

# ENDOGENNĚ PRODUKOVANÁ CHEMILUMINISCENCE VNITŘNÍCH A POVRCHOVÝCH STRUKTUR ZUBU: PILOTNÍ STUDIE

Původní práce

## ENDOGENOUSLY PRODUCED CHEMILUMINESCENCE OF INNER AND OUTER TOOTH STRUCTURES: A PILOT STUDY

Original article

Beneš P.<sup>1,2,\*</sup>, Poplová M.<sup>3</sup>, Jirásek P.<sup>1,2</sup>, Havelka D.<sup>3</sup>, Cífra M.<sup>3</sup>, Vacek J.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Klinika zubního lékařství, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

<sup>2</sup>Klinika zubního lékařství, Fakultní nemocnice Olomouc

<sup>3</sup>Výzkumný tým Bioelektrodynamika, Ústav fotoniky a elektroniky, Akademie věd ČR, v. v. i., Praha

<sup>4</sup>Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

\*Korespondující autor

### SOUHRN

**Úvod:** V důsledku metabolických dějů dochází v živých strukturách k endogenní produkci chemiluminiscence, kterou také označujeme jako biologickou autochemiluminiscenci (BAL). Generování BAL je úzce spojeno s oxidačními procesy, tvorbou volných radikálů a obecně oxidačně-redukční homeostázou zkoumaného biologického materiálu. BAL byla již dříve studována v savčích buněčných modelech a tkáních. Doposud ovšem nebyl tento jev popsán v případě struktur zubní tkáně. Kromě endogenně generované BAL lze BAL indukovat i exogenně, a to jak fyzikálními (UV záření, mechanické poškození, teplo), tak i chemickými (oxidační činidla, např. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a biotickými (patogeny) faktory.

**Metodika:** V předložené práci byla zkoumána endogenně produkovaná i exogenně indukovaná BAL v povrchových a vnitřních strukturách semiretinovaných a retinovaných třetích molárů, které byly indikovány k extrakci zubním lékařem pro jejich nevhodné uložení v čelisti u dvou pacientů (žena, 21 let, muž, 22 let). Detekce BAL byla provedena po mechanickém odstranění zubního plaku rotačním kartáčkem. Pomocí piezoelektrické pily byly připraveny podélné řezy vedené tak, aby došlo k odhalení všech vnitřních částí zubu. Takto připravené vzorky – celého vnitřního řezu a vnější části celého zubu – byly podrobeny detekci BAL ve světlotěsné komoře za použití fotonásobičového modulu. Následně byly vzorky ošetřeny roztokem oxidačního činidla 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a redukčního činidla 10 mM TCEP (tris(karboxyethyl)fosfin).

**Výsledky:** U obou vzorků zubu bylo prokázáno, že produkuje BAL. Produkce endogenní chemiluminiscence byla pozorována ve vnitřních strukturách zubu (18 600 pulzů/600 s), která byla přibližně 2,7krát vyšší než BAL detekovaná na povrchových strukturách zubu (6 900 pulzů/600 s).

Po ošetření H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> došlo k významnému (až 14násobnému) nárůstu BAL pro vnitřní struktury zubu ve srovnání s bazální intenzitou endogenně produkované BAL. Aplikace TCEP (negativní kontrola) vedla k mírnému potlačení produkce BAL.

**Závěr:** Výsledky této pilotní studie ukazují, že BAL může být produkována nejenom měkkými tkáněmi, ale i tvrdou zubní tkání. Získané výsledky by mohly být využity k výzkumu metabolické aktivity a reaktivity vnitřních i vnějších částí zubu, a to především v kontextu výzkumu oxidačně-redukční homeostázy. Detekce BAL by také mohla být aplikována pro vývoj nových zobrazovacích technik.

**Klíčová slova:** biologická autochemiluminiscence, struktury zubu, oxidační stres

### SUMMARY

**Introduction:** As a result of metabolic processes, the endogenous production of chemiluminescence occurs in living biological structures, which we also refer to as biological autochemiluminescence (BAL). The generation of BAL is closely connected with oxidation processes, the formation of free radicals, and in general the redox homeostasis of the investigated biological material. BAL has previously been studied in mammalian cells and tissues. So far, however, this phenomenon has not been described in dental tissue structures. In addition to endogenously generated BAL, BAL can be exogenously induced by physical (UV radiation, mechanical damage, heat), chemical (oxidizing agents, e.g. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) or biotic (pathogens) factors.

**Methods:** Endogenously and exogenously induced BAL were investigated on the surface and internal structures of semi-impacted and impacted third molars, which

were indicated for extraction by a dentist due to their inappropriate placement in the jaw in two patients (a 21-year-old woman and a 22-year-old man). BAL detection was performed with samples after dental plaque was mechanically removed with a rotating brush. Using a piezosurgery unit with a saw headpiece, longitudinal sections were made to reveal all internal parts of the tooth. The samples prepared in this way – the entire internal section and the external part of the entire tooth – were subjected to BAL detection in a dark chamber using H7360-01 PMT photomultiplier. Subsequently, the samples were treated with a solution of the oxidizing agent 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> or the reducing agent 10 mM TCEP (tris(carboxyethyl)phosphine).

**Results:** Both tooth samples were shown to produce BAL. Endogenous chemiluminescence production was observed in the internal structures of the tooth (18,600

counts/600 s), which was 2.7-fold higher than the BAL detected on the tooth outer surfaces (6,900 counts/600 s). After H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment, there was a significant (up to 14-fold) increase in BAL for internal tooth structures compared to the basal intensity of endogenously produced BAL. The application of TCEP (negative control) resulted in a residual suppression of BAL production.

**Conclusion:** The results of this pilot study show that BAL can be produced not only by soft tissues but also by hard dental tissue. The obtained results could be used for further research of the metabolic activity and reactivity of the inner and outer parts of the tooth, especially in the context of redox biology research. BAL detection could also be applied in the development of new imaging techniques.

**Key words:** biological autochemiluminescence, tooth structures, oxidative stress

Beneš P, Poplová M, Jirásek P, Havelka D, Cifra M, Vacek J.

Endogenně produkovaná chemiluminiscence vnitřních a povrchových struktur zubu: pilotní studie.

Čes. stomatol. Prakt. zub. lék. (Czech Dental Journal). 2025; 125(1): 5–11. doi: 10.51479/cspzl.2025.001

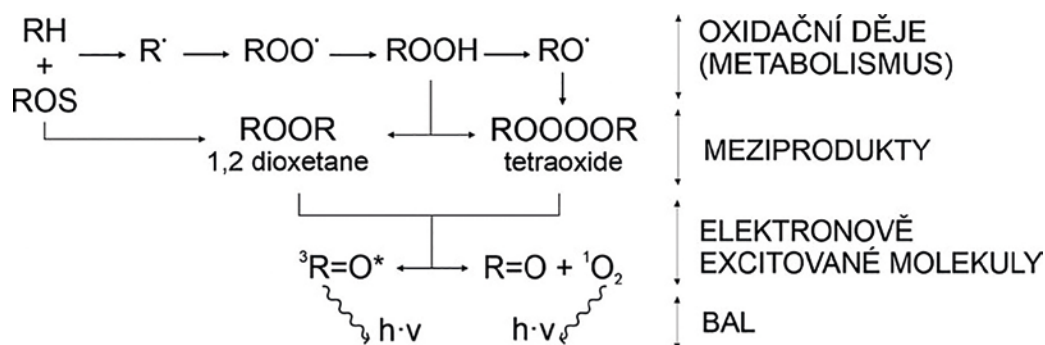
## ÚVOD

V biologických systémech, kde dochází k oxidačním procesům, vzniká takzvaná biologická autochemiluminiscence (BAL) [1]. Je taktéž běžně používán pojem ultra slabá emise fotonů [2]. Oxidační děje probíhající v biologických vzorcích navozují tvorbu elektronově excitovaných stavů molekul, které poté mohou vést k emisi fotonů (**obr. 1**). Jev probíhá endogenně bez nutnosti vnějších vstupů či zásahů. Jedná se o proces, který byl pozorován u mikroorganismů, rostlin i živočichů a dá se pozorovat na různých strukturálních úrovních – buňkách, orgánech i jednotlivých organismech [4].

Elektronově excitované stavy molekul vznikají v průběhu oxidačních metabolických procesů a při podmínkách, které jsou spojeny s produkcí reaktivních forem kyslíku (ROS), viz **obr. 1** [3, 5]. BAL tedy vzniká endogenně v důsledku metabolických dějů, které představují základní biochemické reakce, jako je buněčné dýchání nebo oxidační vzplanutí buňky. Exogenně indukovaná BAL může být podmíněna biotickými faktory, jako jsou viry, houby a bakterie, nebo faktory abiotickými. Abiotické faktory můžeme rozdělit na chemické a fyzikální. Mezi fyzikální řadíme UV záření, mechanické poškození a teplo. Mezi chemické činidla řadíme např. toxiny, cigaretový kouř a oxidační činidla, především H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [6]. Tyto faktory mohou vést k nadměrné produkci ROS, navození oxidačního stresu a ovlivnění oxidačně-redukční homeostázy [7].

Přestože má peroxid vodíku poměrně nízký redoxní potenciál, aby mohl přímo oxidovat biomolekuly, může se účastnit Fentonovy reakce nebo Haber-Weissovy reakce vedoucí ke vzniku hydroxylového radikálu (HO·) [8], což je vysoce reaktivní a biologicky relevantní radikál schopný oxidovat biomolekulární struktury [9]. Hydroxylové radikály (nebo jiné sekundárně produkované radikály) mohou poté iniciovat řetězovou reakci, která se projevuje jako autooxidace [10]. Tento komplexní proces může vést k emisi BAL jak u živých, tak i neživých vzorků biologického původu. U živých organismů je udržována oxidačně-redukční homeostáza, a tím i stabilní úroveň BAL. Nezbytnou součástí této homeostázy jsou antioxidanty, které pomáhají udržovat dynamickou rovnováhu v produkci reaktivních forem kyslíku (ROS) [7]. ROS vznikají v organismu přirozeně během metabolických procesů, ale jejich nadměrná produkce může vést k oxidačnímu stresu a způsobit nevratné poškození buněk a tkání. Mezi enzymové antioxidanty patří např. superoxid-dismutáza, kataláza či glutationperoxidáza, zatímco mezi nízkomolekulárními antioxidanty řadíme vitamíny C a E, karotenoidy, koenzym Q10 a další. Přítomnost těchto antioxidantů typicky snižuje intenzitu BAL.

BAL u lidských subjektů byla detekována pouze z povrchově přístupných částí těla, přičemž nejvíce studií bylo zaměřeno na výzkum kůže. Intenzita BAL u člověka závisí na různých faktorech [11], např. na teplotě (související s lokálním prokrvením a in-



**Obr. 1** Generování BAL v důsledku buněčných oxidačních procesů: Biomolekula (RH) reaguje s hydroxylovým radikálem ( $\text{HO}^\bullet$ ) nebo singletovým kyslíkem ( $^1\text{O}_2$ ), což spouští řetězec oxidačních reakcí vedoucí k produkci různých radikálů ( $\text{R}^\bullet$ ,  $\text{RO}^\bullet$ ,  $\text{ROO}^\bullet$ ) či hydroperoxidu ( $\text{ROOH}$ ). Jejich další interakce může vést ke vzniku meziproduktů, jako jsou dioxetany ( $\text{ROOR}$ ) nebo tetraoxidy ( $\text{ROOOOR}$ ). Jejich dekompozicí pak mohou následně vznikat elektronově excitované molekuly, tripletně excitovaný karbonyl ( $^3\text{R}=\text{O}^*$ ) nebo singletový kyslík. Tyto excitované molekuly mohou při návratu do základního stavu vyzářit přebytečnou energii ve formě fotonu ( $h\nu$ ) [3].

**Fig. 1** Generation of BAL due to cellular oxidative processes. A biomolecule (RH) reacts with hydroxyl radical ( $\text{HO}^\bullet$ ) or singlet oxygen ( $^1\text{O}_2$ ), which initiates the oxidative cascade resulting in the production of free radicals ( $\text{R}^\bullet$ ,  $\text{RO}^\bullet$ ,  $\text{ROO}^\bullet$ ) or hydroperoxide ( $\text{ROOH}$ ). This leads to the formation of dioxetane ( $\text{ROOR}$ ) or tetraoxide ( $\text{ROOOOR}$ ). Their decay can lead to the formation of triplet excited carbonyls ( $^3\text{R}=\text{O}^*$ ) or singlet oxygen. These excited molecules can emit excess energy in the form of a photon ( $h\nu$ ) when returning to the ground state [3].

tenzitou metabolismu), kdy s poklesem teploty subjektu klesá i intenzita BAL [12]. Dále BAL vykazuje anatomickou asymetrii [13] a závislost na konkrétním místě měření [14]. Nejnížší intenzita byla naměřena na hrudníku, zatímco nejvyšší byla detekována na končetinách a hlavě. BAL také podléhá dennímu cyklu, kde nejnížší intenzita bývá ráno a postupně se zvyšuje během odpoledne [15, 16]. Kromě toho je BAL závislá na ročním období, kdy nejvyšší hodnoty byly naměřeny v létě a nejnížší na podzim [17]. Spontánní úroveň BAL přirozeně stoupá s věkem [18] nebo může krátkodobě vzrůst během fyzické aktivity [19]. Na intenzitu BAL má vliv i zdravotní stav, například u pacientů s hemiparézou dochází k nárůstu asymetrie BAL u horních končetin [20], zatímco při nachlazení dochází ke spektrální změně BAL [21]. Nedávná studie také naznačila, že BAL by mohla být využita při diagnóze diabetu [22]. Z toho plyne, že systémové nebo vnitřní stavy lidského těla mohou výrazně ovlivňovat procesy probíhající v kůži vedoucí ke změně v produkci BAL. Zobrazování BAL pomocí ultra senzitivních zařízení by tak mohlo potenciálně umožnit sledování oxidačního stresu v opticky přístupných oblastech lidského těla, jak bylo nedávno popsáno právě pro kůži [6].

Cílem této pilotní studie bylo zjistit, zda lidské zuby vykazují BAL a zda jsou rozdíly mezi endogenní produkcí BAL a indukovanou BAL produkcí pomocí peroxidu vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

## MATERIÁL A METODIKA

Pilotní studie byla prováděna se souhlasem Etické komise FN a LF UP Olomouc (č. j. 26/24) a podle stanov Helsinské deklarace z roku 1975, revidované v roce 2013. Pro účely studie byly extrahovány semiretinované a retinované třetí moláry, které byly indikovány k extrakci zubním lékařem pro jejich nevhodné uložení v čelisti u dvou pacientů (pacient A: žena, 21 let, zub 18; pacient B: muž, 22 let, zub 48, fotodokumentace uvedena na

**obrázku 2).** Zuby byly chirurgicky extrahovány v lokální svodné a infiltrační anestezii s použitím 4 ml 4% artikainu s adrenalinem v koncentraci 1 : 200 000 (Supracain, Zentiva, Praha) a následně byly uloženy do 0,1 M fosfátového pufru (pH 7). V tmném prostředí byly vzorky transportovány do laboratoře Ústavu fotoniky a elektroniky Akademie věd ČR (ÚFE AV ČR), kde probíhala příprava vzorku a samotné měření BAL. Od extrakce do provedení analýz BAL uběhlo šest hodin.

Fotodokumentace jednotlivých zubů a jejich řezů byla provedena před měřením BAL digitálním USB mikroskopem AM73915MZT (Dino-Lite, Taipei, Tchaj-wan). Nejprve byly mechanicky odstraněny periodontální ligamenta, zbytky gingivy, příměs krve, drobné kostní struktury a biofilm. Následoval oplach v ultračisté vodě (Merck, Darmstadt, Německo). Zuby byly očištěny pomocí jemných mechanických rotačních kartáčků (EVE Diacomp Plus Twist – Eve Ernst Vetter GmbH, Pforzheim, Německo) na chirurgickém motoru (Kavo MASTERSurg – KaVo, Biberach an der Riß, Německo), vždy za masivního chlazení (100 ml/min) fyziologickým roztokem (FR), aby nedocházelo k zahřívání povrchu zubu. Po měření BAL z povrchu zubu byl proveden vertikální řez zubem na dvě přibližně stejné poloviny piezoelektrickou pilou (Mectron Piezosurgery white – Caronno Pertusella, Itálie), opět za stálého chlazení FR. Mechanické očištění zubu bylo provedeno pouze na jeho povrchu, nikoli na povrchu vertikálních řezů.

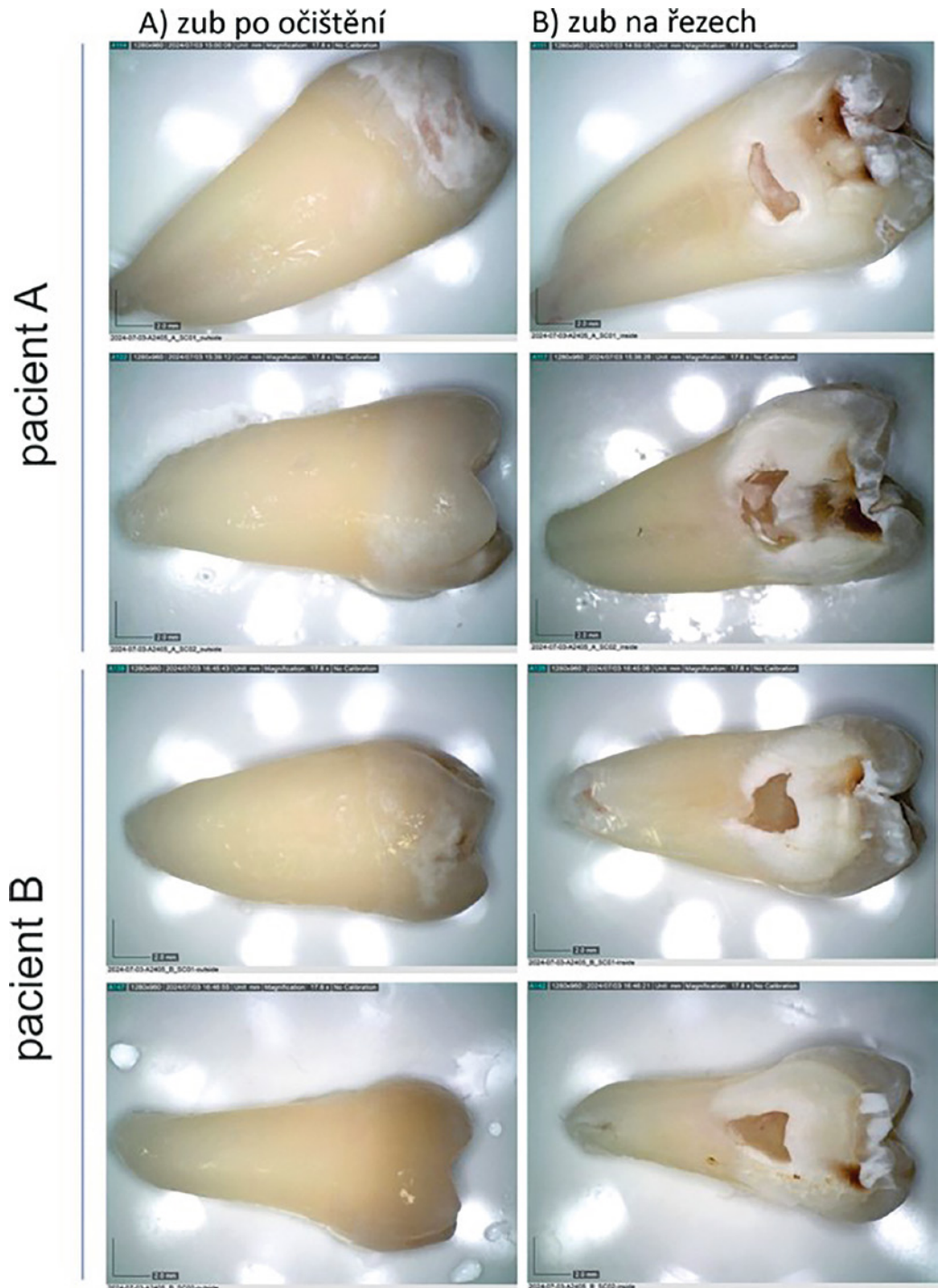
Pro měření BAL byla použita světlotěsná komora (Bioelektrodynamika, ÚFE AV ČR, Praha) s fotonásobičovým modulem H7360-01 (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japonsko), viz **obr. 3**. Příprava vzorku probíhala v tmné komoře, kde byl zub umístěn nejméně deset minut před měřením jako prevence před dosvitem. Zub byl měřen ve skleněné Petriho misce vzdálené 1 cm od detektoru při teplotě 23 °C. Kromě měření endogenně produkovaného BAL byl také

**Obr. 2**

Fotografie (A) zubů po mechanickém očištění z obou stran, kde probíhalo měření BAL a (B) podélné řezy zubů 18 pacienta A a 48 pacienta B, na které bylo následovně aplikováno oxidační nebo redukční činidlo.

**Fig. 2**

Photodocumentation of (A) teeth after mechanical cleaning – both sides, and (B) longitudinal sections of tooth 18 from patient A and tooth 48 from patient B. The oxidation and reduction agents were applied subsequently to these surfaces.



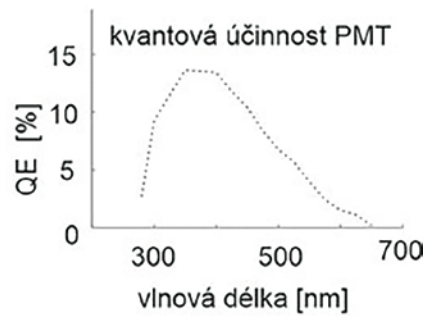
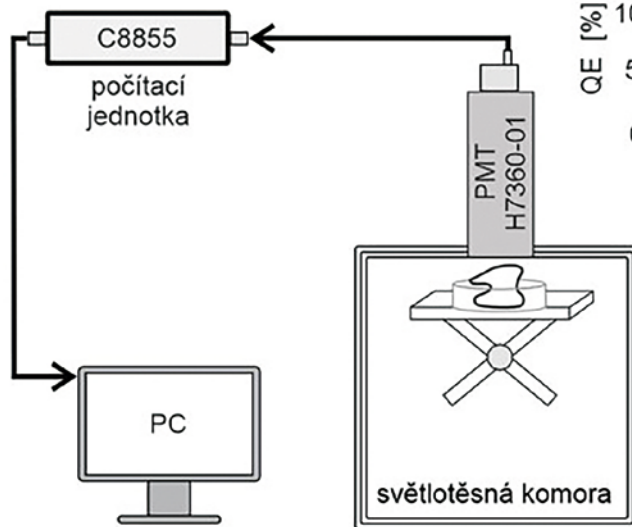
aplikován 3% peroxid vodíku (Merck, Darmstadt, Německo) nebo redukční činidlo 10 mM TCEP.HCl (Merck, Darmstadt, Německo) po dobu deseti minut pro účely exogenní indukce či potlačení BAL. Obě látky byly aplikovány ve tmě na vnitřní strukturu zubu, resp. na separátní řez. Naměřené signály byly odečteny pomocí jednotky C8855 (Hamamatsu Photonics, Shizuoka, Japonsko).

Data byla zpracována v programu Matlab verze 9.12 (MathWorks, Natick, Massachusetts, USA).

**VÝSLEDKY**

U obou vzorků zubů bylo prokázáno, že produkují BAL, a to jak na vnějším povrchu, tak i v případě vnitřních struktur. Měření bylo prováděno po dobu 600 s. Produkce BAL byla pozorována ve vnitřních strukturách zubu (18 600 pulzů/600 s), kde byla přibližně 2,7krát vyšší než BAL detekovaná na povrchových strukturách zubu (6900 pulzů/600 s) – hodnoty jsou uvažovány po odečtení úrovně šumu (**graf 1**). Spojnicové **grafy 1A a 1B** zobrazují naměřená data, z jejichž sumy byla

## Schéma BAL měření



Obr. 3

Experimentální uspořádání měřicí aparatury BAL zubu s fotomultiplikátorem H7360-01 a grafem jeho kvantové účinnosti. Pro vlnovou délku 300 nm je kvantová účinnost  $QE = 10\%$ , což znamená, že ze 100 fotonů dopadlých na detektor jich bylo zaznamenáno 10.

Fig. 3

Experimental setup for BAL monitoring of tooth samples with H7360-01 photomultiplier module. A graph of quantum efficiency (QE) is shown as an inset. For a wavelength of 300 nm, the quantum efficiency was 10%, which means that out of 100 photons that impacted the detector, 10 were recorded.

spočítána průměrná hodnota a směrodatná odchylka zobrazená ve výsledném sloupcovém grafu 1C. Po ošetření  $H_2O_2$  došlo k významnému (až 14násobnému) nárůstu BAL pro vnitřní struktury zubu ve srovnání s bazální intenzitou endogenně produkovaného BAL.

## DISKUSE

Výsledky této pilotní studie naznačují, že BAL není produkována pouze měkkými tkáněmi, ale i tvrdou tkání zubu. Zubní tkáň spontánně generuje BAL v podobných intenzitách, jaké pozorujeme například u lidské kůže [6]. Stejně jako u jiných biologických systémů jsme i u zubní tkáně zaznamenali efekt dosvitu po předchozí expozici běžnému laboratornímu (dennímu) osvětlení; data nejsou ukázána. U zkoumaných vzorků docházelo po expozici na denním světle k okamžitému zvýšení intenzity BAL.  $H_2O_2$  je prekurzorem pro produkci ROS [23], což vede ke zvýšení BAL. Aplikace TCEP (negativní kontrola) vedla ke snížení produkce BAL. TCEP byl použit, protože vytváří redukující prostředí [24, 25], které potlačuje oxidační přeměny v tkáni zubu, jenž je během experimentu přirozeně exponován molekulárnímu kyslíku. Po umístění vzorku zpět do temné komory se BAL postupně snižovala na výchozí spontánní úroveň endogenně generovaného BAL. Intenzivnější produkce BAL na površích vnitřních řezů zubů koresponduje s přítomností živé tkáně a významně vyššího zastoupení organických sloučenin v dentinu a pulpě nežli ve sklo-

vině [26]. V rámci interpretace výsledků je třeba zohlednit rozdíl ve velikosti zubního kazu mezi vzorky A a B, kde vzorek A, na kterém byl přítomný okluzální kaz většího rozsahu, vykazoval vyšší aktivitu BAL ve srovnání se vzorkem B. V dalším výzkumu by bylo vhodné použít intaktní zuby (retinované třetí moláry nebo zuby určené k extrakci z ortodontické indikace).

Přidání peroxidu vodíku vedlo k nárůstu BAL, který interpretujeme jako důsledek zvýšené produkce hydroxylových radikálů v zubní tkáni, což iniciovalo reakce zvyšující množství elektronově excitovaných stavů. Protože byl peroxid vodíku přidán jednorázově a nedocházelo k jeho kontinuálnímu přísunu, pozorovali jsme v kinetice BAL postupný pokles intenzity, což odpovídá jeho spotřebování. Tento jev byl zaznamenán i u jiných systémů, například u lidské kůže [6], kde peroxid vodíku vykazoval podobný účinek na kinetiku BAL.

Z logistických důvodů byly výše popsané analýzy provedeny se vzorky zubů po šesti hodinách od extrakce. Pokud je zub uložen v prostředí podporujícím přežití buněk (například v transportním médiu, jako je Hank's Banced Salt Solution (HBSS) nebo mléko), mohou buňky přežít až 24 hodin nebo déle, než začnou ztrácet schopnost regenerace [27]. V navazujících experimentech budeme cílit na kinetiku BAL, kterou budeme monitorovat ihned po extrakci, a sledovat tak odumírání zubní tkáně v reálném čase. Komplementární analýzy budou provedeny i se zuby s nedokončeným

**Graf 1**

Produkce BAL z různých částí zkoumaných vzorků zubů.

**(A)** Kinetika endogenní produkce BAL z vnějšího povrchu mechanicky očištěného zubu pacienta A (plná modrá) a pacienta B (tečkovaná modrá), měřena ze dvou stran zubu. Zobrazen je také šum měřicího systému: pozadí fotonásobičového modulu H7360-01 (plná šedivá) s prázdnou skleněnou Petriho miskou (tečkovaná šedivá).

**(B)** Porovnání produkce BAL vnitřní struktury zubů měřena na dvou řezech pacienta A (plná černá) a pacienta B (tečkovaná černá). Dále je zobrazen efekt  $H_2O_2$  způsobující zvýšení BAL na řezu zubu A (plná červená) a B (tečkovaná červená) a efekt TCEP na pokles BAL na řezu zubu A (plná zelená) a B (tečkovaná zelená).

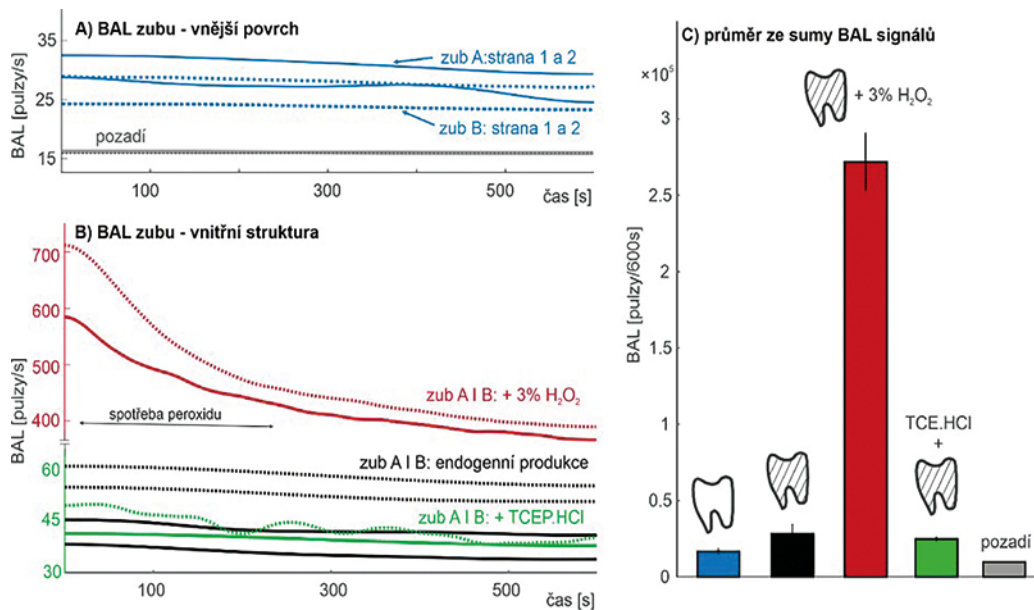
**(C)** Sloupcový graf zobrazuje průměrnou BAL a směrodatnou odchylku ze sumy signálů BAL obou zubů z vnějšího povrchu očištěného zubu (modrá), řezu zubů (černá), řezu zubu po aplikaci  $H_2O_2$  (červená) a TCEP (zelená) a měřicího pozadí (šedivá).

**Graph 1**

BAL kinetics for **(A)** the outer surfaces of mechanically cleaned teeth of both patient A (solid blue) and patient B (dotted blue) from two sides, and measurement of the background noise from the H7360-01 photomultiplier module (solid gray) and the same with a glass Petri dish (dotted gray).

**(B)** BAL production of the tooth internal structure in two sections of patient A (solid black) and patient B (dotted black); the effect of  $H_2O_2$  on tooth section A (solid red) and B (dotted red) and TCEP on sections of tooth A (solid green) and B (dotted green).

**(C)** Bar graph representing the average BAL calculated from the sum of the signals of both teeth: the outer surface of the cleaned tooth (blue), the tooth section (black), the tooth section after the application of  $H_2O_2$  (red) and TCEP (green), and the measurement of the background noise (grey).



vývojem, u kterých předpokládáme vyšší metabolickou aktivitu.

Získané výsledky by mohly být využity k výzkumu metabolické aktivity a reaktivity vnitřních i vnějších částí zubu, a to především v kontextu výzkumu oxidačně-redukční homeostázy a regulace. Detekce BAL by také mohla být aplikována pro vývoj nových (neinvasivních) zobrazovacích technik. Taková řešení by přinášela možnost zobrazování oxidoredukční dynamiky zcela bez použití chemického značení, což by bylo výhodou zejména v klinických aplikacích in situ. V případě, že by byla provedena srovnávací analýza detekce BAL na mechanicky očištěném zubu a zubu, který je pokryt zubním kamenem, plakem nebo pouze pelikulou, bylo by možné zkoumat metabolickou aktivitu těchto entit či povrchových struktur, případně sledovat metabolickou aktivitu adherentních bakterií či patogenů. Také by bylo možné touto cestou srovnávat aktivitu a reaktivitu oblastí nativní skloviny a kariézní léze.

**ZÁVĚR**

Výsledky této pilotní studie ukazují, že BAL může být produkována vnitřními i vnějšími strukturami zubní tkáně. Pomocí aplikace peroxidu vodíku nebo TCEP je možné regulovat intenzitu BAL u zkoumaných vzorků zubní tkáně. Získané výsledky by mohly být využity k výzkumu metabolické aktivity a reaktivity jednotlivých částí zubu a pro vývoj nových zobrazovacích technik.

**Poděkování**

Autoři děkují dr. Vlastimilu Dorčákovi (Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékař-

ská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci) za kritické posouzení textu a diskusí. Za finanční podporu děkujeme Univerzitě Palackého v Olomouci, RVO 61989592. MP děkuje projektu L100672501 programu PPLZ AV ČR za podporu. MC a DH děkují projektu GAČR č. 25-16700S. Dále za jazykovou úpravu anglických textů patří poděkování B. J. Watson-Jonesovi, MEng.

**Prohlášení o střetu zájmů**

Autoři deklarují, že nemají žádný konflikt zájmů týkající se tématu diskutovaného v tomto článku.

**Podíl autorů na publikaci**

Pavel Beneš a Petr Jirásek provedli odběr klinického vzorku, Pavel Beneš a Michaela Poplová přípravu vzorků a měření BAL. Michaela Poplová provedla zpracování a analýzu dat. Daniel Havelka se podílel na měření BAL a zpracování dat. Pavel Beneš, Michal Cifra, Michaela Poplová a Jan Vacek se podíleli na designu experimentu, vyhodnocení získaných výsledků a přípravě první verze rukopisu. Všichni autoři přispěli k sepsání rukopisu.

**Korespondující autor**

**MDDr. Pavel Beneš**

Klinika zubního lékařství  
Lékařská fakulta Univerzity Palackého  
v Olomouci  
Fakultní nemocnice Olomouc  
Palackého 12  
779 00 Olomouc  
e-mail: pavel.benes@fnol.cz

## LITERATURA

**1. Vahalová P, Cifra M.**

Biological autoluminescence as a perturbation-free method for monitoring oxidation in biosystems. *Prog Biophys Mol Biol.* 2023; 177: 80–108. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2022.10.009>

**2. Cifra M, Pospíšil P.**

Ultra-weak photon emission from biological samples: Definition, mechanisms, properties, detection and applications.

*J Photochem Photobiol B.* 2014; 139: 2–10. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.02.009>

**3. Pospíšil P, Prasad A, Rác M.**

Mechanism of the formation of electronically excited species by oxidative metabolic processes: role of reactive oxygen species. *Biomolecules.* 2019; 9(7): 258. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biom9070258>

**4. Volodyaev I, van Wijk E, Cifra M, Vladimirov YA.**

Ultra-weak photon emission from biological systems: endogenous biophotonics and intrinsic bioluminescence. *Springer International Publishing.* 2023: 1–521. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/978-3-031-39078-4>

**5. Tzani MA, Gioftsidou DK, Kallitsakis MG, Pliatsios NV, Kalogiouri NP, Angaridis PA, et al.**

Direct and indirect chemiluminescence: reactions, mechanisms and challenges. *Molecules.* 2021; 26(24): 7664. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26247664>

**6. Poplová M, Prasad A, Van Wijk E, Pospíšil P, Cifra M.**

Biological auto(chemi)luminescence imaging of oxidative processes in human skin. *Anal Chem.* 2023; 95(40): 14853–14860. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c01566>

**7. Vacek J, Beneš P, Jusku A, Dostál Z, Zatloukalová M, Jirásek P.**

Elektrofilicita ve vztahu k homeostáze dutiny ústní a teorii hormeze: biochemický pohled. *Čes. stomatol. Prakt. zub. lék.* 2024; 124(3): 69–74. Dostupné z: <https://doi.org/10.51479/cspzl.2024.002>

**8. Meyerstein D.**

What are the oxidizing intermediates in the Fenton and Fenton-like reactions? A perspective. *Antioxidants.* 2022; 11(7): 1368. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antiox11071368>

**9. Xu G, Chance MR.**

Hydroxyl radical-mediated modification of proteins as probes for structural proteomics. *Chem Rev.* 2007; 107(8): 3514–3543. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/cr0682047>

**10. Buettner GR, Jurkiewicz BA.**

Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid. *Radiat Res.* 1996; 145(5): 532–541.

Dostupné z: <https://doi.org/10.2307/3579271>

**11. Calcerrada M, Garcia-Ruiz C.**

Human ultraweak photon emission: key analytical aspects, results and future trends – A review. *Crit Rev Anal Chem.* 2019; 49(4): 368–381.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408347.2018.1534199>

**12. Nakamura K, Hiramatsu M.**

Ultra-weak photon emission from human hand: influence of temperature and oxygen concentration on emission. *J Photochem Photobiol B.* 2005; 80(2): 156–160.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2005.02.005>

**13. Wijk EP, Wijk RV.**

Multi-site recording and spectral analysis of spontaneous photon emission from human body. *Forsch Komplementarmed Klass Naturheilkd.* 2005; 12(2): 96–106.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000083935>

**14. Van Wijk R, Kobayashi M, Van Wijk EP.**

Anatomic characterization of human ultra-weak photon emission with a moveable photomultiplier and CCD imaging. *J Photochem Photobiol B.* 2006; 83(1): 69–76. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2005.12.005>

**15. Cifra M, Van Wijk E, Koch H, Bosman S, Van Wijk R.**

Spontaneous ultra-weak photon emission from human hands is time dependent. *Radioengineering.* 2007; 16(2): 15–19.

**16. Kobayashi M, Kikuchi D, Okamura H.** Imaging of ultraweak spontaneous photon emission from human body displaying diurnal rhythm. *PLoS One.* 2009; 4(7): e6256.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006256>

**17. Jung HH, Yang JM, Woo WM, Choi C, Yang JS, Soh KS.**

Year-long biophoton measurements: normalized frequency count analysis and seasonal dependency. *J Photochem Photobiol B.* 2005; 78(2): 149–154.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2004.08.002>

**18. Zhao X, van Wijk E, Yan Y, van Wijk R, Yang H, Zhang Y, et al.**

Ultra-weak photon emission of hands in aging prediction. *J Photochem Photobiol B.* 2016; 162: 529–534.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.07.030>

**19. Laager F, Park SH, Yang JM, Song W, Soh KS.**

Effects of exercises on biophoton emission of the wrist. *Eur J Appl Physiol.* 2008; 102(4): 463–469.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00421-007-0607-4>

**20. Jung HH, Woo WM, Yang JM, Choi C, Lee J, Yoon G, et al.**

Left-right asymmetry of biophoton emission from hemiparesis patients. *Indian J Exp Biol.* 2003; 41(5): 452–456.

**21. Yang M, Pang J, Liu J, Liu Y, Fan H, Han J.** Spectral discrimination between healthy people and cold patients using spontaneous photon emission. *Biomed Opt Express.* 2015; 6(4): 1331–1339.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1364/boe.6.001331>

**22. Sun M, Van Wijk E, Koval S, Van Wijk R, He M, Wang M, et al.**

Measuring ultra-weak photon emission as a non-invasive diagnostic tool for detecting early-stage type 2 diabetes: A step toward personalized medicine. *J Photochem Photobiol B.* 2017; 166: 86–93.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.11.013>

**23. Vacek J, Zatloukalová M, Kabelac M.**

Redox biology and electrochemistry. Towards evaluation of bioactive electron donors and acceptors. *Curr Opin Electrochem.* 2022; 36: 101142.

Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2022.101142>

**24. Burns JA, Butler JC, Moran J, Whitesides GM.**

Selective reduction of disulfides by tris(2-carboxyethyl)phosphine. *J Org Chem.* 1991; 56(8): 2648–2650. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jo00008a014>

**25. Kizek R, Vacek J, Trnková L, Jelen F.**

Cyclic voltammetric study of the redox system of glutathione using the disulfide bond reductant tris(2-carboxyethyl)phosphine. *Bioelectrochemistry.* 2004; 63: 19–24. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2003.12.001>

**26. Dolinská S, Tomečková V.**

Biochemické zloženie zubov a vplyv rôznych chemických prvkov na ich štruktúru. *Čes. stomatol. Prakt. zub. lék.* 2017; 117: 13–23.

**27. Kwack KH, Lee HW.**

Clinical potential of dental pulp stem cells in pulp regeneration: Current endodontic progress and future perspectives. *Front Cell Dev Biol.* 2022; 10: 857066. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.857066>