

# Hodnocení biologické snášenlivosti dentálních slitin a slitin pro dentální amalgám, určených k použití v zubním lékařství. Část druhá

(Přehledový článek)

## The Assessment of the Biocompatibility of Dental Alloys and Alloys for Dental Amalgam. Part Second

(Review of Literature)

Broukal Z.<sup>1</sup>, Fialová V.<sup>1</sup>, Novotný J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

<sup>2</sup>SAFINA, a.s., Praha

*První část tohoto sdělení byla uveřejněna v České stomatologii 2014, č. 3, str. 53–59.*

### SOUHRN

**Předmět sdělení:** Druhá část literárního přehledu o biokompatibilitě dentálních slitin je věnována jejich možnému alergizujícímu působení, mutagenitě a karcinogenitě a metodám jejich testování. Podmínkou vzniku alergické reakce na kovovou slitinu je uvolnění jejích component (kovových iontů) korozním dějem. Z obecných mechanismů alergických reakcí je známo, že kovové ionty samy o sobě nemohou být alergeny. Mohou však hrát roli haptenu, pokud se vážou na některé tělní molekuly (proteiny, nukleové kyseliny, sacharidy) nebo je modifikují. Testy alergizujících vlastností kovů lze provádět pouze in vivo u pokusných zvířat nebo u lidí. Obvykle používané epikutánní testy jsou jednak vzdálené situaci v ústech, jednak je jejich vypovídací schopnost nejednoznačná. Často je obtížné určit, zda zánětlivá reakce na ionty kovu je zprostředkována alergickým mechanismem, nebo jde o toxickou reakci, nebo o kombinaci obou mechanismů. Mutagenita se obvykle testuje v bakteriálních kulturách a karcinogenita v dlouhodobých expozičních studiích na laboratorních zvířatech. Přímé důkazy o mutagenitě a karcinogenitě reálných dentálních slitin nejsou, nicméně potenciál některých kovů v dentálních slitinách se v tomto ohledu připouští. Slitiny pro dentální amalgámy mají mezi ostatními dentálními slitinami výjimečné postavení při hodnocení jejich biokompatibilitě, neboť obvykle se posuzuje až výsledný produkt, tj. dentální amalgám, který vzniká smícháním práškové slitiny se rtutí za přesně stanovených podmínek. Naprostá většina dílčích studií, zabývajících se korozními vlastnostmi amalgámu, jeho biokompatibilitou a metodami jejího zkoušení, je proto soustředěna na vliv uvolňované rtuti. Technické normy řady ČSN EN ISO 10993 spolu s ČSN EN ISO 7405, týkající se hodnocení biologické snášenlivosti zdravotnických prostředků, a tedy i dentálních slitin, předkládají soubor zkoušek, jejichž provedení je třeba zvažovat před uvedením nového výrobku – zdravotnického prostředku do užívání. Výsledky těchto preklinických testů in vitro a in vivo mají jen omezenou vypovídací hodnotu a nemohou nahradit dlouhodobé klinické zkušenosti.

**Klíčová slova:** dentální slitiny – alergie – mutagenita – karcinogenita – biokompatibilita slitin – testování biokompatibilitě

**SUMMARY**

**Background:** The second part of the literature review on the biocompatibility of dental alloys is focused to their possible sensibilizing effects, mutagenicity and carcinogenicity and the methods of their testing. The condition of an allergic reaction to the metal alloy is releasing its components (metal ions) by corrosion processes. From the general mechanisms of allergic reactions is well known that metal ions alone can not be allergens. However, they may play a role of haptens, where they bind to certain body molecules (proteins, nucleic acids, carbohydrates) or modified. Tests allergenic properties of metals can only be performed in vivo, in animals or humans, and commonly used patch tests are both far from the situation in the mouth, and secondly, their explanatory power is ambiguous. It is often difficult to determine whether an inflammatory reaction to the metal ions is mediated by allergic mechanism or is a toxic reaction, or combination of both mechanisms. Mutagenicity is usually tested in bacterial cultures and carcinogenicity in long-term exposure studies in laboratory animals. Direct evidence of mutagenicity and carcinogenicity of the real dental alloys are not available, however potential of some metals from dental alloys in this regard this admits. Alloys for dental amalgams have among the other dental alloys exceptional position in the evaluation of their biocompatibility, as the usual tests address the final product, ie dental amalgam, which is produced by mixing the alloy powder with mercury under specified conditions. The vast majority of studies dealing with the corrosive properties of amalgam, its biocompatibility and methods of testing is therefore focused on the impact of mercury release. Technical standards EN ISO 10993 together with EN ISO 7405, regarding the evaluation of biocompatibility of medical devices and therefore dental alloys give a set of tests, the implementation of which should be considered before a new product is introduced into use. The results of these preclinical tests in vitro and in vivo have only limited value and can not replace long-term clinical experience.

**Keywords:** *dental alloys – allergy – mutagenity – carcinogenity – biocompatibility of alloys – biocompatibility testing*

Čes. stomat., roč. 114, 2014, č. 6, s. 116–121

**ÚVOD**

V první části literárního přehledu o biologických vlastnostech dentálních slitin byly popsány korozní vlastnosti slitin a lokální a systémová toxicita kovů uvolňovaných korozními ději v ústním prostředí. V tomto oddíle budou popsány další nežádoucí vlastnosti dentálních slitin, jako jejich alergizující působení, mutagenita a karcinogenita a metody jejich testování. Zvláštní pozornost je věnována slitinám pro dentální amalgámy.

**ALERGIE NA DENTÁLNÍ SLITINY**

Podmínkou vzniku alergické reakce na kovovou slitinu je uvolnění jejích komponent (kovových iontů) korozním dějem. Ojedinelé studie prokázaly, že u pacientů s prokazatelnou přecitlivělostí na palladium nemusí dentální slitina obsahující palladium vyvolat lokální alergickou reakci [31], a to pravděpodobně díky velmi nízké labilitě palladia. Tento fakt dokládá význam korozních dějů ve slitině vložené do specifického prostředí, a tím i důležitost testování korozních vlastností slitin.

Z obecných mechanismů alergických reakcí je známo, že kovové ionty samy o sobě nemohou být alergeny [13]. Mohou však hrát roli haptenu, pokud se vážou na některé tělní molekuly (proteiny, nukleové kyseliny,

sacharidy) nebo je modifikují. O těchto molekulárních komplexech obsahujících kovy je zatím známo jen málo, ani není jasné, jestli se u alergických jedinců shodují, nebo liší [6, 28].

Expozice ústní sliznice kovovým iontům, uvolněným z dentálních slitin, může vyvolat různé účinky, odlišné od účinků na pokožce. Za citování stojí práce, které v experimentálním modelu na zvířatech prokázaly, že perorální podání chromu může navodit toleranci k lokální expozici [34]. Novější zprávy navíc ukazují, že orální imunokompetentní buňky mají vyšší odezvu na alergenní podněty kovů než buňky v pokožce [15].

Často je obtížné určit, zda zánětlivá reakce na ionty kovu je zprostředkována alergickým mechanismem, nebo jde o toxickou reakci a nebo o kombinaci obou mechanismů. Klasicky, alergické reakce se vyznačují nezávislostí na dávce alergenu, který je aplikován [26]. Ve skutečnosti hranice mezi toxicitou a alergií nejsou vůbec jasné. Absence klasické alergické reakce neznamená, že expozice kovovým iontům neovlivňuje imunokompetentní buňky. Kovové ionty mohou narušit nebo modifikovat kaskády imunitních reakcí, což se projeví jako možná zánětlivá odpověď [27, 36]. Tento typ interakcí může být považován za toxickou reakci. Vztah mezi alergií a toxicitou je stále aktivní oblastí výzkumu a ověřováním konceptu, že alergická reakce

na kovy má specifický dávkový limit a objeví se až po jeho překročení.

Obecně platí, že v současné době lze senzibilizaci (přecitlivělost) na testované materiály zjistit pouze zkouškami *in vivo* (zkouška na lymfatických uzlinách myší, zkouška s uzavřenou náplastí na morčatech, maximalizační zkouška na morčeti), neboť neexistuje žádná mezinárodně validovaná a přijatá zkouška *in vitro*. K *in vivo* zkouškám se má přistupovat jen tehdy, pokud nelze testované materiály charakterizovat pomocí literární rešerše včetně hodnocení chemických a fyzikálních vlastností. Na dentální slitiny přesně definovaného složení a známých fyzikálně-mechanických vlastností lze toto zdůvodnění aplikovat a *in vivo* testy senzibilizace neprovádět.

Výsledky epikutánních testů přecitlivělosti na kovy jsou kontroverzní. Provádět je má význam jen v případě předem odhadované vysoké pravděpodobnosti kauzality [33]. Jako preklinické testy pro dentální slitiny mají jen velmi malou vypovídací hodnotu. Alergie na kovy se obvykle testuje přiložením kovu na pokožku nebo intradermální aplikací [5] výluhů/roztoků kovů. Mohou se objevit různé reakce na chloridovou, síranovou nebo dusičnanovou sůl příslušného kovu. Výsledky těchto testů mohou být ovlivněny i oxidačním stupněm testovaného kovu nebo vehikulem, ve kterém je v testu podáván (voda, vazelína, olej apod.), včetně náplasti používané při epikutánní aplikaci k překrytí testovaných terčů.

Incidence přecitlivělosti při klinické aplikaci výrobků z dentálních slitin je velmi nízká. Odhadovaný poměr je výskyt jednoho případu na zhruba 400 zhotovených prací [16]. Přibližně 27 % nežádoucích reakcí jde na vrub slitin obecných kovů a slitin ušlechtilých kovů. Příznakem je obvykle zarudnutí, otok, bolest a lichenoidní reakce buď v místě kontaktu s kovovou slitinou, nebo i na místě vzdáleném. Průkaz kauzality vztahu expozice a odpovědi je obtížný.

Studie ukazují, že asi 15 % z celkové populace je citlivých na nikl, 8 % na kobalt a 8 % na chrom. Byly zdokumentovány také alergie na rtuť, měď, zlato, platínu, palladium, cín a zinek [21]. Frekvence přecitlivělosti na kovové ionty se mezi kovy značně liší. Důvody těchto rozdílů pravděpodobně souvisí s frekvencí expozice obyvatelstva kovům, různým uvolňováním kovových iontů ze slitin v expozičním prostředí a s biologickou interakcí kovů se specifickými tkáněmi. Například vysoký výskyt alergie na nikl je pravděpodobně důsledkem vysoké frekvence expozice kovovým šperkům, lability iontů niklu ve slitinách a biologické interakce niklu s tkání [29]. Výskyt alergie na zlato je vzácný a pravděpodobně souvisí s jeho nízkou labilitou ve slitinách ušlechtilých kovů a vyšší inertností zlata v prostředí tkání. Důvody, proč některé kovové ionty působí alergické reakce, zatímco jiné

ne, nejsou známy a vysvětlení může být též v genetickém pozadí odpovědi na expozici [28].

V alergii na kovové ionty může hrát úlohu i zkřížená reakce, kdy jeden alergen vyvolá reakci na jinou látku bez předchozí expozice. Zkřížená alergická reakce je velmi obtížně prokazatelná, předpokládá se, že existuje mezi palladiem a niklem [35]. Některé studie uvádějí, že pacienti, kteří jsou citliví na palladium, jsou téměř vždy také citliví na nikl. Labilita obou těchto kovů ve slitinách je však značně rozdílná a za případnou alergickou reakci je zřejmě odpovědný nikl [37].

Při rozhodování o provedení testů kontaktní iritace lze vycházet z výsledků experimentálních studií u zvířat, studií profesionální expozice u lidí a oficiálně tolerované expozice, jejíž data jsou v odborné literatuře dohledatelná. Pro testování dentálních slitin obvyklého složení jsou tyto testy zbytečné.

## MUTAGENITA A KARCINOGENITA DENTÁLNÍCH SLITIN

Mutagenita je schopnost dané látky měnit sekvenci bázi v nukleových kyselinách, karcinogenita schopnost dané látky způsobit v důsledku mutace nukleových kyselin nekontrolovaný růst a množení buněk. Karcinogeneze je obvykle výsledkem několika mutací. Důležité je, že ne všechny mutagenní události vedou ke karcinogenezi. Mnoho mutací je buď reparováno, nebo se vyskytují v nepodstatných částech DNA, jiné nemají žádný funkční význam. Potenciální mechanismus mutagenity kovů se vysvětluje spíše tvorbou a přímým účinkem volných radikálů než přímým působením kovů na DNA [22]. Testování mutagenity je snadnější a jsou pro ně vypracovány příslušné *in vitro* testy. Doporučuje se v případech, kdy chemické složení není známo, což u dentálních slitin nepřichází v úvahu, nebo existuje podezření, že některý ve slitině přítomný prvek by mohl mutagenní vlastnosti vykazovat. Testování karcinogenity je mnohem obtížnější a vyžaduje dlouhodobé experimentální studie na zvířatech [18].

Stejně jako v případě alergických reakcí je mutagenita a karcinogenita kovů zprostředkována jejich ionty uvolňovanými ze slitin. Schopnost dentální slitiny způsobit mutagenezi nebo karcinogenezi je v přímém vztahu k její korozi. Částice slitin však mohou vstupovat do organismu nepřímo plícemi při broušení a leštění kovových výrobků. Tyto kovové částice mohou pronikat do makrofágů a do jiných buněk, v nichž pak korozi děje uvolní kovové ionty, které mohou způsobit mutace [1].

Většina doložených zpráv o mutagenitě nebo karcinogenitě kovů pochází z průmyslové expozice a zvýšené incidence různých nádorových onemocnění v souvislosti s prací v rizikovém prostředí. Karcinogenní vlastnosti dentálních slitin v literatuře dosud popsány nebyly,



nicméně mutagenní potenciál některých kovů obsažených v dentálních slitinách se připouští [16]. Testování mutagenního potenciálu různých látek včetně kovů se provádí na bakteriálních kulturách a tkáňových kulturách savčích buněk [30]. Implikace výsledků těchto testů má však v podmínkách in vivo přinejmenším velmi omezenou platnost.

Stejně jako u toxických a alergických reakcí je i schopnost mutagenese vázána na uvolňování kovových iontů v daném prostředí [20]. Forma uvolněného kovu je rozhodující pro jeho případné mutagenní vlastnosti. Např. u trojmocného chromu ( $\text{Cr}^{3+}$ ) se mutagenita neprokázala, zatímco u šestimocného iontu ( $\text{Cr}^{6+}$ ) ano [19]. U niklu se jinak chovají ionty, které mají nízký mutagenní potenciál, a jinak sloučeniny (např. sulfid niklu  $\text{Ni}_3\text{S}_2$ , který je významným mutagenem) [4]. Z tohoto důvodu nelze tvrdit, že určitý kov je mutagenní nebo karcinogenní sám o sobě, protože mutagenita závisí na specifické formě a oxidačním stupni kovového prvku.

Souhrnně však lze konstatovat, že není důkaz o tom, že by kovy z dentálních slitin přispívaly ke vzniku nádorových onemocnění. Dosavadní výzkumy ukazují, že specifické testování mutagenity a karcinogenity dentálních slitin nepřispívá rozhodující měrou k zajištění bezpečnosti při použití těchto slitin v klinické praxi. Dílčí studie však ukázaly, že určitá opatrnost je na místě při technologickém vývoji dentálních slitin, obsahujících některé rizikové kovy [7, 14].

## BIOKOMPATIBILITA SLITIN PRO DENTÁLNÍ AMALGÁM

Slitiny pro dentální amalgám mají mezi ostatními dentálními slitinami výjimečné postavení při hodnocení jejich biokompatibility, neboť obvykle se posuzuje až výsledný produkt, tj. dentální amalgám, který vzniká smícháním práškové slitiny se rtutí za přesně stanovených podmínek [přehled viz 32]. Naprostá většina dílčích studií, zabývajících se korozními vlastnostmi amalgámu, jeho biokompatibilitou a metodami jejího zkoušení je proto soustředěna na vliv uvolňované rtuti. Podobně se k biokompatibilitě slitin pro dentální amalgám vyjadřují i aktuální regulační výroky a doporučení světových zdravotnických a environmentálních institucí [2, 9, 11, 12, 25 apod.].

Pro výrobce slitin pro dentální amalgám tím vzniká těžko řešitelný problém plnění požadavků hodnotitelských a schvalovacích autorit, a to doložit biokompatibilitu vyráběných slitin, které v okamžiku uvádění na trh rtuť buď neobsahují (tzv. volné balení), anebo rtuť obsahují, avšak neprodyšně oddělenou od práškové slitiny (kapsle).

Z tohoto pohledu je tedy třeba na slitiny pro dentální amalgám hledět jako na slévárenské slitiny s defino-

vaným obsahem jednotlivých komponent, které se korozním procesem mohou uvolňovat a dostávat do kontaktu s tkáněmi lidského těla, případně též ovlivňovat uvolňování rtuti z finálního amalgámového výplňového materiálu.

Slitiny pro dentální amalgám obvykle obsahují 40–70 % hmotn. stříbra, 12–30 % hmotn. cínu a 12–24 % hmotn. mědi. Mohou rovněž obsahovat indium v množství 0–4 % hmotn., palladium v množství 0,5 % hmotn. a zinek do 1 % hmotn. Zinek brání oxidaci ostatních složek slitiny ve výrobním procesu [23] a inhibuje korozi, ve vlhkém prostředí však zvyšuje expanzi finálního výplňového materiálu [24]. Indium ve slitině s vyšším obsahem mědi snižuje tečení (creep), zvyšuje pevnost a snižuje uvolňování rtuti z výsledného amalgámu [39]. Palladium snižuje ztrátu lesku (tarnish efekt) a korozi [3].

Výrobci dodávají slitiny pro dentální amalgámy na trh ve formě prášku o velikosti částic do 80  $\mu\text{m}$ , jež mají sférický nebo nepravidelný tvar, nebo jde o směs obou. O biologických vlastnostech slitin pro dentální amalgám rozhoduje tedy nejen jejich chemické složení, ale i technologie zpracování do finálních výrobků, které se po smísení se rtutí použijí k individuální přípravě dentálního amalgámu. Z hlediska biokompatibility amalgámového výplňového materiálu jsou však velmi významné následující fáze zpracování slitin pro dentální amalgámy, a to individuální příprava amalgámového výplňového materiálu a pracovní postup zhotovení amalgámové výplně v ústech, které nejsou biologickými vlastnostmi slitiny ovlivněny. Správná klinická praxe je z tohoto pohledu podrobně popsána v obsáhlé odborné literatuře a dalších výukových informačních zdrojích [3].

## Pro výrobce slitin pro dentální amalgámy jsou důležité otázky toxikologie jednotlivých komponent

**Stříbro** je základní komponentou slitin pro dentální amalgámy. Expozice organismu stříbra z environmentálních, potravinových i medicínských zdrojů je velmi široká a jen alimentární příjem se odhaduje na 70–90  $\mu\text{g}/\text{den}$ . Hlavní branou vstupu do organismu je trávicí ústrojí. V průmyslu může být stříbro inhalováno v podobě prachu. Extrémní expozice vede k podráždění sliznic, pokožky. Excesivní expozice může vyvolat vznik argyrie – impregnace exponovaných tkání sirníky stříbra. Specifické toxické působení běžnými expozičními hladinami nebylo u lidí a pokusných zvířat popsáno. Stříbro uvolněné z amalgámových výplní abraží nebo korozním dějem může přispívat k alimentární expozici. Tento podíl se však odhaduje jako velmi malý a v literatuře dosud popsán nebyl [8].

**Měď** je stopový prvek, který je v organismu součástí mnoha metaloproteinů. Potřebná denní dávka mědi při alimentárním příjmu se odhaduje na 2  $\text{mg}/\text{den}$ , za

tolerovanou denní dávku (TDI) se považuje 0,5 mg/kg bw/den. Excesivní alimentární expozice může vyvolat toxické projevy, jejichž hlavním cílovým orgánem jsou játra. Porucha funkce jater se u pokusných zvířat vyskytuje až při sto- a vícenásobném překročení TDI [17]. Lokální nebo alimentární expozice organismu mědi z amalgámové výplně teoreticky přichází v úvahu, avšak o možném dráždivém nebo toxickém účinku v tomto ohledu chybí data.

Expozice běžné populace **cínu** je alimentární s TDI 2 mg/kg bw/den. Iritace sliznice trávicího ústrojí byla popsána při stonásobném překročení TDI [38]. O expozici organismu cínu z amalgámových výplní v odborné literatuře chybí data.

**Zinek** je stopový prvek s doporučenou denní dávkou (RDA) 2 mg u dětí a 8 mg u dospělých. U běžné populace je hlavní expoziční cestou alimentární příjem. Iritace trávicího ústrojí a interakce s hladinami mědi a železa v organismu, vedoucí k anémii, jsou známy až po sto- a vícenásobné expozici proti RDA. O expozici organismu zinku z amalgámových výplní v literatuře chybí data.

Z hlediska významnosti pro organismus mají kovy přítomné ve slitinách pro dentální amalgámy v toxikologii různé profily, avšak neexistuje důkaz o tom, že by tyto komponenty, ať už jednotlivě, nebo společně, představovaly riziko pro běžnou populaci, s výjimkou lokálních projevů přecitlivělosti s velmi omezenou prevalencí [9].

Otázka alergického působení kovů z dentálních slitin je popsána v kapitole týkající se alergie na dentální slitiny. Pokud jde o slitiny pro dentální amalgámy, resp. jejich komponenty, teoreticky se tato otázka týká palladia, pokud by bylo v těchto slitinách obsaženo, vzhledem k jeho prokázanému lokálnímu alergizujícím účinku u bižuterních a šperkařských výrobků, zejména při použití slitin obsahujících současně i nikl [10].

## DISKUSE, SHRUTÍ, ZÁVĚR

Mezinárodně respektované technické normy řady ČSN EN ISO 10993 spolu s ČSN EN ISO 7405, týkající se hodnocení biologické snášenlivosti zdravotnických prostředků, mezi něž dentální slitiny a slitiny pro dentální amalgámy patří, předkládají soubor zkoušek, jejichž provedení je třeba zvažovat před uvedením nového výrobku – zdravotnického prostředku do užívání. Výsledky těchto preklinických testů in vitro a in vivo mají jen omezenou vypovídací hodnotu a nemohou nahradit dlouhodobé klinické zkušenosti. Není proto cílem provádět všechny navržené zkoušky, ale na základě současných odborných znalostí zvolit a provést ty nejvhodnější.

Současná metodologie testování biologických vlastností dentálních slitin neumožňuje v plném rozsahu popsat jejich biologické chování v podmínkách duti-

ny ústní ve střednědobém a dlouhodobém horizontu. Z hlediska času jsou preklinické testy příliš krátkodobé. Bohužel však vzhledem k jejich finanční náročnosti a rovněž i k obecné snaze omezit zkoušky na živých zvířatech není možné časový faktor neúměrně protahovat. Proto i specifické „dentální“ testy, uváděné v normě ČSN EN ISO 7405 (zkouška použití se zubní dřeví a dentinem, zkouška krycích materiálů zubní dřevě, zkouška endodontického použití) se provádějí jen v krajní nutnosti u potenciálně nebezpečných materiálů.

Dentální slitiny a slitiny pro dentální amalgámy jsou v klinické praxi používány již dlouhou řadu let, což výběr preklinických zkoušek rovněž zjednodušuje, neboť z jejich známého chemického složení lze s velkou mírou pravděpodobnosti odhadnout i jejich biokompatibilitu.

Pro chování slitin v prostředí dutiny ústní je rozhodující jejich odolnost vůči agresivním vlivům prostředí a odolnost dentálních výrobků, zhotovených z těchto slitin, vůči fyzikálně-mechanické zátěži. Korozní vlastnosti slitin, testované v definovaných podmínkách in vitro, které do značné míry simulují podmínky ústního prostředí, jsou rozhodující při ověřování vlastností slitin pro jejich klinické použití.

### Výrobci dentálních slitin by proto měli zajistit především:

- testování korozních vlastností příslušných slitin v rozsahu metod doporučených nebo požadovaných příslušnými technickými standardy (ČSN EN ISO 24234:2005, ČSN EN ISO 22674:2007, ČSN EN ISO 10271:2012), eventuálně dalšími podobnými metodikami;
- doplnit testování korozních vlastností o normové testy cytotoxicity korozních produktů a kontaktní cytotoxicity slitin na tkáňových kulturách in vitro (ČSN EN ISO 7405:2011, ČSN EN ISO 10993-1:2010, ČSN EN ISO 10993-5:2010, ČSN EN ISO 10993-15:2009).

Tyto skupiny testů jsou rozhodující pro průkaz příznivých biologických vlastností slitin pro klinické použití a pro omezení rizika nežádoucích účinků při jejich použití v klinické praxi.

## LITERATURA

1. **Abbraccio, M. P., Simmons-Hansen, J., Costa, M.:** Cytoplasmic dissolution of phagocytized crystalline nickel sulfide particles: a prerequisite for nuclear uptake of nickel. *J. Toxicol. Environ. Health*, roč. 9, 1982, č. 4, s. 663–676.
2. **ADA Council on Scientific Affairs.** Dental Amalgam: Update on Safety Concerns. *J. Am. Dent. Assoc.*, roč. 129, 1998, č. 4, s. 494–503.
3. **Anusavice, K. J.:** *Phillips' Science of Dental Materials*, Philadelphia: Saunders, 2003.
4. **Arroujal, F. Z., Hildebrand, H. E., Vophi, H., Marzin, D.:** Genotoxic activity of nickel subsulphide-alpha Ni3S2. *Mutagenesis*, roč. 5, 1990, č. 6, s. 583–589.
5. **Axell, T., Spiechowicz, E., Glantz, P. O., Andersson, G., Larsson, A.:** A new method for intraoral patch testing. *Contact Dermatitis*, roč. 15, 1986, č. 2, s. 58–62.
6. **Basketter, D., Dooms-Goossens, A., Karlberg, A. T., Lepoittevin, J. R.:**

- The chemistry of contact allergy: why is a molecule allergenic? Contact Dermatitis, roč. 32, 1995, č. 2, s. 65–73.
7. Boffetta, P., Fryzek, J. P., Mandel, J. S.: Occupational exposure to beryllium and cancer risk: a review of the epidemiologic evidence. Crit. Rev. Toxicol., roč. 42, 2012, č. 2, s. 107–118.
  8. Drake, P. L., Hazelwood, K. T.: Exposure related health effects of silver and silver compounds: a review. Ann. Occup. Hyg., roč. 49, 2005, č. 7, s. 575–585.
  9. European Commission, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR): The safety of dental amalgam and alternative dental restoration materials and users. Preliminary Report. May 2008; dostupné na [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_scenih/docs/scenih\\_o\\_011.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenih/docs/scenih_o_011.pdf)
  10. Faurschou, A., Menné, T., Johansen, J. D., Thyssen, J. P.: Metal allergen of the 21st century – a review on exposure, epidemiology and clinical manifestations of palladium allergy. Contact Dermatitis, roč. 64, 2011, č. 4, s. 185–195.
  11. FDA Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration 21 CFR Part 872 [Docket No. FDA-2008-N-0163] (formerly Docket No. 2001N-0067) RIN 0910-AG21 Dental Devices: Classification of Dental Amalgam, Reclassification of Dental Mercury, Designation of Special Controls for Dental Amalgam, Mercury, and Amalgam Alloy. <http://www.fda.gov/downloads/medicaldevices/productsandmedicalprocedures/dentalproducts/dentalamalgam/ucm174024.pdf>
  12. FDI Policy Statement – WHO Consensus Statement on Dental Amalgam. <http://www.fdiworldental.org/media/11399/WHO-consensus-statement-on-dental-amalgam-1997.pdf>
  13. Goyer, R. A.: Toxic effects of metals. In: Klaassen, C. D., Amdur, M. O., Doull, J., eds. Cassarett and Doull's toxicology. 3rd ed. New York, Macmillan, 1986. p. 582–635.
  14. Hartwig, A.: Cadmium and cancer. Met. Ions Life Sci., roč. 11, 2013, s. 491–507. doi: 10.1007/978-94-007-5179-8\_15.
  15. Hasséus, B., Jontell, M., Bergenholtz, G., Eklund, C., Dahlgren, U. I.: Langerhans cells from oral epithelium are more effective in stimulating allogenic t-cells in vitro than Langerhans cells from skin epithelium. J. Dent. Res., roč. 78, 1999, č. 3, s. 751–758.
  16. Hensten-Pettersen, A.: Casting alloys: side effects. Adv. Dent. Res., roč. 6, 1992, č. 1, s. 38–43.
  17. Klaassen, C. D., ed.: Casarett and Doull's toxicology. The basic science of poisons. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2001.
  18. Magaye, R., Zhao, J.: Recent progress in studies of metallic nickel and nickel-based nanoparticles' genotoxicity and carcinogenicity. Environ. Toxicol. Pharmacol., roč. 34, 2012, č. 3, s. 644–650.
  19. Merritt, K., Brown, S. A.: Release of hexavalent chromium from corrosion of stainless steel and cobalt-chromium alloys. J. Biomed. Mater. Res., roč. 29, 1995, č. 5, s. 627–633.
  20. Müller, J., Sigel, R. K., Lippert, B.: Heavy metal mutagenicity: insights from bioinorganic model chemistry. J. Inorg. Biochem., roč. 79, č. 1–4, s. 261–265.
  21. Namikoshi, T., Yoshimatsu, T., Suga, K., Fujii, H., Yasuda, K.: The prevalence of sensitivity to constituents of dental alloys. J. Oral Rehabil., roč. 17, 1990, č. 4, s. 377–381.
  22. Oiler, A. R., Costa, M., Oberdörster, G.: Carcinogenicity assessment of selected nickel compounds. Toxicol. Appl. Pharmacol., roč. 143, 1997, č. 1, s. 152–166.
  23. Osborne, J. W., Berry, T. G.: Zinc-containing high copper amalgams: A 3-year clinical evaluation. Am. J. Dent., roč. 5, 1992, č. 1, s. 43–45.
  24. Sarkar, N. K., Park, J. R.: Mechanism of improved resistance of zinc-containing dental amalgams. J. Dent. Res., roč. 67, 1988, č. 10, s. 1312–1315.
  25. SCHER Scientific Committee on Health and Environmental Risks 2008: Opinion on the environmental risks and indirect health effects of mercury in dental amalgam. [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_scher/docs/scher\\_o\\_089.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scher/docs/scher_o_089.pdf)
  26. Schmalz, G., Arenholt-Bindslev, D., Hiller, K. A., Schweikl, H.: Epithelium fibroblast co-culture for assessing mucosal irritancy of metals used in dentistry. Eur. J. Oral Sci., roč. 105, 1997, č. 1, s. 85–91.
  27. Schmalz, G., Schuster, U., Schweikl, H.: Influence of metals on IL-6 release in vitro. Biomaterials, roč. 19, 1998, č. 18, s. 1689–1694. (c)
  28. Silvennoinen-Kasinen, S., Ikuahimo, I., Tuillidainen, A.: TAP1 and TAP2 genes in nickel allergy. Int. Arch. Allergy Immunol., roč. 114, 1997, č. 1, s. 94–96.
  29. Sunderman, F. W., ed.: Nickel in the human environment. Publication 53. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 1984. p. 3–485.
  30. Tennant, R. W., Margolin, B. H., Shelby, M. D., Zeiger, E., Haseman, J. K., Spalding, J. E., et al.: Prediction of chemical carcinogenicity in rodents from in vitro genetic toxicity assays. Science, roč. 236, 1987, č. 4804, s. 933–941.
  31. Todd, D. J., Burrows, D.: Patch testing with pure palladium metal in patients with sensitivity to palladium chloride. Contact Dermatitis, roč. 26, 1992, č. 5, s. 327–331.
  32. Uçar, Y., Brantley, W. A.: Biocompatibility of dental amalgams. Int. J. Dent., roč. 2011, 2011, 981595 doi: 10.1155/2011/981595.
  33. van der Valk, P. G., Devos, S. A., Coenraads, P. J.: Evidence-based diagnosis in patch testing. Contact Dermatitis, roč. 48, 2003, č. 3, s. 121–125.
  34. Vreeburg, K. J., van Hoogstraten, I. M., von Biomberg, B. M., de Groot, K., Scheper, R. J.: Oral induction of immunological tolerance to chromium in the guinea pig. J. Dent. Res., roč. 69, 1990, č. 10, s. 1634–1639.
  35. Wahlberg, J. E., Boman, A. S.: Cross reactivity to palladium and nickel studied in the guinea pig. Acta Derm. Venereol., roč. 72, 1992, č. 2, s. 95–97.
  36. Wataha, J. C., Ratanasathien, S., Hanks, C. T., Sun, Z.: In vitro IL-1 beta and TNFalpha release from THP-1 monocytes in response to metal ions. Dent. Mater., roč. 12, 1996, č. 6, s. 322–327. (a)
  37. Wataha, J. C., Hanks, C. T.: Biological effects of palladium and risk of using palladium in dental casting alloys. J. Oral Rehabil., roč. 23, 1996, č. 5, s. 309–320.
  38. WHO 2004 – Inorganic tin in drinking water. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwa/chemicals/tin.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwa/chemicals/tin.pdf)
  39. Youdelis WV. Effect of indium on residual mercury content and compressive strength of amalgam. Dent. J., roč. 45, 1979, č. 2, s. 60–62.

ČESKÁ  
STOMATOLOGIE  
ročník 114,  
2014, 6,  
s. 116–121

Studie podpořena projektem PRVOUK reg.  
č. P 28/LF1/6.

Prof. MUDr. Zdeněk Broukal, CSc.

Stomatologická klinika  
1. LF UK a VFN  
Karlovo nám. 32  
120 00 Praha 2  
e-mail: broukal@vus.cz