

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

(Přehledový článek)

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

(Review of Literature)

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

<sup>1</sup>Ústav klinické a experimentální stomatologie 1. LF UK a VFN, Praha

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

### SOUHRN

**Předmět sdělení:** Dentální slitiny jsou široce používány v aplikacích, ve kterých se dlouhodobě dostávají do styku s ústním epitelem, pojivovými tkáněmi nebo s alveolární kostí. Z toho důvodu je jejich biokompatibilita jedním z rozhodujících požadavků pro použití v klinické stomatologii. Tento literární přehled je zamýšlen jako přehled rizik expozice lidského organismu kovům z dentálních slitin a možností jejich prověřování v modelových podmínkách in vitro a in vivo před jejich uvedením na trh a do použití. Dentální slitiny jsou metalurgicky komplexní systémy a z pohledu jejich chemického složení se dělí na slitiny ušlechtilých kovů na bázi zlata, stříbra, palladia a nebo neušlechtilých kovů (kobalt, chrom, nikl). Rozhodující vlastností slitin z hlediska jejich biokompatibility jsou jejich korozní vlastnosti. Jednotlivé složky slitin, v podmínkách in situ uvolňované korozními ději do ústního prostředí a do organismu, mohou vyvolávat systémovou i lokální toxicitu, a proto je nutné slitiny před uvedením na trh a do klinického použití náležitě prověřovat. Pozornost je zaměřena zejména na lokální toxicitu, jelikož systémová toxicita u dentálních slitin prokázána nebyla. Standardní testy kontaktní cytotoxicity, ať už prováděné v podmínkách in vitro na buněčných kulturách, nebo in vivo na laboratorních zvířatech, modelují situaci při klinickém použití dentálních slitin jen částečně, a proto je nutné brát v úvahu i obecné toxikologické vlastnosti jednotlivých kovů přítomných v dentálních slitinách.

**Závěr:** V prvním díle literárního přehledu o biokompatibilitě dentálních slitin a jejím testování jsou shrnuty poznatky získané k tomuto problému za posledních patnáct až dvacet let.

**Klíčová slova:** dentální slitiny – biokompatibilita – systémová a kontaktní toxicita – koroze dentálních slitin

### SUMMARY

**Background:** Dental alloys are widely used in applications where they come for a long time into contact with oral epithelium, connective tissue or alveolar bone. Hence their biocompatibility is one of the critical requirements for use in clinical dentistry. This review of literature is intended as an overview of the risk exposure of the human body to metals from dental alloys and the possibility of examining the model conditions in vitro and in vivo before placing them on the market and put into use. Dental alloys are metallurgically complex ones and with regard to their composition. They are divided into gold, silver and palladium based alloys and non-precious alloys (cobalt, chromium, nickel). Crucial features of alloys in terms of their biocompatibility are their corrosion properties. The individual components of alloys released into the oral environment and the organism due to the in situ corrosion processes can cause local and

systemic toxicity, and therefore it is necessary the alloys in the preclinical stage to properly investigate. Attention is focused especially on local toxicity, since systemic toxicity from dental alloys has not been demonstrated. Standard contact cytotoxicity tests whether performed in vitro in cell cultures or in vivo in laboratory animals simulate the situation in the clinical use only partially, and therefore it is necessary to take into consideration the general toxicological properties of the individual metals in dental alloys.

**Conclusion:** In the first part of the literature review of the dental alloys biocompatibility and its testing the data gained from the last fifteen to twenty years are summarized.

**Keywords:** *dental alloys – biocompatibility – system and contact toxicity – corrosion of dental alloys*

Čes. Stomat., roč. 114, 2014, č. 3, s. 53–59

## 1. BIOKOMPATIBILITA DENTÁLNÍCH SLITIN A METODY TESTOVÁNÍ

Dentální slitiny jsou široce používány v aplikacích, ve kterých se dlouhodobě dostávají do styku s ústním epitelem, pojivovými tkáněmi nebo s alveolární kostí. Z toho důvodu je jejich biokompatibilita jedním z rozhodujících požadavků pro použití v klinické stomatologii a musí být různými metodami prověřována a testována. V posledních 15 letech bylo o biokompatibilitě dentálních slitin publikováno obšířlé množství dílčích zpráv. Výzkum v této oblasti přinesl řadu zkušebních metodik, které našly uplatnění jak ve vědeckých studiích, tak i v technických standardech pro schvalování slitin do klinického použití (ISO 7405:2009, ISO 10993-1:2009).

Pro zkoušky biologické snášenlivosti se používají finální výrobky nebo jejich vzorky, zpracované stejným způsobem. Výše uvedené technické standardy uvádějí druhy zkoušek, které je třeba pro danou klinickou aplikaci brát v úvahu, což však neznamená, že jejich provedení je nezbytně nutné. Doporučené testy jsou rozděleny do tří základních skupin:

- zkoušky cytotoxicity in vitro;
- zkoušky akutní/subakutní systémové toxicity, dráždivosti, alergizace, genotoxicity a lokálních účinků po implantaci;
- zkoušky specifické pro dentální materiály, tj. snášenlivost se zubní dřevinou a dentinem, snášenlivost při použití k překrytí zubní dřeviny a snášenlivost při endodontickém použití.

Při posuzování biologických vlastností dentálních slitin je třeba brát v úvahu i jejich vlastnosti fyzikální, chemické a mechanické. Hodnocení tak může zahrnovat jak výsledky skutečně provedených biologických zkoušek, tak i literární údaje a relevantní zkušenosti z jejich použití. Protože chemické složení dentálních slitin je povinně uváděno s potřebnou přesností, je možné s velkou pravděpodobností usuzovat na podobné chování slitin stejného chemického složení a zkoušení v celé šíři nevyžadovat.

Při posuzování dentálních slitin podle struktury provedených zkoušek biologických vlastností a jejich výsledků je třeba též zohlednit ochranu experimentálních zvířat a redukovat nadbytečné opakování experimentů, jestliže informace dokládající biologické vlastnosti dentálních slitin, resp. jejich komponent, jsou dostupné z jiných zdrojů.

V kontextu mnoha interagujících faktorů ústního prostředí není biokompatibilita dentálních slitin v reálných aplikacích v dutině ústní snadno hodnotitelná, a proto je nutné provést vždy výběr rozhodujících ukazatelů jejich možného nežádoucího působení a implementovat je do souboru doporučených a prováděných testů. Tento literární přehled není zamýšlen jako vyčerpávající souhrn poznatků o biologických vlastnostech dentálních slitin, ale jako přehled rizik expozice lidského organismu kovům z dentálních slitin a možností jejich prověřování v modelových podmínkách in vitro a in vivo před jejich uvedením na trh a do použití.

### 1.1. Biologicky významné vlastnosti dentálních slitin

V zubním lékařství používané slitiny obvykle obsahují alespoň čtyři kovy, často šest nebo více, jde tedy o metalurgicky komplexní slitiny. Složení používaných dentálních slitin je rozličné a mnoho jich bylo vyvinuto zejména v posledních dvaceti letech, kdy už byl technologický vývoj nucen respektovat

Tab. 1 Složení dentálních slitin [5]

Základní kov	Složení
zlato	Ag, Au, Cu, In, Pd, Pt, Zn
palladium	Ag, Pd, Ga, Cu
stříbro	Ag, Pd
kobalt	Co, Cr, Mo, Fe, C, Si, Mn
nikl	Ni, Cr, Co, Mo, Fe, C, Mn
titan	Ti, O, N, C, Fe, H, Va, Al

Tab. 2 Hmotnostní a atomové procentní složení tří typů dentálních slitin [34]

Slitina na bázi zlata			Slitina na bázi stříbra			Slitina na bázi niklu		
prvek	hmot. %	atom. %	prvek	hmot. %	atom. %	prvek	hmot. %	atom. %
Ag	10	14	Ag	73	71	Ni	65,9	58,1
Au	76	57	Pd	15	15	Cr	17,0	16,9
Cu	11	24	Zn	2	3	Al	5,0	9,6
Pd	2	3				Mo	5,0	9,7
Pt	0,1	0,1				Mn	5,0	4,7
Zn	1	2				Be	1,0	5,7
						Fe	0,5	0,4
						Si	0,5	1,3
						C	0,1	0,4

zvyšující se nároky na jejich biokompatibilitu a v neposlední řadě i zvyšující se cenu slitin s obsahem ušlechtilých kovů.

Po mnoho let bylo v řadě dentálních slitin obsaženo zlato jako jejich hlavní prvek, existují však i slitiny založené na palladiu, stříbru, kobaltu nebo titanu (tab. 1).

V mnoha dentálních slitinách je ve stopových množstvích obsaženo ještě dalších více než 25 prvků z periodické tabulky. Složitost a rozmanitost dentálních slitin činí studium a ověřování jejich biokompatibilitu krajně obtížné, protože každý prvek slitiny může být uvolněn a následně ovlivňovat lidský organismus. Dentální slitiny jsou obvykle definovány svým chemickým složením, a to buď v hmotnostních, nebo v atomových procentech přítomných prvků. Výrobci obvykle uvádějí hmotnostní procentuální složení. Atomové procentuální složení je důležitější pro pochopení biologických vlastností slitin, protože lépe ukazuje, kolik atomů příslušného kovu může být k dispozici pro ovlivnění organismu [18, 34]. Hmotnostní a atomové procentuální vyjádření chemického složení dané slitiny se mohou mezi sebou významně lišit, jak ukazuje tabulka 2.

Slitina zlata na bázi zlata obsahuje 76 hmotnostních procent zlata, ale pouze 57 % z jejích atomů jsou ve skutečnosti atomy zlata. To znamená, že skutečné množství zlata v této slitině je téměř o 20 % nižší, než by se mohlo zdát. Podobně slitina, která obsahuje 11 hmotnostních procent mědi, má atomů mědi 24 %. Rozdíly mezi hmotnostním a atomovým procentuálním vyjádřením složení slitiny jsou tím větší, čím větší jsou rozdíly atomových hmotností jednotlivých komponent slitiny. Ve slitině na bázi niklu je hliníku a beryllia dvakrát až pětikrát více, než by se dalo očekávat podle údajů o jejím složení v hmotnostních

procentech, protože jde o lehké prvky ve srovnání s ostatními prvky přítomnými ve slitině.

Další způsob, kterým je možné charakterizovat slitinu, je její fázová struktura. Fáze jsou oblasti slitiny, které mají stejné složení a krystalovou strukturu. Jednofázové slitiny mají více či méně podobné složení v celé struktuře. Naopak ve vícefázových slitinách jsou oblasti, které se složením liší. Fázová struktura slitiny je rozhodující pro její korozní vlastnosti a biokompatibilitu [28]. Interakce mezi biologickým prostředím a fázovou strukturou je to, co určuje, které prvky mohou být uvolňovány a na které může organismus nežádoucím způsobem reagovat.

## 1.2. Korozní vlastnosti slitin

Koroze slitiny nastane, jestliže se její prvky ionizují [5]. Znamená to, že prvky, které jsou uvnitř slitiny bez náboje, ztrácejí elektrony, a jsou-li uvolněny do roztoku, stávají se kladně nabitými ionty. Koroze je chemická vlastnost, ovlivňující ostatní vlastnosti slitiny, jako je například estetika, mechanická pevnost, a zejména biokompatibilita. Z hlediska biokompatibilitu korozní vlastnosti slitiny naznačují, že některé částice mohou být k dispozici a ovlivňovat přilehlé i vzdálené tkáně [12].

Koroze slitin se stanovuje několika způsoby. Může být hodnocena vizuálně pozorováním povrchu slitiny nebo řadou elektrochemických testů, které měří uvolňování částic nepřímo prostřednictvím toku uvolněných elektronů [7], a nebo testů, při nichž se měří uvolňování částic přímo pomocí spektroskopických metod [3]. Korozní jevy jsou velmi složité a závisí na různých fyzikálních a chemických faktorech. Například kombinace dvou různých slitin pájeného spoje nebo přítomnost spár či porozit

ve slitině může zvýšit korozi [22, 26, 33]. Z hlediska biokompatibility je nejdůležitější identifikace a kvantifikace prvků, které jsou korozním dějem uvolňovány. Koroze dentálních slitin má zásadní význam pro jejich biokompatibilitu, neboť uvolněné částice jsou obvykle odpovědné za nežádoucí biologické účinky, jako je toxicita, alergie nebo mutagenita. Biologická reakce na uvolněné částice závisí na tom, o který prvek ze slitiny jde, jak velké množství a v jakém oxidačním stupni se uvolní, na expoziční době a dalších faktorech [30]. Koroze je tak nutnou, nikoli však jedinou podmínkou pro nepříznivé biologické účinky dentálních slitin.

### 1.3. Prvky uvolňované korozním dějem z dentálních slitin

Na základě odborné literatury je prokázáno, že mnohé prvky ze slévarenských slitin se v ústním prostředí uvolňují [4, 8, 28]. Uvolňování však nemusí odpovídat chemickému složení slitiny. Například vysoce ušlechtilá jednofázová slitina s 50 % hmotn. zlata uvolňuje méně než 2 % jeho hmotnostního podílu. Avšak z pouhých 32 % atomů, připadajících v této slitině na měď, se jí při korozním ději uvolňuje až 85 % [7].

V literatuře jsou k dispozici údaje o korozním uvolňování kovových částic z řady dentálních slitin různých typů [4, 8, 24]. Zobecnění těchto pozorování však nemusí být přesné. Za prvé, více fází slitiny může zvýšit uvolňování částic. Za druhé, některé prvky mají vyšší tendenci k uvolňování při korozním ději, bez ohledu na složení slitiny. Tato tendence některých prvků (např. měď, nikl nebo gallium) k uvolňování se označuje jako jejich labilita. Relativně vysokou labilitu mají též kadmium a zinek [28]. Naopak stříbro má labilitu nižší, a tím menší tendenci k uvolňování v korozním ději. Rovněž zlato, palladium nebo platina mají labilitu nízkou. Labilita jednotlivých prvků obsažených ve slitině však není konstantní a je ovlivňována různými faktory, např. některými dalšími prvky, přítomnými ve slitině. Příkladem může být palladium, které snižuje labilitu mědi v dentálních slitinách na bázi zlata [31]. Za třetí, uvolňování prvků při korozním ději se zvyšuje s poklesem pH prostředí, což je patrné zejména u slitin na bázi niklu [8, 32]. V ústech je tato možnost reálná v oblasti adhezního zubního povlaku, který produkuje kyselé metabolity, snižující pH v povrchovém mikroprostředí kovového protetického výrobku v ústech.

## 2. SYSTÉMOVÁ TOXICITA DENTÁLNÍCH SLITIN

Z odborné literatury vyplývá, že podrobnosti o biokompatibilitě různých slitin používaných ve

stomatologii nejsou zcela známy. Nelze tedy jednoduše některé déle používané slitiny označit za „dobré“ a jiné za „špatné“. Jedním ze základních kritérií bezpečnosti dentálních slitin je jejich systémová toxicita pro lidský organismus.

Systémová toxicita vyžaduje, aby došlo k rozšíření toxické látky z místa vstupu do vzdáleného místa, kde jsou vyvolány škodlivé účinky. Testování dentálních slitin v tomto ohledu se týká testování jednotlivých kovů ve slitině. Přitom lze vycházet z výsledků experimentálních studií u zvířat, studií profesionální expozice u lidí a oficiálně tolerované expozice, jejíž údaje jsou v odborné literatuře dohledatelné.

Podle délky expozice zkoušenému materiálu se rozlišuje:

- akutní systémová toxicita, která se projeví nepříznivými účinky, k nimž dochází během 24 hodin po jednotlivé, vícenásobné nebo trvalé expozici,
- subakutní systémová toxicita, která se projeví nepříznivými účinky, k nimž dochází po vícenásobné nebo trvalé expozici v době mezi 24 hodinami a 28 dny,
- subchronická systémová toxicita, která se projeví nepříznivými účinky, k nimž dochází po opakovaném nebo trvalém podávání zkušební vzorku během části doby života (při zkoušce u hlodavců obvykle 90 dní),
- chronická systémová toxicita, která se projeví nepříznivými účinky, k nimž dochází po opakovaném nebo trvajícím podávání zkušební vzorku po větší část doby života (při zkouškách in vivo obvykle od 6 do 12 měsíců).

Studie akutní toxicity bývá výchozím krokem pro stanovení režimu pro subakutní, subchronické či jiné studie. Běžnější formou expozice člověka totiž bývá opakovaná nebo trvalá expozice po delší časový úsek, než je 24 hodin. Výsledky těchto velmi náročných studií poskytnou důležité informace pro určení rozsahu dalšího ověřování biologické snášenlivosti zkoušeného materiálu.

Částice, které se ze slitin uvolní do dutiny ústní, mohou pronikat do těla epitelem trávicího ústrojí, gingivou nebo jinými ústními tkáněmi, v případě par také plícemi. Částice uvolňované z dentálních implantátů do okolí jejich kostního lůžka pronikají do těla přímo. Z tohoto důvodu je uvolňování částic z implantátů biologicky mnohem významnější, než je uvolňování z dentálních slitin, plnicích funkcí protetických nebo výplňových materiálů.

Biologické účinky kovů závisí na způsobu přístupu do vnitřního prostředí organismu. Cesta, kterou prvek vstupuje do vnitřního prostředí, je pro jeho biologické účinky rozhodující [9]. Příkladem



důležitosti cesty vstupu je systémová toxicita iontů palladia. Pokud se podává myším orálně, je jejich LD50 1000 mg/kg; je-li podáno intraperitoneálně, LD50 se sníží na 87 mg/kg [20]. Toxická dávka pro intravenózní podání je řádově ještě nižší (u potkanů přibližně 2 mg/kg) [35].

Kovové ionty mohou být ve vnitřním prostředí distribuovány do mnoha tkání v různém množství a podobě [2]. Distribuce se děje difúzí tkáněmi, cestou lymfatického systému nebo krevním řečištěm. Kovové částice (0,5 až 10,0 µm) mohou pronikat do buněk, např. do makrofágů, které jsou dál transportovány lymfatickým nebo krevním řečištěm [16]. Oxidační stupeň a chemická forma kovu může významně ovlivnit jeho absorpci, distribuci, poločas retence a vylučování. Tělo obvykle eliminuje kovy močí, stolicí nebo plicemi. Eliminace kovového prvku závisí na způsobu jeho vstupu do vnitřního prostředí. Např. pokud jsou ionty palladia podány intravenózně potkanům, ještě 20 % kovu se retinuje po dobu 40 dnů; pokud se stejné množství palladia podá perorálně, 99 % kovu se vyloučí do tří dnů [19]. Rychlost eliminace jednotlivých kovů, obsažených v různých dentálních slitinách, je individuální [9, 11].

Pokud jsou kovy z dentálních slitin uvolněny v ústním prostředí, zajímavou otázkou je, jak a v jakém množství mohou pronikat do prostředí vnitřního. Jednou z prokázaných možností je přímý průnik transgingiválně. U psů s experimentálními korunkami zhotovenými z mosazi byly zjištěny zvýšené hladiny mědi v gingivě a subgingiválním vazivu [10]. Mosaz je ovšem velmi náchylná ke korozi a touto vlastností se značně liší od běžných dentálních slitin. Zvýšené hladiny niklu a kobaltu však byly stanoveny v podslizničním vazivu na jazyku a na tvářové sliznici pacientů se snímatelnými zubními náhradami z nikl-kobaltové slitiny [27]. Jiná studie prokázala přítomnost kovů v přilehlých měkkých tkáních v okolí kovových korunek a výplní z dentálního amalgámu [21].

Existuje jen málo důkazů, že kovy uvolněné z dentálních slitin významněji přispívají k jejich přítomnosti v organismu. U většiny z nich je denní příjem z potravinových zdrojů zřetelně vyšší než jejich možná absorpce z dentálních slitin v ústech [6, 32].

Množství uvolněných kovových iontů je přímo úměrné množství slitiny v jednotlivých dentálních výrobcích, přítomných v ústech. Např. hladina niklu, uvolněného ze zubní náhrady zhotovené ze slitiny na bázi niklu, může dosahovat až k 400 µg/den v případě, že se slitina nachází v kyselém prostředí. Při neutrálním pH je uvolňování niklu značně nižší [3, 32]. Je třeba zdůraznit, že blíží-li se příjem

uvolněného kovového prvku alimentárnímu příjmu z potravy, nelze z takové expozice soudit na reálnou systémovou toxicitu daného prvku, resp. slitiny, která jej obsahuje. Takový zdánlivě bezpečný příjem daného kovu z potravinových zdrojů nelze extrapolovat na „bezpečnost“ dentální slitiny, která ho obsahuje. Naopak, expozice organismu titanu v podobě opalovacích krémů, jiných kosmetických prostředků, plniv léčivých přípravků nebo z potravinových zdrojů může být mnohem vyšší, než je celkem nízká expozice jeho iontům, uvolněným korozním procesem z dentálních slitin [34].

U pacientů s kovovými ortopedickými implantáty (umělé kloubní systémy) jsou uvolněné komponenty slitin, ze kterých jsou implantáty zhotoveny, přítomny ve zvýšené míře v mnoha tkáních. Titan je u těchto pacientů přítomen ve zvýšených hladinách v séru nebo játrech [13, 14]. Naproti tomu expozice titanu z dentálních implantátů zvyšuje hladinu titanu ve vnitřním prostředí jen minimálně, zřejmě díky nesrovnatelně menšímu povrchu a absenci frikčních sil při jejich zatěžování [17].

Souhrnně řečeno, systémová toxicita kovů uvolněných z dentálních implantátů nebyla prokázána. Existují důkazy o tom, že uvolněné kovy mohou pronikat a pronikají do vnitřního prostředí nespecifickou distribucí. V dalších studiích je však nutné experimentálně ověřit možnost vzniku systémové toxicity jednotlivých kovů z dentálních slitin v delším expozičním období.

### 3. LOKÁLNÍ TOXICITA DENTÁLNÍCH SLITIN

Druhým závažným problémem bezpečnosti dentálních slitin je, zda uvolněné kovové částice mohou lokálně toxicky působit na tkáň přiléhající ke kovovým protetickým výrobkům nebo k výplním. Řada metod testujících biologické vlastnosti dentálních slitin je proto zaměřena na hodnocení možné kontaktní toxicity.

Dentální slitiny jsou v ústech v dlouhodobém těsném kontaktu s měkkými tkáněmi, se kterými vytvářejí mikroprostředí se specifickými vlastnostmi. Okraj kovové korunky např. zasahuje mírně pod gingivu do gingiválního sulku. Uvolňuje-li se nějaký prvek ze slitiny do gingiválního sulku, není lokálně ředěn slinami a může zde dosahovat vyšších koncentrací. Jak již bylo uvedeno, měď z experimentální mosazné korunky se uvolňuje v ústním prostředí v množství až 0,2 µg/den, což je ale hluboko pod denním příjmem ingescí z potravy (3100 µg/den) [32]. Nicméně v gingiválním sulku, přiléhajícím ke korunce, může být koncentrace mědi mnohem vyšší. Kromě toho koncentrace, která vyvolá lokální nežá-

doucí účinek, může být mnohem nižší než koncentrace nutná k vyvolání systémové toxicity. Epitelové buňky v gingivě mohou nést známky poškození při koncentraci mědi 10  $\mu\text{g/g}$  [24], i když by tato expoziční dávka byla při perorálním použití neškodná. Podobná situace existuje pod kovovou bází částečné snímatelné zubní náhrady. Prvky uvolněné ze slitiny se v kontaktním prostoru náhrady se sliznicí nemohou naředit slinou stejným způsobem jako na superficiálním povrchu zubní náhrady, a v důsledku toho je koncentrace kovu ve sliznici zvýšená.

Kovové ionty mohou způsobit lokální toxicitu in vitro za předpokladu, že jsou přítomné v takové koncentraci, že mohou alterovat nebo modifikovat buněčný metabolismus. Příkladem může být vliv iontů stříbra na buněčnou mitochondriální aktivitu v tkáňové kultuře [28]. Aktivita mitochondrií je často používána jako indikátor cytotoxicity, protože poskytuje klíčovou energii pro jednotlivé buněčné metabolické procesy. V koncentracích nižších než 2,0  $\mu\text{mol/ml}$  stříbro mitochondriální aktivitu neovlivní, nad 10  $\mu\text{mol/ml}$  však aktivita rychle klesá. Jednotlivé kovy mají samozřejmě individuální hladiny alterace mitochondriální aktivity. Toxická hladina se obvykle vyjadřuje indexem  $\text{TC}_{50}$ , což značí snížení buněčné aktivity o 50 %. Hodnoty  $\text{TC}_{50}$  u jednotlivých kovů z dentálních slitin se pohybují mezi 6 až 3000  $\mu\text{mol/l}$  podle typu použité tkáňové kultury a parametru buněčné toxicity, který je měřen [23, 24, 28].

Je-li expoziční čas kovového iontu na buňky v kultuře delší, hodnota  $\text{TC}_{50}$  klesá [29]. Např. pro ionty mědi klesá hodnota  $\text{TC}_{50}$  s prodlužující se délkou expozice. Dynamika funkce expozičního času je pro různé kovy různá, ale trend je podobný. Slitiny, které uvolňují své částice po delší dobu, budou pravděpodobně působit lokální toxické účinky i při nižších hladinách.

Ačkoli uvolňování kovových částic z dentálních slitin bylo mnohokrát ověřováno v podmínkách in vitro i in vivo, jsou lokální biologické účinky těchto uvolněných částic stále tématem intenzivní diskuse. Ústřední otázkou v této debatě je, zda hladiny uvolněných částic mohou měnit normální biologické funkce tkání v okolí výrobků, zhotovených z těchto slitin. Do současnosti shromážděné výsledky však zatím nepřinesly definitivní odpověď. Následující poznatky z in vitro a in vivo studií ukazují problémy a směry dalšího výzkumu a potřeb testování nově zaváděných dentálních slitin.

Studie in vitro prokázaly, že některé dentální slitiny mohou způsobit poškození buněk tím, že se kovy z testovaných slitin eluují do živného média tkáňových kultur [23, 30]. U slitin, které v testech kontaktní cytotoxicity nevykazovaly známky bu-

něčného poškození, se jednotlivé kovy také eluovaly do média, avšak v koncentracích nedostatečných k vyvolání buněčné toxicity. Zda k poškození buněk skutečně dojde, závisí na složení eluátu, koncentraci uvolněných kovových iontů a na expozičním čase. Při posuzování cytotoxicity konkrétní dentální slitiny definovaného složení často postačuje literární rešerše výsledků těchto testů, provedených za srovnatelných podmínek se slitinami podobného chemického složení.

K dispozici je několik metodicky kvalitních studií in vivo, které mohou dokumentovat biologickou odezvu dentálních slitin v klinicky relevantním kontextu. Jako reakci na korozní produkty použité slitiny (Cu-Zn) v experimentu u psů vyvolalo zhotovení mosazných korunek významný zánět v přilehlé gingivě [10]. Většina v současnosti používaných dentálních slitin však uvolňuje 100krát až 1000krát menší množství korozních produktů ve srovnatelných experimentálních podmínkách. Některé studie u lidí prokázaly zvýšenou zánětlivou reakci v gingivě i u protetických výrobků, zhotovených z běžných dentálních slitin, přestože adheze mikrobiálního plaku na jejich povrchu byla nižší než na sklovině [1, 15, 25], což bylo vysvětleno jako možný projev lokální toxicity. Studiím však chybí komplexnější pohled na faktory a mechanismy zánětu v parodontálním prostředí. Na druhé straně klinická zkušenost s používáním řady dentálních slitin ukazuje, že přinejmenším ve střednědobém horizontu měsíců až let lze počítat s významnou tolerancí měkkých tkání parodontálního prostředí k nízkým hladinám korozních produktů. Přesto však otázka střednědobé a dlouhodobé expozice nízkým hladinám korozních produktů z dentálních slitin zůstává stále částečně otevřená a měla by být předmětem dalších ověřovacích studií [34].

V klinických aplikacích musí být vždy potenciální riziko chronického dráždění zvažováno proti známým výhodám používaných dentálních slitin, neboť zcela inertní slitiny pro použití v ústním prostředí dosud vyvinuty nebyly a výhody současných slitin značně převažují nad potenciálními riziky jejich použití.

## LITERATURA

1. Bader, J., Rozier, R. G., McFall, W. T.: The effect of crown receipt on measures of gingival status. J. Dent. Res., roč. 70, 1991, č. 10, s. 1386–1389.
2. Black, J.: Systemic effects of biomaterials. Biomaterials, roč. 5, 1984, č. 1, s. 11–18.
3. Brune, D.: Metal release from dental biomaterials. Biomaterials, roč. 7, 1986, č. 3, s. 163–175.

4. **Bumgardner, J. D., Lucas, L. C.:** Corrosion and cell culture evaluations of nickel-chromium dental casting alloys. *J. Appl. Biomater.*, roč. 5, 1994, č. 3, s. 203–213.
5. **Craig, R. G., ed.:** Restorative dental materials. 10th ed. St Louis, Mosby – Yearbook 1997, p. 146–153, 387–389.
6. **Flint, G. N., Packirisamy, S.:** Systemic nickel: the contribution made by stainless-steel cooking utensils. *Contact Dermatitis*, roč. 32, 1995, č. 4, s. 218–224.
7. **Fontana, M. G.:** Corrosion engineering. 3rd ed. New York, McGraw Hill, 1986. p. 165–200.
8. **Geis-Gerstorfer, J., Sauer, K. H., Pässler, K.:** Ion release from Ni-Cr-Mo and Co-Cr-Mo casting alloys. *Int. J. Prosthodont.*, roč. 4, 1991, č. 2, s. 152–158.
9. **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.
10. **Hao, S. Q., Lemons, J. E.:** Histology of dog dental tissues with Cu-based crowns. *J. Dent. Res.*, roč. 68, 1989, Spec. issue, s. 322 (abstract 1125).
11. **Hodgson, E., Levi, P. E., eds.:** Modern toxicology. New York, Elsevier, 1987. p. 123–131.
12. **Hogan, D., Ledet, J. J.:** Impact of regulation on contact dermatitis. *Dermatol. Clin.*, roč. 27, 2009, č. 3, s. 385–394.
13. **Jacobs, J. J., Skipor, A. K., Black, J., Manion, L. M., Schavocky, J., Paprosky, W. P., et al.:** Serum titanium transport in patients following primary total hip replacement: a 2 year prospective study. *Trans. Soc. Biomater.*, roč. 16, 1993, č. 1, s. 16, 21–27.
14. **Jacobs, J. J., Skipor, A. K., Urban, R. M., Manion, L. M., Gilbert, J. L., Black, J.:** Serum and urine metal content in patients with fretting corrosion of modular femoral THR components. *Trans. Soc. Biomater.*, roč. 17, 1994, č. 10, s. 320.
15. **Lamster, I. B., Kalfus, D. I., Steigerwald, P. J., Chasens, A. I.:** Rapid loss of alveolar bone associated with nonprecious alloy crowns in two patients with nickel hypersensitivity. *J. Periodontol.*, roč. 58, 1987, č. 7, s. 486–492.
16. **Lee, J. M., Salvati, E. A., Betts, F., DiCarlo, E. F., Doty, S. B., Bullough, P. G.:** Size of metallic and polyethylene debris particles in failed cemented total hip replacements. *J. Bone Joint Surg. Br.*, roč. 74, 1992, č. 3, s. 380–384.
17. **Lugowski, S. J., Smith, D. C., McHugh, A. D., Van Loon, J. C.:** Release of metal ions from dental implant materials in vivo: determination of Al, Co, Cr, Mo, Ni, V, and Ti in organ tissue. *J. Biomed. Mater. Res.*, roč. 25, 1991, č. 12, s. 1443–1458.
18. **Mallinen, S. K., Nuvvula, S., Matinlinna, J. P., Yiu, C. K., King, N. M.:** Biocompatibility of various dental materials in contemporary dentistry: a narrative insight. *J. Investig. Clin. Dent.*, roč. 4, 2013, č. 1, s. 9–19.
19. **Moore, W. Jr., Hysell, D., Crocker, W., Stara, J.:** Biological fate of 103Pd in rats following different routes of exposure. *Environ. Res.*, roč. 8, 1974, č. 2, s. 234–240.
20. **Phielepeit, T., Legrum, W., Netter, K. J., Kiötzer, W. T.:** Different effects of intraperitoneally and orally administered palladium chloride on the hepatic monooxygenase system of male mice. *Arch. Toxicol. Suppl.*, roč. 13, 1989, s. 357–362.
21. **Rechmann, P.:** Lamms and ICP-MS detection of dental metallic compounds in not-discolored human gingiva. *J. Dent. Res.*, roč. 71, 1992, Spec. issue, s. 599 (abstract 672).
22. **Reclaru, L., Meyer, J. M.:** Study of corrosion between a titanium implant and dental alloys. *J. Dent.*, roč. 22, 1994, č. 3, s. 159–168.
23. **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.
24. **Schmalz, G.:** The biocompatibility of non-amalgam filling materials. *Eur. J. Oral Sci.*, roč. 106, 1998, č. 2, Pt 2, s. 696–706.
25. **Setz, J., Diehl, J.:** Gingival reaction on crowns with cast and sintered metal margins: a progressive report. *J. Prosthet. Dent.*, roč. 71, 1994, č. 5, s. 442–446.
26. **Shigeto, N., Yanagihara, T., Murakami, S., Hamada, T.:** Corrosion properties of soldered joints. Part II: corrosion pattern of dental solder and dental nickel-chromium alloy. *J. Prosthet. Dent.*, roč. 66, 1991, č. 5, s. 607–610.
27. **Stenberg, T.:** Release of cobalt from cobalt chromium alloy constructions in the oral cavity of man. *Scand. J. Dent. Res.*, roč. 90, 1982, č. 6, s. 472–479.
28. **Wataha, J. C., Craig, R. G., Hanks, C. T.:** The release of elements of dental casting alloys into cell-culture medium. *J. Dent. Res.*, roč. 70, 1991, č. 6, s. 1014–1018.
29. **Wataha, J. C., Hanks, C. T., Craig, R. G.:** In vitro synergistic, antagonistic, and duration of exposure effects of metal cations on eukaryotic cells. *J. Biomed. Mater. Res.*, roč. 26, 1992, č. 10, s. 1297–1309.
30. **Wataha, J. C., Malcolm, C. T., Hanks, C. T.:** Correlation between cytotoxicity and the elements released by dental casting alloys. *Int. J. Prosthodont.*, roč. 8, 1995, č. 1, s. 9–14.
31. **Wataha, J. C., Craig, R. G., Hanks, C. T.:** Element release and cytotoxicity of Pd-Cu binary alloys. *Int. J. Prosthodont.*, roč. 8, 1995, č. 3, s. 228–232.
32. **Wataha, J. C., Lockwood, P. E.:** Release of elements from dental casting alloys into cell-culture medium over 10 months. *Dent. Mater.*, roč. 14, 1998, č. 2, s. 158–163.
33. **Wataha, J. C., Lockwood, P. E., Vuilleme, M. N., Zürcher, M. H.:** Cytotoxicity of Au-based dental solders alone and on a substrate alloy. *J. Biomed. Mater. Res.*, roč. 48, 1999, č. 6, s. 786–790.
34. **Wataha, J. C.:** Biocompatibility of dental casting alloys: A review. *J. Prosthet. Dent.*, roč. 83, 2000, č. 2, s. 223–224.
35. **Wiester, M. J.:** Cardiovascular actions of palladium compounds in the unanesthetized rat. *Environ. Health Perspect.*, roč. 12, 1975, č. 1, s. 41–44.

ČESKÁ  
STOMATOLOGIE  
ročník 114,  
2014, 3,  
s. 53–59

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

**Prof. MUDr. Zdeněk Broukal, CSc.**  
Ústav klinické a experimentální stomatologie  
1. LF UK a VFN  
Karlovo nám. 32  
121 11 Praha 2  
e-mail: broukal@vus.cz