

Aus der Poliklinik für Kieferorthopädie der Heinrich-Heine-
Universität Düsseldorf

Direktor: Universitätsprofessor Dr. D. Drescher

**Toxizitätsprüfung eines neuartigen, superelastischen Verbundmaterials für
die Kieferorthopädie mit Hilfe des
Hen's Egg Tests**

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Torsten Blens

2006

**Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

gez.:

Dekan: Univ.- Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Bernd Nürnberg

Referent: Univ.-Prof. Dr. Dieter Drescher

Koreferentin: Univ.-Prof. Dr. Regine Kahl

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Literatur	2
2.1.	Nickel-Titan-Legierungen	2
2.1.1.	Mechanische Eigenschaften	2
2.1.2.	Korrosion, Toxizität und Allergenität	10
2.2.	Der Hen's egg test	11
2.2.1.	Allgemeines zum HET	11
2.2.2.	Zur Entwicklungsgeschichte des Hühnerembryos	11
2.2.3.	Das Dottersackgefäßsystem (DGS).....	12
2.2.4.	Abgrenzung HET-CAM und HET-DGS.....	14
3.	Problemstellung.....	15
4.	Material und Methode	16
4.1.	Bruteier.....	16
4.2.	Bebrütung	16
4.3.	Vorbereitung der Hühnereier und Applikation der Testsubstanzen.....	17
4.4.	Auswertung	21
4.5.	Beurteilungskriterien.....	22
4.5.1.	Hämorrhagien.....	22
4.5.2.	Membraneintrübungen	23
4.5.3.	Membrandefekt	23
4.5.4.	Vitalität.....	23
4.6.	Pilotversuch.....	24
5.	Ergebnisse	25
5.1.	0,9% NaCl-Lösung.....	25
5.1.1.	Vitalität.....	25
5.1.2.	Membrantrübung.....	25
5.1.3.	Membrandefekt	26
5.1.4.	Hämorrhagien.....	26
5.1.5.	Zusammenfassung.....	26
5.2.	Kupfer.....	27
5.2.1.	Vitalität.....	27
5.2.2.	Membrantrübung.....	27

5.2.3.	Membrandefekt	28
5.2.4.	Hämorrhagien.....	28
5.2.5.	Zusammenfassung.....	28
5.3.	Nickel-Titan-Folie.....	29
5.3.1.	Vitalität.....	29
5.3.2.	Membrantrübung.....	30
5.3.3.	Membrandefekt	30
5.3.4.	Hämorrhagien.....	30
5.3.5.	Zusammenfassung.....	31
5.4.	Ni-Ti-Polyimid-Verbundwerkstoff	32
5.4.1.	Vitalität.....	32
5.4.2.	Membrantrübung.....	32
5.4.3.	Membrandefekt	32
5.4.4.	Hämorrhagien.....	33
5.4.5.	Zusammenfassung.....	33
6.	Diskussion	35
6.1.	Methode.....	35
6.2.	Toxische Wirkungen des Ni-Ti-Polyimid-Verbundmaterials auf die Keimlinge	36
7.	Zusammenfassung.....	38
8.	Literaturverzeichnis.....	39
9.	Danksagung.....	45
10.	Lebenslauf.....	46

1. Einleitung

Pseudoelastische Nickel-Titan-Werkstoffe werden seit der Einführung des Nitinol-Drahtes 1971 in der Kieferorthopädie eingesetzt [3, 5, 6, 7, 23, 35] und gehören heute neben rostfreiem Edelstahl zu den wichtigsten Materialien für die orthodontische Zahnbewegung [50].

Gegenüber herkömmlichen Edelstahl-Legierungen weisen moderne Ni-Ti-Drähte einige materialtechnische Besonderheiten auf, welche den klinischen Alltag der festsitzenden Behandlungsmethoden revolutioniert haben. Neben einem um den Faktor 6 kleineren E-Modul besitzen heute in der Kieferorthopädie verwendete Drahtmaterialien weitere vorteilhafte Eigenschaften, wie ein hohes Deflexionsvermögen, Memory-Effekt und die Pseudoelastizität [2, 3, 4, 13, 20, 28, 31, 50, 53]. Trotz der Fortschritte in der Entwicklung moderner Ni-Ti-Legierungen kann die Pseudoelastizität heute klinisch nur unzureichend genutzt werden, da das pseudoelastische Plateau erst bei größerer Auslenkung der Drahtmaterialien auftritt [11, 20, 21, 22, 50, 53]. Zudem können Schäden durch Wurzelresorption an den zu bewegenden Zähnen auftreten [17, 39, 49]. Die Ziele weiterer Forschungen sind die verbesserte Nutzbarmachung des pseudoelastischen Plateaus, sowie die weitere Verringerung der auftretenden orthodontischen Kräfte.

Ein Ansatz ist die Entwicklung eines Verbundmaterials, welches aus einem inneren Polymerkern und einer äußeren, in Dünnschichttechnik hergestellter Ni-Ti-Schicht besteht. Ein solches Polymer-Ni-Ti-Verbundmaterial wäre in der Lage, bereits bei geringen Auslenkungen ein pseudoelastisches Verhalten bei weiter minimierten Kraftgrößen zu zeigen. Damit könnte dieser Werkstoff in Zukunft eine effizientere und zugleich schonendere Zahnbewegung ermöglichen.

Aufgrund des langjährigen Einsatzes in der Medizin sind Nickel-Titan-Legierungen im Hinblick auf Biokompatibilität und Toxizität bereits gut untersucht. In zahlreichen Untersuchungen konnte eine hohe Bioverträglichkeit bestätigt werden [8, 10, 16, 19, 29, 32, 40, 45, 52]. Dennoch ist im Rahmen der Entwicklung eines Polymer-Ni-Ti-Verbundmaterials auch eine Prüfung des Werkstoffes auf Gewebetoxizität notwendig, da bislang unbekannt Reaktionen zwischen den Materialschichten die Biokompatibilität beeinflussen können.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung des Verbundmaterials auf Toxizität anhand eines standardisierten Testverfahrens und der Ausschluss einer gewebetoxischen Wirkung auf den lebenden Organismus.

2. Literatur

2.1. Nickel-Titan-Legierungen

2.1.1. Mechanische Eigenschaften

Nickel-Titan-Legierungen besitzen mechanische Eigenschaften, durch welche sie in der Kieferorthopädie eine herausragende Stellung einnehmen [4, 6, 7, 13, 23, 24, 50].

Bei allen Drahtmaterialien führt eine Dehnung zu einem Auftreten von Spannungen. Bei herkömmlichen Drähten aus Edelstahl steigt die Spannung über einen Teilbereich proportional zur Dehnung (Hook'sche Gerade). Die Deformation des Werkstoffes ist in diesem Bereich elastischer Natur, und somit reversibel. Bei weiterem Anstieg der Dehnung kommt es zusätzlich zur plastischen Deformation des Drahtes bis hin zur Zerstörung [34]. Abbildung 1 zeigt den schematischen Zusammenhang zwischen Spannung und Dehnung bei einem Edelstahldraht. Man erkennt, dass der Bereich der elastischen Deformation nur sehr klein ist, zudem ist die Kraftgröße für die meisten kieferorthopädischen Anwendungen zu hoch. Eine Reduktion der auftretenden Kraft war nur durch das Einbiegen von Schlaufen („Loops“) möglich, wodurch infolge der zunehmenden Drahtlänge kleinere Kräfte auftreten.

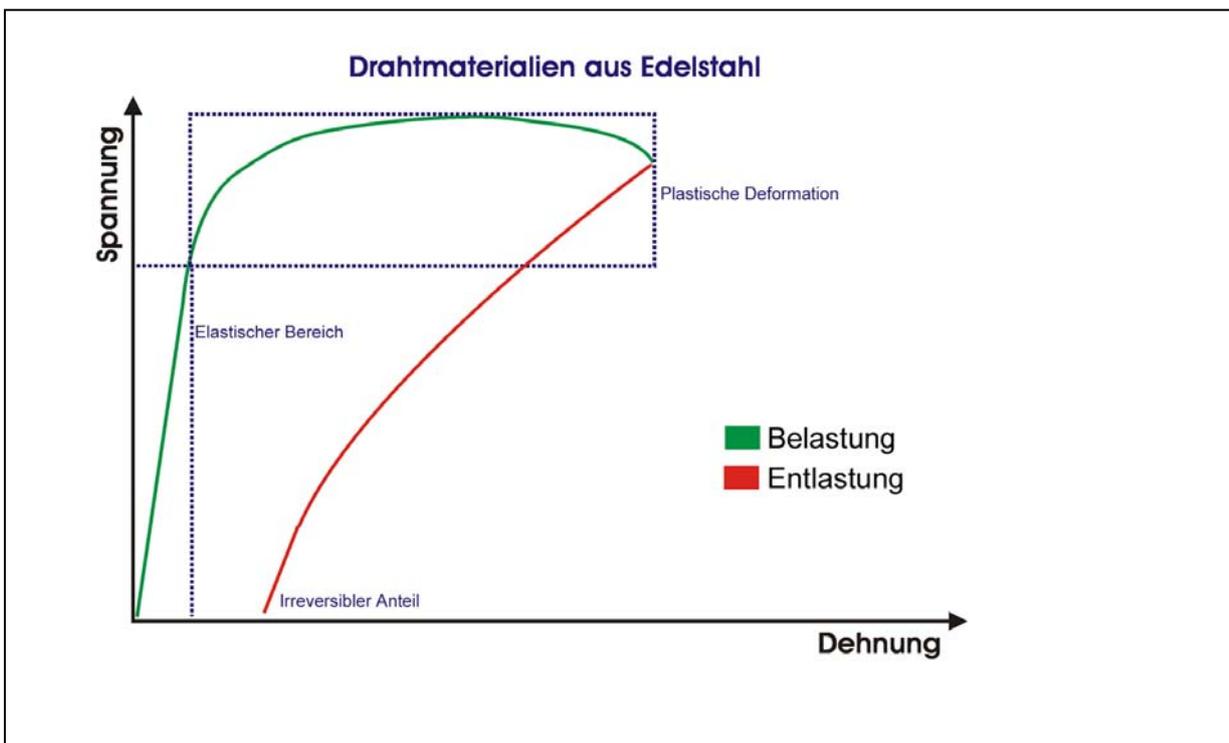


Abb. 1: Schematisches Spannungs-/Dehnungs-Diagramm eines Edelstahldrahtes.

Pseudoelastische Nickel-Titan-Drähte reagieren bei Dehnung vollkommen anders. Bei zunehmender Dehnung des Werkstoffes kommt es zunächst – wie bei Drähten aus Edelstahl – zu einem Anstieg der mechanischen Spannung im Werkstoff. Ab einem gewissen Punkt erhöht sich die Spannung bei weiterer Auslenkung jedoch kaum noch, so dass über einen weiten Arbeitsbereich fast die gleiche Spannung vorherrscht (Abbildung 2) [13, 20, 24, 28, 51].

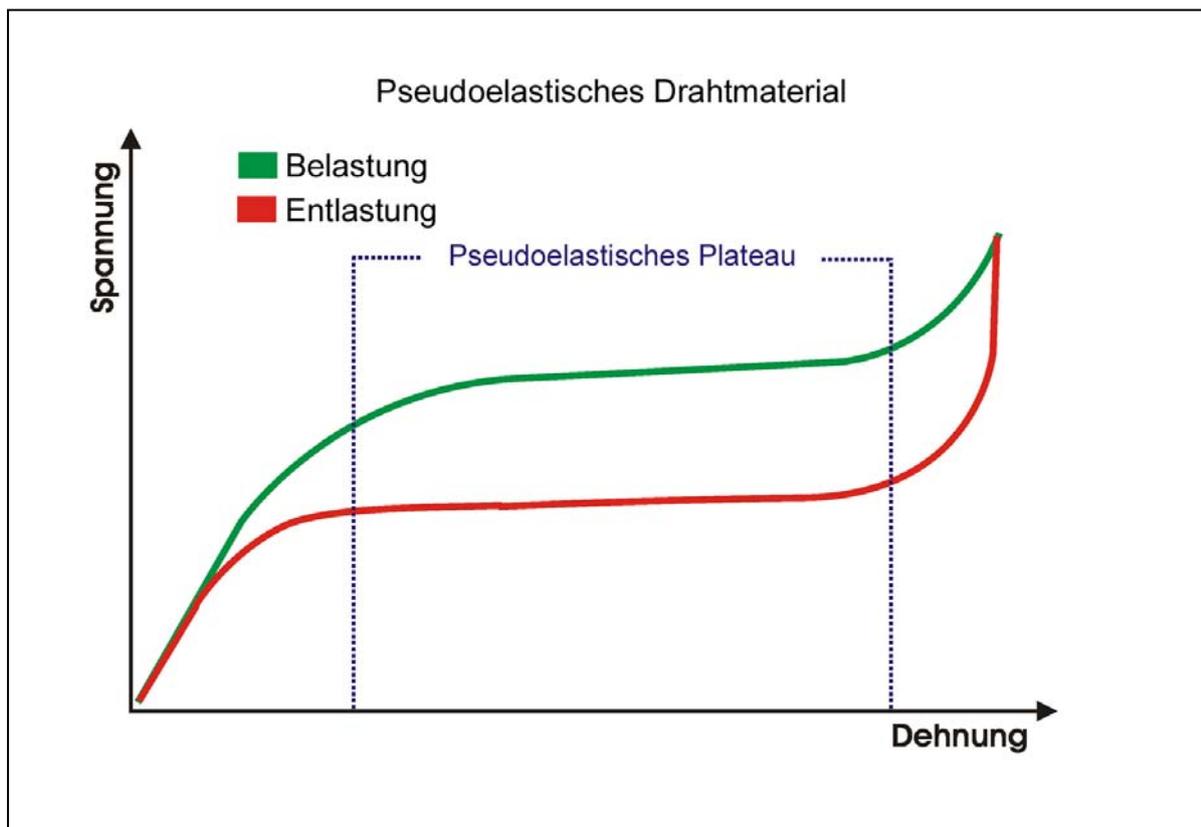


Abb. 2: Schematisches Spannungs-/Dehnungs-Diagramm eines pseudoelastischen Werkstoffes.

Dieser Arbeitsbereich wird *pseudoelastisches Plateau* genannt und beruht auf einer Umwandlung des Austenits zum spannungsinduzierten Martensit. In der Hochtemperaturphase des Werkstoffes, dem Austenit, liegt eine kubisch-raumzentrierte Anordnung der Atome vor, während die Tieftemperaturphase, der Martensit, durch eine hexagonale, dicht gepackte Kristallstruktur charakterisiert ist [14, 20, 26, 50]. Die Umwandlung der Hochtemperatur- in die Tieftemperaturphase wird *martensitische Transformation* genannt. [1, 26, 51]. Befindet sich der Werkstoff in der austenitischen Phase, kommt es bei mechanischer Belastung zu Spannungen im Werkstoff. Um diese Spannungen abzubauen, wandeln sich Teile des Werkstoffes von der kubisch-raumzentrierten Form in die energetisch günstigere hexagonal-dichtestgepackte Form (Abbildung 3) [13, 28].

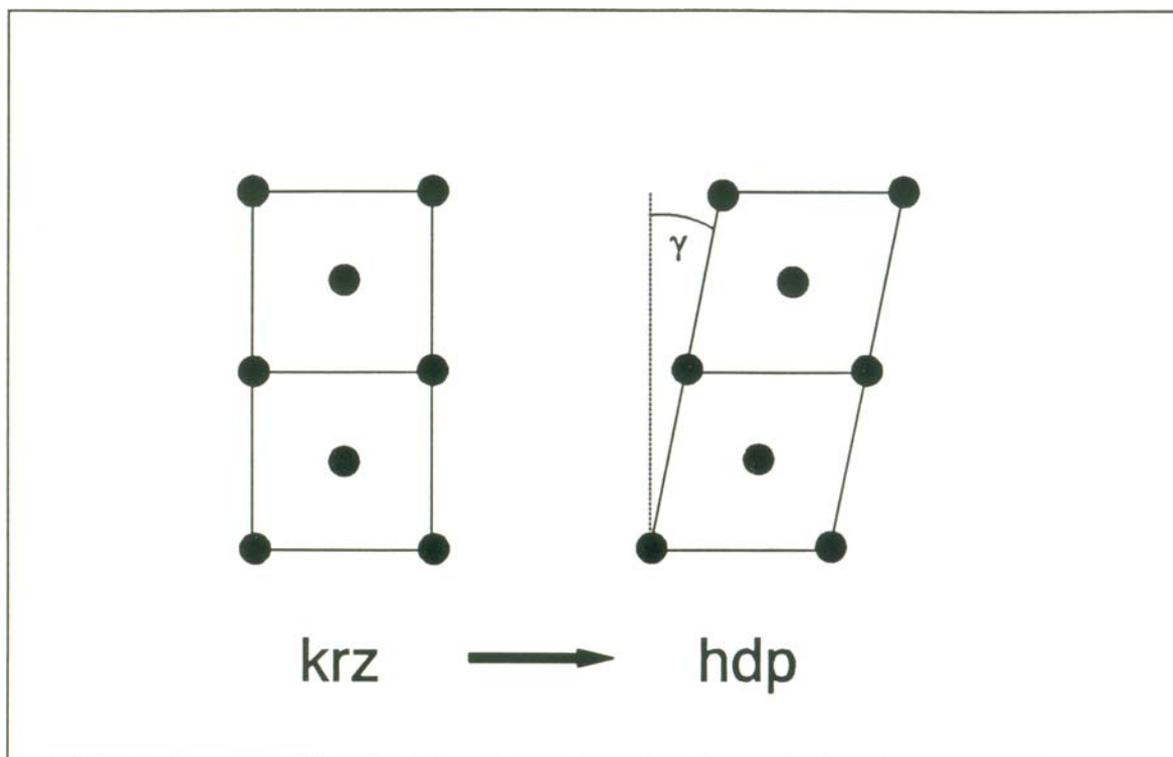


Abb. 3: Durch Spannungen wandelt sich das Atomgitter von der Austenit- in die Martensitform (aus [13]).

Zu Beginn der Deformation kommt es zu einem Anstieg der Spannung im Werkstoff, bis die Spannung so groß wird, dass es zu einer Umwandlung des Austenits zum spannungsinduzierten Martensit kommt [2, 7, 13, 28, 36, 39]. Mit der spannungsinduzierten Transformation beginnt das pseudoelastische Plateau des Werkstoffes, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass eine weitere Dehnung keinen oder nur einen geringen Spannungsanstieg bewirkt. Es werden also über einen weiten Dehnungsbereich fast gleich große Kräfte abgegeben. Ab einem bestimmten Dehnungsgrad ist die Möglichkeit der spannungsinduzierten Martensitbildung ausgeschöpft, der Werkstoff reagiert ab diesem Punkt wieder mit einem Anstieg der Spannung (Abb. 2, Ende des pseudoelastischen Plateaus). Bei Entlastung des Werkstoffes beginnt die Rückbildung des spannungsinduzierten Martensits zur austenitischen Gitterstruktur, abermals tritt eine Plateauphase auf. Ist kein Martensit mehr vorhanden, reagiert die Spannung des Werkstoffes wieder proportional zur Deformation. Da die spannungsinduzierte Martensitbildung Energie benötigt, weisen Be- und Entlastungsdiagramm eine ausgeprägte Hysterese auf [13, 20, 50].

Ein weiteres Merkmal pseudoelastischer Ni-Ti-Materialien ist das Vermögen, sich bei plastischer Deformation und anschließender Erwärmung wieder an die ursprüngliche Form zu erinnern. Man spricht in diesem Zusammenhang von *Formgedächtnislegierungen* (engl.: shape memory alloys – SMA) [28, 53]. Diese Eigenschaften erhalten Ni-Ti-Legierungen durch einen martensitischen Phasenübergang von der kubisch-raumzentrierten Hochtemperaturphase zur monoklinen Tieftemperaturphase [7, 14, 50]. Mit sinkender Temperatur vollzieht sich der martensitische Phasenübergang durch eine kollektive Scherbewegung einer großen Gruppe von Atomen innerhalb des Austenit-Gitters. Bei diesem Scherprozess entstehen zunächst große Spannungen im Werkstoff, welche über zwei Mechanismen abgebaut werden können: Bildung von Versetzungen und Bildung von Zwillingen (Abb. 4). Aufgrund der Festigkeit von Ni-Ti-SMA-Legierungen spielt die Bildung von Versetzungen keine Rolle, so dass die entstehenden Spannungen ausschließlich durch die energetisch günstige Bildung von Martensitzwillingen abgebaut werden [13, 28, 31, 36].

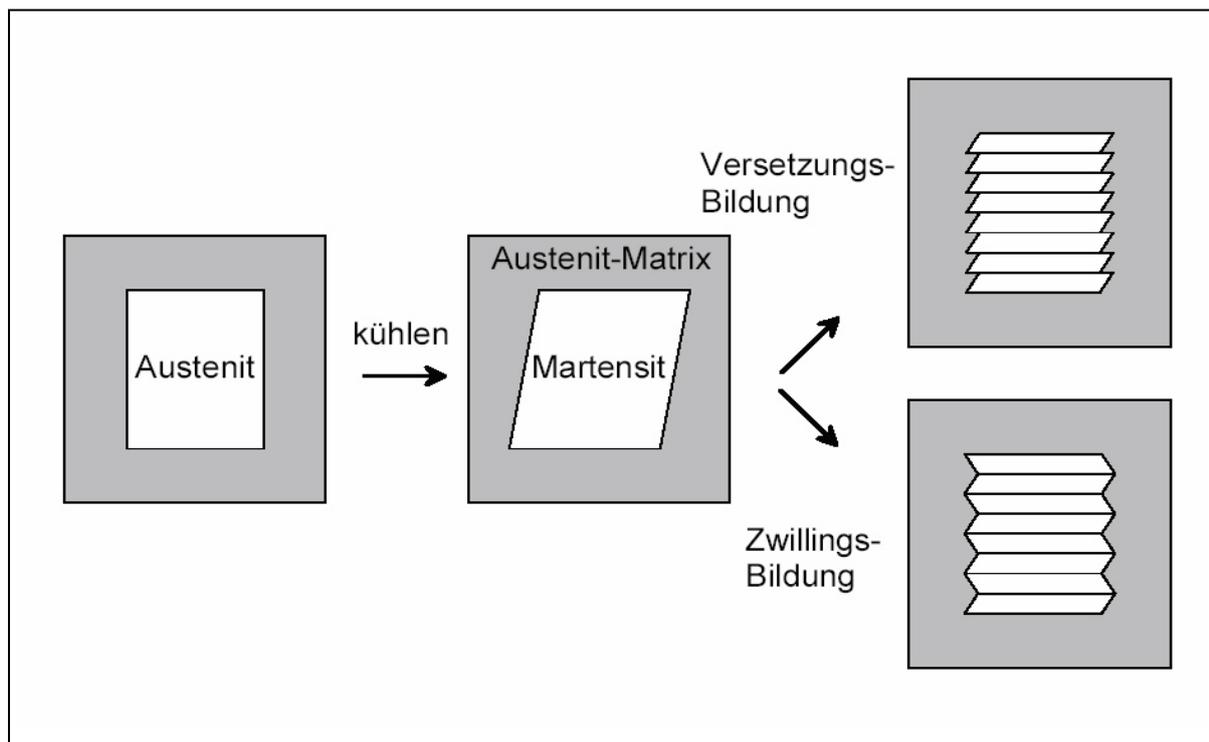


Abb. 4: Reduktion von auftretenden Eigenspannungen durch Versetzungs- oder Zwillingsbildung (aus [28]).

Die auftretenden Martensitzwillinge können hierbei zwei verschiedene Orientierungen einnehmen: α^+ und α^- - Martensite. Abbildung 5a zeigt die vereinfachte Darstellung der Kristallgitterstruktur [13, 28].

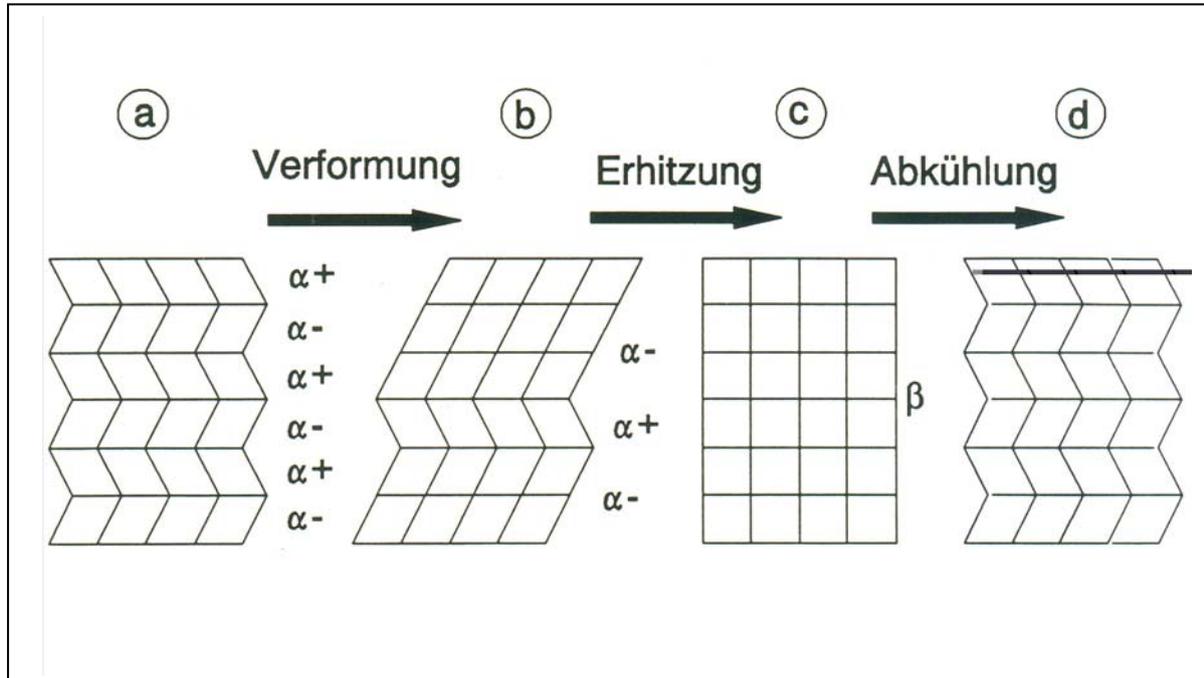


Abb. 5: Kristallgitterstruktur des Martensits (vereinfachte Darstellung, aus [13]).

Wird der Werkstoff nun verformt, so kommt es zu Verschiebungen zwischen den Martensitzwillingen, α^+ und α^- - Martensite treten in diesem Fall nicht mehr abwechselnd auf. Es resultiert eine bleibende Deformation des Werkstoffes (Abb. 5b). Bei Erhitzung des martensitischen Werkstoffes geht dieser in die Hochtemperaturform (Austenit) über und nimmt hierdurch wieder die ursprüngliche makroskopische Form ein – er „erinnert“ sich an die Form (Abb. 5c). Ein Abkühlen führt nun wieder zur gleichmäßigen Bildung der Martensitzwillinge, wobei die ursprüngliche makroskopische Form erhalten bleibt (Abb. 5d) [13, 28]. Dieses Verhalten bezeichnet man als *Einweg-Memoryeffekt*. Abbildung 6 zeigt die einzelnen Stadien des Einwegeffektes.

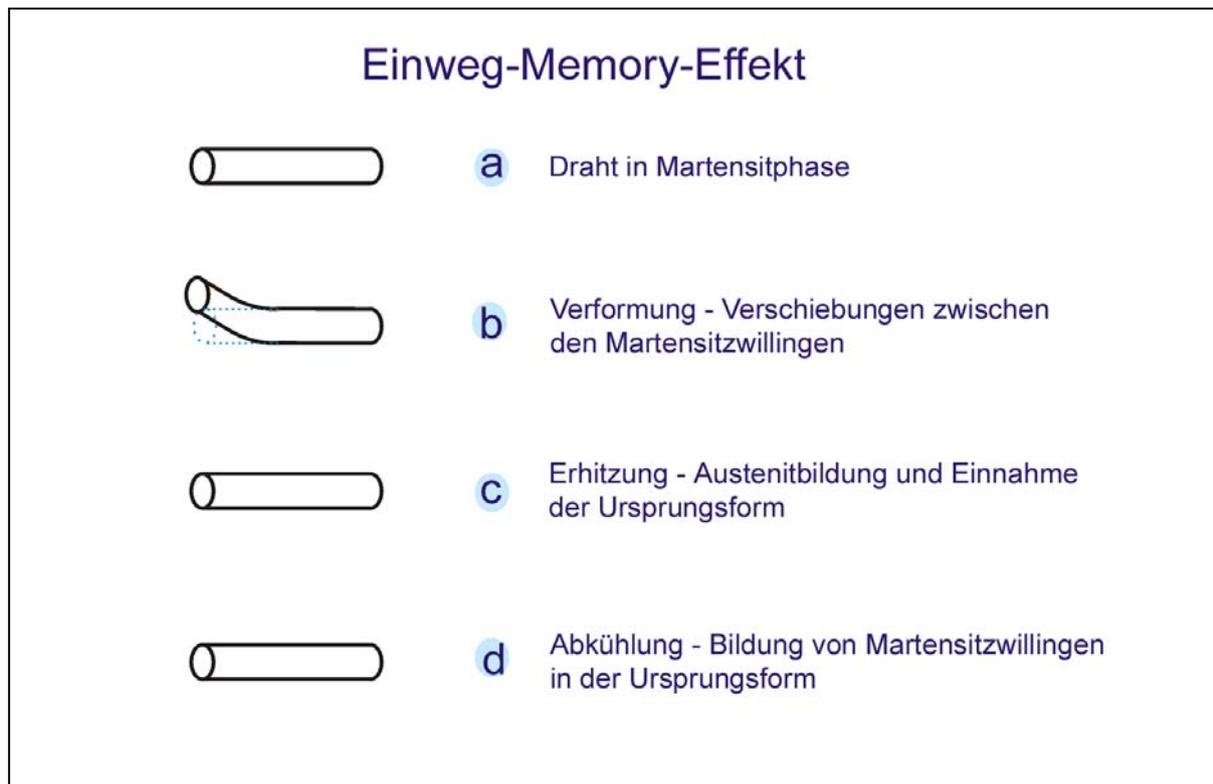


Abb. 6: Schema des Einweg-Memoryeffektes.

Dieser Effekt gilt jedoch nur, wenn der Werkstoff nicht zu stark deformiert wird. Bei Verformungen über den Punkt der reversiblen Verschiebung der Martensitzwillinge hinaus kommt es zusätzlich zu plastischen Deformationen. Bei anschließender Erhitzung mit Austenitbildung wird lediglich der reversible Anteil der Verformung rückgängig gemacht, sodass der plastische Deformationsanteil erhalten bleibt. Dieser Vorgang wird *Zweiweg-Memoryeffekt* genannt [13, 28, 32, 50]. Abbildung 7 veranschaulicht die Wirkungsweise des Zweiwegeeffektes.

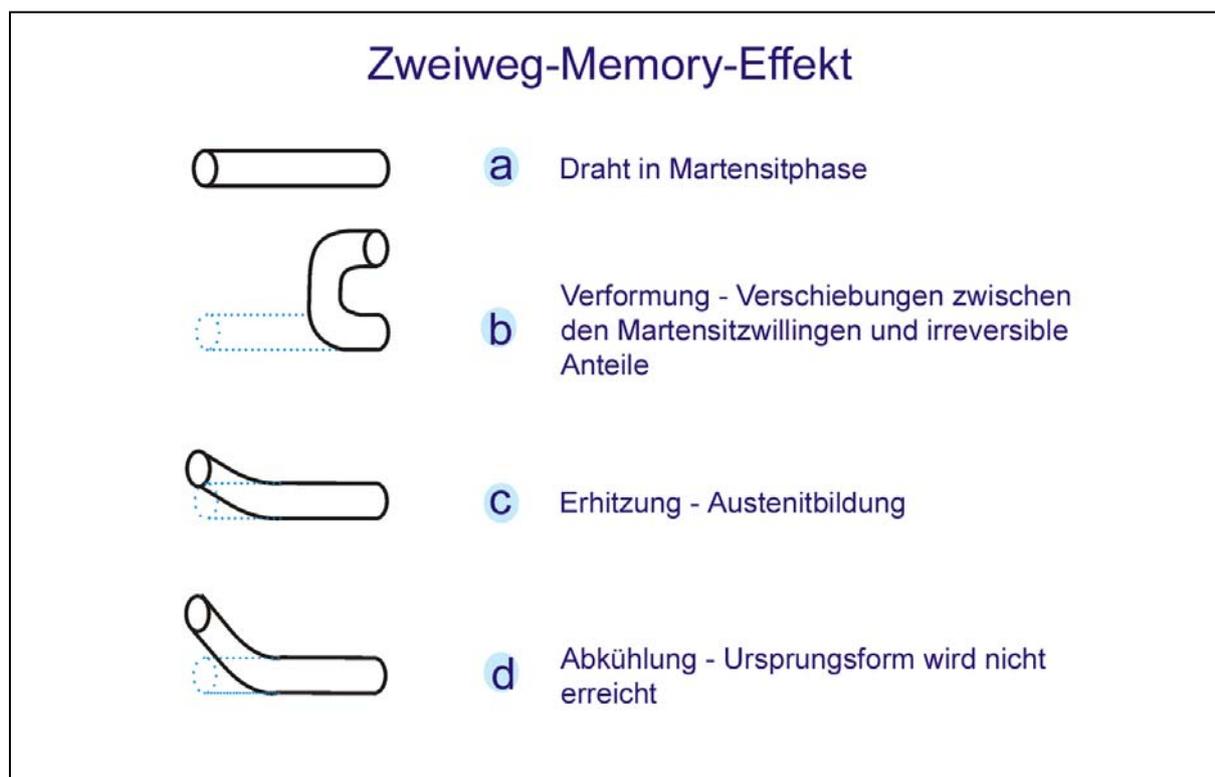


Abb. 7: Schema des Zweiweg-Memoryeffektes.

Sowohl der Formgedächtniseffekt als auch das pseudoelastische Plateau machen Ni-Ti-Drähte zu einem wertvollen Behandlungsmittel in der Kieferorthopädie [1, 4, 6, 7, 13, 22, 50]. Durch das pseudoelastische Plateau ist es möglich, gleich bleibende Kräfte über einen weiten Deformationsbereich auf die zu bewegenden Zähne wirken zu lassen und damit die Effizienz der Zahnbewegung gegenüber herkömmlichen Stahlbögen erheblich zu steigern [6, 7, 13, 22, 49, 50].

Trotzdem weisen auch moderne Ni-Ti-Drähte Defizite im Hinblick auf Effizienz und schonende Zahnbewegung auf. Untersuchungen von *Weiland* zeigten, dass bei mit Ni-Ti-Drähten bewegten Prämolaren Umriss, Fläche und Volumen der Resorptionsschäden um 140% größer waren als bei der Bewegung mit konventionellen Stahldrähten. Er folgerte hieraus, dass das auftretende langwegige Kräfteplateau von 0,8-1 N für einen Prämolaren bereits so hoch ist, dass Wurzelresorptionen in größerem Maß auftreten [49].

Faltin et al. zeigten, dass bei Intrusionsbewegungen von Zähnen durch konstante Kräfte Wurzelresorptionen im apikalen Bereich entstehen. Für das Auftreten von apikalen Wurzelresorptionen reichte eine konstante Kraft von 50 cN aus [17].

Darüber hinaus konnten *Fernandes et al.* in Untersuchungen feststellen, dass Schmerzen und Missempfindung während der kieferorthopädischen Behandlung mit festsitzenden Geräten in direktem Zusammenhang mit der durch die Drahtbögen applizierten Kraftgröße stehen [18].

Für neuentwickelte kieferorthopädische Drahtbögen besteht daher generell die Forderung nach einem weiter minimierten Kräfteplateau.

Bei Untersuchungen des Biegungs- und Torsionsverhaltens konnte *Drescher* nachweisen, dass das Deformationsverhalten von pseudoelastischen Nickel-Titan-Drähten größtenteils durch die randständigen Werkstoffanteile bestimmt wird. Lediglich in den äußeren Randbereichen des Drahtquerschnitts kommt es zu spannungsinduziertem Martensit, sodass die für die Kieferorthopädie wichtigen Eigenschaften der pseudoelastischen Drähte auf oberflächliche Anteile des Drahtquerschnittes begrenzt sind [13]. Dies ist der Grund dafür, dass das pseudoelastische Verhalten orthodontischer Drähte klinisch oft nicht genutzt wird.

Kock konnte experimentell nachweisen, dass das pseudoelastische Plateau orthodontischer Ni-Ti-Drähte bei großen Interbracketdistanzen oder geringfügigen Nivellierungsaufgaben nicht erreicht werden kann [31].

Laut *Brantley* besitzen nur einige der auf dem Markt erhältlichen Ni-Ti-Drähte klinisch nutzbare pseudoelastische- und Memoryeigenschaften [9].

Aus diesen Ergebnissen können Forderungen zur Verbesserung heutiger Ni-Ti-Drahtbögen abgeleitet werden:

- Weitere Minimierung der auftretenden Torsions- und Biegemomente.
- Verbesserte pseudoelastische Eigenschaften bereits bei kleinen Deformationen.

Die in dieser Arbeit untersuchten Ni-Ti-Polymer-Verbundmaterialien sollen diesem Idealziel möglichst nahe kommen. Durch einen Polyimidkern mit kleinem E-Modul können die auftretenden Kräfte minimiert und gleichzeitig der Drahtquerschnitt vergrößert werden. Die äußere Nickel-Titan-Schicht unterliegt bei Deformationen den größten Spannungen, so dass in Verbindung mit großen Drahtquerschnitten das pseudoelastische Plateau bereits bei kleinen Auslenkungen erreicht wird. Dass auch dünne Schichten von Ni-Ti-Werkstoffen ein pseudoelastisches Plateau aufweisen können, haben *Ishida et al.* nachgewiesen [27].

Tad et al. konnten zeigen, dass dünne Schichten prinzipiell auch auf Polyimidfolien aufgetragen werden können [48]. Aufgrund der beim Auftragen der Ni Ti-Schichten notwendigen hohen Thermostabilität wurde bei den vorliegenden Materialproben eine Polyimidfolie (Upilex-S) der japanischen Firma UBE Industries verwendet, welche sich bis zu einer Temperatur von 450°C weitestgehend stabil verhält [37].

2.1.2. Korrosion, Toxizität und Allergenität

Aufgrund der zahlreichen Anwendungen im medizinischen und zahnmedizinischen Bereich sind Nickel-Titan-Legierungen bereits häufig auf mögliche Interaktionen mit dem lebenden Organismus getestet worden [10, 15, 16, 19, 29, 32, 45, 52].

Ni-Ti-Werkstoffe besitzen trotz ihres hohen Nickelanteils von ~ 55 Gew.-% eine gute Biokompatibilität [16, 32, 45]. Aufgrund der stabilen Verbindung mit Titan tritt das hohe toxische und allergenisierende Potential des Nickels klinisch kaum auf [32, 45].

Trotzdem kann es bei längerer Anwendung von orthodontischen Drähten im Mundmilieu durch Korrosion zur Freisetzung atomaren Nickels kommen. *Bruns* wies experimentell nach, dass Ni-Ti-Drähte bei längerer intraoraler Exposition Korrosionserscheinungen aufweisen können. Im Rasterelektronenmikroskop zeigten sich diese Erscheinungen in Form von Lochfraß an der Drahtoberfläche. Er fordert daher, auch pseudoelastische Drahtmaterialien in regelmäßigen Intervallen zu erneuern. Außer dem auftretenden Kraftverlust nennt er Friktionserhöhung, sowie erhöhte Nickelabgabe als mögliche Konsequenz der Korrosion. Dennoch wies kein Patient der Testgruppe vor oder nach dem Versuch allergische Reaktionen auf, welche mit erhöhter Nিকেlexposition in Verbindung gebracht werden konnte [11].

Das Phänomen des Friktionsverlustes im intraoralen Milieu konnte auch von *Geserick* mit Hilfe profilometrischer Messungen bestätigt werden. In Folge der Messergebnisse wird auch hier der regelmäßige Wechsel von Ni-Ti-Bögen gefordert [19]. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam *Yokohama*, der zeigen konnte, dass Ni-Ti-Legierungen im Mundmilieu mit zunehmender Verweildauer zu Degradation neigen [52].

Auch die erhöhte Oberflächenrauigkeit von bis zu 1,3 Mikron kann neben vergrößerter Friktion eine erhöhte Korrosionstendenz bewirken [25].

Trotz der möglichen Korrosionsphänomene gelten Ni-Ti-Werkstoffe nach heutigem Wissensstand aufgrund zahlreicher Untersuchungen als nicht toxisch [10, 11, 16, 19, 29, 32, 45].

Bei der Neuentwicklung medizinischer Materialien muss eine potentielle Gewebetoxizität bereits im Vorfeld ausgeschlossen werden um jegliche Schäden am Menschen zu vermeiden. Da unbekannt ist, ob der entwickelte NiTi/Polyimid-Verbund ein gewebetoxisches Potential aufweist, ist in diesem Fall eine Prüfung des neuen Werkstoffes notwendig.

2.2. Der Hen's egg test

2.2.1. Allgemeines zum HET

Seit ca. 15 Jahren sind Tests am bebrüteten Hühnerei fester Bestandteil toxikologischer Forschungen [44]. Früher wurde vor allem der *Draize-Test* als Standardmethode der Gewebeverträglichkeit durchgeführt. Bei diesem Test wird die potentiell toxische Substanz in das Auge eines Hauskaninchens eingebracht. Nach einer bestimmten Zeit werden Reizung, Blutung und Zerstörungsgrad der Hornhaut bestimmt und hieraus ein Hinweis auf die Gewebetoxizität des Teststoffes abgeleitet. Aus heutiger Sicht ist der Draize-Test aus wissenschaftlicher und ethischer Sicht umstritten. Neben dem Mangel an Objektivität und Reproduzierbarkeit ist die unsichere Übertragbarkeit des Ergebnisses auf den Menschen ein Hauptgrund für die Kritik an der wissenschaftlichen Validität des Draize-Tests. Auch ist die Testung von Feststoffen praktisch nicht durchführbar [44].

Das Testmodell des bebrüteten Hühnerreis wird seit über 100 Jahren im Bereich der experimentellen Forschung eingesetzt. Jährlich werden ca. 3.000 Publikationen zu diesem Thema veröffentlicht [43]. Beim HET wird die Testung auf toxische Wirkung durch das Einbringen eines Stoffes in oder auf das Gewebe eines bebrüteten Hühnerembryos, bzw. der extraembryonalen Blutgefäßsysteme vorgenommen. Aufgrund der Veränderungen der exponierten Gewebe, welche sich Sekunden bis Stunden nach der Stoffexposition zeigen können, werden Rückschlüsse auf die toxikologische Wirkung auf den menschlichen Organismus gezogen [33, 43, 44, 47]. Auftretende Veränderungen sind beim HET makroskopisch sichtbar, *Djabari et al.* berichten bei speziellen Fragestellungen von einer Zunahme der Sensitivität bei gleichzeitiger histologischer Begutachtung des Gewebes [12].

2.2.2. Zur Entwicklungsgeschichte des Hühnerembryos

Im befruchteten Hühnerei befindet sich der Dotter, welcher von Eiklar umgeben ist. Das Eiklar und der Dotter sind durch eine zweiblättrige Schalenhaut umschlossen. Am stumpfen Pol des Eies divergieren die Blätter, wodurch hier eine Luftkammer entsteht. Eine Kalkschale und die darüber liegende dünne Haut, die Cuticula, bilden den Abschluss des Hühnerreis und schützen den Embryo vor äußeren Einflüssen. Der Dotterkugel liegt die Anlage der Keimscheibe auf, die von der Dottermembran – dem *Oolemm* – überzogen ist.

Bei der Eiablage bestehen bereits mehrere Zellen, die unter der Dottermembran die Keimscheibe – das *Blastoderm* – bilden.

Bei Bruttemperaturen von ca. 37,4°C spaltet sich zunächst ein unteres Blatt von der Keimscheibe ab (*Entoderm*). Die in der Aufsicht anfangs runde Keimscheibe weist zunächst ein mittleres Areal (*Area pellucida*) sowie ein randständiges Areal (*Area opaca*) auf, deren Zellen sich im weiteren Verlauf zum Primitivstreifen, der in die *Area pellucida* hineireicht, verdichten. Dieser Primitivstreifen erhält im weiteren Verlauf eine Rinne, sowie eine endständige Verdickung, den Primitivknoten. Durch Zellwachstum von den Seiten aus in die Primitivrinne wird Zellmaterial zwischen Ekto- und Entoderm geschoben. Die Chorda entwickelt sich aus dem Primitivknoten nach vorn, das Mesoderm wächst zunächst seitlich und kaudal, später auch kopfwärts und wird Bestandteil des Dottersackes.

Dottermembran und Dottersack sind miteinander verbunden. Der Dottersack bildet sich aus dem somatischen und viszeralem Mesoderm sowie dem Entoderm, wobei peripher des Dottersackes die doppelblättrige Dottermembran (*Vitellinische Membran*) liegt. Zwischen Dottersack und Embryo findet im Laufe der Entwicklung die Ausbildung eines Blutkreislaufes statt. Über den Dottersack werden Nährstoffe und Sauerstoff aus dem Dotter absorbiert und über das Dottersackgefäßsystem zur Verwertung dem Embryo zugeführt [30].

2.2.3. Das Dottersack-Gefäßsystem (DGS)

Nach 25 Stunden Inkubationszeit treten kleine Blutinseln auf, welche aus dem extraembryonalen Mesoderm hervorgehen. Durch Ausdehnung der Blutinseln um die Embryonalanlage entsteht ein ringförmiges Areal (*Area vasculosa* bzw. *Area opaca*).

Zwischen den Blutinseln kommt es zu netzartigen Verbindungen. Seitlich ist dieser Gefäßhof durch einen Randsinus (*Sinus terminalis*) begrenzt, von hier aus wachsen venöse Gefäßbahnen nach zentral zum Herzschnlauch. Im rostralen Bereich verlaufen rechts und links jeweils anteriore Dottervenen nach zentral, wo sie in die jeweilige *V. omphalomesenterica dext. et sin.* münden, die ihrerseits das Blut zum Embryoherzen leiten. Die entsprechenden Arterien des Dotters (*Aa. vitellinae*) entspringen der Aorta weiter caudal und führen das Blut zur Dottersackwand.

Durch die im rostralen Anteil beidseitige venöse Zuführung aus dem Randsinus stellt der *Sinus terminalis* anfangs keine ringförmig geschlossene Abgrenzung des DGS dar. Am dritten Bebrütungstag kommt es zur Rückbildung der vorderen rechten Dottervene und schließlich dem rostralen Schluss der rechten und linken Sinusanteile. An der Verschlussstelle drainiert

jetzt lediglich die vordere linke Dottervene (V. omphalomesenterica anterior sinistra, V. vitellina ant. sin.), während am caudalen Ende sich eine V. vitellina posterior bildet.

Zu den nach lateral beidseits entspringenden Dotterarterien bilden sich paarige Begleitvenen (entsprechend als V. omphalomesenterica dextra bzw. sinistra).

In dieser Zeit ist der Dottersack mit seinem Kapillarnetzwerk für die Hämatopoese verantwortlich, bevor nach der ersten Woche in der Leber, und nach der zweiten Woche im Knochenmark die Erythropoese stattfindet.

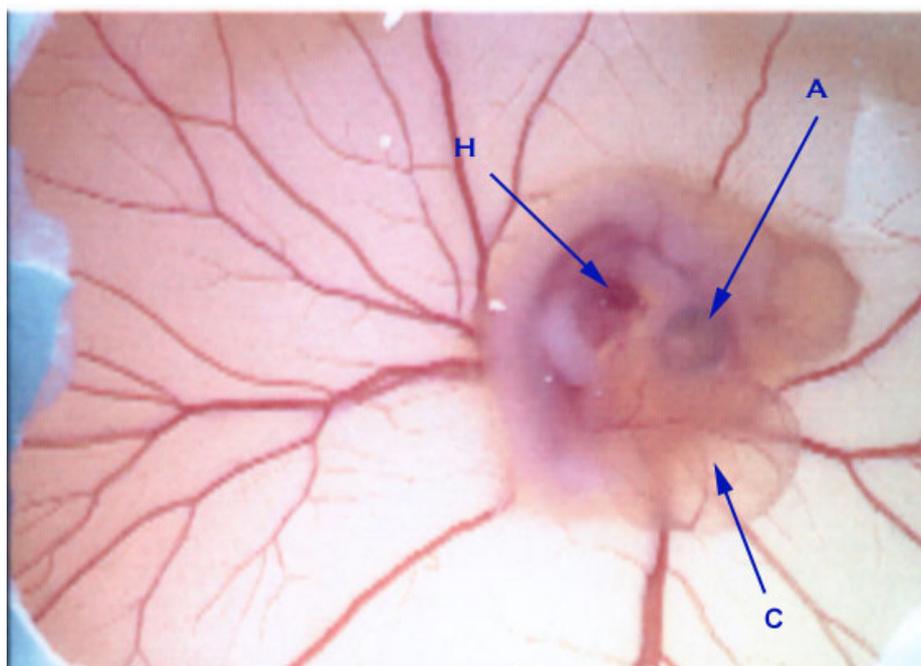


Abb. 8: Normal entwickelter Hühnerembryo am vierten Bebrütungstag mit umgebenden Dottersack-Gefäßsystem (H: Herz, A: Augenanlage, C: Chorion-Allantois-Membran).

Abbildung 8 zeigt einen normal entwickelten Hühnerembryo am vierten Bebrütungstag. Zu diesem Zeitpunkt hat sich aus dem anfänglichen Herzschlauch ein mehrkammeriges Herz (H) gebildet. Des Weiteren erkennt man die Augenanlage (A), sowie die Anlage der Chorion-Allantois-Membran (C). Das Dottersack-Gefäßsystem umgibt den Embryo und sorgt für die Nährstoffaufnahme aus dem Dotter, sowie die Aufrechterhaltung der respiratorischen Funktion. Das DGS zeichnet bis zum 5. Bebrütungstag alleine für die respiratorische Funktion verantwortlich. Vom 5. bis zum 10. Bebrütungstag teilen sich BGS und die neu gebildete Allantois diese Funktion, ab dem 10. Bebrütungstag fungiert die Chorio-Allantois-Membran (CAM) als alleiniges Respirationsorgan [30, 42, 43].

2.2.4. Abgrenzung HET-CAM und HET-DGS

Wenn eine Stofftestung am bebrüteten Hühnerei durchgeführt wird, ist der HET-CAM-Test die am meisten verbreitete Testmethode. Hier wird der Teststoff auf die Chorion-Allantois-Membran aufgebracht, welche sich ab dem 7. Bebrütungstag für eine Testung eignet. Ab dem 8. Tag ist die Entwicklung des zentralen und peripheren Nervensystems weitgehend abgeschlossen, so dass man ab diesem Zeitpunkt von einer Schmerzempfindlichkeit des Embryos ausgehen muss. Obwohl die CAM selbst nicht von Nerven durchzogen ist, kann eine schmerzhafte Beeinträchtigung des Embryos ab dem 9. bis 10. Bebrütungstag nicht ausgeschlossen werden. Dementsprechend sollte man aus Gründen des Tierschutzes von Versuchen nach dem 10. Bebrütungstag, also der Hälfte der Embryonalentwicklung, absehen, wenn man eine schmerzhafte Schädigung des Embryos vermeiden möchte. Eine solche Einschränkung würde auch den Bestimmungen des britischen Tierschutzgesetzes entsprechen, das generell Keimlinge ab der ersten Hälfte ihrer Entwicklung unter Schutz stellt [44].

Arbeiten von *Rosenbruch* haben gezeigt, dass toxikologische Studien an einem Blutgefäßsystem bereits in der ersten, noch schmerzunempfindlichen Entwicklungsphase der Hühnerembryonen möglich sind [41]. Schädigende Substanzwirkungen werden hierbei nicht an der CAM, sondern am Dottersack-Gefäßsystem (DGS) von 3-5 Tage bebrüteten Hühnereiern untersucht [30, 38, 41, 42, 43, 44, 46]. Da eine neuronale Funktionalität vor dem 7. Bebrütungstag nicht gegeben ist, ergeben sich nach *Rosenbruch* durch den DGS-Test einige methodische, administrative und tierschutzrechtliche Vorteile, wie einfache Präparation des Hühnereies, einfachere Handhabung des Embryos durch weniger Eigenbewegung, kürzere präexperimentelle Bebrütungszeit, dadurch Zeit- und Kostenersparnis, sowie keine tierschutzrechtlichen Bedenken aufgrund fehlender Schmerzempfindung des Embryos [41].

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe des DGS-Verfahrens durchgeführt.

3. Problemstellung

Moderne orthodontische Ni-Ti-Drahtmaterialien sind aufgrund ihrer speziellen mechanischen Eigenschaften in der Kieferorthopädie weit verbreitet. Dennoch gibt es im Hinblick auf klinische Effizienz und Behandlungsrisiken Punkte, bei denen eine Weiterentwicklung wünschenswert ist. Hier stehen vor Allem Forderungen nach verbesserten pseudoelastischen Eigenschaften, sowie verkleinerter Kraftabgabe im Vordergrund. Mit der Entwicklung pseudoelastischer Verbundmaterialien kann man diesen Forderungen nachkommen.

Bei der Neuentwicklung medizinischer Werkstoffe ist die Prüfung auf mögliche Toxizität ein wichtiger Kernaspekt. Obwohl Ni-Ti-Drähte im Allgemeinen als biokompatibel gelten, muss dies nicht zwangsläufig für ein Ni-Ti-Polyimid-Verbundmaterial zutreffen.

Daher ist das Ziel dieser Arbeit die Toxizitätsprüfung eines neuentwickelten Verbundwerkstoffes mit Hilfe eines toxikologischen Testverfahrens am bebrüteten Hühnerei.

4. Material und Methode

4.1. Bruteier

Als Bruteier dienten befruchtete, weiße Hühnereier der Rasse "White Leghorn" (Shaver Starcross 288A, Fa. Lohmann Tierzucht GmbH, Cuxhaven). Die Lagerung erfolgte in einem Kühlschrank bei +5°C für höchstens 24 h, bevor sie für die Testung gebraucht wurden. Eine Lagerung von mehr als 2 Wochen wirkt sich negativ auf die gesunde Entwicklung der Hühnerembryonen aus [46].

4.2. Bebrütung

Die Bebrütung der Hühnereier erfolgte in einem Brutschrank vom Typ BSS160, #25489 der Firma Ehret, Emmendingen. Die Bruteier wurden für 3 Tage bei einer Temperatur von 37,4°C, sowie einer mittleren Luftfeuchtigkeit von 45-50% bebrütet.

4.3. Vorbereitung der Hühnereier und Applikation der Testsubstanzen

Damit man die Proben auf das extraembryonale Dottersack-Gefäßsystem auftragen kann, ist es notwendig, zunächst eine definierte Menge des umgebenden Eiklar zu entfernen. Dafür wurden die Bruteier zunächst an ihrem stumpfen Ende mit einem 1,6 mm Rosenbohrer (Fa. Komet) eröffnet (Abbildung 9).



Abb. 9: Anbohren des Hühnereies mit Hilfe einer Welle und eines 1,6 mm Rosenbohrers bei 20.000 min^{-1}

Durch diese Öffnung wurde die sterile Kanüle einer Einwegspritze eingeführt und ca. 1,5 – 2 cm in das Eiklar hineingeschoben. Wichtig war, dass die Kanüle an der Kalkschale entlang geführt wurde, um eine Verletzung des Dotters oder des Embryos zu verhindern. Nun wurden 5 ml Eiklar entnommen. Hierdurch kam es zu einem Absinken des Dotters mit dem Embryo. Eine Markierung auf der Oberseite des Eies verhinderte ein nachträgliches Umlagern und zeigte die Stelle, an der das Ei später eröffnet werden konnte (Abbildung 10).



Abb. 10: Entfernung von 5 ml Eiklar mit einer Einwegspritze

Nach der Entnahme des Eiklars wurde die Öffnung mit Plastilin verschlossen, um ein Austrocknen des Eies zu verhindern. Nun wurde die Kalkschale an der markierten Stelle mit Hilfe eines diamantierten Fräasers („806 104“, Fa. Komet) bei 20.000 min^{-1} kleinflächig entfernt und mit Hilfe einer anatomischen Pinzette ein ausreichend großes Sichtfenster eröffnet (Abbildung 11).

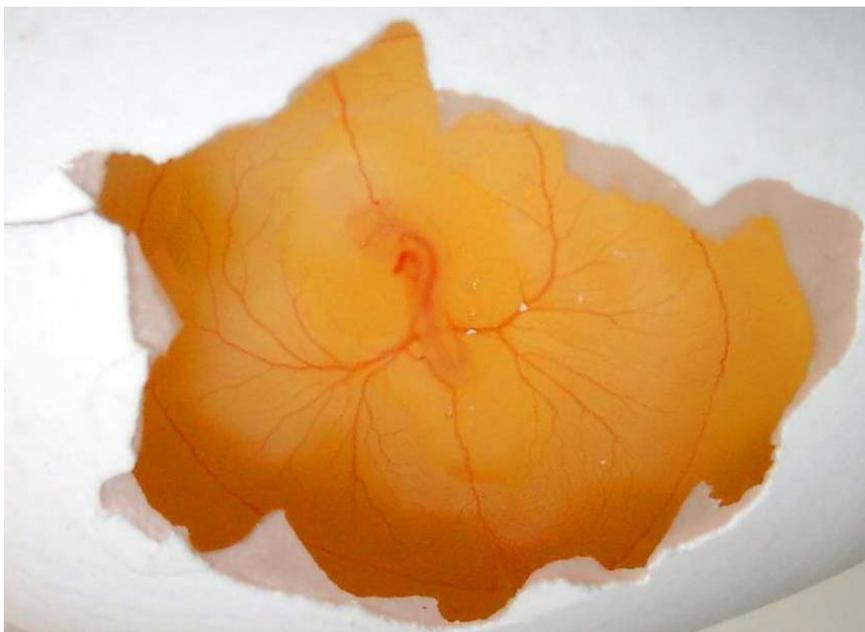


Abb. 11: Eröffnetes Brutei mit Embryo und Dottersack-Gefäßsystem

Zu diesem Zeitpunkt mussten Embryo und DGS auf völlige Unversehrtheit geprüft werden. Bruteier mit devitalen, fehlentwickelten oder verletzten Embryonen wurden aussortiert. Von den bestellten 72 Eiern wurden 17 (23,6%) verworfen, sodass 55 Eier (76,4%) für die Testreihe zur Verfügung standen.

In die eröffneten Eier wurden die Teststoffe mit Hilfe einer anatomischen Pinzette aufgebracht. Folgende Teststoffe standen zur Verfügung:

- Kupfer (Positivprobe)
- Ni-Ti-Folie der Zusammensetzung Ti48,8% Ni51,2% (at.%)
- Ni-Ti-Polyimid-Verbundwerkstoff der Zusammensetzung ,Ti48,8% Ni51,2% (at.%)
- 1 ml physiologische Kochsalzlösung (Negativprobe)

Die Testkörper waren flache Folien mit rechteckiger Form bei einer Kantenlänge von 3-6 mm. Abbildung 12 zeigt Beispiele für Keimlinge mit aufgelegten Testkörpern.

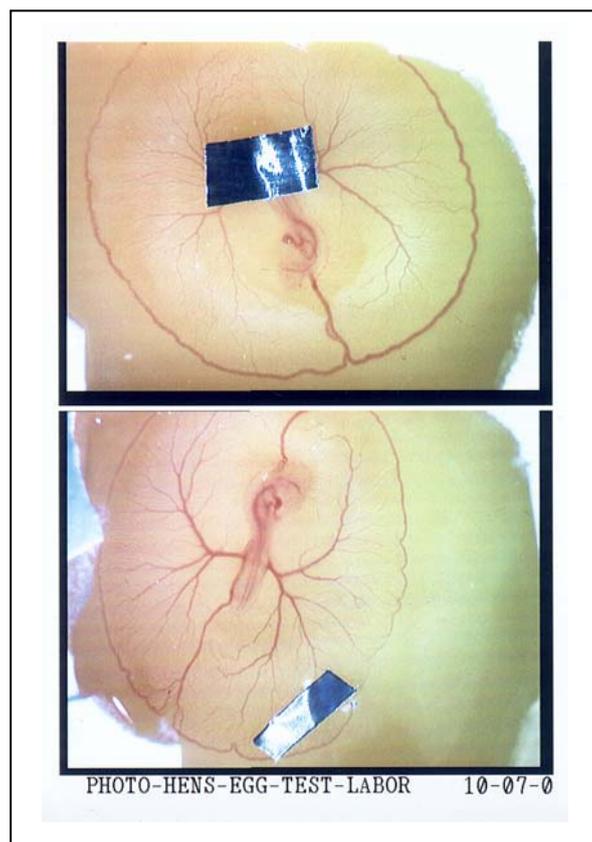


Abb.12: Embryonen mit aufgelegten Werkstofffolien.

Entsprechend der vorhandenen Teststoffe wurde folgende Gruppeneinteilung vorgenommen:

Teststoff	Anzahl Bruteier
Ni-Ti-Polyimid-Verbund	14
Kupfer	14
NiTi-Folie	14
0,9% NaCl-Lösung	13

Nach der Applikation der Teststoffe wurden Embryo und DGS eines jeden Eies erneut auf Unversehrtheit geprüft. Nun wurden die Öffnungen der Kalkschale durch vorsichtiges Adaptieren einer rosa Wachsplatte („Sommer-Wachs“, Fa. Orbis-Dental) der Stärke 1,5 mm verschlossen, um ein Austrocknen im Laufe der weiteren Bebrütung zu verhindern.

Die Bruteier gelangten nach der Applikation der Teststoffe erneut in den Brutschrank, in welchem sie bei einer Temperatur von 37,4°C, sowie einer relativen Luftfeuchtigkeit von 45-50% für weitere 48 h bebrütet wurden.

4.4. Auswertung

Nach Ablauf der Bebrütungszeit wurden die Hühnereier unter einem Auflichtmikroskop (Makroskop 420, Fa. Wild, Heerbrugg) im Hinblick auf mögliche toxische Effekte untersucht (Abbildung 13).



Abb. 13: Auflichtmikroskop mit Kaltlichtquelle und Videokamera

Mit Hilfe einer Videokamera (3CCD Color video camera, KY-F55B, Fa. JVC) wurden Aufnahmen der aktuellen Situation der Embryonen angefertigt, welche dann auf einem Videodrucker (CP700, Fa. Mitsubishi) zu Papier gebracht wurden. Für makroskopische Aufnahmen stand eine Digitalkamera (QV-4000, Fa. Casio) zur Verfügung. Nach der visuellen Kontrolle des Destruktionsgrades wurden die Testergebnisse gemäß den unten angegebenen Beurteilungskriterien katalogisiert. Anschließend wurden die Bruteier verworfen.

Die statistischen Auswertungen wurden mit SPSS 11.5 durchgeführt.

4.5 Beurteilungskriterien

Veränderungen der Embryonen zeigen sich makroskopisch in Form von Blutungen, Eintrübungen der Membran über dem DGS, sowie dem Absterben des Embryos. Blutungen und Membraneintrübungen (ME) wurden semiquantitativ in die Ausprägungsgrade leicht, mittel und schwer eingeteilt. Membrandefekte und Letalität des Embryos wurde als „zutreffend“ oder „nicht zutreffend“ registriert [30, 38, 46].

4.5.1 Hämorrhagien

Die Ausprägung der beobachteten Blutungen im DGS wurden in Grad 0 bis Grad 3 unterteilt.

Ausprägung	Morphologie
Leichte Hämorrhagien (Grad 1)	Punktförmige oder ein kurzes Gefäßsegment betreffende Extravasion von Blutbestandteilen. Solitär stehende oder wenige, abgrenzbare Lokalisationen betreffend. Blutzirkulation ungestört.
Mittelstarke Hämorrhagien (Grad 2)	Auf wenige Gefäße oder Gefäßabschnitte begrenzte, punktförmige und segmentale Blutungen, teils perlschnurartig, teils konfluierend. Gleichzeitiges Vorkommen in verschiedenen Arealen. Die Mehrzahl der Gefäße sind frei. In betroffenen Abschnitten finden sich mitunter Zirkulationsstörungen.
Schwere Hämorrhagien (Grad 3)	Massive Einblutungen in allen oder den meisten Gefäßabschnitten. Gefäßwände in betroffenen Abschnitten sind nicht mehr abgrenzbar. Freie Gefäße sind nur vereinzelt oder gar nicht mehr vorhanden. Massive Zirkulationsstörungen.

4.5.2. Membraneintrübungen

Die das DGS überspannende Membran ist normalerweise klar. Bei Kontakt mit schädigenden Substanzen kann es zu einer Trübung der Membran durch Denaturierung von Proteinen kommen. Die Membraneintrübungen (ME) wurden in Grad 0 bis Grad 3 unterteilt.

Ausprägung	Morphologie
Leichte Membraneintrübung (Grad 1)	Gerade erkennbare Trübung, alle embryonalen Strukturen sind gut sichtbar und lassen sich klar von der Umgebung abgrenzen.
Mittelschwere Membraneintrübung (Grad 2)	Eintrübung, die zu einer teilweisen oder vollständigen Verdeckung der darunter liegenden Strukturen führt. Einzelne Erythrozyten sind auflichtmikroskopisch nicht mehr erkennbar. Die Begrenzung der Gefäße erscheint unscharf. Die ME kann zur vollständigen Verdeckung darunter liegender Areale führen. Der Gefäßverlauf ist in diesen Regionen nicht mehr zu verfolgen.
Schwere Membraneintrübung (Grad 3)	Flächenhafte Ausdehnung der ME, welche zur vollständigen Verdeckung großer Gefäße und embryonaler Strukturen führt. Der Gefäßverlauf ist kaum oder überhaupt nicht mehr zu verfolgen.

4.5.3. Membrandefekt

Neben der Trübung der Membran kann es zu auflichtmikroskopisch sichtbaren Defekten der Membran kommen. Das Vorhandensein solcher Defekte wurde mit „0“ (nicht vorhanden) oder „1“ (vorhanden) registriert.

4.5.4. Vitalität

Kam es infolge ausgeprägter toxischer Wirkungen zu einem Absterben des Embryos, wurde die Letalität mit „0“ erfasst. Lebende Embryonen wurden mit „1“ registriert.

4.6. Pilotversuch

Um evtl. auftretende Probleme beim Aufbringen von Festkörpern auf das Dottersack-Gefäßsystem im Vorfeld zu erkennen, wurde ein Pilotversuch durchgeführt. Hierbei wurde insbesondere überprüft, ob die Folien aufgebracht werden können, ohne die Membran oder den Embryo zu verletzen. Hier zeigte sich, dass das Entfernen der Teststreifen nach der Bebrütungszeit von 48h (insgesamt 5. Bebrütungstag des Keimlings) zu Problemen führen kann, da die Folien an der Membran haften. Durch das vorsichtige Unterspülen mit NaCl-Lösung (0,9%) ließen sich die Teststoffe (Folien) ohne Verletzungen des Embryos lösen. Auch verursachten die Kanten der Folien keine Verletzungen des Keimlings oder der Membranen.

Um das Erkennen auftretender Destruktionen zu erlernen, wurden die Eier mit verschiedenen Teststoffen versehen und nach einer Bebrütungszeit von 48h ausgewertet. Hierbei zeigte sich, dass es bei ungenügender Abdeckung der Keimlinge durch Wachsplatten zu Austrocknungen des Embryos und damit zu falschen Aussagen bzgl. des Destruktionsgrades kommen kann. Um dieses Problem zu umgehen wurden die Wachsplatten beim Hauptversuch leicht erwärmt und dicht adaptiert, um einem Flüssigkeitsverlust vorzubeugen.

5. Ergebnisse

5.1 0,9% NaCl-Lösung

5.1.1. Vitalität

In der Kontrollgruppe mit physiologischer Kochsalzlösung waren alle Embryonen vital (n=13) und ihrem Alter entsprechend entwickelt.

Vitalität Testgruppe NaCl-Lösung			
Vitalität	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	0	0,0	0,0
1	13	100,0	100,0

5.1.2. Membrantrübung

Bei zwei Keimlingen (15,4%) konnte eine leichte Membrantrübung beobachtet werden. Alle anderen Embryonen wiesen keine Eintrübung der Membran über dem DGS auf.

Membrantrübung Testgruppe NaCl-Lösung			
Destruktionsgrad	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	11	84,6	84,6
1	2	15,4	100,0

5.1.3. Membrandefekt

In der Gruppe konnten keine Membrandefekte festgestellt werden.

Membrandefekt Testgruppe NaCl-Lösung			
Membrandefekt	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	14	100,0	100,0

5.1.4. Hämorrhagien

92,3% (n=12) der Embryonen wiesen keine Hämorrhagien auf, bei einem Keimling konnte eine leichte Blutung festgestellt werden (7,7%).

Hämorrhagien Testgruppe NaCl-Lösung			
Destruktionsgrad	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	12	92,3	92,3
1	1	7,7	100,0

5.1.5. Zusammenfassung

Alle Keimlinge der Kontrollgruppe waren vital und wiesen keine größeren Destruktionen auf.

Deskriptive Statistik Testgruppe NaCl-Lösung			
	Membrantrübung	Membrandefekt	Hämorrhagien
Mittelwert	0,15	0,0	0,08
Standardabweichung	0,365	0,0	0,401
Minimum	0	0	0,0
Maximum	1	0	1,0

5.2 Kupfer

5.2.1. Vitalität

Nach 48 h Bebrütungszeit lag die Letalitätsrate bei 100% (n=14).

Vitalität Testgruppe Kupfer			
Vitalität	Häufigkeit	Gültige Prozenze	Kumulierte Prozenze
0	14	100,0	100,0
1	0	0,0	100,0

5.2.2. Membrantrübung

Sämtliche Eier der Testgruppe wiesen eine Trübung der Membran auf (n=14). Dabei zeigten 7,1% (n=1) eine leichte Trübung, während 71,4% (n=10) der Embryonen eine mittelschwere Membraneintrübung aufwiesen. Bei 21,4% (n=3) der Keimlinge wurde eine schwere Membraneintrübung beobachtet.

Membrantrübung Testgruppe Kupfer			
Destruktionsgrad	Häufigkeit	Gültige Prozenze	Kumulierte Prozenze
0	0	0,0	0,0
1	1	7,1	7,1
2	10	71,4	78,6
3	3	21,4	100,0

5.2.3. Membrandefekt

100% (n=14) der Embryonen wiesen einen flächigen Membrandefekt auf. In der Kontrollgruppe konnte keine makroskopischen Membrandefekte nachgewiesen werden.

Membrandefekt Testgruppe Kupfer			
Membrandefekt	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	0	0,0	0,0
1	14	100,0	100,0

5.2.4. Hämorrhagien

Alle Keimlinge der Kupfer-Gruppe wiesen stärkste Hämorrhagien auf (n=13). Größtenteils konnten keine intakten Blutgefäße mehr registriert werden.

Hämorrhagien Testgruppe Kupfer			
Destruktionsgrad	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	0	0,0	0,0
1	0	0,0	0,0
2	0	0,0	0,0
3	14	100,0	100,0

5.2.5. Zusammenfassung

Die Applikation von Kupfer führte in jedem Fall zum Tod der Embryonen. Alle Keimlinge der Testgruppe wiesen stärkste Blutungen sowie Defekte der Membran auf. Die Embryonen waren teilweise mumifiziert. Abbildung 14 zeigt ein Beispiel eines Embryos der Kupfer-Testgruppe.

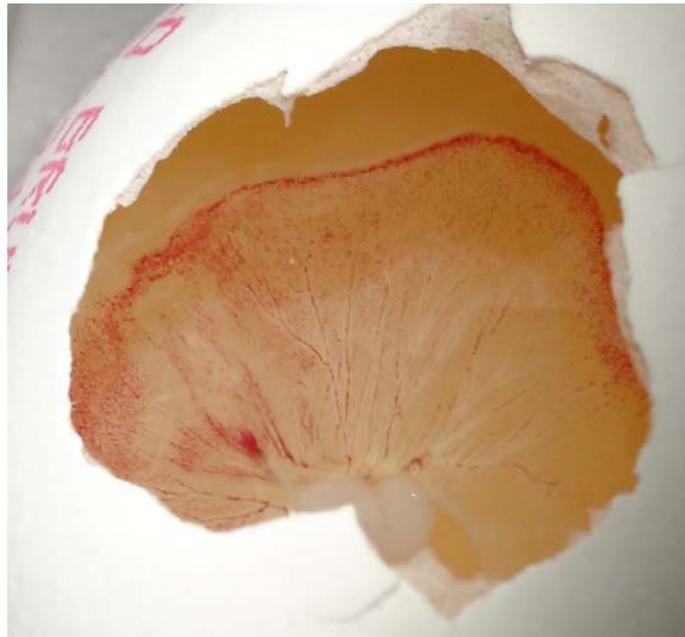


Abb. 14: Starke Hämorrhagien sowie Membraneintrübungen bei einem Brutei der Kupfer-Testgruppe. Der Embryo ist mumifiziert und kaum noch zu erkennen.

Deskriptive Statistik Testgruppe Kupfer			
	Membrantrübung	Membrandefekt	Hämorrhagien
Mittelwert	2,14	1,0	3,0
Standardabweichung	0,535	0,0	0,0
Minimum	1	1	3
Maximum	3	1	3

5.3. Nickel-Titan-Folie

5.3.1. Vitalität

Alle Embryonen der Ni-Ti-Gruppe waren vital (n=14).

Vitalität Testgruppe Ni-Ti-Folie			
Vitalität	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	0	0,0	0,0
1	14	100,0	100,0

5.3.2. Membrantrübung

85,7% (n=12) der Keimlinge wiesen keine Membrantrübungen auf. Bei zwei Embryonen dieser Testgruppe konnte eine leicht ausgeprägte Eintrübung beobachtet werden (14,3%, n=2).

In der Kontrollgruppe wurden bei 15,4% (n=2) der Embryonen leichte Membrantrübungen registriert.

Membrantrübung Testgruppe Ni-Ti-Folie			
Destruktionsgrad	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	12	85,7	85,7
1	2	14,3	100,0

5.3.3. Membrandefekt

Bei keinem der untersuchten Keimlinge konnten Membrandefekte am DGS beobachtet werden.

Membrandefekt Testgruppe Ni-Ti-Folie			
Membrandefekt	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	14	100,0	100,0
1	0	0,0	0,0

5.3.4. Hämorrhagien

85,7% (n=12) der Keimlinge zeigten keine Blutungen. In zwei Bruteiern konnte eine leichte Hämorrhagie des DGS registriert werden (14,3%, n=2).

Hämorrhagien Testgruppe Ni-Ti-Folie			
Destruktionsgrad	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	12	85,7	85,7
1	2	14,3	100,0

5.3.5. Zusammenfassung

Die Applikation von Ni-Ti-Folie auf das DGS eines Embryos verursacht keine stärkere Destruktion des Keimlings. Alle Embryonen waren nach einer Bebrütungszeit von 48h vital, lediglich ein Embryo wies leichte Hämorrhagien auf. Abbildung 15 zeigt ein Beispiel für ein Brutei der Ni-Ti-Gruppe.



Abb. 15: Keimling mit aufgelegter Ni-Ti-Folie 48 h nach Applikation des Teststoffes (5. Bebrütungstag) Rechts ist der Testkörper auf dem DGS zu erkennen..

Deskriptive Statistik Testgruppe Ni-Ti-Folie			
	Membrantrübung	Membrandefekt	Hämorrhagien
Mittelwert	0,14	0,0	0,14
Standardabweichung	0,363	0,0	0,363
Minimum	0	0	0,0
Maximum	1	0	0,0

5.4. Ni-Ti-Polyimid-Verbundwerkstoff

5.4.1. Vitalität

Alle Embryonen der Ni-Ti-Verbund-Gruppe waren vital (n=14).

Vitalität Testgruppe Ni-Ti-Verbundwerkstoff			
Vitalität	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	0	0,0	0,0
1	14	100,0	100,0

5.4.2. Membrantrübung

Lediglich bei einem Embryo konnte eine leichte Membrantrübung beobachtet werden. Bei 91,7% (n=13) konnte keine Trübung der Membran über dem DGS gefunden werden.

Membrantrübung Testgruppe Ni-Ti-Verbundwerkstoff			
Destruktionsgrad	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	13	92,9	92,9
1	1	7,1	100,0

5.4.3. Membrandefekt

Keiner der untersuchten Keimlinge wies einen Defekt der Membran über dem DGS auf.

Membrandefekt Testgruppe Ni-Ti-Verbundwerkstoff			
Membrandefekt	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	14	100,0	100,0
1	0	0,0	0,0

5.4.4. Hämorrhagien

Bei 85,7% (n=12) der Keimlinge konnte keine Blutung beobachtet werden. 14,3% (n=2) wiesen leichte Hämorrhagien im DGS auf.

Hämorrhagien Testgruppe Ni-Ti-Verbundwerkstoff			
Destruktionsgrad	Häufigkeit	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
0	12	85,7	85,7
1	2	14,3	100,0
2	0	0,0	100,0
3	0	0,0	100,0

5.4.5. Zusammenfassung

Durch Applikation des Verbundwerkstoffes konnte gegenüber den Kontrollgruppen keine stärkere Schädigung der Keimlinge hervorgerufen werden. Alle Embryonen waren vital und altersentsprechend entwickelt. Abbildung 16 zeigt ein Beispiel für einen Keimling mit aufgelegter Ni-Ti-Polyimid-Verbundfolie.



Abb. 16: Keimling der Ni-Ti-Polyimid-Verbundgruppe.

Deskriptive Statistik Testgruppe Ni-Ti-Verbundwerkstoff			
	Membrantrübung	Membrandefekt	Hämorrhagien
Mittelwert	0,07	0,0	0,14
Standardabweichung	0,267	0,0	0,363
Minimum	0	0	0,0
Maximum	1	0	0,0

6. Diskussion

Bei der Entwicklung neuer Werkstoffe für den Einsatz in der Medizin ist die Überprüfung der Ungefährlichkeit für den lebenden Organismus ein wichtiger Aspekt. Werkstoffe aus Nickel-Titan-Legierungen befinden sich seit über 30 Jahren in medizinischem Einsatz und waren bereits häufig Thema toxikologischer Untersuchungen [11, 16, 19, 32, 45]. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, dass Ni-Ti-Legierungen trotz eines hohen Nickelanteils von 55 Gewichts-% eine gute Biokompatibilität aufweisen.

Bei der Neuentwicklung eines NiTi-Polyimid-Verbundmaterials kommt es beim Sputtern zu chemischen Reaktionen in der Grenzfläche zwischen Polyimid und der aufgetragenen Ni-Ti-Schicht. Somit muss aufgrund geänderter Randbedingungen die Frage auf eventuelle Zelltoxizität erneut gestellt werden. Ziel der vorliegenden Arbeit war die Testung eines solchen Verbundwerkstoffes auf zelltoxisches Potential.

6.1. Methode

Die vorliegenden Informationen wurden mit Hilfe des Tests am HET-DGS gewonnen. Hierbei wurden die Teststoffe auf das Dottersack-Gefäßsystem eines bebrüteten Hühnereies im 3. Bebrütungstag aufgebracht und die nach weiteren 48h Bebrütung auftretenden Destruktionen semiquantitativ in Schweregrade aufgeteilt. Ein Problem hierbei war die subjektive Feststellung der einzelnen Parameter durch den Untersucher. Gerade bei uneinheitlichen Schädigungen der Keimlinge kann sich die mangelnde Erfahrung eines Beobachters negativ auf die Ergebnisqualität auswirken. Aus diesem Grund wurde vor dem eigentlichen Testdurchgang ein Pilotversuch durchgeführt, um eventuell auftretende Bewertungsprobleme im Vorfeld zu erörtern.

Ein weiteres Problem war die Applikation der Teststoffe auf das Dottersack-Gefäßsystem. Aufgrund der scharfen Kanten der Feststoffe kann es bei unsachgemäßer Handhabung zu iatrogenen Verletzungen der Gefäße, und damit zu einer falsch positiven Bewertung der Hämorrhagien kommen. Auch bei der Entfernung der Teststoffe besteht die Gefahr der Verletzung der Blutgefäße und des Keimlings. Durch die Verwendung von Pinzetten ohne Spitze konnte diese Gefahr minimiert werden. Bei Haftung des Teststoffes auf der Membran

wurde dieser mit NaCl-Lösung 0,9% unterspült, um eine Schädigung des Keimlings bei der Abnahme zu vermeiden.

6.2. Toxische Wirkungen des Ni-Ti-Polyimid-Verbundmaterials auf die Keimlinge

Nach einer Bebrütungszeit von insgesamt fünf Tagen, davon 48h mit aufgelegten Testfolien, waren 100% (n=14) der Embryonen vital. An den Bruteiern der beiden Ni-Ti-Gruppen, sowie der Negativ-Kontrollgruppe wurden keine Defekte der Membranen über dem Dottersack-Gefäßsystem beobachtet. Lediglich die Embryonen der Positiv-Kontrollgruppe mit Applikation von Kupfer wiesen alle Membrandefekte auf.

7,1% (n=1) der Membranen des Dottersack-Gefäßsystems wiesen eine leichte Trübung auf, der Mittelwert von 0,07 lag allerdings unter den Werten der Kontrollgruppe (0,15), sowie denen der Ni-Ti-Gruppe (0,14).

14,3% (n=2) der Keimlinge wiesen eine leichte Blutung auf, deren Mittelwert (0,14) jedoch den Werten der Ni-Ti-Gruppe entsprach. Im Vergleich zu den Embryonen der Kontrollgruppe war der Mittelwert für Hämorrhagien leicht erhöht (0,14 zu 0,08). Eine mögliche Verletzung der Blutgefäße durch die Entfernung des Teststoffes ist im Hinblick auf beobachtete Verklebungen zwischen Testfolie und dem Dottersack-Gefäßsystem in Betracht zu ziehen.

Im Vergleich zur Ni-Ti-Folie zeigte sich beim Ni-Ti-Polyimid-Verbundwerkstoff eine geringere Membraneintrübung (Mittelwerte: 0,14 zu 0,07). Aufgrund der großen Standardabweichung ist die Aussagekraft dieser Werte kritisch zu bewerten. Im Hinblick auf die in vielen Untersuchungen festgestellte toxikologische Unbedenklichkeit von Ni-Ti-Materialien lässt dieses Ergebnis aber den Schluss zu, dass die Verbindung der Ni-Ti-Legierung mit der Polyimid-Folie keine Verstärkung der akuten Toxizität hervorruft.

Material	Letalität (%)	Membrantrübung	Membrandefekt	Hämorrhagien
0,9% NaCl-Lsg	0	0,15	0	0,08
Kupfer	100	2,14	1	3,00
Ni-Ti-Folie	0	0,14	0	0,14
Ni-Ti- Verbundwerkstoff	0	0,07	0	0,14

In Diagramm 1 wird veranschaulicht, dass der Verbundwerkstoff in dieser Testreihe keine statistisch relevanten Destruktionen verursacht.

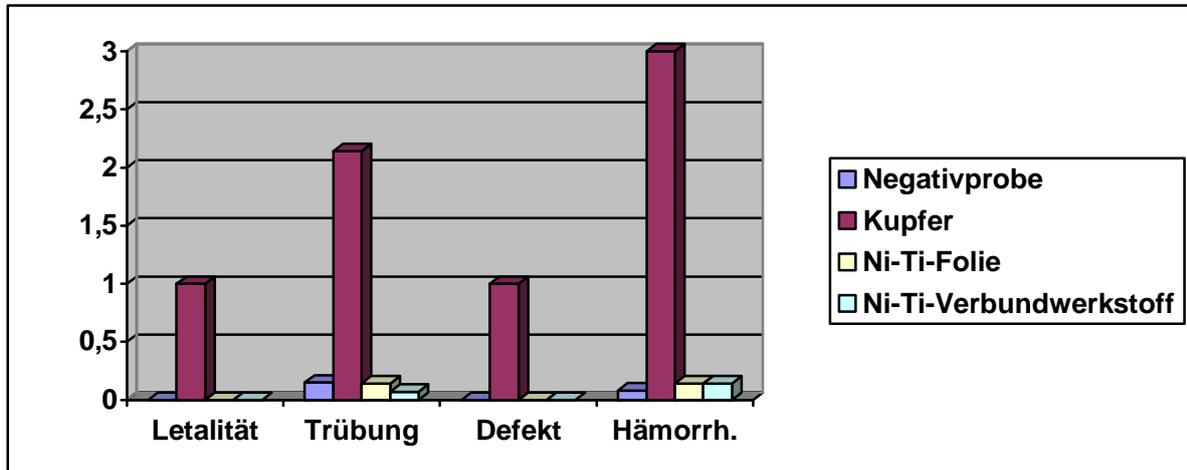


Diagramm 1 Vergleich der Mittelwerte der Destruktionsgrade in den einzelnen Testgruppen. Zur Veranschaulichung wird die Letalität angegeben.

Aufgrund der Untersuchungsergebnisse konnte eine makroskopisch und auflichtmikroskopisch sichtbare schädigende Wirkung auf das Dottersack-Gefäßsystem des Hühnereies ausgeschlossen werden. Wichtig ist in diesem Zusammenhang, dass die Ergebnisse des HET-DGS ausschließlich in Bezug auf die akute Toxizität valide sind. Ein Allergenisierungspotential oder eine möglicherweise vorhandene Kanzerogenität können mit dem HET-DGS nicht nachgewiesen werden.

7. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte die Toxizität eines neuartigen, kieferorthopädischen Ni-Ti-Polyimid-Verbundwerkstoffes untersucht werden. Ziel der Entwicklung dieses Verbundwerkstoffes ist eine Herabsetzung der auftretenden Kraftgrößen bei gleichzeitig verbesserter Pseudoelastizität für die Anwendung im Rahmen einer kieferorthopädischen Behandlung. Die Testung auf Gewebetoxizität wurde mit Hilfe des HET-DGS bestimmt, bei welchem der Teststoff auf das Dottersack-Gefäßsystem eines bebrüteten Hühnereies aufgebracht wird.

50 Keimlinge wurden am dritten Bebrütungstag eröffnet und mit den Teststoffen versehen. Nach einer Bebrütungszeit von weiteren 48h wurden die Befunde am Dottersack-Gefäßsystem und am Embryo visuell erfasst und semiquantitativ in Schweregrade unterteilt.

Die Ergebnisse der Versuchsreihe haben gezeigt, dass von dem neuentwickelten Ni-Ti-Polyimid-Verbundmaterial keine makroskopisch oder auflichtmikroskopisch sichtbare Schädigung der Keimlinge ausgeht. Auftretende Membraneintrübungen und Hämorrhagien entsprachen in Grad und Häufigkeit den Kontrollgruppen, so dass eine akute Toxizität auf den lebenden Organismus nicht anzunehmen ist.

8. Literaturverzeichnis

1. Andreasen, G.: A clinical trial of alignment of teeth using a 0.019 inch thermal nitinol wire with a transition temperature range between 31 degrees C. and 45 degrees C. *Am J Orthod.*, **78**(1980), 528-537
2. Andreasen, G., Heilman, H., Krell, D.: Stiffness changes in thermodynamic Nitinol with increasing temperature. *Angle Orthod*, **55**(1985), 120-126
3. Andreasen, G., Pickrell, D.: Comparative stiffness yield values comparing nitinol wires with stainless steel. *Iowa Dent J*, **65**(1979), 33-34
4. Andreasen, G., Wass, K., Chan, K.C.: A review of superelastic and thermodynamic nitinol wire. *Quintessence Int*, **16**(1985), 623-626
5. Andreasen, G.F.: Introduction of a new material to dentistry. Nitinol leveling wire and its development. *Iowa Dent J*, **62**(1976), 43
6. Andreasen, G.F.: Treatment advantages using nitinol wire instead of 18-8 stainless wire with the edgewise bracket. *Quintessence Int*, **11**(1980), 43-51
7. Andreasen, G.F., Bigelow H., Andrews, J.G.: 55 Nitinol wire: force developed as a function of "elastic memory". *Aust Dent J*, **24**(1979), 146-149
8. Bourauel, C., Fries, T., Drescher, D., Plietsch, R.: Surface roughness of orthodontic wires via atomic force microscopy, laser specular reflectance, and profilometry. *Eur J Orthod*, **20**(1998), 79-92
9. Brantley, W.A., Iijima, M., Grentzer, T.H.: Temperature-modulated DSC provides new insight about nickel-titanium wire transformations. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, **124**(2003), 387-394

10. Bresser, H.: Orale Nickelprovokation und nickelarme Diät - Indikation und praktische Durchführung. *Hautarzt*, **43**(1992), 610-615
11. Bruns, K.: Materialtechnische Untersuchung super-elastischer NiTi-Drähte in der KFO - Bestimmung der Kraftveränderungen und des Bruchverhaltens in Abhängigkeit zur Inkorporationsdauer anhand eines 3-Punkt-Biegeversuches. *Med. Diss. Kiel*, 2002
12. Djabari, Z., Bauza, E., Dal Farra, C., Domloge, N.: The HET-CAM test combined with histological studies for better evaluation of active ingredient innocuity. *Int J Tissue React*, **24**(2002), 117-121
13. Drescher, D.: Pseudoelastische NiTi-Legierungen in der Kieferorthopädie. *Habilitationsschr. Bonn*, 1991
14. Drescher, D., Bourauel, C., Thier, M.: Materialtechnische Besonderheiten orthodontischer NiTi-Drähte. *Fortschr Kieferorthop*, **51**(1990), 320-326
15. Edie, J.W., Andreasen, G.F., Zaytoun, M.P., Andreasen, G.: Surface corrosion of nitinol and stainless steel under clinical conditions. Treatment advantages using nitinol wire instead of 18-8 stainless wire with the edgewise bracket. A clinical trial of alignment of teeth using a 0.019 inch thermal nitinol wire with a transition temperature range between 31 degrees C. and 45 degrees C. *Angle Orthod*, **51**(1981), 319-324
16. El Medawar, L., Rocher, P., Hornez, J.C., Traisnel, M. Breme, J., Hildebrand, H.F.: Electrochemical and cytocompatibility assessment of NiTiNOL memory shape alloy for orthodontic use. *Biomol Eng*, **19**(2002), 153-160
17. Faltin, R.M., Arana-Chavez, V.E., Faltin, K., Sander, F.G., Wichelhaus, A.: Root resorptions in upper first premolars after application of continuous intrusive forces. Intra-individual study. *J Orofac Orthop*, **59**(1998), 208-219
18. Fernandes, L.M., Ogaard, B., Skoglund, L.: Pain and discomfort experienced after placement of a conventional or a superelastic NiTi aligning archwire. A randomized clinical trial. *J Orofac Orthop*, **59**(1998), 331-339

19. Geserick, T.: Oberflächenrauheit und Reibungsverhaltensspezifischer orthodontischer NiTi-Drähte vor und nach klinischer Anwendung. Med. Diss. Ulm, 2002
20. Gurgel, J.A., Kerr, S., Powers, J.M., LeCrone V.: Force-deflection properties of superelastic nickel-titanium archwires. Am J Orthod Dentofacial Orthop, **120**(2001), 378-382
21. Gurgel J.A., Kerr, S., Powers, J.M.: Torsional properties of commercial nickel-titanium wires during activation and deactivation. Am J Orthod Dentofacial Orthop, **120**(2001), 76-79
22. Haase, A.: Untersuchung superelastischer Ni-Ti-Druckfedern und ihre Anwendung in der Kieferorthopädie. Med. Diss. Dresden, 2000
23. Hamanaka, H., Watanabe, K., Miura, I.: New ultra-elastic Ni-Ti orthodontic wire. DE J Dent Eng, **60**(1982), 28-33
24. Hamanaka, H., Yoneyama, T., Doi, H., Okamoto, Y., Mogi, M., Miura, F.: Mechanical properties and phase transformation of super-elastic Ni-Ti alloy wires. Part 1: Relation between super-elasticity and phase transformation. Shika Zairyo Kikai, **8**(1989), 207-215
25. Hartel, A., Bourauel, C., Drescher, D., Schmuth, G.P.: Die Oberflächenrauigkeit orthodontischer Drähte - eine laseroptische und profilometrische Studie. Schweiz Monatsschr Zahnmed, **102**(1992), 195-202
26. Iijima, M., Ohno, H., Kawashima, I., Endo, K., Mizoguchi, I.: Mechanical behavior at different temperatures and stresses for superelastic nickel-titanium orthodontic wires having different transformation temperatures. Dent Mater, **18**(2002), 88-93
27. Ishida, A., Takei, A., Sato, M., Miyazaki S.: Stress-strain curves of sputtered thin films of Ni-Ti. Thin Solid Films, **281-282**(1999), 337-339

28. Kaack, M., Elastische Eigenschaften von Ni-Ti-Formgedächtnislegierungen. Med. Diss. Bochum, 2002
29. Kapanen, A., Ilvesaro, J., Danilov, A., Ryhanen, J., Lehenkari, P., Tuukkanen, J.: Behaviour of nitinol in osteoblast-like ROS-17 cell cultures. *Biomaterials*, 2002. **23**(3): p. 645-50.
30. Klauicic, A., Der Photo-Hen's-Egg-Test, ein neues Phototoxizitätsmodell. Med. Diss. Düsseldorf, 1998
31. Kock, N., Umwandlungsverhalten, chemische Zusammensetzung, Oberflächenbeschaffenheit und mechanische Biegeeigenschaften²⁷ ausgewählter kieferorthopädischer NiTi-Bogenmaterialien der Dimension 0,016" x 0,022". Med. Diss. Kiel, 2002
32. Kong, X., In vitro evaluation of the biocompatibility ofbiologically active coating of nitinol coilsdesigned for the closure of patent foramen ovale. Med. Diss. Aachen, 2002
33. Luring, C., Kalteis, T., Wild, K., Perlick, L., Grifka, J.: Gewebetoxizität lokaler Anästhetika im HET-CAM-Test. *Schmerz*, **17**(2003), 185-190
34. Marxkors, R. and H. Meiners, *Taschenbuch der zahnärztlichen Werkstoffkunde*. 5. Auflage, Dt. Zahnärzte-Verl., 2001
35. Miura, F., Discovery and uses of super-elasticity in clinical orthodontics. *Dent Jpn (Tokyo)*, **27**(1990), 187-196
36. Miura, F., Mogi M., Ohura, Y., Hamanaka, H.: The super-elastic property of the Japanese NiTi alloy wire for use in orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, **90**(1986), 1-10
37. Firmenprospekt: Thermal properties of Upilex-S, in UBE-Industries - Specifications of Upilex-S

38. Neumann, N.J., Holzle, E., Lehmann, P., Rosenbruch, M., Klauic, A., Plewig, G.: Photo hen's egg test: a model for phototoxicity. *Br J Dermatol*, **136**(1997), 326-330
39. Pineda, M.: Materialtechnische Untersuchung super-elastischer Ni-Ti-Drähte in der Kieferorthopädie - Ermittlung von Kraftabgabe und Dehnungs-vermögen anhand eines standardisierten Zugversuches. *Med. Diss. München*, 1996
40. Rondelli, G. Vicentini B.: Evaluation by electrochemical tests of the passive film stability of equiatomic Ni-Ti alloy also in presence of stress-induced martensite. *J Biomed Mater Res*, **51**(2000), 47-54
41. Rosenbruch, M.: Toxizitätsuntersuchungen am bebrüteten Hühnerei. Unter besonderer Berücksichtigung der extraembryonalen Gefäßsysteme. *Derm Beruf Umwelt*, **38**(1990), 5-11
42. Rosenbruch, M.: Frühe Entwicklungsstadien des bebrüteten Hühnereies als Modell in der experimentellen Biologie und Medizin. *Altex*, **11**(1994), 199-206
43. Rosenbruch, M., Zur Sensitivität des Embryo im bebrüteten Hühnerei. *Altex*, **14**(1997), 111-113
44. Rusche, B.: *Tierversuche - Alternativen*. Deutscher Tierschutzbund e.V. Bonn, 1989
45. Ryhanen, J., Niemi, E., Serlo, W., Niemela, E., Sandvik, P., Pernu, H., Salo, T.: Biocompatibility of nickel-titanium shape memory metal and its corrosion behavior in human cell cultures. *J Biomed Mater Res*, **35**(1997), 451-457
46. Schmiedeberg von, S.: Hemmung der phototoxischen Reaktion von Protoporphyrin IX durch die Antioxidantien Ascorbinsäure und N-Acetyl-Cystein im PHET. *Med. Diss. Düsseldorf*, 2000
47. Syverud, M., Dahl, J.E., Hero, H., Morisbak, E.: Corrosion and biocompatibility testing of palladium alloy castings. *Dent Mater*, **17**(2001), 7-13

48. Tad, R., Adhesiveless Copper on Polyimide for Flexible Curcuit, HDI and Microvia Applications, Gould electronics inc. Eastlake, Ohio (1998)
49. Weiland, F., Kontinuierliche versus nicht-kontinuierliche Kräfte in der Kieferorthopädie. Eur J Orthod, **25**(2003), 335-342
50. Wichelhaus, A., Die Entwicklung und klinische Anwendung superelastischer Bögen und Teilbögen in der Kieferorthopädie. Habilitationsschr. Ulm, 1999
51. Yanaru, K., Yamaguchi, K., Kakigawa, H., Kozono, Y.: Temperature- and deflection-dependences of orthodontic force with Ni-Ti wires. Dent Mater J, **22**(2003), 146-159
52. Yokoyama, K., Hamadi, K., Moryama, K., Kasaoka, K.: Degradation and fracture of Ni-Ti superelastic wire in an oral cavity. Biomaterials, **22**(2001), 2257-2262
53. Yoneyama, T., Doi, H., Hamanaka, H., Noda, T., Okamoto, Y., Karibe, M., Mogi, M., Miura, F.: Evaluation of super-elasticity characteristics of orthodontic Ni-Ti alloy wire. Kokubyo Gakkai Zasshi, **56**(1989), 93-101

9. Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Universitätsprofessor Dr. D. Drescher, für die freundliche Überlassung des Themas sowie die konstruktive Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit bedanken.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Dr. N. J. Neumann für die hervorragende fachliche Betreuung, sowie die zu Verfügung gestellten Messeinrichtungen in der Hautklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Frau V. Kürten danke ich für die Unterstützung im Messlabor und die technische Hilfe bei der Durchführung der Testreihen.

Herrn Dr. E. Uysal danke ich für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Testreihen, der Dokumentation der Testergebnisse, sowie die schnelle, teils unkonventionelle Hilfe bei auftretenden Problemen.

Ganz besonders möchte ich meiner Frau Elisabeth für die vielfältige Unterstützung und aufgebrachte Geduld während der Durchführung dieser Arbeit danken.

Zuletzt möchte ich meinen lieben Eltern, Karl und Gerhild Blens danken. Sie gaben mir die Möglichkeit, mein Studium der Zahnheilkunde zu absolvieren und haben mich in jeder Hinsicht und in allen Lebenslagen unermüdlich auf meinem Weg unterstützt.

10. Lebenslauf

Persönliches:	Name:	Torsten Blens
	Familienstand:	verheiratet mit: Elisabeth Blens, geb. Deschepper, Physiotherapeutin
	Staatsangehörigkeit:	deutsch
	Geburtsdatum:	03.11.1974
	Geburtsort:	Köln
	Eltern:	Karl Blens, Rentner Gerhild Blens (†)
Schulbildung:	1981 – 1985	Ev. Grundschule, Pulheim
	1985 – 1994	Geschwister-Scholl-Gymnasium, Pulheim
Studium:	1994 – 2002	Universität zu Köln Studium der Zahnmedizin Abschluss: Staatsexamen Zahnmedizin
Weiterbildung:	2003 -	Weiterbildung zum Fachzahnarzt für Kieferorthopädie

Abstract

Titel:

Toxizitätsprüfung eines neuartigen, superelastischen Verbunddrahtes für die Kieferorthopädie.

Autoren:

BLENS T.; DRESCHER, D.

Institution:

Heinrich-Heine Universität Düsseldorf, Poliklinik für Kieferorthopädie

Fragestellung:

Bei der Neuentwicklung medizinischer Werkstoffe ist die Prüfung auf mögliche Toxizität ein wichtiger Kernaspekt. Obwohl Ni-Ti-Drähte im Allgemeinen als biokompatibel gelten, muss dies nicht zwangsläufig für ein Ni-Ti-Polyimid-Verbundmaterial zutreffen. Daher war das Ziel dieser Untersuchung die Toxizitätsprüfung eines neuentwickelten Verbundwerkstoffes mit Hilfe eines toxikologischen Testverfahrens am bebrüteten Hühnerei.

Material und Methode:

Die Testung auf Gewebetoxizität wurde mit Hilfe des HET-DGS bestimmt, bei welchem der Teststoff auf das Dottersack-Gefäßsystem eines bebrüteten Hühnereies aufgebracht wird. 56 Keimlinge wurden am dritten Bebrütungstag eröffnet und mit den Teststoffen versehen. Nach einer Bebrütungszeit von weiteren 48h wurden die Destruktionsgrade (Vitalität, Hämorrhagien, Membrandefekte) der Embryonen visuell erfasst und semiquantitativ in Schweregrade unterteilt.

Ergebnisse:

Der getestete Verbundwerkstoff verursachte gegenüber allen anderen Testgruppen die geringsten Destruktionen. Alle Embryonen blieben vital und zeigten auflichtmakroskopisch keinerlei Veränderungen in Bezug auf die Negativgruppe.

Schlussfolgerungen:

Aufgrund des Testergebnisses kann eine makroskopische, akut toxische Schädigung des lebenden Organismus durch einen Ni-Ti-Polyimid-Verbundwerkstoff ausgeschlossen werden.