

# In-vitro-Zytotoxizität galliumhaltiger Dentallegierungen

## Zusammenfassung

Prüfkörper aus 9 ausgewählten galliumhaltigen Dentallegierungen sowie aus 2 hochgoldhaltigen Legierungen wurden in Zellkulturmedium ausgelaugt. Die gewonnenen Extrakte wurden spurenelementanalytisch untersucht (ICPMS) und in Form von Verdünnungsreihen für Untersuchungen in der Zellkultur eingesetzt. Die Zellproliferation wurde mittels Proteinbestimmung nach Lowry, die Vitabilität mittels MTT-Test bestimmt. Zudem erfolgten Agardiffusionstests. Die Spurenelementanalytik zeigte bei 8 der 9 untersuchten galliumhaltigen Legierungen eine relativ hohe Galliumfreisetzung. Jedoch unterschieden sich die getesteten galliumhaltigen Gusslegierungen in ihrem lokal-zytotoxischen Verhalten insgesamt nicht von den hochgoldhaltigen Legierungen.

Acta Med Dent Helv 4: 102–106

Schlüsselwörter: Gusslegierungen, Gallium, Zytotoxizität

Zur Veröffentlichung angenommen: 8. März 1999

HEIKO VISSER\*, MAIKE BÖNIG\*, GUDRUN GRZYB\*

Abteilung Parodontologie, Zentrum Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Georg-August-Universität Göttingen\*

## Einleitung

Aus technischen Gründen enthält eine Vielzahl moderner Gusslegierungen Gallium. Dies betrifft vor allem Legierungen, die aus wirtschaftlichen Erwägungen entwickelt wurden und in denen Palladium als Ersatz für Gold dient. Palladium ist ein Metall aus der Platingruppe und weist eine hervorragende Korrosionsbeständigkeit auf, es hat jedoch einen hohen Schmelzpunkt von 1555 °C. Liesse man derart hohe Gusstemperaturen zu, käme es infolge der grossen thermischen Ausdehnung leicht zu unkontrollierter Verformung während der Erstarrung der Gussobjekte. Durch die Zugabe von Gallium, dessen Schmelzpunkt bei 29,78 °C liegt, lässt sich das Schmelzintervall palladiumhaltiger Legierungen in den Bereich von 1100 °C absenken, zudem wird die Kornstruktur feiner. Weiterhin kann Gallium zur Bildung der Haftoxide in Keramikaufbrennlegierungen genutzt werden. Gallium hat eine hohe Oxidationsbereitschaft und die Oxide gehen stabile chemische Verbindungen mit den aufgetragenen Keramikmassen ein (SARKAR et al. 1985, VIOHL 1995).

Die Anzahl galliumhaltiger Gusslegierungen nimmt deshalb proportional zu dem steigenden Angebot von Dentallegierungen zu. Während 1989 von den 572 im «Dental Vademekum» aufgeführten Edelmetalllegierungen 93 Gallium als ausgewiesenen Legierungsbestandteil enthielten, waren es 1998 bereits 181 von 1008 Edelmetall-Gusslegierungen (Dental Vademekum 1989 und 1998). Besonders häufig ist Gallium in aufbrennfähigen Gold- und Palladium-Legierungen enthalten. Typisch sind Galliumgehalte von 2 bis 9% Massenanteil.

Zur Biokompatibilität galliumhaltiger Gusslegierungen liegen nur wenige Studien vor; das allgemeine Interesse konzentrierte sich mehr auf die Diskussion um Palladium bzw. die Palladium-Kupfer-Legierungen (REULING 1992, ZINKE 1992, VIOHL 1995). Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in der Zellkultur die lokale, unspezifische Zytotoxizität von neun ausgewählten Gusslegierungen mit unterschiedlichem Galliumgehalt zu untersuchen. Als Vergleich dienten zwei hochgoldhaltige Legierungen. Ergänzend wurde der Metallionengehalt der Legierungsextrakte, die im Rahmen der Wachstumsinhibitionstests verwendet wurden, analysiert. Dadurch sollte ermittelt werden, ob eine Korrelation zwischen dem Austritt von Gallium aus einem Legie-

## Korrespondenzadresse:

Priv.-Doz. Dr. Heiko Visser, Zahnarzt und Diplom-Physiker,  
Abteilung Parodontologie, Zentrum ZMK, Universität  
Göttingen, Robert-Koch-Str. 40, D-37075 Göttingen  
Tel. 0551/39-8359, Fax 0551/39-8368

rungsgefüge und einem ggf. lokal-zytotoxischen Verhalten der getesteten Legierungen besteht.

## Material und Methoden

### Materialauswahl und Herstellung der Prüfkörper

Anhand des «Dental Vademekums» wurden 9 Dentallegierungen mit besonders hohem Galliumgehalt ausgewählt: 7 aufbrennfähige Palladiumlegierungen und 2 aufbrennfähige Goldlegierungen. 2 nichtaufbrennfähige Goldlegierungen dienten als Vergleichsmaterialien. Produktbezeichnungen, Hersteller und Zusammensetzung der ausgewählten Gusslegierungen sind in Tab. I zusammengefasst. Die Legierungen wurden direkt von den Herstellern bezogen und gemäss den jeweiligen Verarbeitungsrichtlinien zu zylindrischen Prüfkörpern vergossen (Durchmesser und Höhe jeweils 4 mm). Die Prüfkörper wurden vor jedem Versuchsdurchgang mit einem Sandstrahlgerät bei einer Korngrösse von 250 µm Durchmesser von Oxidationsprodukten befreit und 30 Minuten in 70-prozentigem Ethanol desinfiziert.

### Agardiffusionstest

Der Agardiffusionstest diente zur Messung der direkten lokalen, akuten und unspezifischen Zytotoxizität der Legierungen. In den Versuchen wurden 2 unterschiedliche permanente Zelllinien eingesetzt: HEp-2-Zellen (humane Epithelzellen/Larynxkarzinom) und L-929-Zellen (Fibroblasten von der Maus). Die Zelldichte war zu Versuchsbeginn auf  $2,5 \cdot 10^5$  Zellen/ml eingestellt. Die Prüfkörper wurden für 24 Stunden auf einem mit Agar-Nährmedium-Gemisch beschichteten und mit dem Vitalfarbstoff Neutralrot eingefärbten Zellrasen inkubiert. Nach Entfernung der Prüfkörper wurden die Hemmhofdurchmesser ausserhalb der jeweiligen Prüfkörper makroskopisch ausgemessen und durch eine mikroskopische Untersuchung überprüft. Die makroskopisch sichtbare Hemmhofbildung entstand dadurch, dass lysierte Zellen im Gegensatz zu gesunden keine Neutralroteinlagerungen aufwiesen. Alle Tests wurden je Zelllinie mindestens dreimal durchgeführt. Als Kontrolle des maximalen Wachstums liefen jeweils Zellkulturschalen ohne Prüfkörperapplikation mit.

### Wachstumsinhibitionstests

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Wachstumsinhibitionstests (MTT-Test und Proteinbestimmung nach Lowry)

dienten der Erfassung der lokalen, akuten und unspezifischen Zytotoxizität der Legierungen auf indirektem Wege. Jeweils 5 Prüfkörper wurden in 10 ml Zellkulturmedium (DMEM/Gibco mit 10% FCS und 1% Penicillin-Streptomycin) 7 Tage bei 37 °C auf einem Taumelgerät inkubiert. Das Oberflächen-Volumen-Verhältnis betrug 3,77 cm<sup>2</sup>/10 ml. Anschliessend wurden aus den Extrakten und frischem Zellkulturmedium 1:2-Verdünnungsreihen angesetzt. Jeweils 100 µl der 1:1- bis 1:512-Verdünnungen wurden in 96-Napf-Mikrotiterplatten (Nunc) mit den Monolayerzelllinien L-929 bzw. HEp 2 eingebracht. Die Zelldichte war zu Versuchsbeginn auf  $2,5 \cdot 10^4$  Zellen/ml eingestellt. Nach 72-stündiger Inkubationszeit wurde die Extrakt-Medium-Lösung entfernt. Zur Beurteilung der Inhibition der Zellproliferation wurden der Gesamtproteingehalt mittels der Proteinbestimmung nach Lowry und die Aktivität der mitochondrialen Succinatdehydrogenase mittels des MTT-Tests gemessen (DENIZOT & LANG 1986, LOWRY et al. 1951, MOSMAN 1983). Als Negativkontrolle dienten Zellen, die unter identischen Bedingungen mit reinem Kulturmedium inkubiert wurden. Alle Versuche wurden mindestens dreimal durchgeführt. Die Messung der Stoffwechselaktivität in der Zellkultur mittels Lowry- bzw. MTT-Test beruht auf Reaktionsketten, an deren Ende jeweils Farbumschläge stehen. Die Extinktion der Lösungen in den einzelnen Nöpfen der Kulturplatten wurde mit Hilfe eines Plattenphotometers gemessen. Dann wurden aus den einzelnen Messungen zu den unterschiedlichen Extraktverdünnungsstufen die arithmetischen Mittelwerte und die dazugehörigen Standardabweichungen berechnet. Ebenso wurde mit den Negativkontrollen (reines Kulturmedium) und den Messwerten verfahren, die für den Tag der Extraktapplikation ermittelt wurden (sog. Null-Stunden-Kontrolle). Aus diesen Daten wurde dann die prozentuale Wachstumsinhibition in den mit Legierungsextrakten besickten Zellkulturen gemäss DIN-Vornorm 13 930 (1990) berechnet.

$$\text{Wachstumsinhibition (\%)} = 100 - 100 \frac{A_{\text{Probe}} - A_{0\text{-Wert}}}{A_{\text{Kontrolle}} - A_{0\text{-Wert}}}$$

$A_{\text{Probe}}$	Mittelwert der Extinktionswerte zu einer Stufe der Verdünnungsreihe
$A_{\text{Kontrolle}}$	Mittelwert der Extinktionswerte unbehandelter Zellkulturen (Negativkontrolle)
$A_{0\text{-Wert}}$	Mittelwert der sog. Null-Stunden-Kontrolle

Tab. I Handels- und Firmennamen der getesteten Legierungen sowie der prozentuale Massenanteil der Legierungsbestandteile laut Herstellerangaben.

Legierungstyp, Name, Firma	Au	Pt	Pd	Ad	Cu	In	Ga	Zn	Ge	Sn	Ru	Ir	Fe	Rh
<b>Aufbrennfähige Pd-Legierungen</b>														
Degupal G, Firma Degussa	4,5%		77,3%	7,2%			6,0%		x	4,0%	x			
Degupal U, Firma Degussa	x		76,5%		11,6%		7,2%		x	1,9%	x			
Duo Pal 6, Firma Wieland	6,0%		75,0%	8,4%			6,5%		x	3,5%	x			
Esteticor Biennor, Firma Cendres & Métaux SA	2,0%		78,0%		11,0%	1,0%	8,0%							
Micro-Bond A-37, Firma Austenal	2,0%		76,3%		10,0%	5,0%	7,0%							
New Cer Plus, Firma Nobil-Metal	6,0%		75,3%	6,5%		6,0%	6,0%				x			
Simidur S2, Firma Wieland	2,0%		79,0%		9,5%		9,0%		x					
<b>Aufbrennfähige Goldlegierungen</b>														
Biother KF 1, Firma Biother	55,0%		10,0%	28,6%		1,0%	4,0%	1,0%					x	
Porta SMK 82, Firma Wieland	57,5%	1,5%	31,4%			8,0%	1,5%				x			
<b>Nichtaufbrennfähige Goldlegierungen</b>														
Degulor M, Firma Degussa	70,0%	4,4%	2,2%	13,5%	8,8%							x		
Duo Plus B, Firma Wieland	85,6%	12,7%				x		x			x			x

x = weniger als 1% Massenanteil

Als Vergleichsmaßstab dient bei diesem Vorgehen die sog. Negativkontrolle, d. h. Zellen, die mit reinem Kulturmedium inkubiert wurden. Die Subtraktion der sog. Null-Stunden-Kontrolle bewirkt, dass nur diejenigen Stoffwechselaktivitäten der Zellen berücksichtigt werden, die in der Inkubationszeit auftraten.

#### Spurenelementanalytik der Legierungseluate

Der Gehalt der Extrakte an Metallionen wurde mit Hilfe der induktiv gekoppelten Plasmamassenspektrometrie (ICPMS) im Institut für Geochemie der Universität Göttingen qualitativ und quantitativ bestimmt. Dazu wurden Prüfkörperextrakte unter denselben Bedingungen wie bei den Wachstumsinhibitionstests hergestellt. Zum Vergleich erfolgten Referenzmessungen an reinem Zellkulturmedium. Die Spurenelementanalytik erfolgte mit jeweils einer Kontrollmessung.

## Ergebnisse

### Agardiffusionstest

Makroskopisch wiesen die Durchmesser der Hemmhöfe um die Prüfkörper nur relativ geringe Grössenunterschiede auf. Eindeutige Unterschiede in dem zytotoxischen Verhalten der insgesamt 11 Gusslegierungen konnten nicht nachgewiesen werden, siehe Abb. 1. Die Mittelwerte der Hemmhofdurchmesser aus den drei Versuchsreihen je Zelllinie liessen eine Tendenz hinsichtlich des unterschiedlichen zytotoxischen Verhaltens der Legierungen erkennen. Die Zelllinien HEp 2 und L-929 reagierten teilweise unterschiedlich auf die einzelnen Gusslegierungen. Die galliumhaltigen Gusslegierungen Porta SMK 82, New Cer Plus und Degupal U wirkten sowohl auf die HEp-2 als auch auf die L-929-Zellen stärker zytotoxisch als die übrigen Legierungen. Die galliumhaltige Gusslegierung Esteticor Biennor zeichnete sich dagegen im Vergleich zu den übrigen getesteten Legierungen durch eine besonders niedrige Zytotoxizität aus. Die hochgoldhaltige Legierung Duo Plus B wirkte auf die Zelllinie HEp 2 lediglich durchschnittlich zytotoxisch, während die L-929-Zellen im Vergleich auf diese Legierung besonders sensibel reagierten.

### Wachstumsinhibitionstests

Durch den Einsatz zweier Zelllinien und die Auswertung der Inhibitionstests mit zwei unterschiedlichen Verfahren stand eine breite Datenbasis zur Verfügung. Die Messung der mitochondrialen Succinatdehydrogenaseaktivität (MTT-Test) war im

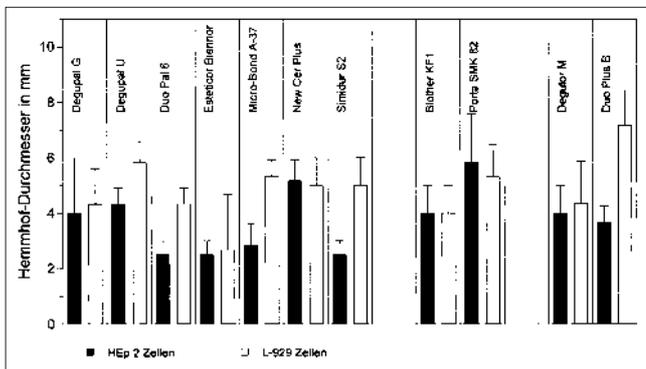


Abb. 1 Ergebnisse des Agardiffusionstests mit beiden Zelllinien (HEp-2- und L-929-Zellen). Das Balkendiagramm zeigt die Durchmesser der ausserhalb der jeweiligen Prüfkörper gebildeten Hemmhöfe in Millimetern (arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen).

Vergleich zu dem Verfahren der kolorimetrischen Proteinbestimmung (Lowry-Test) empfindlicher. Weiterhin erwies sich der MTT-Test als diejenige Methode, mit der ein besser reproduzierbares Ergebnis in den Versuchsreihen erzielt wurde. Die humanen Epithelzellen (HEp 2) reagierten auf die einzelnen Extraktverdünnungsstufen sensibler und lieferten besser reproduzierbare Ergebnisse als die Mäusefibroblasten (L-929). Somit stellte sich der MTT-Test unter Anwendung der Zelllinie HEp 2 im Rahmen der vorliegenden Untersuchung als das sensibelste Versuchsverfahren mit der besten Reproduzierbarkeit heraus. Insgesamt ergaben die Messungen jedoch ein unspektakuläres Ergebnis: In keinem der durchgeführten Wachstumsinhibitionstests unterschieden sich die Eluate der galliumhaltigen Gusslegierungen bezüglich ihrer Zytotoxizität signifikant von denen der Hochgoldlegierungen, vgl. Abb. 2.

### Spurenelementanalytik

Nach siebentägiger Eluation zeigten die Oberflächen der Prüfkörper aller Legierungen makroskopisch leichte Veränderungen. Während die Oberflächen sich vor Versuchsbeginn metallisch glänzend darstellten, erschienen sie nach der Eluation grau und matt. Die Spurenelementanalytik mittels ICPMS zeigte, dass die Legierungen unterschiedliche Mengen von Metallionen freisetzen. In Tab. II sind die wesentlichen Ergebnisse zusammengefasst. Gold oder Platin war in keinem der Extrakte nachweisbar. Aus den beiden hochgoldhaltigen Legierungen wurden geringe Mengen von Kupfer, Silber und Zink freigesetzt. Bei acht der neun untersuchten galliumhaltigen Legierungen waren die in den jeweiligen Eluat gemessenen Galliumionenkonzentrationen im Vergleich zu den übrigen Metallionenkonzentrationen deutlich erhöht. Es wurden Galliumkonzentrationen von 100 bis 870 ng/ml ermittelt. Lediglich im Extrakt der Legierung Biother KF1 waren keine Galliumionen nachweisbar.

## Diskussion und Schlussfolgerung

Gallium ist ein korrosionsfreudiges Metall aus der Borfamilie und kommt in geringen Spuren ubiquitär vor. In zahlreichen

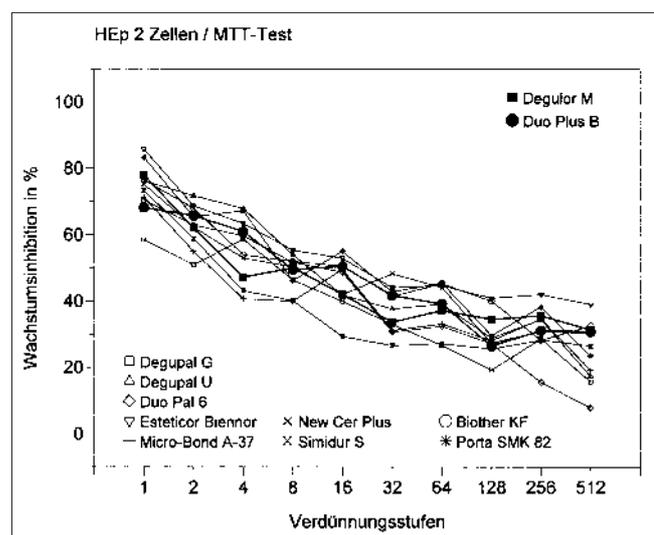


Abb. 2 Typische Ergebnisse der Wachstumsinhibitionstests: Darstellung der Wachstumsinhibitionskurven durch Eluate der untersuchten Legierungen für die Zelllinie HEp 2 und den MTT-Test. Es ergaben sich keine markanten Unterschiede zwischen den Legierungen.

Tab. II Messergebnisse des Ionengehaltes in den Prüfkörperextrakten nach 7-tägiger Eluation von 5 Prüfkörpern in 10 ml komplettiertem DMEM-Nährmedium. Die Werte sind in ng/ml angegeben. Der Wert 0 entspricht den Ergebnissen, die innerhalb der Fehlergrenzen vom Blindwert des Extraktionsmittels nicht zu unterscheiden waren.

Legierung	Au	Pt	Pd	Ag	Cu	In	Ga	Zn
<b>Aufbrennfähige Pd-Legierungen</b>								
Degupal G	0	0	52	0	0	0	349	0
Degupal U	0	0	31	0	61	0	313	0
Duo Pal 6	0	0	41	31	26	0	102	0
Esteticor Biennor	0	0	60	0	83	0	475	0
Micro-Bond A-37	0	0	44	0	88	0	492	0
New Cer Plus	0	0	33	159	55	0	870	0
Simidur S 2	0	0	103	0	82	0	295	0
<b>Aufbrennfähige Goldlegierungen</b>								
Biother KF 1	0	0	0	233	0	15	0	0
Porta SMK 82	0	0	0	0	0	27	492	0
<b>Nichtaufbrennfähige Goldlegierungen</b>								
Degulor M	0	0	0	151	605	0	0	0
Duo Plus B	0	0	0	0	0	0	0	19%

Gusslegierungen für die Zahnheilkunde ist es in Massenanteilen von 2–9% enthalten. Gallium gilt nach allgemeiner Auffassung weder toxikologisch noch allergologisch als bedenklich (GREBER 1989, SCANSETTI 1992). Diese Ansicht beruht jedoch weniger auf systematischen Untersuchungen als vielmehr auf dem Fehlen von Berichten über schädliche Wirkungen. Weiterhin ist kritisch anzumerken, dass es mit Ausnahme von Dentalmaterialien für die Normalbevölkerung keinerlei unmittelbaren Kontakte zu galliumhaltigen Materialien gibt. Humantoxikologische Daten liegen hauptsächlich aus dem Bereich der Arbeitsmedizin vor. Dabei handelt es sich im Wesentlichen um Fallbeschreibungen von Arbeitsunfällen bei der Fertigung von Galliumarsenid für Halbleiter (SCANSETTI 1992, FOWLER et al. 1993). Auch zu den potentiellen Einsatzmöglichkeiten von Galliumnitrat in der Tumorbehandlung gibt es nur wenige Publikationen (SELIGMAN et al. 1992, WARRELL et al. 1993, CSAKY & CARUSO 1997).

Tierexperimentelle Studien oder Untersuchungen zum Verhalten von Gallium in der Zellkultur finden sich nur vereinzelt (FERM & CARPENTER 1969, SCHROEDER & MITCHENER 1971, BORENFREUND & PUERNER 1986, WATAHA et al. 1991, CHANDLER et al. 1994, SCHEDLE et al. 1995, FLOQUET et al. 1997, KAPPERT et al. 1998). In den tierexperimentellen Studien zeigte sich, dass die toxikologische Potenz von Gallium stark von dessen chemischen Verbindung und der Aufnahmeform abhängt. Die durch Korrosion freigesetzten Galliumionen und die daraus resultierenden Salze sind gering toxisch, wenn sie oral eingenommen werden [REULING 1992]. Bei der Beurteilung von Galliumexpositionen gilt jedoch generell zu bedenken, dass Gallium kein essentielles Spurenelement im menschlichen Stoffwechsel ist. Zudem ist bis heute kein körpereigener Detoxifikationsmechanismus bekannt.

Sofern man einen Verzicht auf hochgoldhaltige Materialien akzeptiert, gibt es gute werkstoffkundliche Begründungen für Gallium als Bestandteil zahnärztlicher Gusslegierungen. Hinsichtlich der Zytotoxizität der untersuchten Legierungen

sind folgende Ergebnisse der vorliegenden Studie festzuhalten:

- Acht der neun untersuchten galliumhaltigen Legierungen zeigten eine relativ hohe Galliumfreisetzung. Die in der Literatur beschriebene vergleichsweise geringe Korrosionsresistenz von Gallium innerhalb eines Legierungsverbundes bestätigte sich somit (SARKAR et al. 1985, BRAUNER & HAUSSNER 1989, KAPPERT et al. 1994).
- Die in der vorliegenden Untersuchung durchgeführten Zytotoxizitätstests hatten sich in anderen Studien zu galliumhaltigen Amalgamersatzmaterialien als trennscharf und aussagefähig erwiesen (DENDEN et al. 1993, NEIDHARDT et al. 1997). Dagegen unterschieden sich die getesteten galliumhaltigen Gusslegierungen in ihrem lokal-zytotoxischen Verhalten insgesamt nicht von den hochgoldhaltigen Legierungen. Eine naheliegende Erklärung besteht darin, dass die quantitativ freigesetzten Galliumionen nur in geringerem Masse lokalzellschädigend wirken, andererseits die hochgoldhaltigen Legierungen kleine Mengen relativ zytotoxischer Silber-, Kupfer- oder Zinkionen freisetzen (WATAHA et al. 1991, CHANDLER et al. 1994, SCHEDLE et al. 1995). Unter den gewählten Versuchsbedingungen ergaben sich deshalb keine erkennbaren Unterschiede in den biologischen Wirkungen der Legierungen. Ein wesentlicher Unterschied besteht allerdings darin, dass die potentiellen humantoxikologischen Wirkungen von Silber, Kupfer oder Zink wesentlich besser untersucht sind als diejenigen von Gallium.
- Weder die lokale Gewebeverträglichkeit noch die Korrosionsbeständigkeit einer Legierung hängen allein von der Quantität der Edelmetallbestandteile ab. Entscheidend ist vielmehr die Qualität des Legierungsgefüges. So zeichnete sich die Legierung Biother KF 1, die Gallium (4%) und Zink (1%) enthält, als einzige der neun getesteten galliumhaltigen Legierungen dadurch aus, dass keine Galliumionen in ihrem Eluat nachgewiesen werden konnten. Es besteht also kein einfaches Verhältnis zwischen dem Galliumgehalt einer Gusslegierung und der Freisetzung von Galliumionen. Esteticor Biennor war mit 8% Gallium als Legierungsbestandteil tendenziell im Agardiffusionstest die Legierung mit den günstigsten Ergebnissen. In den biochemischen Tests (MTT-Test und Proteinbestimmung nach Lowry) waren entsprechende Unterschiede zwischen den getesteten Legierungen allerdings nicht nachweisbar, so dass sich im Rahmen der gewählten Versuchsbedingungen alle getesteten Legierungen als ungefähr gleichwertig erwiesen.

Eine pauschale Ablehnung von Gallium als Bestandteil zahnärztlicher Gusslegierungen kann aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit nicht abgeleitet werden. Die messbare Galliumfreisetzung aus der überwiegenden Mehrzahl der untersuchten galliumhaltigen Legierungen legt jedoch weitere Untersuchungen zum Einsatz dieses Metalls in Dentalwerkstoffen nahe. Besteht aus werkstoffkundlichen Gründen die Notwendigkeit, Gallium oder andere unedle Metalle in eine Legierung zu integrieren, sollte der jeweilige Legierungsverbund hinsichtlich seiner Korrosionsstabilität und Biokompatibilität besonders sorgfältig überprüft werden.

#### Danksagung:

Wir danken der Fa. Degussa Dental Hanau für die Unterstützung der ICPMS-Analysen, die im Institut für Geochemie der Universität Göttingen durchgeführt wurden.

## Summary

VISSER H, BÖNIG M, GRZYB G: **In-vitro-cytotoxicity of gallium-containing dental alloys** (in German). *Acta Med Dent Helv* 4: 102–106 (1999)

The in vitro cytotoxicity of 9 gallium containing dental casting alloys was compared to 2 gallium-free high precious alloys. Permanent human epithelial cells (HEp 2) and mouse fibroblasts (L-929) were used for comparison of the cytotoxicity. Indirect testing was performed with extracts of the casting alloys which were obtained by elution of standardized specimens in cell culture medium. The content of trace elements in the extracts was assessed by ICPMS-analysis. Dilutions of the filtrated extracts were applied to the cells. After incubation for 72 hours cell proliferation was assessed by measuring the cellular protein using the Lowry-test, the viability was measured by the MTT-test. In addition the agar overlay method was performed for direct testing of the casting alloys. 8 of the 9 casting alloys containing Gallium released relatively high amounts of this metal, but the biological tests revealed only relatively small differences between the casting alloys under investigation.

## Résumé

Le but de cette étude était de comparer in vitro la cytotoxicité de neuf alliages dentaires contenant du gallium à celle de deux alliages précieux à haute teneur d'or sans gallium. Des cultures de cellules épithéliales humaines (HEp 2) et de fibroblastes (L-929) de souris ont été utilisées pour effectuer une telle comparaison. Ce test indirect a été effectué à l'aide d'extraits d'alliages obtenus par élution d'échantillons standardisés dans le milieu de culture. Le contenu d'éléments trace dans ces extraits a été déterminé par une analyse ICPMS. Après un temps d'incubation de 72 heures, la prolifération cellulaire a été évaluée en mesurant la libération de protéines cellulaires par le test de Lowry. La viabilité des cellules a été déterminée par le test MTT. De plus, la méthode d'Agar recouvrant les échantillons a été appliquée pour tester directement les alliages coulés. Huit des neuf alliages contenant du gallium ont relâché des taux de métal relativement élevés. En revanche, les tests biologiques n'ont révélé que des différences mineures entre les alliages.

## Literaturverzeichnis

BORENFREUND E, PUERNER J A: Cytotoxicity of metals, metal-metal and metal-chelator combinations assayed in vitro. *Toxicology* 39: 121–134 (1986)

BRAUNER H, HAUSSNER T: Zum Korrosionsverhalten von Palladiumbasislegierungen. *Dtsch Zahnärztl Z* 44: 119–121 (1989)

CHANDLER J E, MESSER H H, ELLENDER G: Cytotoxicity of gallium and indium ions compared with mercuric ion. *J Dent Res* 73 (9): 1554–1559 (1994)

CSAKY K G, CARUSO R C: Gallium nitrate optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 124: 567–568 (1997)

Das Dental Vademekum: Verzeichnis zahnärztlicher und zahn-technischer Arbeitsmittel und Werkstoffe. Ausgabe 1989/90. Hrsg.: Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung, Deutscher Ärzte-Verlag, Köln (1989)

Das Dental Vademekum. 6. Ausgabe. Hrsg.: Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung, Deutscher Ärzte-Verlag, Köln (1998)

DENDEN J M, VISSER H, EWALD B, KRÜGER W: Zytotoxizität von Gallium Alloy GF. *Dtsch Zahnärztl Z* 48: 639–642 (1993)

DENIZOT F, LANG R: Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. *J Immunol Methods* 89: 271–277 (1986)

DIN-Vornorm 13930 (September 1990) Beuth Verlag, Berlin (1990)

FERM V H, CARPENTER S J: Teratogenic and embryopathic effects of indium, gallium, and germanium. *Toxicol Appl Pharmacol* 16: 166–170 (1970)

FLOQUET I, LEFEVRE A, KEMPF B, HILDEBRAND H F: Cytocompatibilité des alliages dentaires contenant du palladium. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 98 (Suppl 1): 66–68 (1997)

FOWLER B A, YAMAUCHI H, CONNER E A, AKKERMANN M: Cancer risks for humans from exposure to the semiconductor metals. *Scand J Work Environ Health* 19: 101–103 (1993)

GREBER J F: Gallium and Gallium Compounds. In: Elvers B (Ed.): *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, Vol. A12., VCH Verlagsgesellschaft Weinheim, S. 163–167 (1989)

KAPPERT H F, SAALER B, BECK T: Zellkulturprüfungen von Dentallegierungen. *Philip J* 6: 281–288 (1994)

KAPPERT H F, KROLL M, SCHWICKERATH H: Zellkulturuntersuchungen. In: SCHWICKERATH H (Hrsg.): *Verträglichkeit von Dentallegierungen unter besonderer Berücksichtigung «alternativer» Verfahren zur Diagnostik*. IDZ Institut der Deutschen Zahnärzte/Deutscher Ärzte-Verlag, Köln (1998)

LOWRY O H, ROSEBOROUGH N J, FARR A L, RANDALL R J: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 394–401 (1951)

MOSMAN T: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays. *J Immunol Methods* 65: 76–83 (1983)

NEIDHARDT S, VISSER H, KRÜGER W: Cytotoxicity of the dental filling material Galloy. *J Dent Res* 76 (Spec Issue), 199 (1997)

REULING N: *Zur biologischen Verträglichkeit dentaler Legierungen*. Hanser, München (1992)

SARKAR N K, VERRET M, EYER C S, JEANESONNE E E: Role of gallium in alloy-porcelain bonding. *J Prosthet Dent* 53: 190–194 (1985)

SCANSETTI G: Exposure to metals that have recently come into use. *Sci Total Environ* 120: 85–91 (1992)

SCHEDLE A, SAMORAPOOMPICHT P, RAUSCH-FAN X H et al.: Response of L-929 fibroblasts, human gingival fibroblasts, and human tissue mast cells to various metal cations. *J Dent Res* 74: 1513–1520 (1995)

SELIGMAN P A, MORAN P L, SCHLEICHER R B, CRAWFORD E D: Treatment with gallium nitrate: evidence for interference with iron metabolism in vivo. *Am J Hematol* 41: 232–240 (1992)

SCHROEDER H A, MITCHENER M: Scandium, chromium (VI), gallium, yttrium, rhodium, palladium, indium in mice: effects on growth and life span. *J Nutr* 101: 1431–1438 (1971)

VIOHL J: Palladiumlegierungen (Stellungnahme der DGZMK 2/95, Stand 28.2.1995). *Dtsch Zahnärztl Z* 50: 176 (1995)

WARRELL R P, LOVETT D, DILMANIAN F A, SCHNEIDER R, HEELAN R T: Low-dose gallium nitrate for prevention of osteolysis in myeloma: results of a pilot randomized study. *J Clin Oncol* 11: 2443–2450 (1993)

WATAHA J C, CRAIG R G, HANKS C T: The release of elements of dental casting alloys into cell-culture medium. *J Dent Res* 70: 1014–1018 (1991)

ZINKE T: Palladium-Basis-Legierungen. *Zahnärztl Mitt* 82 (22): 38–40 (1992)