ta nebyla účinná. V lékařské dokumentaci je zaznamenáno ošetření s amalgámovými výplněmi v roce 2004 a 2007. V roce 2010 pacient podstoupil léčbu s dimerkaptojantarovou kyselinou, došlo ke zlepšení stavu, ale nevyléčil se úplně. Amalgámové výplně byly nahrazeny kompozitními a keramickými výplněmi. Byl proveden opět test séropozitivity na chlamydie pneumonae, tentokrát byl výsledek negativní, což dokazovalo nepřítomnost protilátek, které předtím byly zjištěny. Po provedení nového Melisa testu byla nalezena reakce na hliník. Po odstranění zubní výplně zmizely všechny příznaky a bolesti, které trápily pacienta po dlouhou dobu [30].

6. VYŠETŘOVACÍ METODY U REAKCÍ Z PŘECITLIVĚLOSTI NA KOVY

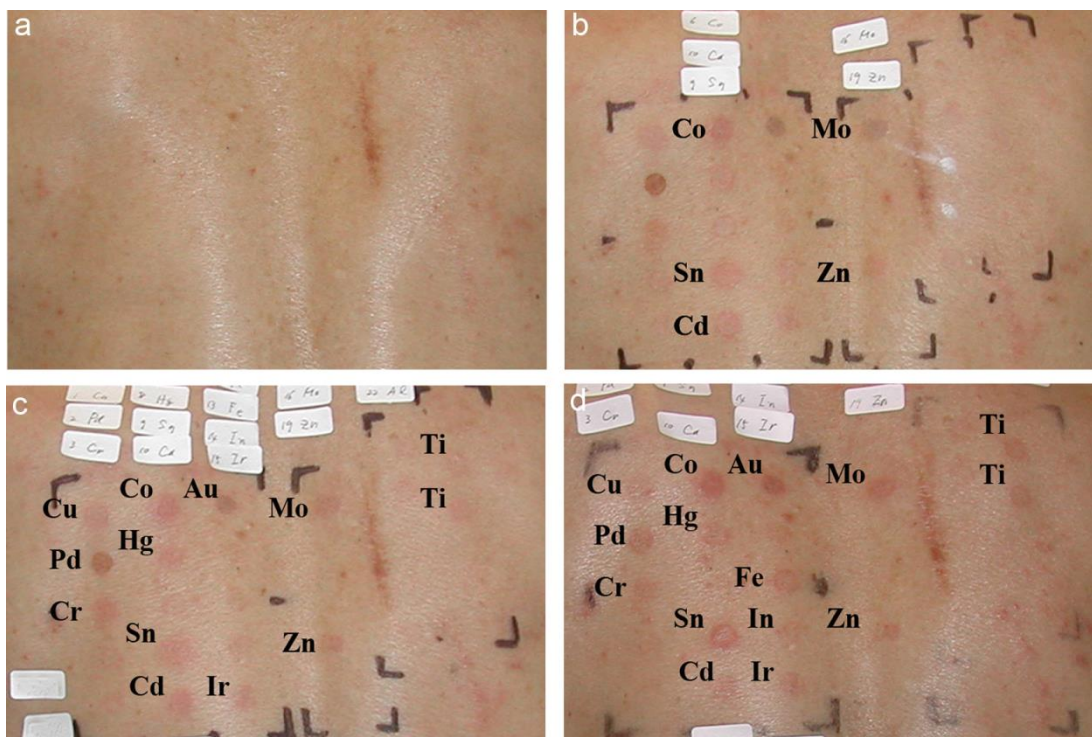
6.1. Kožní testy a epikutánní testy

Mezi epikutánní test patří náplastový test (patch test), což je běžnější metoda k určení antigenu, [23, 53, 58], tedy určení hypersenzitivity typu IV [33, 46]. Je nejvíce rozšířen v rozvinutých a rozvojových zemích jako Chile, státy Evropy, Čína, Japonsko, Írán. Test je prováděn podle pravidel EECDRG [23, 53, 58]. Náplastový test je využíván pouze k analýze citlivosti na kůži [46, 47] a k prokázání, jestli je vyvolávána senzibilizace T lymfocytů [48] (Obrázek 8). K větší efektivitě testu pro určení diagnózy by měl být pacient vyšetřen za použití náplastového testu, zubního vyšetření a sérií dentálního screeningu [34, 35].

Existují různé druhy sloučenin, které označují přecitlivělost na určitý kov. Pro analýzu titanu pomocí oxidu titaničitého používají někteří autoři 0,1% sulfát titaničitý (O_8S_2Ti) nebo 0,1% chlorid titaničitý ($TiCl_4$) [46]. Výzkum ke stanovení přecitlivělosti na palladium byl veden pomocí dvou chemických sloučenin, chloridem palladnatým ($PdCl_2$) a tetrachloropalladnanem sodným ($NaPdCl_4$). Ve výsledku je mezi těmito dvěma sloučeninami znatelný rozdíl, kdy $PdCl_2$ je dvakrát citlivější, a 87% těchto pacientů vykazuje pozitivní reakci na nikl [53]. Hodnocení citlivosti kůže je nejevidentnější u niklu a chromu, pro titan je potřeba zvýšené množství sloučeniny [46].

Epikutánní testy bývají umístěny na předloktí, výsledky jsou čteny po 24, 48, 72 hodinách k určení přecitlivělosti typu IV. Test pomocí 0,1% oxidu titanu v 5% vazelině se umísťuje na kůži na zádech. Pro kontrolu pozitivní reakce se přidává roztok 0,1% histaminu [47]. Ve studii autora Sicília se používá také tento test, jen bez kontroly pozitivní reakce pomocí histaminu, tedy kontrolní skupina je 100% negativní [48]. V jiné studii autorka Camilla Alhgren používá v epikutánním testu thiosíran zlatitý sodný, a zlato má tendenci reagovat po 7 až 10 dnech [29, 51, 59].

Neexistuje žádný standardní náplastový test pro titan. V jednom výzkumu autor Vijayaraghavan provádí dva typy náplastových testů, v prvním byla celulózová testovací zóna obklopena propylenem, v druhém testu byla testovací zóna oddělena hliníkem. Tyto byly měřeny pomocí atomové absorpční spektrofotometrie (AAS) [47].



Obrázek 8 Výsledky náplastového testu použitého na kůži horní části zad pacienta (a) stav kůže pacienta před aplikací náplastového testu, (b) výsledky testu po 48 hodinách, lze pozorovat přecitlivělost na kovy Co, Mo, Sn, Zn, Cd (c) výsledky testu po 72 hodinách, výraznější přecitlivlost na kovy Co, Mo, Sn, Zn, Cd, objevení se přecitlivělosti na další kovy (d) stav kůže pacienta po vyhodnocení náplastového testu trvajícím 1 týden. Byla pozorována přecitlivělost typu IV [51].

Tento typ testu by mohl odhalit přecitlivělost na kov (titan a jiné kovy). Jediným problémem je, že postrádá specifitu na proliferaci lymfocytů [46, 47]. Přesně prokáže reaktivitu paměťových buněk imunitního systému na určitý kov [37].

Dalším využívaným testem je kožní neboli prick test. U prick testu se na kůži aplikují kapky standardizovaných extraktů antigenů a následně je po několika minutách narušena povrchová vrstva kůže, která způsobí průnik alergenu do místa reakce. U tohoto testu se za pozitivní považuje puchýřek o velikosti 2-3 mm v průměru [64].

6.2. Vyšetření metodou ELISA

Metoda ELISA je druhem enzymimunoanalýzy, zakládá se na reakci antigen – protilátka, tvorbě imunokomplexů. Při porovnání testů *in vitro* (stanovení specifických protilátek IgE) a *in vivo* (kožní testy), mají právě testy *in vivo* vyšší senzitivitu a jsou méně finančně náročné. Výsledek je znám do 20 minut. Pro některé pacienty ovšem představují riziko vzniku

nepříjemných nežádoucích reakcí nebo anafylaxe. Také musí pacient před tímto testováním vysadit léky. Testy *in vitro* jsou bezpečnější, více specifické ale zároveň méně citlivé. Také jsou finančně náročnější, na druhou stranu nemají žádné kontraindikace a nevyžadují žádnou přípravu. Preferovány jsou především u malých dětí a pacientů s atopickým ekzémem. Tyto metody z různých důvodů nedostačují, proto je snaha hledat testy *in vitro*, k teré by co nejlépe odrážely děje *in vivo*. Takovými laboratorními metodami je využití projevů aktivace klíčových buněk alergické reakce, kterými jsou bazofily, mastocyty a popřípadě eosinofily [64].

6.3. Screeningový test léky stimulovaných lymfocytů

Další druh testu použitého jako důkaz je screeningový test léky stimulovaných lymfocytů (DLSTs) s mírou stimulace 1000 (normální < 200). DLST je metodou zkoumající *in vitro* proliferaci lymfocytů v reakci na rozpustný antigen a syntézu buněčného dělení. Citlivost testu není 100,% stabilní, ale byl užitečný pro studii kobaltu [58, 63].

6.4. Vyšetření metodou imunostimulačního testu paměťových lymfocytů

Metoda imunostimulačního testu paměťových lymfocytů (Melisa) dovoluje určit diagnózu a mohla by také sloužit jako součást léčby zubními náhradami [47]. Jedná se o modifikovaný test blastické transformace lymfocytů pro kovové antigeny v iontové podobě [65].

Principem jsou mitogeny schopné aktivovat lymfocyty, kdy se mitotická aktivita zjistí zabudováním thymidinu značeného radioaktivním vodíkem. Tento test může být mnohem přesnější než náplastové testy [37]. Analýza *in vitro* se používá k určení místních a komplexních účinků. Metoda Melisa je nejlepší k určení druhu alergenu [29, 49].

Prvním krokem je odběr krve pacienta a izolace lymfocytů z krevního vzorku. Zkoumají se lymfocyty vůči souboru podezřelých alergenů na základě lékařské a zubní historie pacientů. Provádí se inkubace 5 dnů. Dále se vzorek vyhodnocuje dvěma odlišnými metodami: absorpcí radioisotopů rozdělením lymfocytů a vyhodnocováním pomocí mikroskopu. Výsledky testu ukazují sílu reakce pomocí stimulačního indexu. Pokud je index více než 3, znamená to pozitivní reakci na určitý alergen [66].

V jedné studii ukázaly náplast'ové testy negativní reakci na kov titan, a zároveň prokázaly pozitivní reakci na nikl, ale příznaky alergie pokračovaly i po odstranění niklu. Tentokrát se použila k vyšetření metoda Melisa, která potvrdila přecitlivělost na titan [49].

6.5. Testování lymfocytární transformace

Testování transformace lymfocytů (LTT) se používá k určení dermatologické (kožní) a nekožní alergie, a je druhem testování *in vitro* [47, 49] Na jejím principu je založená také metoda Melisa testu [29]. Tento test může vykazovat falešně pozitivní výsledky [46]. Měří se metodou pulsem označeným radioaktivním thymidinem, který je měřen scintilačním kapalinovým spektrofotometrem. Sleduje se proliferace lymfocytů po kontaktu s alergenem [49], kromě proliferace lze také vyhodnotit rozpoznání a odpověď na antigeny [47]. Tato metoda se používá ke zjišťování hypersensitivity na titan [49].

6.6. Průtoková cytometrie

Novou diagnostickou metodou je průtoková cytometrie, která je založena na krevním testu ukazujícím aktivaci lymfocytů kovy a měření různých mediátorů. Je-li pacient alergický na titan, pozoruje se zvýšená hladina T lymfocytů a makrofágů. [46]. Principem stanovení je diferenciací subpopulací lymfocytů během průchodu laserovým paprskem.

Ve studii vedené v Číně se k analýze používá spektrofotometr rentgenového fluorescenčního mikroskopu (XFMS), a detekují se kovové části od ^{11}Na do ^{92}U [33].

7. ZÁVĚR

V první části této práce jsou shrnuta základní fakta o imunologické bariéře - sliznici, která je tvořena humorálním systémem a buněčnými mechanismy. Další kapitola popisuje nespecifickou imunitní reakci, kterou dále následují procesy specifické imunitní reakce. O takových procesech mluvíme jako o zánětlivých reakcích. Rešerše je zaměřena především na čtvrtý typ imunopatologické reakce probíhající právě na sliznicích. Neantigenní cizorodý materiál a chemikálie mohou způsobovat reakci přecitlivělosti, kontaktní přecitlivělost neboli dermatitidu.

V druhé části této práce jsou zmíněny kovy, které mohou být příčinou imunitních reakcí v ústech, jako je např. rtuť, titan, nikl, kobalt a další. Zubní náhrady jsou nejobvyklejším materiálem, který se dostává do styku se sliznicí v ústech. Nejškodlivější kov z uvedených je nikl, který nejčastěji způsobuje přecitlivělost. Je prokazatelné, že se imunopatologický mechanismus uplatňuje v dlouhodobém kontaktu neantigenních cizích těles se sliznicí dutiny ústní a tento kontakt může vést k přecitlivělosti. Jako prevence se doporučuje před použitím zubní náhrady nechat se vyšetřit metodami na přecitlivělosti na kovy. Nejpoužívanějším je náplastový test nebo také vyšetření metodou imunostimulačního testu paměťových lymfocytů - Melisa.

Součástí řešení je odstranění dané kovové zubní náhrady, její vyměnění za jinou z jiného kovu, na který již pacient není přecitlivělý. Dále je vhodné pacienta pozorovat, zda došlo k odvrácení reexpoziční kovu. Vhodným řešením by bylo zabývat se více vztahem chemických vlastností kovů k živému organismu. A následné přizpůsobení léčby a vývoj nových metod pro diagnostiku [32].

8. SEZNAM LITERATURY

- [1] BÜYÜKÖZTÜRK, S., GELINCIK, A., aj. Oral nickel exposure may induce Type I hypersensitivity reaction in nickel-sensitized subjects. *International Immunopharmacology*, **26**(1), 2015, p. 92 - 96.
- [2] MILLER, C.S., ASHFORD, N.A. Multiple chemical intolerance and indoor air quality. *Indoor Air Quality Handbook*, Chapter 27 (2000).
- [3] DYLEVSKÝ, I. *Funkční anatomie*, Praha : GRADA, 2009. 307 – 318 s. ISBN 978-80-247-3240-4.
- [4] KIYONO, H., AZEGAMI, T. The mucosal immune system: From dentistry to vaccine development. *Proceedings of the Japan Academy Series B, Physical and Biological Sciences*, **91**(8), 2015, p. 423 - 439.
- [5] HOŘEJŠÍ, V., BARTŮŇKOVÁ, J. *Základy imunologie*, Praha : TRITON s.r.o. 2009. 23 – 50, 137 – 151, 169 – 177, 208 – 217 s. ISBN 80-7254-686-4
- [6] MESTECKÝ, J., BIENENSTOCK, J., aj. *Mucosal Immunology*, Burlington : Academic Press, 2005. 335 – 368 p. ISBN 9780124915435.
- [7] AZEGAMI, T., YUKI, Y., aj. Challenges in mucosal vaccines for the control of infectious diseases. *International Immunology*, **26**, 2014, p. 517 – 528.
- [8] JANEWAY, CA. JR., TRAVERS, P., aj. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*, New York : Garland Science, 2001. ISBN-10: 0-8153-3642-X.
- [9] KREJSEK, J., KOPECKÝ, O. *Klinická imunologie*, Hradec Králové : NUCLEUS HK, 2004. 271 – 317 s. ISBN 80-86225-50-X.
- [10] PATHAK, S. *Immunology: Essential and Fundamental*, United Kingdom : Capital Publishing Company, 2012. 32 – 48, 240 – 249 p. ISBN 978 1 848290 33 4.
- [11] SCHROEDER, H. Structure and Function of Immunoglobulins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **125**(202), 2010, p. 41– 52.
- [12] ARNOLD, JN., WORMALD, MR., aj. The impact of glycosylation on the biological function and structure of human immunoglobulins. *Annual Review of Immunology*, **25**, 2007, p. 21 – 50.
- [13] LEWIS, M., PLEASS, R., aj. Structural Requirements for the Interaction of Human IgA with the Human Polymeric Ig Receptor. *The Journal of Immunology*, **175**(10), 2005, p. 6694 - 6701.

- [14] SUN, H., CHEN, Y., aj. Salivary Secretory Immunoglobulin (SIgA) and Lysozyme in Malignant Tumor Patients. *BioMed Research International*, 2016, 2016, p.1- 6.
- [15] VAS, J., MONESTIER, M. Immunology of Mercury. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Volume **1143**, 2008, p. 240 – 267
- [16] NOCHI, T., YUKI, Y., aj. A novel M cell–specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses. *The Journal of Experimental Medicine*, **204**(12), 2007, p. 2789 - 2796.
- [17] AZEGAMI, T., YUKI, Y., aj. Challenges in mucosal vaccines for the control of infectious diseases. *International Immunology*, **26**, 2014, p. 517 – 528.
- [18] BRENCHLEY, J. M., BOSSELUT, R. CD4 and CD8 Molecules: Molecular Biology, Expression, and Function, *Reference Module in Biomedical Sciences*, Elsevier, 2014. ISBN 9780128012383.
- [19] MESTECKY, J., BIENENSTOCK, J., aj. *Mucosal Immunology*, Burlington : Academic Press, 2005. 703 – 715 p. ISBN 9780124915435.
- [20] FUCHS, A., COLONNA, M. Natural killer (NK) and NK-like cells at mucosal epithelia: Mediators of anti-microbial defense and maintenance of tissue integrity. *European Journal of Microbiology & Immunology*, **1**(4), 2011, p. 257 – 266.
- [21] TORRES, L. M., MARTINEZ RUIZ, A. Zanět a anestezie, je něco nového?, Inflamación y anestesia ¿Hay algo nuevo? . *Revista Española se Anestesiología y Reanimación*, 2017, p. 4
- [22] KUMAR, V., ABBAS, A. K., aj. *Robbins Basic Pathology*. Elsevier Health Sciences, 2013. 29 – 64 p. ISBN 9780323286046.
- [23] ROJAS-ALCAYAGA, G.; CARRASCO-LABRA, A. et al. Determination of susceptibility to sensitization to dental materials in atopic and non-atopic patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2012.17 (2), p. e320-4.
- [24] SAMET, J., SPENGLER, J. D., aj. *Indoor Air Quality handbook*. New York: McGraw-Hill, Inc., 2001. 27.2 - 27.4 p. ISBN: 9780074455494.
- [25] CUEVAS-CASTILLEJOS, H., CUEVAS-CASTILLEJOS, J. E. Allergy and hypersensitivity: basic concepts for the pediatrician. *Revista Mexicana de Pediatría*, **79**(4), 2012, p. 192 - 200.
- [26] SALINAS, J. Mecanismos de daño inmunológico. Immune mediated damage. *Revista Médica Clínica Las Condes*, **23**(4), 2012, p. 458 – 463.

- [27] WAYNE, R. T. Hypersensitivity: Immunological. *Encyclopedia of life sciences*, 2001, p. 1 - 9.
- [28] EVRARD, L. Titanium: A New Allergen. *Implant Dentistry - A Rapidly Evolving Practice*, 2011, **23**.
- [29] CHATURVEDI, T. Allergy related to dental implant and its clinical significance. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, **5**, 2013, p. 57 - 61.
- [30] MAŇOUŠEK, J., BÁRTOVÁ, J., aj. Toxoalergické puzzle – klinické projevy toxicity a alergie na kovy. *Interní Medicína*, **15**(3–4), 2013, p. 125 – 129.
- [31] SHUKOOR, K. M., SHAJ, F., aj. Nickel allergies in orthodontic treatment. *International Journal of preventive and clinical Dental Research*. **3**(2), 2016, p. 143 – 146.
- [32] SAITO, M., ARAKAKI, R., aj. Molecular Mechanisms of Nickel Allergy. *International Journal of Molecular Sciences*, **17**(2), 2016, p. 202.
- [33] ZHANG, X., WEI, L. C. et al. Comparative analysis of metal allergens associated with dental alloy prostheses and the expression of HLA-DR in gingival tissue. *Molecular Medicine Reports*. **13**(1), 2016, p. 91 - 98.
- [34] KIM, T. W., KIM, W. I., aj. Patch Testing with Dental Screening Series in Oral Disease. *Annals of Dermatology*, **27**(4), 2015, p. 389 - 393.
- [35] DITRICHOVA, D., KAPRALOVA, S., aj. Oral lichenoid lesions and allergy to dental materials. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czech Republic*, **151**(2), 2007, p. 333 – 339.
- [36] EIGENMANN, P. A., SICHERER S. H., aj. Prevalence of IgE-mediated foodallergy among children with atopickermatitis. *Pediatrics*, **101**(3), 1998.
- [37] PODZIMEK, S., TOMKA, M., aj. Immune markers in oral discomfort patients before and after elimination of oral galvanism. *Neuroendocrinology letters*, **34**(8), 2013, p. 802 – 808.
- [38] PODZIMEK, Š., HÁNA, K., aj. The influence of galvanic currents and voltage on the proliferation activity of lymphocytes and expression of cell surface molecules. *Folia Biologica*, **54**, 2008, p. 146 – 150.
- [39] SEDLÁČKOVÁ, L., SVOBODOVÁ, Z. Možné zdravotní riziko vyplývající používání farmaceutických výrobků s obsahem ethylrtuti, *Chemické Listy*, **109**, 2015, p. 29–33
- [40] CLARKSON, T.W.; VYAS, J.B.; BALLATORI, N. Mechanisms of mercury disposition in the body. *American Journal of Industrial Medicine*, **50**(10), 2007, p. 757 – 764.

- [41] HAVARINASAB, S.; HULTMAN P. Organic mercury compounds and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*, **4**(5), 2005, p. 270–275.
- [42] HAVARINASAB, S., BJÖRN, E., aj. Mercury species in lymphoid and non-lymphoid tissues after exposure to methyl mercury: correlation with autoimmune parameters during and after treatment in susceptible mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **221**(1), 2007, p. 21 – 28.
- [43] SENO, K., OHNO, J., aj. Lupus-like oral mucosal lesions in mercury-induced autoimmune response in Brown Norway rats. *BMC Immunology*, **14**(47), 2013.
- [44] Agency for Toxic Substances & Disease Regis. Toxicological profile for mercury. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, TP- 93/10, 1999, p. 175 – 190.
- [45] MELLO-CARPES, P., BARROS, W., aj. Chronic exposure to low mercury chloride concentration induces object recognition and adverse memories deficits in rats. *International Journal of Developmental Neuroscience. Elsevier*, **31**(7), 2013, p. 468 – 472
- [46] GOUTAM, M., GIRIYAPURA, C., aj. Titanium Allergy: A Literature Review. *Indian Journal of Dermatology*. **59**(6), 2014, p. 630.
- [47] VIJAYARAGHAVAN, V., SABANE A.V., aj. Hypersensitivity to Titanium: A Less Explored Area of Research. *The Journal of the Indian Prosthodontic Society*. **12**(4), 2012, p. 201 - 207.
- [48] SICILIA, A., CUESTA, S., aj. Titanium allergy in dental implant patients: a clinical study on 1500 consecutive patients. *Clinical Oral Implants Research*, **19**(8), 2008, p. 823 – 835.
- [49] MÜLLER, K., VALENTINE-THON, E. Hypersensitivity to titanium: Clinical and laboratory evidence. *Neuro Endocrinology Letters*, **27**, 2006, p. 31 – 5.
- [50] CHATURVEDI, T. An overview of the corrosion aspect of dental implants (titanium and its alloys). *Indian Journal of Dental Research*, **20**, 2009, p. 91- 8
- [51] HOSOKI, M., NISHIGAWA, K., aj. Allergic contact dermatitis caused by titanium screws and dental implants. *Journal of Prosthodontic Research*, **60**(3), 2016, p. 213 – 219.
- [52] HERAVI, F., ABBASZADEGAN, M.R., aj. DNA Damage in Oral Mucosa Cells of Patients with Fixed Orthodontic Appliances. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*. **10**(6), 2013, p. 494 - 500.
- [53] MURIS, J., GOOSENS, A., aj. Sensitization to palladium and nickel in Europe and the relationship with oral disease and dental alloys. *Contact Dermatitis*, **72**, 2015, p. 286 – 296.

- [54] WALSH, M. L., SMITH, V. H., aj. Type 1 and type IV hypersensitivity to nickel. *Australasian Journal of Dermatology*, **51**, 2010, p. 285 – 286.
- [55] ROEDIGER, B., WENINGER, W. How nickel turns on innate immune cells. *Immunology & Cell Biology*, **89**(1), 2011, p. 1 – 2.
- [56] ORTIZ, A. J., FERNÁNDEZ, E., aj. Metallic ions released from stainless steel, nickel-free, and titanium orthodontic alloys: toxicity and DNA damage. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, **140**(3), 2011, p. e115 – e122.
- [57] LEGGETT R.W. The biokinetics of inorganic cobalt in the human body. *Science of the Total Environment*, **389**, 2008, p. 259–269.
- [58] SONG, H., YIN, W., aj. Allergic palmoplantar pustulosis caused by cobalt in cast dental crowns: a case report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 2011, **111**(6), p. e8-e10.
- [59] AHLGREN, C., BRUZE, M., aj. Contact allergy to gold in patients with oral lichen lesions. *Acta Dermato-Venereologica*, **92**(2), 2012, p. 138–143.
- [60] RACHMAWATI, D., BUSKERMOLEN, J. K., aj. Dental metal-induced innate reactivity in keratinocytes. *Toxicology In Vitro*, 2015, **30**(1 Pt B), p. 325–330.
- [61] GUPTA, M., MAHAJAN V.K., aj. Zinc Therapy in Dermatology: A Review. *Dermatology Research and Practice*, 2014.
- [62] MEHDIPOUR, M., TAGHAVI ZENOOUZ, A., aj. Comparison of the Effect of Mouthwashes with and without Zinc and Fluocinolone on the Healing Process of Erosive Oral Lichen Planus. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 2010, **4**(1), p. 25 - 28.
- [63] YANAGI, T., SHIMIZU, T., aj. Zinc dental fillings and palmoplantar pustulosis. *The Lancet*, 2005, **366**(9490), p. 1050.
- [64] BARTŮŇKOVÁ, J., PAULÍK, M. *Vyšetřovací metody v imunologii*. Praha: GRADA, 2005. 53 - 56 p. ISBN 80-247-0691-1.
- [65] PROCHÁZKOVÁ, J., BÁRTOVÁ, J., aj. Možnosti detekce nesnášenlivosti kovů v dentálních materiálech. *Česká stomatologie Zubní lékařství*, 1999, **99**(5), p. 200 – 207.
- [66] MELISA. *MELISA – v češtině* [online]. [cit. 28-06-2017]. Dostupné z: < <http://www.melisa.org/testing/melisa-v-cestine/> >.