

Aus dem Institut für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (CC3)
Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Das gleichzeitige Vorhandensein von primärem und
sekundärem Kiefergelenk bei der Maus**

Histologische und morphologische Untersuchung der
Entwicklung der Articulatio temporomandibularis und der
Articulatio incudomalleolaris in den Stadien E13.5-P10

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Marlene Julia Aline Göbel
aus Berlin

Datum der Promotion: 25.06.2023

Vorwort

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden bereits vorab veröffentlicht:

Göbel, M., Fernández Rubio, E.M., Kokot, K., Renz, H. & Radlanski R.J. Das gleichzeitige Vorhandensein von primärem und sekundärem Kiefergelenk bei der Maus. *Programm und Abstractheft. 50. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung (AfG) der DGZMK, Mainz 11./12.01.2018:12.*

Kokot, K., Göbel, M., Fernández Rubio, E.M., Renz, H. & Radlanski R.J. Herkunft des Ligamentum sphenomandibulare bei der Maus. *Programm und Abstractheft. 50. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung (AfG) der DGZMK, Mainz 11./12.01.2018:11.*

Fernández Rubio, E.M., Kokot, K., Göbel, M., Renz, H. & Radlanski R.J. Why is there no antagonist muscle to the lateral pterygoid muscle? *Programm und Abstractheft. 50. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung (AfG) der DGZMK, Mainz 11./12.01.2018:10.*

INHALTSVERZEICHNIS

Vorwort.....	II
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	XI
Abkürzungsverzeichnis.....	XII
ABSTRACT (deutsch).....	XIII
ABSTRACT (english).....	XIV
1. EINLEITUNG.....	1
2. LITERATURÜBERSICHT.....	3
2.1 Primäres und sekundäres Kiefergelenk.....	3
2.2 Articulatio incudomallearis bei der Maus.....	4
2.3 Articulatio temporomandibularis bei der Maus.....	5
2.4 Meckelknorpel bei der Maus.....	6
2.5 Meckelknorpel beim Menschen.....	8
2.6 Articulatio incudomallearis beim Menschen.....	9
2.7 Articulatio temporomandibularis beim Menschen.....	10
3. FRAGESTELLUNG.....	13
4. MATERIAL & METHODE.....	14
4.1 Material.....	14
4.2 Methode.....	16
4.2.1 Vorbemerkung.....	16
4.2.2 3D-Rekonstruktionstechnik.....	16
4.2.3 AnalySIS.....	17
4.2.4 Morphometrische Analyse.....	20

5. ERGEBNISSE.....	22
5.1 Vorbemerkungen.....	22
5.2 Schnittserienrekonstruktionen.....	22
5.2.1 E13.5.....	22
5.2.2 E14.5.....	24
5.2.3 E15.....	32
5.2.4 E16.....	38
5.2.5 E18.....	43
5.2.6 E20.....	49
5.2.7 P0.....	54
5.2.8 P2.....	61
5.2.9 P4.....	67
5.2.10 P6.....	74
5.2.11 P10.....	77
5.3 Morphometrie.....	83
6. DISKUSSION.....	87
6.1 Diskussion des Materials.....	87
6.1.1 Maus als gewähltes Versuchstier.....	87
6.2 Diskussion der Methode.....	88
6.2.1 Histologische Befundung der Schnittserien in Verbindung mit 3D-Rekonstruktionstechnik.....	88
6.2.2 Diskussion der Morphometrie.....	90
6.3 Diskussion der Ergebnisse.....	92
6.3.1 Resorptions- und Appositionsvorgänge des Kondyluskorpels..	93
6.3.2 Entstehung der Kette der Gehörknöchelchen.....	97
6.3.3 Das zeitweise gleichzeitige Vorhandensein von „primärem“ und „sekundärem“ Kiefergelenk.....	100
6.4 Zusammenfassung und Ausblick.....	103
7. LITERATURVERZEICHNIS.....	106

8. ANHANG

8.1 Eidesstattliche Versicherung.....	114
8.2 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen.....	115
8.3 Lebenslauf.....	116
8.4 Publikationsliste.....	117
8.5 Danksagung.....	118

Abbildungsverzeichnis

Abbildung	Titel	Seite
Abb. 1	Dreidimensionales morphologisches Modell der Gehörknöchelkette der Ratte	5
Abb. 2	Schematische Darstellung der Umbauvorgänge des Meckelknorpel	7
Abb. 3	Schematische Darstellung der Entwicklung des Articulatio temporomandibularis als Anlagerungsgelenk	11
Abb. 4	Darstellung des Alignierungsprozesses	17
Abb. 5	Darstellung der Polygone des Discus articularis mit Triangulationslinien	18
Abb. 6	Darstellung der 3D-Rekonstruktion der Articulatio temporomandibularis	18
Abb. 7	Darstellung der Messstrecke des Raumes zwischen den Gelenken	21
Abb. 8	E13.5, histologische Übersichtsdarstellung	23
Abb. 9	E13.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion	24
Abb. 10	E14.5, histologische Übersichtsdarstellungen der Gehörknöchelkette	25
Abb. 11	E14.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Gehörknöchelkette, Ansicht von posterior	26
Abb. 12	E14.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Gehörknöchelkette, Ansicht von lateral	26
Abb. 13	E14.5, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	28
Abb. 14	E14.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von lateral	30
Abb. 15	E14.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von medial	30
Abb. 16	E14.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht posterolateral	31

Abb. 17	E14.5, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen, Ansicht von lateral	31
Abb. 18	E15, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Os goniale	33
Abb. 19	E15, histologische Übersichtsdarstellungen, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	34
Abb. 20	E15, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von lateral	36
Abb. 21	E15, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von medial	36
Abb. 22	E15, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von posterolateral	37
Abb. 23	E15, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen	37
Abb. 24	E16, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Os goniale	38
Abb. 25	E16, histologische Übersichtsdarstellungen, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	40
Abb. 26	E16, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von lateral	41
Abb. 27	E16, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von medial	41
Abb. 28	E16, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von posterolateral	42
Abb. 29	E16, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen	42
Abb. 30	E18, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Os goniale	43
Abb. 31	E18, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	45
Abb. 32	E18, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von lateral.	46
Abb. 33	E18, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von medial	46

Abb. 34	E18, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von posterolateral	47
Abb. 35	E18, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen	48
Abb. 36	E20, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Os goniale	49
Abb. 37	E20, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Os goniale	49
Abb. 38	E20, Ausschnitte aus den Abb. 36 und Abb. 37	50
Abb. 39	E20, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	51
Abb. 40	E20, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von lateral	52
Abb. 41	E20, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von medial	52
Abb. 42	E20, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von posterolateral	53
Abb. 43	E20, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen	53
Abb. 44	P0, histologische Übersichtsdarstellung, Horizontalschnitt auf Höhe des Os goniale und des ersten Ossifikationszentrums des Malleus	55
Abb. 45	P0, Ausschnitt aus Abb. 44	55
Abb. 46	P0, histologische Übersichtsdarstellung, Horizontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	57
Abb. 47	P0, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von lateral	58
Abb. 48	P0, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von medial	58
Abb. 49	P0, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von posterolateral	59
Abb. 50	P0, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen	60
Abb. 51	P2, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Os goniale und des ersten Ossifikationszentrums des Malleus	62

Abb. 52	P2, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	64
Abb. 53	P2, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von lateral	65
Abb. 54	P2, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von medial	65
Abb. 55	P2, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von posterolateral	66
Abb. 56	P2, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen	66
Abb. 57	P4, histologische Übersichtsdarstellungen, Frontalschnitte auf Höhe des Proc. anterior des Malleus	68
Abb. 58	P4, dreidimensionale Darstellung des rechten Malleus	68
Abb. 59	P4, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	70
Abb. 60	P4, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von lateral	71
Abb. 61	P4, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von medial	71
Abb. 62	P4, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von posterolateral	72
Abb. 63	P4, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen, Ansicht von lateral	73
Abb. 64	P4, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen, Ansicht von medial	73
Abb. 65	P6, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Art. Incudomallearis	75
Abb. 66	P6, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. anterior des Malleus	75
Abb. 67	P6, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	76
Abb. 68	P10, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe der Art. incudomallearis	77
Abb. 69	P10, histologische Übersichtsdarstellungen, Frontalschnitte auf Höhe des Proc. anterior des Malleus	78

Abb. 70	P10, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	79
Abb. 71	P10, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von lateral	80
Abb. 72	P10, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion, Ansicht von posterolateral	81
Abb. 73	P10, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen	82
Abb. 74	E15-P10, Dreidimensionale Darstellung des rechten Proc. condylaris mandibulae	95
Abb. 75	E14, histologische Übersichtsdarstellung, Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae	96
Abb. 76	E15, histologische Darstellung des posterioren Meckelknorpel	98
Abb. 77	E15, dreidimensionale Darstellung der Gehörknöchelkette und umgebenden Strukturen	98
Abb. 78	Vergleich E14.5 und P4, histologische Darstellung der Ohrregion	99
Abb. 79	P4, histologische Übersichtsdarstellungen, Frontalschnitte auf Höhe des Proc. anterior des Malleus	100
Abb. 80	P6, histologische Übersichtsdarstellungen, Frontalschnitte auf Höhe des Proc. anterior des Malleus	101
Abb. 81	Hypothetische Darstellung der Scherkräfte bei Maulöffnungsbewegung der Maus	105
Abb. 82	Ausschnitt aus Abbildung 81	105

Verzeichnis der Tabellen & Grafiken

Tabelle	Titel	Seite
Tab. 1	Aufstellung der Schnittserien E13.5 - P10	15
Tab. 2	Farbmodell AnalySIS	19
Tab. 3	Abstand zwischen Art. incudomallearis und Art. temporomandibularis in μm	83
Tab. 4	Volumenbestimmung	83
Tab. 5	Länge des Kondyluskorpels in anterior-posterer Richtung in μm	84
Tab. 6	Höhe der medialen und lateralen Begrenzung der Fossa mandibularis in μm	86
Tab. 7	Abstandsbestimmung Kondyluskorper und Fossa mandibularis und Abstandsbestimmung Kondyluskorper zum Knochenkragen	86
Grafik 1	Volumenbestimmung in mm^3	84
Grafik 2	Länge des Kondyluskorpels in anterior-posteriorer Richtung	85
Grafik 3	Volumenbestimmung des Kondyluskorpels in mm^3	85
Grafik 4	Vergleich der Volumenbestimmung des Kondyluskorpels und der Länge des Kondyluskorpels	93

Abkürzungsverzeichnis

Art	Articulatio
CT	Computertomographie
E	embryonaler Tag
HE	Hämatoxylin-Eosin
M	Musculus
M ₁	erster unterer Molar
M ₂	zweiter unterer Molar
MB	Megabyte
mod	modifiziert
MRT	Magnetresonanztomographie
N	Nervus
P	Postnataler Tag
Proc	Processus
TIF	Tagged Image File Format
TRAP	Tartrate-Resistant Acid Phosphatase
3D	dreidimensional

Die verwendete Terminologie und entsprechende Abkürzungen sind der Nomina anatomica(1998) und der Nomina anatomica veterinaria (2017) angelehnt

ABSTRACT (deutsch)

Die Articulatio temporomandibularis ist ein Anlagerungsgelenk. Sie entsteht durch die Vergrößerung des Proc. condylaris, der sich der Fossa mandibularis annähert. Bevor dies geschieht, bestand schon an anderer Stelle eine gelenkige Verbindung, die Articulatio incudomallearis. Für eine gewisse Übergangszeit sind diese beiden Gelenke über den Meckelknorpel miteinander verbunden, denn das distale Ende des Meckelknorpel ist der Malleus, der mit dem Incus artikuliert. Gleichzeitig aber ist der Meckelknorpel verwachsen mit dem Corpus mandibulae, an dessen distalem Ende der processus condylaris mit der Fossa mandibularis zu artikulieren beginnt. Da dann zwei Gelenke gleichzeitig regional versetzt vorhanden sind, dürfte entweder eine Artikulation der Mandibula gegen das Os temporale zeitweise nicht möglich sein oder die Artikulation zwischen Malleus und Incus ist eingeschränkt. Um die Entwicklung dieser beiden Gelenke und ihre Verbindung bzw. ihre Trennung morphologisch zu untersuchen, wurde diese Region an 6 pränatalen und 5 postnatalen Mauspräparaten histologisch (Färbung: HE, Trichrom, Alcianblau, TRAP, mod. Goldner) untersucht. Von 10 Schnittserien dieser Präparate wurden zudem computergestützte dreidimensionale Rekonstruktionen der rechten Kiefergelenks- und Mittelohrregion angefertigt.

Die 3D-Rekonstruktionen zeigten, dass die beiden Gelenke noch bis zum Stadium P2 verbunden sind. Eine vollständige Trennung der beiden Gelenke hatte erst im Stadium P4 stattgefunden.

Zuvor konnte der sekundäre Knorpel des Proc. condylaris erstmals im Stadium E15 beobachtet werden. Er zeigte ein posteriosuperiores Wachstum, bei gleichzeitiger Resorption im inferioren Bereich. Ab E15 sind alle Komponenten der Articulatio temporomandibularis vorhanden. Ein oberer und unterer Gelenkspalt war ab dem Stadium E20 sichtbar.

In der Mittelohrregion wurde die Entstehung der Art. incudomallearis näher beschrieben. Incus, Malleus und Stapes waren erstmals im Stadium E14.5 als hyalinknorpelige Strukturen sichtbar. Bis E20 waren sie rein knorpelig, bei P0 begann die Verknöcherung des späteren Malleus. Desweiteren wurde die Entstehung des Gonialknochens dreidimensional dargestellt und damit die Entstehung des Proc. anterior des Malleus als desmale Ossifikation näher beschrieben. Der Gonialknochen

war erstmals im Stadium E15 sichtbar und verband sich im Stadium P0 mit der enchondralen Ossifikation des Malleus.

Zu diskutieren ist, ob die zunehmende Ossifizierung des Malleus, besonders die Verschmelzung des Gonialknochen mit der enchondralen Ossifikation des Malleus, die Verformbarkeit des Meckelknorpels einschränkt. Durch diese Einschränkung könnte die Trennung zwischen der Art. incudomalleolaris (primäres Kiefergelenk) und der Art. temporomandibularis (sekundäres Kiefergelenk) eingeleitet werden.

Ob es eine mechanische Komponente bei der Rückbildung des Meckelknorpel gibt, könnte anhand der in dieser Arbeit gewonnenen Daten im Weitergehenden überprüft werden.

ABSTRACT (english)

During prenatal development, for a certain period of time, there exist two connected joints at different places. The first one is the incudomalleolar joint, the second one is the temporomandibular joint (TMJ). These two joints are connected to each other via Meckel's cartilage, since the distal end of this structure forms the malleus, which articulates with the incus, and at the same time it is fused with the body of the mandible, at whose distal end, the condylar process articulates with the mandibula fossa. Given that these two joints exist at the same time, at least one joint should be functionally impaired. In order to morphologically investigate the development of these two joints, a collection of 6 prenatal and 5 postnatal murine heads ranging from stage E13.5-P10 were prepared as histological serial sections (thickness 8-10µm) and stained using HE, TRAP, Safranin O, Trichrome, Alcian blue and Elastica-Trichrome. The right temporomandibular joint and middle ear region of 10 of these specimens were three-dimensionally reconstructed using analySIS software. The 3D reconstructions showed that the TMJ and the incudomalleolar joint were still connected at stage P2. A complete separation of the two joints was observed at stage P4. Previously, the secondary cartilage of the condylar process could be detected at stage E15. The size of that structure increased in posteriosuperior direction, while at the same time a resorption in the inferior region could be visualized. At stage E15, all components of the TMJ were present. The superior and inferior joint cavities were discernible at stage E20. Regarding the middle ear region,

the incus, the malleus and the stapes were first visible at stage E14.5 as hyaline structures. They were entirely cartilaginous until stage E20. At stage P0 the ossification of the malleus could be identified. The gonial bone, which later developed into the anterior process of the malleus was first observed at stage E15 and it fused with the enchondral ossification of the malleus at stage P0.

To be discussed is whether the growth of the ossification of the malleus, especially the fusion of the ossification of the malleus with the desmal ossification of the gonial bone, leads to a limitation of the deformability of Meckel's cartilage. As a result, this limitation could lead to a mechanically induced separation of the TMJ and the incudomalleolar joint.

The present work provides data to discern if there is a mechanical component in this separation.

1. Einleitung

Die Articulatio temporomandibularis nimmt als Anlagerungsgelenk eine Sonderstellung unter den Gelenken ein. Das Gelenk entsteht nicht, wie es bei anderen synovialen Gelenken üblich ist, aus einer Skelettanlage, die sich segmentiert, sondern die verschiedenen Anteile bewegen sich durch appositionelles Wachstum aufeinander zu und sind durch eine Faserknorpelscheibe von einander getrennt. Die Gelenkflächen sind von Faserknorpel und nicht von hyalinem Knorpel bedeckt und die Entstehung des Gelenkes liegt zeitlich hinter den anderen sich entwickelnden Gelenken im Körper.

Die Bezeichnung „sekundäres Kiefergelenk“ erscheint aus zwei Gründen angemessen. Erstens wird im Rahmen der Evolutionsbiologie angenommen, dass das Mittelohrgelenk der Säugetiere, das Kiefergelenk ihrer reptilienartigen Vorfahren ist und zweitens entsteht tatsächlich zeitlich später und lokal weiter anterior und lateral „sekundär“ ein neues Kiefergelenk als Anlagerungsgelenk.

Die Evolutionsbiologie beschäftigt sich viel mit dem Aspekt, dass das primäre Kiefergelenk bei Säugetieren in den Dienst der Schalleitung tritt, da die Entstehung der Gehörknöchelkette ein wichtiges Unterscheidungskriterium für die Abgrenzung von Säugetieren zu anderen Spezies darstellt. Die vorliegende Arbeit widmet sich aber nicht weiter diesem Aspekt, sondern geht der Frage nach, wie raum-zeitlich der Übergang vom „primären“ zum „sekundären“ Kiefergelenk abläuft, denn es ist davon auszugehen, dass beide Gelenke zumindest für kurze Zeit gleichzeitig vorhanden sein müssen. Dieser Frage nämlich, ob wegen der gleichzeitigen Existenz beider Gelenke entweder eine Verbindung, eine funktionelle Einheit entstehen muss, oder ob beide Gelenke zweitweise in ihrer Funktion eingeschränkt sind, wurde bisher wenig Beachtung geschenkt.

Durch die dreidimensionale Darstellung konnten in dieser Arbeit erstmals Aussagen dazu getroffen werden, in welchem Zeitraum der Entwicklung beide Gelenke gleichzeitig vorhanden waren und zu welchem Zeitpunkt und an welcher Stelle die Trennung der beiden Gelenke voneinander stattfand. Die dreidimensionale Darstellung basiert auf histologischen Serienschnitten, weshalb es auch möglich ist, auf zellulärer Ebene zu beobachten welche geweblichen Transformationen bei diesem interessanten embryologischen Vorgang der Gelenkbildung ablaufen.

Da die Maus auch heute noch einen der wichtigsten Modellorganismen in der naturwissenschaftlichen Forschung darstellt, ist eine lückenlose und detaillierte Darstellung der Entwicklung des primären und sekundären Kiefergelenkes möglich. Auch soll die Vergleichbarkeit mit der embryonalen Entwicklung des Menschen in dieser Arbeit erörtert werden – wobei das menschliche Untersuchungsgut eher selten so umfangreich vorhanden ist.

2. Literaturübersicht

2.1 Primäres und sekundäres Kiefergelenk

Die Begriffe „primäres und sekundäres Kiefergelenk“ wurden geprägt durch die Reichert-Gauppsche-Theorie. Diese besagt, dass die Gehörknöchelchen der Säuger phylogenetisch aus den Gelenkknochen des primären Kiefergelenkes ihrer reptilienartigen Vorfahren hervorgegangen sein sollen. Das primäre Kiefergelenk besteht bei Amphibien, Reptilien und Vögeln aus dem Quadratum und dem Articulare. Beide, das Quadratum und das Articulare bilden sich aus dem 1. Kiemenbogen. Das Articulare liegt im Unterkiefer und das Quadratum liegt im Oberkiefer. Reichert (1837) war der Ansicht, dass sich das primäre Kiefergelenk bei Säugetieren zu den Gehörknöchelchen Malleus und Incus umwandelt, wobei der Malleus aus dem Articulare und der Incus aus dem Quadratum hervorgegangen sein soll. Seine Theorie wurde ergänzt durch Gaupp (1913). Er erweiterte die Theorie, indem er ausführte, dass die Entwicklung des sekundären Kiefergelenkes der Säugetiere, heute bekannt unter dem Namen *Articulatio temporomandibularis*, die Umwandlung in Mittelohrknochen ermöglicht hat.

Die Evolutionstheorie verweist darauf, dass die Entwicklung der Gehörknöchelkette des Mittelohres mit ihrer Funktion der Schalleitung einen der wesentlichen Aspekte der Entstehung von Säugetieren darstellt. Studien zum Fatemapping an Wachtel- und Hühnerembryos haben gezeigt, dass das Articulare und das Quadratum aus dem ersten Pharyngealbogen entstehen (Couly et al., 1993; Kontges & Lumsden, 1996) und dass das Quadratum und das Articulare einer Knorpelanlage entstammen, die sich dann in zwei Anlagen aufteilt (Wilson & Tucker 2004). Es konnte auch nachgewiesen werden, dass *Bapx1*, ein Kiefergelenksmarker, der in dem Gelenk zwischen Articulare und Quadratum zu finden ist, bei Vögeln, Fischen und Reptilien (Miller et al., 2003, Wilson & Tucker, 2004) auch bei der *Articulatio incudomallearis* von Säugetieren zu finden ist (Tucker et al., 2004). Nichts destotrotz bleibt die Reichert-Gauppsche-Theorie weiter in der Diskussion. Luo et al. (2007) stellen fest, „Die Evolution der frühesten Säugetiere zeigt aufeinander folgende Episoden von Diversifikationen. Die Aufteilung in unterschiedliche Linien bei mesozoischen Säugetieren ist gekoppelt an viele unabhängige evolutionäre Experimente und ökologische Spezialisierungen.“

Wenig Beachtung wurde bei der Betrachtung der Entwicklung des primären und sekundären Kiefergelenkes aber dem räumlich fassbaren, morphologischen Vorgang der Entwicklung bei Säugetieren geschenkt. Einzelheiten wurden immerhin anhand von histologischen Untersuchungen bekannt.

2.2 Entstehung der Art. incudomallearis bei der Maus

Die Articulatio incudomallearis entsteht zwischen Malleus und Incus. Malleus, Incus und Stapes bilden zusammen die Kette der Gehörknöchelchen. Die Gehörknöchelchen stellen die Verbindung zwischen Außen- und Innenohr dar. Sie sind Teil des Mittelohres und verstärken die Schallwellen, bevor diese über das ovale Fenster an das Innenohr weitergegeben werden. Der Großteil des Malleus und der gesamte Incus stammen aus Zellen des 1. Visceralbogens. Beide Gehörknöchelchen erscheinen zusammen mit dem Meckelknorpel als eine mesenchymale Kondensation zwischen dem Embryonaltag 12-13 (Masuda et al., 1986; Miyake et al., 1996). Beides sind enchondrale Knochen, die aus einer Knorpelkondensation entstehen und sich zu zwei Ossikeln differenzieren (Amin & Tucker, 2006; Miyake et al., 1998). Der Processus anterior des Malleus entsteht aus dem Gonialknochen durch intramembranöse Ossifikation (Anthwal et al., 2013). Bis E13.5 sind Malleus und Incus noch verbunden. Ab dem Embryonaltag 14.5 sind sie als separate Elemente erkennbar. (Armin & Tucker, 2006; Amin et al., 2007) Ab E14.5 und E15 wurde die Articulatio incudomallearis histologisch klar erkannt (Amin et al., 2007).

Die Initiation der enchondralen Ossifikation des Malleus beginnt bei P0. (Shibata et al. 2019) Über weite Teile der Embryonalen Entwicklung bleibt der Malleus über den Meckelknorpel mit der Mandibula verbunden (Anthwal et al. 2013). Bei der Maus beginnt die knorpelige Verbindung zwischen Ohr und Kiefer um den postnatalen Tag P2 zu brechen, der Meckelknorpel nahe dem Malleus wandelt sich um in das Ligamentum sphenomandibulare (Anthwal et al. 2013).

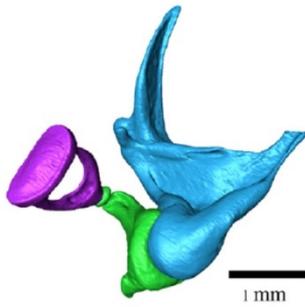


Abb. 1: Hochauflösendes dreidimensionales morphologisches Modell der Gehörknöchelkette der Ratte
 Malleus ist blau, Incus grün und Stapes ist lila dargestellt (Salih et al., 2012).

2.3 Entstehung der Articulatio temporomandibularis bei der Maus

Die Entstehung der Articulatio temporomandibularis beginnt mit der mesenchymalen Kondensation des späteren Kondylus.

Diese wurde bei Liang et al. (2016) im Stadium E13,5 gesehen. Ohshima et al. (2011) sieht eine Zellkondensation oberhalb des Meckelknorpel, welche sich zum späteren Kondylus differenziert im Stadium E15. Im Stadium E15.5 erscheint Kondylusknorpel im Zentrum des Proc. condylaris mandibulae. Dieser ist von einer dicken Schicht Perichondrium umgeben (Liang et al., 2016). Der sich schnell entwickelnde Kondylusknorpel differenziert sich am Embryonaltag 16.5 zu unterscheidbaren Schichten, einschließlich faseriger, polymorpher, abgeflachter und hypertropher Zellschichten (Liang et al., 2016).

Die ersten Anzeichen der Fossa mandibularis sehen Liang et al. (2016) im Stadium E14.5. „Bei E14.5 bildet der Processus zygomaticus mit der Pars squamosa eine leicht konkav geformte Fossa glenoidalis“ (Fossa mandibularis). Im Stadium E15.5 beginnt die Fossa zu verknöchern und dehnt sich dabei aus. Der Abstand zwischen Fossa und Kondylus bleibt aber groß (Liang et al. 2016). Auf eine metrische Angabe des Abstands zwischen Fossa mandibularis und Kondylus verzichten die Autoren.

Der Embryonaltag 15.5 zeigt den Beginn der Bildung des Discus articularis. Die oberen Zelllagen des Kondylus haben sich zu einem Streifen komprimiert, es handelt sich um die Anlage des Discus articularis (Liang et al., 2016). Ohshima et al. (2011) schreiben, der Discus articularis erscheint im Kopf des Kondylus bei E16. Am Tag E16.5 ist der Kondylenanlagenstreifen vollständig von der Kondylenoberfläche getrennt. Darüber

hinaus verbinden sich die Zellen des medialen Bereichs der Discusanlage mit den lateralen Pterygoidmuskelzellen (Liang et al., 2016). Am Embryonaltag 17.5 ist die Entwicklung des Discus abgeschlossen, es entsteht ein definitiver Discus articularis mit zahlreichen gestrafften Faserschichten (Liang et al., 2016).

Die obere Gelenkhöhle erscheint am Tag E16 und ist bei E18 in ihrer Entwicklung abgeschlossen (Ohshima et al. 2011; Kenzaki et al., 2011). Am Tag E16.5 beginnt die Kavitation zwischen Fossa mandibularis und Diskus articularis, durch die Aufwärtsbewegung lockerer Mesenchymzellen im Gelenkspalt. Zu dieser Zeit gibt es aber noch keinen Hinweis auf die Bildung eines unteren Gelenkspaltes (Liang et al. 2016).

Am Tag E17.5 führt die Entstehung des definitiven Discus zur Bildung eines engen Hohlraums zwischen Kondylus und Discus articularis (Liang et al. 2016). Kenzaki et al. (2011) beschreiben, dass die untere Gelenkhöhle zwischen dem Embryonaltag 17 bis postnatal Tag 3 entsteht, aber Ohshima et al. (2011) sehen die Entstehung um den Tag E18.

Am Tag E18.5 sind alle wichtigen anatomischen Merkmale des Kiefergelenks vorhanden. Man erkennt nun deutliche den kompakten Discus articularis, der die obere und untere Synovialhöhle voneinander trennt (Liang et al.2016).

2.4 Entwicklung des Meckelknorpel bei der Maus

Der Meckelknorpel ist paarig angelegt. Bei Mäusen entsteht der Meckelknorpel aus Zellen der Schädelneuralleiste des ersten Visceralbogens, am 11. Embryonaltag im Bereich der Zahnknospe des M₁ (Ito et al., 2002). Ramesh & Bard (2003) sehen den Knorpel bei E12.5 alten Mäusen.

Der Meckelknorpel entwickelt sich zu einer länglichen Struktur mit fast rundem Querschnitt und einem hackenförmigen posterioren Anteil, dem späteren Malleus.

Die Studien von Harada & Ishizeki (1998) und Ishizeki et al. (2001) geben unterschiedliche endgültige Schicksale des Meckelknorpel an. Der anteriore, rostrale

Anteil durchläuft enchondrale Ossifikation. Teile des Meckelknorpel gesellen sich zur Symphyse.

Beim posterioren, kaudalen Anteil entstehen durch enchondrale Ossifikation Malleus und Incus.

Der mittlere Anteil kann in einen anterioren-mittleren Anteil und einen posterioren-mittleren Anteil unterteilt werden. Im anterioren-mittleren Anteil werden die Chondrozyten resorbiert. Im posterioren-mittleren Anteil differenzieren sich die Chondrozyten zu Fibroblasten (Harada & Ishizeki, 1998).

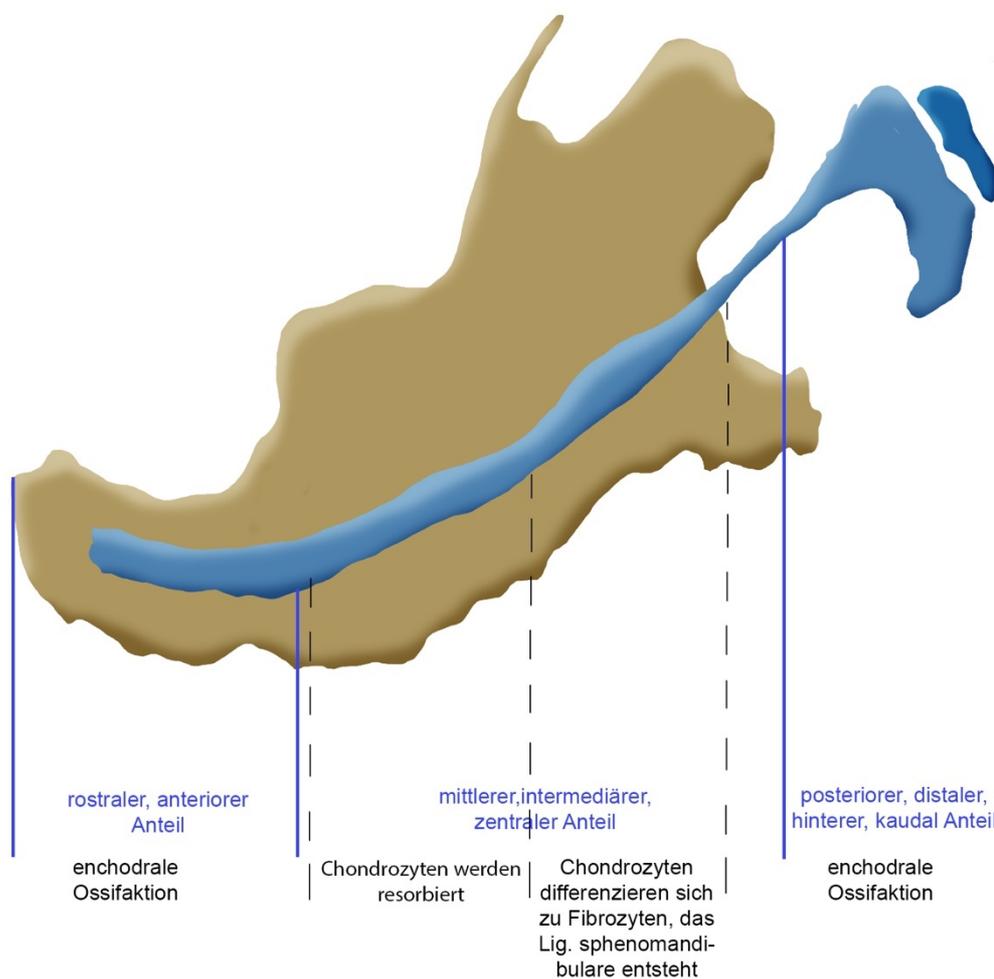


Abb. 2: Schematische Darstellung der Umbauvorgänge des Meckelknorpel

zusammengestellt aus eigenen Befunddaten und Angaben von (Harada & Ishizeki, 1998).

2.5 Entwicklung des Meckelknorpel beim Menschen

Die ersten Beschreibungen des Meckelknorpel gehen auf seinen Entdecker, J. F. Meckel (1781-1833) vor 200 Jahren zurück. Er hielt den Knorpel damals noch ausschließlich für ein Rudiment des Malleus, der vollständig verschwindet und ersetzt wird durch Knochen (Meckel 1820).

Richany et al. (1956) beschreiben den Meckelknorpel als paarig angelegte Knorpelstäbe, die als Orientierungshilfe bei der frühen Morphogenese des Unterkiefers dienen und jeweils zwei Gehörknöchelchen entstehen lassen. Bei der Entwicklung und dem Schicksal des Meckelknorpel müssen drei Bereiche unterschieden werden. Der anteriore Anteil wird in den vorderen Teil der Mandibula integriert. Der mittlere Teil wird zum Lig. sphenomandibulare und der intratympale Anteil, der Malleus und Incus und das anteriore Ligament des Malleus hervorbringt (Richany et al., 1956).

Die initiale Mesenchymverdichtung des Meckelknorpel sehen Wyganowska-Światowska & Przysańska (2011) bei Feten am 32. Tag. Am 36. Tag ist der chondrale Meckelknorpel sichtbar. Dieser Beobachtung stimmen auch Lee et al. (2001) zu, die die erste chondrale Formation des Meckelknorpel in der Mitte der 5. Entwicklungswoche sehen. Zwischen dem 36.-39. Tag dehnt sich der Meckelknorpel nach posterior und anterior aus. Am 41. Tag reicht er von der Ohrkapsel bis zur Symphyse. Am 44. Tag sind Malleus und Incus als chondrale Strukturen erkennbar. Sie bilden das posteriore Ende des Meckelknorpel. Zwischen der 9. bis 12. Woche beginnt die Ossifizierung des Meckelknorpel in der Mentalregion (Wyganowska-Światowska & Przysańska, 2011). Bei 115-120 mm Scheitel-Steiß-Länge ist der anteriore Anteil des Meckelknorpel komplett ossifiziert (Richany et al., 1956). Bei einer Scheitel-Steiß-Länge von 160mm und 161 mm reicht der knorpelige Anteil von der Ohrkapsel bis kurz vor das Niveau des Foramen mentale. Im intratympalen Anteil zeigt sich eine Deorganisation der Zellen. Dies ist die Vorbereitung der Bildung des anterioren Ligament des Malleus. Bei 203mm Scheitel-Steiß-Länge sieht man die Deorganisation des Meckelknorpel vor allem im Bereich zwischen Lingula des Unterkiefers und Eintrittspunkt in die Paukenhöhle. Bis auf eine kleine chondrale Insel, wandelt sich die Knorpelmatrix in ein Ligament um. Beim Fötus mit 310mm Scheitel-Steiß-Länge hat sich in der 34 Entwicklungswoche der gesamte Meckelknorpel deorganisiert. Teilweise entstehen Ligamente aus den Zellen

mit fibroblastischem Charakter, teilweise ergänzt der Meckelknorpel das faserige Periost an der Innenfläche des Unterkiefers (Richany et al., 1956).

2.6 Entstehung der Articulatio incudomallearis beim Menschen

Avery (1988) schreibt, das primäre Kiefergelenk besteht zwischen der 8.-18. Embryonalwoche, danach verliert es durch die Entwicklung des Mittelohres seine Beziehung zur Mandibula. Auch beim Menschen entwickelt sich das primäre Kiefergelenk zwischen Malleus und Incus. Diese sind zu einem großen Teil Derivate des 1. Visceralbogens und stammen dem Meckelknorpel ab (Richany et al. 1956, Sperber 1976, Moore & Persaud 1998). Bevor sie chondrifizieren sind sie nicht voneinander abgrenzbar (Zondek 1893). Die knorpelige Anlage des Malleus entsteht bei einer Scheitel-Steiß- Länge (SSL) von 28 mm und bildet ein Kontinuum mit dem Meckelschen Knorpel (Broman, 1899). Enlow (1990) beschreibt die Gehörknöchelchen in der 8. Woche, als knorpelig ausgebildet.

Whyte et al. (2002) sehen, die Articulatio incudomallearis als Diarthrose mit Sattelgelenkeigenschaften.

In der 7. Entwicklungswoche zeigt die Articulatio incudomallearis eine homogene Interzone, in der 8. Entwicklungswoche eine dreischichtige Interzone und in der 9. Entwicklungswoche werden die ersten Kavitationszeichen erkannt (Whyte et al. 2002). Das Vorhandensein einer Gelenkhöhle ist in der 10. Woche erkennbar. Das Vorhandensein von hyalinem Knorpel auf den Gelenkflächen ist ab der 20. Entwicklungswoche sichtbar (Whyte et al. 2002).

Ohtsuki et al. (2018) untersuchen den Zeitpunkt der Trennung von Meckelknorpel und Malleus genauer. Bis zu einer Scheitel-Steiß-Länge (SSL) von 195 mm sind Meckel und Malleus noch miteinander verbunden. Bei Proben mit einer Scheitel-Steiß-Länge von 145 mm können Meckel und Malleus anhand von Intensitätsunterschieden im MRT unterschieden werden. Bei mehr als 195 mm Scheitel-Steiß-Länge, sind Malleus und Meckel von einander getrennt (Ohtsuki et al. 2018).

Die Ossifizierung des Malleus beginnt bei einer Scheitel-Steiß-Länge von 135 mm im Caput mallei. Bei einer Scheitel-Steiß-Länge von 86 mm ist ein kleiner linearer

Vorsprung caudomedial im Bezug zum Meckelknorpel erkennbar. Bei 135 mm Scheitel-Steiß-Länge ist der Vorsprung länglich und kann als Proc. anterior identifiziert werden (Ohtsuki et al. 2018). Scheuer & Black (2000) schreiben die Verknöcherung des Malleus beginnt um die 16.-17. Gestationswoche, die des Incus um die 16. Gestationswoche.

Rodriguez- Vazques et al. (1991) sehen ein Ossifikationszentrum bei einer Scheitel-Steiß-Länge von 26,5 mm im Bereich des Malleus. Der Processus anterior des Malleus entwickelt sich vollkommen autonom durch intramembranöse Ossifikation. (Sperber 1976, Benninghoff & Drenckhahn 2004). Die anderen Anteile der Gehörknöchelchen ossifizieren durch perichondrale und enchondrale Ossifikation (Beckert 2011; Enlow 1989; Oesterle 1932).

2.7 Entstehung der Articulatio temporomandibularis beim Menschen

Das Kiefergelenk besteht zwischen Mandibula und Schädelbasis. Die Mandibula trägt am dorsokranielen Ende des Ramus mandibulae beidseits je einen Condylus articularis (Radlanski, 2011). Dieser artikuliert über den Discus articularis mit der Fossa mandibularis. Die Fossa mandibularis liegt im Os temporale zwischen Meatus acusticus externus und Arcus zygomaticus.

Der Proc. condylaris entsteht aus dem kondylären Blastem (Baume,1962; Baume,1962; Youdelis, 1966; Baume, 1970; Merida-Velasco et al., 1999) Spyropoulos (1977) gibt den Zeitpunkt der Entstehung des knöchernen Proc. condylaris in der 7. Bis 8. Entwicklungswoche an. In der 10. Entwicklungswoche ist der knorpelige Anteil des Proc condylaris sichtbar (Kitamura, 1989; Van der Linden et al., 1987, Radlanski et al., 1999), Baume (1962) sieht Sekundärknorpel bei einer Scheitel-Steiss-Länge von 60 mm.

Die Fossa mandibularis entsteht aus dem glenoidalen Blastem (Baume,1962; Baume, 1962; Baume, 1970; Merida-Velasco et al., 1999). Die knöcherne Fossa mandibularis entwickelt sich in der 10.-11. Entwicklungswoche. Nach 20 bis 22 Wochen erreicht sie

die bekannte Form mit dem posterior liegenden Tuberculum articulare (Furstman, 1963; Ide et al., 1991; Radlanski et al. 1999).

Der Discus articularis bildet sich aus verdichtetem Mesenchym zwischen der Anlage des Kondylus und der der Fossa mandibularis (Radlanski, 2011). Van der Linden et al. (1987) und Kitamura (1989) beobachteten die Entstehung des Discus articularis bei 21mm und 25mm CRL in der 9. Entwicklungswoche. Molina et al. (1983) geben an, dass sie in der 12. Entwicklungswoche, den Discus mit seiner bikonkaven Form und kollagenen Fasern erkannt haben. In der 22. Woche erkennt man den Discus articularis, als zellreiche Struktur, die von kollagenen Fasern durchzogen ist. (Yang et al., 1992; Mah, 2004).

Der obere und untere Gelenkspalt entsteht durch Einreißen des mesenchymalen Zellverbundes (Radlanski, 2011). Der untere Gelenkspalt entsteht in der 10. Entwicklungswoche, der obere in der 11. Entwicklungswoche. Die Spalträume bilden sich segmentiert aus Einzelspalten. In der 17. Entwicklungswoche fusionieren die Einzelspalten zu einem durchgehenden Gelenkspalt (Symons, 1952; Furstman, 1963; Youdelis, 1966; Ogutcen-Toller & Juniper, 1994; Radlanski et al., 1999).

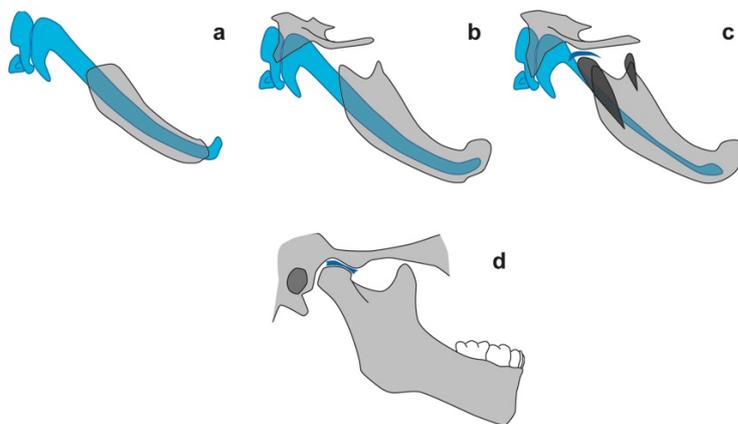


Abb. 3: Schematische Darstellung der Entwicklung des Articulatio temporomandibularis als Anlagerungsgelenk (aus Radlanski 2011)

- a: Embryo 6. Woche, Meckelknorpel (blau) und Gehörknöchelchen (blau) als hyaline Strukturen vorhanden
- b: Fetus, 9. Woche, die Fossa mandibularis ist als knöcherne Struktur (grau) im Os temporale erkennbar. Proc. condylaris und Proc. coronoideus der Mandibula (grau) entwickeln sich.
- c: Fetus 10.-11. Woche, im Proc. condylaris und Proc. coronoideus erkennt man Chondrozyten (schwarz). Die Anlage des Discus articularis (dunkel blau) ist erkennbar.
- d: Kind 3 Jahre

Beim Betrachten der Literatur zur Entwicklung der beiden Gelenke (Articulatio temporomandibularis und Articulatio incudomallearis) beim Menschen wird deutlich, dass diese vorgeburtlich abgeschlossen ist. Um die 20. Entwicklungswoche sind alle Strukturen der Articulatio temporomandibularis ausgebildet. Auch die Articulatio Incudomallearis ist in der 20. Woche in ihrer Entwicklung abgeschlossen. Die Trennung zwischen Malleus und Meckelknorpel wird bei mehr als 195 mm Scheitel-Steiß-Länge angegeben, was in etwa der 23-24 Entwicklungswoche entspricht (Hinrichsen, 1990). Auch beim Menschen besteht also über eine gewisse Zeitspanne eine Verbindung zwischen dem Articulatio incudomallearis und dem Articulatio temporomandibularis. Bei der Geburt, sind beide Gelenke jedoch frei beweglich.

Bei der Maus ist dies jedoch nicht der Fall. Zum Zeitpunkt der Geburt sind beide Gelenke noch über den Meckelknorpel verbunden.

Aus der Literatur wird ersichtlich, dass die Entwicklung der Articulatio temporomandibularis bei der Maus, um den Embryonaltag 18.5 abgeschlossen ist. Die Verbindung zwischen Articulatio incudomallearis und Articulatio temporomandibularis besteht bis zum postnatalen Tag P2. Frei beweglich ist die Articulatio temporomandibularis am postnatalen Tag 4.

Bei der Literaturübersicht fällt auf, dass die Entstehung der beiden Gelenke bei der Maus separat voneinander untersucht wurden. Nur einige Arbeiten (Anthwal et al., 2013; Anthwal & Thomson, 2016; Anthwal et al., 2017; Tucker et al., 2004; Urban et al, 2017) untersuchen beide Gelenke. Diese Arbeiten befassen sich hauptsächlich mit dem Zeitpunkt der Trennung der beiden Gelenke. Es findet kein Vergleich des Entwicklungsfortschrittes der beiden Gelenke statt und dem Aspekt, dass über einen kurzen Zeitraum eine funktionelle Einheit entstehen muss, bzw es zu einer Einschränkung der Beweglichkeit der Gelenke oder es zu einer Verformung der knorpeligen Strukturen kommen muss, dem wird keine Beachtung geschenkt.

Beim Betrachten der dreidimensionalen Rekonstruktionen fällt die Verbindung der beiden Gelenke sofort ins Auge.

3. Fragestellung

Wie lange sind die Articulatio incudomallearis und die Articulatio temporomandibularis verbunden?

Wie entwickelt sich die Articulatio incudomallearis?

Ab wann beginnt die Verknöcherung an Malleus und Incus?

Wann trennt sich der Meckelknorpel vom Malleus?

Gibt es starke Lageveränderungen oder Konfigurationsveränderungen mit Bezug zur Trennung von Malleus und Meckelknorpel?

Wie entwickelt sich die Articulatio temporomandibularis?

Wann verliert der Meckelknorpel den Kontakt zur Mandibula?

Ab wann ist sekundärer Knorpel im Bereich des Condylus sichtbar?

Ändert sich die Knorpelkonfiguration nach der Trennung von Meckelknorpel und Mandibula?

Gibt es Lageveränderungen mit Bezug zur Trennung der beiden Gelenke?

Wie funktionieren die beiden Gelenke solange sie verbunden sind?

Gibt es Funktionseinschränkungen bei einem der beiden Gelenke?

4. Material & Methode

4.1 Material

Die Grundlage der Forschungsarbeit bildeten die histologischen Schnittserien aus der Sammlung R.J. Radlanski, *Mus musculus* (Hausmaus) vom Stamm C57Bl/6J.

Dreidimensionale Rekonstruktionen wurden von 10 Schnittserien hergestellt, befundet wurden 11 Schnittserien von Mäuseköpfen im Alter von E13.5-P10.

Die histologischen Schnittserien wurden nach den üblichen histologischen Verfahren hergestellt (Mulisch & Welsch 2010). Die unter Narkose dekapitierten Mäuse wurden mit Formalin (Fa. Herbeta Arzneimittel, Berlin, Germany) sowie Histochoice (amresco®, Solon, Ohio) fixiert. Die Hartgewebe wurden mit Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) (Fa. Herbeta Arzneimittel, Berlin, Germany) entkalkt. Die Entkalkung dauerte je nach Entwicklungsstadium 3-12 Wochen. Die Dehydrierung erfolgte mittels einer Ethanolreihe mit ansteigender Konzentration bis 100%. Nach dem Tränken mit Xylol (Fa. J.T. Baker, Netherlands) erfolgte die Einbettung mit erwärmtem Paraffin(50-60°C) (Sigma Paraplast® Regular, Steinheim, Germany).

Die Präparate wurden mit dem Mikrotom (Leica, Reichart-Jung RM 2065, Leica, Nußloch, Deutschland) geschnitten. Die Schichtdicke betrug 8 oder 10 µm.

Die Schnittrichtung war, bis auf die Ausnahme P0, frontal. Das Stadium P0 wurde horizontal geschnitten.

Neben der Standardfärbung Hämatoxylin-Eosin (HE) wurden einige Schnitte mit speziellen Färbungen behandelt, zur besseren Sichtbarmachung einzelner Strukturen. Zusätzlich zu der Färbung mit HE wurden TRAP-, Trichrom nach Domagk-, Trichrom-Aldehyd- Fuchsin-, Movat-, Alcianblau-PAS-, Alcianblau nach Domagk-, Safranin-O und Elastika- Trichromfärbung, modifiziert nach Masson-Goldner verwendet (Mulisch und Welsch 2010)

Zur abschließenden Eindeckung der Schnitte wurde Eukitt® (O. Kindler GmbH, Freiburg, Germany) verwendet.

Alter	EDTA Entkalk.	Paraffin	Schnitt- dicke	Schnitt- richtung	Färbung
E13.5 20/08	3 Wochen	X	8 µm	frontal	HE, Trichrom
E14.5 27/08	3 Wochen	X	8 µm	frontal	HE, Trichrom, TRAP
E15 35/08	6 Wochen	X	8 µm	frontal	HE, Trichrom, TRAP, Alcianblau
E16 45/08	6 Wochen	X	8 µm	frontal	HE, Trichrom, TRAP, Safranin-O
E18 102/11	7 Wochen	X	10 µm	frontal	HE, Movat, Alcianblau
E20 115/08	8 Wochen	X	8 µm	frontal	HE, TRAP, Safranin-O, Alcianblau, Movat
P0 65/08	8 Wochen	X	8 µm	horizontal	HE, TRAP
P2 70/08	8 Wochen	X	8 µm	frontal	HE, Trichrom, TRAP, Elastika-Trichrom,
P4 73/08	8 Wochen	X	10 µm	frontal	HE, Trichrom, TRAP, Elastika-Trichrom, Safranin-O
P6 77/08	8 Wochen	X	10 µm	frontal	HE, TRAP, Safranin-O, Elastika-Trichrom
P10 85/08	12 Wochen	X	10 µm	frontal	HE, Trichrom, TRAP, Elastika-Trichrom

Tab. 1: Aufstellung der Schnittserien E13.5-P10

4.2 Methode

4.2.1 Vorbemerkung

Ein korrektes dreidimensionales Modell zu erstellen erfordert einen längeren Lernprozess. Dieser Lernprozess wurde durch die erfahrenen Mitarbeiter der Abteilung begleitet. Abschließend wurde eine Proberekonstruktion der Kieferregion der Maus erstellt. Diese wurde mit allen Rekonstruktionen derselben Kieferregion verglichen, die zuvor von den Mitarbeitern der Abteilung erstellt worden waren.

4.2.2 3D-Rekonstruktionstechnik

Nach der Feststellung welche der Entwicklungsstadien für die Fragestellung von Bedeutung waren, erfolgte die Durchsicht der Schnittserien. Die Qualität der histologischen Schnitte wurde am Lichtmikroskop (Stemi SV 11 Zeiss: Zeiss Universal, Oberkochen, Germany) kontrolliert und Schnitte mit Artefakten wie Risse, Falten oder Gewebeerlusten wurden ausgeschlossen.

Die Aufnahmen der Stadien E13.5-P10 erfolgte mit einem Zeiss Standard WL Durchlichtmikroskop (Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland) und integrierter CCD-Farbkamera Colorview Illu (OSIS, Münster, Deutschland) in 100-facher Vergrößerung.

Danach erfolgte eine Digitalisierung der ausgewählten Schnitte mit dem Olympus Scanning-System VS120 (Olympus, Tokyo, Japan). Die Fotografien entstanden in 100facher Vergrößerung mit eingebranntem Maßstab und wurden im tif Format gespeichert. Der Abstand zwischen den einzelnen Schnitten betrug zwischen 10-50µm, sodass circa 150 Schnitte pro Entwicklungsstadium fotografiert wurden.

Die Weiterbearbeitung der Bilder erfolgte mit der Software AnalySIS (SoftImagingSolutions GmbH, Münster, Deutschland), sofern die Datensätze nicht größer als 150 MB waren. Einige größere Bilder wurden mittels Photoshop CS4 (Adobe Systems Software, Dublin, Irland), komprimiert. Anschließend konnten die komprimierten Bilder in das Bildverarbeitungsprogramm AnalySIS eingespeist werden.

4.2.3 AnalySIS

Die Anordnung der Bilder erfolgte von anterior nach posterior, anhand des gespeicherten Bildnamens. Danach wurden die Bilder auf der x- und y-Achse kalibriert und skaliert. Die Bildgröße wurde durch den eingebrannten Messbalken angepasst. Die Höhenabstände der einzelnen Bilder zueinander müssen manuell eingegeben werden um die korrekte Größe der späteren Rekonstruktion zu gewährleisten. Die Abstände lagen zwischen 10-50 μm .

Ein weiterer manueller Schritt ist das Alignieren. Dabei werden die aufeinander folgenden Schnittbilder so lange verschoben und gedreht, bis die abgebildeten Strukturen, mit den Strukturen des folgenden Schnittes ein einheitliches Bild ergeben. Als Orientierung dienten Strukturen wie die Mandibula, der Bulbus oculi oder der Meckelknorpel (Meyer und Domanico, 1988; Radlanski et al., 2003).

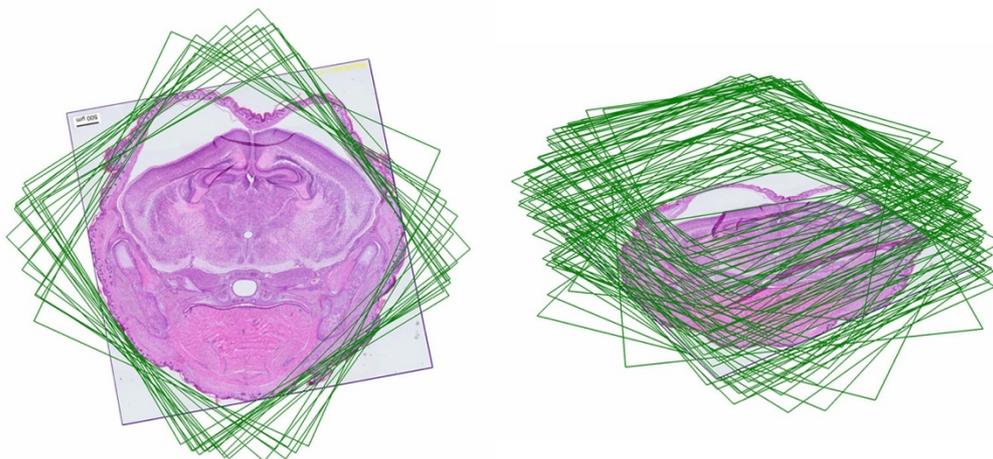


Abb. 4 : Darstellung des Alignierungsprozesses
Anordnung der Bilder eines Stapels zueinander

Daraufhin folgt die Segmentierung. Bei stärkerer Vergrößerung werden die Konturen der Strukturen, die von Interesse sind, anhand anatomischer und histologischer Kriterien identifiziert. Danach werden die identifizierten Konturen mit dem 3D-Befehl manuell in jedem Schnitt, umrandet und abgegrenzt. Das Programm setzt die so entstandenen zweidimensionalen Polygone, durch Segmentierung und Triangulation, zu einem dreidimensionalen Element zusammen. Die Triangulationslinien werden dann noch einmal manuell kontrolliert, so entsteht ein dreidimensionales Objekt.

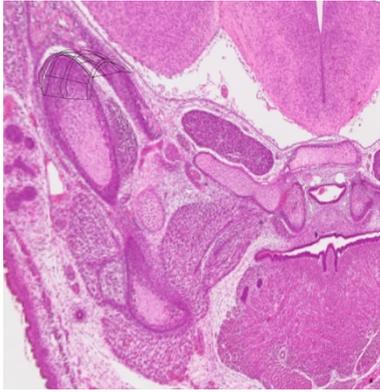


Abb. 5: Darstellung der Polygone des Discus articularis mit Triangulationslinien
Polygone in schwarz dargestellt

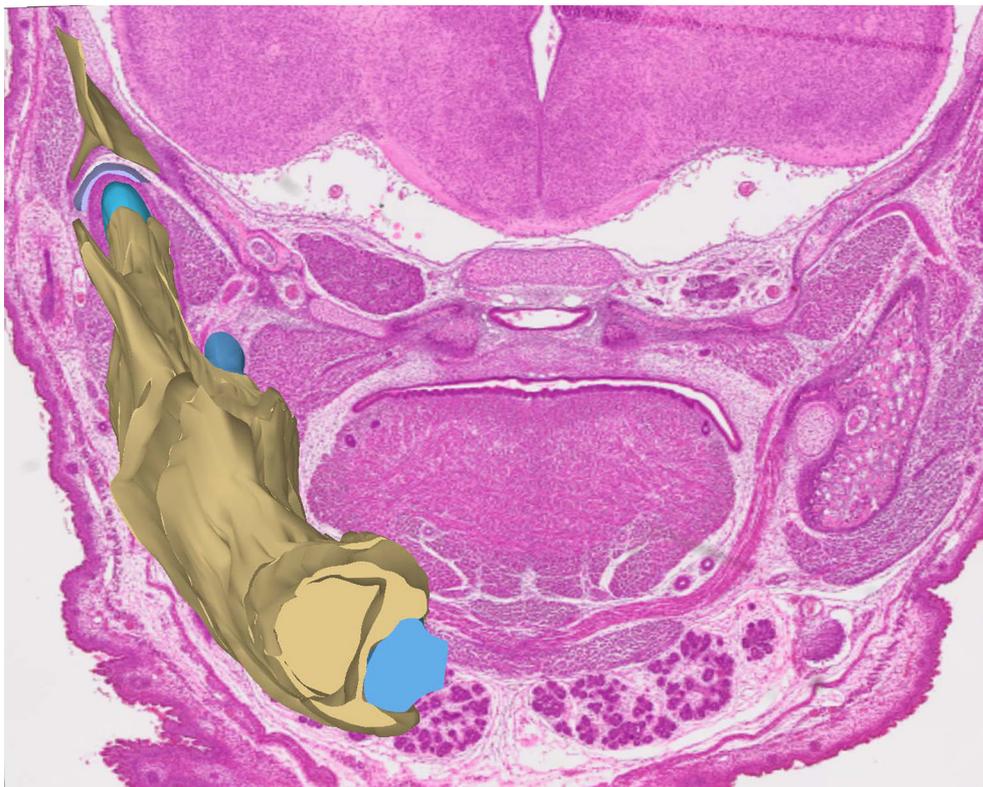


Abb. 6: Darstellung der 3D-Rekonstruktion der Articulatio temporomandibularis
Die dreidimensionalen Objekte wurden in einer Gruppe zusammengefasst

Die einzelnen Objekte können in Gruppen zusammengefasst und entsprechend ihrer Position im digitalen Schnittbild räumlich zueinander dargestellt werden. Die einzelnen Objekte werden durch unterschiedliche Farbwahl besser voneinander abgrenzbar dargestellt. Die entsprechende Farbkodierung kann Tabelle 2 entnommen werden und orientiert sich an vorangegangenen Arbeiten.

Die Rekonstruktion der Region und ihrer umgebenden Strukturen, eines Embryos, einer Altersstufe, dauert etwa 60-80 Arbeitsstunden.

Farbmodell AnalySIS

Farbe	Anatomisch / Histologisch	analySIS-HSL			RGB		
		Farbe	Satt	Hell	Rot	Grün	Blau
	Mesenchym verdichtet, Blastem	200	240	225	255	223	255
	Discus articularis	160	226	207	187	187	253
	Gelenkspalt oberer und unterer	160	0	200	212	212	212
Knochen							
	Maxilla, Mandibula, Malleus, Incus, Stapes	28	146	161	222	191	120
	Os temporale, Os zygomaticum	28	146	171			
Knorpel							
	Meckelknorpel, Cartilago mallei	138	185	158	101	174	235
	Bindegewebe Meckelknorpel	138	186	190	160	206	243
	Condylusknorpel, Angulusknorpel	130	230	151	70	206	251
Ohr							
	Meatus acusticus externus, Membrana tympanica	160	0	120	127	127	127
	Tuba pharyngotympanica (Tuba auditiva Eustachii)	160	0	181	192	192	192
	Cartilago ossis cochleae (Cochlea= Schnecke)	133	240	142	47	187	255
	Cartilago ossis inci (Incus=Amboss)	138	185	(125)	38	142	227
	Cartilago ossis stapedis (Stapes=Steigbügel)	138	184	105	26	120	198
	Cartilago ossis mallei Hammer, (Teil des MC.)	138	185	158	101	174	235
Auge							
	Lens	160	0	0	0	0	0
	Bulbus	160	0	240	255	255	255
Nervengewebe							
	Nerven und Ganglien allgemein	40	240	120	255	255	0

Tab. 2: Farbmodell AnalySIS

4.2.4 Morphometrische Analyse

Durch die Arbeitsschritte Kalibrieren, Skalieren und die korrekte Eingabe der Höhenabstände der Schnittbilder zu einander ist es möglich im Programm AnalySIS® 5.0, das Volumen einzelner Objekte zu bestimmen. Dazu wird der Befehl „Volumen & Fläche“ in der AnalySIS® 5.0 Software (OSIS, Münster, Germany) angewählt.

So wurden die Volumina des Kondylusknorpels von E15-P10, sowie die Volumina von Stapes und Incus von E14.5-P10 sowie dem Malleus-Meckel-Verbund und dem Meckel-Malleus-Verbund von E13.5-P10 bestimmt. Da sich diese Arbeit mit dem primären und sekundären Kiefergelenk befasst, wurde beim Meckelknorpel ab dem Stadium E16 das Volumen des posterioren Anteils bestimmt. Ab dem Stadium P0 wurde für den Meckel-Malleus-Verbund das Volumen des posterioren Meckelknorpel und das Volumen des Malleus-Knorpels zusammenaddiert, da diese nicht voneinander getrennt betrachtet werden konnten. Für das Volumen des Malleus-Meckel-Verbundes wurde zusätzlich noch der Malleus-Knochen und das Volumen des Gonialknochen addiert, da dieses ab P0 nicht mehr getrennt betrachtet werden konnte.

Es wurden auch Abstandsmessungen vorgenommen. In superior-inferiorer Richtung wurde der geringste Abstand zwischen der Oberkante des Kondylusknorpel und der Fossa mandibularis bestimmt, sowie der weiteste Abstand zwischen dem Knochenkragen des Processus condylaris mandibulae und dem Kondylusknorpel. Auch wurde die anteriore-posteriore Länge des Kondylusknorpels bestimmt. Diese Abstandsmessungen wurden in den Stadien E15-P10 durchgeführt.

Desweiteren die Höhen der lateralen und medialen Begrenzung der Fossa mandibularis, in den Stadien E14.5-P10. Die Abstandsmessungen erfolgten mit dem Befehl „Abstandsmessung“ des AnalySIS® 5.0 Programms.

Desweiteren erfolgte eine Abstandsbestimmung vom posterioren Rand des Kondylusknorpel (C.post.) bis zum anterioren Rand des Incus (Inc.ant.). Die Abstandsmessung erfolgte unter zur Hilfenahme einer gedachten horizontalen Linie zwischen dem Unterrand des Bulbus (Or) und dem am weitesten cephal liegenden

Punkt am Crus breve des Incus (Inc.sup.). Anhand dieser Linie wurde das 3D-Modell positioniert und so der Abstand zwischen den genannten Punkten bestimmt.

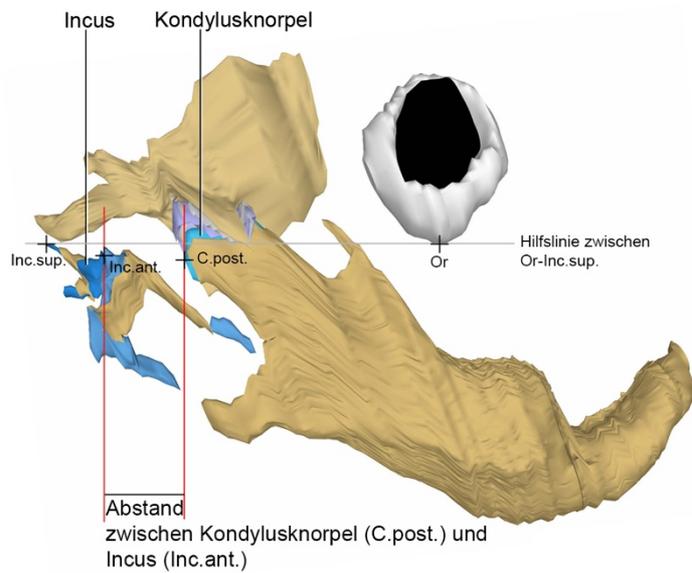


Abb. 7: Darstellung der Messstrecke des Raumes zwischen den Gelenken
Darstellung der Hilfslinie und der kephalometrischen Punkte

5. ERGEBNISSE

5.1 Vorbemerkung

Bei den dreidimensionalen Rekonstruktionen wurde der Fokus auf die Entwicklung der *Articulatio incudomalleolaris* und *Articulatio temporomandibularis*, sowie den Meckelknorpel gelegt. Einige umgebende Strukturen werden zusätzlich beschrieben, sind aber in den Abbildungen übersichtlicher nicht dargestellt. Dazu gehören unter anderem, die Maxilla mit Zahnanlagen, die Kaumuskulatur und der N. *alveolaris inferior*. Andere Strukturen sind dagegen zu Orientierungszwecken mit rekonstruiert worden. Da sie für die Fragestellung aber nicht von Bedeutung waren, wurden sie nicht mitbeschrieben. Dazu gehören die *Tuba pharyngotympanica*, die *Cochlea*, der *Meatus acusticus externus* und das Auge mit *Bulbus* und Linse.

5.2 Schnittserienrekonstruktion

5.2.1 Ergebnisse E13.5

Im Stadium E13.5 waren von den Strukturen des primären und sekundären Kiefergelenkes nur wenige vorhanden.

Beim Ohr war die *Cochlea* als Mesenchymverdichtung erkennbar.

Von den Knochen des Mittelohres war lediglich der *Malleus* als posteriore Verdickung des Meckelknorpel zu erahnen.

Incus und *Stapes* des Mittelohres war nicht erkennbar.

Die *Art. temporomandibularis* war noch nicht vorhanden. Hier konnte lediglich undifferenziertes Mesenchym beobachtet werden.

Nur der Meckelknorpel als Leitstruktur der Entwicklung der *Mandibula* war ersichtlich. Er zeigte sich als Knorpelspange mit medialer Verschlingung und posteriorer und

anterioren Verdickung. Das Perichondrium umgab den Meckelknorpel. Das Volumen lag bei 0,015mm³

Bei der Mandibula waren zwei kleine Ossifikationsinseln erkennbar. Diese befanden sich medial des M. masseter und lat. des Meckelschen Knorpel. Die mesenchymale Verdichtung der Zahnanlage lag weiter cephal.

Der N. alveolaris inferior war vorhanden. Er lag medial der Verknöcherungsinseln der Mandibula und zog weiter nach anterior als der Meckelknorpel.

Von der Kaumuskulatur war nur der M. masseter erkennbar. Der M. masseter war als runde Verdichtung lateral der Ossifikationsinseln der Mandibula erkennbar.

Beim Auge waren Bulbus und Linse sichtbar.



Abb. 8: E13.5, histologische Übersichtsdarstellung
Frontalschnitt des Kopfes auf Höhe der Cavitas oris
Färbung: HE

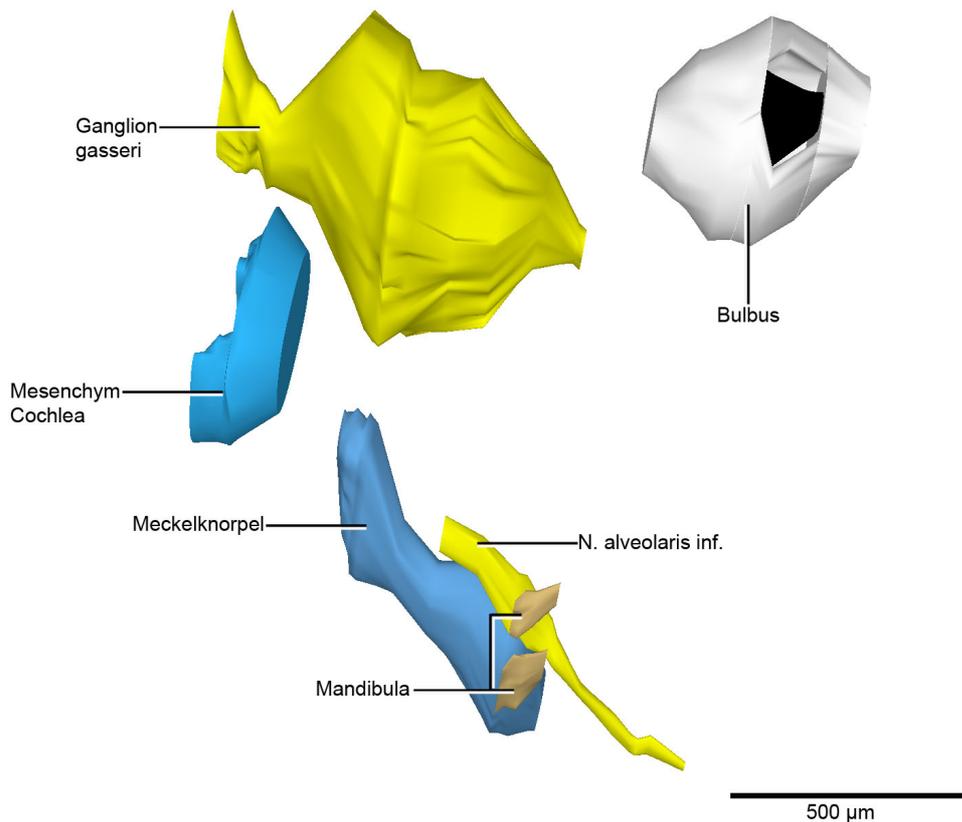


Abb. 9: E13.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion der rechten Mandibula und umgebenden Strukturen
 Ansicht von lateral

5.2.2 Ergebnisse E14.5

Im Stadium E14.5 konnten erstmals die knorpeligen Anlagen von Incus und Stapes beobachtet werden. Sie bestanden aus hyalinem Knorpel. Chondroblasten und Chondrozyten waren erkennbar. Eine klare Abgrenzung von stratum cellulare und stratum fibrosum des Pericondriums war nicht durchgehend vorhanden.

Der Stapes lag am weitesten medial, der Malleus am weitesten lateral, zwischen ihnen lag der Incus.

Die Knorpelanlage des Stapes zeigte schon die Steigbügelform. Das crus anterior und crus posterior sowie die basis stapedis waren erkennbar. Sein Volumen betrug $0,0023\text{mm}^3$

Der Incus ähnelte, von lateral betrachtet, einem liegenden V, wobei der inferiore Schenkel, das Crus longum, etwas länger war und leicht nach lateral abknickte. Der

superiore Schenkel, das Crus breve, war etwas kürzer. An die Spitze des V schloss sich ein kurzer zylinderförmiger Anteil an, das Corpus incudis. Der Incus war in diesem Stadium noch komplett knorpelig. Sein Volumen betrug $0,0043 \text{ mm}^3$.

Der Malleus war mit dem Meckelknorpel verbunden und zeigte sich an dessen posteriorem Ende. Hier war ein ca. 90° abgewinkelter Fortsatz erkennbar. Am inferioren Rand dieses Fortsatzes war ein weiterer Fortsatz erkennbar, der im Winkel von 90° nach anterior abknickte. Eine eindeutige Einteilung in Manubrium Mallei, Caput und Collum mallei, sowie Processus anterior war noch nicht ersichtlich. Das Volumen von Malleus und Meckelknorpel lag bei $0,1090 \text{ mm}^3$.

Beim Articulatio incudomallearis war erstmals eine Abgrenzung von Malleus und Incus möglich. Eine Gelenkknorpelschicht zwischen Incus und Malleus konnte noch nicht vom restlichen sich entwickelnden Knorpelgewebe abgegrenzt werden. Zwischen Incus und Malleus lag stark verdichtetes Mesenchym.

Der Anulus tympanicus umfasste als dünne c-förmige Verknöcherung das Cavum tympanie. Die Öffnung des C war nach cephal anterior gerichtet.

Das Mittelohr liegt zwischen Innenohr und äußerem Gehörgang. Zur Orientierung wurden Cochlea und Meatus acusticus externus rekonstruiert. Die Cochlea war als knorpelige Struktur vorhanden und lag medial des Mittelohres. Der Meatus acusticus externus war als kompakte längliche epitheliale Struktur angelegt. Beide Strukturen werden im Folgenden nicht näher detailliert beschrieben, da sie für die Fragestellung nur von orientierender Bedeutung waren.

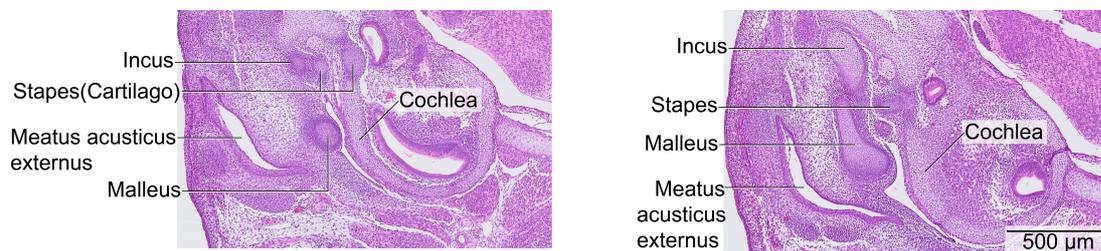


Abb. 10: E14.5, histologische Übersichtsdarstellungen
Frontalschnitte auf Höhe der rechten Gehörknöchelkette
Färbung: HE

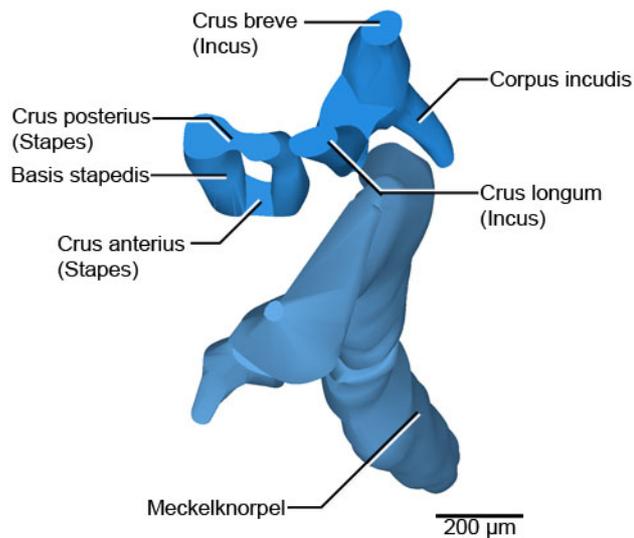


Abb. 11: E14.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Gehörknöchelkette
 3D-Teilrekonstruktion der Gehörknöchel Incus und Stapes, sowie einem Abschnitt des Malleus-Meckelverbundes
 Ansicht von posterior

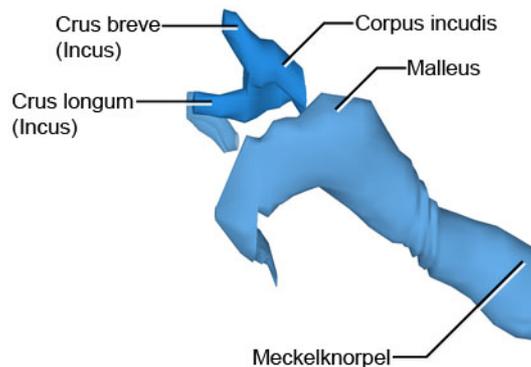


Abb. 12: E14.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Gehörknöchelkette
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion
 Ansicht von lateral

Im Bereich des Art. temporomandibularis war nun kein undifferenziertes Mesenchym mehr, wie noch im Stadium E13.5. Erstmals konnte eine knöcherne Erhebung an der Mandibula, als späterer Proc. condylaris identifiziert werden. Im Bereich des späteren Kondylusknorpel, war verdichtetes Mesenchym vorhanden, welches sich vom lockeren Bindegewebe, das sich in der Nähe der späteren Fossa befand deutlich abgrenzte. Auch das verdichtete Bindegewebe des Discus articularis war ersichtlich. Der sekundär Knorpel im Proc. condylaris fehlte.

Bei der knöchernen Mandibula war eine Aufteilung in Ramus mandibulae und Corpus mandibulae nicht eindeutig erkennbar. Der Proc. condylaris war als knöcherner Ansatz sichtbar. Der knöcherne Proc. angularis war posterior am Unterrand der Mandibula

vorhanden, ein knorpeliger Anteil war nicht erkennbar. Der Proc. coronoideus war vom Ramus ausgehend als kleine Erhöhung sichtbar. Die Incisura mandibulae zwischen Proc. condylaris und Proc. coronoideus war flach und nicht stark ausgeprägt. Eine verdichtete Mesenchymschicht umgab die knöchernen Mandibula und zeigte ein deutlicheres Bild der späteren Form. Von medial war ein knöcherner Fortsatz erkennbar, der die Zahnanlagen von M_1 und M_2 trug. Der Fortsatz war im anterioren Bereich erkennbar und erstreckte sich bis etwa zur Hälfte der Mandibula. Von inferior war er konkav und lag dem Meckelknorpel halbmondförmig auf.

Der Meckelknorpel war deutlich länglicher in sagittaler Richtung als im Stadium E 13.85, sein Volumen lag bei $0,1090\text{mm}^3$. Der hyaline Knorpel war im Querschnitt rund und von Perichondrium komplett umschlossen. Er war sowohl anterior als auch posterior der knöchernen Mandibula erkennbar. Das mittlere Drittel des Meckelknorpel lag der Mandibula von medial an. Im anterioren Bereich, des mittleren Drittel, war der Meckelknorpel von medial gesehen, cephal zu einem Viertel von Knochen umgriffen. Sein posteriores Ende, der spätere Malleus, grenzte an den Incus. Eine Trennung von Malleus und Meckel war nicht vorhanden. Die schmalste Stelle des Meckelknorpel war in der Region des Hinterrands der Mandibula

Der N. mandibularis zog vom Ganglion gasseri ausgehend nach inferior in Richtung des Hinterrandes der Mandibula. Von dort verlief er als N. alveolaris inf. lateral vom Meckelknorpel. An der Stelle, wo sich der zahntragende Fortsatz gebildet hatte, bog der N. alveolaris ab, um dann im Knochenkanal zu verlaufen, bis er weiter anterior als N. mentalis die Mandibula wieder verließ.

Der Discus articularis war als mesenchymale Verdichtung erkennbar. In seiner Form war er leicht konvex nach cephal und folgte der leicht rinnenförmigen Einbuchtung der Fossa mandibularis. Der obere und untere Gelenkspalt war noch nicht vorhanden.

Erstmals konnte man das Os temporale mit der Fossa mandibularis erkennen. Die Fossa mandibularis war als Vertiefung im anterioren Teil der Pars squamosa des Os temporale erkennbar. Die mediale Begrenzung der Fossa mandibularis war an der tiefsten Stelle der Fossa $127\mu\text{m}$ tief. Die laterale Begrenzung, der Proc. zygomaticus des Os temporale, zeigte sich als kleiner dreieckiger Fortsatz und war $117\mu\text{m}$ tief. Eine anteriore oder posteriore Begrenzung der Fossa mandibularis waren nicht ersichtlich.

Von anterior betrachtet glich das Os temporale mit den beiden Begrenzungen der Fossa einem umgedrehten Y.

Das Os temporale bestand im Stadium E14.5 aus der Pars squamosa mit der Fossa mandibularis und einem nach posterior gerichteten schmalen Knochenfortsatz, dem Proc. occipitale. Dieser Knochenfortsatz hatte in etwa die gleiche Länge wie die Pars squamosa und war posterior des Proc. zygomaticus am inferioren posteriorem Rand der Pars squamosa erkennbar.



Abb. 13: E14.5, histologische Übersichtsdarstellung
Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae
Färbung: HE

Um auf mögliche Bewegungen im Bereich des sekundären Kiefergelenkes schließen zu können, wurden auch die Kaumuskeln und ihre knöchernen Ursprungs- und Ansatzpunkte rekonstruiert.

Beim M. masseter war deutlich eine Pars profunda und ein Pars superficialis erkennbar. Der Ansatz am Arcus zygomaticus war nicht eindeutig erkennbar, da vom Arcus zygomaticus nur ein kurzer anteriorer Teil vorhanden war. Der M. masseter zog von lateral um den inferioren Rand der Mandibula herum. Von lateral gesehen, verdeckte er das posteriore Drittel der Mandibula. Von medial gesehen zog er in Richtung des M.

pterygoideus medialis. Im anterioren Bereich umgriff er mit zwei Bäuchen den cephalen Fortsatz der Maxilla. In seiner Ausrichtung – von lateral gesehen - bildete der M. masseter mit dem Unterrand der Mandibula in etwa einen 60° Winkel.

Der M. temporalis war deutlich weiter ausgedehnt als das darunter liegende Os temporale. Er hatte die Kontur eines spitzwinkligen Dreiecks, die Spitze wies nach posterior zum Hinterrand des Os temporale. Im anterioren Bereich zog er zur lateralen Seite des Proc. coronoideus.

Der M. pterygoideus lat. lag medial des M. temporalis und medial der Mandibula. Er zog von der Ala major und vom Proc. pterygoideus des Os sphenoidale zur Incisura mandibulae und zur mesenchymalen Verdichtung des Discus articularis.

Der M. pterygoideus med. verlief medial des Meckelknorpel. Im posterioren Bereich ragte er in seiner Ausdehnung über die Mandibula hinaus, sein Hinterrand endete etwa in gleicher Höhe mit dem des M. masseter. Der M. pterygoideus med. lag aber weiter medial. Er zog vom Proc. pterygoideus lat. zum Ramus mandibularis. Sein Oberrand endete inferior des M. pterygoideus lateralis.

Zur Beurteilung der Stellung der Kiefer zueinander, wurden auch die Maxilla und die Zahnanlagen der Oberkiefermolaren rekonstruiert.

Die Maxilla bestand aus einem zentralen Anteil, dieser war im anterioren Bereich etwas kompakter und stellte sich im posterioren Bereich als eher horizontal verlaufende Knochenplatte dar. Dieser Knochenplatte lagen die Oberkiefer Zahnanlagen der Molaren auf. Vom kompakteren Knochenanteil ausgehend war ein Fortsatz nach cephal erkennbar, der Proc. frontalis. Der M. masseter umgriff mit seinen zwei Bäuchen diesen Fortsatz.

Das Auge mit Bulbus und Linse war in allen histologischen Schnitten und Rekonstruktionen vorhanden und wird in Übersichtsbildern bezeichnet.

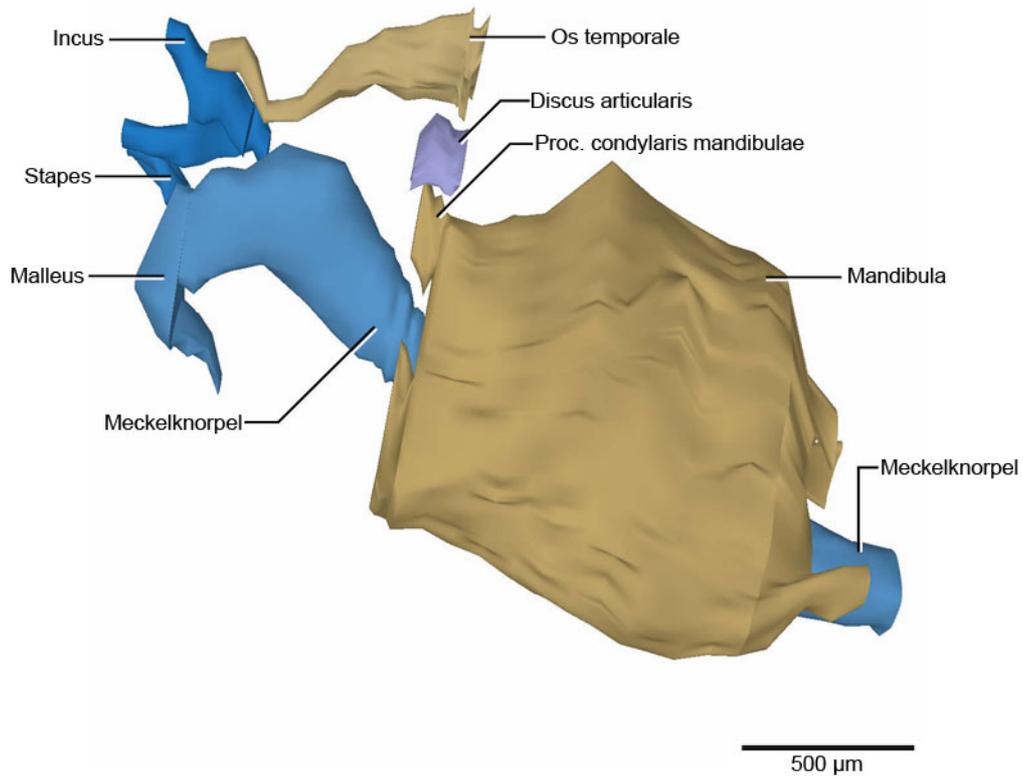


Abb. 14: E14.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion der rechten Mandibula und umgebenden Strukturen
 Ansicht von lateral

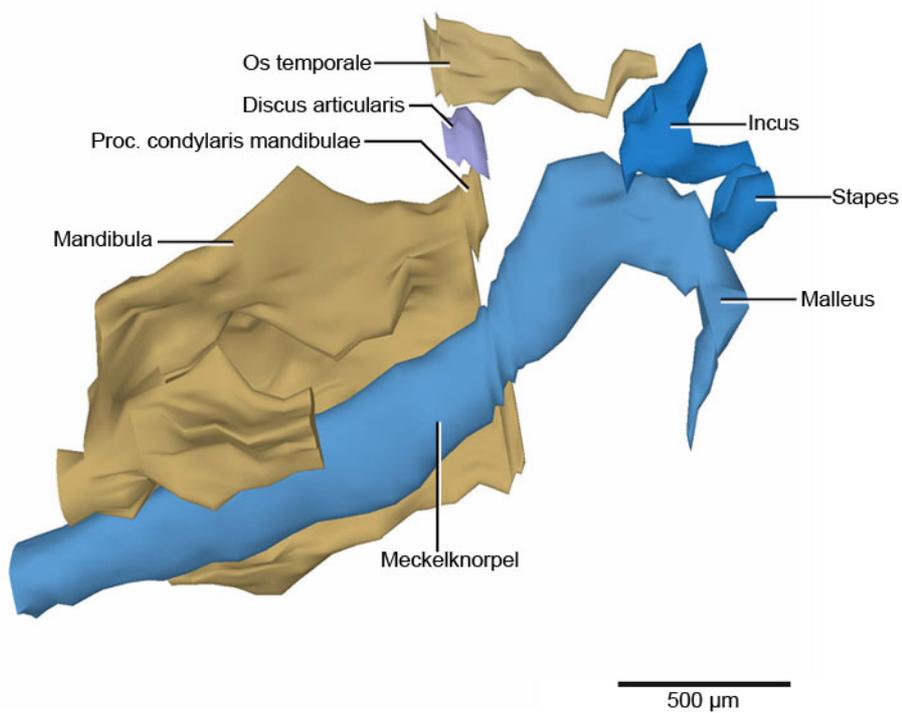


Abb. 15: E14.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von medial

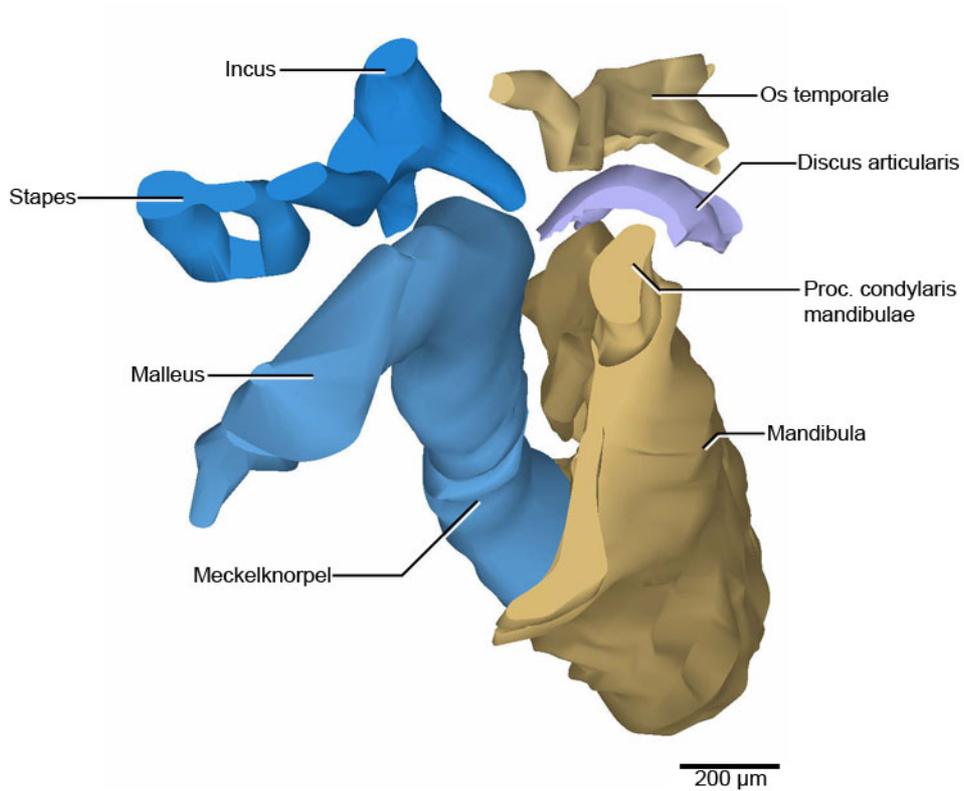


Abb. 16: E14.5, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von posterolateral

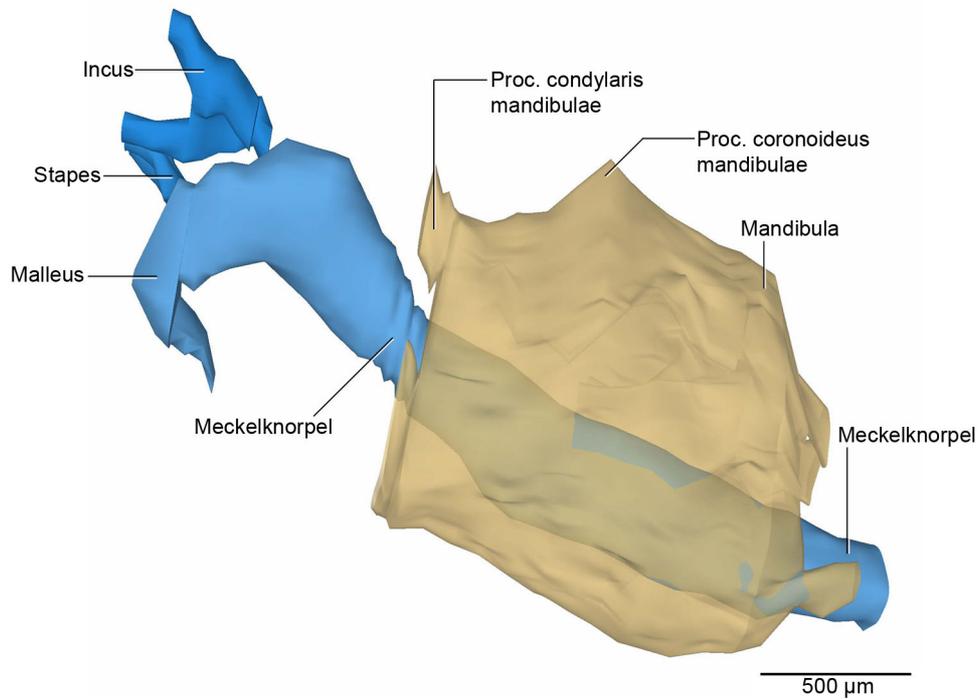


Abb. 17: E14.5, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen.

Mandibula ist transparent dargestellt.
 Ansicht von lateral

5.2.3 Ergebnisse E15

Im Stadium E15 waren Incus, Stapes und Malleus als knorpelige Anlagen erkennbar. Erstmals konnte eine kleine Ossifizierung inferior des 90 Grad Winkels beim Übergang vom Meckelknorpel zum Collum mallei erkannt werden.

Der Stapes hatte seine Lage und Form nicht verändert. Sein Volumen hatte sich leicht vergrößert, auf 0,0032mm³. Die Volumenzunahme war nicht so stark wie beim Incus.

Der Incus hatte sein Volumen im gleichen Zeitraum fast verdreifacht auf 0,0111 mm³. Die Form und Lage waren unverändert. Eine perichondrale Abgrenzung zwischen Incus und Malleus fehlte.

Der Malleus war weiterhin mit dem Meckelknorpel verbunden. Eine Abrenzung von Proc. anterior zu Meckelknorpel war daher nicht möglich. Der posteriore Fortsatz hatte sich nach inferior posterior verlängert und zeigte sich nun als Collum mallei. Am inferioren Rand, des Collum mallei zeigten sich zwei Fortsätze. Einer zeigte vom Collum ausgehend nach anterior inferior. Von seiner Lage entspricht der Fortsatz dem Manubrium mallei. Das Manubrium mallei hatte sich etwas vergrößert. Der andere Fortsatz zeigte leicht nach inferior-posterior und entspricht dem Proc. brevis. Das Volumen hatte sich mit 0,1402 mm³ etwas vergrößert.

Beim Articulatio incudomallearis war weiterhin verdichtetes Mesenchym zwischen Incus und Malleus erkennbar. Ein Gelenkspalt war nicht vorhanden.

Die kleine Ossifizierung inferior des Übergangs vom Meckelknorpel zum Collum mallei, ist in der Literatur (Anthwal et al., 2013; Shibata et al., 2019) als gonial bone bezeichnet worden und wird im Folgenden von mir als Gonialknochen oder Os goniale bezeichnet. Die Ossifizierung lag im Bereich des späteren Proc. anterior des Malleus, das Perichondrium welches Meckelknorpel und Malleus umschloss war aber in diesem Stadium intakt. Der Anulus tympanicus lag lateral des Goniale.

Der Anulus tympanicus hatte seine Form und Lage nicht verändert.

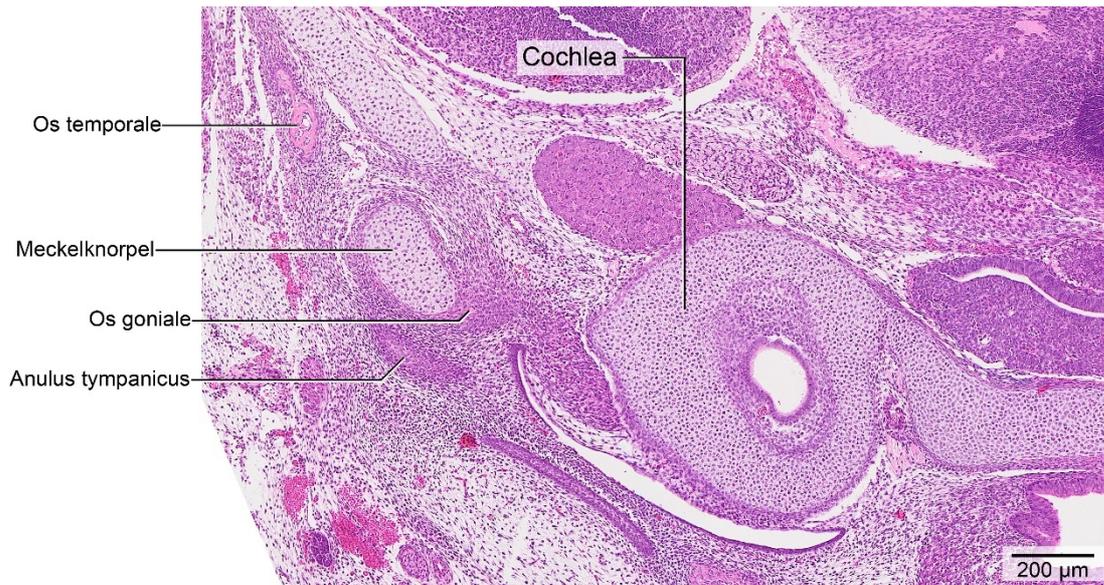


Abb. 18: E15, histologische Übersichtsdarstellung
 Frontalschnitt auf Höhe des Os goniale
 Färbung: HE

Im Bereich des Art. temporomandibularis war im Stadium E15 erstmals auch Kondylusknorpel erkennbar. Histologisch erkannte man verdichtetes Mesenchym, Chondroblasten in der Proliferationszone und hypertrophe Chondrozyten, deren nucleus noch nicht so dunkel war, was für neu gebildeten Knorpel spricht. Der Knorpel war zu einem großen Teil von Knochen umschlossen. Der Kondylusknorpel hatte von lateral betrachtet eine Form, die einer Karotte ähnelte. Die Spitze dieser Karottenform ragte nach inferior anterior in den Proc. condylaris hinein. Das superiore Ende zeigte in Richtung Fossa mandibularis. Der weiteste Abstand zwischen Kondylusknorpel und dem Knochen des Processus condylaris der Mandibula, lag bei 162 μm . Das Volumen lag bei 0,0108mm³.

Der kürzeste Abstand zwischen Kondylusknorpel und Fossa mandibularis war mit 435 μm noch relativ groß.

Die Mandibula hatte sich im Vergleich zu E14.5, stärker nach anterior ausgedehnt. Eine deutliche Aufteilung in Corpus und Ramus war entstanden.

Am Ramus war der Proc. condylaris erkennbar, er hatte sich etwas nach cephal ausgedehnt. Die Incisura mandibulae war deutlich ausgeprägter, der Proc. coronoideus war als nach cephal gerichteter dreieckiger Fortsatz erkennbar. Der zahntragende Fortsatz lag im Vergleich zu E14.5 nicht mehr anterior, sondern im mittleren Drittel. Erstmals war ein Angulusknorpel vorhanden. Der Knorpel hat eine längliche Form, die

in seiner Richtung dem Unterrand der Mandibula folgte. Er war von Knochen umschlossen.

Der Meckelknorpel wirkte im Vergleich zu E14.5 deutlich schlanker und länger. Er war weiterhin von Perichondrium umgeben. Im anterioren Bereich ragte der Meckelknorpel nicht mehr über den Mandibulaknochen hinaus. Er war in diesem Bereich von Knochen umschlossen. Im mittleren Drittel war er von Knochen umgriffen, von medial gesehen aber noch sichtbar. Er war weiterhin mit dem späteren Malleus verbunden. Die Volumenmessung ergab eine leichte Vergrößerung auf $0,1402\text{mm}^3$.

Der N. alveolaris inf. hatte seinen Verlauf, im Vergleich zu E14.5, nicht verändert.

Das verdichtete Mesenchym des Discus articularis war weiterhin vom restlichen, lockeren Bindegewebe abgrenzbar. Der Abstand von Discus Articularis zum verdichteten Mesenchym des Condylus war deutlich geringer, als der Abstand von Discus zur Fossa mandibularis.

Das Os temporale hatte seine Form nicht stark verändert. Die Fossa mandibularis war im Vergleich zu E14,5 etwas tiefer geworden. Die mediale Begrenzung war $211\mu\text{m}$ tief. Die laterale Begrenzung war $166\mu\text{m}$ tief. Die Fossa mandibularis war weiterhin rinnenförmig.

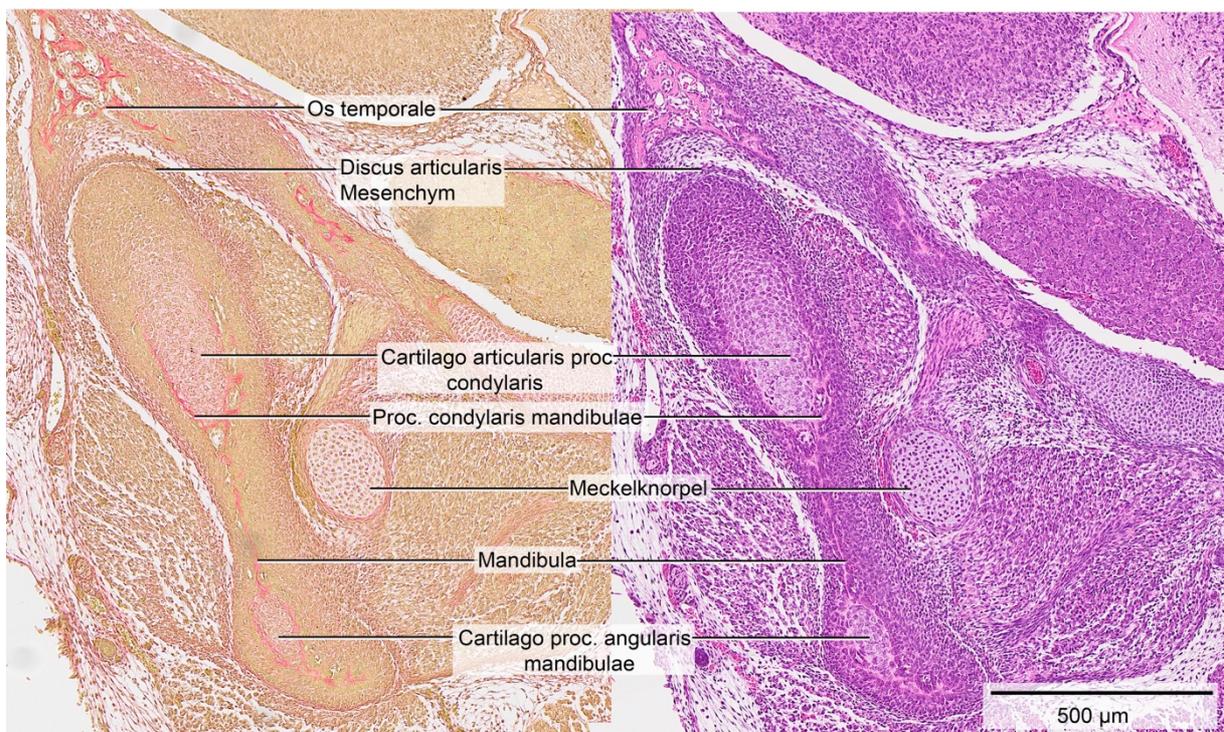


Abb. 19: E15, histologische Übersichtsdarstellungen

Zwei Frontalschnitte auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae, Abstand $16\mu\text{m}$
Linkes Bild: Trichrom nach Domagk Rechtes Bild: Färbung HE

Bei der Kaumuskulatur waren Ursprung und Ansatz etwas deutlicher zu erkennen.

Beim M. masseter war weiterhin eine Pars superficialis und eine Pars profunda zu unterscheiden. Der Ursprung der Pars superficialis waren die anterioren 2/3 des Arcus zygomaticus. Die Muskelfasern zogen in Richtung Unterrand der Mandibula und zum Proc. angularis und umgriffen den Unterrand der Mandibula, um an der medialen Seite anzusetzen. Der Ursprung der Pars profunda lag am lateralen Rand des Arcus zygomaticus posteriores 1/3 und an der kompletten medialen Seite des Arcus zygomaticus. Der Ansatz war die laterale Seite des Ramus mandibulae obere 2/3. Die grösste Masse des Muskels lag im Bereich des Kieferwinkels und des Ramus. Im anterioren Bereich umgriffen 2 Bäuche den cephalen Fortsatz der Mandibula. Der Muskel verlief im Vergleich zu E14.5 deutlich horizontaler, was dem Aufrichten des Mäuseembryos geschuldet war.

Der M. temporalis war deutlich grösser als das darunter liegende Os temporale. Er hatte sich in Form und Lage nicht stark verändert, im Vergleich zu E14.5. Der Muskel setzte lateral und inferior des Proc. coronoideus an.

Der M. pterygoideus lat. lag von lateral der Ala major des Os sphenoidale auf, das posteriore Ende lag im Bereich des Hinterrandes des Condylusknorpel. Die Muskelfasern zogen auch in Richtung des Discus articularis. Der Muskel war im Vergleich zu E14.5 vergrößert, in Lage und Form war er unverändert.

Der M. pterygoideus med. lag medial des Meckelknorpels. Seine Ausdehnung im posterioren Bereich ragte über die Mandibula hinaus bis zum Hinterrand des Angulusknorpel. Er zog vom Proc. pterygoideus des Os sphenoidale zur medialen Seite der Mandibula.

Bei der Maxilla waren beim zentralen zahntragenden Anteil die Zahnanlagen teilweise von Knochen umgriffen. Der cephale Fortsatz war breiter als bei E14.5. Die beiden nach anterior gerichteten Bäuche des M. masseter schmiegt sich von lateral und medial an den cephalen Fortsatz an.

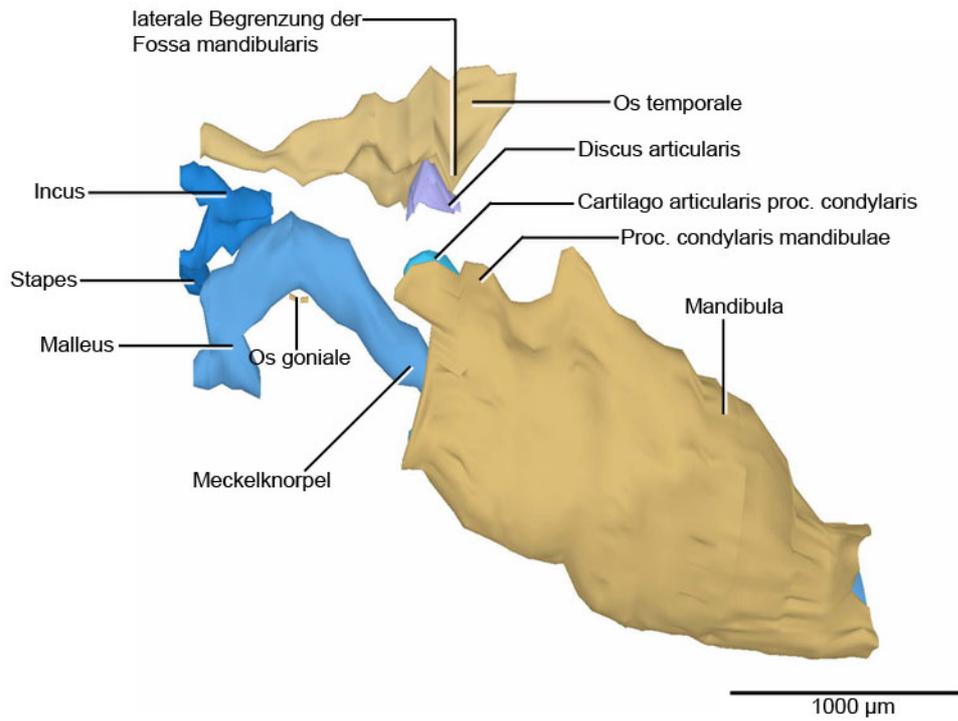


Abb. 20: E15, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion der rechten Mandibula und umgebenden Strukturen
 Ansicht von lateral

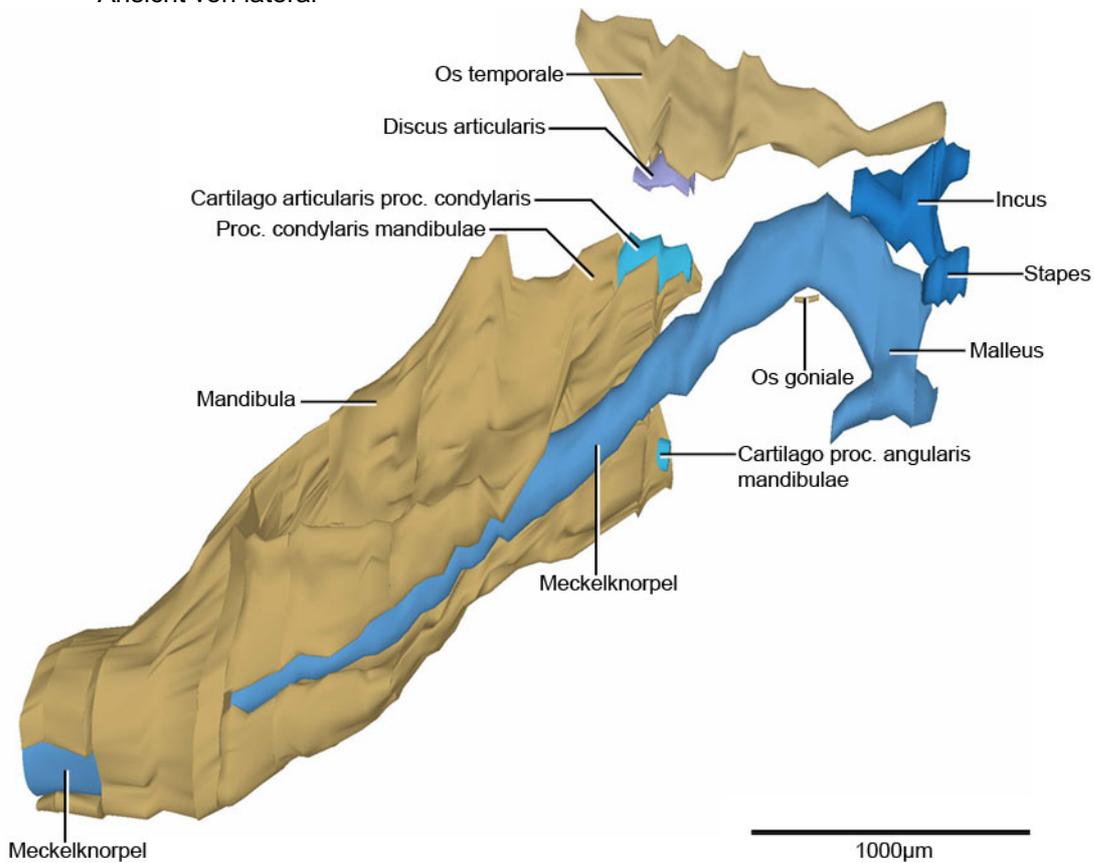


Abb. 21: E15, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von medial

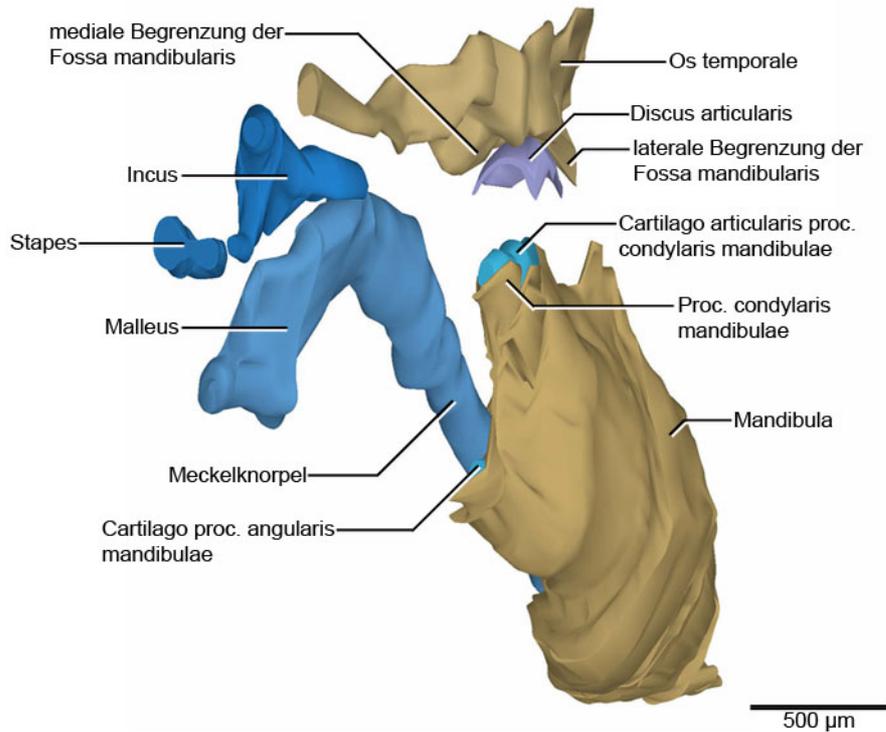


Abb. 22: E15, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von posterolateral

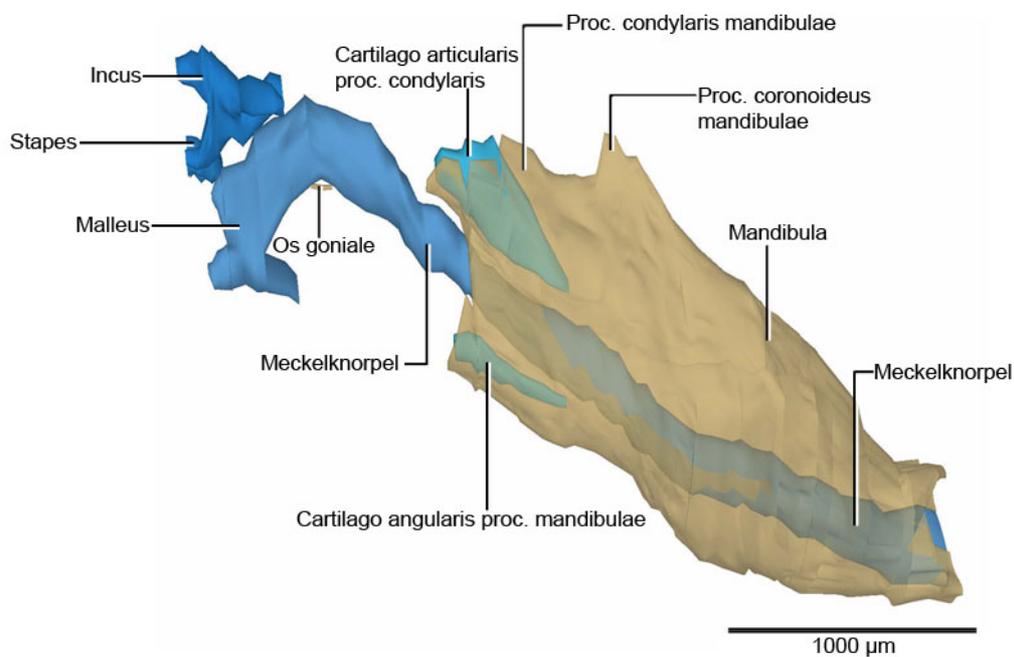


Abb. 23: E15, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen.
 Mandibula ist transparent dargestellt.
 Ansicht von lateral

5.2.4 Ergebnisse E16

Im Stadium E16 waren Stapes, Incus und Malleus weiterhin rein knorpelig angelegt.

Der Stapes hatte seiner Lage und Form kaum verändert, die Volumenzunahme war gering und lag bei $0,0054 \text{ mm}^3$.

Der Incus hatte sich im Vergleich zu E15 weder in Form noch Lage verändert. Die Volumenveränderung war gering. Das Volumen lag bei $0,0107 \text{ mm}^3$.

Der Malleus war noch nicht als eigenständiger Gehörknochen erkennbar, sondern weiterhin mit dem Meckelknorpel verbunden. Von posterior ließ sich eine leichte Konvexität nach lateral erkennen. Die Volumenmessung ergab $0,0972 \text{ mm}^3$.

Beim Articulatio Incudomallearis war weiterhin kein Gelenkspalt erkennbar. Das Perichondrium scheint Meckelknorpel, Malleus und Incus zu umgeben.

Der Gonialknochen hatte sich im Vergleich zu E15 nach anterior ausgedehnt und befand sich inferior des Meckelknorpel im Bereich des späteren Proc. anterior. Das Perichondrium von Malleus und Meckelknorpel war weiterhin intakt.

Der Anulus tympanicus hatte seine Form und Lage nicht verändert.

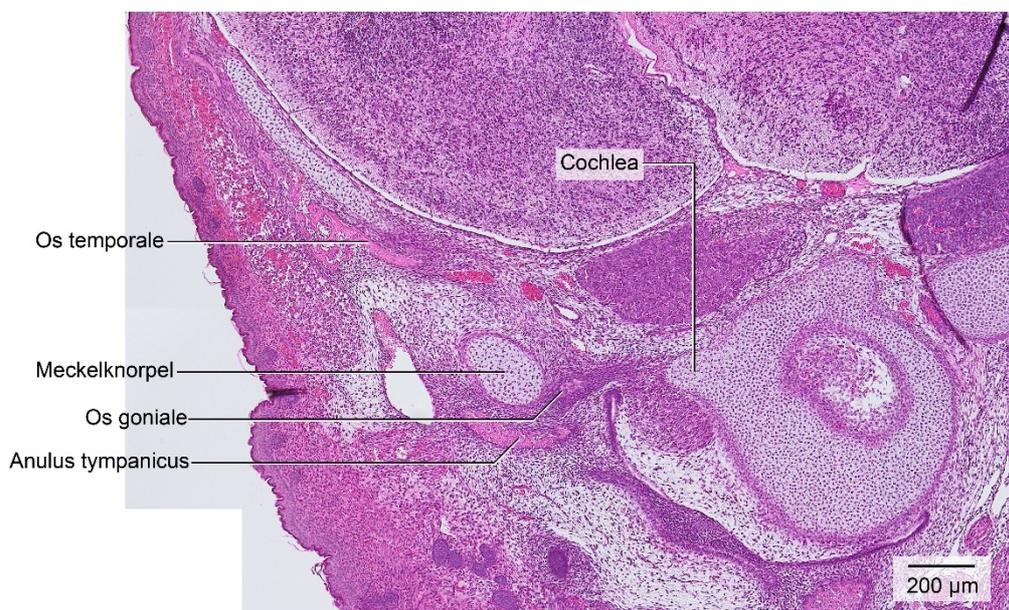


Abb. 24: E15, histologische Übersichtsdarstellung

Frontalschnitt auf Höhe des posterioren Endes des Meckelknorpel
am Übergang zum Malleus

Färbung: HE

(Os goniale ist kein Begriff aus der Nomina anatomica; wird hier in Anlehnung an „gonial bone“, welcher in der Literatur häufig verwendet wird, hier so bezeichnet).

Beim *Articulatio temporomandibularis* hatte sich der Abstand zwischen Kondylusknorpel und *Fossa mandibulare* um mehr als 200µm verringert und lag nun bei 202µm.

Der Kondylusknorpel war vorhanden, er war zu zwei Dritteln vom Knochen des *Proc. condylaris* umschlossen. Histologisch war weiterhin verdichtetes Mesenchym, Chondroblasten und hypertrophe Chondrozyten erkennbar. Im Vergleich zu E15 fehlte dem karottenförmigen Knorpel die Spitze. Der zur *Fossa* ausgerichtete, nicht von Knochen umschlossene Anteil, war größer als bei E15. Der Abstand zwischen dem Kondylusknorpel und dem Knochen des *Proc. condylaris* lag bei 230µm. Obwohl die Spitze des Knorpels fehlte, hatte sich das Volumen etwas vergrößert auf 0,0370mm³.

Der *Proc. condylaris* hatte sich weiter nach cephal ausgedehnt, der knorpelige Anteil war sichtbar. Die *Incisura mandibulae* war deutlich ausgeprägter. Der *Proc. coronoideus* war als schmaler, schräg nach posterior cephal verlaufender Fortsatz erkennbar. Der zahntragende Fortsatz, war im Vergleich zu E15 etwas vergrößert.

Die Aufteilung in *Ramus* und *Corpus* war klar erkennbar. Der *Angulusknorpel* war vorhanden, Lage und Form hatten sich im Vergleich zu E15 nicht verändert. Er war zu zwei Dritteln von Knochen umschlossen.

Der *Meckelknorpel* war im Vergleich zu E15 jetzt zweiteilig und hatte seinen Durchmesser etwas verringert, er war etwas schmaler. Die Kontinuitätsunterbrechung war im anterioren Drittel erkennbar. Das Volumen des anterioren Anteils des *Meckelknorpel*, lag bei 0,0071mm³. Der anteriore Anteil war vom Knochen der *Mandibula* umschlossen. Der posteriore Anteil lässt sich in eine anteriore Hälfte und eine posteriore Hälfte unterteilen. In der anteriore Hälfte, welche inferior des zahntragenden Fortsatzes beginnt, war der *Meckelknorpel* c-förmig von Knochen umgriffen, aber inferior- medial noch sichtbar. Die posteriore Hälfte, welche etwa am Hinterrand der *Mandibula* beginnt, geht weiterhin ohne Unterbrechung in den *Malleus* über. Die Volumenmessung des posterioren Anteils ergab 0,0972mm³.

Der Verlauf des *N. alveolaris inf.* hatte sich nicht verändert.

Der *Discus articularis* lag eher über dem anterioren Anteil des Kondylusknorpels und folgte dessen Kontur. Das Mesenchym des *Discus articularis* war vom verdichteten Mesenchym des *Proc. condylaris* deutlicher abzugrenzen als vom Bindegewebe zur *Fossa mandibularis*. Ein Gelenkspalt fehlte.

Das Os temporale hatte seine Form und Lage nicht stark verändert. Die Fossa mandibularis war tiefer geworden und hatte sich in anterior-posteriorer Richtung ausgedehnt. Die mediale Begrenzung der Fossa war von lateral betrachtet etwas breiter. Die laterale und mediale Begrenzung der Fossa lagen etwas versetzt zueinander wobei die laterale Begrenzung von lateral gesehen etwas weiter anterior lag. Die mediale Begrenzung war 378 µm tief. Die laterale Begrenzung war 269 µm tief.

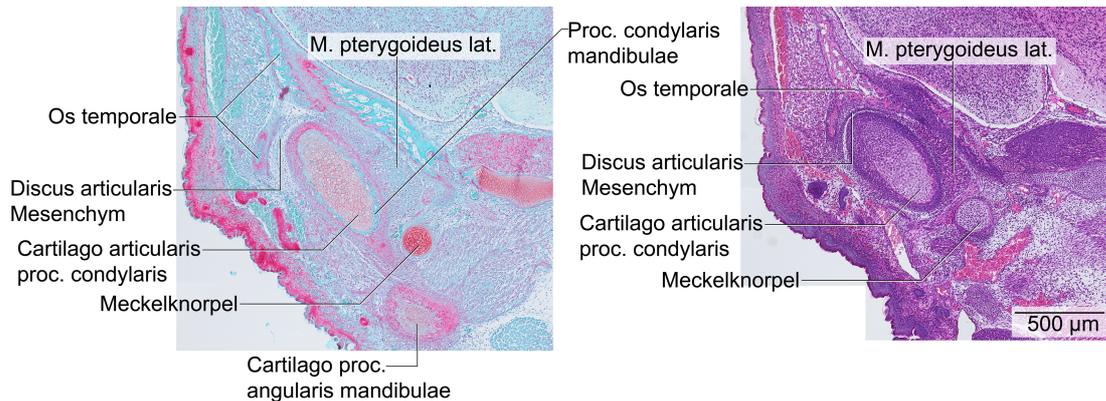


Abb. 25: E16, histologische Übersichtsdarstellungen

Zwei Frontalschnitte auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae im Abstand 152 µm
 Linkes Bild: Safranin O
 Rechtes Bild: HE

Die Kaumuskulatur hatte sich nicht stark verändert.

Die Anteile des M. masseter hatten, im Vergleich zu E15, weder ihre Form noch ihre Lage verändert.

Der M. temporalis war weiterhin deutlich größer, als das darunter liegende Os temporale. Seine Form und Lage waren nicht stark verändert. Der Muskel setzte, wie bei E15, inferior des Proc. coronoideus an.

Lage und Form des M. pterygoideus lat. waren im Vergleich zu E15 nicht verändert.

Der M. pterygoideus med. hatte sich in Lage und Form nicht stark verändert.

Die Maxilla war in Form und Lage nicht stark verändert. Der Proc. frontalis war etwas breiter als bei E15. Die Verknöcherung um die Zahnanlagen war etwas größer.

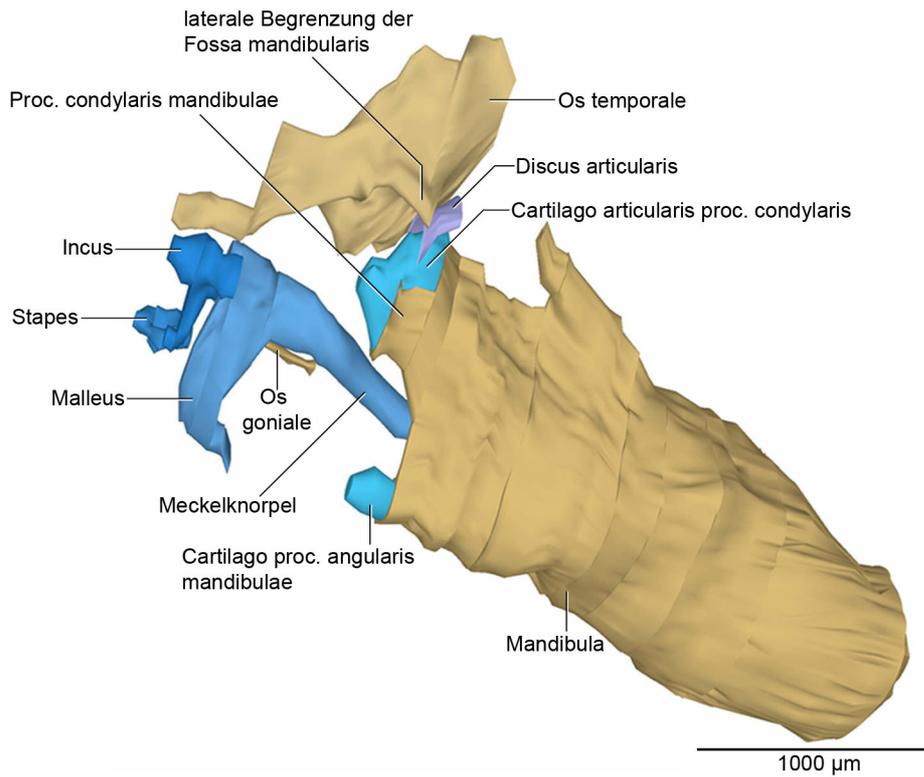


Abb. 26: E16, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion der rechten Mandibula und umgebenden Strukturen
 Ansicht von lateral

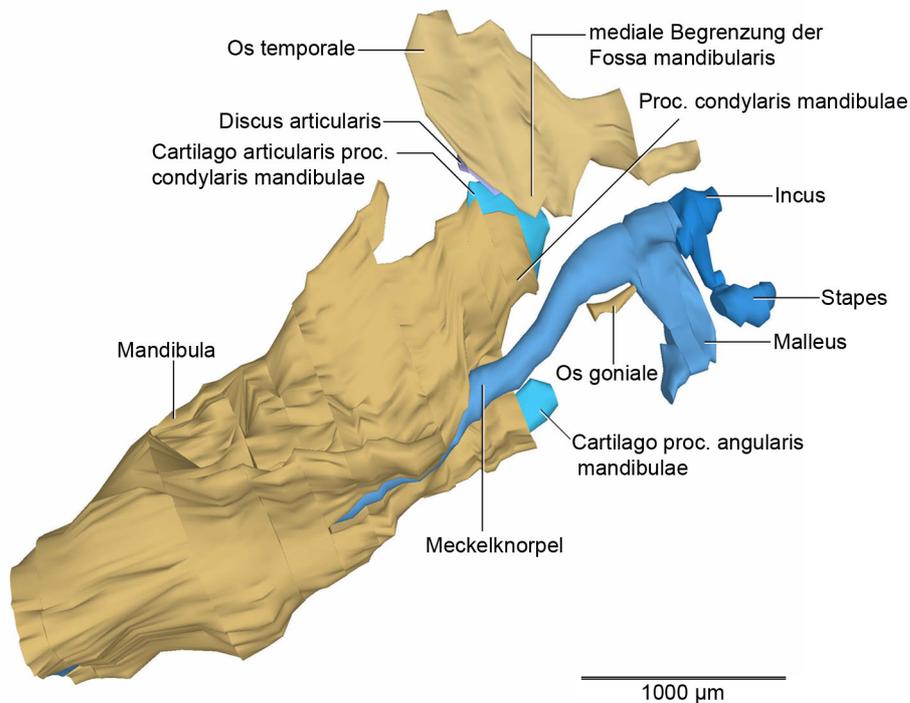


Abb. 27: E16, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von medial

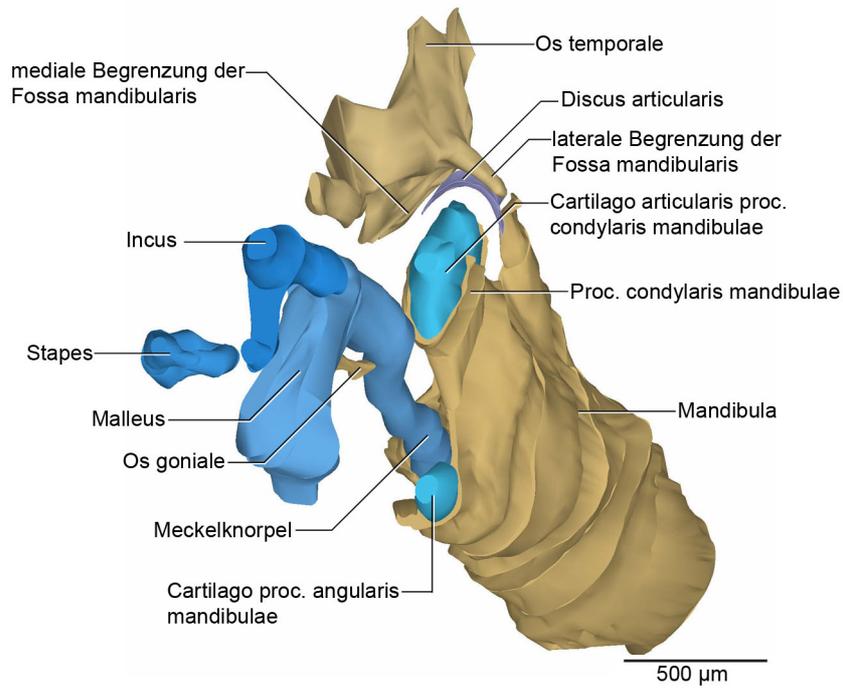


Abb. 28: E16, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von posterolateral

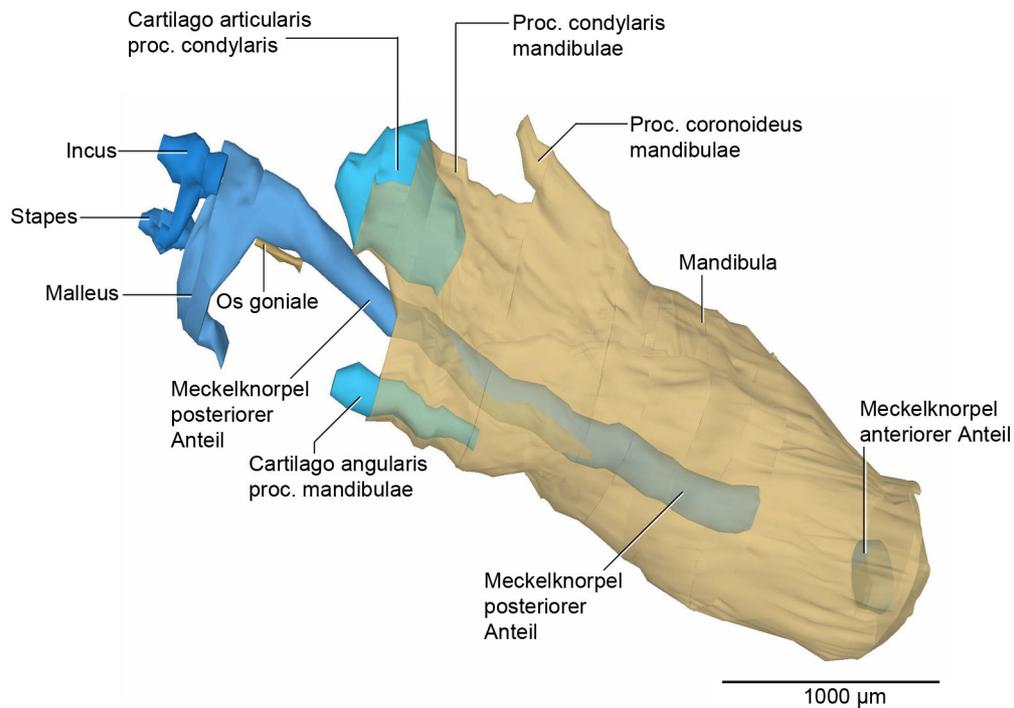


Abb. 29: E15, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen.
 Mandibula ist transparent dargestellt.
 Ansicht von lateral

5.2.5 Ergebnisse E18

Im Stadium E18 waren Stapes, Incus und Malleus weiterhin als hyaline Knorpelstrukturen erkennbar.

Beim Stapes waren weiterhin crus anterior, crus posterior und basis stapedis erkennbar. Auch die Lage änderte sich nicht. Die Volumenveränderung war gering. Das Volumen lag bei $0,0039 \text{ mm}^3$.

Im Vergleich zu E16 lag der Incus weiter cephal, er lag superior des Malleus. Crus longum, crus breve und corpus incudis waren erkennbar. Die Form hatte sich nicht verändert. Sein Volumen lag bei $0,0092 \text{ mm}^3$.

Im Vergleich zu E16 war von lateral betrachtet, eine Verringerung der superioren-inferioren Ausdehnung im Bereich des Collum mallei erkennbar. Das Volumen lag bei $0,1041 \text{ mm}^3$.

Bei der Articulatio incudomallearis lag weiterhin verdichtetes Mesenchym zwischen Incus und späterem Malleus. Das Perichondrium umgab beide Knorpelanlagen. Eine Gelenkknorpelschicht oder ein Gelenkspalt waren nicht ersichtlich.

Der Gonialknochen war weiterhin als kleine, längliche Verknöcherung im Bereich des Winkels zwischen Collum mallei und späterem Proc. anterior erkennbar.

Der Anulus tympanicus hatte seine Form und Lage nicht verändert.

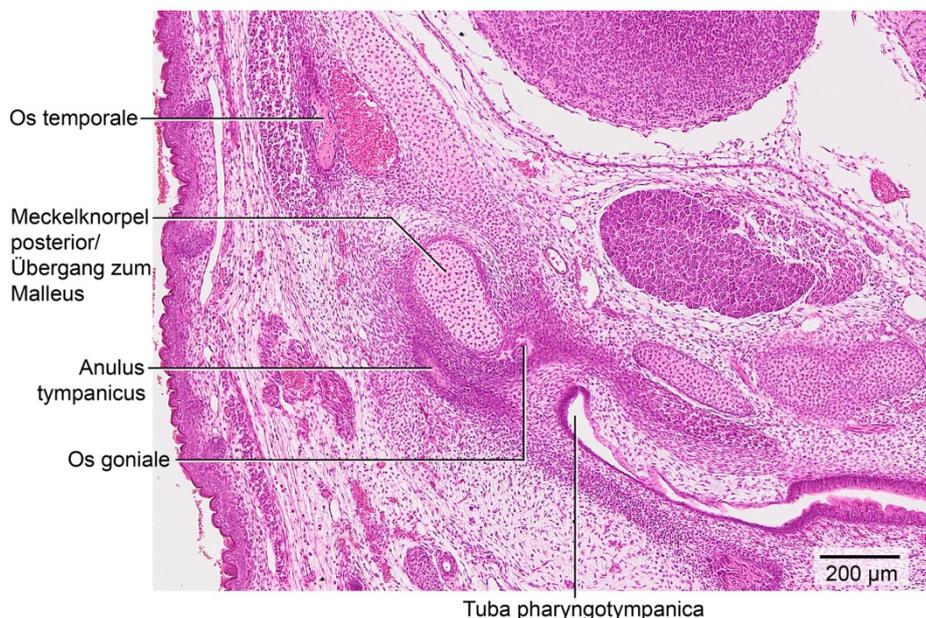


Abb. 30: E18, histologische Übersichtsdarstellung
Frontalschnitt auf Höhe des Os goniale
Färbung: HE

Beim *Articulatio temporomandibularis* hatte sich der Abstand zwischen *Fossa mandibularis* und *Kondylusknorpel* kaum verändert. Er lag bei 216µm.

Beim *Kondylusknorpel* ragte im posterioren Bereich mehr Knorpel aus dem Knochen hervor. Der Abstand zwischen *Kondylusknorpel* und *Kondylusknochen* hatte sich kaum verändert und lag bei 224µm. Man konnte weiterhin beobachten, wie sich der Knorpel im anterioren inferioren Bereich verkürzte. Eine Spitze wie sie noch bei E15 vorhanden war, war nicht mehr ersichtlich. Sein Volumen war leicht vergrößert und lag bei 0,0462 mm³. Histologisch zeigte der *Kondylusknorpel* weiterhin die 3 Zonen aus Mesenchym, *Chondroblasten* und hypertrophen *Chondrozyten*.

Die Form des *Proc. condylaris* und *Proc. coronoideus* hatte sich kaum verändert. Das *corpus mandibulae* hatte sich etwas nach anterior ausgedehnt. Der *Proc. angularis* hatte sich in Lage und Form nicht verändert. Die Ossifikation um den Knorpel herum hatte zugenommen.

Der *Meckelknorpel* änderte seine Form und Lage kaum. Der anteriore Anteil war von Knochen umschlossen, sein Volumen lag bei 0,0241 mm³. Der posteriore Anteil ging weiterhin ohne Unterbrechung in den *Malleus* über. Das Volumen lag bei 0,01041 mm³.

Der Verlauf des *N. alveolaris inf.* hatte sich nicht verändert.

Der *Discus articulare* war vergrößert, er überspannte den *Kondylusknorpel* komplett. Die Form war relativ unverändert. Der Abstand zwischen *Discus* und *Proc condylaris* war deutlich geringer als der Abstand zwischen *Fossa* und *Discus*. Die Anlage des *Discus articularis* war deutlich vom *Proc condylaris* und von der *Fossa mandibularis* abgrenzbar.

Ein unterer Gelenkspalt war nicht erkennbar, die Gelenkhöhle konnte jedoch erkannt werden, der Raum war gefüllt mit lockerem Mesenchym.

Ein oberer Gelenkspalt war noch nicht durchgehend vorhanden. Im lockeren Mesenchym zeigten sich einzelne bindegewebsfreie Kompartimente, die restliche Gelenkhöhle zeigte noch lockeres Mesenchym.

Die Lage und die Form des *Os temporale* hatte sich im Vergleich zu E16 nicht verändert. Die *Fossa mandibularis* zeigte sich in Form, Lage und Größe relativ unverändert. Man erkannte sie als rinnenförmige Einbuchtung. Ihre mediale Begrenzung war 300µm hoch, die laterale Begrenzung war 232 µm hoch.

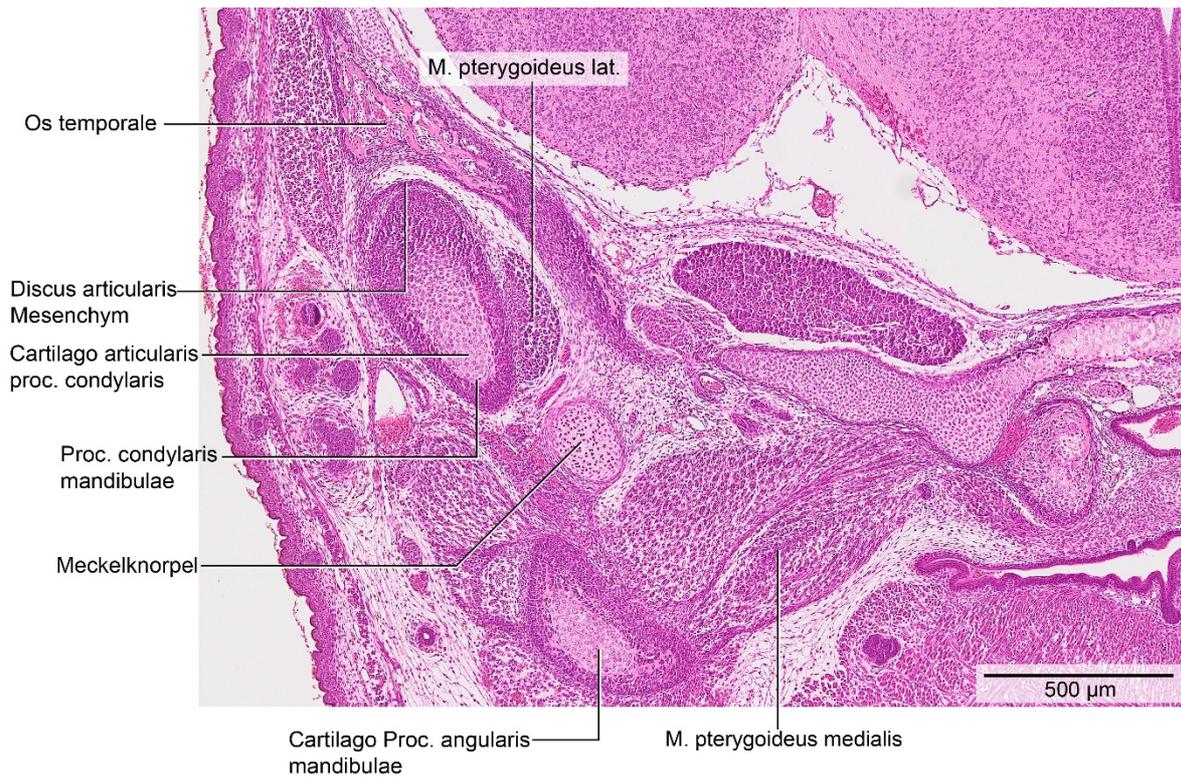


Abb. 31: E18, histologische Übersichtsdarstellung
 Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae
 Färbung: HE

Bei der Kaumuskulatur gab es eine Zunahme an Muskelfasern, das Volumen war vergrößert. Form und Lage blieben unverändert. Ansatz und Ursprung der Kaumuskulatur war unverändert.

Die Maxilla hatte sich, im Vergleich zu E16 weder in Form noch Größe verändert.

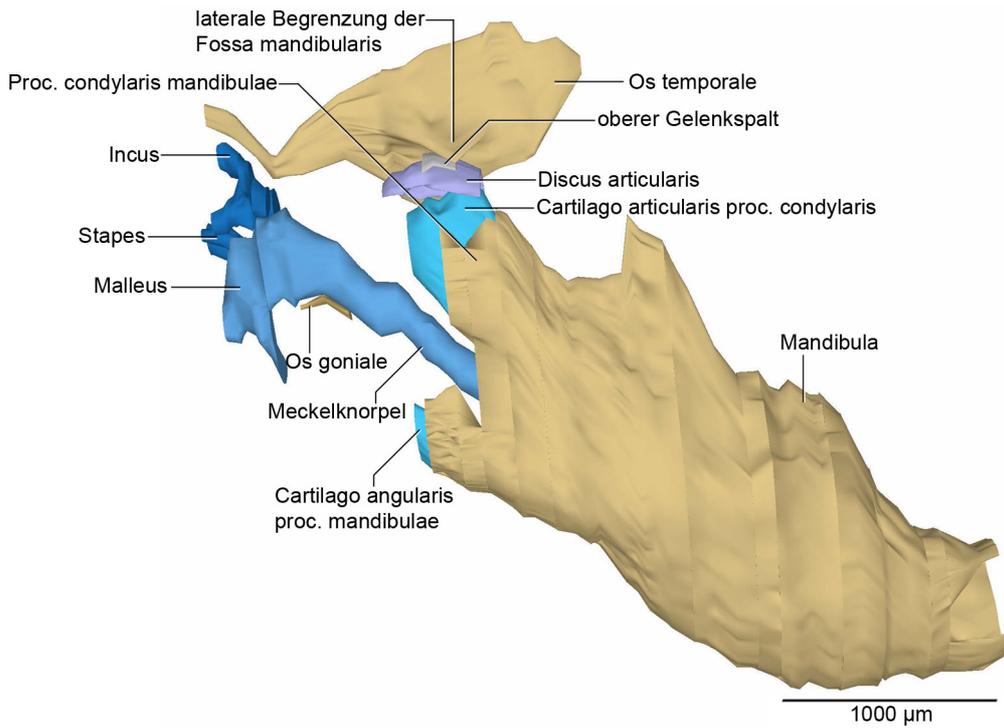


Abb. 32: E18, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion der rechten Mandibula und umgebenden Strukturen
 Ansicht von lateral

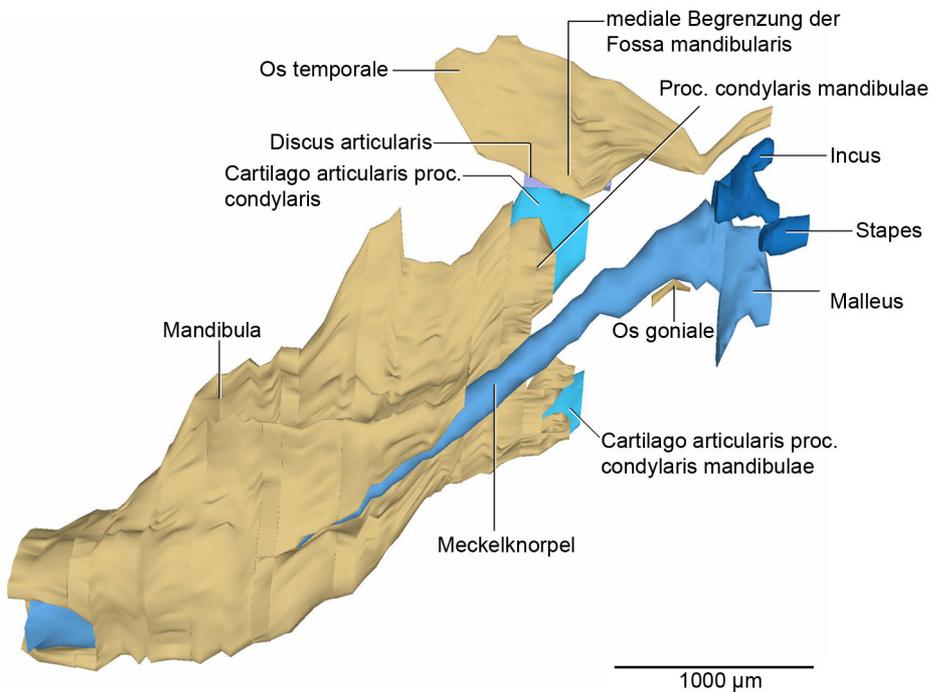


Abb. 33: E18, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von medial

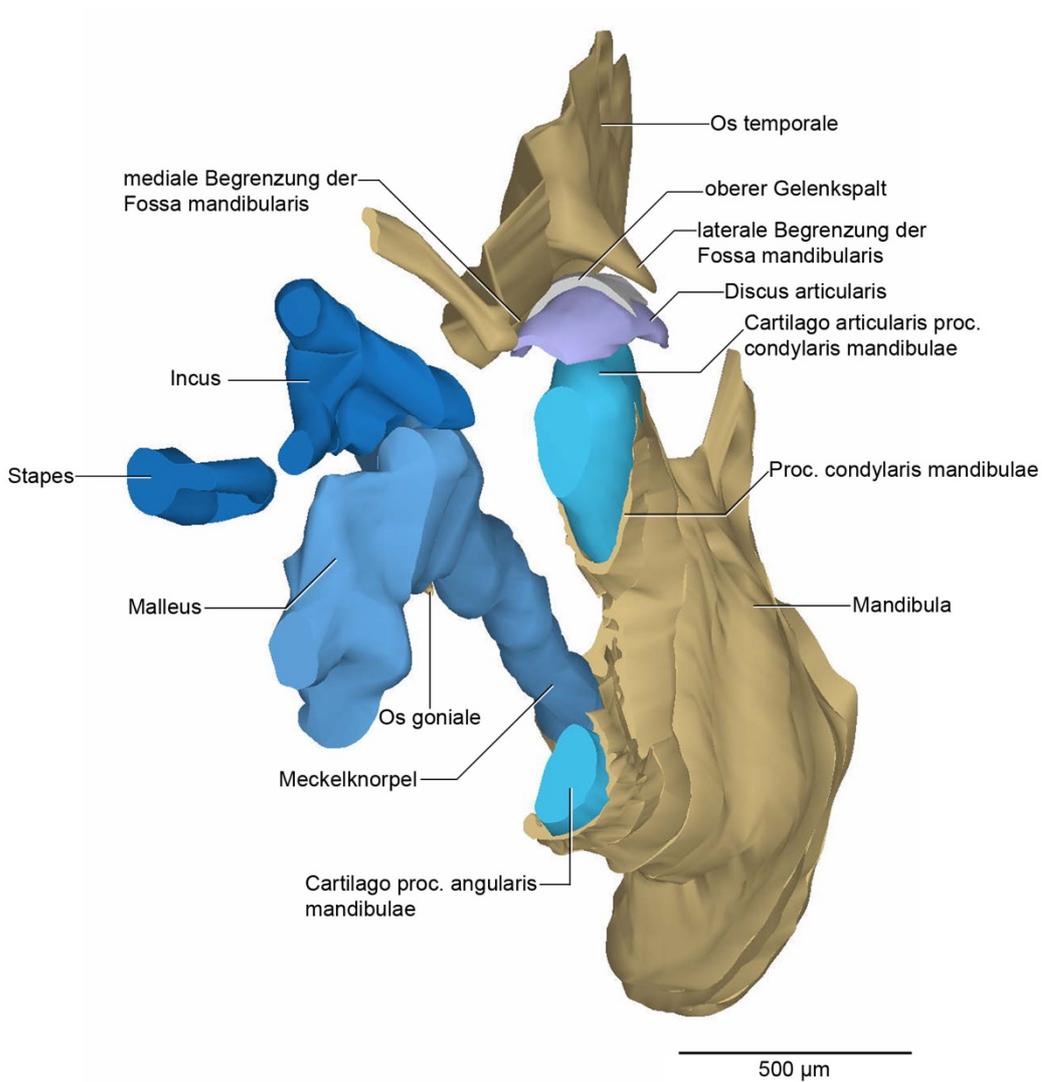


Abb. 34: E18, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von posterolateral

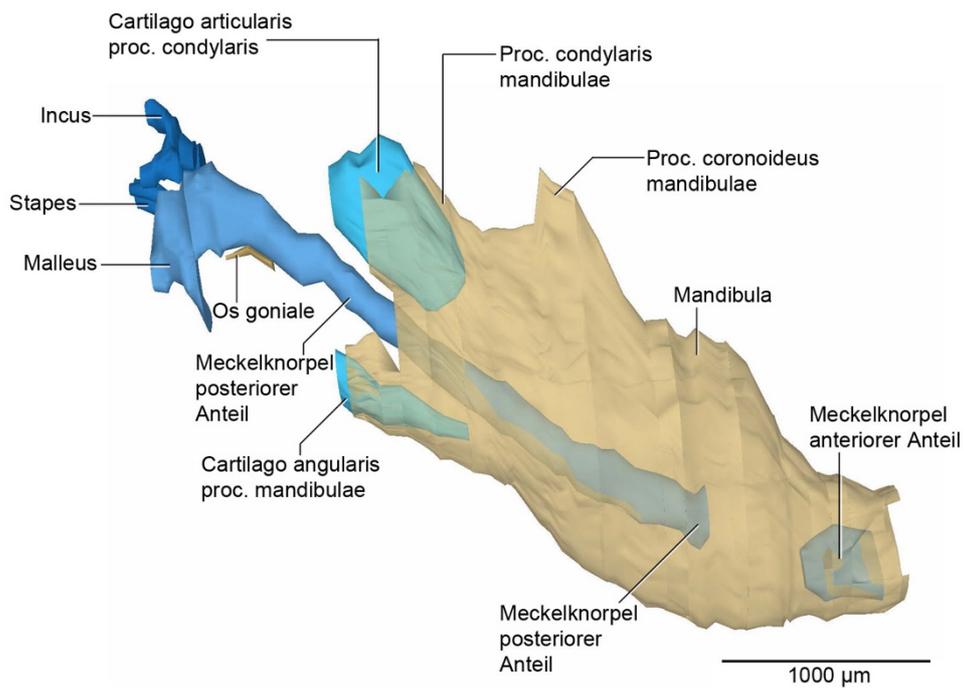


Abb. 35: E18, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen.
 Mandibula ist transparent dargestellt.
 Ansicht von lateral

5.2.6 Ergebnisse E20

Im Stadium E20 waren die drei Gehörknöchelchen weiterhin als hyaline Knorpelstrukturen erkennbar.

Der Stapes war in Form und Lage unverändert. Sein Volumen hatte sich vergrößert und lag bei $0,0070 \text{ mm}^3$.

Der Incus behielt seine Form und Lage bei. Sein Volumen lag bei $0,0185 \text{ mm}^3$.

Die Lage des Malleus war weitgehend unverändert. Von lateral betrachtet war das collum mallei in superior-inferiorer Richtung verlängert und zusätzlich C-förmig gekrümmt. Sein Volumen lag bei $0,0819 \text{ mm}^3$.

Beim Articulatio Incudomallearis lag weiterhin verdichtetes Mesenchym zwischen Incus und späterem Malleus.

Der Gonialknochen hatte sich von lateral betrachtet in anterior-posteriorer Richtung ausgedehnt. Er lag weiterhin im Winkel zwischen Collum mallei und späterem Proc. anterior und umgriff die Unterseite des Meckelknorpel Half-pipe artig.

Der Anulus tympanicus hatte seine Form und Lage nicht verändert.

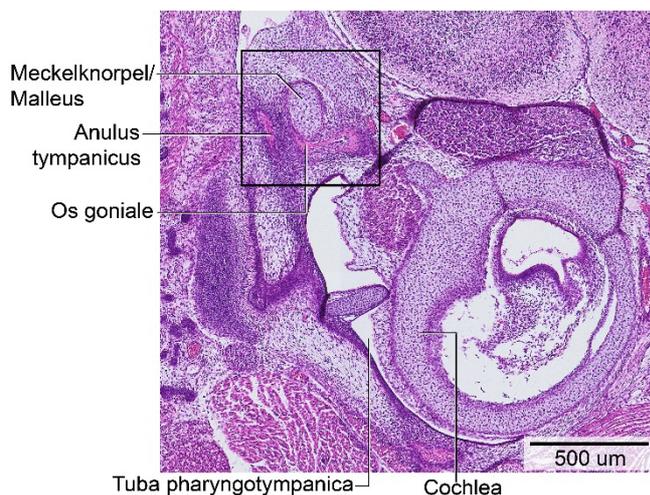


Abb. 36: E20

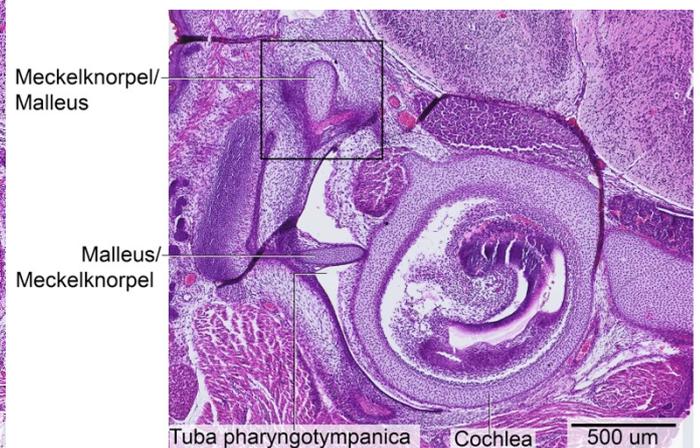


Abb. 37: E20

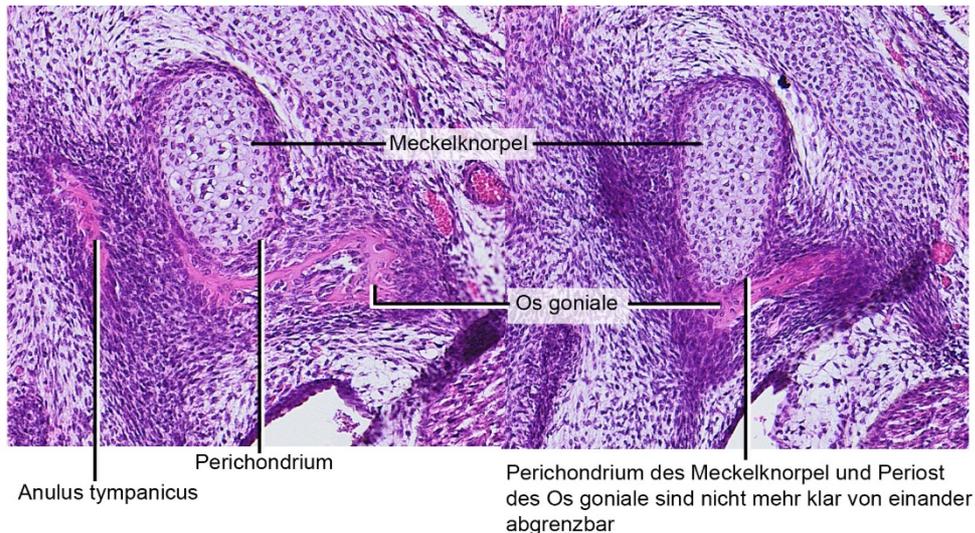


Abb. 38: E20, Ausschnitte aus den Abb. 36 und 37.

Abb. 36 und Abb. 37: E20, histologische Übersichtsdarstellungen

Frontalschnitte auf Höhe des Os goniale (Abstand 40 µm)

Färbung: HE

Beim Articulatio temporomandibularis hatte sich der Abstand zwischen Kondylusknorpel und Fossa noch etwas verringert und lag nun bei 133 µm. Beim Kondylusknorpel war der vorher karottenförmige Knorpel anterior inferior abgerundet. Die Spitze war nun durch Knochen ersetzt. Nach posterior fand eine geringe Größenzunahme statt, das Volumen war vergrößert und lag bei 0,0705 mm³. Die Mesenchymschicht war jetzt zu einem großen Teil, durch Knochen von den Chondroblasten und hypertrophen Chondrozyten abgegrenzt. Der Abstand zwischen Kondylusknorpel und Kondylusknochen war kaum verändert und lag bei 206 µm.

Der Proc. condylaris zeigte mehr Knochen posterior. Der Proc. coronoideus zeigte an der Basis eine Einziehung, sodass der gesamte Processus schmäler wirkte als bei E18.

Das corpus mandibulae blieb weitestgehend unverändert. Im Bereich des Proc. angularis war ein Fortschreiten der Verknöcherung erkennbar. Der Angulusknorpel war anterior reduziert und durch Knochen ersetzt.

Der posteriore Anteil des Meckelknorpel war in anterior-posteriorer Richtung verkürzt, wenn man ihn von lateral betrachtete. Der anteriore Anteil im Bereich der Incisivi hatte ein Volumen von 0,0126 mm³. Das Volumen des posterioren Anteils lag bei 0,0819 mm³.

Der Verlauf des N. alveolaris inf. hatte sich nicht verändert.

Von lateral betrachtet überspannte der Discus articularis den Kondylusknorpel komplett. Im Vergleich zu E18 war im posterioren Bereich eine Annäherung zwischen

Kondylusknorpel und Discus erkennbar. Die Form war relativ unverändert. Der Discus lag von frontal betrachtet etwas weiter lateral, im medialen Bereich war der Kondylusknorpel nicht vom Discus überdeckt.

Im Vergleich zu E18 waren nun auch im Bereich der unteren Gelenkhöhle einzelne bindegewebsfreie Kompartimente erkennbar. Diese waren deutlich kleiner als beim obere Gelenkspalt. Es waren noch viele Bereiche mit mesenchymalem Gewebe zwischen Discus und Proc. condylaris vorhanden.

Der obere Gelenkspalt war durchgehend erkennbar. Er war deutlich größer, er war an der kompletten Oberseite des Discus articularis erkennbar.

Beim Os temporale war die Lage im Vergleich zu E18 unverändert. Wie bei E18 erkannte man die rinnenförmige Einbuchtung der Fossa mandibularis in der Pars squamosa. Die mediale Begrenzung war im Vergleich zu E18 vergrößert. Die mediale Begrenzung war mehr als doppelt so hoch mit 652 μm . Die laterale Begrenzung war 300 μm hoch.

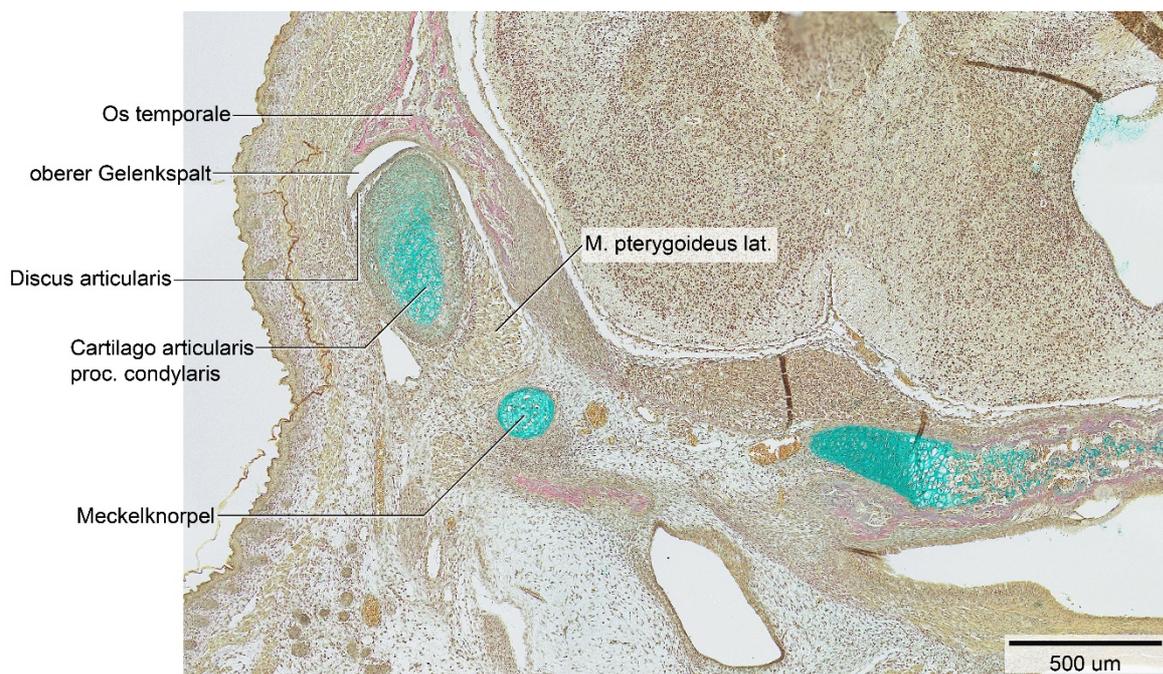


Abb. 39: E20, histologische Übersichtsdarstellung
Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae
Färbung: Alcianblau mit Van Gieson

Die Kaumuskulatur war weitestgehend unverändert.

Die Maxilla behält ihre Form und Lage bei.

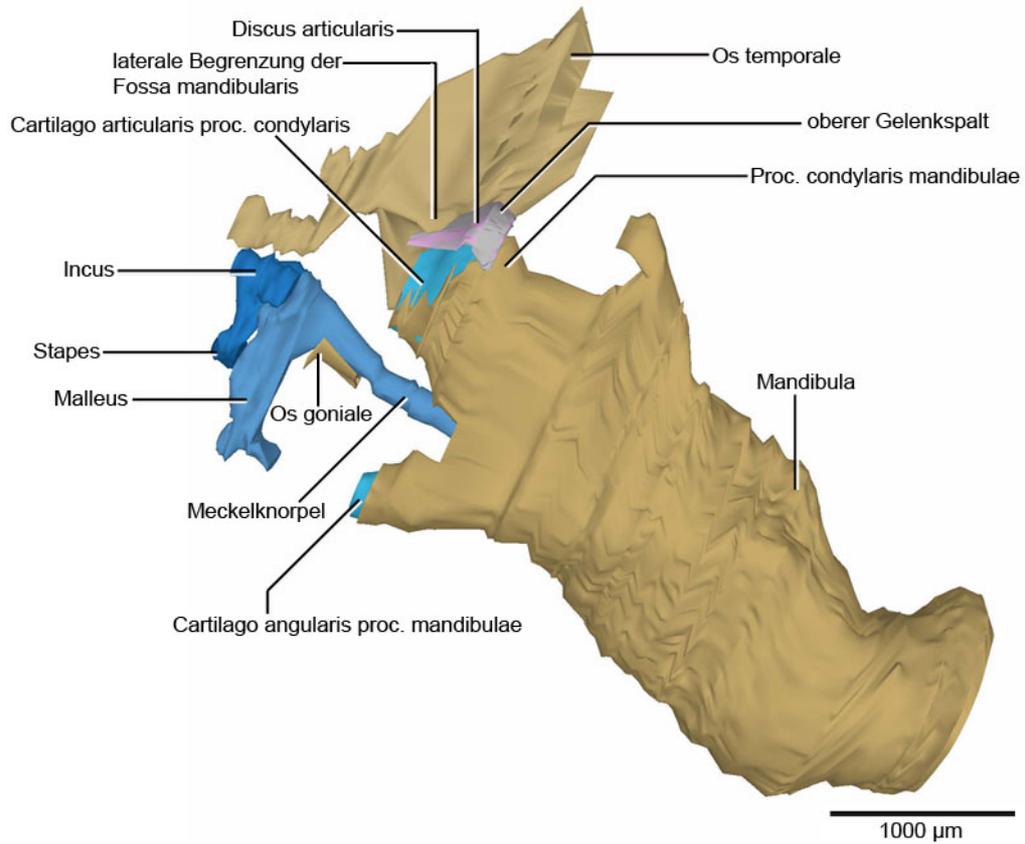


Abb. 40: E20, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion der rechten Mandibula und umgebenden Strukturen
 Ansicht von lateral

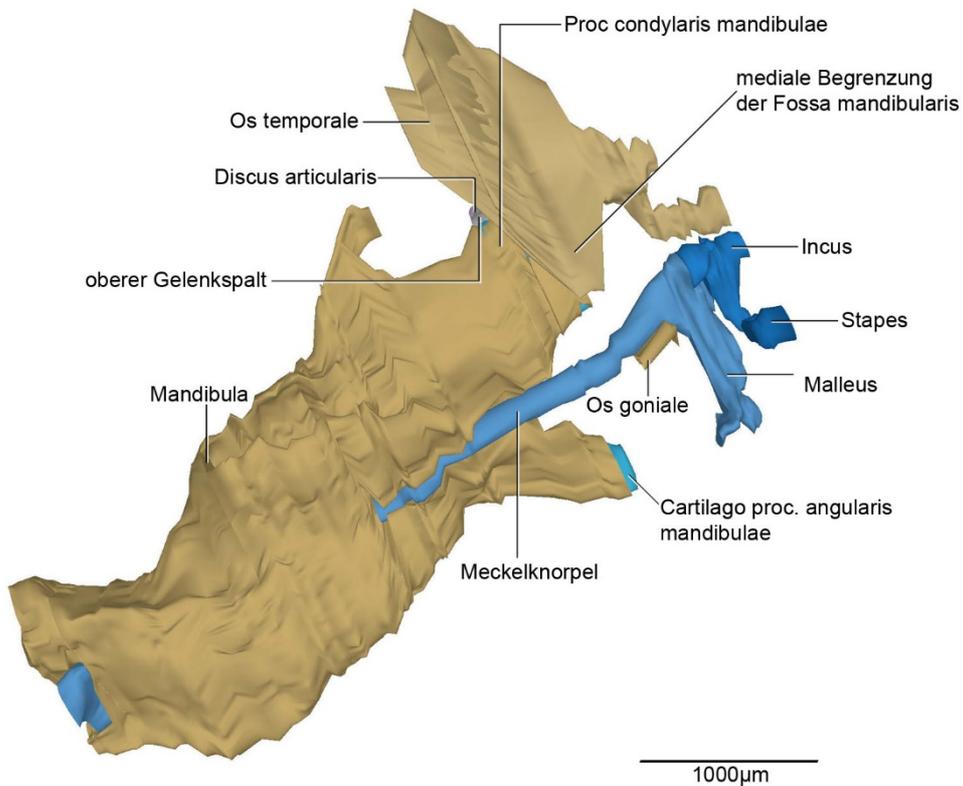


Abb. 41: E20, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von medial

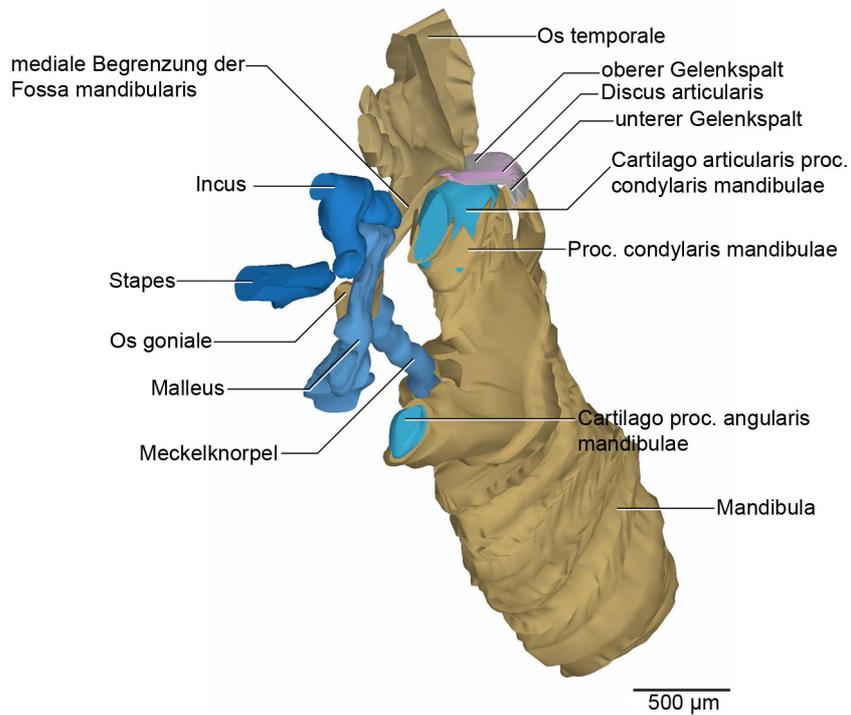


Abb. 42: E20, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von posterolateral

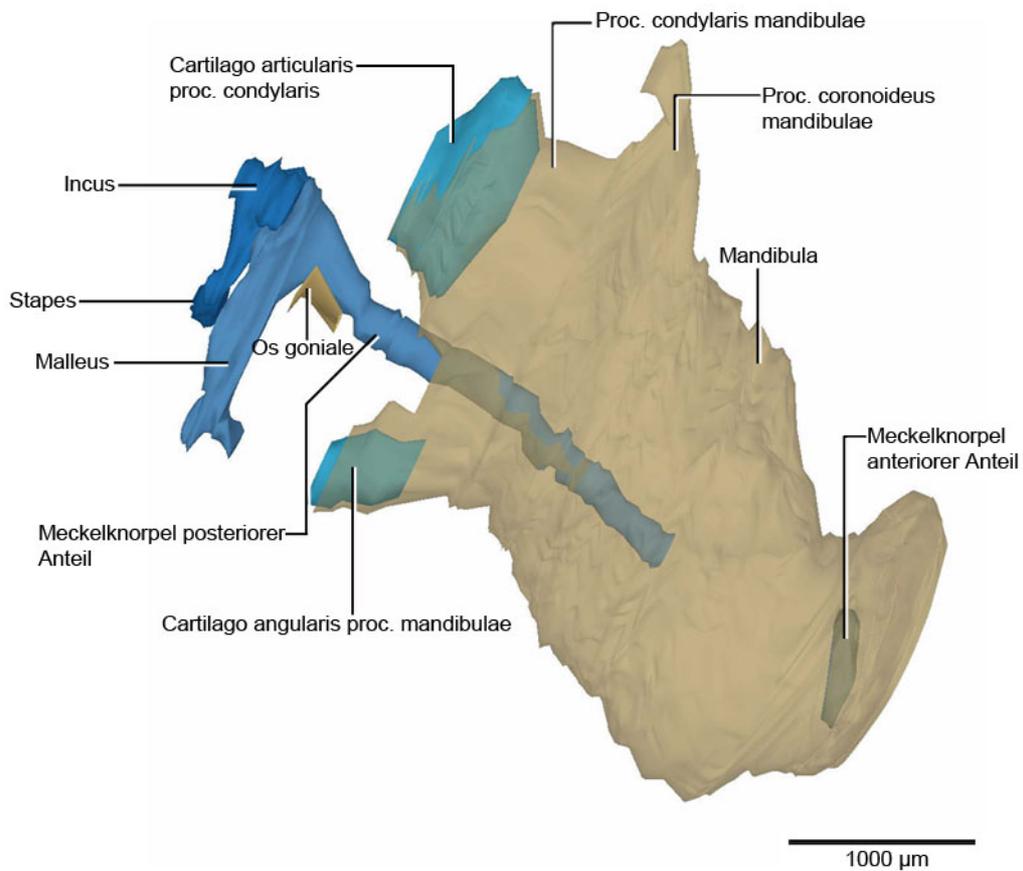


Abb. 43: E20, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen.
 Mandibula ist transparent dargestellt.
 Ansicht von lateral

5.2.7 Ergebnisse P0

Im Stadium P0 war erstmals ein Ossifikationzentrum am Malleus erkennbar. Malleus und Mandibula waren auch zum Zeitpunkt der Geburt über den Meckelknorpel mit einander verbunden. Die Ossifikation des Malleus ging in die Ossifizierung des Gonialknochen über.

Der Stapes veränderte seine Form und Lage nicht, er blieb rein knorpelig. Sein Volumen lag bei $0,0072 \text{ mm}^3$

Auch der Incus blieb rein knorpelig. Das Crus breve war in diesem Stadium kaum ausgeprägt und das Crus longum ragte eher nach inferior als nach posterior wodurch sich nicht die Form des liegenden V abzeichnete. Das Volumen lag bei $0,0208 \text{ mm}^3$. Der Malleus war auch zum Zeitpunkt der Geburt noch mit dem Meckelknorpel verbunden. Die Ossifizierung begann am Collum mallei, in dem 90 grad Winkel, indem der spätere Proc. anterior beginnt. Das Perichondrium war an dieser Stelle nicht mehr erkennbar. Eine exakte Abgrenzung zwischen Gonialknochen und Ossifikation des Malleus war nicht mehr möglich. Auch waren vereinzelte Stellen der Mineralisierung der Chondrozytenmatrix erkennbar. (Histo 506) Die Lage des Malleus blieb unverändert. Das Volumen des Malleus umfasst jetzt auch den Gonialknochen, da dieser nicht mehr vom Ossifikationszentrum des Malleus abgrenzbar ist. Das Volumen lag bei $0,1002 \text{ mm}^3$.

Beim Articulatio Incudomallearis wurde das verdichtete Mesenchym zwischen Malleus und Incus etwas lockerer. Die articulierenden Anteile waren weiterhin rein chondral.

Der Gonialknochen hatte sich in seiner Lage und Form nicht verändert. Er umgriff weiterhin die Unterseite des Meckelknorpel half-pipe artig. Jedoch ging der Gonialknochen an einer Stelle in die beginnende Ossifizierung des Malleus über.

Der Anulus tympanicus hatte seine Form und Lage nicht verändert.

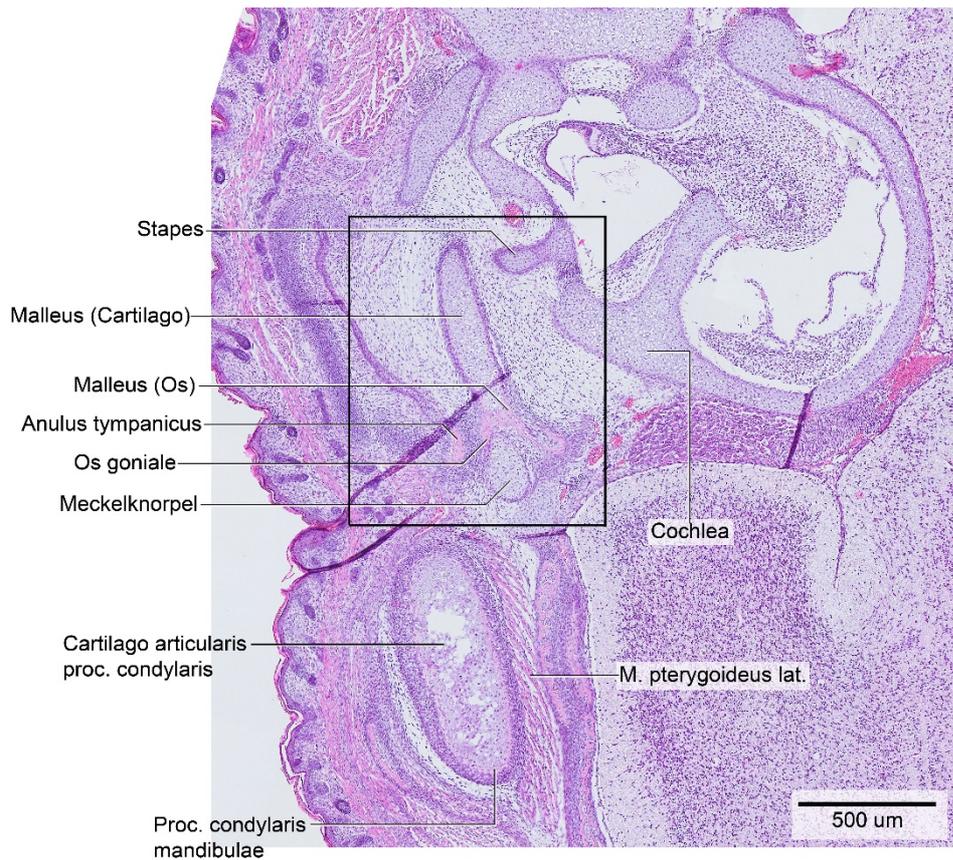


Abb. 44: P0, histologische Übersichtsdarstellung

Horizontalschnitt auf Höhe des Os goniale und dem ersten Ossifikationszentrum des Malleus
Färbung: HE

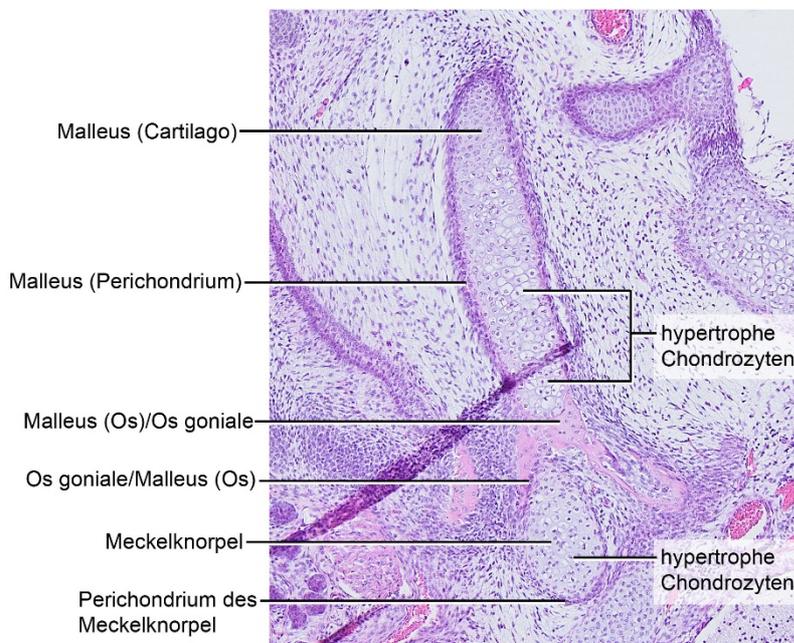


Abb. 45: P0, Ausschnitt aus Abb. 44

Beim Art. temporomandibularis hatte sich der Abstand zwischen Kondylusknorpel und Fossa verkleinert und lag bei 63µm. Der Kondylusknorpel veränderte seine Form im Vergleich zu E20 kaum. Sein Volumen lag bei 0,0618 mm³. Es waren weiterhin hypertrophe Chondrozyten und Chondroblasten erkennbar. Der Proc. condylaris umfasste den knorpeligen Anteil von lateral und medial. Nur superior und posterior war kein Knochen erkennbar. Der Abstand zwischen Kondylusknorpel und dem Knochen des Proc. condylaris lag bei 277µm. Der Proc. coronoideus änderte seine Form im Vergleich zu E20 nicht. Die Ossifizierung im Bereich des Alveolarfortsatzes schritt voran, sodass das corpus von lateral etwas dicker wirkte. Der Proc. angularis war im Vergleich zum vorigen Stadium noch etwas weiter ossifiziert.

Der Meckelknorpel zeigte weiterhin einen posterioren und einen anterioren Anteil. Die Anteile waren voneinander getrennt. Im Vergleich zu E20 hatte sich das Volumen des anterioren Anteils vergrößert und lag bei 0,045 mm³. Der posteriore Anteil hatte seinen Durchmesser, seine Form und Lage kaum verändert. Das Volumen des posterioren Anteils lag bei 0,0649 mm³.

Der Verlauf des N. alveolaris inf. hatte sich nicht verändert.

Von lateral betrachtet überspannte der Discus articularis den Kondylusknorpel nur von lateral. Der Discus bestand weiterhin aus verdichtetem Mesenchym.

Der untere Gelenkspalt war erkennbar, er war in diesem Stadium kompartimentiert. Lockeres Bindegewebe trennte die Kompartimente von einander.

Der obere Gelenkspalt war durchgehend erkennbar.

Das Os temporale veränderte seine Form und Lage nicht. Die Fossa mandibularis lag rinnenförmig in der Pars squamosa. Die mediale Begrenzung war 788µm hoch, die laterale Begrenzung war 754µm hoch.

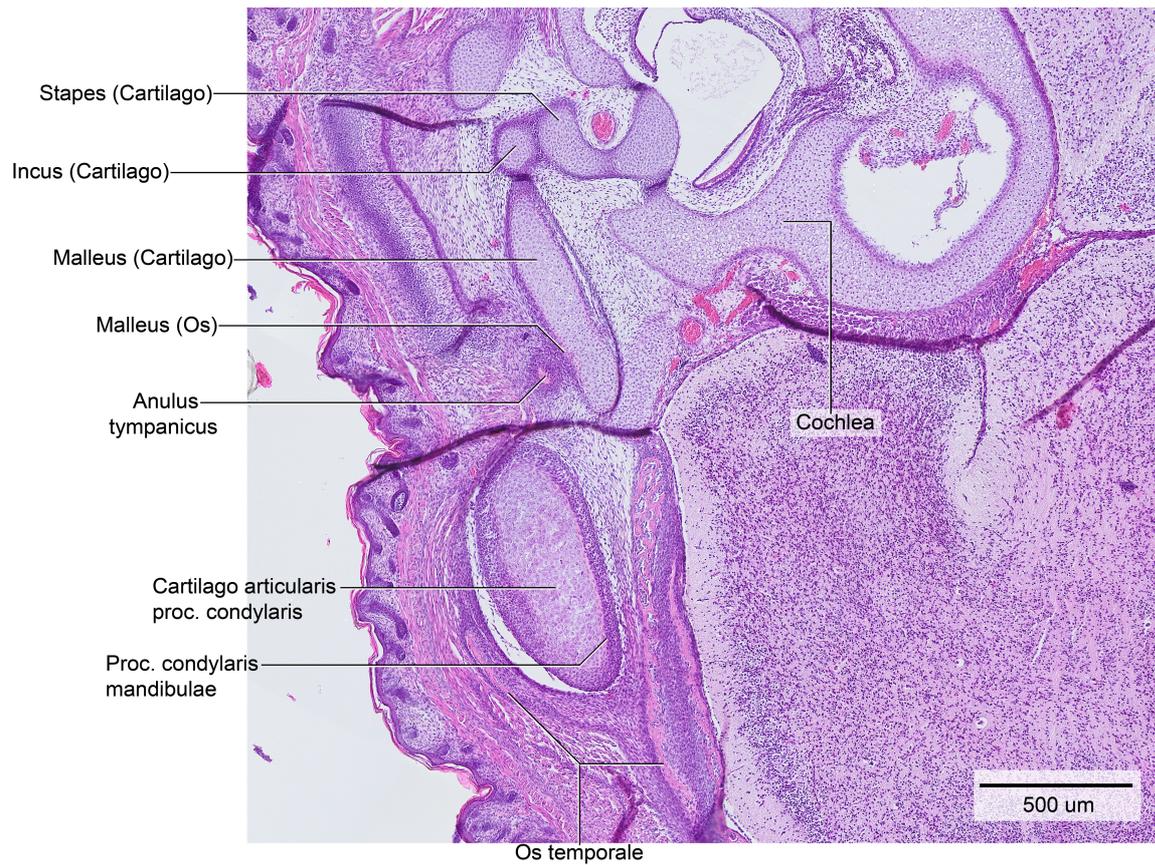


Abb. 46: P0, histologische Übersichtsdarstellung
 Horizontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae
 Färbung: HE

Die Kaumuskulatur war weitestgehend unverändert.

Die Maxilla behielt ihre Form und Lage bei.

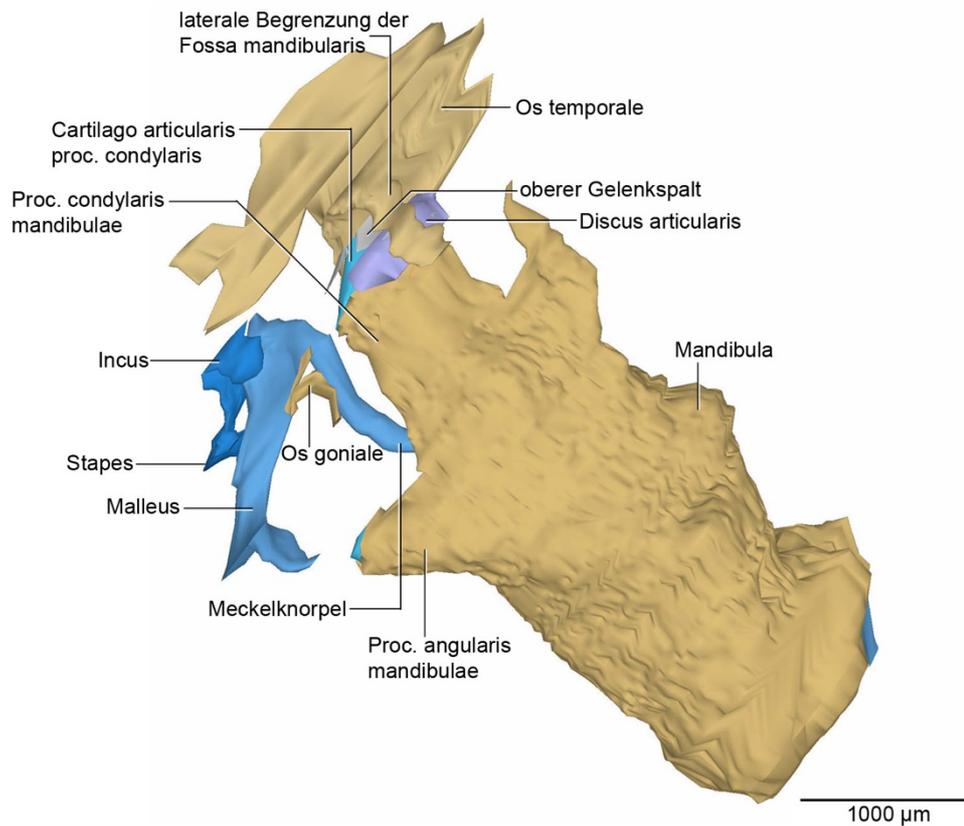


Abb. 47: P0, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion der rechten Mandibula und umgebenden Strukturen
 Ansicht von lateral

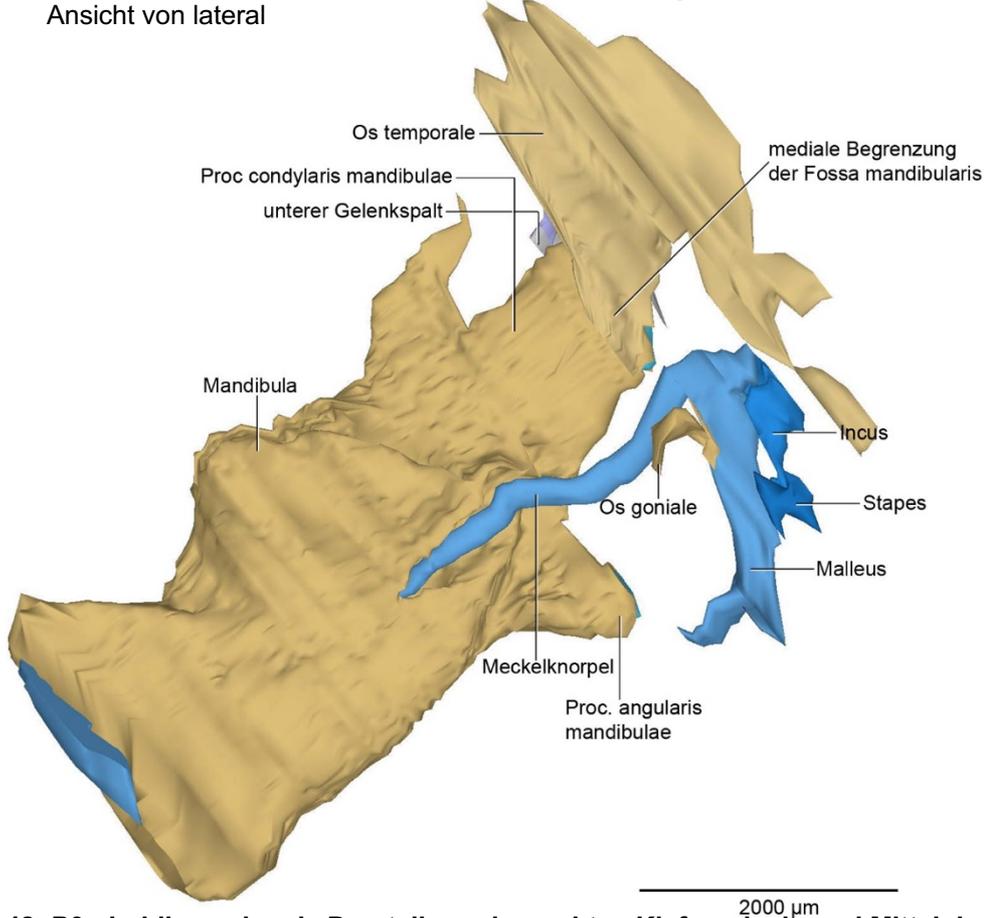


Abb. 48: P0, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von medial

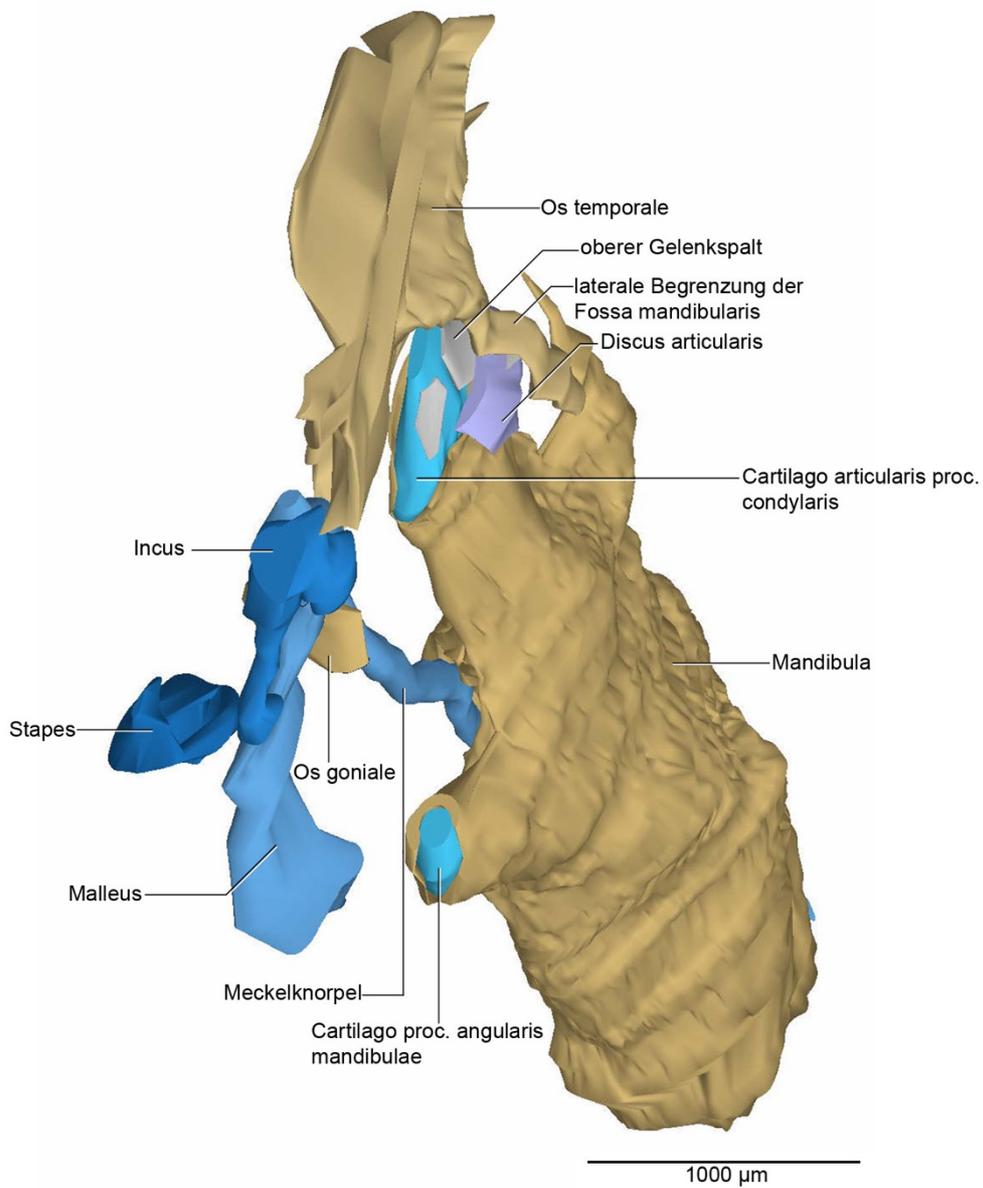


Abb. 49: P0, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von posterolateral

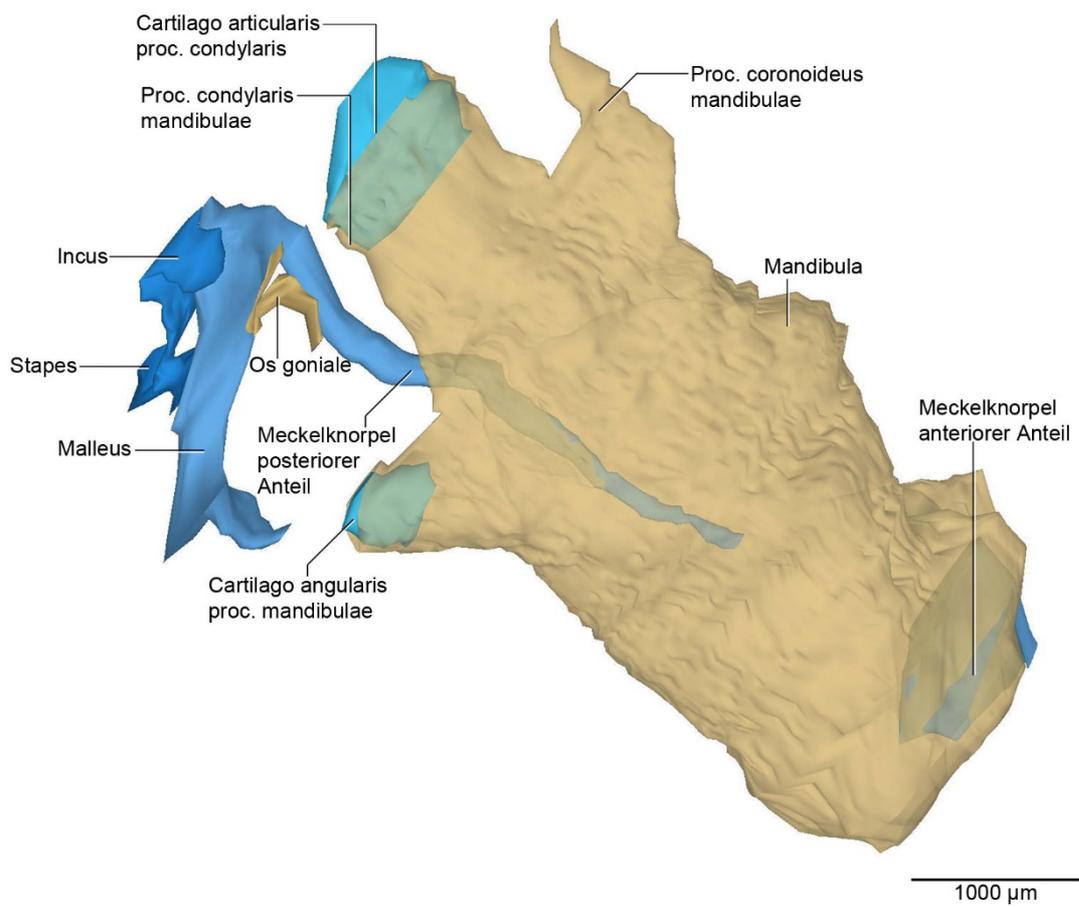


Abb. 50: P0, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen.

Mandibula ist transparent dargestellt.

Ansicht von lateral

5.2.8 Ergebnisse P2

Im Stadium P2 war erstmals ein Ossifikationszentrum am Incus erkennbar. Auch der Malleus zeigte ein Ossifikationszentrum im Bereich des Collum mallei. Der Gonialknochen umgab weiterhin half-pipe artig den Meckelknorpel und ging von dort in die Ossifikation des Malleus über. Der Verbund zwischen Malleus, Meckelknorpel und Mandibularknochen war weiterhin intakt.

Der Stapes war auch postnatal komplett knorpelig. Seine Lage und Form hatten sich nicht verändert. Das Volumen war minimal vergrößert und lag bei $0,0086 \text{ mm}^3$.

Die Form des Incus hatte sich nicht verändert. Erstmals ummantelte Knochen den superioren Schenkel des knorpeligen Incus. Das Crus breve ist damit das erste Ossifikationszentrum am Incus. Corpus incudis und Crus longum waren weiterhin knorpelig. Das Volumen lag bei $0,0163 \text{ mm}^3$.

Der Malleus war auch postnatal über den Meckelknorpel mit der Mandibula verbunden. Der Gonialknochen ging in die Verknöcherung des Malleus über. Die Verknöcherung begann genau an der Stelle, an der der Meckelknorpel leicht nach cephal abknickt und umgriff den Meckelknorpel von inferior half-pipe artig. Von dort erstreckte sich die Verknöcherung bis zum Collum mallei. Das Volumen lag bei $0,0737 \text{ mm}^3$.

Beim Articulatio Incudomallearis lässt sich erstmals ein segmentierter Gelenkspalt zwischen Incus und Malleus erkennen. Der Bereich in dem ein Gelenkspalt erkennbar war, war noch sehr klein. In den meisten Schnitten füllt weiterhin Bindegewebe den Raum zwischen den hyalinen Knorpelanteilen.

Die Grenze zwischen Gonialknochen und der Ossifizierung des Malleus war in diesem Stadium nicht mehr zu erkennen und ist beim Malleus beschrieben.

Der Anulus tympanicus blieb in Lage und Form unverändert.

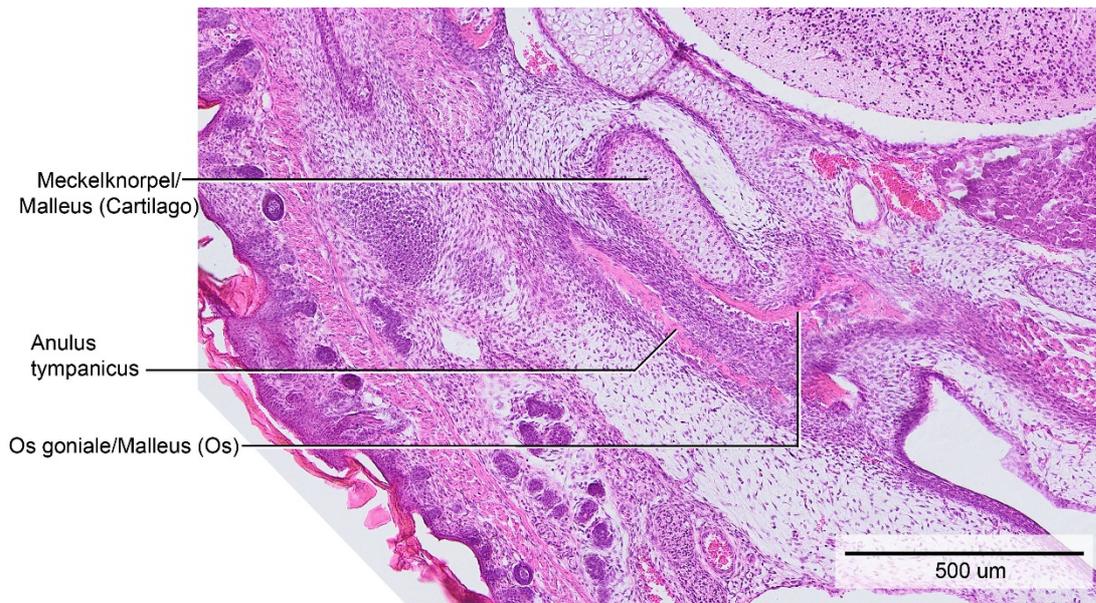


Abb. 51: P2, histologische Übersichtsdarstellung

Frontalschnitt auf Höhe des Os goniale und dem ersten Ossifikationszentrum des Malleus

Färbung: HE

Beim Art. temporomandibularis lag der Abstand zwischen Kondylusknorpel und Fossa mandibularis bei 156µm.

Der Kondylusknorpel lag fast vollständig innerhalb des knöchernen Proc. condylaris der Mandibula. Der Knorpel war nach cephal hin stärker von Knochen umschlossen, nur ein kleiner Anteil, zur Fossa mandibularis hin, ragte aus der Knochenmanschette heraus.

Der Abstand zwischen Kondylusknorpel und dem Knochen des Proc. condylaris war verringert und lag bei 137 µm. Die posterior-anteriore Länge war deutlich länger, als die lateral-mediale-Dicke. Die Neigung war entsprechend des knöchernen Proc. condylaris leicht schräg nach lateral geschwungen. Im Vergleich zu P0 sieht man eine Knorpelreduktion von inferior, der Knorpel zeigt eine rinnenförmige Einbuchtung in anterior- posteriorer Richtung. Histologisch waren in diesem Bereich Chondroklasten erkennbar. Superior lagen die hypertrophen Chondrozyten und darüber, Richtung Fossa mandibularis die Chondroblasten und Fibrozyten. Das Volumen war verringert und lag bei 0,0479 mm³.

Der proc. coronoideus war dünner, er hatte kein knorpeliges Zentrum.

Das Corpus mandibulae wirkte im anterioren Bereich schlanker und etwas länger.

Der Ramus mandibulae stieg im Vergleich zu P0 steiler in cephaler und posteriorer Richtung auf. Der Angulusknorpel zeigte im Vergleich zu P0 eine Reduktion des knorpeligen Anteils im anterioren Bereich. Der Knorpel war am cephalen, posterioren Ende des Proc. angularis nicht von Knochen umgeben.

Der Meckelknorpel war postnatal weiterhin mit dem Malleus und der Mandibula verbunden. Der Meckelknorpel war in diesem Stadium erstmals dreiteilig. Der anteriore und mittlere Anteil lagen im corpus mandibulae. Das Volumen des anterioren Anteils lag bei $0,0210 \text{ mm}^3$. Das Volumen des mittleren Anteils lag bei $0,0008 \text{ mm}^3$. Beim posterioren Anteil war nur das anteriore Ende von Mandibularknochen umschlossen. Danach verlief der posteriore Anteil, leicht nach cephal ansteigend, dem Mandibularknochen von medial anliegend, zum Hinterrand der Mandibula. Er verlor den Kontakt zum Corpus mandibulae am superioren Ansatz des Proc. angularis. Im Vergleich zu P0 sieht man beim posterioren Anteil des Meckelknorpel eine deutliche Reduktion des Knorpels am anterioren Ende. Der Meckelknorpel wirkt etwas schlanker. Das Volumen des posterioren Anteils lag bei $0,0627 \text{ mm}^3$.

Der N. alveolaris inf. veränderte seinen Verlauf und seine Lage nicht.

Der Discus articularis lag zwischen Proc. condylaris und Fossa mandibularis und folgte der Kontur des Kondylus. An seiner leicht konvexen Scheibenform mit dem Bauch nach cephal zur Fossa hin gelegen, änderte sich nichts. Er war rein bindegewebig.

Der untere Gelenkspalt war durchgängig erkennbar, zwischen dem Diskus articularis und dem Kondylusknorpel.

Der obere Gelenkspalt war nur in Segmenten und nicht als durchgängiger Spalt erkennbar. Mesenchym füllte den Raum zwischen Fossa mandibularis und Discus articularis.

Das Os temporale war in Form und Lage konstant geblieben. Die Form und Lage der Fossa mandibularis hatte sich im Vergleich zu P0 auch postnatal nicht verändert. Sie war weiterhin als rinnenförmige Vertiefung in der Pars squamosa des Os temporale erkennbar. Eine anteriore oder posteriore Begrenzung war nicht erkennbar. Die mediale Wand war breiter als die laterale Begrenzung und sie standen weiterhin versetzt zueinander. Die mediale Begrenzung war $859 \mu\text{m}$ hoch. Die laterale Begrenzung war $765 \mu\text{m}$ hoch.



Abb. 52: P2, histologische Übersichtsdarstellung

Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae

Färbung: HE

M. masseter, M. temporalis, M. pterygoideus lateralis und M. pterygoideus medialis veränderten ihre Form und Lage nicht. Ihr Volumen nahm zu.

Die Maxilla hatte ihre Form und Lage nicht verändert. Im zahntragenden Teil, waren die Molaren von flächigen Knochenausläufern umgriffen, ein fingerförmiges Knochenseptum trennt den ersten und zweiten Molar nur teilweise. Die Zahnanlagen des Oberkiefers waren an ihrer okklusalen und lat. Fläche frei von Knochen. Nach lateral umgriff eine dreieckige Knochenwand den ersten Molaren. Eine komplette knöcherne Trennung der Zahnfächer lag nicht vor.

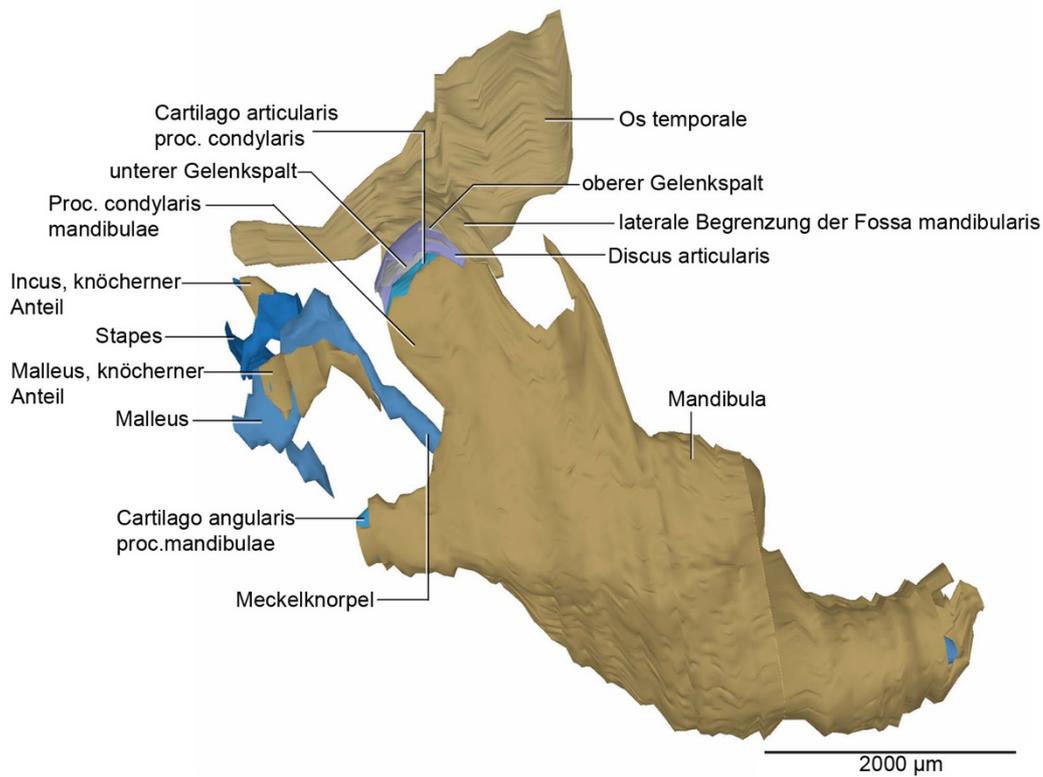


Abb. 53: P2, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion der rechten Mandibula und umgebenden Strukturen
 Ansicht von lateral

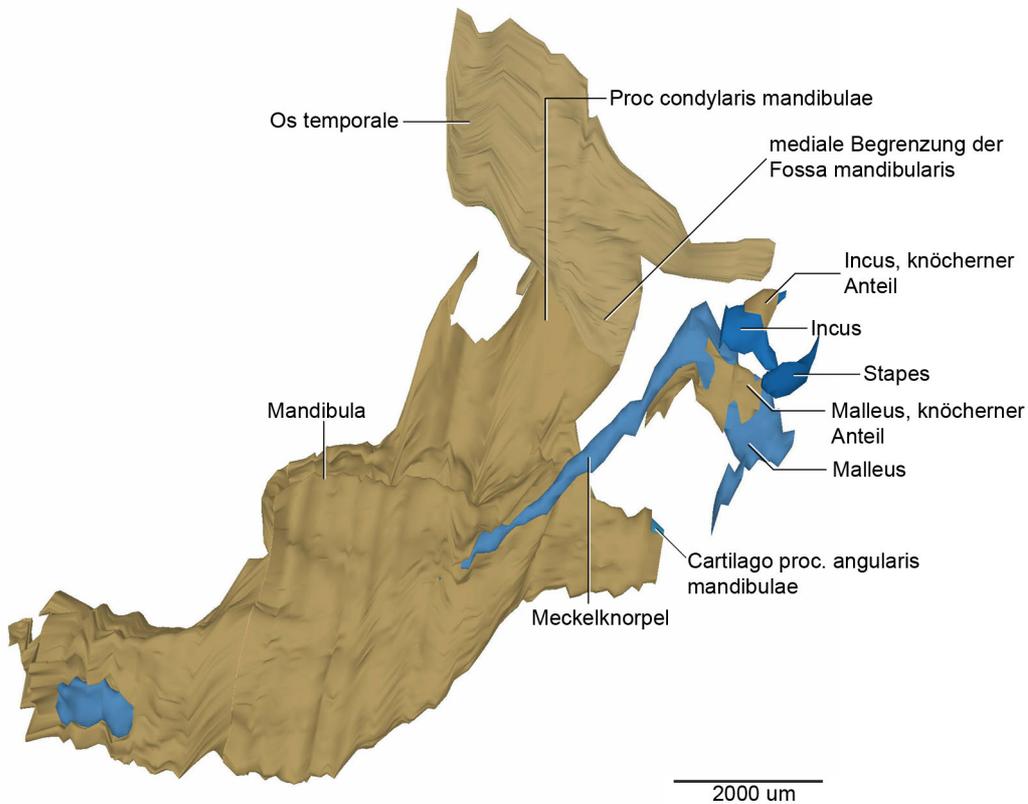


Abb. 54: P2, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von medial

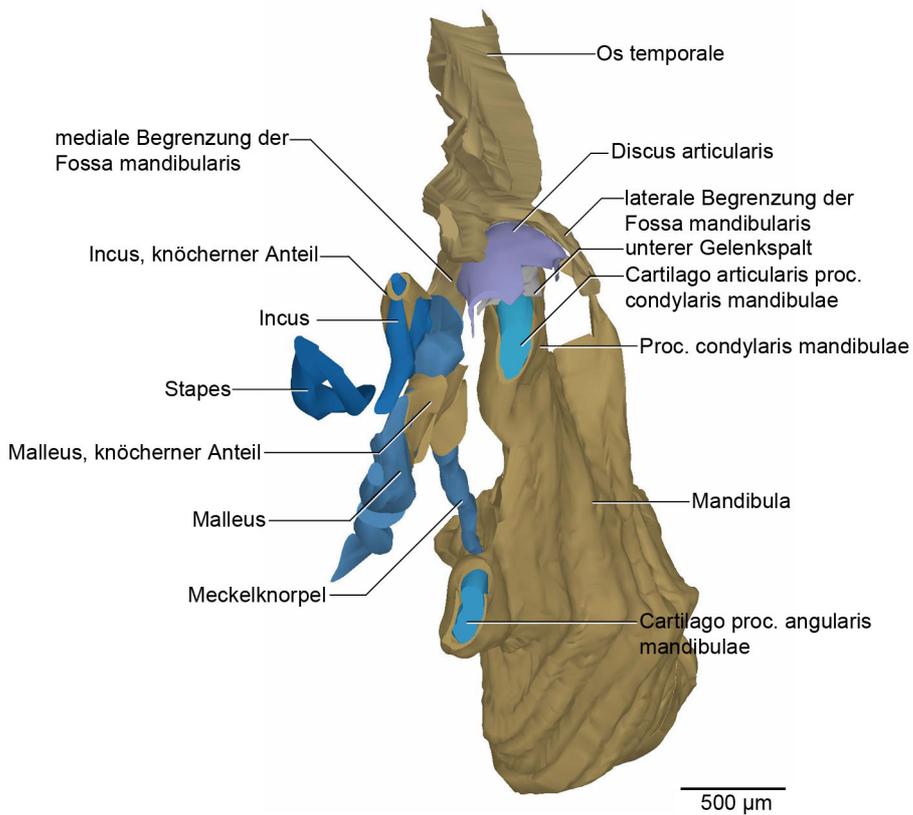


Abb. 55: P2, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von posterolateral

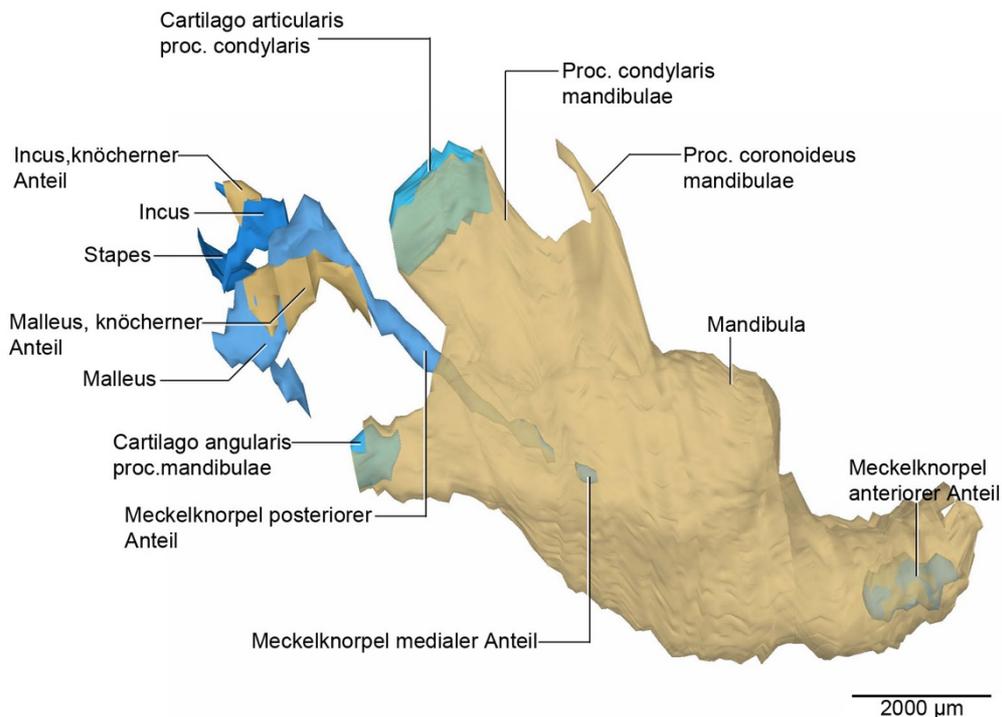


Abb. 56: P2, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen.
 Mandibula ist transparent dargestellt. Ansicht von lateral

5.2.9 Ergebnisse P4

Im Stadium P4 waren starke Veränderungen in Bezug auf den Meckelknorpel zu beobachten. Der posteriore Anteil war von anterior stark verkürzt. Im Verhältnis zum Stadium P2 war der Meckelknorpel um eine Strecke von 1443 μm kürzer. Es gab keine Verbindung mehr zwischen dem posterioren Teil des Meckelknorpel und der Mandibula. Der Abstand zwischen dem Hinterrand der Mandibula und dem Vorderrand des Meckelknorpel betrug 230 μm . Malleus und Meckelknorpel waren noch miteinander verbunden, aber die Zellkonfiguration im Bereich des Processus anterior des Malleus hatte sich verändert. Das Kiefergelenk und das Mittelohrgelenk waren nun frei beweglich und nicht mehr über den Meckelknorpel verbunden.

Beim Stapes gab es keine Lage oder Formveränderung, er war immer noch knorpelig. Sein Volumen war leicht vergrößert und lag bei 0,0101 mm^3 .

Die Form des Incus hatte sich nicht verändert, jedoch lag das Crus breve in der Betrachtung von posterior weiter medial. Der Winkel der Lage des Incus zum Malleus hatte sich leicht verändert. Die Verknöcherung am Crus breve des Incus war etwas weiter fortgeschritten und reichte nun auch bis zum Corpus incudis. Auch am inferioren Schenkel (Crus longum) war Knochen zu erkennen, dieser schloss sich über die posteriore Basis des Corpus an den inferioren Schenkel an. Das Volumen war vergrößert und lag bei 0,0248 mm^3 .

Malleus und Meckel waren in diesem Stadium noch verbunden. Allerdings hatte sich die Zellkonfiguration des Meckelknorpel superior des Proc. anterior stark verändert. Es waren hauptsächlich verdichtete Bindegewebszellen erkennbar, die hypertrophen Chondrozyten waren in diesem Bereich des Meckelknorpel nicht mehr erkennbar. Im Vergleich zu P2, hatten sich die beiden Ossifikationszentren verbunden. Am Caput mallei hatte sich die Verknöcherung etwas nach cephal ausgedehnt. Zum Incus blieb eine Knorpelschicht erkennbar. Das Volumen lag bei 0,0869 mm^3 .

Beim Articulatio incudomallearis ist im Stadium P4 kein Gelenkspalt mehr erkennbar. Die hyalinen Knorpelanteile von Incus und Malleus grenzen direkt aneinander. Es ist kein Bindegewebe zwischen den Knorpelanteilen von Incus und Malleus erkennbar. Getrennt werden die Anteile durch das Perichondrium.

Eine Abrenzung zwischen Gonialknochen und Malleus ist nicht mehr möglich. Der Gonialknochen gehört zum Proc. anterior des Malleus.

Der Anulus tympanicus war unverändert.

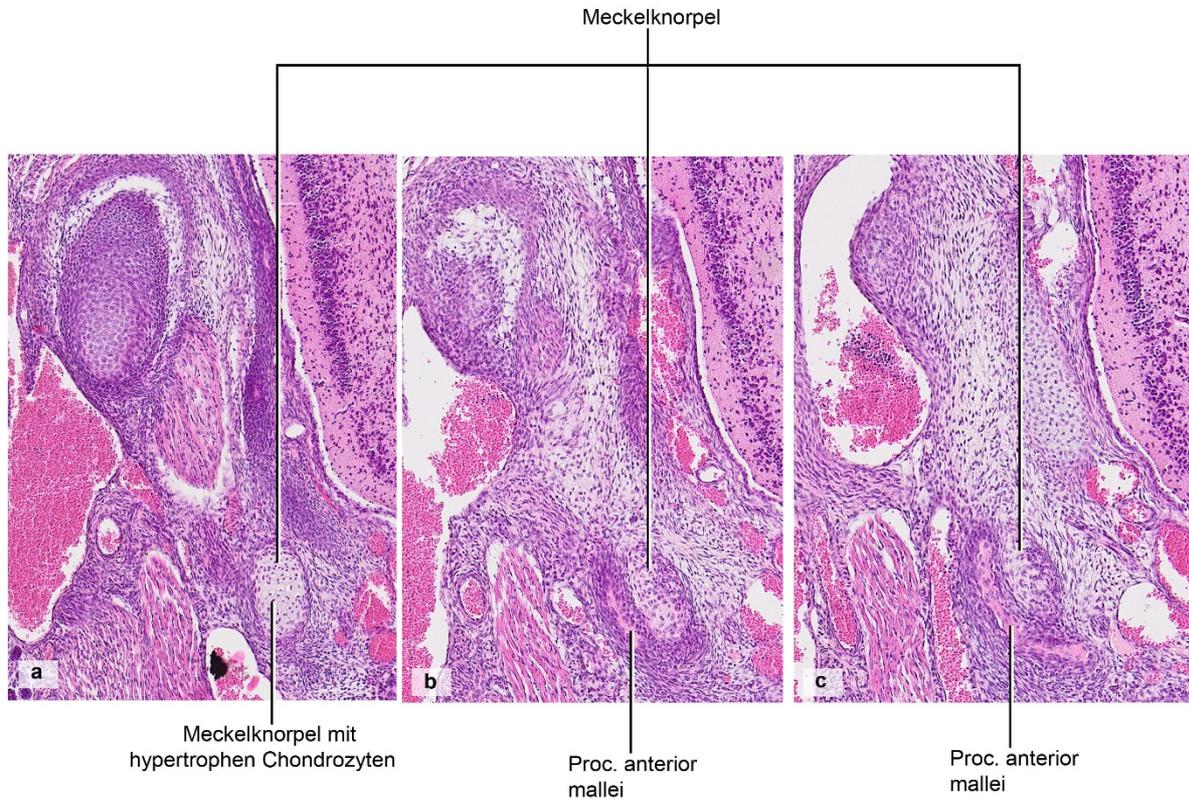


Abb. 57: P4, histologische Übersichtsdarstellungen

Frontalschnitte auf Höhe des Proc. anterior des Malleus (Abstand jeweils 50 µm)

a zeigt Meckelknorpel mit hypertrophen Chondrozyten

b und c zeigen Meckelknorpel ohne hypertrophe Chondrozyten

Färbung: HE

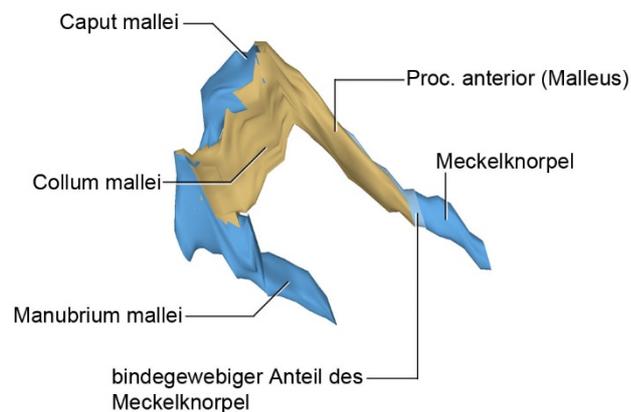


Abb. 58: P4, dreidimensionale Darstellung des rechten Malleus

3D-Rekonstruktion des rechten Malleus und des posterioren Anteils des Meckelknorpel
Ansicht von lateral

Beim *Articulatio temporomandibularis* war der Abstand zwischen Fossa und Kondylusknorpel bei 167 μm .

Der Kondylusknorpel lag innerhalb des knöchernen *Proc. condylaris* der *Mandibula*. Ein kleiner Anteil, der zur *Fossa mandibularis* gerichtet war, war nicht von Knochen bedeckt. Der Abstand zwischen Kondylusknorpel und dem Knochen des *Proc. condylaris* lag bei 95 μm . Von medial war keine Veränderung der Form erkennbar. Von lateral gesehen, zeigte der Kondylusknorpel anterior und posterior eine Erhöhung, dazwischen lag eine gerade verlaufende Vertiefung die sich über eine Strecke von 327 μm erstreckte. Die Unterseite zeigte keine Veränderung der Form. Histologisch waren die verschiedenen Zellzonen weiterhin erkennbar. Bei der *Mandibula* war eine Formveränderung im Vergleich zu P2 am *Proc. condylaris* erkennbar. Dieser zeigte bei P2, am cephalen zur *Fossa mandibularis* hin gelegenen Ende, einen posterioren inferioren Verlauf, entsprechend der Form des Kondylusknorpels, bei P4 glich das cephale Ende auch dem Verlauf des Kondylusknorpels. Dieser zeigte bei P4 eine posteriore cephale Erhöhung. Die Knochenkante stieg in der Ansicht von lateral von anterior inferior nach posterior superior an. Das Volumen lag bei 0,0518 mm^3 . Eine Größenzunahme des *Proc. angularis* nach posterior war erkennbar. Alle weiteren Anteile der *Mandibula* blieben unverändert.

Der Meckelknorpel hatte im Stadium P4 keine Verbindung mehr zum Mandibularknochen. Der mittlere Anteil war nicht mehr vorhanden. Der anteriore Anteil im Bereich der *Incisivi* hatte sich nicht stark verändert und war weiterhin vorhanden. Das Volumen des anterioren Anteils lag bei 0,0291 mm^3 . Der posteriore Anteil hatte sich im anterioren Bereich verkürzt, er hatte keinen Kontakt mehr zum Mandibularknochen. Der posteriore Anteil begann in einem Abstand von 230 μm zum Hinterrand der *Mandibula* und veränderte oberhalb des *Proc. anterior* des *Malleus* seine Zellkonfiguration. Es waren keine hypertrophen Chondrozyten mehr erkennbar, stattdessen konnte man bindegewebige Zellen erkennen. Das Volumen des posterioren Anteils lag bei 0,0528 mm^3 .

Der Verlauf des *N. alveolaris inf.* hatte sich im Vergleich zu P2 nicht verändert.

Der *Discus articularis* folgte der Kontur des *Proc. condylaris*. Er zeigte die gleiche Form wie der Kondylusknorpel. Er war weiterhin bindegewebig.

Der untere Gelenkspalt folgte der Kontur des Proc. condylaris. Er hatte die gleiche Form wie der Condylusknorpel.

Der obere Gelenkspalt, zeigte sich nur in Segmenten. Eine Spaltbildung war medial und lateral erkennbar. Zwischen Discus articularis und Fossa articularis war Mesenchym erkennbar, aber kein Spalt.

Das Os temporale veränderte seine Form und Lage nicht. Die Fossa mandibularis zeigte keine Veränderung. Die mediale Begrenzung war 841 μm hoch, die laterale Begrenzung war 634 μm hoch.

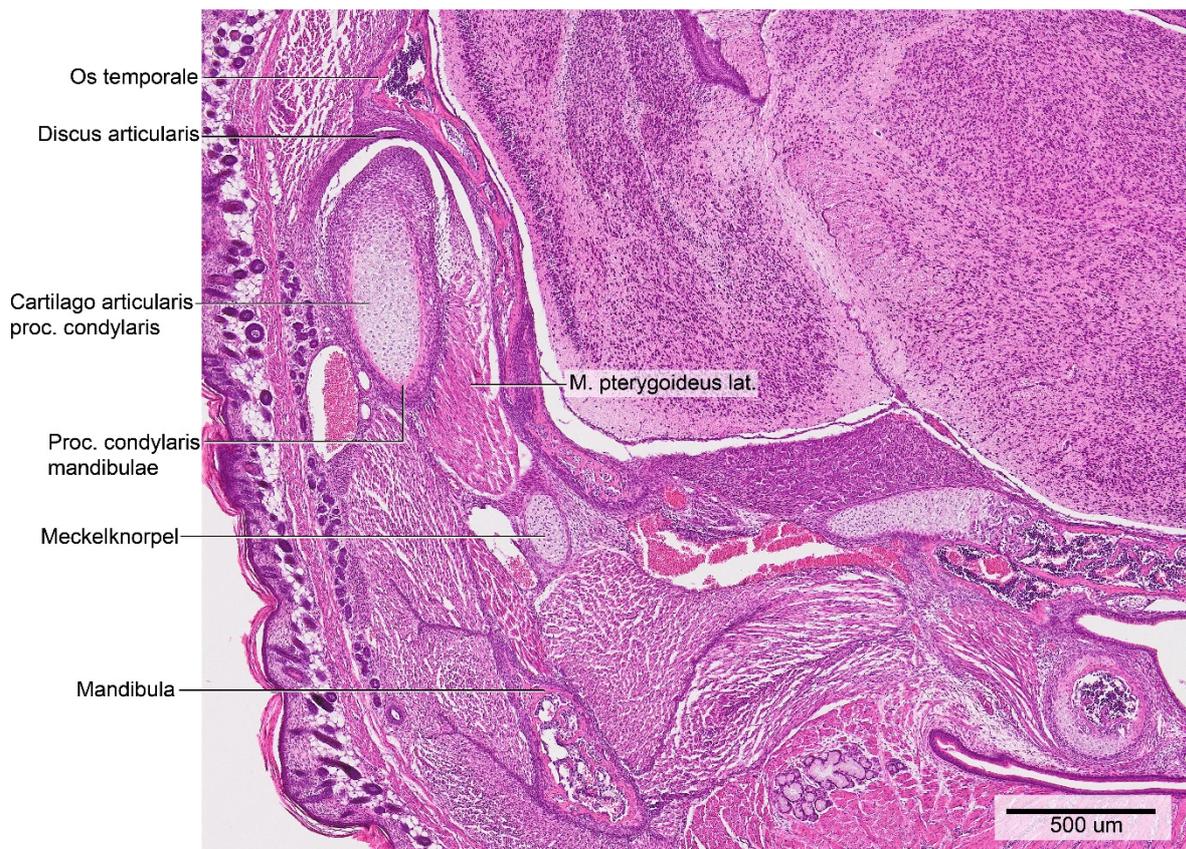


Abb. 59: P4, histologische Übersichtsdarstellung

Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae

Färbung: HE

Bei der Kaumuskulatur und der Maxilla waren die Veränderungen im Vergleich zu P2 gering.

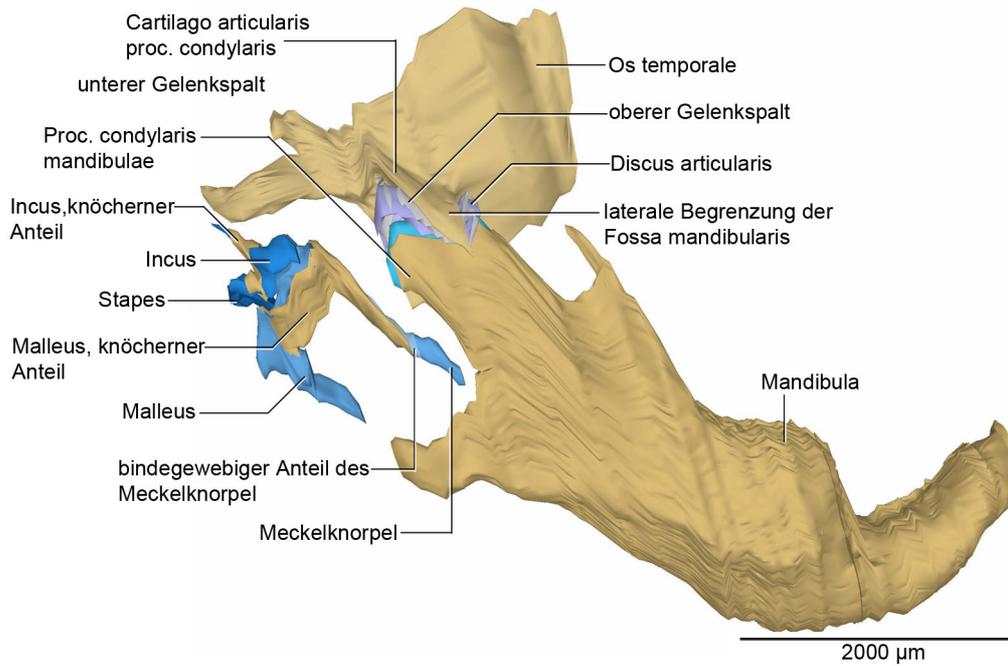


Abb. 60: P4, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion der rechten Mandibula und umgebenden Strukturen
 Ansicht von lateral

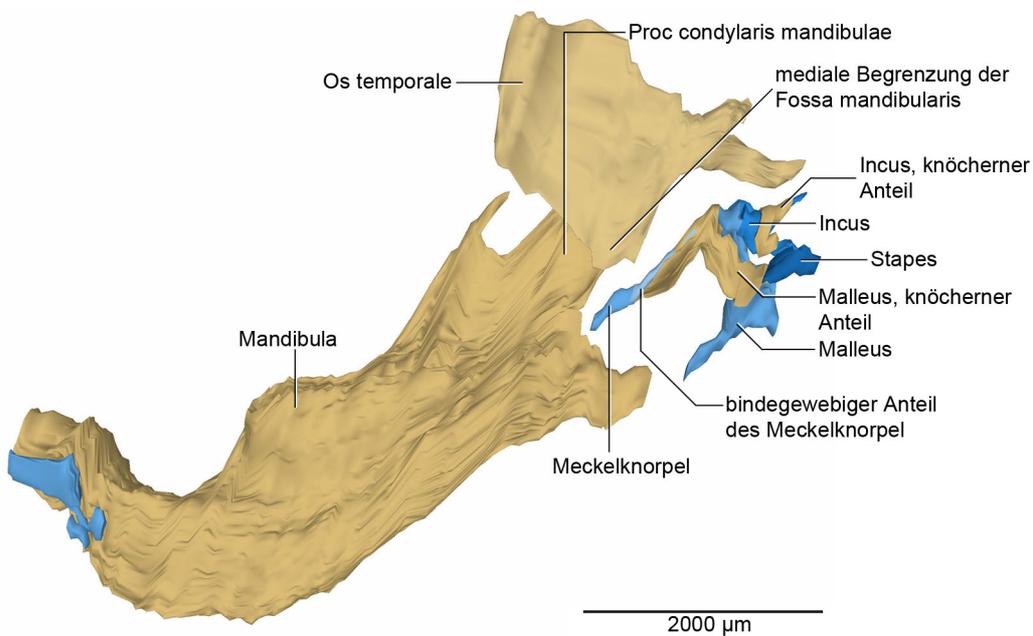


Abb. 61: P4, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von medial

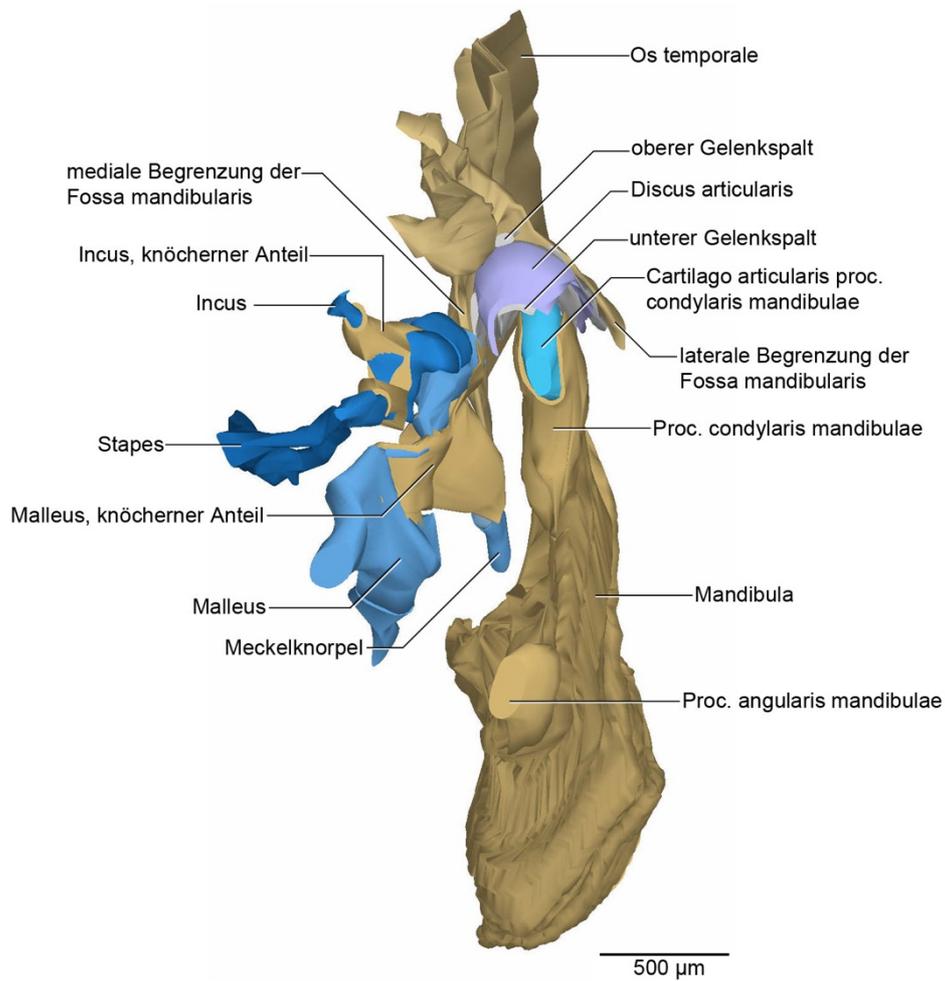


Abb. 62: P4, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 Dieselbe 3D-Teilrekonstruktion in der Ansicht von posterolateral

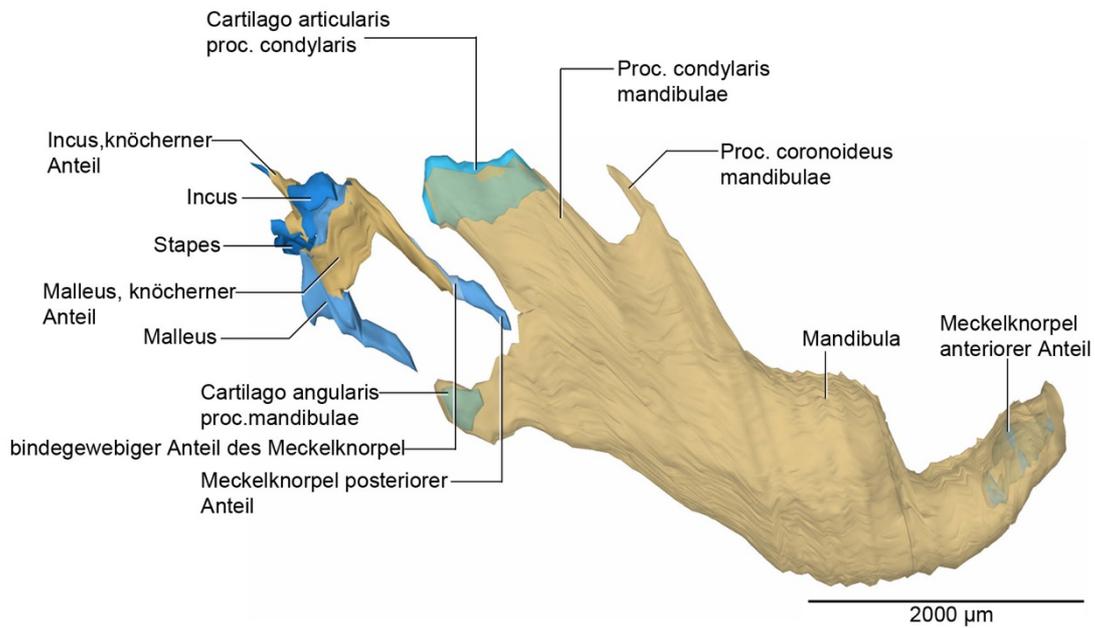


Abb. 63: P4, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen.

Mandibula ist transparent dargestellt.

Ansicht von lateral

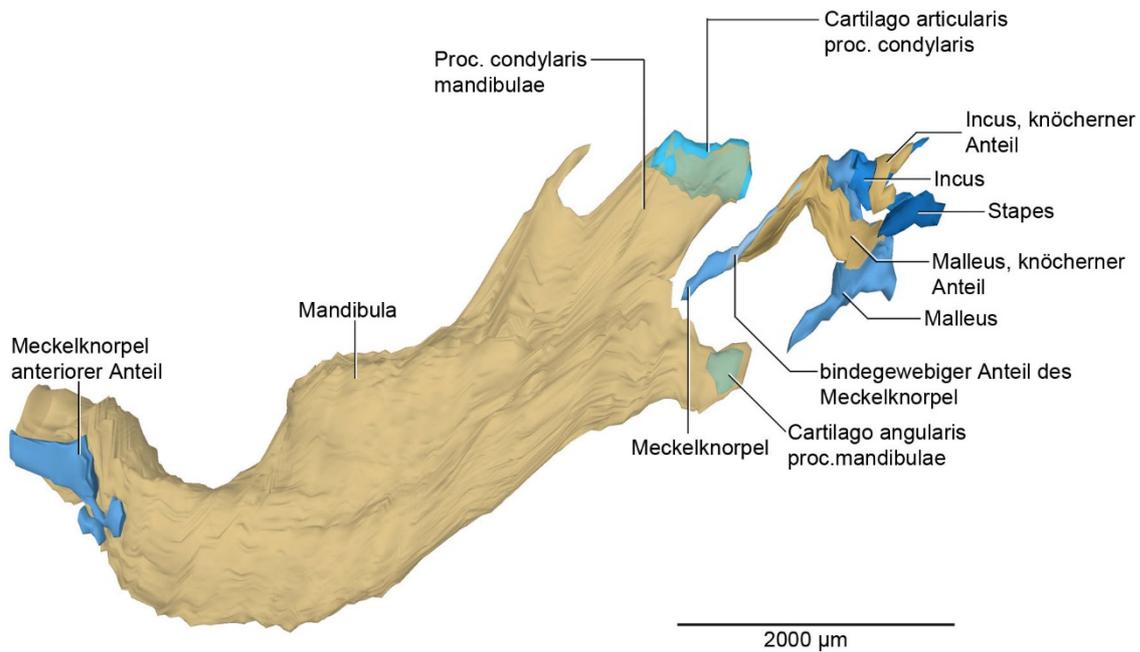


Abb. 64: P4, dreidimensionale Darstellung des Meckelknorpel und der umgebenden Strukturen.

Mandibula ist transparent dargestellt.

Ansicht von medial

5.2.10 Ergebnisse P6

Das Stadium P6 wurde nur histologisch untersucht eine dreidimensionale Rekonstruktion erfolgte nicht.

Im Stadium P6 waren der Meckelknorpel und der Malleus nicht mehr miteinander verbunden. Es konnte eine schnelle Ossifizierung von Malleus und Incus beobachtet werden.

Der Stapes war weiterhin rein knorpelig vorhanden. Er hatte weder seine Form noch Lage verändert.

Der Incus war im Stadium P6 fast vollständig verknöchert. Im Vergleich zum Stadium P4 war das komplette corpus incudis verknöchert, ebenso wie das Crus breve und Crus longum. Nur die zum Malleus und zum Stapes hin gerichteten Gelenkflächen, bestanden weiterhin aus hyalinem Knorpel.

Beim Malleus war im Vergleich zu P4 nun auch das Manubrium mallei und das komplette corpus mallei verknöchert. Nur der Übergang vom Corpus mallei zum Manubrium mallei, sowie die Gelenkfläche zum Incus, zeigte noch hyalinen Knorpel. Der Malleus war in diesem Stadium nicht mehr mit dem Meckelknorpel verbunden. superior des Processus anterior des Malleus war kein verdichtetes Bindegewebe mehr ersichtlich.

Die Articulatio incudomallearis zeigte ein starkes Fortschreiten der enchondralen Verknöcherung. Im Vergleich zu P4 waren nur noch die Gelenkflächen von hyalinem Knorpel bedeckt. Teilweise war ein kompartementierter Gelenkspalt sichtbar.

Der Anulus tympanicus war vorhanden.

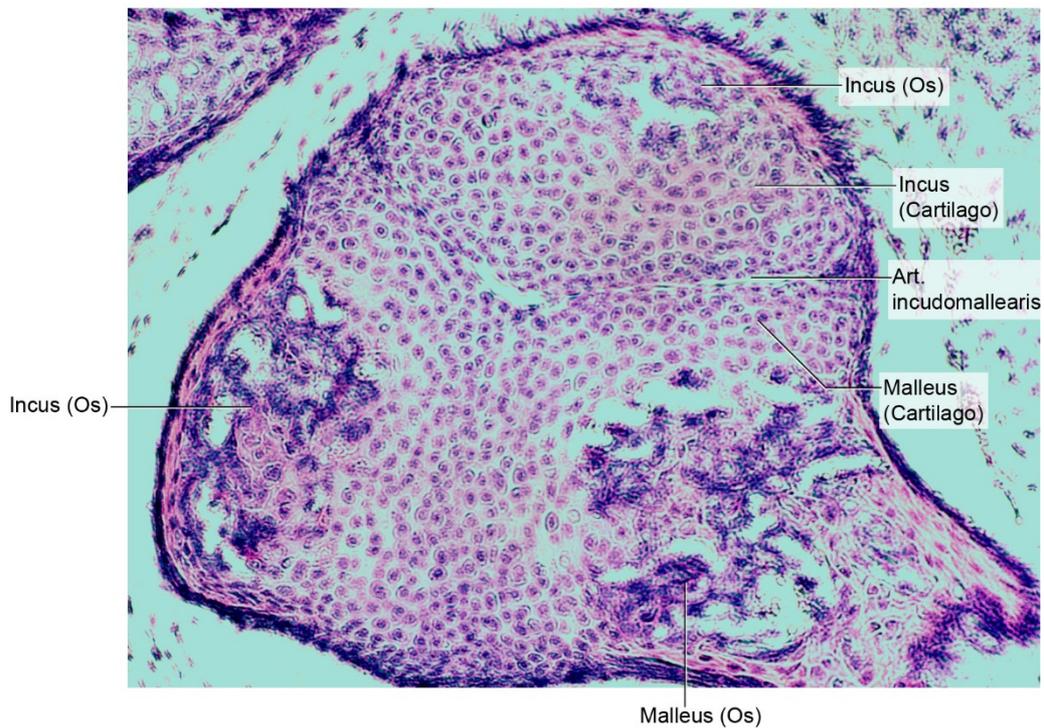


Abb. 65: P6, histologische Übersichtsdarstellung
Frontalschnitt auf Höhe der Art. incudomallearis
Färbung: HE

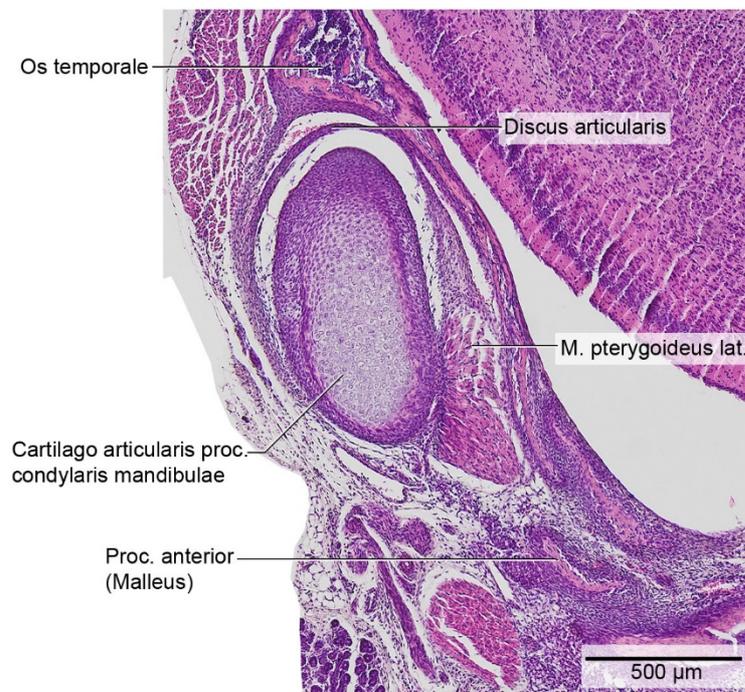


Abb. 66: P6, histologische Übersichtsdarstellung
Frontalschnitt auf Höhe des Proc. anterior des Malleus
Färbung: HE

Die Zoneneinteilung des Kondyluskorpels war auch im Stadium P6 sichtbar. Der Kondylusknopel war zu einem großen Teil vom Knochen des Proc. condylaris mandibulae umschlossen. Nur nach cephal, zur Fossa mandibularis hin, ragte noch ein Teil des Korpels über den Knochen hinaus.

Vom posterioren Teil des Meckelknorpel war nur noch ein kleiner Teil vorhanden. Dieser bestand aus hypertrophen Chondrozyten und war von Perichondrium umgeben. Dieser kleine Anteil lag zwischen Proc. anterior des Malleus und dem Hinterrand der Mandibula.

Der Discus articularis war vorhanden und folgte mit seiner Form dem konvexen Kondylusknopel.

Ein oberer und unterer Gelenkspalt war ersichtlich. Die Gelenkspalten waren frei von Bindegewebe.

In der Fossa mandibularis erkannte man auf den Gelenkflächen Faserknorpel.



Abb. 67: P6, histologische Übersichtsdarstellung
Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae
Färbung: HE

Die Kaumuskulatur war vorhanden. Ansatz und Ursprung der Kaumuskulatur hatten sich nicht verändert.

5.2.11 Ergebnisse P10

Im Stadium P10 waren Incus, Malleus und Stapes fast vollständig verknöchert.

Erstmals konnte auch beim Stapes eine Verknöcherung beobachtet werden. Die Form des Stapes blieb dabei unverändert. Das Crus anterius, sowie das Crus posterius waren verknöchert. Der Gelenkknorpel des Articulatio incudostapedialis war erkennbar. Die Lage des Stapes hatte sich nicht verändert. Das Volumen lag bei $0,0122 \text{ mm}^3$.

Auch der Incus zeigte sich in diesem Stadium komplett verknöchert. Knorpel war nur noch an den Gelenkflächen der Articulatio incudomallearis und Articulatio incudostapedialis erkennbar. Das Volumen lag bei $0,0421 \text{ mm}^3$.

Der Malleus war in diesem Stadium nicht mehr mit dem Meckelknorpel verbunden. Der Processus anterior hatte sich nach medial vergrößert. Knorpel war noch am Articulatio incudomallearis und am Übergang vom Collum mallei zum Manubrium mallei ersichtlich. Das Volumen des Malleus lag bei $0,0920 \text{ mm}^3$.

Bei der Articulatio incudomallearis hatte sich im Vergleich zu P6 nicht viel verändert. Der Gelenkknorpel war erkennbar. Ein Gelenkspalt war nicht ersichtlich, getrennt waren die Knorpelanteile durch das Perichondrium.

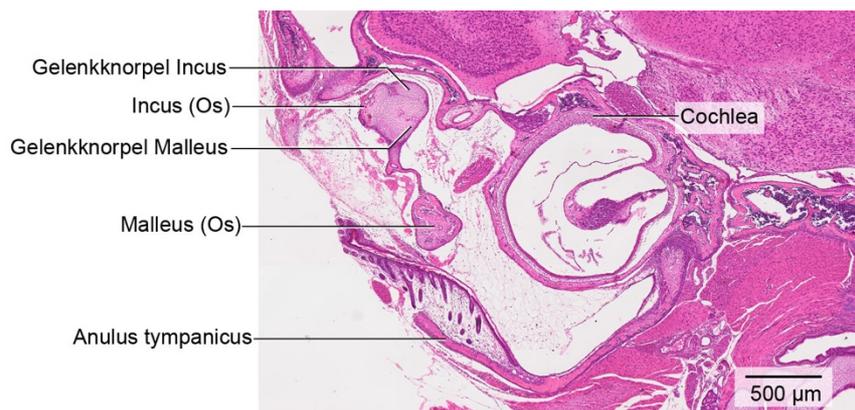


Abb. 68: P10, histologische Übersichtsdarstellung
Frontalschnitt auf Höhe der Articulatio incudomallearis
Färbung: HE

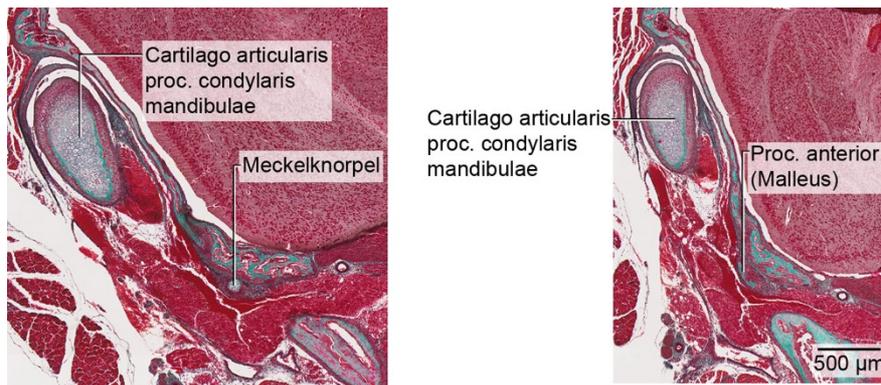


Abb.69: P10, histologische Übersichtsdarstellungen

Frontalschnitte auf Höhe des Proc. anterior des Malleus (Abstand 50 µm)

Färbung: Elastika Trichrom

Beim Articulatio temporomandibularis war der Abstand zwischen Fossa mandibularis und Kondylusknorpel bei 254µm.

Der Kondylusknorpel war im Vergleich zu P4 von inferior noch weiter durch Knochen ersetzt worden. Der Kondylusknorpel war zu einem großen Teil von Knochen ummantelt, nur posterior und superior ragte er aus dem Knochenkragen des Processus condylaris der Mandibula heraus. Der Abstand zwischen Knochenkragen und Kondylusknorpel lag bei 203µm. Die Zoneneinteilung hatte sich im Vergleich zu P6 nicht verändert.

Der Proc. condylaris hatte sich im Vergleich zu P4 nicht stark verändert, er hatte in etwa die gleiche Länge wie der Proc. angularis. Auch dieser hatte sich nicht stark verändert. Die anderen Anteile der Mandibula sind in der Teilrekonstruktion nicht dargestellt.

Vom Meckelknorpel war nur noch ein sehr kurzer Anteil sichtbar. Dieser lag zwischen dem Hinterrand der Mandibula und dem Processus anterior des Malleus, wobei er näher beim Processus anterior zu finden war. Er hatte keinen Bezug mehr zur Articulatio temporomandibularis und auch keinen Bezug mehr zur Articulatio incudomallearis. Das Volumen lag bei 0,001 mm³.

Der Discus articularis folgte der Form des Kondylusknorpels, die Abgrenzung zum Faserknorpel auf der Gelenkfläche der Fossa mandibularis war nicht immer möglich.

Der obere und untere Gelenkspalt war ersichtlich. Der untere Gelenkspalt war etwas größer und durchgehend sichtbar.

Der obere Gelenkspalt war teilweise nicht abgrenzbar, da der Discus articularis direkt der Fossa mandibularis anlag. In den dreidimensionalen Abbildung 68 und 69 sind die

Gelenkspalten nicht mehr farblich abgegrenzt, sie zeigen sich in diesem späten Stadium der Entwicklung als Lücke zwischen Fossa und Discus, beziehungsweise Discus und Kondylusknorpel. Es war kein Bindegewebe im Bereich der Gelenkspalten ersichtlich.

Vom Os temporale ist nur die Fossa mandibularis dargestellt. Die Form der Fossa hatte sich im Vergleich zu P4 nicht verändert. Auf der Gelenkfläche der Fossa zeigte sich Faserknorpel.

Die mediale Begrenzung war 1526µm tief. Die laterale Begrenzung war 831µm tief.

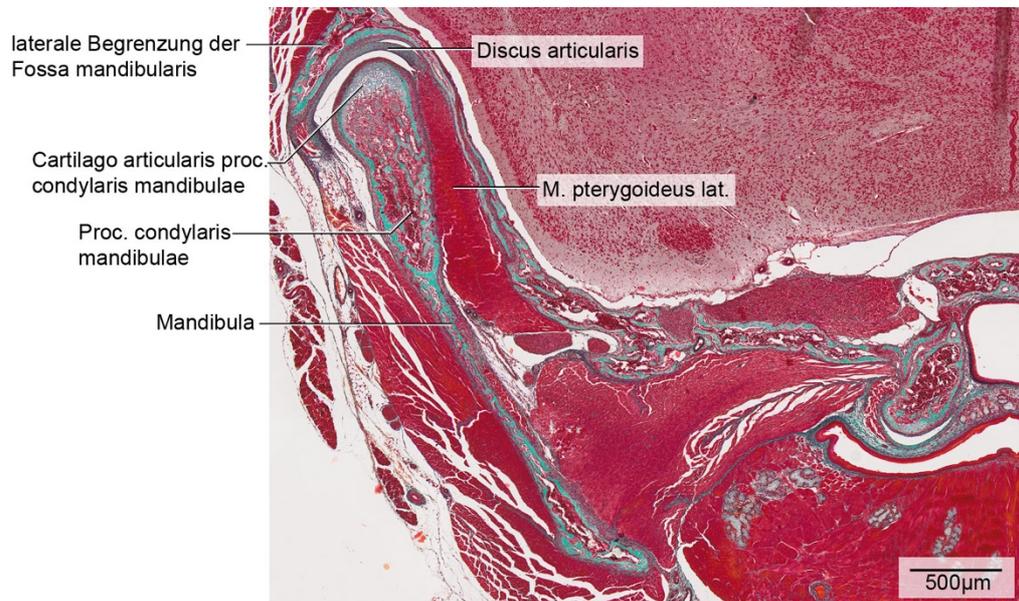


Abb. 70: P10, histologische Übersichtsdarstellung
Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae
Färbung: Elastika-Trichrom

Bei der Kaumuskulatur konnte keine Änderung der Form oder Lage festgestellt werden. Rekonstruiert wurden der M. pterygoideus lateralis und der M. pterygoideus medialis. Im Stadium P10 erkennt man in der Elastika-Trichrom Färbung sehr gut die Insertion des M. pterygoideus lateralis in den Discus articularis.

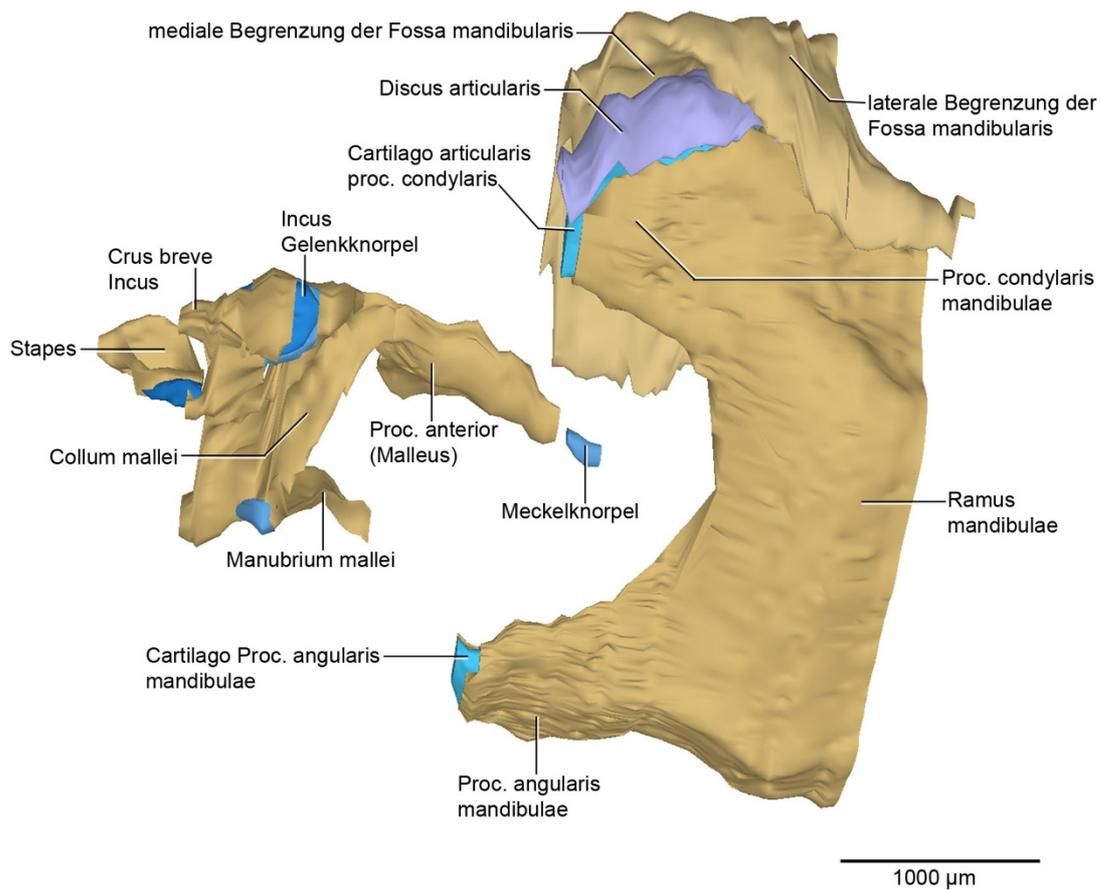


Abb. 71: P10, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion des Ramus mandibulae und der Gehörknöchelkette
 Ansicht von lateral

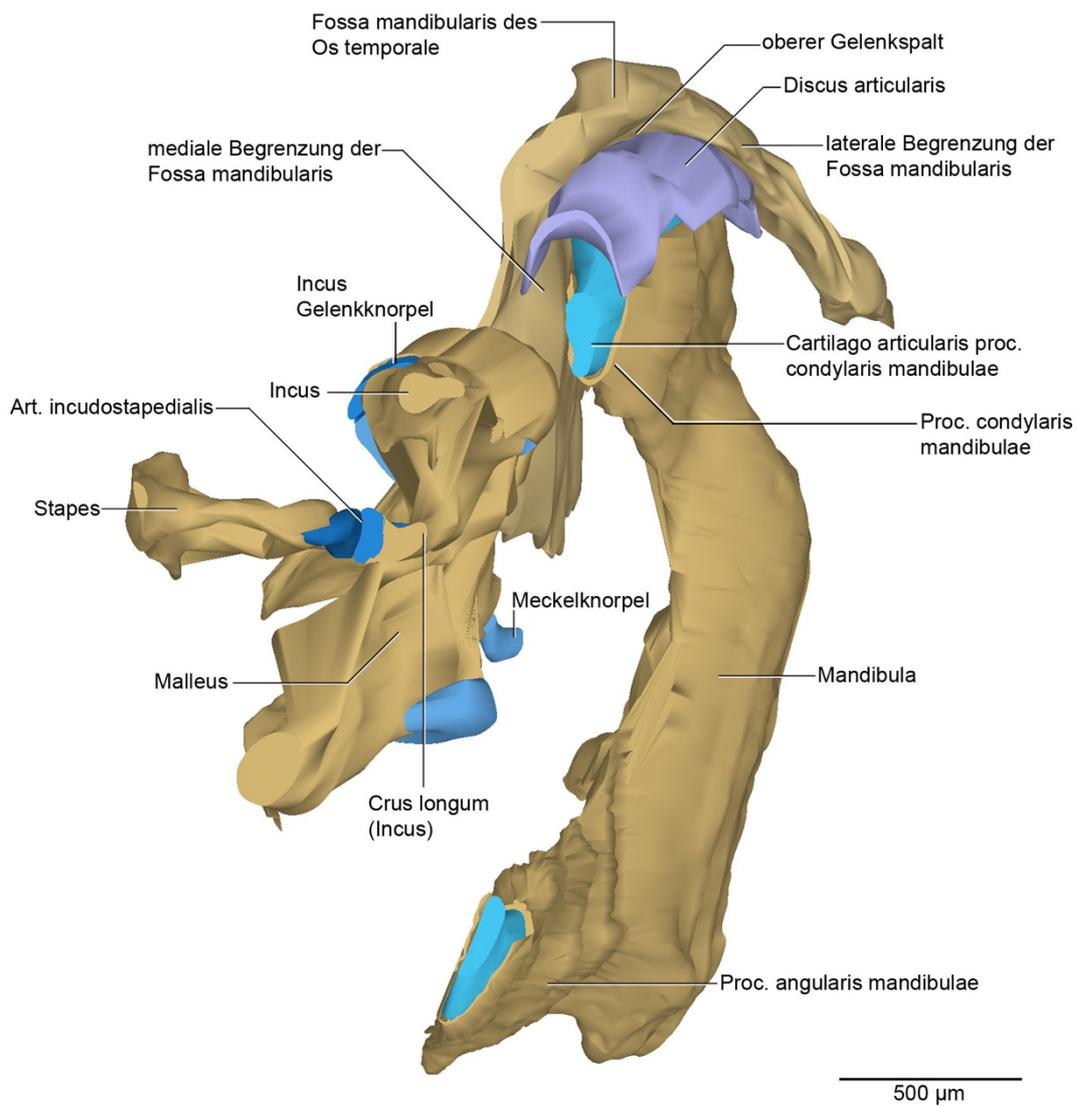


Abb. 72: P10, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion des Ramus mandibulae und der Gehörknöchelkette
 Ansicht von posterolateral

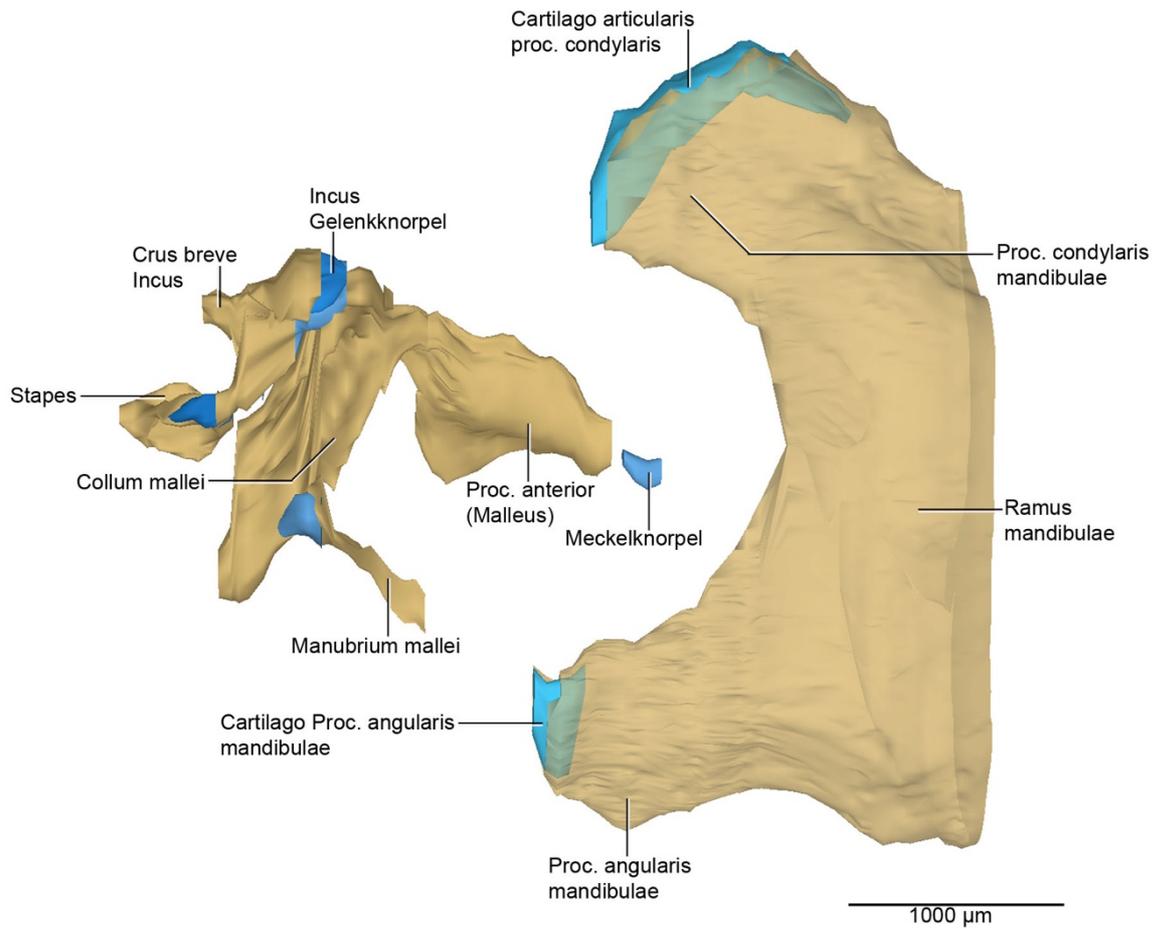


Abb. 73: P10, dreidimensionale Darstellung der rechten Kiefergelenk- und Mittelohrregion
 3D-Teilrekonstruktion des rechten Meckelknorpel und umgebenden Strukturen.
 Ramus mandibulae ist transparent dargestellt.
 Ansicht von lateral

5.3 Morphometrie

Die morphometrischen Ergebnisse, die in den dreidimensionalen Rekonstruktionen erhoben wurden, ergaben folgende Tabellen. Zur Veranschaulichung wurden einige Ergebnisse grafisch dargestellt.

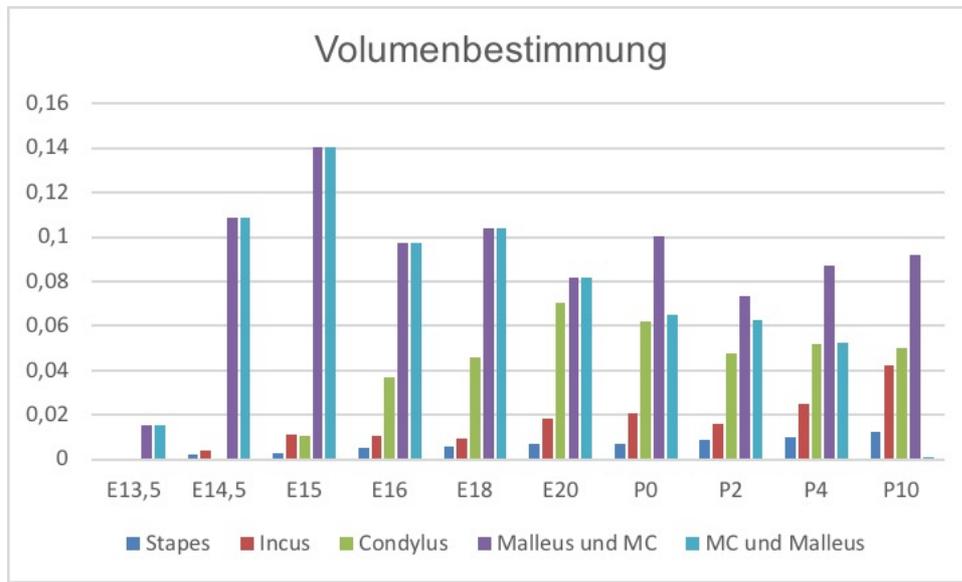
Stage	Abstand zwischen Art. Incudomallearis und Art. temporomandibularis in μm
E15	600
E16	534
E18	608
E20	466
P0	542
P2	680
P4	709
P10	1017

Tab. 3: Abstand zwischen Art. incudomallearis und Art. temporomandibularis in μm

Volumenbestimmung					
Stadium	Stapes	Incus	Kondylusknorpel	Malleus und MC	MC und Malleus
E13,5				0,0153	0,0153
E14,5	0,0023	0,0043		0,109	0,109
E15	0,0032	0,0111	0,0108	0,1402	0,1402
E16	0,0054	0,0107	0,037	0,0972	0,0972
E18	0,0059	0,0092	0,0462	0,1041	0,1041
E20	0,007	0,0185	0,0705	0,0819	0,0819
P0	0,0072	0,0208	0,0618	0,1002	0,0649
P2	0,0086	0,0163	0,0479	0,0737	0,0627
P4	0,0101	0,0248	0,0518	0,0869	0,0528
P10	0,0122	0,0421	0,0504	0,092	0,001

Tab. 4: Volumenbestimmung

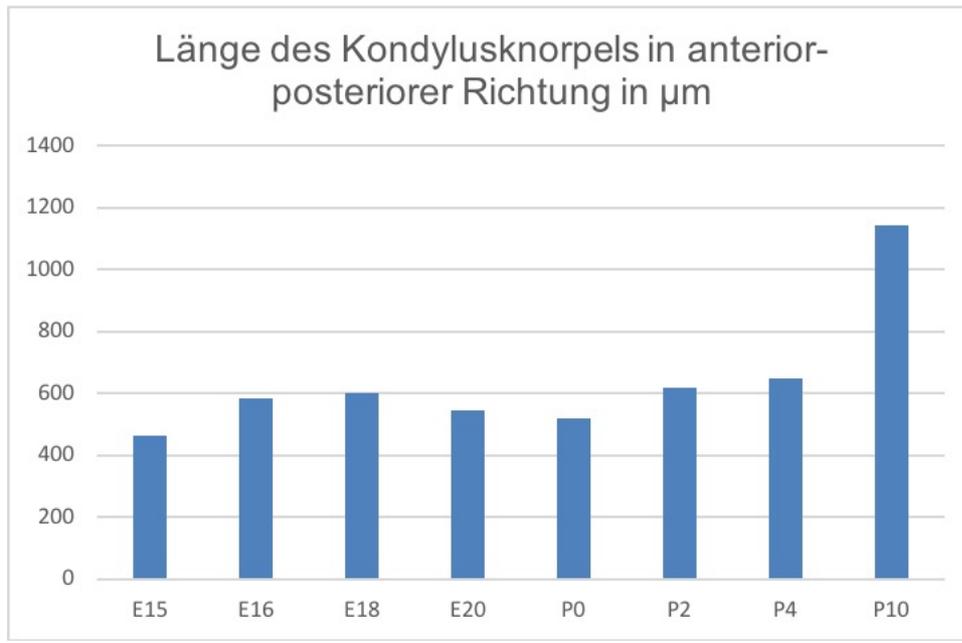
Volumenbestimmung der Strukturen Stapes, Incus, Kondylusknorpel, Malleus-Meckel-Verbund und Meckel-Malleus-Verbund in den Stadien E13.5-P10
MC steht für Meckelknorpel



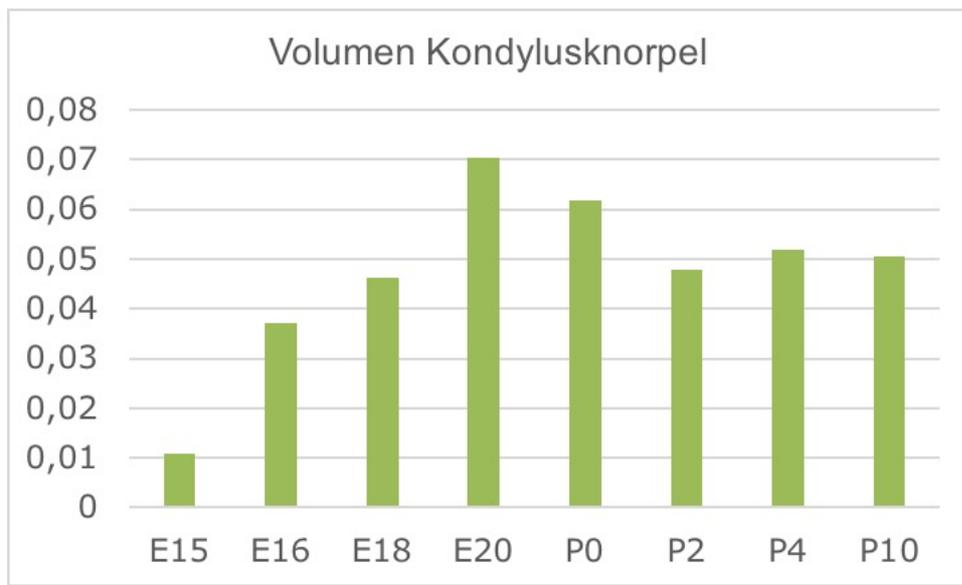
Grafik 1: Volumenbestimmung ausgewählter Strukturen in mm³
Grafische Darstellung der Daten aus Tabelle 4

Stadium	Länge des Kondyluskorpels in anterior-posteriorer Richtung in μm
E15	464
E16	584
E18	600
E20	544
P0	520
P2	620
P4	650
P10	1145

Tab. 5: Länge des Kondyluskorpels in anterior-posteriorer Richtung in μm
(Kokot, 2021)



Grafik 2: Länge des Kondyluskorpels in anterior-posteriorer Richtung
 x-Achse zeigt das Entwicklungsstadium E15-P10
 y-Achse zeigt die Länge in µm



Grafik 3: Volumenbestimmung des Kondyluskorpels in mm³
 x-Achse zeigt das Entwicklungsstadium E15-P10
 y-Achse zeigt das Volumen in mm³

Stadium	Mediale Begrenzung der Fossa mandibularis in μm	Laterale Begrenzung der Fossa mandibularis in μm
E14.5	127	117
E15	211	166
E16	378	269
E18	300	232
E20	652	300
P0	788	754
P2	859	765
P4	841	634
P10	1526	831

Tab. 6: Höhe der medialen und lateralen Begrenzung der Fossa mandibularis in μm

Stadium	Abstand vom Kondylusknorpel zur Fossa mandibularis in μm	Abstand vom Kondylusknorpel zum Knochenkragen des Proc. condylaris mandibulae in μm
E15	435	162
E16	202	230
E18	216	224
E20	133	206
P0	63	277
P2	156	137
P4	167	95
P10	254	203

Tab. 7: Abstandsbestimmung in μm

Geringster Abstand des Kondylusknorpels zur Fossa mandibularis und
Größter Abstand des Kondylusknorpels zum Knochenkragen des Proc. condylaris

6. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die embryologische Entwicklung des primären und sekundären Kiefergelenkes, sowohl in räumlicher, als auch in zeitlicher Abfolge zu untersuchen und darzustellen. Als Studienobjekt diente die Maus (*Mus musculus*). Die Fragestellung focussiert sich auf die Zeitspanne des Übergangs vom primären zum sekundären Kiefergelenk, wobei interessanterweise für eine gewisse Zeit beide Gelenke, das primäre und das sekundäre, gleichzeitig vorhanden sind. In dieser Arbeit, wurden erstmals der Zeitpunkt der Trennung mit der genauen Lokalisation der Trennung in Verbindung gebracht und dargestellt. Erst durch die dreidimensionale Darstellung wird die Problematik mit der Verbindung der beiden Gelenke bis über die Geburt der Maus hinweg, deutlich. Desweiteren sollten die Knorpelgewebe, die an der Bildung der beiden Gelenke beteiligt sind, untersucht werden.

6.1 Diskussion des Materials

6.1.1 Maus als gewähltes Versuchstier

Für unsere Untersuchung wurde die Hausmaus (*Mus musculus* C57Bl/6J) als Versuchstier gewählt. Die Maus ist ein etablierter Modellorganismus (Judd 2001, Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, 2014) und sie ist mit der Ratte zusammen, das am Häufigsten verwendete Versuchstier zur Untersuchung des craniofazialen Systems. Eine Untersuchung der oben genannten Fragestellung an menschlichem Material ist ethisch nicht vertretbar, da kein ausreichendes Material in den gewünschten Entwicklungsstadien zur Verfügung steht.

Der Vorteil der Verwendung von Mäusen als Modellorganismus ist die biologische Ähnlichkeit von Mäusen und Menschen. Das Genom der Hausmaus stimmt über 80% mit dem des Menschen überein.

Auch beim Menschen läuft die Entstehung der *Articulatio temporomandibularis* und der *Articulatio incudomalleolaris* auf ähnliche Weise ab, allerdings findet die Trennung zwischen Schalleitung und Kaufunktion vor der Entbindung statt, weshalb die

Ernährung noch über die Nabelschnur gewährleistet ist und sich somit nicht die Fragestellung nach der Einschränkung der Kau- oder Hörfunktion stellt.

Ein Problem bei der Verwendung der Maus als Versuchstier war die genaue Altersbestimmung. Die Trächtigkeit der Muttertiere wurde nur einmal täglich kontrolliert, somit können bei der Altersbestimmung Schwankungen von 24 Stunden vorkommen. Eine höhere Anzahl von Individuen pro Stadium könnten den Fehler verringern, von einer weiteren Tötung von Mäuseembryonen wurde aus ethischen Gründen Abstand genommen. Desweiteren schränkt der hohe zeitliche Aufwand zur Erstellung der dreidimensionalen Rekonstruktionen die Anzahl der Individuen pro Stadium weiter ein.

Schwerpunkt dieser Untersuchung ist die räumliche und zeitliche Abfolge der Entwicklung der beiden Gelenke über viele Entwicklungsstadien hinweg. Eine horizontale Betrachtung der einzelnen Stadien bleibt künftigen Untersuchungen vorbehalten.

6.2 Diskussion der Methode

6.2.1 Histologische Befundung der Schnittserien in Verbindung mit 3D- Rekonstruktionstechnik

Embryologische Fragestellungen beziehen sich meistens auf die Untersuchung der Gestaltentwicklung. Dies ist ein dreidimensionales Problem. Zudem kommt noch der zeitliche Aspekt hinzu. Außerdem interessiert, die Veränderung und Differenzierung des Gewebes. Dies ist am günstigsten mit histologischen Methoden zu untersuchen. Während im histologischen Einzelschnitt die Form des Organes nicht in seiner räumlichen Konfiguration wiedergegeben werden kann, ist dies dennoch möglich, wenn aus zusammenhängenden Schnittserien dieser Zusammenhang durch 3D-Rekonstruktionen wiederhergestellt wird. Diese Methode der dreidimensionalen Rekonstruktion aus Schnittserien geht auf Born (1883) zurück und ist ein etabliertes Verfahren in der Grundlagenforschung zur Embryonalentwicklung (Low, 1909; Fawcett, 1910; Blechschmidt, 1954, 1963; Gaunt und Gaunt, 1978; Harada et al., 1988, 1990; Peterkova et al., 1995, 2002, 2014). Auf diese Weise wird die parallele Beurteilung von

Hart- und Weichgeweben, sowie die zelluläre Anordnung im histologischen Schnitt und die räumliche Ausdehnung der Form am selben Präparat ermöglicht.

„Die Anfertigung von Rekonstruktionen mehrerer aufeinanderfolgender Stadien bietet den Vorteil, dass über einen begrenzten Zeitraum die Entwicklung mikroskopischer Strukturen im Raum verfolgt werden kann“ (Nowak, 2016).

Der Vorteil der Verwendung von histologischen Schnittserien ist, dass man durch verschiedene Färbungen unterschiedliche Fragestellungen an nur einer Schnittserie bearbeiten kann. Artefakte wie Risse, Schrumpfungsphänomene und Verzerrungen des Gewebes sind trotz sorgfältigster Verarbeitung nicht auszuschließen (Mulisch und Welsch, 2010)

Diese Artefakte, die die Beurteilung räumlicher Zusammenhänge im zweidimensionalen histologischen Schnitt erschweren, werden durch die Erstellung von dreidimensionalen Rekonstruktionen weitestgehend ausgeglichen (Gaunt und Gaunt, 1978). Bedingung dafür ist allerdings, die korrekte Zuordnung der aufeinanderfolgenden Einzelschnitte. Diese birgt zwar Fehlerquellen, die aber durch die gleichzeitige Rekonstruktion verschiedener bekannter Strukturen erkannt und ausgeglichen werden können (Meyer und Domanico, 1988; Radlanski und Renz, 2003). So dienen beispielsweise die Augen als Referenzstrukturen, deren geometrische Form bekannt ist.

Ob Einzelschnitt oder 3D-Rekonstruktion aus Schnittserien, beide zeigen nur ein Momentbild einer eigentlich kontinuierlichen Entwicklung. Trotz vielerlei Versuche der Automatisierung ist die 3D-Rekonstruktion aus Schnittserien noch immer sehr zeitintensiv, denn es bedarf der diagnostischen Kontrolle durch ein geschultes menschliches Auge, wenn Gewebegrenzen im histologischen Schnitt bei ungleichmäßiger Färbung dennoch erkannt werden müssen. Aus diesem Grund konnte letztlich jeweils nur ein Präparat dreidimensional rekonstruiert werden. Deshalb konnten individuelle Abweichungen und individuelle Entwicklungsunterschiede in dreidimensionalen Darstellungen nicht erfasst werden. Für die histologische Kontrolle standen jedoch verschiedene Schnittserien desselben Entwicklungsstadiums zur Verfügung.

Alternative dreidimensionale Darstellungsmethoden wie das μ CT und das μ MRT kamen für unsere Untersuchung nicht in Frage. Beim μ MRT sind die Schichtdicken zu groß um beispielsweise Veränderungen bei der *Articulatio incudomallearis* untersuchen zu

können. Beim μ CT stellt die reine Hartgewebstdarstellung ein Problem dar (Radlanski et al., 1999; Ho et al., 2010; Gomes Rodrigues et al., 2012; Herber et al., 2012; Leong et al., 2012; Naveh et al., 2012, 2013). Neuerdings können auch Weichgewebe im μ CT dargestellt werden, diese müssten aber für embryologische Untersuchungen mit hohem Aufwand kalibriert werden (Radlanski et al. 2021).

Trotz des hohen zeitlichen Aufwands, stellt die Befundung der histologischen Schnitte in Kombination mit der computergestützten dreidimensionalen Rekonstruktion folglich die Methode der Wahl dar. Sie ermöglicht eine detaillierte Darstellung auf zellulärer Ebene und gleichzeitig eine Übersicht über die gesamte zu untersuchende Region (Nowak, 2016). Desweiteren ermöglicht sie die selektive Darstellung einzelner Objekte, beziehungsweise die transparente Darstellung einzelner Objekte, wodurch die Entwicklung einer Region oder bestimmter Strukturen, besser dargestellt werden kann.

6.2.2 Diskussion der Morphometrie

Anhand der dreidimensionalen Darstellungen der Stadien E13.5, E14.5, E15, E16, E18, E20, P0, P2, P4 und P10 wurden Vermessungen durchgeführt. Es erfolgten Abstandsmessungen mit der dafür vorgegebenen Funktion der Software AnalySIS. Zunächst wurde die Höhe der lateralen und medialen Begrenzung der Fossa mandibularis, bestimmt. Gemessen wurde in den Stadien E14.5-P10.

Desweiteren wurde der kürzeste Abstand zwischen Kondylusknorpel und Fossa mandibularis bestimmt, sowie der weiteste Abstand zwischen dem Knochenkragen des Proc. condylaris mandibulae und dem Kondylusknorpel. Die anteriore-posteriore Länge des Kondylusknorpels wurde ebenfalls bestimmt. Bei all diesen Abstandsmessungen wurden die Stadien E13.5 und E14.5 ausgeschlossen, da sich der Kondylusknorpel in beiden Stadien noch nicht entwickelt hatte.

Desweiteren erfolgten Volumenbestimmungen der Strukturen Incus, Stapes, Malleus-Meckel-Verbund, Meckel-Malleus-Verbund und des Kondylusknorpels. Um die Volumina zu bestimmen wurde die Funktion der Software AnalySIS verwendet. Die Messungen dienen dem Entwicklungsvergleich der Stadien untereinander. Im Stadium E13.5 konnte das Volumen von Incus und Stapes und das des Kondylusknorpels nicht bestimmt werden, da die Strukturen noch nicht vorhanden waren. Der Malleus-Meckel-

Verbund ist starken Veränderungen unterworfen. Aus einem einteiligen Meckelknorpel entstehen zunächst zwei Teile, dann drei Teile, dann ossifiziert der Malleus, wobei sich der Gonialknochen dem ossifizierenden Malleus angliedert. Da sich diese Arbeit mit dem primären und sekundären Kiefergelenk befasst, wurde beim Meckelknorpel ab dem Stadium E16 nur noch der posteriore Anteil näher betrachtet und sein Volumen bestimmt. Ab dem Stadium P0 erfolgte eine Einteilung in einen Malleus-Meckel- und einen Meckel-Malleus-Verbund. Ab dem Stadium P0 wurde für den Meckel-Malleus-Verbund das Volumen des posterioren Meckelknorpel und das Volumen des Malleus-Knorpels zusammengefasst, da diese nicht voneinander getrennt betrachtet werden konnten. Für das Volumen des Malleus-Meckel-Verbundes wurde zusätzlich noch der Malleus-Knochen und das Volumen des Gonialknochen addiert, da diese ab P0 nicht mehr getrennt betrachtet werden konnte. Im Stadium P10 können Malleus und Meckelknorpel getrennt voneinander betrachtet werden.

Zusätzlich wurde der Abstand zwischen der *Articulatio incudomallearis* und der *Articulatio temporomandibularis*, unter zu Hilfenahme von kephalometrischen Orientierungslinien, bestimmt. Es ist allerdings zu beachten, dass erstens die Orientierungspunkte in verschiedenen Entwicklungsstadien und über verschiedene Exemplare hinweg gleichwertig sein sollten und zweitens kann es aufgrund der ständigen Umgestaltung, die sie durchlaufen, schwierig sein, Orientierungspunkte während der Entwicklung von Strukturen auszuwählen (Bernuy, 2013).

Die in unserer Untersuchung verwendete Orientierungslinie beruht auf den Orientierungspunkten Or (Orbitale) und Inc.ant. (*Incus anterior*). Beide Punkte sind schon früh in der Entwicklung sichtbar und keinen starken Lageveränderungen unterworfen.

Für die Abstandsmessungen, als auch für die kephalometrische Messung, wurden die dreidimensionalen Rekonstruktionen manuell ausgerichtet, dadurch kann es zu Ungenauigkeiten kommen.

Das Hauptaugenmerk unserer Untersuchung lag auf einer Übersicht über die morphologischen Entwicklungen der verschiedenen Stadien hinweg, nicht jedoch auf den morphometrischen Daten; sie dienen nur der Ergänzung

Für eine Auswertung mittels analytischer Statistik waren nicht genug Individuen pro Entwicklungsstadium vorhanden (Nowak, 2016).

6.3 Diskussion der Ergebnisse

Bevor wir zur Diskussion der Ergebnisse vor dem Hintergrunde der Literatur kommen, werden sie an dieser Stelle noch einmal zusammengefasst:

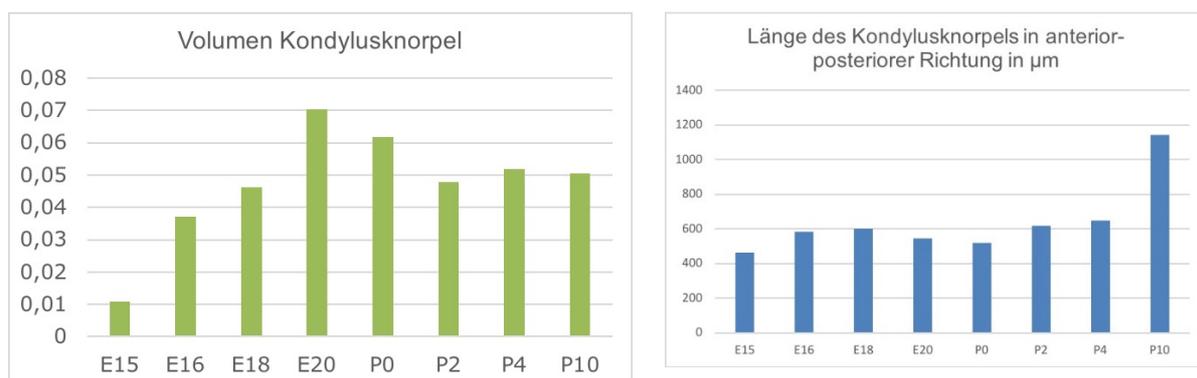
- 6.3.1** Die 3D-Rekonstruktionen zeigen eine zeitliche und räumliche Darstellung der Entwicklung und Ausdehnung des Sekundärknorpels im Proc. condylaris und damit verbunden die Entstehung der Articulatio temporomandibularis als Anlagerungsgelenk.
Die histologischen Schnitte zeigen die Zonenaufteilung der Knorpelzellen im Proc. condylaris
- 6.3.2** Die 3D-Rekonstruktionen zeigen die Entwicklung und Ausdehnung von Stapes, Malleus und Incus.
Die Rekonstruktionen zeigen die ersten Ossifikationszentren am Malleus und Incus und damit verbunden die Entstehung und Lage des Gonialknochens.
Die histologischen Schnitte zeigen, dass der Malleus sowohl chondrale als auch desmale Ossifikationsmodi zeigt.
Über die histologischen Schnitte lässt sich die Entstehung der Art. Incudomallearis nachverfolgen.
- 6.3.3** Die Befunde zeigen, über welchen Zeitraum beide Gelenke über den Meckelknorpel verbunden sind. Desweiteren wird die räumliche und zeitliche Abfolge, wann und wo die Trennung der beiden Gelenke voneinander stattfindet, ersichtlich.

Zu 6.3.1 Die Resorptions- und Apositionsvorgänge des Kondylusknorpels

Der Kondylusknorpel konnte in unserer Untersuchung erstmals bei E15 beobachtet werden. Diese Beobachtung stimmt mit den Untersuchungen von Shibata et al. (1996) und Robinson et al. (2015) überein. Tsuchikawa et al. (2010) und Kenzaki et al. (2011) schreiben, dass schon im Stadium E14.5 hypertrophe Chondrozyten erkannt wurden. Gu et al. (2008, 2014) und Liang et al. (2016) sehen hypertrophe Chondrozyten im Stadium E15.5.

Der Kondylusknorpel zeigt im Stadium E15 eine Karottenform. Der Knorpel wird dann von der inferioren Spitze her immer kleiner. Über die genaue Formgebung des Kondylusknorpel bei der Maus, ist in der Literatur nicht viel zu finden, da keine dreidimensionale Darstellung erfolgte. Unsere Untersuchung zeigt, dass der Kondylusknorpel von inferior durch Knochen ersetzt wird. Schon im Stadium E16 erkennt man keine Spitze mehr, die nach inferior ragt. Dafür findet eine Ausdehnung nach posterior statt.

Die anterior-posteriore-Länge nimmt vom Stadium E15 bis zum Stadium P4 um fast 200 μm zu. Wohingegen die Volumenmessungen zeigen, dass das Volumen bis zum Stadium E20 zunimmt und danach eher sinkt.



Grafik 4: Vergleich der Volumenbestimmungen des Kondylusknorpels und der Längen des Kondylusknorpels

Betrachtet man die beiden Graphiken nebeneinander, dann fällt auf, dass das Volumen des Kondylusknorpels in den Stadien E20 und P0 am größten ist, die anterior-posteriore

Länge, ist in den beiden Stadien am geringsten. Nach der Geburt findet eine Ausdehnung des Kondyluskorpels vor allem nach posterior statt.

Histologisch kann im Kondylusknorpel eine Schicht mit Fibrozyten, eine Proliferationszone und die Zone der hypertrophen Chondrozyten unterschieden werden. Von dieser Zoneneinteilung sprechen auch Purcell et al. (2009) und Liang et al. (2016).

Tsuchikawa et al. (2010) und Kenzaki et al. (2011) beschreiben, dass der Proc. condylaris aus zwei Zellaggregaten entsteht. Dem peripheren Zellaggregat und dem zentralen Zellaggregat. Das periphere Aggregat entwickelt sich zu einem Fibrozytenmantel, der den Kondyluskopf bedeckt und aus dem sich der Discus articularis (E18) entwickelt.

Das zentrale Zellaggregat wird in 2 Bereiche eingeteilt. Einen Randbereich, hier entwickeln sich osteogene Zellen und es entsteht durch intramembranöse Ossifikation der Knochenkragen an den Seiten des Proc. condylaris. Und der zentrale Bereich, hier entwickeln sich hypertrophe Chondrozyten und durch enchondrale Ossifikation verknöchert das Zentrum des Proc. condylaris.

Auch in unserer Untersuchung konnte die enchondrale Ossifikation im inferioren Bereich der hypertrophen Zone, im Stadium E16 beobachtet werden. Schaut man sich die Zonenaufteilung in den postnatalen Stadien an, so können im Kondylusknorpel 4 Zonen unterschieden werden. Eine Fibrozytenzellschicht, eine Proliferationsschicht, eine Schicht mit polymorphen Chondrozyten und die hypertrophe Zellschicht.

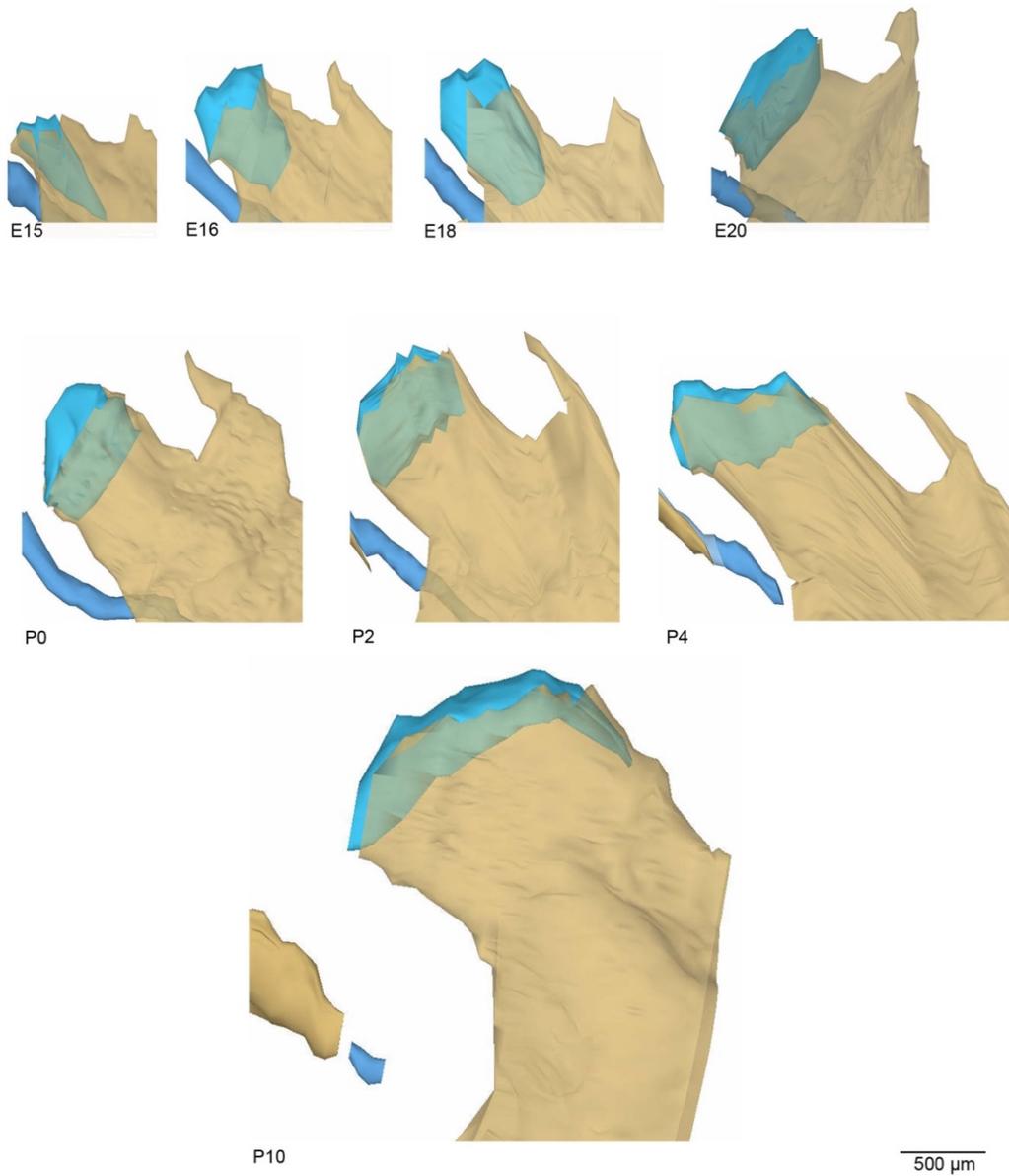


Abb. 74: E15-P10, Dreidimensionale Darstellung des rechten Proc. condylaris mandibulae
 Größenvergleich über die Entwicklungsstadien E15-P10 der 3D-Teilrekonstruktion des
 Kondyluskorpels und des Proc. condylaris mandibulae.
 Proc. condylaris ist transparent dargestellt.
 Ansicht von lateral

Der Discus articularis war in unserer Untersuchung schon im Stadium E14.5 als verdichtets Mesenchym erkennbar.

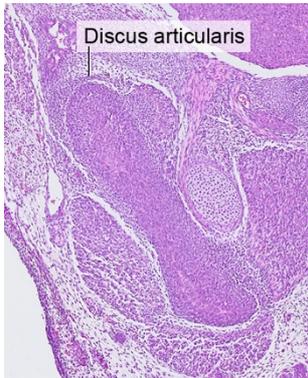


Abb. 75: E14.5, histologische Übersichtsdarstellung

Frontalschnitt auf Höhe des Proc. condylaris mandibulae.

Discus articularis als verdichtets Mesenchym erkennbar.

Färbung: HE

Liang et al. (2016) sehen die Entstehung des Discus bei E15.5 und Ohshima et al. (2011) bei E16.

Jahan et al. (2010) berichten von Kieferbewegungen ab dem Stadium E15.5.

Tsunekawa et al. (2005), beschreiben intrauterine Kieferbewegungen von Mäusen

schon ab E14. Da sich das Kiefergelenk als Anlagerungsgelenk entwickelt ist der

Abstand zwischen Kondylus und Fossa noch so groß, dass nicht wirklich von

Kiefergelenksbewegungen ausgegangen werden kann. Im Stadium E15 war der

Abstand zwischen Kondylus und Fossa mandibularis 435 μm . Auch hatten sich die

Gelenkspalten noch nicht gebildet. Der obere Gelenkspalt zeigte im Stadium E18 schon

einige bindegewebsfreie Kompartimente. Beim unteren Gelenkspalt konnten vereinzelte

bindegewebsfreie Kompartimente im Stadium E20 beobachtet werden.

Ab dem Stadium E20 sind alle Strukturen, die an der Artikulation beteiligt sind

ausgebildet. Der Kondylusknorpel und die Fossa mandibularis haben sich bis auf 133

μm angenähert. Ein Artikulieren erscheint wahrscheinlich.

Zu 6.3.2 Die Entstehung der Kette der Gehörknöchelchen

Die Gehörknöchelchen entstehen dadurch, dass Zellen der Schädelneuralleiste in den Bereich des Pharyngealbogen wandern. Malleus und Incus erscheinen zusammen mit dem Meckelknorpel, als eine mesenchymale Kondensation (Masuda et al., 1986; Miyake et al., 1996). Incus und Meckelknorpel sowie der Großteil des Malleus entstehen aus Zellen des 1. Visceralbogens. Der Stapes entwickelt sich aus Zellen des 2. Visceralbogens. In unserer Untersuchung können Stapes und Incus im Stadium E14,5 als separate knorpelige Strukturen erkannt werden. Schon die knorpelige Vorform ähnelt der ossifizierten adulten Form. Lage und Größe ändern sich über die Stadien E15-P4 nur wenig. Im postnatalen Stadium P2 beginnt die Verknöcherung des Incus am Crus breve. Hier entsteht durch enchondrale Ossifikation das erste Ossifikationszentrum des Incus. Der Knochen folgt damit der Form des Knorpels. Der Stapes bleibt bis zum Stadium P4 rein knorpelig.

Von einem Malleus kann erst ab dem Stadium P4 gesprochen werden. Ab diesem Zeitpunkt, hat sich der posteriore Teil des Meckelknorpel so weit zurückgebildet, dass er nicht mehr mit dem Mandibularknochen in Verbindung steht.

Das erste enchondrale Ossifikationszentrum der Kette der Gehörknöchelchen konnte in unserer Untersuchung im Stadium P0 kurz nach der Geburt beobachtet werden. Auch Shibata et al. (2019) sehen die Initiation der enchondralen Ossifikation im Stadium P0. Der Malleus zeigt nicht nur enchondrale Ossifikation. Unsere Untersuchung zeigt, dass im Stadium E15 inferior des posterioren Endes des Meckelknorpel, durch intramembranöse Ossifikation, der Gonialknochen entsteht. Diese kleine Verknöcherung dehnt sich nach anterior aus und ummantelt den Meckelknorpel von inferior. Im Stadium P0 wird deutlich, dass aus dem Gonialknochen, der spätere Processus anterior des Malleus entsteht. Man erkennt, dass sich die enchondrale Ossifikation mit der intramembranösen Ossifikation, verbindet. Aus dem ehemaligen Gonialknochen wird der knöchernen Processus anterior des Malleus.

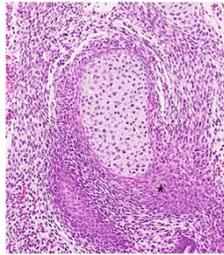


Abb. 76

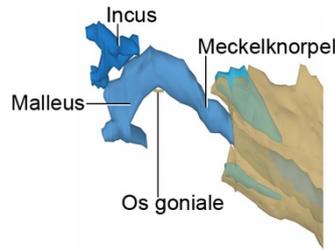


Abb. 77

Abb. 76: E15, histologische Darstellung des posterioren Meckelknorpel

Frontalschnitt auf Höhe des Os goniale

* markiert das Os goniale

Färbung: HE

Abb. 77: E15, dreidimensionale Darstellung der Gehörknöchelkette und umgebenden Strukturen

3D-Teilrekonstruktion zeigt die Lage des Os goniale im Bezug zum Malleus und Meckelknorpel

Shibata et al. (2019) sehen den Gonialknochen erstmals im Stadium E16 und Anthwal et al. (2013) schreiben nur, dass der Processus anterior des Malleus aus dem Gonialknochen durch intramembranöse Ossifikation, entsteht.

Die Entstehung der Art. incudomallearis beginnt, wenn Incus und Malleus als separate Strukturen erkannt werden. Incus und Malleus entstehen aus einem Blastem und sind bis zum Stadium E13,5 miteinander verbunden, ab dem Stadium E14,5 sind sie als separate Strukturen erkennbar (Amin und Tucker, 2006; Amin et al. 2007). In unserer Untersuchung können Incus und Malleus als chondrale Strukturen ab dem Stadium E14,5 erkannt werden, wobei der Malleus das posteriore Ende des Meckelknorpel ist. Eine perichondrale Abgrenzung der beiden Strukturen ist im Stadium E14,5 nicht immer eindeutig sichtbar. Bis zum Stadium P2 ist lockeres Bindegewebe zwischen den angrenzenden Anteilen der beiden Strukturen sichtbar. Im Stadium P4 sind Incus und Malleus durch das Perichondrium klar voneinander abgegrenzt. Die Perichondrien der beiden Strukturen grenzen direkt aneinander. Es ist kein lockeres Bindegewebe mehr sichtbar.

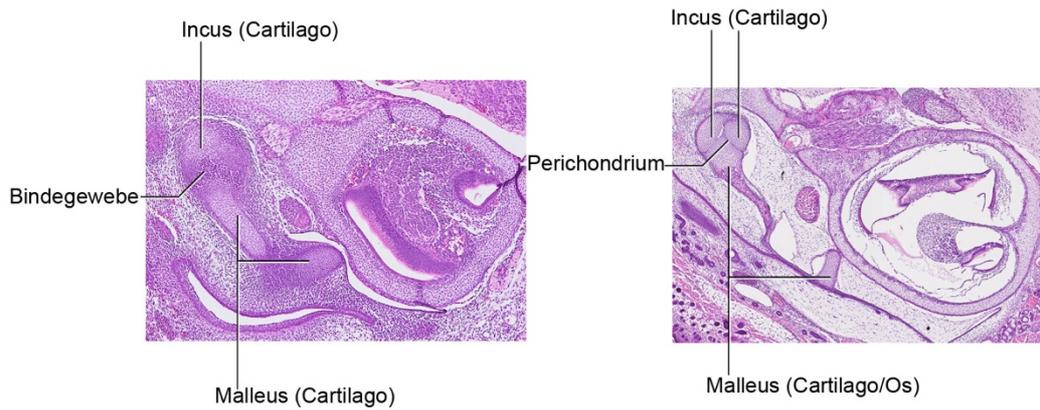


Abb. 78: Vergleich E14.5 und P4, histologische Darstellung der Ohrregion

Frontalschnitte auf Höhe der Articulatio Incudomallearis linkes Bild E14.5, rechtes Bild P4.
Färbung: HE

Nakanishi und Iwai-Liao (1990) berichten, dass ab dem Stadium P4 und P5 die Ossifizierung im Bereich des Gelenkes stark fortschreitet. Ab dem Stadium P6 kann nur noch eine dünne hyaline Knorpelschicht im Bereich des Art. incudomallearis erkannt werden. Diese Befunde stimmen mit den Ergebnissen dieser Arbeit überein. Auch hier konnte im Stadium P6 eine schnelle Ossifizierung des Incus und des Malleus erkannt werden.

Desweiteren war im Stadium P6 der Meckelknorpel klar vom Malleus getrennt. Es war nur noch ein kleiner Teil des posterioren Meckelknorpel vorhanden.

Auch im Stadium P10 ist noch ein kurzer Anteil des posterioren Meckelknorpel sichtbar. Er liegt zwischen dem Proc. anterior des Malleus und dem Hinterrand der Mandibula, steht aber mit keinem von beidem in Kontakt.

Im Stadium P12 erreichen die Gehörknöchelchen fast ihre adulte Größe, das mesenchymale Gewebe, welches Malleus, Incus und Stapes umgibt wurde resorbiert, um die Cavitas tympani zu formen (Roberts und Miller, 1998; Anthwal und Thompson, 2016).

Zu 6.3.3 Das zeitweise gleichzeitige Vorhandensein von „primärem“ und „sekundärem“ Kiefergelenk.

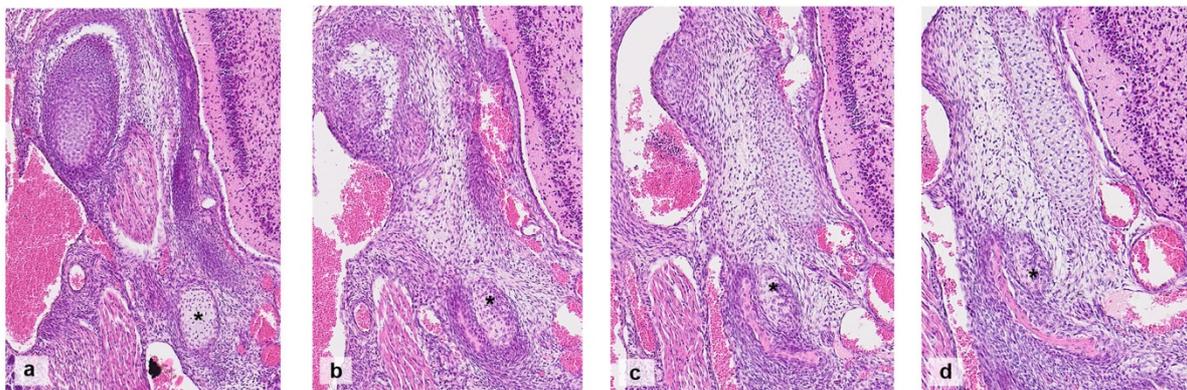
Anthwal et al. (2013) schreiben, Incus und Malleus bilden sich aus dem posterioren Part des Meckelknorpel und sind über weite Teile der embryonalen Entwicklung mit der Mandibula verbunden.

Bei der Maus beginnt die knorpelige Verbindung zwischen Ohr und Kiefer um den postnatalen Tag P2 zu brechen (Anthwal et al. 2013). Sie berichten, dass ab dem Tag P3 der Meckelknorpel nicht mehr mit Alcian blau angefärbt werden kann.

Unsere Untersuchung zeigt im Stadium P4 zwei wichtige Ergebnisse:

Zum einen findet eine Separation der Ohrregion vom Kiefer dadurch statt, dass sich der Meckelknorpel soweit zurückgebildet hat, dass zwischen dem Hinterrand der Mandibula und dem Meckelknorpel eine Lücke entsteht.

Zum anderen sehen wir im posterioren Bereich superior des knöchernen Proc. anterior des Malleus eine Umwandlung der Zellen des Meckelknorpel. Es sind kaum mehr hypertrophe Chondrozyten ersichtlich. Man erkennt verdichtete Bindegewebszellen, die vom ehemaligen Perichondrium umgeben sind.



* in a Meckelknorpel mit hypertrophen Chondrozyten

* in b c d Meckelknorpel ohne hypertrophe Chondrozyten

Abb. 79: P4, histologische Übersichtsdarstellungen

Frontalschnitte auf Höhe des Proc. anterior des Malleus

* markiert den Meckelknorpel

Färbung: HE

Die Elastika-Trichrom Färbung die im Rahmen der Untersuchung „Zur Entwicklung des Ligamentum sphenomandibulare bei der Maus“ (Kokot, 2021) durchgeführt wurde, zeigt keine Faserbildung superior des Proc. anterior des Malleus.

Unsere Untersuchung zeigt, dass die verdichteten Zellen des ehemaligen Meckelknorpel im Bereich superior des Processus anterior des Malleus im Stadium P6 nicht mehr ersichtlich sind.

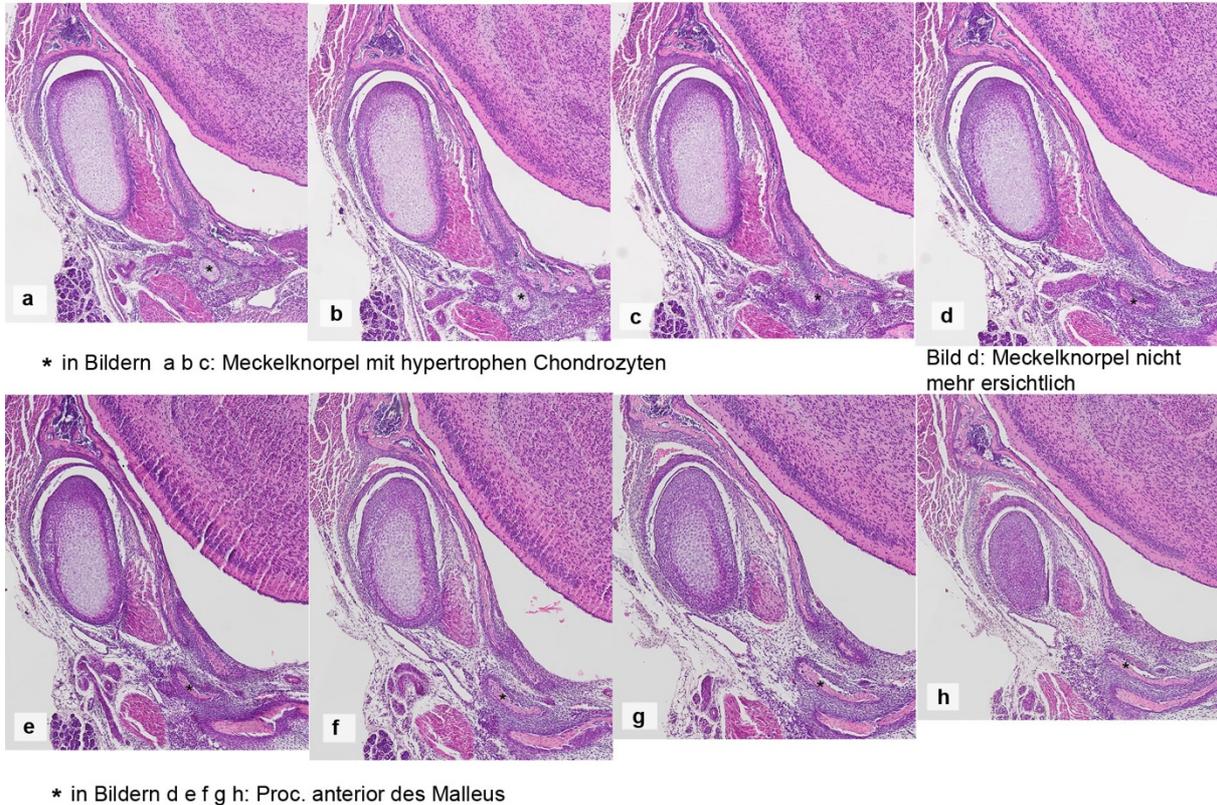


Abb. 80: P6, histologische Übersichtsdarstellungen

Frontalschnitte auf Höhe des posterioren Meckelknorpel und dem anterioren Proc. anterior des Malleus
 Färbung: HE

Ein kurzer Anteil des posterioren Meckelknorpel ist zwischen Processus anterior und Hinterrand Mandibula sichtbar. Dieser ist auch bei P10 noch erkennbar. Er hat weder Kontakt zum Processus anterior des Malleus, noch zur Mandibula.

Bis 2 Tage nach der Geburt der Maus, sind beide Gelenke, das primäre und sekundäre Kiefergelenk gleichzeitig vorhanden. Erst ab dem Tag P4 müsste die Articulatio temporomandibularis frei artikulieren können, da dann der Meckelknorpel keine Verbindung zur Mandibula mehr hat. Ab dem Stadium P6 besteht auch keine Verbindung mehr zwischen dem Meckelknorpel und dem Malleus. Die Articulatio incudomalleolaris ist frei beweglich.

Es wird die Frage aufgeworfen, wie die beiden Gelenke, solange sie über den Meckelknorpel verbunden sind, miteinander funktionieren. Ab dem Stadium E20 sind alle Strukturen des Articulatio temporomandibularis, sowie alle für die Gelenkbewegung wichtigen Muskeln, vorhanden. Der obere und untere Gelenkspalt ist ersichtlich und der Abstand zwischen Kondylus und Fossa ist mit 133 µm gering. Ab diesem Stadium scheint ein Artikulieren wahrscheinlich.

Da Incus und Malleus bis zum Stadium E20 noch rein knorpelig sind, genau wie der Meckelknorpel, liegt die Vermutung nahe, dass es bei Kieferbewegungen zu einer Verformung im Bereich dieser Strukturen kommt. Ob die Verformung nur im Bereich des Meckelknorpel stattfindet oder auch Auswirkungen auf die Articulatio incudomalleolaris hat, müsste in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

Auch ist es möglich, dass der Unterkiefer in seinen Bewegungen eingeschränkt ist, ein Säugen müsste aber möglich sein, da die Verbindung der Gelenke bis P2 bestehen bleibt.

Unsere Untersuchung zeigt, dass nach der Trennung der Ohrregion von der Kieferregion im Stadium P4 eine Lageveränderung des Incus zu beobachten ist. In der Ansicht von posterior gesehen liegt das Crus breve des Incus weiter medial. Der Winkel zwischen Malleus und Incus ändert sich leicht. Desweiteren findet eine schnelle Ossifizierung von Malleus und Incus statt. Im Stadium P6 ist nur noch eine hyaline Knorpelschicht im Bereich der Articulatio incudomalleolaris ersichtlich. Dieser Befund stimmt überein mit dem Befund von Nakanishi und Iwai-Liao (1990). Sie sprechen von einer verstärkten Ossifizierung im Bereich der Articulatio incudomalleolaris zwischen den Stadien P5-P6.

Es ist häufig Gegenstand der Untersuchungen, welche molekularen Ereignisse zur Trennung des primären vom sekundären Kiefergelenk führen könnten, Sakakura et al. (2007) schreiben, dass die Chondrozyten des Meckelknorpel ihre Umwandlung ggf. durch MMPs regulieren, die Studie von Ishizeki et al. (2001) impliziert EGF als möglichen Initiator zur Umwandlung von Chondrozyten zu Fibroblasten und Urban et al. (2017) haben die Rolle der Chondroclasten bei der Trennung der Mittelohrregion von der Kiefergelenksregion untersucht. Abschließend schreiben sie,

dass die Chondroklastenaktivität zwar eine wichtige Rolle spielt, aber alleine nicht der Grund für die Trennung beziehungsweise Transformation des Meckelknorpel ist.

Die vorliegende Arbeit legt nahe, dass es auch eine mechanische Komponente geben könnte, die eine Rolle bei der Trennung der beiden Gelenke spielt. Kieferbewegungen werden schon ab dem Stadium E15.5 beschrieben (Jahan et al., 2010).

Habib et al. (2005) und Habib et al. (2007) berichten, dass es bei Restriktion der Kieferbewegungen zu einer morphologisch abnormalen Entwicklung des Kondylusknorpels und des Discus articularis kommt. Ob sich durch diese Restriktion auch Veränderungen im Bezug zum Abbauverhalten des Meckelknorpel, bzw ob sich Veränderungen im Bereich der Art. incudomallearis ergeben ist nicht untersucht worden.

Es gibt Finite-Elemente-Studien zum Verhalten von Knorpelwachstum und Verknöcherung bei enchondraler Ossifikation. Hier wird beschrieben, dass hydrostatischer Druck das Knorpelwachstum inhibiert, während Zugkräfte das Knorpelwachstum und die Ossifizierung fördert (Carter et al., 1987; Heegaard et al., 1999). Eine Untersuchung zum Verhalten des Meckelknorpel fehlt.

Der Möglichkeit, dass durch die Verbindung der beiden Gelenke über den Meckelknorpel und damit verbunden die Biegebeanspruchung des Meckelknorpel bei Kieferbewegungen auch ein Aspekt bei der Trennung der beiden Gelenke voneinander sein könnte, wird wenig Beachtung geschenkt.

6.4 Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Arbeit wurde erstmals neben der Untersuchung von 11 histologischen Schnittserien auch 3D-Rekonstruktionen der Kiefergelenks- und Mittelohrregion hergestellt. Eine genaue Kenntnis der zeitlichen und morphologischen Veränderungen des Kiefer- und Mittelohrgelenkes ist von zentraler Bedeutung um Fehlbildungen frühzeitig zu erkennen. Desweiteren wurden die Volumina und Konfigurationen der am Articulatio incudomallearis und Articulatio temporomandibularis, sowie dem Meckelknorpel beteiligten Knorpel untersucht. Knorpel An- und Abbauprozesse zu kennen und zu untersuchen, bietet die Möglichkeit neue Ansätze bei der in-vitro

Erzeugung von Knorpelgeweben zu finden. Die in dieser Arbeit erstellten computergestützten dreidimensionalen Rekonstruktionen legen nahe, dass sich die beiden Gelenke in ihren Bewegungen gegenseitig behindern.

Über den Zeitraum von E20-P2 müsste es bei Maulöffnungsbewegungen, zu einer starken Verformung der knorpeligen Strukturen (Meckelknorpel, Malleus, Incus) oder einer Einschränkung der Funktion der *Articulatio incudomallearis* oder einer Einschränkung in der Bewegungsfreiheit der *Mandibula* kommen, da diese über den Meckelknorpel verbunden sind. Die Einschränkung der Bewegung der *Mandibula* ist angesichts der Größe und Kraft der Kaumuskulatur nicht wahrscheinlich.

Die Lokalisation der Trennung von Malleus und *Mandibula* lässt vermuten, dass die beginnende Ossifizierung und der Zusammenschluss des Ossifikationszentrum am Malleus und Gonialknochen, die den Meckelknorpel von inferior umgreifen, dazu führt, dass eine stärkere Verformung nicht mehr möglich sein dürfte. Farahat et al. (2021) gehen davon aus, dass es bei einer festeren Umgebung (40 kPa Hydrogel) um den Meckelknorpel herum eher zu einer Degeneration der Chondrozyten kommt, während es bei einer weicheren Umgebung (10 kPa Hydrogel) eher zu einer Mineralisation und damit Ossifizierung kommt.

Es gibt weiterhin Hinweise darauf, dass im Zusammenspiel mit Veränderungen auf molekularer Ebene, auch eine biomechanische Komponente eine Rolle bei der Trennung der beiden Gelenke voneinander spielen könnte (Habib et al., 2005; Habib et al., 2007; Jahan et al., 2010).

Ausgehend von unseren dreidimensionalen Rekonstruktionen lenken wir die Diskussion aber auf mechanische Zusammenhänge, die möglicherweise Auslöser sein können für die beschriebenen Veränderungen auf molekularer Ebene. In den folgenden beiden Abbildungen ist die mögliche Bruchstelle des Meckelknorpels, wo die höchste Biegebeanspruchung, verbunden mit Scherkräften bei den Bewegungen der *Mandibula* gegen die Anlagen der Gehörknöchelchen angenommen werden, markiert.

Zur Abklärung dieser Annahme und auch weitergehender mechanischen Komponenten bei der Trennung der beiden Gelenke voneinander, wurden unsere Daten und Rekonstruktionen nach Bonn (Abteilung Oralmedizinische Technologie, Prof. Bourauel, Simon, L., in Arbeit) geschickt. Aus den dort erstellten Finite-Elemente-Analysen erwarten wir weiteren Aufschluss hierzu.

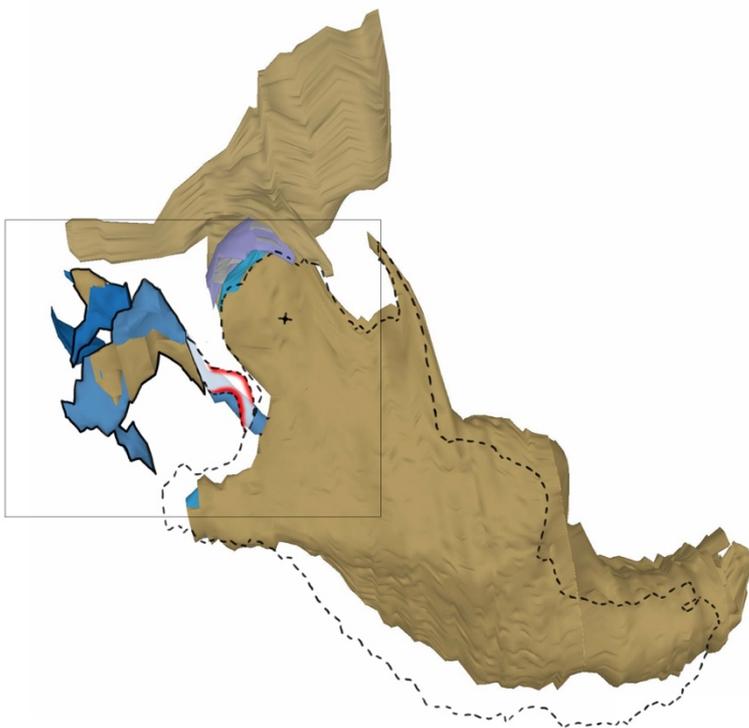


Abb. 81: Hypothetische Darstellung der Biegebeanspruchung bzw. der Scherkräfte, bei Maulöffnungsbewegung der Maus
 3D-Teilrekonstruktion des rechten Meckelknorpel und des Art. temporomandibularis und Art. incudomallearis. Stauchung des Meckelknorpel im posterioren Bereich

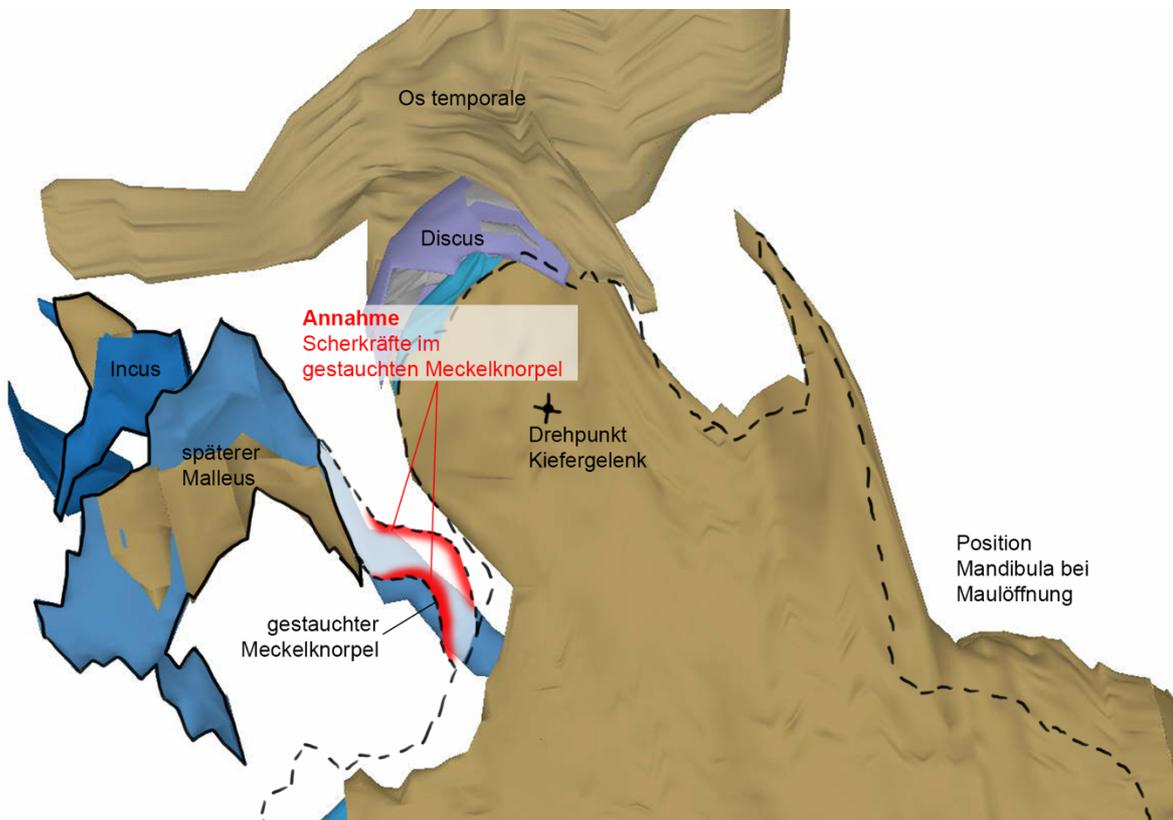


Abb. 82: Ausschnitt aus Abb. 81

7 Literaturverzeichnis

- Amin, S. & Tucker, A.S. (2006). Joint formation in the middle ear: lessons from the mouse and guinea pig. *Dev Dyn* 235: 1326–33.
- Amin, S., Matalova, E., Simpson, C., Yoshida, H. & Tucker, A.S. (2007). Incudomalleal joint formation: the roles of apoptosis, migration and downregulation. *BMC Dev Biol* 7: 134.
- Anthwal, N., Chai, Y. & Tucker A.S. (2008). The role of transforming growth factor beta signalling in the patterning of the proximal processes of the murine dentary. *Dev Dyn* 237(6):1604-13.
- Anthwal, N., Joshi, L. & Tucker A.S. (2013). Evolution of the mammalian middle ear and jaw: adaptations and novel structures. *J Anat* 222: 147–60.
- Anthwal, N. & Thompson, H. (2016). The development of the mammalian outer and middle ear. *J Anat* 228: 217–32.
- Anthwal, N., Urban, D.J., Luo Z-X., Sears K.E. & Tucker A.S. (2017). Meckel's cartilage breakdown offers clues to mammalian middle ear evolution. *Nat Ecol Evol* 1: 0093.
- Avery, J.A. (1988). *Development of cartilage and bones of the facial skeleton. Oral development and histology.* Williams & Wilkins.
- Baume, L.J. (1962). Ontogenesis of the human temporomandibular joint. 1. Development of the condyles. *J. Dent Res.* 41: 1327-39.
- Baume, L.J. (1962) The prenatal and postnatal development of the human temporomandibular joint. *Europ Orthod Soc Rep* 63: 63-73
- Baume, L.J. & Holz, J. (1970). Odontogenesis of the human temporomandibular joint. 2. Development of the temporal components. *J Dent Res.* 49(4): 864-75.
- Beckert, K. (2011). *Embryologische Untersuchungen zur Entstehung der Mittelohrregion beim Menschen zur Zeit der vorgeburtlichen Entwicklungsstadien von 19 bis 150mm SSL.* Diss Charité – Universitätsmedizin Berlin.
- Blechsmidt, E. (1954). Rekonstruktionsverfahren mit Verwendung von Kunststoffen. Ein Verfahren zur Ermittlung und Demonstration von Entwicklungsbewegungen. *Z Anat Entwicklungsgesch* 118: 170-74.
- Blechsmidt, E. (1963). *Der menschliche Embryo: Dokumentationen zur kinetischen Anatomie. The human embryo; documentation on kinetic anatomy.* Schattauer.
- Benninghoff, A. & Drenckhahn, D. (2014) *Anatomie. Bd.1.* (17. Aufl.), Elsevier Urban und Fischer.
- Bernuy, N.E. (2013). *Morphological Differences of the Articulating Surfaces of Mandibular Condyles in C3H/HeJ and A/J Mice.* Diss.-Chapel Hill.
- Bhaskar, S.N., Weinmann, J.P. & Schour, I. (1953). Role of Meckel's cartilage in the development and growth of the rat mandible. *J Dent Res* 32: 398-410.

- Born, G.J. (1883). Die Plattenmodellier-Methode. *Archiv für Mikroskopische Anatomie* 22(1):584-599.
- Broman, I. (1899). *Die Entwicklungsgeschichte der Gehörknöchelchen beim Menschen*. Verlag von J.F. Bergmann.
- Carter, D., Orr, T., Fyhrie, D., Schurman, D. (1987). Influences of mechanical stress on prenatal and postnatal skeletal development. *Clin. Orthop. Relat* 15: 237-50
- Cheyne, F., Guyot, L., Richard, O., Layoun, W. & Gola, R. (2003). Discomalleolar and malleomandibular ligaments: anatomical study and clinical applications. *Surg Radiol Anat* 25(2):152-7.
- Chung, K.S. & Nishimura I. (1999) Maintenance of regional histodifferentiation patterns and a spatially restricted expression of type X collagen in rat Meckel's cartilage explants in vitro. *Arch Oral Biol* 44(6):489-97.
- Couly, G.F., Coltey, P.M. & LeDouarin, N.M. (1993). The triple origin of skull in higher vertebrates: a study in quail-chick chimeras. *Development* 117 (2): 409–429.
- Enlow, D.H. (1990). *Facial Growth*. 3rd ed. W.B. Saunders
- Fawcett, E. (1910). Description of a Reconstruction of the Head of a Thirty-Millimetre Embryo. *J Anat Physiol* 44(Pt 4):303-11.
- Farahat, M., Kazi, G.A.S., Hara, E.S. & Matsumoto, T. (2021). Effect of biomechanical environment of degeneration of Meckel's cartilage. *J Dent Res*. 100(2): 171-78
- Furstman, L. (1963). The early development of the the human temporomandibular joint. *Am J Othod*. 49: 672-82
- Gaudino, C., Cosgarea, R., Heiland, S., Csernus, R., Zobel, B.B., Pham, M., Kim, T.S., Bendszus, M. & Rohde, S. (2011). MR-Imaging of teeth and periodontal apparatus: an experimental study comparing high-resolution MRI with MDCT and CBCT. *Eur Radiol* 21(12):2575-83.
- Gaunt, W.A. & Gaunt, P.N. (1978) *Three-dimensional reconstruction in biology*. Pitman Medical Publications.
- Gaupp, E. (1913). *Die Reichertsche Theorie (Hammer-, Amboss-, und Kieferfrage)*. *Arch Anat Physiol Suppl* 1912: 1-416.
- Gomes Rodrigues, H., Solé, F., Charles, C., Tafforeau, P., Vianey-Liaud, M. (2012). Evolutionary and Biological Implications of Dental Mesial Drift in Rodents: The Case of the Ctenodactylidae (Rodentia, Mammalia). *PLoS One*11(7): e50197.
- Gu, S., Wei, N., Yu, L., Fei, J. & Chen, Y. (2008). Shox2-deficiency leads to dysplasia and ankylosis of the temporomandibular joint in mice. *Mech Dev* 125(8):729-742.
- Gu, S., Wu, W., Liu, C., Yang, L., Sun, C., Ye, W., Li, X., Chen, J., Long, F. & Chen, Y. (2014). BMPRIA mediated signaling is essential for temporomandibular joint development in mice. *PLoS One*. 9(8): e101000.
- Habib, H., Hatta, T., Udagawa, J., Zhang, L., Yoshimura, Y. & Otani, H. (2005). Fetal jaw movement affects condylar cartilage Development. *J Dent Res*. 84(5):474-79.

- Habib, H., Hatta, T., Rahman, O.I., Yoshimura, Y. & Otani H. (2007). Fetal jaw movement affects development of articular disk in the temporomandibula joint. *Congenit Anom* 47(2): 53-7.
- Harada, T., Ishii, S. & Tayama, N. (1988). Three-dimensional reconstruction of the temporal bone from histologic sections. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 114(10):1139-42.
- Harada, T., Ishii, H., Tayama, N. & Sugasawa, M. (1990). Computer-aided three-dimensional reconstruction of the osseous and membranous labyrinths. *Eur Arch Otrhinolaryngol* 247(6):348-351.
- Harada, Y. & Ishizeki, K. (1998). Evidence for transformation of chondrocytes and site-specific resorption during the degradation of Meckel's cartilage. *Anat Embryol* 197:439–450.
- Heegard, J.H., Beaupre, G.S. & Carter, D.R. (1999). Mechanically modulated cartilage growth may regulate joint surface morphogenesis. *J. Orthop. Res.* 17: 509-17
- Herber, R.P., Fong, J., Lucas, S.A. & Ho, S.P. (2012). Imaging an adapted dentoalveolar complex. *Anat Res Int* (1):1-13.
- Herring, S.W. (1993). Formation of the vertebrate face epigenetic and functional influences. *American Zoologist* 33(4): 472–483.
- Hinrichsen, K.V. (1990). *Humanembryologie: Lehrbuch und Atlas der vorgeburtlichen Entwicklung des Menschen*. Springerverlag.
- Ho, S.P., Kurylo, M.P., Fong, T.K., Lee, S.S.J., Wagner, H.D., Ryder, M.I. & Marshall, G.W. (2010). The biomechanical characteristics of the bone-periodontal ligament-cementum complex. *Biomaterials* 31(25):6635-46.
- Hövener, J.B., Zwick, S., Leupold, J., Eisenbeiß, A.K., Scheifele, C., Schellenberger, F., Hennig, J., v Elverfeldt, D. & Ludwig, U. (2012). Dental MRI: imaging of soft and solid components without ionizing radiation. *J Magn Reson Imaging*36(4):841-46.
- Ishizeki, K., Takahashi, N. & Nawa, T. (2001). Formation of the sphenomandibular ligament by Meckel's cartilage in the mouse: possible involvement of epidermal growth factor as revealed by studies in vivo and in vitro. *Cell Tissue Res* 304:67-80.
- Ito, Y., Bringas, P. Jr., Mongharei, A., Zhao, J., Deng, C. & Chai, Y. (2002). Receptor regulated nad inhibitory smads are critical in regulating transforming growth factor β -mediated Meckel's cartilage development. *Dev Dyn* 22:469-478.
- Jahan, E., Matsumoto, A., Mahmood Rafiq, A., Hashimoto, R., Inoue, T., Udagawa, J., Sekine, J. & Otani H. (2014). Fetal jaw movement affects lhh signaling in mandibular condylar cartilage development: the possible role of lhh as mechanotransduction mediator. *Arch Oral Biol* 59(10):1108-18.
- Jahan, E., Matsumoto, A., Udagawa, J., Rafiq, A.M., Hashimoto, R., Rahman, O.I., Habib, H., Skine, J. & Otani H. (2010). Effects of restriction of fetal jaw movement on prenatal development of the temporalis muscles. *Arch Oral Biol* 55(11):919-927.
- Judd, B.H. (2001). Experimental organisms used in genetics. eLS: 1-7.

- Kenzaki, K., Tsuchikawa, K. & Kuwahara, T. (2011). An immunohistochemical study on the localization of type II collagen in the developing mouse mandibular condyle. *Okajimas Folia Anat Jpn* 88(2):49-55.
- Kitamura, H. (1989) Embryology of the mouth and related structures. Maruzen, Tokyo
- Kokot, K. (2021). *Zur Entwicklung des Ligamentum sphenomandibulare bei der Maus: Histologische und morphologische Untersuchungen zur Entwicklung des Ligamentum sphenomandibulare bei aberrantem Verlauf aus dem Meckelschen Knorpel in den Stadien E13,25-P10*. Diss Charité – Universitätsmedizin Berlin.
- Kontges, G. & Lumsden, A. (1996). Rhombencephalic neural crest segmentation is preserved throughout craniofacial ontogeny. *Development* 122 (10): 3229–3242.
- Lee, S.K., Kim, Y.S., Oh, H.S., Yang, K.H., Kim, E.C. & Chi, J.G. (2001). Prenatal development of the human mandible. *Ant Rec* 263:314-325.
- Leong, N.L., Hurng, J.M., Djomehri, S.I., Gansky, S.A., Ryder, M.I. & Ho, S.P. (2012). Age-Related Adaptation of Bone-PDL-Tooth Complex: Rattus- Norvegicus as a Model System. *PLoS One* 7(4): e35980.
- Liang, W., Li Xihai, Gao, B., Gan, H., Lin, X., Liao, L. & Li, C. (2016) Observing the development of the temporomandibular joint in embryonic and post-natal mice using various staining methods. *Exp and Ther Med* 11(2):481-489.
- Low, A. (1909). Further observations on the ossification of the human lower jaw. *J. Anat Physiol* 44(1):83-95.
- Luo, Z.X., Chen, P., Li, G. & Chen, M. (2007) A new eutriconodont mammal and evolutionary development in early mammals. *Nature* 446: 288-293.
- Mah, J. (2004). Histochemistry of the foetal human temporomandibular joint articular disc. *Eur J Orthod.* 26 (4): 359-65.
- Mason, M.J. (2013). Of mice, moles and guinea pigs: functional morphology of the middle ear in living mammals. *Hear Res.* 301:4-18.
- Masuda, Y., Honjo, H., Naito, M. & Ogura Y. (1986). Normal development of the middle ear in the mouse: a light microscopic study of serial sections. *Acta Med Okayama* 40(4):201-207.
- Meckel, J.F. (1820). *Handbuch der menschlichen Anatomie*, Halle und Berlin 4:47.
- Merida-Velasco, J.R. (1999). Rodriguez-Vazquez, J.F., Merida-Velasco, J.A., Sanchez-Montesinos, I., Espin-Ferra, J. & Jimenez-Collado, J. (1999). Development of the human temporomandibular joint. *Ant Rec.* 255: 20-33.
- Meyer, E.P. & Domanico, V.J. (1988). Three-dimensional reconstruction: a tissue embedding method for alignment of serial sections. *J Neurosci Methods* 26(2):129-32.
- Miller, C.T, Yelon, D., Stainier, D.Y. & Kimmel, C.B. (2003). Two endothelin 1 effectors, hand2 and bapx1, pattern ventral pharyngeal cartilage and the jaw joint. *Development* 130: 1353–1365.

- Miyake, T., Cameron, A.M. & Hall, B.K. (1996). Detailed staging of inbred C57BL/6 mice between Theiler's (1972) stages 18 and 21 (11-13 days of gestation) based on craniofacial development. *J Craniofac Genet Dev Bio* 16(1):1-31.
- Molina, W., Pino, S., Sosa, G. & Hernandez, L. (2005). Distribution of mucopolysaccharides and glycoproteins in the articular discs of temporomandibular joints in human fetuses. *J Orofac Pain* 19(4): 325-30
- Moore, K.L. & Persaud, T.V.N. (1998). *The developing human. Clinically oriented embryology*. WB Saunders Company.
- Mulisch, M. & Welsch, U. (2010). *Romeis Mikroskopische Technik*. Spektrum Akademischer Verlag.
- Nakanishi, T. & Iwai-Liao, Y. (1990). Comparative histological contributions to the development of the ear-ossicular joints and the temporomandibular joint in the mouse. *Okajimas Folia Anat Jpn* 67(5):381-391.
- Naveh, G.R., Shahar, R., Brumfeld, V. & Weiner S. (2012). Tooth movements are guided by specific contact areas between the tooth root and the jaw bone: a dynamic 3D microCT study of the rat molar. *J Struct Biol* 177(2):477-83.
- Naveh, G.R., Brumfeld, V., Shahar, R. & Weiner S. (2013). Tooth periodontal ligament: Direct 3D microCT visualization of the collagen network and how the network changes when the tooth is loaded. *J Struct Biol*. 181(2):108-15.
- Nowak, I., (2016). *Zur Entwicklung des Desmodonts im Zusammenhang mit dem peridentalnen Knochen. Histologische und morphologische Untersuchungen der Molarenregion der Maus in den postnatalen Stadien P8-P40*. Diss Charité - Universitätsmedizin Berlin.
- O'Gorman, S. (2005). Second branchial arch lineages of the middle ear of wild-type and Hoxa2 mutant mice. *Dev Dyn* 234:124– 131.
- Ogutcen-Toller, M. & Juniper, R.P. (1994). The development of the human lateral pterygoid muscle and the temporomandibular joint and related structures: a three-dimensional approach. *Early Hum Dev*. 39 (1): 57-68
- Ohshima, T., Yonezu, H., Nishibori, Y., Uchiyama, T. & Shibahara, T. (2011). Morphological observation of process of mouse temporomandibular joint formation. *Bull Tokyo Dent Coll* 52(4):183-90.
- Ohtsuki, S., Ishikawa, A., Yamada, S., Imai, H., Matsuda, T. & Takakuwa, T. (2018). Morphogenesis of the middle ear during fetal development as observed via magnetic resonance imaging. *Anat Rec* 301(5):757-764.
- Oesterle, F. (1932). *Über den Feinbau der Gehörknöchelchen und seine Entstehung*. Med. Diss. Bayer. Julius-Maximilians-Universität, Würzburg.
- Peterková, R., Peterka, M., Vonesch, J.L. & Ruch, J.V. (1995). Contribution of 3-D computer-assisted reconstructions to the study of the initial steps of mouse odontogenesis. *Int J Dev Biol* 39(1):239-247.
- Peterková, R., Peterka, M., Viriot, L. & Lesot, H. (2002). Development of the vestigial tooth primordia as part of mouse odontogenesis. *Connect Tissue Res* 43 (2-3):120-8.

- Peterková, R., Hovorakova, M., Peterka, M. & Lesot, H. (2014). Three-dimensional analysis of the early development of the dentition. *Aust Dental J.* 59(s1):55-80.
- Purcell, P., Joo, B.W., Hu, J.K., Tran, P.V., Calicchio, M.L., O'Connell, D.J., Maas, R.L. & Tabin C.J. (2009). Temporomandibular joint formation requires two distinct hedgehog-dependent steps. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(43):18297-302.
- Radlanski, R.J., van der Linden, F.P. & Ohnesorge, I. (1999). 4D-computerized visualisation of human craniofacial skeletal growth and of the development of the dentition. *Ann Anat* 181(1):3-8.
- Radlanski, R.J., Renz, H. & Klarkowski, M.C. (2003). Prenatal development of the human mandible. 3D reconstructions, morphometry and bone remodeling pattern, sizes 12-117 mm CRL. *Anat Embryol* 207(3):221-32.
- Radlanski, R.J. (2011). *Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie*. Quintessenz Verlag.
- Radlanski, R.J., Weinhold, J., Jerichow, S., Mehner, M., Schwandt, H., Keilig, L. & Bourauel, C. (2021) A method to calibrate fetal μ CT scans using histological sections from the same specimens. *Ann. Anat.* 23: 151725
- Ramaesh T, Bard JBL. The growth and morphogenesis of the early mouse mandible: a quantitative analysis. *J. Anat* 2003;203(2):213-222.
- Reichert, K.B. (1837). Über die Visceralbogen der Wirbelthiere im Allgemeinen und deren Metamorphose bei den Säugethieren und Vögeln. *Arch Anat Physiol Wissensch Med*:120-220.
- Richany, S.F., Bast, T.H. & Anson, J.P. (1956). The development of the first branchial arch in man and the fate of Meckel's cartilage. *Quart Bull Northwestern Univ Med School* 30:331-55.
- Richman, J.M. & Diewert V.M. (1988). The fate of Meckel's cartilage chondrocytes in ocular culture. *Dev Biol.* 129(1):48-60.
- Roberts, D.S & Miller S.A. (1998). Apoptosis in cavitation of middle ear space. *Anat Rec* 251(3):286-89.
- Robinson, J., O'Brien, A., Chen, J. & Wadhwa S. (2015). Progenitor cells of the mandibular condylar cartilage. *Curr Mol Biol Rep* 1(3):110-114.
- Rodriguez-Vazquez, J.F., Merida-Velasco, J.R., Merida Velasco, J.A., Sanchez-Montesinos, I., Espin-Ferra, J. & Jimenez-Collado J. (1997). Development of Meckel's cartilage in the symphyseal region in man. *Anat Rec.* 249(2):249-54.
- Rodriguez-Vazquez, J.F., Merida-Velasco, J.R. & Jimenez-Collado J. (1991). A study of the os goniale in man. *Acta Anat.* 142(2):188-92.
- Rot-Nikcevic, I., Downing, K.J., Hall, B.K. & Kablar, B. (2007). Development of the mouse mandibles and clavicles in the absence of skeletal myogenesis *Histol Histopathol* 22(1):51-60.
- Sakakura, Y., Hosokawa, Y., Tsuruga, E., Irie, K. & Yajima, T. (2007). In situ localization of gelatinolytic activity during development and resorption of Meckel's cartilage in mice. *Eur J Oral Sci* 115: 212–223.

- Salih, W.H.M., Buytaert, J.A.N., Aerts, J.R.M., Vanderniepen, P., Dierick, M. & Dirckx J.J.J. (2012). Open access high-resolution 3D morphology models of cat, gerbil, rabbit, rat and human ossicular chains. *Hearing Research* 284:1–5.
- Scheuer, L. & Black S. (2000). *Developmental Juvenile Osteology*. Elsevier
- Shibata, S., Suzuki, S., Tengan, T., Ishii, M. & Kuroda, T. (1996). A histochemical study of the developing condylar cartilage of the fetal mouse mandible using coronal section. *Archs Oral Biol* 41:47-54.
- Shibata, S., Takahashi, M. & Fujikawa, K. (2019). Histochemical and ultrastructural study of developing gonial bone with reference to initial ossification of the malleus and reduction of Meckel's Cartilage in mice. *The Anatomical Record* 302:1916–1933.
- Sperber, G.H. (1976). *Craniofacial embryology*. 2.Edition. Bristol. John Wright & Sons Ltd.
- Spyropoulos, M.N. (1977). The morphogenic relationship of the temporal muscle to the coronoid process in human embryos and fetus. *Am J Anat*. 150: 395-410.
- Symons, N. (1952). The development of the human mandibular joint. *J Anat*. 86: 326-32.
- Tsuchikawa, K., Kumakura, M., Kuwahara, T. & Ito, H. (2010). Histological investigation of the development of the anlage of the mandibular condyle of mouse. *Oral Science International* 7(2):66-71.
- Tsunekawa, N., Arata, A. & Obata, K. (2005). Development of spontaneous mouth/tongue movement and related neural activity, and their repression in fetal mice glutamate decarboxylase 67. *Eur J Neurosci* 21(1):173-78.
- Tucker, A.S., Watson, R.P., Lettice, L.A., Yamada, G. & Hill, R.E. (2004). *Bapx1* regulates patterning in the middle ear: altered regulatory role in the transition from the proximal jaw during vertebrate evolution. *Development* 131 :1235-45.
- Urban, D.J., Anthwal, N., Luo, Z.-X., Maier, J.A., Sadier, A., Tucker, A.S. & Sears, K.E. (2017). A new developmental mechanism for the separation of the mammalian middle ear ossicles from the jaw. *Proc. R. Soc. B*. 284: 20162416.
- van der Linden, E., Burdi, A.R. & De Jongh, H.J. (1987). Critical periods in the prenatal morphogenesis of the human lateral pterygoid muscle, the mandibular condyle, the articular disc, and medial articular capsule. *Am J Orthod Dentofac Othop* 91:22-28.
- Whyte, J.R., González, L., Cisneros, A.I., Yus, C., Torres, A. & Sarrat, R. (2002). Fetal development of the human tympanic ossicular chain articulations. *Cells Tissues Organs* 171(4):241-9.
- Wilson, J. & Tucker A.S. (2004). Fgf and Bmp signals repress the expression of *Bapx1* in the mandibular mesenchyme and control the position of the developing jaw joint. *J Dev Biol* 266 (1): 138-150
- Wyganowska-Swiatkowska M, & Przystanska, A. (2011). The Meckel's cartilage in human embryonic and early fetal periods. *Anat Sci Int* 86(2):98-107.
- Yang, L., Wang, H., Wang, M., Ohta, Y. & Suwa, F. (1992). Development of collagen fibers and vasculature of the fetal TMJ. *Okajimas Folia Ant Jpn*. 69: 145-55.

Youdelis, R.A. (1966) The morphogenesis of the human temporomandibular joint and its associated structures. *J Dent Res.* 45: 182-91.

Zondek, M. (1893). *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Gehörknöchelchen*. Med. Diss. Friedrich-Wilhelms-Universität, Berlin.

8.1 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Marlene Julia Aline Göbel, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Das gleichzeitige Vorhandensein von primärem und sekundärem Kiefergelenk bei der Maus. Histologische und morphologische Untersuchung der Articulatio incudomallearis und der Articulatio temporomandibularis in den Entwicklungsstadien E13.5-P10.“, selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

8.2 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Marlene Göbel hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Göbel, M., Fernández Rubio, E.M., Kokot, K., Renz, H. & Radlanski, R.J. (2018). Das gleichzeitige Vorhandensein von primärem und sekundärem Kiefergelenk bei der Maus. Programm und Abstractheft. 50. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung (AfG) der DGZMK, Mainz 11.und 12.01.2018:12.

Die Erstellung der Präsentation (Abstract, Poster, Kurzvortrag) sowie die dreidimensionalen Rekonstruktionen für die Ergebnisse der Stadien E15, E16 und E18 sind von mir. An den Stadien E13.5, E14.5 sowie E20-P4 war ich beteiligt. Die Ergebnisse der Stadien E13.5-P4 sind in der vorliegenden Arbeit in Kapitel 5 dargestellt.

Kokot, K., Göbel, M., Fernández Rubio, E.M., Renz, H. & Radlanski, R.J. (2018). Herkunft des Ligamentum sphenomandibulare bei der Maus. Programm und Abstractheft. 50. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung (AfG) der DGZMK, Mainz 11.und 12.01.2018:11

Ich war beteiligt an der Erstellung der Ergebnisse der Stadien E13.5-P4. Die dreidimensionalen Rekonstruktionen für die Ergebnisse der Stadien E15, E16 und E18 wurden von mir erstellt. Die Ergebnisse der Stadien E13.5-P4 sind in der vorliegenden Arbeit in Kapitel 5 zu finden.

Fernández Rubio, E.M., Kokot, K., Göbel, M., Renz, H. & Radlanski, R.J. (2018). Why is there no antagonist muscle to the lateral pterygoid muscle? Programm und Abstractheft. 50. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung (AfG) der DGZMK, Mainz 11.und 12.01.2018:10.

Ich war beteiligt an der Erstellung der Ergebnisse der Stadien E13.5-P4. Die dreidimensionalen Rekonstruktionen für die Ergebnisse der Stadien E15, E16 und E18 wurden von mir erstellt. Die Ergebnisse der Stadien E13.5-P4 sind in der vorliegenden Arbeit in Kapitel 5 zu finden.

8.3 LEBENSLAUF

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

8.4 Publikationsliste

Göbel, M., Fernández Rubio, E.M., Kokot, K., Renz, H. & Radlanski R.J. Das gleichzeitige Vorhandensein von primärem und sekundärem Kiefergelenk bei der Maus. *Programm und Abstractheft. 50. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung (AfG) der DGZMK, Mainz 11./12.01.2018:12.*

Kokot, K., Göbel, M., Fernández Rubio, E.M., Renz, H. & Radlanski R.J. Herkunft des Ligamentum sphenomandibulare bei der Maus. *Programm und Abstractheft. 50. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung (AfG) der DGZMK, Mainz 11./12.01.2018:11.*

Fernández Rubio, E.M., Kokot, K., Göbel, M., Renz, H. & Radlanski R.J. Why is there no antagonist muscle to the lateral pterygoid muscle? *Programm und Abstractheft. 50. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung (AfG) der DGZMK, Mainz 11./12.01.2018:10.*

8.5 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Dr. Ralf Johannes Radlanski. Ich bedanke mich für die Motivation, die Geduld, die vielen fachlichen Anregungen, und die kritische Betrachtung der Ergebnisse. Vielen Dank für die engagierte Betreuung auf dem Weg zu meiner Promotion. Ich habe viel über wissenschaftliches Arbeiten gelernt.

Herrn Dr. Herbert Renz danke ich für die anregenden Diskussionen und die schnelle Hilfe bei allen technischen Problemen.

Frau Irene Schwarz (MTA) und Frau Barbara Danielowski (MTA) danke ich für die Anfertigung der histologischen Schnittserien, die die Grundlage für diese Untersuchungen gewesen sind. Zudem haben sie mich in die Technik der 3D-Rekonstruktionstechnik eingewiesen.

Frau Beate Lion danke ich ganz herzlich dafür, dass ich sie zu jeder Zeit, bei organisatorischen Fragen zu Rate ziehen konnte.

Ich danke meinen Kommilitoninnen Frau Dr. Esther Maria Fernández Rubio und Frau Dr. Karolin Kokot für die schöne gemeinsame Zeit im Labor. Der wissenschaftliche Austausch hat mir sehr geholfen.

Ein großer Dank gilt meiner Familie, meinen Eltern und meinem Mann, die mir die Freiräume geschaffen haben um diese Dissertation fertigzustellen. Meinen Eltern danke ich für ihr großes Herz und dafür, dass sie mir das Vertrauen mitgegeben haben alles schaffen zu können, was ich mir wünsche. Meinem Mann danke ich für seine Liebe und Geduld. Meinen Kindern danke ich für ihr Lachen.