

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
Charité Universitätsmedizin Berlin
Campus Mitte

**Untersuchung von pränatal induzierten Effekten durch die klassische teratogene
Substanz 5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FUdR) auf das Skelettsystem hinsichtlich ihrer
postnatalen Persistenz bei Ratten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Alice Walter
Tierärztin
aus Königs Wusterhausen

Berlin 2014

Journal-Nr.: 3759

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. H. Fink
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. I. Chahoud
Dritter Gutachter: PD Dr. P. Hauff

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

rats, postnatal period, toxicology, deoxyuridine, malformations, teratogens,
spine, microscopy

Tag der Promotion: 27.05.2015

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-607-4

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2014

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2015

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Zielsetzung	2
2	Literaturübersicht	3
2.1	Nomenklatur und Klassifizierung.....	3
2.2	Darstellbarkeit der Ossifikationszentren	4
2.3	Substanz.....	5
3	Material und Methode	6
3.1	Substanz.....	6
3.2	Tiere und Tierhaltung.....	6
3.3	Verpaarung.....	6
3.4	Behandlung der Tiere	6
3.5	Präparation	7
3.6	Knochen-Knorpel-Färbung.....	7
3.7	Untersuchung und Auswertung des Skeletts.....	8
3.8	Auswertung der Befunde	11
4	Ergebnisse	12
4.1	Übersicht über die Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	12
4.2	Befunde der Halswirbelkörper.....	14
4.3	Befunde der Brustwirbelkörper.....	28
4.4	Befunde der Lendenwirbelkörper	36
4.5	Befunde der Sakralwirbelkörper.....	48
5	Diskussion	56
6	Zusammenfassung	62
7	Summary	64
8	Literaturverzeichnis	66

9	Anlage	75
9.1	Register Bildkatalog	75
9.2	Abkürzungsverzeichnis-Bildkatalog.....	77
9.3	Bildkatalog ist per CD beigefügt.....	80
10	Publikationsverzeichnis	81
11	Danksagung	82
12	Selbständigkeitserklärung	83
	CD - Beilage	

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildungen
add oss. cent.	additional ossification centre
At	Atlas
Ax	Axis
BRD	Bundesrepublik Deutschland
BWS	Brustwirbelsäule
C 3	Cervical arch 3
C 4	Cervical arch 4
C 5	Cervical arch 5
C 6	Cervical arch 6
C 7	Cervical arch 7
CC1	Ventral tubercle Atlas
DNA	Deoxyribonucleic Acid
dTMP	Thymidin-Monophosphat
dUMP	Uridin-Monophosphat
d/v	dorso-ventral
dex	dexter
FdUMP	5-Fluordesoxyuridylat
FUDR	5-Fluoro-2'-deoxyuridine
GD 21	gestational day 21
HWS	Halswirbelsäule
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht

Abkürzungsverzeichnis

L 1	Lumbar arch 1
L 2	Lumbar arch 2
L 3	Lumbar arch 3
L 4	Lumbar arch 4
L 5	Lumbar arch 5
L 6	Lumbar arch 6
LC 1	Lumbar centrum 1
mg	Milligramm
ml	Milliliter
Os exocc.	Os exoccipitale
Os basiocc.	Os basioccipitale
PND 7	postnatal day 7
PND 21	postnatal day 21
Proc. art. caud.	Processus articularis caudalis
Proc. art. cran.	Processus articularis cranialis
Proc. odontoideus	Processus odontoideus
sin	sinister
SPF	Spezifiziert-Pathogen-Frei
S 1	Sacral arch 1
S 2	Sacral arch 2
S 3	Sacral arch 3
S 4	Sacral arch 4
T 1	Thoracic arch 1
T 2	Thoracic arch 2

T3	Thoracic arch 3
T4	Thoracic arch 4
T5	Thoracic arch 5
T 6	Thoracic arch 6
T 7	Thoracic arch 7
T 8	Thoracic arch 8
T 9	Thoracic arch 9
T 10	Thoracic arch 10
T 11	Thoracic arch 11
T 12	Thoracic arch 12
T 13	Thoracic arch 13
TC 1	Thoracic centrum 1
TC 2	Thoracic centrum 2
TC 8	Thoracic centrum 8
TC 10	Thoracic centrum 10
TC 12	Thoracic centrum 12
TC 13	Thoracic centrum 13
v/d	ventro-dorsal
WS	Wirbelsäule

Sonderzeichen

%	Prozent
®	Warenzeichen

1 Einleitung

In der Toxikologie hängt die Wirkung einer Noxe nicht nur von der Dosis ab sondern auch von Geschlecht und Lebensabschnitt.

Eine der Aufgaben der Entwicklungstoxikologie besteht in der Untersuchung von schädigenden Wirkungen bestimmter Noxen auf die Embryonen unabhängig von der Manifestation dieser Wirkungen. Eine wichtige Manifestation einer solchen Wirkung sind Veränderungen in der Skelettformation während der Organogenese. Solche Veränderungen werden allgemein als Anomalien bezeichnet. Seit der Thalidomid- Katastrophe (Contergan®-Skandal) stehen solche Wirkungen in besonderem Fokus von Gesellschaft, Wissenschaft und Gesundheitspolitik. Letztere befasst sich unter anderem mit der Risikoerfassung, -bewertung und -management von Substanzen, die entwicklungstoxisches Potential besitzen.

Das wesentliche Merkmal bei der Regulierung von Substanzen, die Anomalien induzieren können, ist die Beurteilung, ob diese Anomalie als Variation (Variation) oder Missbildung (Malformation) klassifiziert werden kann (EU VO CLP (1272/2008)).

Die Entscheidungskriterien für die Klassifizierung der in entwicklungstoxikologischen Studien festgestellten Anomalien in eine der beiden oben genannten Kategorien wurden im Rahmen eines von mehreren internationalen Expertentreffen (Berliner Workshop) diskutiert und festgelegt (Chahoud et al., 1999). Im veröffentlichten Report dieses Treffens wurde sich auf folgende Definitionen geeinigt:

“Variation is a change that occurs within the normal population under investigation and is unlikely to adversely affect survival or health. This might include a delay in growth or morphogenesis that has otherwise followed a normal pattern of development.”

“Malformation is a permanent structural change that is likely to adversely affect the survival or health of the species under investigation.”

Wie aus der Definition zu entnehmen, ist ein wesentliches Merkmal für eine Missbildung ihre Permanenz im lebenden Organismus. Die Beurteilung des Merkmals Permanenz ist jedoch in Routine-Studien zur Entwicklungstoxikologie der Ratte, bei denen die Untersuchung der Feten kurz vor dem Wurftermin am Tag 21 der Trächtigkeit stattfindet, aus zwei Hauptgründen nicht möglich. Zum Einen weil bei einem Teil des Skelettsystems, insbesondere im Bereich der Halswirbelsäule, die Ossifikation erst postnatal abgeschlossen ist. Zum Anderen weil eine Permanenz von Anomalien nur durch Untersuchungen in entsprechenden postnatalen Lebensabschnitten beurteilt werden kann.

Auf einem nachfolgenden Expertentreffen wurden die Ergebnisse einer Umfrage unter entwicklungstoxikologischen Experten zur Klassifizierung von Skelettanomalien ausgewertet. Ein Ergebnis dieser Auswertung war die Feststellung, dass die Frage der Permanenz für bestimmte Anomalien aus den vorhandenen Erkenntnissen nicht beantwortet werden kann. Diese Anomalien wurden als sogenannte „Grey Zone Anomalies“ bezeichnet (Solecki et al., 2001).

In einem Bericht weiterer Expertentreffen (Paumgarten et al., 2009) wurde betont und dringend empfohlen Untersuchungen zu postnatalen Konsequenzen von fetalen Anomalien durchzuführen, um die Unsicherheiten bei der Klassifizierung von Grey Zone Anomalien zu reduzieren.

1.1 Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit ist es, zur Klärung des postnatalen Schicksals von Skelettanomalien im Bereich der Wirbelsäule beizutragen. Hierfür wurden keine neuen Tierexperimente durchgeführt, sondern bereits bearbeitete Skelette von Rattenfeten und Jungtieren aus früher durchgeführten Experimenten mit der Substanz 5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FUDR) untersucht. Bei FUDR handelt es sich um eine Substanz, die in Untersuchungen mit prinzipiellen teratologischen Fragestellungen teratologische Effekte sicher induziert und daher als Modellsubstanz verwendet wird (Chahoud und Paumgarten, 2009).

Die wesentliche wissenschaftliche Aufgabe dieser Arbeit liegt darin, zu der Beantwortung der folgenden Fragen beizutragen:

Können Anomalien, die bei Feten an Tag 21 der Trächtigkeit auftraten, auch an Nachkommen an Tag sieben und/oder Tag 21 postnatal gefunden werden?

Die Permanenz stellt ein wesentliches Merkmal für die Klassifizierung von Anomalien in Variation oder Missbildung dar (siehe Definition, Chahoud et al., 1999). Kann eine solche Klassifizierung alleine auf Grundlage der Befunde von Tag 21 der Trächtigkeit durchgeführt werden oder ist zusätzliche Information über die Permanenz eines Befundes am postnatalen Tag 21 dafür erforderlich?

2 Literaturübersicht

2.1 Nomenklatur und Klassifizierung

Das teratogene Potenzial von Arzneimitteln, Pestiziden, Bioziden und anderen Chemikalien wird im Rahmen der Risikobewertung sowohl für die menschliche und tierische Gesundheit als auch für die Umwelt untersucht. Die benötigten Informationen hierfür werden in der Regel durch tierexperimentelle Studien gewonnen. Bei diesen Studien werden trächtige Muttertiere während der Organogenese der Feten mit verschiedenen Dosierungen der jeweiligen Substanz behandelt. Die Feten werden nach der Tötung der Muttertiere entnommen. Dieser Vorgang wird in der Teratologie „Sectio caesarea“ genannt. Da die Untersuchungen im physiologisch reifsten Entwicklungsstadium der Feten durchgeführt werden, findet die Tötung der Muttertiere einen Tag vor dem errechneten Wurftermin statt. Die Ratte wirft in der Regel zwischen dem Gestationstag 22 und 23, deshalb wird die Sectio caesarea am Gestationstag 21 durchgeführt. Diese Vorgehensweise basiert auf einer Berechnung, in welcher die ersten 24 Stunden der Trächtigkeit als Gestationstag null bezeichnet werden.

Die Feten werden auf äußere, viszerale und skelettale Anomalien hin untersucht. Die Nomenklatur für die Beschreibung der beobachteten Anomalien bei den Nachkommen war in der Vergangenheit uneinheitlich und variierte von Labor zu Labor. Der Mangel an einer einheitlichen Nomenklatur führte zu Verwirrung und Unsicherheit bei der Kommunikation von wissenschaftlichen Ergebnissen und zu Problemen bei der Interpretation der Ergebnisse im Rahmen der Risikobewertung durch die regulativen Behörden weltweit. Während der letzten Jahrzehnte gab es viele Bemühungen um eine international einheitliche Terminologie. Unterschiedliche Arbeitsgruppen in verschiedenen Ländern - darunter auch Deutschland - sowie internationale Institutionen wie das International Programme on Chemical Safety (IPCS) oder die Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) unternahmen Anstrengungen, die Nomenklatur zu harmonisieren. Wissenschaftler aus Behörden, Industrie und Akademie diskutierten die Vorschläge und trafen sich im Jahre 1995 auf dem ersten von acht internationalen Workshops zur Terminologie in der Entwicklungstoxikologie in Berlin, aus welchem die Publikation der ersten Version der international vereinbarten Terminologie von Anomalien hervorging (Wise et al., 1997). Seitdem wurden weitere sieben Berliner Workshops durchgeführt, in deren Verlauf die Klassifizierung in Variation und Missbildung von externen, viszeralen und skelettalen Anomalien, die Einteilung der Befunde in Schweregrade, die zweite Version der international vereinbarten Terminologie und deren Anwendbarkeit für verschiedene Labortierspezies sowie das postnatale Schicksal von Anomalien diskutiert und publiziert wurden (Chahoud et al., 1999; Solecki et al., 2001, 2003; Makris et al., 2009; Paumgarten et al., 2009; Solecki et al., 2013).

Das postnatale Schicksal von Anomalien bei Feten ist insofern von herausragender Bedeutung, als dass ihre Einteilung in Variation und Missbildung per definitionem von genau diesem Schicksal abhängt. Als Missbildung wird die Anomalie dann bezeichnet, wenn erwartet werden kann, dass sie auch postnatal bestehen bleibt und sich negativ auf das Überleben oder die Gesundheit der untersuchten Spezies auswirkt (Chahoud et al., 1999). Das Wissen über die postnatale Persistenz einer Anomalie und ihrer gesundheitlichen Auswirkungen ist bisher limitiert. Es existieren nur wenige tierexperimentelle Studien über das postnatale Schicksal von Anomalien (Fritz und Hess, 1970; Beck, 1980, 1981, 1982, 1983; Wilson et al., 1985; Collins et al., 1987; Marr et al., 1992). Bereits vor über 30 Jahren wies Khera (1981) auf die Bedeutung von systematischen experimentellen Studien zur postnatalen Konsequenz von Anomalien für eine wissenschaftlich basierte Klassifizierung hin. Die Expertengruppe für Entwicklungstoxikologie betonte im sechsten Berliner Workshop zur Terminologie erneut die Wichtigkeit solcher Studien für die Verringerung von Unsicherheiten bei der korrekten Klassifizierung (Paumgarten et al., 2009).

2.2 Darstellbarkeit der Ossifikationszentren

Am Tag der Sectio caesarea sind mit Ausnahme der Halswirbelkörper alle Wirbelkörper unabhängig vom Gewicht der Feten ossifiziert (Aliverti et al., 1979; Ariyuki et al., 1982; Chahoud und Paumgarten, 2005).

Die Beurteilung der sichtbaren Ossifikationszentren und Knorpelanlagen erfolgt vor allem in Bezug auf die Darstellbarkeit (Anlage des Skelettanteils) und Normabweichung der Form und/oder Anzahl. Strong dokumentierte 1925 als einer der Ersten das Auftreten der Ossifikationszentren der Wirbelsäule bei der Ratte. In seiner Publikation geht er ausführlich auf die Problematik der Färbemethoden und die anschließende Beurteilung der Skelette ein (Strong, 1925). Die Methodik wurde in den folgenden Jahren stetig weiterentwickelt (Dawson, 1926; Dawes, 1930; Johnson, 1933, De Beer, 1937). Die heute übliche Doppelfärbung der Skelettanteile (Whitaker und Dix, 1979; McLeod, 1980; Trueman et. al, 1999) zeigt große Vorteile gegenüber der anfänglich üblichen einfachen Knochenfärbung. Dies muss aber im Vergleich zu neuen bildgebenden Verfahren, wie Röntgen und Micro-Computertomographie (Burdan et.al, 2002; Winkelmann und Wise, 2009; Wise und Winkelman, 2009; Torchinsky et al., 2012) vor allem bezüglich des Arbeits- und Zeitaufwandes kritisch betrachtet werden, da beide Verfahren gleichwertige Ergebnisse zeigen.

Im „Atlas of Rat Fetal Skeleton Double Stained for Bone and Cartilage“ (Mengola et al., 2001) ist mittels Alizarin Rot und Alcian Blau- Färbung am Gestationstag 20 jeder Wirbel als dreiteilige Anlage dokumentiert. Diese besteht aus einem korpeligen oder teilweise

ossifizierten Corpus mit zwei lateralen, meist ossifizierten Bogenanlagen und kartilaginösem dorsalen Bogen. Die Processus transversi und die Apophysen sind als Anlage erkennbar.

2.3 Substanz

5-Fluoro-2'-deoxyridine (FUDR) metabolisiert zu 5-Fluordesoxyuridylat, ein irreversibler Inhibitor der Thymidylat-Synthase, ein Antimetabolit, der im Zellzyklus in die S-Phase der DNA-Synthese eingreift. Die Thymidylat-Synthase dient der Umwandlung von Uridin-Monophosphat (dUMP) in Thymidin-Monophosphat (dTMP), ein Nukleotid der DNA. Zellen mit einer hohen Proliferationsrate, zum Beispiel embryonale Zellen und Krebszellen, haben einen hohen Bedarf an dTMP. FUDR wird im Zellzyklus durch eine intrazelluläre Desoxyuridinkinase in 5-Fluordesoxyuridylat, Fd-UMP, umgewandelt. Dieses „falsche“ Nucleotid hat eine hohe Affinität zur Thymidylat-Synthase. Es bindet fester als dUMP und blockiert damit die Thymidylat-Synthase, die Bildung von dTMP und somit die Zellproliferation (Voet und Voet, 1994).

Pharmakokinetisch zählt FUDR zu den „first-pass-clearance“- Zytotoxinen, welches vor allem bei der Behandlung von Lebermetastasen infolge gastrointestinaler Karzinome und Nierenzellkarzinome neoadjuvant oder palliativ eingesetzt wird (Oertel, 1998, Chang et al., 1987; Lanning et al., 1990; Dexeus et al., 1991, Conroy et al., 1993; Rocca Rossetti und Terrone, 1999; Aveta et al., 1997; Reese et al., 2000).

FUDR gilt in der experimentellen Reproduktionstoxikologie als Modellsubstanz für wissenschaftliche und regulative Teratogenitätsstudien (Chahoud und Paumgarten, 2009). Die teratogene Wirkung von FUDR wird im „Catalog of Teratogenic Agents“ (Shepard, 1986) für Küken, Mäuse und Ratten benannt und durch tierexperimentelle Untersuchungen nachgewiesen. Folgende Veränderungen traten nach Exposition auf: die Ausbildung von Gaumenspalten bei Ratten (Ferguson, 1978; Singh et al., 1997), Gaumenspaltenbildung beim Alligator (Ferguson, 1981), Anomalien an den Wirbelkörpern wie zum Beispiel *dumbbell-shaped* (Chahoud et al., 1992), Hämatombildung infolge Bluthochdruck bei FUDR-behandelten Hühner-Küken-Embryonen (Patel et al., 1996) und daraus womöglich resultierende Defekte der Gliedmaßen (Nolan et al., 1998), Verzögerung des embryonalen Wachstums bei Mäusen (Amwayi und Otiangà-Owiti, 1997) und reproduktive Dysfunktion männlicher Mäuse infolge neurogener Dysplasie (Nagao et al., 1998).

3 Material und Methode

3.1 Substanz

5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FUDR), welches zu 5-Fluordesoxyuridylat, einem irreversiblen Inhibitor der Thymidylat-Synthase metabolisiert, wurde von Sigma-Aldrich, Deutschland bezogen.

Tierhaltung, Verpaarung, Behandlung, Untersuchungszeitpunkte, Präparation und Färbemethode wurden bereits publiziert (Chahoud und Paumgarten, 2009) und werden nachfolgend nochmals beschrieben:

3.2 Tiere und Tierhaltung

Für die Untersuchung wurden junge männliche und erstgebärende weibliche Ratten des Stammes Wistar genutzt (Bor:Wisw/spf, TNO, Winkelmann, Borchon, BRD). Die Tiere wurden getrenntgeschlechtlich in Gruppen von bis zu fünf Tieren unter SPF-Bedingungen, in Makrolon®-Käfigen Typ IV, auf Weichholzgranulat gehalten. In den vollklimatisierten Tierställen herrschte eine Temperatur von $21^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von $50\% \pm 5\%$. Der Tag- und Nachtrhythmus wurde mittels Zeitschaltuhr- mit Lichtzeiten von 9.00-21.00 Uhr- geregelt. Die Ratten erhielten ein Standard-Pellet-Futter (Altromin® 1324, Firma Altromin, Lage, BRD) und Trinkwasser ad libitum.

3.3 Verpaarung

Für die Verpaarung wurden drei weibliche Ratten für zwei Stunden zu einem männlichen Tier gesetzt (6.00-8.00 Uhr). Der Tag, an dem beim weiblichen Tier ein spermienhaltiger Vaginalabstrich festgestellt wurde, galt als erster Trächtigkeitstag, Tag null der Gestation (Chahoud und Kwasigroch, 1977).

3.4 Behandlung der Tiere

Nach der Verpaarung wurden die trächtigen Tiere randomisiert in acht Gruppen eingeteilt. Die Muttertiere der Behandlungsgruppen erhielten an Tag 11 der Gestation einmalig subkutan 35, 40, 45, 50, 55, 65 und 75 mg FUDR/kg Körpergewicht (KGW). Die Kontrollgruppe erhielt das Vehikel Aqua destillata in einem Volumen von 10 ml/kg KGW.

Direkt nach der Behandlung wurden die Tiere für einige Stunden auf Intoxikationsanzeichen und abnormales Verhalten hin beobachtet. Eine Gewichtskontrolle erfolgte regelmäßig ab Tag

null der Gestation über die gesamte Beobachtungsphase hinweg, sowie am Tag der Sectio caesarea an Gestationstag (GD) 21. Diese Sectio wurde bei einem Teil der Tiere durchgeführt, während man dem anderen Teil der Tiere erlaubte ihre Jungtiere zu werfen und bis Postnataltag (PND) 7 oder (PND) 21 aufzuziehen (Tabelle 1).

Zur Prüfung der postnatalen Persistenz pränatal induzierter skelettaler Effekte durch die Substanz FUDR, wurden die Wirbelkörper von insgesamt 1163 Rattennachkommen der oben beschriebenen Altersgruppen untersucht.

Die Untersuchungszeitpunkte sind in Tabelle 1 dargestellt:

Tabelle 1

Gruppe/Untersuchungszeitpunkt	Anzahl Kontrolltiere	Anzahl FUDR-behandelte Tiere
GD 21	117	233
PND 7	145	308
PND 21	86	274

GD 21: gestational day 21

PND 7: postnatal day 7

PND 21: postnatal day 21

3.5 Präparation

Am Gestationstag 21 wurden die Muttertiere der Gruppe GD 21 dekapitiert und nach dem Ausbluten auf dem Rücken auf einer saugfähige Unterlage gelagert. Der Bauchraum wurde über einen Medianschnitt eröffnet, der Uterus in toto entnommen, gewogen und die Foetenzahl des rechten und linken Uterushorns inklusive toter und resorbierter Fruchtanlagen dokumentiert. Die aus den Fruchthüllen entwickelten Foeten wurden gewogen und auf äußerlich sichtbare Veränderungen untersucht.

Die Jungtiere der Gruppen PND 7 und PND 21 wurden am 7. bzw. 21. Tag nach ihrer Geburt getötet, gewogen und ebenfalls auf äußerlich sichtbare Veränderungen untersucht. Anschließend durchliefen die Nachkommen aller Gruppen das unten beschriebene Prozedere der Knochen-Knorpel-Färbung.

3.6 Knochen-Knorpel-Färbung

Die von der reinen Knochenfärbung (Dawson, 1926) weiterentwickelte und durch zahlreiche Studien in abgewandelter Form bestätigte Knochen-Knorpel-Doppelfärbemethode mit Alcian Blau und Alizarin Rot (Whitaker und Dix, 1979; McLeod, 1980; Maitland und Arsenault, 1989)

wurde im hier verwandten Hausprotokoll zur Doppelfärbung genutzt und erlaubt die Beurteilung des Entwicklungsgrades sowohl der knöchernen als auch der kartilaginösen Anteile des zu untersuchenden Skelettbereichs. Die Untersuchungen von knöchernen und kartilaginösen Anteilen ist ein Hauptbestandteil teratologischer Untersuchungsmethoden. Diese klassische Doppelfärbemethode ist sehr zeit- und kostenaufwändig, neue Farbstoffe wie Murexide (Miller und Tarpley, 1996) sowie automatisierte Techniken (Trueman et al., 1999), digitale Röntgenverfahren (Burdan et al., 2002) oder die Nutzung der Micro-Computertomographie (Winkelmann und Wise, 2009) sind diskussionswürdige neuere Methoden, die hier jedoch nicht angewandt wurden.

Die getöteten Rattennachkommen wurden bei -20°C eingefroren. Im gefrorenen Zustand erfolgten mehrere Hautschnitte:

- a) vom Kopf zum Schwanz (ventral und dorsal),
- b) zirkulär um den Hals ,
- c) zirkulär um den Bauch ,
- d) zirkulär unterhalb der vorderen Extremitäten,
- e) zirkulär oberhalb der hinteren Extremitäten.

Anschließend wurde die Haut in kleinen Stücken mit einer Pinzette unter präzisiertem Nachfassen abgezogen. Die Eviszeration des thorakalen und abdominalen Bereichs, einschließlich der Entfernung subkutaner Fettpolster, schloss sich an. Zur Knorpelfärbung wurden die Nachkommen dann in eine Färbelösung aus 9 mg Alcian-Blau, 60 ml Ethanol und 40 ml Eisessig für 24 Stunden eingelegt. Diese färbt spezifisch Mucopolysaccharide und erlaubt so die Beurteilung der knorpeligen Anteile des Skeletts.

Im nächsten Schritt erfolgte das Entwässern über vier Tage im täglich gewechselten Ethanolbad. Zur abschließenden Knochenfärbung durchliefen die Proben ein zwei- bis dreitägiges Bad in einer Lösung aus: 2 ml Alizarin-Rot (0,3% in Wasser) in 1000 ml einer 3%igen Kaliumhydroxid-Lösung, welche spezifisch Kalzium färbt und damit die Beurteilung der ossifizierten Anteile des Skeletts erlaubt. Abschließend erfolgte eine Waschung in Glycerin in ansteigenden Konzentrationen von 25%, 50%, 100% für je 24 Stunden. Bis zur Auswertung wurden die Proben in 200 ml Weithalsgläsern mit purem Glycerin gelagert.

3.7 Untersuchung und Auswertung des Skeletts

Mit Hilfe eines Stereolupenmikroskops mit beleuchtetem Objektisch (Firma Carl Zeiss, Jena) wurden bei vier- bis achtfacher Vergrößerung die in einer mit Glycerin gefüllten Petrischale liegenden Skelette ausgewertet und anschließend fotografiert. Das gesamte Skelett, mit den

blau gefärbten knorpeligen und den rot gefärbten knöchernen Anteilen, wurde nach einem festen, standardisierten Schema untersucht und die Befunde dokumentiert. Der Untersuchungsgang lief in allen Altersstufen wie folgt ab:

In Brust-Bauch-Lage erfolgte die Adspektion der Wirbelbögen der Wirbelsäule (WS) von dorsal inklusive der Articulationes intervertebrales, sowie die Bewertung der Dorsalstrukturen des Schädels.

In Seitenlage (auf der linken Körperseite) wurde die Adspektion der rechts-lateralen Wirbelbogenanteile der Wirbelsäule, der Rippen und Rippenbögen rechts, sowie die rechts-laterale Ansicht der Vorder- und Hintergliedmaße, die dorso-ventrale (d/v) Ansicht der rechten Vorder- und Hinterpfote, die Beckengürtelbeurteilung von rechts-lateral und die Bewertung rechts-lateraler Schädelstrukturen vorgenommen.

In Seitenlage (auf der rechten Körperseite) erfolgte die Adspektion der links-lateralen Wirbelbogenanteile der Wirbelsäule, der Rippen und Rippenbögen links, sowie die links-laterale Ansicht der Vorder- und Hintergliedmaße, die dorso-ventrale Ansicht der linken Vorder- und Hinterpfote, die Beckengürtelbeurteilung von links-lateral, und die Bewertung links-lateraler Schädelstrukturen.

Aus der Rückenlage heraus konnten die ventro-dorsale (v/d) und dorso-ventrale Adspektion der Vordergliedmaßen (inklusive Pfoten), des Sternum und der Rippen ventro-dorsal vorgenommen werden. Die Eröffnung des Thorax, ein caudo-cranialer Schnitt durch die linke sternumnahe Costalreihe, ermöglichte die Beurteilung dann aller Wirbelkörper und Wirbelbögen der Wirbelsäule von ventro-dorsal und des Sternum von dorso-ventral. In Rückenlage konnten die Hintergliedmaßen in toto in dorso-ventraler und ventro-dorsaler Ansicht, der Beckengürtel und alle Strukturen des Schädels aus ventro-dorsaler Ansicht bewertet werden.

Bei der allseitigen Beurteilung der Wirbelsäule mit sieben Halswirbeln, 13 Brustwirbeln, sechs Lendenwirbeln, vier Sakral- und 27 bis 31 Schwanzwirbeln in drei Altersstufen wurden stets die drei primären Ossifikationszentren eines Wirbelkörpers auf Form, Größe, Lage und Ossifikationsgrad hin untersucht.

Nachstehende Abbildungen (Abb. 1 und 2) zeigen exemplarisch aus dem Bereich der Hals- und Brustwirbelsäule von Kontrolltieren die oben genannte Vorgehensweise.

Abb. 1a-1f

Abb.1a HWS GD 21 v/d

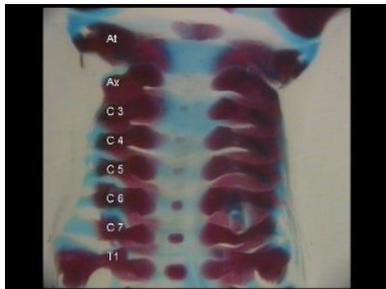


Abb.1b HWS PND 7 v/d

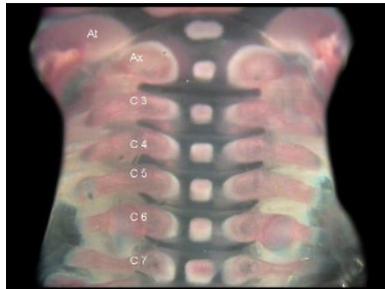


Abb.1c HWS GD 21 v/d

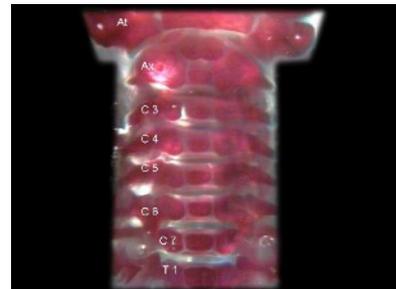


Abb.1d HWS GD 21 d/v



Abb.1e HWS PND 7 d/v

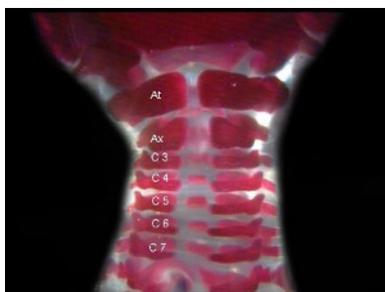


Abb.1f HWS PND 21 d/v



Abb. 2a-2f

Abb.2a BWS GD 21 v/d

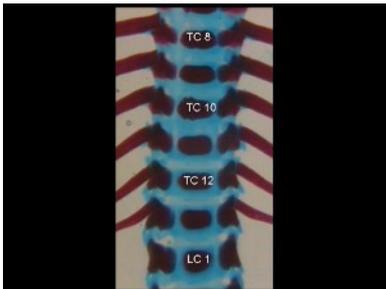


Abb.2b BWS PND 7 v/d

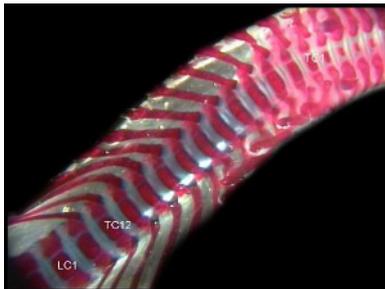


Abb.2c BWS PND 21 v/d

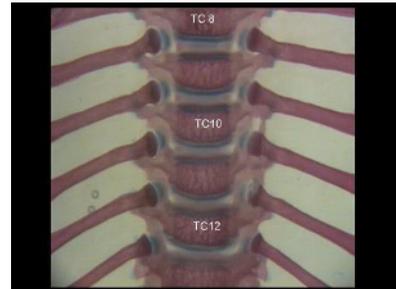


Abb.2d BWS GD 21 d/v



Abb.2e BWS PND 7 d/v

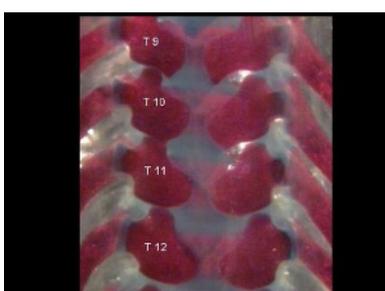


Abb.2f BWS PND 21 d/v



3.8 Auswertung der Befunde

Die an den knöchernen und kartilaginösen Strukturen erhobenen Befunde wurden handschriftlich während des Mikroskopierens notiert. Die dokumentierte Veränderung beschrieb die Region (Bezeichnung des Knochens oder dessen kartilaginösen Vorläufers) und den Befund, entsprechend des Terminologiekatalogs –Version 2 (Makris et al., 2009). Alle asymmetrisch erscheinenden Befunde wurden mit dem neuen Terminus *asymmetric ossification* beschrieben. Die erhobenen Daten wurden abschließend in eine Access-Datei als Zahlen-und Buchstaben-Code eingegeben.

4 Ergebnisse

Zur Beschreibung und Benennung der Befunde wird die international vereinbarte Nomenklatur in englischer Sprache verwendet (Makris et al., 2009). Hier soll darauf hingewiesen werden, dass für diese Nomenklatur keine deutsche Version existiert. Diese Nomenklatur wird weitgehend von Wissenschaft, Industrie und Behörden akzeptiert und verwendet. Die Ergebnisse dieser Arbeit werden in zusammengefassten Übersichtstabellen (Tabelle 2-6) dargestellt, ein umfassender Bildkatalog liegt dieser Arbeit als Anlage bei. Das Thema der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich mit dem Schicksal von Anomalien während der postnatalen Entwicklung unabhängig von Art der Substanz und deren Dosierungen. Aus diesem Grund werden in den Übersichtstabellen die Ergebnisse aus allen Dosierungsgruppen zu einer Gruppe FUDR zusammengefasst. Ebenso wird mit den jeweiligen Kontrollgruppen verfahren.

4.1 Übersicht über die Anzahl der untersuchten Wirbelkörper

In Tabelle 2 ist die Anzahl der untersuchten Wirbelkörper der Hals-, Brust-, Lenden- und Sakralwirbelsäule dargestellt. Die Anzahl der Wirbelkörper ist errechnet durch die Multiplikation der Anzahl der Nachkommen mit der Anzahl der Wirbelkörper der einzelnen Bereiche der Wirbelsäule (Halswirbel, $n = 7$; Brustwirbel, $n = 13$; Lendenwirbel, $n = 6$; Sakralwirbel $n = 4$).

Diese Vorgehensweise ist notwendig, da es für die Beurteilung der teratogenen Wirkung einer Substanz auf die Veränderung jedes einzelnen Wirbels ankommt.

Tabelle 2 ist zu entnehmen, dass die Untersuchung der Tiere am Tag 21 der Trächtigkeit (gestational day (GD) 21) sowie an den Tagen sieben und 21 postnatal (postnatal day (PND) 7 und 21) durchgeführt wurde. Die Anzahl der untersuchten Wirbelkörper am Tag 21 der Trächtigkeit betrug bei der FUDR Gruppe 6990, bei der Kontrollgruppe 3510. Am Tag sieben postnatal betrug die Anzahl der untersuchten Wirbelkörper bei der FUDR Gruppe 9240, bei der Kontrollgruppe 4350. Am Tag 21 postnatal betrug die Anzahl der untersuchten Wirbelkörper bei der FUDR Gruppe 8220, bei der Kontrollgruppe 2580. Somit ergibt sich eine Gesamtzahl von 34890 im Rahmen dieser Dissertation untersuchten Wirbelkörpern.

Tab. 2: Übersicht über die untersuchten Wirbelkörper

Tag der Untersuchung	GD 21		PND 7		PND 21	
Gruppe	FUDR	Kontrolle	FUDR	Kontrolle	FUDR	Kontrolle
Anzahl der Nachkommen	233	117	308	145	274	86
Anzahl der untersuchten Wirbelkörper						
Halswirbelsäule	1631	819	2156	1015	1918	602
Brustwirbelsäule	3029	1521	4004	1885	3562	1118
Lendenwirbelsäule	1398	702	1848	870	1644	516
Sakralwirbelsäule	932	468	1232	580	1096	344
Gesamt	6990	3510	9240	4350	8220	2580

Die gesamte Anzahl betrug 34890 Wirbelkörper

GD 21: gestational day 21

PND 7: postnatal day 7

PND 21: postnatal day 21

4.2 Befunde der Halswirbelkörper

In Tabelle 3 a-c sind die Ergebnisse der Befundung an den drei Untersuchungszeitpunkten dargestellt.

In Tabelle 3a sind die Befunde an Tag 21 der Trächtigkeit (GD 21) von mit FUDR behandelten Tieren und den zugehörigen Kontrolltieren aufgelistet. In der Halswirbelsäule trat sowohl in der Behandlungsgruppe als auch in der Kontrollgruppe eine besonders hohe Anzahl an nicht ossifizierten Ossifikationszentren (*Cervical centrum unossified*) auf (FUDR: 1387 von 1631; 85,04%; Kontrollen: 341 von 819; 41,6%). Es verblieb in der FUDR-Gruppe eine Zahl von 244 ossifizierten zervikalen Wirbelkörpern für die Befundung. Drei von 244 (1,2%) untersuchten Wirbelkörpern zeigten die Anomalie *Cervical centrum asymmetric ossification*. Weitere Anomalien in der Behandlungsgruppe waren *Cervical centrum bipartite ossification* (25 von 244; 10,25%) *Cervical centrum dumbbell-shaped* (6 von 244; 2,46%) und *Cervical centrum hemicentric* (8 von 244; 3,28%).

Auch am Processus odontoideus (Wirbelkörperfortsatz der erst nach PND 21 zum Dens axis verschmilzt) wurde die Anomalie *Processus odontoideus unossified* in hohem Maße beobachtet (FUDR: 220 von 233; 94,42%; Kontrollen: 90 von 117; 76,92%). Hier verblieben 13 Processus für die Befundung. Von diesen wies keiner eine Anomalie auf.

Am Halswirbelbogen war an fünf von 1631 (0,31%) befundeten Wirbeln die Anomalie *Cervical arch misshapen* zu beobachten.

Der ventrale Fortsatz des sechsten Halswirbelkörpers wies die Anomalie *Anterior tubercle malpositioned* an drei von 233 (1,29%) Halswirbelkörpern auf.

Die an Tag sieben postnatal (PND 7) untersuchten Nachkommen wiesen an den Ossifikationszentren die Anomalie *Cervical centrum absent* an sechs von 2156 (0,28%) Halswirbelkörpern auf. Die Anomalien *Cervical centrum asymmetric ossification* (220 von 2150; 10,23%) und *Cervical centrum bipartite ossification* (463 von 2150; 21,53%) waren mit einer hohen Inzidenz an PND 7 zu beobachten. Weitere sichtbare Anomalien an den Halswirbelkörpern waren *Cervical centrum dumbbell-shaped* (9 von 2150; 0,42%), *Cervical centrum hemicentric* (33 von 2150; 1,53%) und *Cervical centrum misshapen* (5 von 2150; 0,23%).

Am Processus odontoideus waren an PND 7 die Anomalien *Processus odontoideus asymmetric ossification* (106 von 308; 34,42%), *Processus odontoideus bipartite ossification* (174 von 308; 56,49%) und *Processus odontoideus dumbbell-shaped* (96 von 308; 31,17%) zu beobachten. Am Halswirbelbogen trat bei einem von 2156 (0,05%) an PND 7 befundeten Halswirbeln die Anomalie *Cervical arch misshapen* auf.

Auch an PND 7 wies der ventrale Fortsatz des sechsten Halswirbelkörpers die Anomalie *Anterior tubercle malpositioned* an 36 von 308 (11,69%) Halswirbelkörpern auf (Tabelle 3b).

Tabelle 3c ist zu entnehmen, dass Nachkommen, die zum Untersuchungszeitpunkt 21 Tage alt waren (PND 21), an 13 von 1918 (0,68%) Wirbelkörpern die Anomalie *Cervical centrum absent* zu beobachten war. Von den restlichen 1905 zu untersuchenden Ossifikationszentren der Halswirbelkörper wiesen 26 (1,36%) die Anomalie *Cervical centrum asymmetric ossification*, 104 (5,46%) die Anomalie *Cervical centrum bipartite ossification*, 24 (1,26%) die Anomalie *Cervical centrum dumbbell-shaped*, 41 (2,15%) die Anomalie *Cervical centrum hemicentric* und 45 (2,36%) die Anomalie *Cervical centrum misshapen* auf.

Am Processus odontoideus waren an PND 21 die Anomalien *Processus odontoideus asymmetric ossification* (49 von 274; 17,88%), *Processus odontoideus bipartite ossification* (164 von 274; 59,85%) und *Processus odontoideus dumbbell-shaped* (70 von 274; 25,55%) zu beobachten. Der Halswirbelbogen wies bei zehn von 1918 (0,52%) der an PND 21 befundeten Halswirbel die Anomalie *Cervical arch misshapen* auf. Am ventralen Fortsatz des sechsten Halswirbelkörpers trat die Anomalie *Anterior tubercle malpositioned* an 62 von 274 (22,63%) Halswirbelkörpern auf.

Bei den Kontrolltieren wiesen an Tag 21 der Gestation 341 von 819 (41,64%) der Ossifikationszentren in den Halswirbelkörpern die Anomalie *Cervical centrum unossified* auf. Damit standen noch 478 ossifizierte Wirbelkörper für die weitere Beurteilung zur Verfügung. Von diesen war bei zehn von 478 (2,09%) die Anomalie *Cervical centrum bipartite ossification* zu beobachten. Am Processus odontoideus traten an GD 21 folgende Anomalien auf: *Processus odontoideus unossified* (90 von 117; 76,92%), *Processus odontoideus asymmetric ossification* (1 von 27; 3,70%), *Processus odontoideus bipartite ossification* (5 von 27; 18,52%), und *Processus odontoideus dumbbell-shaped* (3 von 27; 11,11%).

Der ventrale Fortsatz des sechsten Halswirbelkörpers wies die Anomalie *Anterior tubercle malpositioned* an drei von 117 (2,56%) Halswirbelkörpern auf (Tabelle 3a).

Bei den Kontrollnachkommen des Untersuchungszeitpunkts PND 7 traten an den Ossifikationszentren der Halswirbelkörper die Anomalien *Cervical centrum asymmetric ossification* (5 von 1015; 0,49%), *Cervical centrum bipartite ossification* (23 von 1015; 2,273%), *Cervical centrum dumbbell-shaped* (2 von 1015; 0,20%) und *Cervical centrum hemicentric* (2 von 1015; 0,20%) auf. Am Processus odontoideus waren am siebten postnatalen Tag in der Kontrollgruppe die Anomalien *Processus odontoideus asymmetric ossification* (16 von 145; 11,03%), *Processus odontoideus bipartite ossification* (92 von 145; 63,45%) und *Processus odontoideus dumbbell-shaped* (33 von 145; 22,76%) zu beobachten (Tabelle 3b).

Am Untersuchungszeitpunkt PND 21 wies der Processus odontoideus die Anomalien *Processus odontoideus asymmetric ossification* (1 von 86; 1,16%), *Processus odontoideus*

bipartite ossification (9 von 86; 10,47%) und *Processus odontoideus dumbbell-shaped* (24 von 86; 27,91%) auf (Tabelle 3c). Die restlichen Bereiche der Halswirbelsäule waren bei den Nachkommen der Kontrollgruppe zu diesem Untersuchungszeitpunkt nicht verändert.

Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Cervical centrum	unossified	1631	1387	85,04	819	341	41,64
	asymmetric ossification	244	3	1,23	478	0	0,00
	bipartite ossification	244	25	10,25	478	10	2,09
	dumbbell-shaped	244	6	2,46	478	0	0,00
	hemicentric	244	8	3,28	478	0	0,00
	misshapen	244	0	0,00	478	0	0,00
Proc.odontoideus	unossified	233	220	94,42	117	90	76,92
	asymmetric ossification	13	0	0,00	27	1	3,70
	bipartite ossification	13	0	0,00	27	5	18,52
	dumbbell-shaped	13	0	0,00	27	3	11,11
Cervical arch	misshapen	1631	5	0,31	819	0	0,00
Anterior tubercle C6	malpositioned	233	3	1,29	117	3	2,56

Tabelle 3b: Vergleich der aufgetretenen Anomalien in der Halswirbelsäule bei der FUDR Gruppe und Kontrolle am Tag 7 postnatal							
Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchter Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchter Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Cervical centrum	absent	2156	6	0,28	1015	0	0,00
	asymmetric ossification	2150	220	10,23	1015	5	0,49
	bipartite ossification	2150	463	21,53	1015	23	2,27
	dumbbell-shaped	2150	9	0,42	1015	2	0,20
	hemicentric	2150	33	1,53	1015	2	0,20
	misshapen	2150	5	0,23	1015	0	0,00
Proc.odontoideus	unossified	308	0	0,00	145	0	0,00
	asymmetric ossification	308	106	34,42	145	16	11,03
	bipartite ossification	308	174	56,49	145	92	63,45
	dumbbell-shaped	308	96	31,17	145	33	22,75
Cervical arch	misshapen	2156	1	0,05	1015	0	0,00
Anterior tubercle C6	malpositioned	308	36	11,69	145	0	0,00

Tabelle 3c: Vergleich der aufgetretenen Anomalien in der Halswirbelsäule bei der FUDR Gruppe und Kontrolle am Tag 21 postnatal								
Gruppe		FUDR			Kontrolle			
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	
Cervical centrum	absent	1918	13	0,68	602	0	0,00	
	asymmetric ossification	1905	26	1,36	602	0	0,00	
	bipartite ossification	1905	104	5,46	602	0	0,00	
	dumbbell-shaped	1905	24	1,26	602	0	0,00	
	hemicentric	1905	41	2,15	602	0	0,00	
	misshapen	1905	45	2,36	602	0	0,00	
Proc.odontoideus	unossified	274	0	0,00	86			
	asymmetric ossification	274	49	17,88	86	1	1,16	
	bipartite ossification	274	164	59,85	86	9	10,47	
	dumbbell-shaped	274	70	25,55	86	24	27,91	
Cervical arch	misshapen	1918	10	0,52	602	0	0,00	
Anterior tubercle C6	malpositioned	274	62	22,63	86	0	0,00	

In Abb.3a1-3a8 wird eine Auswahl der in Tabelle 3a gelisteten Anomalien der Halswirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt GD 21 dargestellt.

Abb.3a1: Halswirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Cervical centrum unossified*

A Control

B+C *Cervical centrum unossified*

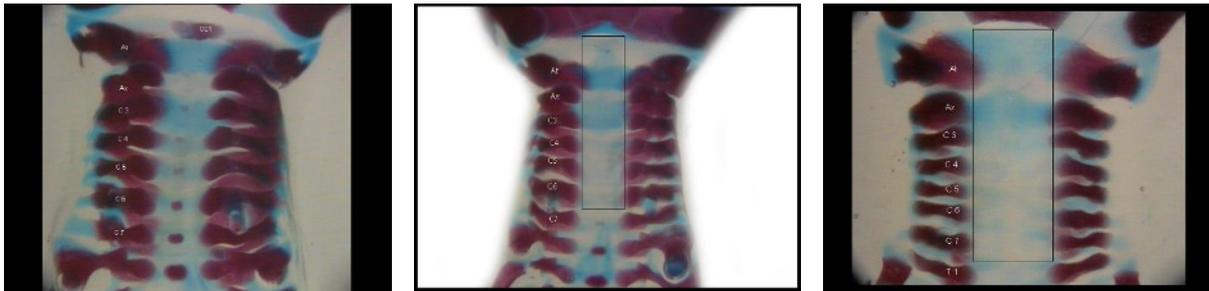


Abb.3a2: Halswirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Cervical centrum asymmetric ossification*

A Control

B *Cervical centrum asymmetric ossification*

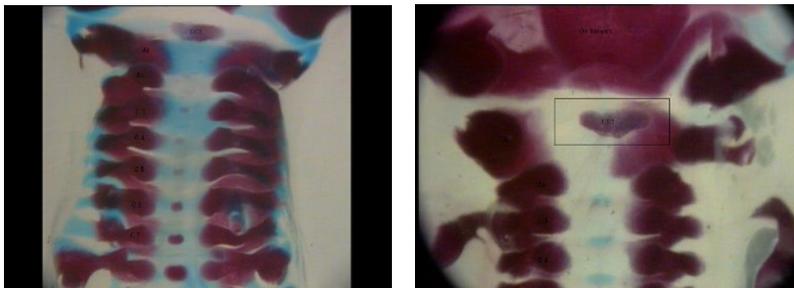


Abb.3a3: Halswirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Cervical centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Cervical centrum bipartite ossification*

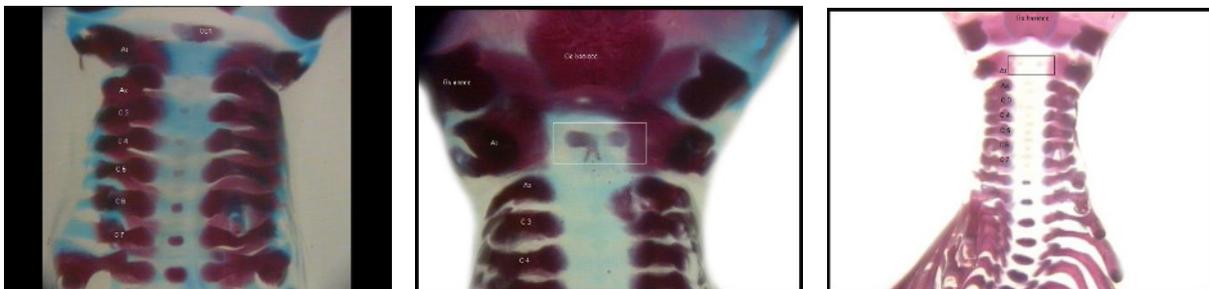
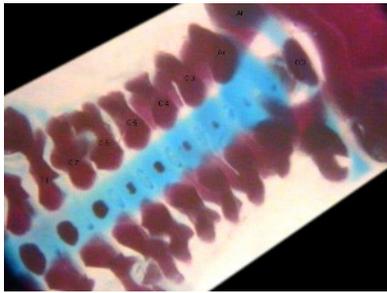


Abb.3a4: Halswirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Cervical centrum dumbbell-shaped*

A Control



B *Cervical centrum dumbbell-shaped*

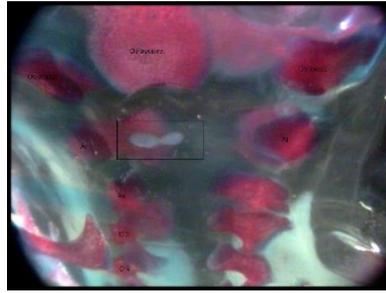


Abb.3a5: Halswirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Cervical centrum hemicentric*

A Control



B+C *Cervical centrum hemicentric*

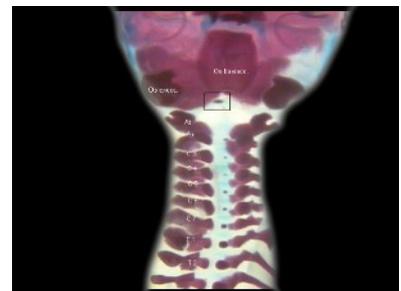


Abb.3a6: Halswirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Processus odontoideus unossified*

A Control



B+C *Processus odontoideus unossified*

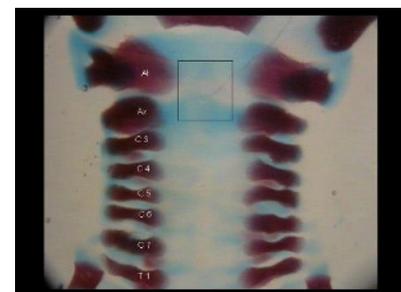
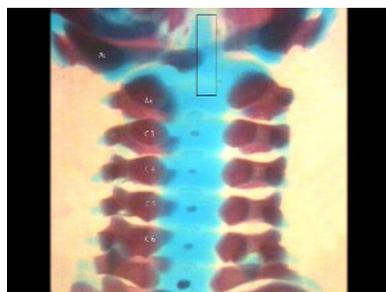
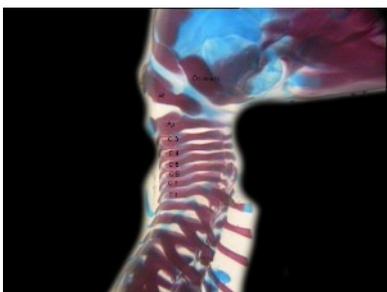


Abb.3a7: Halswirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Cervical arch misshapen*

A Control



B+C *Cervical arch misshapen*

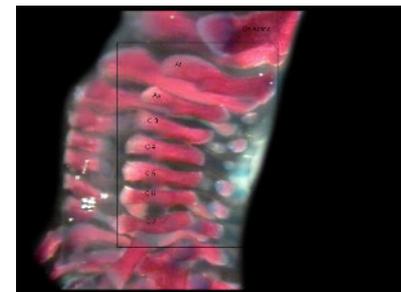
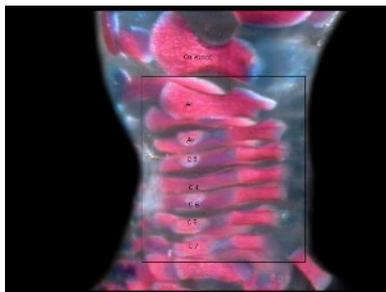
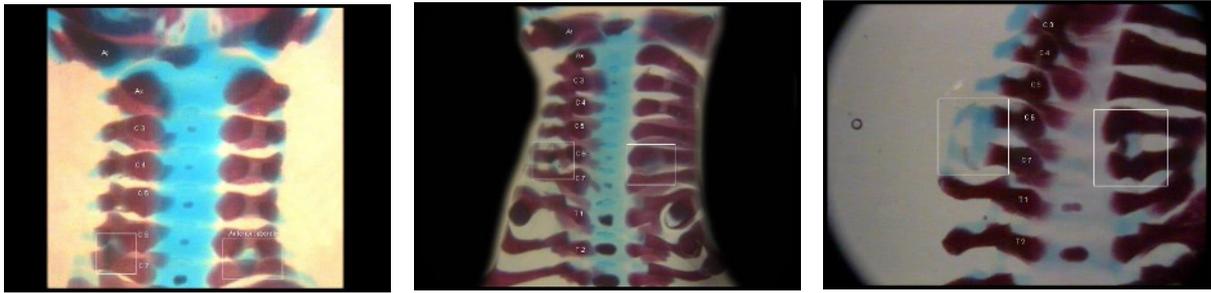


Abb.3a8: Halswirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Anterior tubercle C6 malpositioned*

A Control

B+C *Anterior tubercle C6 malpositioned*



In den Abb.3b1-3b10 wird eine Auswahl der in Tabelle 3b gelisteten Anomalien der Halswirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt PND 7 dargestellt.

Abb.3b1: Halswirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Cervical centrum absent*

A Control

B+C *Cervical centrum absent*

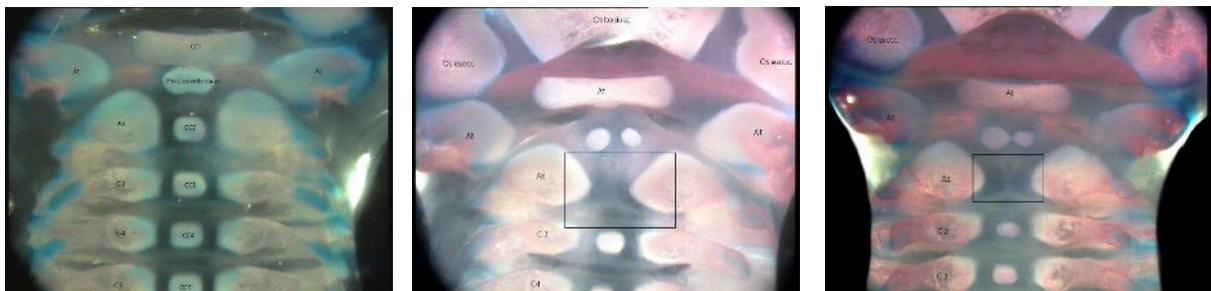


Abb.3b2: Halswirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Cervical centrum asymmetric ossification*

A Control

B+C *Cervical centrum asymmetric ossification*

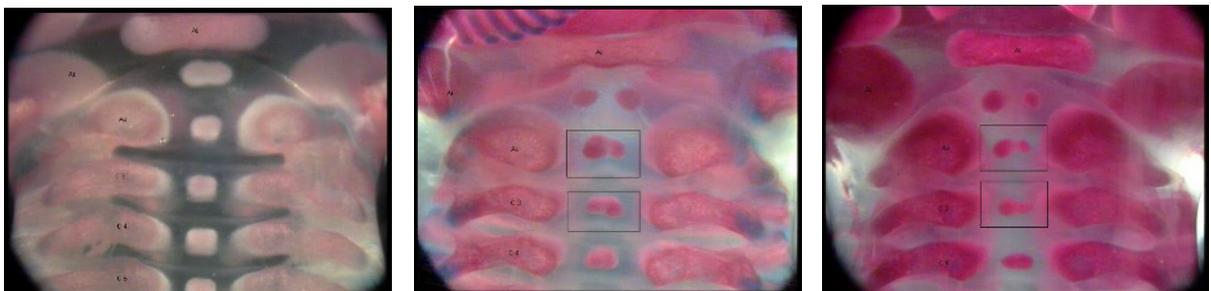
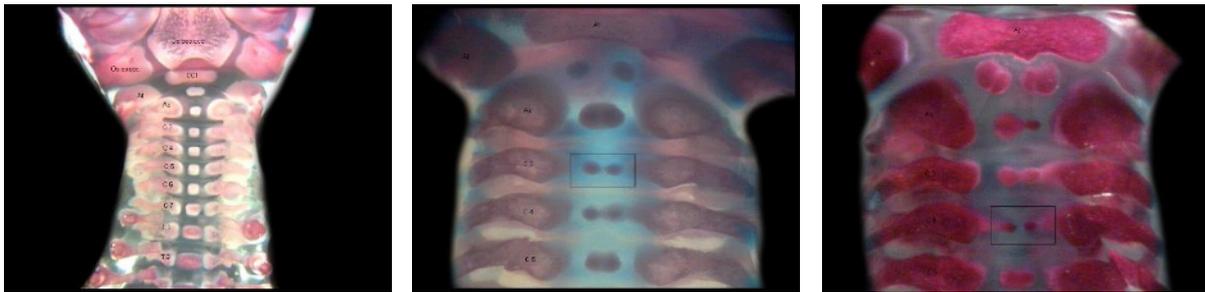
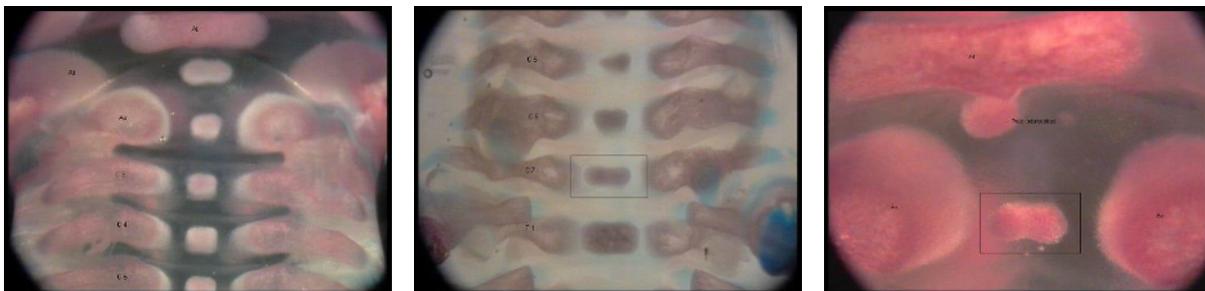


Abb.3b3: Halswirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Cervical centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Cervical centrum bipartite ossification*Abb.3b4: Halswirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Cervical centrum dumbbell-shaped*

A Control

B+C *Cervical centrum dumbbell-shaped*Abb.3b5: Halswirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Cervical centrum hemicentric*

A Control

B+C *Cervical centrum hemicentric*Abb.3b6: Halswirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Cervical centrum misshapen*

A Control

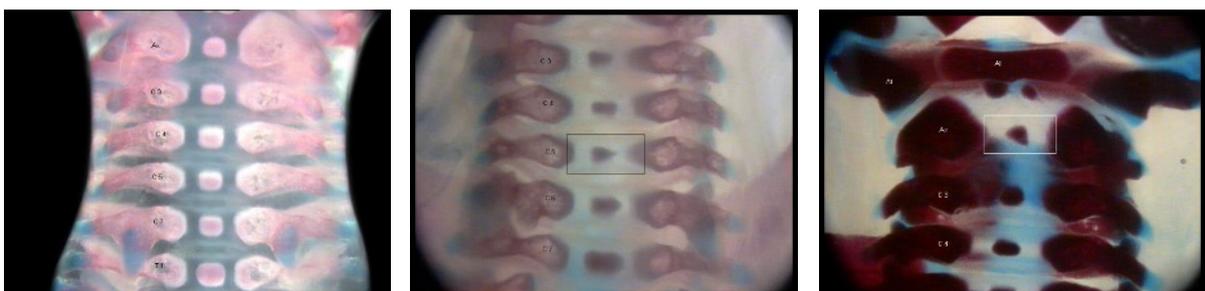
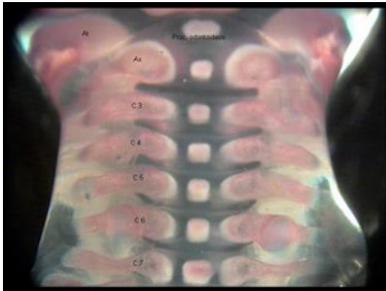
B+C *Cervical centrum misshapen*

Abb.3b7: Halswirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Processus odontoideus asymmetric ossification*

A Control



B+C *Processus odontoideus asymmetric ossification*

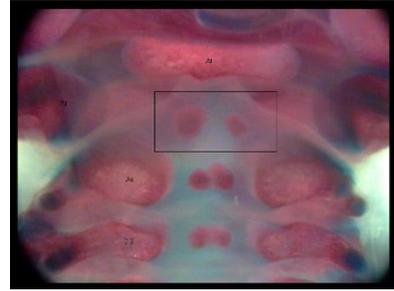
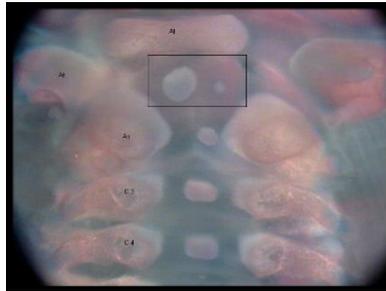
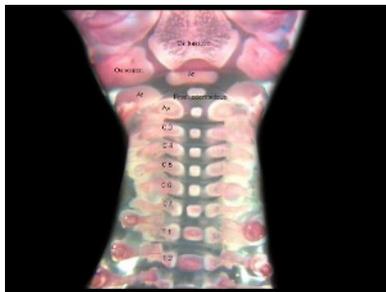


Abb.3b8: Halswirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Processus odontoideus bipartite ossification*

A Control



B+C *Processus odontoideus bipartite ossification*

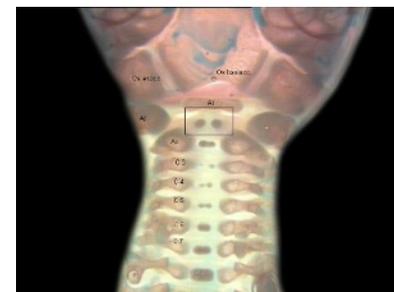
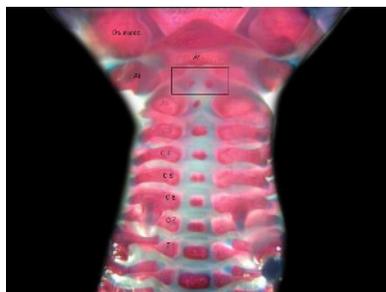
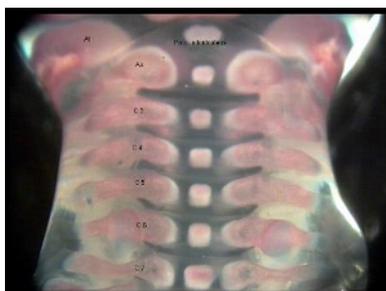


Abb. 3b9: Halswirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Processus odontioideus dumbbell-shaped*

A Control



B+C *Processus odontoideus dumbbell-shaped*

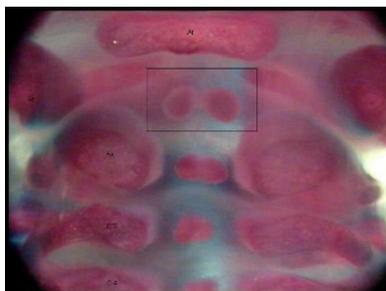
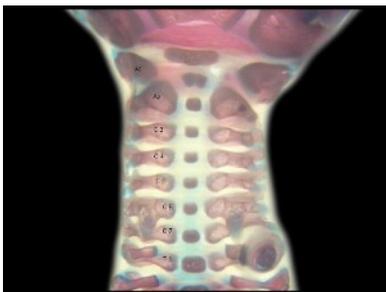
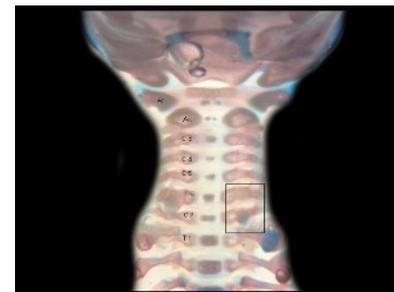
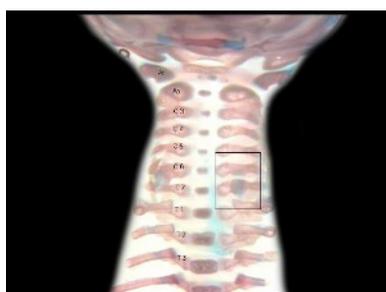


Abb.3b10: Halswirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Anterior tubercle C6 malpositioned*

A Control



B+C *Anterior tubercle C6 malpositioned*



In den Abb.3c1-3c11 wird eine Auswahl der in Tabelle 3c gelisteten Anomalien der Halswirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt PND 21 dargestellt.

Abb.3c1 Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Cervical centrum absent*

A Control

B+C *Cervical centrum absent*

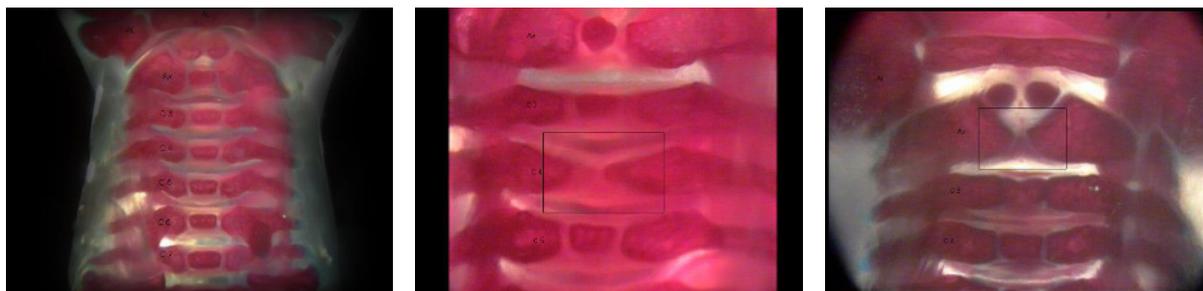


Abb.3c2: Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Cervical centrum asymmetric ossification*

A Control

B+C *Cervical centrum asymmetric ossification*

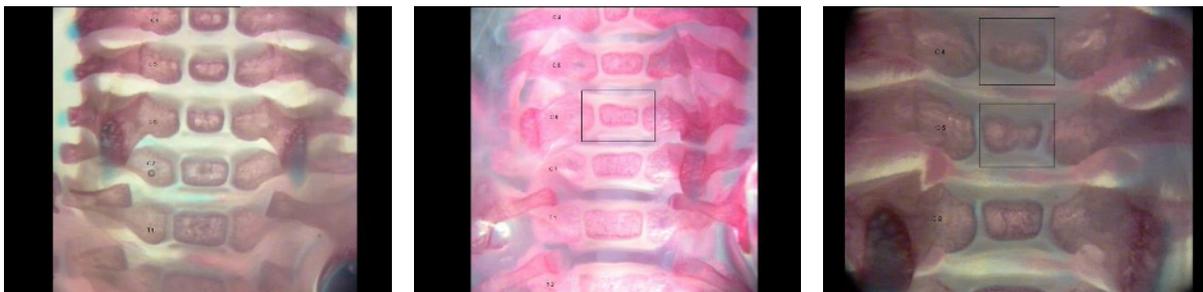


Abb.3c3: Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Cervical centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Cervical centrum bipartite ossification*

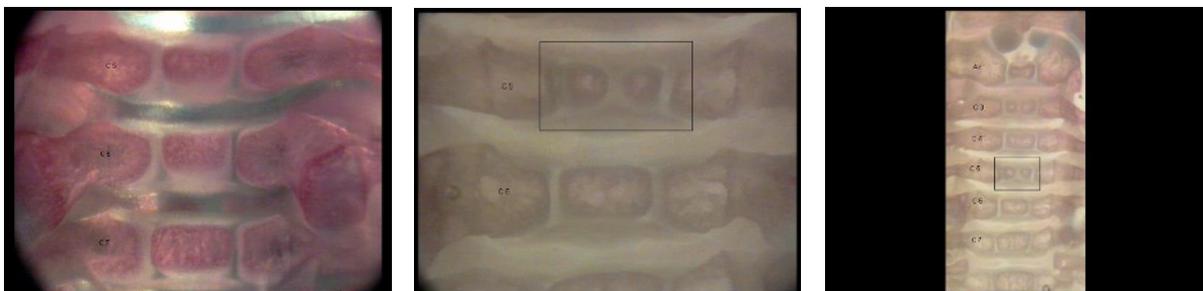
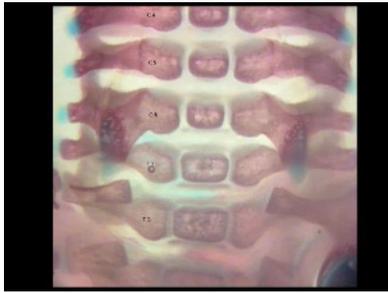


Abb.3c4: Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Cervical centrum dumbbell-shaped*

A Control



B *Cervical centrum dumbbell-shaped*

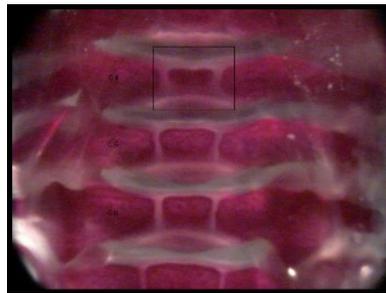
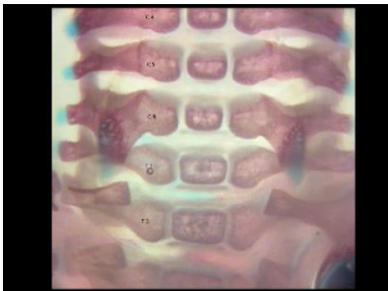


Abb.3c5: Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Cervical centrum hemicentric*

A Control



B+C *Cervical centrum hemicentric*

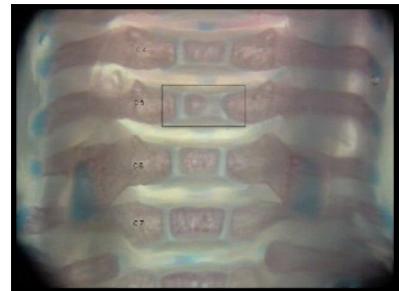
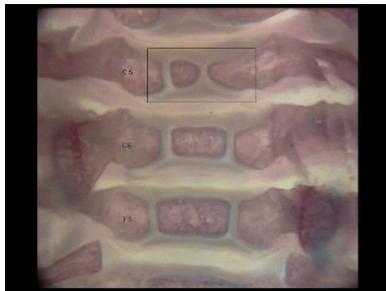


Abb.3c6: Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Cervical centrum misshapen*

A Control



B+C *Cervical centrum misshapen*

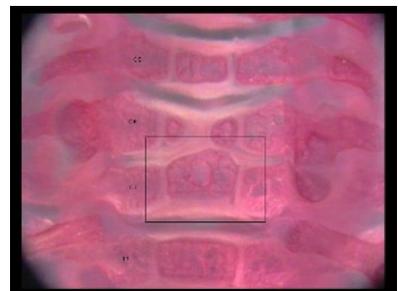
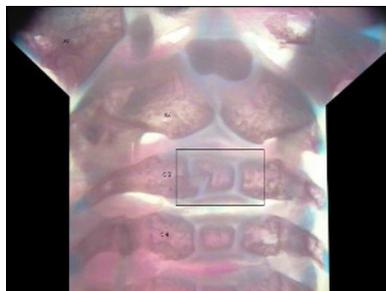


Abb.3c7: Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Processus odontoideus asymmetric ossification*

A Control



B+C *Processus odontoideus asymmetric ossification*

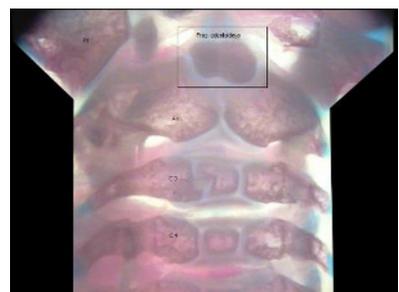
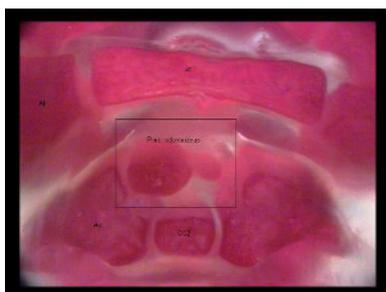
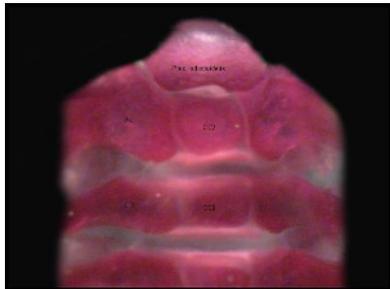


Abb.3c8: Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Processus odontoideus bipartite ossification*

A Control



B+C *Processus odontoideus bipartite ossification*

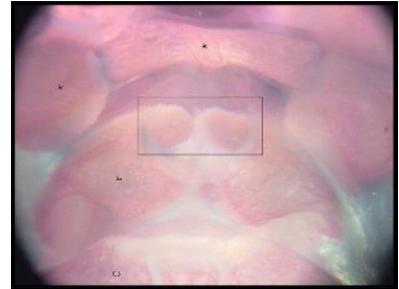
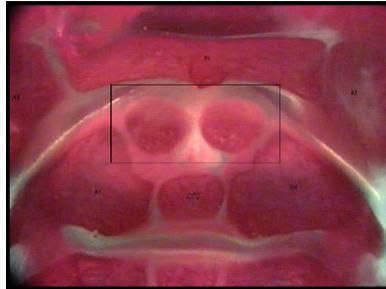


Abb.3c9: Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Processus odontoideus dumbbell-shaped*

A Control



B+C *Processus odontoideus dumbbell-shaped*



Abb.3c10: Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Cervical arch misshapen*

A Control



B+C *Cervical arch misshapen*

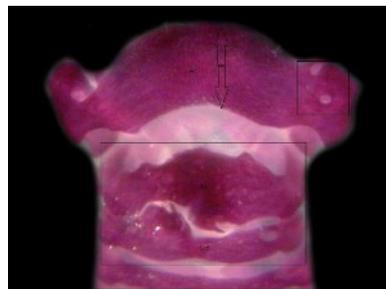
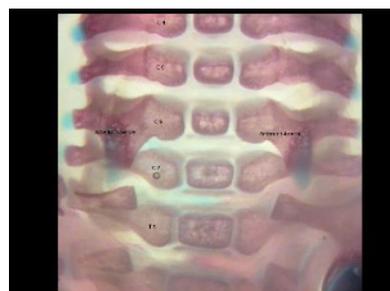
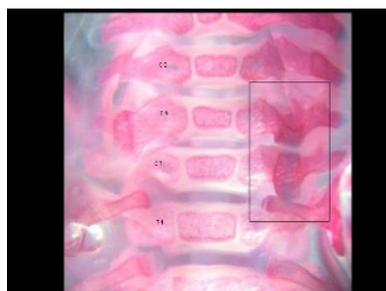


Abb.3c11: Halswirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Anterior tubercle C6 malpositioned*

A Control



B+C *Anterior tubercle C6 malpositioned*



4.3 Befunde der Brustwirbelkörper

In Tabelle 4 a-c sind die Ergebnisse der Befundung der Brustwirbel in den drei Altersstufen dargestellt.

In Tabelle 4a sind die Befunde an Tag 21 der Trächtigkeit (GD 21) von mit FUDR behandelten Tieren und den zugehörigen Kontrolltieren aufgelistet. Es traten verschiedene Anomalien mit unterschiedlichen Inzidenzen nach Behandlung mit FUDR auf. Bei 77 von 3029 (2,54%) Wirbelkörpern trat am Ossifikationszentrum die Anomalie *Thoracic centrum unossified* auf. Von den verbliebenen 2952 untersuchten Wirbelkörpern wiesen 281 die Anomalie *Thoracic centrum asymmetric* (9,52%) auf. Die Anomalie *Thoracic centrum bipartite ossification* (45,63%) trat bei 1347 von 2952 Wirbelkörpern auf. 130 von 2952 untersuchten Wirbelkörpern zeigten die Anomalie *Thoracic centrum dumbbell-shaped* (4,40%), 37 von 2952 (1,25%) die Anomalie *Thoracic centrum hemicentric* und vier von 2952 (0,14%) die Anomalie *Thoracic centrum misshapen*. Am Wirbelbogen des Brustwirbels (*Vertebra thoracic arch*) war bei einem von 3029 (0,03%) der Befund *Thoracic arch misshapen* zu beobachten.

Die an Tag sieben postnatal (PND 7) untersuchten Nachkommen wiesen die Anomalien *Thoracic centrum asymmetric ossification* (1 von 4004 0,02%), *Thoracic centrum bipartite ossification* (207 von 4004; 5,17%) und *Thoracic centrum dumbbell-shaped* bei 57 von 4004 Wirbelkörpern (1,42%) auf. Am Wirbelbogen des Brustwirbels trat bei einem von 4004 (0,02%) der Befund *Thoracic arch misshapen* auf (Tabelle 4b).

Tabelle 4c ist zu entnehmen, dass Nachkommen, die zum Untersuchungszeitpunkt 21 Tage alt waren (PND 21), die Anomalien *Thoracic centrum bipartite ossification* bei 107 von 3562 (3,00%) Wirbelkörpern, *Thoracic centrum dumbbell-shaped* bei 74 von 3562 (2,08%) und *Thoracic centrum misshapen* bei drei von 3562 (0,08%) Wirbelkörpern aufwiesen.

An den Wirbelbögen zeigte sich an zehn von 3562 (0,28%) die Anomalie *Thoracic arch misshapen*.

In den Kontrollgruppen waren zum Zeitpunkt GD 21 bei einem von 1521 (0,07%) Ossifikationszentren der Wirbelkörper die Anomalie *Thoracic centrum asymmetric ossification*, bei 19 von 1521 (1,25%) Wirbelkörpern eine *Thoracic centrum bipartite ossification* und bei 15 von 1521 Wirbelkörpern (0,99%) eine *Thoracic centrum dumbbell-shaped* auf (Tabelle 4a).

Die Kontrollnachkommen des Untersuchungszeitpunkts PND 7 zeigten an je zwei von 1885 (0,11%) Brustwirbelkörpern die Anomalien *Thoracic centrum bipartite ossification* und *Thoracic centrum dumbbell-shaped* (Tabelle 4b).

An PND 21 waren die beiden Anomalien *Thoracic centrum bipartite ossification* und *Thoracic centrum dumbbell-shaped* an einem (0,09%) beziehungsweise zwei (0,18%) von 1118 Brustwirbelkörpern zu beobachten (Tabelle 4c).

Tabelle 4a: Vergleich der aufgetretenen Anomalien in der Brustwirbelsäule bei der FUDR Gruppe und Kontrolle am Tag 21 der Trächtigkeit							
Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Thoracic centrum	unossified	3029	77	2,54	1521	0	0,00
	asymmetric ossification	2952	281	9,52	1521	1	0,07
	bipartite ossification	2952	1347	45,63	1521	19	1,25
	dumbbell-shaped	2952	130	4,40	1521	15	0,99
	hemicentric	2952	37	1,25	1521	0	0,00
	misshapen	2952	4	0,14	1521	0	0,00
Thoracic arch	misshapen	3029	1	0,03	1521	0	0,00

Tabelle 4b: Vergleich der aufgetretenen Anomalien in der Brustwirbelsäule bei der FUDR Gruppe und Kontrolle am Tag 7 postnatal

Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Thoracic centrum	unossified	4004	0	0,00	1885	0	0,00
	asymmetric ossification	4004	1	0,02	1885	0	0,00
	bipartite ossification	4004	207	5,17	1885	2	0,11
	dumbbell-shaped	4004	57	1,42	1885	2	0,11
	hemicentric	4004	0	0,00	1885	0	0,00
	misshapen	4004	0	0,00	1885	0	0,00
Thoracic arch	misshapen	4004	1	0,02	1885	0	0,00

Tabelle 4c: Vergleich der aufgetretenen Anomalien in der Brustwirbelsäule bei der FUDR Gruppe und Kontrolle am Tag 21 postnatal							
Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchter Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchter Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Thoracic centrum	unossified	3562	0	0,00	1118	0	0,00
	asymmetric ossification	3562	0	0,00	1118	0	0,00
	bipartite ossification	3562	107	3,00	1118	1	0,09
	dumbbell-shaped	3562	74	2,08	1118	2	0,18
	hemicentric	3562	0	0,00	1118	0	0,00
	misshapen	3562	3	0,08	1118	0	0,00
Thoracic arch	misshapen	3562	10	0,28	1118	0	0,00

In den Abb.4a1-4a6 wird eine Auswahl der in Tabelle 4a gelisteten Anomalien der Brustwirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt GD 21 dargestellt.

Abb.4a1: Brustwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Thoracic centrum unossified*

A Control

B+C *Thoracic centrum unossified*

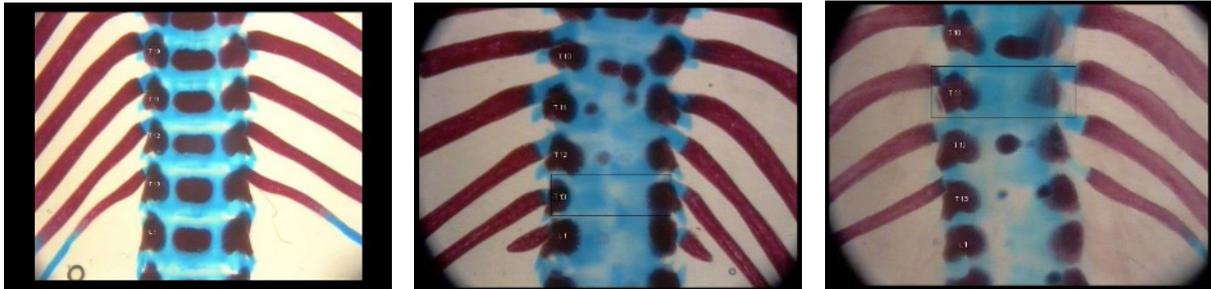


Abb.4a2: Brustwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Thoracic centrum asymmetric ossification*

A Control

B+C *Thoracic centrum asymmetric ossification*

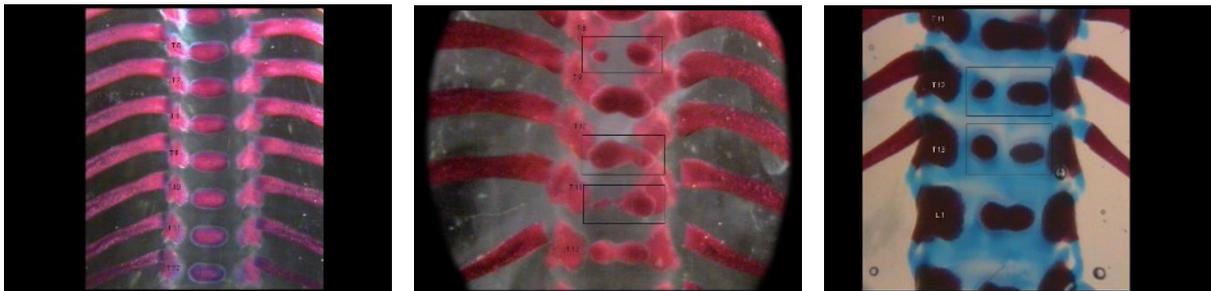


Abb.4a3: Brustwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Thoracic centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Thoracic centrum bipartite ossification*

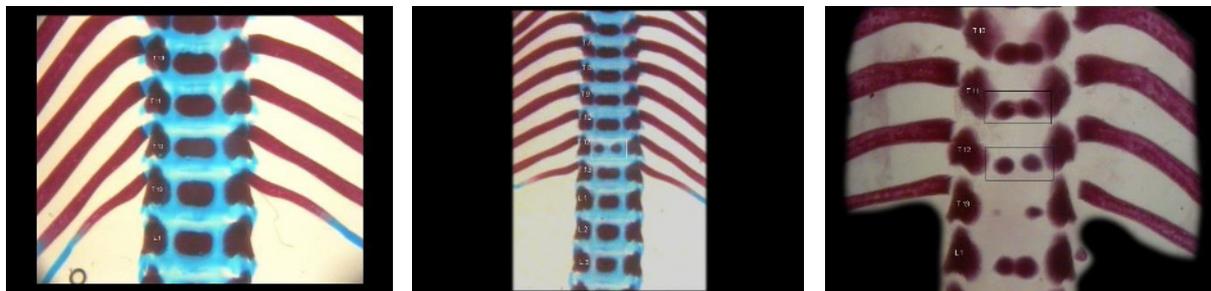


Abb.4a4: Brustwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Thoracic centrum dumbbell-shaped*

A Control

B+C *Thoracic centrum dumbbell-shaped*



Abb.4a5: Brustwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Thoracic centrum hemicentric*

A Control

B+C *Thoracic centrum hemicentric*

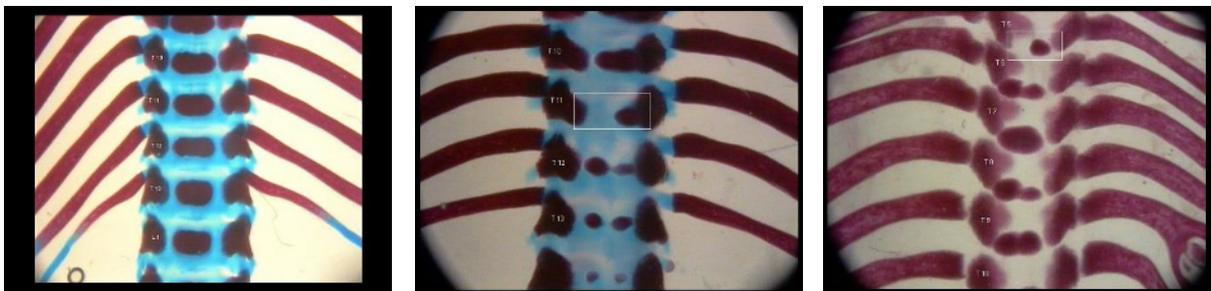


Abb. 4a6: Brustwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Thoracic centrum misshapen*

A Control

B+C *Thoracic centrum misshapen*



In den Abb.4b1-4b3 wird eine Auswahl der in Tabelle 4b gelisteten Anomalien der Brustwirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt PND7 dargestellt.

Abb.4b1: Brustwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Thoracic centrum asymmetric ossification*

A Control

B+C *Thoracic centrum asymmetric ossification*

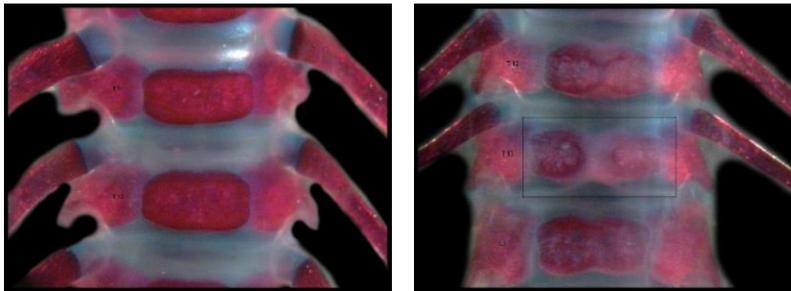


Abb.4b2: Brustwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Thoracic centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Thoracic centrum bipartite ossification*

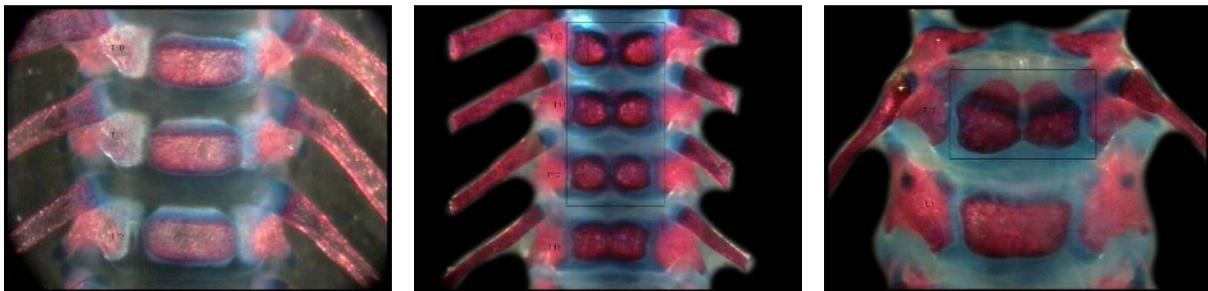
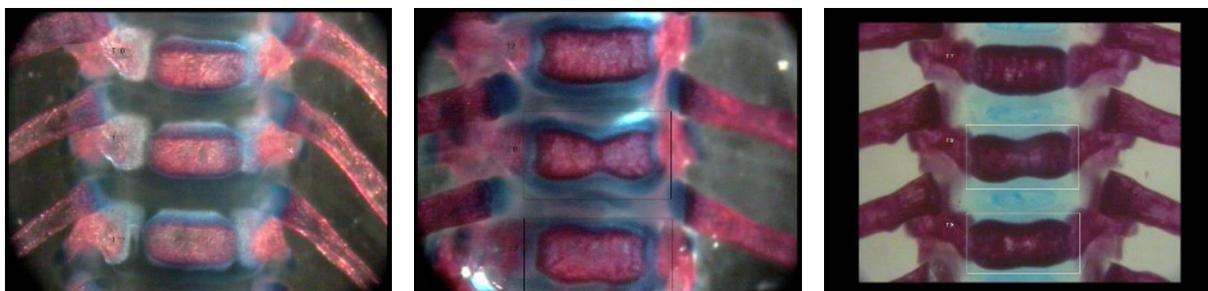


Abb. 4b3: Brustwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Thoracic centrum dumbbell-shaped*

A Control

B+C *Thoracic centrum dumbbell-shaped*



In den Abb.4c1-4c4 wird eine Auswahl der in Tabelle 4c gelisteten Anomalien der Brustwirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt PND 21 dargestellt.

Abb. 4c1: Brustwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Thoracic centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Thoracic centrum bipartite ossification*

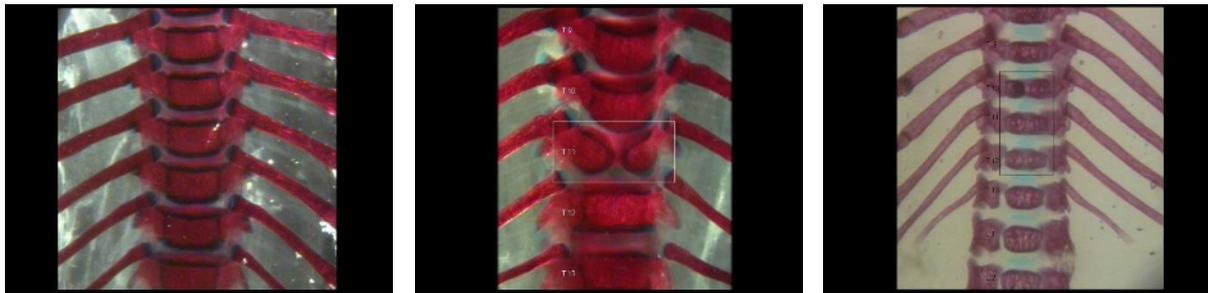


Abb.4c2: Brustwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Thoracic centrum dumbbell-shaped*

A Control

B+C *Thoracic centrum dumbbell-shaped*

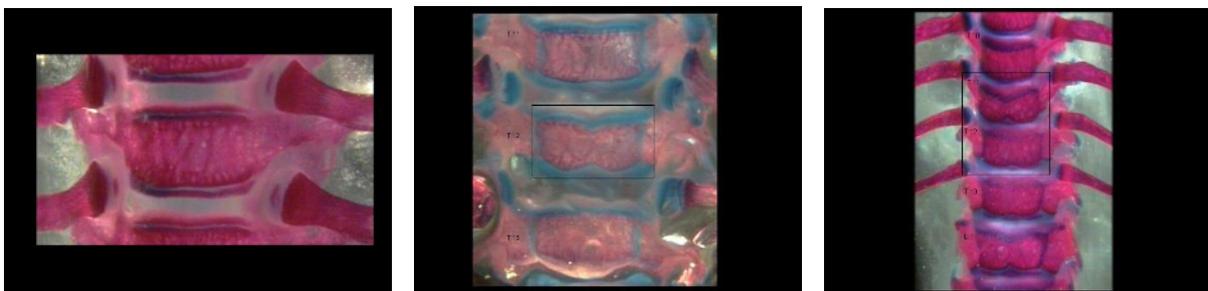


Abb.4c3: Brustwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Thoracic centrum misshapen*

A Control

B+C *Thoracic centrum misshapen*

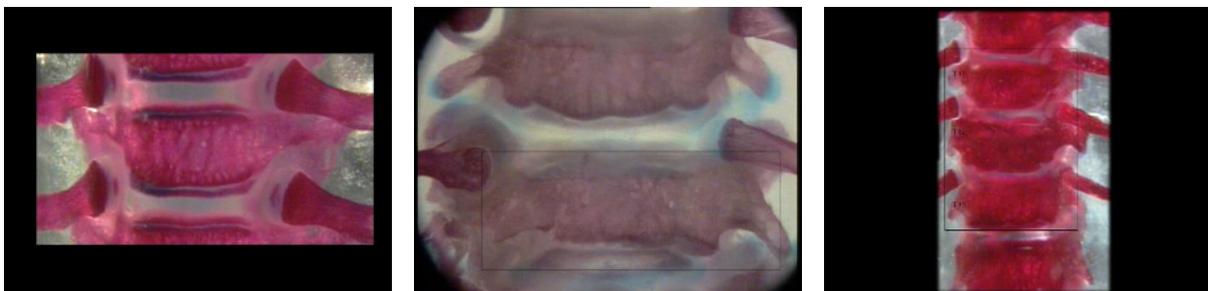
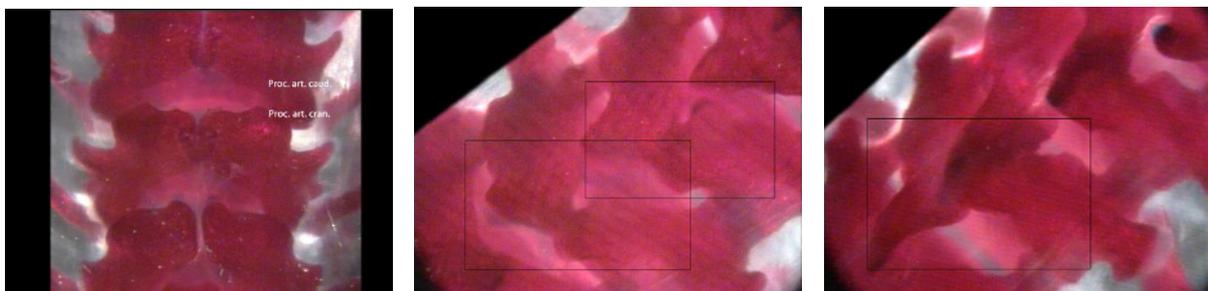


Abb.4c4: Brustwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Thoracic arch misshapen*

A Control

B+C *Thoracic arch misshapen*



4.4 Befunde der Lendenwirbelkörper

In Tabelle 5 a-c sind die Ergebnisse der Befundung der Lendenwirbel in den drei Altersstufen dargestellt.

Der Tabelle 5a sind die Befunde an Tag 21 der Trächtigkeit (GD 21) von mit FUDR behandelten Tieren und den zugehörigen Kontrolltieren zu entnehmen. Es traten verschiedene Anomalien an den Ossifikationszentren der lumbalen Wirbelkörper (*Vertebra lumbar centrum*) mit unterschiedlichen Inzidenzen nach Behandlung mit FUDR auf. 68 von 1398 untersuchten Wirbelkörpern zeigten die Anomalie *Lumbar centrum unossified* (4,86%). 115 von 1330 Wirbelkörper wiesen die Anomalie *Lumbar centrum asymmetric ossification* (8,65%) auf. Von 1330 untersuchten Wirbelkörpern wiesen 403 die Anomalie *Lumbar centrum bipartite ossification* (30,30%) auf. Die Anomalie *Lumbar centrum dumbbell-shaped* war bei sieben Wirbelkörpern zu finden (0,53%) während die Anomalie *Lumbar centrum fused* bei 49 von 1330 Wirbelkörpern auftrat (3,68%). Weitere Anomalien in den Wirbelkörpern der Lendenwirbelsäule waren *Lumbar centrum hemicentric* (77 von 1330, 5,79%), *Lumbar centrum misshapen* (340 von 1330; 25,56%), *Lumbar centrum malpositioned* (24 von 1330; 1,80%) sowie *Lumbar vertebra supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter* (68 von 233; 29,18%). Diese Anomalie wird in der klinisch angewandten Anatomie „lumbalisierter Sakralwirbel“ genannt. Am Wirbelkörper selbst (*Lumbar vertebra*) war bei einem von 233 (0,43%) der an GD 21 untersuchten Nachkommen die Anomalie *Lumbar centrum supernumerary site* zu beobachten. Der Bogen des Wirbelkörpers (*Vertebra lumbar arch*) wies die Anomalie *Lumbar arch misshapen* bei 14 von 1398 untersuchten Wirbelkörpern auf (1,00%).

Bei den an Tag sieben postnatal (PND 7) untersuchten Nachkommen zeigten sich an den Ossifikationszentren die Befunde *Lumbar centrum asymmetric ossification* bei sieben von 1848 (0,38%) Wirbelkörpern und *Lumbar centrum bipartite ossification* bei 44 von 1848 (2,38%) lumbalen Wirbelkörpern. Es traten darüber hinaus die Anomalien *Lumbar centrum dumbbell-shaped* (6 von 1848; 0,32%), *Lumbar centrum fused* (4 von 1848; 0,22%), *Lumbar centrum hemicentric* (2 von 1848; 0,11%) und *Lumbar centrum misshapen* (44 von 1848; 2,38%) auf. Die Anomalie *Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter* war bei 99 von 308 (32,14%) Wirbelkörpern zu beobachten. Am Wirbelkörper selbst wiesen sechs von 308 (1,95%) untersuchten Wirbelkörpern den Befund *Lumbar vertebra supernumerary site* auf. Auch an diesem Untersuchungszeitpunkt, sieben Tage postnatal, war am Bogen des Wirbelkörpers die Anomalie *Lumbar arch misshapen* bei acht von 1848 (0,43%) zu beobachten (Tabelle 5b).

Tabelle 5c ist zu entnehmen, dass Nachkommen, die zum Untersuchungszeitpunkt 21 Tage alt waren (PND 21), an 14 von 1644 (0,85%) untersuchten Wirbelkörpern die Anomalie *Lumbar centrum bipartite ossification* aufwiesen. Die Anomalien *Lumbar centrum dumbbell-shaped* (4 von 1644; 0,24%) und *Lumbar centrum fused* (5 von 1644; 0,30%) waren an diesem Untersuchungszeitpunkt ebenfalls zu beobachten. 29 von 1644 (1,76%) Wirbelkörper zeigten den Befund *Lumbar centrum misshapen*. Die Anomalie *Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter* war bei 101 von 274 (36,86%) Wirbelkörpern zu beobachten. Am Wirbelkörper selbst trat bei sechs von 274 (2,19%) untersuchten Wirbelkörpern der Befund *Lumbar vertebra supernumerary site* auf. Am Bogen des Wirbelkörpers zeigte sich die Anomalie *Lumbar arch misshapen* bei sieben von 1644 (0,43%) Wirbelbögen.

In den Kontrollgruppen waren zum Zeitpunkt GD 21 nur die beiden Anomalien *Lumbar centrum bipartite ossification* (1 von 702; 0,14%) und *Lumbar centrum dumbbell-shaped* (2 von 702; 0,28%) zu beobachten. (Tabelle 5a).

Die Kontrollnachkommen des Untersuchungszeitpunkts PND 7 zeigten an einem von 870 (0,11%) untersuchten Ossifikationszentren der lumbalen Wirbelkörper die Anomalie *Lumbar centrum dumbbell-shaped*. Der Befund *Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter* zeigte sich an zwei von 145 (1,38%) untersuchten Wirbelkörpern. An PND 21 traten an den untersuchten lumbalen Wirbelkörpern der Kontrolltiere keine Anomalien auf (Tabelle 5b und 5c).

Tabelle 5a: Vergleich der aufgetretenen Anomalien in der Lendenwirbelsäule bei der FUDR Gruppe und Kontrolle am Tag 21 der Trächtigkeit							
Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Lumbar centrum	unossified	1398	68	4,86	702	0	0,00
	asymmetric ossification	1330	115	8,65	702	0	0,00
	bipartite ossification	1330	403	30,30	702	1	0,14
	dumbbell-shaped	1330	7	0,53	702	2	0,28
	fused	1330	49	3,68	702	0	0,00
	hemicentric	1330	77	5,79	702	0	0,00
	misshapen	1330	340	25,56	702	0	0,00
	malpositioned	1330	24	1,80	702	0	0,00
	supernumerary sin/dex/sin+dex	233	68	29,18	117	0	0,00
Lumbar vertebrae	supernumerary site =add oss.cent.	233	1	0,43	117	0	0,00
Lumbar arch	misshapen	1398	14	1,00	702	0	0,00

Tabelle 5b: Vergleich der aufgetretenen Anomalien in der Lendenwirbelsäule bei der FUDR Gruppe und Kontrolle am Tag 7 postnatal							
Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Lumbar centrum	unossified	1848	0	0,00	870	0	0,00
	asymmetric ossification	1848	7	0,38	870	0	0,00
	bipartite ossification	1848	44	2,38	870	0	0,00
	dumbbell-shaped	1848	6	0,32	870	1	0,11
	fused	1848	4	0,22	870	0	0,00
	hemicentric	1848	2	0,11	870	0	0,00
	misshapen	1848	44	2,38	870	0	0,00
	malpositioned	1848	0	0,00	870	0	0,00
	supernumerary sin/dex/sin+dex	308	99	32,14	145	2	1,38
Lumbar vertebrae	supernumerary site =add oss.cent.	308	6	1,95	145	0	0,00
Lumbar arch	misshapen	1848	8	0,43	870	0	0,00

Tabelle 5c: Vergleich der aufgetretenen Anomalien in der Lendenwirbelsäule bei der FUDR Gruppe und Kontrolle am Tag 21 postnatal							
Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Lumbar centrum	unossified	1644	0	0,00	516	0	0,00
	asymmetric ossification	1644	0	0,00	516	0	0,00
	bipartite ossification	1644	14	0,85	516	0	0,00
	dumbbell-shaped	1644	4	0,24	516	0	0,00
	fused	1644	5	0,30	516	0	0,00
	hemicentric	1644	0	0,00	516	0	0,00
	misshapen	1644	29	1,76	516	0	0,00
	malpositioned	1644	0	0,00	516	0	0,00
	supernumerary sin/dex/sin+dex	274	101	36,86	86	0	0,00
Lumbar vertebrae	supernumerary site =add oss.cent.	274	6	2,19	86	0	0,00
Lumbar arch	misshapen	1644	7	0,43	516	0	0,00

In den Abb.5a1-5a10 wird eine Auswahl der in Tabelle 5a gelisteten Anomalien der Lendenwirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt GD 21 dargestellt.

Abb.5a1: Lendenwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum unossified*

A Control

B+C *Lumbar centrum unossified*

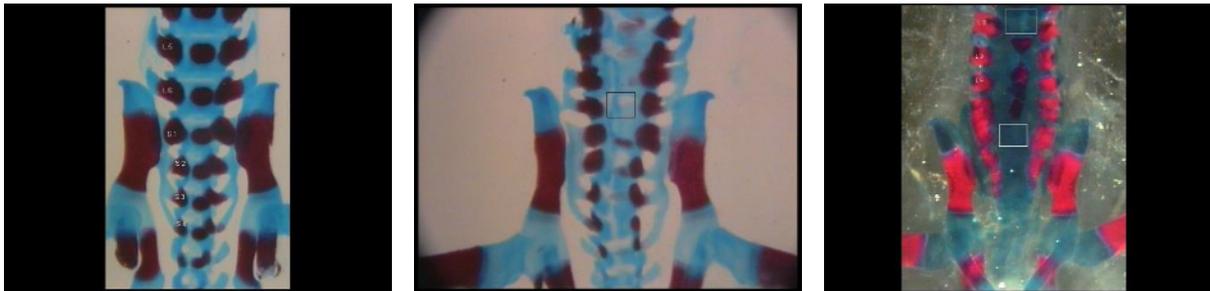


Abb.5a2: Lendenwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum asymmetric ossification*

A Control

B+C *Lumbar centrum asymmetric ossification*

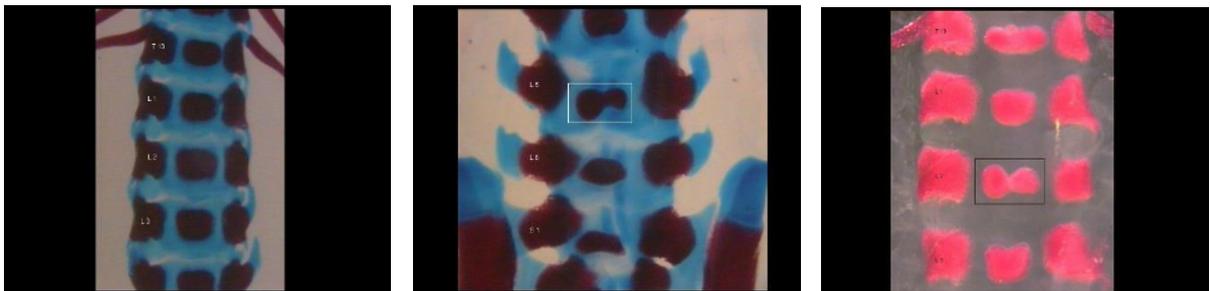


Abb.5a3: Lendenwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Lumbar centrum bipartite ossification*



Abb.5a4: Lendenwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum dumbbell-shaped*

A Control

B+C *Lumbar centrum dumbbell-shaped*



Abb.5a5: Lendenwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum fused*

A Control

B+C *Lumbar centrum fused*



Abb.5a6: Lendenwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum hemicentric*

A Control

B+C *Lumbar centrum hemicentric*



Abb. 5a7: Lendenwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum misshapen*

A Control

B+C *Lumbar centrum misshapen*

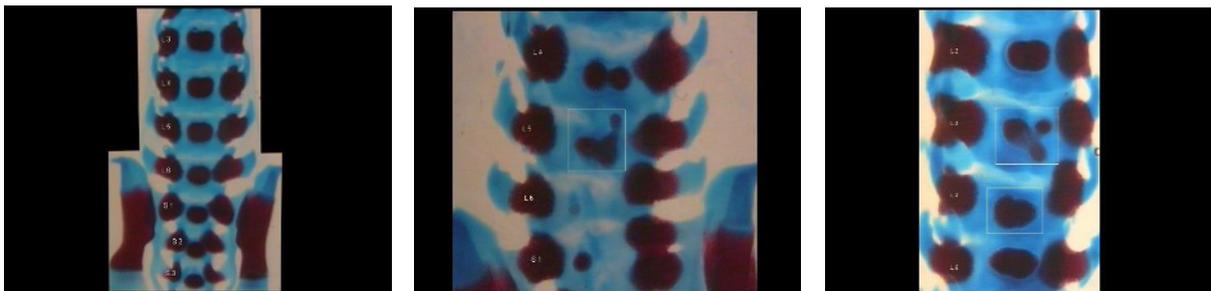


Abb.5a8: Lendenwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum malpositioned*

A Control

B+C *Lumbar centrum malpositioned*



Abb.5a9: Lendenwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter*

A Control

B+C *Lumbar centrum supernumerary sin/dex/sin+dex*

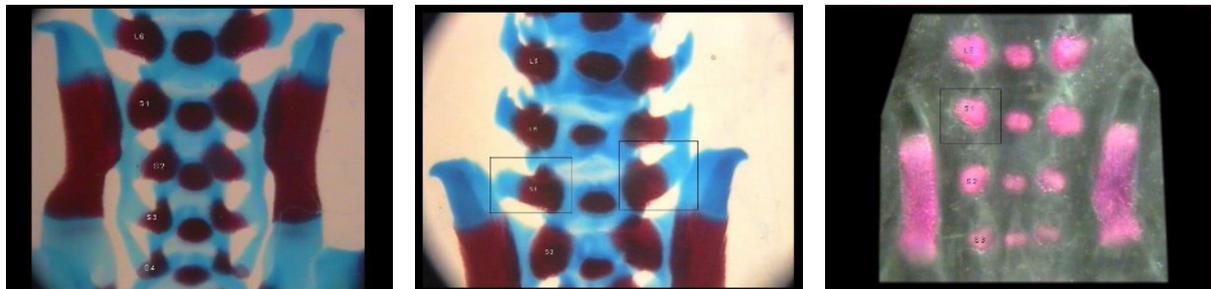
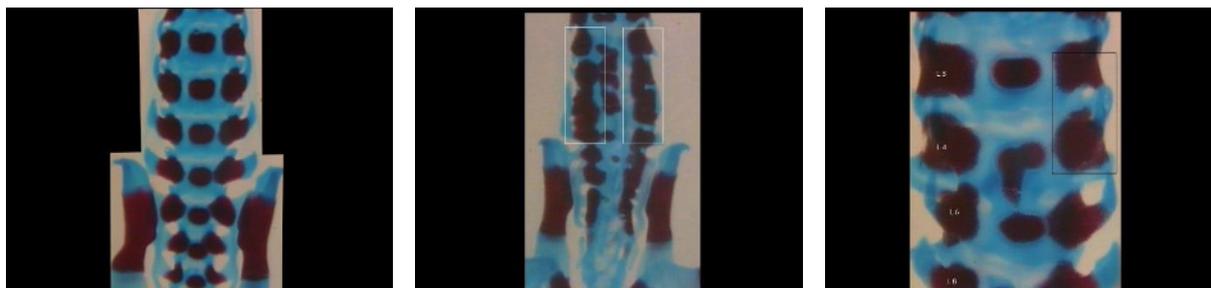


Abb.5a10: Lendenwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Lumbar arch misshapen*

A Control

B+C *Lumbar arch misshapen*



In den Abb. 5b1-5b7 wird eine Auswahl der in Tabelle 5b gelisteten Anomalien der Lendenwirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt PND 7 dargestellt.

Abb.5b1: Lendenwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Lumbar centrum asymmetric ossification*

A Control

B+C *Lumbar centrum asymmetric ossification*

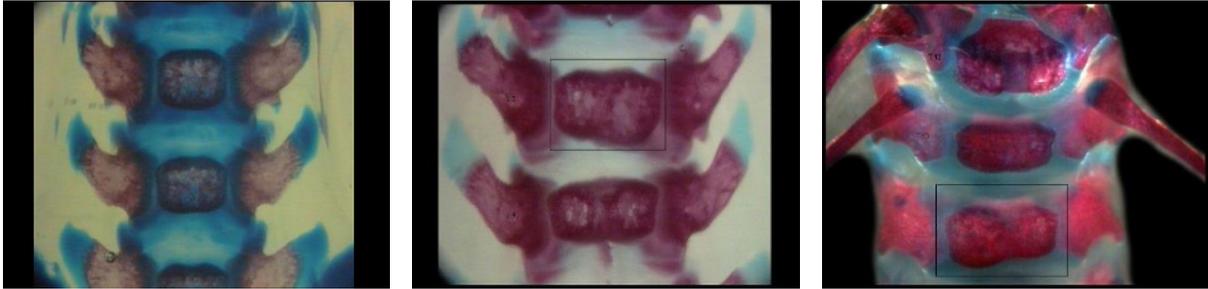


Abb.5b2: Lendenwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Lumbar centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Lumbar centrum bipartite ossification*

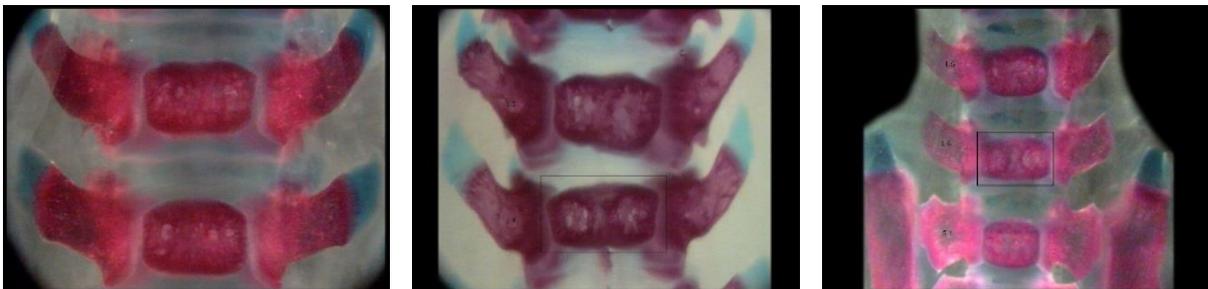


Abb.5b3: Lendenwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Lumbar centrum dumbbell-shaped*

A Control

B+C *Lumbar centrum dumbbell-shaped*

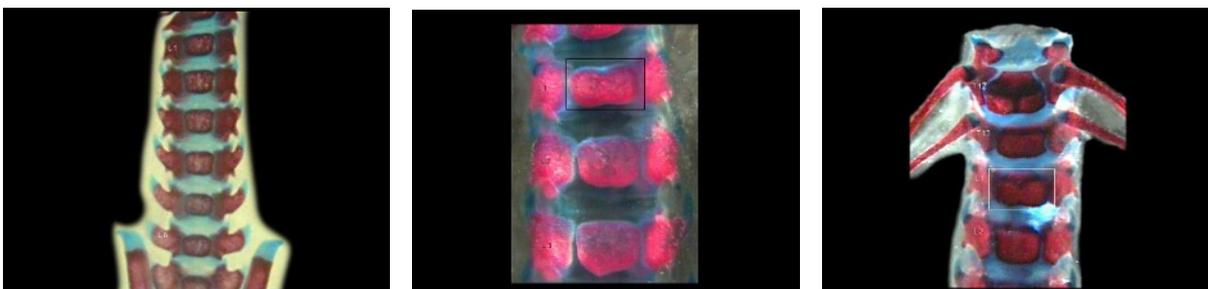


Abb.5b4: Lendenwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Lumbar centrum hemicentric*

A Control

B+C *Lumbar centrum hemicentric*

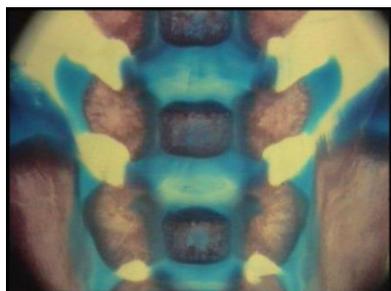


Abb.5b5: Lendenwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Lumbar centrum misshapen*

A Control

B+C *Lumbar centrum misshapen*

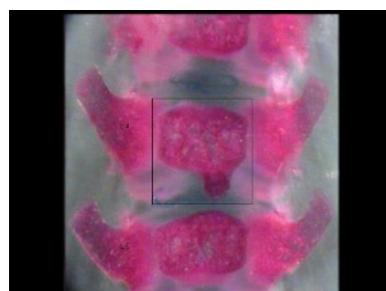
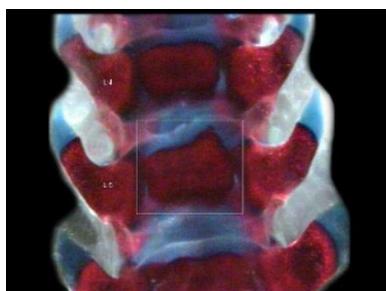


Abb.5b6: Lendenwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter*

A Control

B+C Lumbar centrum supernumerary sin/dex/sin+dex

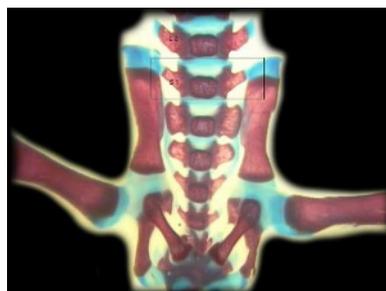


Abb.5b7: Lendenwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Lumbar arch misshapen*

A Control

B+C *Lumbar arch misshapen*



In den Abb.5c1-5c6 wird eine Auswahl der in Tabelle 5c gelisteten Anomalien der Lendenwirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt PND 21 dargestellt.

Abb.5c1: Lendenwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Lumbar centrum bipartite ossification*



Abb.5c2: Lendenwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum dumbbell-shaped*

A Control

B+C *Lumbar centrum dumbbell-shaped*

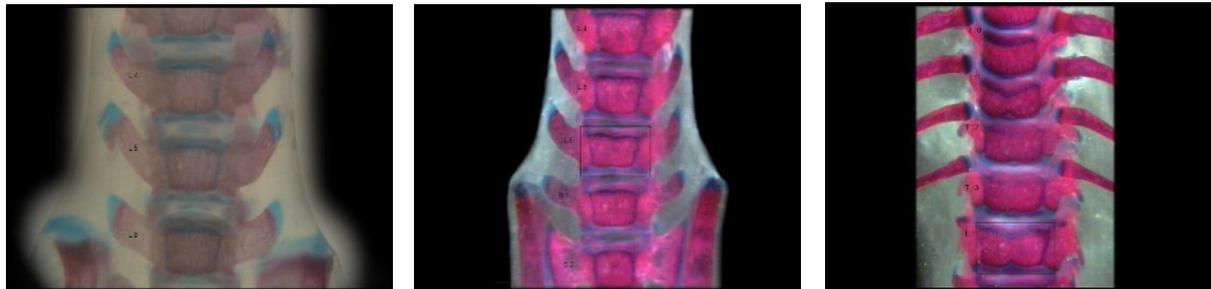


Abb.5c3: Lendenwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum fused*

A Control

B+C *Lumbar centrum fused*

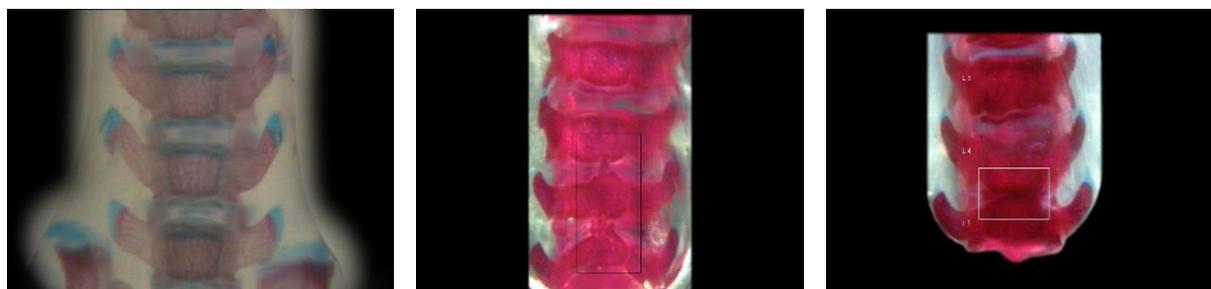
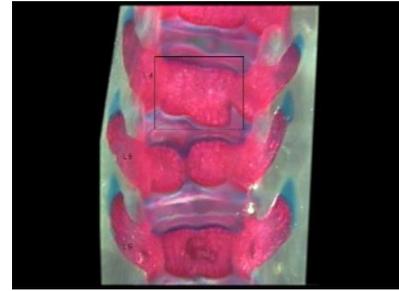
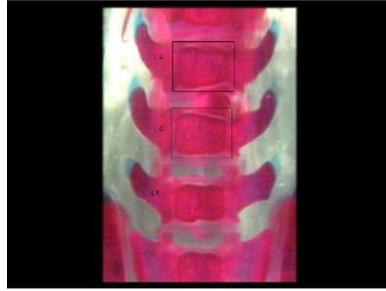
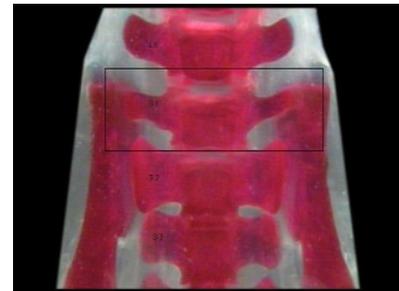
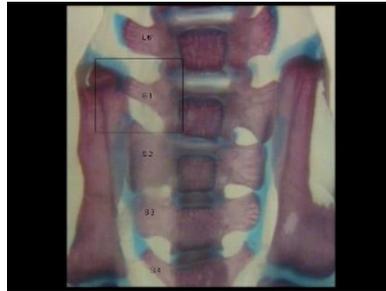


Abb.5c4: Lendenwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum misshapen*

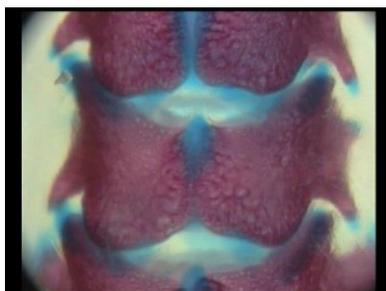
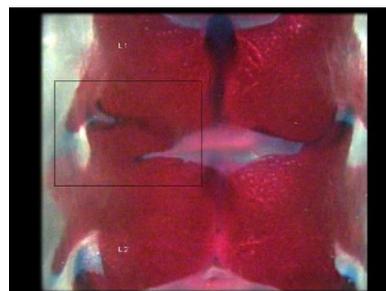
A Control

B+C *Lumbar centrum misshapen*Abb.5c5: Lendenwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter*

A Control

B+C *Lumbar centrum supernumerary sin/dex/sin+dex*Abb.5c6: Lendenwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Lumbar arch misshapen*

A Control

B+C *Lumbar arch misshapen*

4.5 Befunde der Sakralwirbelkörper

In Tabelle 6 a-c sind die Ergebnisse der Befundung der Sakralwirbel in den drei Altersstufen dargestellt.

Der Tabelle 6a sind die Befunde an Tag 21 der Trächtigkeit (GD 21) von mit FUDR behandelten Tieren und den zugehörigen Kontrolltieren zu entnehmen. Es traten verschiedene Anomalien an den Ossifikationszentren der sakralen Wirbelkörper (*Vertebra sacral centrum*) mit unterschiedlichen Inzidenzen nach Behandlung mit FUDR auf. 155 von 932 untersuchten Wirbelkörpern zeigten die Anomalie *Sacral centrum unossified* (16,63%). Von den restlichen 777 Wirbelkörpern wiesen 20 (2,57%) die Anomalie *Sacral centrum asymmetric ossification* und 42 (5,41%) die Anomalie *Sacral centrum bipartite ossification* auf. *Sacral centrum hemicentric* war bei 55 der 777 (7,08%) Wirbelkörper zu beobachten, während 57 (7,34%) Wirbelkörper die Anomalie *Sacral centrum misshapen* zeigten. Der Bogen des Wirbelkörpers (*Vertebra sacral arch*) wies die Anomalie *Sacral arch misshapen* bei 81 von 932 (8,69%) Wirbelbögen auf.

Bei den an Tag sieben postnatal (PND 7) untersuchten Nachkommen waren alle Ossifikationszentren ossifiziert, so dass 1232 Wirbelkörper für die Untersuchung zur Verfügung standen (Tabelle 6b). Von diesen war bei drei (0,24%) Wirbelkörpern der Befund *Sacral centrum asymmetric ossification* und bei 22 (1,79%) Wirbelkörpern der Befund *Sacral centrum bipartite ossification* zu finden. Weitere beobachtete Anomalien waren *Sacral centrum dumbbell-shaped* (2 von 1232; 0,16%), *Sacral centrum hemicentric* (4 von 1232; 0,32%) und *Sacral centrum misshapen* (sechs von 1232; 0,49%).

Der Bogen des Wirbelkörpers (*Vertebra sacral arch*) wies die Anomalie *Sacral arch misshapen* bei zwei von 1232 (0,16%) Wirbelbögen auf.

Tabelle 6c ist zu entnehmen, dass Nachkommen, die zum Untersuchungszeitpunkt 21 Tage alt waren (PND 21), an einem von 1096 (0,09%) untersuchten Ossifikationszentren der Kreuzbeinwirbelkörper die Anomalie *Sacral centrum unossified* aufwiesen. Bei den restlichen 1095 Ossifikationszentren traten die Anomalien *Sacral centrum asymmetric ossification* bei einem (0,9%) und die Anomalie *Sacral centrum bipartite ossification* bei zehn (0,91%) Wirbelkörpern auf. Die Anomalie *Sacral centrum dumbbell-shaped* trat bei einem der 1095 (0,09%) Ossifikationszentren auf.

In den Kontrollgruppen waren an keinem der Untersuchungszeitpunkte Anomalien an den Sakralwirbeln festzustellen (Tabelle 6a-c).

Tabelle 6a: Vergleich der aufgetretenen Anomalien in der Sakralwirbelsäule bei der FUDR Gruppe und Kontrolle am Tag 21 der Trächtigkeit							
Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Sacral centrum	unossified	932	155	16,63	468	0	0,00
	asymmetric ossification	777	20	2,57	468	0	0,00
	bipartite ossification	777	42	5,41	468	0	0,00
	dumbbell-shaped	777	0	0,00	468	0	0,00
	hemicentric	777	55	7,08	468	0	0,00
	misshapen	777	57	7,34	468	0	0,00
Sacral arch	misshapen	932	81	8,69	468	0	0,00

Tabelle 6b: Vergleich der aufgetretenen Anomalien in der Sakralwirbelsäule bei der FUDR Gruppe und Kontrolle am Tag 7 postnatal

Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Sacral centrum	unossified	1232	0	0,00	580	0	0,00
	asymmetric ossification	1232	3	0,24	580	0	0,00
	bipartite ossification	1232	22	1,79	580	0	0,00
	dumbbell-shaped	1232	2	0,16	580	0	0,00
	hemicentric	1232	4	0,32	580	0	0,00
	misshapen	1232	6	0,49	580	0	0,00
Sacral arch	misshapen	1232	2	0,16	580	0	0,00

Gruppe		FUDR			Kontrolle		
Bereich	Anomalie	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent	Anzahl der untersuchten Wirbelkörper	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien	Anzahl der Wirbelkörper mit Anomalien in Prozent
Sacral centrum	unossified	1096	1	0,09	344	0	0,00
	asymmetric ossification	1095	1	0,09	344	0	0,00
	bipartite ossification	1095	10	0,91	344	0	0,00
	dumbbell-shaped	1095	1	0,09	344	0	0,00
	hemicentric	1095	0	0,00	344	0	0,00
	misshapen	1095	0	0,00	344	0	0,00
Sacral arch	misshapen	1096	0	0,00	344	0	0,00

In den Abb.6a1-6a6 wird eine Auswahl der in Tabelle 6a gelisteten Anomalien der Sakralwirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt GD 21 dargestellt.

Abb.6a1: Sakralwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Sacral centrum unossified*

A Control

B+C *Sacral centrum unossified*

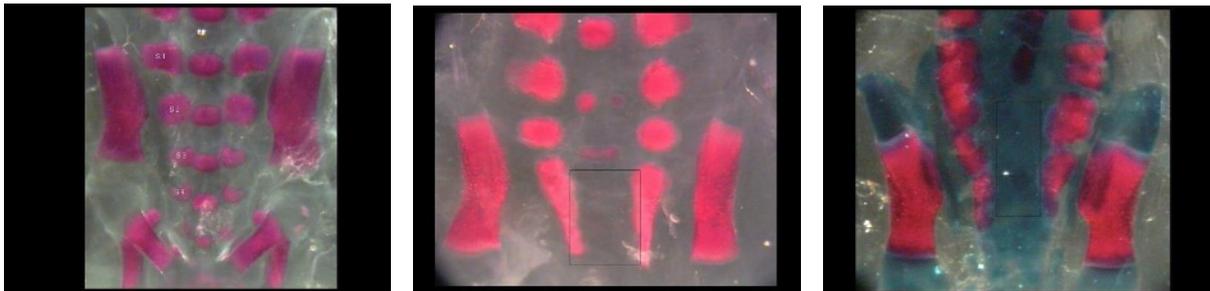


Abb.6a2: Sakralwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Sacral centrum asymmetric ossification*

A Control

B+C *Sacral centrum asymmetric ossification*

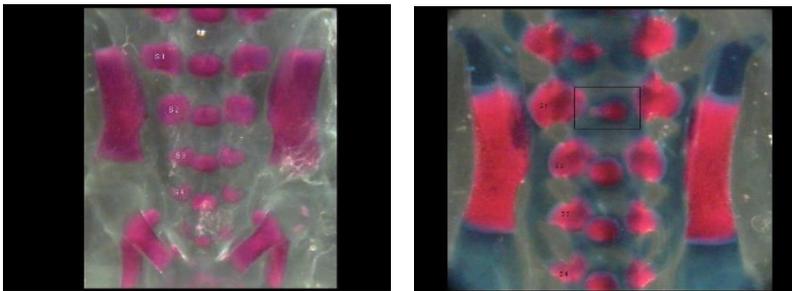


Abb.6a3: Sakralwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Sacral centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Sacral centrum bipartite ossification*



Abb.6a4: Sakralwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Sacral centrum hemicentric*

A Control

B+C *Sacral centrum hemicentric*

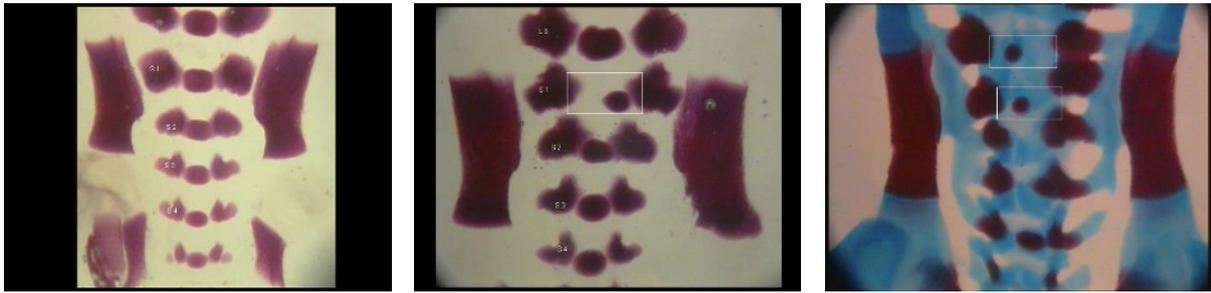


Abb.6a5: Sakralwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Sacral centrum misshapen*

A Control

B+C *Sacral centrum misshapen*

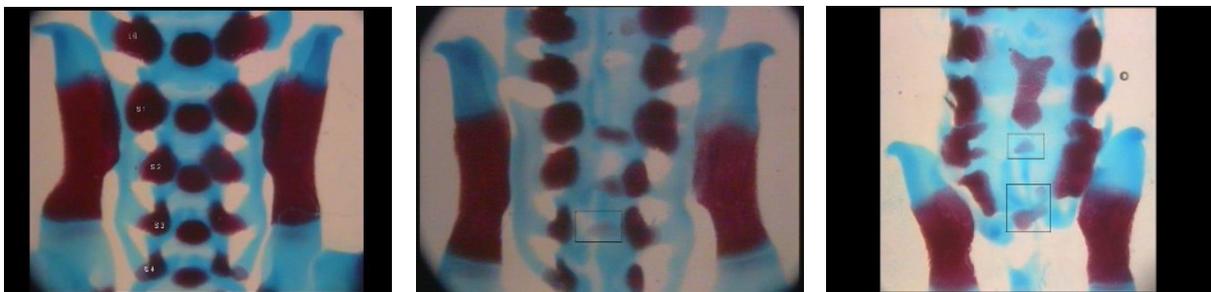
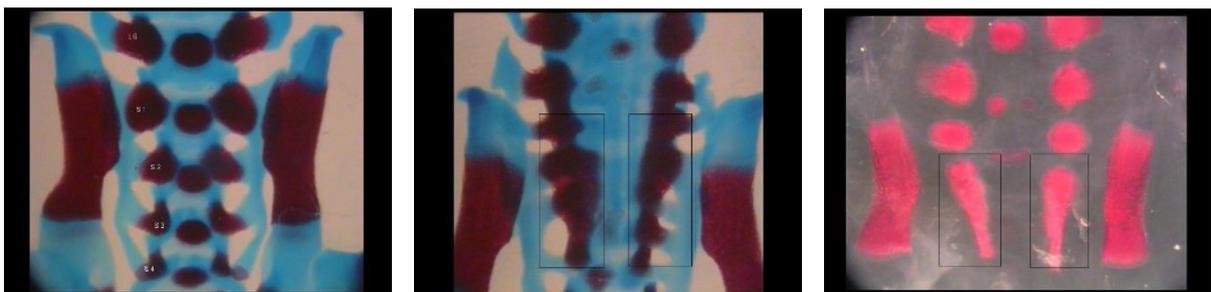


Abb.6a6: Sakralwirbelkörper GD 21 mit dem Befund: *Sacral arch misshapen*

A Control

B+C *Sacral arch misshapen*



In den Abb. 6b1-6b4 wird eine Auswahl der in Tabelle 6b gelisteten Anomalien der Sakralwirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt PND7 dargestellt.

Abb.6b1: Sakralwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Sacral centrum asymmetric ossification*

A Control

B+C *Sacral centrum asymmetric ossification*

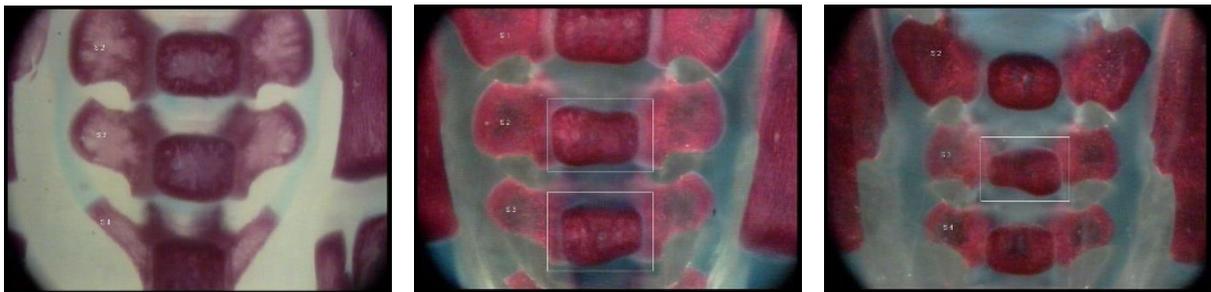


Abb.6b2: Sakralwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Sacral centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Sacral centrum bipartite ossification*



Abb.6b3: Sakralwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Sacral centrum hemicentric*

A Control

B+C *Sacral centrum hemicentric*

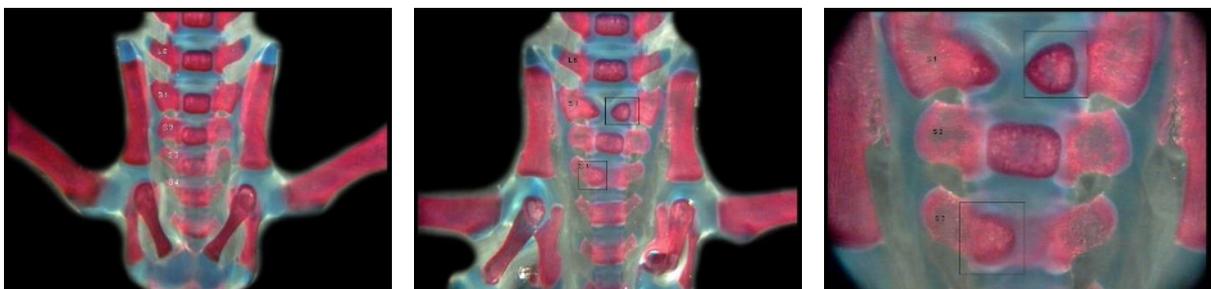
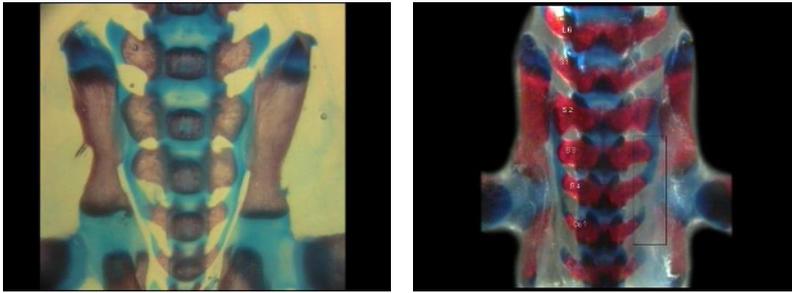


Abb.6b4: Sakralwirbelkörper PND 7 mit dem Befund: *Sacral arch misshapen*

A Control

B+C *Sacral arch misshapen*



In den Abb. 6c1 wird eine der in Tabelle 6c aufgeführten Anomalien der Sakralwirbelsäule im Vergleich zu normalen Wirbelkörpern zum Untersuchungszeitpunkt PND21 dargestellt.

Abb.6c1: Sakralwirbelkörper PND 21 mit dem Befund: *Sacral centrum bipartite ossification*

A Control

B+C *Sacral centrum bipartite ossification*



5 Diskussion

Die Toxikologie ist die Wissenschaft, die schädigende Wirkungen von Noxen, unter anderem chemische Substanzen wie Arzneimittel, Pestizide und Biozide auf Organismen zum Gegenstand hat. Diese schädigende Wirkung hängt von Zeitpunkt, Dosis und Dauer der einwirkenden Substanz ab. Bei Säugetieren und Menschen ist die Lebensphase, in welcher die Substanz auf den Organismus einwirkt, entscheidend für die Art, Ausprägung und Reversibilität des Schadens. Der Mensch und die belebte Umwelt sind in den verschiedenen Lebensphasen gegenüber unterschiedlichen Chemikalien exponiert. Bei der Risikobewertung von Chemikalien wird der Zeitpunkt der schädigenden Einwirkung berücksichtigt. Dies drückt sich in den gesetzlich geforderten Studienanforderungen für die Registrierung, Zulassung und Risikoabschätzung beziehungsweise Risikomanagement von chemischen Substanzen aus. Es werden neben in vitro Studien auch tierexperimentelle Studien sowohl an adulten als auch an sich in der Entwicklung befindenden Labortierspezies verlangt (EU VO Reach (1907/2006), EU VO Pflanzenschutzmittel (284/2013), EU VO Biozide (528/2012), EMA-VICH Topic GL32 (2004)). Ein wesentlicher Unterschied zwischen der Wirkung von Chemikalien auf adulte und sich entwickelnde Organismen ist der Umstand, dass beim voll entwickelten Organismus eine grundsätzliche Regenerierungsfähigkeit besteht. Im noch unreifen Organismus hingegen können durch Einwirkung einer Noxe während bestimmter Entwicklungsstadien permanente Schädigungen ausgelöst werden (Guillette et al., 1995). Anomalien des Skelettsystems durch Einwirkung von Chemikalien können nur während der Organogenese induziert werden. Daher werden für die Zulassung in der Regel Studien zur Entwicklungstoxizität der jeweiligen Substanzen gefordert. Von allen gesetzlich geforderten Toxizitätsstudien wird nur bei den Studien zur Entwicklungstoxizität eine Prüfung an zwei unterschiedlichen Tierarten (davon eine Nicht-Nagerspezies) vorgeschrieben. Dies ist der Eigenschaft des bekannten Teratogens Thalidomid geschuldet, welches nur bei Primaten dem Menschen ähnliche teratogene Effekte gezeigt hat (Merker et al., 1988). Für die Durchführung solcher Studien ist die Anwendung von OECD-Richtlinien vorgeschrieben, in denen Tierart, Applikationsweg, Gruppengröße, Anzahl der Dosierungen, Zeitpunkt der Behandlung und zu untersuchende Parameter festgelegt sind (OECD (2001)). Auf der Basis der Ergebnisse dieser Studien werden die Substanzen in Bezug auf ihre entwicklungstoxikologischen Eigenschaften in verschiedene Kategorien eingeteilt und entsprechend gekennzeichnet (EU VO CLP (1272/2008)). Entscheidend für die Kategorisierung der Substanzen sind die in den Feten beider Tierarten hervorgerufenen externen, viszeralen und skelettalen Anomalien. Bei der Bewertung dieser Anomalien wird zwischen Variation und Missbildung unterschieden. Die Kriterien für eine solche Klassifizierung wurden 1998 auf dem zweiten Berliner Workshop von internationalen Experten vorgeschlagen und im Bericht zum Workshop publiziert (Chahoud et al., 1999). Ein

wesentliches Kriterium der Klassifizierung einer Anomalie als Missbildung ist die Annahme ihrer postnatalen Permanenz. Da das Studiendesign der Guidelines die Untersuchung der Feten nur an Tag 21 der Gestation vorsieht, ist über das postnatale Schicksal von Anomalien wenig bekannt. So ist für einen Teil der Anomalien, ohne die wissenschaftlich fundierte Kenntnis aus experimentellen Studien über das postnatale Schicksal dieser Befunde, nur schwer zu beurteilen, ob es sich um eine Entwicklungsverzögerung oder um eine permanente Anomalie handelt. Eine solche tierexperimentelle Studie stellt die vorliegende Arbeit dar. Pränatal induzierte Effekte auf die Wirbelkörper, welche durch die teratogene Substanz 5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FDUR) hervorgerufen wurden, wurden hinsichtlich ihrer Persistenz bei Ratten an den postnatalen Zeitpunkten PND 7 und PND 21 untersucht.

Die Knorpelfärbung mit Alcian Blau innerhalb von entwicklungstoxikologischen Studien dient der Entscheidung, ob eine Knochenanlage bereits knorpelig vorhanden ist (Whitaker und Dix, 1979; McLeod, 1980; Maitland und Arsenault, 1989). Auf dieser Basis allein können keine Anomalien diagnostiziert werden. Für eine fundierte Beurteilung von durch chemische Noxen hervorgerufenen Anomalien, ist die vollständige Ossifikation der betreffenden Skelettareale eine unabdingbare Voraussetzung. Der Grad der Ossifikation muss durch die Knochenfärbung mit Alizarin Rot sichtbar gemacht werden.

Die vorliegende Studie zeigt, dass am Tag der Sectio caesarea (GD 21) abhängig von der Region der Wirbelsäule unterschiedliche Ossifikationsgrade vorliegen. Die Inzidenz von unossifizierten Wirbelkörpern in der behandelten Gruppe variiert zwischen 85% in der Halswirbelsäule und 3% in der Brustwirbelsäule. Die Kontrolle zeigt jedoch immer noch 42% unossifizierte Halswirbelkörper. Die anderen Wirbelsäulenbereiche sind zu diesem Zeitpunkt vollständig ossifiziert. Übereinstimmende Ergebnisse zeigt die Veröffentlichung von Chahoud und Paumgarten (2005), in welcher die Inzidenz der nicht ossifizierten Wirbelkörper in der Halswirbelsäule ebenfalls hoch war. Bereits am postnatalen Tag sieben (PND 7) sind sowohl in der Behandlungsgruppe als auch in der Kontrollgruppe alle Halswirbelkörper vollständig ossifiziert. Das Auftreten der einzelnen Ossifikationszentren war Untersuchungsschwerpunkt vieler Studien, in welchen die Beurteilung der zum Zeitpunkt der Sectio caesarea (GD 21) noch nicht ossifizierten Wirbelkörper diskutiert, ihre Problematik jedoch nicht gelöst wurde (Strong, 1925; Walker und Wirtschafter, 1957; Fritz und Hess, 1970; Aliverti et al., 1979; Mohammed und El-Sayad, 1985; Beck, 1989).

Der Processus odontoideus am zweiten Halswirbel, welcher in der vorliegenden Studie erst nach PND 21 zum Dens axis wird, zeigt ebenfalls in der Behandlungs- und der Kontrollgruppe eine hohe Inzidenz an fehlender Ossifikation am Tag der Sectio caesarea (GD 21). An PND7 ist festzustellen, dass keine unossifizierten Processus mehr vorliegen. Aus diesen Ergebnissen wird ersichtlich, dass die Beurteilung des Grades der Ossifikation der Halswirbelkörper an GD 21 alleine nicht ausreichend ist. Darüber hinaus soll darauf

hingewiesen werden, dass in der vorliegenden Arbeit die Anomalie *Vertebra centrum unossified* im gesamten Wirbelsäulenbereich an PND 21 nicht mehr zu beobachten ist. Hier handelt es sich um eine eindeutige Entwicklungsverzögerung bezüglich des Ossifikationsprozesses. Daher kann diese Anomalie als Variation klassifiziert werden.

Die am Tag der Sectio caesarea (GD 21) bereits ossifizierten Wirbelkörper von Hals-, Brust-, Lenden- und Kreuzbeinwirbeln wurden in der vorliegenden Arbeit hinsichtlich des Auftretens von Anomalien beurteilt. Bei der Auswertung der Untersuchungszeitpunkte GD 21, PND 7 und PND 21 wurden die Anomalien *asymmetric ossification*, *bipartite ossification*, *dumbbell-shaped*, *hemicentric* und *misshapen* identifiziert. Wie bereits erwähnt, ist die Klassifizierung von Anomalien in Variation und Missbildung die Basis für die Einstufung von chemischen Substanzen in die gesetzlich geforderten Kategorien hinsichtlich ihrer Reproduktionstoxizität (EU VO CLP (1272/2008)). Im Rahmen des 3. Berliner Workshops zur Terminologie in der Entwicklungstoxikologie wurden die skelettalen Anomalien, welche in der Terminologie - Version 1 (Wise et al., 1997) gelistet waren, von den Teilnehmern klassifiziert (Solecki et al., 2001). Die Experten sahen sich nicht in der Lage die oben genannten, in dieser Arbeit erhobenen Befunde zu klassifizieren, da keine Daten über ihr postnatales Schicksal vorlagen. Daher wurden diese Anomalien als sogenannte *Grey Zone-Anomalies* angesehen, ein Begriff, der für diejenigen Befunde verwendet wird, die auf Basis der Untersuchung an GD 21 weder als Variation noch als Missbildung klassifiziert werden können. Eine Ausnahme davon bildet die Anomalie *asymmetric ossification*, die erst später in den Terminologie-Katalog Version 2 aufgenommen wurde und daher noch nicht klassifiziert werden konnte (Makris et al., 2009; Devtox (2012)).

Das Ziel dieser Arbeit ist es, zur Verringerung der Unsicherheit bei der Klassifizierung von Anomalien beizutragen, indem Informationen zum postnatalen Schicksal dieser Anomalien zur Verfügung gestellt werden. Die postnatale Permanenz von an GD 21 erhobenen Befunden ist das wesentliche Merkmal für die Klassifizierung als Missbildung. Anhand der vorliegenden teratologischen Untersuchungen an den postnatalen Tagen sieben und 21 wird ersichtlich, dass die Anomalie *Vertebra centrum dumbbell-shaped* in den Wirbelkörpern aller untersuchter Regionen bis PND 21 mit vergleichbarer Inzidenz bestehen bleibt. Damit erfüllt dieser Befund das Kriterium Permanenz im späteren Leben und könnte daher als Missbildung klassifiziert werden. Die Anomalie *Vertebra centrum hemicentric* wies ebenfalls Permanenz bis zum postnatalen Tag 21 auf, allerdings mit vergleichbarer Inzidenz nur im Bereich der Halswirbelkörper. Diese Anomalie sollte daher zumindest für den Bereich der Halswirbelsäule als Missbildung klassifiziert werden.

Im Gegensatz zu den beiden oben genannten Befunden zeigt die postnatale Inzidenz der Anomalie *Vertebra centrum bipartite ossification* in allen Bereichen der Wirbelsäule einen

deutlichen Rückgang bis PND 21. Es kann daher angenommen werden, dass es sich bei dieser Anomalie um eine Entwicklungsverzögerung handelt, die zu einem späteren Lebenszeitpunkt aufgeholt werden kann. Ausgehend von dieser Annahme kann diese Anomalie als Variation klassifiziert werden.

Auch die Anomalie *Vertebra centrum misshapen* kann als Variation klassifiziert werden, da sie im Bereich der Brust-, Lenden- und Kreuzbeinwirbel ebenfalls einen Rückgang der Inzidenz bis PND 21 aufweist. Im Bereich der Halswirbelkörper tritt dieser Befund allerdings erst an PND 21 auf, was jedoch eine Entwicklungsverzögerung nicht ausschließt. Hier wird noch einmal deutlich, dass die Entwicklung der Wirbelkörper im Halsbereich im Vergleich zu anderen Bereichen der Wirbelsäule später abgeschlossen ist. Daher nimmt die Halswirbelsäule bei der Beurteilung von teratologischen Effekten eine Sonderstellung ein. Nicht nur ist ein großer Prozentsatz der Halswirbelkörper an GD 21 noch nicht ossifiziert, sondern auch die bereits ossifizierten Wirbelkörper sind an GD 21 nicht sicher zu beurteilen. Dies zeigt sich auch an der Entwicklung des Processus odontoideus, der an GD 21 sowohl in der Behandlungs- als auch in der Kontrollgruppe größtenteils noch nicht ossifiziert ist. Aus diesem Grund kann eine wissenschaftlich fundierte Beurteilung der Halswirbelsäule erst ab PND 7, an dem der gesamte Bereich der Struktur bereits ossifiziert ist, vorgenommen werden. Auch hier bleibt die Inzidenz der Anomalie *Processus odontoideus dumbbell-shaped* an PND 7 und PND 21 weitgehend vergleichbar und daher wird die Klassifizierung dieser Anomalie als Missbildung bestätigt.

Der Befund *Processus odontoideus bipartite ossification* trat in der vorliegenden Untersuchung an PND 7 und PND 21 mit vergleichbarer Inzidenz in der Behandlungsgruppe auf, während die Inzidenz dieses Befundes in der Kontrollgruppe an PND 21 im Vergleich zu PND 7 stark zurückging. Diese Anomalie sollte jedoch auch für diesen Bereich als Variation klassifiziert werden, da auch in der Behandlungsgruppe ein Aufholen der Entwicklungsverzögerung zu einem späteren Zeitpunkt nicht auszuschließen ist. Eine weitere Besonderheit der Halswirbelsäule ist die anatomische Struktur Processus ventralis C6, welche sich am sechsten Halswirbel befindet und im Terminologie-Katalog Version 2 als *Anterior tubercle C6* bezeichnet wird. In der vorliegenden Arbeit tritt die Anomalie *Anterior tubercle C6 malpositioned* in der Behandlungsgruppe deutlich an PND 7 auf und bleibt auch an PND 21 mit höherer Inzidenz bestehen. Hier ist wiederum das Kriterium Permanenz erfüllt, daher sollte diese Anomalie als Missbildung klassifiziert werden.

Die Anomalie *Vertebra centrum asymmetric ossification* wurde dem Terminologie-Katalog Version 2 neu hinzugefügt (Makris et al., 2009) und konnte daher bisher nicht klassifiziert werden. In der vorliegenden Arbeit tritt diese Anomalie in den Behandlungsgruppen am Tag der Sectio caesarea (GD 21) in den Wirbelkörpern sämtlicher Bereiche der Wirbelsäule mit unterschiedlicher Inzidenz auf. Am postnatalen Tag 21 trat sie in keinem Bereich mehr auf,

was auch hier als ein Zeichen für eine Entwicklungsverzögerung angesehen wird. Daher sollte die Anomalie *Vertebra centrum asymmetric ossification* als Variation klassifiziert werden.

Es gibt zwei Anomalien, welche nur in der Lendenwirbelsäule auftreten. Es handelt sich dabei um *Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter* und *Lumbar vertebra supernumerary site*. Letztere Anomalie ist im Terminologie-Katalog Version 2 nicht beschrieben und stellt in der vorliegenden Arbeit eine Besonderheit dar, die in den Kontrollgruppen nicht auftritt. Da diese Anomalie auch an PND 21 noch auftritt, sollte sie als Missbildung klassifiziert werden. Das gilt auch für die Anomalie *Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter*, welche ebenfalls als permanent bezeichnet werden kann und daher als Missbildung klassifiziert werden sollte.

Ausgehend von den oben bewerteten Anomalien hinsichtlich ihrer Klassifizierung in Variation oder Missbildung, kann zusammenfassend festgestellt werden, dass postnatale Untersuchungen einen großen Beitrag für eine bessere und wissenschaftlich fundierte Grundlage zur Beurteilung von Anomalien im Vergleich zu den bisher üblichen Untersuchungen am Tag der Sectio cesarea (GD 21) leisten. In vielen Fällen reicht eine Untersuchung alleine am Tag der Sectio caesarea (GD 21) für die sichere Klassifizierung von Anomalien nicht aus. Dies wird daraus ersichtlich, dass im Rahmen der vorliegenden Arbeit auf Basis der postnatal gewonnenen Ergebnisse Vorschläge zur Klassifizierung einiger Anomalien, die bisher als Grey Zone Anomalien angesehen werden mussten, erarbeitet werden konnten. So sollten die Anomalien *Vertebra centrum unossified*, *Vertebra centrum asymmetric ossification*, *Vertebra centrum bipartite ossification*, *Vertebra centrum hemicentric* (außer in den Halswirbelkörpern, in welchen es als Missbildung klassifiziert werden sollte) sowie *Vertebra centrum misshapen* (außer in den Lendenwirbelkörpern, in denen sie bereits als Missbildung klassifiziert sind) als Variation klassifiziert werden. Der bisher als Grey-Zone Anomalie betrachtete Befund *Vertebra centrum dumbbell-shaped* sollte auf Grund seiner in den postnatalen Ergebnissen ersichtlichen Permanenz als Missbildung klassifiziert werden. Gleiches gilt für die Anomalie *Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter*, die ebenfalls als Missbildung klassifiziert werden sollte.

Diese Arbeit untermauert die bereits vor ca. 35 Jahren von Khera (1981) aufgestellte Forderung: „A requirement for specially designed studies exist in order to determine the true nature of aberrations and their effects on postnatal development. Only then will it be possible to establish a scientific basis for using animal data to estimate human safety“. Nur wenige Studien hatten das postnatale Schicksal von Anomalien zum Thema (Collins et al., 1987; Chahoud et al., 1988; Thiel et al., 1989; Marr et al., 1992). Paumgarten et al. haben 2009 darauf hingewiesen, dass wenige Veröffentlichungen existieren, die zur Klärung dieser Frage beitragen können. Die vorliegende Arbeit trägt wesentlich zur Reduzierung der Unsicherheit

bei der Klassifizierung von skelettalen Anomalien im Bereich der Wirbelsäule bei. Die Feststellung von Khera (1981) besitzt noch immer ihre Gültigkeit und sollte so verstanden werden, dass bei Studien mit unklaren teratologischen Ergebnissen postnatale Untersuchungen nötig sind, um die Risikobewertung von chemischen Substanzen auf fundierter wissenschaftlicher Basis durchführen zu können. Auch in jüngerer Zeit wird zunehmend auf die Notwendigkeit von postnatalen Studien hingewiesen, welche die Basis für die Risikoabschätzung für den Menschen darstellen sollten (Daston und Seed, 2007; Carney und Kimmel, 2007).

Das Ziel aller experimentellen Studien ist es, das Risiko für den Menschen abzuschätzen und entsprechende Vorsorgemaßnahmen ergreifen zu können. In Bezug auf die entwicklungstoxischen Wirkungen von Substanzen kann die Berücksichtigung von postnatalen Untersuchungen erheblich zur Verringerung des Risikos für den Menschen beitragen.

6 Zusammenfassung

„Untersuchung von pränatal induzierten Effekten durch die klassisch teratogene Substanz 5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FUDR) auf das Skelettsystem hinsichtlich ihrer postnatalen Persistenz bei Ratten.“

In der Entwicklungstoxikologie werden schädigende Wirkungen von chemischen Substanzen auf die Embryonen während der Entwicklung im Mutterleib untersucht. Eine wichtige Manifestation einer solchen Wirkung sind Veränderungen in der Skelettentwicklung während der Organogenese. Solche Veränderungen werden allgemein als Anomalien bezeichnet.

Bei der Risikobewertung von Substanzen, die solche Anomalien induzieren können, ist die Beurteilung ob diese Anomalie als Variation oder Missbildung klassifiziert werden kann, entscheidend für die Einstufung der jeweiligen Substanz. Während eine Variation durch eine Entwicklungsverzögerung gekennzeichnet ist, stellt eine Missbildung eine permanente irreversible Schädigung dar, die auch im späteren Leben zu Beeinträchtigungen führen kann. Die Beurteilung des Merkmals postnatale Permanenz ist jedoch in Routinestudien zur Entwicklungstoxizität nicht möglich, da die Tötung und Untersuchung der Feten kurz vor dem Wurftermin stattfindet. Darüber hinaus ist bei einem Teil des Skelettsystems, insbesondere im Bereich der Halswirbelsäule, die Entwicklung erst postnatal abgeschlossen. Es existieren nur wenige experimentelle Untersuchungen, die postnatale Wirkungen von Substanzen zum Thema haben. Bereits seit einigen Jahrzehnten wird von Experten betont, dass Untersuchungen zu postnatalen Konsequenzen von fetalen Anomalien dringend notwendig sind, um die Unsicherheiten bei ihrer Klassifizierung zu reduzieren. Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, zur Klärung des postnatalen Schicksals von Skelettanomalien im Bereich der Wirbelsäule beizutragen. Dazu wurden bereits bearbeitete Skelette von Rattenfeten und Jungtieren aus früher durchgeführten Experimenten mit der Substanz 5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FUDR) untersucht. Bei FUDR handelt es sich um eine Substanz, die teratologische Effekte sicher induziert und daher als Modellsubstanz verwendet wird. Die Muttertiere der Behandlungsgruppen erhielten an Tag 11 der Gestation einmalig subkutan 35, 40, 45, 50, 55, 65 und 75 mg FUDR/kg Körpergewicht (KGW). Die Kontrollgruppe erhielt das Vehikel Aqua destillata in einem Volumen von 10 ml/kg KGW. Die Nachkommen wurden am Gestationstag 21, sowie an den postnatalen Tagen sieben und 21 getötet. Anschließend durchliefen die Tiere eine Knochen-Knorpel-Doppelfärbung mit Alcian Blau und Alizarin Rot. Die Auswertung der Skelette erfolgte bei vier-bis achtfacher Vergrößerung mit Hilfe eines Stereolupenmikroskops mit beleuchtetem Objektisch (Firma Carl Zeiss, Jena). Alle Veränderungen wurden unter Beschreibung der Region und der Struktur dokumentiert. Die Befunde wurden entsprechend der aktuell gültigen Terminologie benannt. Auf Basis der

postnatal gewonnenen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnten Vorschläge zur Klassifizierung einiger Anomalien erarbeitet werden. Es wird vorgeschlagen die Anomalien *Vertebra centrum unossified*, *Vertebra centrum asymmetric ossification*, *Vertebra centrum bipartite ossification*, *Vertebra centrum hemicentric* (außer in den Halswirbelkörpern, in welchen es als Missbildung klassifiziert werden sollte) sowie *Vertebra centrum misshapen* (außer in den Lendenwirbelkörpern, in denen sie bereits als Missbildung klassifiziert sind) als Variation zu klassifizieren. Der Befund *Vertebra centrum dumbbell-shaped* sollte auf Grund seiner in den postnatalen Ergebnissen ersichtlichen Permanenz als Missbildung klassifiziert werden. Gleiches gilt für die Anomalie *Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter*, die ebenfalls als Missbildung klassifiziert werden sollte. Die vorliegende Arbeit trägt wesentlich zur Reduzierung der Unsicherheit bei der Klassifizierung von skelettalen Anomalien im Bereich der Wirbelsäule bei. Weiterhin kann aus den Ergebnissen dieser Arbeit gefolgert werden, dass die Berücksichtigung von postnatalen Untersuchungen zu entwicklungstoxischen Wirkungen von Substanzen erheblich zur Verringerung des Risikos für den Menschen beitragen können.

7 Summary

„Assessment of postnatal persistence of prenatally induced effects on the skeletal system of rats after treatment with the classic teratogen 5-fluoro-2'-deoxyuridine (FUDR)“

In developmental toxicology adverse effects of chemical substances on fetuses during *in utero* development are investigated. One important manifestation of such adverse effects are changes in skeletal development during organogenesis, which are generally called anomalies. During risk assessment of anomaly-inducing substances the classification of the findings into variation or malformation is crucial for their categorization as potential reproductive toxicant. While a variation is characterized by a delay in development a malformation represents a permanent irreversible impairment which can affect postnatal survival or health. However, postnatal permanence cannot be assessed in routine studies on developmental toxicity as sacrifice and evaluation of fetuses are carried out one day before their calculated delivery. Furthermore, in part of the skeletal system, especially in the cervical column, development is completed postnatally. Few publications exist that address the topic of postnatal effects of substances. For the past three decades experts have emphasized the need for studies on postnatal consequences of fetal anomalies in order to reduce uncertainties regarding their classification. The aim of the present investigation is to contribute to clarification of the postnatal fate of skeletal anomalies in the vertebral column. For that purpose already processed skeletons of rat fetuses and offspring from earlier experiments with the substance 5-fluoro-2'-deoxyuridine (FUDR) were assessed. FUDR is known to induce teratological effects and is frequently used as model substance in teratological studies. Dams in the treatment groups received a single subcutaneous dose of 35, 40, 45, 50, 55, 65 and 75 mg FUDR/kg body weight (bw) on day 11 of gestation. The control group was treated with the vehicle aqua dest. at a volume of 10 ml/kg bw. Offspring were sacrificed on gestational day 21 and on postnatal days 7 and 21. Subsequently animals were subject to the double-staining procedure with alcian blue and alizarin red. Evaluation of the skeletons was carried out with 4-fold magnification under a binocular microscope. All findings were assigned according to the updated internationally harmonized terminology. Based on the results obtained postnatally recommendation for classification of several anomalies were elaborated in the present study. We recommend the classification of the anomalies *vertebra centrum unossified*, *vertebra centrum asymmetric ossification*, *vertebra centrum bipartite ossification*, *vertebra centrum hemicentric* (with the exception of cervical vertebrae) as well as *vertebra centrum misshapen* (with the exception of lumbar vertebrae) as variations. The anomaly *vertebra centrum dumbbell-shaped* should be classified as malformation based on its postnatal persistence. The

same applies to the anomaly *lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sinister+dexter* which should also be classified as malformation.

The present study contributes to the reduction in uncertainty when it comes to the classification of skeletal anomalies in the vertebral column. Furthermore, it can be concluded from the results of the present study that the consideration of postnatal investigations on the developmental toxicity of substances can contribute markedly to the decrease of risk for human health.

8 Literaturverzeichnis

Aliverti, V., Bonanomi, L., Giavini, E., Leone, V.G., Mariani, L. (1979): The Extent of Fetal Ossification as an Index of Delayed Development in Teratogenic Studies on the Rat. *Teratology* 20(2): 237-242

Amwayi, P.J., Otiang'a-Owiti, G.E. (1997): Use of biometric embryonic growth parameters as indicator of exposure to a teratogen. *East Afr Med J.* 74(1): 6-11

Ariyuki, F., Ishihara H., Higaki, K., Yasuda M. (1982): A study of fetal growth relation in teratological tests: relation between fetal body weight and ossification of the skeleton in rat fetuses. *Teratology* 26(3): 263-267

Aveta, P., Terrrone, C, Neira, D., Cracco, C., Rocca Rossetti, S. (1997): Chemotherapy with FUDR in the management of metastatic renal cell carcinoma. *Ann Urol. (Paris)* 31(3): 159-63

Beck, S.L. (1980): Postnatal effects on the CD1 mouse skeleton of prenatal exposure to trypan blue. *Teratology* 21: 27 A

Beck, S.L. (1981): Assessment of Adult Skeletons to Detect Prenatal Exposure to 2,4,5-T or Trifluralin in Mice. *Teratology* 23(1): 33-55

Beck, S.L. (1982): Postnatal effects on CD-1 mouse skeleton of prenatal 5' BUDR exposure. *Am.Zool.* 22: 931

Beck, S.L. (1983): Assessment of adult skeletons to detect prenatal exposure to trypan blue in mice. *Teratology* 28(2): 271-285

Beck, S.L. (1989): Prenatal Ossification as an Indicator of Exposure to Toxic Agents. *Teratology* 40(4): 365-374

Burdan, F., Rozylo-Kalinowska, I., Rozylo, T.K., Chahoud, I. (2002): A New Rapid Radiological Procedure for Routine Teratological Use in Bone Ossification Assessment: A Supplement for Staining Methods. *Teratology* 66(6): 315-325

Carney, E.W., Kimmel, C.A. (2007): Interpretation of Skeletal Variations for Human Risk Assessment: Delayed Ossification and Wavy Ribs. *Birth Defects Research (Part B)* 80(6): 473-496

Chahoud, I., Kwasigroch, T.E. (1977): Controlled breeding of laboratory animals. In: *Methods in Prenatal Toxicology*. Eds.: Neubert D., Merker H.-J., Kwasigroch T.E., Georg Thieme Publishers, Stuttgart: 78-91

Chahoud, I., Stahlmann, R., Bochert, G., Dillmann, I., Neubert D. (1988): Gross-structural defects in rats after acyclovir application on day 10 of gestation. *Arch Toxicol.* 62: 8-14

Chahoud, I., Bochert, G., Neubert, D. (1992): Dose-Response relationships in reproductive toxicology: Importance of skeletal variations for risk assessment. In: *Risk Assessment of Prenatally-Induced Adverse Health Effects*. Eds.: Neubert, D., Kavlock, R.J., Merker.H.-J., Klein, J., Springer Verlag, Berlin Heidelberg: 227-244

Chahoud, I., Buschmann, J., Clark, R., Druga, A., Falke, H., Faqi, A., Hansen, E., Heinrich-Hirsch, B., Hellwig, J., Lingk, W., Parkinson, M., Paumgarten, F.J.R., Pfeil, R., Platzek, T., Scialli, A.R., Seed, J., Stahlmann, R., Ulbrich, B, Wu, X., Yasuda, M., Younes, M., Soleki, R. (1999): Classification terms in developmental toxicology: need for harmonization, Report of the second workshop on the terminology in developmental toxicology Berlin, 27-28 August 1998. *Reproductive Toxicology* 13(1): 77-82

Chahoud, I., Paumgarten, F.J.R. (2005): Relationships between fetal body weight of Wistar rats at term and the extent of skeletal ossification. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 38: 565-575

Chahoud, I., Paumgarten, F.J.R. (2009): Dose-response relationships of rat fetal skeleton variations: Relevance for risk assessment. *Environmental Research* 109: 922-929

Chang, A.E., Schneider, P.D., Sugarbaker, P.H., Simpson, C., Culnane, M., Steinberg, S.M. (1987): A prospective randomized trial of regional versus systemic continuous 5-fluorodeoxyuridine chemotherapy in the treatment of colorectal liver metastases. *Ann Surg.* 206(6): 685-693

Collins, T.F.X., Welsh, J.J., Black, T.N., Whitby, K.E., O`Donnell, M.W.Jr. (1987): Potential Reversibility of Skeletal Effects in Rats Exposed in Utero to Caffeine. *Food Chem Toxicol.* 25(9): 647-62

Conroy, T., Geoffrois, L., Guillemin, F., Luporsi, E., Krakowski, I., Spaëth, D., Frasier, V., Volf, D. (1993): Simplified chronomodulated continuous infusion of floxuridine in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Cancer* 72(7): 2190-7

Daston, J.P., Seed, J. (2007): Skeletal Malformations and Variations in Developmental Toxicity Studies: Interpretation Issues for Human Risk Assessment. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 80(6): 421-4

Dawes, B. (1930): The development of the vertebral column in mammals, as illustrated by its development in *mus musculus*. *Phil. Trans. Roy. Soc., Lond. Series B*, 218: 115-170

Dawson, A.B. (1926): A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with Alizarin Red. *Stain Technol.* (1): 123-125

De Beer, G.R. (1937): The development of the vertebrate skull. Oxford University Press, New York

Devtox (2012): A Resource for Developmental Toxicology: Nomenclature.

zuletzt abgefragt: 18.09.2014

<http://www.devtox.org/nomenclature/organ.php>

Dexeus, F.H., Logothetis, C.J., Sella, A., Amato, R., Kilbourn, R., Ogden, S., Strigel, A., Kwan, J., Newmann, R.A. (1991): Circadian infusion of floxuridine in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol.* 146(3): 709-13.

EMA-VICH Topic GL32 (2004): Studies to evaluate the safety of residues of veterinary drugs in human food :developmental toxicity testing.

zuletzt abgefragt:18.09.2014

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004280.pdf

EU VO Biozide (528/2012): VERORDNUNG (EU) Nr. 528/2012 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 22. Mai 2012 über die Bereitstellung auf dem Markt und die Verwendung von Biozidprodukten.

zuletzt abgefragt: 18.09.2014

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32012R0528&qid=1410864725479&from=EN>

EU VO Reach (1907/2006): VERORDNUNG (EG) Nr. 1907/2006 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Agentur für chemische Stoffe, zur Änderung der Richtlinie 1999/45/EG und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 793/93 des Rates, der Verordnung (EG) Nr. 1488/94 der Kommission, der Richtlinie 76/769/EWG des Rates sowie der Richtlinien 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/EG und 2000/21/EG der Kommission.

zuletzt abgefragt: 18.09.2014

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1907&qid=1410862329142&from=EN>

EU VO CLP (1272/2008): VERORDNUNG (EG) Nr. 1272/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG)Nr. 1907/2006

zuletzt abgefragt: 18.09.2014

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:353:0001:1355:de:PDF>

EU VO Pflanzenschutzmittel (284/2013): VERORDNUNG (EU) Nr. 284/2013 DER KOMMISSION vom 1. März 2013 zur Festlegung der Datenanforderungen für Pflanzenschutzmittel gemäß der Verordnung (EG) Nr.1107/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln.

zuletzt abgefragt: 18.09.2014

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R0284&qid=1410864601084&from=EN>

Ferguson, M.W. (1978): The teratogenic effects of 5-fluoro-2-desoxyuridine (F.U.D.R.) on the Wistar rat fetus with particular reference to cleft plate. J Anat. 126 (Pt 1): 37-49.

Ferguson, M.W. (1981): Developmental mechanisms on normal and abnormal palate formation with particular reference to the aetiology, pathogenesis and prevention of cleft palate. *Br J Orthod.* 8(3): 115-37

Fritz H., Hess, R. (1970): Ossification of the Rat and Mouse Skeleton in the Perinatal Period. *Teratology* 3 (4): 331-8

Guillette, L.J.Jr., Crain, D.A., Rooney, A.A., Pickford, D.B. (1995): Organization versus activation: the role of endocrine-disrupting contaminants (EDCs) during embryonic development in wildlife. *Environ Health Perspect.* 103 Suppl 7: 157-64

Johnson, M.L. (1933): The time and order of appearance of ossification centres in the albino mouse. *Am. J. Anat.* 52, 241-271

Khera, K.S. (1981): Common fetal aberrations and their teratologic significance: a review. *Fundam Appl Toxicol.* 1(1): 13-8

Lanning, R.M., von Roemling, R., Hrushesky, W.J. (1990): Circadian-based infusional FUDR therapy. *Oncol Nurs Forum* 17(4): 483.

Maitland, M.E., Arsenault, A.L. (1989): Freeze-substitution Staining of Rat Growth Plate Cartilage With Alcian Blue for Electron Microscopic Study of Proteoglycans. *J.of Histochemistry and Cytochemistry* Vol. 37. No 3: 383-387

Makris, S. L., Solomon, H. M., Clark, R., Shiota, K., Barbellion, S., Buschmann, J., Ema, M., Fujiwara, M., Grote, K., Hazelden, K.P., Hew, K.W., Horimoto, M., Ooshima, Y., Parkinson, M., Wise, D. (2009): Terminology of developmental abnormalities in common laboratory mammals (Version 2). *Reprod Toxicol.* 28(3): 371-434

Marr, MC., Price, C.J., Myers, CB., Morrissey, RE. (1992): Developmental stages of the CD (Sprague-Dawley) rat skeleton after maternal exposure to ethylene glycol. *Teratology* 46(2): 169-181

McLeod, M. J. (1980): Differential Staining of Cartilage and Bone in Whole Mouse Fetuses by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Teratology* 22(3): 299-301

Menegola, E., Broccia, M.L., Giavini, E. (2001): Atlas of Rat Fetal Skeleton Double Stained for Bone and Cartilage. *Teratology* 64: 125-133

Merker, H.J., Heger, W., Sames, K., Stürje, H., Neubert, D. (1988): Embryotoxic effects of thalidomide-derivatives in the non-human primate *Callithrix jacchus*. I. Effects of 3-(1,3 - dihydro-1-oxo-2H-isoindol-2-yl)-2,6 dioxopiperidine (EM12) on skeletal development. *Arch Toxicol.* 61(3): 165-79

Miller, DM, Tarpley, J. (1996): An automated double staining procedure for bone and cartilage. *Biotech Histochem.* 71(2): 79-83

Mohammed, M.B.H., El-Sayad, F.I. (1985): Time and Order of Appearance of Ossification Centers of the Albino Rat Skeleton. *Qata Univ.Sci.Bull.* 5: 255-266

Nagao, T., Kuwagata, M., Saito, Y. (1998): Effects of prenatal exposure to 5-fluoro-2'-deoxyuridine on developing central nervous system and reproductive function in male offspring of mice. *Teratog Carcinog Mutagen.* 18(2): 73-92

Nolan, RS., Schwartz, G., Farquharson, S. Hootnick, DR., Levinsohn, EM., Miller M., Manz LA., Packard DS. Jr. (1998): Hematomas and limb skeletal malformations in chicken embryos following exposure to 5-fluoro-2-deoxyuridine. *Biomed Environ Sci.* 11(1): 15-30

OECD (2001): Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4.

zuletzt abgefragt: 18.09.2014

<http://www.oecd->

[library.org/docserver/download/9741401e.pdf?expires=1409220467&id=id&accname=guest&checksum=44D389B50823FFD548BE82E150581E4F](http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9741401e.pdf?expires=1409220467&id=id&accname=guest&checksum=44D389B50823FFD548BE82E150581E4F)

Oertel, J (1998): Floxuridin. In: Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Folgeband 4, Stoffe A-K. Eds.: Bruchhausen, F. von, Ebel, S., Hackenthal, E., Holzgrabe, U., Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH: 523-524

Patel, V.D., Nolan, R.S., HU, N., Clark, E.B., Hottnick, D.R., Levinsohn, E.M., Packard, D.S. Jr. (1996): Embryonic hypertension following exposure to teratogenic doses of 5-fluoro-2'-deoxyuridine. *Biomed Environ Sci.* 9(4): 408-17

Paumgarten, F., Solecki, R., Buschmann, J., Clark, R., Grote, K., Rauch, M., Chahoud, I. (2009): Harmonization of terminology in developmental toxicology: The quest for a more precise description and a harmonized classification. *Reproductive Toxicology* 25: 8-13

Reese, DM., Corry, M., Small EJ. (2000): Infusional floxuridine-based therapy for patients with metastatic renal cell carcinoma. *Cancer* 88(6): 1310-6

Rocca Rossetti, S., Terrone, C. (1999): The therapy of metastatic renal carcinoma. *Recenti Prog Med.* 90(4): 206-12

Shepard, T.H.- M.D. (1986): Catalog of teratogenic agents. Fifth Edition. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London: 262

Singh, G.D., Moxham, B.J., Langley, M.S., Embery, G. (1997): Glucosaminoglycan biosynthesis during 5-fluoro-2-deoxyuridine-induced palatal clefts in the rat. *Arch Oral Biol.* 42(5): 355-63

Solecki, R., Bürgin, H., Buschmann, J., Clark R., Duverger, M., Fialkowski, O., Guittin, P., Hazelden, K.P., Hellwig, J., Hoffmann, E., Hofmann, T., Hübel, U., Khalil, S., Lingk, W., Mantovani, A., Moxon, M., Müller, S., Parkinson, M., Paul, M., Paumgartren, F., Pfeil, R., Platzeck, T., Rauch-Ernst, M., Scheevelenbos, A., Seed, J., Talsness, C.E., Yasuda, M., Younes, M., Chahoud, I. (2001): Harmonisation of rat fetal skeletal terminology and classification. Report of the third workshop on the terminology in developmental toxicology Berlin, 14-16 September 2000. *Reproductive Toxicology* 15: 713-721

Solecki, R., Bergmann, B., Bürgin, H., Buschmann, J., Clark, R., Druga, A., Van Duijnhoven, E.A.J., Duverger, M., Edwards, J., Freudenberger, H., Guittin, P., Hakaite, P., Heinrich-Hirsch, B., Hellwig, J., Hofmann, T., Hübel, U., Khalil, S., Klaus, A.M., Kudicke, S., Lingk, W., Meredith, T., Moxon, M., Müller, S., Paul, M., Paumgarten, F., Röhrdanz, E., Pfeil, R., Rauch-Ernst, M., Seed, J., Spezia, F., Vickers, C., Woelffel, B., Chahoud, I. (2003): Harmonization of rat fetal external and visceral terminology and classification: Report of the Fourth Workshop on the Terminology in Developmental Toxicology, Berlin, 18-20 April 2002. *Reproductive Toxicology* 17: 625-637

Solecki, R., Barbellion, S., Bergmann, B., Bürgin, H., Buschmann, J., Clark, R., Comotto, L., Fuchs A., Faqi, AS., Gerspach, R., Grote, K., Hakansson, H., Heinrich, V., Heinrich-Hirsch, B., Hofmann, T., Hübel, U., Inazaki TH., Khalil, S., Knudsen, TB., Kudicke, S.,

Lingk, W., Makris, S., Müller, S., Paumgarten, F., Pfeil, R., Rama, EM., Schneider, S., Shiota, K., Tamborini, E., Tegelenbosch, M., Ulbrich, B., van Duijnhoven, EA., Wise, D., Chahoud, I. (2013): Harmonization of description and classification of fetal observations: achievements and problems still unresolved: report of the 7th Workshop on the Terminology in Developmental Toxicology Berlin, 4-6 May 2011. *Reproductive Toxicology* 35: 48-55.

Strong; R.M. (1925): The order, time and rate of ossification of the albino rat (*Mus norvegicus albinus*) skeleton. *Am. J. Anat.* 36: 313-355

Thiel, R., Dillman, I., Schimmel, A., Bochert, G., Chahoud, I., Neubert, D. (1989): Aspects of designing postnatal studies: III Persistence of skeletal anomalies induced prenatally. *Teratology* 40: 300 (Abstract, Conference proceedings)

Torchinsky, A., Mizrahi, L., Savion, S., Shahar, R., Toder, V., Kobylansky, E. (2012): Bone loss in adult offspring induced by low-dose exposure to teratogens. *J Bone Miner Metab.* 30(3): 270-280

Trueman D., Jackson S.W., Trueman B. (1999): An automated technique for double staining rat and rabbit fetal skeletal specimens to differentiate bone and cartilage. *Biotech Histochem.* 74(2): 98-104

Voet D., Voet J.G. (1994): Biochemie:Kap.IV.26: Nucleotid-Metabolismus. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim: 743-761

Walker, D.G., Wirtschafter, Z.T. (1957): The Genesis of the Rat Skeleton. Charles C. Thomas-Verlag, Springfield, Illinois

Whitaker, J., Dix, K.M. (1979): Double staining technique for rat foetus skeletons in teratological studies. *Laboratory Animals* 13(4): 309-310

Wilson, G.N., Howe, M., Stover, J. M (1985): Delayed Developmental Sequences in Rodent Diabetic Embryopathy. *Pediatr Res.* 19(12): 1337-40

Winkelmann, C.T., Wise, L.D. (2009): High-throughput micro-computed tomography imaging as a method to evaluate rat and rabbit fetal skeletal abnormalities for developmental toxicity studies. *J Pharmacol Toxicol Methods* 59(3): 156-65

Wise, L.D., Beck, S.L., Beltrame, D., Beyer, B.K., Chahoud, I., Clark, R.L., Clark, R., Druga, A.M., Feuston, M.H., Guittin, P., Henwood, S.M., Kimmel, C.A., Lindstrom, P., Palmer, A., Petrere, J.A., Solomon, H.M., Yasuda, M., York, R.G. (1997): Terminology of Developmental Abnormalities in Common Laboratory Mammals (Version 1), *Teratology* 55: 249-292

Wise, L.D., Winkelmann, C.T. (2009): Micro-Computed Tomography and Alizarin Red Evaluations of Boric Acid-Induced Fetal Skeletal Changes in Sprague-Dawley Rats. *Birth Defects Research (Part B)* 86: 214-219

9 Anlage

9.1 Register Bildkatalog

Register-Nr.	Region/Alter	Befund
A.I.1.	HWS GD 21	Cervical centrum unossified
A.I.2.	HWS GD 21	Cervical centrum asymmetric ossification
A.I.3.	HWS GD 21	Cervical centrum bipartite ossification
A.I.4.	HWS GD 21	Cervical centrum dumbbell-shaped
A.I.5.	HWS GD 21	Cervical centrum hemicentric
A.I.6.	HWS GD 21	Processus odontoideus unossified
A.I.7.	HWS GD 21	Cervical arch misshapen
A.I.8.	HWS GD 21	Anterior tubercle C6 malpositioned
B.I.1	HWS PND 7	Cervical centrum absent
B.I.2.	HWS PND 7	Cervical centrum asymmetric ossification
B.I.3.	HWS PND 7	Cervical centrum bipartite ossification
B.I.4.	HWS PND 7	Cervical centrum dumbbell-shaped
B.I.5.	HWS PND 7	Cervical centrum hemicentric
B.I.6.	HWS PND 7	Cervical centrum misshapen
B.I.7.	HWS PND 7	Processus odontoideus asymmetric ossification
B.I.8.	HWS PND 7	Processus odontoideus bipartite ossification
B.I.9.	HWS PND 7	Processus odontoideus dumbbell-shaped
B.I.10.	HWS PND 7	Anterior tubercle C6 malpositioned
C.I.1.	HWS PND 21	Cervical centrum absent
C.I.2.	HWS PND 21	Cervical centrum asymmetric ossification
C.I.3.	HWS PND 21	Cervical centrum bipartite ossification
C.I.4.	HWS PND 21	Cervical centrum dumbbell-shaped
C.I.5.	HWS PND 21	Cervical centrum hemicentric
C.I.6..	HWS PND 21	Cervical centrum misshapen
C.I.7.	HWS PND 21	Processus odontoideus asymmetric ossification
C.I.8.	HWS PND 21	Processus odontoideus bipartite ossification
C.I.9.	HWS PND 21	Processus odontoideus dumbbell-shaped
C.I.10.	HWS PND 21	Cervical arch misshapen
C.I.11.	HWS PND 21	Anterior tubercle C6 malpositioned
A.II.1.	BWS GD 21	Thoracic centrum unossified
A.II.2.	BWS GD 21	Thoracic centrum asymmetric ossification
A.II.3.	BWS GD 21	Thoracic centrum bipartite ossification
A.II.4.	BWS GD 21	Thoracic centrum dumbbell-shaped
A.II.5.	BWS GD 21	Thoracic centrum hemicentric
A.II.6.	BWS GD 21	Thoracic centrum misshapen
B.II.1.	BWS PND 7	Thoracic centrum asymmetric ossification
B.II.2.	BWS PND 7	Thoracic centrum bipartite ossification
B.II.3.	BWS PND 7	Thoracic centrum dumbbell-shaped
C.II.1.	BWS PND 21	Thoracic centrum bipartite ossification
C.II.2.	BWS PND 21	Thoracic centrum dumbbell-shaped
C.II.3.	BWS PND 21	Thoracic centrum misshapen
C.II.4.	BWS PND 21	Thoracic arch misshapen
A.III.1.	LWS GD 21	Lumbar centrum unossified
A.III.2.	LWS GD 21	Lumbar centrum asymmetric ossification
A.III.3.	LWS GD 21	Lumbar centrum bipartite ossification
A.III.4.	LWS GD 21	Lumbar centrum dumbbell-shaped

Register-Nr.	Region/Alter	Befund
A.III.5.	LWS GD 21	Lumbar centrum fused
A.III.6.	LWS GD 21	Lumbar centrum hemicentric
A.III.7.	LWS GD 21	Lumbar centrum misshapen
A.III.8.	LWS GD 21	Lumbar centrum malpositioned
A.III.9.	LWS GD 21	Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sin.+dex.
A.III.10.	LWS GD 21	Lumbar arch misshapen
B.III.1.	LWS PND 7	Lumbar centrum asymmetric ossification
B.III.2.	LWS PND 7	Lumbar centrum bipartite ossification
B.III.3.	LWS PND 7	Lumbar centrum dumbbell-shaped
B.III.4.	LWS PND 7	Lumbar centrum hemicentric
B.III.5.	LWS PND 7	Lumbar centrum misshapen
B.III.6.	LWS PND 7	Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sin.+dex.
B.III.7.	LWS PND 7	Lumbar arch misshapen
C.III.1.	LWS PND 21	Lumbar centrum bipartite ossification
C.III.2.	LWS PND 21	Lumbar centrum dumbbell-shaped
C.III.3.	LWS PND 21	Lumbar centrum fused
C.III.4.	LWS PND 21	Lumbar centrum misshapen
C.III.5.	LWS PND 21	Lumbar centrum supernumerary sinister/dexter/sin.+dex.
C.III.6.	LWS PND 21	Lumbar arch misshapen
A.IV.1.	SWS GD 21	Sacral centrum unossified
A.IV.2.	SWS GD 21	Sacral centrum asymmetric ossification
A.IV.3.	SWS GD 21	Sacral centrum bipartite ossification
A.IV.4.	SWS GD 21	Sacral centrum hemicentric
A.IV.5.	SWS GD 21	Sacral centrum misshapen
A.IV.6.	SWS GD 21	Sacral arch misshapen
B.IV.1.	SWS PND 7	Sacral centrum asymmetric ossification
B.IV.2.	SWS PND 7	Sacral centrum bipartite ossification
B.IV.3.	SWS PND 7	Sacral centrum hemicentric
B.IV.4.	SWS PND 7	Sacral arch misshapen
C.IV.1.	SWS PND 21	Sacral centrum bipartite ossification

- A Altersgruppe GD 21
- B Altersgruppe PND 7
- C Altersgruppe PND 21
- I. Halswirbelsäule
- II. Brustwirbelsäule
- III. Lendenwirbelsäule
- IV. Sakralwirbelsäule
- 1...10. Befunde

9.2 Abkürzungsverzeichnis-Bildkatalog

At	Atlas
Ax	Axis
BWS	Brustwirbelsäule
C 2	Cervical arch 2
C 3	Cervical arch 3
C 4	Cervical arch 4
C 5	Cervical arch 5
C 6	Cervical arch 6
C 7	Cervical arch 7
CC1	Ventral tubercle Atlas
CC2	Cervical centrum 2
CC3	Cervical centrum 3
CC4	Cervical centrum 4
CC5	Cervical centrum 5
CC6	Cervical centrum 6
CC7	Cervical centrum 7
GD 21	gestantional day 21
HWS	Halswirbelsäule
LWS	Lendenwirbelsäule
L 1	Lumbar arch 1
L 2	Lumbar arch 2
L 3	Lumbar arch 3
L 4	Lumbar arch 4

L 5	Lumbar arch 5
L 6	Lumbar arch 6
LC	Lumbar centrum
LC 1	Lumbar centrum 1
LC 2	Lumbar centrum 2
LC 3	Lumbar centrum 3
LC 4	Lumbar centrum 4
LC 5	Lumbar centrum 5
LC 6	Lumbar centrum 6
Os exocc.	Os exoccipitale
Os basiocc.	Os basioccipitale
Os supraocc.	Os supraoccipitale
PND 7	postnatal day7
PND 21	postnatal day 21
Proc. odontoideus	Processus odontoideus
S 1	Sacral arch 1
S 2	Sacral arch 2
S 3	Sacral arch 3
S 4	Sacral arch 4
SC	Sacral centrum
SC 1	Sacral centrum 1
SC 2	Sacral centrum 2
SC 3	Sacral centrum 3
SC 4	Sacral centrum 4

SWS	Sakralwirbelsäule
T 1	Thoracic arch 1
T 2	Thoracic arch 2
T 3	Thoracic arch 3
T 4	Thoracic arch 4
T 5	Thoracic arch 5
T 6	Thoracic arch 6
T 7	Thoracic arch 7
T 8	Thoracic arch 8
T 9	Thoracic arch 9
T 10	Thoracic arch 10
T 11	Thoracic arch 11
T 12	Thoracic arch 12
T 13	Thoracic arch 13
TC	Thoracic centrum
TC 1	Thoracic centrum 1
TC 2	Throacic centrum 2
TC 3	Thoracic centrum 3
TC 4	Thoracic centrum 4
TC 5	Thoracic centrum 5
TC 6	Thoracic centrum 6
TC 7	Thoracic centrum 7
TC 8	Thoracic centrum 8
TC 9	Thoracic centrum 9

Anlage

TC 10	Thoracic centrum 10
TC 11	Thoracic centrum 11
TC 12	Thoracic centrum 12
TC 13	Thoracic centrum 13

9.3 Bildkatalog ist per CD beigefügt

10 Publikationsverzeichnis

Walter A., Wendland, B. (2003): Fallbericht über das Auftreten eines Blasensteins beim Hund. Kleintiermedizin 11/12: 308-311

Maier, B., Walter, A., Grönemeyer, D., Vento, S., Haider, W. (2004): Malignes Teratom bei einer Hündin-computertomographische Diagnostik, operative Therapie und Pathologie eines seltenen Tumors. Kleintierpraxis 11: 677-740

Mülling, C., Grönemeyer, D., Matzke, M., Walter, A., Budras, K.-D. (2005): Novel Technologies to Improve Functional Understanding of the Bovine Hoof. Cattle practice 13(2):115-120

Schlueter, C., Budras, KD., Ludewig, E., Mayrhofer, E., Koenig, HE., Walter, A., Oechtering GU. (2009): Brachycephalic feline noses: CT and anatomical study of the relationship between head conformation and the nasolacrimal drainage system. J Feline Surg. Nov; 11(11): 891-900

genehmigte (16.07.2012) Vorabveröffentlichung von Bildmaterial dieser Dissertation in: Devtox (2012): A Resource for Developmental Toxicology: Nomenclature. zuletzt abgefragt: 18.09.2014, <http://www.devtox.org/nomintro.htm>

11 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ich danke Prof. Dr. I. Chahoud für die Überlassung dieses interessanten Themas, die wissenschaftliche Einarbeitung, ständige Betreuung und Hilfestellung.

Weiterhin danke ich Frau Prof. Dr. H. Fink für die Übernahme der Betreuung dieser Arbeit im Fachbereich Veterinärmedizin.

Frau Dr. K. Grothe gilt mein besonderer Dank für die jederzeit gewährte Unterstützung, Diskussionsbereitschaft und Geduld.

Danken möchte ich B. Wölfell (†), die mich ins Labor und mikroskopische Fotografieren eingewiesen und dafür begeistert hat.

Ein großes Dankeschön gilt Dr. A. Melde für ihr organisatorisches Geschick und ihre freundschaftliche Unterstützung bei jeglicher Problematik.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für die moralische Unterstützung.

Für die kritische Durchsicht dieser Arbeit und stetige Motivation danke ich meiner Kollegin Dr. Sabine Schulze.

Meinem Partner Sven danke ich für die Geduld und die Zeit die er mir für diese Arbeit gewährt hat.

12 Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, Alice Walter, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Storkow, den 29.09.2014

Alice Walter

**Untersuchung von pränatal induzierten Effekten durch die klassische teratogene
Substanz 5-Fluoro-2'-deoxyuridine (FUDR) auf das Skelettsystem hinsichtlich ihrer
postnatalen Persistenz bei Ratten**

CD - Beilage

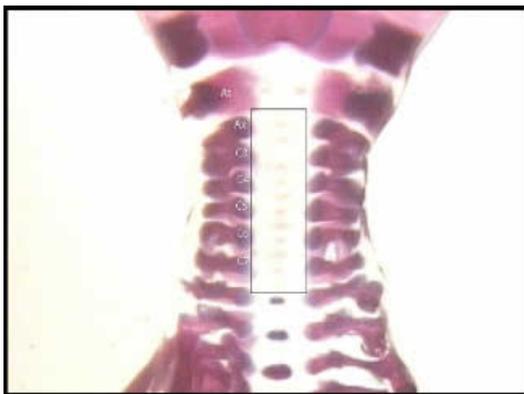
A.I.1., HWS GD 21, Cervical centrum unossified



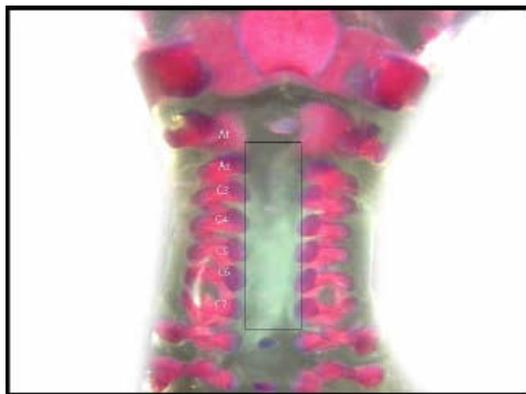
A.I.1.a., Control



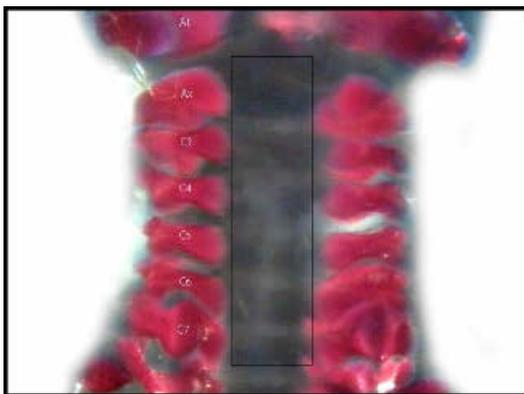
A.I.1.b., CC2-CC7 unossified



A.I.1.c., CC2-CC7 unossified



A.I.1.d., CC2-CC7 unossified



A.I.1.e., CC2-CC7 unossified



A.I.1.f., CC1-CC6 unossified

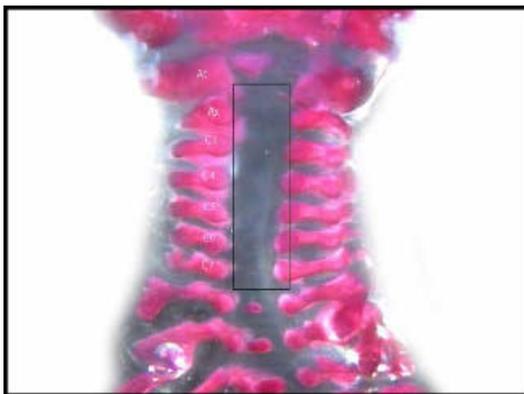
A.I.1., HWS GD 21, Cervical centrum unossified



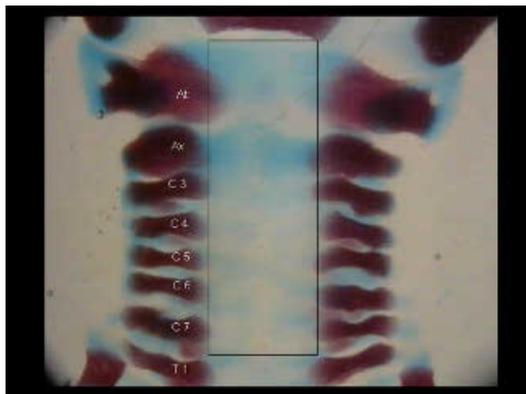
A.I.1.g., Control



A.I.1.h., CC2-CC6 unossified



A.I.1.i., CC2-CC7 unossified



A.I.1.j., CC1-CC7 unossified

A.I.2., HWS GD 21, Cervical centrum asymmetric ossification



A.I.2.a., Control



A.I.2.b., CC 1 asymmetric ossification



A.I.2.c., CC 1 asymmetric ossification

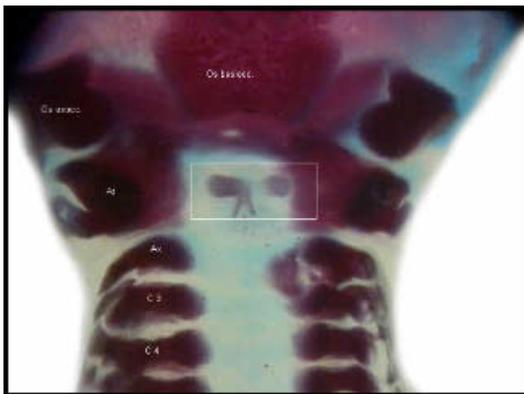
A.I.3., HWS GD 21, Cervical centrum bipartite ossification



A.I.3.a., Control



A.I.3.b., CC 1 bipartite ossification



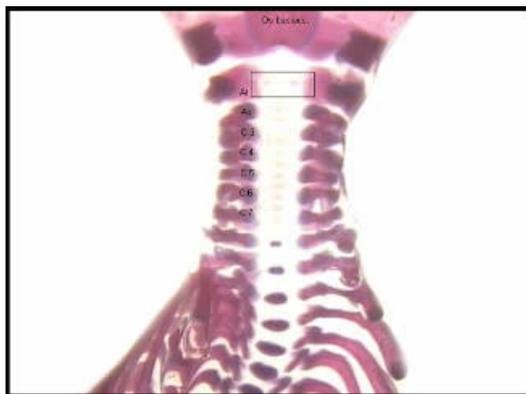
A.I.3.c., CC 1 bipartite ossification



A.I.3.d., CC 1 bipartite ossification



A.I.3.e., CC 1 bipartite ossification

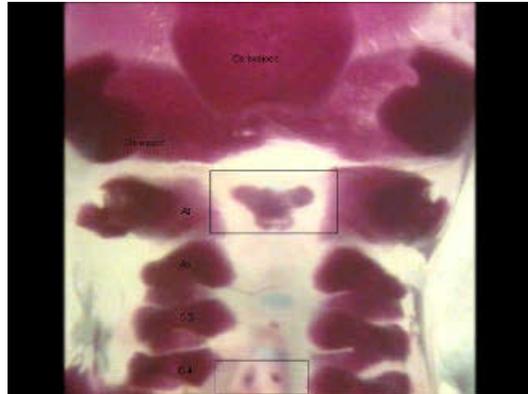


A.I.3.f., CC 1 bipartite ossification

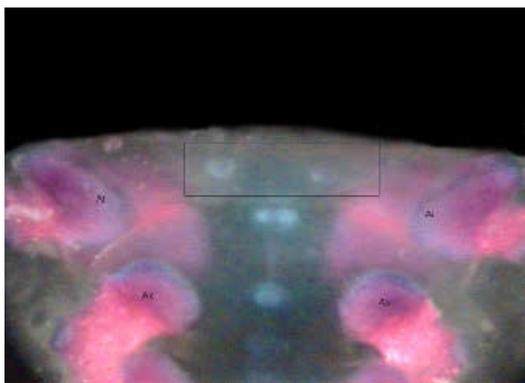
A.I.3., HWS GD 21, Cervical centrum bipartite ossification



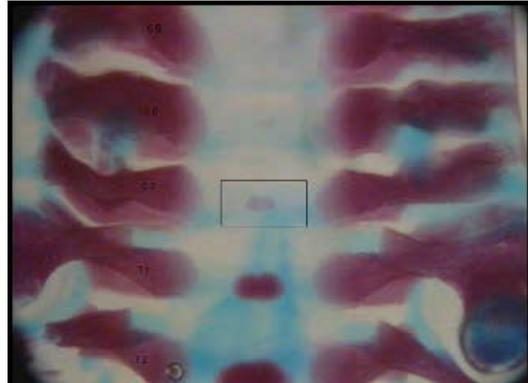
A.I.3.g., Control



A.I.3.h., CC 1 bipartite ossification

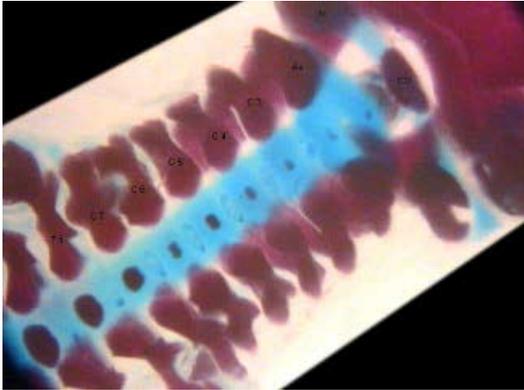


A.I.3.i., CC 1 bipartite ossification

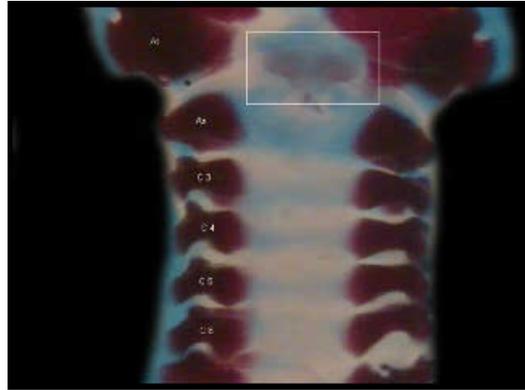


A.I.3.j., CC 7 bipartite ossification

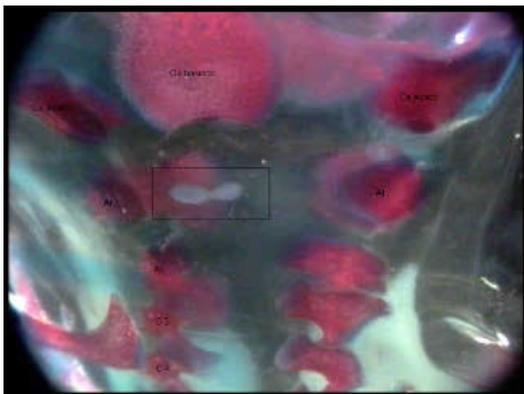
A.I.4., HWS GD 21, Cervical centrum dumbbell-shaped



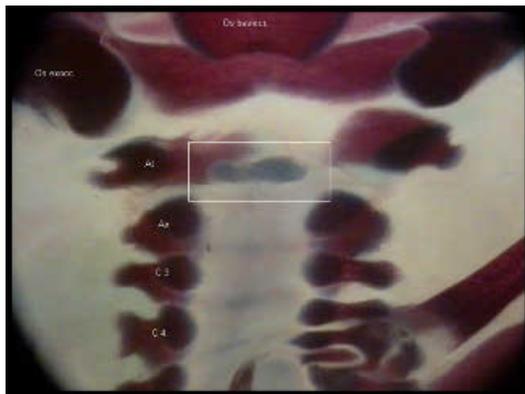
A.I.4.a., Control



A.I.4.b., CC 1 dumbbell-shaped



A.I.4.c., CC 1 dumbbell-shaped

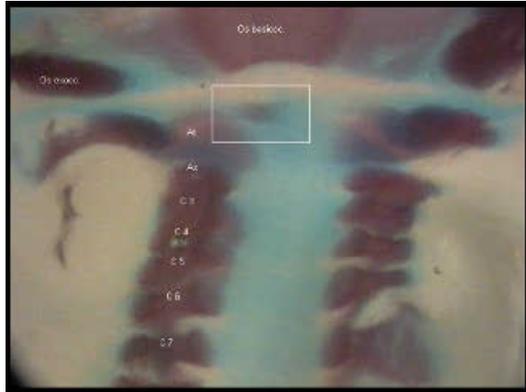


A.I.4.d., CC 1 dumbbell-shaped

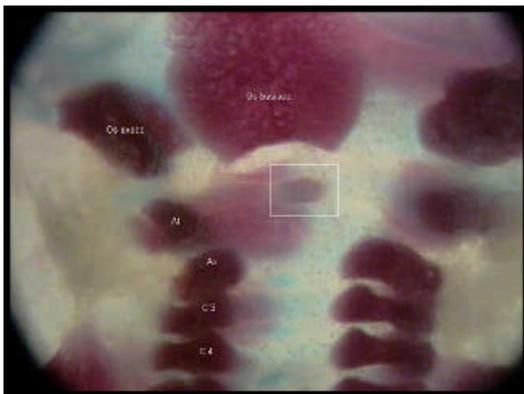
A.I.5., HWS GD 21, Cervical centrum hemicentric



A.I.5.a., Control



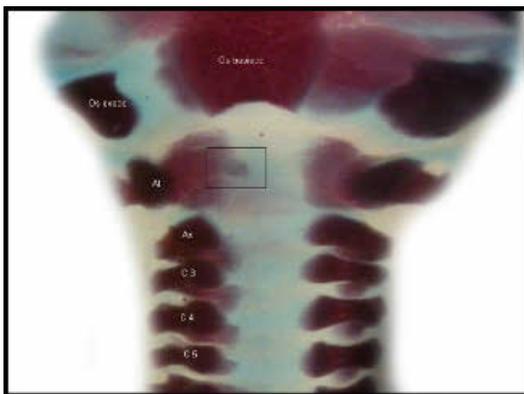
A.I.5.b., CC 1 hemicentric



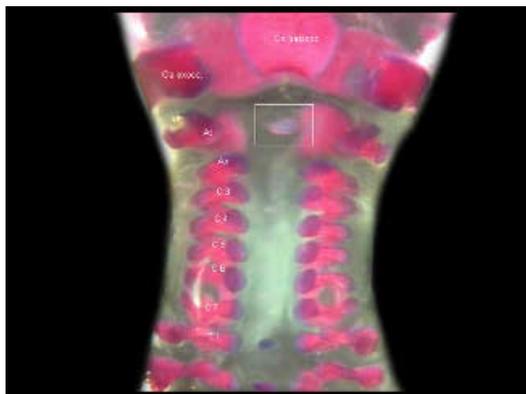
A.I.5.c., CC 1 hemicentric



A.I.5.d., CC 1 hemicentric

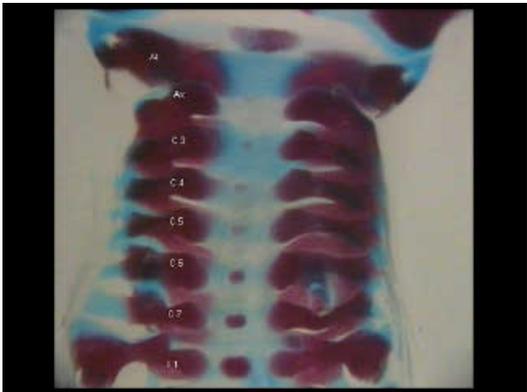


A.I.5.e., CC 1 hemicentric

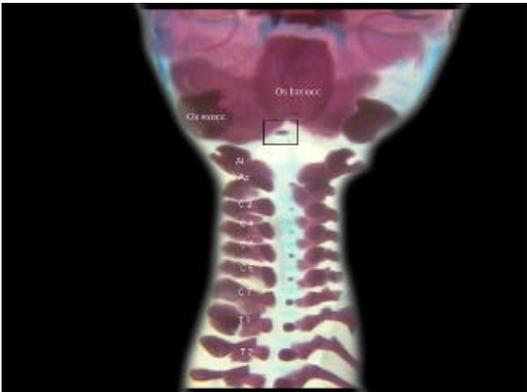


A.I.5.f., CC 1 hemicentric

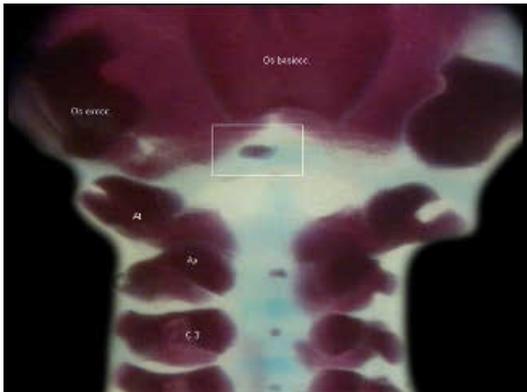
A.I.5., HWS GD 21, Cervical centrum hemicentric



A.I.5.g., Control

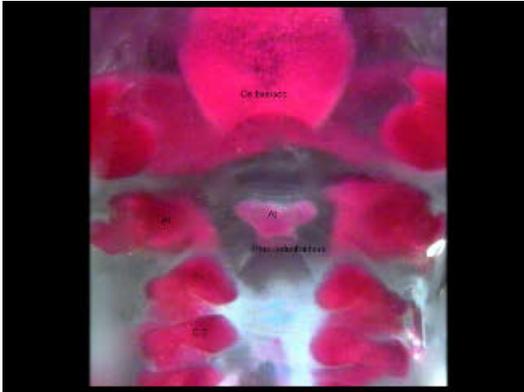


A.I.5.h., CC 1 hemicentric

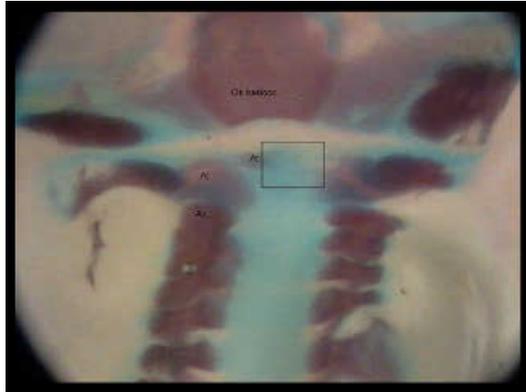


A.I.5.i., CC 1 hemicentric

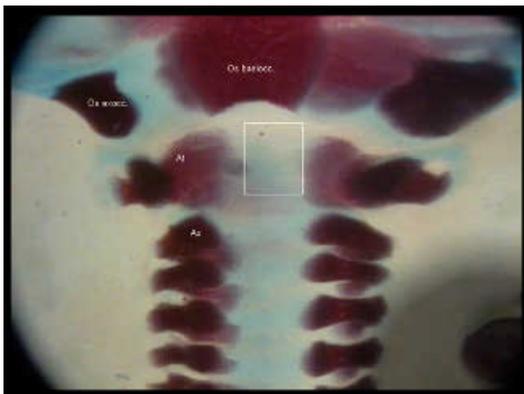
A.I.6., HWS GD 21, Processus odontoideus unossified



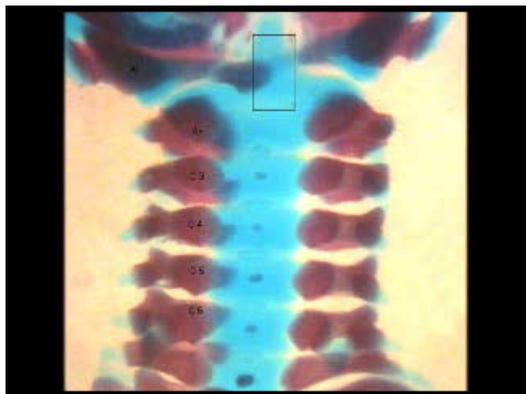
A.I.6.a., Control



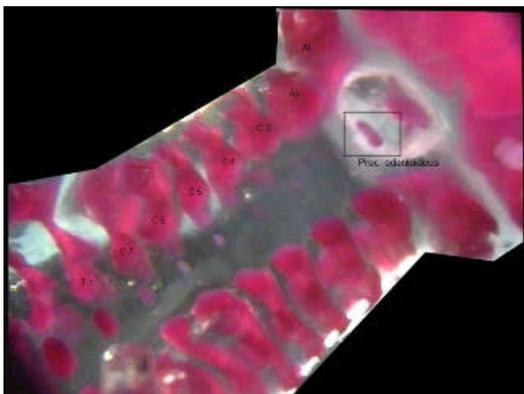
A.I.6.b., Proc.odontoideus unossified



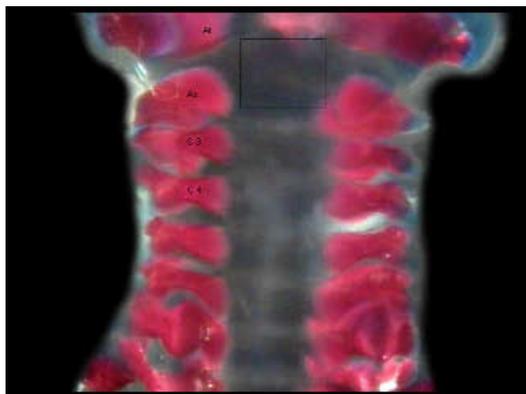
A.I.6.c., Proc. odontoideus unossified



A.I.6.d., Proc.odontoideus unossified

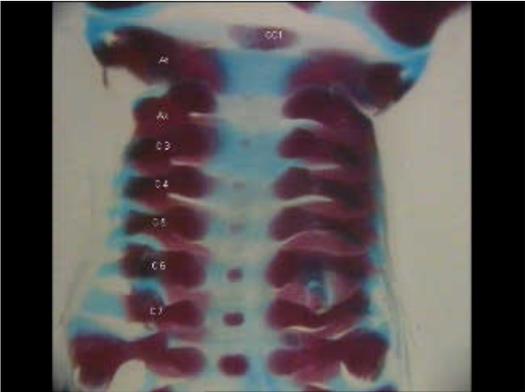


A.I.6.e., Control



A.I.6.f., Proc. odontoideus unossified

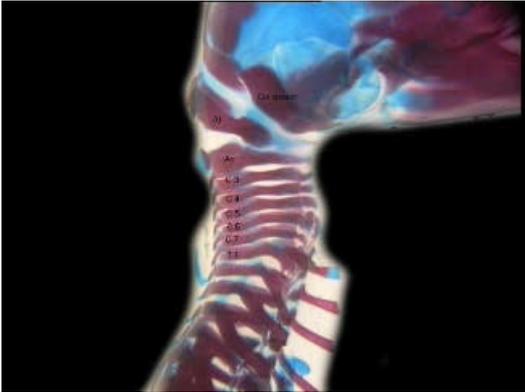
A.I.7., HWS GD 21, Cervical arch misshapen



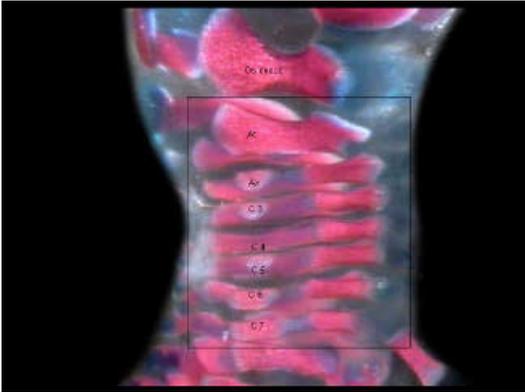
A.I.7.a., Control



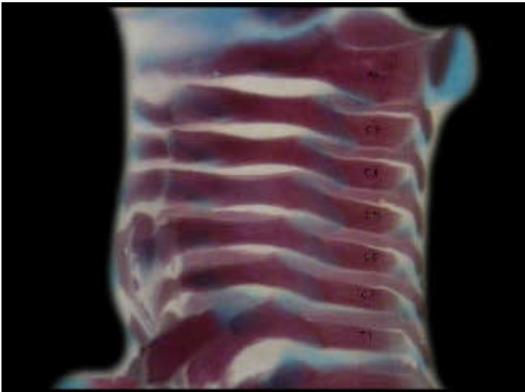
A.I.7.b., Cervical arch misshapen



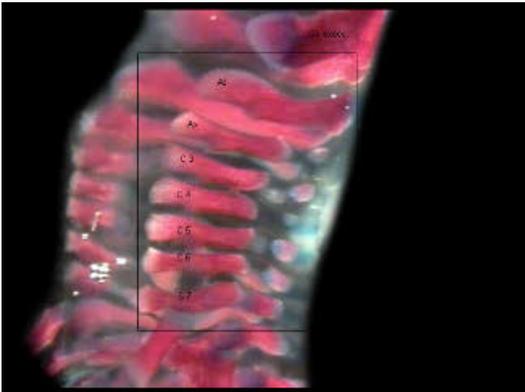
A.I.7.c., Control



A.I.7.d., Cervical arch misshapen

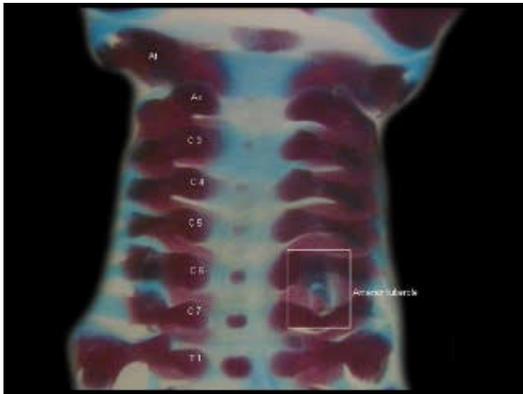


A.I.7.e., Control

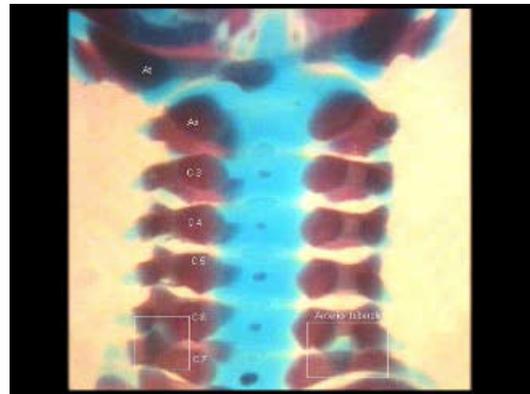


A.I.7.f., Cervical arch misshapen

A.I.8., HWS GD 21, Anterior tubercle C6 malpositioned



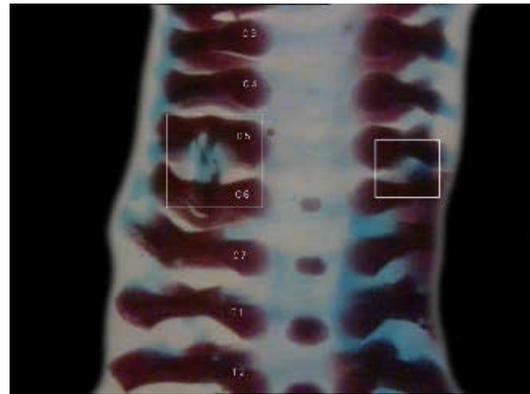
A.I.8.a., Control



A.I.8.b., Control

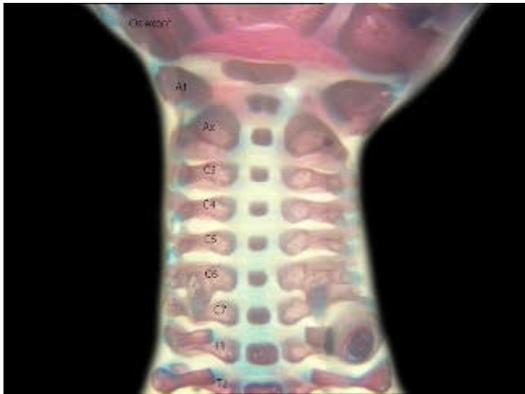


A.I.8.c., Anterior tubercle C6 malpositioned

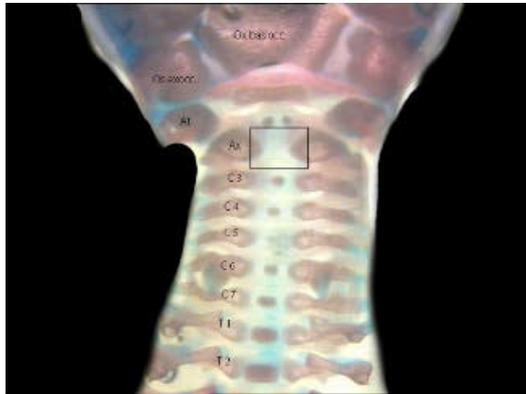


A.I.8.d., Anterior tubercle C6 malpositioned

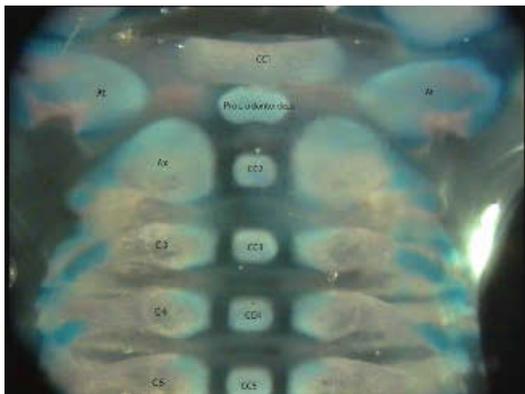
B.I.1., HWS PND 7, Cervical centrum absent



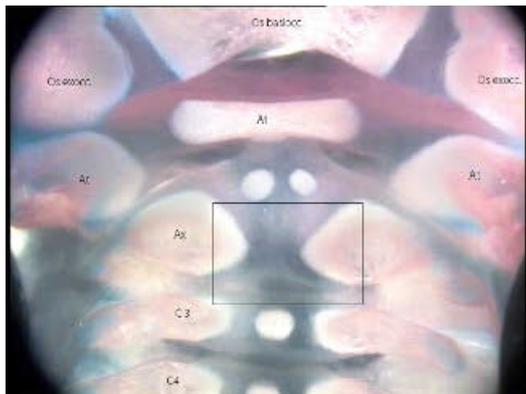
B.I.1.a., Control



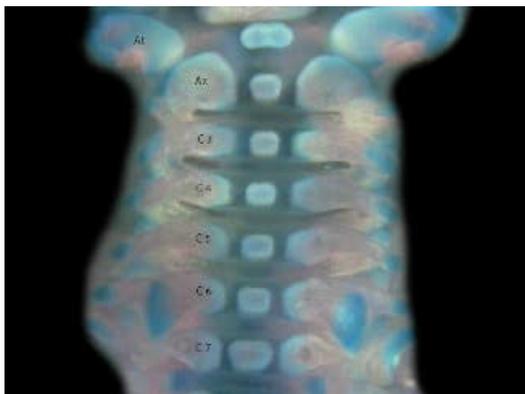
B.I.1.b., CC 2 absent



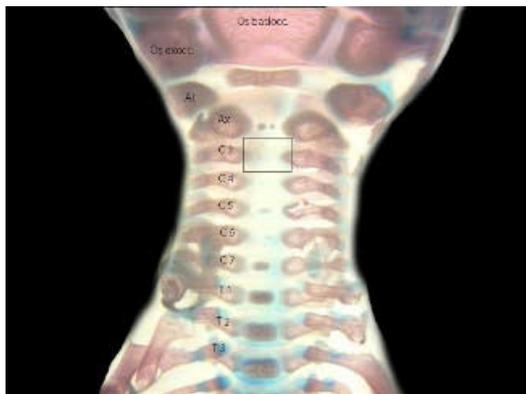
B.I.1.c., Control



B.I.1.d., CC 2 absent

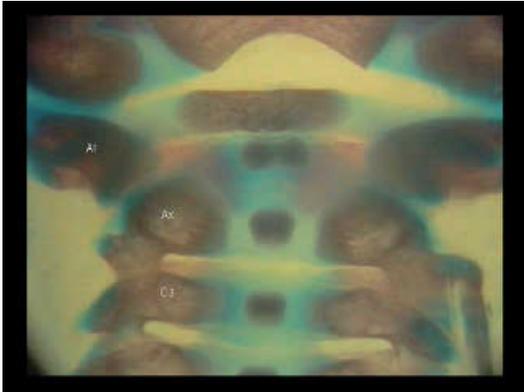


B.I.1.e., Control

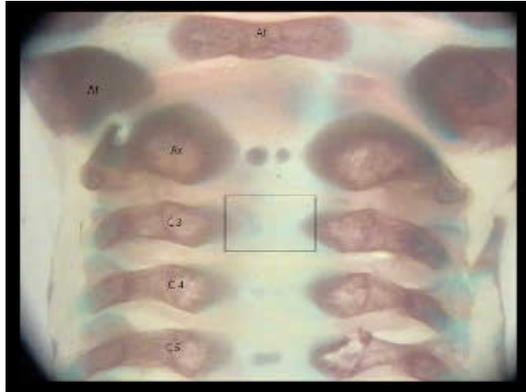


B.I.1.f., CC 2 absent

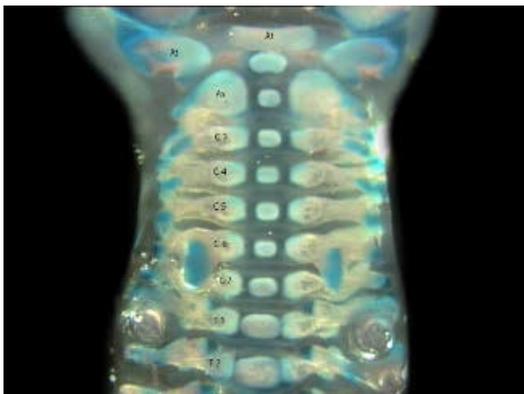
B.I.1., HWS PND 7, Cervical centrum absent



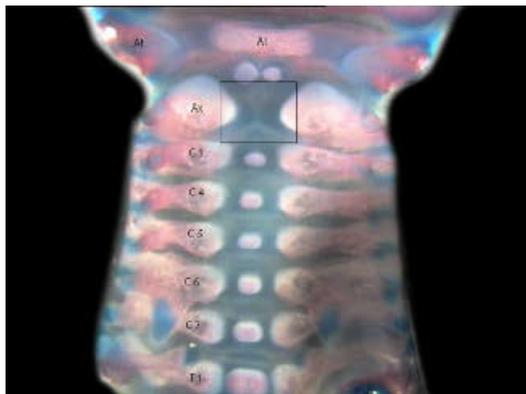
B.I.1.g., Control



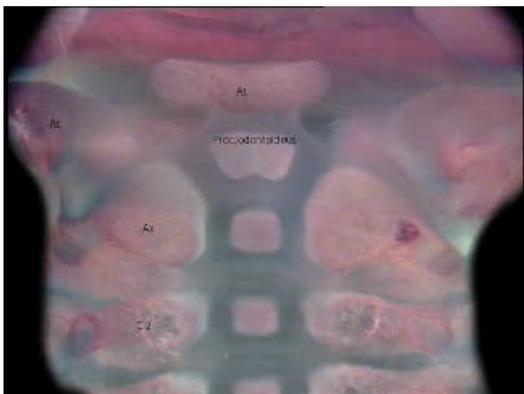
B.I.1.h., CC 3 absent



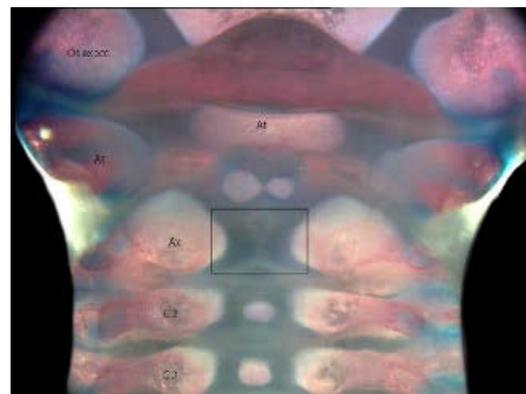
B.I.1.i., Control



B.I.1.j., CC 2 absent

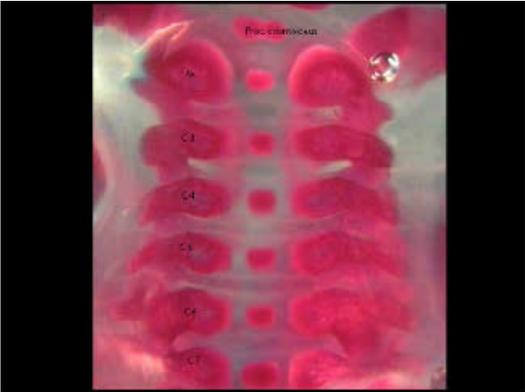


B.I.1.k., Control

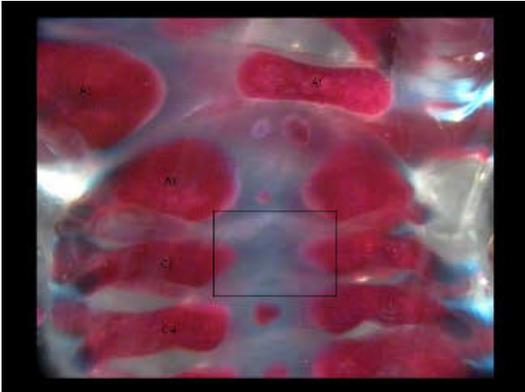


B.I.1.l., CC 2 absent

B.I.1., HWS PND 7, Cervical centrum absent

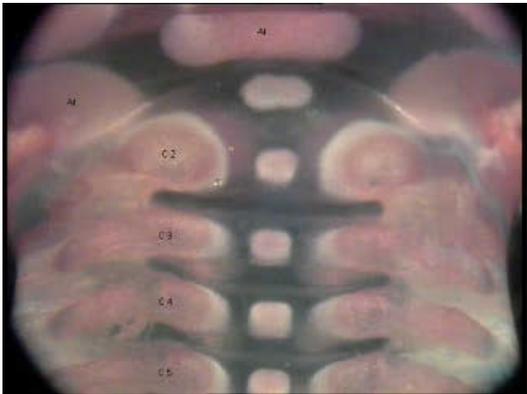


B.I.1m., Control

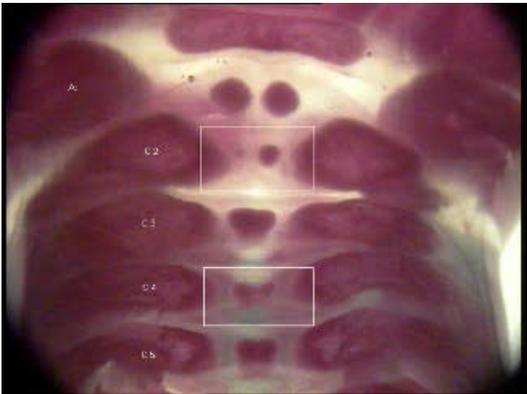


B.I.1.n., CC 3 absent

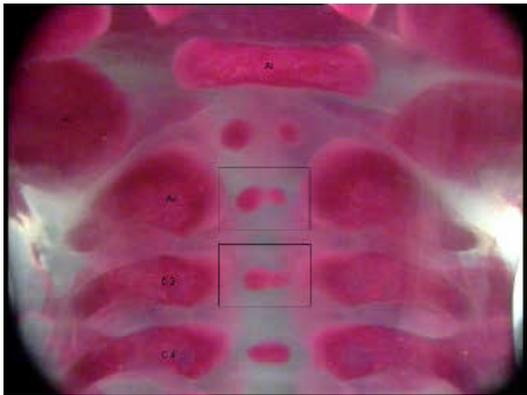
B.I.2., HWS PND 7, Cervical centrum asymmetric ossification



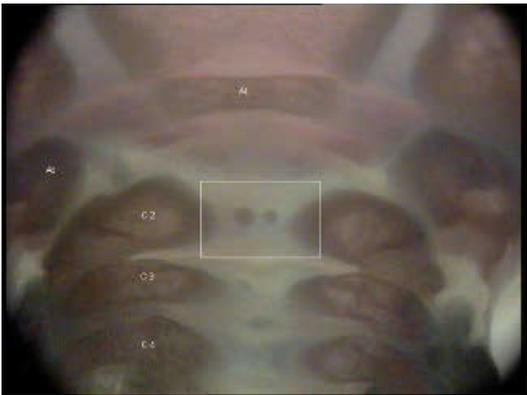
B.I.2.a., Control



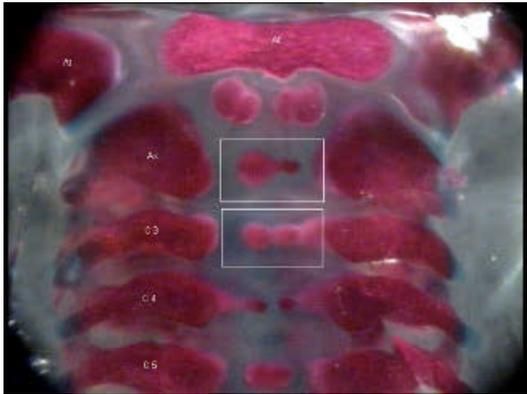
B.I.2.b., CC 2+4 asymmetric ossification



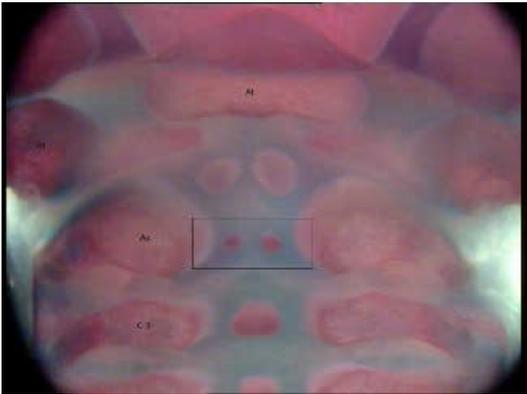
B.I.2.c., CC 2+3 asymmetric ossification



B.I.2.d., CC 2 asymmetric ossification

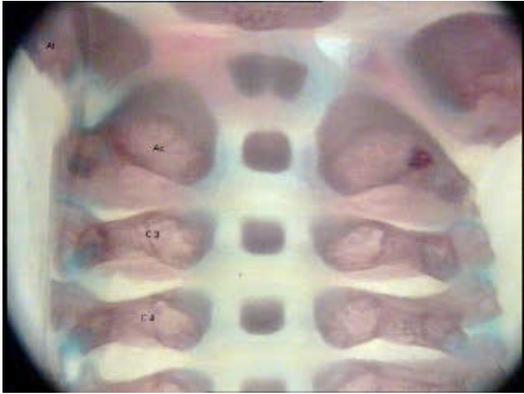


B.I.2.e., CC 2+3 asymmetric ossification

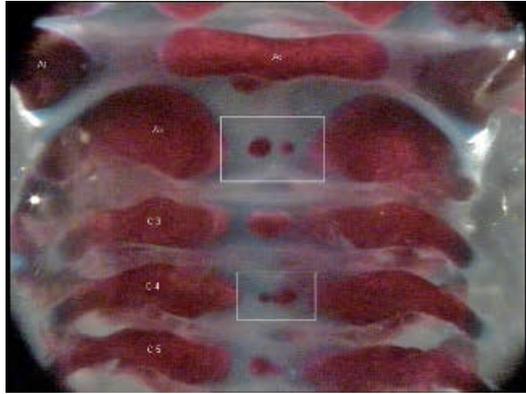


B.I.2.f., CC 2 asymmetric ossification

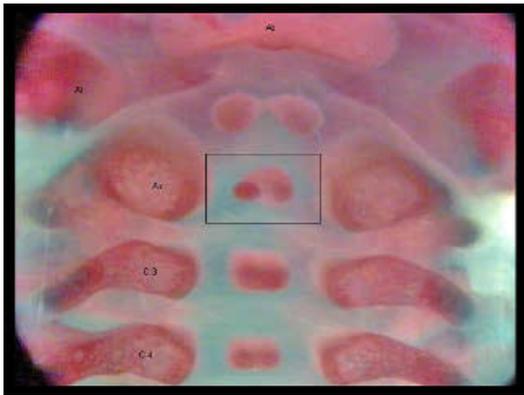
B.I.2., HWS PND 7, Cervical centrum asymmetric ossification



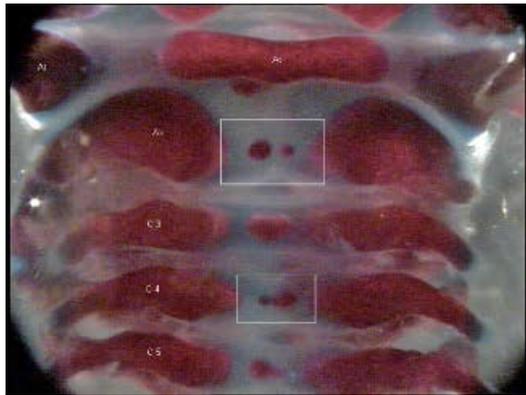
B.I.2.g., Control



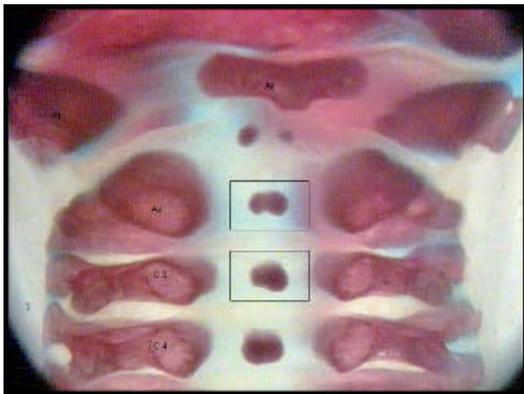
B.I.2.h., CC 2+4 asymmetric ossification



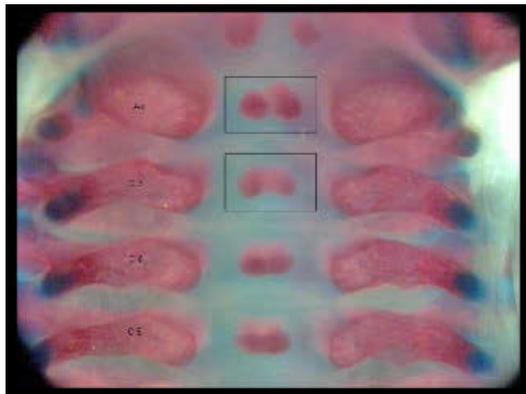
B.I.2.i., CC 2 asymmetric ossification



B.I.2.j., CC 2+4 asymmetric ossification

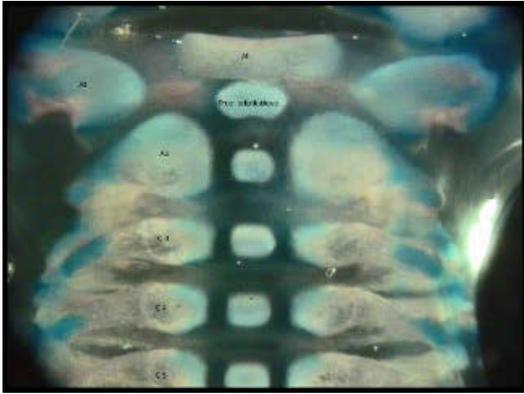


B.I.2.k., CC 2+3 asymmetric ossification

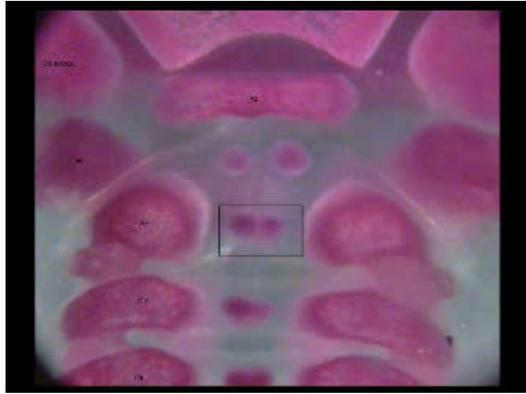


B.I.2.l., CC 2+3 asymmetric ossification

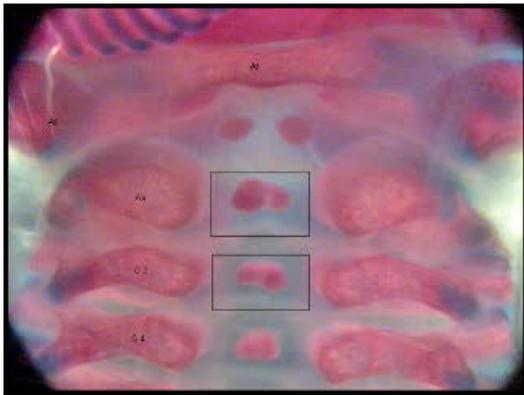
B.I.2., HWS PND 7, Cervical centrum asymmetric ossification



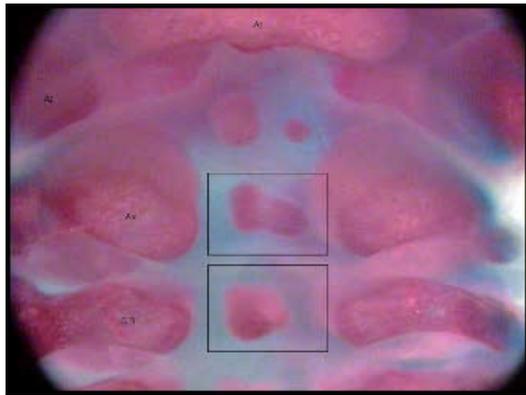
B.I.2.m., Control



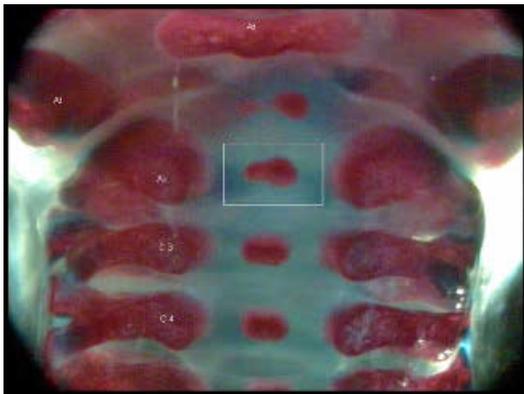
B.I.2.n., CC 2 asymmetric ossification



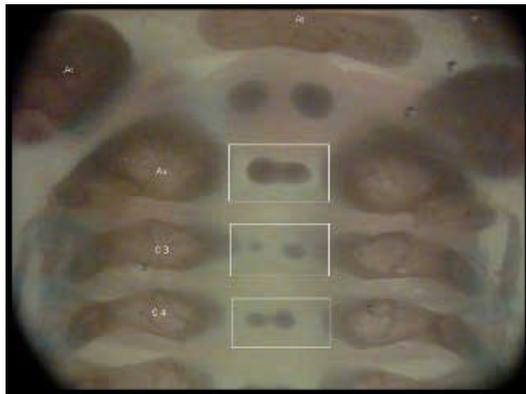
B.I.2.o., CC 2+3 asymmetric ossification



B.I.2.p., CC 2+3 asymmetric ossification

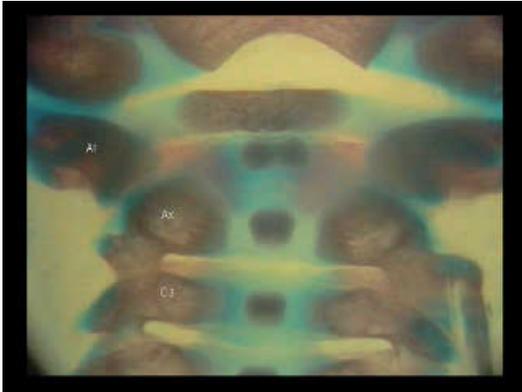


B.I.2.q., CC 2 asymmetric ossification

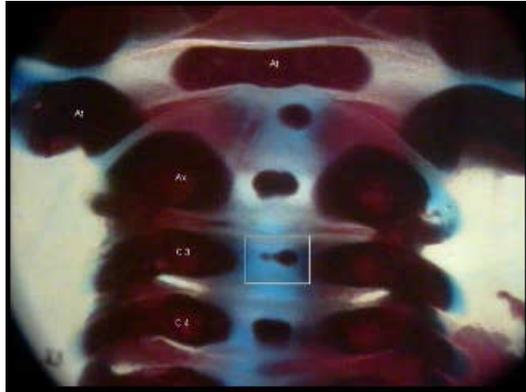


B.I.2.r., CC 2+3+4 asymmetric ossification

B.I.2., HWS PND 7, Cervical centrum asymmetric ossification



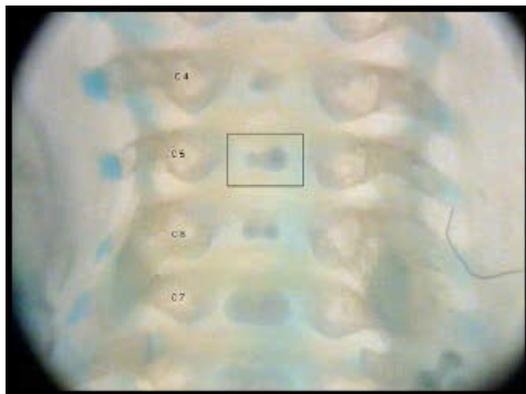
B.I.2.s., Control



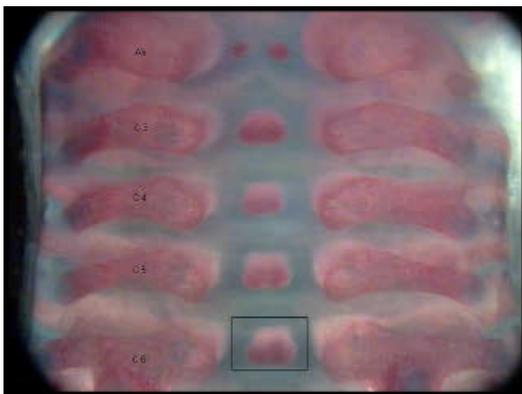
B.I.2.t., CC 3 asymmetric ossification



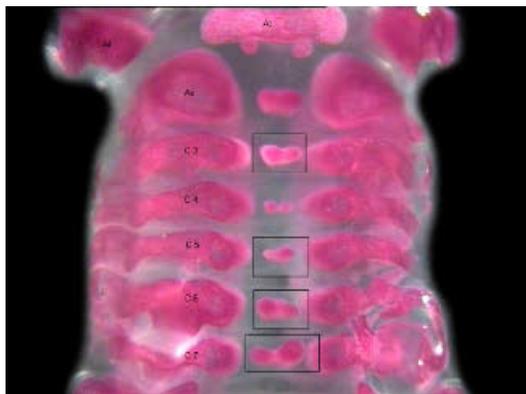
B.I.2.u., Control



B.I.2.v., CC 5 asymmetric ossification

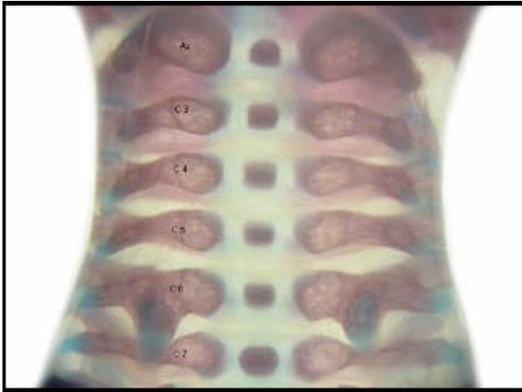


B.I.2.w., CC 6 asymmetric ossification

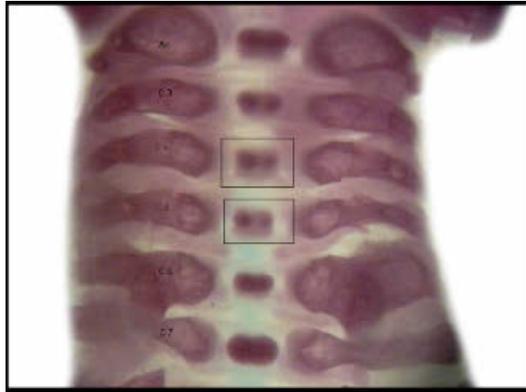


B.I.2.x., CC 3+5+6+7 asymmetric ossification

B.I.2., HWS PND 7, Cervical centrum asymmetric ossification

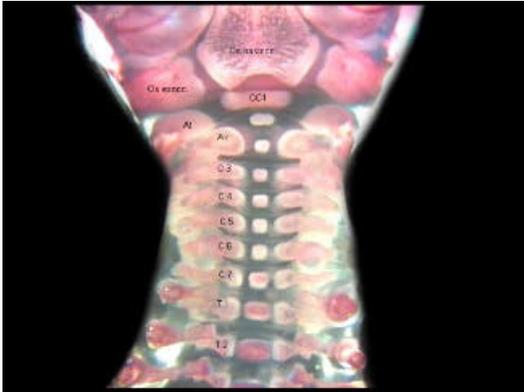


B.I.2.y., Control

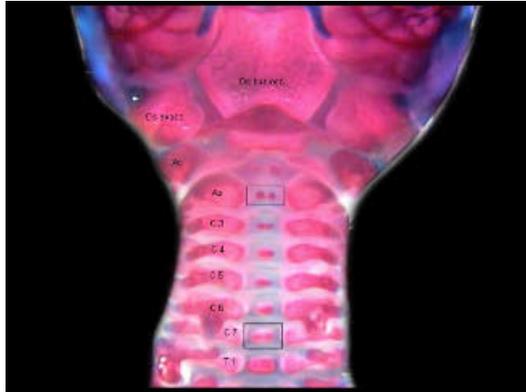


B.I.2.z., CC 4+5 asymmetric ossification

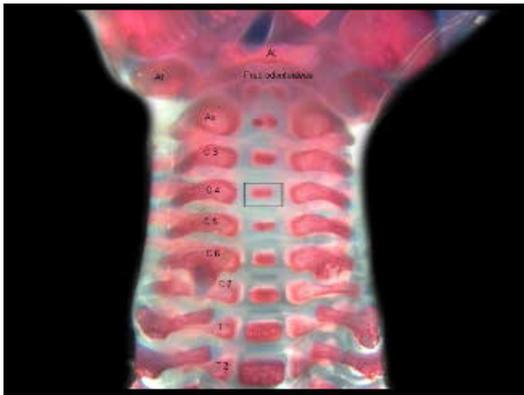
B.1.3., HWS PND 7, Cervical centrum bipartite ossification



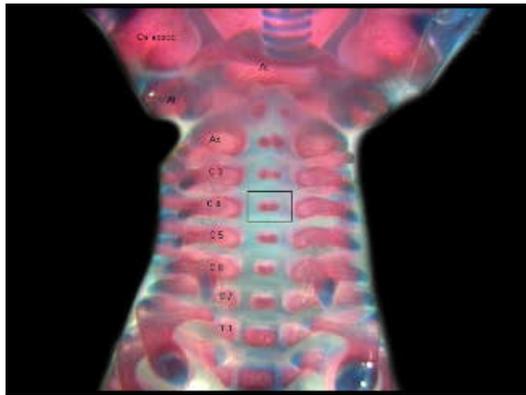
B.1.3.a., Control



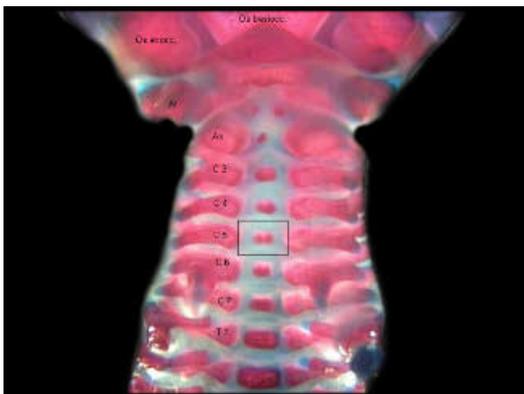
B.1.3.b., CC 2 bipartite ossification



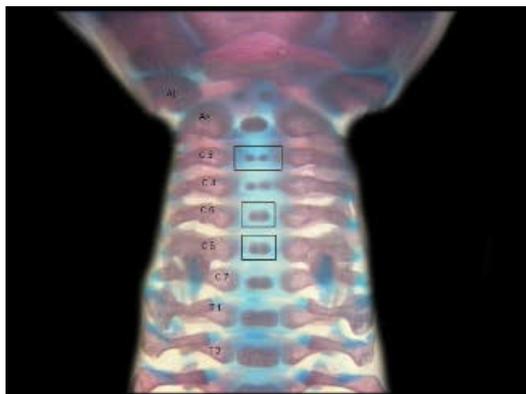
B.1.3.c., CC 4 bipartite ossification



B.1.3.d., CC 4 bipartite ossification

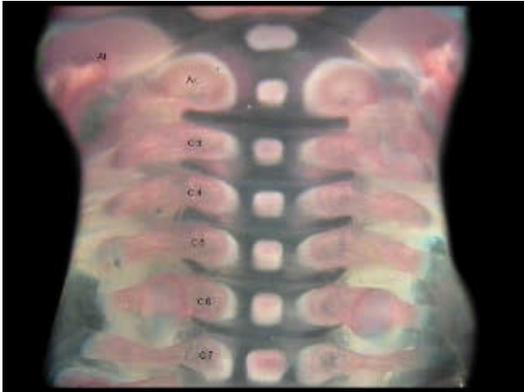


B.1.3.e., CC 5 bipartite ossification

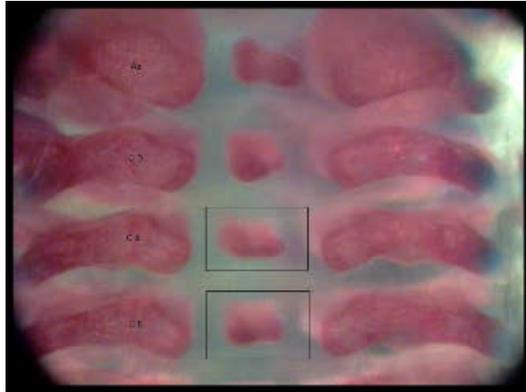


B.1.3.f., CC 3+5+6 bipartite ossification

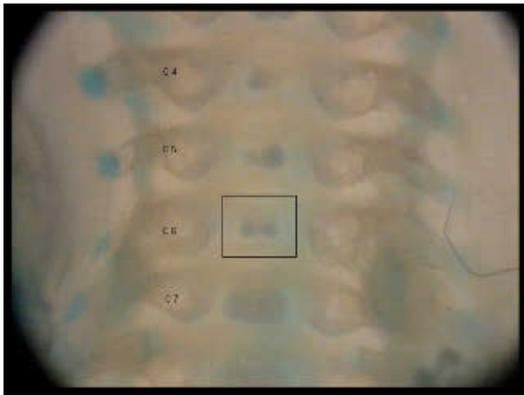
B.1.3., HWS PND 7, Cervical centrum bipartite ossification



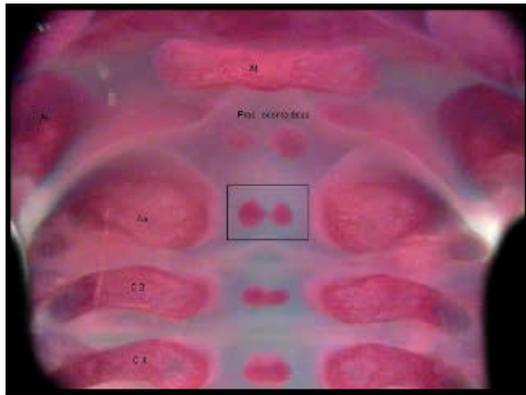
B.1.3.g., Control



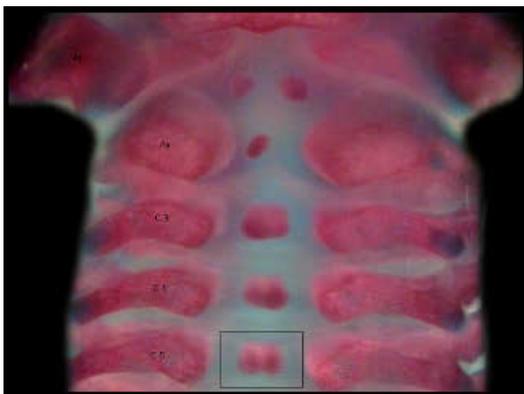
B.1.3.h., CC 4+5 bipartite ossification



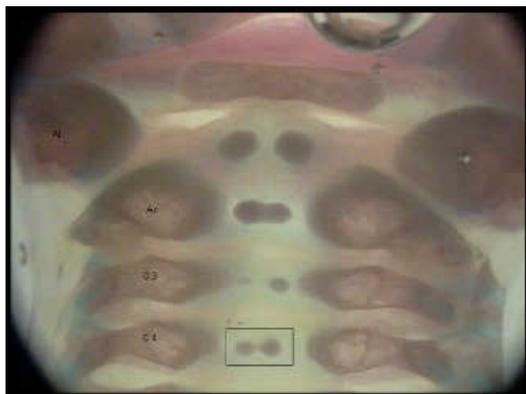
B.1.3.i., CC 6 bipartite ossification



B.1.3.j., CC 2 bipartite ossification

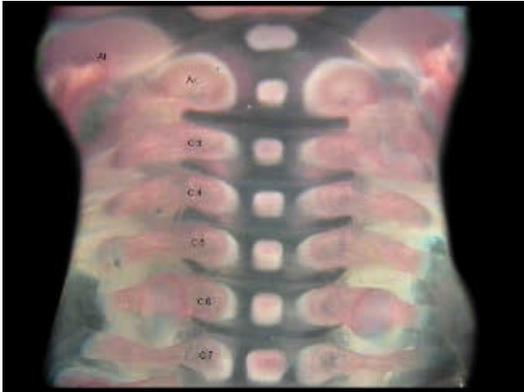


B.1.3.k., CC 5 bipartite ossification

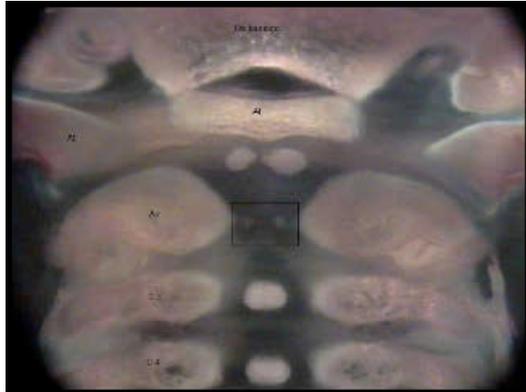


B.1.3.l., CC 4 bipartite ossification

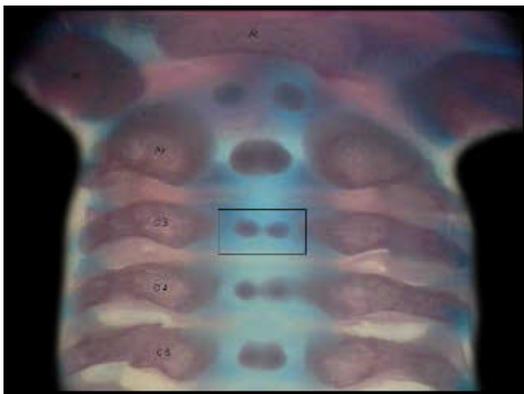
B.I.3., HWS PND 7, Cervical centrum bipartite ossification



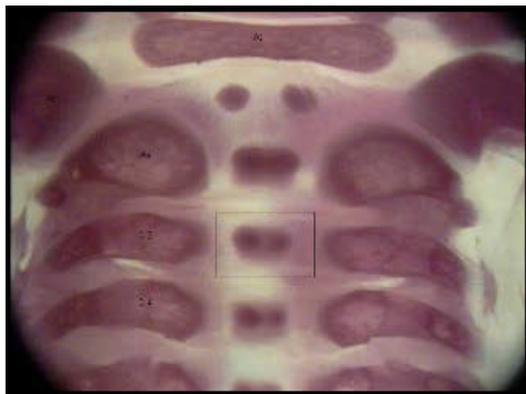
B.I.3.m., Control



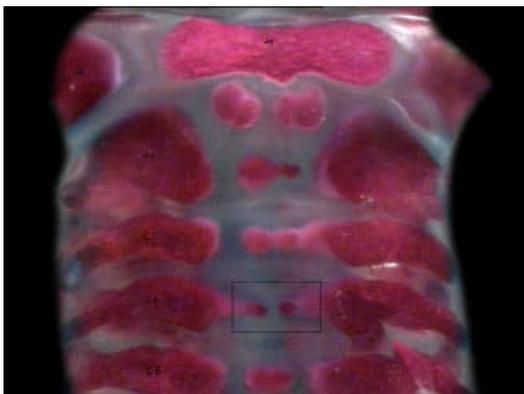
B.I.3.n., CC 2 bipartite ossification



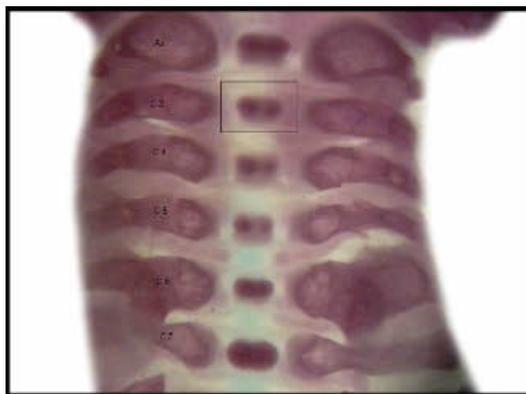
B.I.3.o., CC 3 bipartite ossification



B.I.3.p., CC 3 bipartite ossification

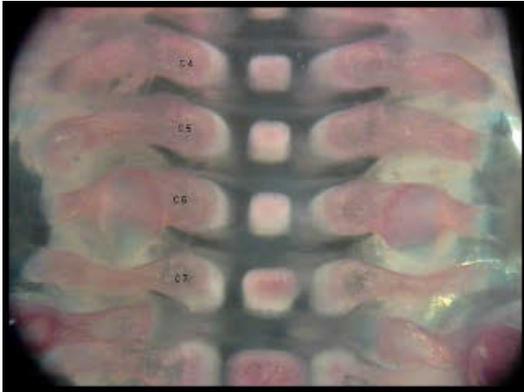


B.I.3.q., CC 4 bipartite ossification

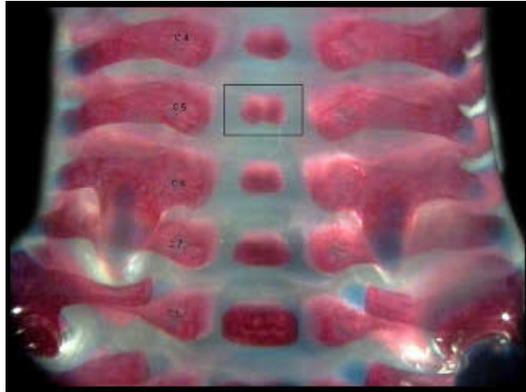


B.I.3.r., CC 3 bipartite ossification

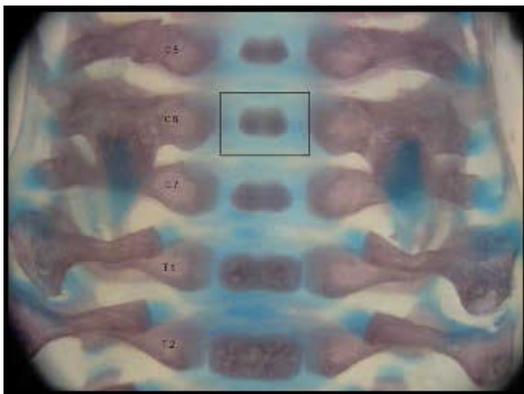
B.I.3., HWS PND 7, Cervical centrum bipartite ossification



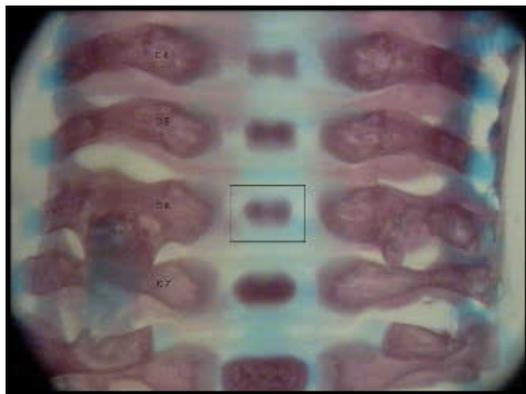
B.I.3.s., Control



B.I.3.t., CC 5 bipartite ossification

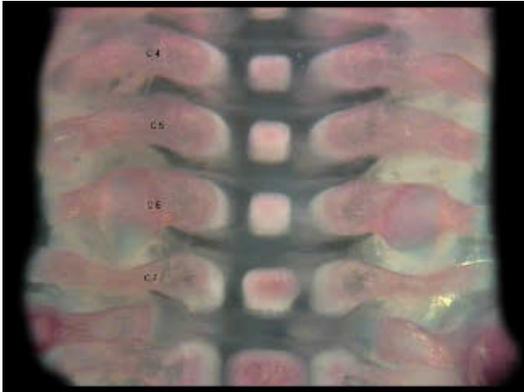


B.I.3.u., CC 6 bipartite ossification

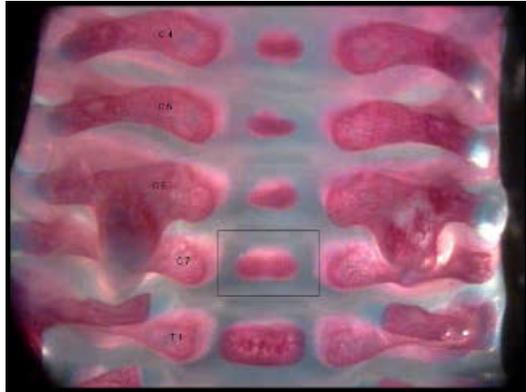


B.I.3.v., CC 6 bipartite ossification

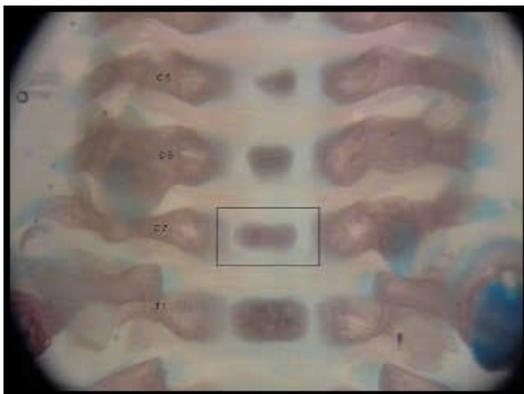
B.1.4., HWS PND 7, Cervical centrum dumbbell-shaped



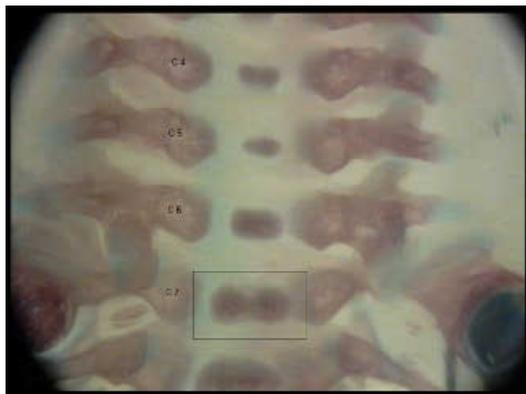
B.1.4.a., Control



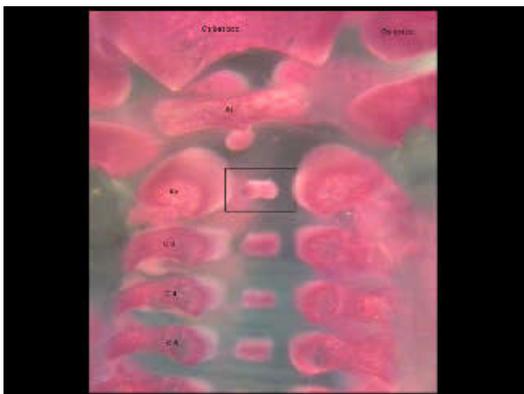
B.1.4.b., CC 7 dumbbell-shaped



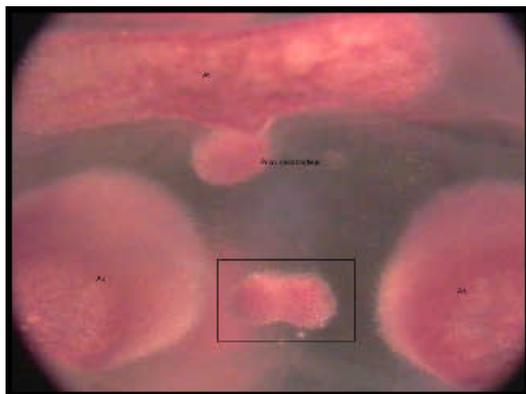
B.1.4.c., CC 7 dumbbell-shaped



B.1.4.d., CC 7 dumbbell-shaped

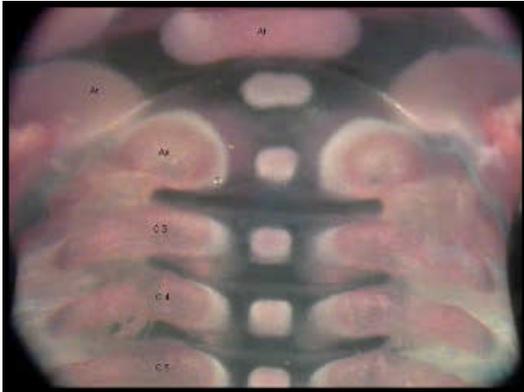


B.1.4.e., CC 2 dumbbell-shaped

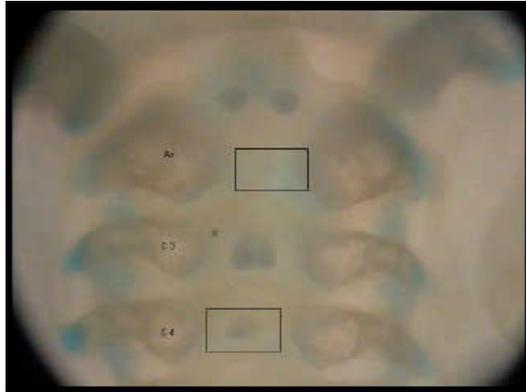


B.1.4.f., CC 2 dumbbell-shaped

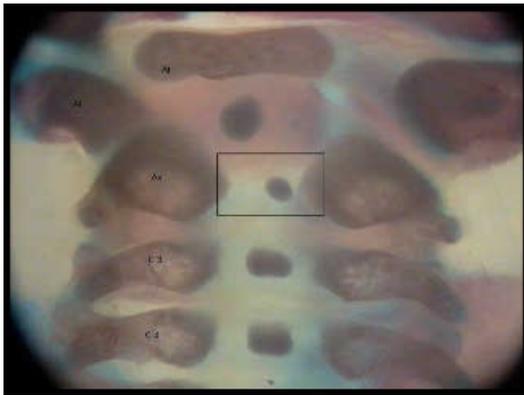
B.I.5., HWS PND 7, Cervical centrum hemicentric



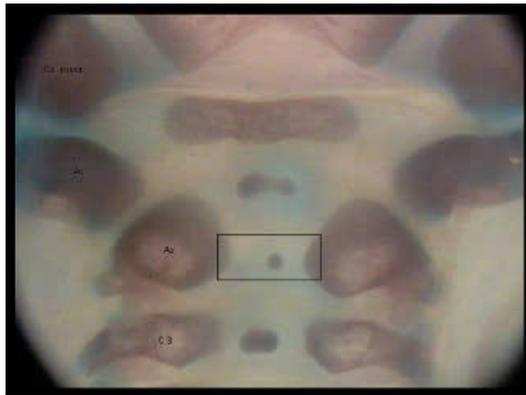
B.I.5.a., Control



B.I.5.b., CC 2+4 hemicentric



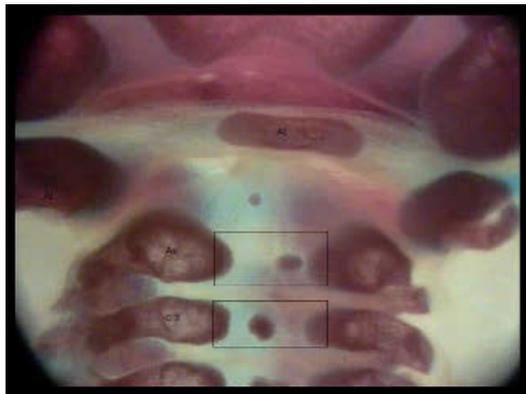
B.I.5.c., CC 2 hemicentric



B.I.5.d., CC 2 hemicentric

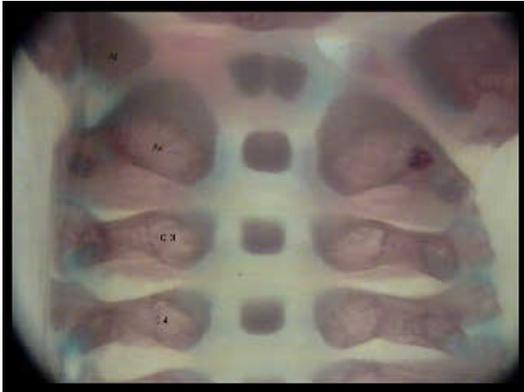


B.I.5.e., CC 2 hemicentric

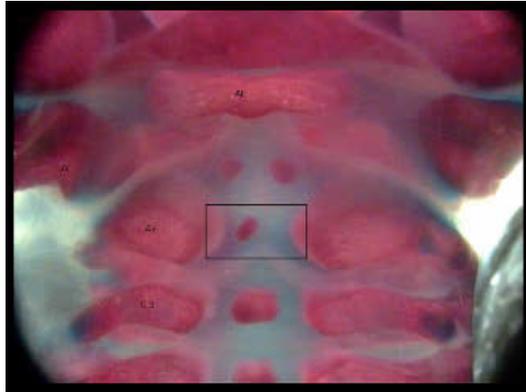


B.I.5.f., CC 2+3 hemicentric

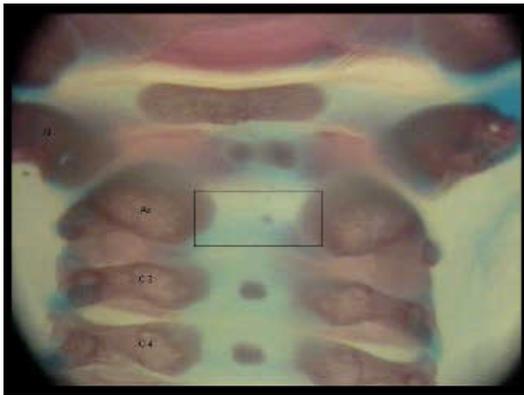
B.I.5., HWS PND 7, Cervical centrum hemicentric



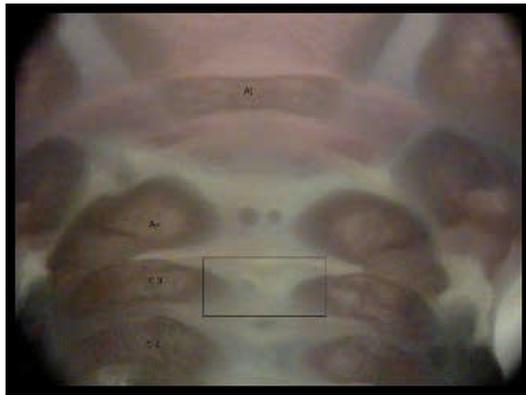
B.I.5.g., Control



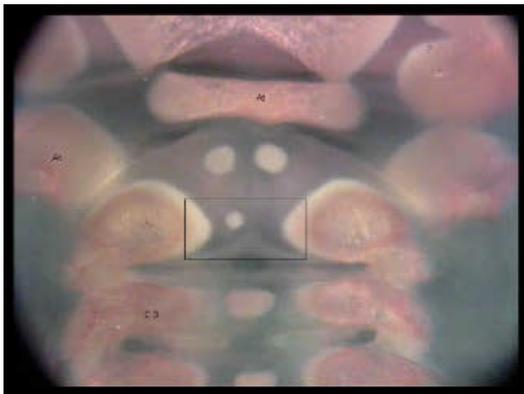
B.I.5.h., CC 2 hemicentric



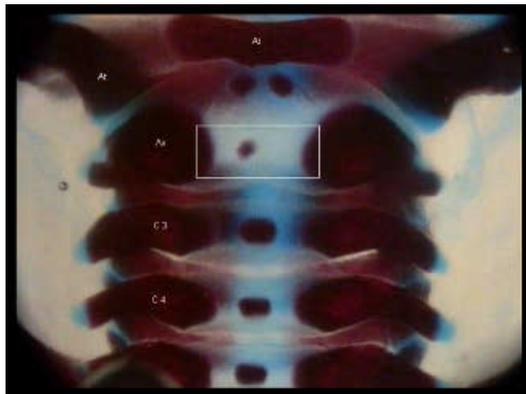
B.I.5.i., CC 2 hemicentric



B.I.5.j., CC 3 hemicentric

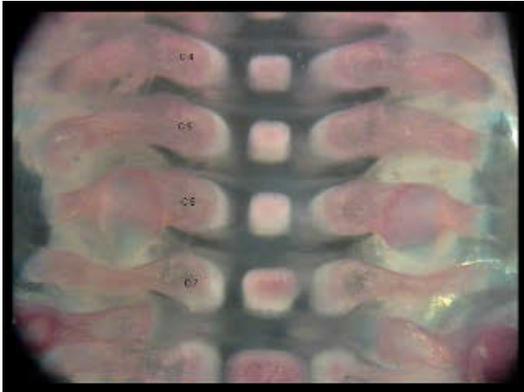


B.I.5.k., CC 2 hemicentric



B.I.5.l., CC 2 hemicentric

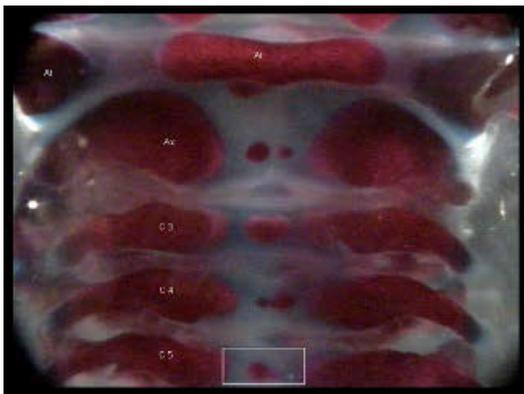
B.I.5., HWS PND 21, Cervical centrum hemicentric



B.I.5.m., Control

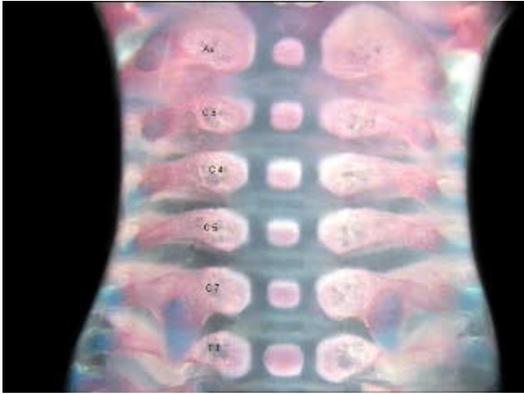


B.I.5.n., CC 6 hemicentric

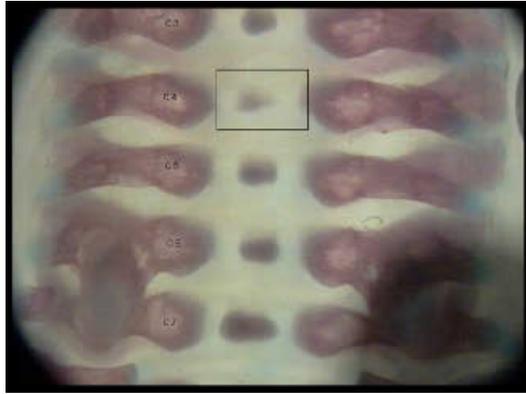


B.I.5.o., CC5 hemicentric

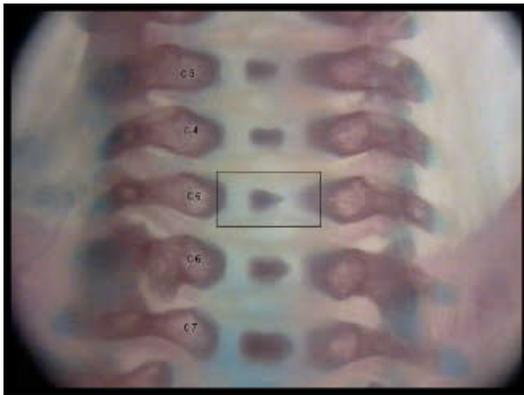
B.I.6., HWS PND 7, Cervical centrum misshapen



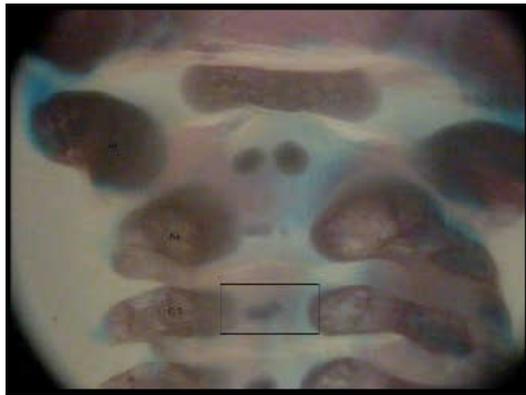
B.I.6.a., Control



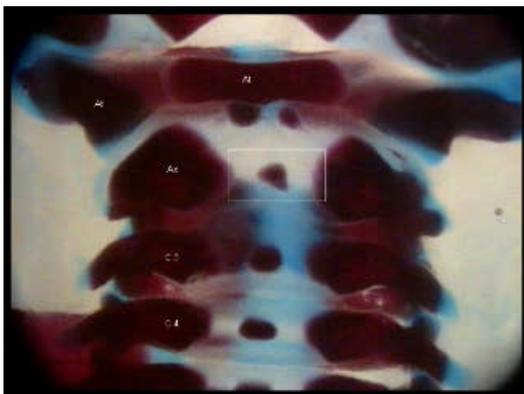
B.I.6.b., CC 4 misshapen



B.I.6.c., CC 5 misshapen

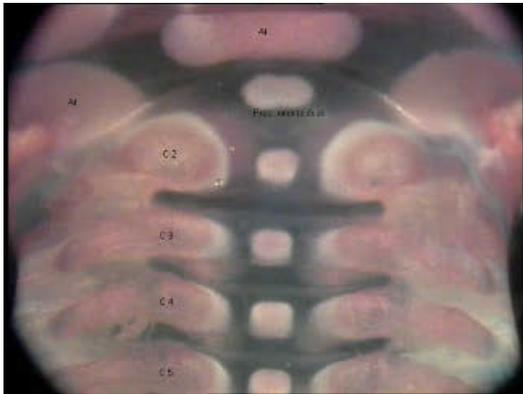


B.I.6.d., CC 3 misshapen

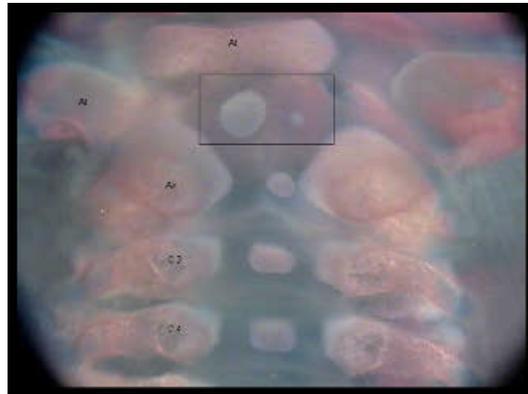


B.I.6.e., CC 2 misshapen

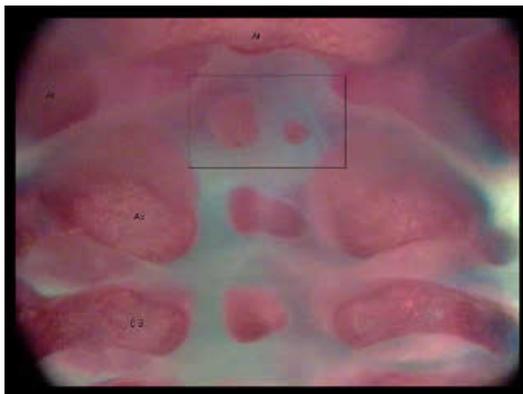
B.I.7., HWS PND 7, Processus odontoideus asymmetric ossification



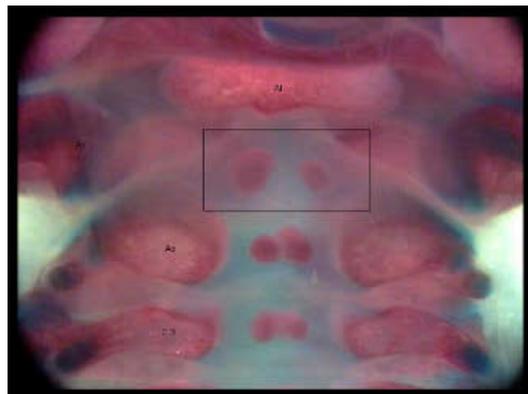
B.I.7.a., Control



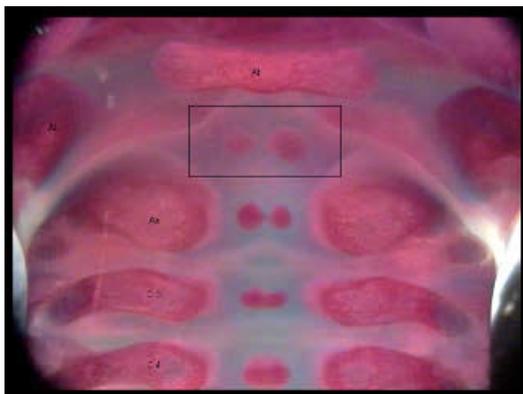
B.I.7.b., Proc.odontoideus asymmetric ossification



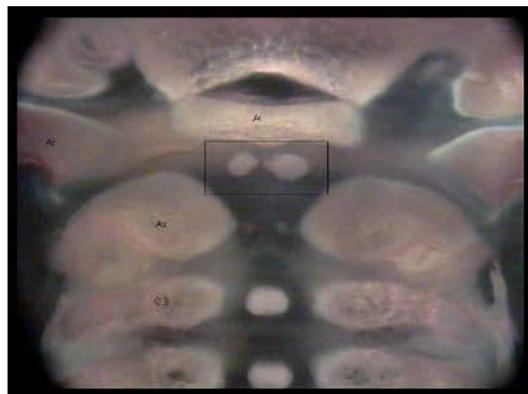
B.I.7.c., Proc.odontoideus asymmetric ossification



B.I.7.d., Proc.odontoideus asymmetric ossification

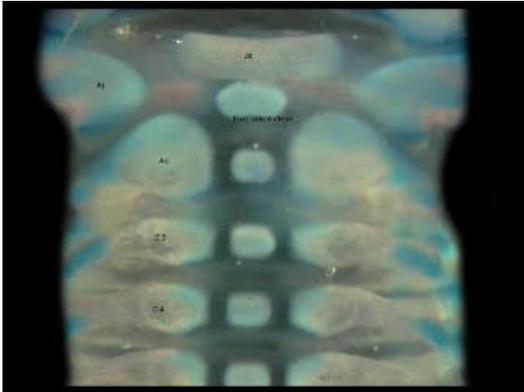


B.I.7.e., Proc.odontoideus asymmetric ossification

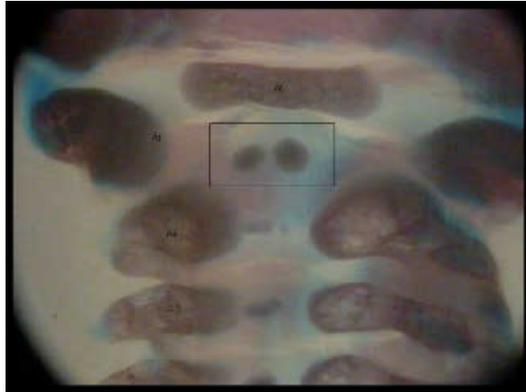


B.I.7.f., Proc.odontoideus asymmetric ossification

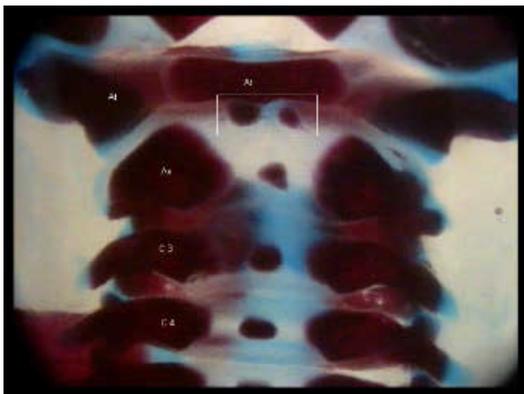
B.I.7., HWS PND 7, Processus odontoideus asymmetric ossification



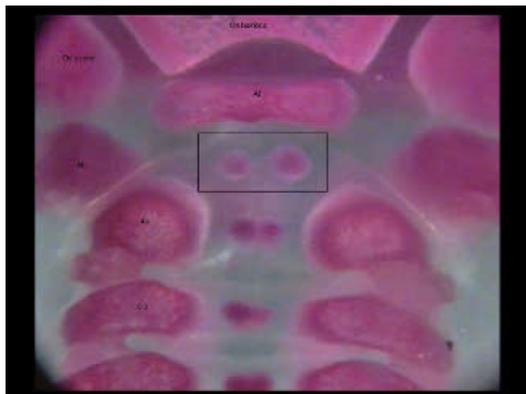
B.I.7.g., Control



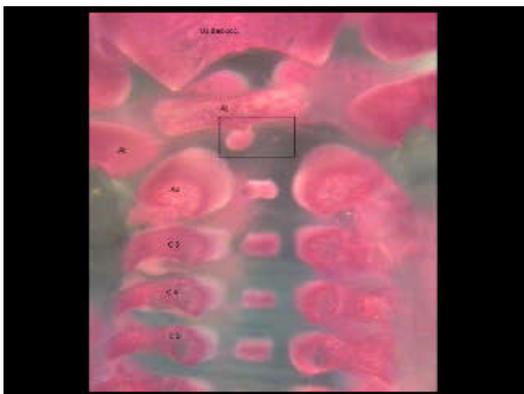
B.I.7.h., Proc.odontoideus asymmetric ossification



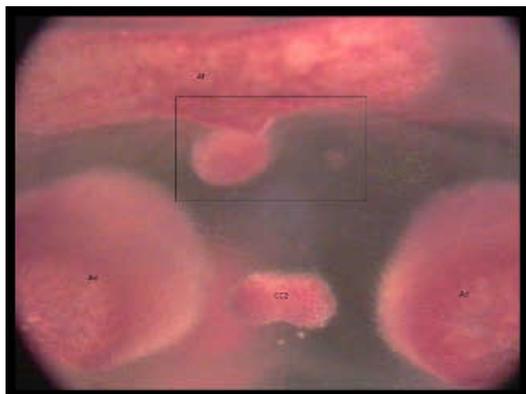
B.I.7.i., Proc.odontoideus asymmetric ossification



B.I.7.j., Proc.odontoideus asymmetric ossification

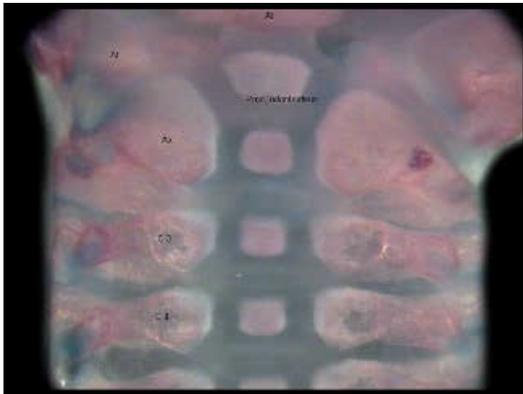


B.I.7.k., Proc.odontoideus asymmetric ossification

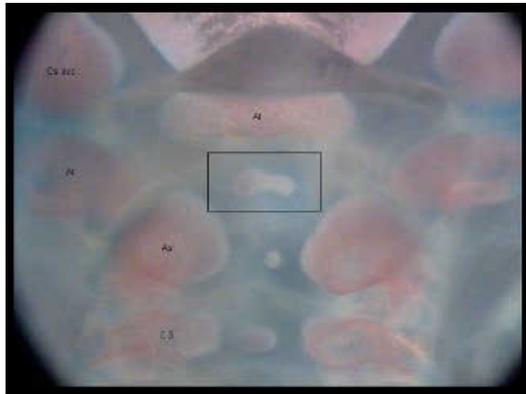


B.I.7.l., Proc.odontoideus asymmetric ossification

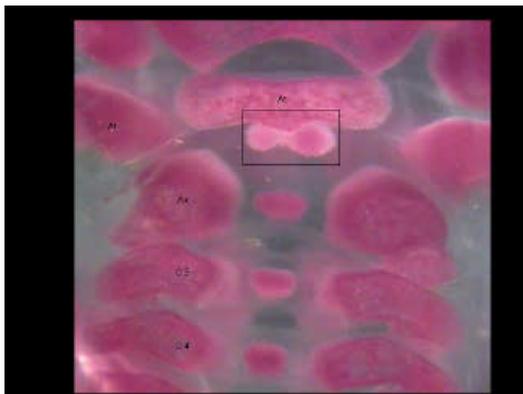
B.I.7., HWS PND 7, Processus odontoideus asymmetric ossification



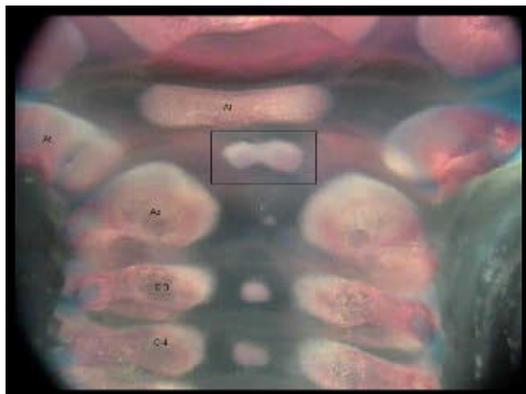
B.I.7.m., Control



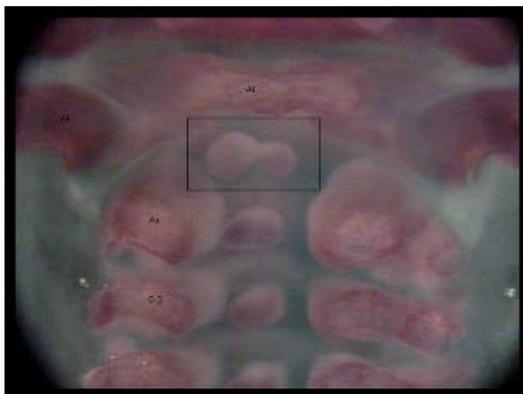
B.I.7.n., Proc.odontoideus asymmetric ossification



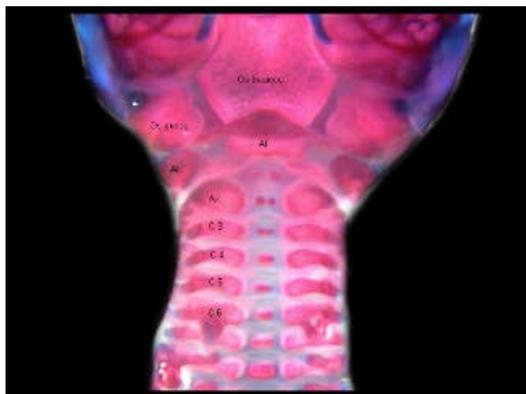
B.I.7.o., Proc.odontoideus asymmetric ossification



B.I.7.p., Proc.odontoideus asymmetric ossification

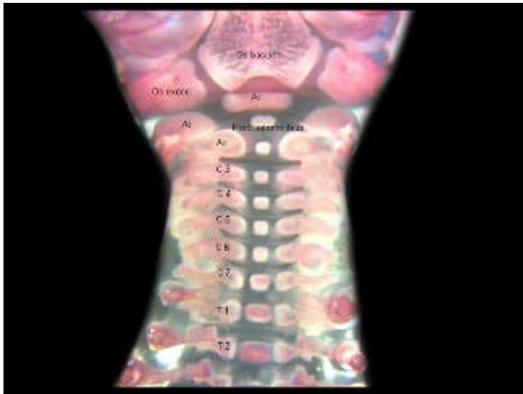


B.I.7.q., Proc.odontoideus asymmetric ossification



B.I.7.r., Proc.odontoideus asymmetric ossification

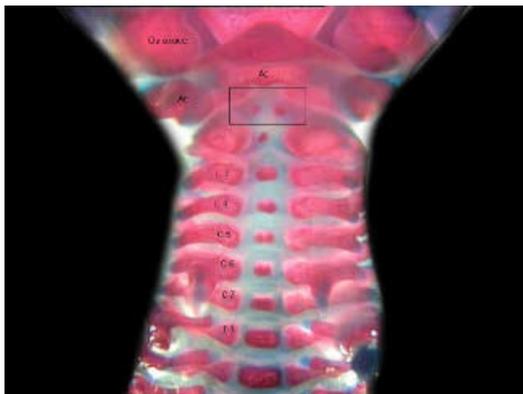
B.I.8., HWS PND 7, Processus odontoideus bipartite ossification



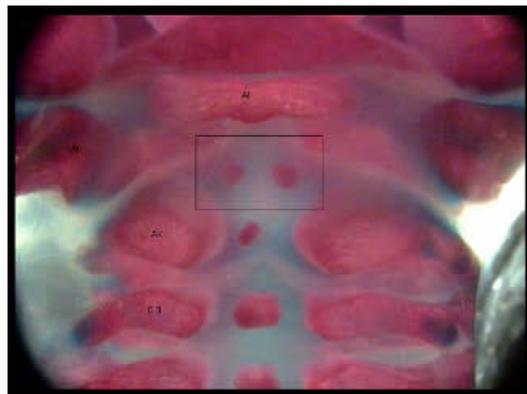
B.I.8.a., Control



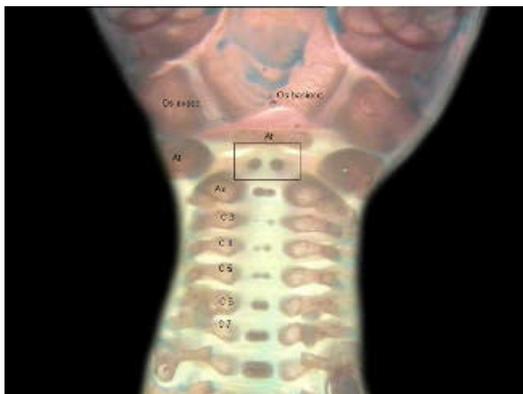
B.I.8.b., Control



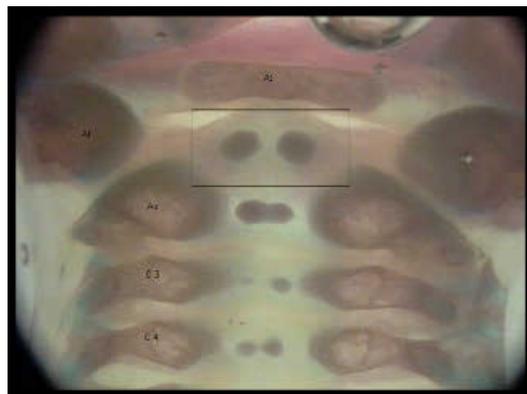
B.I.8.c., Proc. odontoideus bipartite ossification



B.I.8.d., Proc. odontoideus bipartite ossification

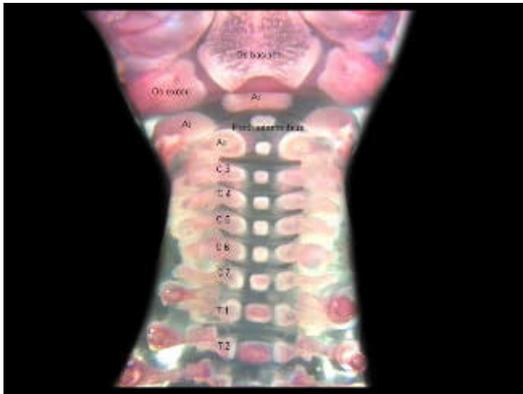


B.I.8.e., Proc. odontoideus bipartite ossification



B.I.8.f., Proc. odontoideus bipartite ossification

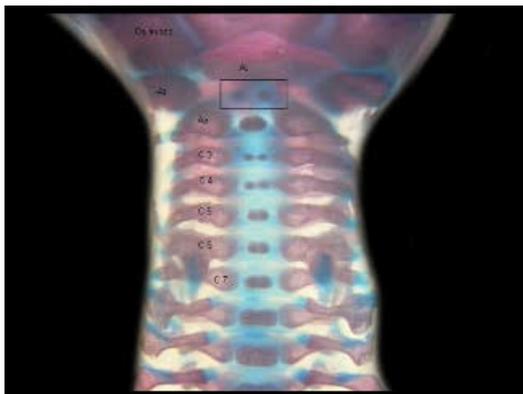
B.I.8., HWS PND 7, Processus odontoideus bipartite ossification



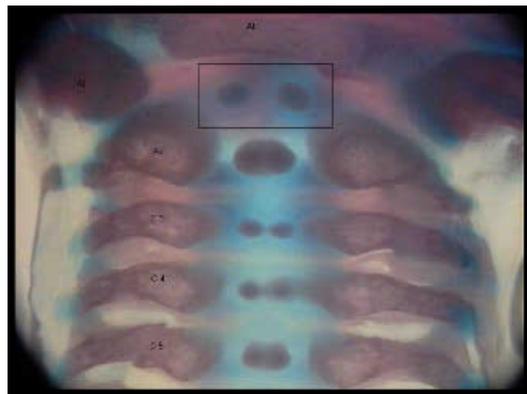
B.I.8.g., Control



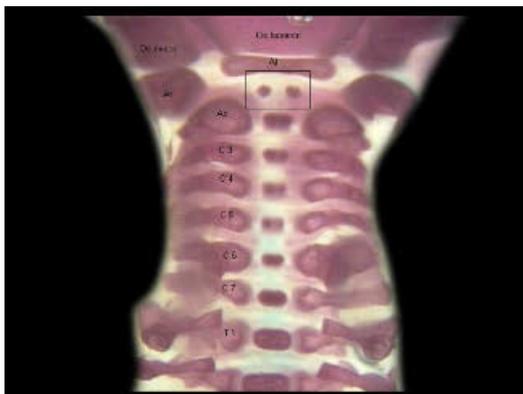
B.I.8.h., Control



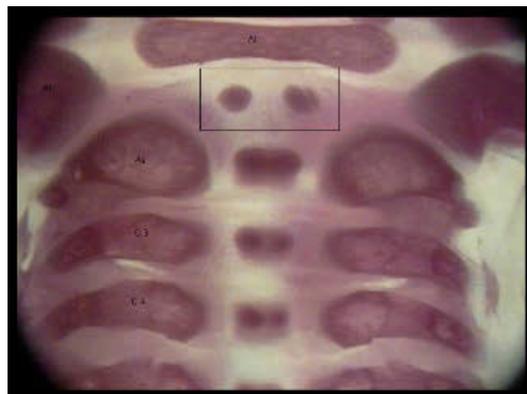
B.I.8.i., Proc. odontoideus bipartite ossification



B.I.8.j., Proc. odontoideus bipartite ossification

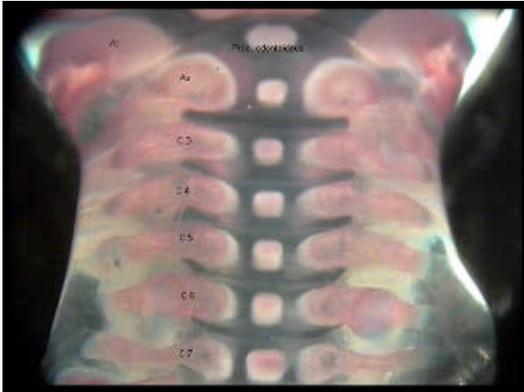


B.I.8.k., Proc. odontoideus bipartite ossification

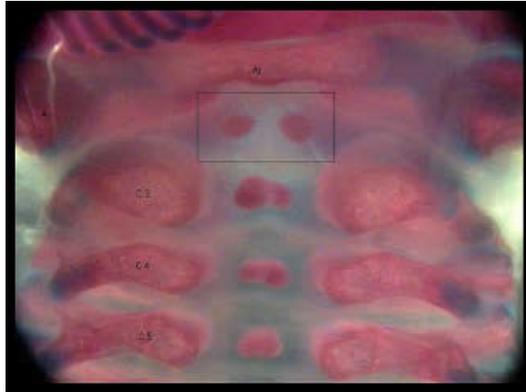


B.I.8.l., Proc. odontoideus bipartite ossification

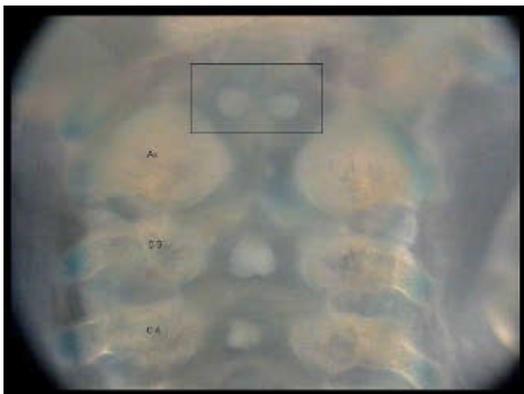
B.I.8., HWS PND 7, Processus odontoideus bipartite ossification



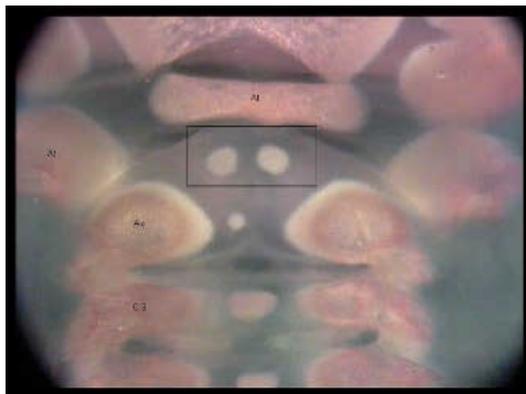
B.I.8.m., Control



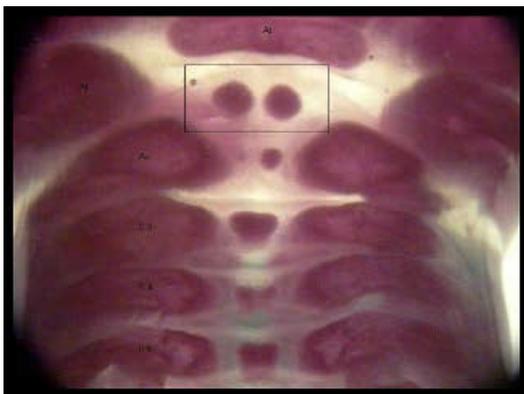
B.I.8.n., Proc. odontoideus bipartite ossification



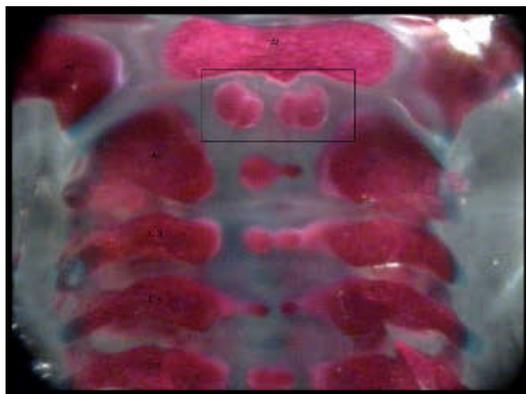
B.I.8.o., Proc. odontoideus bipartite ossification



B.I.8.p., Proc. odontoideus bipartite ossification

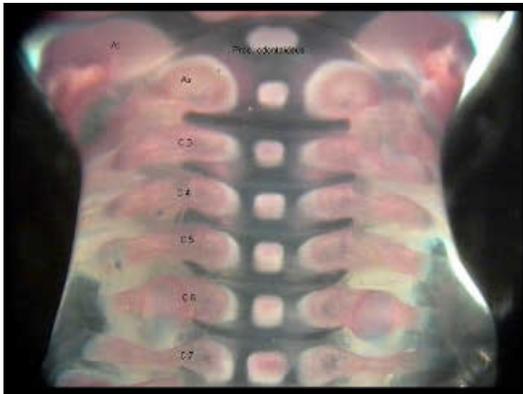


B.I.8.q., Proc. odontoideus bipartite ossification

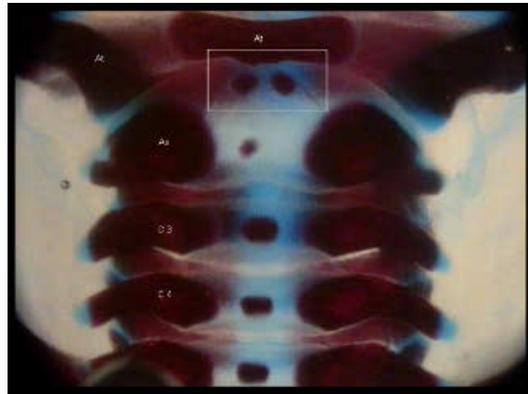


B.I.8.r., Proc. odontoideus bipartite ossification

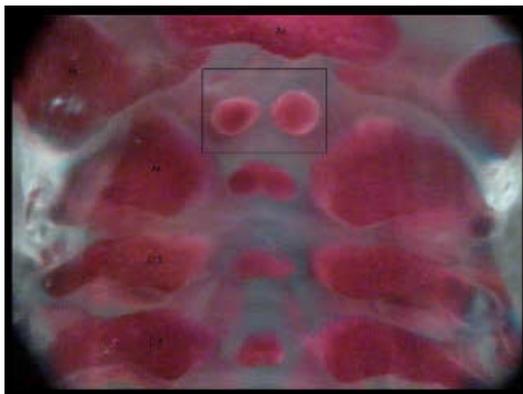
B.I.8., HWS PND 7, Processus odontoideus bipartite ossification



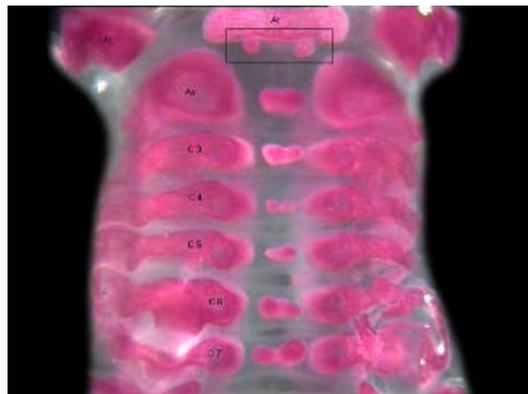
B.I.8.s., Control



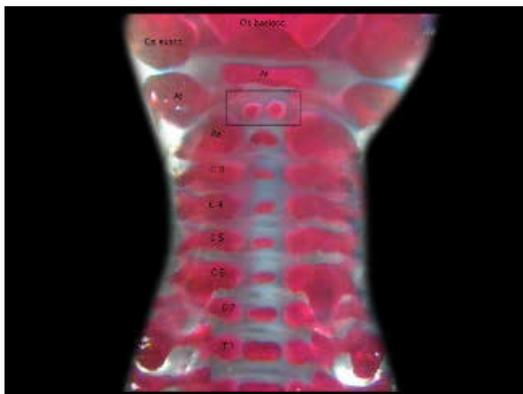
B.I.8.t., Proc. odontoideus bipartite ossification



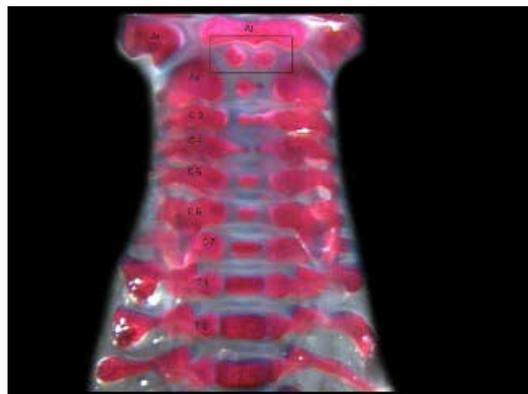
B.I.8.u., Proc. odontoideus bipartite ossification



B.I.8.v., Proc. odontoideus bipartite ossification

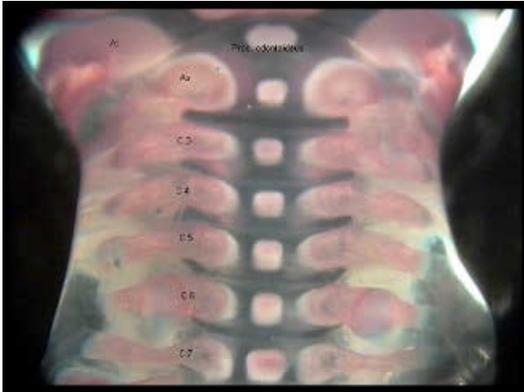


B.I.8.w., Proc. odontoideus bipartite ossification

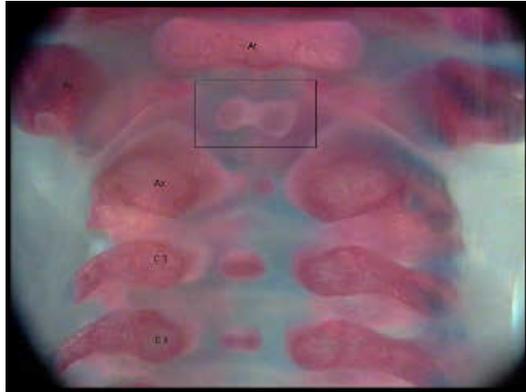


B.I.8.x., Proc. odontoideus bipartite ossification

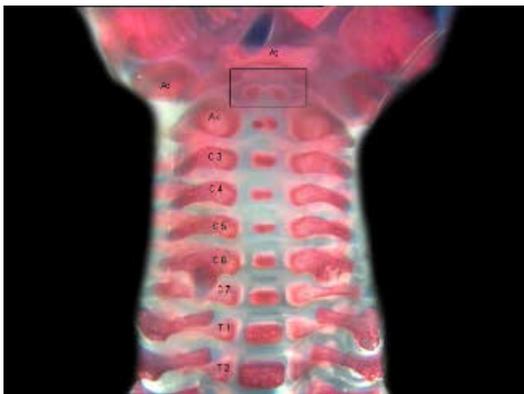
B.I.9., HWS PND 7, Processus odontoideus dumbbell-shaped



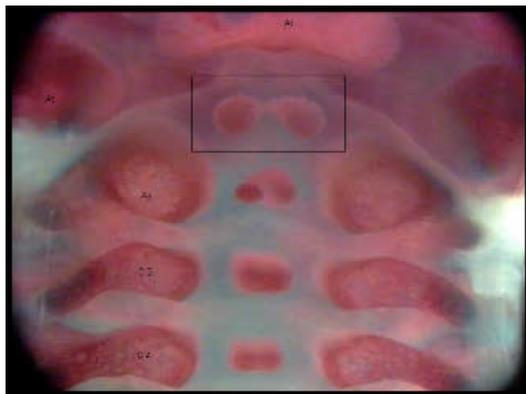
B.I.9.a., Control



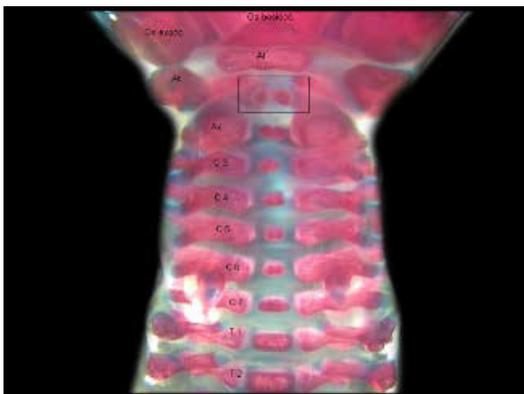
B.I.9.b., Proc. odontoideus dumbbell-shaped



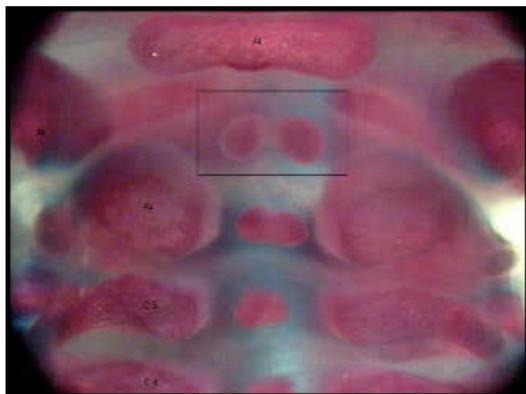
B.I.9.c., Proc. odontoideus dumbbell-shaped



B.I.9.d., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

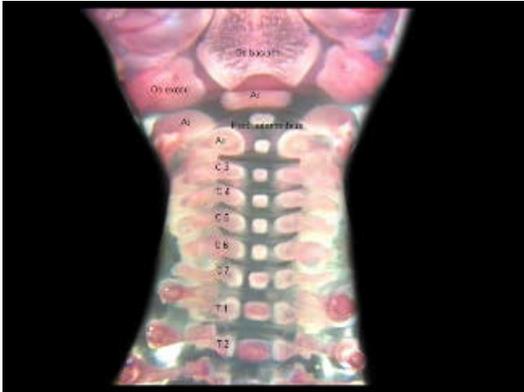


B.I.9.e., Proc. odontoideus dumbbell-shaped



B.I.9.f., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

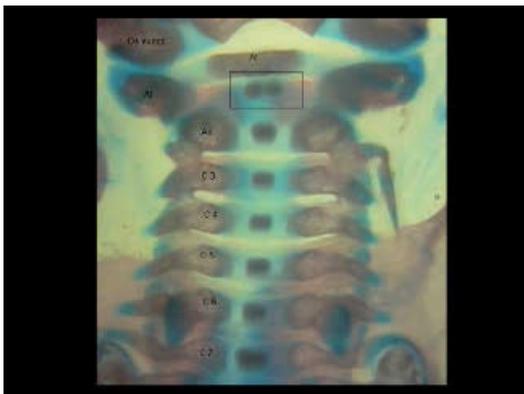
B.I.9., HWS PND 7, Processus odontoideus dumbbell-shaped



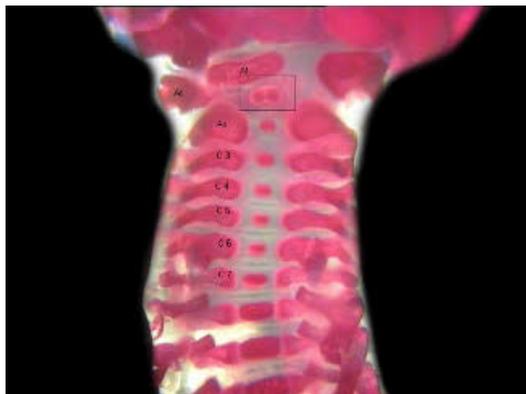
B.I.9.g., Control



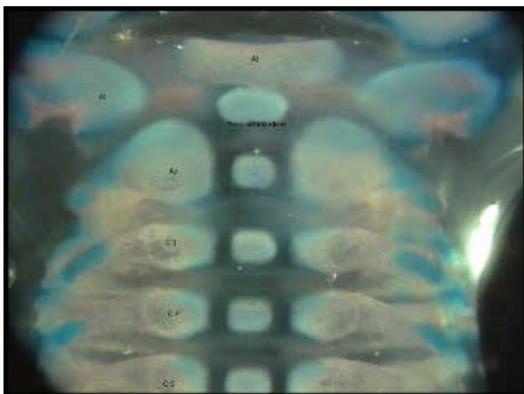
B.I.9.h., Proc. odontoideus dumbbell-shaped



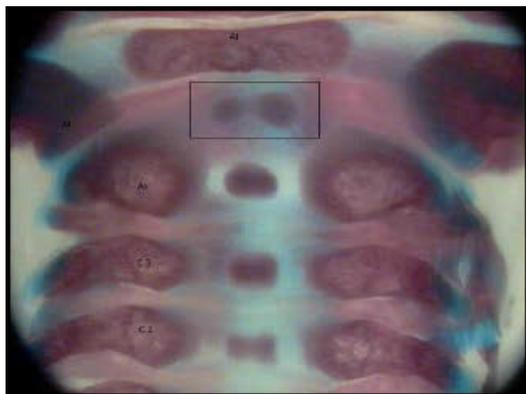
B.I.9.i., Proc. odontoideus dumbbell-shaped



B.I.9.j., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

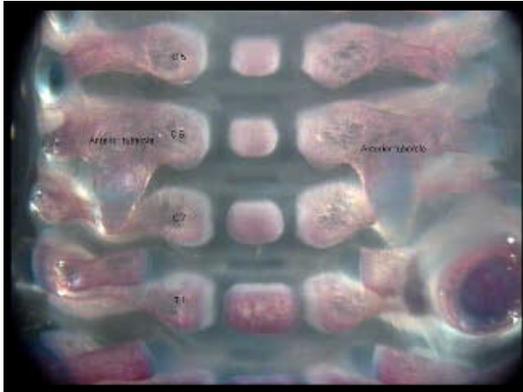


B.I.9.k., Control

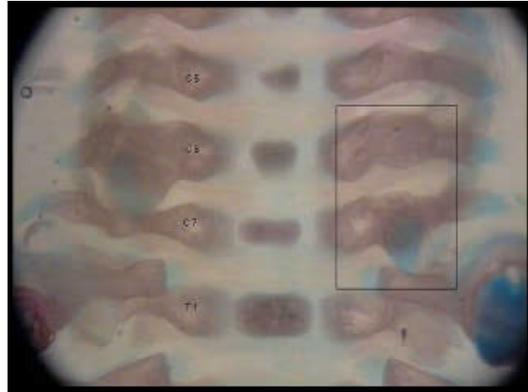


B.I.9.l., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

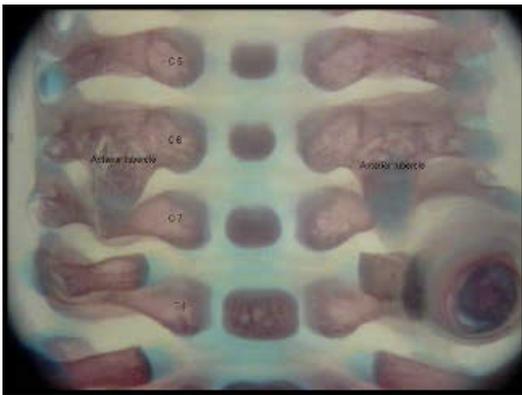
B.I.10., HWS PND 7, Anterior tubercle C6 malpositioned



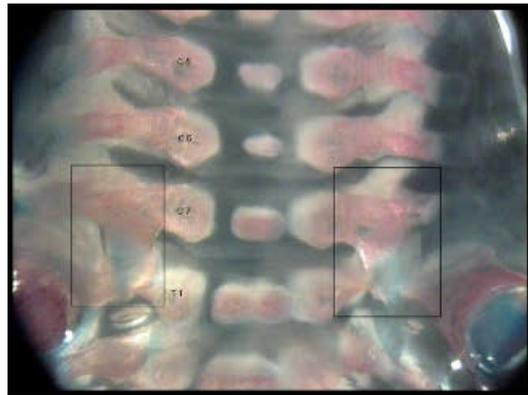
B.I.10.a., Control



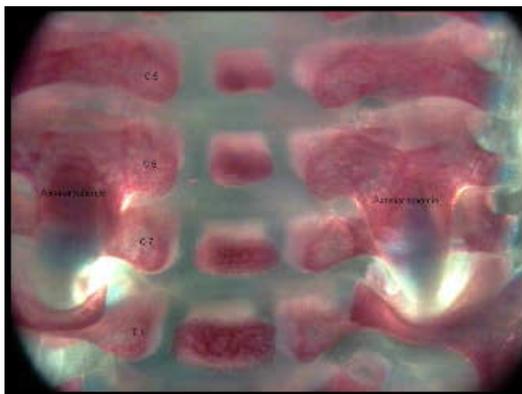
B.I.10.b., Anterior tubercle C6 malpositioned



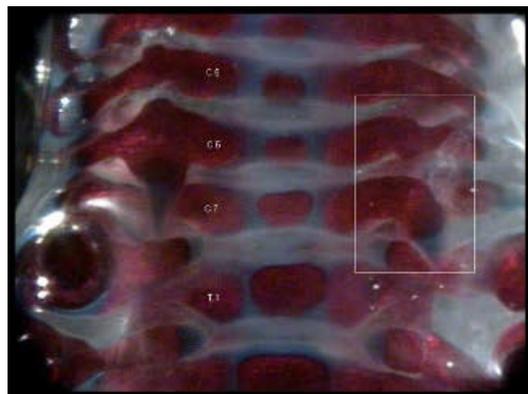
B.I.10.c., Control



B.I.10.d., Anterior tubercle C6 malpositioned

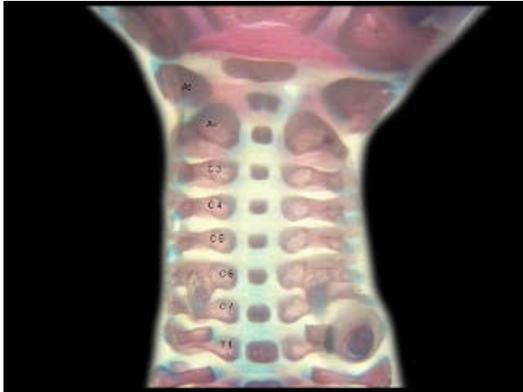


B.I.10.e., Control

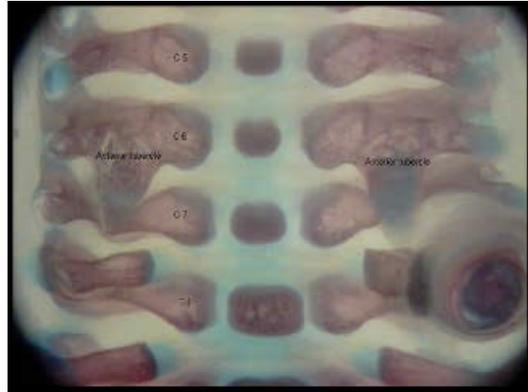


B.I.10.f., Anterior tubercle C6 malpositioned

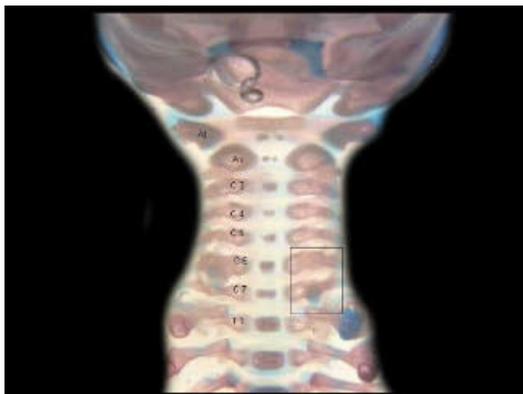
B.I.10., HWS PND 7, Anterior tubercle C6 malpositioned



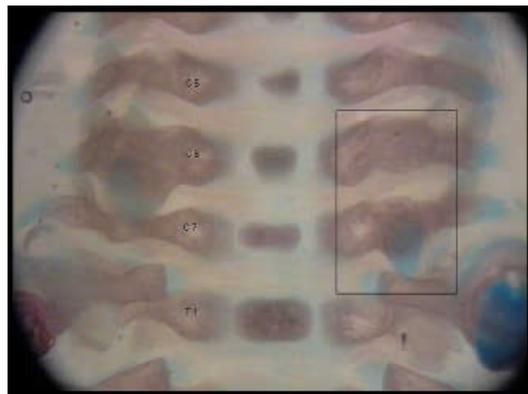
B.I.10.g., Control



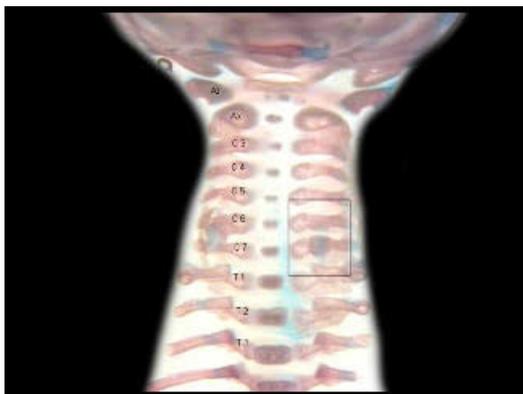
B.I.10.h., Control



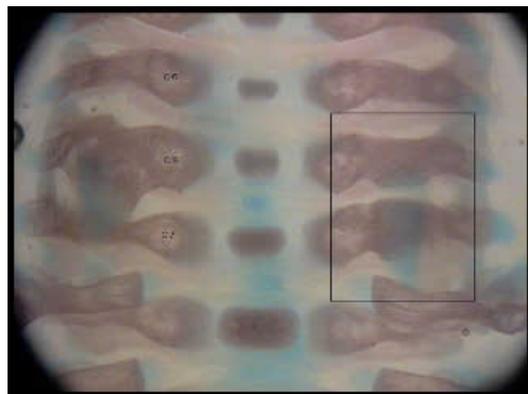
B.I.10.i., Anterior tubercle C6 malpositioned



B.I.10.j., Anterior tubercle C6 malpositioned

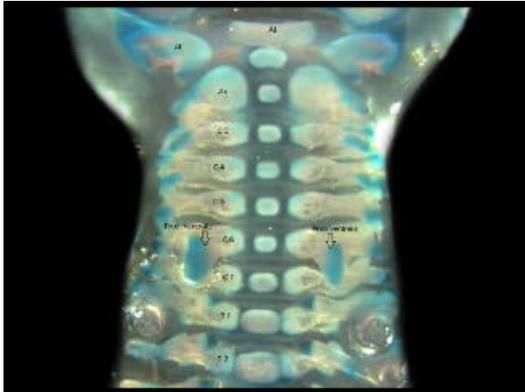


B.I.10.k., Anterior tubercle C6 malpositioned

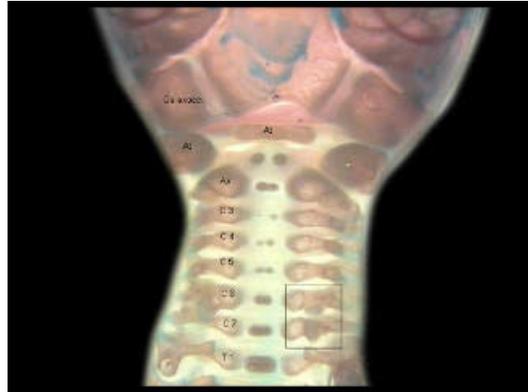


B.I.10.l., Anterior tubercle C6 malpositioned

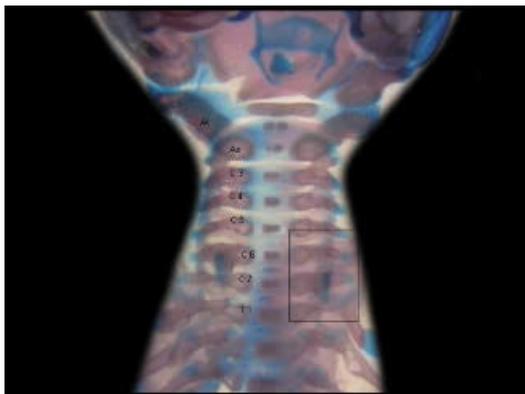
B.I.10., HWS PND 7, Anterior tubercle C6 malpositioned



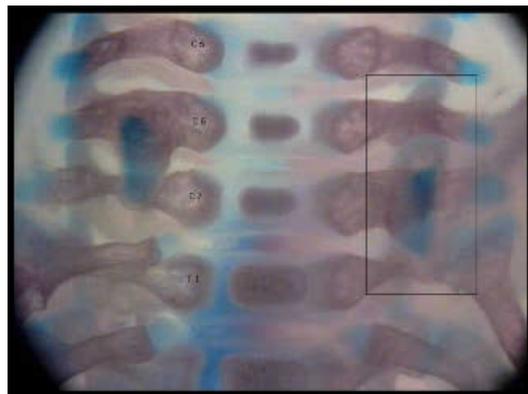
B.I.10.m., Control



B.I.10.n., Anterior tubercle C6 malpositioned



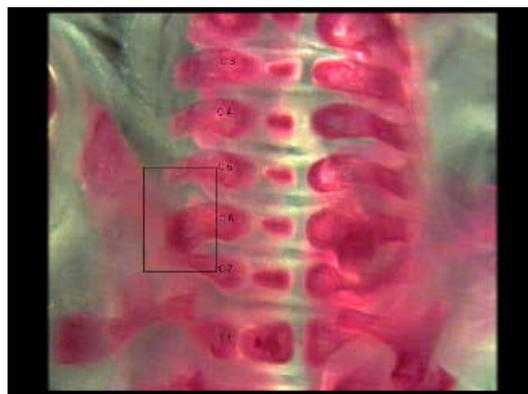
B.I.10.o., Anterior tubercle C6 malpositioned



B.I.10.p., Anterior tubercle C6 malpositioned

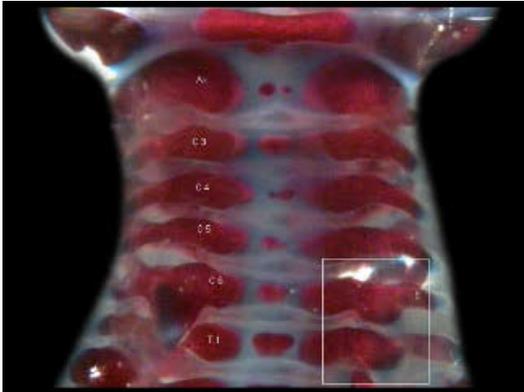


B.I.10.q., Anterior tubercle C6 malpositioned



B.I.10.r., Anterior tubercle C6 malpositioned

B.I.10., HWS PND 7, Anterior tubercle C6 malpositioned



B.I.10.s., Anterior tubercle C6 malpositioned

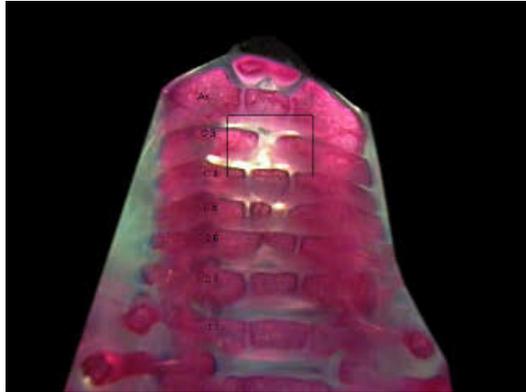


B.I.10.t., Anterior tubercle C6 malpositioned

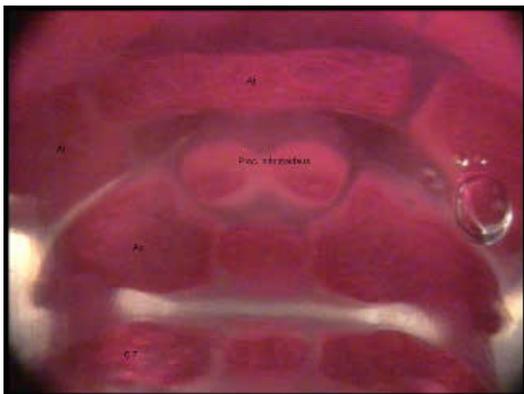
C.I.1., HWS PND 21, Cervical centrum absent



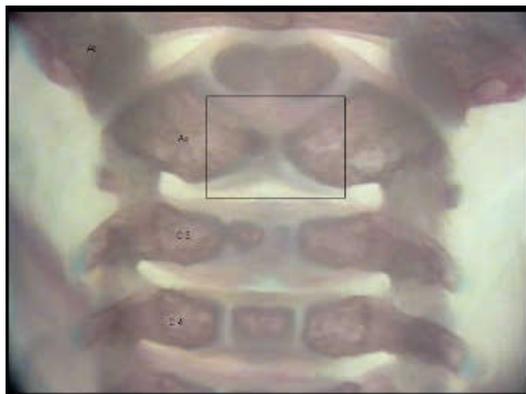
C.I.1.a., Control



C.I.1.b., CC 3 absent



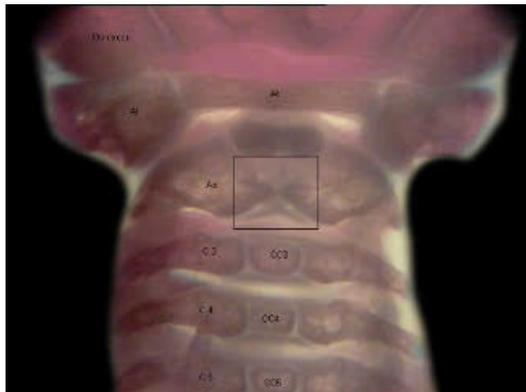
C.I.1.c., Control



C.I.1.d., CC 2 absent

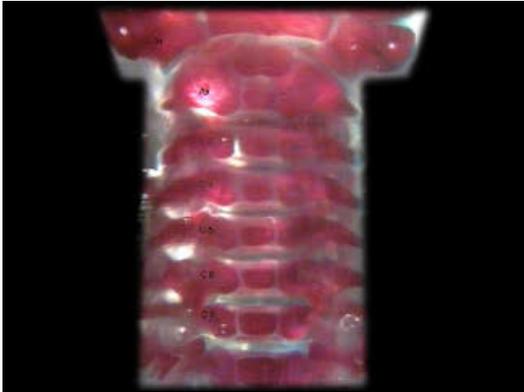


C.I.1.e., CC 2 absent

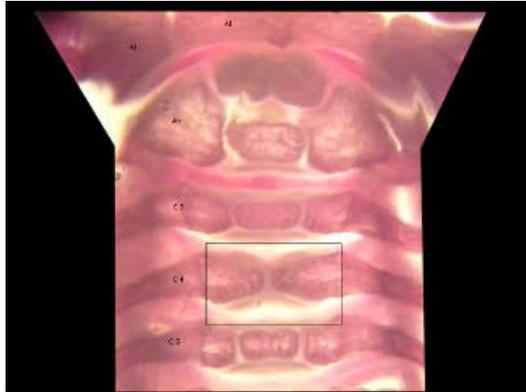


C.I.1.f., CC 2 absent

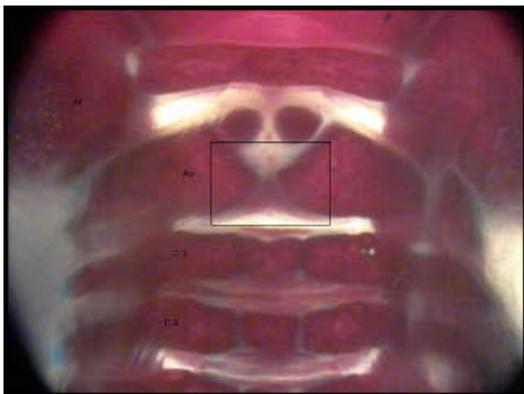
C.I.1., HWS PND 21, Cervical centrum absent



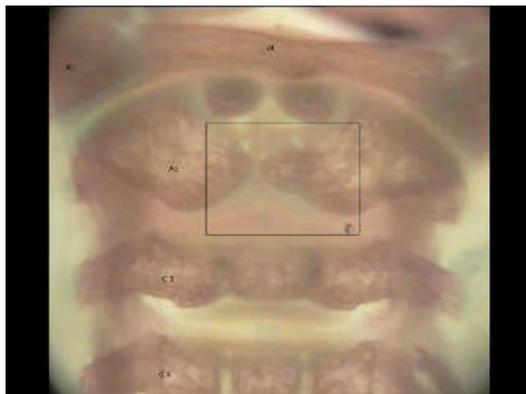
C.I.1.g., Control



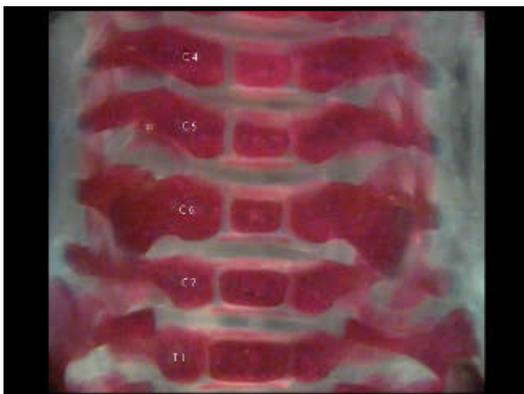
C.I.1.h., CC 4 absent



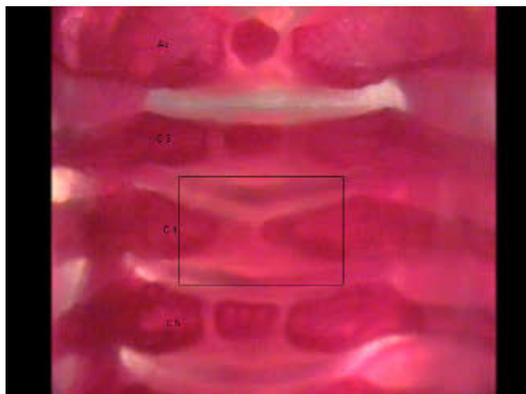
C.I.1.i., CC 2 absent



C.I.1.j., CC 2 absent

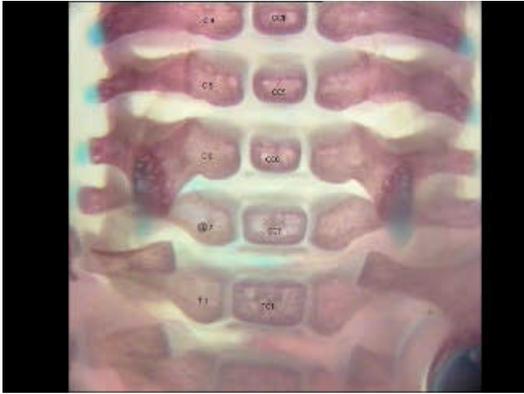


C.I.1.k., Control

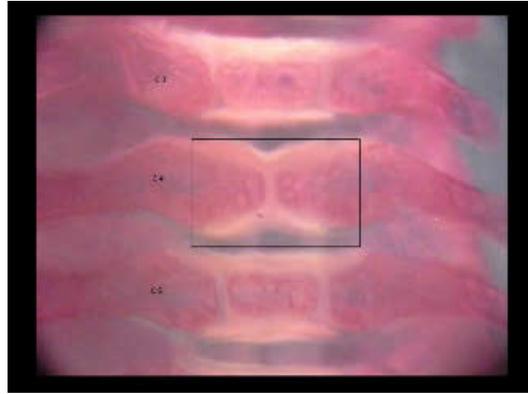


C.I.1.l., CC 4 absent

C.I.1., HWS PND 21, Cervical centrum absent

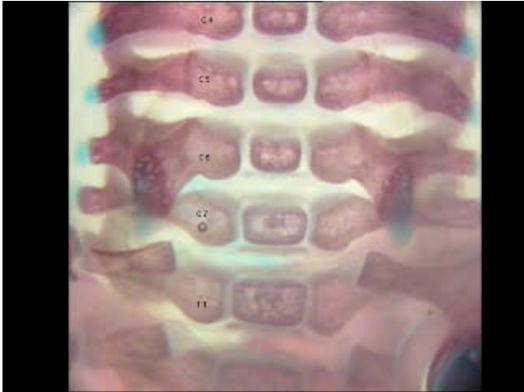


C.I.1.m., Control

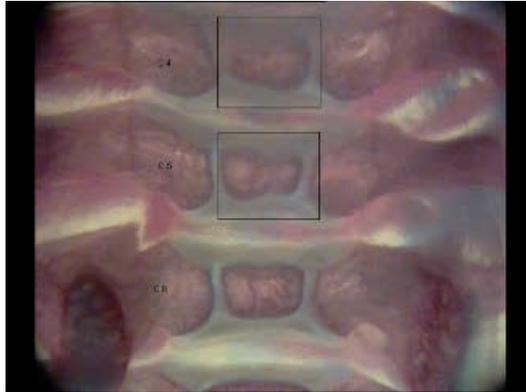


C.I.1.n., CC 4 absent

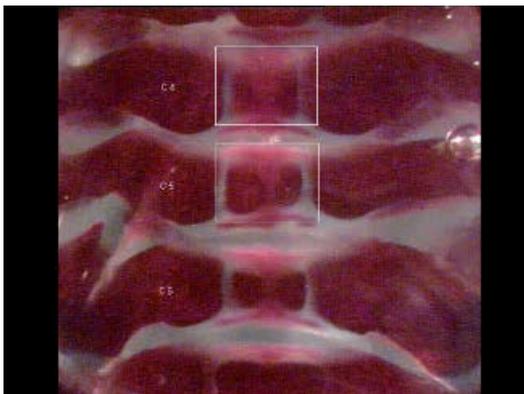
C.I.2., HWS PND 21, Cervical centrum asymmetric ossification



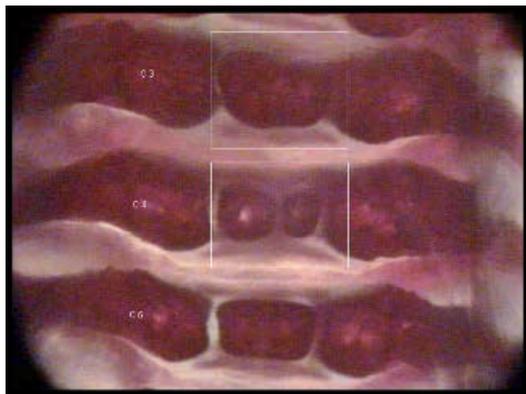
C.I.2.a., Control



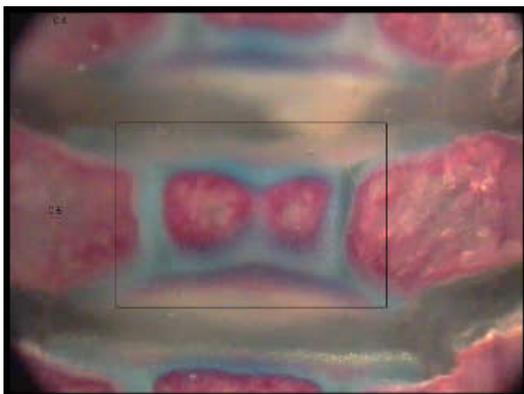
C.I.2.b., CC 4+5 asymmetric ossification



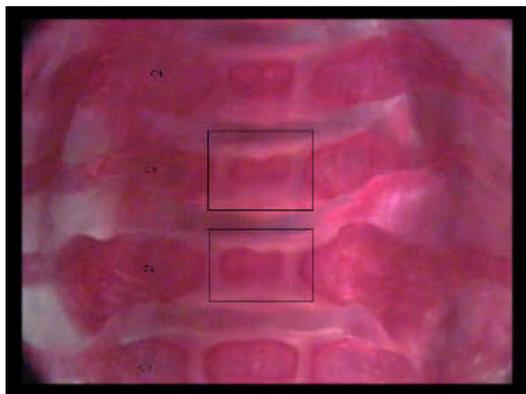
C.I.2.c., CC 4+5 asymmetric ossification



C.I.2.d., CC 3+4 asymmetric ossification

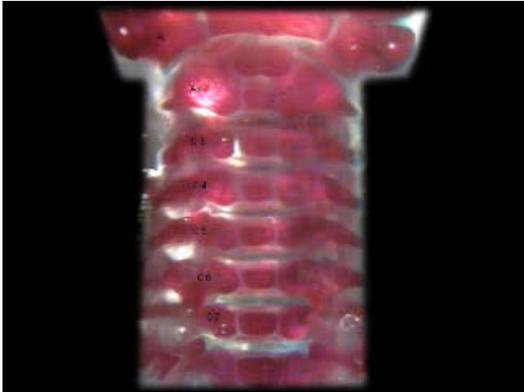


C.I.2.e., CC 5 asymmetric ossification



C.I.2.f., CC 5+6 asymmetric ossification

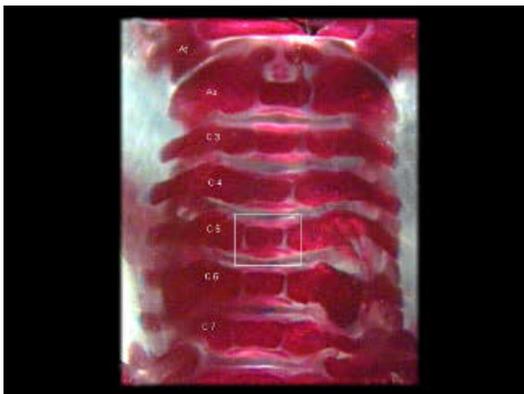
C.I.2., HWS PND 21, Cervical centrum asymmetric ossification



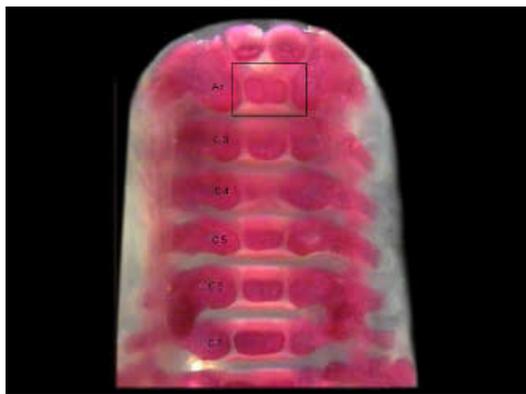
C.I.2.g., Control



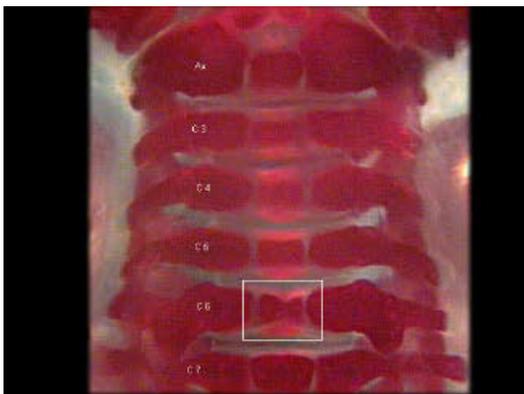
C.I.2.h., CC 3+5 asymmetric ossification



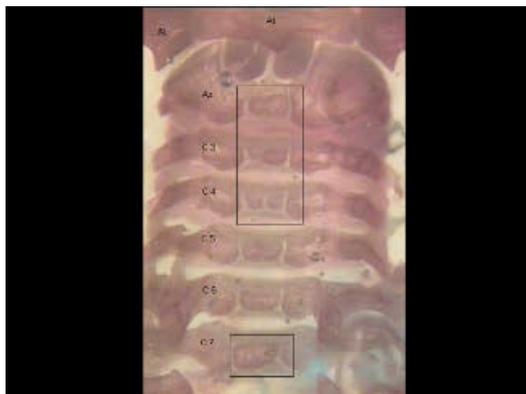
C.I.2.i., CC 5 asymmetric ossification



C.I.2.j., CC 2 asymmetric ossification

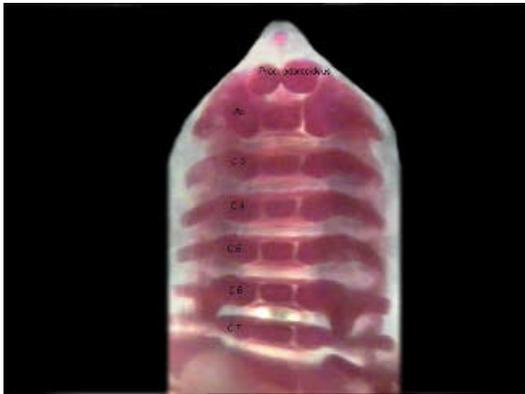


C.I.2.k., CC 6 asymmetric ossification



C.I.2.l., CC 2+3+4+7 asymmetric ossification

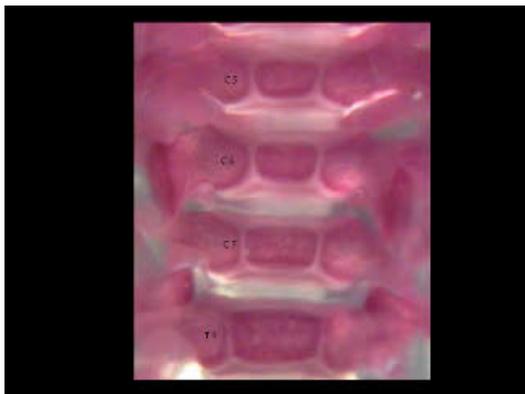
C.I.2., HWS PND 21, Cervical centrum asymmetric ossification



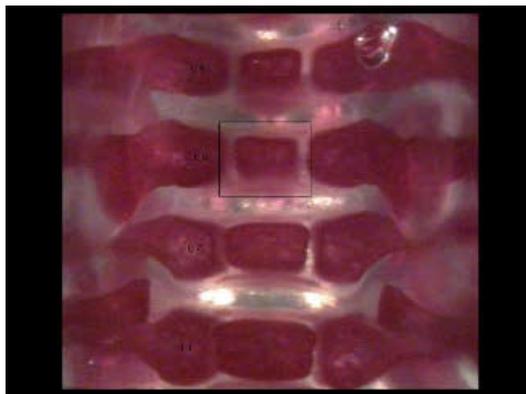
C.I.2.m., Control



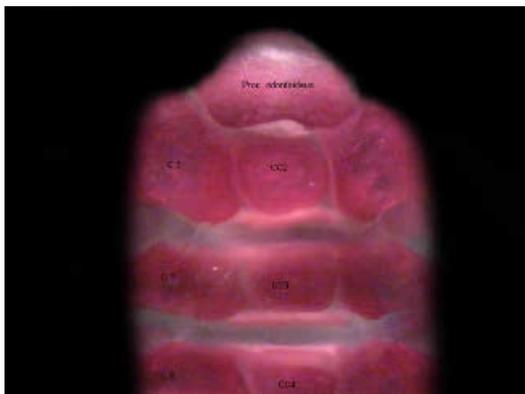
C.I.2.n., CC 3 asymmetric ossification



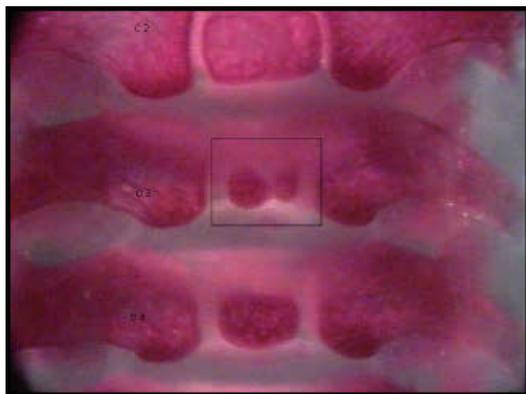
C.I.2.o., Control



C.I.2.p., CC 6 asymmetric ossification



C.I.2.q., Control

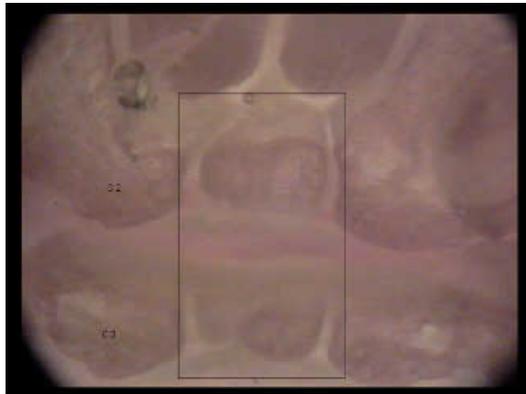


C.I.2.r., CC 3 asymmetric ossification

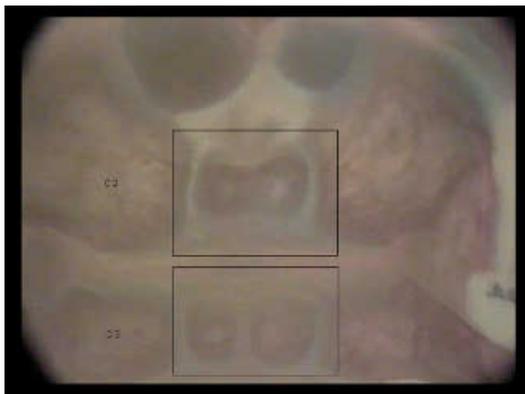
C.I.2., HWS PND 21, Cervical centrum asymmetric ossification



C.I.2.s., Control



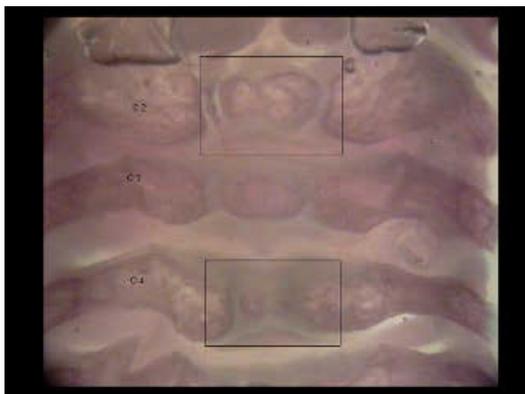
C.I.2.t., CC 2+3 asymmetric ossification



C.I.2.u., CC 2+3 asymmetric ossification



C.I.2.v., CC 3 asymmetric ossification



C.I.2.w., CC 2+4 asymmetric ossification

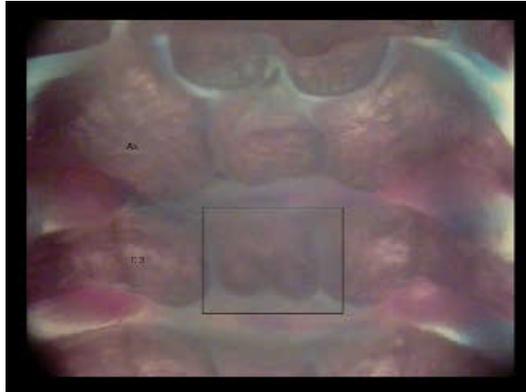


C.I.2.x., CC 2+3+4 asymmetric ossification

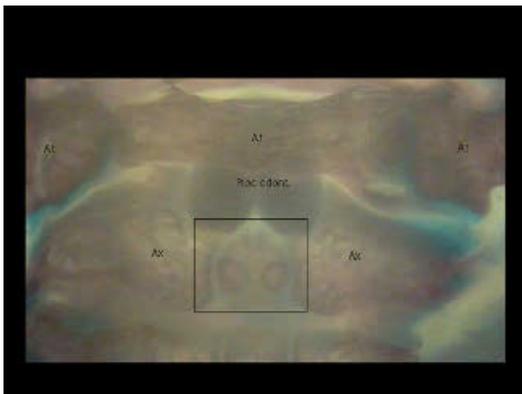
C.I.3., HWS PND 21, Cervical centrum bipartite ossification



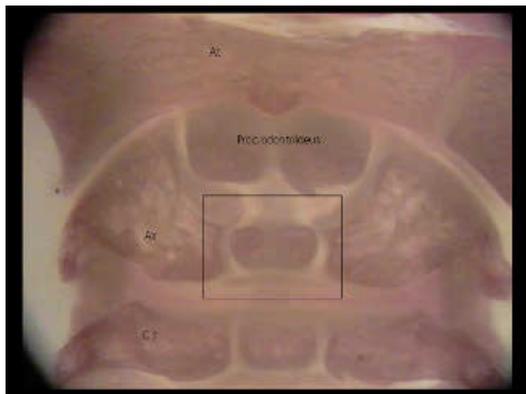
C.I.3.a., Control



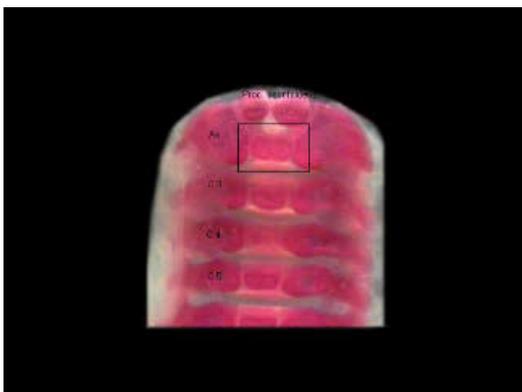
C.I.3.b., CC 3 bipartite ossification



C.I.3.c., CC 2 bipartite ossification



C.I.3.d., CC 2 bipartite ossification

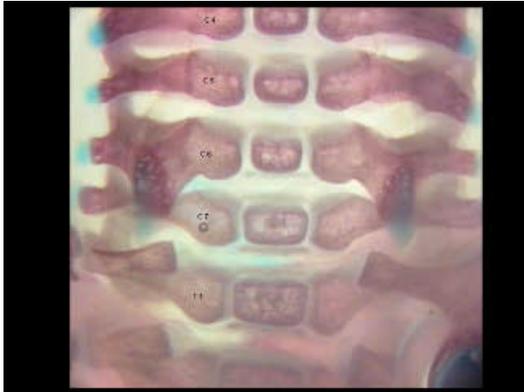


C.I.3.e., CC 2 bipartite ossification

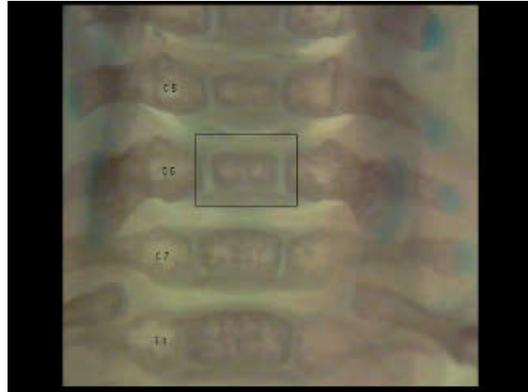


C.I.3.f., CC 2 bipartite ossification

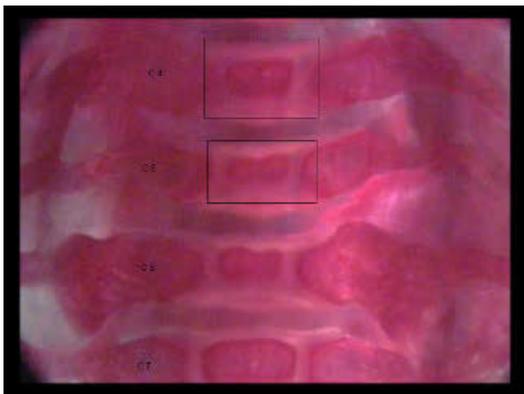
C.I.3., HWS PND 21, Cervical centrum bipartite ossification



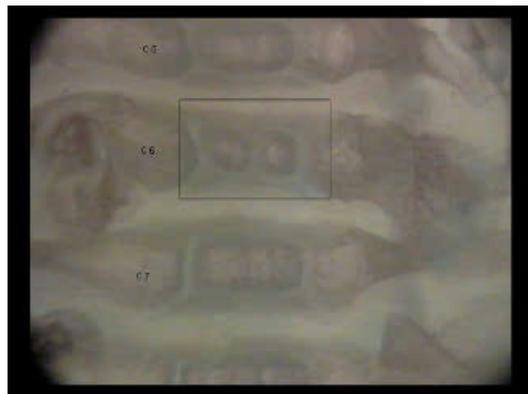
C.I.3.g., Control



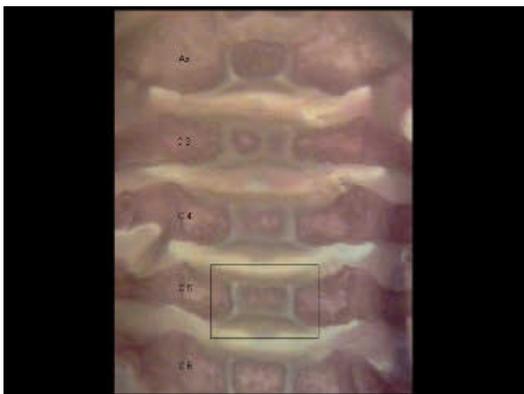
C.I.3.h., CC 6 bipartite ossification



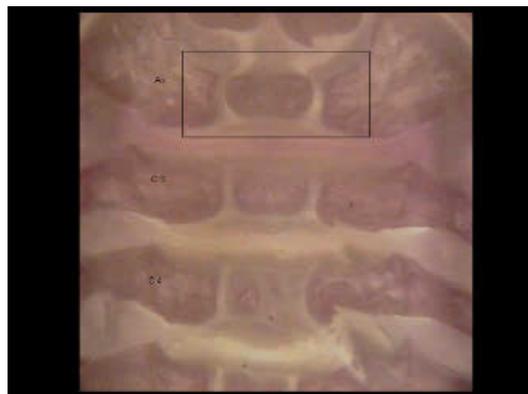
C.I.3.i., CC 4+5 bipartite ossification



C.I.3.j., CC 6 bipartite ossification



C.I.3.k., CC 5 bipartite ossification

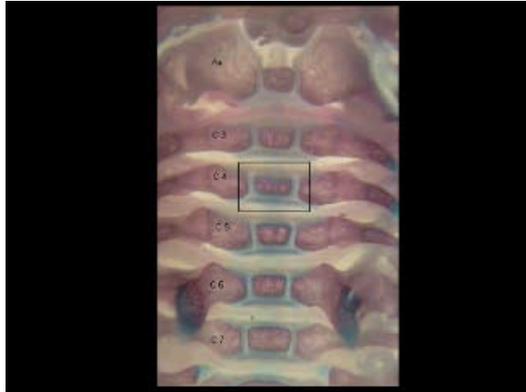


C.I.3.l., CC 2 bipartite ossification

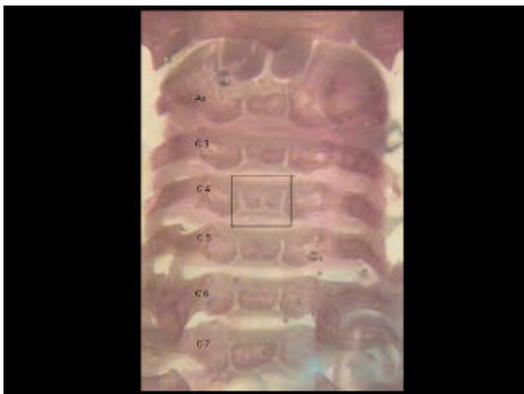
C.I.3., HWS PND 21, Cervical centrum bipartite ossification



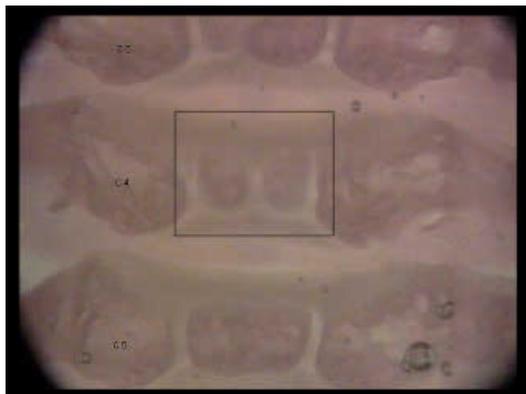
C.I.3.m., Control



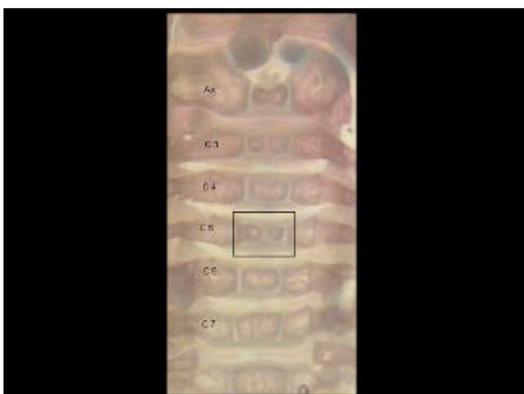
C.I.3.n., CC 4 bipartite ossification



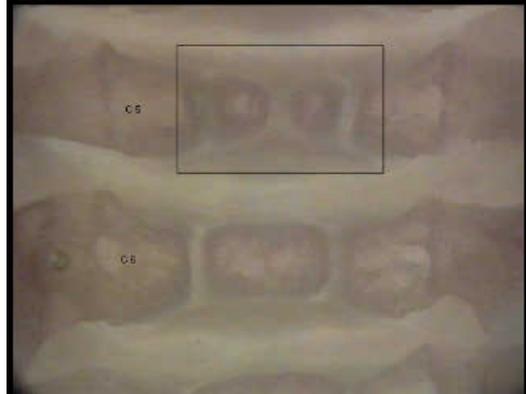
C.I.3.o., CC 4 bipartite ossification



C.I.3.p., CC 4 bipartite ossification



C.I.3.q., CC 5 bipartite ossification

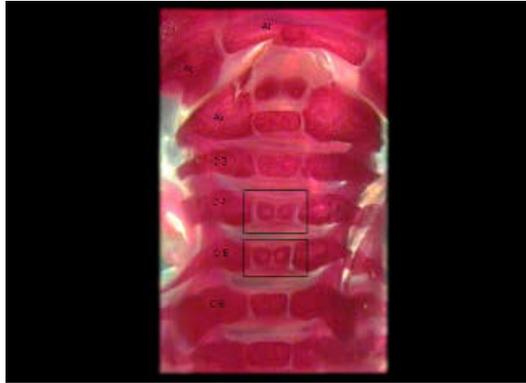


C.I.3.r., CC 5 bipartite ossification

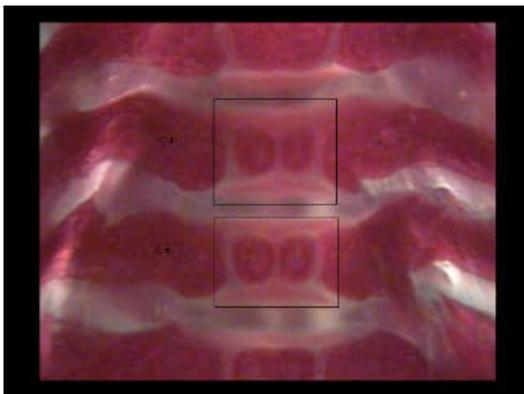
C.I.3., HWS PND 21, Cervical centrum bipartite ossification



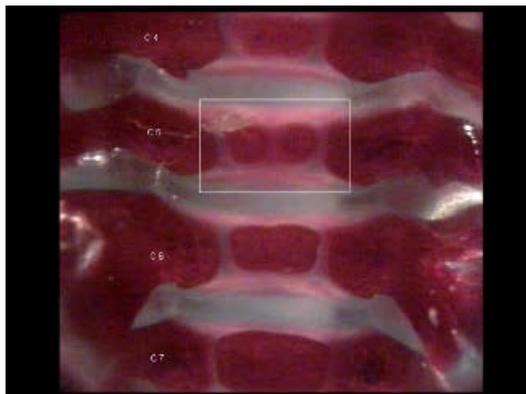
C.I.3.s., Control



C.I.3.t., CC 4+5 bipartite ossification

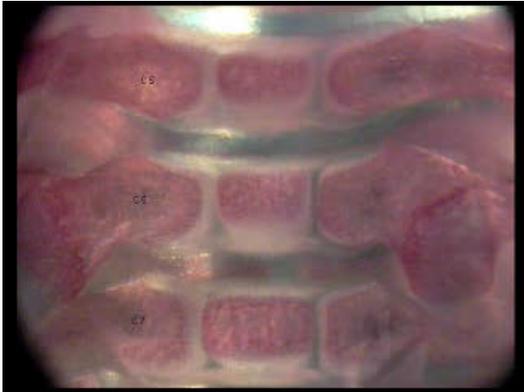


C.I.3.u., CC 4+5 bipartite ossification

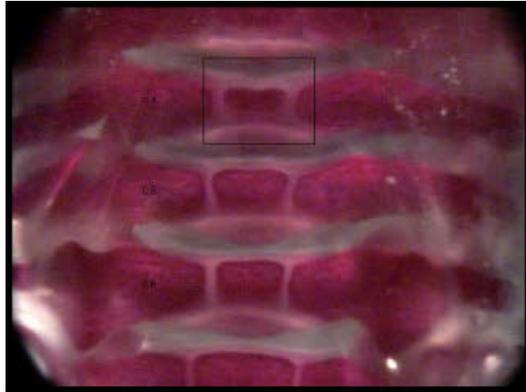


C.I.3.v., CC 5 bipartite ossification

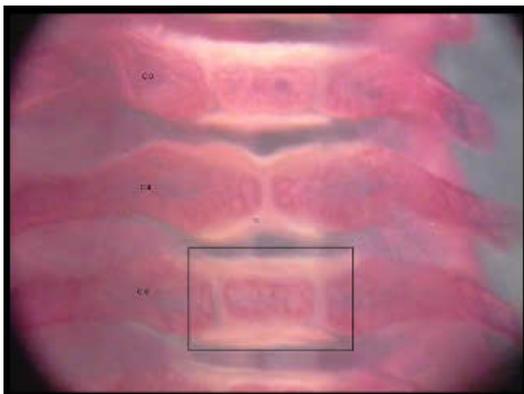
C.I.4., HWS PND 21, Cervical centrum dumbbell-shaped



C.I.4.a., Control

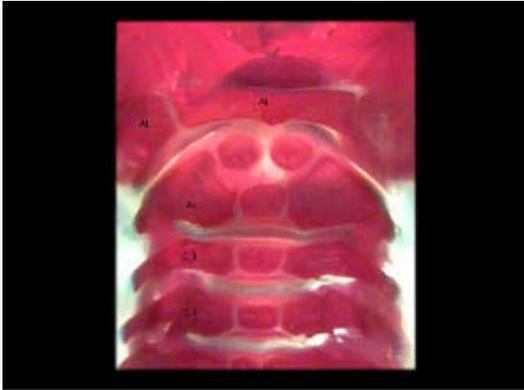


C.I.4.b., CC 4 dumbbell-shaped

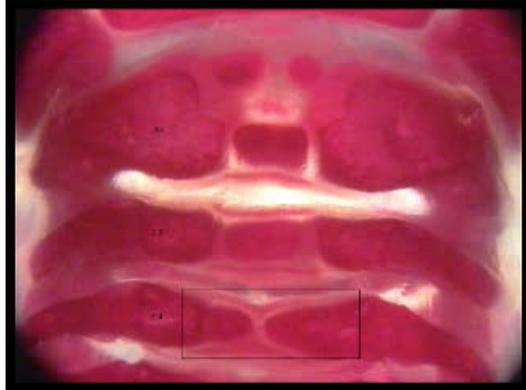


C.I.4.c., CC 5 dumbbell-shaped

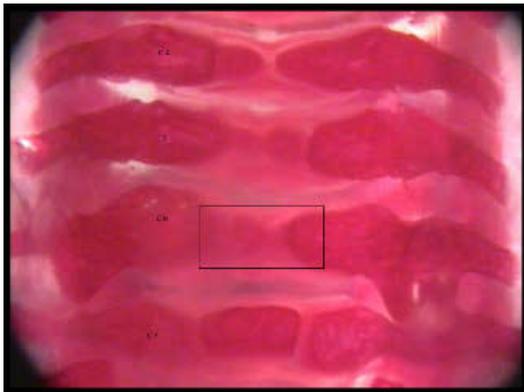
C.I.5., HWS PND 21, Cervical centrum hemicentric



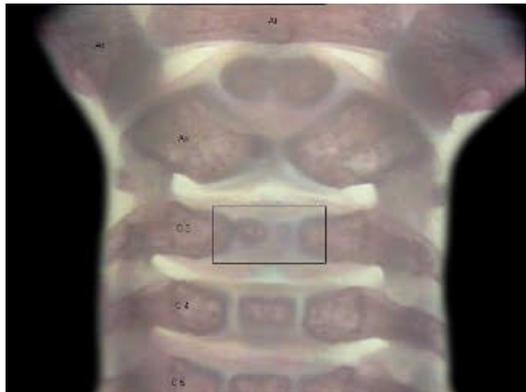
C.I.5.a., Control



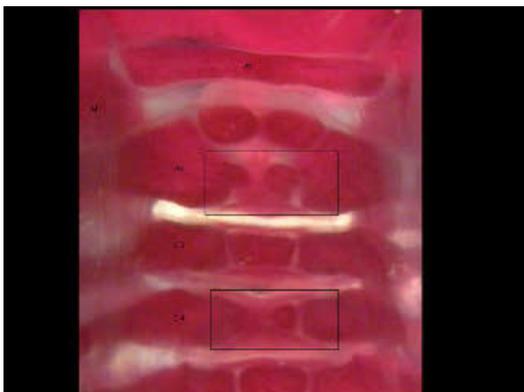
C.I.5.b., CC 4 hemicentric



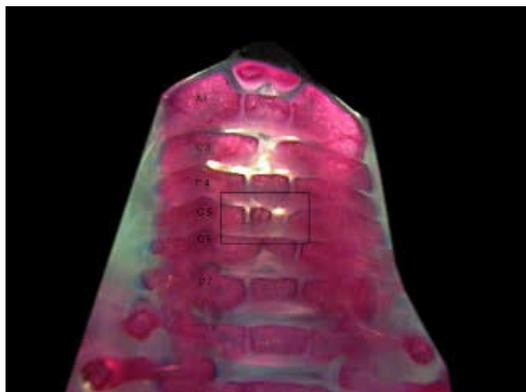
C.I.5.c., CC 6 hemicentric



C.I.5.d., CC 3 hemicentric

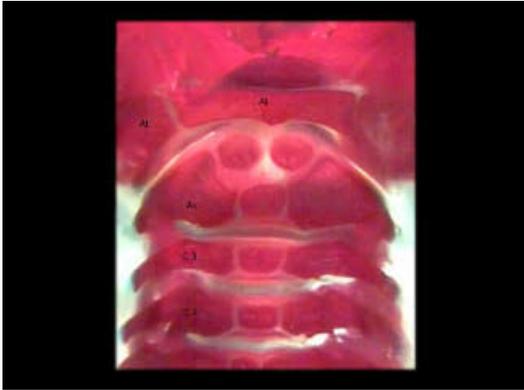


C.I.5.e., CC 2+4 hemicentric

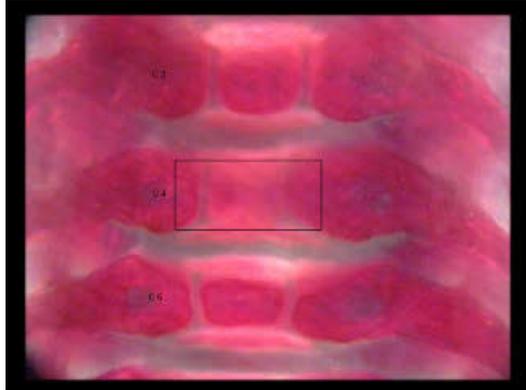


C.I.5.f., CC 5 hemicentric

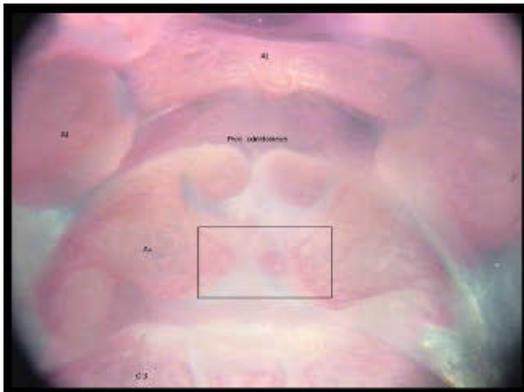
C.I.5., HWS PND 21, Cervical centrum hemicentric



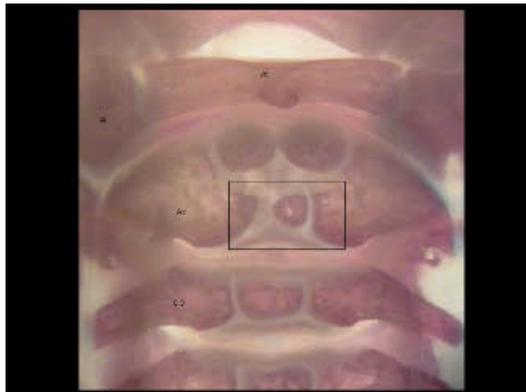
C.I.5.g., Control



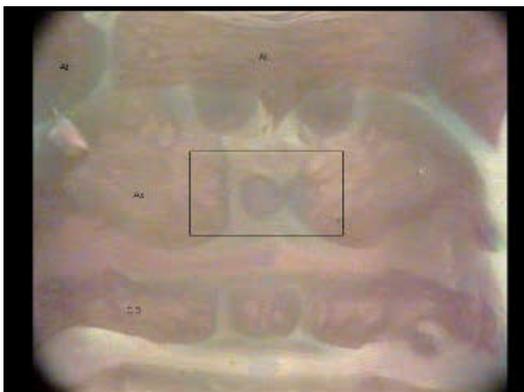
C.I.5.h., CC 4 hemicentric



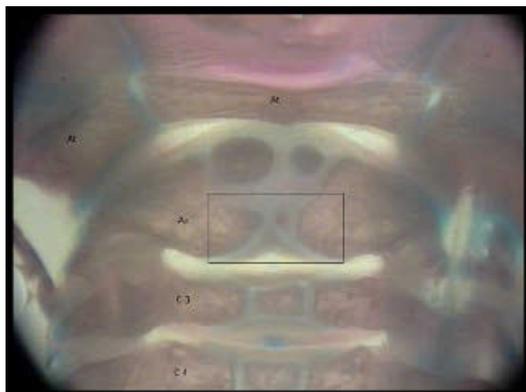
C.I.5.i., CC 2 hemicentric



C.I.5.j., CC 2 hemicentric

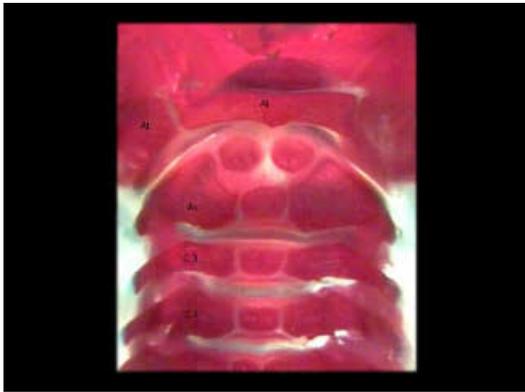


C.I.5.k., CC 2 hemicentric

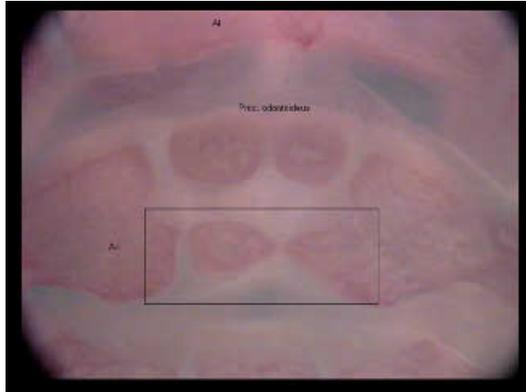


C.I.5.l., CC 2 hemicentric

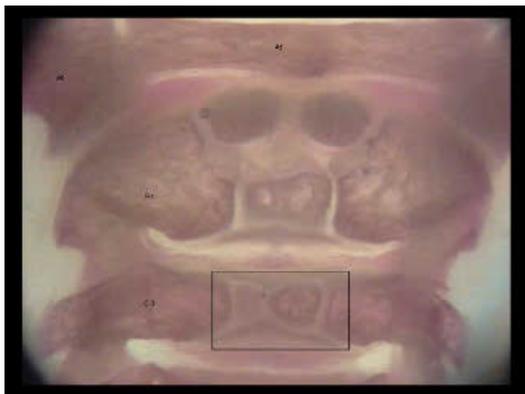
C.I.5., HWS PND 21, Cervical centrum hemicentric



C.I.5.m., Control



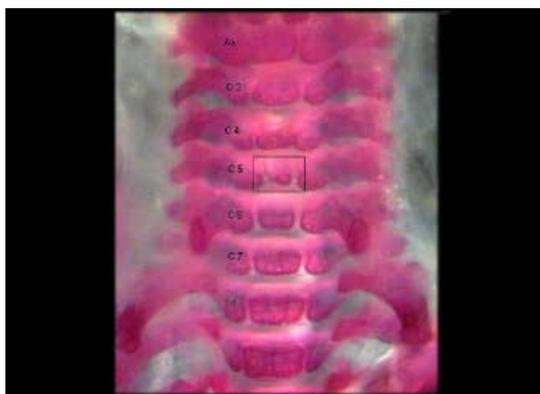
C.I.5.n., CC 2 hemicentric



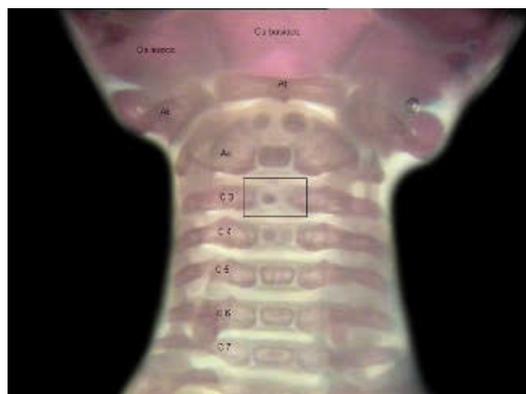
C.I.5.o., CC 3 hemicentric



C.I.5.p., Control

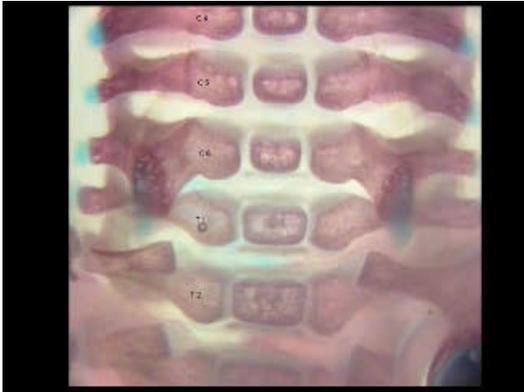


C.I.5.q., CC 5 hemicentric

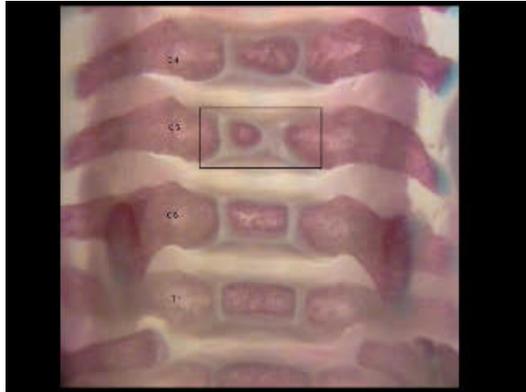


C.I.5.r., CC 3 hemicentric

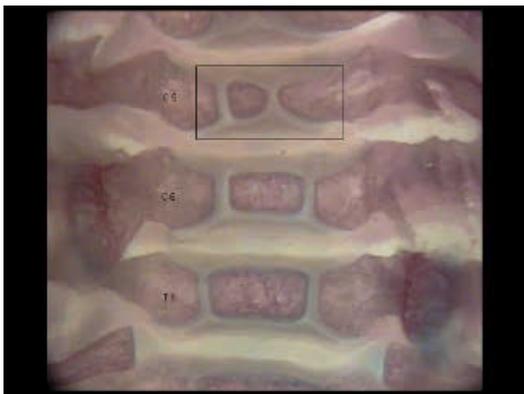
C.I.5., HWS PND 21, Cervical centrum hemicentric



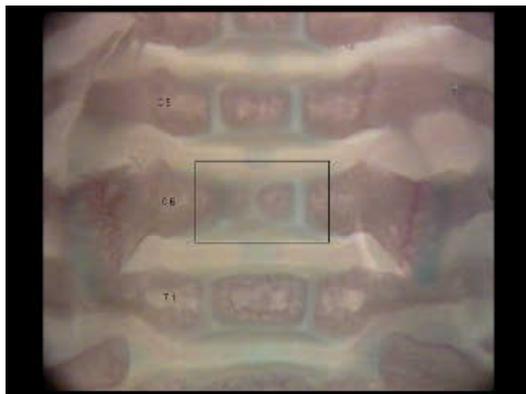
C.I.5.s., Control



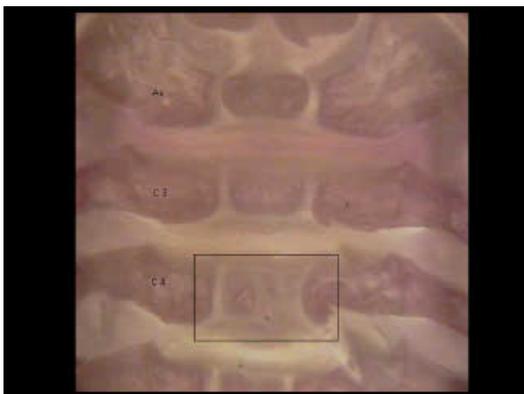
C.I.5.t., CC 5 hemicentric



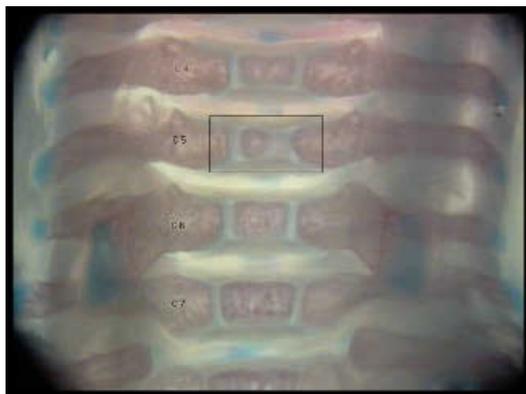
C.I.5.u., CC 5 hemicentric



C.I.5.v., CC 6 hemicentric

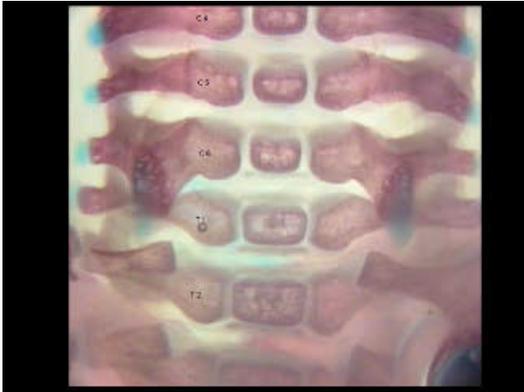


C.I.5.w., CC 4 hemicentric

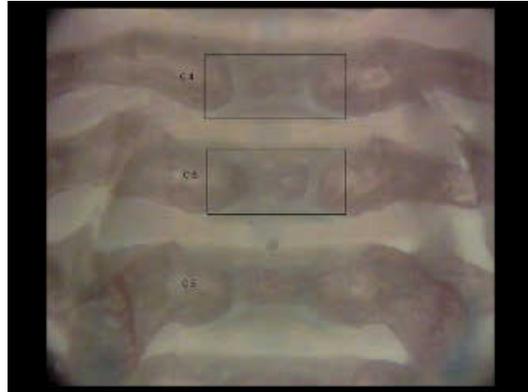


C.I.5.x., CC 5 hemicentric

C.I.5., HWS PND 21, Cervical centrum hemicentric

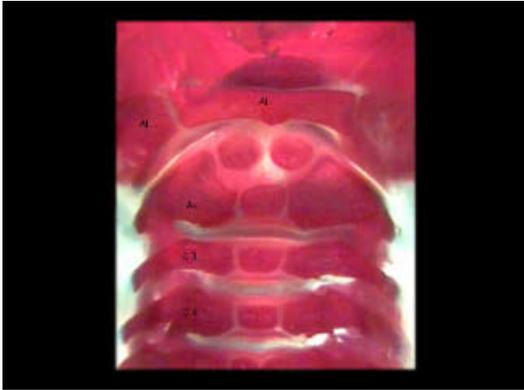


C.I.5.y., Control

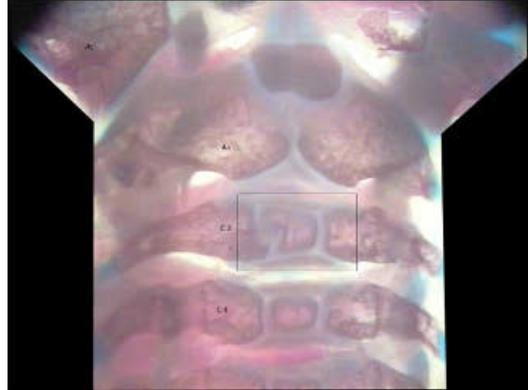


C.I.5.z., CC 4+5 hemicentric

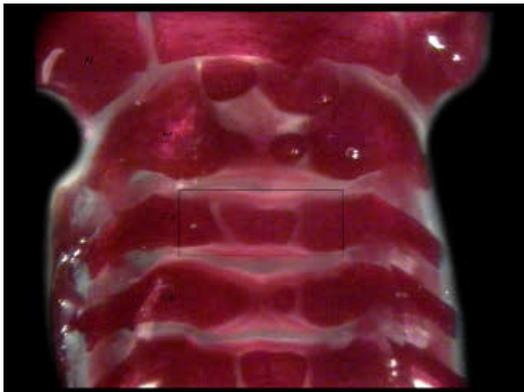
C.I.6., HWS PND 21, Cervical centrum misshapen



C.I.6.a., Control



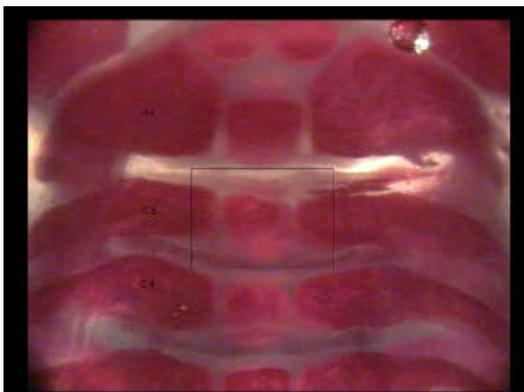
C.I.6.b., CC 3 misshapen



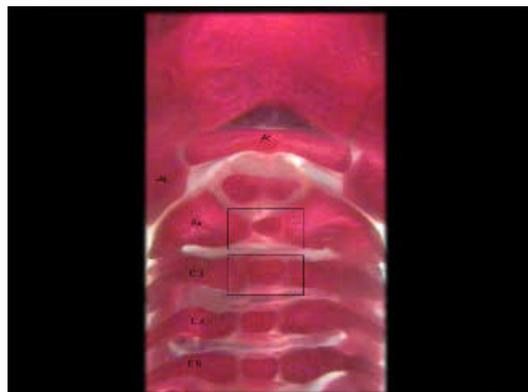
C.I.6.c., CC 3 misshapen



C.I.6.d., CC 4 misshapen

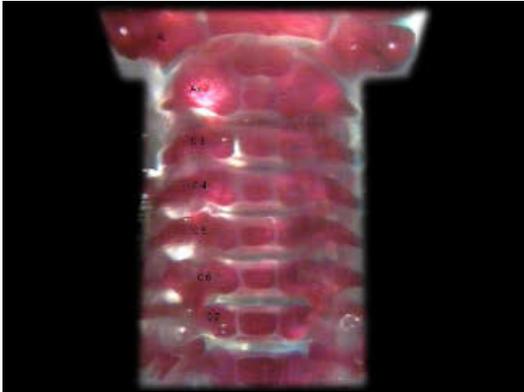


C.I.6.e., CC 3 misshapen

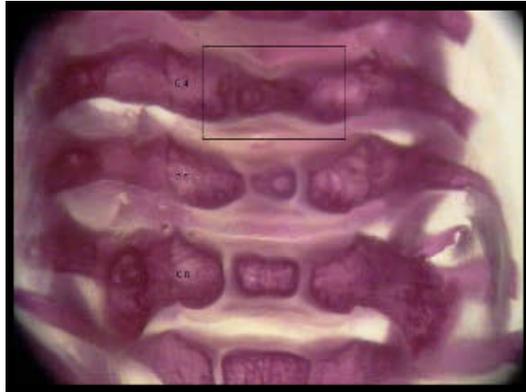


C.I.6.f., CC 2+3 misshapen

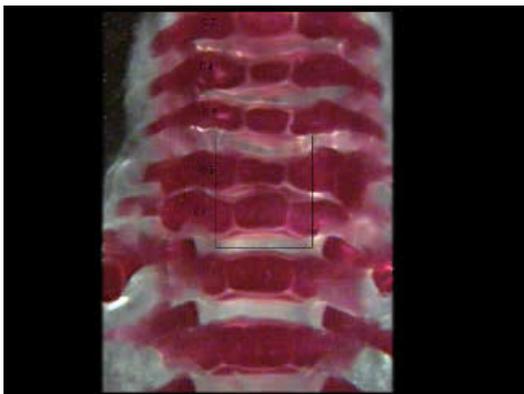
C.I.6., HWS PND 21, Cervical centrum misshapen



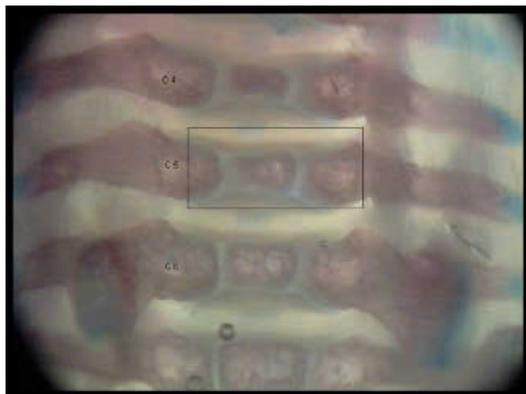
C.I.6.g., Control



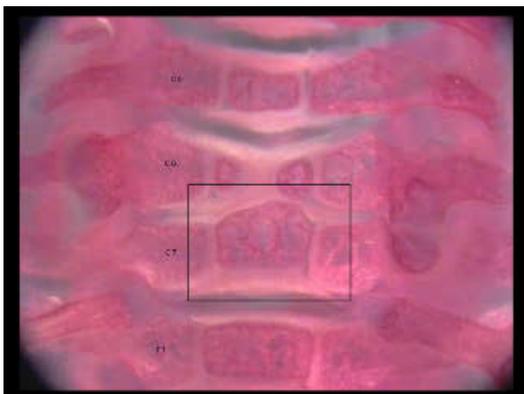
C.I.6.h., CC 4 misshapen



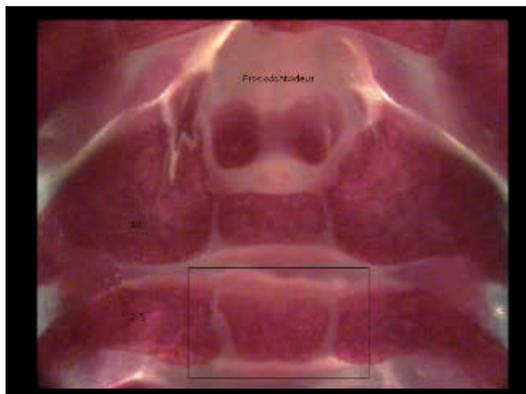
C.I.6.i., CC 5+6 misshapen



C.I.6.j., CC 5 misshapen

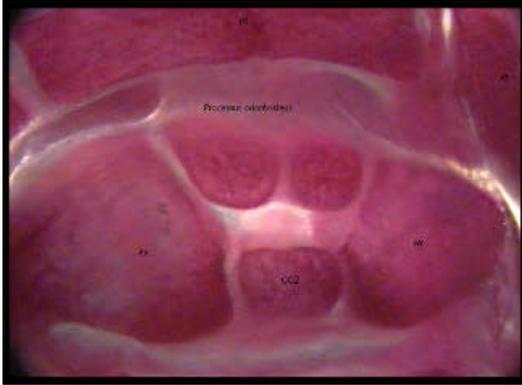


C.I.6.k., CC 7 misshapen

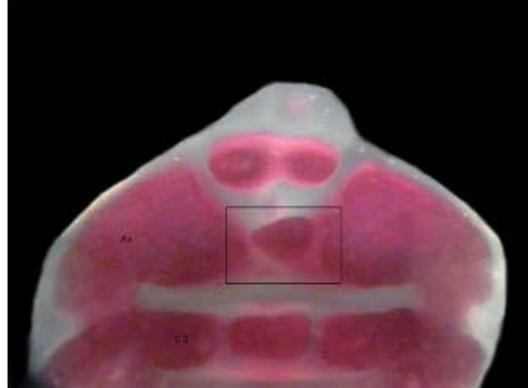


C.I.6.l., CC 3 misshapen

C.I.6., HWS PND 21, Cervical centrum misshapen

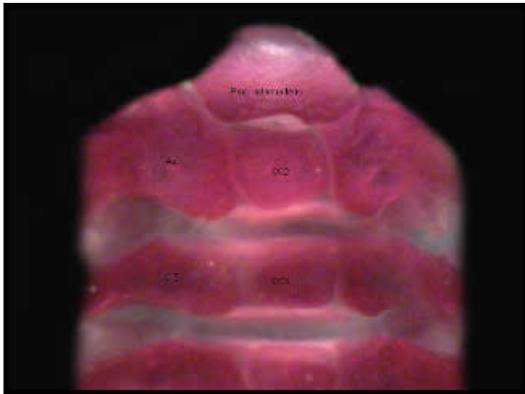


C.I.6.m., Control

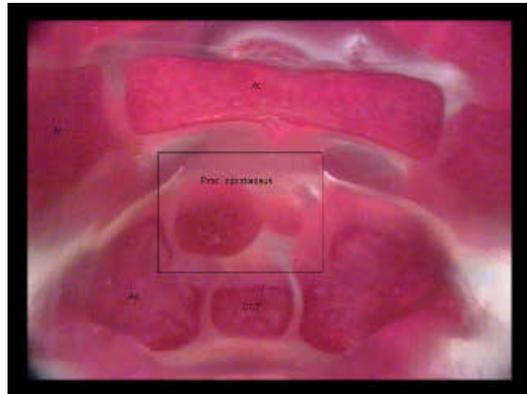


C.I.6.n., CC 2 misshapen

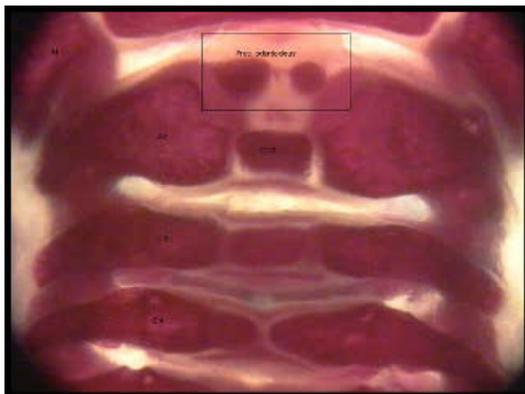
C.I.7., HWS PND 21, Processus odontoideus asymmetric ossification



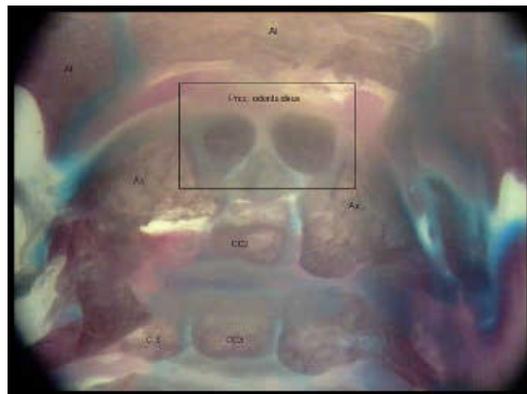
C.I.7.a., Control



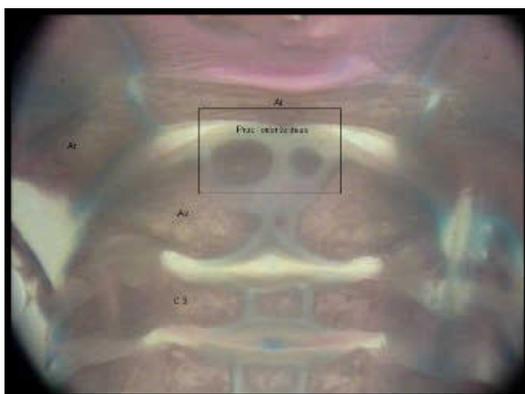
C.I.7.b., Proc. odontoideus asymmetric ossification



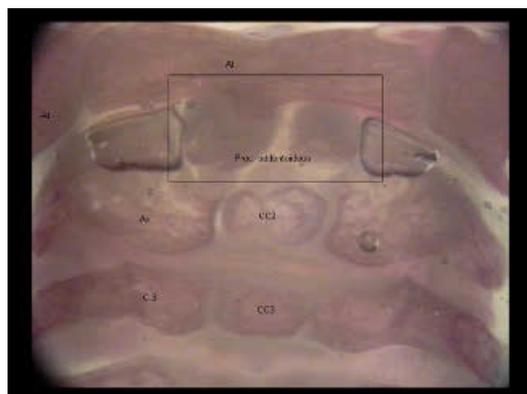
C.I.7.c., Proc. odontoideus asymmetric ossification



C.I.7.d., Proc. odontoideus asymmetric ossification

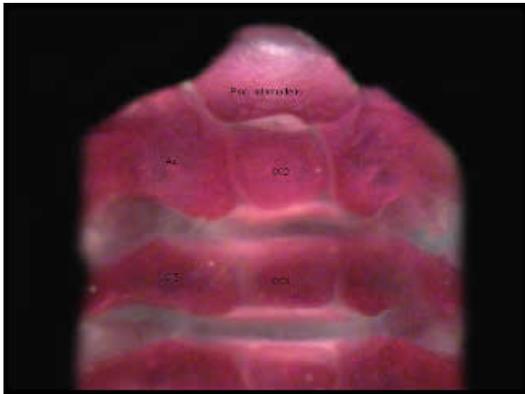


C.I.7.e., Proc. odontoideus asymmetric ossification

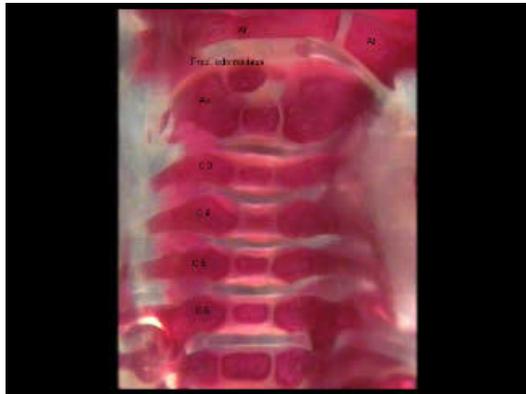


C.I.7.f., Proc. odontoideus asymmetric ossification

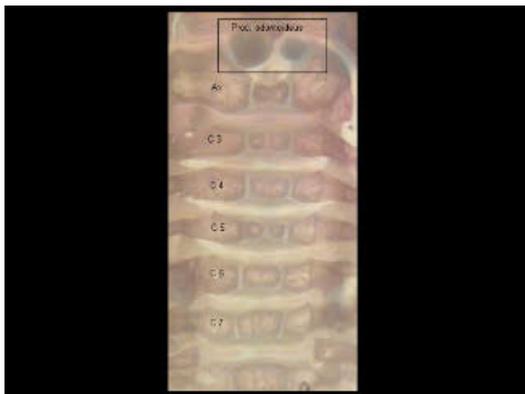
C.I.7., HWS PND 21, Processus odontoideus asymmetric ossification



C.I.7.g., Control



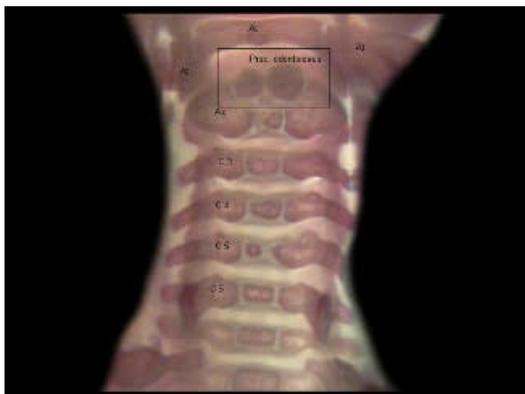
C.I.7.h., Proc. odontoideus asymmetric ossification



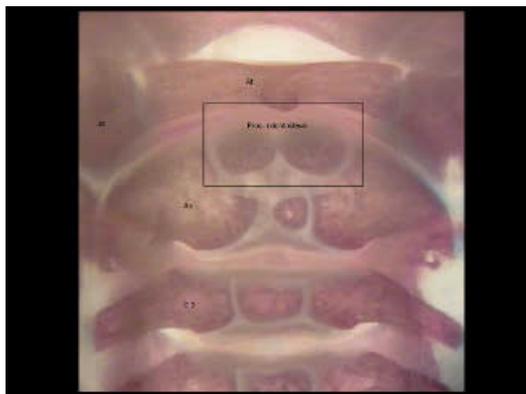
C.I.7.i., Proc. odontoideus asymmetric ossification



C.I.7.j., Proc. odontoideus asymmetric ossification

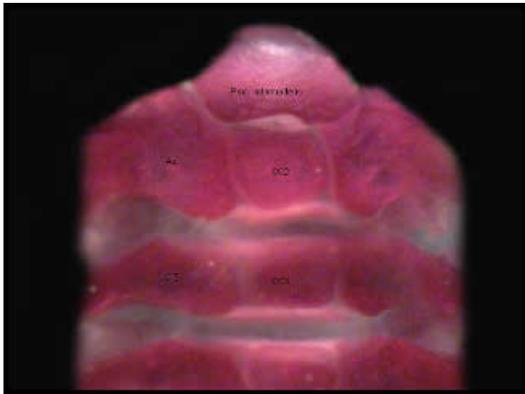


C.I.7.k., Proc. odontoideus asymmetric ossification

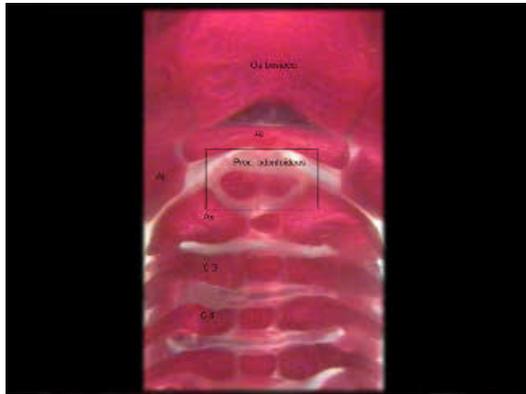


C.I.7.l., Proc. odontoideus asymmetric ossification

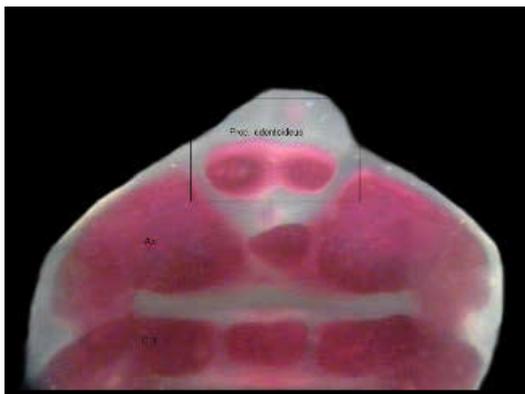
C.I.7., HWS PND 21, Processus odontoideus asymmetric ossification



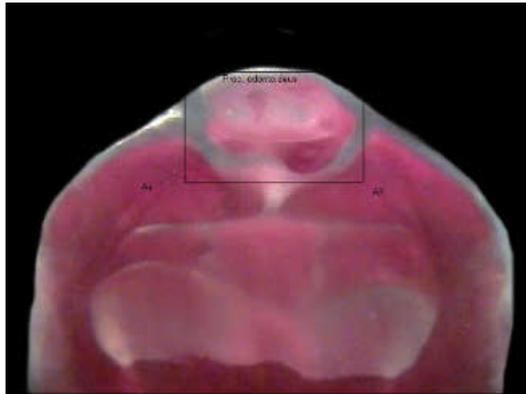
C.I.7.m., Control



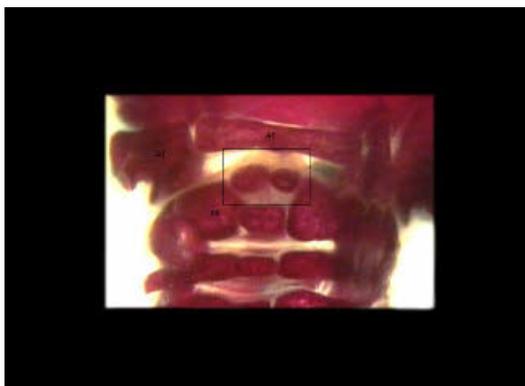
C.I.7.n., Proc. odontoideus asymmetric ossification



C.I.7.o., Proc. odontoideus asymmetric ossification



C.I.7.p., Proc. odontoideus asymmetric ossification

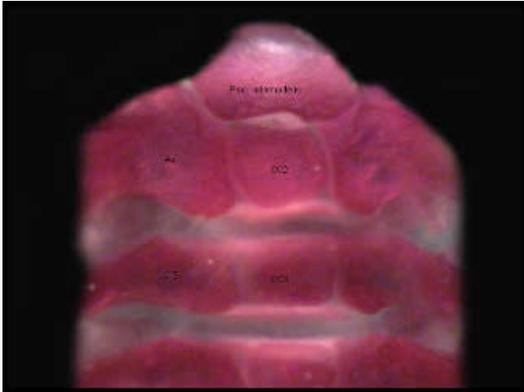


C.I.7.q., Proc. odontoideus asymmetric ossification

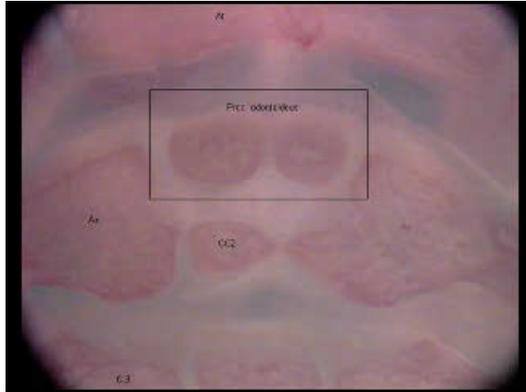


C.I.7.r., Proc. odontoideus asymmetric ossification

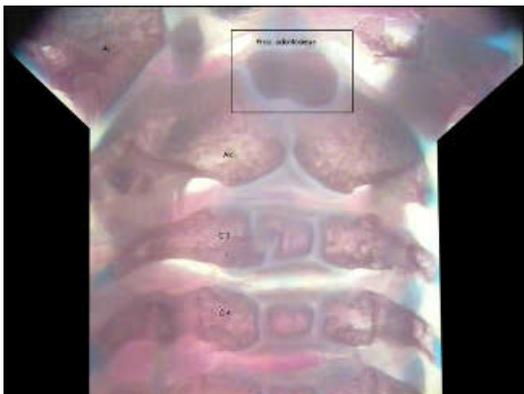
C.I.7., HWS PND 21, Processus odontoideus asymmetric ossification



C.I.7.s., Control

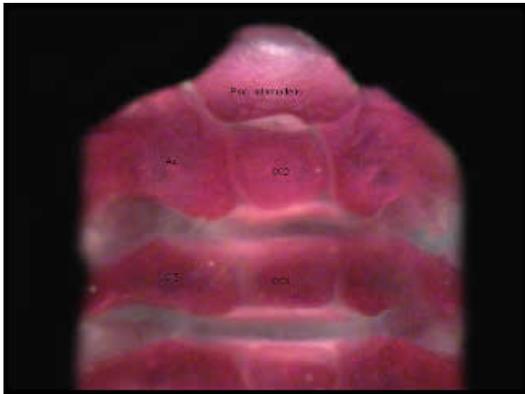


C.I.7.t., Proc. odontoideus asymmetric ossification

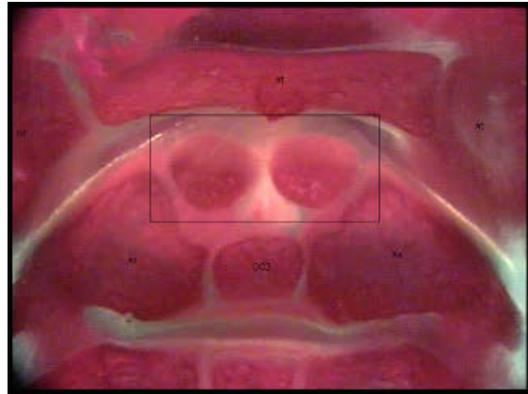


C.I.7.u., Proc. odontoideus asymmetric ossification

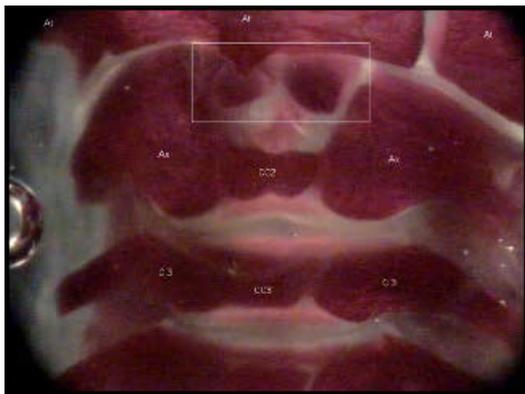
C.I.8., HWS PNT 21, Processus odontoideus bipartite ossification



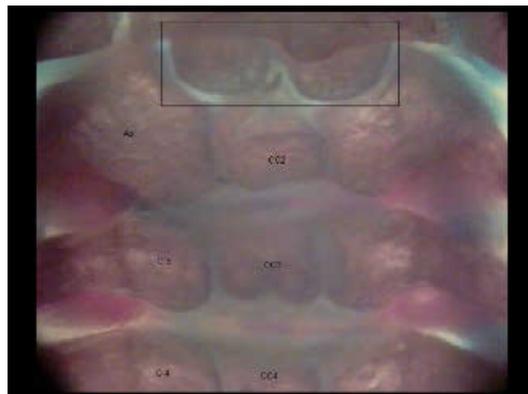
C.I.8.a., Control



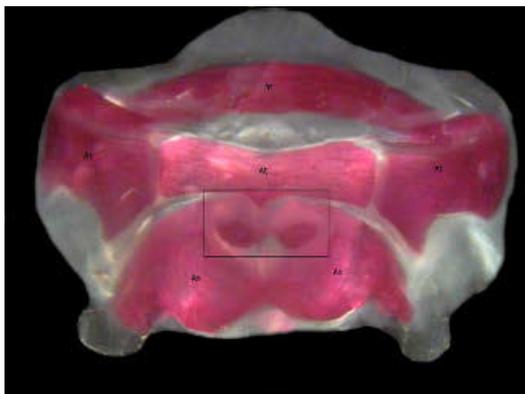
C.I.8.b., Proc. odontoideus bipartite ossification



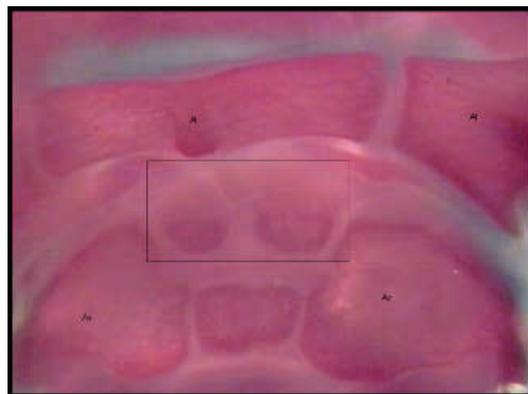
C.I.8.c., Proc. odontoideus bipartite ossification



C.I.8.d., Proc. odontoideus bipartite ossification

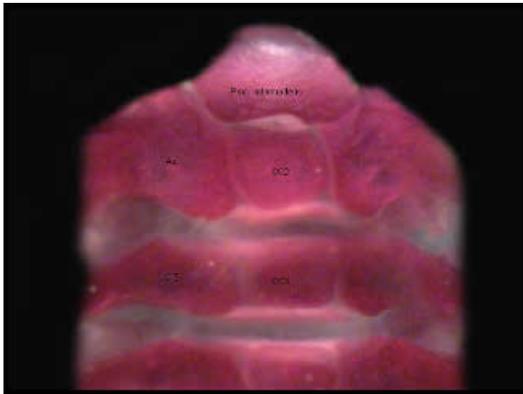


C.I.8.e., Proc. odontoideus bipartite ossification

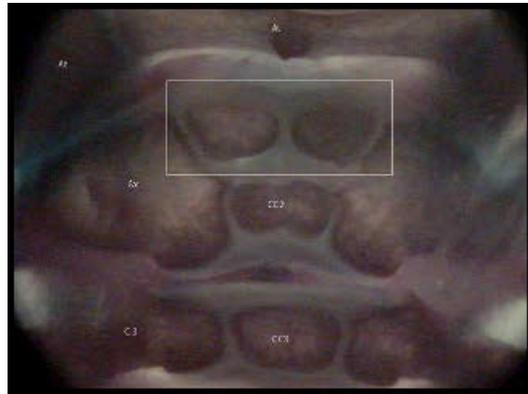


C.I.8.f., Proc. odontoideus bipartite ossification

C.I.8., HWS PNT 21, Processus odontoideus bipartite ossification



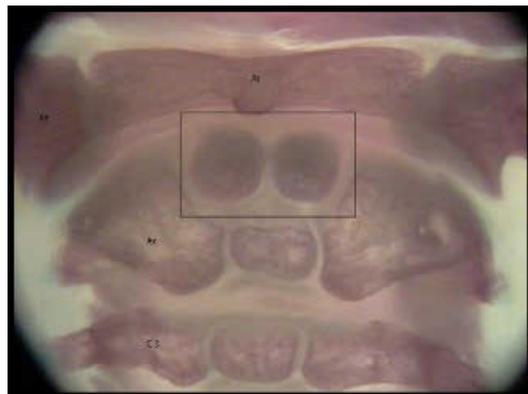
C.I.8.g., Control



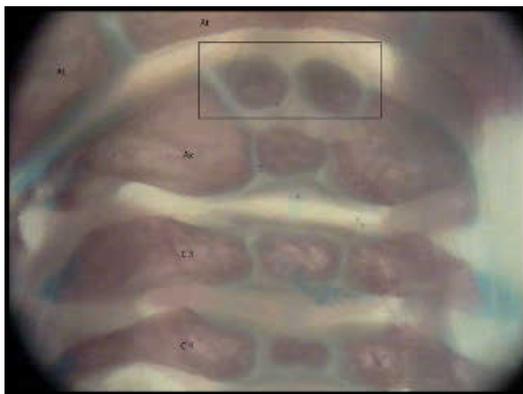
C.I.8.h., Proc. odontoideus bipartite ossification



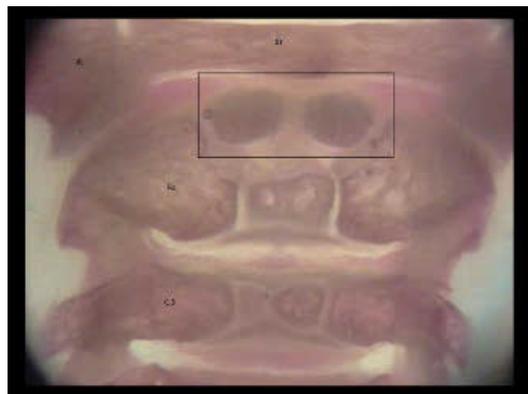
C.I.8.i., Proc. odontoideus bipartite ossification



C.I.8.j., Proc. odontoideus bipartite ossification

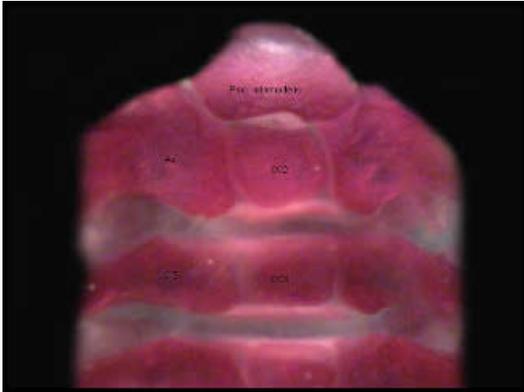


C.I.8.k., Proc. odontoideus bipartite ossification

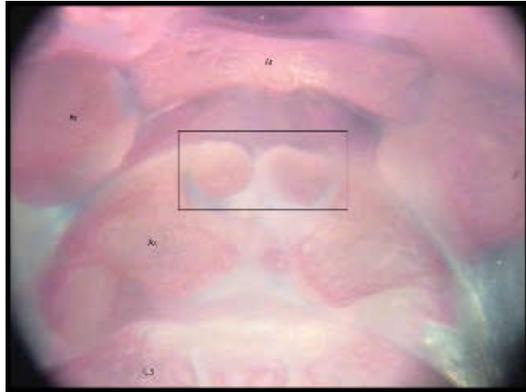


C.I.8.l., Proc. odontoideus bipartite ossification

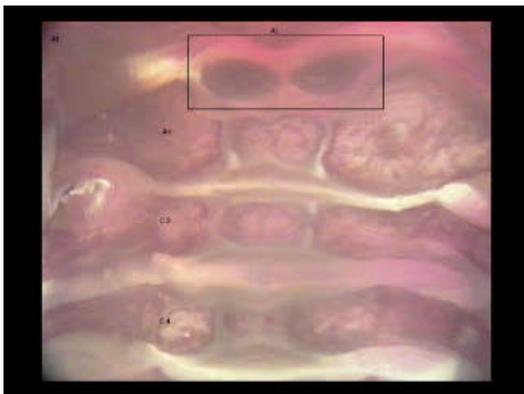
C.I.8., HWS PND 21, Processus odontoideus bipartite ossification



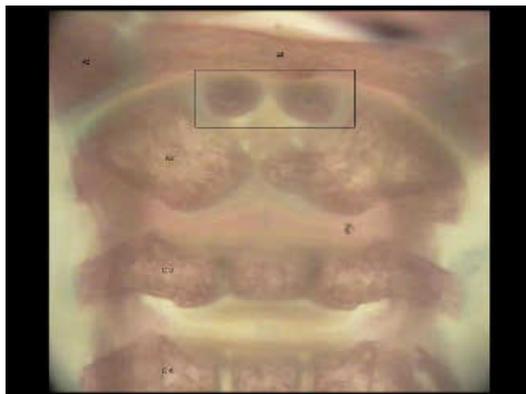
C.I.8.m., Control



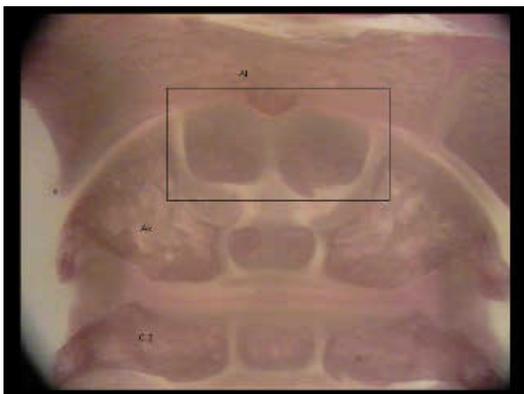
C.I.8.n., Proc. odontoideus bipartite ossification



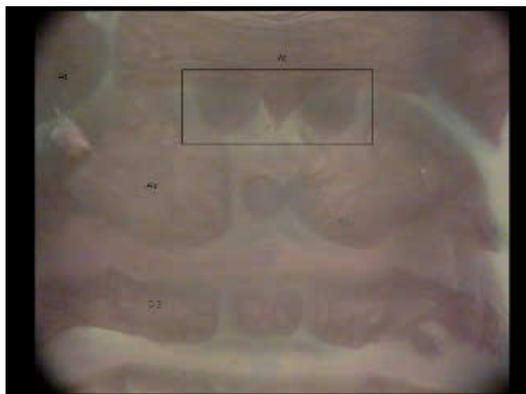
C.I.8.o., Proc. odontoideus bipartite ossification



C.I.8.p., Proc. odontoideus bipartite ossification

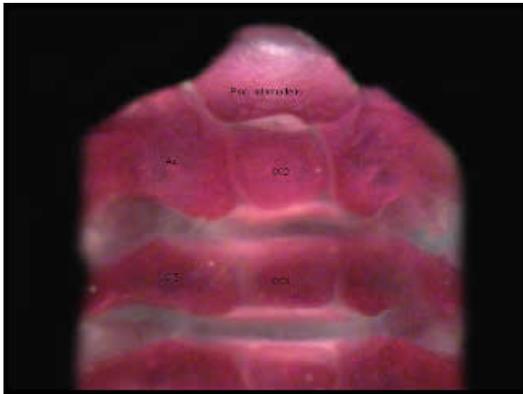


C.I.8.q., Proc. odontoideus bipartite ossification

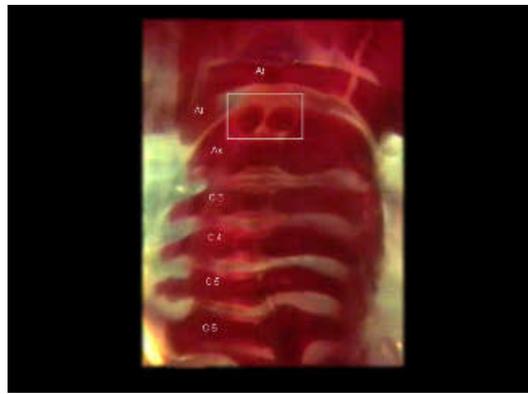


C.I.8.r., Proc. odontoideus bipartite ossification

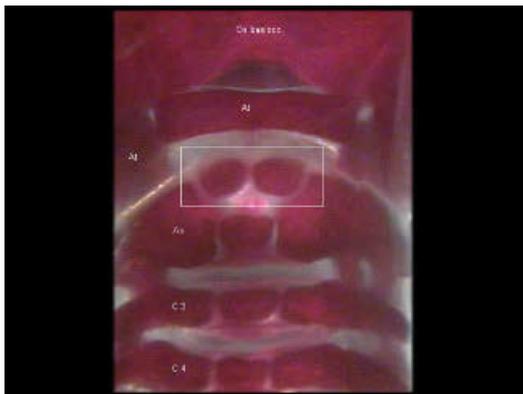
C.I.8., HWS PND 21, Processus odontoideus bipartite ossification



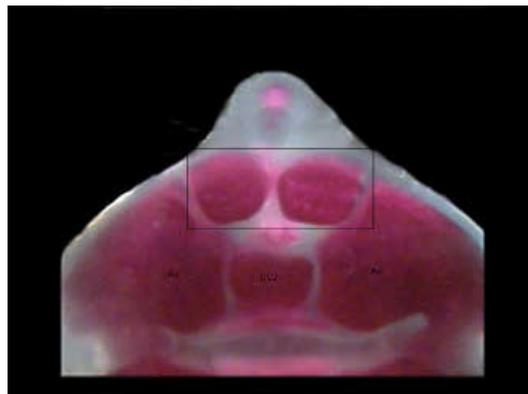
C.I.8.s., Control



C.I.8.t., Proc. odontoideus bipartite ossification



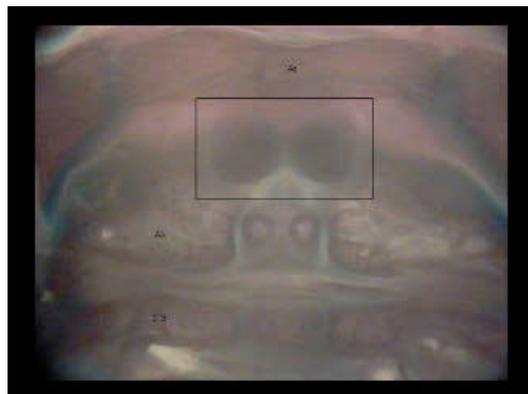
C.I.8.u., Proc. odontoideus bipartite ossification



C.I.8.v., Proc. odontoideus bipartite ossification

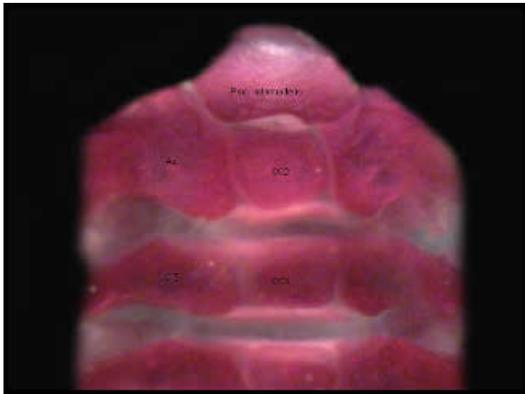


C.I.8.w., Proc. odontoideus bipartite ossification

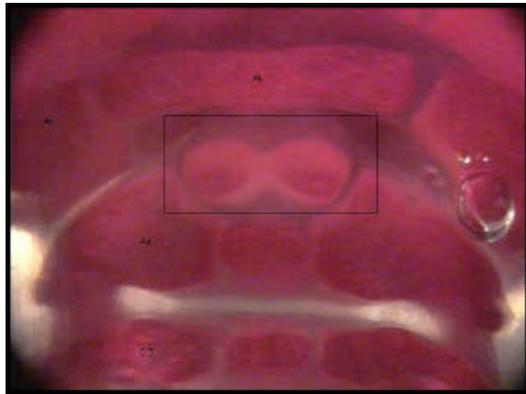


C.I.8.x., Proc. odontoideus bipartite ossification

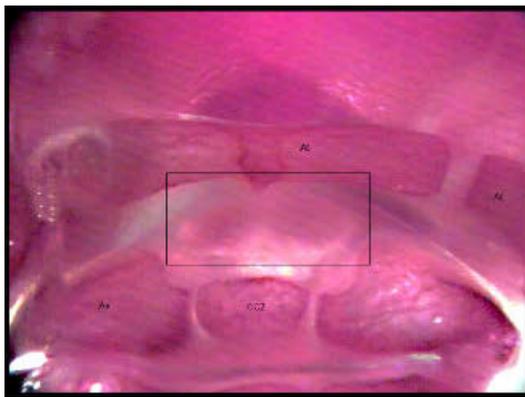
C.I.9., HWS PND 21, Processus odontoideus dumbbell-shaped



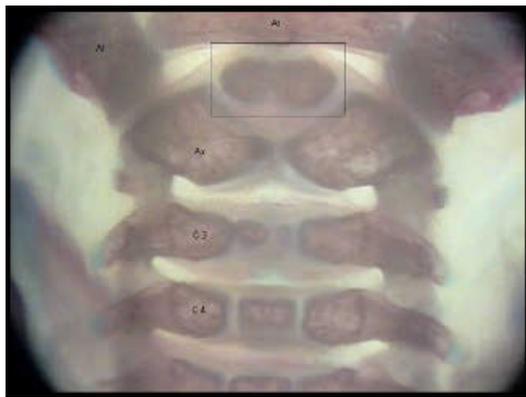
C.I.9.a., Control



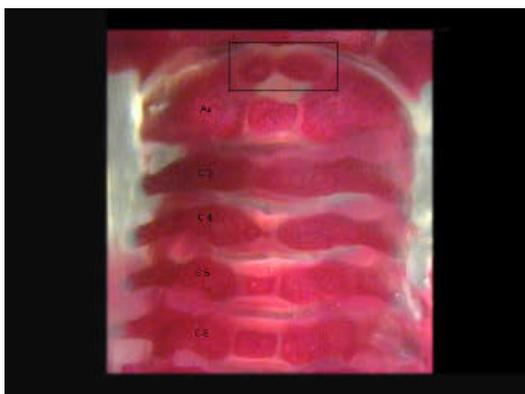
C.I.9.b., Proc. odontoideus dumbbell-shaped



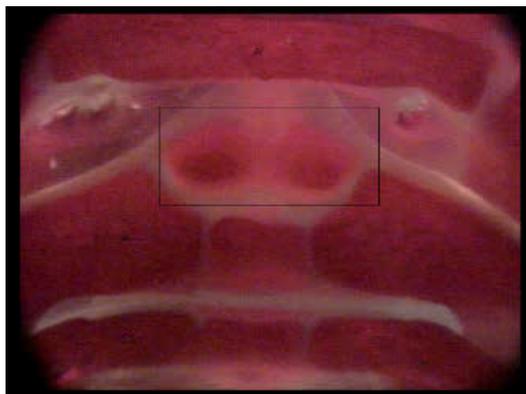
C.I.9.c., Proc. odontoideus dumbbell-shaped



C.I.9.d., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

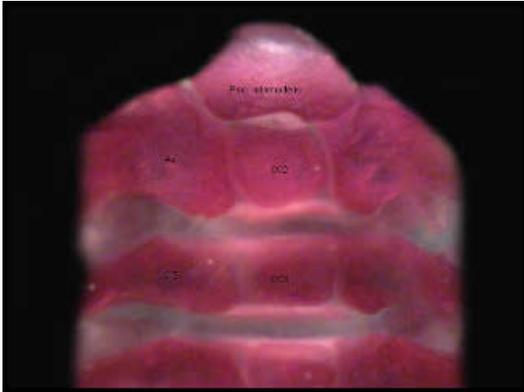


C.I.9.e., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

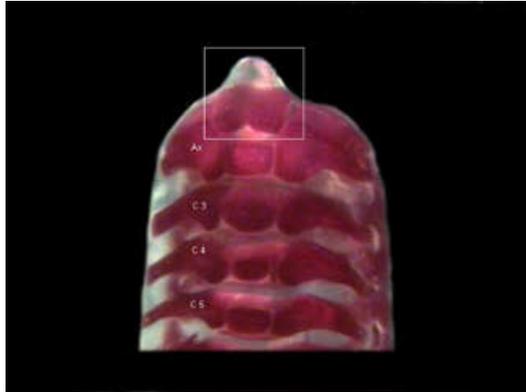


C.I.9.f., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

C.I.9., HWS PND 21, Processus odontoideus dumbbell-shaped



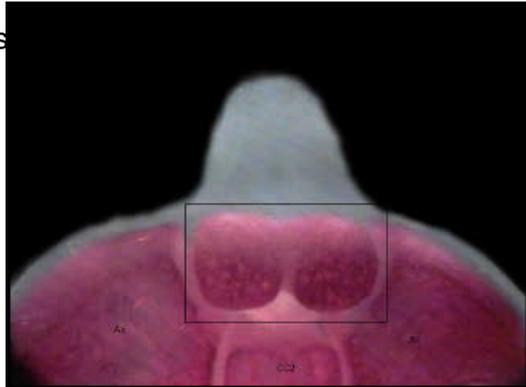
C.I.9.g., Control



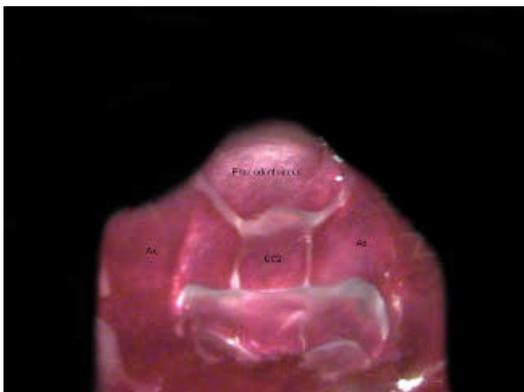
C.I.9.h., Proc. odontoideus dumbbell-shaped



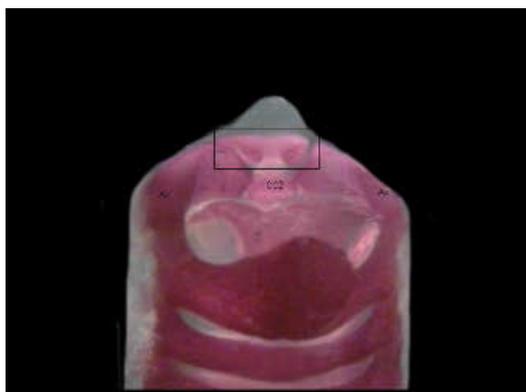
C.I.9.i., Proc. odontoideus dumbbell-shaped



C.I.9.j., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

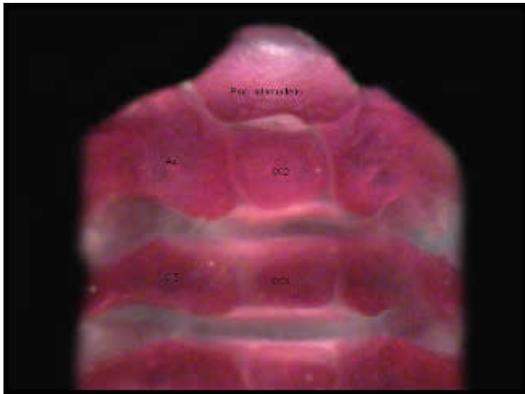


C.I.9.k., Control

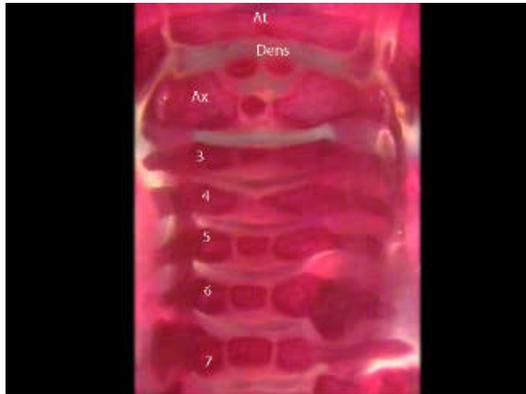


C.I.9.l., Proc odontoideus dumbbell-shaped

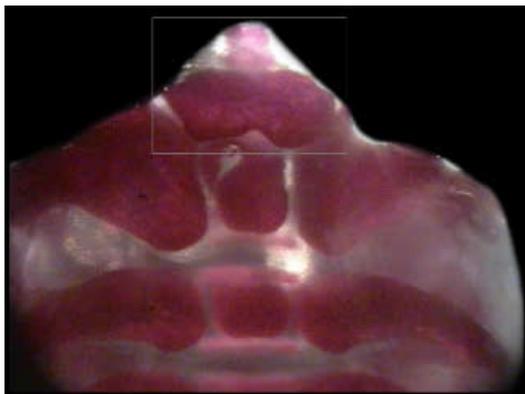
C.I.9., HWS PND 21, Processus odontoideus dumbbell-shaped



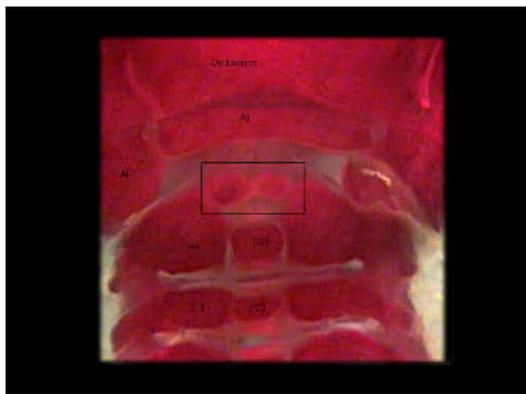
C.I.9.m., Control



C.I.9.n., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

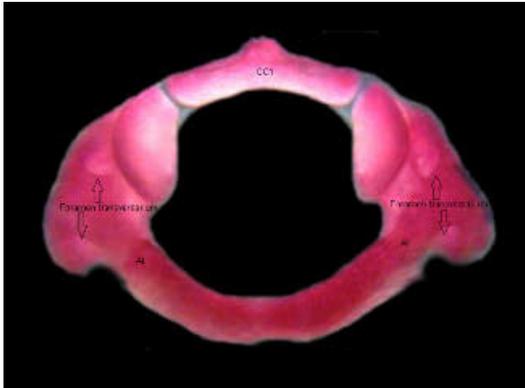


C.I.9.o., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

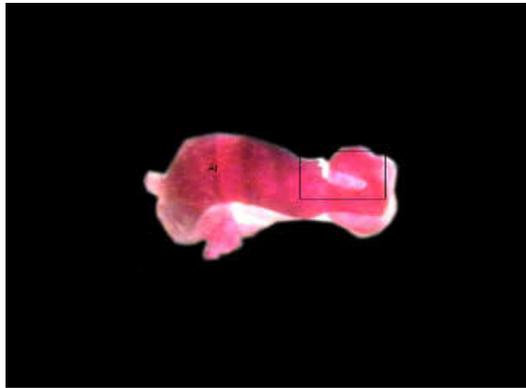


C.I.9.p., Proc. odontoideus dumbbell-shaped

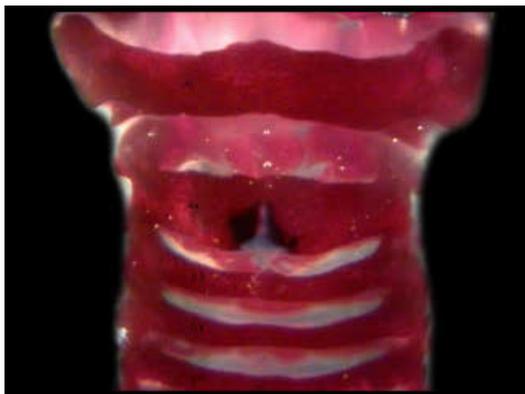
C.I.10., HWS PND 21, Cervical arch misshapen



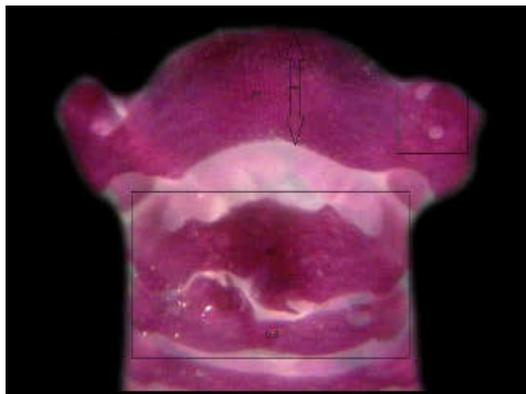
C.I.10.a., Control Atlas



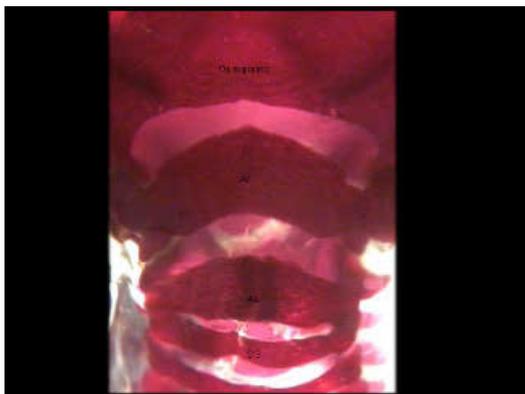
C.I.10.b., Atlas (Foramen transversarium) misshapen



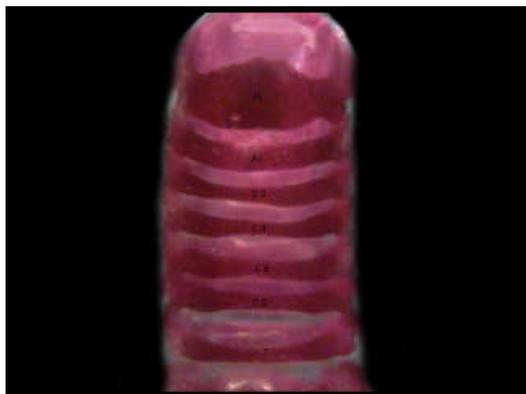
C.I.10.c., Control



C.I.10.d., Cervical arch Atlas+Axis+C3 misshapen

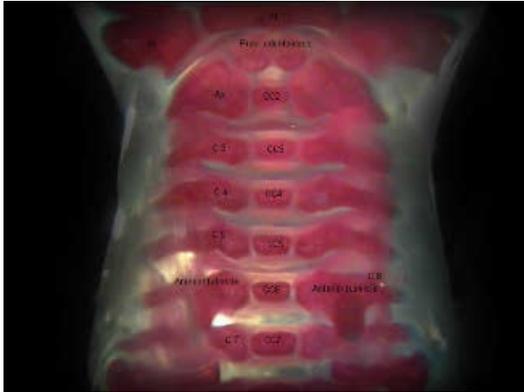


C.I.10.e., Cervical arch Atlas+Axis misshapen

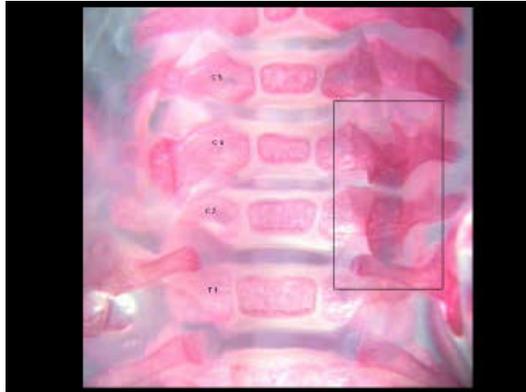


C.I.10.f., Cervical arch Atlas misshapen

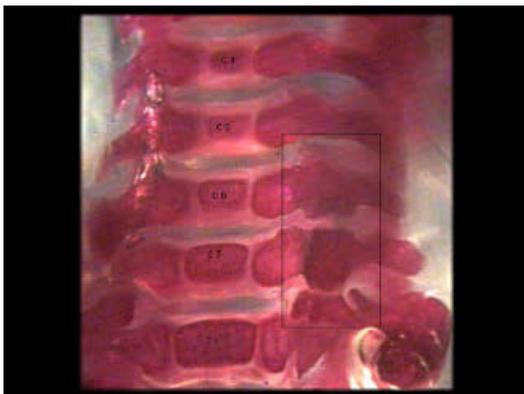
C.I.11., HWS PND 21, Anterior tubercle C6 malpositioned



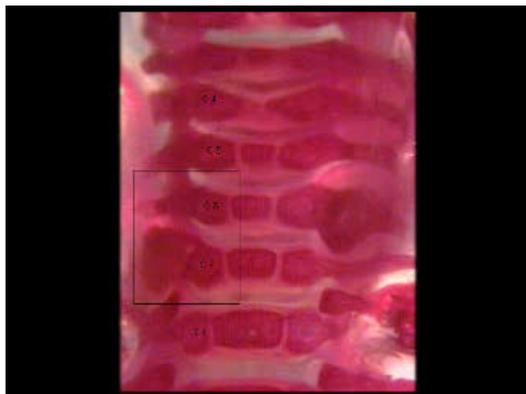
C.I.11.a., Control



C.I.11.b., Anterior tubercle C6 malpositioned



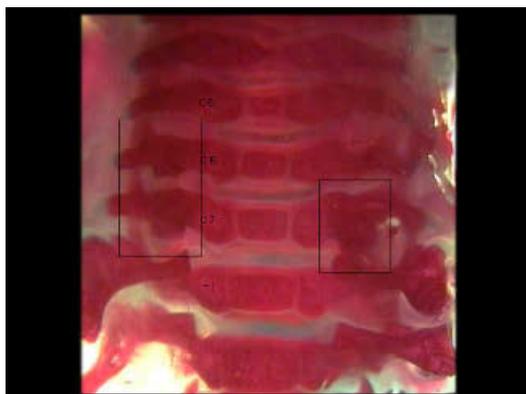
C.I.11.c., Anterior tubercle C6 malpositioned



C.I.11.d., Anterior tubercle C6 malpositioned

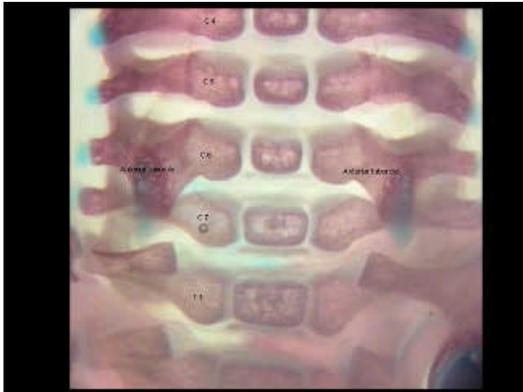


C.I.11.e., Anterior tubercle C6 malpositioned



C.I.11.f., Anterior tubercle C6 malpositioned

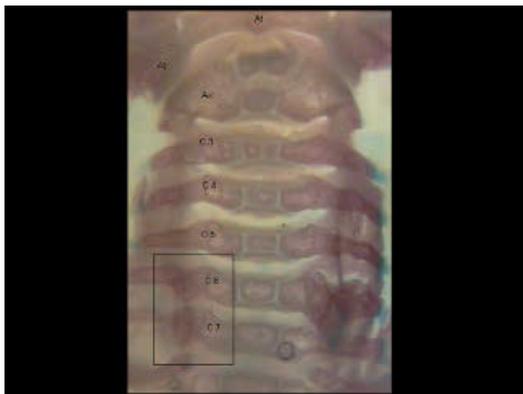
C.I.11., HWS PND 21, Anterior tubercle C6 malpositioned



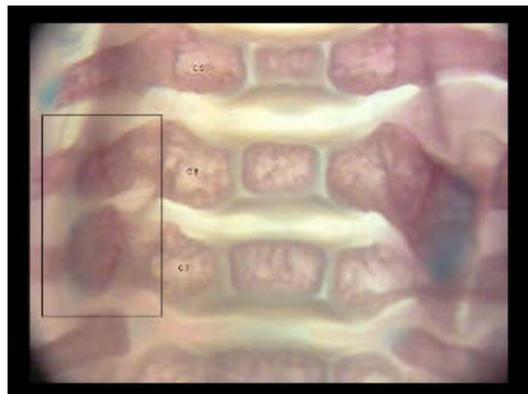
C.I.11.g., Control



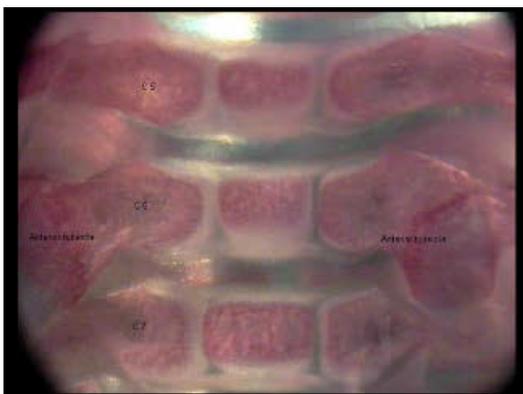
C.I.11.h., Anterior tubercle C6 malpositioned



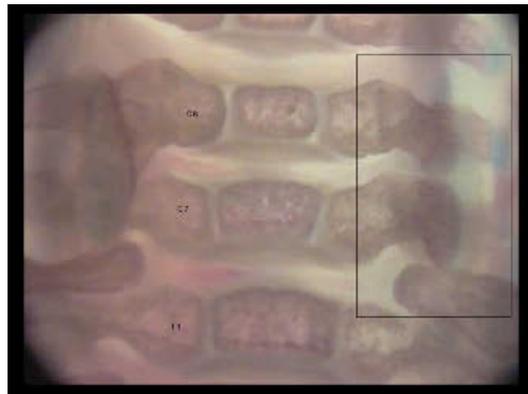
C.I.11.i., Anterior tubercle C6 malpositioned



C.I.11.j., Anterior tubercle C6 malpositioned

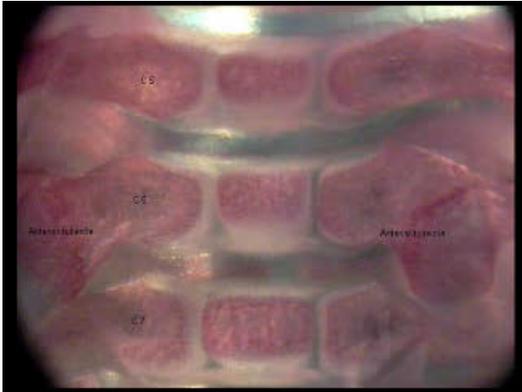


C.I.11.k., Control

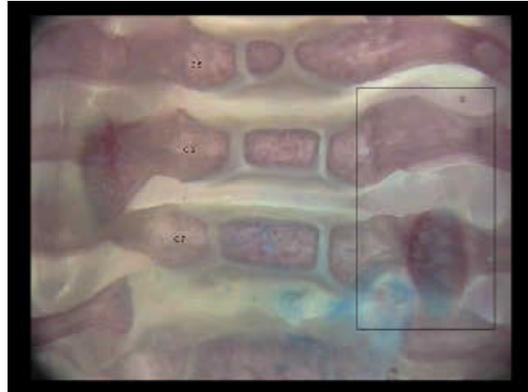


C.I.11.l., Anterior tubercle C6 malpositioned

C.I.11., HWS PND 21, Anterior tubercle C6 malpositioned

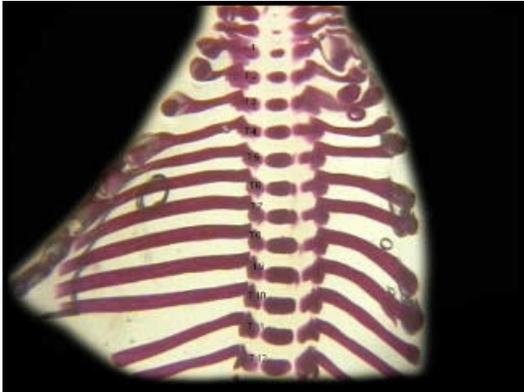


C.I.11 m., Control

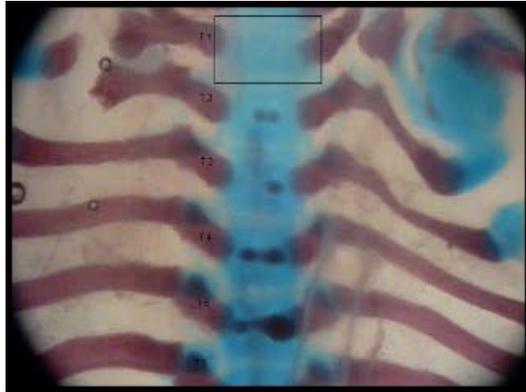


C.I.11.n., Anterior tubercle C6 malpositioned

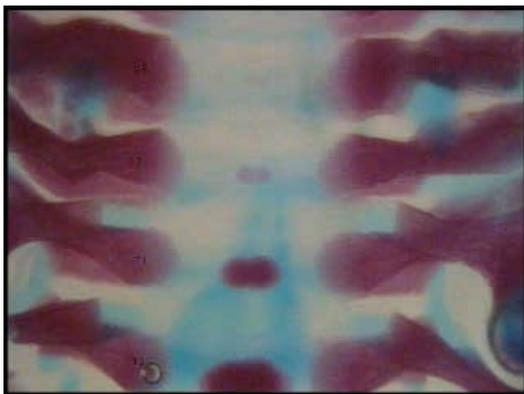
A.II.1., BWS GD 21, Thoracic centrum unossified



A.II.1.a., Control



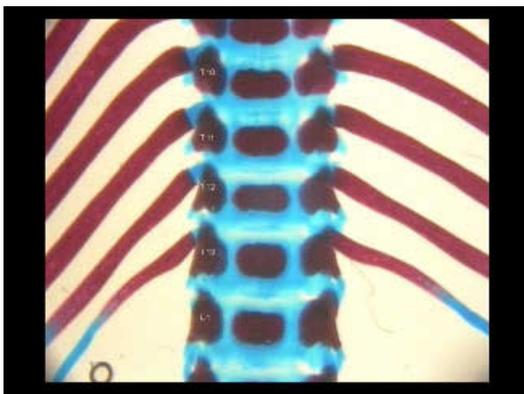
A.II.1.b., TC 1 unossified



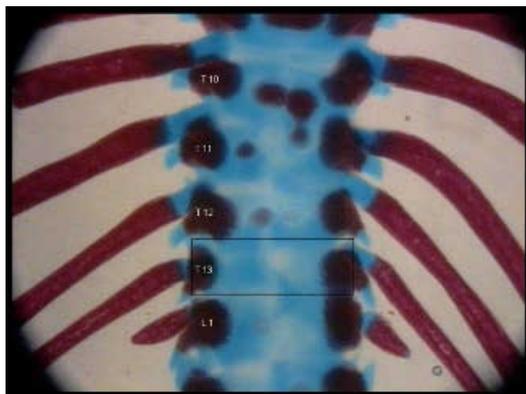
A.II.1.c., Control



A.II.1.d., TC 1+2 unossified

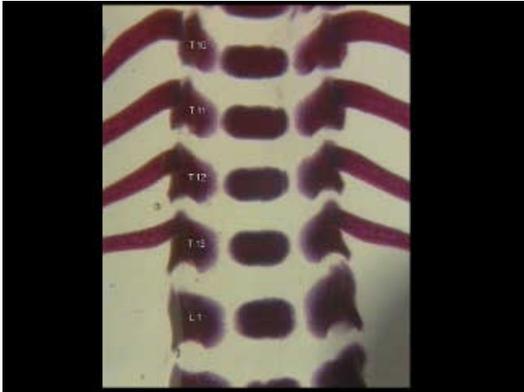


A.II.1.e., Control

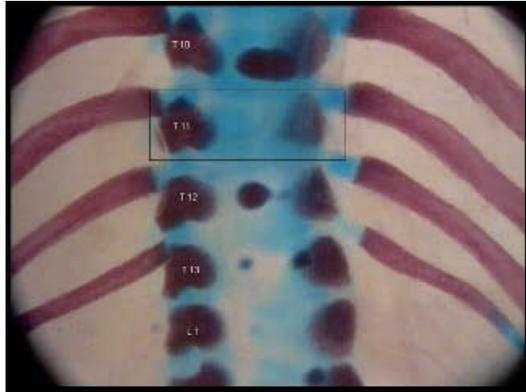


A.II.1.f., TC 13 unossified

A.II.1., BWS GD 21, Thoracic centrum unossified

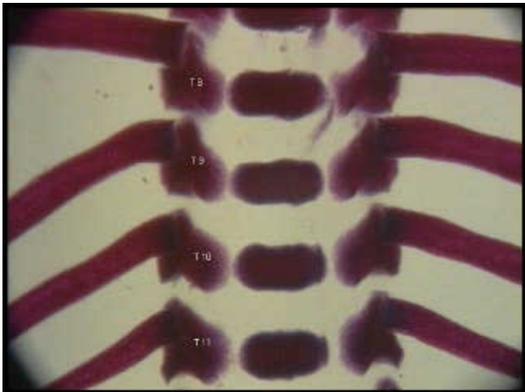


A.II.1.g., Control



A.II.1.h., TC 11 unossified

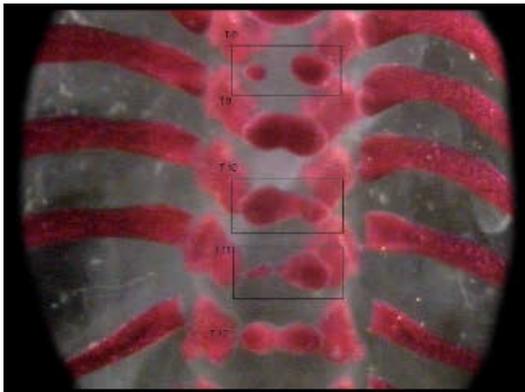
A.II.2., BWS GD 21, Thoracic centrum asymmetric ossification



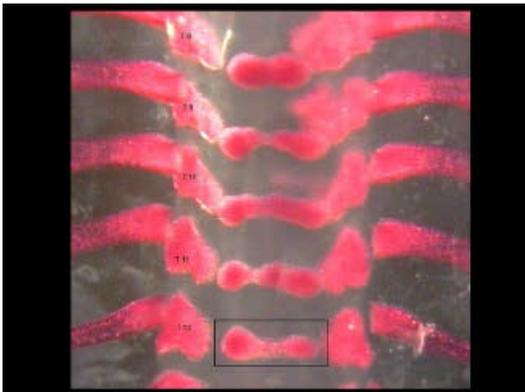
A.II.2.a., Control



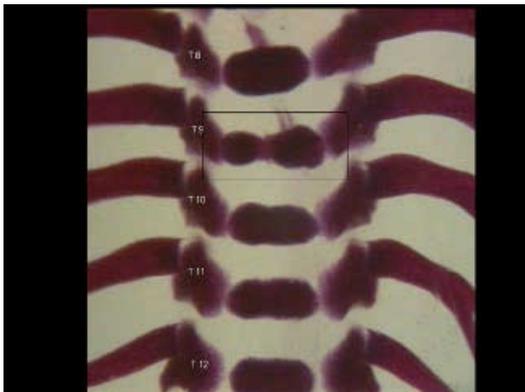
A.II.2.b., TC 5+6 asymmetric ossification



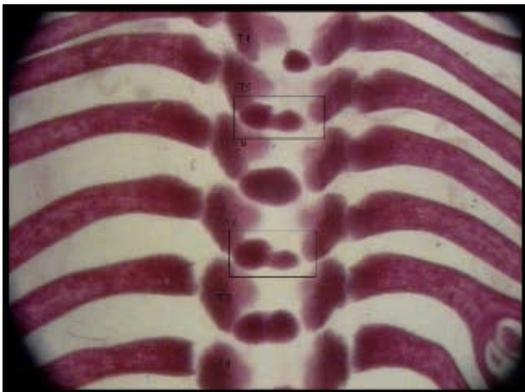
A.II.2.c., TC 8+10+11 asymmetric ossification



A.II.2.d., TC 12 asymmetric ossification

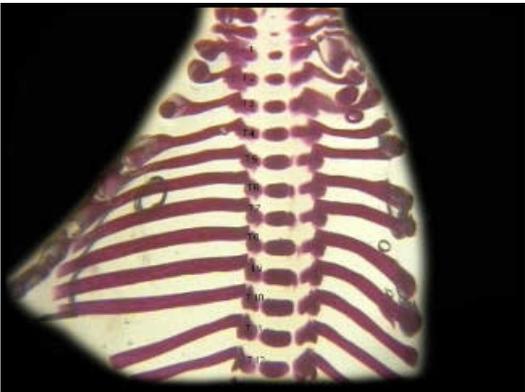


A.II.2.e., TC 9 asymmetric ossification

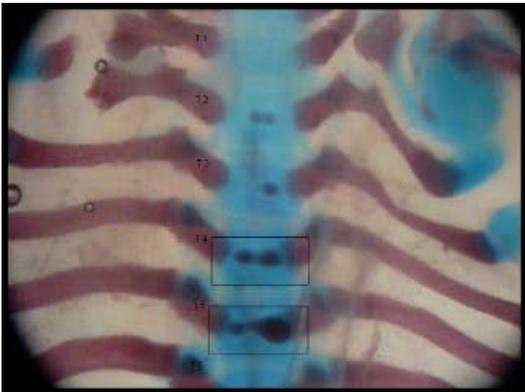


A.II.2.f., TC 5+7 asymmetric ossification

A.II.2., BWS GD 21, Thoracic centrum asymmetric ossification



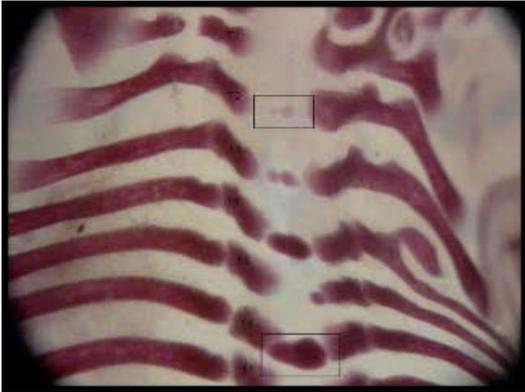
A.II.2.g., Control



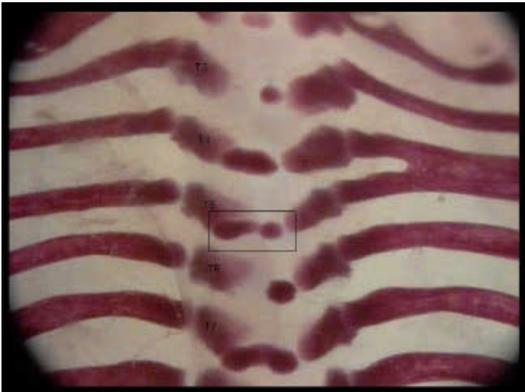
A.II.2.h., TC 4+5 asymmetric ossification



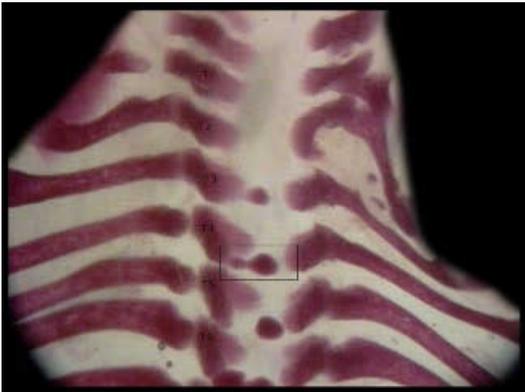
A.II.2.i., TC 3+5 asymmetric ossification



A.II.2.j., TC 2+6 asymmetric ossification

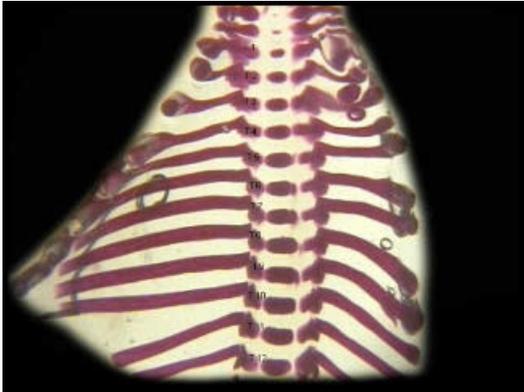


A.II.2.k., TC 5 asymmetric ossification

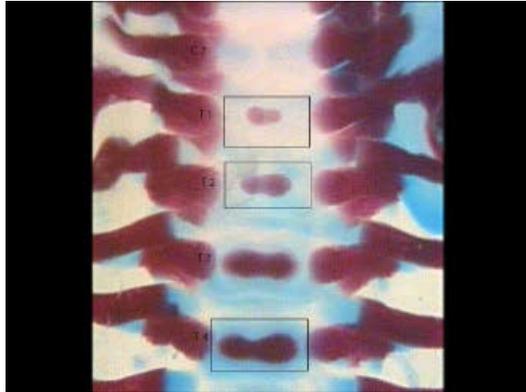


A.II.2.l., TC 4 asymmetric ossification

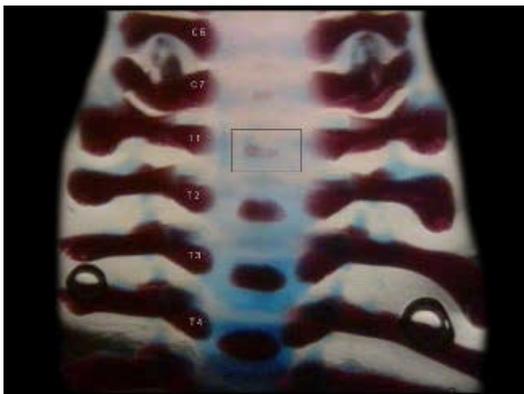
A.II.2., BWS GD 21, Thoracic centrum asymmetric ossification



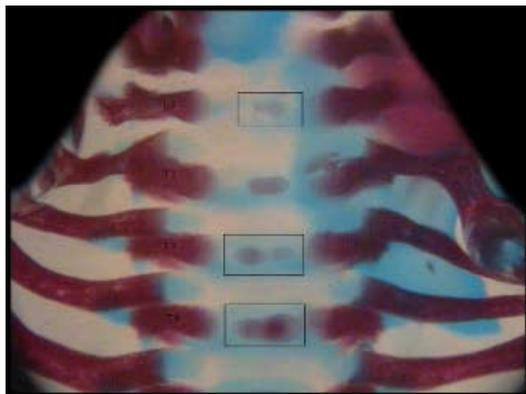
A.II.2.m., Control



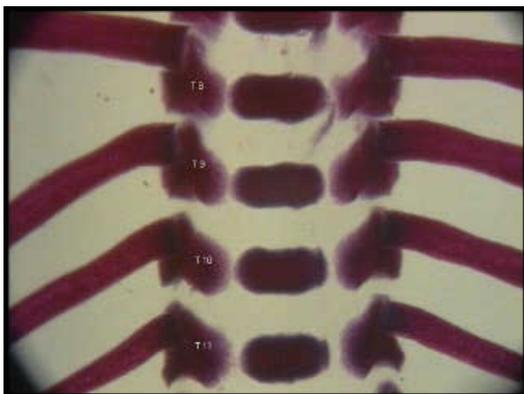
A.II.2.n., TC 1+2+4 asymmetric ossification



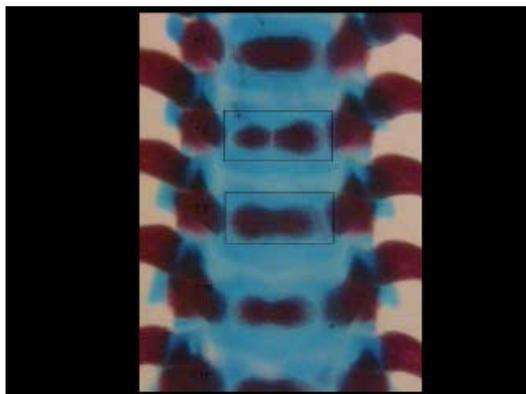
A.II.2.o., TC 1 asymmetric ossification



A.II.2.p., TC 1+3+4 asymmetric ossification

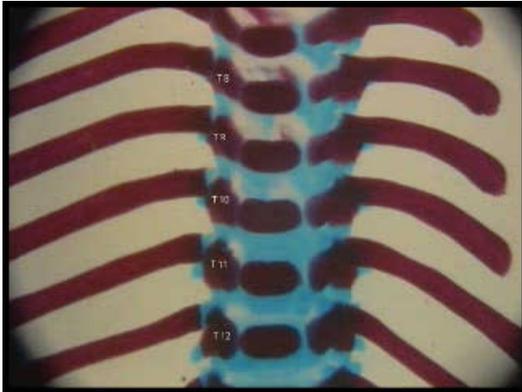


A.II.2.q., Control

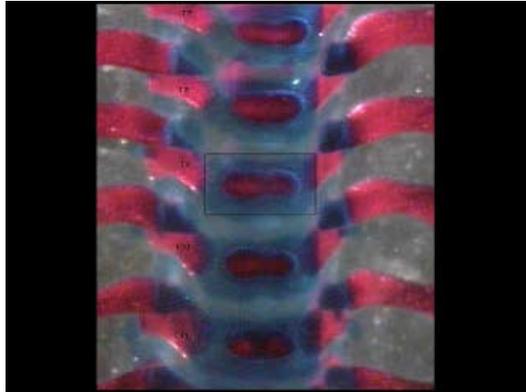


A.II.2.r., TC 8+9 asymmetric ossification

A.II.2., BWS GD 21, Thoracic centrum asymmetric ossification



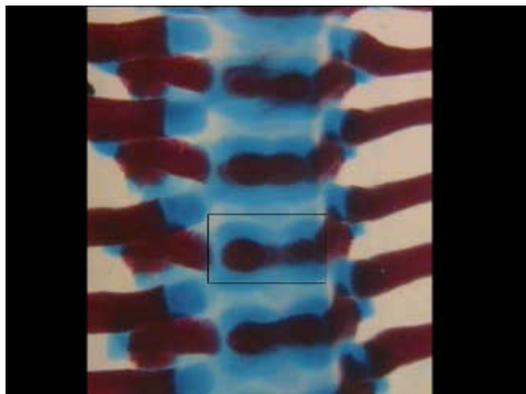
A.II.2.s., Control



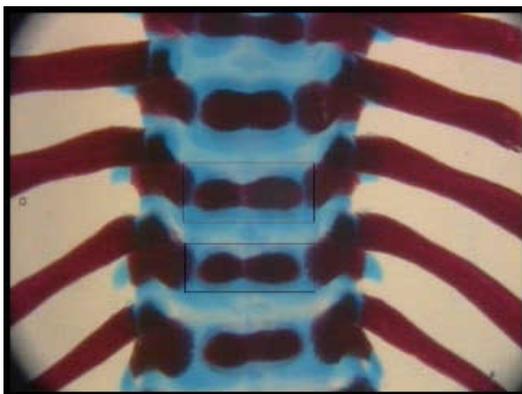
A.II.2.t., TC 9 asymmetric ossification



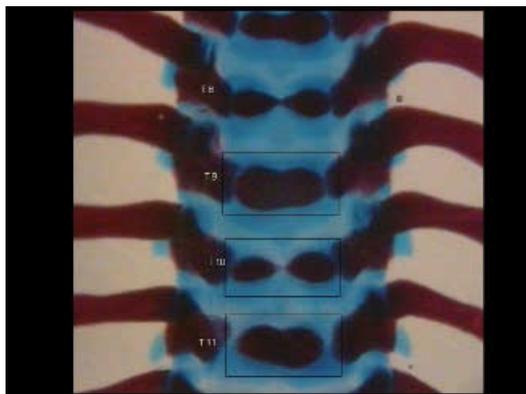
A.II.2.u., TC 12 asymmetric ossification



A.II.2.v., TC asymmetric ossification

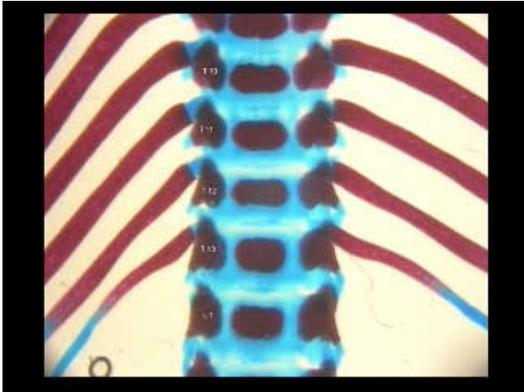


A.II.2.w., TC asymmetric ossification

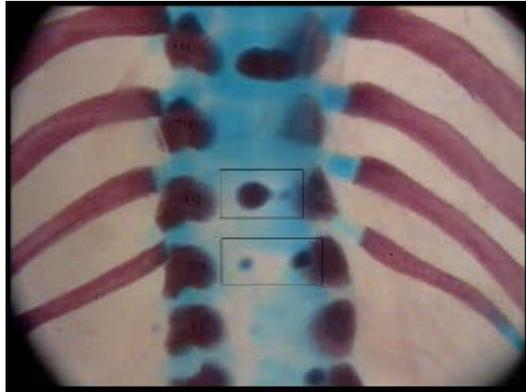


A.II.2.x., TC 9+10+11 asymmetric ossification

A.II.2., BWS GD 21, Thoracic centrum asymmetric ossification

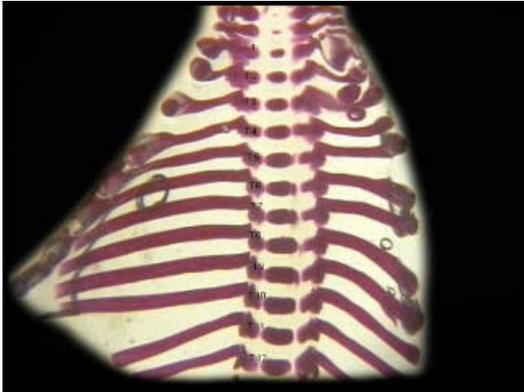


A.II.2.y., Control

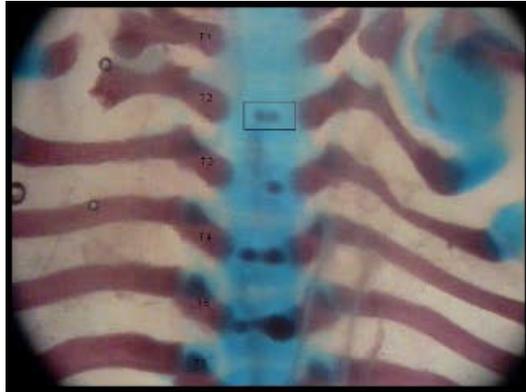


A.II.2.z., TC 12+13 asymmetric ossification

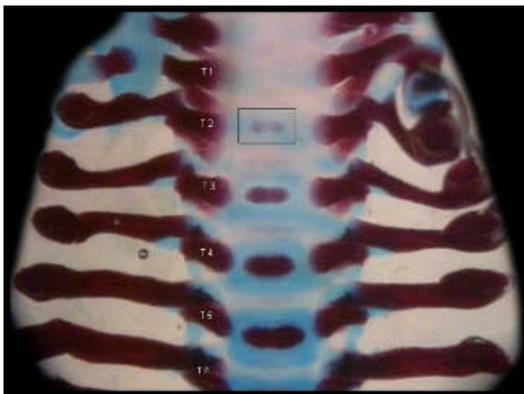
A.II.3., BWS GD 21, Thoracic centrum bipartite ossification



A.II.3.a., Control



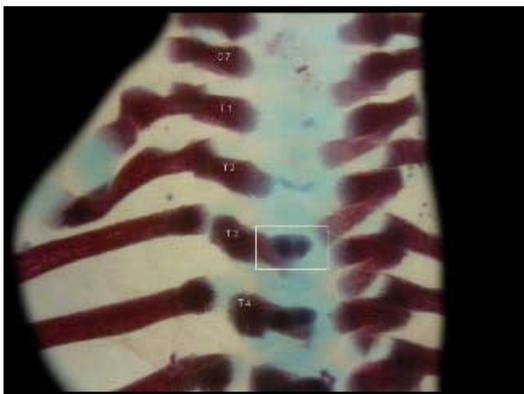
A.II.3.b., TC 2 bipartite ossification



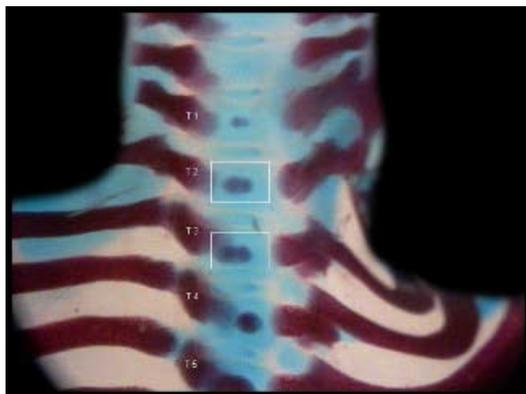
A.II.3.c., TC 2 bipartite ossification



A.II.3.d., TC 1 bipartite ossification

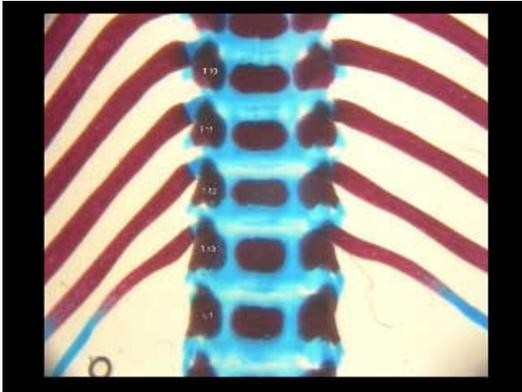


A.II.3.e., TC 3 bipartite ossification



A.II.3.f., TC 2+3 bipartite ossification

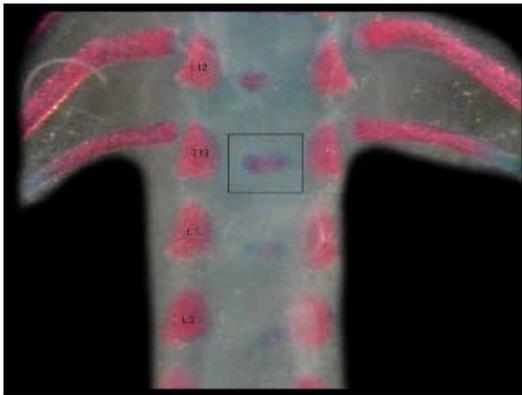
A.II.3., BWS GD 21, Thoracic centrum bipartite ossification



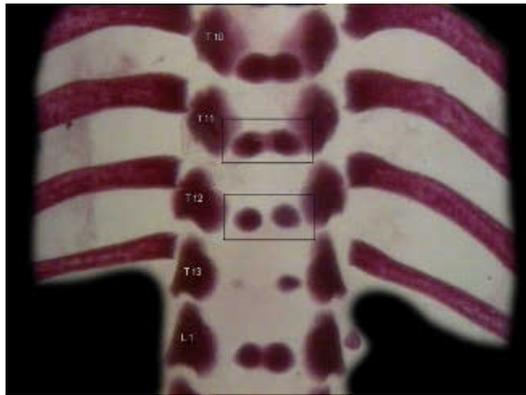
A.II.3.g., Control



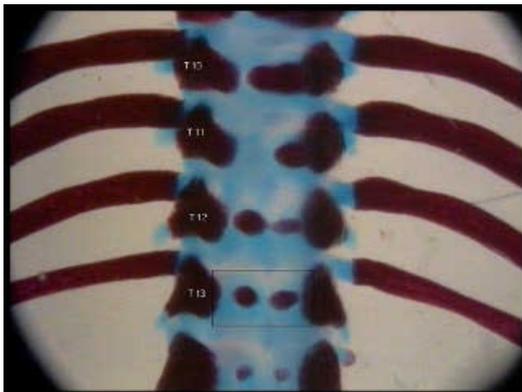
A.II.3.h., TC 10+12 bipartite ossification



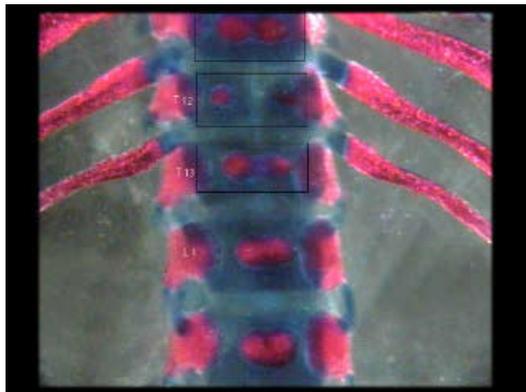
A.II.3.i., TC 13 bipartite ossification



A.II.3.j., TC 11+12 bipartite ossification

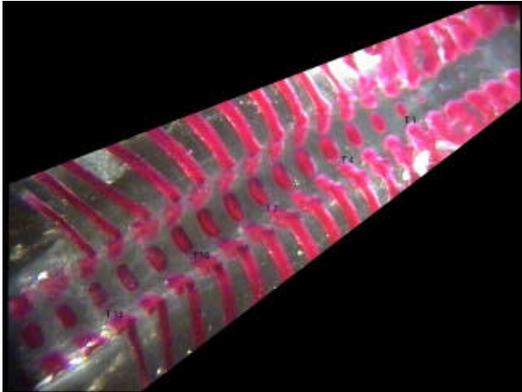


A.II.3.k., TC 13 bipartite ossification

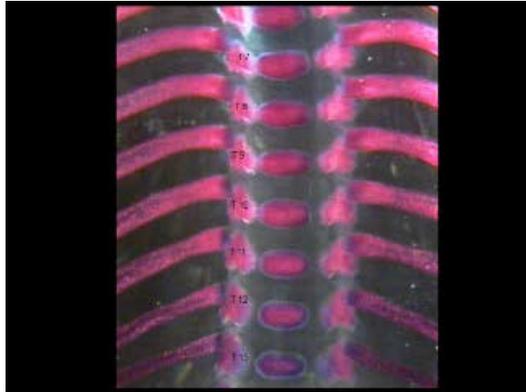


A.II.3.l., TC 11+12+13 bipartite ossification

A.II.3., BWS GD 21, Thoracic centrum bipartite ossification



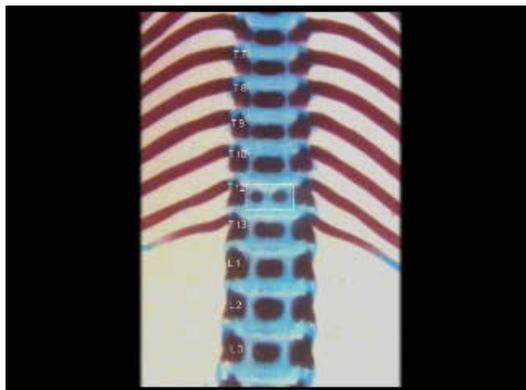
A.II.3.m., Control



A.II.3.n., Control



A.II.3.o., TC 12 bipartite ossification



A.II.3.p., TC 12 bipartite ossification

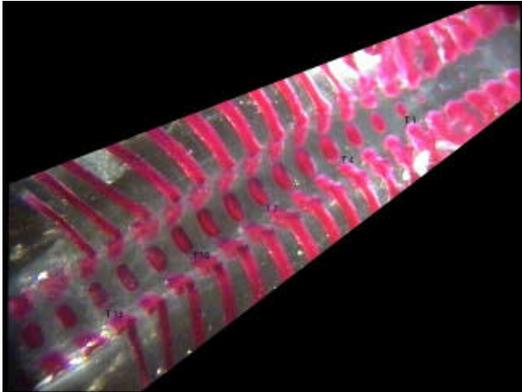


A.II.3.q., TC 12 bipartite ossification

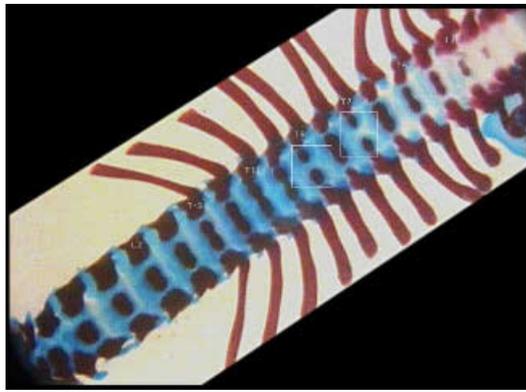


A.II.3.r., TC 12 bipartite ossification

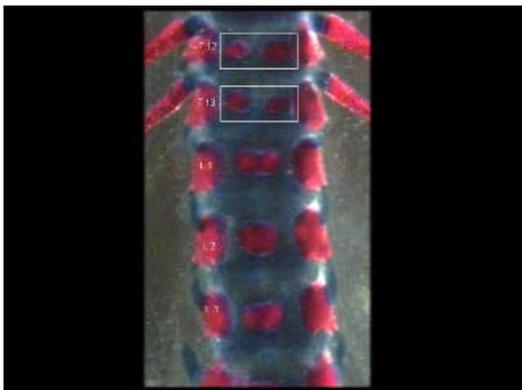
A.II.3., BWS GD 21, Thoracic centrum bipartite ossification



A.II.3.s., Control



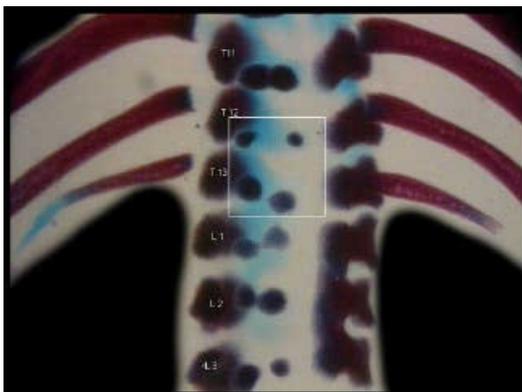
A.II.3.t., TC 7+9 bipartite ossification



A.II.3.u., TC 12+13 bipartite ossification



A.II.3.v., TC 11 bipartite ossification

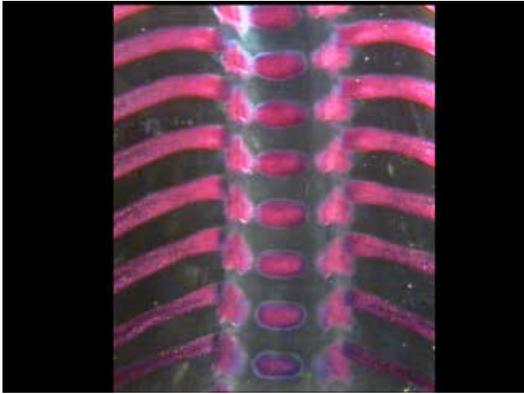


A.II.3.w., TC 12+13 bipartite ossification



A.II.3.x., TC 12+13 bipartite ossification

A.II.3., BWS GD 21, Thoracic centrum bipartite ossification

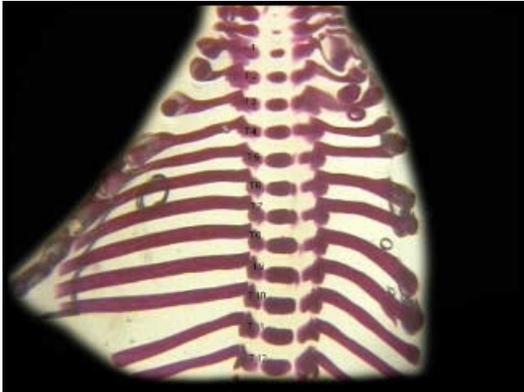


A.II.3.y., Control

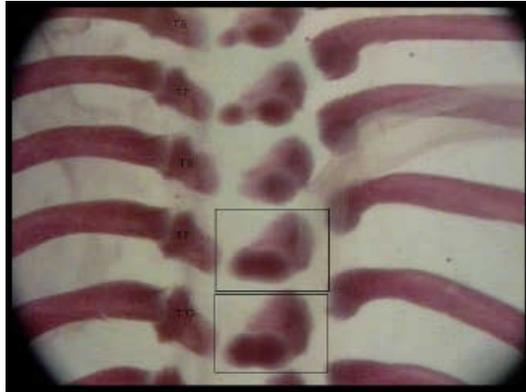


A.II.3.z., TC 12 bipartite ossification

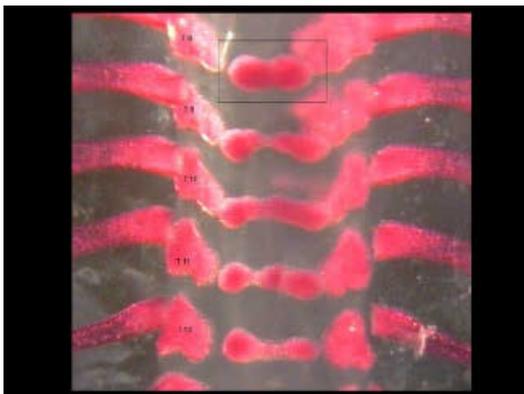
A.II.4., BWS GD 21, Thoracic centrum dumbbell-shaped



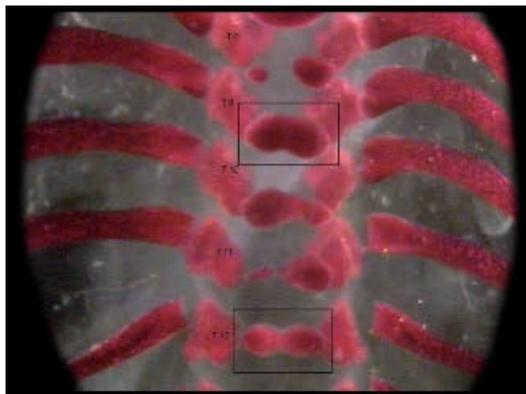
A.II.4.a., Control



A.II.4.b., TC 9+10 dumbbell-shaped



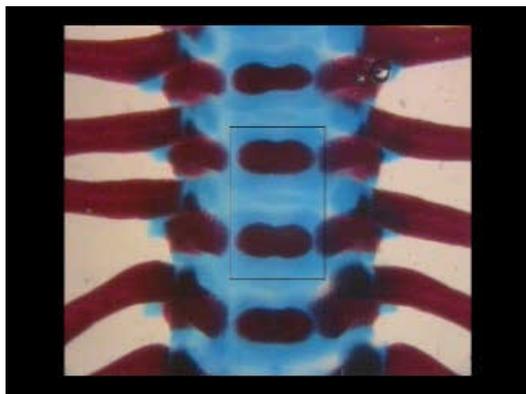
A.II.4.c., TC 8 dumbbell-shaped



A.II.4.d., TC 9+12 dumbbell-shaped

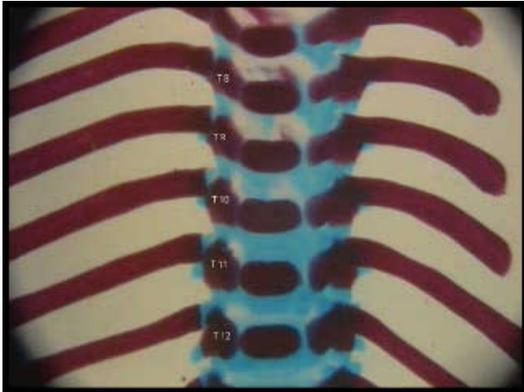


A.II.4.e., TC 5 dumbbell-shaped



A.II.4.f., TC dumbbell-shaped

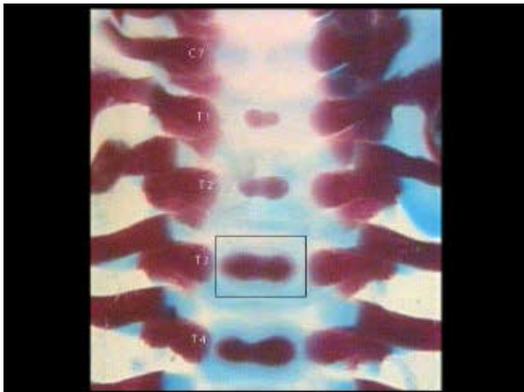
A.II.4., BWS GD 21, Thoracic centrum dumbbell-shaped



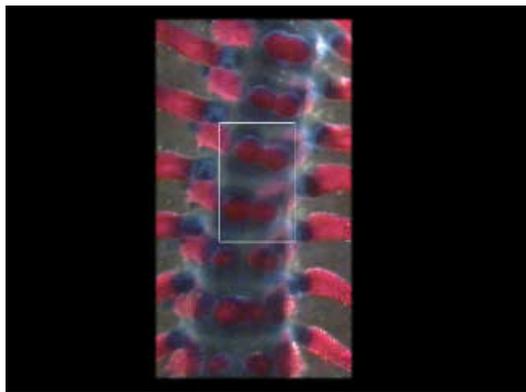
A.II.4.g., Control



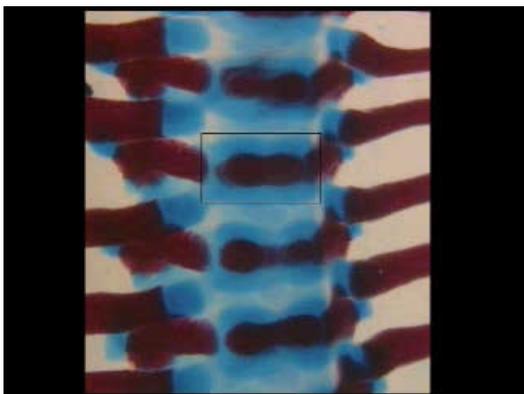
A.II.4.h., TC 11 dumbbell-shaped



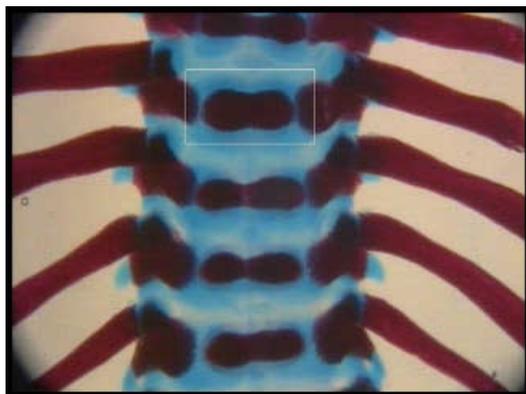
A.II.4.i., TC 3 dumbbell-shaped



A.II.4.j., TC dumbbell-shaped

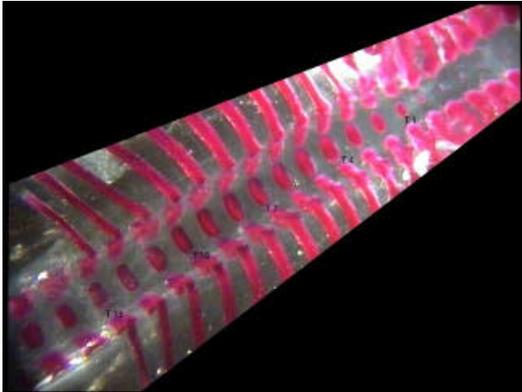


A.II.4.k., TC dumbbell-shaped

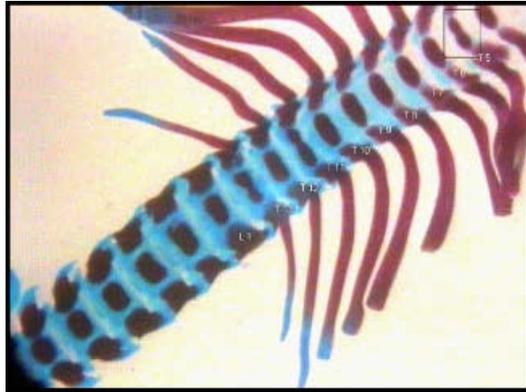


A.II.4.l., TC dumbbell-shaped

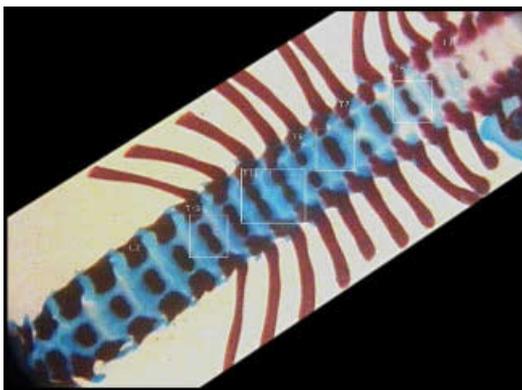
A.II.4., BWS GD 21, Thoracic centrum dumbbell-shaped



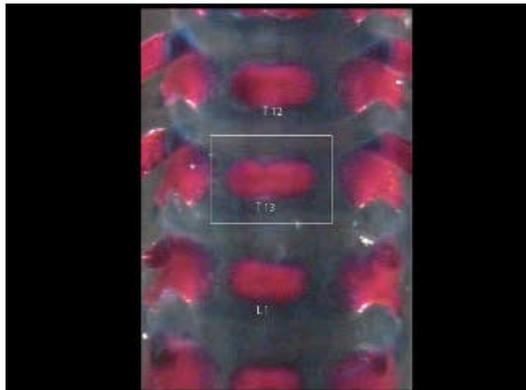
A.II.4.m., Control



A.II.4.n., TC 5 dumbbell-shaped



A.II.4.o., TC 5+8+10+11+13
dumbbell-shaped



A.II.4.p., TC 13 dumbbell-shaped

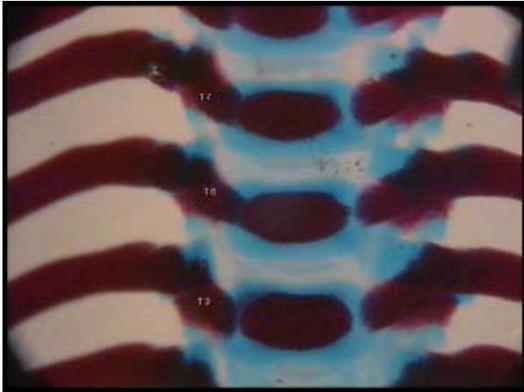


A.II.4.q., TC 12 dumbbell-shaped

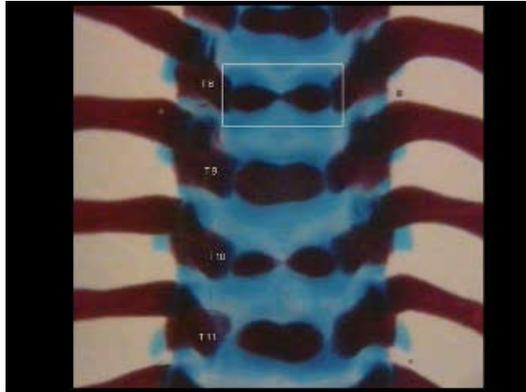


A.II.4.r., TC 12 dumbbell-shaped

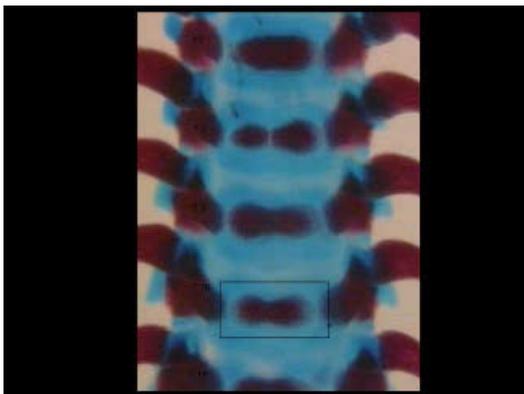
A.II.4., BWS GD 21, Thoracic centrum dumbbell-shaped



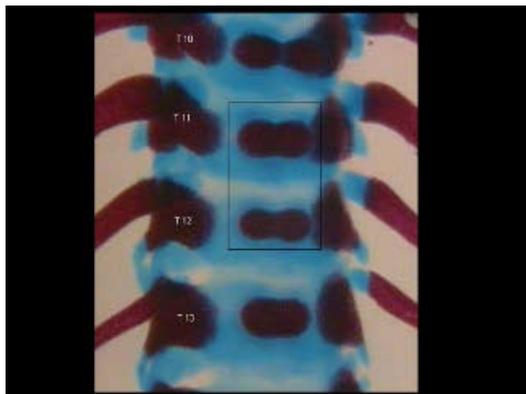
A.II.4.s., Control



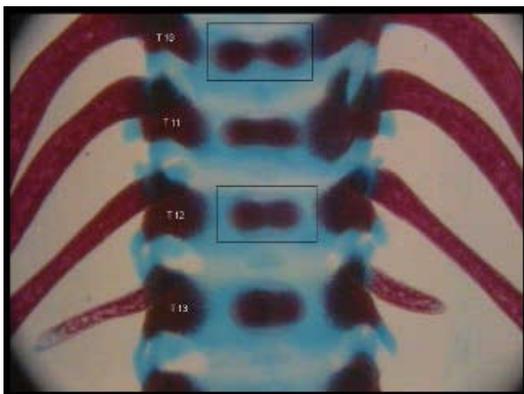
A.II.4.t., TC 8 dumbbell-shaped



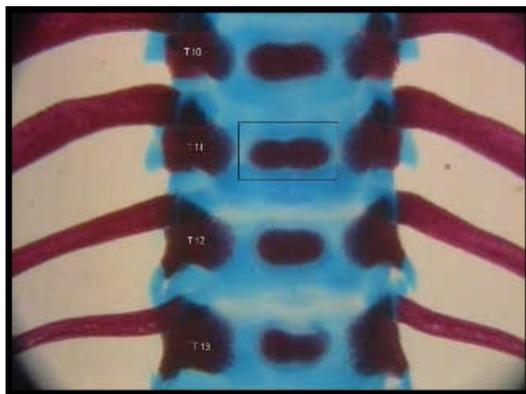
A.II.4.u., TC dumbbell-shaped



A.II.4.v., TC 11+12 dumbbell-shaped

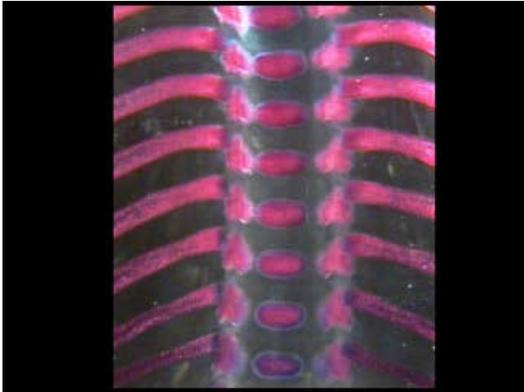


A.II.4.w., TC 10+12 dumbbell-shaped



A.II.4.x., TC 11 dumbbell-shaped

A.II.4., BWS GD 21, Thoracic centrum dumbbell-shaped

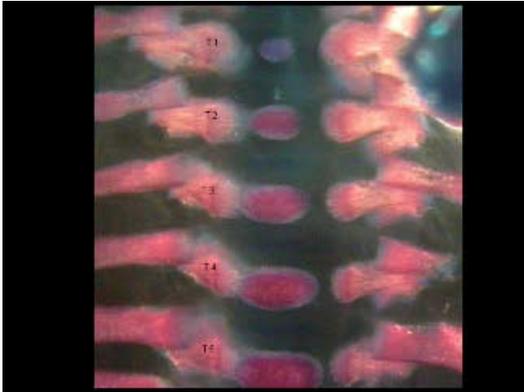


A.II.4.y., Control



A.II.4.z., TC 11 dumbbell-shaped

A.II.5., BWS GD 21, Thoracic centrum hemicentric



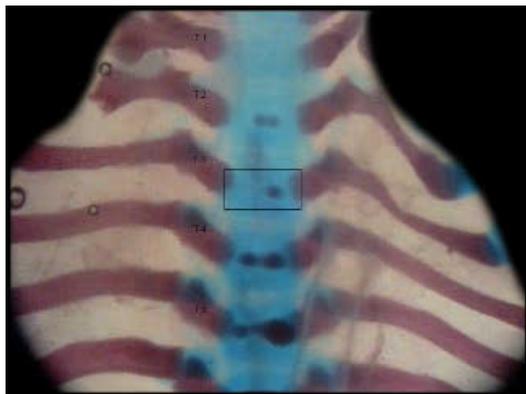
A.II.5.a., Control



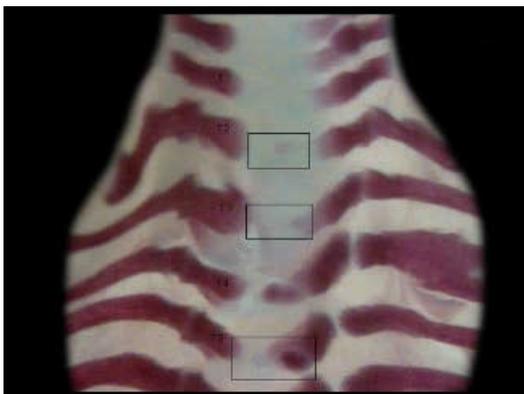
A.II.5.b., TC 1 hemicentric



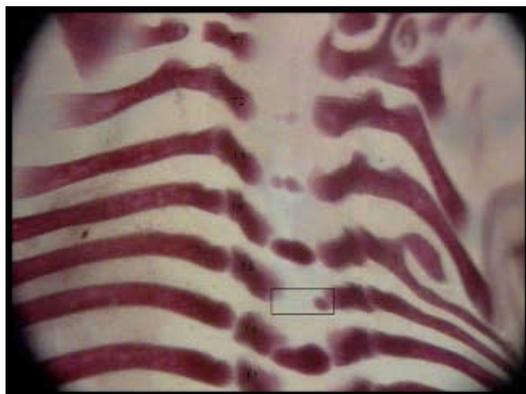
A.II.5.c., TC 8 hemicentric



A.II.5.d., TC 3 hemicentric

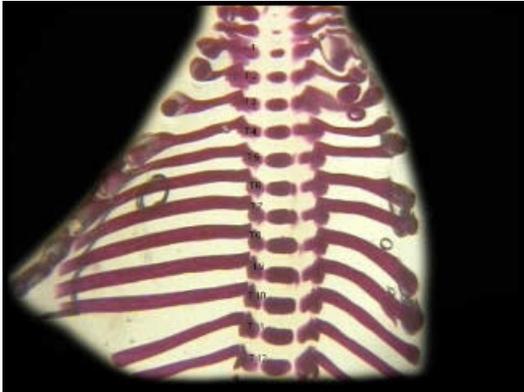


A.II.5.e., TC 2+3+5 hemicentric

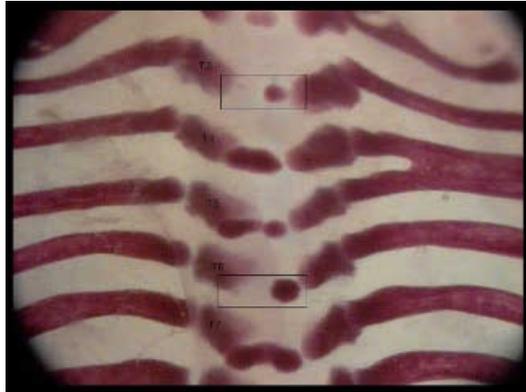


A.II.5.f., TC 5 hemicentric

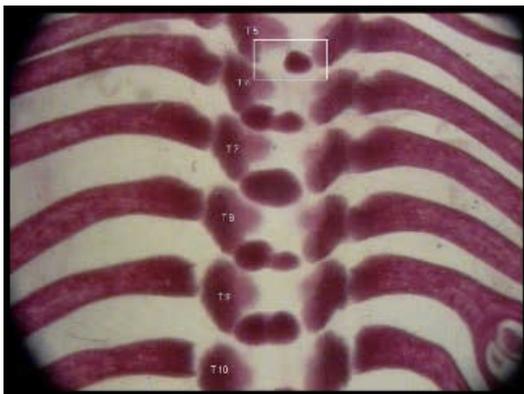
A.II.5., BWS GD 21, Thoracic centrum hemicentric



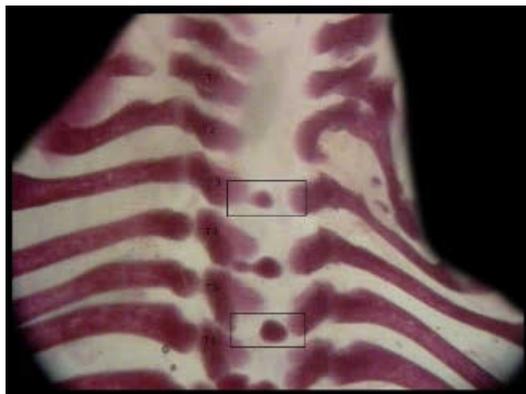
A.II.5.g., Control



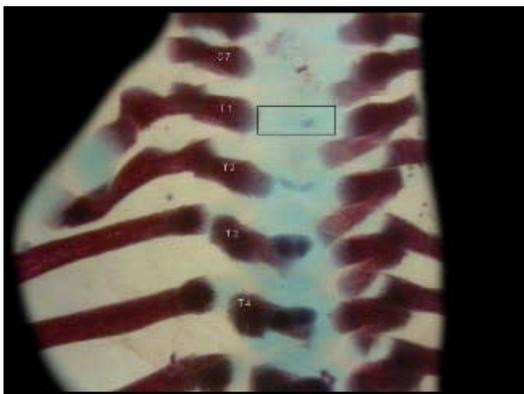
A.II.5.h., TC 3+6 hemicentric



A.II.5.i., TC 5 hemicentric



A.II.5.j., TC 3+5 hemicentric

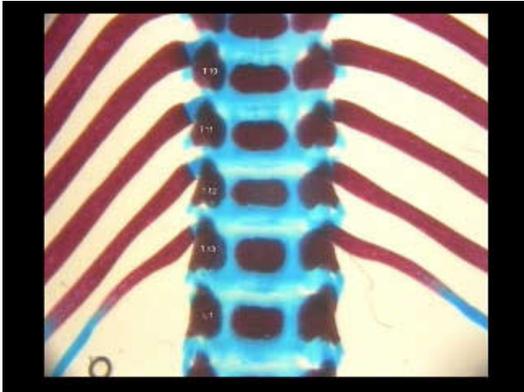


A.II.5.k., TC 1 hemicentric

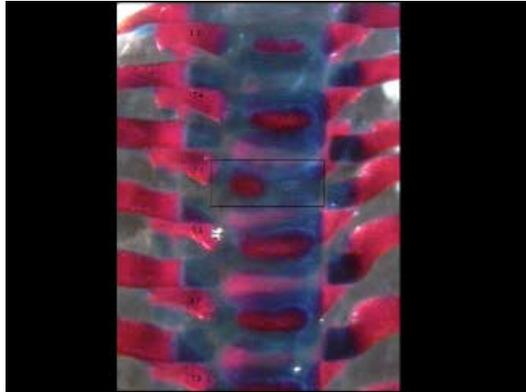


A.II.5.l., TC 4 hemicentric

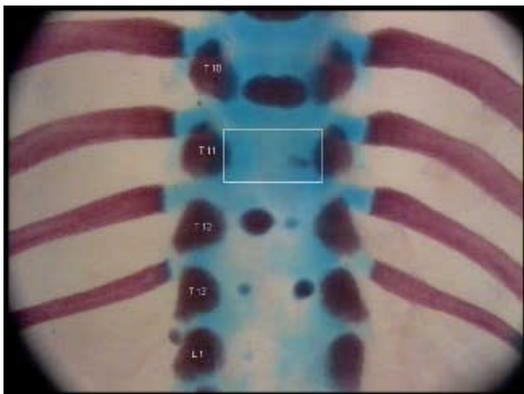
A.II.5., BWS GD 21, Thoracic centrum hemicentric



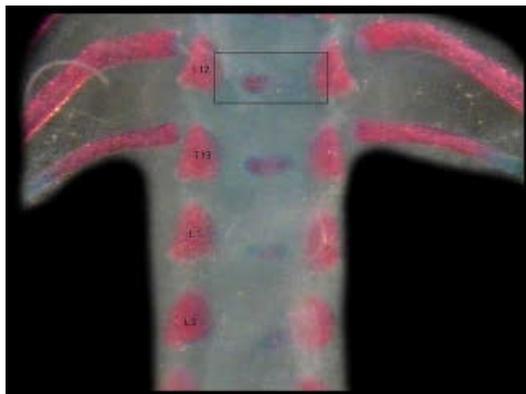
A.II.5.m., Control



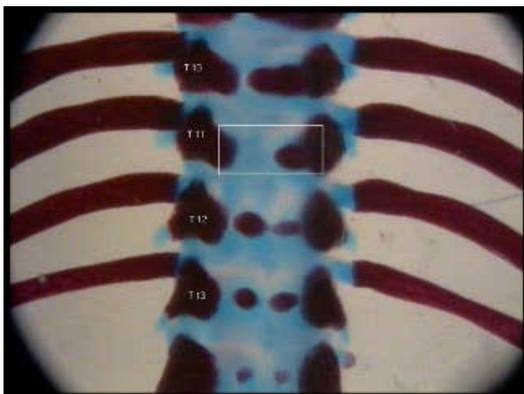
A.II.5.n., TC 5 hemicentric



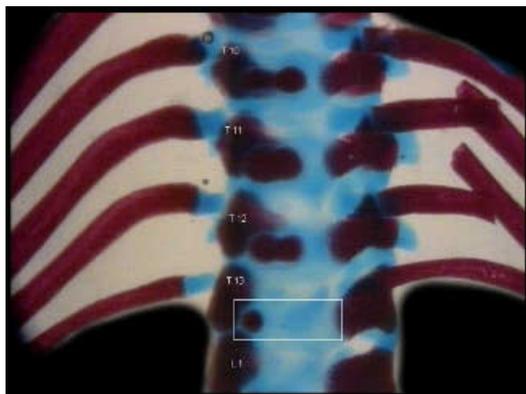
A.II.5.o., TC 11 hemicentric



A.II.5.p., TC 12 hemicentric

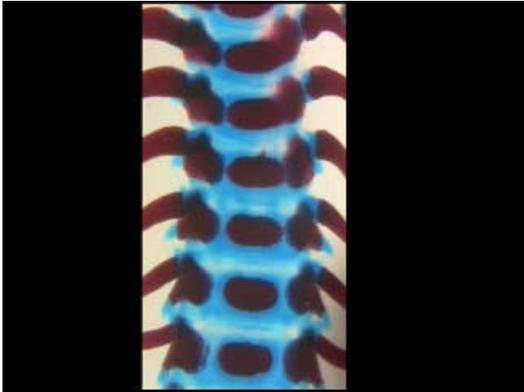


A.II.5.q., TC 11 hemicentric

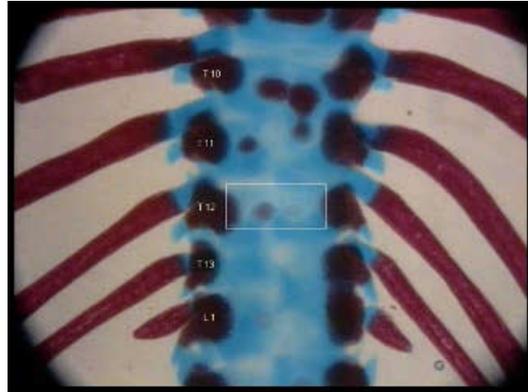


A.II.5.r., TC 13 hemicentric

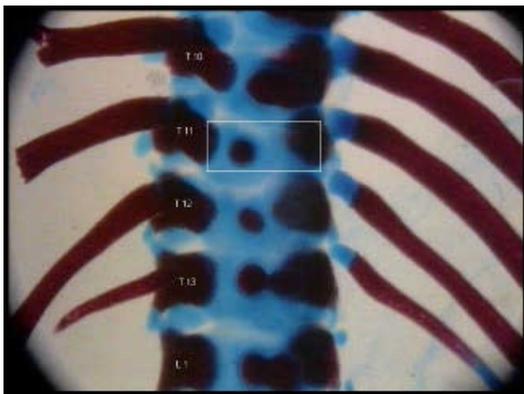
A.II.5., BWS GD 21, Thoracic centrum hemicentric



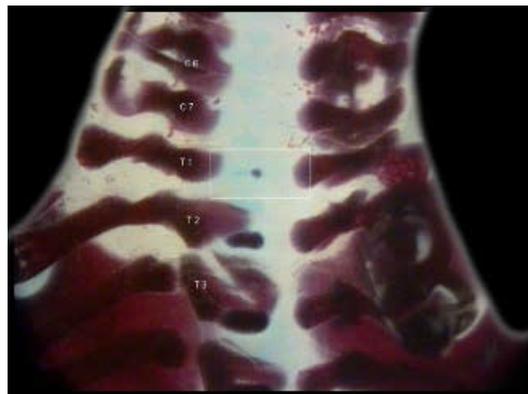
A.II.5.s., Control



A.II.5.t., TC 12 hemicentric

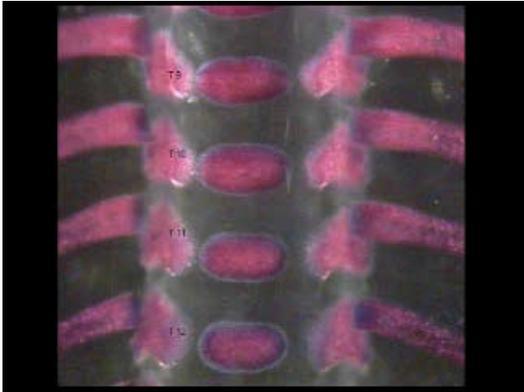


A.II.5.u., TC 11 hemicentric

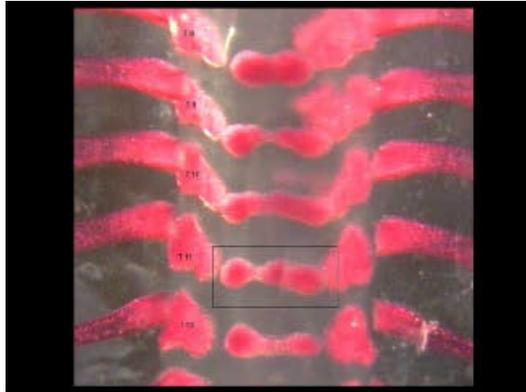


A.II.5.v., TC 1 hemicentric

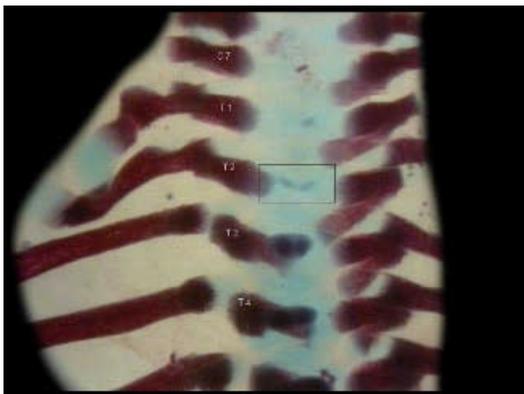
A.II.6., BWS GD 21, Thoracic centrum misshapen



A.II.6.a., Control



A.II.6.b., TC 11 misshapen



A.II.6.c., TC 2 misshapen

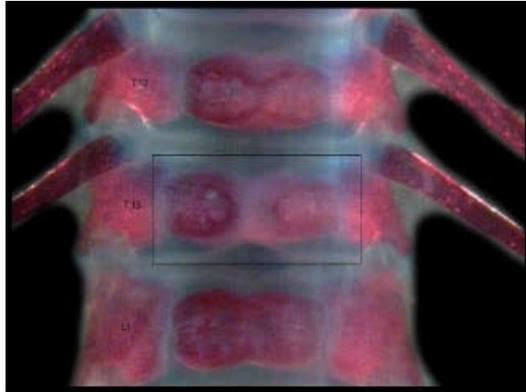


A.II.6.d., TC 13 misshapen

B.II.1., BWS PND 7, Thoracic centrum asymmetric ossification

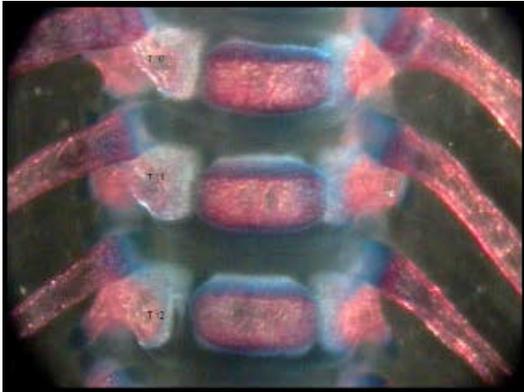


B.II.1.a., Control

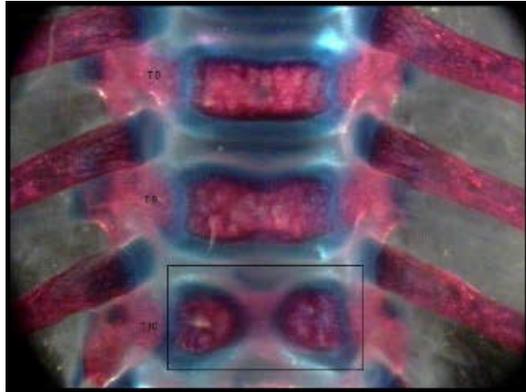


B.II.1.b., TC 13 asymmetric ossification

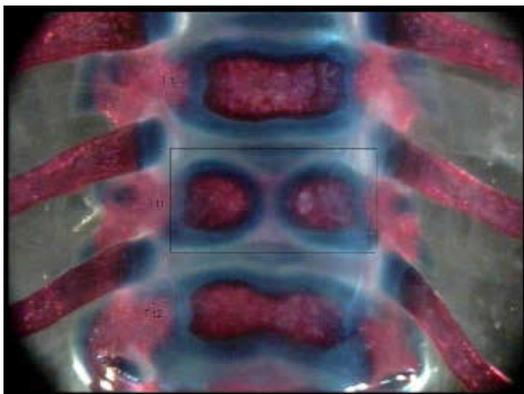
B.II.2., BWS PND 7, Thoracic centrum bipartite ossification



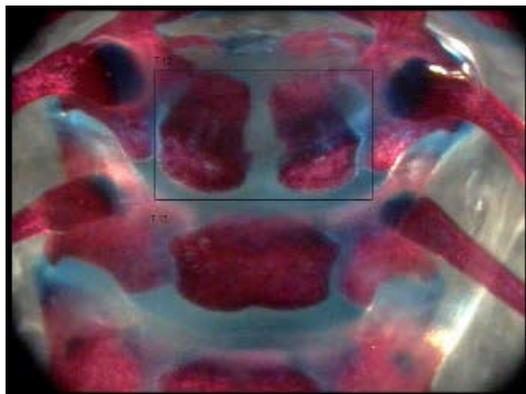
B.II.2.a., Control



B.II.2.b., TC 10 bipartite ossification



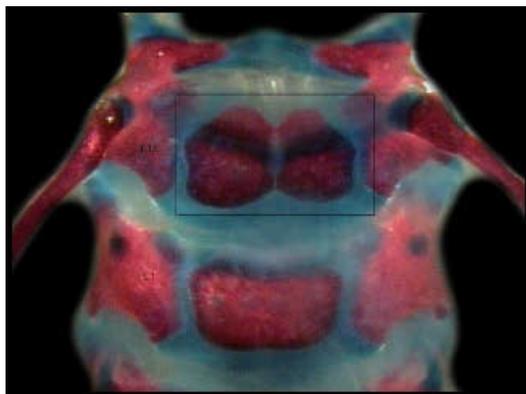
B.II.2.c., TC 11 bipartite ossification



B.II.2.d., TC 12 bipartite ossification



B.II.2.e., TC 12 bipartite ossification

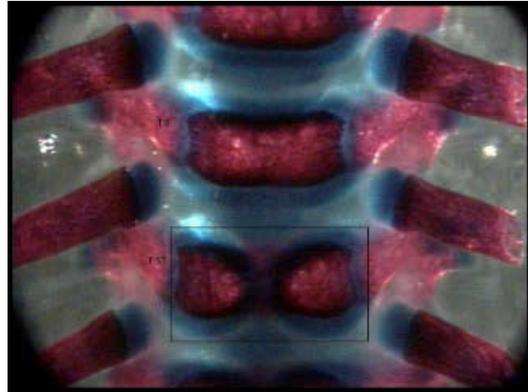


B.II.2.f., TC 13 bipartite ossification

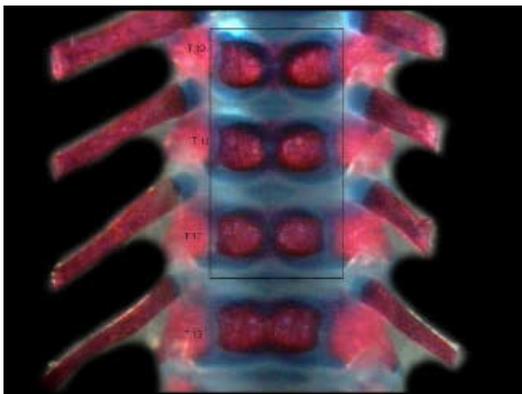
B.II.2., BWS PND 7, Thoracic centrum bipartite ossification



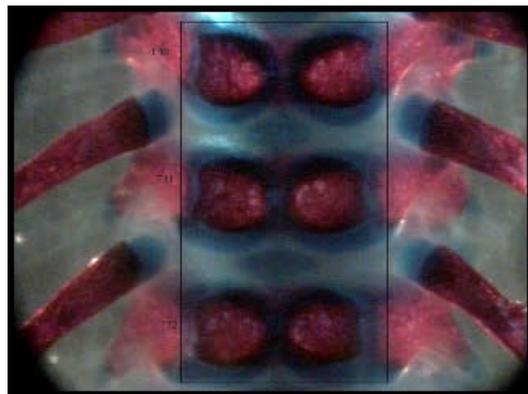
B.II.2.g., Control



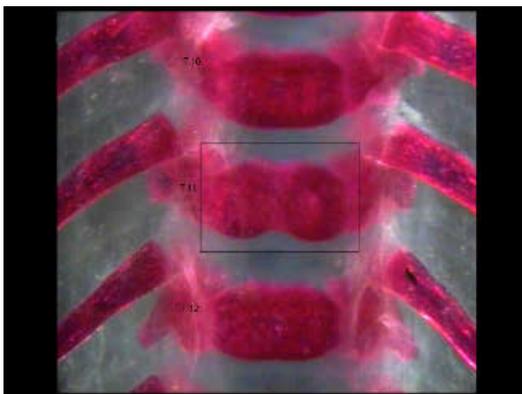
B.II.2.h., TC 10 bipartite ossification



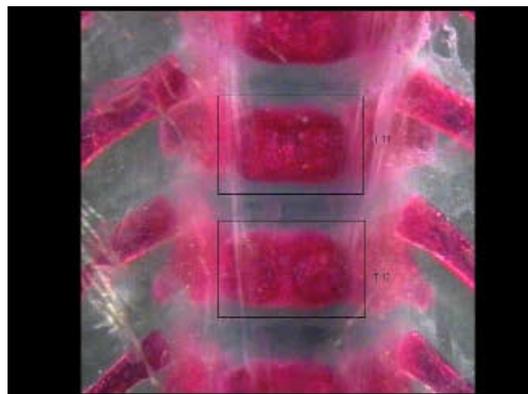
B.II.2.i., TC 10+11+12 bipartite ossification



B.II.2.j., TC 10+11+12 bipartite ossification



B.II.2.k., TC 11 bipartite ossification

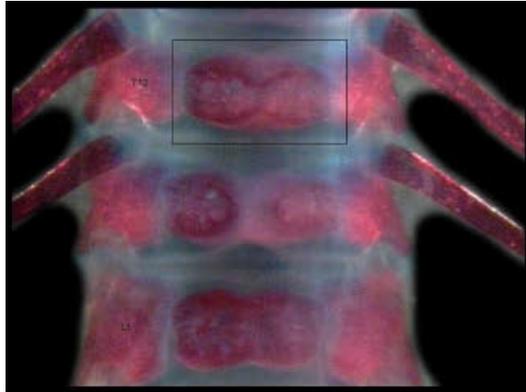


B.II.2.l., TC 11+12 bipartite ossification

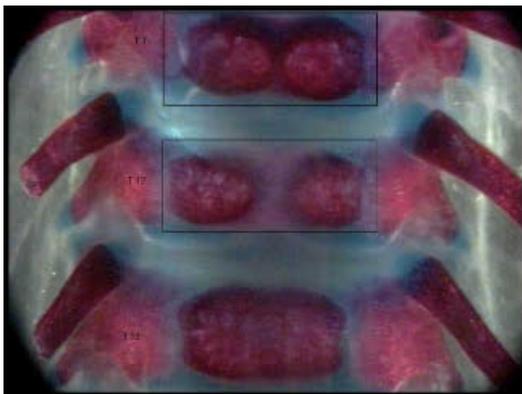
B.II.2., BWS PND 7, Thoracic centrum bipartite ossification



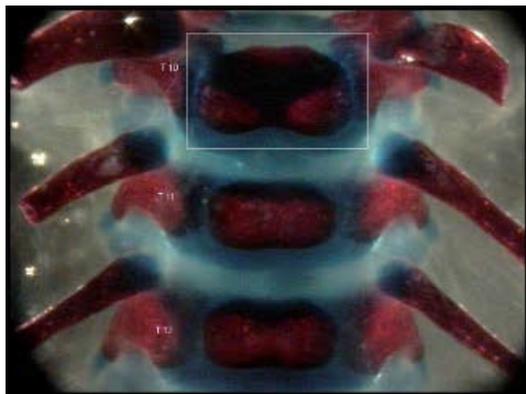
B.II.2.m., Control



B.II.2.n., TC 12 bipartite ossification



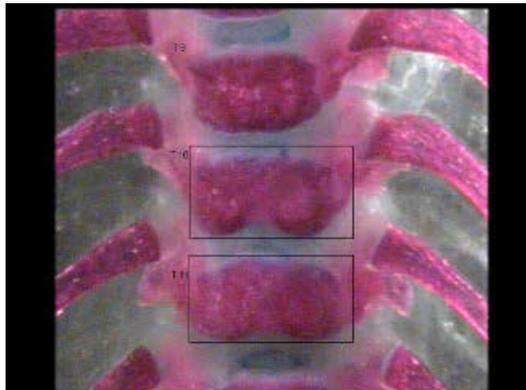
B.II.2.o., TC 12 bipartite ossification



B.II.2.p., TC 10 bipartite ossification



B.II.2.q., TC 10 bipartite ossification

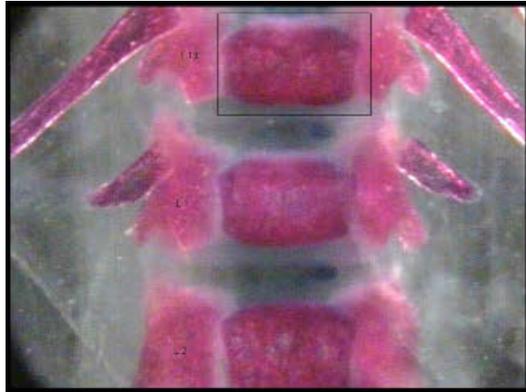


B.II.2.r., TC 10+11 bipartite ossification

B.II.2., BWS PND 7, Thoracic centrum bipartite ossification



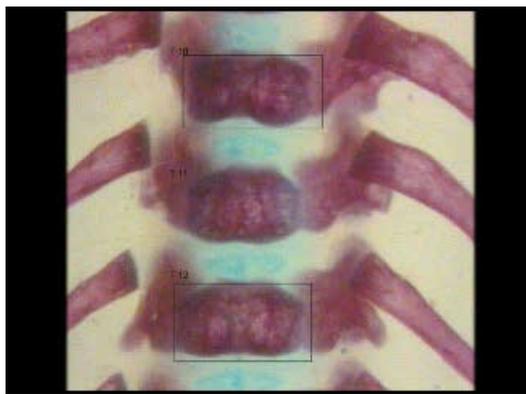
B.II.2.s., Control



B.II.2.t., TC 13 bipartite ossification



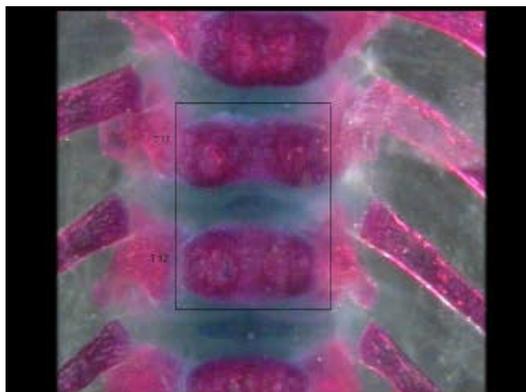
B.II.2.u., TC 10+11+12 bipartite ossification



B.II.2.v., TC 10+12 bipartite ossification



B.II.2.w., TC 11+12 bipartite ossification



B.II.2.x., TC 11+12 bipartite ossification

B.II.2., BWS PND 7, Thoracic centrum bipartite ossification

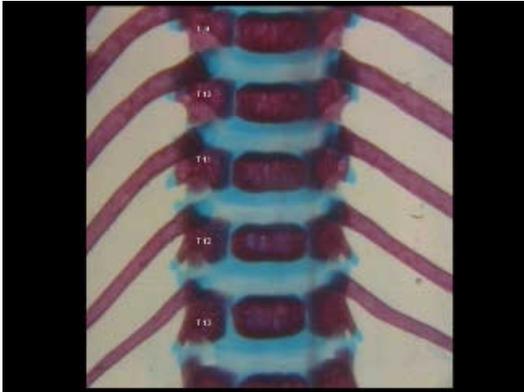


B.II.2.y., TC 10 bipartite ossification

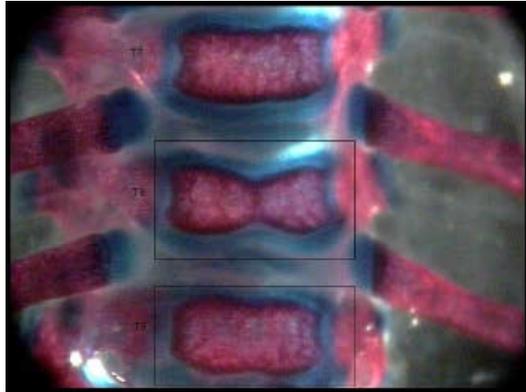


B.II.2.z., TC 10 bipartite ossification

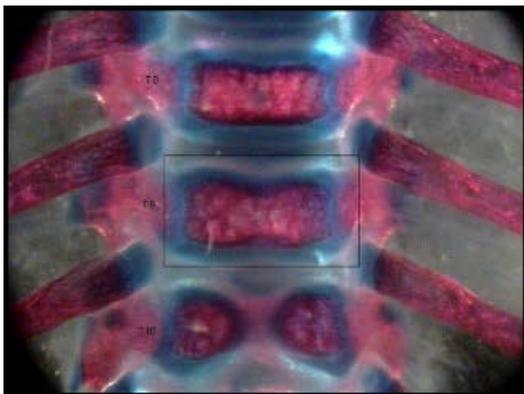
B.II.3., BWS PND 7, Thoracic centrum dumbbell-shaped



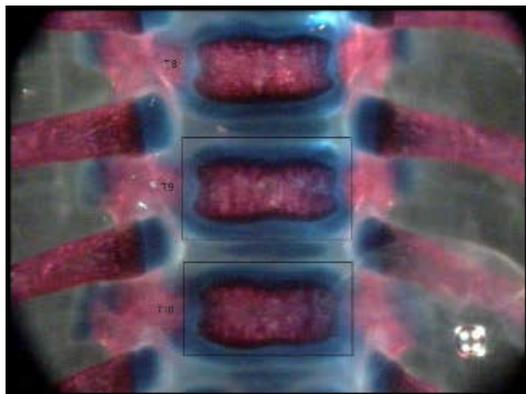
B.II.3.a., Control



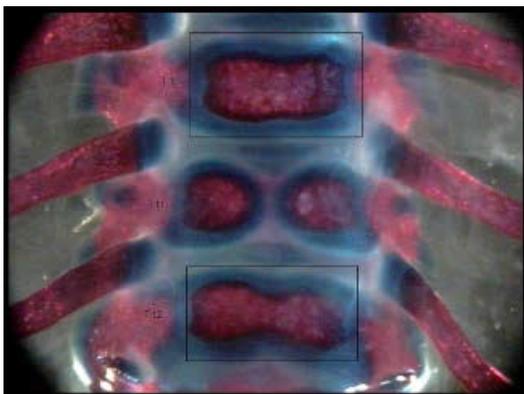
B.II.3.b., TC 8+9 dumbbell-shaped



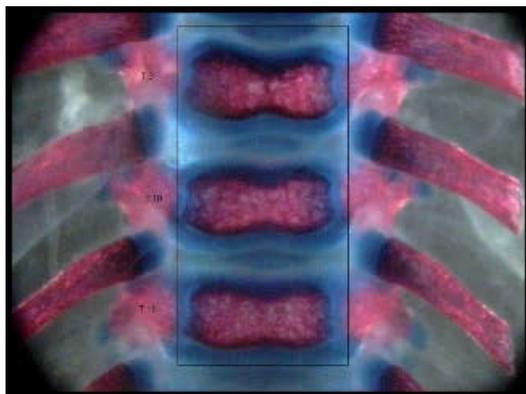
B.II.3.c., TC 9 dumbbell-shaped



B.II.3.d., TC 9+10 dumbbell-shaped

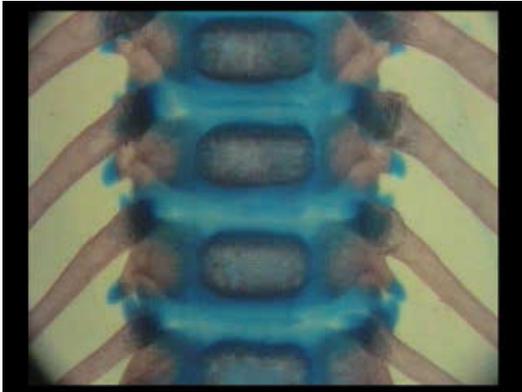


B.II.3.e., TC 10+12 dumbbell-shaped

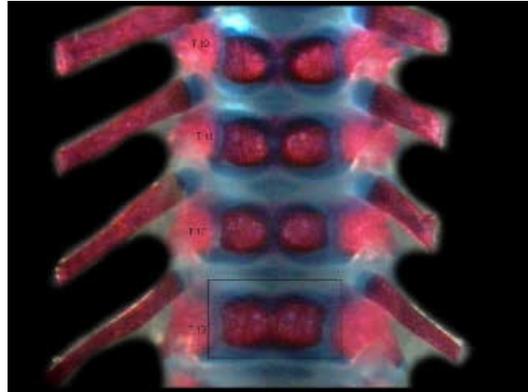


B.II.3.f., TC 9+10+11 dumbbell-shaped

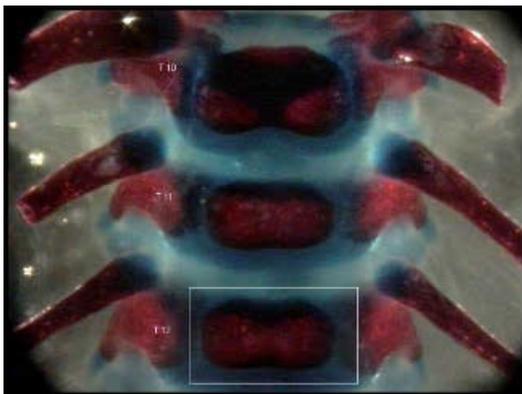
B.II.3., BWS PND 7, Thoracic centrum dumbbell-shaped



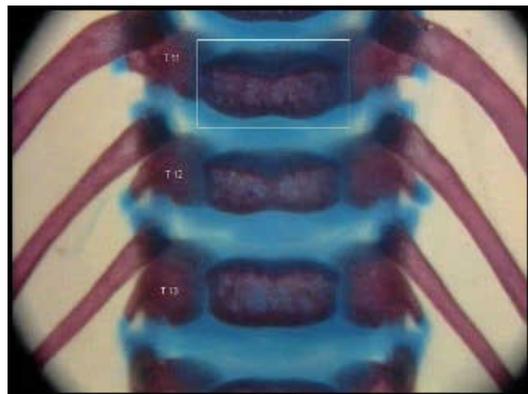
B.II.3.g., Control



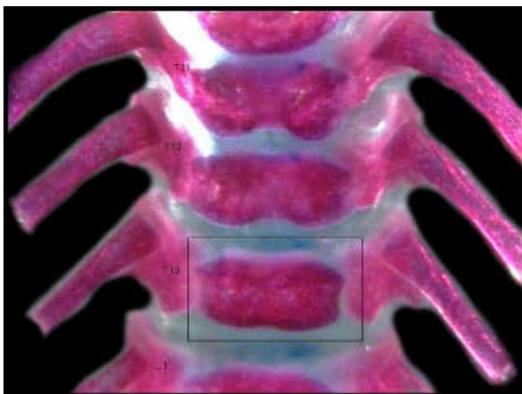
B.II.3.h., TC 13 dumbbell-shaped



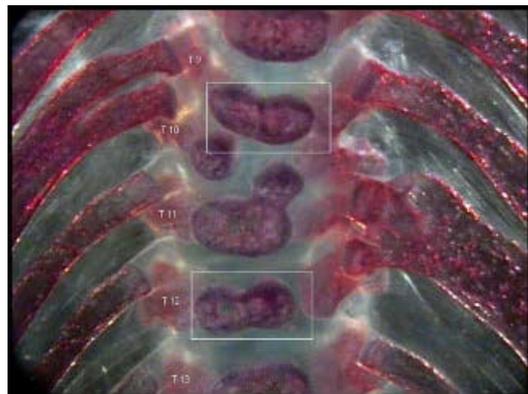
B.II.3.i., TC 12 dumbbell-shaped



B.II.3.j., TC 11 dumbbell-shaped

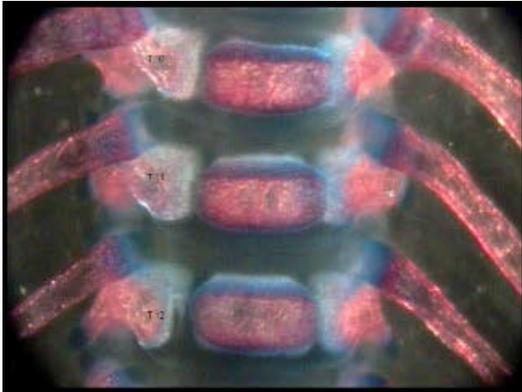


B.II.3.k., TC 13 dumbbell-shaped



B.II.3.l., TC 9+12 dumbbell-shaped

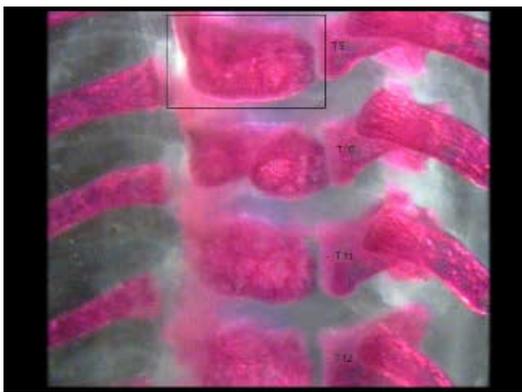
B.II.3., BWS PND 7, Thoracic centrum dumbbell-shaped



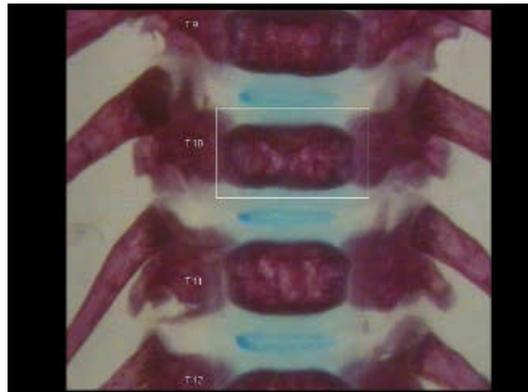
B.II.3.m., Control



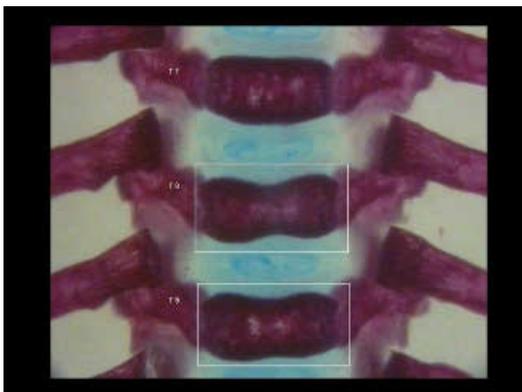
B.II.3.n., TC 13 dumbbell-shaped



B.II.3.o., TC 9 dumbbell-shaped



B.II.3.p., TC 10 dumbbell-shaped

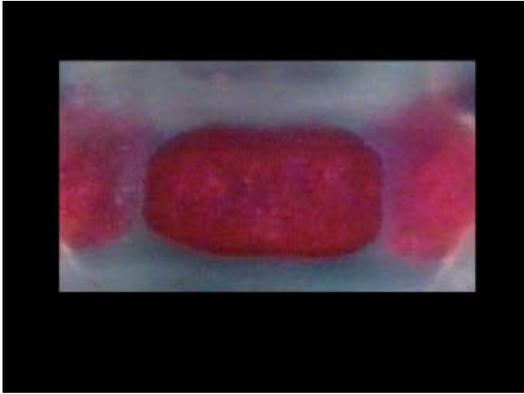


B.II.3.q., TC 8+9 dumbbell-shaped

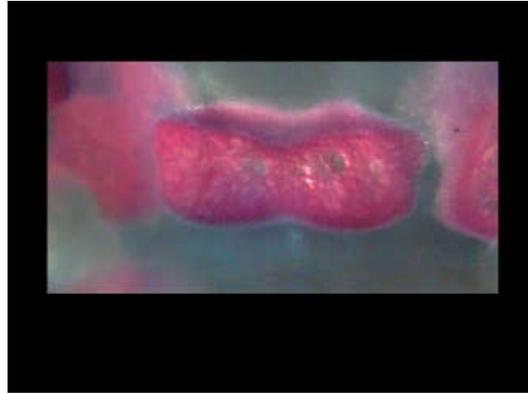


B.II.3.r., TC 9 dumbbell-shaped

B.II.3., BWS PND 7, Thoracic centrum dumbbell-shaped

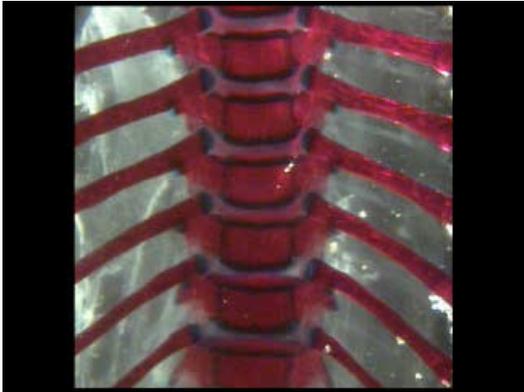


B.II.3.s., Control

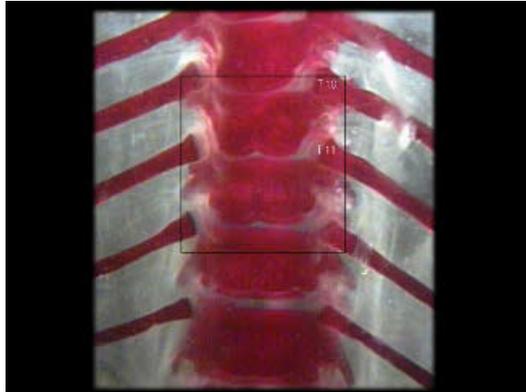


B.II.3.t., TC dumbbell-shaped

C.II.1., BWS PND 21, Thoracic centrum bipartite ossification



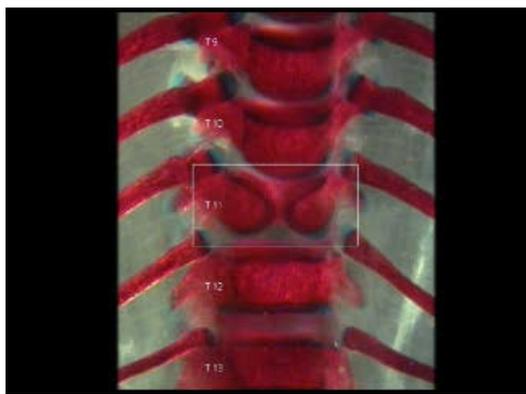
C.II.1.a., Control



C.II.1.b., TC 10+11 bipartite ossification



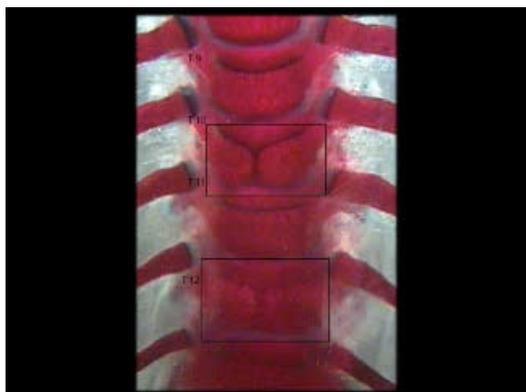
C.II.1.c., TC bipartite ossification



C.II.1.d., TC 11 bipartite ossification

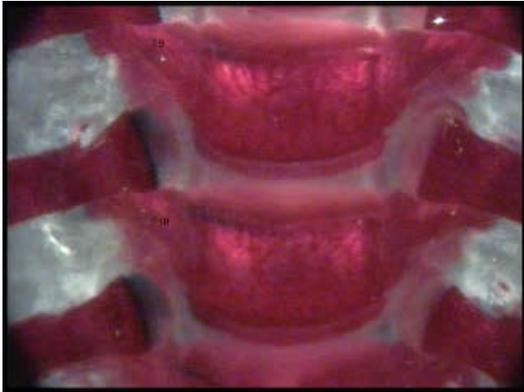


C.II.1.e., TC 11 bipartite ossification

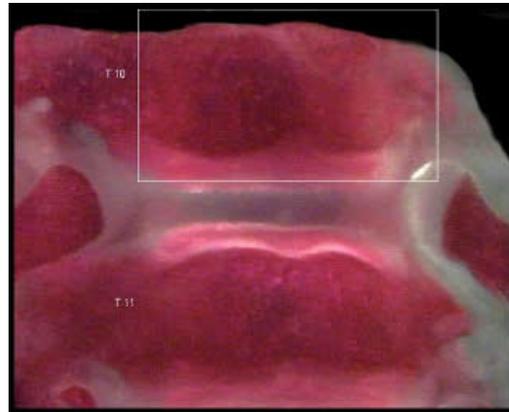


C.II.1.f., TC 10+12 bipartite ossification

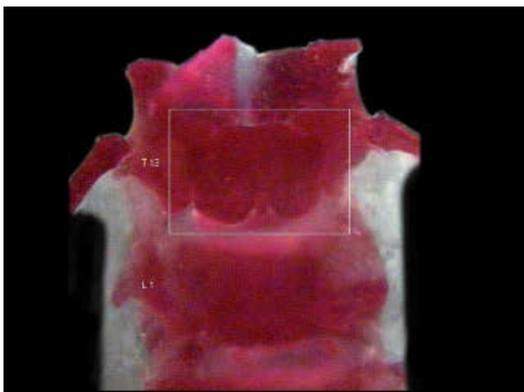
C.II.1., BWS PND 21, Thoracic centrum bipartite ossification



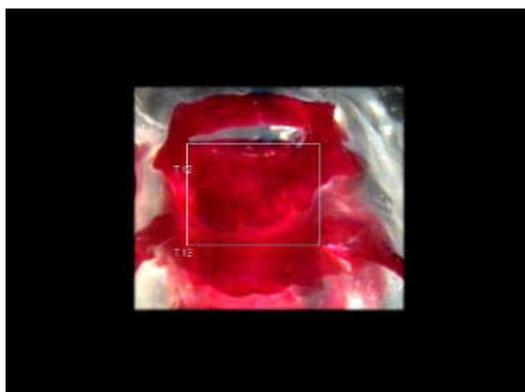
C.II.1.g., Control



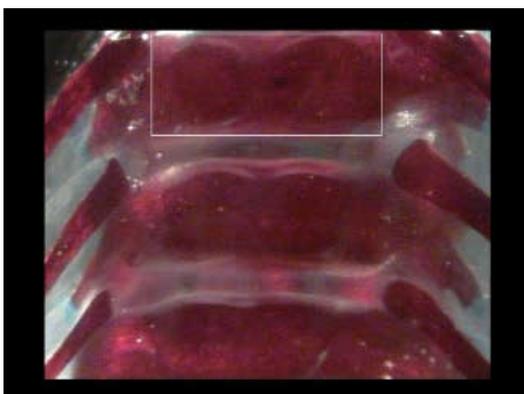
C.II.1.h., TC 10 bipartite ossification



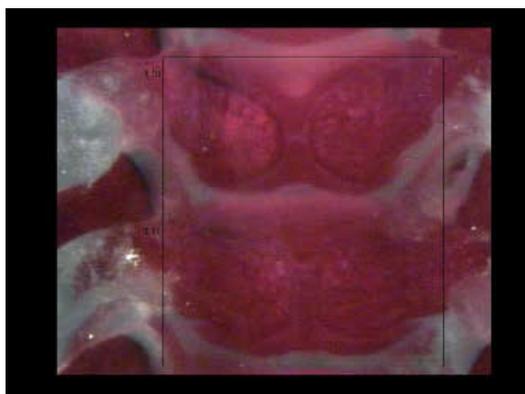
C.II.1.i., TC 13 bipartite ossification



C.II.1.j., TC 12 bipartite ossification

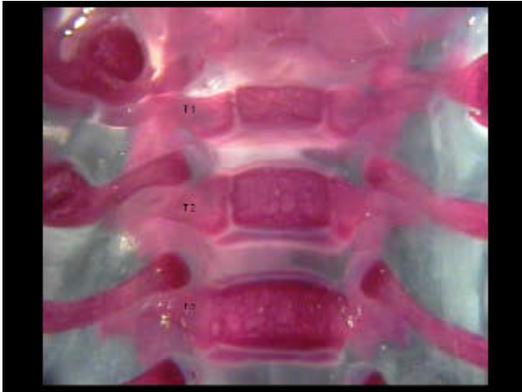


C.II.1.k., TC bipartite ossification

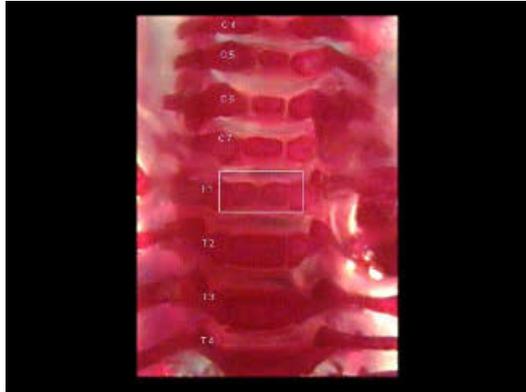


C.II.1.l., TC 10+11 bipartite ossification

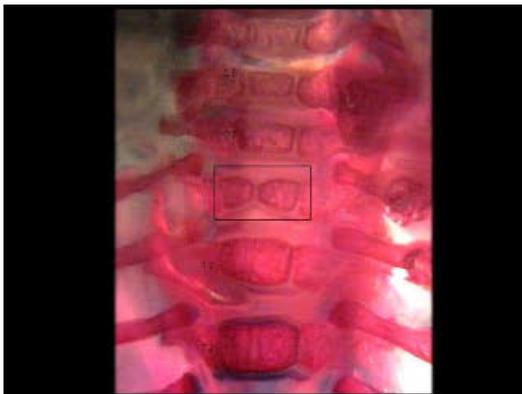
C.II.1., BWS PND 21, Thoracic centrum bipartite ossification



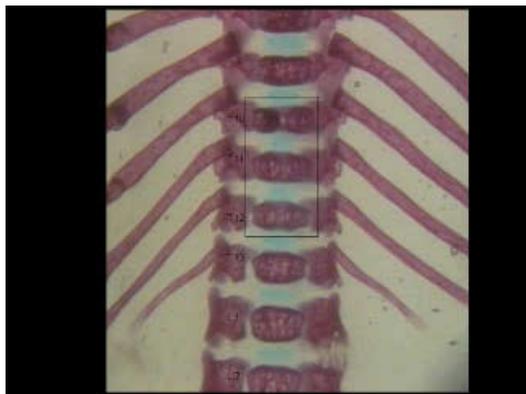
C.II.1.m., Control



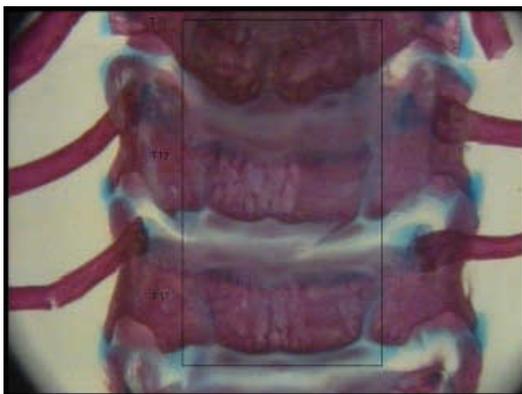
C.II.1.n., TC 1 bipartite ossification



C.II.1.o., TC 1 bipartite ossification



C.II.1.p., TC 10+11+12 bipartite ossification



C.II.1.q., TC 11+12+13 bipartite ossification



C.II.1.r., TC bipartite ossification

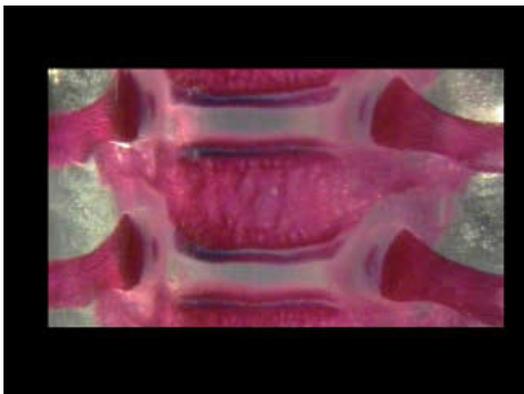
C.II.1., BWS PND 21, Thoracic centrum bipartite ossification



C.II.1.s., Control



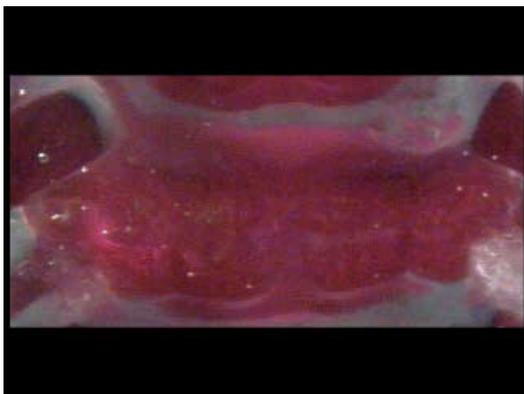
C.II.1.t., TC bipartite ossification



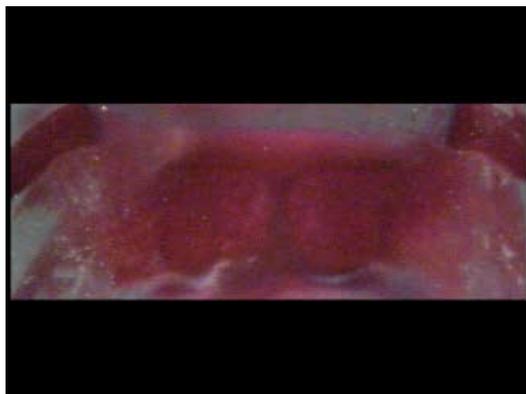
C.II.1.u., Control



C.II.1.v., TC bipartite ossification

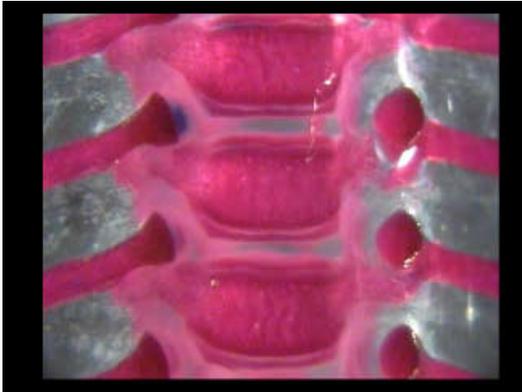


C.II.1.w., TC bipartite ossification

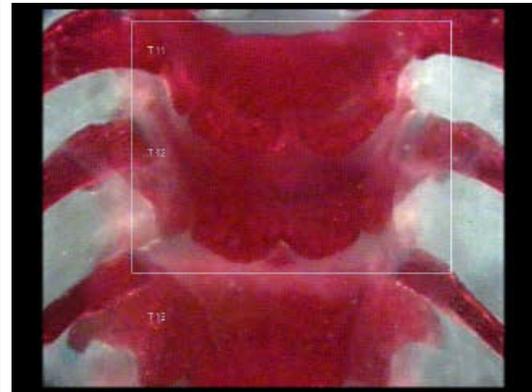


C.II.1.x., TC bipartite ossification

C.II.1., BWS PND 21, Thoracic centrum bipartite ossification

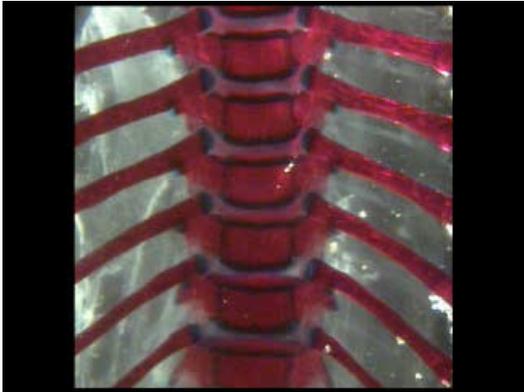


C.II.1.y., Control

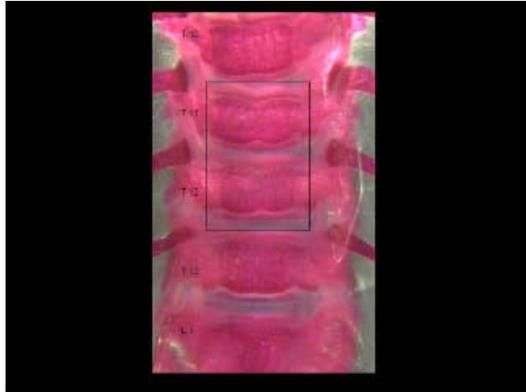


C.II.1.z., TC 11+12 bipartite ossification

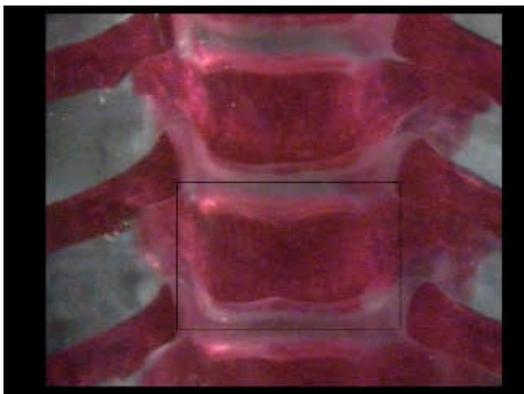
C.II.2., BWS PND 21, Thoracic centrum dumbbell-shaped



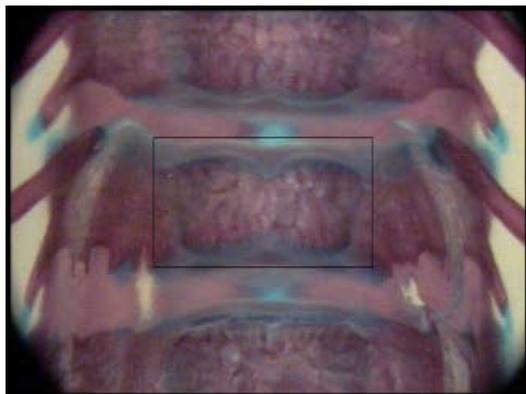
C.II.2.a., Control



C.II.2.b., TC 11+12 dumbbell-shaped



C.II.2.c., TC dumbbell-shaped



C.II.2.d., TC dumbbell-shaped

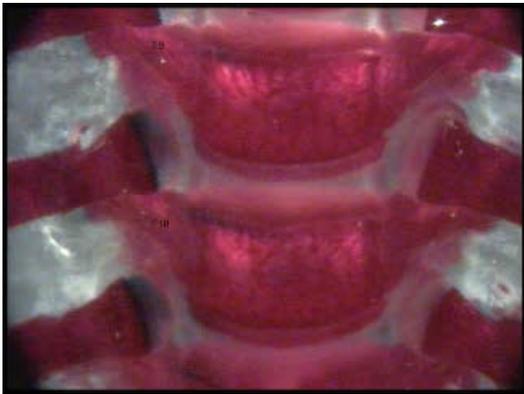


C.II.2.e., TC 11+12 dumbbell-shaped

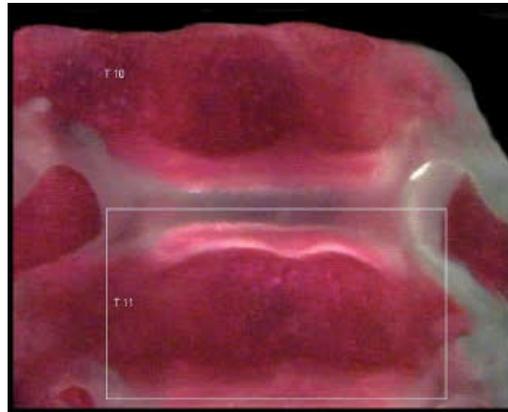


C.II.2.f., TC dumbbell-shaped

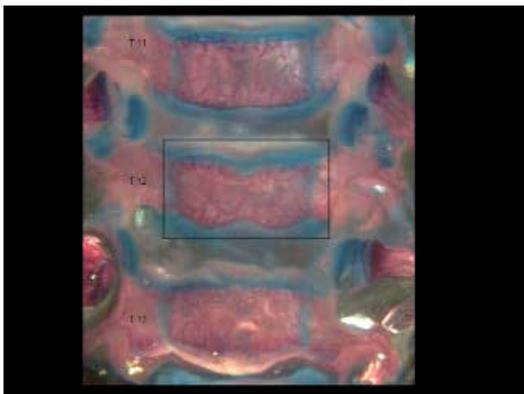
C.II.2., BWS PND 21, Thoracic centrum dumbbell-shaped



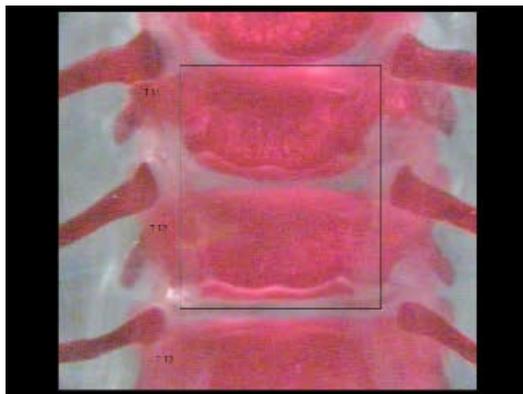
C.II.2.g., Control



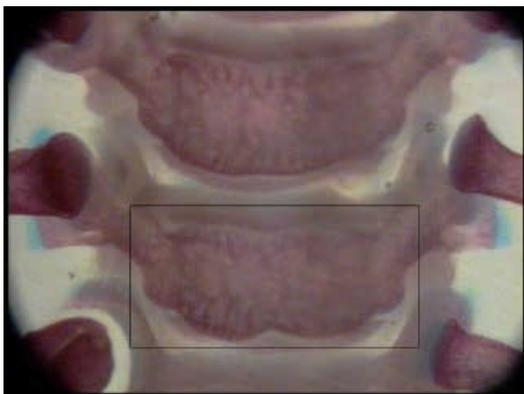
C.II.2.h., TC 11 dumbbell-shaped



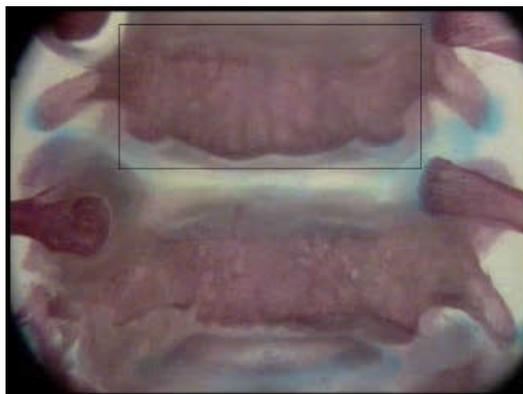
C.II.2.i., TC 12 dumbbell-shaped



C.II.2.j., TC 11+12 dumbbell-shaped

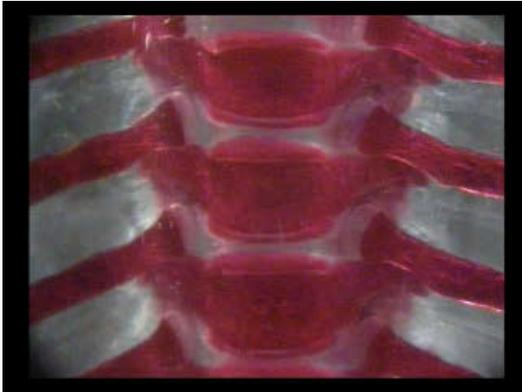


C.II.2.k., TC dumbbell-shaped

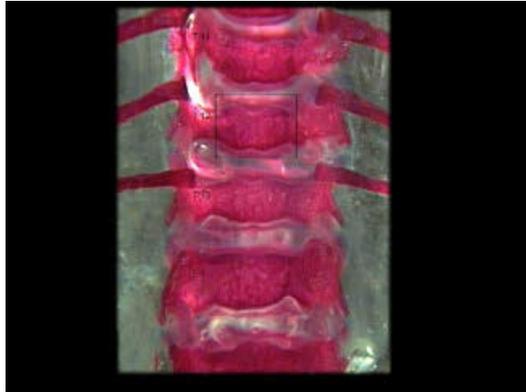


C.II.2.l., TC dumbbell-shaped

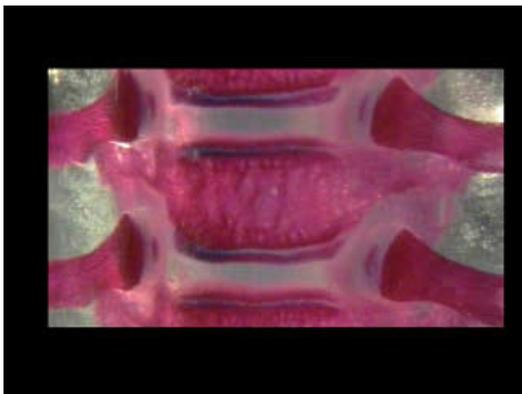
C.II.2., BWS PND 21, Thoracic centrum dumbbell-shaped



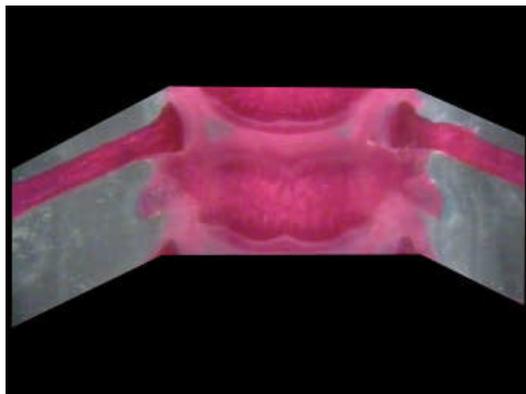
C.II.2.m., Control



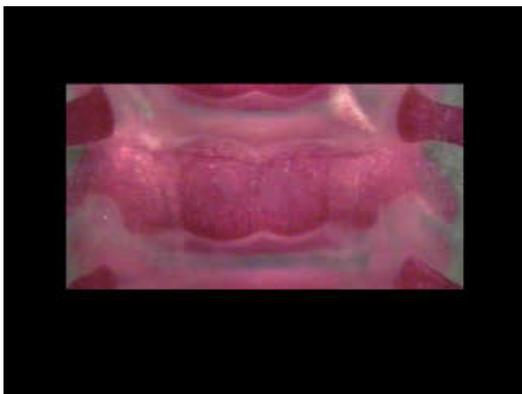
C.II.2.n., TC 12 dumbbell-shaped



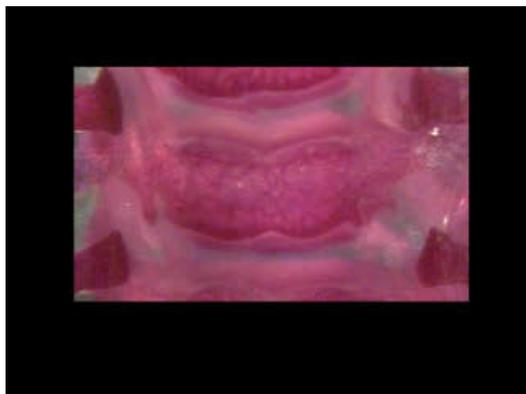
C.II.2.o., Control



C.II.2.p., TC dumbbell-shaped



C.II.2.q., TC dumbbell-shaped

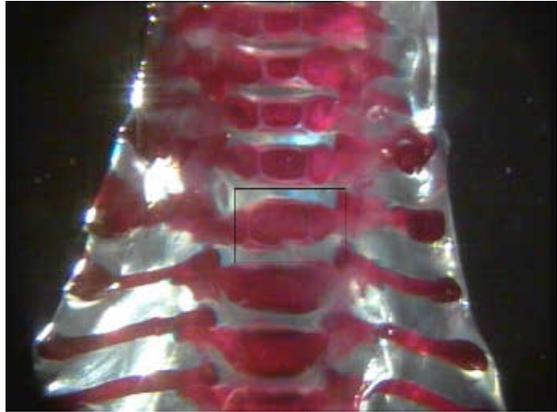


C.II.2.r., TC dumbbell-shaped

C.II.3., BWS PND 21, Thoracic centrum misshapen



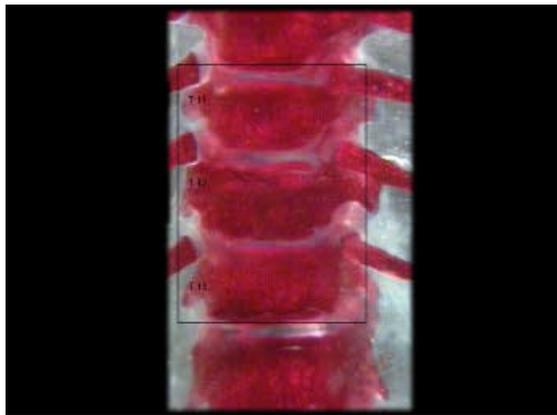
C.II.3.a., Control



C.II.3.b., TC misshapen



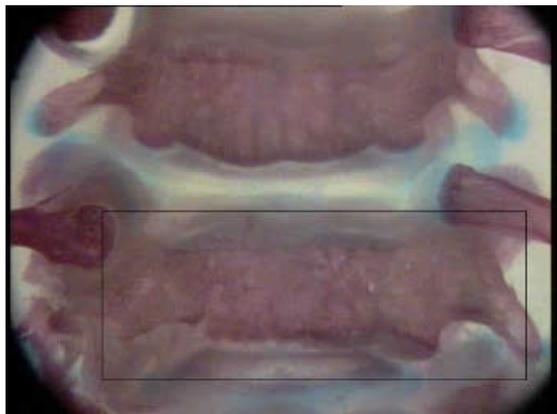
C.II.3.c., Control



C.II.3.d., TC 11+12+13 misshapen

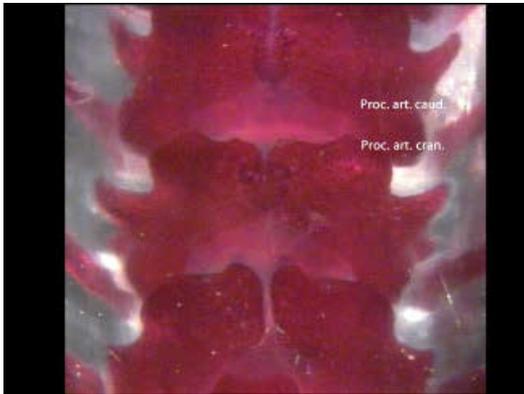


C.II.3.e., Control

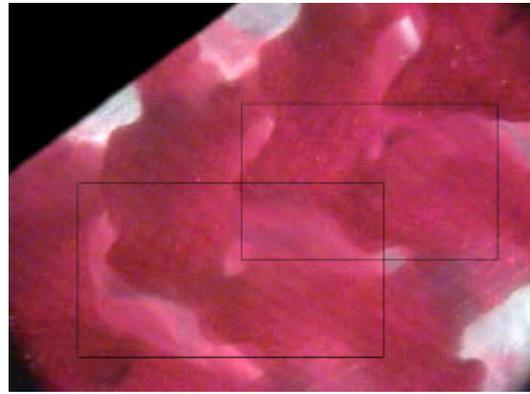


C.II.3.f., TC misshapen

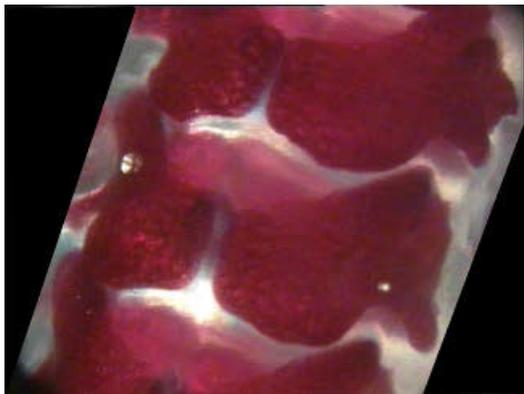
C.II.4., BWS PND 21, Thoracic arch misshapen



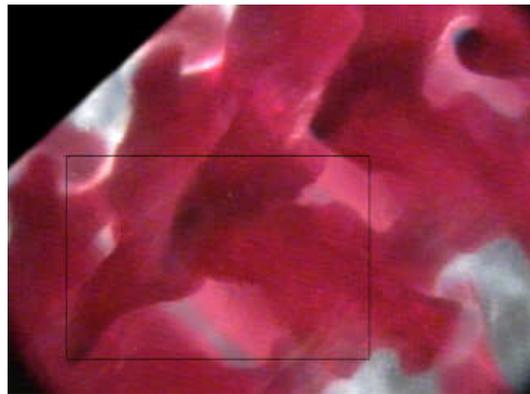
C.II.4.a., Control



C.II.4.b., Thoracic arch misshapen



C.II.4.c., Control

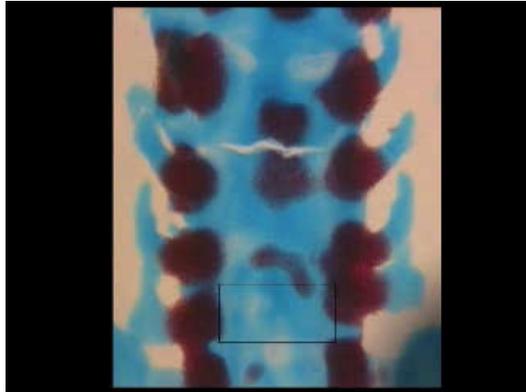


C.II.4.c., Thoracic arch misshapen

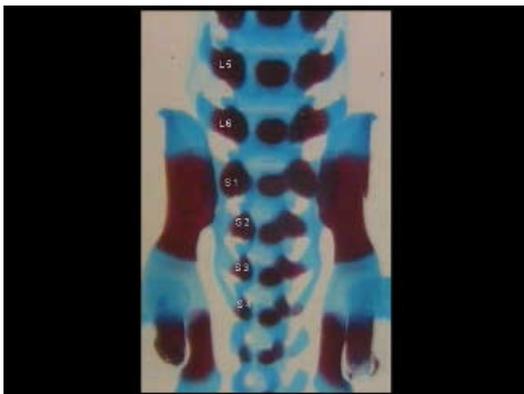
A.III.1., LWS GD 21, Lumbar centrum unossified



A.III.1.a., Control



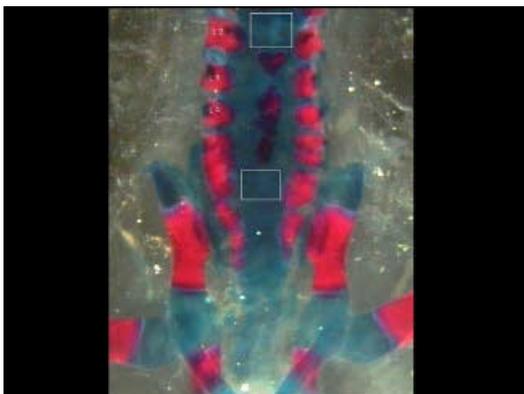
A.III.1.b., LC unossified



A.III.1.c., Control



A.III.1.d., LC unossified



A.III.1.e., LC unossified

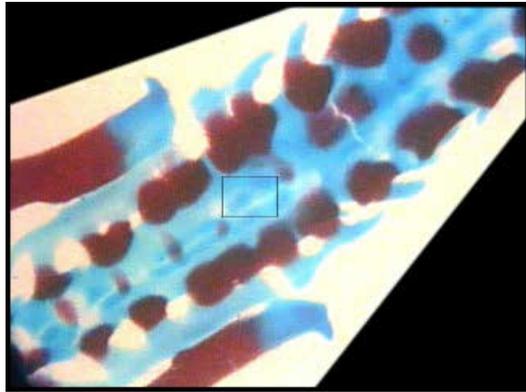


A.III.1.f., LC unossified

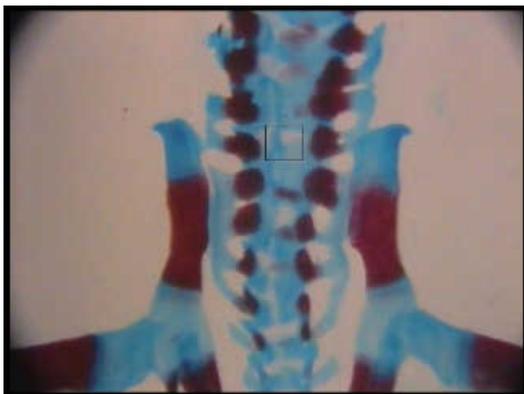
A.III.1., LWS GD 21, Lumbar centrum unossified



A.III.1.g., Control



A.III.1.h., LC unossified



A.III.1.i., LC unossified

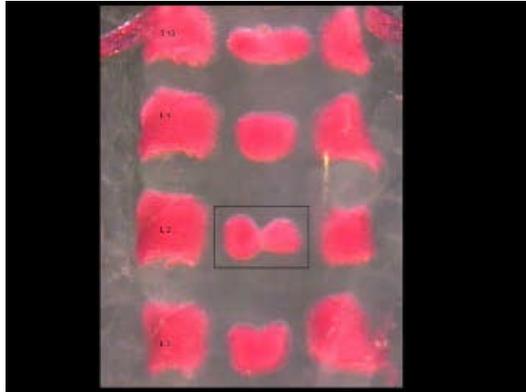


A.III.1.j., LC unossified

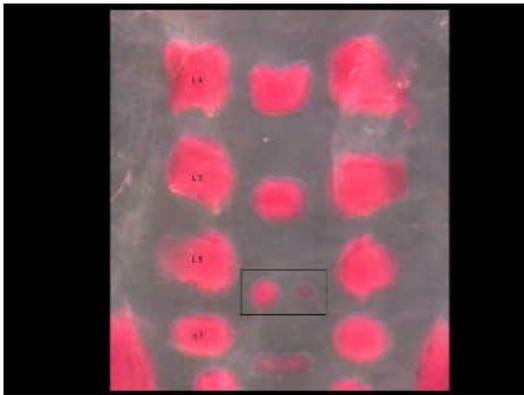
A.III. 2., LWS GD 21, Lumbar centrum asymmetric ossification



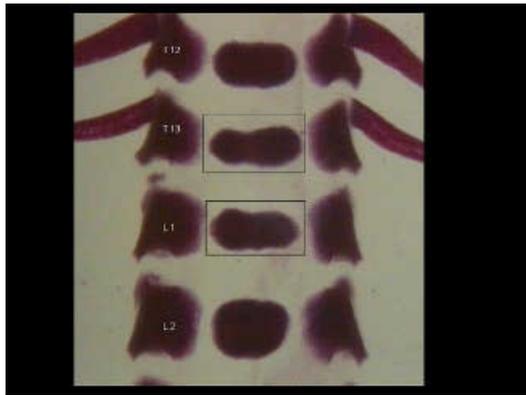
A.III.2.a., Control



A.III.2.b., LC 2 asymmetric ossification



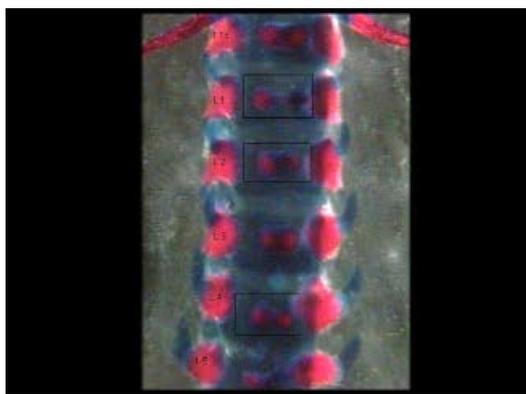
A.III.2.c., LC 6 asymmetric ossification



A.III.2.d., TC 13 + LC 1 asymmetric ossification

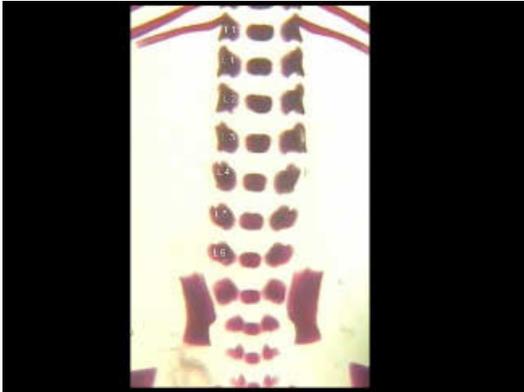


A.III.2.e., LC 2+5 asymmetric ossification

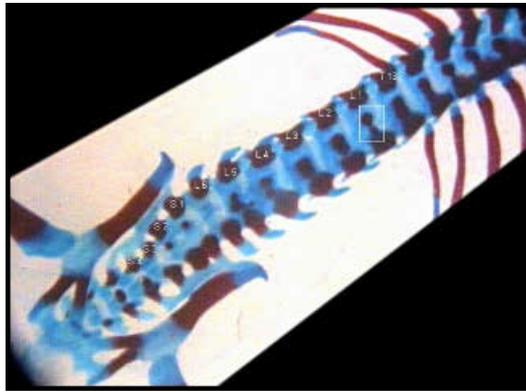


A.III.2.f., LC 1+2+4 asymmetric ossification

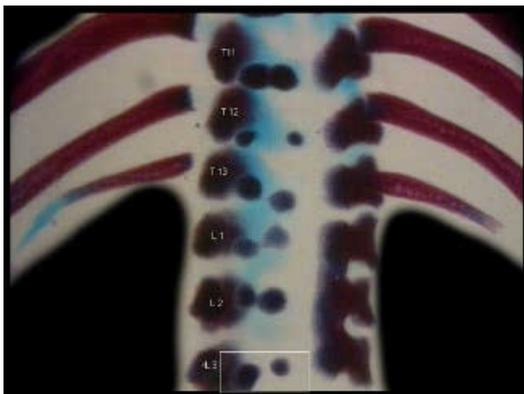
A.III.2., LWS GD 21, Lumbar centrum asymmetric ossification



A.III.2.g., Control



A.III.2.h., LC 1 asymmetric ossification



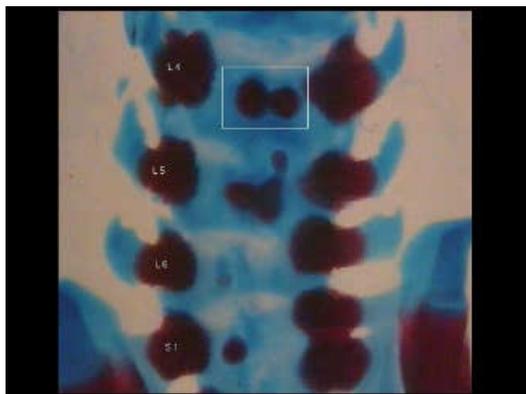
A.III.2.i., LC 3 asymmetric ossification



A.III.2.j., Control



A.III.2.k., LC 1 asymmetric ossification

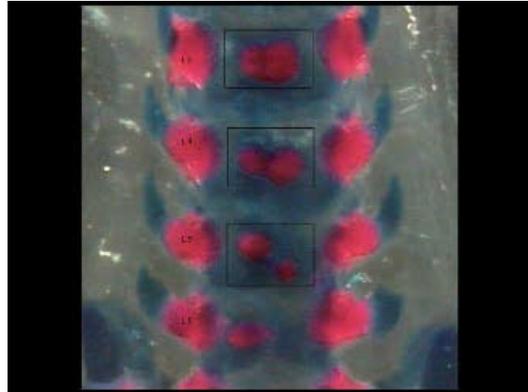


A.III.2.l., LC 4 asymmetric ossification

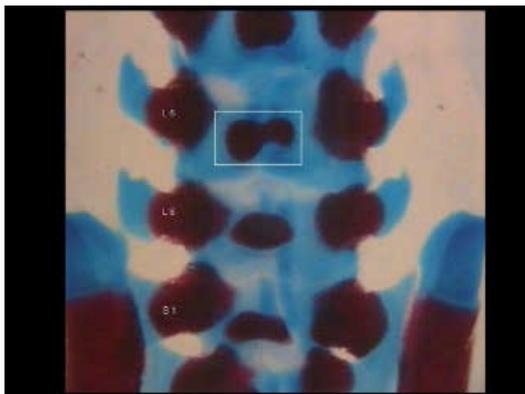
A.III.2., LWS GD 21, Lumbar centrum asymmetric ossification



A.III.3.m., Control



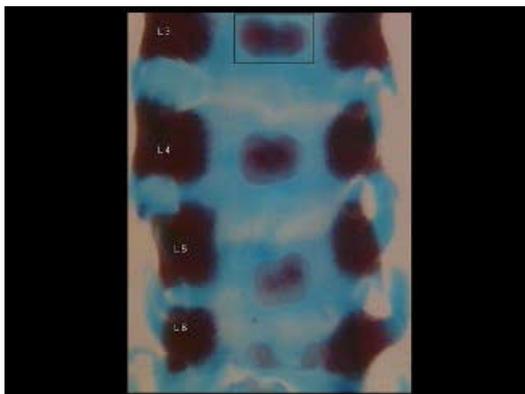
A.III.3.n., LC 3+4+5 asymmetric ossification



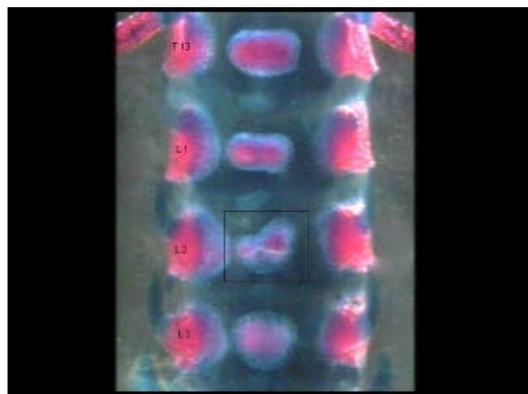
A.III.2.o., LC 5 asymmetric ossification



A.III.2.p., LC 1 asymmetric ossification



A.III.2.q., LC 3 asymmetric ossification

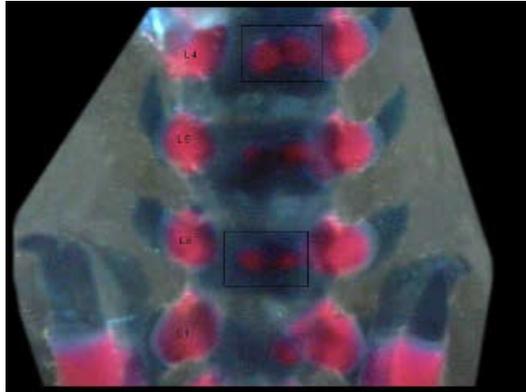


A.III.2.r., LC 2 asymmetric ossification

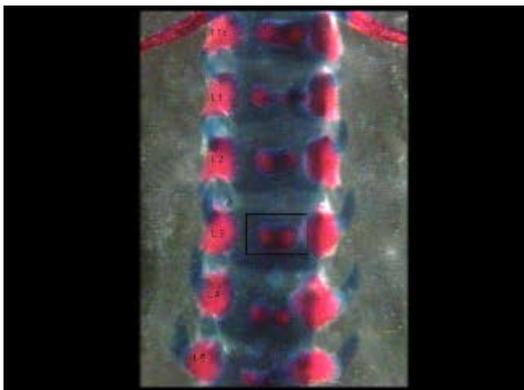
A.III.3., LWS GD 21, Lumbar centrum bipartite ossification



A.III.3.a., Control



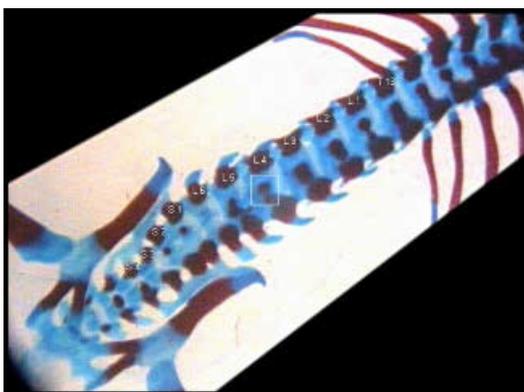
A.III.3.b., LC 6 bipartite ossification



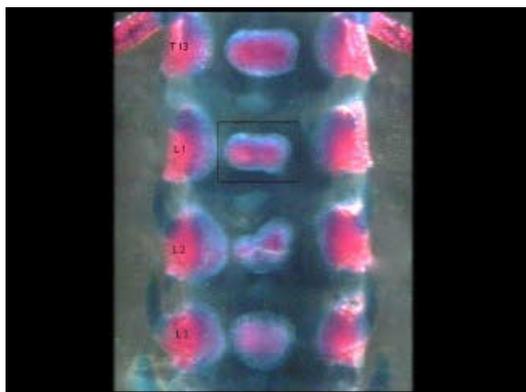
A.III.3.c., LC 3 bipartite ossification



A.III.3.d., LC 2 bipartite ossification



A.III.3.e., LC 4 bipartite ossification



A.III.3.f., LC 1 bipartite ossification

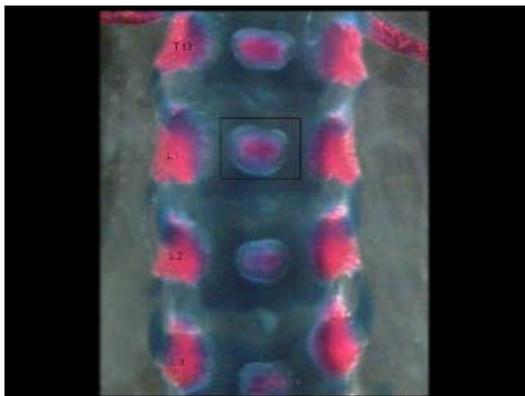
A.III.3., LWS GD 21, Lumbar centrum bipartite ossification



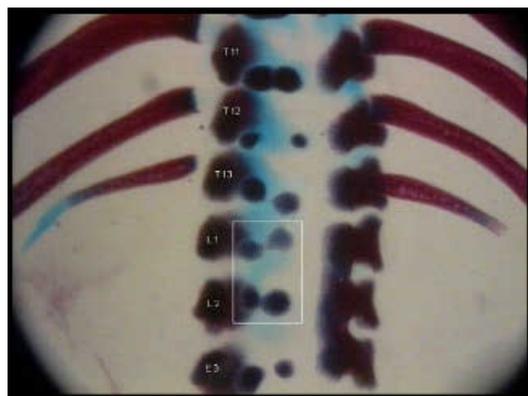
A.III.3.g., Control



A.III.3.h., LC 2 bipartite ossification



A.III.3.i., LC 1 bipartite ossification

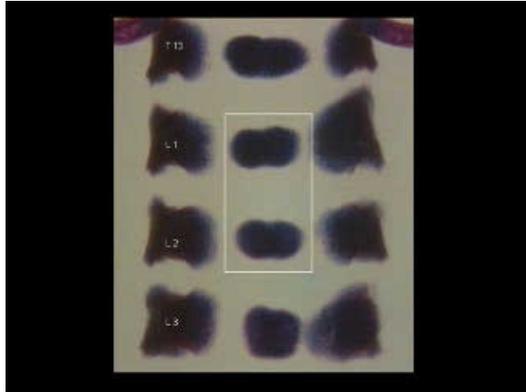


A.III.3.j., LC 1+2 bipartite ossification

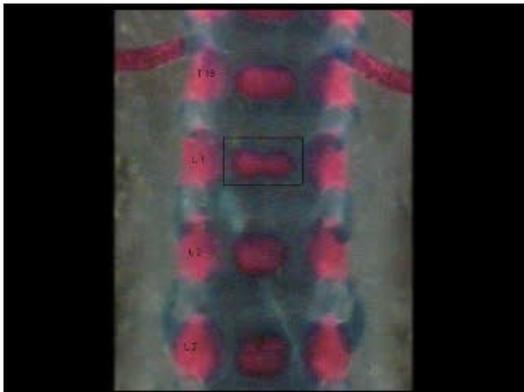
A.III.4., LWS GD 21, Lumbar centrum dumbbell-shaped



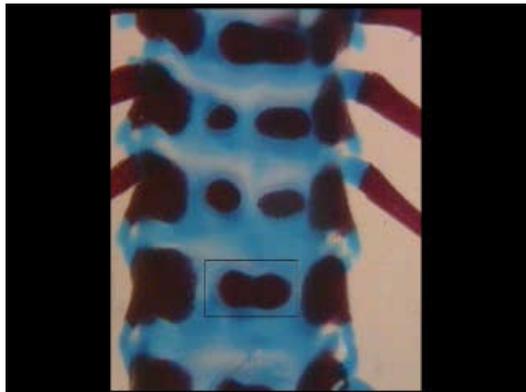
A.III.4.a., Control



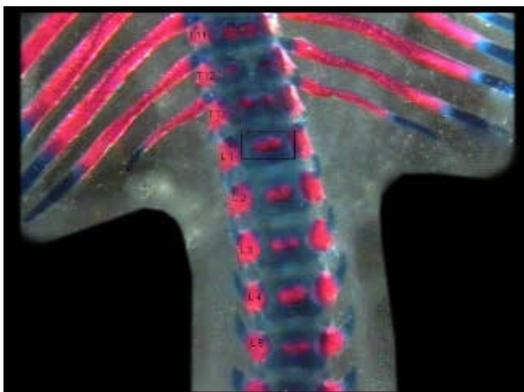
A.III.4.b., LC 1+2 dumbbell-shaped



A.III.4.c., LC 1 dumbbell-shaped



A.III.4.d., LC 1 dumbbell-shaped

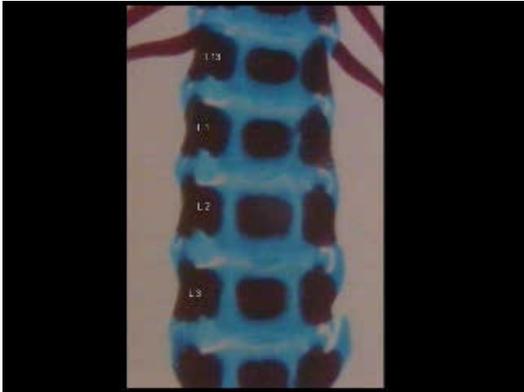


A.III.4.e., LC 1 dumbbell-shaped

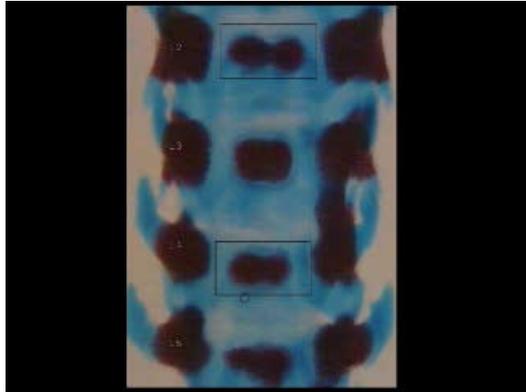


A.III.4.f., LC 1 dumbbell-shaped

A. III.4., LWS GD 21, Lumbar centrum dumbbell-shaped



A.III.4.g., Control



A.III.4.h., LC 2+4 dumbbell-shaped

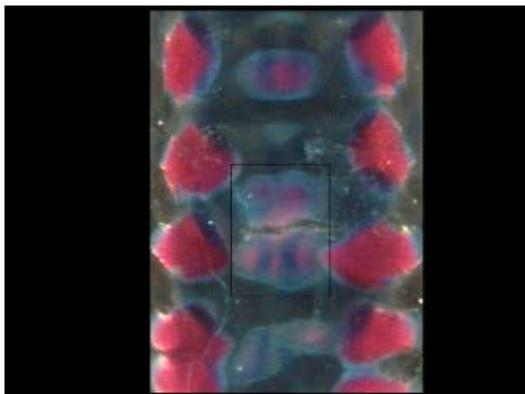
A.III.5., LWS GD 21, Lumbar centrum fused



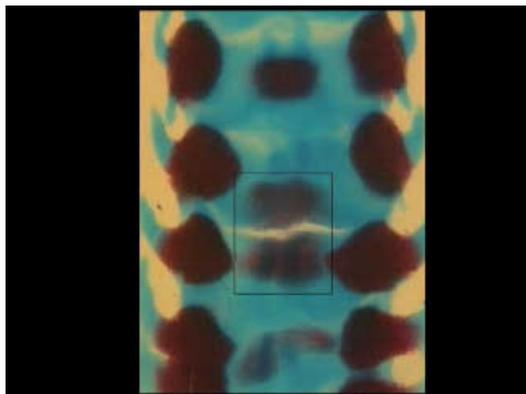
A.III.5.a., Control



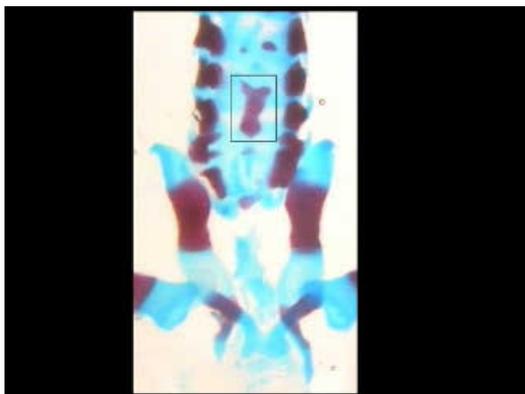
A.III.5.b., LC fused



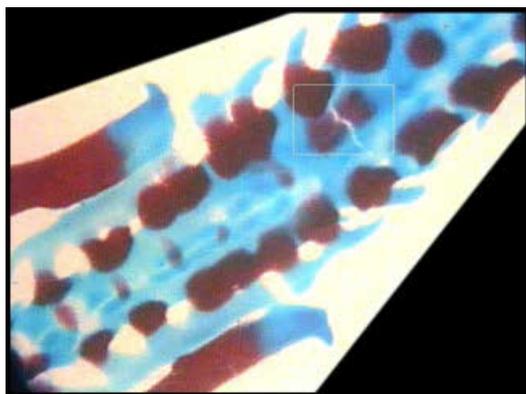
A.III.5.c., LC fused



A.III.5.d., LC fused

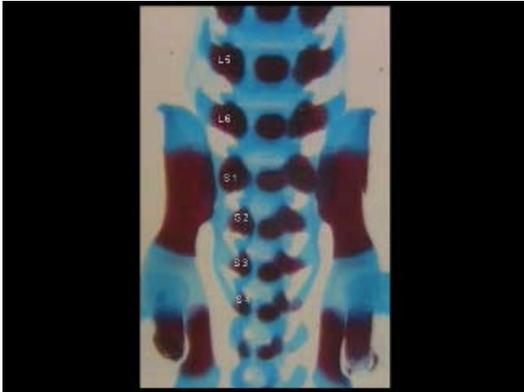


A.III.5.e., LC fused



A.III.5.f., LC fused

A.III.5., LWS GD 21, Lumbar centrum fused



A.III.5.g., Control



A.III.5.h., LC fused



A.III.5.i., LC fused

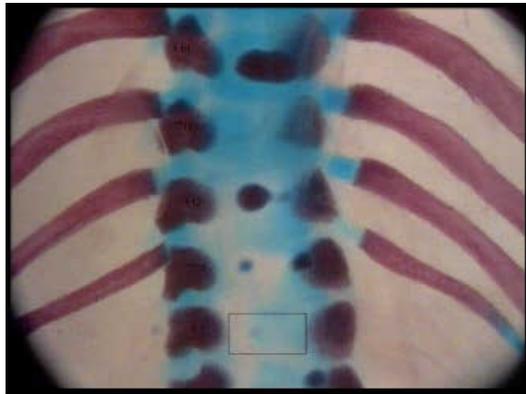


A.III.5.j., LC fused

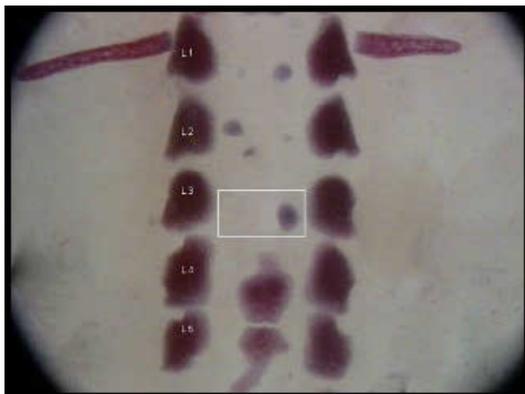
A.III.6., LWS GD 21, Lumbar centrum hemicentric



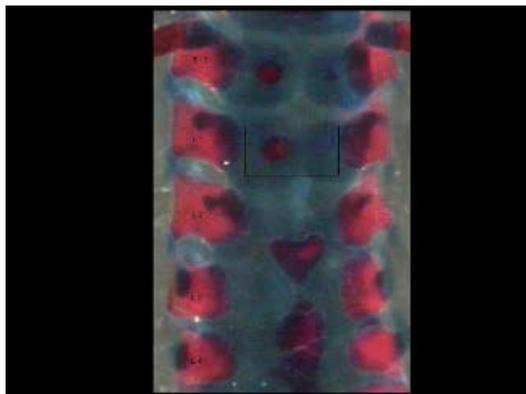
A.III.6.a., Control



A.III.6.b., LC 1 hemicentric



A.III.6.c., LC 3 hemicentric



A.III.6.d., LC 1 hemicentric



A.III.6.e., LC 4 hemicentric

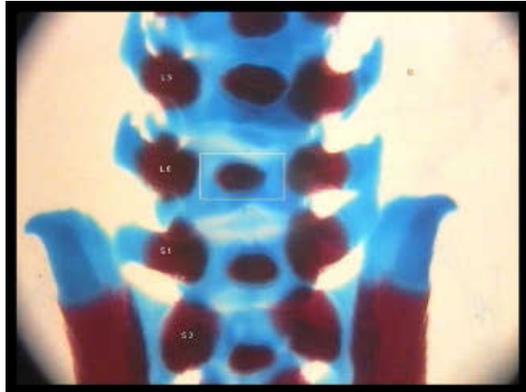


A.III.6.f., LC 5 hemicentric

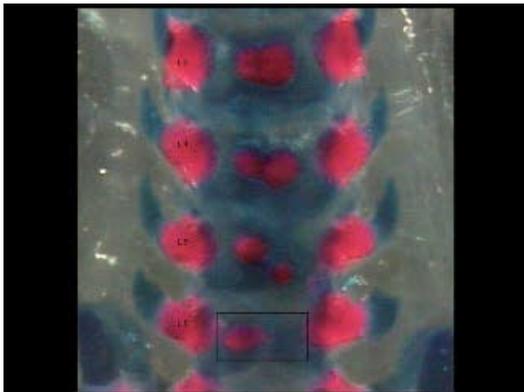
A.III.6., LWS GD 21, Lumbar centrum hemicentric



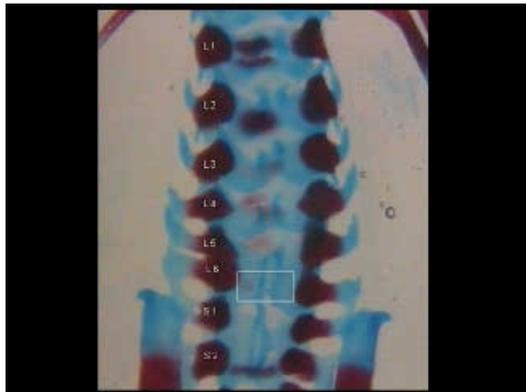
A.III.6.g., Control



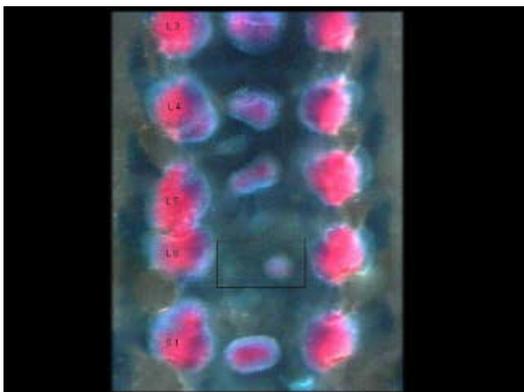
A.III.6.h., LC 6 hemicentric



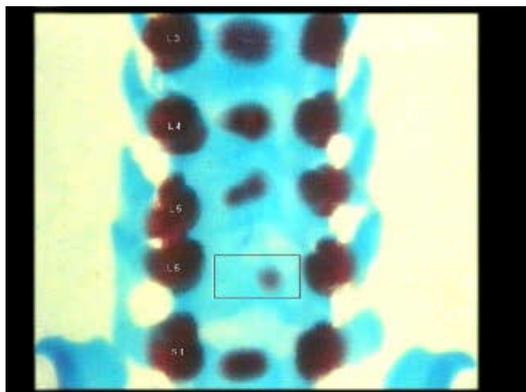
A.III.6.i., LC 6 hemicentric



A.III.6.j., LC 6 hemicentric

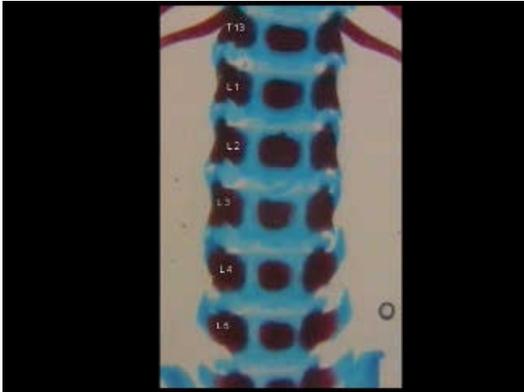


A.III.6.k., LC 6 hemicentric

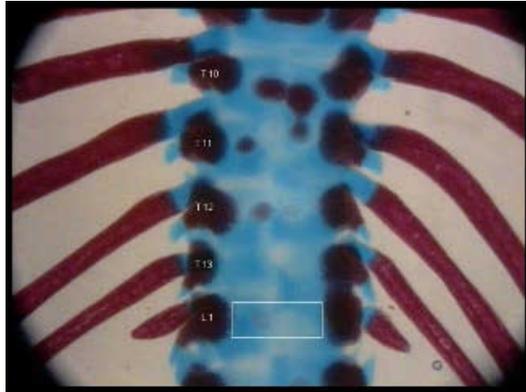


A.III.6.l., LC 6 hemicentric

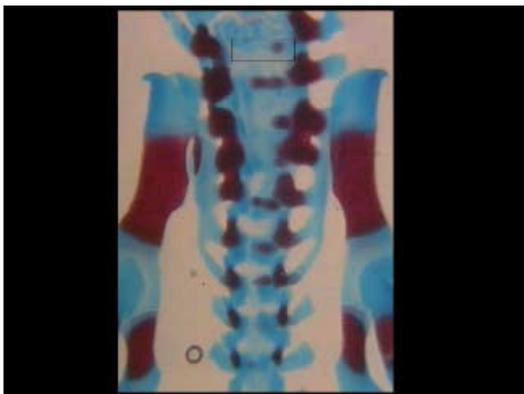
A.III.6., LWS GD 21, Lumbar centrum hemicentric



A.III.6.m., Control

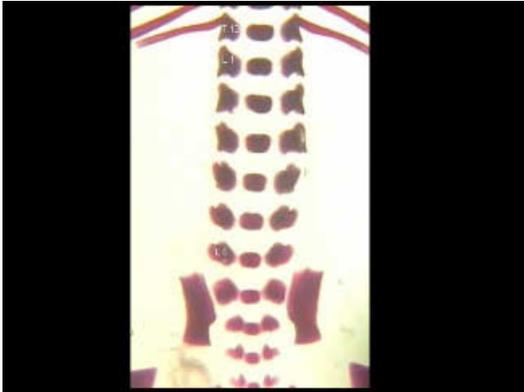


A.III.6.n., LC 1 hemicentric



A.III.6.o., LC 6 hemicentric

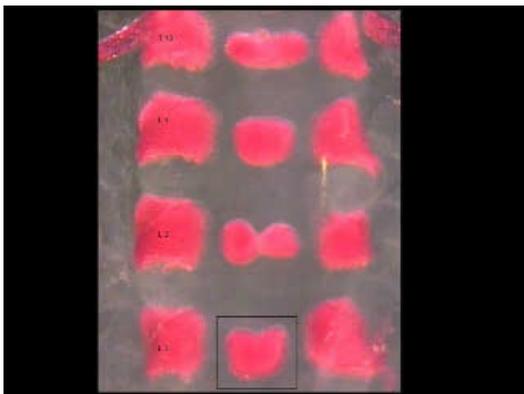
A.III.7., LWS GD 21, Lumbar centrum misshapen



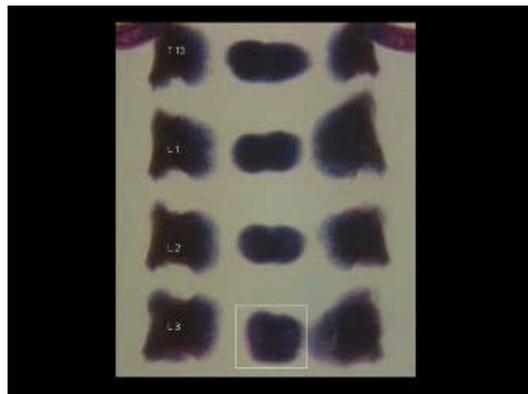
A.III.7.a., Control



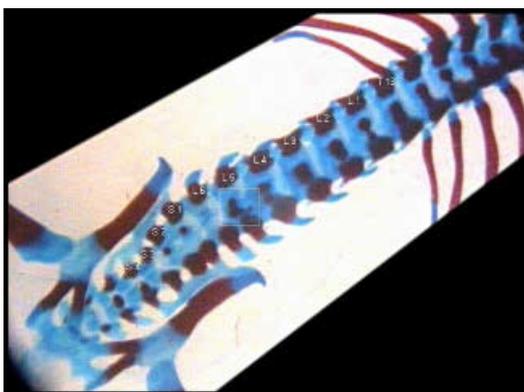
A.III.7.b., LC 4+5 misshapen



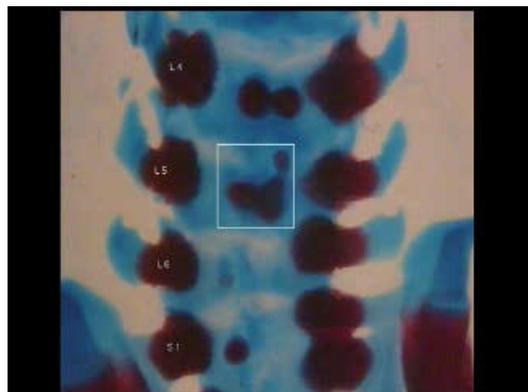
A.III.7.c., LC 3 misshapen



A.III.7.d., LC 3 misshapen



A.III.7.e., LC 5 misshapen

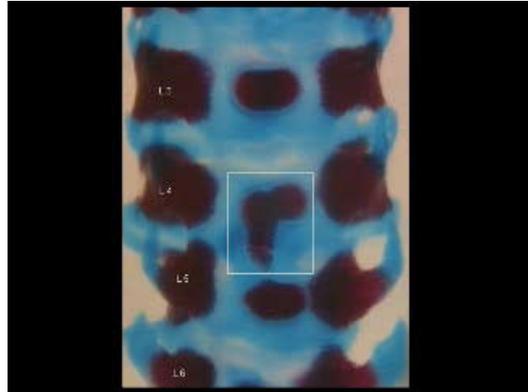


A.III.7.f., LC 5 misshapen

A.III.7., LWS GD 21, Lumbar centrum misshapen



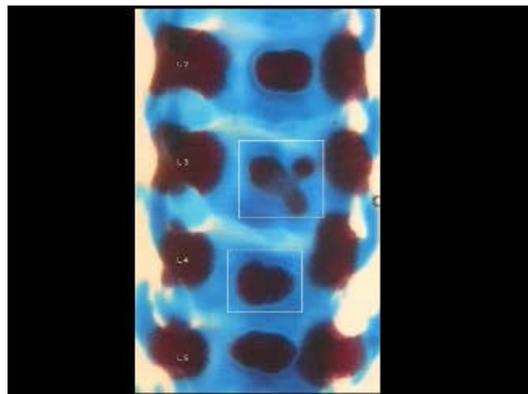
A.III.7.g., Control



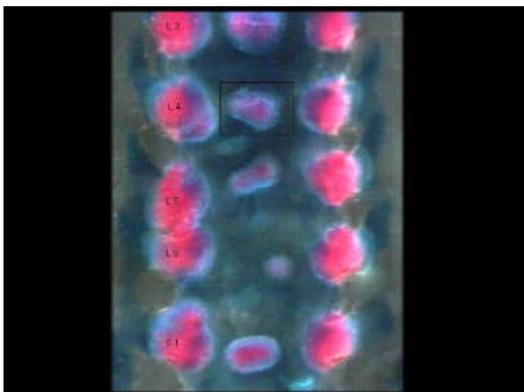
A.III.7.h., LC 4 misshapen



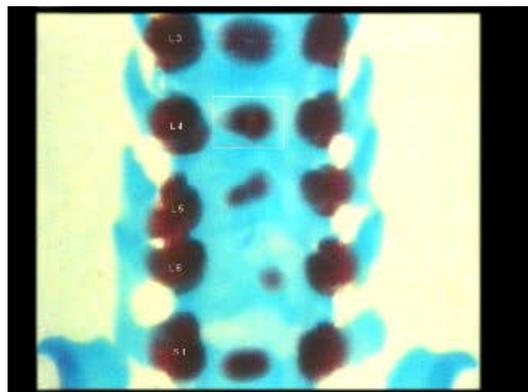
A.III.7.i., LC 1 misshapen



A.III.7.j., LC 3+4 misshapen

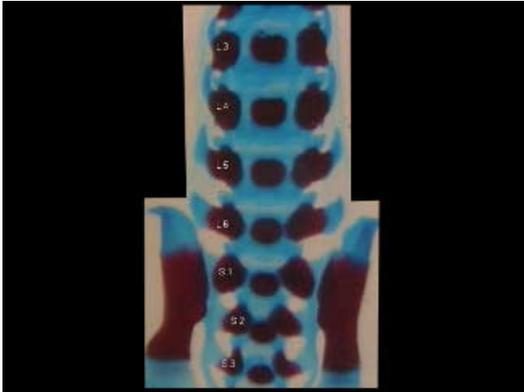


A.III.7.k., LC 4 misshapen

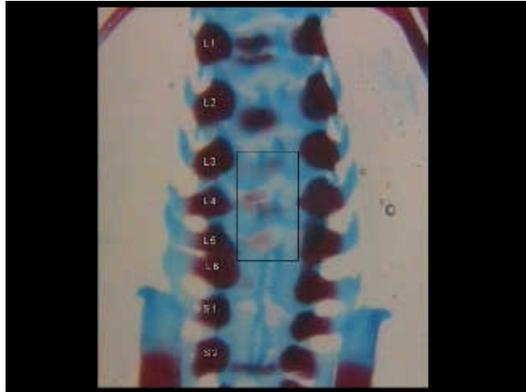


A.III.7.l., LC 4 misshapen

A.III.7., LWS GD 21, Lumbar centrum misshapen



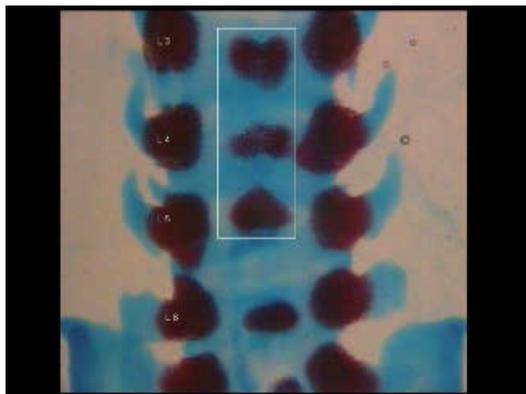
A.III.7.m., Control



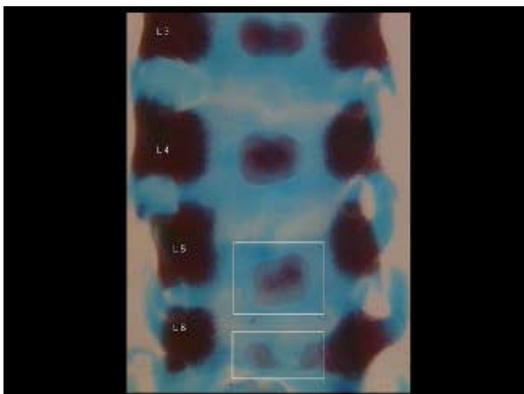
A.III.7.n., LC 3+4+5 misshapen



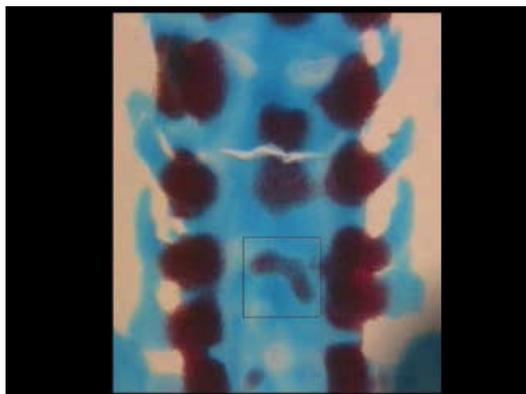
A.III.7.o., LC misshapen



A.III.7.p., LC 3+4+5 misshapen

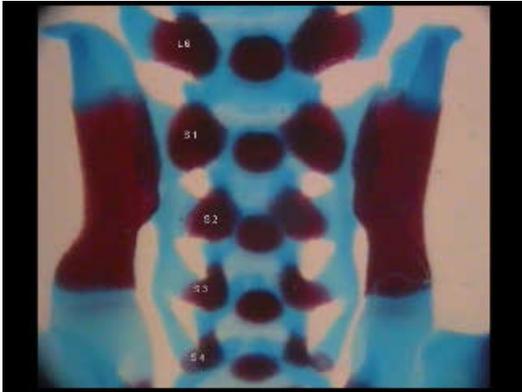


A.III.7.q., LC 5+6 misshapen

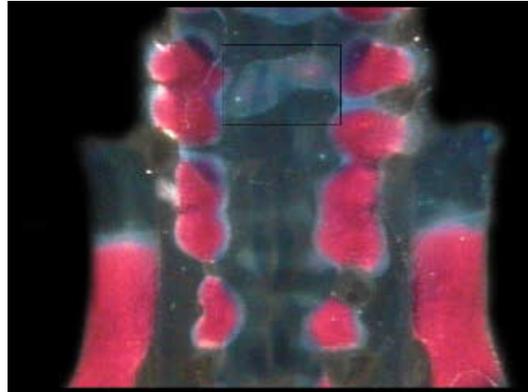


A.III.7.r., LC misshapen

A.III.7., LWS GD 21, Lumbar centrum misshapen



A.III.7.s., Control



A.III.7.t., LC misshapen

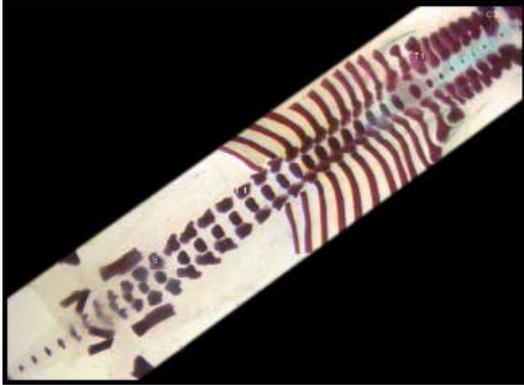
A.III.8., LWS GD 21, Lumbar centrum malpositioned



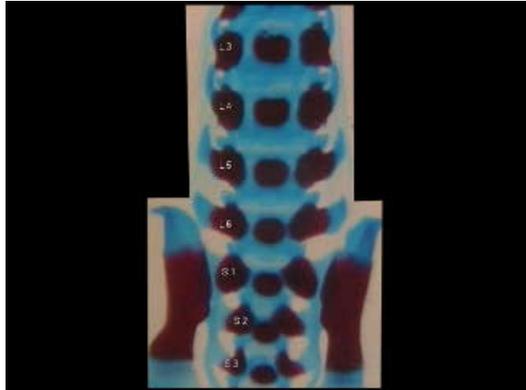
A.III.8.a., Control

A.III.8.b., LC malpositioned

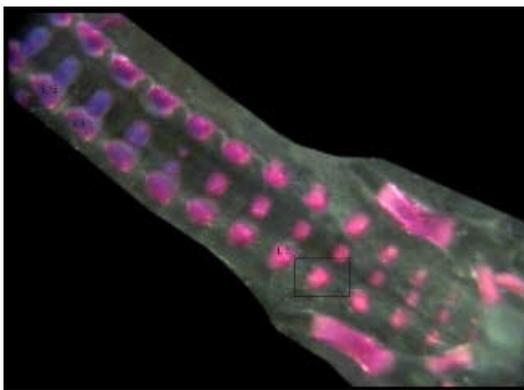
A.III.9., LWS GD 21, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



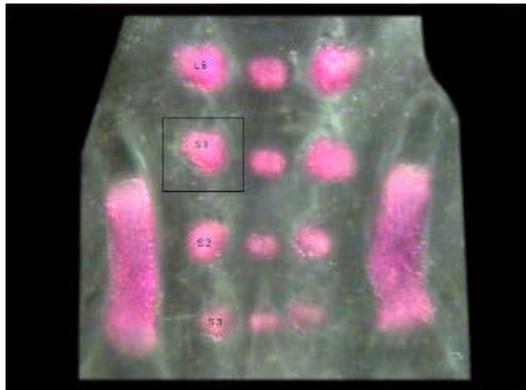
A.III.9.a., Control



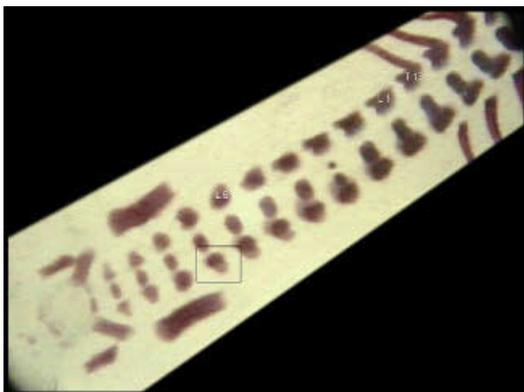
A.III.9.b., Control



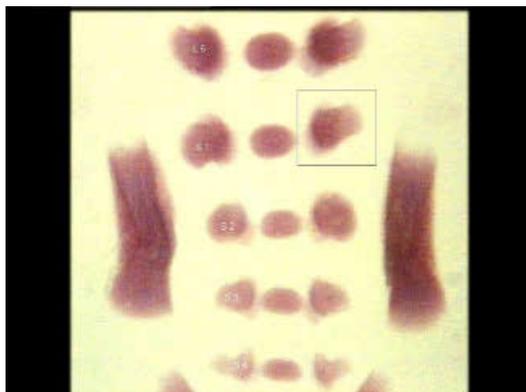
A.III.9.c., LC supernumerary dexter



A.III.9.d., LC supernumerary dexter

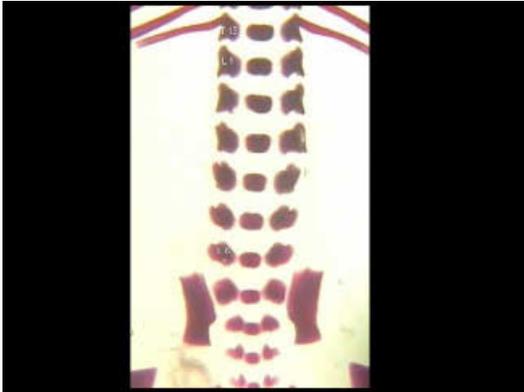


A.III.9.e., LC supernumerary sinister

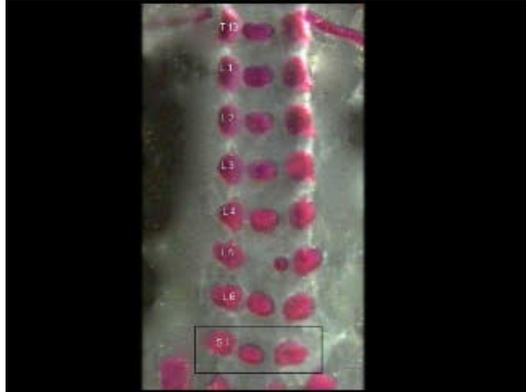


A.III.9.f., LC supernumerary sinister

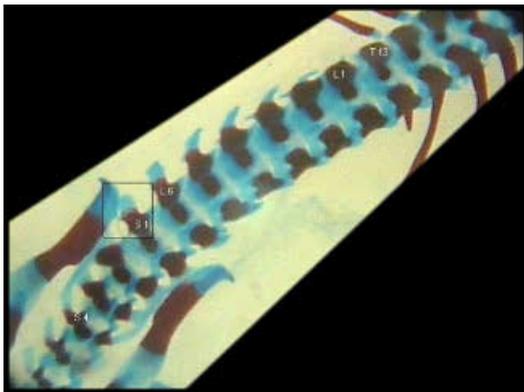
A.III.9., LWS GD 21, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



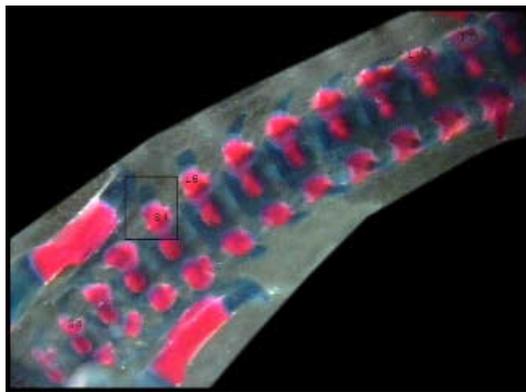
A.III.9.g., Control



A.III.9.h., LC supernumerary dexter



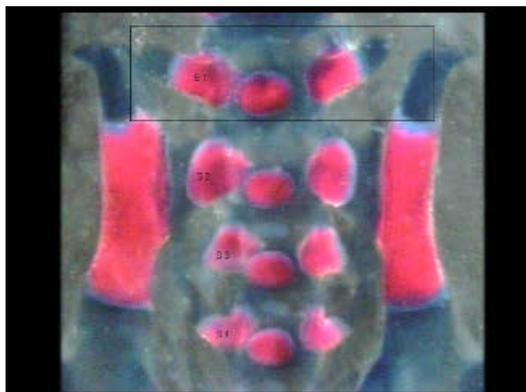
A.III.9.i., LC supernumerary dexter



A.III.9.j., LC supernumerary dexter

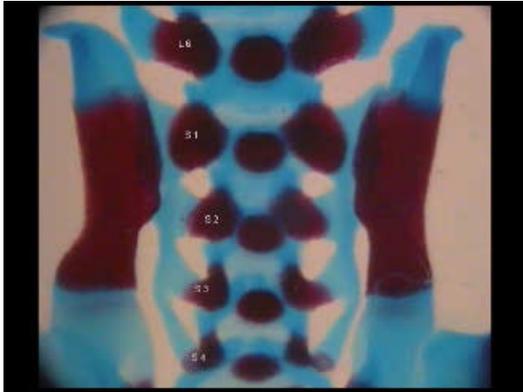


A.III.9.k., LC supernumerary
sinister+dexter

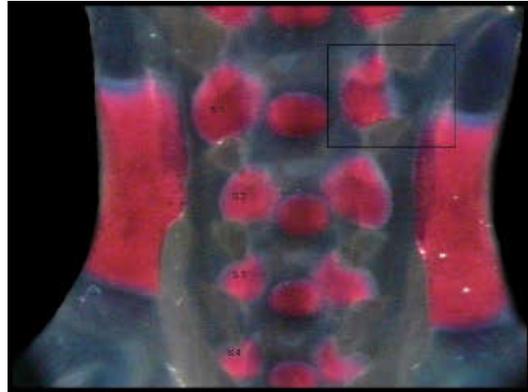


A. III.9.l., LC supernumerary
sinister+ dexter

A.III.9. LWS GD 21, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



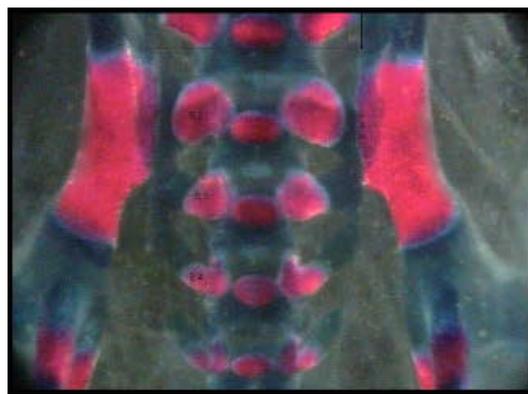
A.III.9.m., Control



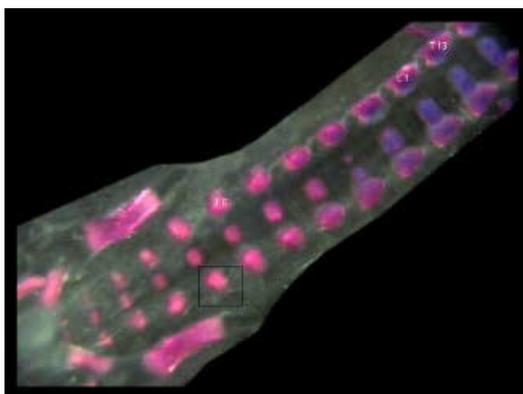
A.III.9.n., LC supernumerary sinister



A.III.9.o., LC supernumerary
sinister+dexter



A.III.9.p., LC supernumerary
sinister+dexter

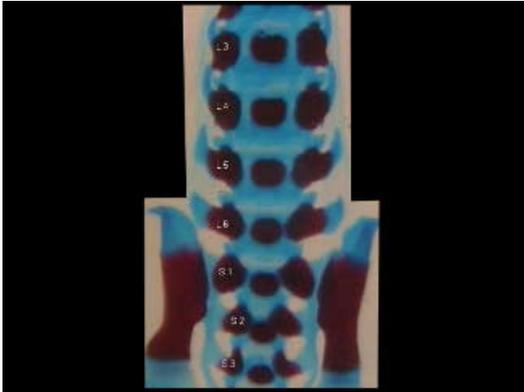


A.III.9.q., LC supernumerary sinister

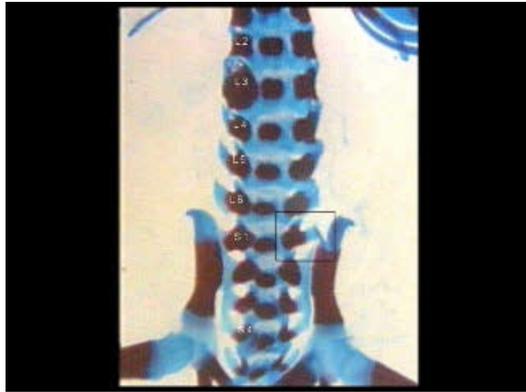


A.III.9.r., LC supernumerary
sinister+dexter

A.III.9., LWS GD 21, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



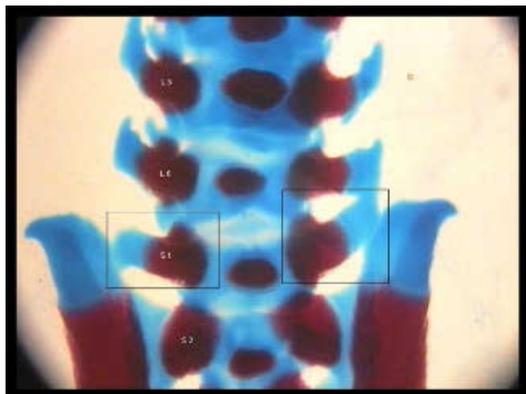
A.III.9.s., Control



A.III.9.t., LC supernumerary sinister



A.III.9.u., LC supernumerary
sinister+dexter

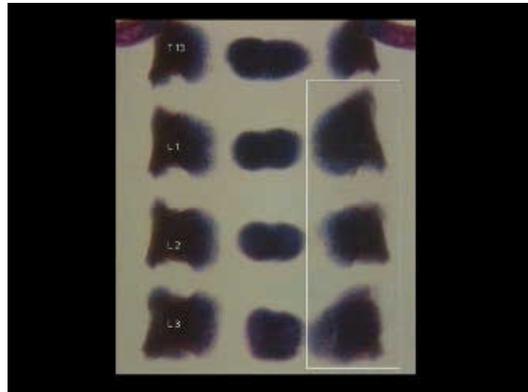


A.III.9.v., LC supernumerary
sinister+dexter

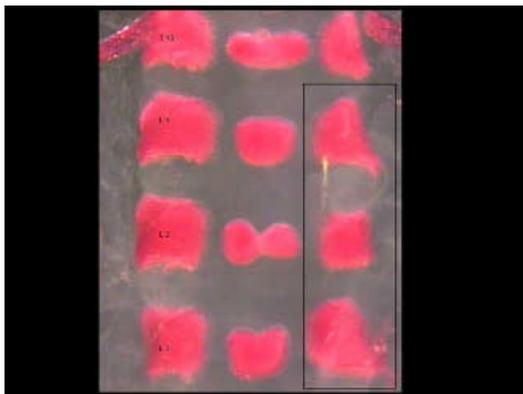
A.III.10., LWS GD 21, Lumbar arch misshapen



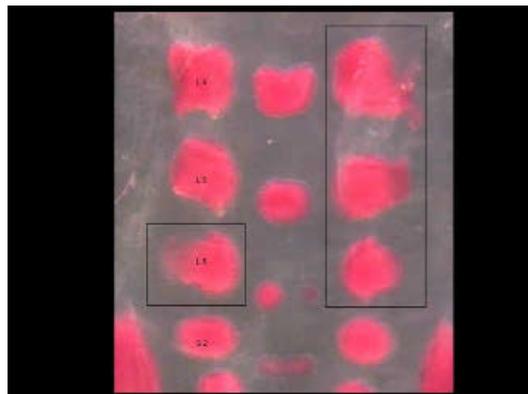
A.III.10.a., Control



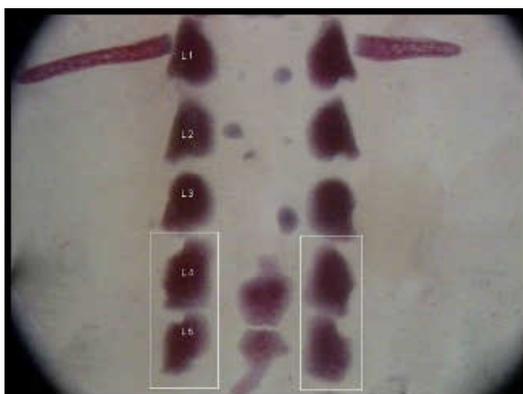
A.III.10.b., Lumbar arch misshapen



A.III.10.c., Lumbar arch misshapen



A.III.10.d., Lumbar arch misshapen

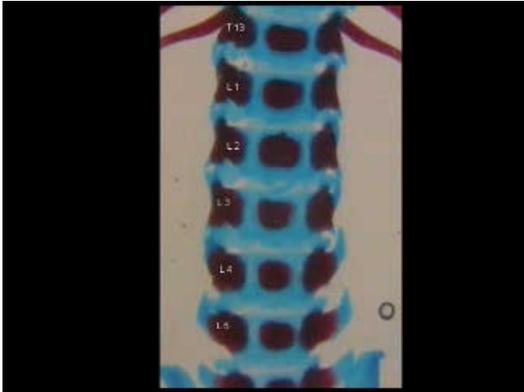


A.III.10.e., Lumbar arch misshapen



A.III.10.f., Lumbar arch misshapen

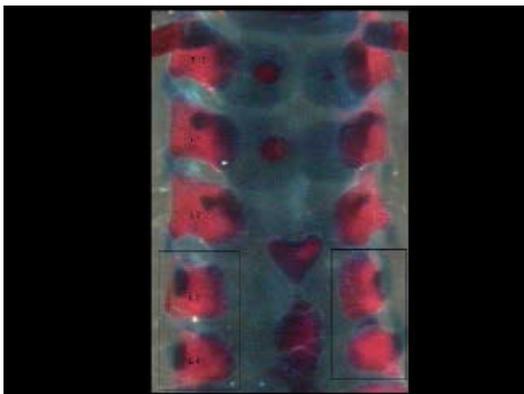
A.III.10., LWS GD 21, Lumbar arch misshapen



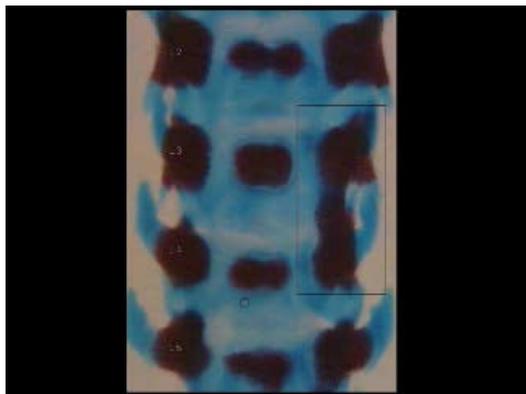
A.III.10.g., Control



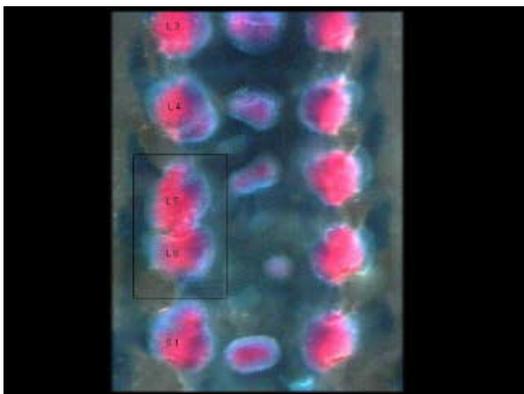
A.III.10.h., Lumbar arch misshapen



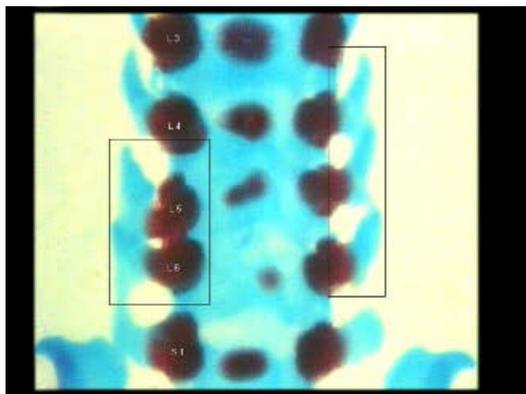
A.III.10.i., Lumbar arch misshapen



A.III.10.j., Lumbar arch misshapen

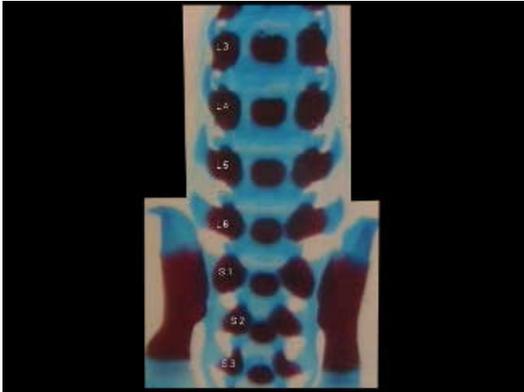


A.III.10.k., Lumbar arch misshapen

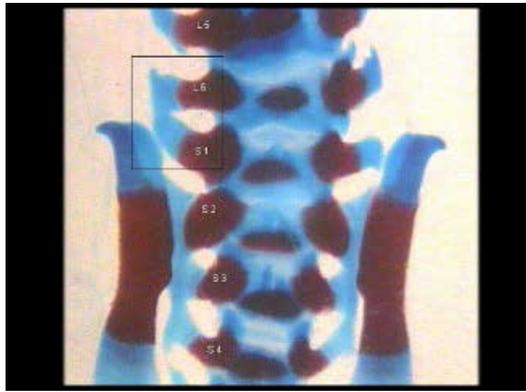


A.III.10.l., Lumbar arch misshapen

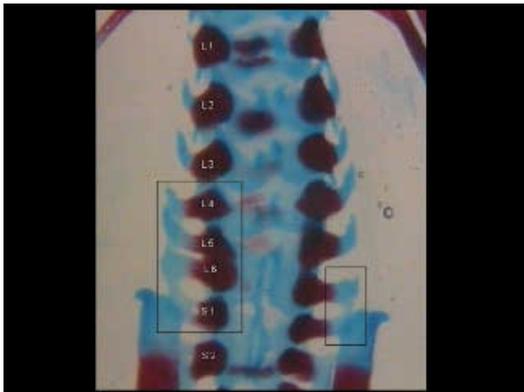
A.III.10., LWS GD 21, Lumbar arch misshapen



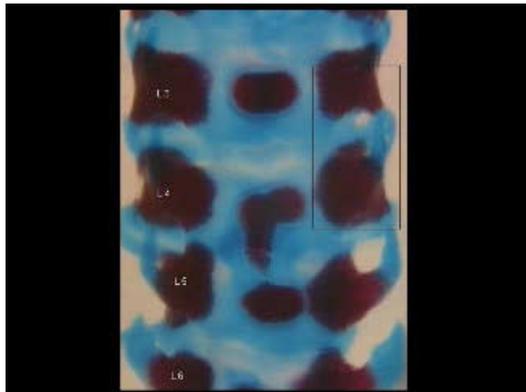
A.III.10.m., Control



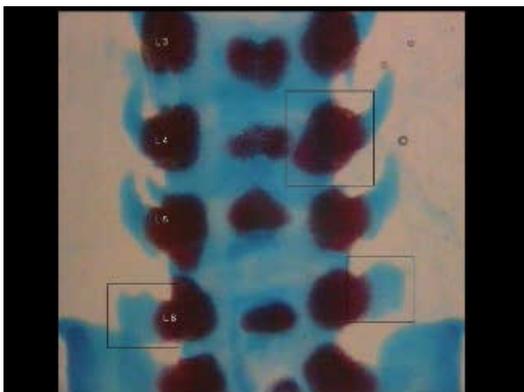
A.III.10.n., Lumbar arch misshapen



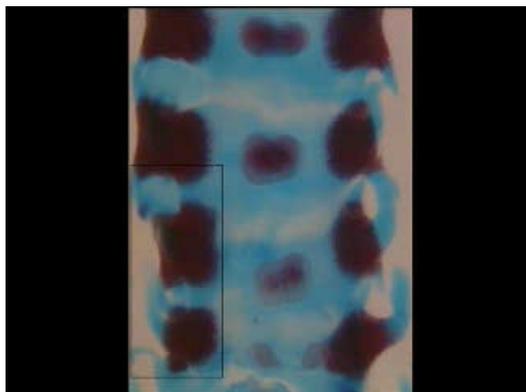
A.III.10.o., Lumbar arch misshapen



A.III.10.p., Lumbar arch misshapen



A.III.10.q., Lumbar arch misshapen

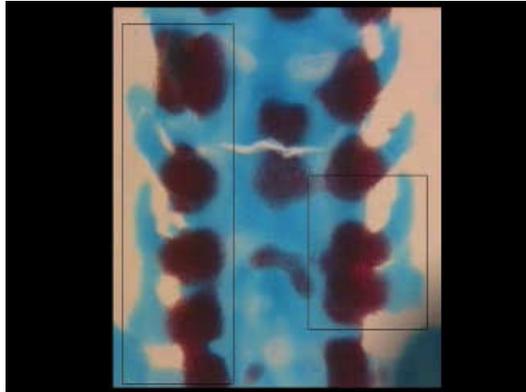


A.III.10.r., Lumbar arch misshapen

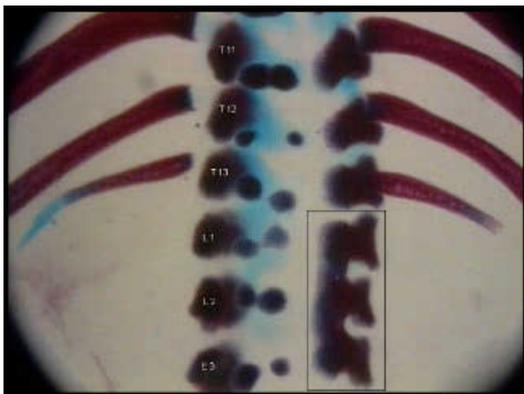
A.III.10., LWS GD 21, Lumbar arch misshapen



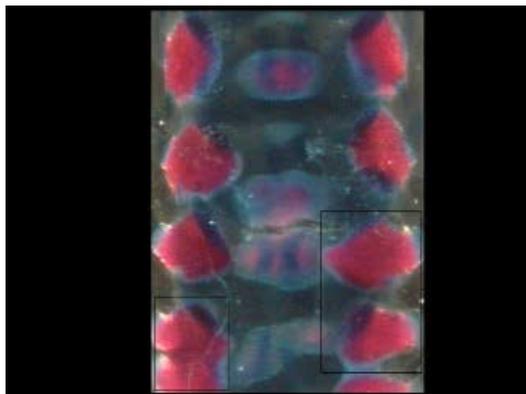
A.III.10.s., Control



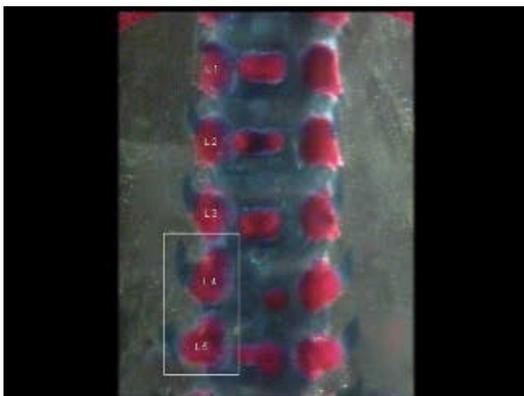
A.III.10.t., Lumbar arch misshapen



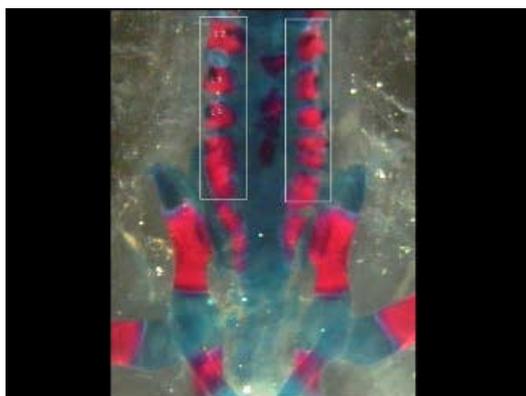
A.III.10.u., Lumbar arch misshapen



A.III.10.v., Lumbar arch misshapen

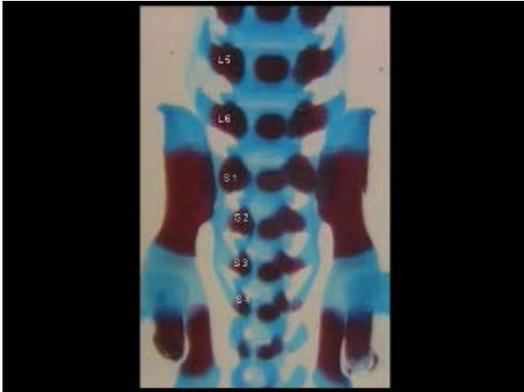


A.III.10.w., Lumbar arch misshapen



A.III.10.x., Lumbar arch misshapen

A.III.10., LWS GD 21, Lumbar arch misshapen

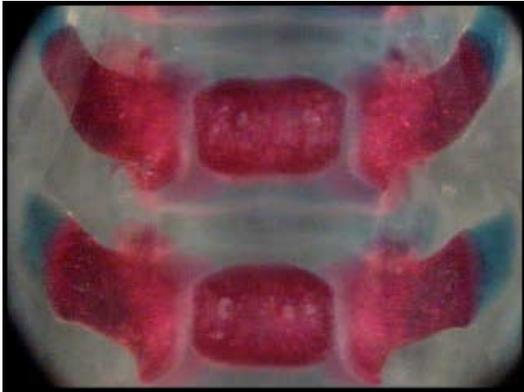


A.III.10.y., Control

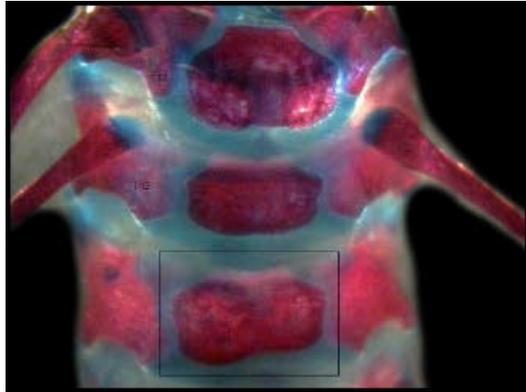


A.III.10.z., Lumbar arch misshapen

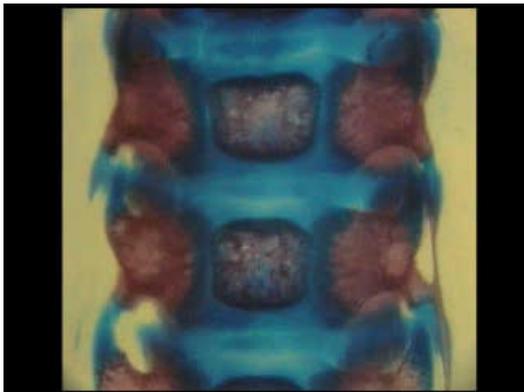
B.III.1., LWS PND 7, Lumbar centrum asymmetric ossification



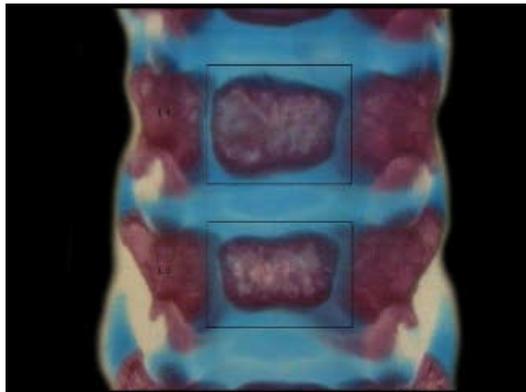
B.III.1.a., Control



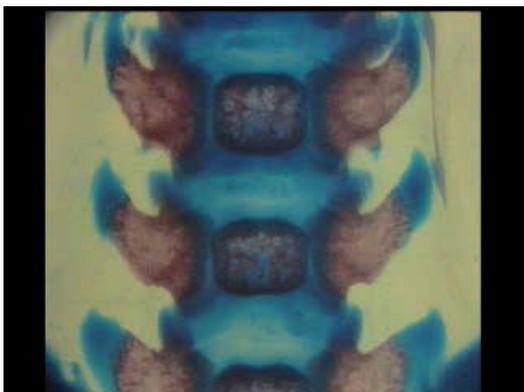
B.III.1.b., LC 1 asymmetric ossification



B.III.1.c., Control



B.III.1.d., LC asymmetric ossification

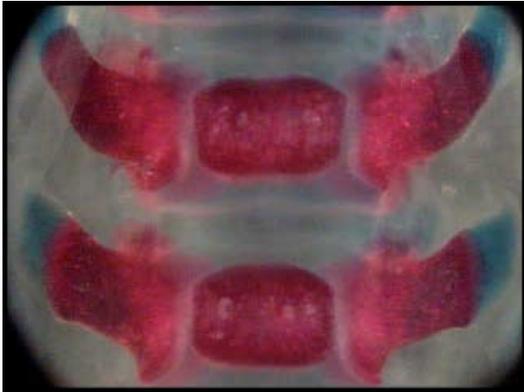


B.III.1.e., Control

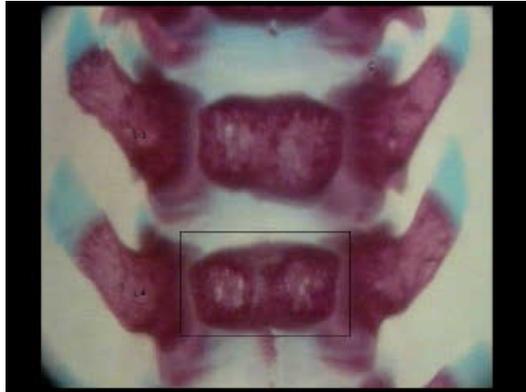


B.III.1.f., LC asymmetric ossification

B.III.2., LWS PND 7, Lumbar centrum bipartite ossification



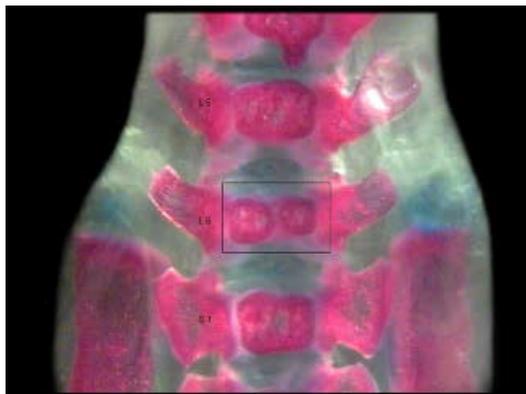
B.III.2.a., Control



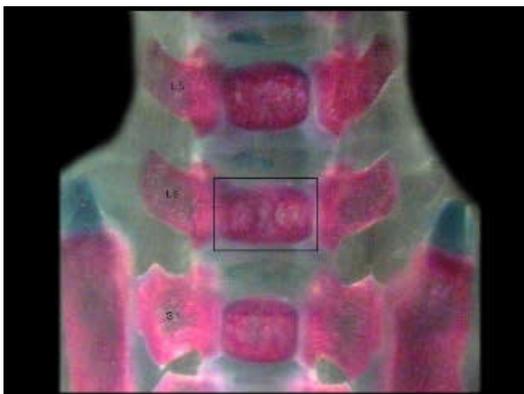
B.III.2.b., LC 6 bipartite ossification



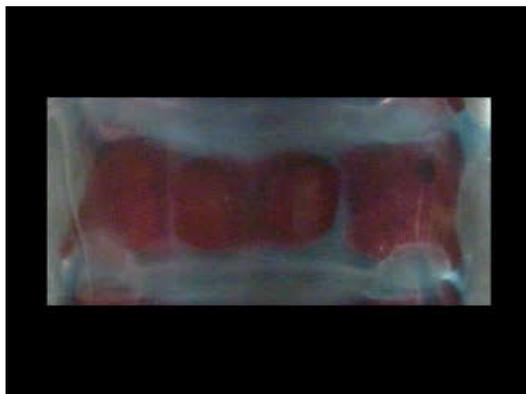
B.III.2.c., Control



B.III.2.d., LC 6 bipartite ossification



B.III.2.e., LC 6 bipartite ossification



B.III.2.f., LC bipartite ossification

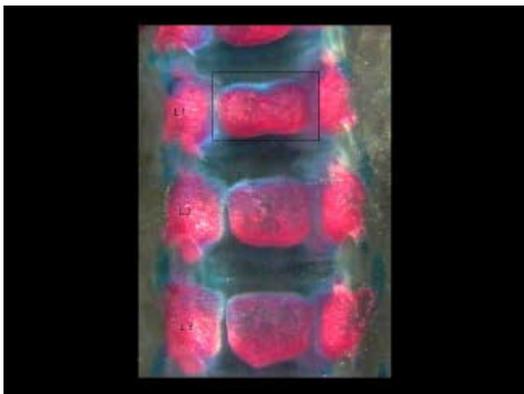
B.III.3., LWS PND 7, Lumbar centrum dumbbell-shaped



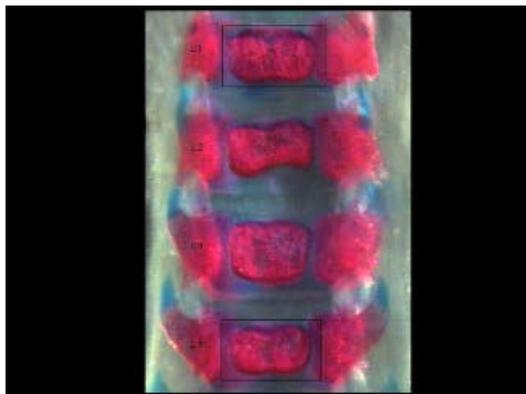
B.III.3.a., Control



B.III.3.b., LC 1 dumbbell-shaped



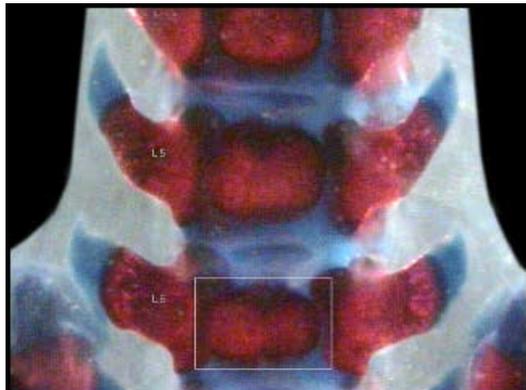
B.III.3.c., LC 1 dumbbell-shaped



B.III.3.d., LC 1+4 dumbbell-shaped



B.III.3.e., LC 1 dumbbell-shaped

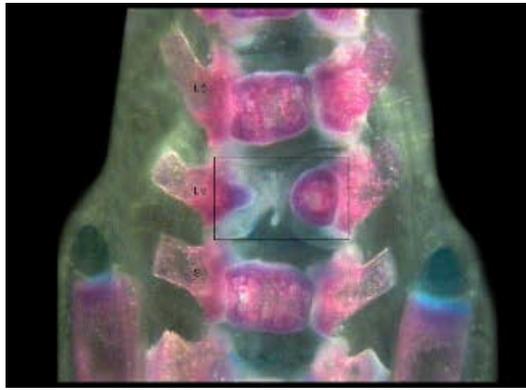


B.III.3.f., LC 6 dumbbell-shaped

B.III.4., LWS PND 7, Lumbar centrum hemicentric

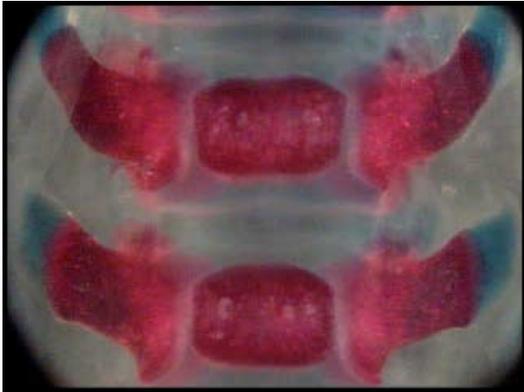


B.III.4.a., Control

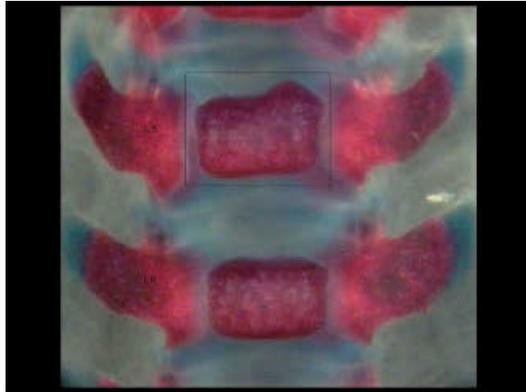


B.III.4.b.,LC 6 hemicentric

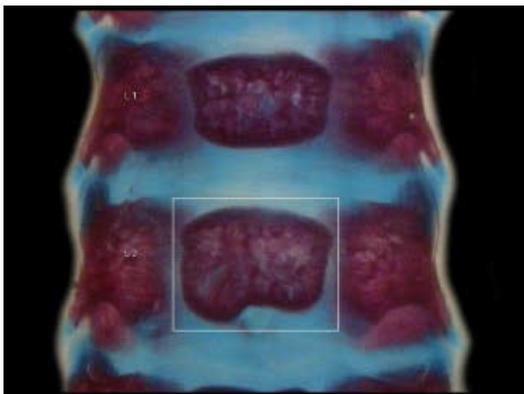
B.III.5., LWS PND 7, Lumbar centrum misshapen



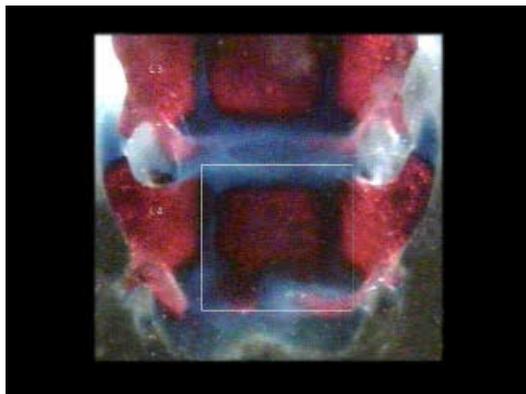
B.III.5.a., Control



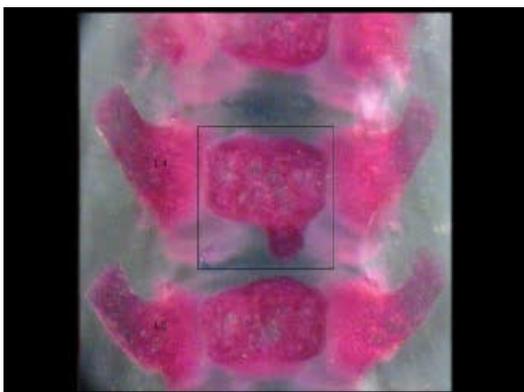
B.III.5.b., LC 5 misshapen



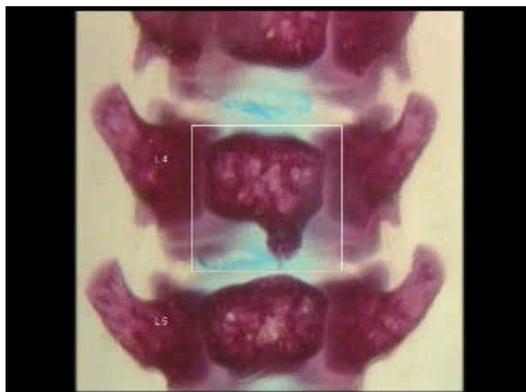
B.III.5.c., LC 2 misshapen



B.III.5.d., LC 4 misshapen



B.III.5.e., LC 4 misshapen

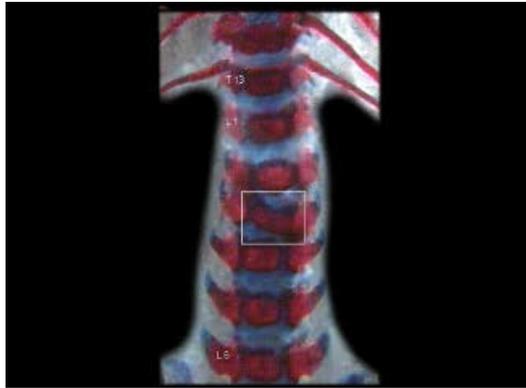


B.III.5.f., LC 4 misshapen

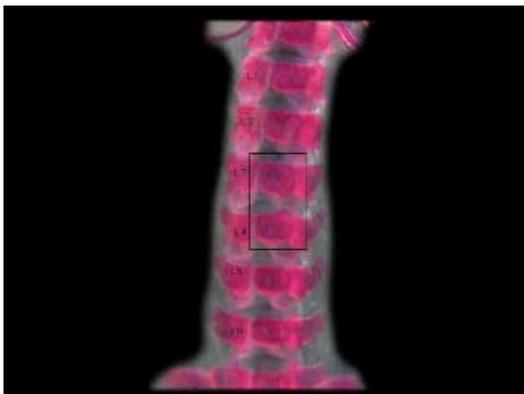
B.III.5., LWS PND 7, Lumbar centrum misshapen



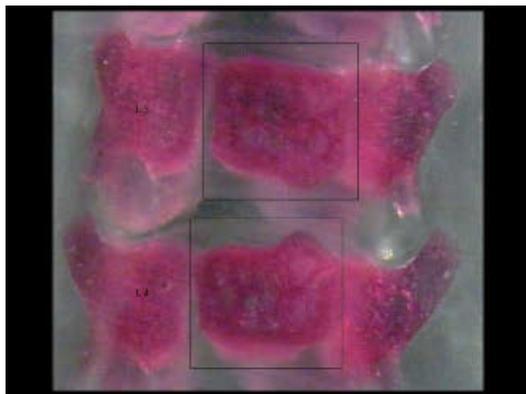
B.III.5.g., Control



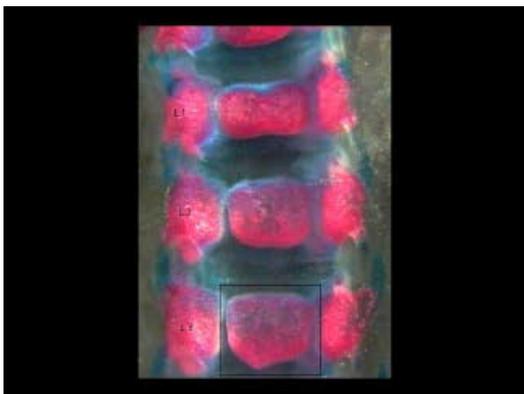
B.III.5.h., LC 3 misshapen



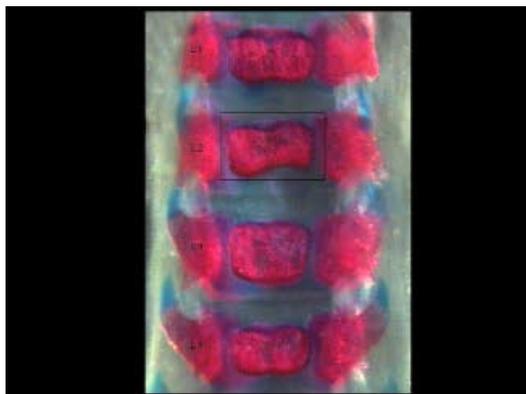
B.III.5.i., LC 3+4 misshapen



B.III.5.j., LC 3+4 misshapen

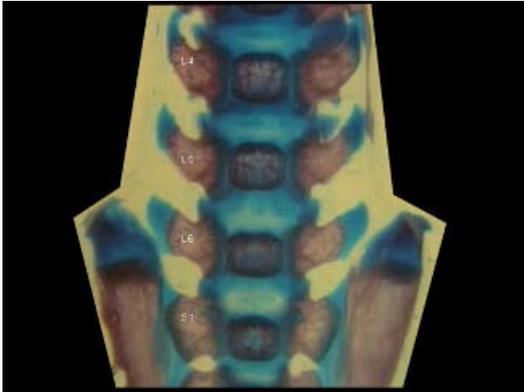


B.III.5.k., LC 3 misshapen

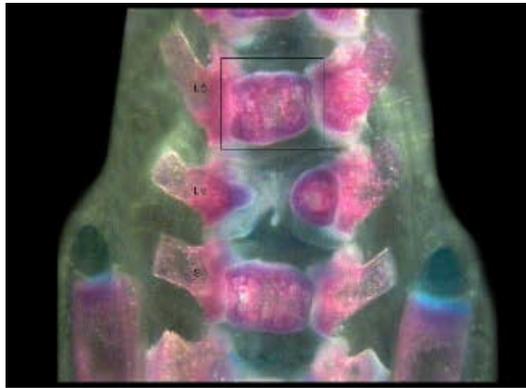


B.III.5.l., LC 2 misshapen

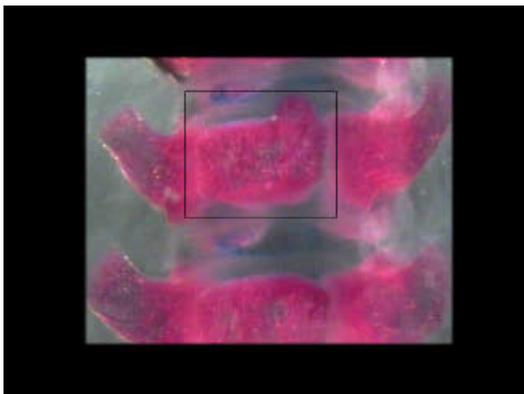
B.III.5., LWS PND 7, Lumbar centrum misshapen



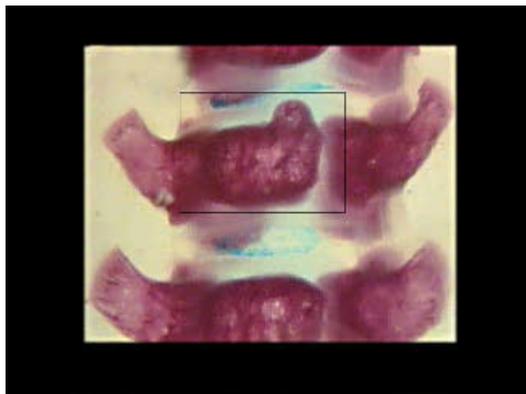
B.III.5.m., Control



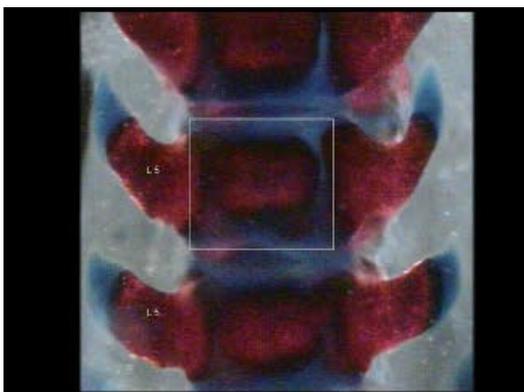
B.III.5.n., LC 5 misshapen



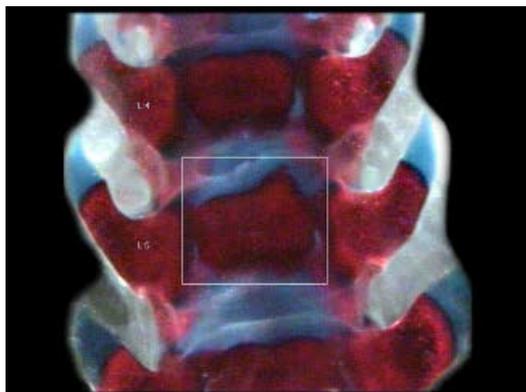
B.III.5.o., LC misshapen



B.III.5.p., LC misshapen

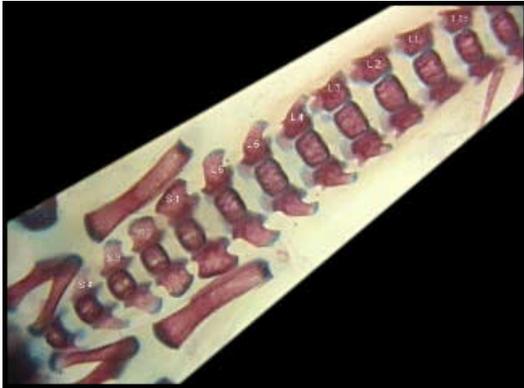


B.III.5.q., LC 5 misshapen

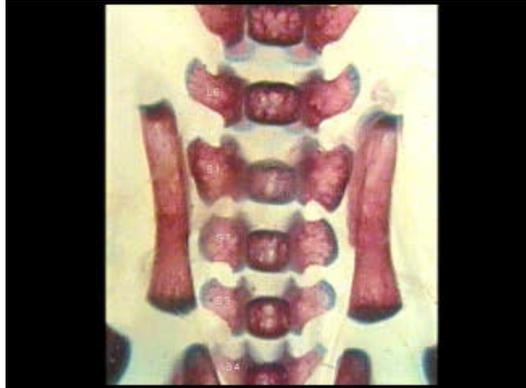


B.III.5.r., LC 5 misshapen

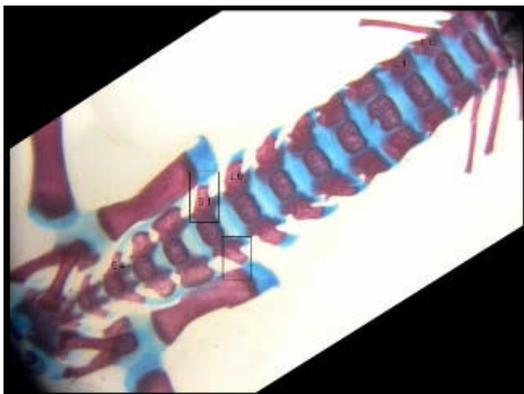
B.III.6., LWS PND 7, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



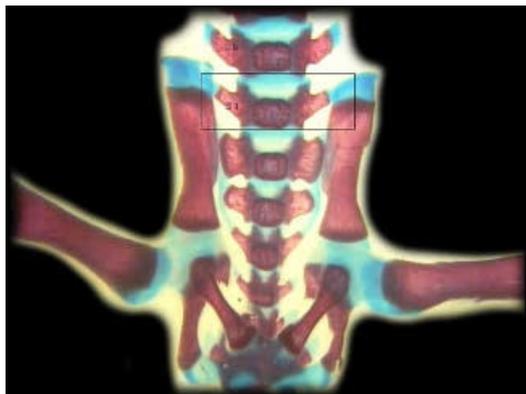
B.III.6.a., Control



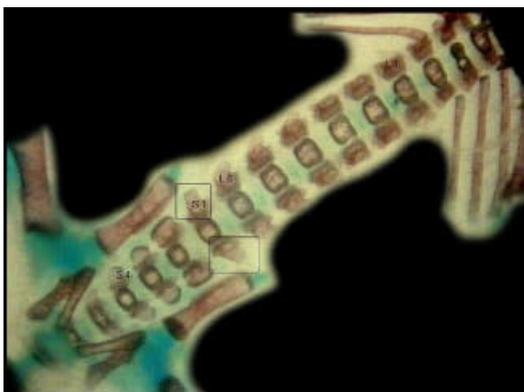
B.III.6.b., Control



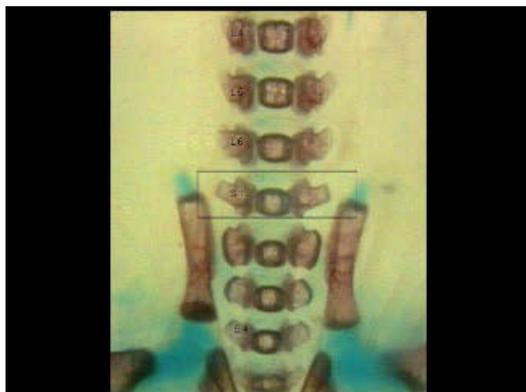
B.III.6.c., LC supernumerary
sinister+dexter



B.III.6.d., LC supernumerary
sinister+dexter

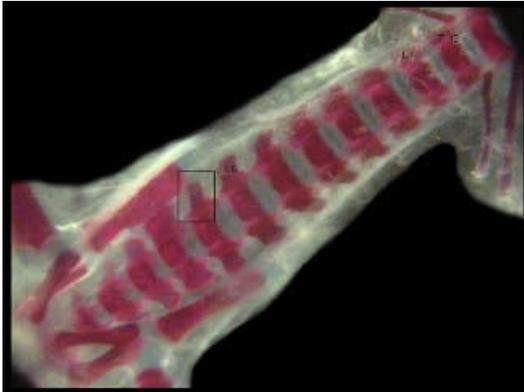


B.III.6.e., LC supernumerary
sinister+dexter

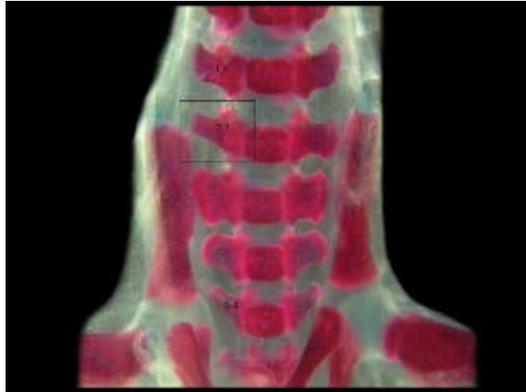


B.III.6.f., LC supernumerary
sinister+dexter

B.III.6., LWS PND 7, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/siniser+dexter



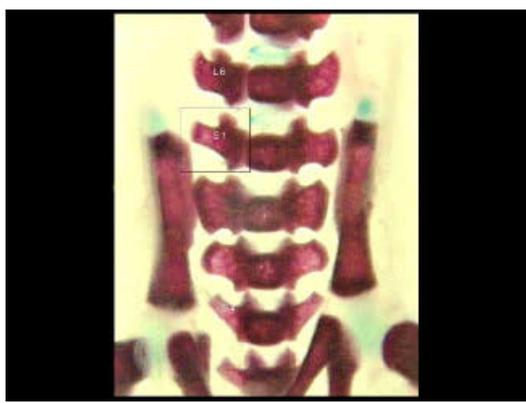
B.III.6.g., LC supernumerary dexter



B.III.6.h., LC supernumerary dexter



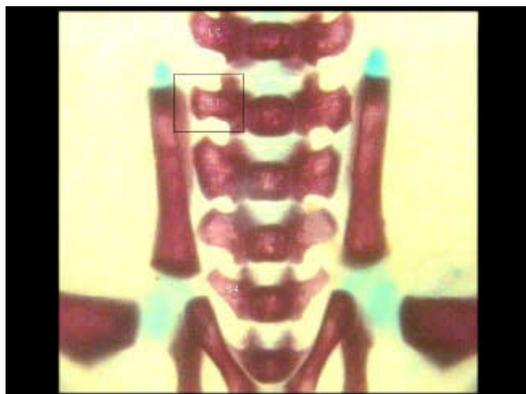
B.III.6.i., LC supernumerary dexter



B.III.6.j., LC supernumerary dexter

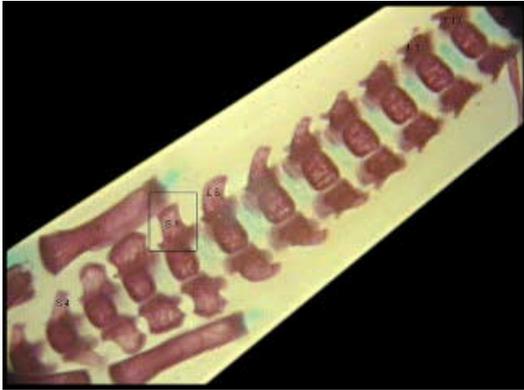


B.III.6.k., LC supernumerary dexter



B.III.6.l., LC supernumerary dexter

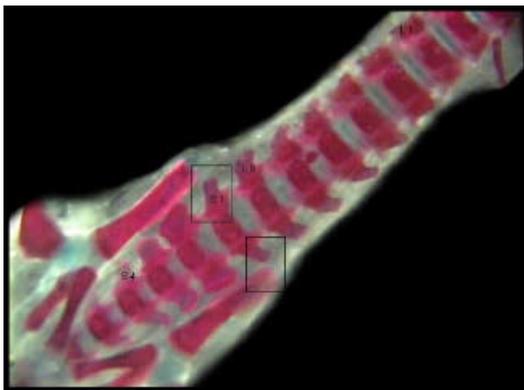
B.III.6., LWS PND 7, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



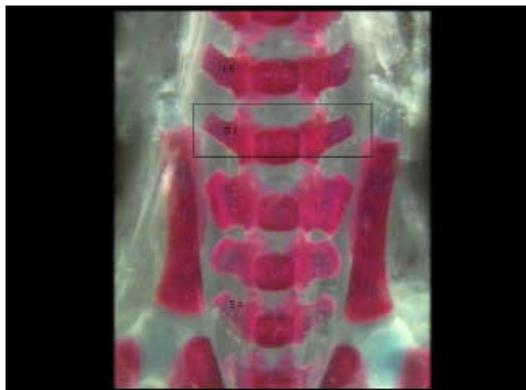
B.III.6.m., LC supernumerary dexter



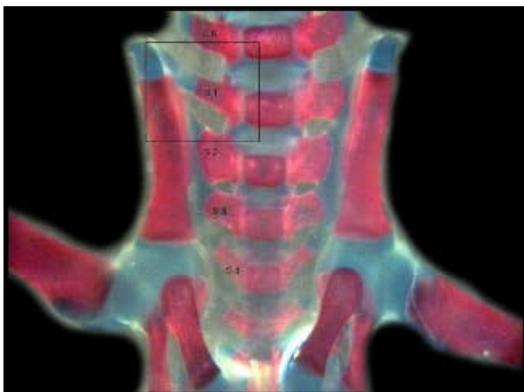
B.III.6.n., LC supernumerary dexter



B.III.6.o., LC supernumerary
sinister+dexter



B.III.6.p., LC supernumerary
sinister+dexter

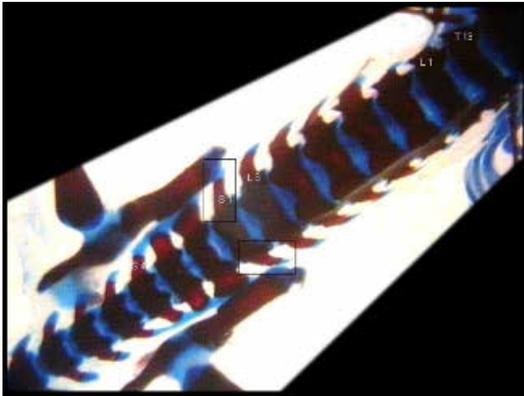


B.III.6.q., LC supernumerary dexter

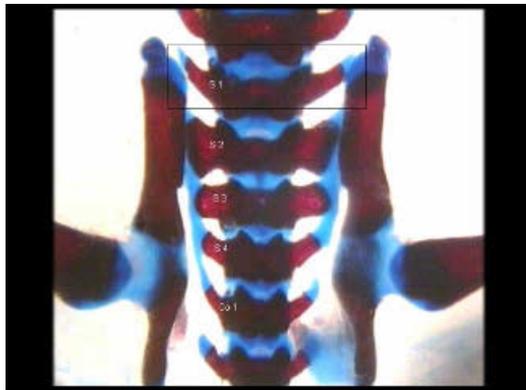


B.III.6.r., LC supernumerary dexter

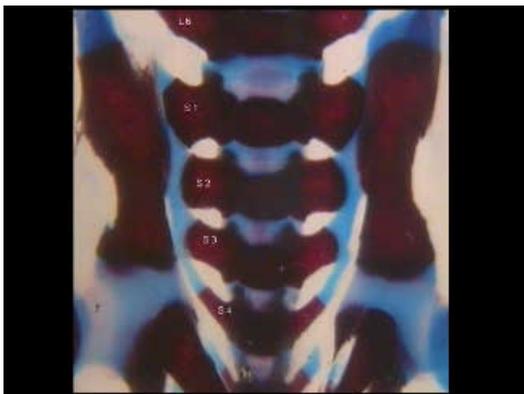
,B.III.6., LWS PND 7, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



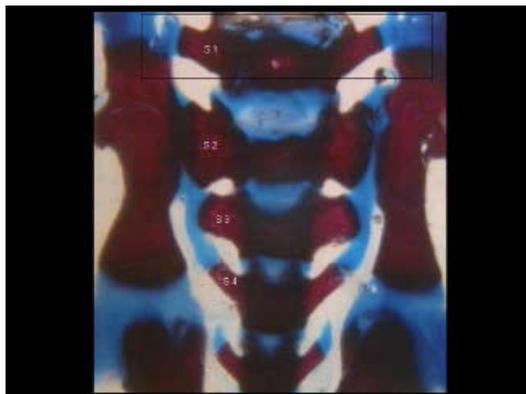
B.III.6.s., LC supernumerary
sinister+dexter



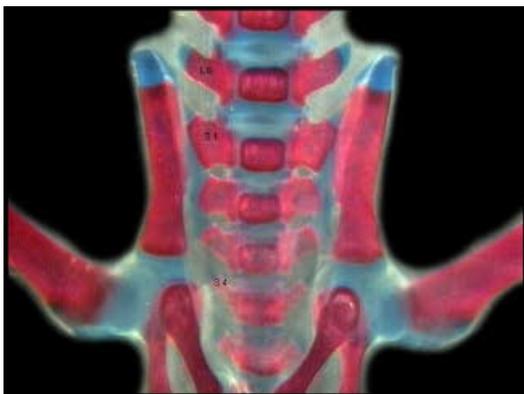
B.III.6.t., LC supernumerary
sinister+dexter



B.III.6.u., Control



B.III.6.v., LC supernumerary
sinister+dexter

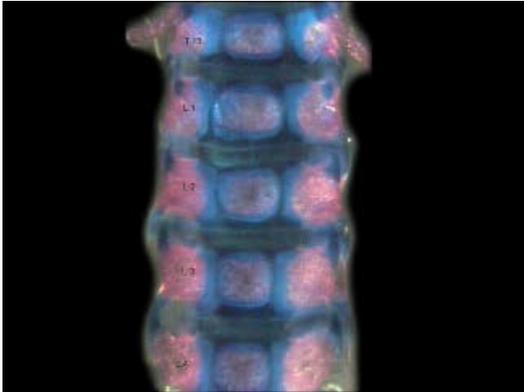


B.III.6.w., Control

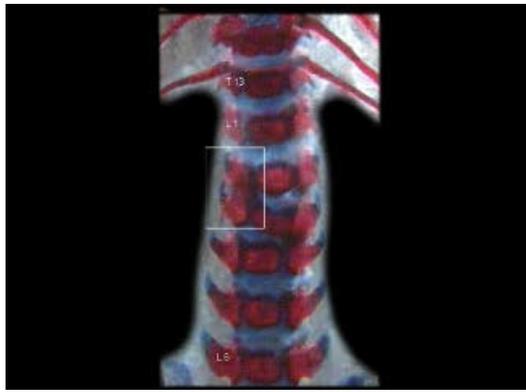


B.III.6.x., LC supernumerary sinister

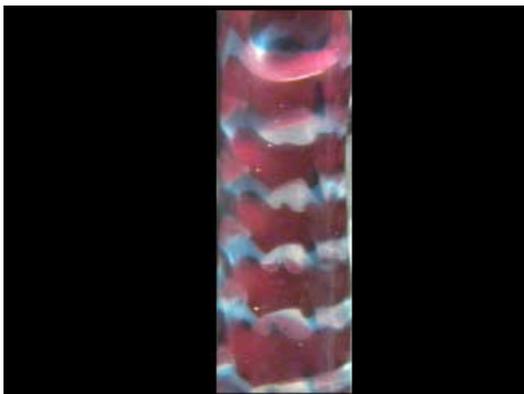
B.III.7., LWS PND 7, Lumbar arch misshapen



B.III.7.a., Control



B.III.7.b., Lumbar arch 2+3 misshapen



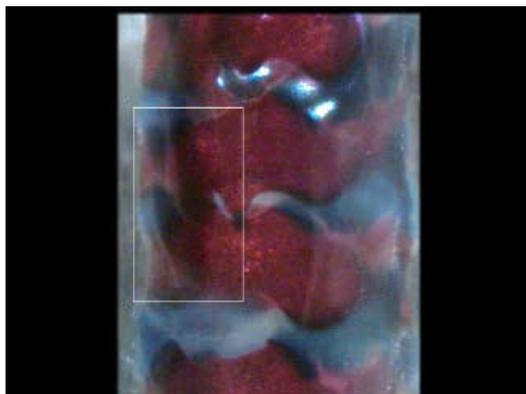
B.III.7.c., Control



B.III.7.d., Lumbar arch 2+3 misshapen



B.III.7.e., Control

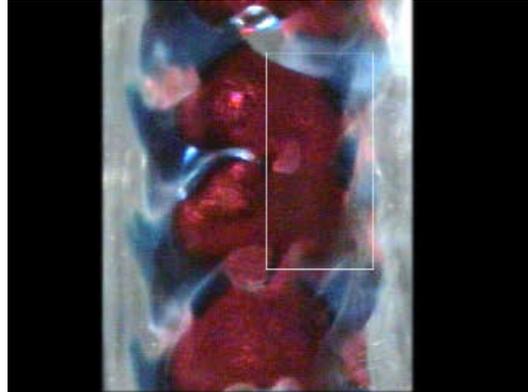


B.III.7.f., Lumbar arch 2+3 misshapen

B.III.7., LWS PND 7, Lumbar arch misshapen

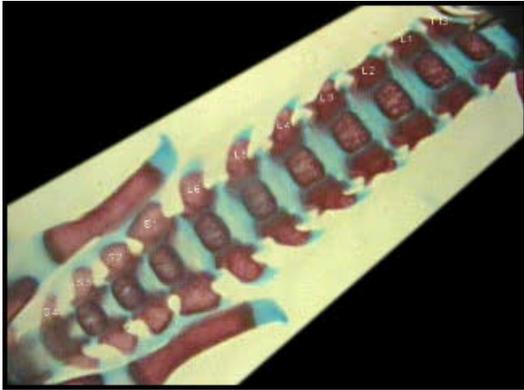


B.III.7.g., Control

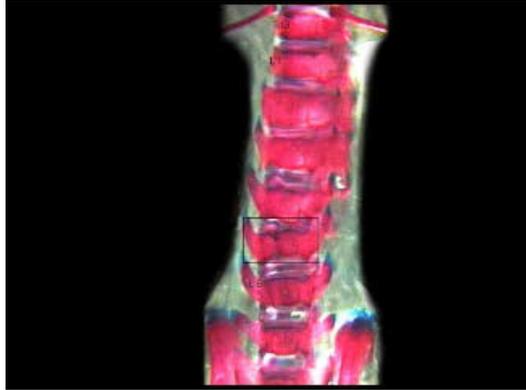


B.III.7.h., Lumbar arch 2+3
misshapen

C.III.1., LWS PND 21, Lumbar centrum bipartite ossification



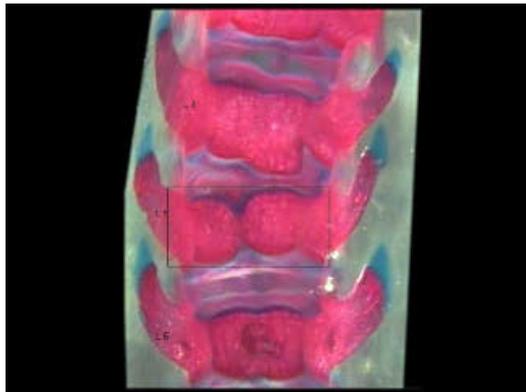
C.III.1.a., Control



C.III.1.b., LC 5 bipartite ossification



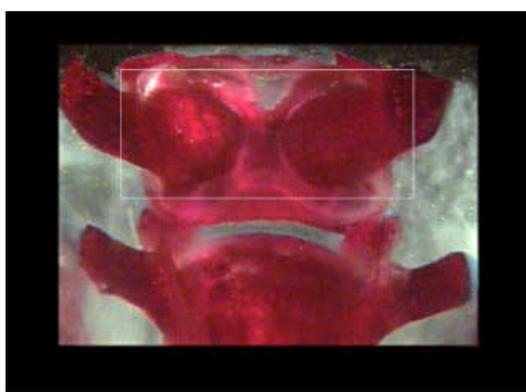
C.III.1.c., Control



C.III.1.d., LC 5 bipartite ossification



C.III.1.e., Control

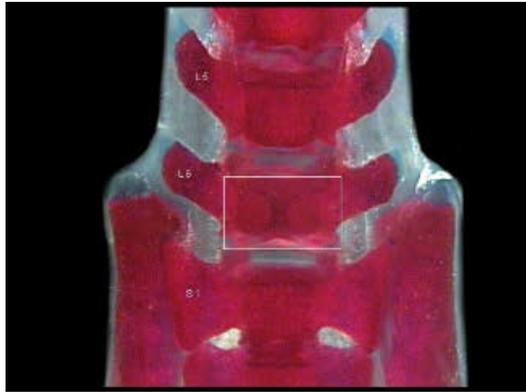


C.III.1.f., LC bipartite ossification

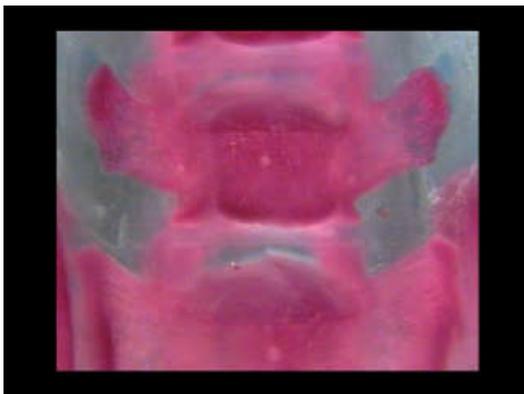
C.III.1., LWS PND 21, Lumbar centrum bipartite ossification



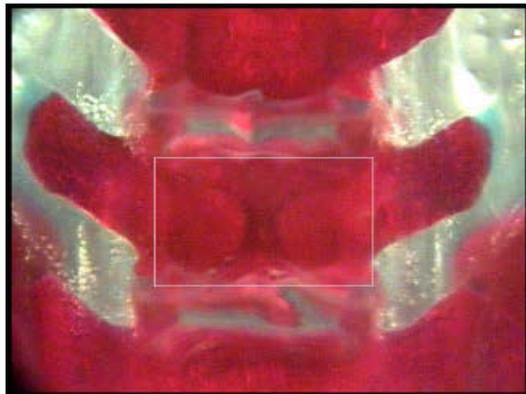
C.III.1.g., Control



C.III.1.h., LC 6 bipartite ossification



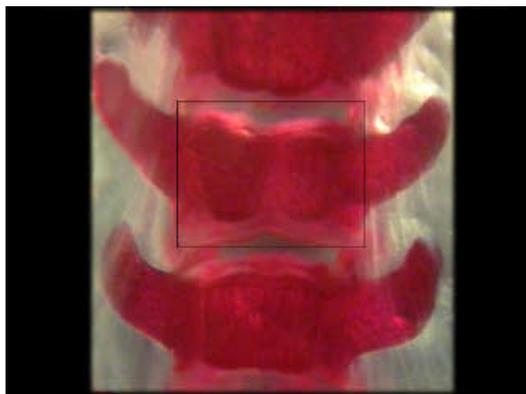
C.III.1.i., Control



C.III.1.j., LC bipartite ossification



C.III.1.k., Control

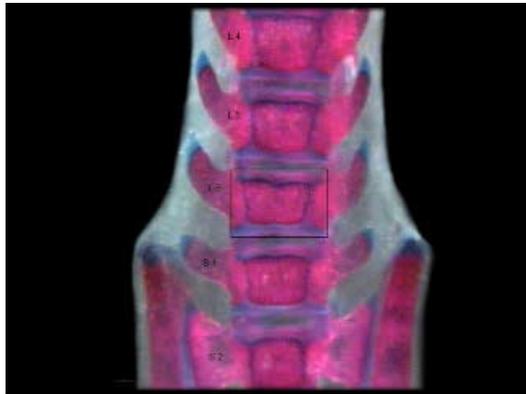


C.III.1.l., LC bipartite ossification

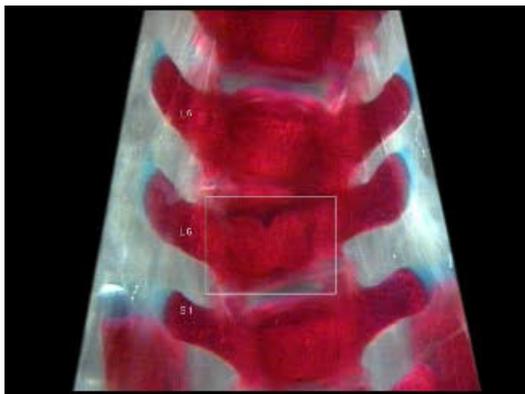
C.III.2., LWS PND 21, Lumbar centrum dumbbell-shaped



C.III.2.a., Control



C.III.2.b., LC 6 dumbbell-shaped



C.III.2.c., LC 6 dumbbell-shaped



C.III.2.d., LC 1 dumbbell-shaped



C.III.2.e., Control



C.III.2.f., LC dumbbell-shaped

C.III.2., LWS PND 21, Lumbar centrum dumbbell-shaped



C.III.2.g., Control



C.III.2.h., LC dumbbell-shaped



C.III.2.i., Control



C.III.2.j., LC dumbbell-shaped

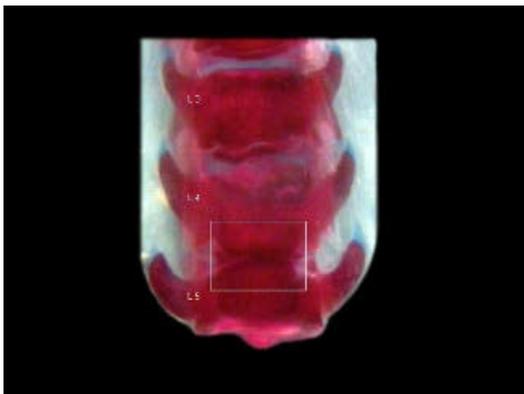
C.III.3., LWS PND 21, Lumbar centrum fused



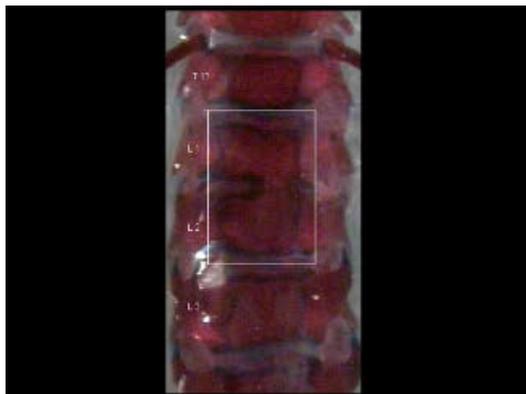
C.III.3.a., Control



C.III.3.b., LC fused



C.III.3.c., LC fused

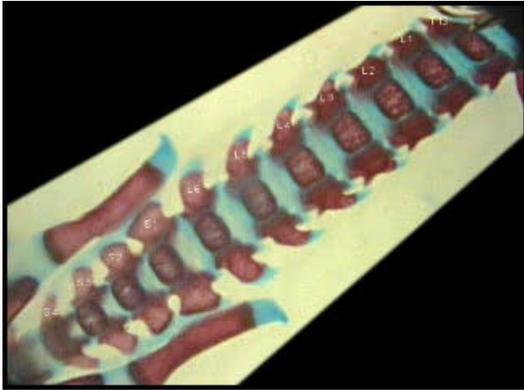


C.III.3.d., LC fused



C.III.3.e., LC fused

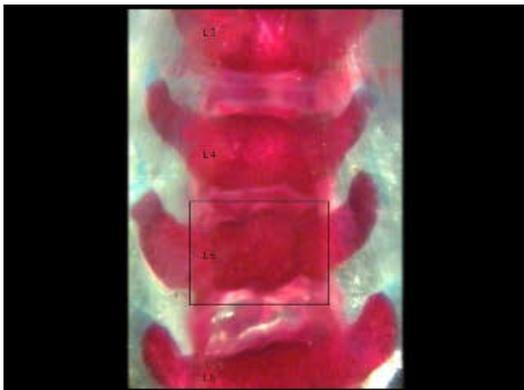
C.III.4., LWS PND 21, Lumbar centrum misshapen



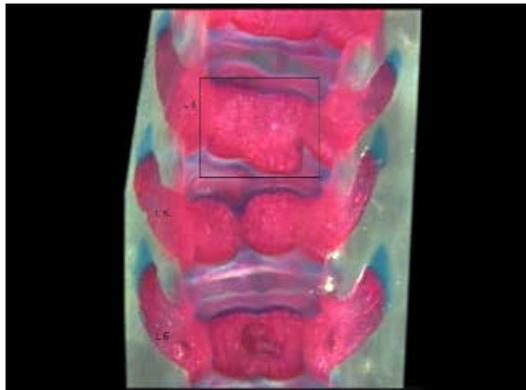
C.III.4.a., Control



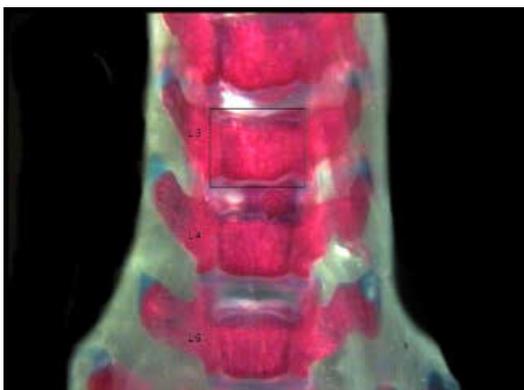
C.III.4.b., LC 4+5 misshapen



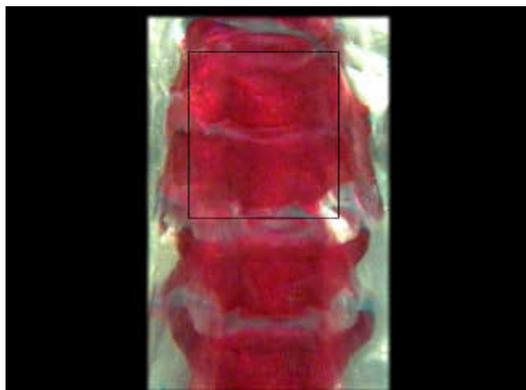
C.III.4.c., LC 5 misshapen



C.III.4.d., LC 4 misshapen



C.III.4.e., LC 3 misshapen

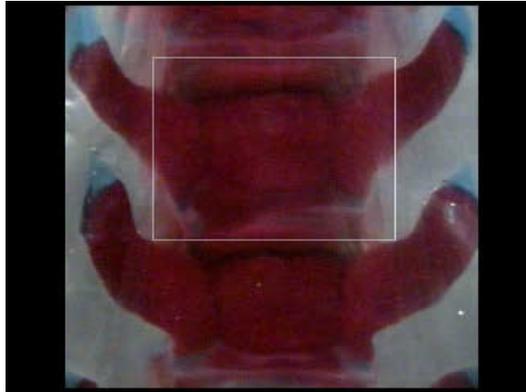


C.III.4.f., LC misshapen

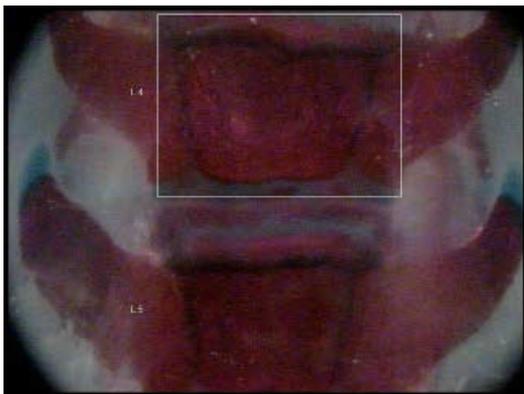
C.III.4., LWS PND 21, Lumbar centrum misshapen



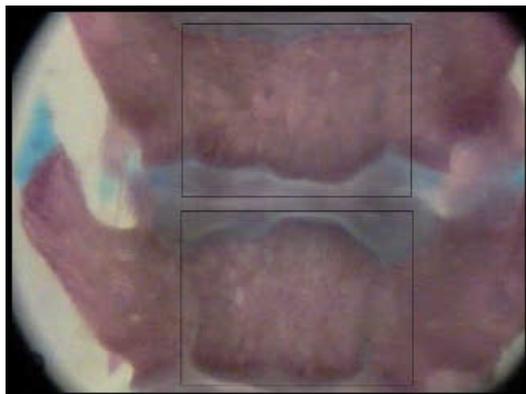
C.III.4.g., Control



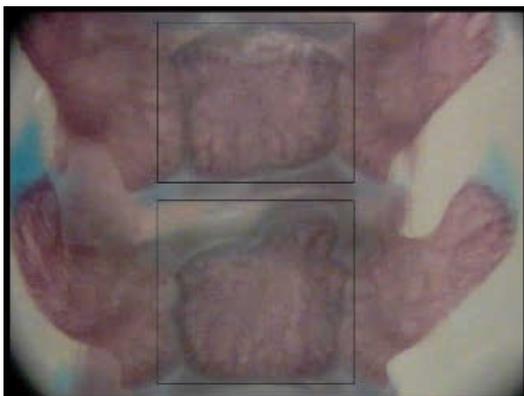
C.III.4.h., LC misshapen



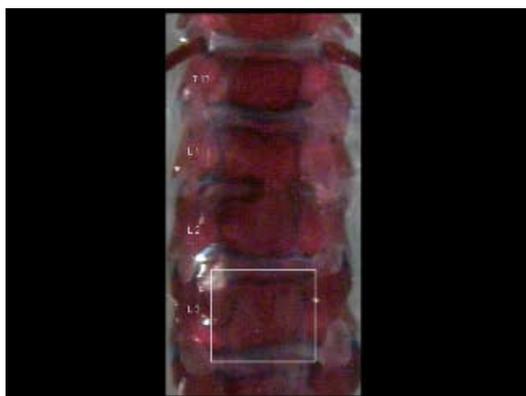
C.III.4.i., LC 4 misshapen



C.III.4.j., LC misshapen



C.III.4.k., LC misshapen



C.III.4.l., LC 3 misshapen

C.III.4., LWS PND 21, Lumbar centrum misshapen



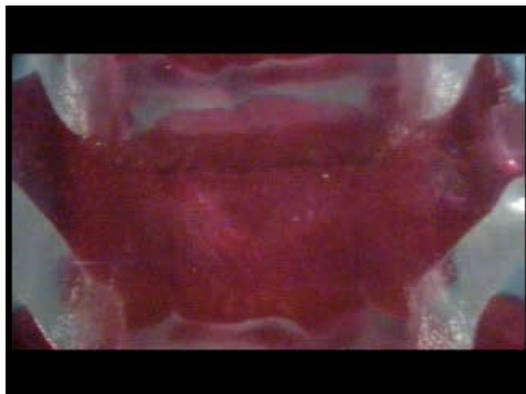
C.III.4.m., Control



C.III.4.n., LC misshapen

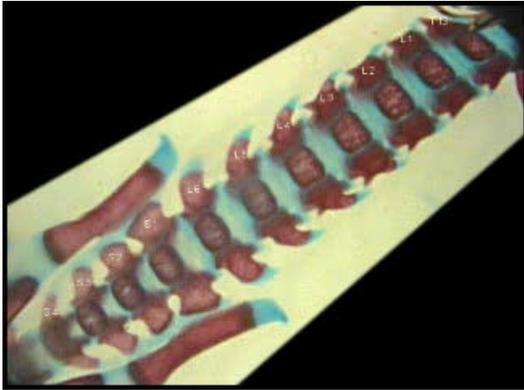


C.III.4.o., Control



C.III.4.p., LC misshapen

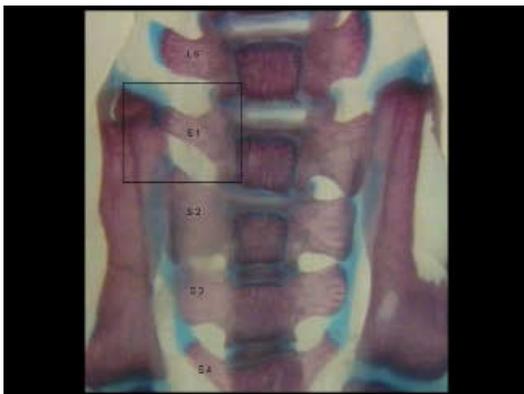
C.III.5., LWS PND 21, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



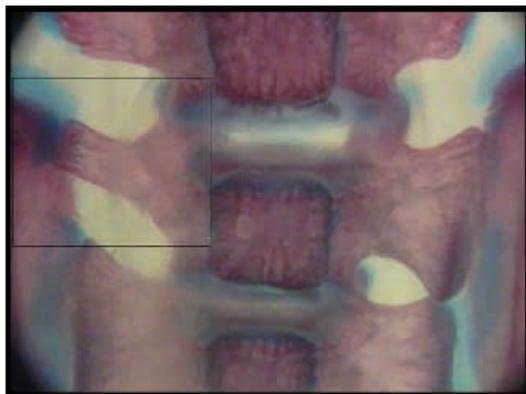
C.III.5.a., Control



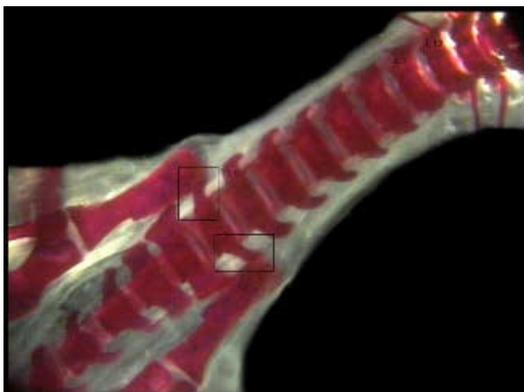
C.III.5.b., LC supernumerary dexter



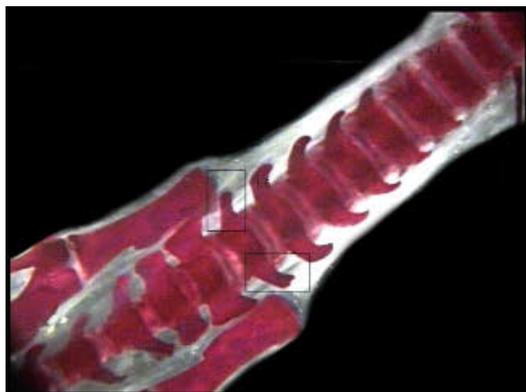
C.III.5.c., LC supernumerary dexter



C.III.5.d., LC supernumerary dexter

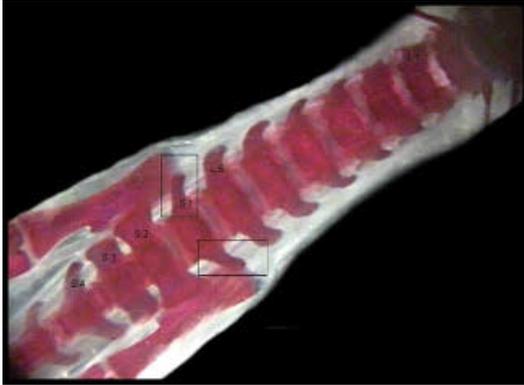


C.III.5.e., LC supernumerary
sinister+dexter

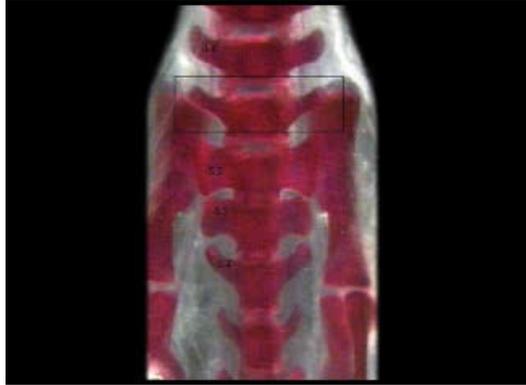


C.III.5.f., LC supernumerary
sinister+dexter

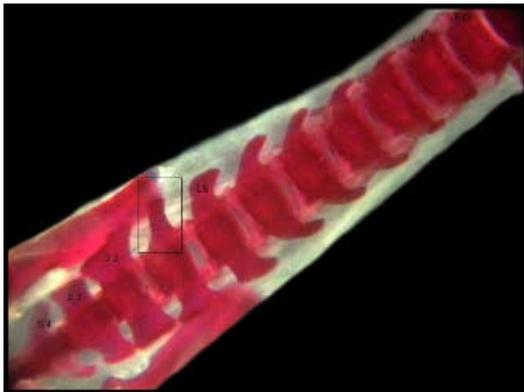
C.III.5., LWS PND 21, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



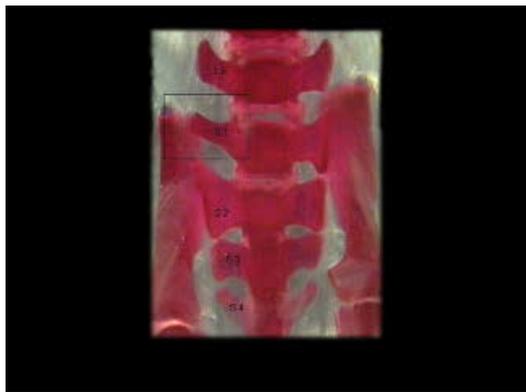
C.III.5.g., LC supernumerary
sinister+dexter



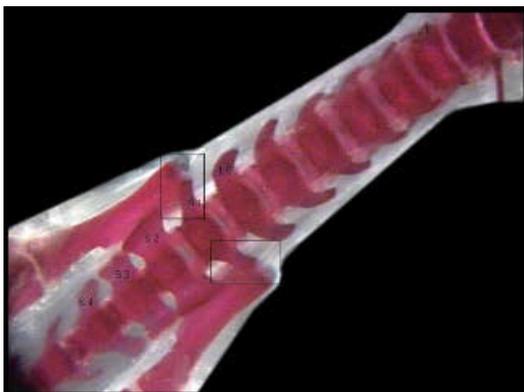
C.III.5.h., LC supernumerary
sinister+dexter



C.III.5.i., LC supernumerary dexter



C.III.5.j., LC supernumerary dexter

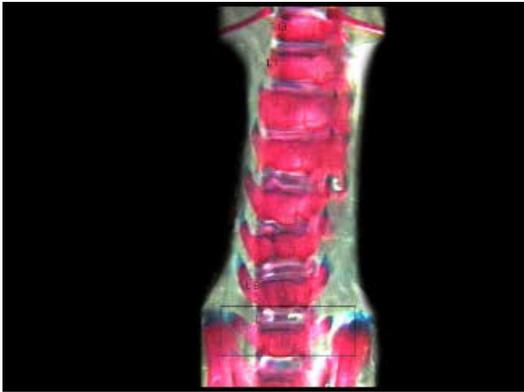


C.III.5.k., LC supernumerary
sinister+dexter

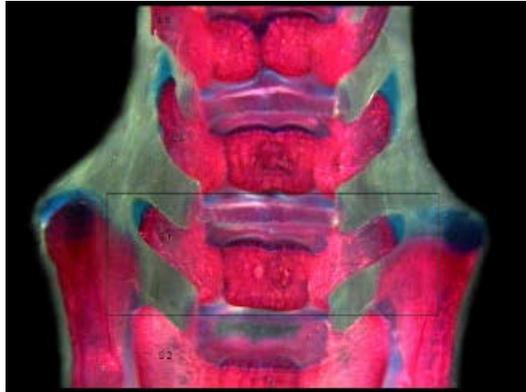


C.III.5.l., LC supernumerary
sinister+dexter,

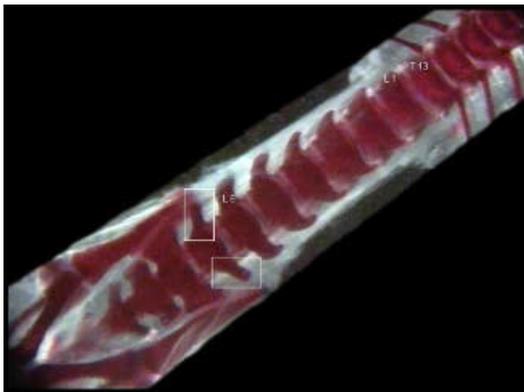
C.III.5., LWS PND 21, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



C.III.5.m., LC supernumerary
sinister+dexter



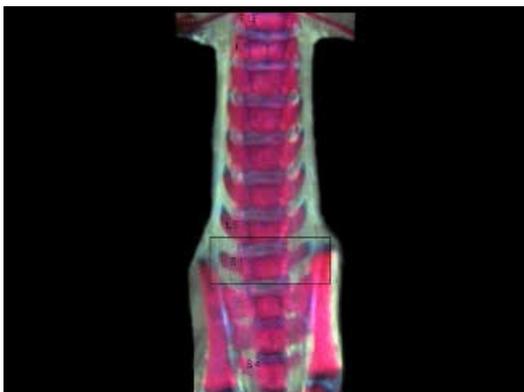
C.III.5.n., LC supernumerary
sinister+dexter,



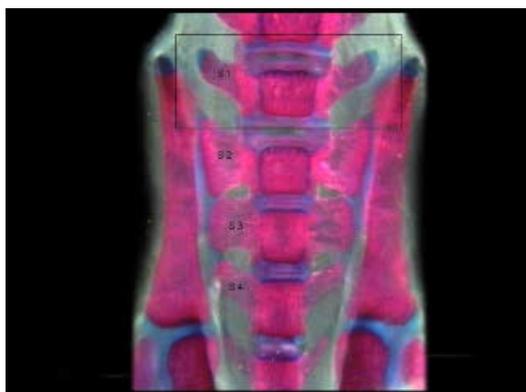
C.III.5.o., LC supernumerary
sinister+dexter



C.III.5.p., LC supernumerary
sinister+dexter

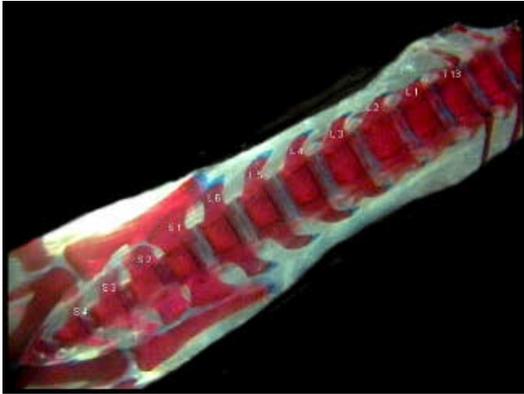


C.III.5.q., LC supernumerary
sinister+dexter

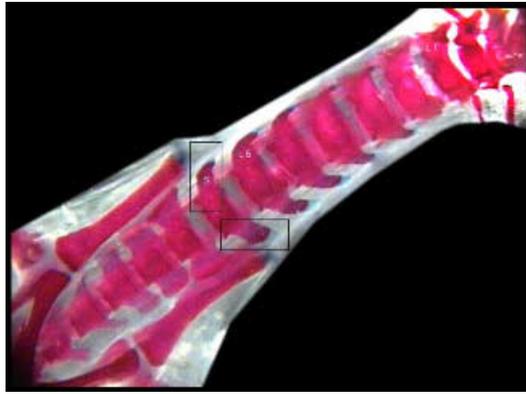


C.III.5.r., LC supernumerary
sinister+dexter

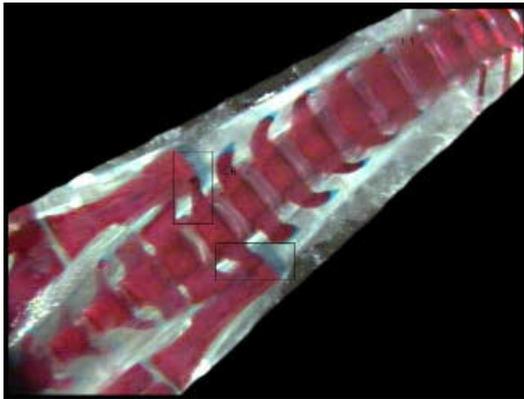
C.III.5., LWS PND 21, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



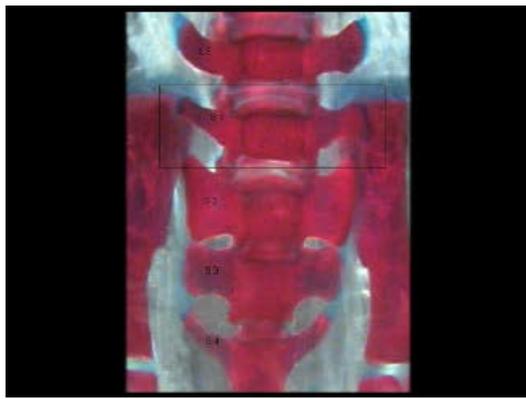
C.III.5.s., Control



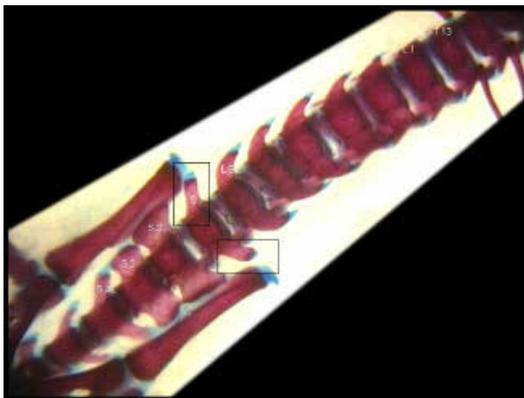
C.III.5.t., LC supernumerary
sinister+dexter



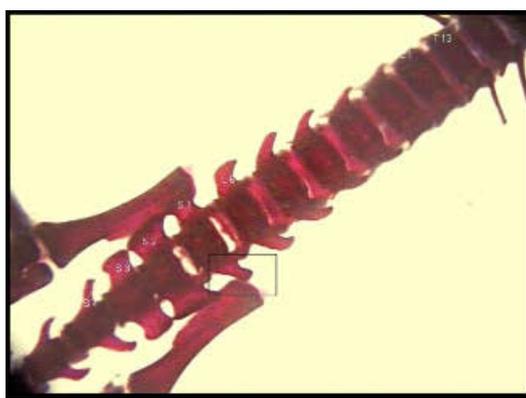
C.III.5.u., LC supernumerary
sinister+dexter



C.III.5.v., LC supernumerary
sinister+dexter

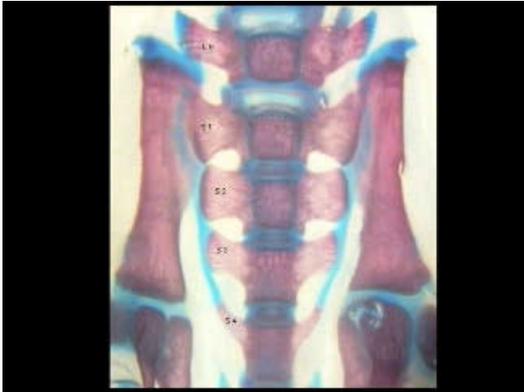


C.III.5.w., LC supernumerary
sinister+dexter

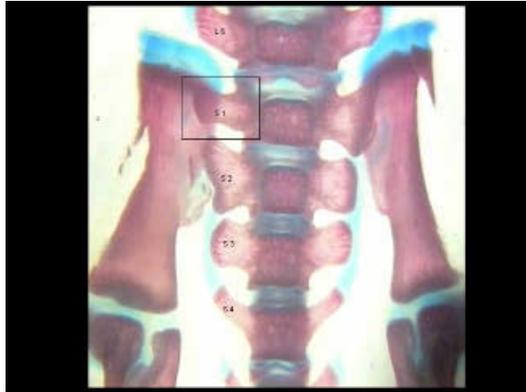


C.III.5.x., LC supernumerary sinister

C.III.5., LWS PND 21, Lumbar centrum supernumerary
sinister/dexter/sinister+dexter



C.III.5.y., Control

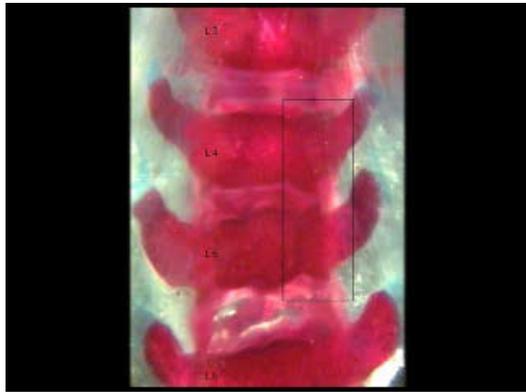


C.III.5.z., LC supernumerary dexter

C.III.6., LWS PND 21, Lumbar arch misshapen



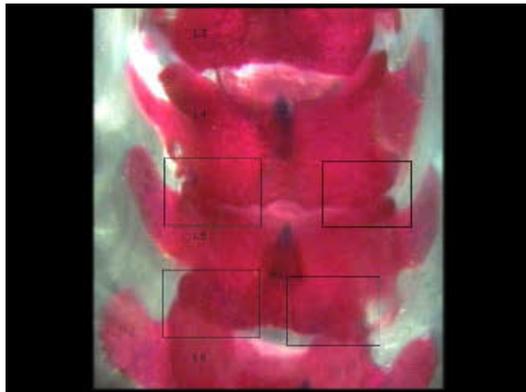
C.III.6.a., Control



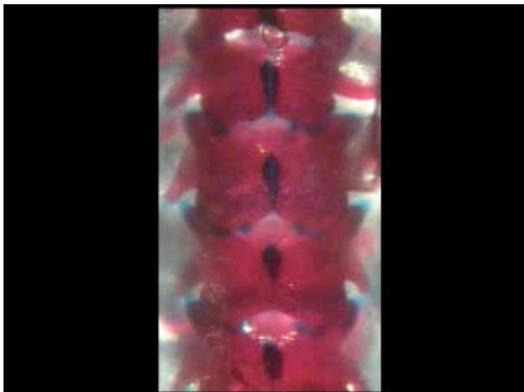
C.III.6.b., Lumbar arch 4+5 misshapen



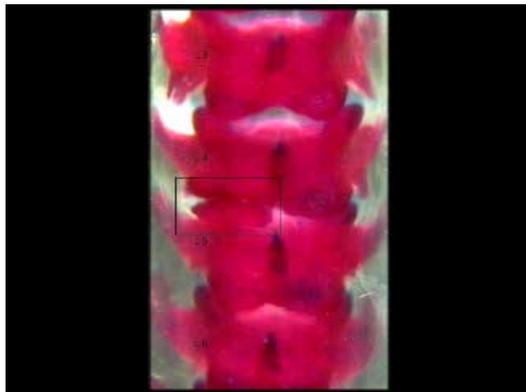
C.III.6.c., Control



C.III.6.d., Lumbar arch 4-6 misshapen

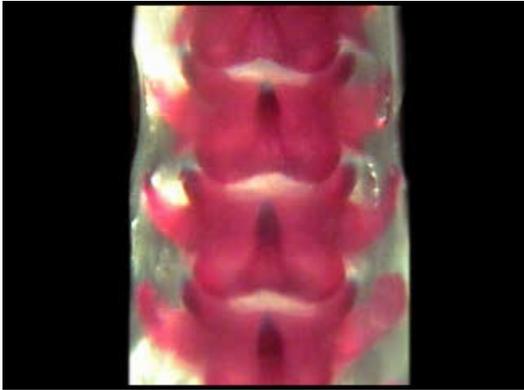


C.III.6.e., Control

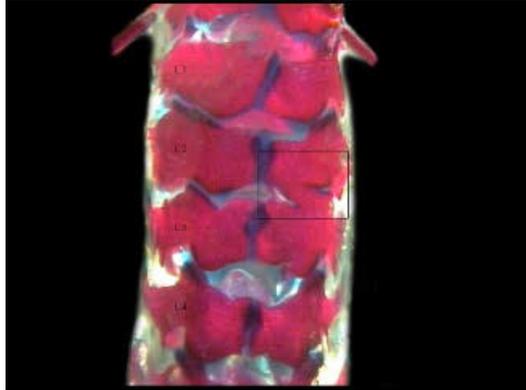


C.III.6.f., Lumbar arch 4-5 misshapen

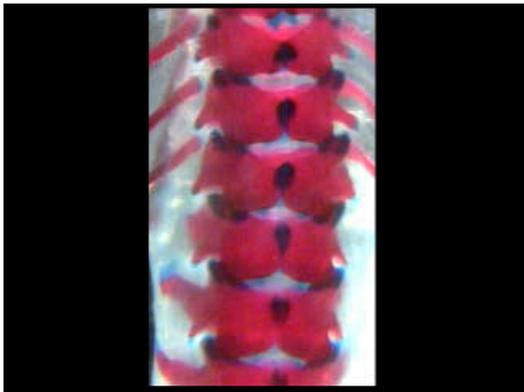
C.III.6., LWS PND 21, Lumbar arch misshapen



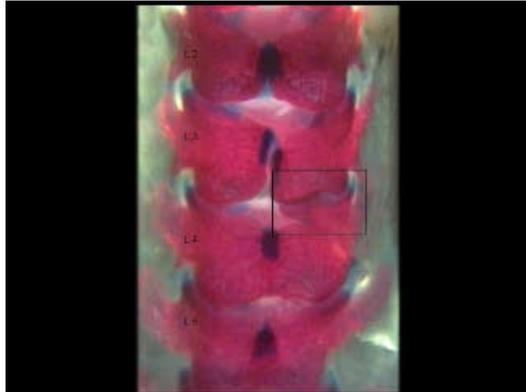
C.III.6.g., Control



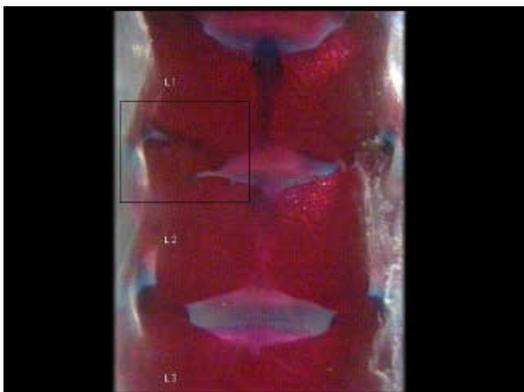
C.III.6.h., Lumbar arch 2+3
misshapen



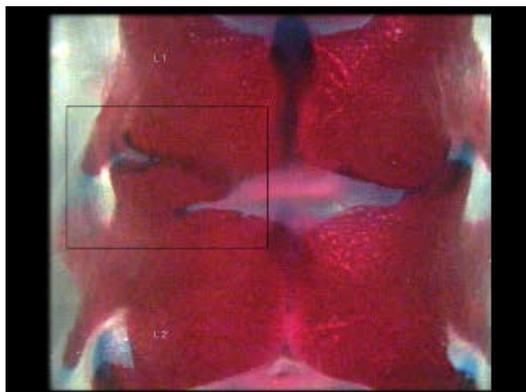
C.III.6.i., Control



C.III.6.j., Lumbar arch 3+4
misshapen

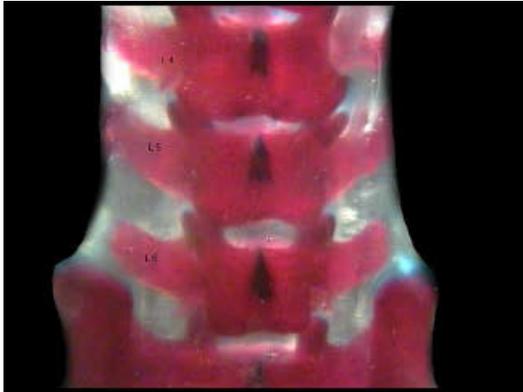


C.III.6.k., Lumbar arch 1+2
misshapen

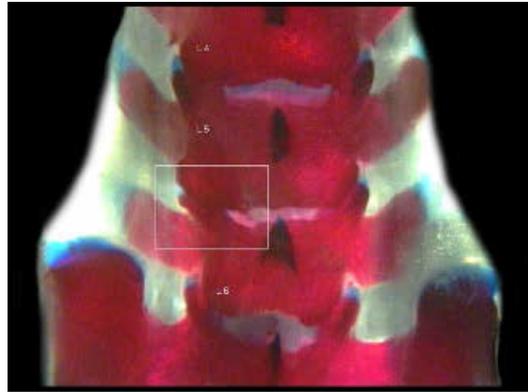


C.III.6.l., Lumbar arch 1+2
misshapen

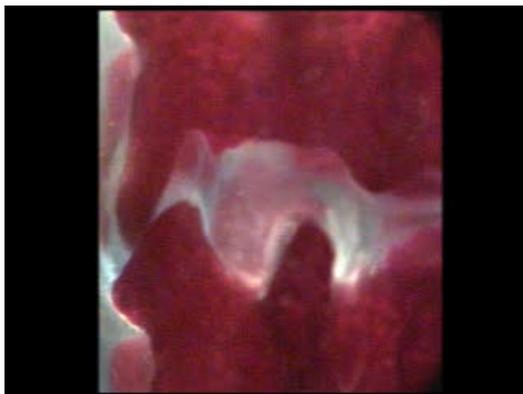
C.III.6., LWS PND 21, Lumbar arch misshapen



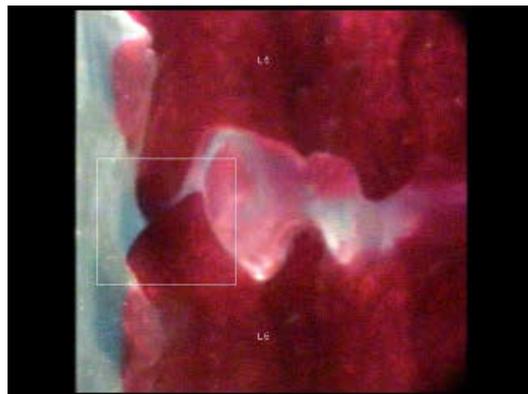
C.III.6.m., Control



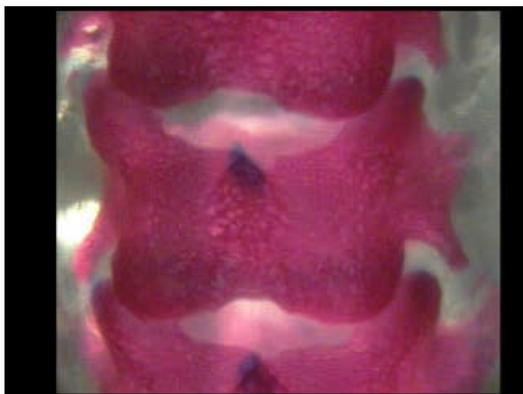
C.III.6.n., Lumbar arch 5+6
misshapen



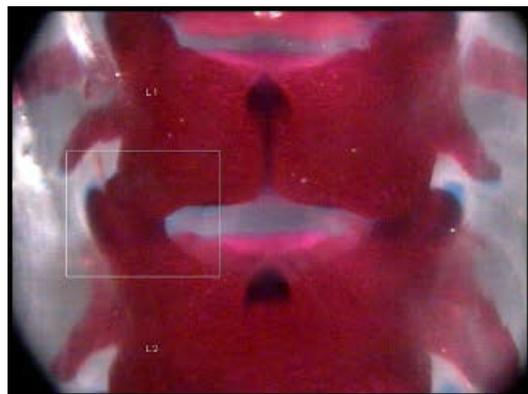
C.III.6.o., Control



C.III.6.p., Lumbar arch 5+6
misshapen

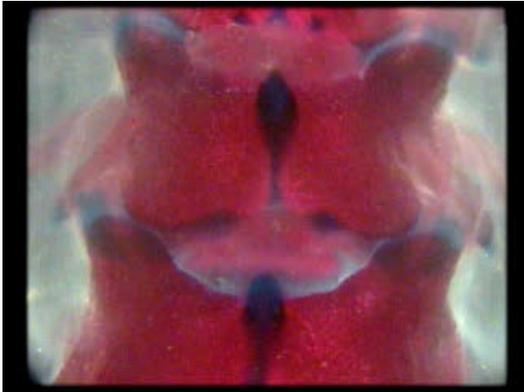


C.III.6.q., Control

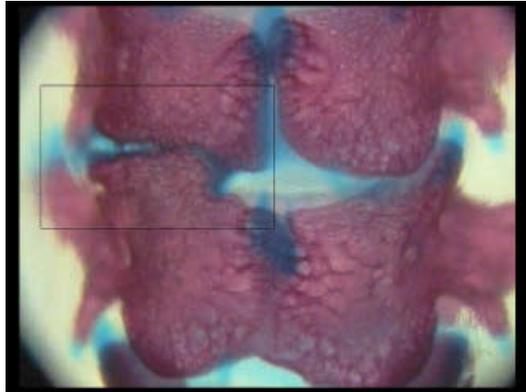


C.III.6.r., Lumbar arch 1+2
misshapen

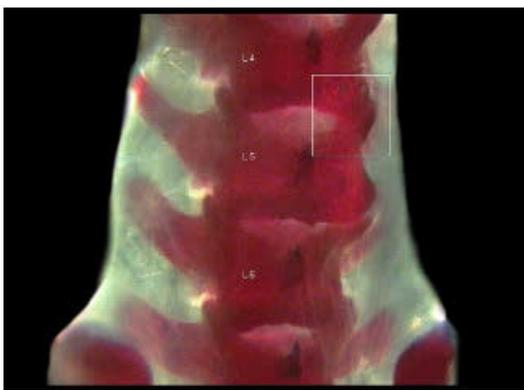
C.III.6., LWS PND 21, Lumbar arch misshapen



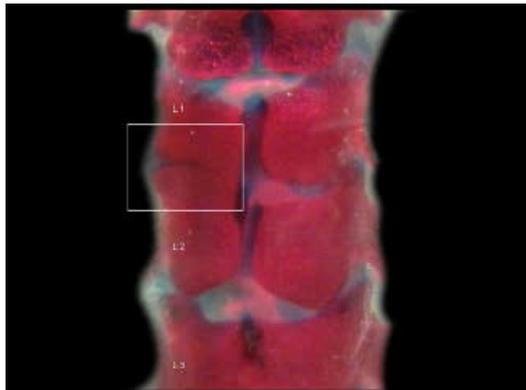
C.III.6.s., Control



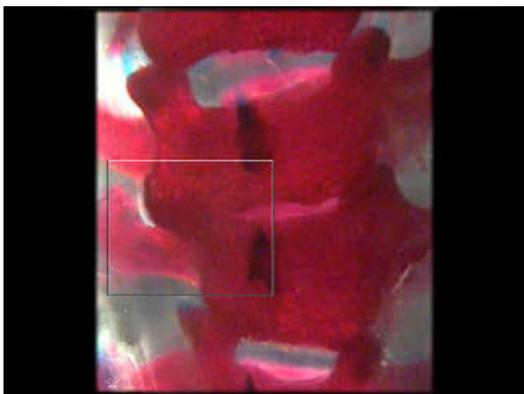
C.III.6.t., Lumbar arch misshapen



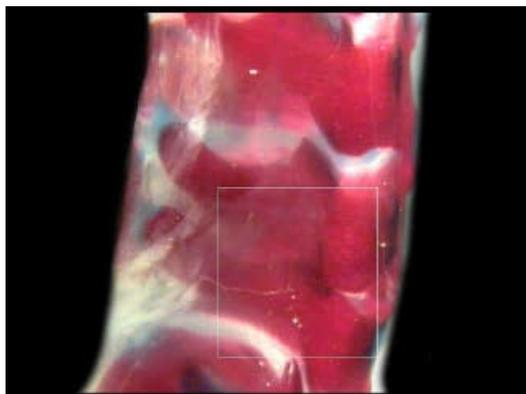
C.III.6.u., Lumbar arch 4+5 misshapen



C.III.6.v., Lumbar arch 1+2 misshapen

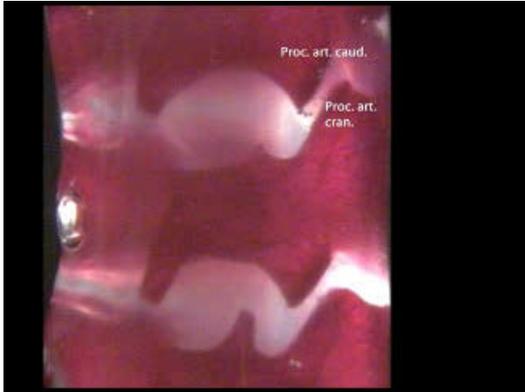


C.III.6.w., Lumbar arch misshapen



C.III.6.x., Lumbar arch misshapen

C.III.6., LWS PND 21, Lumbar arch misshapen

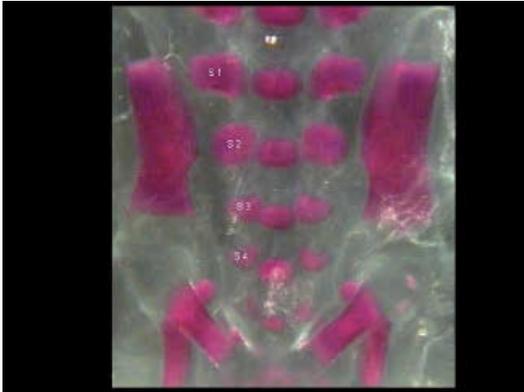


C.III.6.y., Control

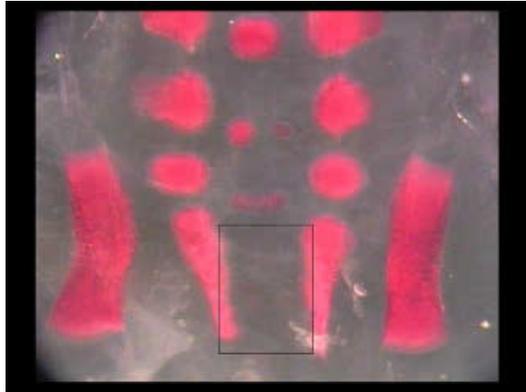


C.III.6.z., Lumbar arch misshapen

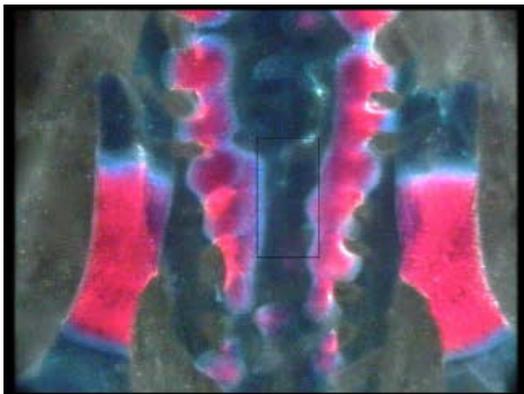
A.IV.1., SWS GD 21, Sacral centrum unossified



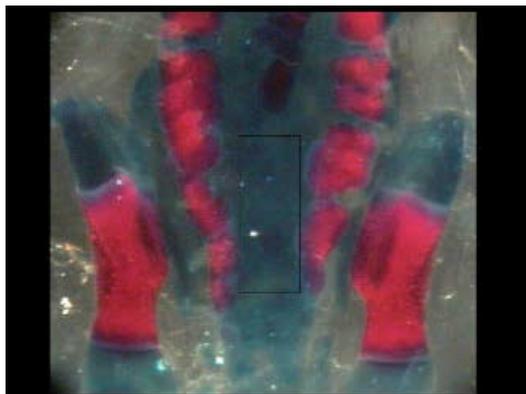
A.IV.1.a., Control



A.IV.1.b., SC unossified



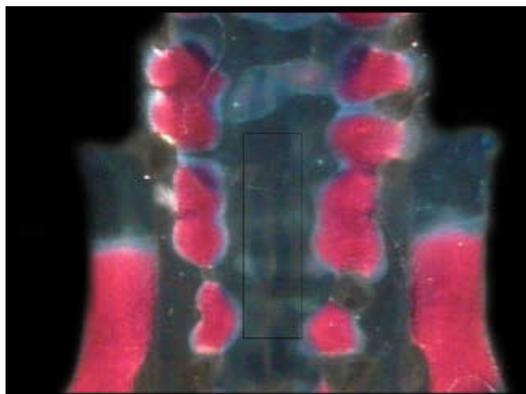
A.IV.1.c., SC unossified



A.IV.1.d., SC unossified



A.IV.1.e., SC unossified

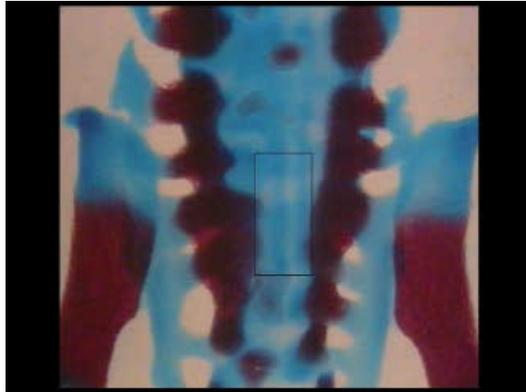


A.IV.1.f., SC unossified

A.IV.1., SWS GD 21, Sacral centrum unossified



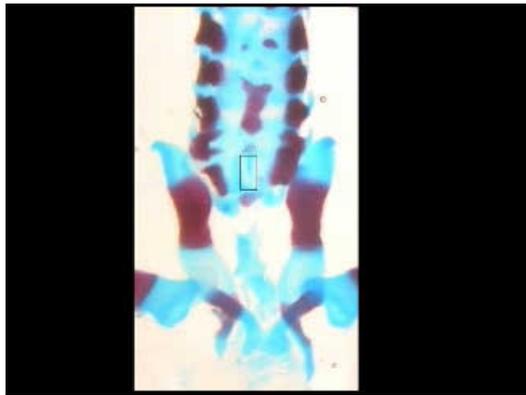
A.IV.1.g., Control



A.IV.1.h., SC unossified



A.IV.1.i., SC unossified



A.IV.1.j., SC unossified

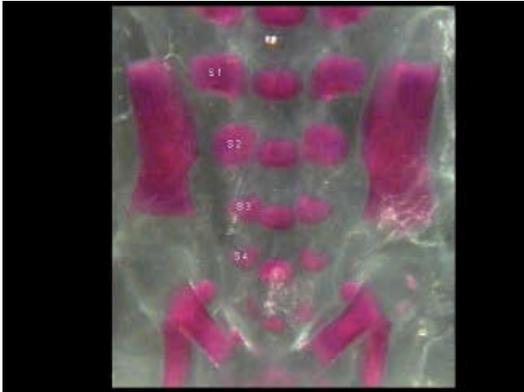


A.IV.1.k., SC unossified

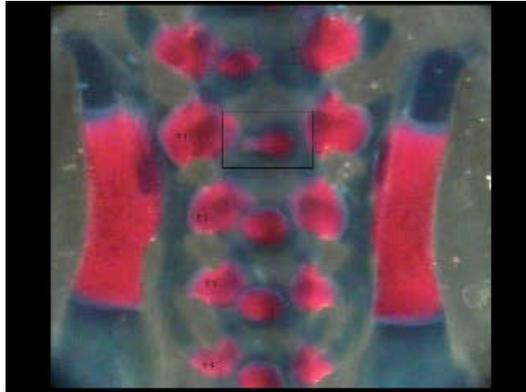


A.IV.l., SC unossified

A.IV.2., SWS GD 21, Sacral centrum asymmetric ossification



A.IV.2.a., Control



A.IV.2.b., SC 1 asymmetric ossification

A.IV.3., SWS GD 21, Sacral centrum bipartite ossification



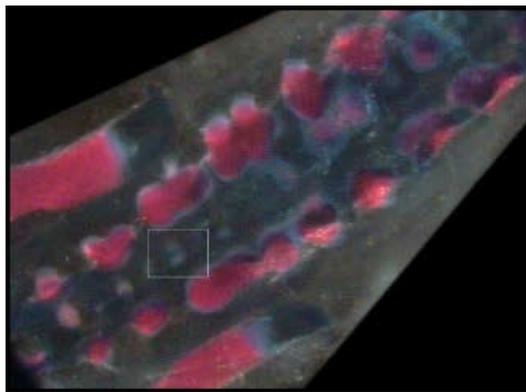
A.IV.3.a., Control



A.IV.3.b., SC bipartite ossification



A.IV.3.c., SC bipartite ossification

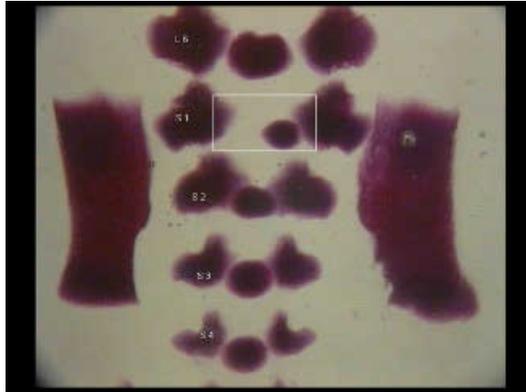


A.IV.3.d., SC bipartite ossification

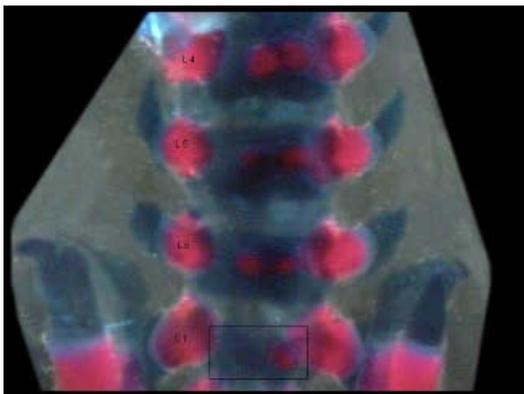
A.IV.4., SWS GD 21, Sacral centrum hemicentric



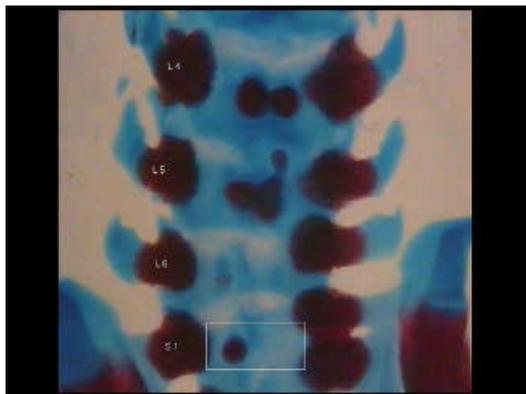
A.IV.4.a., Control



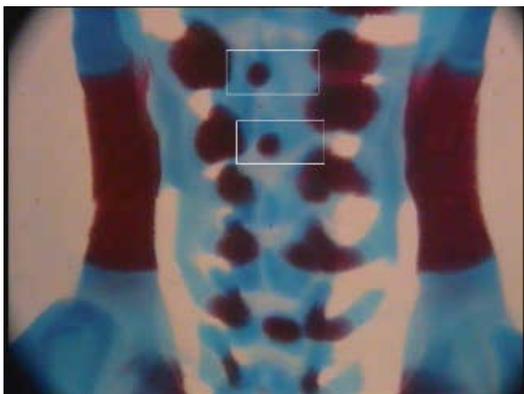
A.IV.4.b., SC 1 hemicentric



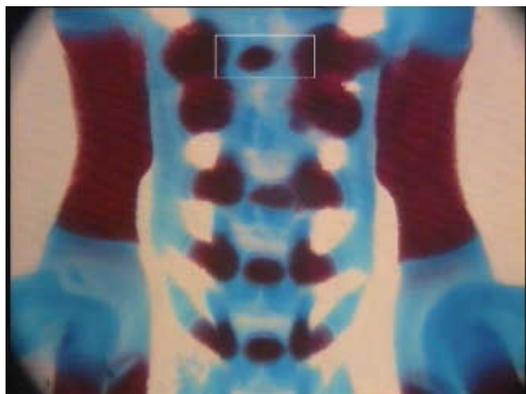
A.IV.4.c., SC 1 hemicentric



A.IV.4.d., SC 1 hemicentric

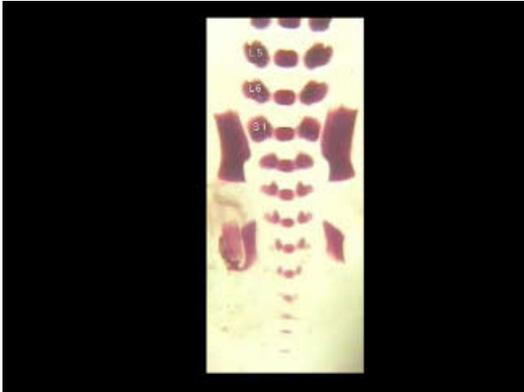


A.IV.4.e., SC 1+2 hemicentric



A.IV.4.f., SC 1 hemicentric

A.IV.4., SWS GD 21, Sacral centrum hemicentric



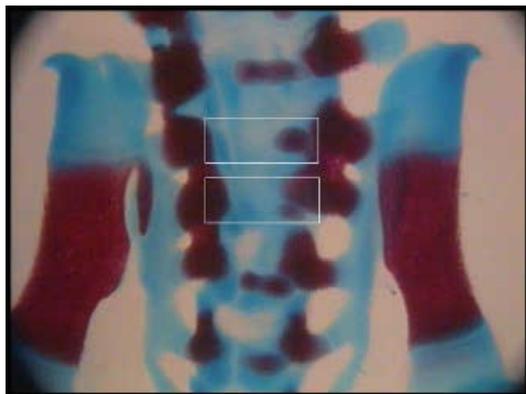
A.IV.4.g., Control



A.IV.4.h., SC 2 hemicentric



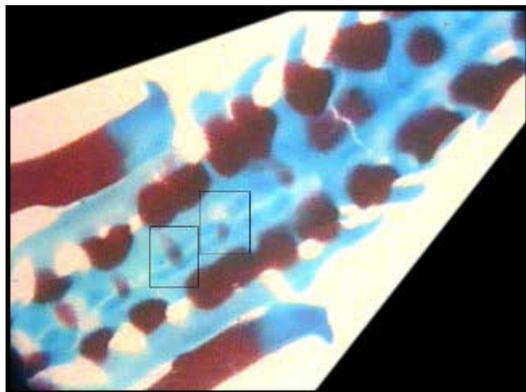
A.IV.4.i., SC 1+2 hemicentric



A.IV.4.j., SC 1+2 hemicentric



A.IV.4.k., SC 1 hemicentric

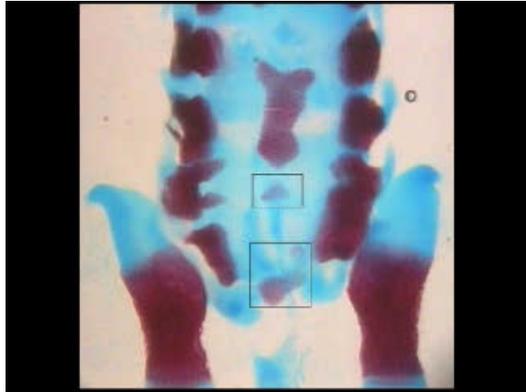


A.IV.4.l., SC 1+2 hemicentric

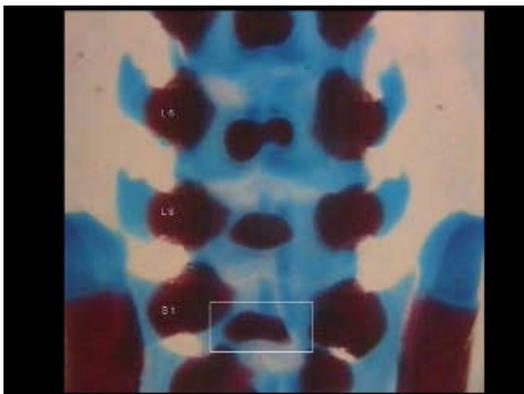
A.IV.5., SWS GD 21, Sacral centrum misshapen



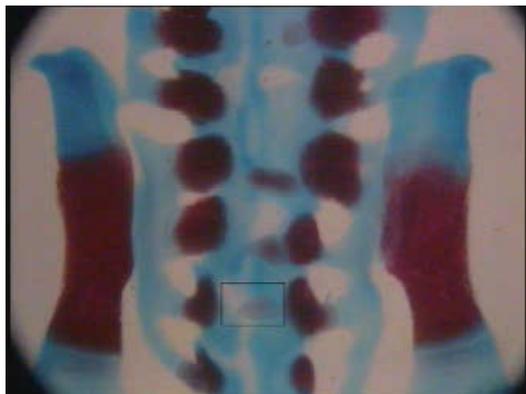
A.IV.5.a., Control



A.IV.5.b., SC misshapen



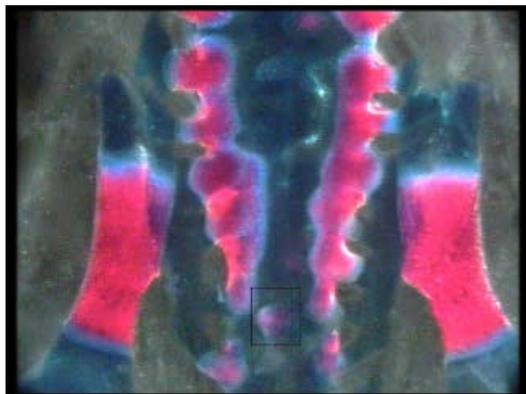
A.IV.5.c., SC 1 misshapen



A.IV.5.d., SC misshapen

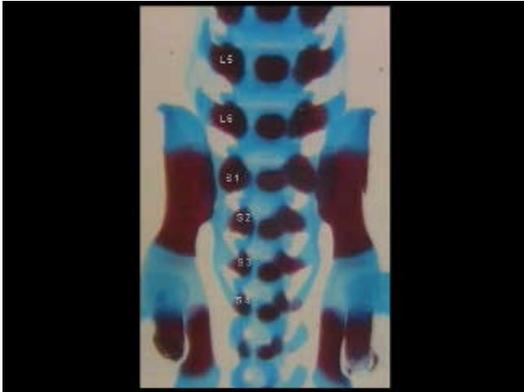


A.IV.5.e., SC misshapen

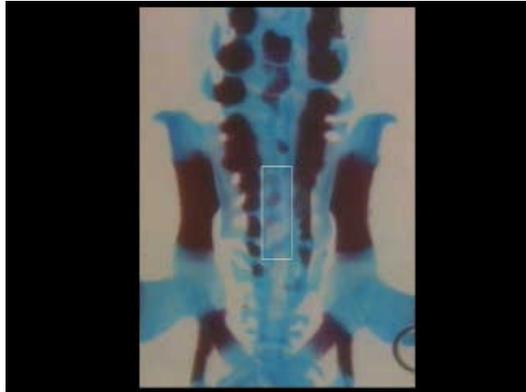


A.IV.5.f., SC misshapen

A.IV.5., SWS GD 21, Sacral centrum misshapen



A.IV.5.g., Control



A.IV.5.h., SC misshapen



A.IV.5.i., SC misshapen

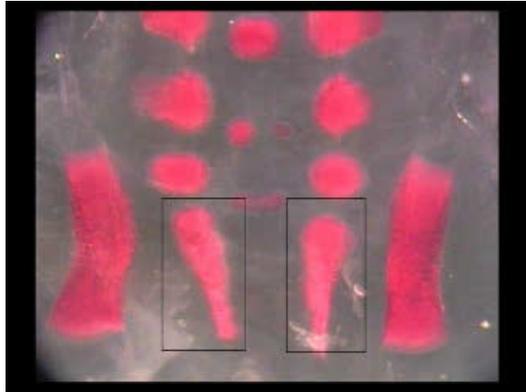


A.IV.5.j., SC misshapen

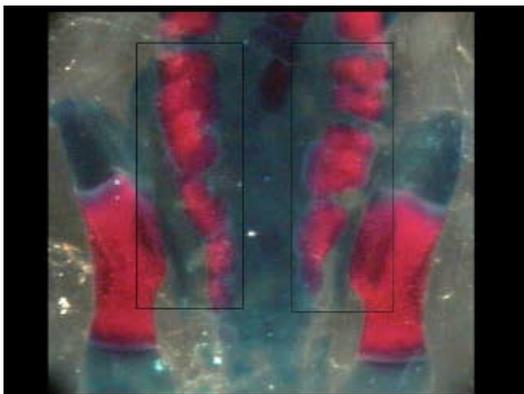
A.IV.6., SWS GD 21, Sacral arch misshapen



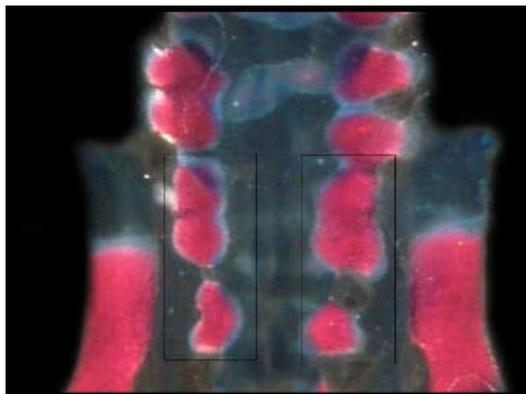
A.IV.6.a., Control



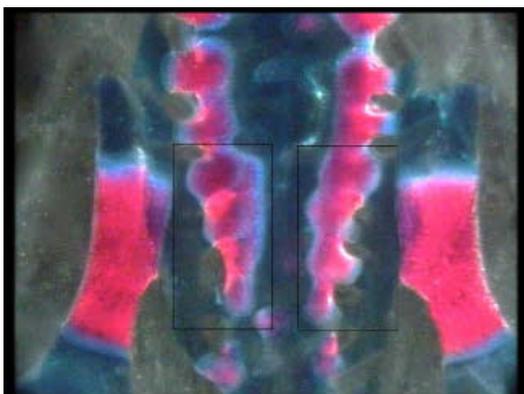
A.IV.6.b., Sacral arch misshapen



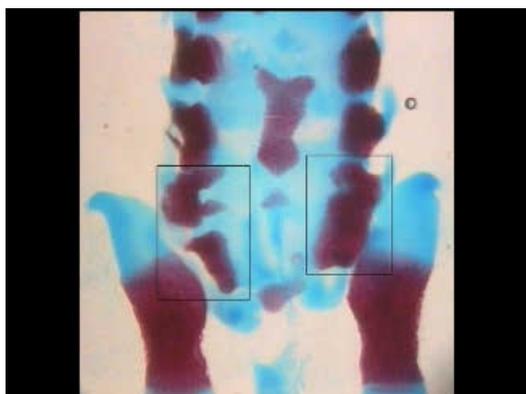
A.IV.6.c., Sacral arch misshapen



A.IV.6.d., Sacral arch misshapen

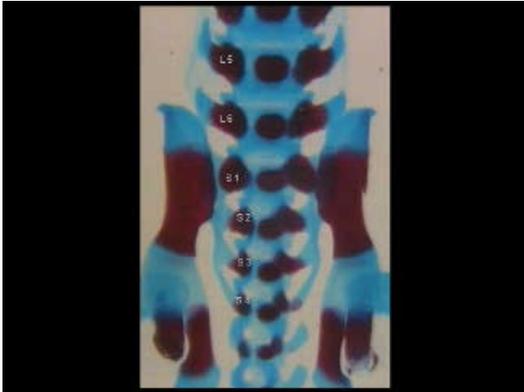


A.IV.6.e., Sacral arch misshapen

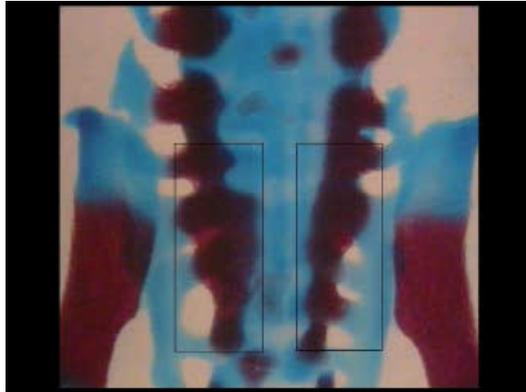


A.IV.6.f., Sacral arch misshapen

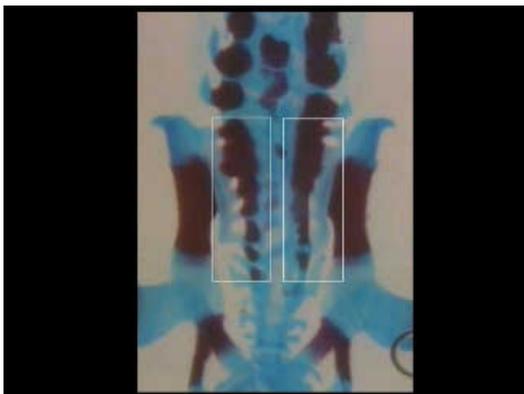
A.IV.6., SWS GD 21, Sacral arch misshapen



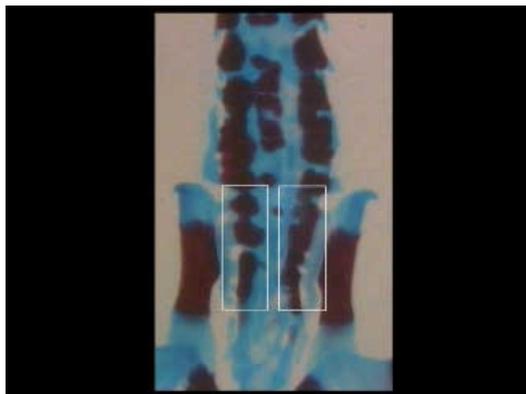
A.IV.6.g., Control



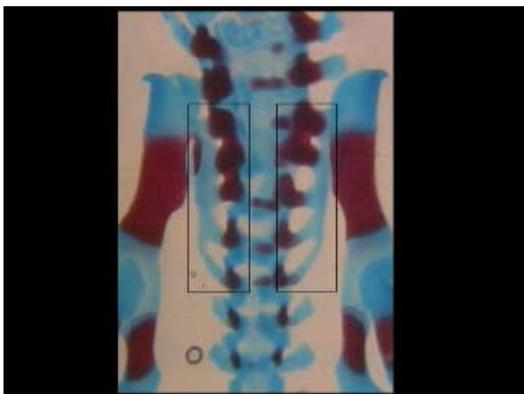
A.IV.6.h., Sacral arch misshapen



A.IV.6.i., Sacral arch misshapen



A.IV.6.j., Sacral arch misshapen



A.IV.6.k., Sacral arch misshapen

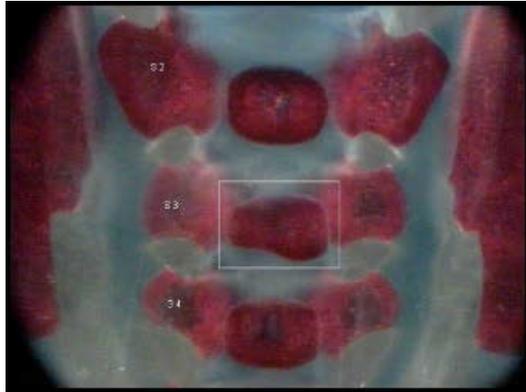


A.IV.6.l., Sacral arch misshapen

B.IV.1., SWS PND 7, Sacral centrum asymmetric ossification



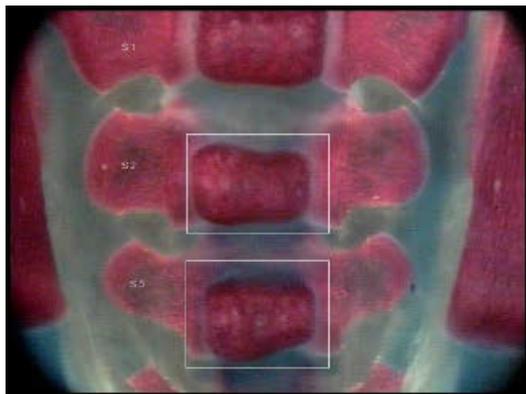
B.IV.1.a., Control



B.IV.1.b., SC 2 asymmetric ossification

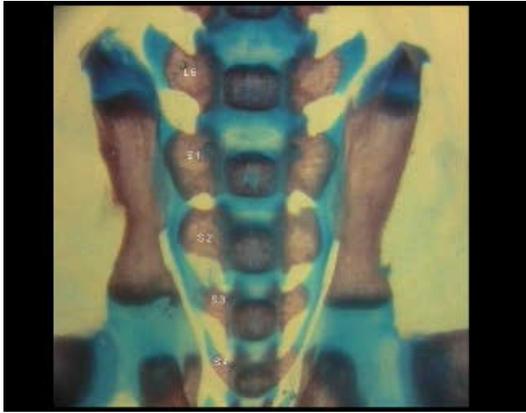


B.IV.1.c., Control



B.IV.1.d., SC 2+3 asymmetric ossification

B.IV.2., SWS PND 7, Sacral centrum bipartite ossification



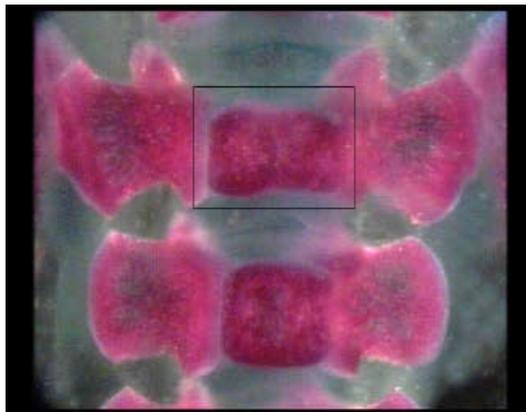
B.IV.2.a., Control



B.IV.2.b., SC bipartite ossification



B.IV.2.c., Control

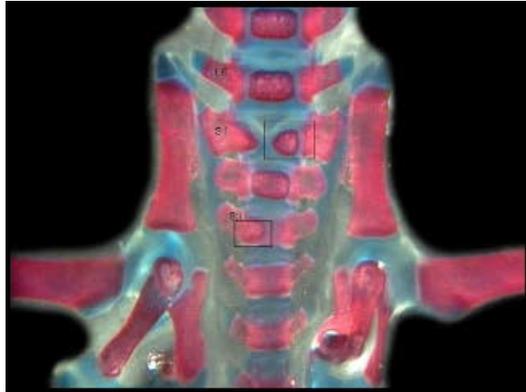


B.IV.2.d., SC bipartite ossification

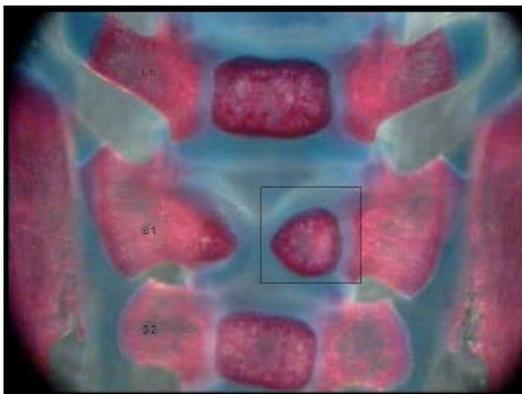
B.IV.3., SWS PND 7, Sacral centrum hemicentric



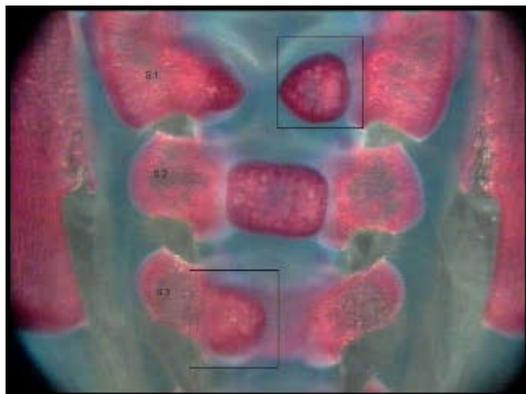
B.IV.3.a., Control



B.IV.3.b., SC 1+3 hemicentric

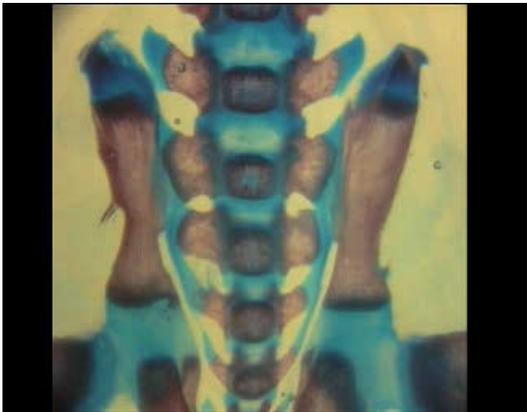


B.IV.3.c., SC 1 hemicentric

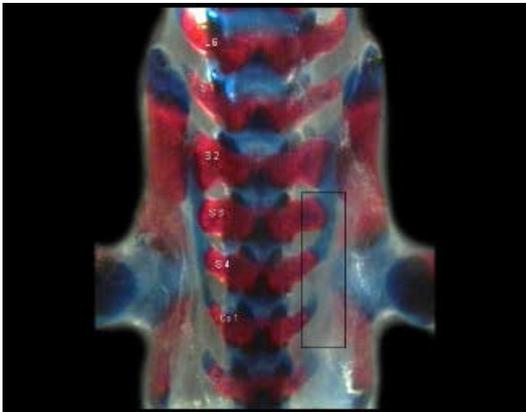


B.IV.3.d., SC 1+3 hemicentric

B.IV.4., SWS PND 7, Sacral arch misshapen



B.IV.4.a., Control



B.IV.4.b., Sacral arch misshapen

C.IV.1., SWS PND 21, Sacral centrum bipartite ossification



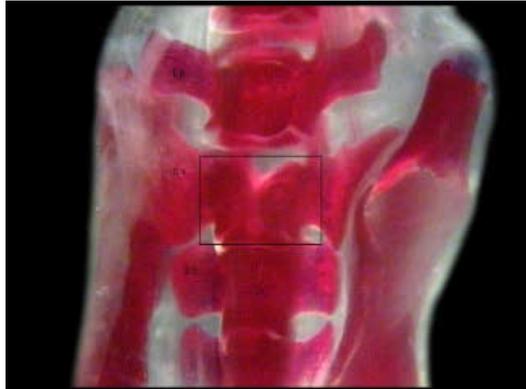
C.IV.1.a., Control



C.IV.1.b., SC 1 bipartite ossification



C.IV.1.c., Control



C.IV.1.d., SC 1 bipartite ossification