

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



Působení kovů v dutině ústní

MUDr. Milan Tomka

2013

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Obor: **Preventivní medicína**

Předseda oborové rady: **Doc. MUDr. Alexander Martin Čelko, CSc.**

Školící pracoviště: **Ústav klinické a experimentální stomatologie**

Školitel: **prof. MUDr. Jarmila Procházková, CSc.**

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Souhrn	2
Summary	3
1 Úvod	4
1.1 <i>Nežádoucí reakce na dentální materiály</i>	4
1.2 <i>Lichenoidní reakce</i>	6
2 Cíle práce	6
3 Vyšetřovaný soubor pacientů a metodika	7
3.1 <i>Pacienti</i>	7
3.2 <i>Vyšetřovací metody</i>	7
3.2.1 <i>Měření galvanických proudů a napětí</i>	7
3.2.2 <i>Epikutánní testy</i>	7
3.2.3 <i>Imunologické vyšetření testem LTT-MELISA®</i>	8
3.2.4 <i>Histologické vyšetření</i>	8
3.3 <i>Statistická analýza dat</i>	9
4 Výsledky	9
5 Diskuse	15
6 Závěry	16
6.1 <i>Doporučení pro praxi</i>	16
7 Použitá literatura	17
Seznam publikací doktoranda	19
Prezentace na kongresech a sympoziích	20

Po mnoho let se předpokládalo, že zubní materiály nemají téměř žádné nežádoucí účinky kromě zcela výjimečných případů alergické reakce. Nežádoucí reakce na dentální materiály jsou považovány za vzácné a ojedinělé. Nízká incidence je dána jejich vysokou korozivzdorností a nízkou toxicitou. Avšak až nástup moderních stomatologických materiálů dokázal plnohodnotně nahradit původní kovové zubní materiály a umožnil tak širší studium této problematiky. Velmi nízká incidence nežádoucích účinků, neumožňuje ošetřujícímu lékaři získat praktické zkušenosti a ve výsledku může vést k podceňování či naopak k přeceňování rizik. Předpokládá se, že dentální materiály nezpůsobují systémové reakce a generalizované projevy se považují za ojedinělé. Nesnášenlivost stomatologických materiálů se projevuje obvykle lokálně. Reakce na přilehlý zubní materiál je považována za jednu z nejčastějších příčin vzniku orální lichenoidní reakce. Obvykle se jedná o reakci na zubní amalgám, méně často na slitiny s obsahem niklu, zlata, chromu a paládia.

Cíl práce

Tato studie si klade za cíl vyhodnotit souvislost mezi vznikem bílé plochy na sliznicích v dutině ústní (lichenoidní léze, leukoplakie atp.) a možným drážděním zubními materiály. Vyhodnotit dlouhodobou úspěšnost léčby dosaženou odstraněním nežádoucích zubních materiálů.

Pacienti a metody

V období 2009 až 2012 bylo vyšetřeno 484 pacientů (79 % žen, 21 % mužů, věk 21–85 let), kteří byli odesláni do Ústavu klinické a experimentální stomatologie 1. LF UK a VFN pro suspektní intoleranci dentálních materiálů. Do studie byla vybrána skupina pacientů s klinickým nálezem bílé plochy v dutině ústní, která byla sledována na našem oddělení po dobu alespoň jednoho roku. Vyšetřovaná skupina 75 pacientů se skládala ze 63 žen (84 %) a 12 mužů (16 %). Průměrný věk byl 57,7 roku. U pacientů bylo provedeno anamnestické vyšetření, klinické vyšetření dutiny ústní, měření galvanických proudů a napětí, epikutánní testy a test LTT-MELISA®. Odstranění odstraněním nežádoucích zubních materiálů bylo provedeno na základě klinického obrazu a uvedených vyšetření. Změny zdravotního stavu byly sledovány objektivně podle pořízené fotodokumentace a subjektivně podle hodnocení pacientů.

Výsledky

Symptom bílé plochy se v sestupném pořadí vyskytoval na sliznicích tváře (89 %), jazyka (63 %), gingivy (25 %) a patra (8 %). Postižení sliznic bylo ve většině případů jednostranné nebo stranově asymetrické (56 %). Přímý kontakt mezi zubními materiály a slizničními lézemi byl zjištěn u 52 (69 %) pacientů. U 33 pacientů se slizniční změny vyskytovaly pouze v místě přímého kontaktu se zubním materiálem a u 19 pacientů přesahovaly kontakt se zubním materiálem. Průměrná doba sledování byla 34 měsíců. Z dalšího hodnocení bylo vyřazeno 9 pacientů.

V sledované skupině pacientů (n=66) bylo provedeno odstranění zubních materiálů ve 47 % úplně a v 26 % alespoň částečně. Neošetřených zůstalo 27 % pacientů. Důvodem nespolečnosti byla finanční náročnost ošetření a nedůvěra v terapii. Ve skupině ošetřených pacientů bylo pozorováno zlepšení v 87,5 % a ani jeden případ zhoršení. Ve skupině neošetřených pacientů bylo pozorováno zlepšení v 16,7 % a 2 případy zhoršení, kdy došlo ke vzniku dlaždicobuněčného karcinomu.

Závěr

Odstranění nežádoucích dentálních materiálů z dutiny ústní vedlo ke zlepšení u téměř 90 % pacientů (p<0,001). Výskyt galvanického článku v dutině ústní byl ve vyšetřované skupině signifikantně častější oproti běžné populaci (p<0,001). U pozorovaných malignit nešlo vyloučit souvislost mezi chronickou iritací netolerovaným zubním materiálem, a proto by měli být předmětem dalších studií.

Klíčová slova

orální lichenoidní reakce, symptom bílé plochy, nesnášenlivost zubních materiálů, intolerance dentálních materiálů, galvanický článek, epikutánní testy, test LTT-MELISA®

Summary

For many years it was assumed that dental materials have almost no side effects except for very rare cases of allergic reactions. Adverse effects of dental materials are considered to be rare and exceptional. Low incidence of these reactions results from their high corrosion resistance and low toxicity.

However, modern dental materials allowed a replacement of former metal dental materials, and thus allow a more detailed investigation of potential harmful effects. Due to the low incidence of adverse effects dental practitioners are not adequately experienced in this area, which results in underestimation or overestimation of potential risks. It is believed that dental materials do not cause systemic reactions and generalized manifestations are considered to be unique. Clinical manifestations of intolerance to dental materials are usually local. Reaction to dental material in direct contact with oral mucosa is considered to be the most common etiological factor of oral lichenoid reactions. It is usually caused by dental amalgam, less often by alloys containing nickel, gold, chromium, and palladium.

Aim

The aim of the study is to assess the relationship between white lesions of the oral mucosa (lichenoid lesions, leukoplakia, etc.) and potential irritation by dental materials. The long-term effect of dental materials replacement was evaluated.

Patients and Methods

In the period of 2009–2012, 484 patients were examined (out of which 79% were women and 21% were men, aged 21–85 years), who were referred to the Institute of Clinical and Experimental Dentistry, 1st Faculty of Medicine and General University Hospital for a suspected intolerance to dental materials. The study sample was recruited from the patients with clinical manifestations of white oral mucosal lesions. The observation period was at least 1 year. The selected sample of 75 patients consisted of 63 women (84%) and 12 men (16%) with a mean age of 57.7 years. Medical history of the patients was recorded and they underwent a clinical examination of the oral cavity, measuring of galvanic cell, patch tests and test LTT-MELISA®. Based on the results of the above investigations, the replacement of dental materials was recommended. Subsequent changes of the health status of the study subjects were recorded objectively using photographic documentation and subjectively by patient interviews.

Results

White oral mucosal lesions were observed, in descending order of frequency, on the cheeks (89%), tongue (63%), gingiva (25%) and palate (8%). Mucosal lesions were in most cases unilateral or asymmetrical and diffuse (56%). Direct contact between the dental materials and mucosal lesions was observed in 52 patients (69%). In 33 patients the mucosal lesions were strictly restricted to the direct contact with the dental material and in 19 patients the lesions extended beyond this area. The mean follow-up period was 34 months. Nine patients were excluded from the follow-up.

The group of 66 patients underwent replacement of dental materials, which were changed totally or partially in 47% or 26% of patients respectively. The remaining 27% patients were not treated due to the inaccessibility of financially demanding treatment or no-confidence in proposed therapy. In the treated group, clinical improvement of oral symptoms was observed in 87.5% and no worsening was observed. In the untreated group, clinical improvement was observed in 16.7% and in two patients worsened clinical symptoms, namely development of the squamous cell carcinoma at the affected oral area were observed.

Conclusion

The replacement of the dental materials led to clinical improvements in almost 90% of the patients ($p < 0.001$). The occurrence of galvanic cells in the oral cavity of the study subjects was significantly higher compared to the general population ($p < 0.001$). The relationship between observed malignancies and irritation by some dental materials could not be excluded and needs to be confirmed by future clinical trials.

Key words

Oral lichenoid reaction, white lesions of the oral mucosa, dental material's intolerance, galvanic cell, patch tests, LTT-MELISA® test

1 Úvod

Během posledních dvou desetiletí nastal mohutný rozvoj materiálů, používaných v medicínských oborech, který zasáhl i zubní lékařství. Tyto materiály jsou klasifikované jako zdravotnické prostředky a v souladu s platnou legislativou musí před uvedením na trh projít schvalovacím procesem. Ačkoliv koncepce etické léčby se datuje již od časů Hippokrata, je paradoxní, že koncepce testování bezpečnosti a účinnosti nových materiálů před jejich použitím patří mezi relativně nová opatření.

Dodatek o zdravotnických prostředcích (medical devices), vydaný ve Spojených státech amerických v roce 1976, byl pravděpodobně první regulací, která zdůrazňovala potřebu jejich standardizace a testování (Mjør 1992). Zdravotnické materiály byly podle míry rizika, spojené s jejich použitím, rozděleny do I., II. a III. třídy. U materiálů I. třídy se předpokládalo nízké riziko nežádoucích reakcí. Naopak u vysoce rizikových materiálů III. třídy bylo vyžadováno detailní testování, včetně stanovení bezpečnostního rizika.

V Evropské unii bylo obdobné legislativní opatření, týkající se **zdravotnických prostředků**, přijato v roce 1993 (Council Directive 93/42/EEC concerning medical devices). Do české legislativy byly technické požadavky na zdravotnické prostředky a způsob jejich schvalování před uvedením na trh implementovány zákonem č. 123/2000 Sb. a nařízením vlády č. 336/2004 Sb., ve znění pozdějších předpisů. Podobně jako registrační proces u léčivých přípravků, probíhá u zdravotnických prostředků před uvedením na trh tzv. **posouzení shody se základními požadavky**, které jsou přesně definovány v citované směrnici. Splněním základních požadavků se dokládá bezpečnost a účinnost zdravotnického prostředku při použití k určenému účelu.

Ve stomatologii je používána široká škála dentálních materiálů různorodého chemického složení a odlišných fyzikálně-mechanických vlastností. Jsou to například dentální polymerní materiály, zubní cementy, dentální keramika, dentální slitiny a jiné kovové materiály, dentální vosky, otiskovací a rebazovací hmoty, materiály pro řízenou tkáňovou regeneraci, kostní náhrady přírodního i syntetického původu, hemostatické a adstringentní prostředky, leštící a profylaktické pasty, prostředky pro zvýšení adheze snímacích zubních náhrad apod.

Požadavky na chemické složení a fyzikální i mechanické vlastnosti jsou uvedeny ve specifických technických normách ČSN EN ISO, včetně příslušných zkušebních postupů. Kromě požadavků těchto „materiálových“ norem musí dentální materiály splňovat i potřebná kritéria na biokompatibilitu. Společně s normami řady ČSN EN ISO 10993 se hodnocením biologické snášenlivosti zdravotnických prostředků používaných ve stomatologii zabývá technická norma ČSN EN ISO 7405, která obsahuje speciální zkoušky zohledňující požadavky stomatologie.

Určený účel použití a doba, po kterou jsou tyto materiály součástí dutiny ústní, jsou důležitými parametry, které spolurozhodují o výběru zkoušek, zvažovaných při zjišťování jejich zdravotních rizik (alergické reakce, lokální a systémová toxicita, mutagenní účinky atd.). Kontakt s organizmem někdy nepřekračuje několik minut (např. otiskovací materiály), jindy je dlouhodobý (např. výplňové materiály, implantáty).

Hodnocení zdravotních rizik dentálních materiálů nebylo vždy samozřejmostí. Dnes nové zubní materiály procházejí náročným testováním a procesem schvalování (posuzováním shody) s cílem možná zdravotní rizika minimalizovat.

1.1 Nežádoucí reakce na dentální materiály

Dentální materiály patří mezi nejčastěji používané stomatologické zdravotnické prostředky, které jsou inkorporovány do lidského těla. K dispozici je široká škála materiálů rozličných chemických a fyzikálních vlastností, které se liší svým použitím a dobou setrvání v ústní dutině. Doba kontaktu s lidským organizmem může být krátká i dlouhá, od několika minut až po desítky let. Samozřejmostí současného zubního lékařství je používání moderních estetických materiálů i ochranných pracovních pomůcek. Ty představují nové spektrum dosud málo poznanych materiálů, které mimo jiné mohou být také zdrojem potenciálních nežádoucích účinků (Ekstrand a kol. 1998; Kanerva a kol. 1999). Mnohé zubní materiály jsou připravovány z dráždivých či toxických chemických látek. Rovněž ochranné pomůcky mohou být vyrobené z různých materiálů a poskytují tak odlišnou míru mechanicko-chemické ochrany a paradoxně i samy mohou být příčinou nežádoucích reakcí (např. nesnášenlivost latexu) (Valks a kol. 2004).

Dentální materiály jsou klasifikovány jako zdravotnické prostředky a podléhají testování a schvalování před uvedením na trh. Tato testování odhalí pouze běžné nežádoucí účinky, avšak nemonitorují ojedinělé reakce citlivých osob. Werner Geurtsen (2003), editor časopisu The Journal of Dental Research, uvádí, že i

po uvedení na trh je nutné nadále sledovat, zda používané materiály jsou skutečně bezpečné a nezpůsobují lokální nežádoucí příznaky či systémová onemocnění. Vědecky podložená data zvyšují nejen bezpečnost ošetření, ale jsou také důležitá pro vývoj nových biokompatibilních materiálů. Existence takového systému je ve světě spíše výjimečná. Členské státy Evropské unie jsou sice povinné provozovat systém, který zaznamenává podezření na nežádoucí účinky zdravotnických prostředků, avšak tento systém je těžkopádný, časově náročný, bez rychlé zpětné vazby, a proto uživatele dostatečně nemotivuje k aktivní spolupráci. Nejdále v této problematice postoupily státy Norsko (od roku 1992) a Švédsko (od roku 1998) a od roku 2000 i Velká Británie, které používají proaktivní systém monitorování nežádoucích reakcí dentálních materiálů (van Noort a kol. 2004).

Obecně se předpokládá, že zdravotní rizika používaných dentálních materiálů jsou vzácná a ojedinělá. Nízká incidence nežádoucích účinků je dána vysokou korozivzdorností a nízkou toxicitou používaných materiálů. Kallus a Mjør (1991) udávají incidenci nežádoucích reakcí na dentální materiály ve frekvenci jeden případ na 700 ošetření (Kallus a Mjør 1991). V průběhu dotazníkového šetření, trvajících 10 dní, ošetřilo 137 zubních lékařů 13 325 pacientů v 15 820 návštěvách a zaznamenalo 24 nežádoucích účinků. V jednom případě se jednalo o anafylaktickou reakci. Většina nežádoucích reakcí souvisela pouze se dvěma zubními materiály – amalgámovou slitinou a eugenolem.

Hensten-Petersen (1992) rozdělil nežádoucí reakce podle stomatologických oborů a zjistil široký rozptyl incidence v rozmezí 1:100 až 1:2600 (Hensten-Petersen 1992). Variabilita incidencí mezi obory je způsobena používáním různých typů materiálů a případně také jejich rozdílnou aplikací. Nejvyšší incidence nežádoucích účinků 1:100 udává pro obor ortodontie. Až v 85 % případů se jednalo o projevy kontaktní dermatitidy, vyvolané extraorálními tahy, které se v současnosti už téměř nepoužívají. V oboru parodontologie autor udává incidenci 1:300, kdy ani jedna reakce nebyla způsobena kovovými slitinami. V oboru protetické stomatologie zjistil incidenci 1:400 a nežádoucí reakce byly vázány zejména na kovové slitiny s obsahem niklu. Nejnižší incidenci nežádoucích účinků 1:2600 zjistil v oboru pedostomatologie. Obor konzervačního zubního lékařství není uveden. Výpovědní hodnota těchto studií je limitována nejen jejich dotazníkovým uspořádáním, ale také relativně nízkou schopností zubního lékaře rozpoznat a zachytit možné nežádoucí účinky (Kallus a Mjør 1991; Hensten-Petersen 1992).

Nežádoucí účinky dentálních materiálů mohou být způsobeny mechanicko-fyzikálními iritací (např. otlaky pod zubní náhradou), chemicko-toxicou reakcí v důsledku zvýšené expozice (reakce na monomery, koroze materiálů, galvanický článk), alergickou nebo imunotoxickou reakcí a reakcemi na psychickém podkladě. Bergman (1990) a Hensten-Petersen (1991) udávají, že se nejčastěji jedná o projevy lokální iritace nebo o alergické reakce (Bergman 1990; Hensten-Petersen a Jacobsen 1991).

Nesnášenlivost stomatologických materiálů se projevuje obvykle **lokálně**. Projevy jsou **nespecifického** charakteru a jsou doprovázeny nevýrazným chudým či **chybějícím objektivním nálezem**. Garhammer a kol. (2001) uvádějí, že pacienti se suspektní intolerancí dentálních materiálů udávali v 75 % pálení v dutině ústní, v 56 % kovové pachuti, ve 44 % elektrické výboje, v 37 % poruchy chuti, v 31 % krvácení dásní, v 29 % bolesti hlavy, v 24 % puchýře, únavu a v 20 % jiné typy parestézií (Garhammer a kol. 2001). Při klinickém vyšetření ve **42 % případech nebyly přítomny žádné objektivní příznaky**, v 23 % gingivitis, v 16 % anomálie jazyka, v 12 % dyskolorace, v 10 % zarudnutí sliznic a v 6 % lichenoidní reakce. Předpokládá se, že dentální materiály by neměly způsobovat **systémové** reakce a generalizované projevy se považují za ojedinělé (Yontchev 1986; Hensten-Petersen 1992; Isaksson a kol. 2007). V odborné literatuře jsou popisovány generalizované ekzémy, anafylaktický šok, chronická únava. Aktivace imunitního systému u citlivých jedinců může zhoršovat průběh systémových onemocnění, jako jsou např. autoimunitní onemocnění (Hensten-Petersen 1992).

Toxické reakce na dentální materiály se považují za nepravděpodobné vzhledem k empirickým zkušenostem a přísnému testování moderních stomatologických materiálů. Riziko toxické reakce je nejvyšší u přilehlých tkání, kde je nejvyšší koncentrace uvolněných korozních produktů. Uplatnit se může spíše dlouhodobý efekt malých, jinak netoxických dávek. Z imunotoxického hlediska byl prokázán například vliv iontů paládia a rtuti na hladinu glutationu lidských monocytů nebo vliv hydroxyetylmetakrylátu na sekreci TNF-alfa lidských monocytů (Anusavice a Ralph 2003).

Dentální materiály mohou způsobovat i onemocnění z povolání. Zdravotnický personál při přípravě zubních materiálů poměrně často pracuje s dráždivými chemikáliemi či toxickými látkami. V průběhu zpracování zubních materiálů dochází ke zvýšené expozici těmto reaktivním substancím a prachu, obsahujícímu mikročástice. Riziku nemoci z povolání je vystaven celý zdravotnický tým, od zubního lékaře přes zubní asistentky až po zubní techniky (Hamann a kol. 2003; Alanko a kol. 2004; Mikov a kol. 2011). Nedostatečná hygiena práce v zubní laboratoři nebo v ordinaci je spojována s celou řadou závažných lokálních a systémových onemocnění, např. onemocnění respiračního traktu a vznik

pneumoniózy, dermatitidy, poškození centrální nervové soustavy atd. Některé formy pneumoniózy jsou predisponujícím faktorem pro vznik nádorových onemocnění (Sans-Sola a Barcelo 1966; Morgenroth a Kronenberger 1983; Bilski a Polczynska 2005; Cimrin a kol. 2009; Schmalz a Bindslev 2009).

1.2 Lichenoidní reakce

Lichenoidní reakce v dutině ústní (OLR) patří spolu s orálním lichen planus (OLP) mezi nejčastější slizniční onemocnění. Klinický průběh obou těchto onemocnění je velmi podobný. V klinickém obraze mohou být přítomny bílé slizniční léze (retikulární, papulární, plakovité), červené slizniční léze (atrofizující, erozivní, bulózní) a deskvamativní gingivitida (Slezák a Černý 2000; Vokurka a kol. 2011). Pro bělavé změny je typická bělavě síťovitá a anulární kresba, která vystupuje nad okolí, nedá se setřít a je palpačně nebolestivá. U červených forem je sliznice zarudlá, vůči okolí lehce propadlá, se zarudlým okrajem. Eroze jsou na podnět bolestivé, lehce krvácejí a lze často nalézt predisponující faktor (působení léků nebo dentálních materiálů).

Orální lichen planus je onemocnění neznámé etiologie, vyskytující se přibližně u 1–2 % populace, nejčastěji ve věku nad 40 let, s mírnou převahou u žen (Vokurka a kol. 2011). Orální lichenoidní reakce mohou být projevem nesnášenlivosti zubních materiálů, potravin nebo léků. Mohou se také objevit při chronických formách reakce štetu vůči hostiteli. Na jejich projevech se může podílet i dlouhodobý psychický stres a vypětí (Soto Araya a kol. 2004). OLR mohou způsobovat léčiva ze skupiny inhibitorů angiotenzin konvertujícího enzymu (např. Enalapril), betablokatory (např. Propanolol), antidiabetika, antimalarika atd. (Vokurka a kol. 2011). Současný výskyt diabetes mellitus, arteriální hypertenze a OLP se označuje jako Grispánův syndrom.

K diferenciální diagnostice OLP a OLR se používají kritéria WHO, nebo častěji jejich modifikace podle van der Meija a van der Waala (2003) (van der Meij a van der Waal 2003). Diagnostika je založena na kombinaci klinického a histologického obrazu. V klinickém obraze OLP jsou přítomny oboustranné symetrické léze a retikulární kresba. Ostatní formy slizničních lézí (erozivní či bulózní forma apod.) jsou přítomny společně s retikulární kresbou. V histologickém obraze lze v povrchové pojivové tkáni nalézt celulární (převážně lymfocytární) infiltraci, vakuolární degeneraci bazálních buněk a absenci epitelální dysplazie. Jako OLR jsou označovány projevy, které nesplňují všechna klinická a histopatologická kritéria OLP. Dělí se do kategorií podle toho, zda projevy jsou klinicky a histologicky typické anebo kompatibilní s projevy OLP.

Přilehlý zubní materiál patří mezi jednu z nejčastějších příčin vzniku OLR. Obvykle se jedná o reakci na zubní amalgám, méně často na slitiny s obsahem niklu, zlata, chromu a paládia. OLR na nekovové materiály jsou vzácné, byly popsány pouze u starších typů pryskyřičných materiálů (Lind 1988; Blomgren a kol. 1996). Thornhill a kol. (2003) zjistili silnou asociaci mezi slizničními lézemi, amalgámovými výplněmi a pozitivními epikutánními testy (Thornhill a kol. 2003). Issa a kol. (2005) považují za rozhodující topografický vztah mezi slizniční reakcí a amalgámovou výplní a výsledky epikutánních testů nepovažují za diagnosticky relevantní (Issa a kol. 2005). Uvedené studie se shodují v tom, že negativní epikutánní testy nemají výpovědní hodnotu u slizničních lézí, které topograficky odpovídají umístění amalgámových výplní (Skoglund 1994; Ostman a kol. 1996; Issa a kol. 2005). Pozitivní výsledky epikutánních testů však zvyšují pravděpodobnost úspěšné léčby.

2 Cíle práce

Cílem předkládané disertační práce je upřesnit diagnostické a léčebné možnosti u pacientů se symptomem bílé plochy ve vztahu k intoleranci dentálních materiálů:

- Analyzovat vztah mezi typem použitého zubního materiálu a slizničními lézemi
- Analyzovat topografický vztah mezi zubním materiálem a slizničními lézemi
- Stanovit význam galvanického článku v dutině ústní
- Kožními testy *in vivo* a testem LTT-MELISA® *in vitro* stanovit výskyt alergické reakce ve vyšetřované skupině pacientů
- Vyhodnotit úspěšnost léčby dosaženou odstraněním nežádoucích zubních materiálů

3 Vyšetřovaný soubor pacientů a metodika

3.1 Pacienti

V letech 2009 až 2012 bylo vyšetřeno 484 pacientů (79 % žen, 21 % mužů, věk 21–85 let), kteří byli odesláni do Ústavu klinické a experimentální stomatologie 1. LF UK a VFN pro suspektní intoleranci dentálních materiálů. Do studie byla vybrána skupina pacientů s klinickým nálezem bílé plochy v dutině ústní, kteří byli sledováni na našem oddělení po dobu alespoň jednoho roku. Symptom bílé plochy byl přítomen u 80 ze 484 pacientů. U pacientů bylo provedeno anamnestické vyšetření cílené na alergickou anamnézu, klinické vyšetření dutiny ústní, měření galvanických proudů a napětí, epikutánní testy a test LTT-MELISA®. Pacienti byli primárně dispenzarizováni na Parodontologickém oddělení Stomatologické kliniky 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze (1. LF UK a VFN v Praze), kde v rámci běžného vyšetření byl již proveden odběr tkáně pro histologické vyšetření, byly vyloučeny případné lékové interakce a kvasinková infekce.

Odstranění suspektních alergenů bylo provedeno na základě klinického obrazu, vyplývajícího z uvedených vyšetření. Změny zdravotního stavu byly sledovány objektivně podle pořízené fotodokumentace a podle subjektivního hodnocení pacientů. Ze studie bylo vyřazeno 5 pacientů, kteří se nedostavili ke kontrolnímu vyšetření nebo odmítli biotické vyšetření. Vyšetřovaná skupina 75 pacientů se skládala z 63 žen (84 %) a 12 mužů (16 %). Průměrný věk byl 57,7 roku. Nejmladšímu pacientovi bylo 27 let a nejstaršímu 82 let. Nejpočetnější byla věková kategorie 40 a více let s 63 pacienty (84 %).

3.2 Vyšetřovací metody

3.2.1 Měření galvanických proudů a napětí

Proudy a napětí vyskytující se mezi dentálními slitinami a dásní, jazykem, rty nebo tvářovou sliznicí a mezi slitinami navzájem jsme měřili přístrojem Odontologic 2000 (Embitron, ČR). Přístroj je speciální ampérmetr a voltmetr upravený pro možnost reprodukovatelného měření napětí a proudů v dutině ústní. Umožňuje zjistit maximální hodnotu stejnosměrných napětí a proudů, naměřených v dutině ústní. Sondy používané k měření jsou z potravinářské oceli 17 241. Přístroj měří s 5% přesností ± 1 digit. Rozsah měření stejnosměrného napětí je 0 ÷ 1000mV s rozlišením po 1mV, použitý vstupní odpor 1MΩ. Rozsah měření stejnosměrných proudů 1÷50μA s rozlišením po 1 μA, použitý odpor 2,2 KΩ. Za hranici pro zvýšené hodnoty jsme pokládali galvanický proud 5μA a galvanické napětí 150 mV.

3.2.2 Epikutánní testy

Pro průkaz přecitlivělosti na kontaktní alergeny byly provedeny epikutánní testy, které realizoval zkušený dermatolog (Dermatovenerologické oddělení, Fakultní nemocnice v Motole). K testům byla použita Evropská standardní sada (**European baseline series**, Chemotechnique Diagnostics, Sweden), která byla rozšířena s ohledem na anamnézu a použité zubní materiály o další alergeny (**Metal series**, Chemotechnique Diagnostics, Sweden; **Dental Materials**, Trolab, Hermal, Reinbek, Germany). Náplasti s alergeny byly aplikovány na pokožku zad po dobu dvou dnů. Odečet byl prováděn druhý, třetí a čtvrtý den resp. po 48, 72 a 96 hodinách od aplikace. Aplikaci a následné hodnocení prováděl stejný dermatolog. Pacienti byli poučeni o možné pozdní reakci a o její domácí kontrolu. Reakce byly hodnoceny následovně:

Negativní reakce	Žádná viditelná reakce	–
Nejasná reakce	Pouze slabý erytém	?+
Slabě pozitivní reakce	Erytém, infiltrace, ojedinělé papulky	+
Silná pozitivní reakce	Erytém, infiltrace, četné papulky a ojedinělé vesikuly	++
Velmi silná pozitivní reakce	Intenzivní erytém a infiltrace, papuly, splývající vesikuly, popř. mokrání	+++
Iritační reakce	Iritační reakce různého typu, reakce slabně během odečítacích dnů	IR

3.2.3 Imunologické vyšetření testem LTT-MELISA®

Pro účely studie byla metoda LTT-MELISA® použita v modifikaci.

U vyšetřených osob byl proveden odběr 30 ml venózní krve do 6 odběrových zkumavek s heparinem systému Vacuette (Greiner) a 8 ml venózní krve na sérum do zkumavky s gelem systému Vacuette (Greiner). Venózní krev byla bezprostředně po odběru defibrinována a naředěna 1 : 1 upraveným kultivačním médiem (10mM RPMI 1640 s pufrům HEPES - Gibco BRL - a se 4 mg/ml Gentamycinu - Krka, Jugoslavia). Mononukleární buňky byly separovány centrifugací 30 minut při 600 RPM na Ficoll-Paque gradientu (Pharmacia Uppsala) a promyty v médiu RPMI 1640 (Gibco BRL). Monocyty byly odstraněny adhezí v kultivačních lahvičkách (Costar, USA) s 1 ml autologního séra při inkubaci v termostatu 30 minut při 37°C a v 5% atmosféře CO₂. Po inkubaci byly buňky přeneseny do 50 ml zkumavek typu Falcon (Costar, USA) a naředěny 5 ml RPMI 1640 s glutaminem. Buněčná suspenze byla spočítána a naředěna tkáňovým médiem RPMI 1640 s glutaminem a 10 % obsahem autologního séra na pracovní koncentraci 1 x 10⁶ buněk/ml. Buňky byly kultivovány ve 48 jamkových tkáňových deskách (Costar, USA) s připravenými antigeny.

Zásobní roztoky kovů (Stock roztoky - SR) byly připraveny naředěním filtrovanou tkáňovou vodou - TK (UMG Praha) na stanovenou koncentraci a ty pak byly před každým vyšetřením dále naředěny na pracovní roztok. Antigeny kovů se aplikují v množství 100 μl roztoku ve dvou koncentracích pracovního roztoku (Stejskal a kol. 1994).

Pro negativní kontrolu byly využity jamky se 100 μl TK bez antigenu kovů a pro pozitivní kontrolu pak jamky s polyklonálním stimulatorem: mitogenem z *Phytolacca americana* (PWM, Sigma; koncentrace 1:50).

Každá deska měla svůj protokol s přesným označením jamek a rozmístěním antigenů v určené koncentraci. K antigenům byl do každé jamky přidán 1 ml naředěné buněčné suspenze. Inkubace proběhla 5 dní v termostatu v šikmé poloze při 37°C, při 100% vlhkosti a v atmosféře obsahující 5% CO₂.

Po 5 dnech byla buněčná suspenze přenesena na novou desku (Nunc, Dánsko). Do každého vzorku bylo přidáno 30 μl ³H-thymidinu (ÚVVVR, Řež) naředěného v médiu RPMI 1640 (Vincio, BLR) tak, aby 5 ml média obsahovalo 4 MBq ³H-thymidinu. Po 4 hodinách inkubace v termostatu při 37°C, při 100% vlhkosti a v atmosféře obsahující 5% CO₂ byly vzorky sklizeny automatickým buněčným harvestorem (Inotech, Švýcarsko) na filtrační papír Filtermat A (Wallac, Finsko), zataveny s tuhým scintilačním roztokem Meltilex A (Wallac, Finsko) a odečteny v přístroji Microbeta (LKB/Wallac, Finsko). Tato část vyšetření proběhla na izotopovém pracovišti MBÚ AV ČR.

Proliferační reakce po stimulaci lymfocytů kovy byla porovnávána s nestimulovanou reakcí a hodnocena stimulačním indexem (SI), který byl pro kontrolu porovnáván se SI pozitivní kontroly.

$$SI = \frac{\text{stimulovaná kultura}}{\text{průměr nestimulovaných hodnot}} \quad (\text{cpm})$$

SI < 2,0 byl hodnocen jako negativní reakce

SI = 2,0–5,0 byl hodnocen jako pozitivní reakce

SI > 5,0 byl hodnocen jako silně pozitivní reakce

cpm - výsledné hodnoty měření inkorporace ³H-thymidinu ve vzorcích za minutu.

3.2.4 Histologické vyšetření

Histologické vyšetření bylo provedeno z tkáně získané probatorní excizi v lokální anestézii Supracain 4% (Zentiva). Místo odběru bylo zpravidla z klinicky nejpostiženějších míst v dutině ústní. Odebraná tkáň byla uložena do roztoku 10% formolu a odeslána k histologickému vyšetření. Nádobka s materiálem byla označena průvodním listem – jménem pacienta, rokem narození, odesílajícím zařízením a klinickou diagnózou.

Vzorky byly fixované v 10% formolu, dehydratované, zalité do parafinu, nakrájené na 5 mikrometrů silné řezy a obarvené hematoxylin-eosinem. Diagnostika OLR a OLP byla provedena v souladu s kritérii WHO.

V indikovaných případech byla provedena přímá imunofluorescence. Neprolněn po biopsii byla tkáň zmrazena ponořením na 5 minut do petroleteru (-20°C) a následně transportována k analýze v uzavřené termosce se suchým ledem, vzorky byly uchovány za teploty -20°C a následně zpracovány v kryostatu

(-25°C) a označeny králičími polyklonálními protilátkami anti-human C3, anti-human Fibrinogen, anti-human IgM, anti-human IgG, anti-human IgA (DAKO Denmark). Biopsie a histologické zpracování bylo prováděno ve spolupráci s následujícími odděleními 1. LF UK a VFN v Praze: s parodontologií Ústavu klinické a experimentální stomatologie, s Ústavem patologie a s Dermatovenerologickou klinikou.

3.3 Statistická analýza dat

Statistické hodnocení výsledků bylo provedeno pomocí Fisherova přímého exaktního testu. Pro test nezávislosti kvalitativních znaků byl použit chí-kvadrát test dobré shody v kontingenční tabulce. Statistické testy byly prováděny na hladině významnosti $p=0,05$. Technicky byly testy zpracovány pomocí statistických funkcí a analytického doplňku programu Microsoft Office Excel 2007/2010.

4 Výsledky

Na základě klinického obrazu byla stanovena pracovní diagnóza orální lichenoidní reakce ve 46 případech (61 %), orální lichen planus v 10 případech (13 %), deskvamativní gingivitida (na podkladě OLP nebo slizničního pemfigoidu) v 11 případech (15 %), morsicatio buccarum v 5 případech (7 %) a leukoplakie ve 3 případech (4 %). Diagnóza OLR byla současně v koincidenci s Melkersson-Rosenthalovým syndromem v jednom případě a s dlaždicobuněčným karcinomem v druhém případě (**Tabulka 1**). Symptom bílé plochy se vyskytoval nejčastěji na sliznicích tváře (89 %) a v sestupném pořadí také na sliznici jazyka (63 %), gingivy (25 %) a patra (8 %) (**Tabulka 2**). Postižení sliznic bylo ve většině případů jednostranné, případně difúzní a stranově asymetrické (56 %). Téměř v polovině případů (20 %) stranově symetrického postižení sliznic (44 %) nebylo možné vyloučit vliv oboustranně přítomného zubního materiálu (**Tabulka 3**).

Přímý kontakt mezi zubním materiálem a slizniční lézí byl zjištěn u 52 (69 %) pacientů. U 33 pacientů se slizniční změny vyskytovaly pouze v místě přímého kontaktu se zubním materiálem a u 19 pacientů afekce přesahovaly přímý kontakt se zubním materiálem (**Tabulka 4**). Nejčastějším zubním materiálem v přímém kontaktu byl zubní amalgám, následovaný slitinami obecných kovů a drahokovů (**Tabulka 5**).

Histologický náleze ve většině případů byl kompatibilní s OLR (63 %). V sestupném pořadí následoval OLP (24 %), leukoplakie (11 %), benigní slizniční pemfigoid (4 %). Nález orofaciální granulomatózy a dlaždicobuněčného karcinomu byl současně v koincidenci s nálezem OLR (**Tabulka 6**).

Zvýšené hodnoty galvanických proudů a napětí byly naměřeny u 34 ze 75 pacientů (45 %). Hodnoty proudu a napětí se pohybovaly v rozmezí 5 – 50 mikroampér a 150 – 400 milivoltů. V jednom případě byly zjištěny hodnoty proudů mimo měřitelný rozsah (> 50 mikroampér) a byla tak zapsána nejvyšší měřitelná hodnota. Průměrná hodnota proudů a napětí byla 12,6 mikroampéru a 186 milivoltů.

Vyšetření epikutánními testy absolvovalo 57 pacientů (76 %) ze 75. Zbýlých 18 (24 %) osob se nedostavilo k vyšetření, nejčastějším důvodem byla časová náročnost zákroku. Ve vyšetřené skupině ($n=57$) byla zjištěna pozitivní reakce u 31 (54 %), iritační reakce u 2 (4 %) a negativní reakce u 24 (42 %) pacientů.

Vyšetřením testem LTT-MELISA® byla zjištěna reakce na antigeny kovů u 70 (93 %) pacientů, zatímco lymfocyty u 5 (7 %) pacientů na kovy zvýšenou proliferací nereagovaly.

Průměrná doba sledování skupiny pacientů ($n=75$) se symptomem bílé plochy byla 34 měsíců. Nejkratší délka sledování byla 12 měsíců a nejdelší 48 měsíců. Z dalšího hodnocení bylo vyřazeno 9 pacientů: 7 pacientů užívajících systémové glukokortikoidy, 1 pacient s lékovými interakcemi a 1 případ dlaždicobuněčného karcinomu zachyceného při vstupním vyšetření (53letá pacientka – případ popsán na dalších stránkách). Odstranění nežádoucích zubních materiálů bylo provedeno ve 47 % úplně a v 26 % alespoň částečně. Úplně neošetřených zůstalo 27 % pacientů.

Tabulka 1: Předběžná pracovní diagnóza (n=75):

	OLR			OLP	Deskvamativní gingivitida**	Morsicatio buccarum	Leukoplakie
	Počet	1xSCC*	1xOFG*	10	11	5	3
%	58,7%	1,3%	1,3%	13,3%	14,7%	6,7%	4,0%

* Současný náleze s OLR

(OFG – Melkersson-Rosenthalův syndrom; SCC – dlaždicobuněčný karcinom)

** Deskvamativní gingivitida na podkladě OLP, OLR nebo slizničního pemfigoidu

Tabulka 2: Lokalizace slizničních lézí v dutině ústní (n=75):

	Tvář	Jazyk	Gingiva	Patro
Počet	67	47	19	6
%	89,3%	62,7%	25,3%	8,0%

Tabulka 3: Stranová souměrnost postižení sliznic (n=75):

	Oboustranně symetrické		Jednostranné
		Zubní materiál*	
Počet	18	15	42
%	24,0%	20,0%	56,0%

* Oboustranně symetrický také jeden typ zubního materiálu

Tabulka 4: Přímý kontakt mezi slizniční lézí a zubním materiálem (n=75):

	ANO		NE
	Úplný	Částečný*	
Počet	33	19	23
%	44,0%	25,3%	30,7%

* Slizniční léze se nacházely také i mimo přímý kontakt se zubním materiálem

Tabulka 5: Zubní materiály v přímém kontaktu se slizniční lézí (n=52):

Materiál	Zubní amalgám	Obecný kov	Drahokov
Počet	35	12	8
%	67%	23%	15%

Tabulka 6: Histopatologický náleze (n=66):

	OLR			OLP	Leukoplakie	Pemfigoid**
	Počet	1x SCC*	1x OFG*	17	8	3
%	60,0%	1,3%	1,3%	22,7%	10,7%	4,0%

* Současný náleze s OLR

(OFG – Melkersson-Rosenthalův syndrom; * SCC – dlaždicobuněčný karcinom)

** Benigní slizniční pemfigoid

V hodnocené skupině pacientů (n=66) bylo po dobu studie pozorováno (**Tabulka 7**):

- **zlepšení stavu** u 45 pacientů – u 42 případů po odstranění nežádoucích zubních materiálů (27x úplné odstranění a 15x částečné odstranění) (**Obrázek 1**) a 3 případy spontánního zlepšení bez jakéhokoliv ošetření. Poměr ošetřených a neošetřených pacientů byl 93 : 7
- **žádná změna**, obtíže stejné intenzity a charakteru u 19 pacientů – 6 případů po odstranění nežádoucích zubních materiálů (4x úplné odstranění a 2x částečné odstranění) a ve 13 případech bez odstranění nežádoucích zubních materiálů. Poměr ošetřených a neošetřených byl 32 : 68
- **zhoršení zdravotního stavu** bylo pozorováno u 2 pacientů – 2 případy neošetřených pacientů, u kterých došlo ke vzniku dlaždicobuněčného karcinomu. Ve skupině ošetřených pacientů s odstraněním nežádoucích zubních materiálů nebyl pozorován ani jeden případ zhoršení (**Obrázek 2**). Poměr ošetřených a neošetřených byl 0 : 100

Ve skupině ošetřených pacientů (úplně a částečně) bylo pozorováno zlepšení v 87,5 % (42 ze 48). Z toho ve 14 (33 %) případech došlo k úplnému vymizení slizničních lézí. Ve skupině neošetřených pacientů bylo pozorováno zlepšení v 16,7 % (3 z 18). Z toho úplné vyhojení bylo pozorováno ve 2 případech. Četnost zlepšení zdravotního stavu byla ve skupině ošetřených pacientů statisticky velmi významně vyšší než ve skupině pacientů neošetřených (p<0,001) (**Tabulka 7**).

Zlepšení zdravotního stavu ve skupině ošetřených pacientů bylo analyzováno s ohledem na přímý kontakt se zubním materiálem, na symetričnost postižení sliznic a na přítomnost galvanického článku (**Tabulka 8**). Souvislost zlepšení zdravotního stavu a sledovaných ukazatelů nebyla pro symetričnost postižení a přítomnost galvanického článku statisticky významná, přímý kontakt se zubním materiálem se blížil hranici statistické významnosti (p=0,0536).

Přítomnost galvanického článku v sledovaném souboru (34 ze 75 pacientů) a v ošetřené skupině (23 ze 48 pacientů) byla signifikantně častější oproti údajům v běžné populaci podle Snydera (1987) (68 ze 16 929) (Snyder 1987). Zjištěný rozdíl byl statisticky významný (**Tabulka 8**).

V průběhu trvání studie byly zachyceny celkem tři případy dlaždicobuněčného karcinomu (4%), dvakrát na podkladě OLR a jedenkrát na podkladě leukoplakie:

- 1) 73letá pacientka: Malignizace se vyvinula na podkladě dříve diagnostikované leukoplakie jazyka s lehkými dysplastickými změnami. Trvání původního onemocnění bylo 5 let. Pacientka měla v dutině ústní jak amalgamové výplně, tak fixní protetické náhrady z drahokovové slitiny Aurixu L opatřené standardním metakrylátovým plastem. Epikutánními testy byla diagnostikována reakce oddálené přecitlivělosti na **hydrochinon** +. V testu LTT-MELISA® byla zjištěna zvýšená reakce na **paládium** (6.5), **rtuť** (3) a **zlato** (2.4). Rok po vyšetření byl při pravidelné dispenzarizaci na oddělení sliznic zachycen středně diferencovaný invazivní dlaždicobuněčný karcinom. Odstranění nežádoucích dentálních materiálů nebylo provedeno
- 2) 55letá pacientka: Malignizace se realizovala na podkladě OLR. Trvání původního onemocnění bylo 4 roky. Slizniční změny se vyskytovaly pouze v místech přímého kontaktu s amalgamovými výplněmi (**Obrázek 2**). Epikutánními testy zjištěna reakce na thiosíran sodno **zlatý** +++ a kovovou **rtuť** ++. Pomocí testu LTT-MELISA® byly zjištěny nejvyšší hodnoty stimulačního indexu u **zlata** (250) a u chloridu **rtuťnatého** (123.7) (**Tabulka 9**). Pacientce bylo doporučeno odstranit amalgamové výplně. Při kontrolním vyšetření po jednom roce bylo zjištěno, že ošetření nebylo provedeno a pacientka byla pro susp. malignitu v dutině ústní odeslána na specializované pracoviště. Histologicky byl potvrzen invazivní dobře diferencovaný částečně rohovějící dlaždicobuněčný karcinom. V současnosti je pacientka v onkologické remisi onemocnění a další spolupráci se doposud nepodařilo navázat
- 3) 53letá pacientka: Malignizace podobně jako u předchozí pacientky proběhla na podkladě dříve diagnostikované OLR. Původní onemocnění trvalo přibližně 15 let a pacientka se velice nepravidelně dostavovala k dispenzarizaci. Při prvním vyšetření na našem oddělení bylo zjištěno, že slizniční změny se nacházejí v místech přímého kontaktu s amalgamovou výplní. Pacientka byla zároveň odeslána na specializované pracoviště pro podezření na malignitu v dutině ústní. Histologicky byl zjištěn invazivní středně diferencovaný výrazně rohovějící dlaždicobuněčný karcinom. V současnosti je pacientka v onkologické remisi onemocnění a v původním vyšetřování snášenlivosti zubních materiálů se pokračuje

Tabulka 7: Změna zdravotního stavu a odstranění nežádoucích zubních materiálů:

Ošetření	Zlepšení	Stejně nebo Horší	Celkem
Úplně	27 (13 ⁺)	4	31 (47%)
Částečně	15 (1 ⁺)	2	17 (26%)
Neošetřen	3 (2 ⁺)	15	18 (27%)
Glukokortikoidy*	7	-	-
Léky**	1	-	-
SCC***	-	1	-

⁺ Klinicky úplně zhojeno

* Pacienti léčeni systémovými glukokortikoidy

** Případy lékových interakcí

*** Záchyt maligních změn při vstupním vyšetření

Fisherův přímý exaktní test p<0,001

Tabulka 8: Skupina ošetřených pacientů podle kontaktu se zubním materiálem, podle postižení sliznic a podle hodnot galvanických proudů:

Přímý kontakt	Zlepšení	Stejně nebo Horší	Celkem
Úplný	22	3	25 (52%)
Částečný*	10	0	10 (21%)
Bez kontaktu	10	3	13 (27%)
			48 (100%)

* Slizniční léze se nacházejí i mimo přímý kontakt se zub. materiálem

Fisherův přímý exaktní test p=0,0536

Postižení sliznic	Zlepšení	Stejně nebo Horší	Celkem
Oboustranně symetrické	17 (7*)	3	20 (42%)
Jednostranné	25	3	28 (58%)
			48 (100%)

* Oboustranně symetrický byl také zubní materiál

Fisherův přímý exaktní test p=0,3042

Galvanický článek	Zlepšení	Stejně nebo Horší	Celkem
Zvýšené hodnoty	22	1	23 (48%)
Fyziologické hodnoty	20	5	25 (52%)
			48 (100%)

Fisherův přímý exaktní test p=0,099

Galvanický článek	Zvýšené hodnoty	Fyziologické hodnoty	Celkem
Sledovaný soubor	34 (45%)	41	75
Ošetřená skupina	23 (48%)	25	48
Běžná populace*	68 (0,4%)	16 860	16929

* Podle Snyder (1987)

χ^2 test p<0,001

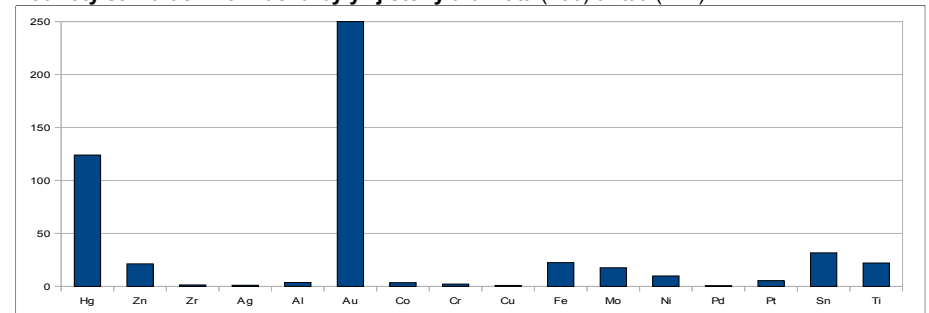


Obrázek 1: Stranově asymetrické – jednostranné postižení sliznic a úplný přímý kontakt se zubním materiálem u 63leté ženy s OLR. Pacientka je celkově zdravá, neužívá žádné léky, nekuřačka, bez kožních projevů. Epikutánní testy a test LTT-MELISA® negativní. Zjištěn galvanický článěk o intenzitě 20 μ A a 300mV. Stav před (a, c, e) a po ošetření (b, d, f).



Obrázek 2: (a, b) Stranově symetrické léze a úplný přímý kontakt se zubním materiálem u 55leté pacientky. Slizniční změny jsou v přímém kontaktu se zubním materiálem (amalgámovou výplní). Bílou šipkou vyznačená jizva po provedené biopsii. (c, d) Kontrolní vyšetření po jednom roce u pacientky z Obrázku 23. Pacientka dosud bez doporučeného ošetření. Na pravé straně (levé fotce) suspektní malignita. Histologicky zjištěn invazivní dobře diferencovaný částečně rohovějící dlaždicobuněčný karcinom.

Tabulka 9: Hodnoty stimulačního indexu LTT-MELISA® u pacientky z Obrázku 23. Nejvyšší hodnoty stimulačního indexu byly zjištěny u zlata (250) a rtuťi (124).



5 Diskuse

Po mnoho let se předpokládalo, že zubní materiály nemají téměř žádné nežádoucí účinky kromě zcela výjimečných případů alergické reakce (Frykholm a kol. 1969; Ido a kol. 2002). Avšak až nástup moderních stomatologických materiálů dokázal plnohodnotně nahradit kovové zubní materiály a umožnit tak širší studium této problematiky. Předpokládaná nízká incidence nežádoucích účinků, přibližně jeden případ na 700 – 2500 ošetření, neumožňuje ošetřujícímu lékaři získat praktické zkušenosti a ve výsledku může vést k podceňování či naopak k přeceňování rizik (Hensten-Pettersen 1992) (Mjør 1992). Některé historicky používané zubní materiály neprošly náročným procesem testování a schvalování s ohledem na hodnocení možných zdravotních rizik (Anusavice a Ralph 2003). Další sledování zubních materiálů používaných v klinické praxi je omezené nebo téměř žádné a neumožňuje tak vyhodnocení možných ojedinělých reakcí citlivých osob (Geurtsen 2003).

Za nejdůležitější faktor pro biokompatibilitu materiálů se považuje jejich odolnost vůči degradaci. Uvolněné látky a korozní produkty jsou obvyklou příčinou zánětlivé odpovědi organismu na chemicko-iritačním, toxickém či alergickém podkladě. Nejlépe popsanou formou nesnášenlivosti zubních materiálů jsou lokální změny na sliznicích dutiny ústní v jejich těsné blízkosti (Anusavice a Ralph 2003).

Tato studie si kladla za cíl vyhodnotit souvislost mezi vznikem bílé plochy na sliznicích v dutině ústní (lichenoidní léze, leukoplakie atp.) a možným drážděním zubními materiály.

Ve vyšetřované skupině pacientů výrazně převažovalo zastoupení žen (84 %) oproti mužům (16 %). Tento poměr je ve shodě s obdobnými studiemi autorů Issa a kol. (2005), Laeijendecker a kol. (2004) a Ostman a kol. (1996). Osm osob bylo vyřazeno pro nemožnost objektivně stanovit efekt odstranění zubních materiálů a jeden pacient byl vyřazen z důvodu nalezené lékové interakce.

Lokalizace postižení byla podobná s pozorováními jiných autorů, kdy nejčastěji byli postiženi sliznice v oblasti tváře (cca 90 %), jazyka (cca 60 %) a gingivy (18-31 %) (Dunsche a kol. 2003; Issa a kol. 2005).

Ve shodě s jinými publikacemi byli slizniční léze nejčastěji v souvislosti se zubním amalgamem (67 %). V sestupném pořadí pak následovaly slitiny obecných (23 %) a ušlechtilých (15 %) kovů (Ostman a kol. 1996; Laeijendecker a kol. 2004; Issa a kol. 2005).

Navržené ošetření bylo provedeno pouze v polovině případů (47 % úplných ošetření). Mezi nejčastější důvody úplné či částečné nespolupráce byla udávaná nedůvěra v navržené ošetření, finanční náročnost terapie a nedostatečné technické zázemí odesílajícího lékaře. V případech, kdy ošetřující lékař odmítl provést navrženou terapii, bylo pacientům navrženo ošetření na našem pracovišti. Míra spolupráce byla výrazně menší oproti zahraničním studiím (90–100 %) a to navzdory pravidelným kontrolám a motivacím pacientů (Ostman a kol. 1996; Dunsche a kol. 2003; Issa a kol. 2005).

Ve skupině ošetřených pacientů (úplně a částečně) bylo pozorováno zlepšení v 87,5 % a nebyl pozorován ani jeden případ zhoršení. Z toho úplně vymizení slizničních lézí bylo klinicky pozorováno v 1/3 případů (**Tabulka 7**). Pozorovaná míra a kvalita zlepšení je v souladu s předešlými publikacemi, kdy zlepšení bylo pozorováno v 89–98 % případů a úplné vyhojení u 1/3 až 2/3 pacientů (Ostman a kol. 1996; Dunsche a kol. 2003; Laeijendecker a kol. 2004; Issa a kol. 2005). Klinicky významná je nejen kvantitativní redukce počtu lézí, ale také kvalitativní změna postižení sliznic v méně závažné formy (např. erozivní v retikulární).

Ostman a kol. (1996) pozorovali zlepšení stavu významně častěji ve skupině pacientů s přímým kontaktem zubního materiálu. Naše pozorování bylo na hranici statistické významnosti. Tento částečný rozdíl může být způsoben jiným zařazením pacientů s několika slizničními lézemi a různou mírou kontaktu se zubním materiálem. V dalších studiích bude proto vhodné provést také hodnocení z pohledu jednotlivé slizniční léze a nejen z pohledu pacienta (Dunsche a kol. 2003).

Přítomnost zvýšených hodnot galvanického článku byla v celém sledovaném souboru 45 %, v ošetřené skupině pacientů 48 %. Výsledky z obdobných studií nejsou k dispozici pro absenci měření galvanického článku. Zjištěný výskyt byl významně častější při porovnání s výskytem v běžné populaci 0,4 % (Snyder 1987). V současnosti je vztah mezi zvýšenými hodnotami galvanického článku a slizničními změnami některými autory odsouván do pozadí a větší význam je připisován přecitlivělosti oddáleného typu (Ismail a kol. 2007; Vokurka a kol. 2011). Podle našeho názoru však z pohledu etiopatogeneze nelze význam galvanického článku podceňovat. Zvýšené hodnoty proudů a napětí jsou objektivním znakem probíhající elektrochemické koroze. Zvýšené uvolňování kovových elementů do okolí resp. přilehlých tkání může přispívat jak k lokální iritaci, tak i k zvýšenému riziku senzibilizace u predisponovaných jedinců (Walker a kol. 2003).

Za závažnou klinickou komplikací lze považovat výskyt malignit, které byly pozorovány pouze v neošetřené skupině pacientů. V podobných publikacích není tato komplikace běžně uváděna. Jeden raritní případ udává Ostman a kol. (1996). Porovnání s těmito publikacemi není ale relevantní vzhledem k absenci neošetřené skupiny pacientů (Ostman a kol. 1996; Dunsche a kol. 2003; Issa a kol. 2005). Maligní transformace OLP je v současnosti považována za kontroverzní a studie udávají roční incidenci v intervalu 0,04 – 1,94 % (Vokurka a kol. 2011). Za rizikové se považují zejména erozivní, atrofizující a plakovité formy onemocnění. Van der Meij a kol. (2007) rozdělili OLP na základě klinických a histopatologických kritérií na OLP a OLR. Maligní transformaci pozoroval pouze ve skupině OLR a její incidence byla 0,71 % ročně. To představuje 142x větší riziko než v běžné populaci (van der Meij a kol. 2007). Tyto výsledky jsou pak srovnatelné s námi prezentovanou studií. Ve sledovaném období 4 let byly zachyceny celkem tři případy (4 % – 3 ze 75) malignizace, které tak představují 1 % malignizace ročně. V námi pozorovaných případech nelze zcela vyloučit souvislost mezi chronickou iritací netolerovaným zubním materiálem, vznikem OLR a její následnou malignizací.

6 Závěry

- V souboru vyšetřených pacientů s rohovějícími změnami na sliznicích dutiny ústní převládali pacienti s diagnózou OLR
- Zjistili jsme, že kovové dentální materiály se mohou významně podílet na rozvoji OLR na základě těchto výsledků:
 - Odstranění nežádoucích dentálních materiálů z dutiny ústní vedlo ke zlepšení u téměř 90 % pacientů a u žádného ošetřeného pacienta nedošlo ke zhoršení zdravotního stavu
 - U pacientů byla prokázána souvislost s působením kovů jednak epikutánními testy, ve kterých na kovy v dutině ústní reagovala více než polovina vyšetřených, a hlavně testem LTT-Melisa®, ve kterém reagovalo na kovy více než 90 % pacientů
 - Téměř 70 % pacientů mělo přímý kontakt OLR s kovy, na které reagovali v testech
 - Nejčastěji se vyskytující dentálním materiálem, na který pacienti reagovali a který byl v kontaktu s lézemi, byl dentální amalgam, ale v menší míře též slitiny obecných kovů a drahokovové slitiny
 - Výskyt galvanického článku v dutině ústní byl zaznamenán statisticky významně častěji ve vyšetřované skupině pacientů v porovnání s jeho výskytem v běžné populaci. Nelze tedy vyloučit vliv galvanického článku na etiopatogenezi slizničních onemocnění
- Navržená terapie, odstranění nežádoucích zubních materiálů, nebyla dostupná až pro polovinu pacientů. Nedostupnost ošetření byla způsobena:
 - nedůvěrou v navržené ošetření
 - finanční náročností
 - nedostatečnými technickými možnostmi a dovednostmi odesílajícího lékaře
- Lichenoidní změny na sliznicích dutiny ústní v kontaktu s kovy, na které organismus pacienta reaguje, se jeví jako silná prekanceróza. Ve skupině 75 pacientů s rohovějícími lézemi na sliznicích dutiny ústní byly zachyceny tři pacientky, u kterých se vyvinul karcinom v dutině ústní v místech kontaktu s kovovým dentálním materiálem. Další studium této problematiky se jeví proto víc než významné.

6.1 Doporučení pro praxi

Předložená disertační práce poukazuje na lokální projevy v dutině ústní v asociaci s možnou nesnášenlivostí zubních materiálů. Obtíže jsou přítomné zejména v ženské populaci a mezi netolerované zubní materiály patří téměř výhradně kovové slitiny, nejčastěji dentální amalgam. Odstranění nežádoucích materiálů vedlo k zlepšení zdravotního stavu u téměř 90 procent pacientů. Zhoršení bylo pozorováno pouze v neošetřené skupině pacientů a souviselo s malignizací původního onemocnění. Pacienti s příznaky bílé plochy na sliznicích dutiny ústní by proto měli absolvovat klinické vyšetření dutiny ústní obohacené o měření galvanických jevů a detekci složení materiálů v dutině ústní (pokud není známo, které slitiny byly použity, lze využít hmotovou spektrometrii, kdy na nový brousek známého složení, např. arkansaský kámen, se nanese vzorek slitiny přebroušením v ústech a následně se vyhodnotí

jeho složení) a dále vyšetření reakce organismu na kovy (epikutánní testy a test LTT-Melisa®). Při zjištění reakce na kovy je vhodné odstranit tyto kovy z úst zvláště, pokud jsou v kontaktu se změnami na sliznicích, pacienti kontinuálně sledovat a zvát na pravidelné recally.

Pokud je vyšetření negativní, doporučujeme pravidelnou dispenzarizaci pacientů nejméně v ročních intervalech a vyšetření v případě potřeby opakovat. Z preventivních důvodů lze doporučit odstranění kovových slitin z míst, která jsou v přímém kontaktu s lézemi, kde mohou přispívat k dlouhodobé iritaci kvalitativně změněných tkání a jejich případné maligní transformaci.

Významná je odborná erudice praktických zubních lékařů. Na základě našich zkušeností nelze podceňovat význam kasuistických sdělení, která pro praktické zubní lékaře představují jakýsi „hmatatelný důkaz“.

Souvislost mezi zlepšením orální lichenoidní reakce a nekovovou sanací lze v současnosti považovat za součást medicíny založené na důkazech (Evidence-Based Medicine).

Odstranění příčinných zubních materiálů je symptomatické a neřeší primární příčinu vzniku onemocnění. Primární prevenci je předcházení poškození chrupu a to zejména zubním kazem, který postihuje téměř celou část populace. Pro ošetření volíme zubní materiály, které jsou mimo jiné také co nejvíce biokompatibilní a korozivzdorné. V případě vzniku projevů nesnášenlivosti na zubní materiál je nutný včasný terapeutický zásah, poučení pacienta o povaze onemocnění a možnostech léčby. Nedílnou součástí preventivních opatření je dispenzarizace pacientů s onemocněním nereagujícím na dosavadní terapii.

7 Použitá literatura

Alanko K., Susitaival P., Jolanki R. a Kanerva L. (2004). "Occupational skin diseases among dental nurses." *Contact Dermatitis* **50**(2): 77-82.

Anusavice K. J. a Ralph W. P. (2003). *Phillips' science of dental materials*, Saunders.

Bergman M. (1990). "Side-effects of amalgam and its alternatives: local, systemic and environmental." *Int Dent J* **40**(1): 4-10.

Bilski B. a Polczynska M. (2005). "[Specific occupational hazards and their health effects among dental technicians]." *Med Pr* **56**(1): 49-54.

Blomgren J., Axell T., Sandahl O. a Jontell M. (1996). "Adverse reactions in the oral mucosa associated with anterior composite restorations." *J Oral Pathol Med* **25**(6): 311-313.

Cimirin A., Komus N., Karaman C. a Tertemiz K. C. (2009). "Pneumoconiosis and work-related health complaints in Turkish dental laboratory workers." *Tuberk Toraks* **57**(3): 282-288.

Dunsche A., Kastel I., Terheyden H., Springer I. N., a kol. (2003). "Oral lichenoid reactions associated with amalgam: improvement after amalgam removal." *Br J Dermatol* **148**(1): 70-76.

Ekstrand J., Bjorkman L., Liu Y., Skoldqvist B., a kol. (1998). "[New dental materials a health risk for dental staff. Acrylates can cause contact allergy and other problems]." *Lakartidningen* **95**(25): 2946-2949.

Frykholm K. O., Frithiof L., Fernstrom A. I., Moberger G., a kol. (1969). "Allergy to copper derived from dental alloys as a possible cause of oral lesions of lichen planus." *Acta Derm Venereol* **49**(3): 268-281.

Garhammer P., Schmalz G., Hiller K. A., Reitingen T., a kol. (2001). "Patients with local adverse effects from dental alloys: frequency, complaints, symptoms, allergy." *Clin Oral Investig* **5**(4): 240-249.

Geurtsen W. (2003). "Toxicology of dental materials and 'clinical experience'." *J Dent Res* **82**(7): 500.

Hamann C. P., Rodgers P. A. a Sullivan K. (2003). "Allergic contact dermatitis in dental professionals: effective diagnosis and treatment." *J Am Dent Assoc* **134**(2): 185-194.

Hensten-Pettersen A. (1992). "Casting alloys: side-effects." *Adv Dent Res* **6**: 38-43.

Hensten-Pettersen A. a Jacobsen N. (1991). "Toxic effects of dental materials." *Int Dent J* **41**(5): 265-273.

Ido T., Kumakiri M., Kiyohara T., Sawai T., a kol. (2002). "Oral lichen planus due to zinc in dental restorations." *Contact Dermatitis* **47**(1): 51;discussion 51.

Isaksson M., Zimerson E. a Svedman C. (2007). "Occupational airborne allergic contact dermatitis from methacrylates in a dental nurse." *Contact Dermatitis* **57**(6): 371-375.

Ismail S. B., Kumar S. K. a Zain R. B. (2007). "Oral lichen planus and lichenoid reactions: etiopathogenesis, diagnosis, management and malignant transformation." *J Oral Sci* **49**(2): 89-106.

Issa Y., Duxbury A. J., Macfarlane T. V. a Brunton P. A. (2005). "Oral lichenoid lesions related to dental restorative materials." *Br Dent J* **198**(6): 361-366; discussion 549; quiz 372.

Kallus T. a Mjor I. A. (1991). "Incidence of adverse effects of dental materials." *Scand J Dent Res* **99**(3): 236-240.

Kanerva L., Lahtinen A., Toikkanen J., Forss H., a kol. (1999). "Increase in occupational skin diseases of dental personnel." *Contact Dermatitis* **40**(2): 104-108.

Laeijendecker R., Dekker S. K., Burger P. M., Mulder P. G., a kol. (2004). "Oral lichen planus and allergy to dental amalgam restorations." *Arch Dermatol* **140**(12): 1434-1438.

Lind P. O. (1988). "Oral lichenoid reactions related to composite restorations. Preliminary report." *Acta Odontol Scand* **46**(1): 63-65.

Mikov I., Turkalj I. a Jovanovic M. (2011). "Occupational contact allergic dermatitis in dentistry." *Vojnosanit Pregl* **68**(6): 523-525.

Mjor I. A. (1992). "Problems and benefits associated with restorative materials: side-effects and long-term cost." *Adv Dent Res* **6**: 7-16.

Morgenroth K. a Kronenberger H. (1983). "[Lung changes due to dental materials]." *Quintessenz Zahntech* **9**(2): 203-209.

Ostman P. O., Anneroth G. a Skoglund A. (1996). "Amalgam-associated oral lichenoid reactions. Clinical and histologic changes after removal of amalgam fillings." *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **81**(4): 459-465.

Sans-Sola L. a Barcelo P. (1966). "[1st results obtained with a new injectable preparation of betamethasone in rheumatology]." *Rev Esp Reum Enferm Osteoart* **11**(8): 328-334.

Schmalz G. a Bindlev A. (2009). *Biocompatibility of Dental Materials*, Springer Berlin Heidelberg.

Skoglund A. (1994). "Value of epicutaneous patch testing in patients with oral, mucosal lesions of lichenoid character." *Scand J Dent Res* **102**(4): 216-222.

Slezák R. a Černý D. (2000). "Lichenoidní změny ústní sliznice jako reakce na amalgámovou výplň." *LKS* **10**(1): 14-16.

Snyder D. E. (1987). "Incidence of painful oral electrogalvanism." *Gen Dent* **35**(3): 198-199.

Soto Araya M., Rojas Alcaayaga G. a Esguep A. (2004). "Association between psychological disorders and the presence of Oral lichen planus, Burning mouth syndrome and Recurrent aphthous stomatitis." *Med Oral* **9**(1): 1-7.

Stejskal V. D., Cederbrant K., Lindvall A. a Forsbeck M. (1994). "MELISA-an in vitro tool for the study of metal allergy." *Toxicol In Vitro* **8**(5): 991-1000.

Thornhill M. H., Pemberton M. N., Simmons R. K. a Theaker E. D. (2003). "Amalgam-contact hypersensitivity lesions and oral lichen planus." *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **95**(3): 291-299.

Valks R., Conde-Salazar L. a Cuevas M. (2004). "Allergic contact urticaria from natural rubber latex in healthcare and non-healthcare workers." *Contact Dermatitis* **50**(4): 222-224.

van der Meij E. H., Mast H. a van der Waal I. (2007). "The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: a prospective five-year follow-up study of 192 patients." *Oral Oncol* **43**(8): 742-748.

van der Meij E. H. a van der Waal I. (2003). "Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications." *J Oral Pathol Med* **32**(9): 507-512.

van Noort R., Gjerdet N. R., Schedle A., Bjorkman L., a kol. (2004). "An overview of the current status of national reporting systems for adverse reactions to dental materials." *J Dent* **32**(5): 351-358.

Vokurka J., Fassmann A. a Izakovičová Hollá L. (2011). "Lichen planus oralis." *LKS* **21**(7-8): 152-158.

Walker R. S., Wade A. G., Iazzetti G. a Sarkar N. K. (2003). "Galvanic interaction between gold and amalgam: effect of zinc, time and surface treatments." *J Am Dent Assoc* **134**(11): 1463-1467.

Yontchev E. A. (1986). "Studies of individuals with orofacial discomfort complaints. An investigation of a group of patients who related their sufferings to effects of dental materials and constructions." *Swed Dent J Suppl* **38**: 1-45.

Seznam publikací doktoranda

Publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertace

- **The influence of galvanic couples on the contents of metal particles in saliva.** Procházková J, Kučerová H, Mihaljevič M, Hana K, **Tomka M**, Mikšovský M. DENTALA MATERIAL OCH OHÅLSA DEL II, Stiftelsen Metallbiologiskt Centrum, Uppsala 2006, 389–410
- **Metal alloys in the oral cavity as a cause of oral discomfort in sensitive patients.** Procházková J, Podzimek Š, **Tomka M**, Kučerová H, Mihaljevič M, Hána K, Mikšovský M, Šterzl I, Vinšová J. Neuroendocrinology Letters 2006, roč. 27, č.12 - Suppl. 1: 53-58 **[IF= 0.924]**
- **Léčba recidivujících aft odstraněním elektroaktivních amalgámových výplní z dutiny ústní.** Procházková J, Podzimek Š, **Tomka M**, Bártová J. Česká stomatologie a Praktické zubní lékařství 2006, roč. 106, č. 4: 103–110
- **Informace o 2. světovém kongresu o alergiích profesních a životního prostředí.** **Tomka M**. LKS 2007, roč. 17, č. 10: 35
- **Influence of metals on cytokines production in connection with successful implantation therapy in dentistry.** Podzimek Š, **Tomka M**, Németh T, Himmlová L, Matucha P, Procházková J. Neuroendocrinology Letters 2010, roč. 31, č.5: 657–662 **[IF= 1.047]**
- **Orofacial granulomatosis associated with hypersensitivity to dental amalgam.** **Tomka M**, Machovcová A, Pelclová D, Petanová J, Arenbergerová M, Procházková J. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2011, roč. 112, č.9: 335–41 **[IF= 1.997]**
- **Nežádoucí účinky dentálních materiálů v dutině ústní.** **Tomka M**, Podzimek Š, Lyuya-Mi Y, Machovcová A, Procházková J. Folia Parodontologica Bohemica 2011, s. 21 –22
- **Vliv kovových iontů na hladiny sIgA, IgA1 a IgA2 ve slině a na tvorbu cytokinů lymfocyty u pacientů podstupujících implantaci ve stomatologii.** Podzimek Š, **Tomka M**, Procházková J. Česká stomatologie a Praktické zubní lékařství 2011, roč. 111–59, č.6 (Praktické zubní lékařství): 115–116
- **Pohled na hliníkové bronzy z hlediska nežádoucích účinků.** Procházková J, Lyuya-Mi Y, **Tomka M**. LKS 2012, roč. 22, č.5:120–121

Publikace *in extenso* bez vztahu k tématu disertace

- **Profesionální bělení: s použitím systémů YOTUEL® SPECIAL a YOTUEL® 10 minutes.** Lenčová E, **Tomka M**, Houšová D. StomaTeam 2009, roč. 9, č.3: 32–34
- **Bělení zubů.** **Tomka M**, Hanišová K, Procházková J. LKS 2012, roč. 22, č.11:230–240

Prezentace na kongresech a sympoziích

- **Přednáška: Orální galvanismus;** Sympóziium primárnej prevencie ústneho zdravia I. 2006; Košice – Slovensko
- **Poster: Galvanic phenomena in patients with eliminated dental titanium implants;** CERAMICS, CELLS AND TISSUES – 10th Annual Seminar& Meeting 2006; Faenza-Itálie
- **Poster: Diagnostics of metal intolerance – correlation between patch tests and MELISA® test;** Second World Congress on Work-Related and Environmental Allergy WOREAL/6th International Symposium on Irritant Contact dermatitis (ISICD) 2007; Weimar-Německo
- **Přednáška: Orální galvanismus u pacientů s ústním dyskomfortem;** 9. STUDENTSKÁ VĚDECKÁ KONFERENCE 1.LF UK 2008; Praha
- **Poster: Kovy jako rizikový faktor při stomatologickém ošetření – kasuistická sdělení;** Pražské dentální dny 2008; Česká stomatologická komora, Praha, 2008, s. 64-64, abstrakt ve sborníku.
- **Přednáška: Bělení zubů;** Pragodent plus 2008; Praha
- **Přednáška: Orální galvanismus.** XII. Sazamovy dny 2008; Hradec Králové
- **Přednáška: Bělení zubů;** Podzimní sněm a odborná konference ADH ČR 2008; Praha
- **Série přednášek: Bělení od A až do Z;** YOTUEL TOUR 2009; Praha, Hradec Králové, Brno, České Budějovice
- **Přednáška: Bělení – přehled metod, indikace a kontraindikace;** InDent 2009; Ostrava
- **Přednáška: Poruchy tolerance dentálního amalgámu;** Pražské dentální dny 2009; Praha
- **Přednáška: Alergická reakce na kořenový výplňový materiál z epoxidové pryskyřice;** XIII. Sazamovy dny 2009; Hradec Králové
- **Poster : Immunological parameters in patients with dental implants;** IADR 2010; Barcelona – Španělsko
- **Přednáška: Využití elektronové mikroanalýzy v zubním lékařství – kasuistické sdělení;** Sympóziium primárnej prevencie ústneho zdravia II. 2010; Košice-Slovensko
- **Přednáška: Bělení – přehled metod a typy dyskolorací;** Pražské dentální dny 2010; Praha
- **Přednáška: Ošetření pacienta s intolerancí kovů v dutině ústní;** ÚSMĚV 011; Olomouc
- **Přednáška: Pacient s intolerancí kovů v dutině ústní – Kasuistická sdělení** Den výzkumných prací 2011; Praha
- **Přednáška: Nesnášenlivosti dentálních materiálů v dutině ústní – kasuistická sdělení;** Parodontologické dny v Brně 2011; Brno
- **Přednáška: Mikroanalýzy kovů dentálních slitin;** Pražské dentální dny 2012; Praha
- **Přednáška: Bělení zubů – součást komplexní terapie, etické a právní aspekty;** Večerní univerzita zubního lékaře 2013; Plzeň