

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Umbauvorgänge des peridental Knochens in der Molarenregion  
der Maus. Histologische und morphologische Untersuchungen der  
Stadien P0 bis P20.

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Robert Mey  
aus Brandenburg an der Havel

Datum der Promotion: 09.09.2016

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>5</b>
1.1	Abstrakt (Deutsch)	5
1.2	Abstract (English)	6
<b>2</b>	<b>Einleitung</b>	<b>8</b>
2.1	Einführung	8
2.2	Fragestellung	10
<b>3</b>	<b>Grundlagen und Literaturübersicht</b>	<b>11</b>
3.1	Formale und anatomische Aspekte der Knochenentwicklung	11
3.2	Entwicklung der Mandibula	12
3.3	Regulation der Knochenbildung	14
3.4	Zahnentwicklung	16
3.5	Regulation der Zahnentwicklung	18
3.6	Zusammenhang zwischen Zahn- und Knochenentwicklung	21
<b>4</b>	<b>Material und Methode</b>	<b>23</b>
4.1	Material	23
4.2	Rekonstruktionstechnik	24
4.3	Zellidentifizierung zur Bestimmung des Knochenumbauverhaltens	26
4.4	Morphometrische Analyse	27

<b>5</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>28</b>
5.1	Vorbemerkungen	28
5.2	Stadium P0	31
5.3	Stadium P2	35
5.4	Stadium P4	39
5.5	Stadium P6	42
5.6	Stadium P8	46
5.7	Stadium P10	49
5.8	Stadium P12	52
5.9	Stadium P14	56
5.10	Stadium P16	59
5.11	Stadium P18	64
5.12	Stadium P20	68
5.13	Morphometrische Daten	71
<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>78</b>
6.1	Material	78
6.2	Zellidentifizierung	79
6.3	Rekonstruktionstechnik	81
6.4	Ossifikation der Mandibula im Bereich der Zahnanlagen	82
6.5	Morphologie der Mandibula im Bereich der Zahnanlagen	83
6.6	Morphogenese der knöchernen Septen und Krypten	85
6.7	Morphometrische Analyse	87
<b>7</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>89</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>91</b>

<b>9</b>	<b>Anhang</b>	<b>109</b>
9.1	Eidesstattliche Versicherung	109
9.2	Lebenslauf	111
9.3	Danksagung	112

# 1 Zusammenfassung

## 1.1 Abstrakt (Deutsch)

Aufgrund bekannter veröffentlichter Beobachtungen wird in dieser Arbeit vorausgesetzt, dass Alveolarknochen ausschließlich im Zusammenhang mit Zähnen vorhanden sein kann. Die Zahnentwicklung sowie die Struktur des Alveolarfortsatzes sind in der Fachliteratur ebenfalls hinreichend beschrieben worden. Molekularbiologische Betrachtungen des Knochenumbaus (Tooth-Bone-Interface) sind ebenso bekannt. Die Zuordnung verschiedener Signalkaskaden im Rahmen der Bildung des Alveolarknochens und der Zähne ist in der dreidimensionalen Ansicht nur erschwert möglich bzw. wurden diese Prozesse bislang nicht detailliert untersucht und entsprechend dargestellt. Interaktionen zwischen dem zahnumgebenden Knochen, den Zahnanlagen und weiteren Strukturen sind grundsätzlich anzunehmen, jedoch wurde deren genaue Entwicklung der Form bisher nicht beschrieben. Im Rahmen dieser Arbeit wurde dieser Prozess untersucht.

Untersuchungsgegenstand waren hierfür Schnittserien der Mandibula von elf Mäusen im Zeitraum von der Geburt bis zum 20. postnatalen Tag. Nach mikroskopischen Untersuchungen des vorliegenden Materials wurden computergestützte dreidimensionale Rekonstruktionen, einschließlich Markierungen von Knochenanbau- und Knochenabbauzonen und Abstandsmessungen zwischen den Zahnanlagen bzw. Zähnen und dem umgebenden Knochen angefertigt, beschrieben und ausgewertet.

Ergebnisse und Schlussfolgerungen:

1. Die Entwicklung der Molaren läuft im *Corpus mandibulae* ab. Zunächst befinden sich die Zahnanlagen in einer knöchernen Rinne. Im weiteren Entwicklungsverlauf unterteilt sich die knöcherne Rinne zunächst interdental und im Folgenden interrädikulär durch einwachsenden Knochen. Hierdurch bilden sich einzelne knöchernen Krypten für jede Zahnanlage ( $M_1$  ab dem Stadium P16). Im Vergleich zu bereits eruptierten Zähnen wurden strukturelle Unterschiede in der Beziehung zwischen Zahnanlagen und Knochen festgestellt. Insoweit ist zu konstatieren, dass erst nach Bildung des Desmodonts und des Alveolarknochens die Alveolen bzw. der Alveolarfortsatz als selbige bezeichnet werden können ( $M_1$  ab dem Stadium P20).

Die knöcherne Rinne, knöcherne Krypten und Alveolen haben stets einen knochenfreien Bereich nach kranial.

2. Der peridentale Knochen wird in seiner Entwicklung durch Knochenumbau geformt. Knochenresorption findet bukkal, lingual sowie apikal der Zahnanlagen statt. Der interdentale und interradiikuläre Knochen wird hingegen durch aktives Knochenwachstum gebildet. Das Kryptenwachstum erfolgt zentrifugal durch Knochenabbau an den Innenflächen und durch appositionelles Wachstum an den Außenflächen. Im Verlauf der Zahnentwicklung ist festzustellen, dass die Intensität des Knochenumbaus abnimmt. In der Molarenregion konnte ausschließlich desmale Knochenbildung festgestellt werden.

3. In Bezug auf den Abstand zwischen den Zahnanlagen und den umgebenden Knochen wurde bei Abständen von unter 90  $\mu\text{m}$  hauptsächlich Knochenabbau festgestellt. Bei Abständen von über 90  $\mu\text{m}$  konnte hingegen fast ausschließlich Knochenanbau beobachtet werden. Der Abstand von 90  $\mu\text{m}$  entspricht dem Parodontalspalt von adulten Mäusen.

## 1.2 Abstract (English)

Based on known observations it is assumed that alveolar bone only exists in connection with teeth. Tooth development and the structure of the alveolar process have also been described sufficiently. Molecular biological observations of bone remodeling (tooth-bone-interface) are known as well. The assignment of different signal cascades during the formation of alveolar bone and teeth in a three-dimensional view have not been examined. Interactions between periodontal bone, the tooth germs and further structures have to be assumed, however, their exact development in relation to the shape has not yet been described. In the course of this study that process has been analysed.

For this study serial sections of the mandible of eleven mice in the period from birth to the 20<sup>th</sup> postnatal day were prepared. Computer-aided three-dimensional reconstructions were analysed and described after microscopic studies, including bone formation zones and bone resorption zones, as diagnosed histologically, and distance measurements between the tooth germs respectively teeth and the surrounding bone.

Results and conclusions:

1. Odontogenesis of molars proceeds in bone of the *Corpus mandibulae*. The tooth germs are located in a bony groove. During further developmental stages, the bony groove becomes subdivided first interdental and later interradicular by ingrowing bone. This results in single bony crypts for each tooth germ ( $M_1$  at stage P16). Compared to erupted teeth, structural differences in the relationship between tooth germs and bone were found. Alveoli or the alveolar process can be termed as such only after formation of the periodontal ligament and alveolar bone ( $M_1$  at stage P20). The bony groove, bony crypts and alveoli have always a bone-free area cranially.

2. The periodontal bone it is formed by bone remodeling. Resorption takes place buccal, lingual and apical of the tooth germs. Interdental and interradicular bone, instead, is formed by active bone growth. The centrifugal increasing size of the bony crypts is effected by bone apposition on the outer surfaces and bone resorption on the inner surfaces. In the course of tooth development it is noted that the intensity of bone turnover decreases. In the molar region exclusively desmal osteogenesis could be observed.

3. In relation to the distance between tooth germs and the surrounding bone mainly bone resorption was found at distances of less than 90  $\mu\text{m}$ . At distances of more than 90  $\mu\text{m}$  bone formation was almost exclusively observed. The distance of 90  $\mu\text{m}$  almost resembles with the periodontal space in adult mice.

## 2 Einleitung

### 2.1 Einführung

Die positiven Entwicklungen auf dem Feld der konservierenden Zahnheilkunde haben bei älteren Personen zu dem Ergebnis geführt, dass Zahnverlust deutlich vermindert auftritt. Zeitgleich steigt jedoch die Anzahl der parodontalen Erkrankungen bei der älteren Bevölkerung [Oesterreich 2009].

Die Morbidität der Parodontitis liegt bei Erwachsenen bei 85-95% [Wolf und Rateitschak 2003]. Parodontitis führt zu horizontalem und vertikalem Knochenabbau, die Morphologie wird verändert und es führt im weiteren Verlauf zum Zahnverlust. Für den Fall einer zahnmedizinischen Behandlung ist festzustellen, dass eine vollständige Regeneration des Zahnhalteapparates in der Regel nicht erreicht werden kann [Wolf und Rateitschak 2003]. Aus wissenschaftlicher Sicht und zur Erlangung einer sogenannten *Restitutio ad Integrum* ist es grundlegend erforderlich das Wissen, wie sich die Zähne und der umgebende Knochen entwickeln, zu erweitern. Hierzu sollte die Morphogenese des Kieferknochens und der Zahnanlagen genauer betrachtet und verstanden werden, insbesondere im Hinblick auf deren gegenseitige Beeinflussung.

Die Morphogenese des Alveolarknochens wurde bereits mehrfach untersucht [Norberg 1933, 1960, Enlow und Harris 1964, Enlow und Bang 1965, Kjaer und Bagheri 1999]. Weitere Studien beschreiben zudem den Ablauf der Zahnentwicklung [Kronfeld 1935, Bower 1983, Lumsden 1988, Peterkova et al. 1995 und 1996, Thesleff 2003]. Auch auf molekularer Ebene war das Zusammenspiel zwischen Knochen- und Zahnentwicklung Gegenstand mehrerer Untersuchungen, z.B. [Fleischmannova et al. 2010]. Auf zellulärer bzw. morphologischer Ebene fehlen entsprechende Studien bislang.

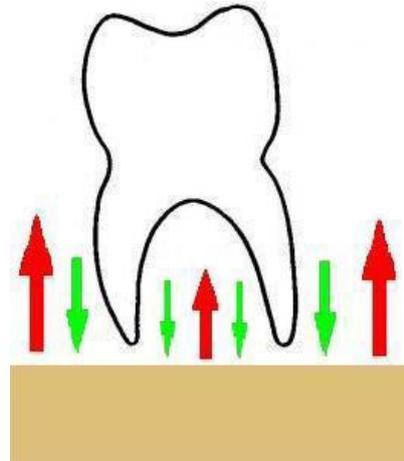
Bei einer Betrachtung der Lagebeziehung von sich entwickelndem Knochen und Zahnanlagen in frühen Entwicklungsstadien zu vollständig entwickeltem Knochen mit den zugehörigen Zähnen, lassen sich deutliche Unterschiede erkennen. So umfasst beispielsweise der sich entwickelnde Alveolarknochen im Anfangsstadium die Zahnanlagen nicht. Die Zahnanlagen nähern sich in ihrer Entwicklung erst dem Knochen an und es bestehen zudem noch keine Strukturmerkmale wie knöcherne Krypten oder knöcherne Septen [Radlanski 1993, Radlanski et al. 2011].

Es bedarf insoweit einer genaueren Betrachtung, wie genau die Gestaltentwicklung des peridental und interdentalen Knochens im Zusammenhang mit der Zahnentwicklung verläuft und wie der Weg zu der bekannten Form des adulten Individuums erfolgt.

Forschungsobjekt dieser Arbeit ist die Hausmaus (*Mus musculus* des Stammes C57BI/6J). Es bestehen Unterschiede zwischen Maus und Mensch, zum Beispiel die Zahnanzahl 28-32 bei Menschen (8 *Dentes incisivi*, 4 *Dentes canini*, 8 *Dentes praemolares*, 8-12 *Dentes molares*) und 16 bei Mäusen (4 *Dentes incisivi*, 12 *Dentes molares*). Die Erforschung der Verhältnisse bei der Hausmaus helfen allerdings die Entwicklung der dentalen Kompartimente des Menschen zu verstehen, da die Molaren der Hausmaus in Form und Größenrelation denen des Menschen stark ähneln. Die vorliegende Arbeit untersucht die Molarenregion der Hausmaus.

## 2.2 Fragestellung

Im Allgemeinen soll die Entwicklung des Alveolarfortsatzes, der knöchernen Krypten und Septen, betrachtet werden. Den Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit bildet die Untersuchung des Knochenbaus und des Knochenabbaus im Zusammenhang mit der Entwicklung der Form des Alveolarfortsatzes.



**Abb. 1:** hypothetische Entwicklung des Alveolarfortsatzes

Wesentliche Fragestellung bildet hierbei, wie die bekannte adulte Morphologie des Kieferknochens mit darin enthaltenen Zähnen entsteht. Abb. 1 zeigt die verschiedenen, zunächst hypothetischen Annahmen der Entstehung der Knochenfächer für die Zähne. Knochen könnte einerseits aktiv an der Zahnanlage entlang wachsen (rote Pfeile) oder andererseits könnte Knochen bei Verlängerung der Zahnwurzeln, beziehungsweise bei der Bewegung der Zahnanlage in den Knochen hinein, abgebaut werden (grüne Pfeile). In beiden Fällen käme es zu dem Ergebnis, dass der Zahn von Knochen umgeben ist.

Eigene Voruntersuchungen haben gezeigt, dass es Mischformen der vorbeschriebenen Annahmen geben kann. Vor diesem Hintergrund wird im Weiteren beobachtet, an welchen Stellen es zu einer Knochenneubildung um die Zahnanlagen bzw. Zähne kommt und welchen Stellen Knochenabbau stattfindet. Zusammenfassend soll beschrieben werden können, wie interdentaler und interrädikulärer Knochen entsteht.

Darüber hinaus soll ermittelt werden, ob der Parodontalspalt während der Entwicklung der Zahnanlagen eine konstante Breite beibehält respektive, ob sich der Abstand von Zahn zu Knochen während der Entwicklung der dentalen Kompartimente verändert.

### 3 Grundlagen und Literaturübersicht

#### 3.1 Formale und anatomische Aspekte der allgemeinen Knochenentwicklung

In der Literatur werden verschiedene Modi der Ossifikation der Mandibula beschrieben [Linß und Fanghänel 1999]. An dieser Stelle soll zunächst ein Überblick über die allgemeine Knochenentwicklung gegeben werden.

Es bestehen zwei Wege der Osteogenese. Zum einen kann Knochen desmal entstehen, direkt aus dem Mesenchym [Olsen et al. 2000, Nanci und Ten Cate 2003], und zum anderen chondral, indirekt über knorpelige Skelettelemente [Jerosch et al. 2002, Yang 2009].

Bei der desmalen Osteogenese entsteht im Mesenchym ein Ossifikationszentrum mit einem Kapillarplexus. Die Mesenchymzellen innerhalb von diesem Plexus differenzieren sich zu Osteoblasten, welche Osteoid sezernieren. Durch die Mineralisation des Osteoids werden die Osteoblasten von Knochen umgeben und differenzieren sich zu Osteozyten. Durch Anlagerung von weiterem Knochen kommt es zu einem appositionellen Wachstum [Olsen et al. 2000, Yang 2009]. Während der Knochenentstehung kommen Osteoblasten und Osteoklasten zeitgleich vor, das heißt, schon während seiner Entstehung wird der Knochen umgebaut [Enlow 1990].

Bei der chondralen Osteogenese kommt es zu einer Mesenchymverdichtung. Chondroblasten differenzieren sich und produzieren eine knorpelige Vorform, umhüllt von einem Perichondrium. Die spätere Form des Knochens ist so prinzipiell schon erkennbar. Die Dickenzunahme passiert appositionell und die Längenzunahme interstitiell [Yang 2009]. In dem Perichondrium differenzieren sich Osteoblasten und bilden auf desmalem Weg eine Knochenmanschette. Das ehemalige Perichondrium wird zu Periost, welches die Dickenzunahme regelt [Jerosch et al. 2002]. Darauf folgend wandern Nerven [Kjaer 1990] und Blutgefäße [Correia et al. 2011] ein (enchondral), welche von Mesenchymzellen begleitet werden. Es kommt zu einer Differenzierung von Chondroblasten, Osteoblasten und Osteoklasten [Drenckhahn und Kugler 2004]. Es entsteht, bewirkt durch Chondroblasten, eine primäre Markhöhle, wobei kleine Balken als Gerüst für Osteoblasten zunächst erhalten bleiben. Das Längenwachstum geschieht durch das Fortschreiten der enchondralen Ossifikationszentren nach proximal und distal bei gleichzeitigem interstitiellen Wachstum des Knorpels [Lüllmann-Rauch 2009].

### 3.2 Entwicklung der Mandibula

Die Mandibula gehört zum Viscerocranium und entstammt dem 1. Viszeralbogen. Aus dem 1. Viszeralbogen, auch Mandibularbogen genannt, entstehen unter anderem *Incus*, *Malleus* und Meckelscher Knorpel [Sperber 2001].

Aus dem dorsalen Anteil des Meckelschen Knorpels bilden sich Teile des Mittelohres, der mittlere Teil degeneriert fast komplett, bildet jedoch noch das *Lig. mallei anterior* und das *Lig. sphenomandibulare*. Lateral des Meckelschen Knorpels bildet sich der Knochen der Mandibula, welcher sich nach anterior und posterior ausdehnt. Im weiteren Verlauf der Entwicklung kommt es zu einer vollständigen Resorption des Meckelschen Knorpels [Richany et al. 1956, Durst-Zivkovic und Davila 1974, Dosekocil 1989, Orliaguet et al. 1994]. Die Beteiligung des Meckelschen Knorpels bei der Ossifikation der Mandibula wurde auch bei Mäusen untersucht, wobei passagere enchondrale Ossifikationsvorgänge im anterioren Bereich der Mandibula festgestellt werden konnten [Frommer und Margolies 1971].

Bezüglich der Osteogenese der Mandibula gibt es verschiedene Annahmen. Neben der rein desmalen Osteogenese [Kummer 1985], wird mehrheitlich beschrieben, dass der überwiegende Teil der Mandibula desmal entsteht aber auch einige Teile chondral ossifizieren [Lang 1974, Sperber 1992, Nanci und Ten Cate 2003, Radlanski et al. 2003]. Sekundärer Knorpel entsteht später und unabhängig von dem primär vorhandenen Meckelschen Knorpel und trägt in der Symphysenregion [Goret-Nicaise 1982], an dem aufsteigenden Ast und an dem *Angulus mandibularis* [Radlanski et al. 2003] zu der Ossifikation der Mandibula bei. Unlängst konnten sekundäre Knorpelinseln auch an der *Pars alveolaris mandibulae* nachgewiesen werden [Zimmermann 2013].

Erste Mesenchymverdichtungen finden sich in der Region des späteren *Foramen mentale* [Dixon 1958, Wendler et al. 1980, Sperber 1989]. Der sich in der weiteren Entwicklung bildende Knochen liegt zunächst lateral des Meckelschen Knorpels. Es entsteht eine trogförmige Rinne, welche sich zunehmend nach kranial schließt [Zuckermandl 1891, Schumacher und Schmidt 1990, Norberg 1933, Böcker und Becker 1965]. Diese Rinne wird durch Osteoklasten erweitert [Kölliker 1867].

Die Zahnanlagen liegen bis zum Beginn der Hartgewebsbildung außerhalb des Knochens [Kvam 1973, Schroeder 1986]. Bisher ist wenig bekannt, in welcher Weise sich Zahnanlagen und Knochen einander nähern und wie die auftretenden Umbauvorgänge des Knochens während der Odontogenese ablaufen und sich gegenseitig beeinflussen. Einige Untersuchungen beschäftigten sich mit der Formbildung von Knochen durch ein

Zusammenspiel mit anderen Gewebetypen [Enlow et al. 1976, Landsberger 1924, Schroeder 1986, Kjaer 1998, Sisask et al. 20013].

Es existiert die Theorie der Neuro-Osteologie [Kjaer 1998]. Demnach beginnt die desmale Knochenbildung der Maxilla und der Mandibula in enger Lagebeziehung zu Nervengewebe. Knochen umschließt in der weiteren Entwicklung das Nervengewebe, so kommt es zur Entstehung von Nervkanälen beziehungsweise von Foramina. Beobachtet wurde die initiale Knochenbildung am *Foramen mentale*, *Foramen infraorbitale*, *Foramen palatinum* und an dem *Foramen incisivum*. Auch einige Fehlbildungen des Nervensystems können, wie Kjaer [1998] vermutet, mit Fehlbildungen des Knochens zusammenhängen, wie zum Beispiel die Anencephalie und die Holoprosencephalie.

Auch auf molekularbiologischer Ebene gibt es ein Zusammenspiel zwischen Knochen und Nervengewebe. Neuropeptidhaltige Fasern wurden im Knochen gefunden und dazugehörige, funktionale Rezeptoren in Knochenzellen. Neuropeptide können direkt oder indirekt die Aktivität von Knochenzellen unter physiologischen oder pathologischen Gegebenheiten modulieren [Sisask et al. 2013].

Hinzukommend besteht die Theorie, dass verschiedene Kräfte die Bildung verschiedener Gewebe induzieren, also dass direkte physikalische Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Geweben zu der Formbildung beitragen. Zug-, Druck- und Scherkräfte sollen, wenn sie unter bestimmten Bedingungen auf das Mesenchym einwirken, zur Knorpel-, Muskel- und Knochenbildung führen [Carey 1920, Blechschmidt 1948, Blechschmidt 2004, de la Fuente und Helms 2005]. Demnach kommt es zu einer Umwandlung von physikalischen Reizen in molekulare Signalkaskaden [Curtis 2005, Ingber 2005, Radlanski und Renz 2006]. Es ist anzunehmen, dass Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Hypothesen bestehen und sie sich gegenseitig ergänzen.

Auch die Anwesenheit beziehungsweise der Durchbruch der Zähne spielt bei der Entwicklung der Mandibula eine wichtige Rolle. So führt der Durchbruch der Zähne zu einer deutlichen Größenzunahme des Viscerocraniums mit der dazu gehörigen Mandibula [Landsberger 1924, Schroeder 1986]. Erst mit dem Zahndurchbruch bildet sich der Alveolarfortsatz und atrophiert bei Zahnverlust. Somit ist die *Pars alveolaris mandibulae* ist eine zahnabhängige Struktur [Enlow et al. 1976].

### 3.3 Regulation der Knochenbildung

Ab dem 17. bis ins 19. Jahrhundert galt die Präformationstheorie, zurückgehend auf Anaxagoras in der Antike und Giuseppe degli Aromatari (1587-1660) in der Neuzeit. Jedes Lebewesen ist ein unteilbares Individuum und muss während seiner Entwicklung nur wachsen. Diese Theorie wurde mit Bekanntwerden der Bedeutung der Keimblätter widerlegt [Pander 1817, Von Baer 1828] und von der Theorie der Epigenese abgelöst. Strukturen und Organe bilden sich im Verlauf der Individualentwicklung aus. Heutzutage ist bekannt, dass Strukturmerkmale in Genen festgelegt sind, wobei jedem Gen verschiedene Aufgaben zugeteilt werden können [Weiss et al. 1998, Peters und Balling 1999, Jernvall und Thesleff 2000].

Auch die den Knochenanbau, die Osteoblasten, und den Knochenabbau, die Osteoklasten, bewirkenden Zellen unterliegen der Regelung verschiedener Gene. Osteoblasten leiten sich von mesenchymalen Stammzellen ab. Sie produzieren die Knochenmatrix, sezernieren u. a. kollagene und nicht kollagene Proteine, Proteoglykane inaktive MMP's, Zytokine (Wachstumsfaktoren), alkalische Phosphatase, und Fibronectin (wichtig für die Osteoblastendifferenzierung und für die Anheftung von Knochenzellen an die extrazelluläre Matrix). Osteoblasten werden von mehreren Genen gesteuert. BMP's regen u.a. die Knochenbildung an und FGF ist wichtig für die Stimulation von Osteoblasten [Agas et al. 2013]. Hox-a, Hox-b, PAX und DLX, verschiedene Homeodomain proteins, steuern die kranio-kaudale beziehungsweise die dorso-ventrale Musterbildung [Krumlauf 1993]. Eine wichtige Rolle bei der Regulation der Knochenbildung kommt TGF zu. TGF- $\alpha$  ist verantwortlich für verschiedene Differenzierungsvorgänge [Garant 2003] und TGF- $\beta$  wirkt in der Signalkaskade der kraniofazialen Entwicklung als Promotor und Inhibitor [Linkhart et al. 1996]. Bei einem Fehlen dieser Gene kommt es zu einer Ausbildung einer dysplastischen Mandibula. RUNX-2 regelt die Differenzierung der Osteoblasten. Zusammenstellungen der wichtigsten Signalproteine und deren bisher bekannten Wirkungen sind in aktuellen Lehrbüchern, z.B. [Radlanski 2011] zusammengefasst.

Komplett von Knochen umgebene, „eingemauerte“, Osteoblasten werden zu Osteozyten und stehen durch zahlreiche, lange zytoplasmatische Fortsätze untereinander in Verbindung. Viele dieser Fortsätze weisen in Richtung Knochenoberfläche [Garant 2003], sodass auch tief liegende Osteozyten mit der oberflächlich liegenden Osteoidschicht verbunden sind [Knothe Tate et al. 1998]. Osteozyten regeln den Calciumhaushalt, wirken als Verstärker von

physikalischen Reizen und wandeln diese in chemische Reize um [Bonewald 2011, Nakashima et al. 2011].

Den Knochenabbau bewirken Osteoklasten. Sie gehen aus Monozyten hervor [Ash et al. 1980] und sind hochspezifische Zellen. Es sind vorrangig multinukleare Zellen (2-20) aber auch einkernige Osteoklasten können beobachtet werden [Domon et al. 1994]. Osteoklasten enthalten von allen Körperzellen die meisten Mitochondrien [Garant 2003] und sind aktiv mobile Zellen [Goldhaber 1966]. Voraussetzung für die Knochenresorption ist der Kontakt von mineralisiertem Knochen mit interstitieller Flüssigkeit [Baron 1985]. Aktive Osteoklasten gehen nach zwei Wochen durch Apoptose zugrunde und werden ersetzt oder kehren in den Ruhezustand zurück [Lüllmann-Rauch 2009]. Ein Protein aus der Familie der TNF, RANKL, wirkt fördernd und OPG wirkt hemmend auf die Differenzierung von Osteoklasten [Hofbauer et al. 2000]. Außerdem steuern unter anderem Calcitonin, Parathormon, Calcitriol und Östrogen die Osteoklastentätigkeit [Blair et al. 2005].

Ca. 80% der Knochenoberfläche werden von sogenannten Knochensaumzellen bedeckt. Hierbei handelt es sich um kleine Osteoklasten [Vilman 1979] und/oder um inaktive Osteoblasten [Schenk et al. 1973]. Die morphologische Ähnlichkeit dieser Zellen macht eine genaue Zuordnung schwierig, was bei der Erfassung von Knochenumbauzonen Beachtung finden sollte. Die Knochensaumzellen wirken als Informationsregler und schützen den Knochen davor, von Osteoklasten angegriffen zu werden, andererseits wird davon ausgegangen, dass diese Zellen Osteoklasten anziehen und somit der Knochenabbau angeregt wird [Linß und Fanghänel 1999, Garant 2003]. Weiterhin spielen sie eine Rolle bei der Knochenneubildung [Miller et al. 1989]. Aktive Knochenapposition oder aktive Knochenresorption ausgehend von Knochensaumzellen wird in der Literatur nicht beschrieben. Bei Aktivierung der Zellen, welche den Knochenumbau bewirken, können an jedem Ort im Knochen Knochenumbau- und Reparaturvorgänge ablaufen [Schenk et al. 1973, Vilman 1979].

An dieser Stelle soll RUNX-2, was bei der Regulation der Knochenbildung eine besonders entscheidende Rolle spielt, herausgehoben werden. Durch Studien mit sogenannten Knockout-Mäusen, Versuchstiere bei denen gezielt ein oder mehrere Gene deaktiviert wurden, kann man durch die Veränderung in der Entwicklung auf die Funktion eines bestimmten Gens schließen [Aberg et al. 2004, Rath-Deschner et. al. 2009]. Während der Entwicklung wird RUNX-2 in der Maus nur in mesenchymalen Verdichtungszone exprimiert, aus welchen im Laufe der Entwicklung Anteile des Skelettes entstehen. Das Vorhandensein von RUNX-2 kann bereits 11,5 Tage *post coitum* durch Hybridisierung *in situ*

nachgewiesen werden [Otto et al. 1997]. RUNX-2 reguliert die Differenzierung von Chondrozyten und Osteoblasten und wirkt Aktivierend auf die Expression von Osteocalcin, MMP13, Osteopontin und Kollagen I und X. Somit ist RUNX-2 entscheidend an der osteogenen Differenzierung, der Knochenneubildung und an dem Knochenerhalt beteiligt [Byers et al. 2002]. Zusätzlich ist RUNX-2 ein wichtiger Regulator von IHH, einem Schlüsselgen der Knorpelentwicklung [Schinke und Karsenty 1999, Uchida et al. 2001, D'Alonzo et al. 2002, Zhang et al. 2003, Yoshida et al. 2004, Kim et al. 2013]. Bei RUNX-2 Knockout-Mäusen ist kein Knochen vorhanden aufgrund einer Blockade in der frühen Differenzierung von Osteoblasten, folglich besteht das Skelett nur aus Knorpelgewebe. Da für die Differenzierung von Osteoklasten Signale von Osteoblasten notwendig sind, besitzen RUNX-2 defizitäre Mäuse keine Osteoklasten [Otto et al. 1997]. Es scheint auch ein Zusammenhang zwischen dem Expressionslevel von RUNX-2 und der Knochenbildung zu bestehen. So konnte bei Mäusen das Expressionsmaximum von der pränatalen Skelettentwicklung bis zum 14. Tag postnatal bestimmt werden [Kroll 2010].

Mutationen von RUNX-2 können bei Menschen zu *Dysplasia cleidocranialis* (unter anderem einhergehend mit einer fehlerhaften Knochenbildung) führen [Mundlos et al. 1997, Mina 2001, Mina et al. 2002]. Eine Hypothese wurde aufgestellt, wonach skelettale Unterschiede durch verschiedene Konfigurationen von RUNX-2 erklärt werden können. So wird vermutet, dass zum Beispiel die unterschiedliche Form des Schädels, Abweichungen in der Form des Brustkorbes und der Clavicula zwischen dem modernen Menschen und dem Neandertaler mit der evolutionär veränderten Form von RUNX-2 begründet werden können [Green et al. 2010].

### **3.4 Zahnentwicklung**

Die Gestaltentwicklung und die Zelldifferenzierung bei der Zahnentwicklung werden durch das Zusammenspiel von Epithel- und Mesenchymgewebe kontrolliert [Thesleff und Hurmerinta 1981]. Dabei werden drei zum Teil ineinandergreifende Phasen unterschieden: Initiation, Morphogenese und Differenzierung.

Initiation: Die mesenchymale Komponente der Zahnanlage stammt der Neuralleiste ab, diese ektomesenchymalen Zellen sind der primäre Faktor der Zahnentwicklung und beeinflussen die epitheliale Morphogenese. Das knochenbildende Potential von mandibulären Mesenchymzellen hängt von Interaktionen mit mandibulären Mesenchymzellen ab [Tyler und

Hall 1977, Tyler 1978]. In der Entstehung befindliches Nervengewebe hat Einfluss auf die Position der Zahnknospen, führt die Migration von Neuralleistenzellen und leitet die Formation der Zahnleiste ein [Kollar und Lumsden 1979].

Morphogenese: Die Zahnform wird bestimmt durch die Faltenbildung an der Grenzfläche zwischen Epithel- und Mesenchymgewebe. Es kommt zu der Festlegung des Höcker-Fissuren-Reliefs und des Schmelz-Dentin-Überganges. Die epitheliale Komponente entwickelt sich zum Schmelzorgan, dabei instruiert mesenchymales Gewebe die epitheliale Morphogenese [Kollar und Baird 1970]. Experimentell wurde nachgewiesen, dass die Implantierung von murinem Mesenchymgewebe in porcines Epithelgewebe eine Induzierung von Schmelzorganbildung und Ameloblastendifferenzierung bewirkte [Kollar und Fischer 1980].

Differenzierung: Während des Glockenstadiums der Zahnentwicklung verlaufen die Zelldifferenzierungsvorgänge in koronal-zervikaler Richtung. Die mesenchymale Zelldifferenzierung geht dabei der epithelialen voraus. Mesenchymzellen, welche direkt unter dem Schmelzepithel liegen und davon gesteuert werden, werden postmitotisch, polarisieren und sezernieren Prädentin. Somit wechselt die aktive Rolle in der Aktivität zwischen Mesenchym und Epithel. Die Schmelzepithelzellen werden kurz danach postmitotisch, polarisieren jedoch erst, nachdem eine Schicht Dentin sezerniert wurde. *In vitro* wurde nachgewiesen, dass die Odontoblastendifferenzierung in Abwesenheit von Epithel ausbleibt. Ebenso findet die Ameloblastendifferenzierung in Abwesenheit der mesenchymalen Komponente nicht statt [Huggins et al. 1934, Koch 1967].

An dieser Stelle soll nur ein Überblick über die Einteilung in Stadien der Zahnentwicklung der Molaren der Maus gegeben werden. Die Angaben bezogen auf die zeitliche Entwicklung beziehen sich jeweils auf den M<sub>1</sub>. Das Initialstadium liegt am 10. und 11. Tag der Embryonalentwicklung vor. Die Zahnleiste bildet sich ausgehend von dem Mundhöhlenepithel [Kronmiller et al. 1992]. Das Knospenstadium zeigt sich von dem 11. bis 13. Tag der Embryonalentwicklung. Es kommt zu der Differenzierung der Zahnknospen und zu einer Epithelwucherung in benachbartes Mesenchym [Schnorr 1996]. Das Kappenstadium dauert von dem 13. bis 15. Tag der Embryonalentwicklung. Eine Eindellung der Zahnanlagen von labial wird sichtbar und die Bildung eines Zahnsäckchens (*Sacculus primodii dentalis*), welches die Zahnanlage umgibt, ist im Ansatz erkennbar. Inneres und äußeres Schmelzepithel können unterschieden werden [Jernvall et al. 1994]. Das Glockenstadium dauert von dem 15. bis zu dem 17. Tag der Embryonalentwicklung. Innerhalb des Schmelzorgans entwickelt sich das *Stratum reticulare*, welches durch das innere und das äußere Schmelzepithel begrenzt

wird. Die definitive Kronenform wird gebildet. Im weiteren Verlauf differenzieren die Zellen des inneren Schmelzepithels zu Ameloblasten und die gegenüber liegenden Zellen der Papille zu Odontoblasten. Die Sekretionsphase der Zahnkrone zeigt sich zu dem Zeitpunkt der Geburt, etwa 21 Tage *post coitum*, und danach. Zahnschmelz und Dentin werden weiter sezerniert. Kurz vor der Degeneration der Ameloblasten bildet sich das Schmelzoberhäutchen (*Cuticula dentis*) [Smith und Nanci 1995]. Ab dem dritten Tag *post partum* löst sich die epitheliale Wurzelscheide auf und die inneren Zellen des Zahnsäckchens bilden Zementoblasten [Peterková et al. 1995]. Bis zur endgültigen Ausformung der Wurzel nennt man das das Sekretionsstadium der Zahnwurzel.

Peterková et al. [1995] sind der Ansicht, dass Mäusembryonen eine vorübergehende Existenz eines von Vorfahren geerbten dentalen Musters aufweisen. Dies kann durch den ontogenetischen und phylogenetischen Begriff Heterochronie erklärt werden. Die Ontogenese beschreibt die Entwicklungsgeschichte eines Individuums und die Phylogenese stellt die Evolution einzelner Merkmale im Verlauf der Entwicklungsgeschichte dar. Die Heterochronie ist die zeitliche Veränderung der Entwicklung eines Merkmals im Vergleich zu den Vorfahren mit daraus folgender morphologischen Veränderung [Gould 1977]. Die Ursache dafür liegt in der zeitlichen Veränderung der Gewebeinteraktionen [Alberch et al. 1979, Hall 1984], sowie in der quantitativen und qualitativen Veränderung der Genexpression [Raff 1992]. Einige Studien weisen darauf hin, dass bei Mäusen eine Anlagediphodontie besteht, d.h. embryonal angelegte Milchzähne werden nicht ausgebildet, sondern bereits pränatal durch ein permanentes Gebiss ersetzt [Moss-Salentijn 1978, Peterkova et al. 1995, Keränen et al. 1999].

### 3.5 Regulation der Zahnentwicklung

Mehrere Modelle erklären die Entstehung des heterodonten Zahnusters. [Butler 1939, Patterson 1956, Van Valen 1970] beschreiben die „Morphogenetische Gradiententheorie“. Zunächst bestehen einheitliche Zahnvorläufer, welche gegen Ende der Zahnentwicklung durch morphogenetische, mesenchymale Faktoren, sogenannte Morphogene, zu den entsprechenden Zahnklassen differenzieren. Unterschieden werden dabei *Dentes incisivi*, *Dentes canini* und *Dentes molares*. Die Zahngestalt wird dabei bestimmt durch einen Konzentrationsgradienten entlang einer mesio-distalen Achse des Zahnbogens. Das morphogenetische Feld wird unterteilt in Subregionen, in denen die verschiedenen

Zahnklassen entstehen. Dabei hat jede Subregion einen eigenen Gradienten [Zhao et al. 2000], das heißt die Lage der Zahnvorläufer ist entscheidend für die Morphologie.

Das „Klon-Modell“ [Osborn 1973, Osborn 1978] hat eine große Schnittmenge mit der „Progress Zone Theory“ [Summerbell et al. 1973]. Die drei unterschiedlichen Zahnklassen, *Dentes incisivi*, *Dentes Canini* und *Dentes molares*, werden repräsentiert durch drei Zellklone aus verschiedenen programmierten Stammzellen [Osborn 1973]. Nach einer gewissen Anzahl von Zellteilungen bildet der Zellklon einen Zahnvorläufer aus. Die Wachstumsrate des Zellklons bestimmt die anfängliche Wachstumsrate des Zahnvorläufers, welche wiederum die Zahngestalt bestimmt. Während der Bildung eines Zahnvorläufers wird eine Hemmzone in der Region des Zahnvorläufers generiert [Summerbell et al. 1973]. Dadurch wird die Bildung eines weiteren Zahnvorläufers verzögert und eventuell den Abstand zwischen den Zahnanlagen bestimmt. Nach einer gewissen Anzahl von Zellzyklen verliert der Klon die Potenz Zahnvorläufer zu bilden, damit bleibt die Anzahl der Zähne konstant. Für beide Modelle gibt es experimentelle Hinweise, welche die jeweilige Theorie unterstützen [Lumsden 1979, Lawrence und Struhl 1996, Nüsslein-Vollhard 1996].

Als Morphogene für die Unterstützung der „Morphogenetischen Gradiententheorie“ werden Retinoide verstanden. Retinoide können Genexpressionen durch Bindung an einen Rezeptor regulieren [Petcovich 1992]. Rezeptoren und Bindungsproteine dieser Signalstoffe sind in sich entwickelnden Kiefer vorhanden [Ruberte et al. 1991, 1992]. Unterschiedliche Konzentration von Tretinoin (Vitamin-A-Säure) wurden zwischen der Region der Incisivi und der Molarenregion festgestellt und ein entgegengesetzter Gradient von Retinol (Vitamin A<sub>1</sub>) [Kronmiller und Beeman 1994]. Im Rahmen von Studien wurden Retinoide trächtigen Mäusen verabreicht [Kalter und Warkany 1961; Knudsen 1965, 1967] oder zu gezüchteten Mandibulae *in vitro* im embryonalen Entwicklungsstadium gegeben [Kronmiller et al. 1992]. Als Ergebnis dieser Studien konnten Verschmelzungen von Zahnanlagen, überzählige Incisivi und eine Aplasie von Molaren beobachtet werden. Bei einem weiteren Experiment kam es zu einer Ausbildung von Incisivi in der Molarenregion von Tretinoin behandelten murinen Mandibulae *in vitro* [Kronmiller et al. 1995].

Ein Experiment unterstützt eher das „Klon-Modell“. Nach Transplantation von Fragmenten der Mandibula von Mäuseembryonen in die vordere Augenkammer von adulten Mäusen entwickelte sich eine komplette Dentition. Vermutlich stehen diese isolierten Zahnrudimente nicht unter dem Einfluss morphogenetischer Felder [Lumsden 1979].

Auf zellulärer Ebene betrachtet sind Ameloblasten, Odontoblasten und Zementoblasten von entscheidender Bedeutung.

Ameloblasten differenzieren sich aus dem inneren Schmelzepithel und sind somit ektodermaler Herkunft. Bevor Zahnschmelz produziert wird, induzieren Ameloblasten die Dentinbildung der Odontoblasten. Präameloblasten und Präodontoblasten bewirken gemeinsam den Abbau der Basallamina und es kommt zu einem direkten Kontakt der verschiedenen Zellen [Ruch et al. 1983]. Es konnte bisher kein Signalaustausch zwischen den Zellen bewiesen werden [Nakamura et al. 1994], jedoch stellt der Kontakt ein Indiz für die sog. reziproke Induktion dar. Der Umstand, dass zuerst eine Schicht Dentin abgelagert worden sein muss, induziert von den Ameloblasten, bevor die Schmelzproduktion beginnen kann, nennt man reziproke Induktion [Ten Cate 1998]. Nach der Produktion der Schmelzmatrix bewirken die Ameloblasten deren Reifung. Die organischen Bestandteile werden resorbiert und es erfolgt eine Mineralisation des Schmelzes. Inaktive Ameloblasten bilden das Zahnoberhäutchen (*Cuticula dentis*) [Gottlieb 1921] und den primären Epithelansatz [Schroeder und Listgarten 1977]. Nach Abschluss der Schmelzbildung kann zeitlebens kein Zahnschmelz mehr gebildet werden. Die molekulare Steuerung der Zahnentwicklung ist sehr komplex und schon seit längerer Zeit Gegenstand der Forschung [Tucker und Sharpe 2004]. So ist zum Beispiel RUNX-2 beteiligt an der Differenzierung während der präsekretorischen Phase [D'Souza et al. 1999]. An der Regulierung im Laufe der Reifephase sind vor allem BMP's [Jernvall und Thesleff 2000] beteiligt und danach erfolgt die molekulare Steuerung hauptsächlich durch TNF- $\alpha$  [Wise und Yao 2003].

Odontoblasten entstammen der kranialen Neuralleiste und sind somit ektomesenchymaler Herkunft [Le Douarin 1982]. Die abschließende Differenzierung der Odontoblasten wird durch RUNX-2 gehemmt [Miyazaki et al. 2008] und durch TGF- $\beta$ , sowie BMP's angeregt [Bègue-Kirn et al. 1992]. Diese Zellen sezernieren die Dentinmatrix, bestehend aus Kollagen, nichtkollagenen Proteine (Proteoglykane, Phosphoryne und Glykoproteine), Phospholipide und Wachstumsfaktoren [Avery 2002, Garant 2003, Nanci und Ten Cate 2003]. Bei der Ablagerung der Dentinmatrix wandern die Odontoblasten entgegengesetzt zu der Richtung der Sekretion. Bei der Dickenzunahme der Dentinschicht verkleinert sich somit das Pulpenkavum. Da Dentin zeitlebens gebildet werden kann, gibt es Unterschiede in der Stärke der Dentinschicht bzw. in der Größe des Pulpenkavums zwischen jugendlichen und älteren Zähnen.

### 3.6 Zusammenhang zwischen Zahn- und Knochenentwicklung

Literaturangaben zur Morphogenese des Alveolarfortsatzes bei Mäusen sind sehr rar, jedoch existieren Untersuchungen bei anderen Säugetieren zum Beispiel bei der Ratte [Marks und Schroeder 1996]. Der Alveolarfortsatz formt sich während der Zahnentwicklung [Norberg 1929] und ist defizitär an Stellen, an denen sich keine Zähne entwickeln [Ten Cate 1997]. Das Wachstum des Alveolarfortsatzes, die Zahnentwicklung und der Zahndurchbruch stehen miteinander in Zusammenhang [Radlanski 1993, Marks und Schroeder 1996, Wise 2009]. Dentales Epithel, im Besonderen das Schmelzorgan, ist der bestimmende Faktor für das mesodermale Gewebe der Kiefer. Somit müssen Zahnentwicklung und die Entwicklung der Kiefer im Fetalleben zwei in der engsten Weise voneinander abhängige Erscheinungen sein [Norberg 1933]. Zähne sind epithelio-mesenchymale Organe. Sie stehen in Wechselwirkung mit dem peridontalen Gewebe und dem Alveolarknochen. Der Zahn-Alveolarknochen-Komplex entwickelt sich im Kontext ablaufender epithelio-mesenchymaler Interaktionen zwischen oralem Ektoderm und mesenchymaler Zellen der Neuralleiste [Fleischmannova et al. 2010]. Aus dem mesenchymalen Zahnsäckchen, welches das Schmelzepithel und die Papille umschließt, entwickeln sich die parodontalen Anteile Zement, Desmodont und Alveolarknochen [Ten Cate und Mills 1972, Ten Cate 1997, Cho und Garant 2000].

Der RANK/RANKL/OPG-Signalweg bestimmt die zeitlich-räumliche Koordination der Zahn- und Knochenentwicklung. Die Expression von RANKL in der frühen Entwicklung des Alveolarknochens trägt zur Zahnentwicklung bei. Kommt es zu einer kompetitiven Hemmung durch Zugabe von OPG, können eine Verlangsamung der Zahnentwicklung und hypomineralisierte Zähne beobachtet werden [Ohazama et al. 2004]. In der weiteren Entwicklung sind RANKL und BMP's wichtige Faktoren für die Koordination von Interaktionen zwischen Zähnen und Knochen. Das betrifft das Wachstum der Zahnkrone, welche während der Zahnentwicklung von Knochen umgeben ist, das Wachstum der Zahnwurzel und den Zahndurchbruch [Cahill und Marks 1980, Cho und Garant 2000].

Zähne entwickeln sich innerhalb mineralisierten Knochens. Zwangsläufig kommt es zu Remodellationsvorgängen des peridontalen Knochens während des Zahndurchbruches [Wise et al. 2002, Wise und King 2008, Wise 2009]. Das Zahnsäckchen reguliert den Knochenabbau während des Zahndurchbruches durch die Expression von Signalstoffen, dabei wird RANKL verstärkt ausgeschüttet und die Freisetzung von OPG wird vermindert. Entsprechende Knockout-Mäuse weisen einen gestörten Zahndurchbruch auf [Li et al. 2000, Kornak et al. 2001]. Die Wurzeln bilden sich während der Zahnentwicklung durch Interaktionen zwischen

der Hertwigschen Epithelscheide und dem Zahnsäckchen, durch welche die Differenzierung der Osteoblasten sowie Zementoblasten und Fibroblasten vermittelt werden [Diekwisch 2002, Fleischmannova et al. 2010]. Bei der Entwicklung der Zahnwurzeln sind ebenfalls viele molekulare Regulatoren beteiligt, zum Teil dieselben wie auch bei der Bildung der Zahnkrone, jedoch zu einer anderen Zeit an einem anderen Ort [Tummers et al. 2007]. Der Zahndurchbruch wird ermöglicht durch Knochenabbau in Richtung des Durchbruches und apikalen Knochenanbau [Marks 1981, Proffit und Frazier-Bowers 2009]. Der Zahndurchbruch wird unter anderem von dem Zahnsäckchen reguliert. Experimente haben gezeigt, dass auch ein leeres Zahnsäckchen eine Knochenresorption und die Bildung eines Durchbruchkanals bewirkt hat [Marks und Schroeder 1996]. Wird die Zahnanlage aus dem Zahnsäckchen entfernt und zum Beispiel mit Repliken aus Silikon ersetzt, brechen diese in die Mundhöhle durch. Entfernt man andererseits das Zahnsäckchen, kommt es nicht zum Zahndurchbruch [Marks und Cahill 1984]. Die Wurzelbildung erfolgt während des Zahndurchbruches und ist eine Konsequenz, nicht der Grund dieses Prozesses [Marks und Schroeder 1996]. Die treibende Kraft für den Zahndurchbruch, die präeruptive Kraft, ist bislang unbekannt [Steedle und Proffit 1985, Proffit und Frazier-Bowers 2009]. Die Position der Zähne nach dem Durchbruch enthält eine erbliche Komponente [Marks und Schroeder 1996]. Zähne haben zeitlebens Einfluss auf den Alveolarknochen [Chappard et al. 2008, Wise und King 2008]. Nach Zahnverlust, mit einhergehendem Fehlen mechanischer Beanspruchung, degeneriert der Alveolarfortsatz [Schröder 1986, Ten Cate 1997].

## 4 Material und Methode

### 4.1 Material

Grundlage der vorliegenden Arbeit sind Präparate der Hausmaus (*Mus musculus*) der Gattung C57BI/6J fortlaufender Entwicklungsstadien. Sie gehören zur Sammlung Radlanski (Charite – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Institut für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Abteilung Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie). Es handelt sich um äußerlich unversehrte Mäuse ohne Hinweise auf Missbildungen. Die untersuchten Stadien umfassen den Zeitraum von der Geburt (P0) bis zum 20. nachgeburtlichen Tag (P20).

Die Fixierung erfolgte chemisch mit der Bouin'schen Lösung (15 ml gesättigter, wässriger Pikrinsäure, 5 ml 40 %iges Formalin und 1 ml 100 %ige Essigsäure [Romeis 1989]). Zur Entkalkung der Hartgewebe wurde ein Komplexbildner, das Tetraanion der Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), verwendet. Nachfolgend wurde das EDTA mit Wasser ausgespült, die Präparate in Alkohol steigender Konzentration entwässert und in das Intermedium Xylol eingebracht. Anschließend erfolgte die Einbettung in flüssiges Paraffin bei 58°C im Brutschrank unter Vakuum um Lufteinschlüsse zu vermeiden.

Mit einem Mikrotom (Leica, Reichert-Jung RM 2065, Nußloch, Deutschland) wurden horizontale Schnittserien von 10 µm Dicke angefertigt und auf Objektträger aufgezogen. Es folgte die Trocknung im Brutschrank bei 37°C und die Entparaffinisierung mit Alkohol absteigender Konzentration.

Als Färbungen dienten alternierend H.E. und TRAP. Letztlich wurden die Schnitte mit einem Deckglas und dem Einbettungsharz Eukitt eingedeckt.

Insgesamt wurde der Kopfbereich von 11 Mäusen unterschiedlichen Alters bearbeitet, zusammengefasst in folgender Tabelle:

<b>Katalognummer</b>	<b>Alter (Tag postnatal)</b>
16/08	P0
69/08	P2
73/08	P4
77/08	P6
18/08	P8
85/08	P10
89/08	P12
93/08	P14
97/08	P16
101/08	P18
105/08	P20

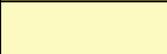
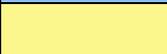
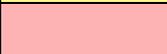
**Tab. 1:** Auflistung der verwendeten Präparate sortiert nach Alter.

## 4.2 3D-Rekonstruktionstechnik

Zunächst wurden alle Präparate ausführlich am Lichtmikroskop untersucht (Stemi SV 11 Zeiss; Zeiss Universal, Oberkochen, Deutschland). Dadurch konnten zu sehr Artefakt behaftete Schnitte erkannt und aussortiert werden. Anschließend wurden die einzelnen Schnitte mit einer Kamera (ColorView IIIu, Olympus, Münster, Deutschland) und der Software AnalySIS<sup>®</sup> (SoftImagingSolutionsGmbH 2008) digitalisiert. Mit Hilfe eines motorisierten Mikroskops konnten große Strukturen in hoher Auflösung erfasst werden, indem ein Bild aus bis zu 60 Einzelbildern zusammengesetzt wurde. Die Auflösung der digitalen Bilder beträgt 200 dpi. Weiterhin erfolgte die Kalibrierung der Größe mit Hilfe eines Messbalkens und die Festlegung der Höhenabstände der einzelnen Schnittbilder zueinander. Die Höhe ergab sich aus der Schichtdicke und der fortlaufenden Nummer in der Schnittserie. Anschließend mussten die einzelnen Schnittbilder anhand von Leitstrukturen, wie zum Beispiel die Hautkontur, der Knochen der Mandibula, die Augen, die Zunge, der Verlauf des

Meckelschen Knorpels oder typische Verläufe von Gefäßen und Nerven, relativ zueinander ausgerichtet werden. Dieser Vorgang wird als Alignierung bezeichnet [Gaunt und Gaunt 1978, Radlanski und Jäger 1990].

Nachfolgend wurden die einzelnen histologischen Strukturen in jeder Schnittebene manuell umfahren, somit entstanden sog. Polygone. Durch die Verbindung der Polygone entstanden dreidimensionale Körper und durch unterschiedliche Einfärbungen und Schattierungen konnte die Räumlichkeit der Objekte gut vermittelt werden. Die Farbauswahl der unterschiedlichen Gewebe entspricht der von Blechschmidt [1963] mit einigen Abwandlungen:

Anatomische Struktur	HSL-Farbcode			
	Farbe	Farbton	Sättigung	Intensität
Knochen		28	146	161
Knorpel		138	185	158
Nerven		40	240	120
Sacculus primodii dentalis		40	240	223
Schmelz		149	180	191
Dentin		40	240	196
Papilla dentalis		0	240	216
Knochenanbau		0	255	128
Knochenabbau		85	255	128
Ruhezone		170	255	128

**Tab. 2:** Färbung der einzelnen Gewebe im HSL-Farbcode (Hue=Farbton, Saturation=Sättigung, Lightness=Helligkeit).

Es wurde jeweils die rechte Hälfte der Mandibula rekonstruiert. Proberekonstruktionen und histologische Kontrollen der kontralateralen Seite ergaben keine auffälligen Abweichungen.

### 4.3 Zellidentifizierung zur Bestimmung des Knochenumbauverhaltens

Nachdem die Mandibula und die umgebenden Strukturen räumlich dargestellt wurden, wurde die Knochenoberfläche im Bereich der Zahnanlagen auf das Knochenumbauverhalten untersucht. Dafür wurde eine bewährte Einteilung in Appositionsflächen und Resorptionsflächen [Radlanski et al. 2003, Dietze 2008]. Die Kennzeichnung der Knochenumbauzonen erfolgte nach demselben Prinzip der Oberflächenrekonstruktion entsprechend der übrigen Objekte. Die Polygone wurden allerdings nicht verbunden und überragen den Knochen um 10 µm, was zu einer Schraffierung der Knochenoberfläche führt. Die Markierung des Knochenumbaus orientiert sich an dem vorherrschenden Zelltyp. Osteoblasten definieren die Knochenanbauzonen, Osteoklasten die Knochenabbauzonen und Knochensaumzellen die Ruhezone. Es fanden sich auch Bereiche in denen die Knochenoberfläche nicht direkt von o.g. Zellen bedeckt ist und somit keiner Umbauzone zugeordnet werden konnten. Ruhezone und nicht zuordnungszone wurden aus Gründen der Übersicht nicht markiert.

Die Befunde der Knochenumbauzonen mussten eindeutig sein und die Identifikation erfolgte nach festgelegten, allgemeinen morphologischen Kriterien, wie sie in folgender Tabelle aufgelistet sind:

<b>Kriterien der Knochenumbauzonen</b>	<b>Knochenanbauzone</b>	<b>Knochenabbauzone</b>	<b>Ruhezone</b>
	[Sodek und McKee 2000, Jerosch et al. 2002, Garant 2003, Nanci und Ten Cate 2003]	[Blair 1998, Väänänen et al. 2000, Miyamoto und Suda 2003, Bradley und Oursler 2008, Eriksen 2010]	[Miller et al. 1989, Aarden et al. 1994, Radlanski 2011]
spezifische Zellen	Osteoblasten	Osteoklasten	Saumzellen
Zellgröße	10-35 µm	20-100 µm	gering
Zellform	kuboid bis prismatisch	Riesenzelle, amöboid	flach
Zellkern	groß, polarisiert	groß, mehrkernig	klein
Anordnung	dicht, pallisadenartig	einzelne oder in Gruppen	einzelne

weitere Merkmale	Osteoid, keine Basalmembran	Howship-Lakune	Zellen liegen dem Knochen direkt auf
kleinster Erfassungsbereich	Mindestbreite der Anbauzone entlang der Knochenoberfläche: 50 $\mu\text{m}$	ein einzelner Osteoklast	Ruhezone 50 $\mu\text{m}$ entlang der Knochenoberfläche

**Tab. 3:** Histomorphologische Kriterien zur Charakterisierung des Knochenumbauverhaltens

#### 4.4 Morphometrische Analyse

Es wurden systematische Messungen des Abstandes zwischen der Zahnanlage und dem Knochen unter Angabe des Knochenumbauverhaltens an allen bearbeiteten Stadien durchgeführt. Die Messung erfolgte im histologischen Schnitt mit Hilfe der Software AnalySIS<sup>®</sup>. Zunächst wurde die Ebene mit dem größten Umfang der jeweiligen Zahnanlage festgelegt. In dieser Ebene konnte ein Fadenkreuz orthogonal durch die Zahnanlage gelegt und anhand dieser Orthogonalen der Abstand der Zahnanlage zum Knochen in bukkaler, lingualer, mesialer, distaler und apikaler Richtung ermittelt werden. Es wurde ein Erfassungsbereich von 300  $\mu\text{m}$  Entfernung von der Orthogonalen eingerichtet, um Knochen zu berücksichtigen, der nicht streng orthogonal tangiert wurde. Knochen außerhalb dieses Erfassungsbereichs blieb unberücksichtigt. Die Zweidimensionalität des histologischen Schnittes bedingte fehlende Messungen, beispielsweise in apikaler Richtung bei Horizontalschnitten. Durch die 3D-Rekonstruktionen ließen sich einige Messungen indirekt ergänzen, indem die Schnitte bis zum Erscheinen des Knochens gezählt wurden.

Zusätzlich erfolgte die Messung des Durchmessers der Zahnanlagen in derselben Ebene in bukkolingualer und mesiodistaler Ausdehnung.

Der Durchmesser des *N. alveolaris inferior* wurde im distalen, medialen und mesialen Bereich des untersuchten Gebietes gemessen.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Vorbemerkungen

In der nachfolgenden Tabelle sind die gängigen Begriffsbezeichnungen aus thematisch verwandten Untersuchungen für knöcherne Strukturen zusammengefasst. Bei den knöchernen Strukturen handelt es sich im Wesentlichen um den die Zahnanlage umfassenden Bereich.

<b>Verwendeter Begriff (engl. Bezeichnung)</b>	<b>Beschreibung der Struktur</b>	<b>Synonyme</b>
<b>knöcherne Rinne</b> mit lingualer und bukkaler Lamelle (bony groove with medial + lateral plate) - kann unterbrochen sein	trogförmige Rinne, in der der <i>N.</i> <i>alveolaris inferior</i> , die Gefäße und die Zahnanlagen liegen	- (primitive) Alveolarrinne, Alveolenrinne: [Zuckerkandl 1891, Norberg 1933, Becker und Böcker 1965, Schumacher und Schmidt 1990, Orliaguet et al. 1993, Schröder 2000] - bony groove: [Hunter 1778, Schröder 1986, Radlanski 1993, Acery et al. 2002] - trough: [Schröder 1986, Nanci und Cate 2003, Sperber et al. 2010] - bony gutter: [Radlanski et al. 2003]
<b>knöcherne Überbrückung</b> (bony bridge)	knöcherne Überbrückung des <i>N.alveolaris</i> <i>inferior</i>	- Knochenüberbrückung: [Norberg 1933, Cho und Garant 2000]
<b>knöcherne Krypte</b> mit Wänden und Boden (bony crypt with walls and bottom) - kann unvollständig sein	Mulde, in der die Zahnanlage liegt	- (bony, dental, alveolar) crypt: [Baume 1953, Schröder 1986, Avery et al. 2002, Wise und King 2008, Sperber et al. 2010, Lungova et al. 2011] - primitive Zahnalveole: [Norberg 1933, Böcker und Becker 1965] - Zahnkeimhöhle: [Orbán 1927] - primitive Zahnhöhle: [Schröder 2000]

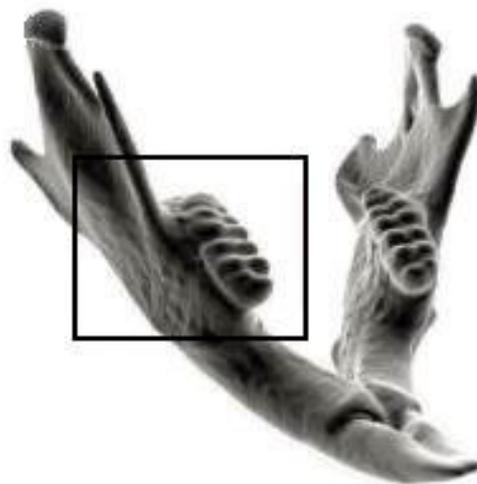
		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Alveole: [Kjaer und Bagheri 1999, Kjaer et al. 1999]</li> <li>- Zahnfach: [Baume 1953]</li> <li>- Knochenfach: [Radlanski2011]</li> <li>- Knochenkavität: [Norberg 1933]</li> </ul>
<p><b>knöcherne Septe</b> (bony septa)</p> <p>- unvollständige Septe:</p> <p><b>Knochengrat</b> (bony ridge) oder <b>Knochenfortsatz</b> (gestielt, fingerförmig) oder <b>Knochenvorsprung</b></p> <p>- <b>Fenestration</b></p>	Septe zwischen den Zahnanlagen	<ul style="list-style-type: none"> <li>- interdentale Septen: [Norberg 1933, Schumacher und Schmidt 1990, Schröder 2000]</li> <li>- bony septa: [Baume 1953, Schröder 1986, Schröder 2000, Avery et al. 2002]</li> <li>- Septum interalveolare: [Wetzel 1933, Kjaer und Bagheri 1999]</li> <li>- interdentale Knochenbälkchen: [Norberg 1933, Radlanski 2011]</li> <li>- interdentaler Knochen: [Radlanski 2011]</li> <li>- bony ridges: [Avery et al. 2002, Lungova et al. 2011]</li> </ul>
<b>Kompartiment</b> (compartment)	gemeinsames Kompartiment für die $M_1+M_2$ und $I_1$	<ul style="list-style-type: none"> <li>- knöchernes Kompartiment: [Norberg 1933, Schumacher und Schmidt 1990, Kjaer und Bagheri1999, Schröder 2000, Cho und Garant 2000]</li> <li>- common alveolus: [Kjaer und Bagheri 1999]</li> </ul>

**Tab. 4:** Zusammenstellung verschiedener Begriffe zur Beschreibung der Form des Knochens\*

\* Quelle: Schuster (2012) und Zimmermann (2013)

In den folgenden Abschnitten dieser Arbeit werden 3D-Rekonstruktionen dargestellt und beschrieben, welche sich auf die Molarenregion mit den Zahnanlagen  $M_1$  bis  $M_3$  beschränken. Zur Verdeutlichung des insoweit untersuchten Abschnittes des Unterkiefers zeigt das Mikro-CT in Abbildung 2 die gesamte Mandibula einer adulten Maus mit allen ossären und dentalen Strukturen. Hierbei handelt es sich um die einzige Abbildung ohne Maßstab.

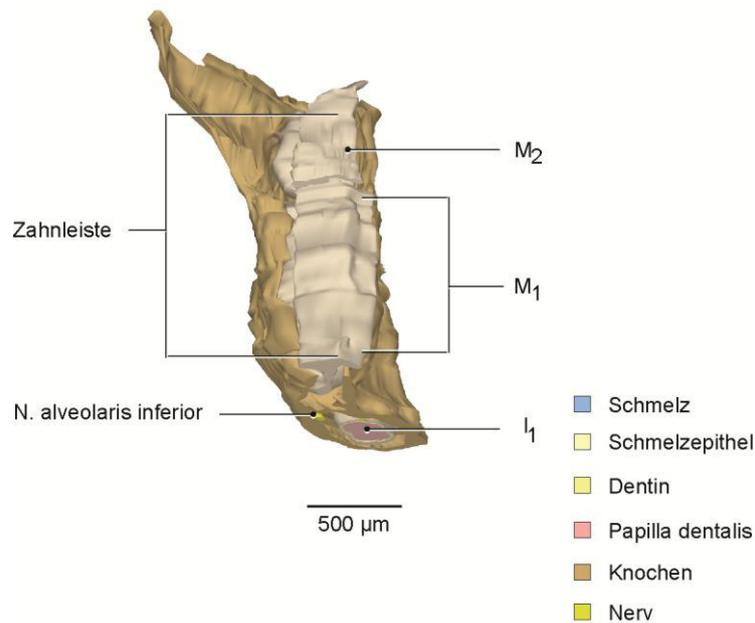
Der in der Abbildung markierte Bereich mit den Zähnen  $M_1$  bis  $M_3$  und dem umgebenen Knochen stellt den Untersuchungsgegenstand der nachfolgenden 3D-Rekonstruktionen dar. Das Mikro-CT beinhaltet auch den kompletten  $I_1$ , welcher in den Rekonstruktionen jedoch nur im Anschnitt dargestellt wird, da dessen Untersuchung kein Bestandteil der vorliegenden Arbeit ist.



**Abb. 2:** Mikro-CT Mandibula Maus aus Bornert et al. [2011], Markierung: Bereich der 3-D-Rekonstruktionen.

Die histologischen Bilder und die 3D-rekonstruierten Bilder der Zahnanlagen sind gegenüber den anderen Bildern im doppelten Maßstab dargestellt. Neben den Hart- und Weichgeweben wird der Knochenumbau markiert und um die Zahnanlage  $M_1$  der Abstand zum umliegenden Knochen gemessen.

## 5.2 Stadium P0

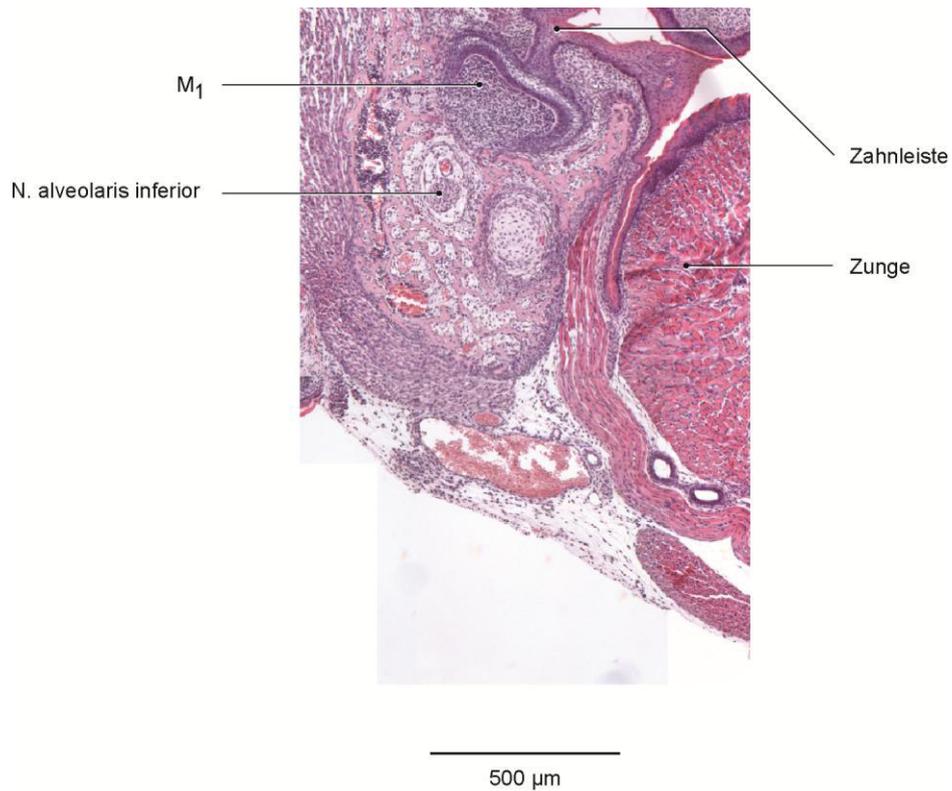


**Abb. 3:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit *N. alveolaris inferior* (gelb) und Zahnanlagen (grau); Stadium: P0; Ansicht von kranial, 45° ventral.\*

Abbildung 3 zeigt die Zahnanlagen  $M_1$  und  $M_2$  sowie  $I_1$  mit dem umgebenen Knochengewebe, dem *N. alveolaris inferior* und einem Teil der Zahnleiste. Die Zahnanlagen  $M_1$  und  $M_2$  sind überwiegend in Knochen eingefasst. Es besteht eine deutliche Öffnung des Knochens nach kranial.

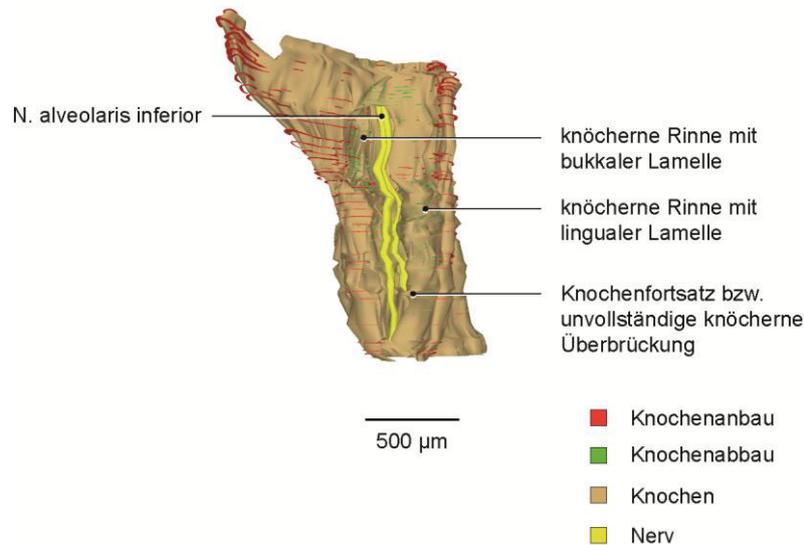
Die Abbildung umfasst einen Teil der Zahnleiste, welche kranial, zentral über den Zahnanlagen verläuft. Die Zahnanlagen liegen sehr eng zusammen.

\* Quelle: Irene Schwarz (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)



**Abb. 4:** Frontalschnitt (Färbung H.E.) durch die Zahnanlage M<sub>1</sub> (medialer Teil), Stadium P0.

Das histologische Bild zeigt die Zahnanlage M<sub>1</sub> im medialen Bereich und umliegenden Knochen, den *N. alveolaris inferior*, Teile der Zahnleiste und der Zunge. Der Abstand von M<sub>1</sub> zum umliegenden Knochen beträgt 10-40 μm. Der die Zahnanlage umgebende Bereich ist überwiegend von Knochenabbau gekennzeichnet. M<sub>1</sub> ist im frühen Glockenstadium. Der *N. alveolaris inferior* steht apikal in enger Lagebeziehung zu M<sub>1</sub>.



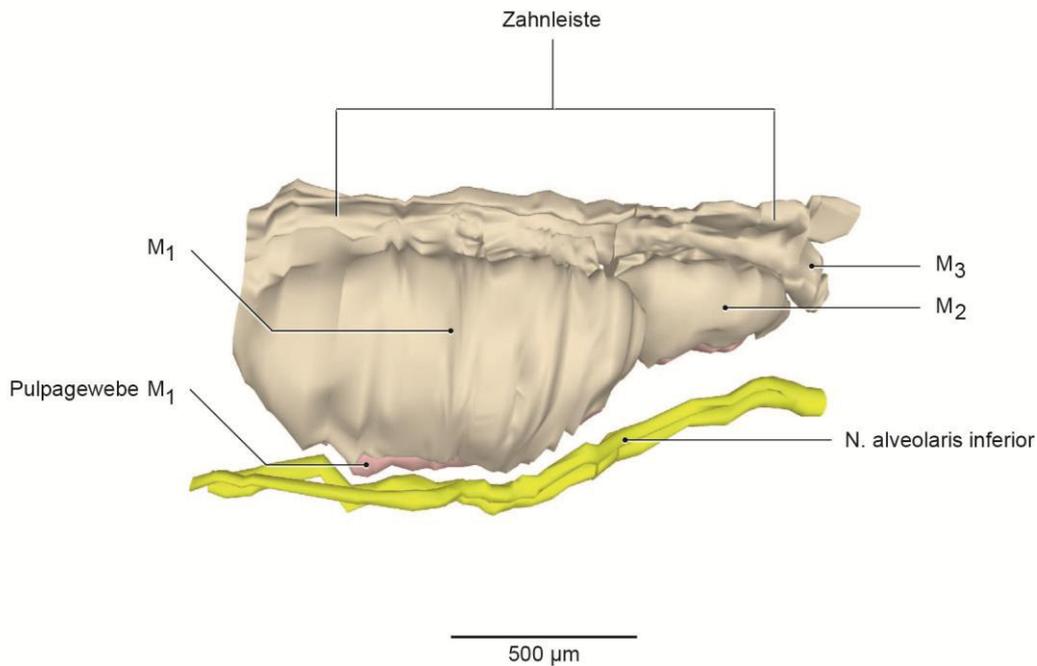
**Abb. 5:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit *N. alveolaris inferior* (gelb) und Knochenumbau, Stadium P0, Ansicht von kranial.\*

In Abbildung 5 sind die Zahnanlagen ausgeblendet, Knochenanbau und Knochenabbau sind farbig markiert. Eine knöchernen Rinne mit bukkaler und lingueller Lamelle ohne Anzeichen von *Septa interdentalia* ist zu erkennen. Weiterhin sind keine untersichgehenden Bereiche sichtbar.

Der Knochenanbau ist mehrheitlich im Bereich der Ränder der knöchernen Rinne ersichtlich. Der Knochenabbau ist im kaudalen Bereich der knöchernen Rinne und an den Rändern der späteren Alveolen sichtbar.

Der *N. alveolaris inferior* ist in gesamter Länge des kaudalen Bereiches der Zahnanlagen nicht von Knochen bedeckt. Am Boden der knöchernen Rinne liegt der *N. alveolaris inferior* in einer Einziehung. Im mesialen Bereich ist ein Knochenfortsatz zu erkennen, welcher eine unvollständige knöchernen Überbrückung des *N. alveolaris inferior* bildet.

\* Quelle: Irene Schwarz (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)



**Abb. 6:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen M<sub>1</sub> bis M<sub>3</sub> der rechten Hälfte der Mandibula mit N. alveolaris inferior, Stadium P0, Ansicht von medial.\*

Die Abbildung 6 umfasst die Zahnanlagen M<sub>1</sub> bis M<sub>3</sub>, den N. alveolaris inferior und Teile der Zahnleiste in medialer Ansicht. Die ossären Strukturen sind ausgeblendet. Die Zahnanlagen M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> haben eine ovale Form mit dem größten Durchmesser von mesial nach distal. M<sub>3</sub> ist im Vergleich hierzu deutlich kleiner.

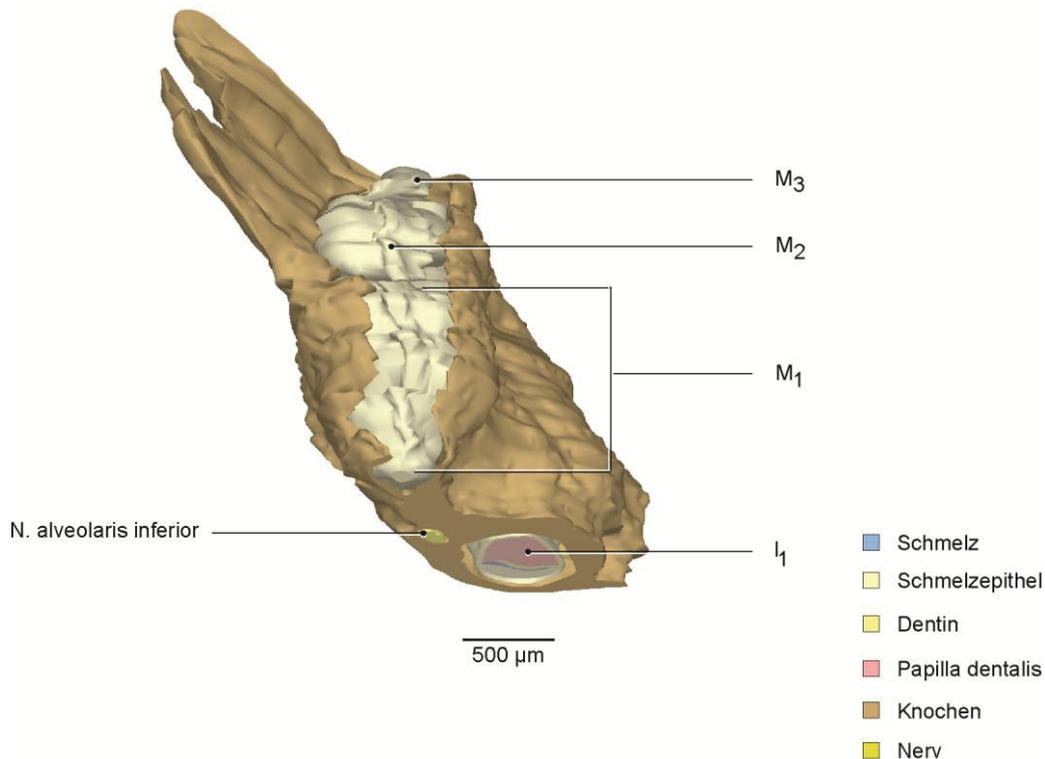
Apikal sind die Zahnanlagen nicht vollständig von Schmelzepithel umgeben. An dieser Stelle ist Pulpagewebe sichtbar. Wurzelbildung ist nicht erkennbar.

Im Gegensatz zu M<sub>2</sub> und M<sub>3</sub> zeigt der N. alveolaris inferior eine besonders enge Lagebeziehung zu M<sub>1</sub>.

Die mesio-distale Länge von M<sub>3</sub> entspricht in etwa 1/10 der Länge von M<sub>2</sub>, die Länge von M<sub>2</sub> ca. 1/2 der Länge von M<sub>1</sub>. Die bukkal-linguale Breite von M<sub>3</sub> entspricht rund 1/4 der Breite von M<sub>2</sub>, die Breite von M<sub>2</sub> ca. 4/5 der Breite von M<sub>1</sub>.

\* Quelle: Irene Schwarz (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)

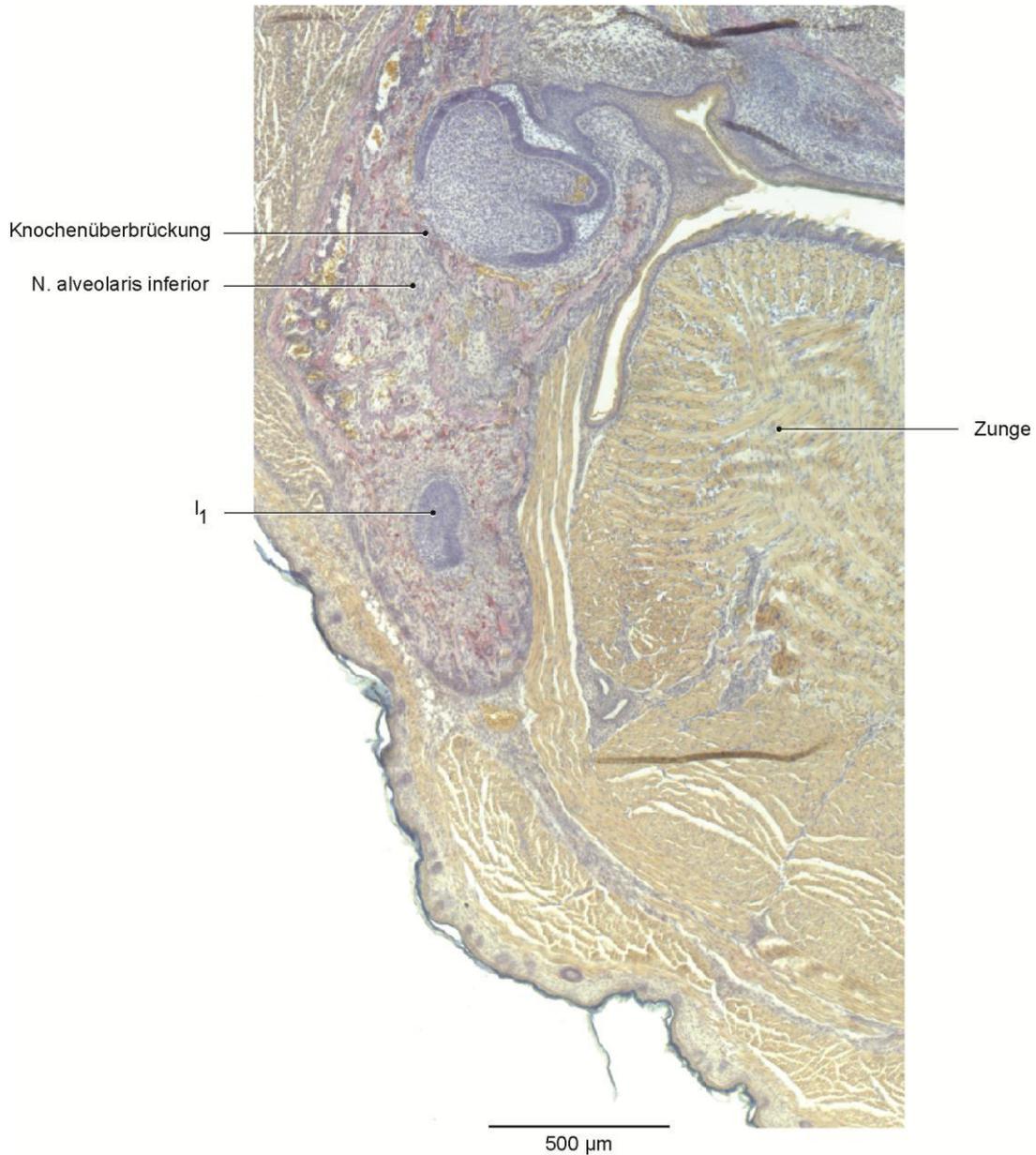
### 5.3 Stadium P2



**Abb. 7:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Zahnanlagen (grau); Stadium: P2; Ansicht von kranial, 45° ventral.

Die Zahnanlagen sind deutlich voneinander abgrenzbar, vor allem M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub>.

M<sub>1</sub> ist kranial über den größten Durchmesser hinaus mit Knochen bedeckt. In diesem Abschnitt ist ein untersichgehender Bereich existent. Bei M<sub>2</sub> reichen die bukkale und die linguale Lamelle der knöchernen Rinne bis zum größten Durchmesser der Zahnanlage. Die Öffnung nach kranial der knöchernen Rinne ist im Bereich von M<sub>1</sub> wesentlich enger als bei den anderen Zahnanlagen. Der Rand der linguale knöchernen Lamelle verläuft relativ geradlinig, bukkal zeigt sich ein geschwungener Verlauf.



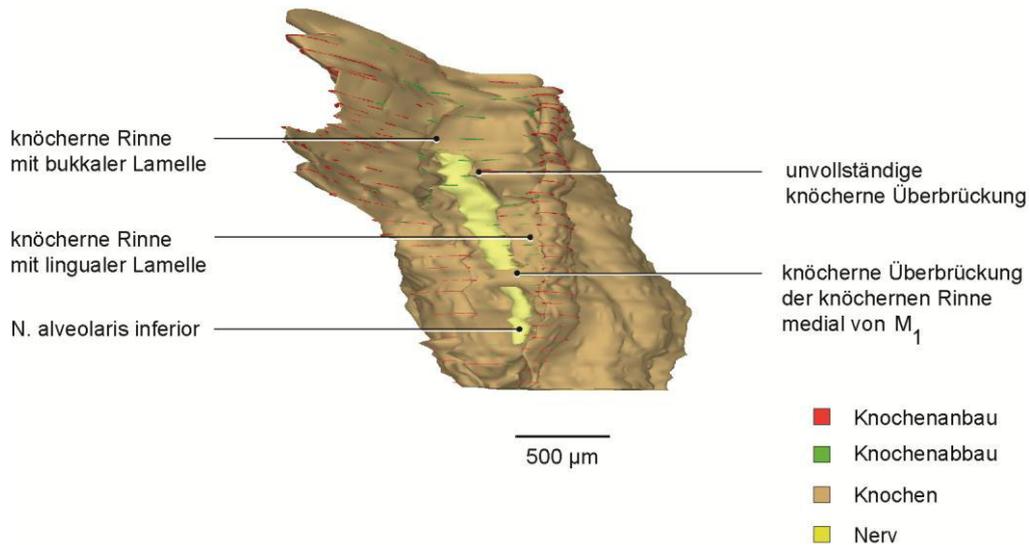
**Abb. 8:** Frontalschnitt (Färbung TRAP) durch die Zahnanlage M<sub>1</sub> (medialer Teil), Stadium P2.

In Abbildung 8 sind die rechte Hälfte der Mandibula im Frontalschnitt durch den medialen Teil der Zahnanlage M<sub>1</sub> und Teile der Zunge zu sehen.

M<sub>1</sub> befindet sich im Glockenstadium. Zahnhartsubstanz ist nicht erkennbar.

Auffällig ist die Abgrenzung der Zahnanlage von dem *N. alveolaris inferior* durch eine knöcherne Struktur.

An den Innenseiten der lingualen und bukkalen Lamellen der Knochenrinne ist Knochenabbau vorherrschend und an den Außenseiten Knochenanbau.



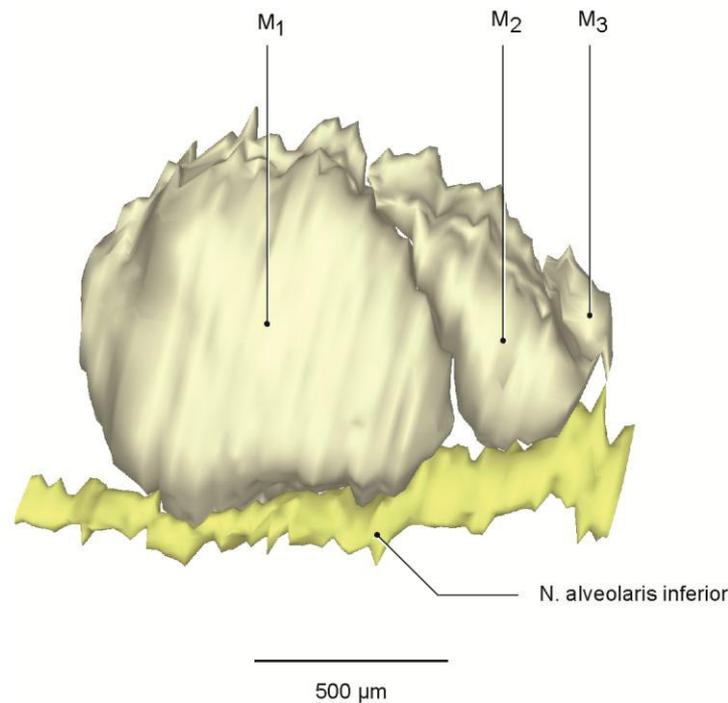
**Abb. 9:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Knochenumbau, Stadium P2, Ansicht von kranial.

Eine knöchernen Rinne ist deutlich erkennbar.

Knochenanbau ist hauptsächlich an den Rändern der bukkalen und linguale Lamelle der knöchernen Rinne und am Boden dieser medial von  $M_1$  und zwischen  $M_1$  und  $M_2$  zu sehen. Knochenabbau findet insbesondere am Boden der knöchernen Rinne statt, jedoch nicht an den Stellen an denen Knochenanbau vorherrscht.

Eine Strukturierung der knöchernen Rinne ist erkennbar. Knöchernen Krypten für die Zahnanlagen  $M_1$  und  $M_2$ , sowie knöchernen Septen dazwischen sind im Ansatz sichtbar. Die kraniale Öffnung der knöchernen Lamellen wird von mesial nach distal breiter.

Wie schon in Abb. 8 zu sehen, wird der *N. alveolaris inferior* medial von  $M_1$  von einer knöchernen Überbrückung überspannt.



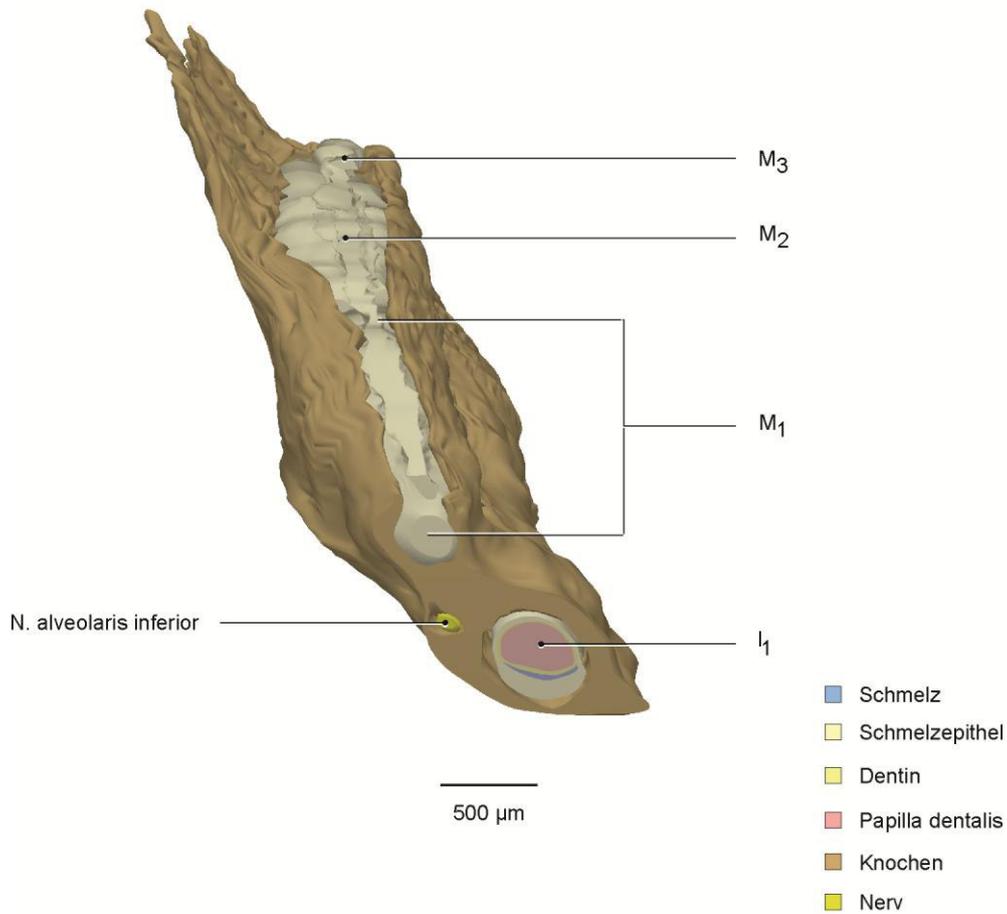
**Abb. 10:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen M<sub>1</sub> bis M<sub>3</sub> der rechten Hälfte der Mandibula mit N. alveolaris inferior, Stadium P2, Ansicht von medial.

Das Stadium der Zahnentwicklung bei M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> ist die Glocke, M<sub>3</sub> befindet sich im frühen Knospenstadium. Ansätze späterer Wurzeln sind nicht sichtbar.

Das Größenverhältnis der Zahnanlagen zueinander ist im Vergleich zum vorherigen Stadium sehr ähnlich. Die Zahnanlage M<sub>1</sub> hat eine annähernd rundliche Form. M<sub>2</sub> weist eine ovale Form auf mit dem größten Durchmesser von kaudal nach kranial. Die Zahnanlage M<sub>3</sub> ist im Vergleich zu M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> deutlich kleiner.

Der N. alveolaris inferior hat zu M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> eine sehr enge Lagebeziehung apikal und weist einen annähernd geradlinigen Verlauf auf.

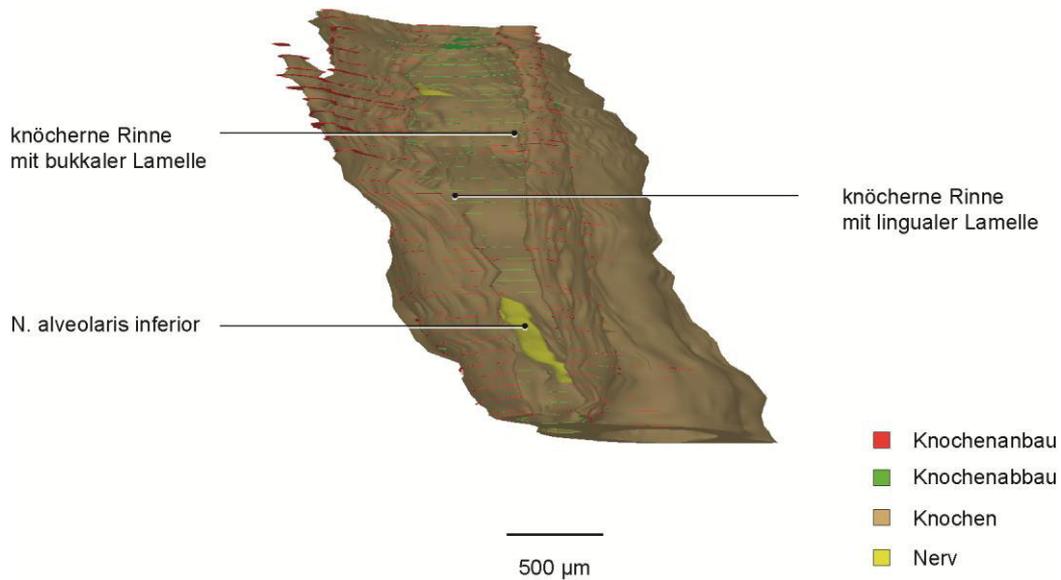
## 5.4 Stadium P4



**Abb. 11:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Zahnanlagen (grau); Stadium: P4; Ansicht von kranial, 45° ventral.\*

Die Zahnanlage M<sub>1</sub> wird nun zu 3/4 von Knochen umfasst, nur im Bereich der Verbindung zu der Zahnleiste findet sich kein Knochen. M<sub>2</sub> ist zu ca. 2/3 von Knochen umgeben. Die Öffnung der knöchernen Rinne nach kranial ist bei M<sub>1</sub> relativ eng. Nach distal, ab Höhe des mesialen Drittels von M<sub>2</sub>, ist eine breitere Öffnung erkennbar.

\* Quelle: Barbara Danielowski (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)



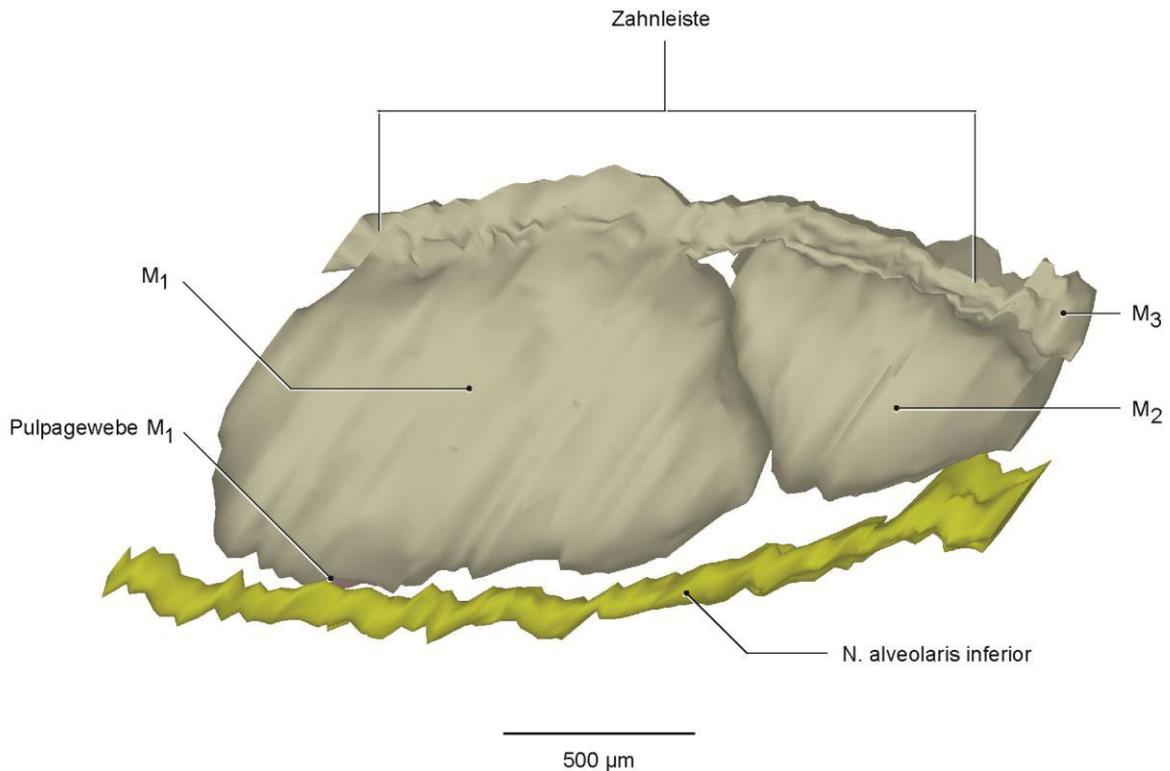
**Abb. 12:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Knochenumbau, Stadium P4, Ansicht von kranial.\*

Knochenanbau ist besonders im Bereich der Ränder der bukkalen und linguellen Lamelle der knöchernen Rinne, zwischen  $M_1$  und  $M_2$  sichtbar. Ebenso an den Außenseiten der bukkalen und linguellen Lamelle. Knochenabbau ist vorwiegend am Boden der knöchernen Rinne, an den Innenseiten der bukkalen und linguellen Lamelle der knöchernen Rinne und im Bereich von  $M_3$  feststellbar.

Die knöchernen Septe zwischen  $M_1$  und  $M_2$  im Ansatz deutlich erkennbar.

Der *N. alveolaris inferior* ist jeweils nur im mesialen Anteil von  $M_1$  und  $M_2$  nicht durch Knochengewebe von den Zahnanlagen getrennt.

\* Quelle: Barbara Danielowski (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)



**Abb. 13:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen M<sub>1</sub> bis M<sub>3</sub> der rechten Hälfte der Mandibula mit N. alveolaris inferior, Stadium P4, Ansicht von medial.\*

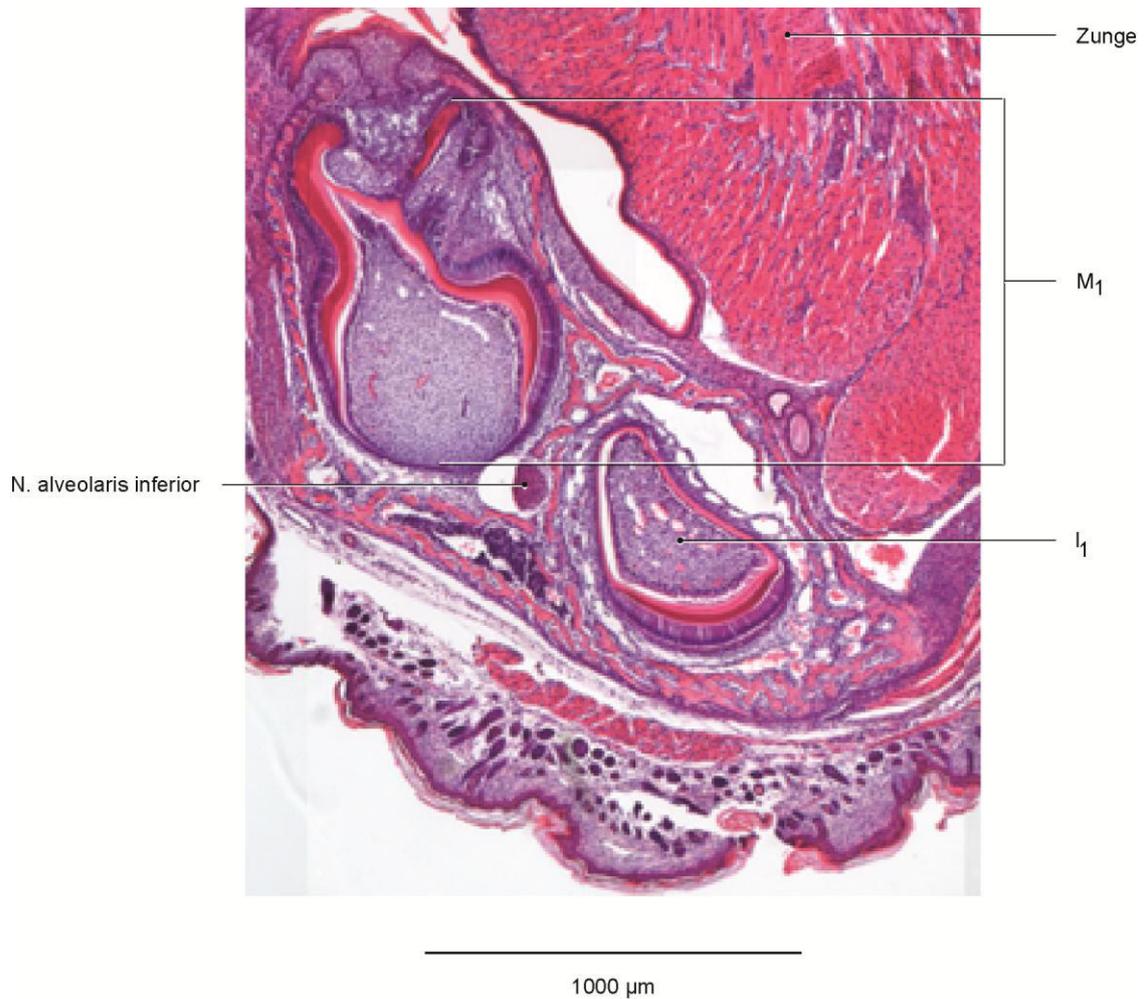
Die Zahnanlagen M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> befinden sich im Stadium der sezernierenden Glocke, M<sub>3</sub> im Knospenstadium. Ansätze späterer Wurzeln sind nicht erkennbar. Die Zahnanlagen sind nur kaudal nicht von Schmelzepithel umgeben. Die Lage der Zahnanlagen zueinander hat sich nicht bedeutsam verändert.

M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> haben eine ovale Form mit dem größten Durchmesser von mesial nach distal. M<sub>3</sub> zeigt keine wesentliche Änderung in der Form im Vergleich zum vorherigen Stadium.

Der *N. alveolaris inferior* verläuft relativ geradlinig. Im mesialen Bereich von M<sub>1</sub> und im distalen Bereich von M<sub>2</sub> zeigt sich eine enge Lagebeziehung des Nerven zu den Zahnanlagen.

\* Quelle: Barbara Danielowski (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)



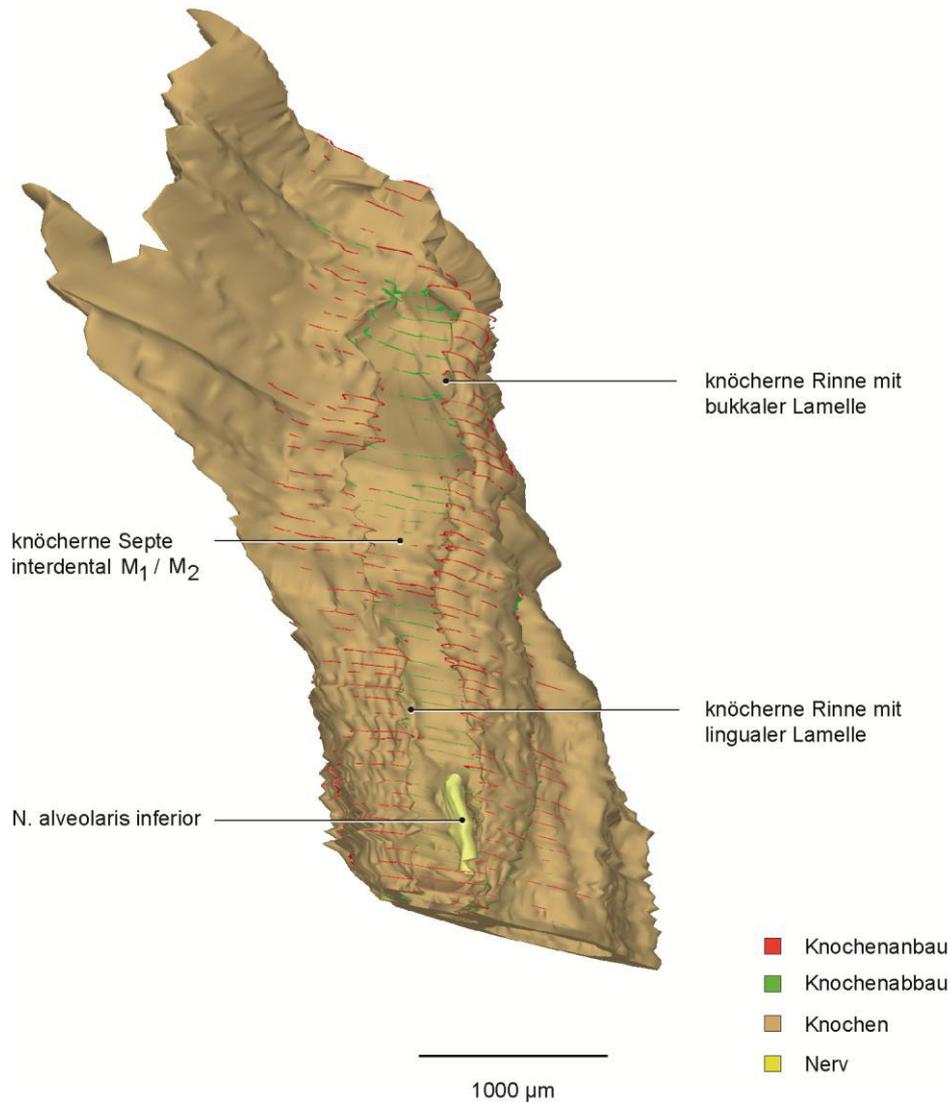


**Abb. 15:** Frontalschnitt (Färbung H.E.) in Höhe der mesialen Wurzel von M<sub>1</sub>, Stadium P6.

Die Zahnanlage M<sub>1</sub> befindet sich im Stadium der sezernierenden Glocke. Die Zahnhartsubstanzen Schmelz und Dentin sind sichtbar. Anzeichen einer Wurzelbildung sind nicht zu erkennen.

Der *N. alveolaris inferior* ist in Richtung der Zahnanlage nicht von Knochen bedeckt und weist eine enge Lagebeziehung zu der Zahnanlage M<sub>1</sub> auf.

Der Abstand der Zahnanlage zum umgebenden Knochen liegt im Mittel zwischen 10 und 20 µm und es findet ausschließlich Knochenabbau um die Zahnanlage herum statt. An den Außenseiten der knöchernen Lamellen dominiert Knochenanbau.

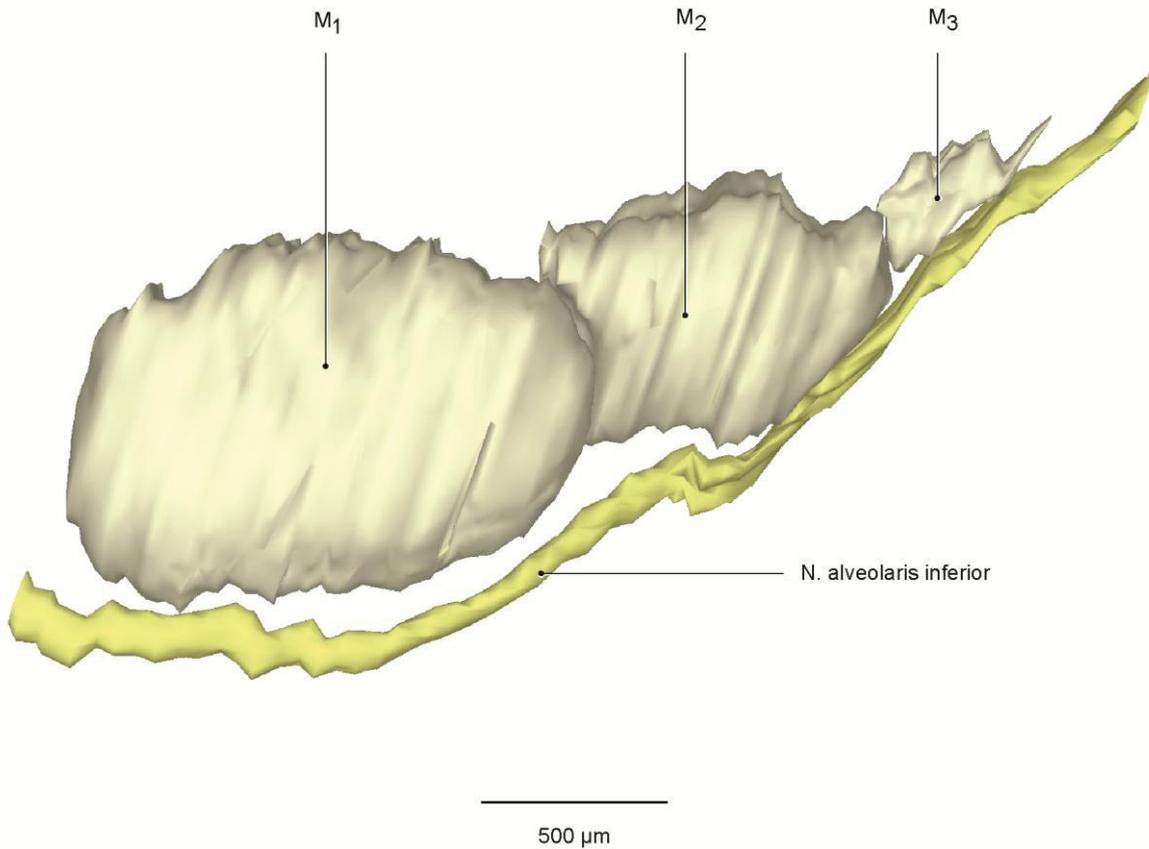


**Abb. 16:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Knochenumbau, Stadium P6, Ansicht von kranial.

Knochenanbau lässt sich im gesamten äußeren Randbereich der knöchernen Lamellen erkennen und zwischen  $M_1$  und  $M_2$ .

Knochenabbau ist in der knöchernen Rinne kaudal außer im Bereich der knöchernen Septe zwischen  $M_1$  und  $M_2$  und an den Innenflächen der späteren Alveolen sichtbar, vor allem im Bereich von  $M_3$ .

Der *N. alveolaris inferior* verläuft im gesamten Bereich der Rekonstruktion innerhalb des Knochens im *Canalis mandibulae*, nur im mesialen bis medialen Bereich von  $M_1$  ist der Nerv nach kranial nicht von Knochen bedeckt.

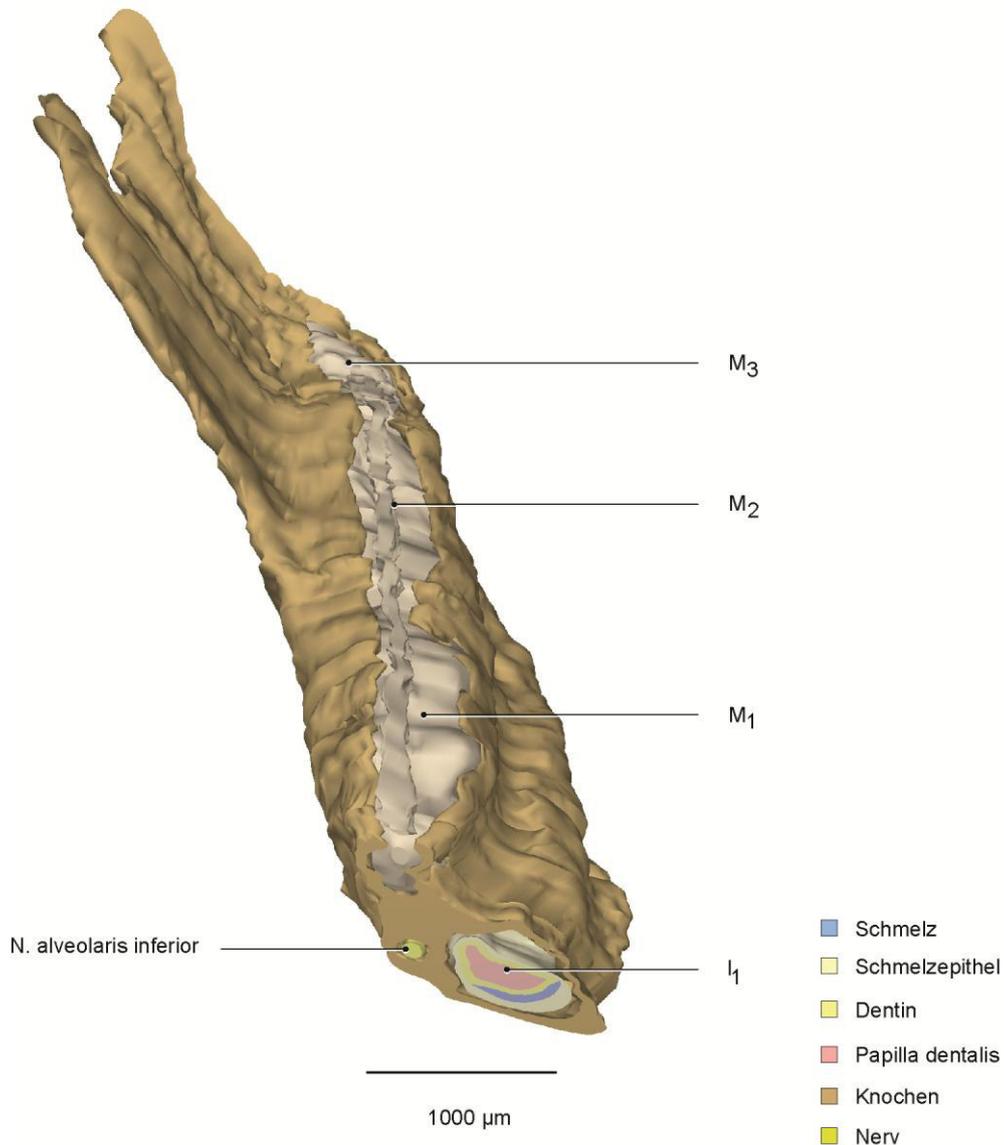


**Abb. 17:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen  $M_1$  bis  $M_3$  der rechten Hälfte der Mandibula mit *N. alveolaris inferior*, Stadium P6, Ansicht von medial.

Das Stadium der Zahnentwicklung ist bei  $M_1$  und  $M_2$  das der sezernierenden Glocke,  $M_3$  befindet sich im Knospenstadium. Anzeichen späterer Wurzeln sind bei keiner Zahnanlage zu erkennen. Die Länge von  $M_2$  beträgt etwa  $2/3$  der Länge von  $M_1$  und  $M_3$  ist ca.  $1/3$  so lang wie  $M_2$ . Die Breite von  $M_1$  und  $M_2$  ist annähernd gleich,  $M_3$  ist etwa  $1/4$  so breit wie die anderen Zahnanlagen.  $M_3$  weist eine ovale Form auf.

Alle Zahnanlagen haben nun engen Kontakt zu dem *N. alveolaris inferior*. Der Nerv beschreibt einen gebogenen Verlauf nach distal-kranal.

## 5.6 Stadium P8



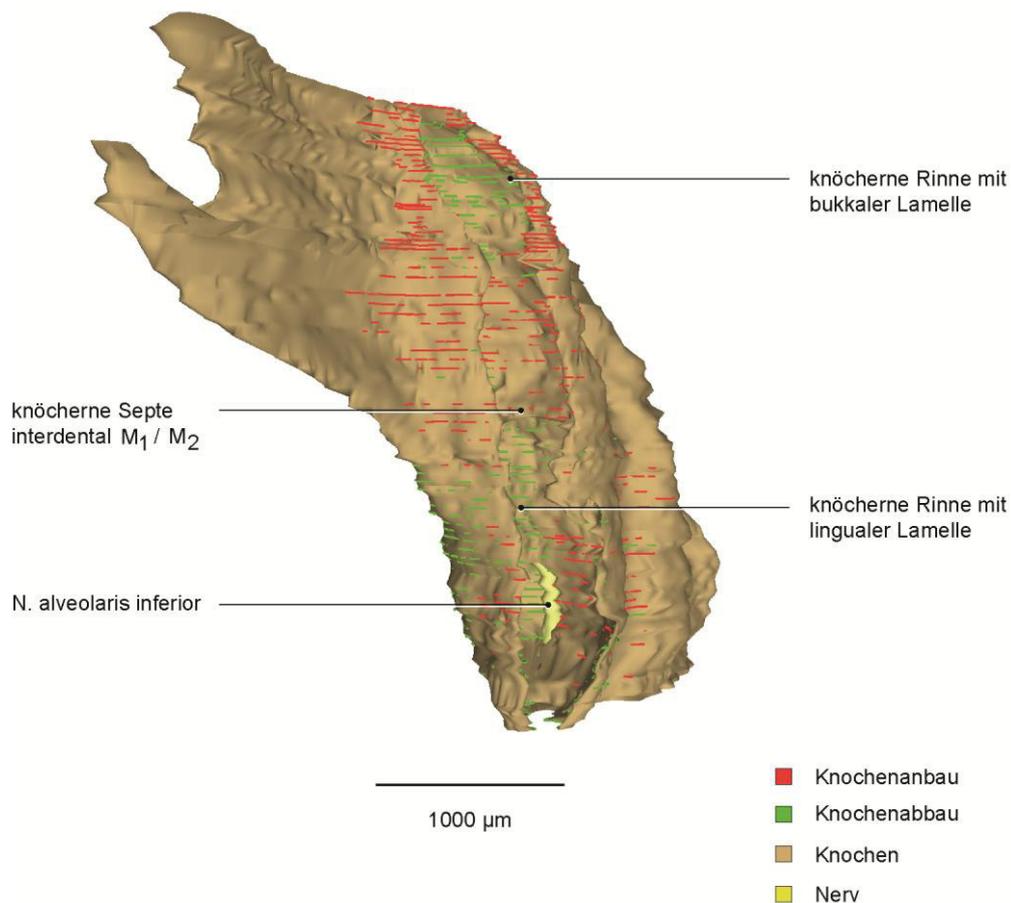
**Abb. 18:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Zahnanlagen (grau); Stadium: P8; Ansicht von kranial, 45° ventral.\*

Der Rand der bukkalen knöchernen Lamelle beschreibt einen relativ geradlinigen Verlauf, auf der lingualen Seite eher einen girlandenförmigen Verlauf.

Distal von M<sub>1</sub> an der lingualen Lamelle ist ein Knochenfortsatz vorhanden, welcher den mesio-lingualen Teil von M<sub>2</sub> fast vollständig bedeckt.

Die Zahnanlage M<sub>1</sub> lässt andeutungsweise eine Höckerverteilung erkennen mit 2 bukkalen und 2 lingualen Höckern.

\* Quelle: Barbara Danielowski (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)



**Abb. 19:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Knochenumbau, Stadium P8, Ansicht von kranial.\*

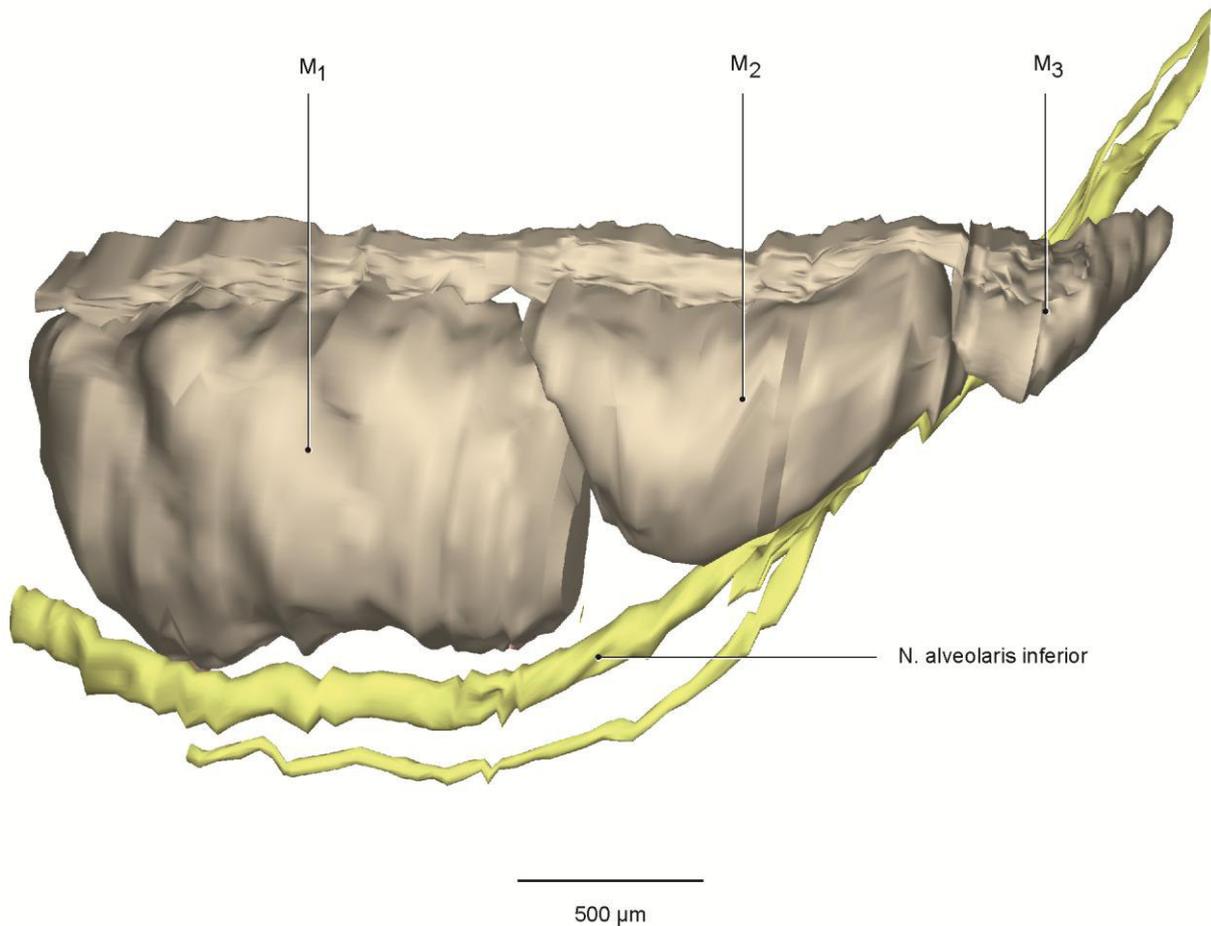
Knochenanbau ist hauptsächlich an den Außenflächen der späteren Alveolen feststellbar. Auch im Bereich der im Ansatz zu erkennenden knöchernen Septe zwischen  $M_1$  und  $M_2$  ist vornehmlich Knochenapposition vorherrschend.

Im Bereich von  $M_1$  am Boden der knöchernen und an den Innenseiten der späteren Alveole von  $M_3$  Rinne ist Knochenabbau zu registrieren. Auf allen weiteren Oberflächen ist Knochenumbau sichtbar, d.h. Knochenanbau und Knochenabbau zu etwa gleichen Teilen in einem Bereich.

Die linguale Seite der knöchernen Lamelle von  $M_1$  verläuft kongruent zur Höckerverteilung, ein girlandenförmiger Verlauf im Randbereich ist zu erkennen. Der Rand der bukkalen knöchernen Lamelle weist einen relativ geradlinigen Verlauf auf.

Der *N. alveolaris inferior* ist nur im mesialen Bereich von  $M_1$  am Boden der knöchernen Rinne nicht von Knochengewebe bedeckt.

\* Quelle: Barbara Danielowski (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)



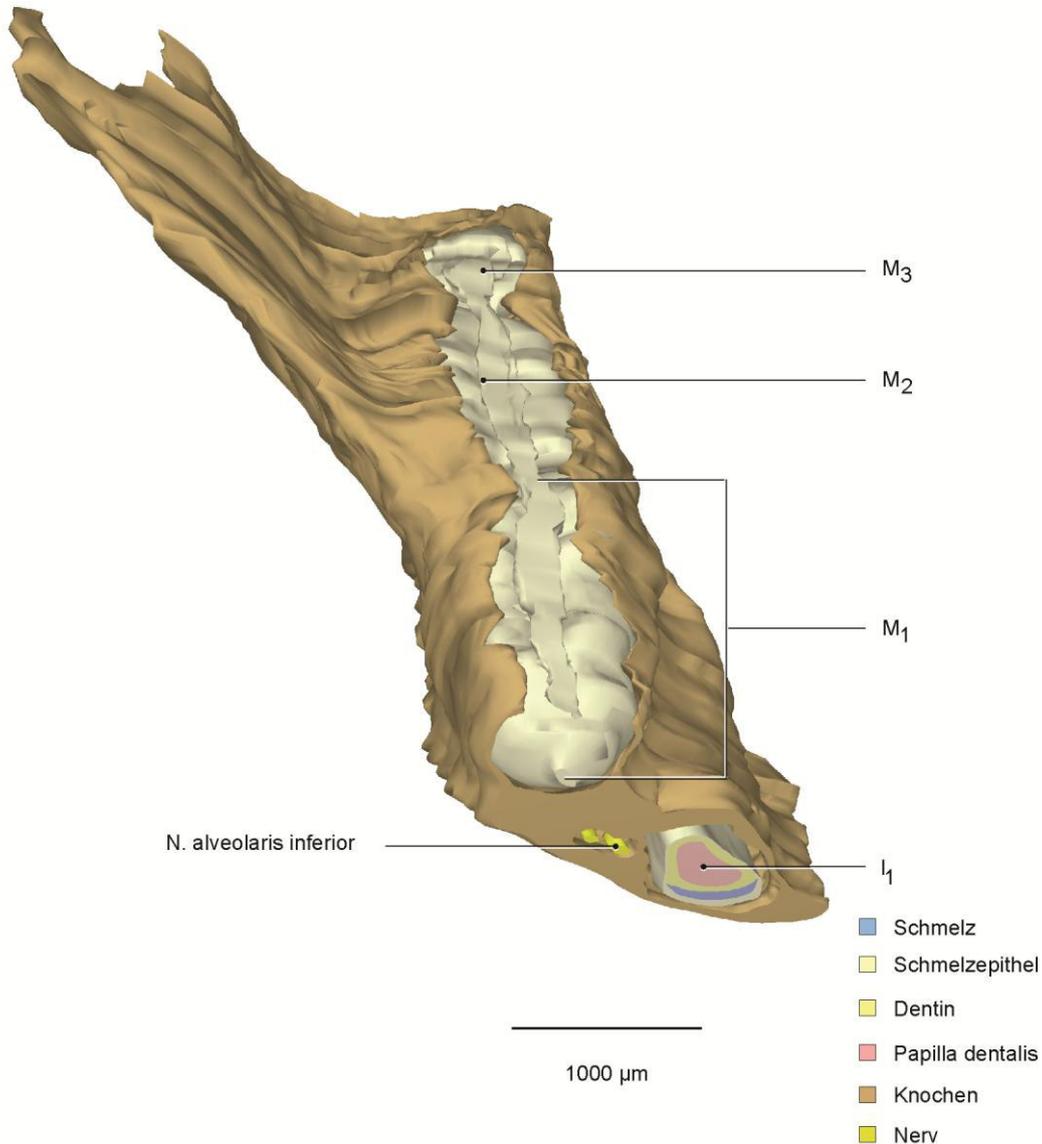
**Abb. 20:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen  $M_1$  bis  $M_3$  der rechten Hälfte der Mandibula mit *N. alveolaris inferior*, Stadium P8, Ansicht von medial.\*

In Abbildung 20 sind bei der Zahnanlage  $M_1$  mesial und distal Wurzeln im Ansatz erkennbar. Die Zahnanlagen  $M_2$  und  $M_3$  befinden sich im Stadium der sezernierenden Glocke. Der *N. alveolaris inferior* beschreibt einen gebogenen Verlauf nach distal-kranial und kreuzt medial von  $M_2$  von apikal-lingual auf die bukkale Seite von den Zahnanlagen  $M_2$  und  $M_3$ .

---

\* Quelle: Barbara Danielowski (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)

## 5.7 Stadium P10

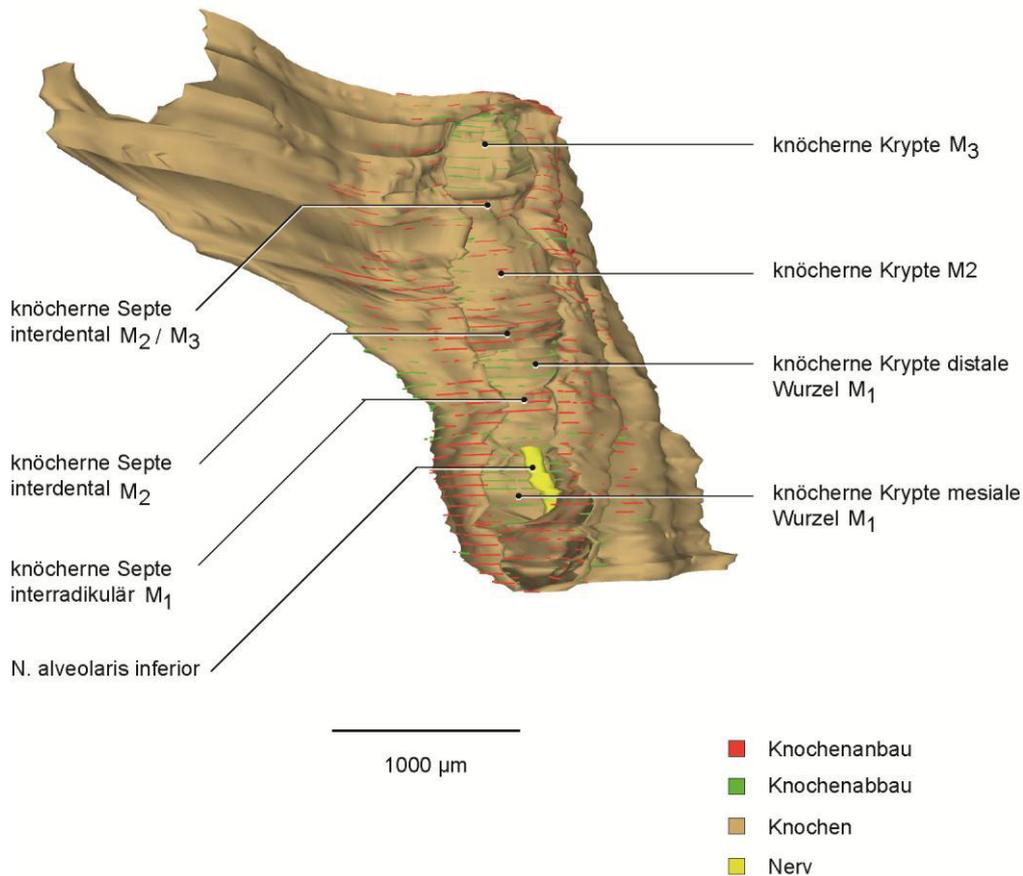


**Abb. 21:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Zahnanlagen (grau); Stadium: P10; Ansicht von kranial, 45° ventral.\*

Die Ränder der lingualen und bukkalen knöchernen Lamelle weisen in diesem Stadium einen girlandenförmigen Verlauf auf. Es bestehen Annäherungen der Ränder zueinander vor allem interdental, im Bereich von M<sub>1</sub>, ansatzweise auch interkuspidal. Alle Zahnanlagen bzw. Zähne werden nach kranial von den knöchernen Lamellen überragt.

Bei M<sub>1</sub> sind 3 linguale und bukkale Höcker zu erkennen, bei M<sub>2</sub> jeweils 2 Höcker. Bei der Zahnanlage M<sub>3</sub> sind keine Höcker sichtbar.

\* Quelle: Barbara Danielowski (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)

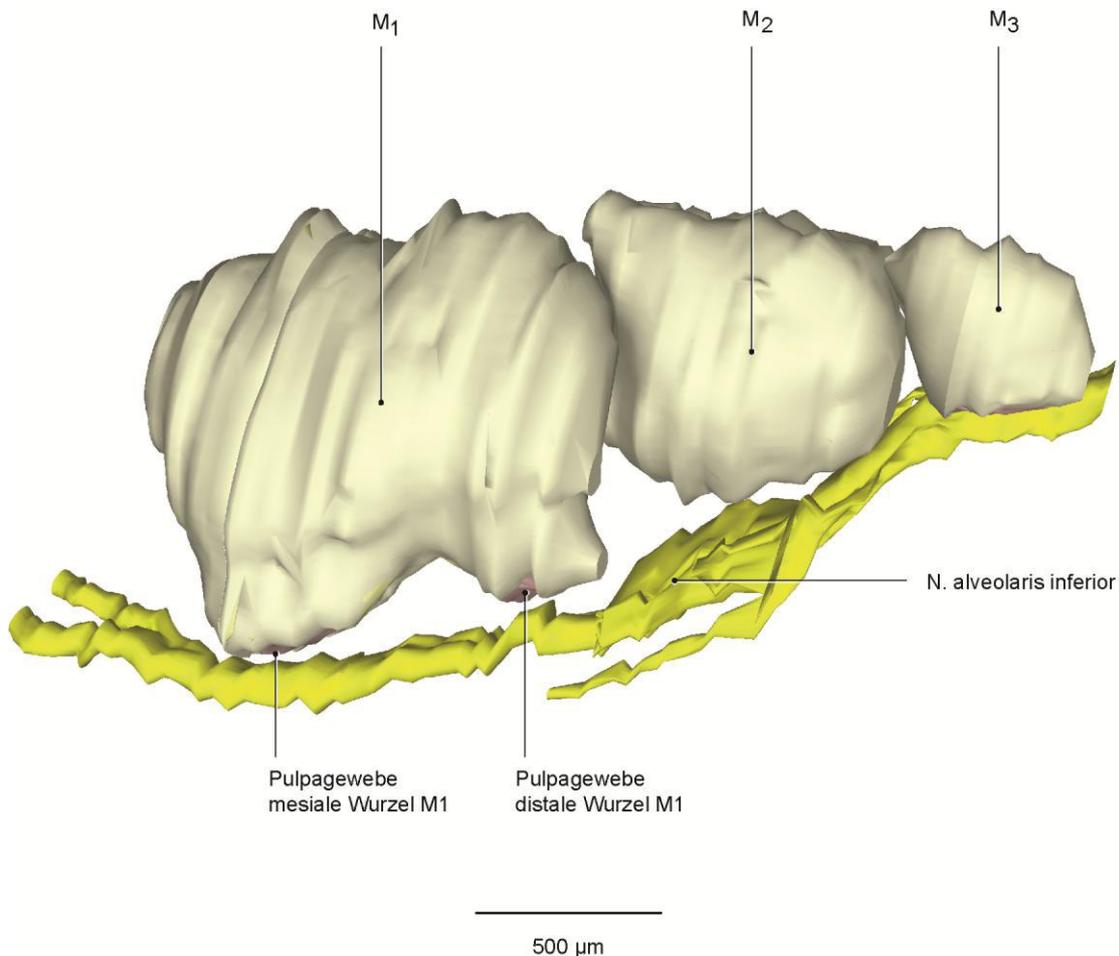


**Abb. 22:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Knochenumbau, Stadium P10, Ansicht von kranial.\*

Knochenanbau ist interdental am Boden der knöchernen Rinne erkennbar, bei  $M_1$  auch interradiikulär. Außerdem ist Knochenapposition an den Außenseiten und an den Rändern der späteren Alveolen sichtbar. Knochenabbau wird im apikalen Bereich von  $M_1$  und  $M_2$  und um die Zahnanlage  $M_3$  herum deutlich. In den übrigen Bereichen ist Knochenumbau feststellbar. Die Ränder der knöchernen Lamellen weisen einen girlandenförmigen Verlauf auf. Interdentale Septen sind zwischen allen Zahnanlagen bzw. Zähnen vorhanden. Bei  $M_1$  ist eine interradiikuläre Septe im Ansatz erkennbar. Knöchernen Krypten für die einzelnen Zahnanlagen bzw. Zähne sind gegeneinander abgrenzbar.

Der *N. alveolaris inferior* verläuft nur im Bereich der mesialen Wurzel von  $M_1$  nicht im *Canalis mandibulae*.

\* Quelle: Barbara Danielowski (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)



**Abb. 23:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen M<sub>1</sub> bis M<sub>3</sub> der rechten Hälfte der Mandibula mit N. alveolaris inferior, Stadium P10, Ansicht von medial.\*

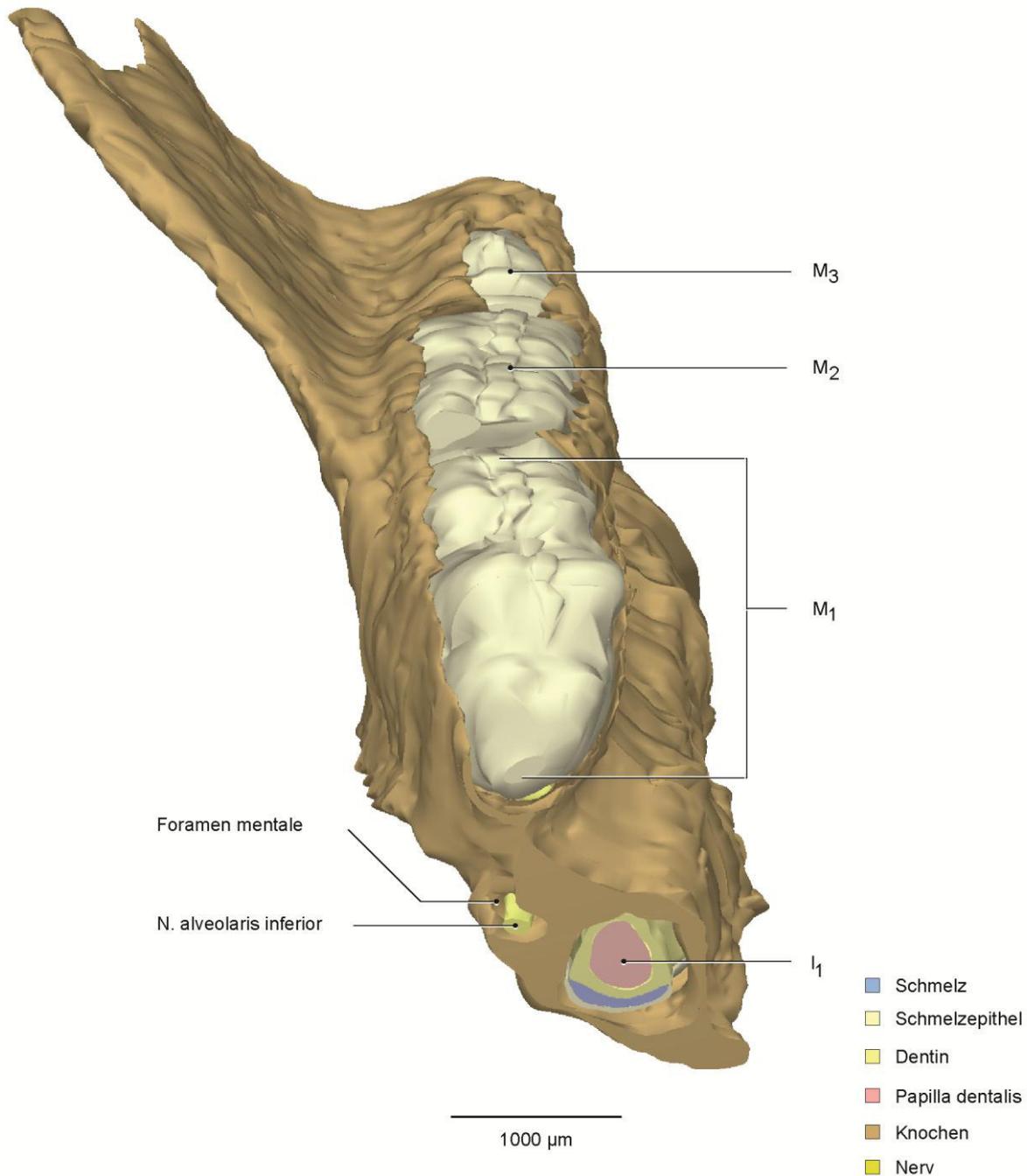
Die Ansätze der späteren Wurzeln bei M<sub>1</sub> sind deutlich zu sehen. Anzeichen sind bei M<sub>2</sub> ebenfalls erkennbar. M<sub>3</sub> befindet sich im Stadium der sezernierenden Glocke. Pulpagewebe ist im apikalen Bereich der Zahnanlagen bzw. Zähne sichtbar. Jegliches Zahnhartgewebe ist von Schmelzepithel bedeckt.

Formveränderungen der Zahnanlagen bzw. Zähne entstehen durch Wurzelbildung, eine Größenzunahme in lingual-bukkaler Richtung und durch Differenzierungen im Kronenbereich.

Der bogenförmige Verlauf des *N. alveolaris inferior* nach distal-kranial flacht im Vergleich zu dem Stadium P8 ab. Im medialen Bereich von M<sub>2</sub> kreuzt der Nerv von apikal-lingual nach bukkal. Eine enge Lagebeziehung des Nerven besteht apikal zu M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> und M<sub>3</sub>.

\* Quelle: Barbara Danielowski (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)

## 5.8 Stadium P12



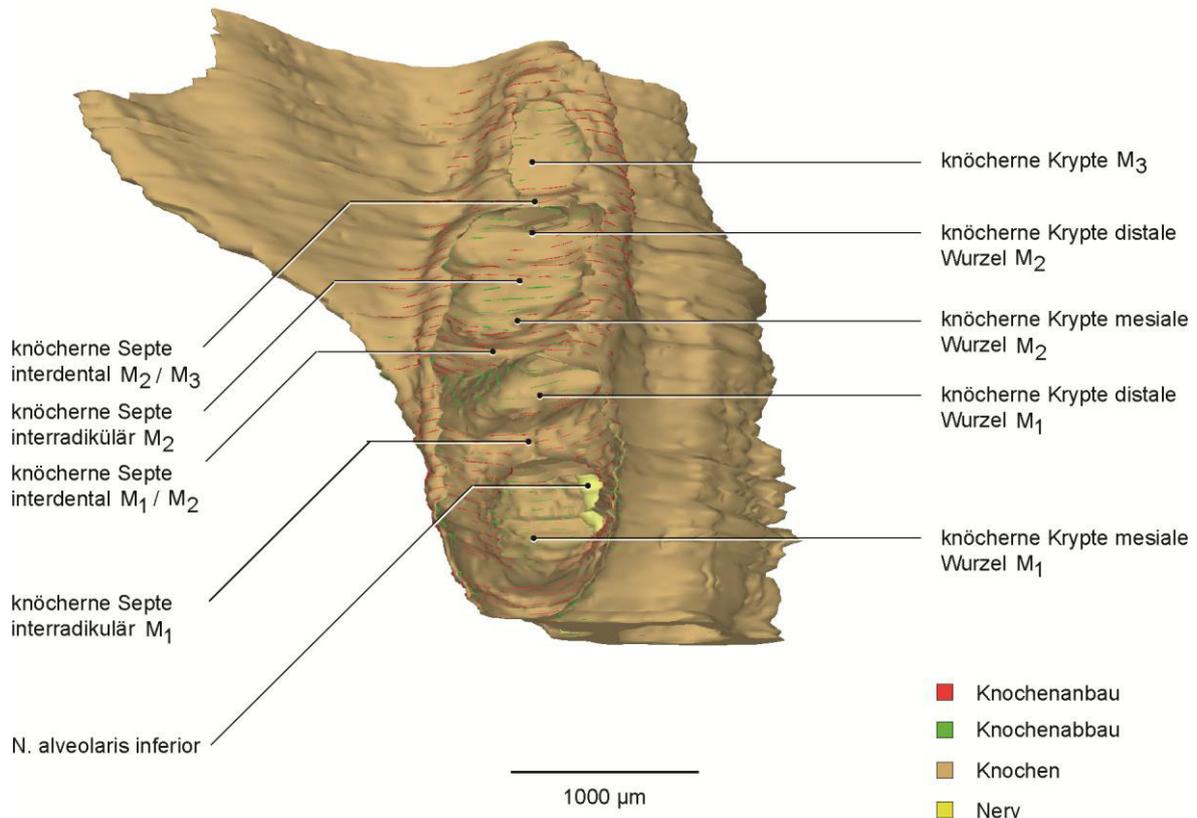
**Abb. 24:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Zahnanlagen (grau); Stadium P12; Ansicht von kranial, 45° ventral.

In Abbildung 24 sind bei M<sub>1</sub> 3 linguale und 3 bukkale Höcker klar erkennbar. Das okklusale Relief von M<sub>2</sub> zeigt 2 linguale und 2 bukkale Höcker.

M<sub>1</sub> wird distal und medial im Kronenbereich zu 2/3 und mesial zu 1/3 von Knochen bedeckt. Die linguale knöcherne Lamelle hat einen Fortsatz zwischen M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub>. Ein solcher Fortsatz

ist ebenso zwischen  $M_2$  und  $M_3$  lingual als auch bukkal sichtbar. Die bukkale, knöcherner Lamelle zeigt im Bereich von  $M_1$  und  $M_2$  einen relativ geradlinigen Verlauf.

Der Durchtrittspunkt des *N. alveolaris inferior*, das *Foramen mentale*, ist mesial von  $M_1$  zu erkennen.



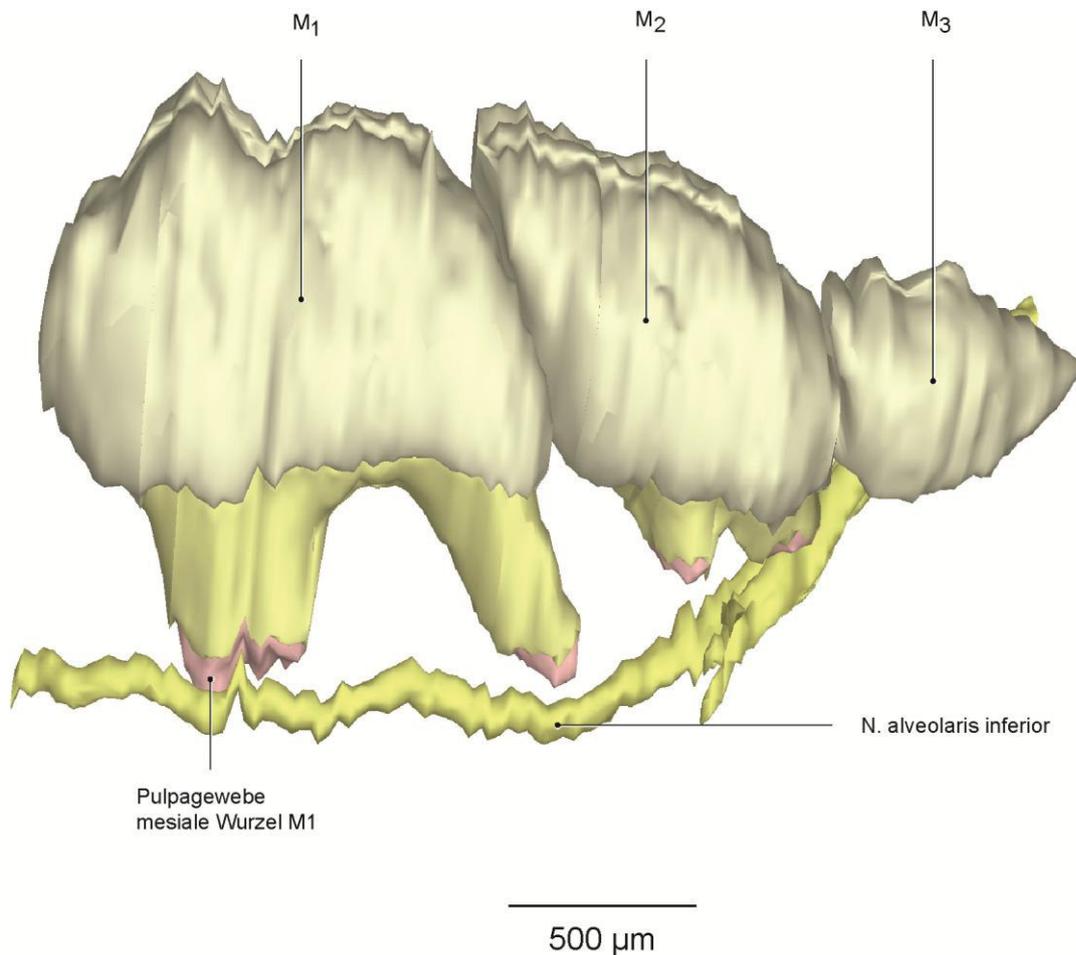
**Abb. 25:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit *N. alveolaris inferior* (gelb) und Knochenumbau, Stadium P12, Ansicht von kranial.

Knochenaufbauzonen sind vornehmlich in den Bereichen des interdentalen und interrädikulären Knochens und an den Außenseiten der knöchernen Lamellen vorhanden. Knochenabbau ist hauptsächlich in den Bereichen der Wurzelspitzen von  $M_1$  und  $M_2$  und zirkulär um die gesamte Zahnanlage  $M_3$  vorherrschend. Auch im Bereich des größten Durchmessers der Zahnanlagen ist Knochenabbau sichtbar.

Eine knöcherner Septe zwischen  $M_1$  und  $M_2$  ist deutlich erkennbar. Interrädikulär im Bereich von  $M_1$  ist eindeutig eine Knochenerhebung, in Form einer sich bildenden knöchernen Septe, zu sehen, andeutungsweise auch interrädikulär im Bereich von  $M_2$ . Eine knöcherner Abgrenzung zwischen  $M_2$  und  $M_3$  deutet sich an.

Untersichgehende Bereiche können nur im Bereich von  $M_3$  beobachtet werden.

Der *N. alveolaris inferior* verläuft im mesialen Bereich von  $M_1$  lingual, nur dort wird er auch nicht von Knochen umhüllt, zieht weiter nach mesial in den *Corpus mandibulae* und tritt mesial von  $M_1$  durch das *Foramen mentale* aus dem Knochen heraus.



**Abb. 26:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen  $M_1$  bis  $M_3$  der rechten Hälfte der Mandibula mit *N. alveolaris inferior*, Stadium P12, Ansicht von medial.

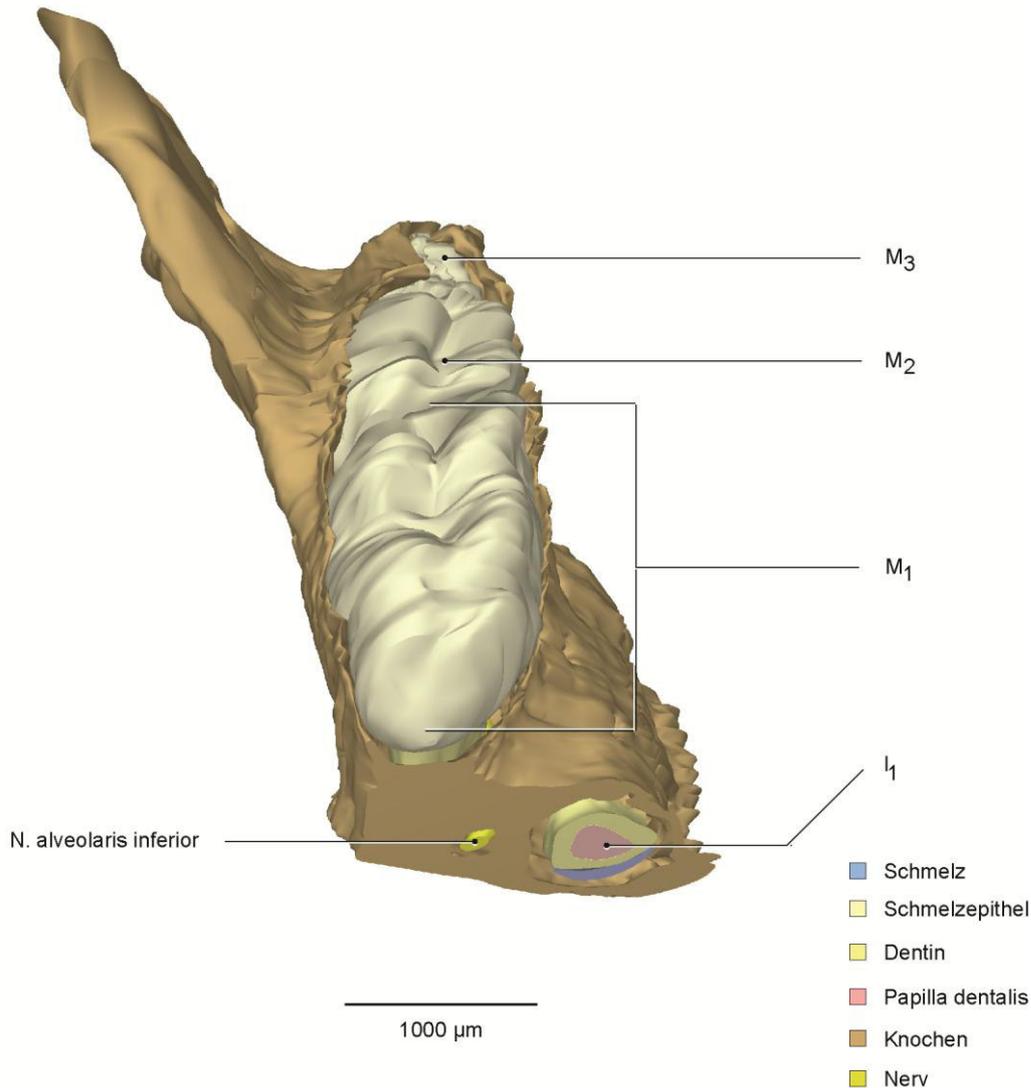
In Abbildung 26 sind sich bildende Zahnwurzeln bei  $M_1$  und  $M_2$  deutlich zu sehen,  $M_3$  ist im Stadium der sezernierenden Glocke und lässt keine Anzeichen späterer Wurzeln erkennen. Schmelzepithel bedeckt lediglich den koronalen Anteil der Zahnanlagen bzw. Zähne, im Wurzelbereich ist Zahnhartsubstanz sichtbar.

In diesem Stadium ist die Ausdehnung der koronalen Anteile der Zahnanlagen  $M_1$  und  $M_2$  annähernd gleich,  $M_3$  ist im Vergleich zu den anderen Zahnanlagen etwas größer als die Hälfte.

Der *N. alveolaris inferior* verläuft im Bereich von  $M_1$  relativ geradlinig und führt von mesio-lingual zwischen den Wurzeln nach disto-bukkal. Hinter der distalen Wurzel von  $M_1$  knickt der Nerv nach kranial ab.

Pulpagewebe wird im Bereich der Wurzelspitzen von  $M_1$  und  $M_2$  sichtbar.

## 5.9 Stadium P14

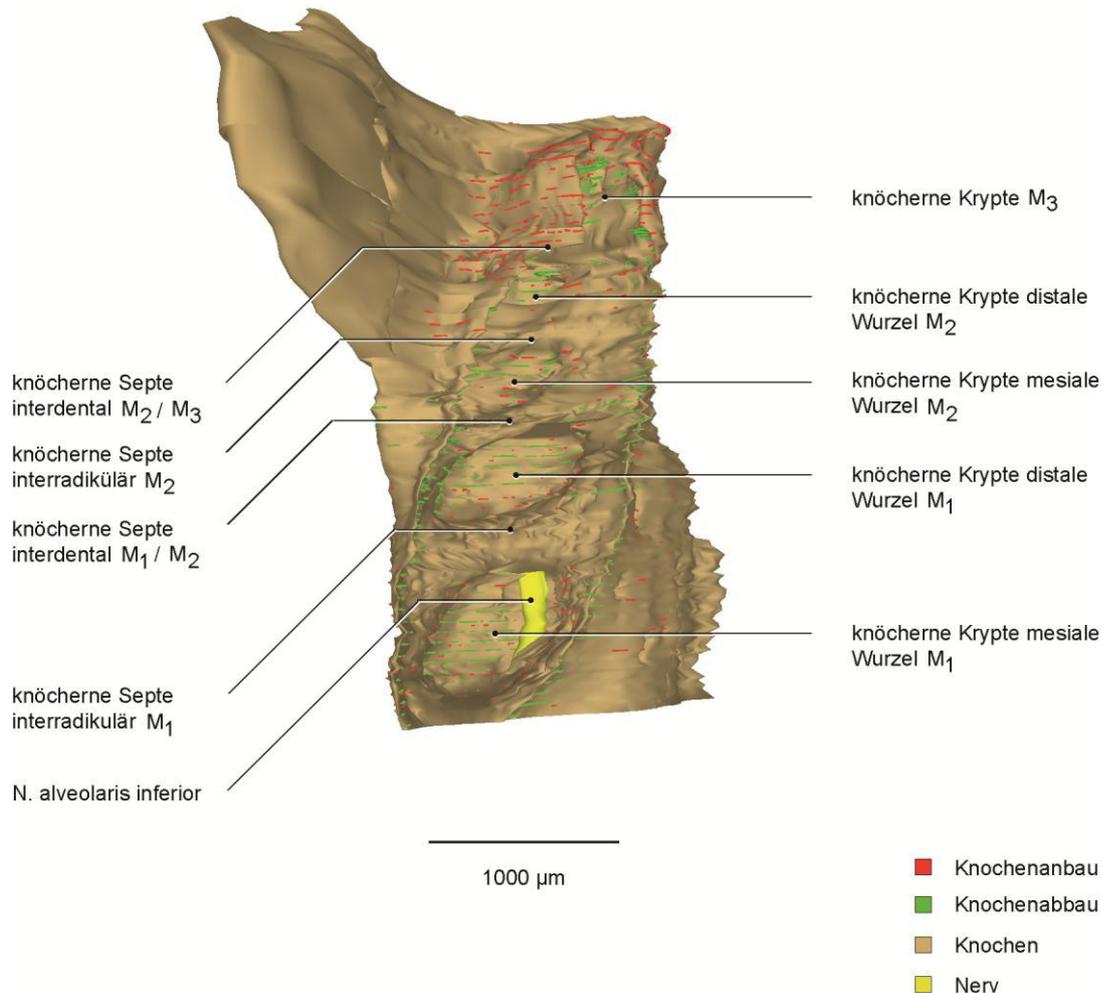


**Abb. 27:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Zahnanlagen (grau); Stadium: P14; Ansicht von kranial, 45° ventral.\*

Die Form der Krone des Zahnes M<sub>1</sub> gleicht der eines vollständig entwickelten Zahnes. Bei M<sub>2</sub> kann ebenfalls eine weitere Formdifferenzierung beobachtet werden.

Die Zahnanlage M<sub>3</sub> wird von der bukkalen und von der lingualen Knochenlamelle überragt. M<sub>2</sub> wird zu 2/3 vom Knochen umfasst, M<sub>1</sub> bis zum größten Durchmesser im Kronenbereich und im mesialen Bereich etwa bis zur Schmelz-Zement-Grenze. Zwischen den Zahnanlagen M<sub>2</sub> und M<sub>3</sub> sind knöcherne Fortsätze lingual und bukkal vorhanden.

\* Quelle: Irene Schwarz (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)



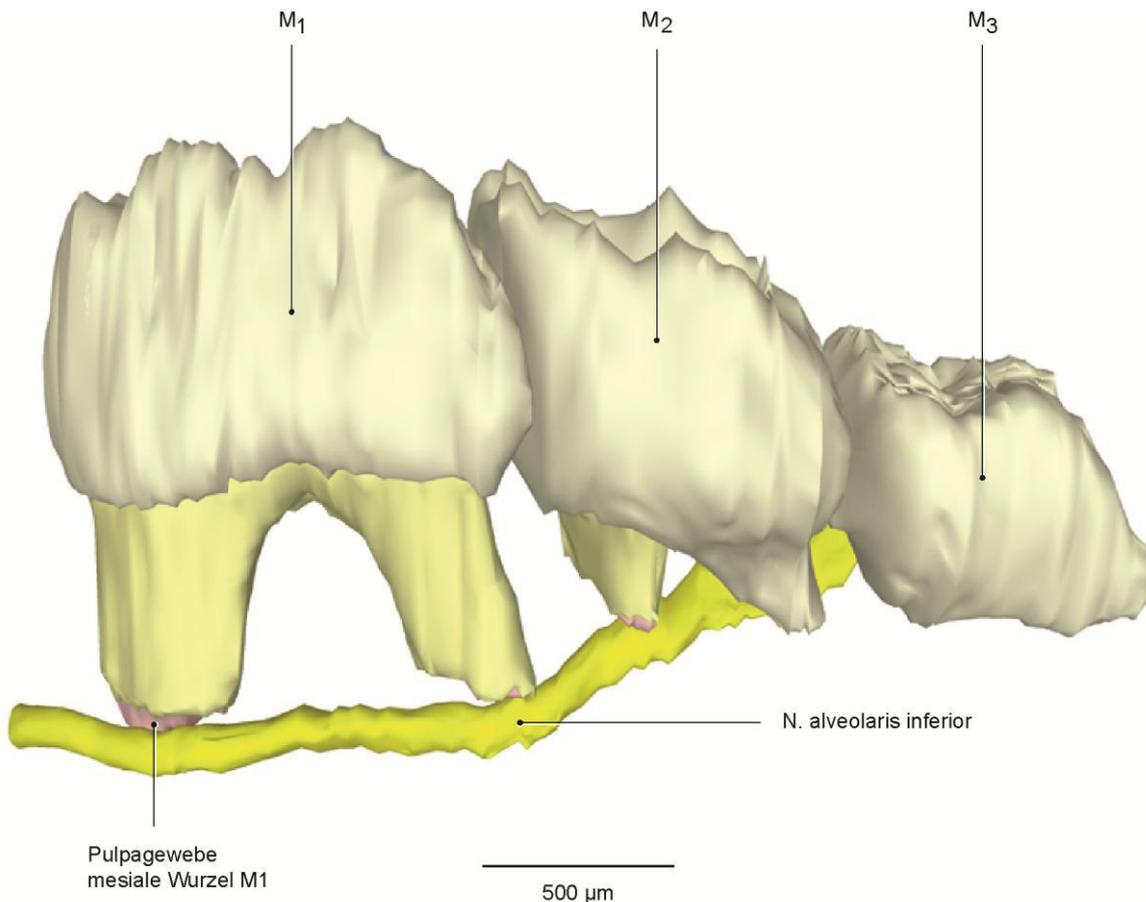
**Abb. 28:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Knochenumbau, Stadium P14, Ansicht von kranial.\*

Generell lässt sich erkennen, dass die Intensität des Knochenumbaus im Vergleich zu den vorherigen Stadien geringer ist, es treten vermehrt Knochenareale ohne Knochenanbau- oder Knochenabbauzonen auf, vor allem bei M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub>. Knochenanbau wird hauptsächlich an den Außenseiten der späteren Alveole im Bereich der Zahnanlage M<sub>3</sub> deutlich. Knochenabbau kommt in der Nähe der Wurzelspitzen der Zähne M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> und zirkulär um die Zahnanlage M<sub>3</sub> vor. Im Gegensatz zu dem vorherigen Stadium zeigen die Ränder der knöchernen Lamellen im Bereich von M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> Knochenabbau.

Die knöcherne Krypte von M<sub>1</sub> mit Einsenkungen für die Wurzeln ist deutlich zu sehen, im Ansatz auch bei M<sub>2</sub> erkennbar.

Der N. alveolaris inferior wird nur im Bereich der mesialen Wurzel von M<sub>1</sub> nicht von Knochen bedeckt.

\* Quelle: Irene Schwarz (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)



**Abb. 29:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen  $M_1$  bis  $M_3$  der rechten Hälfte der Mandibula mit *N. alveolaris inferior*, Stadium P14, Ansicht von medial.\*

Die Wurzeln von  $M_1$  und  $M_2$  sind im Vergleich zum Stadium P12 (Abb. 26) länger. Die Zahnanlage  $M_3$  befindet sich im Stadium der sezernierenden Glocke, Anzeichen späterer Wurzeln sind nicht sichtbar.

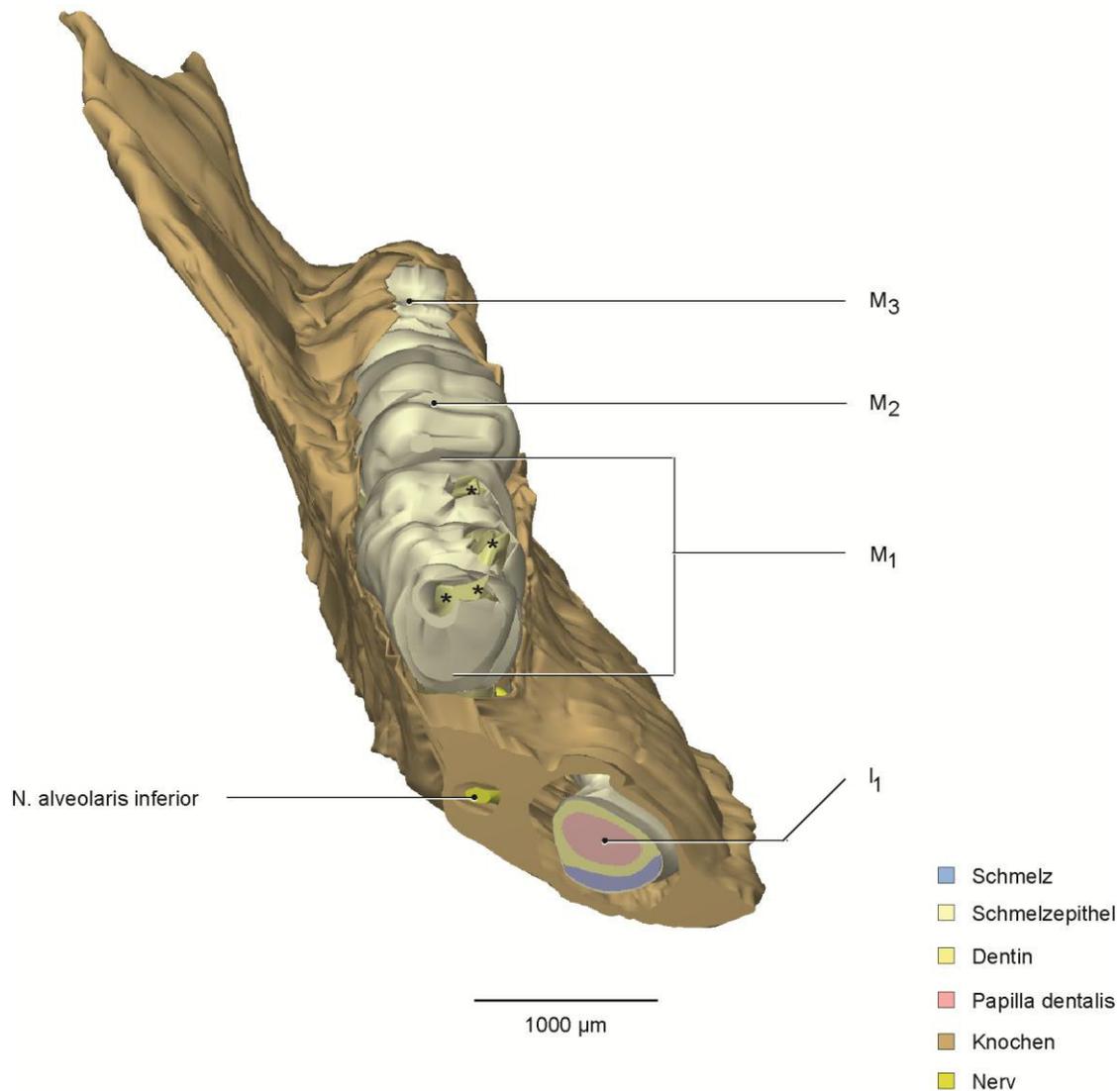
Die Zähne  $M_1$  und  $M_2$  sind im Kronenbereich in der lingual-bukkalen Ausdehnung etwa gleich groß, von mesial nach distal gemessen erreicht  $M_2$  circa  $3/4$  der Länge von  $M_1$ . Das Ausmaß der Zahnanlage  $M_3$  ist deutlich kleiner. Als Auffälligkeit zeigt sich bei dieser Maus (Katalognummer 93/08), dass die distale Wurzel von  $M_2$  von Schmelzepithel bedeckt ist.

Wie auch im vorherigen Stadium kreuzt der *N. alveolaris inferior* im distalen Bereich von  $M_1$  von lingual nach bukkal. Ebenfalls lässt sich eine Abbiegung des Verlaufes nach disto-kranial an der distalen Wurzel von  $M_1$  beobachten.

Pulpagewebe ist sichtbar an den Wurzeln des Zahnes  $M_1$  und an der mesialen Wurzel von  $M_2$ .

\* Quelle: Irene Schwarz (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)

### 5.10 Stadium P16



**Abb. 30:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Zahnanlagen (grau); Stadium P16; Ansicht von kranial, 45° ventral; Dentin der durchgebrochenen Höckerspitzen von M<sub>1</sub> sichtbar, da der Schmelz bei der Entkalkung der histologischen Präparate verlorengegangen ist (markiert mit \*).

M<sub>1</sub> befindet sich im Zahndurchbruch. Die Reihenfolge des Durchbruches der Höckerspitzen ist von mesial nach distal und von lingual nach bukkal. Da der Zahnschmelz bei der Entkalkung des histologischen Präparates verloren ging, erscheint unter dem Schmelzepithel Dentin. Die beiden mesialen Höckerspitzen, die medio-lingulae und die disto-linguale Höckerspitze sind erkennbar (in Abb. 30 markiert mit \*). Auch bei M<sub>2</sub> zeigt 3 linguale und 3 bukkale Höcker, welche jedoch noch vollständig von Schmelzepithel bedeckt sind.

Die Ränder der knöchernen Lamellen liegen bei  $M_1$  in Höhe der Schmelz-Zement-Grenze, bei  $M_2$  etwas weiter kranial.  $M_3$  wird fast vollständig von Knochen umschlossen, es besteht ein knochenfreier Bereich kranial der Zahnanlage.

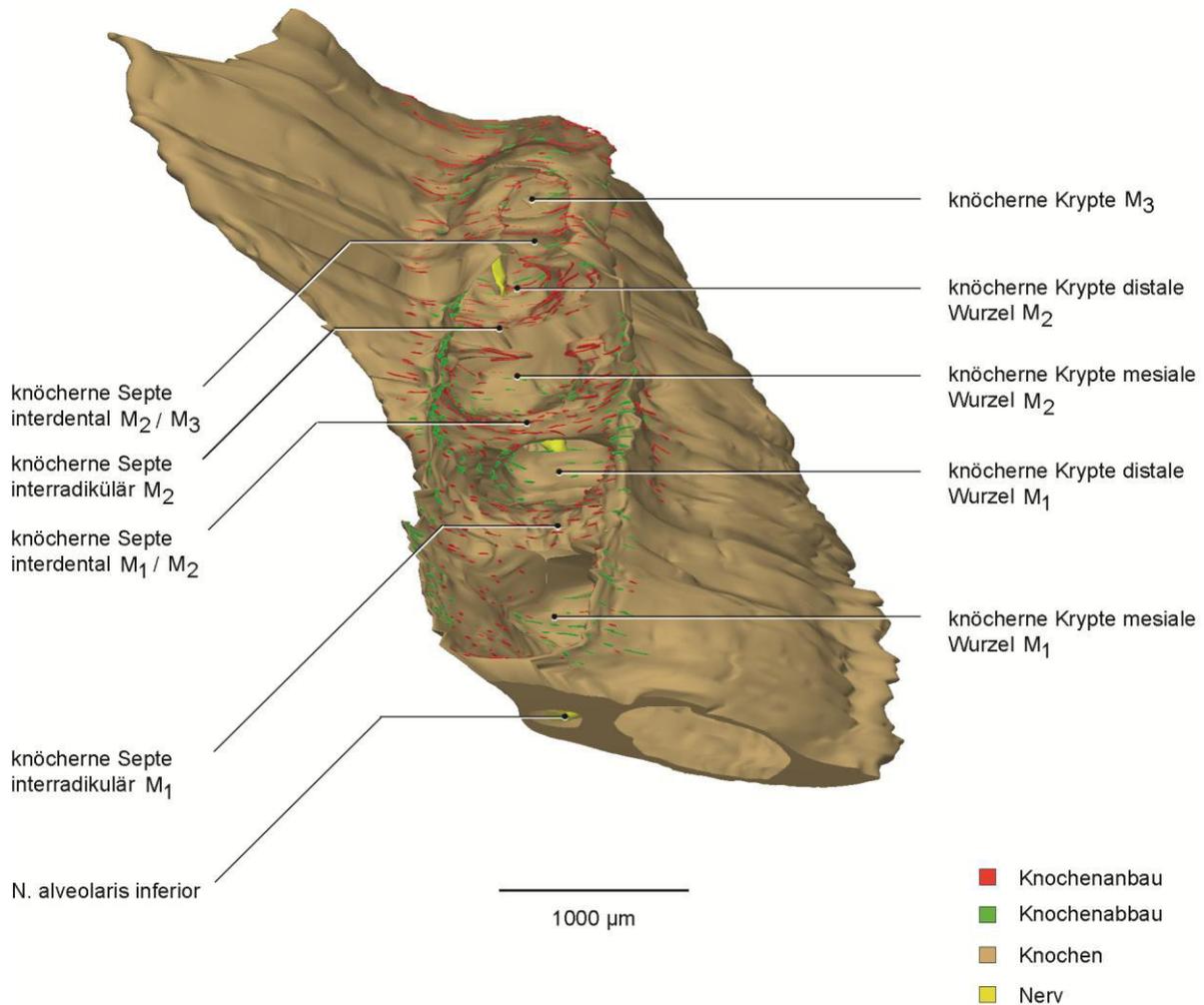


**Abb. 31:** Frontalschnitt (Färbung H.E.) in Höhe der mesialen Wurzel von  $M_1$ , Stadium P16, Schmelz bei der Entkalkung der histologischen Präparate verloren gegangen (markiert mit \*).

Abbildung 31 zeigt  $M_1$  während des Zahndurchbruchs. Lingualer und bukkaler Höcker sind nicht vollständig von Schmelzepithel bedeckt.

Bei der Abstandsmessung von Zahn zu Knochen traten gehäuft Messwerte von 20-80  $\mu\text{m}$  auf. An diesen Stellen ist der Knochenabbau vorherrschend.

In dieser Abbildung verläuft der *N. alveolaris inferior* innerhalb des *Canalis mandibulae*.

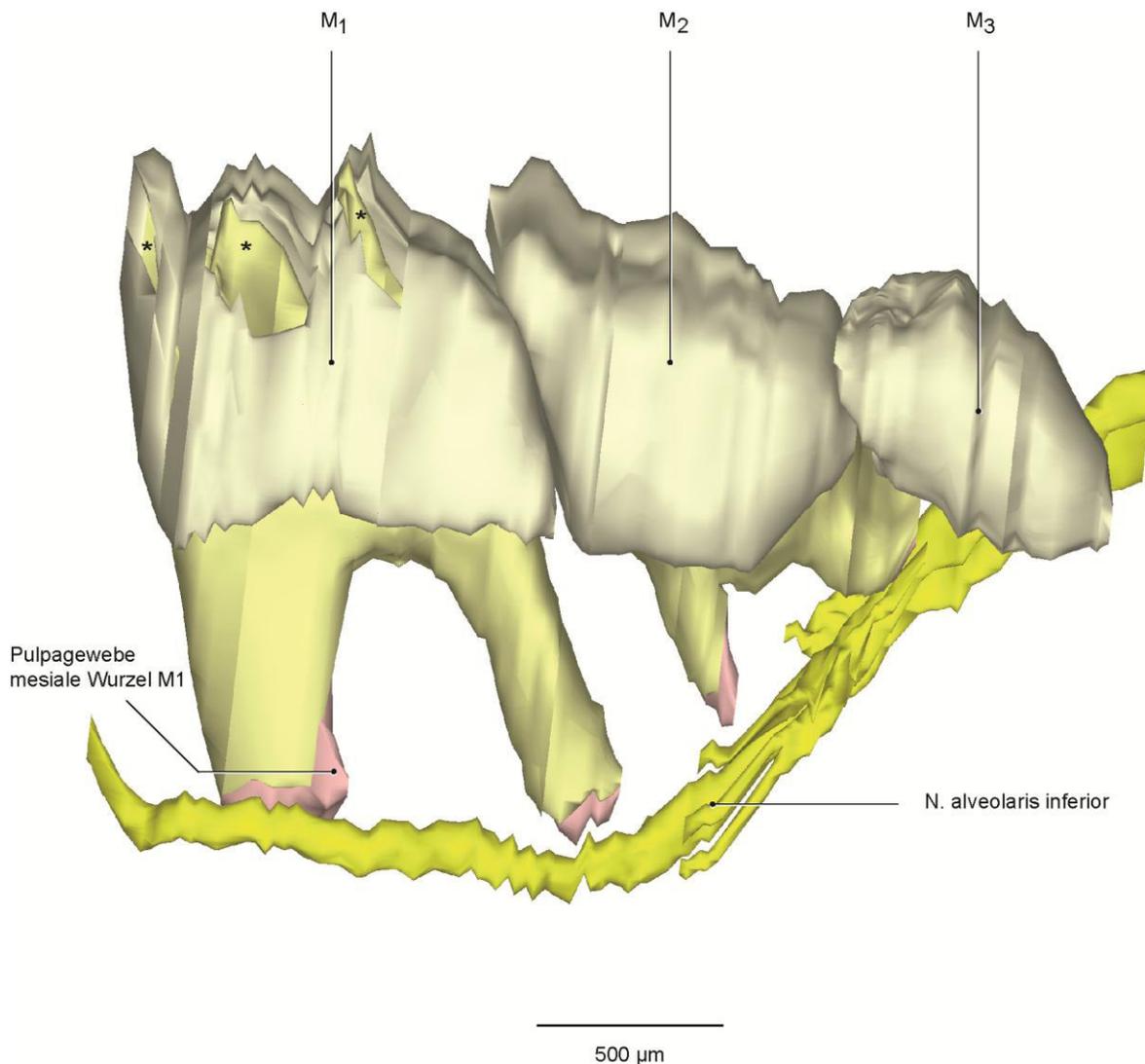


**Abb. 32:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit *N. alveolaris inferior* (gelb) und Knochenumbau, Stadium P16, Ansicht von kranial.

Das Zahnfach für  $M_1$  ist deutlich erkennbar. Der interdentale Knochen zwischen  $M_1$  und  $M_2$  verläuft von der lingualen bis zur bukkalen knöchernen Lamelle und bildet somit eine interdentale knöchernen Septe. Der interradikuläre Knochen von  $M_2$  stellt sich als unvollständige knöchernen Septe dar aufgrund nicht miteinander verbundenen fingerförmigen Knochenfortsätzen ausgehend von der lingualen und bukkalen Lamelle. Die Ränder der knöchernen Lamellen liegen im Bereich von  $M_3$  relativ eng beieinander, sodass ein untersichgehender Bereich vorkommt.

Knochenanbau ist hauptsächlich interdental und interradi­kulär und an den Außenseiten der knöchernen Lamellen im Bereich von M<sub>2</sub> und M<sub>3</sub> lokalisiert. Knochenabbau ist am Innenrand der bukkalen und lingualen Knochenlamelle und an der kaudalen Begrenzung der späteren Alveolen erkennbar.

Der *N. alveolaris inferior* ist kaudal der interdentalen Septe zwischen M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> und im Wurzelspitzenbereich von M<sub>2</sub> nicht vollständig von Knochen umgeben.



**Abb. 33:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen M<sub>1</sub> bis M<sub>3</sub> der rechten Hälfte der Mandibula mit *N. alveolaris inferior*, Stadium P16, Ansicht von medial.

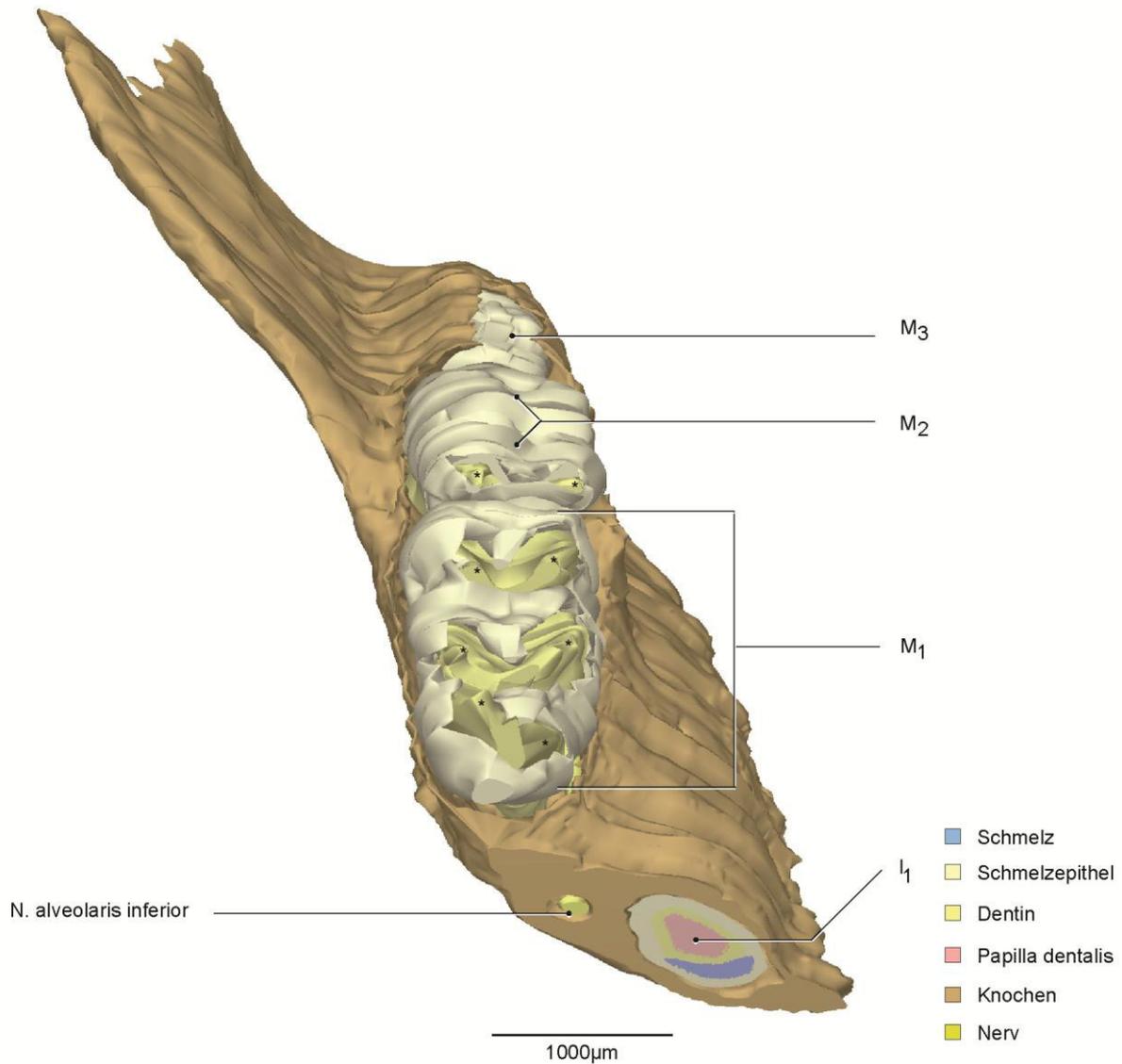
Die Gestalt des M<sub>1</sub> gleicht der eines vollständig durchgebrochen Zahnes, jedoch sind die Wurzeln noch kürzer (siehe Abb. 40). Bei M<sub>2</sub> sind die mesiale und die distale Wurzel deutlich erkennbar, wobei die mesiale Wurzel länger ist als die distale Wurzel. M<sub>3</sub> befindet sich im Stadium der sezernierenden Glocke, Anzeichen späterer Zahnwurzeln sind nicht feststellbar.

Die Höckerspitzen von  $M_1$  sind partiell nicht mehr von Schmelzepithel bedeckt, Dentin ist sichtbar (in Abb. 33 markiert mit \*, da der Schmelz bei der Herstellung der Präparate verloren ging).

Die Länge von  $M_2$  beträgt etwa  $5/6$  von der Länge von  $M_1$ , die Breite der Zähne ist annähernd gleich.  $M_3$  ist im Vergleich zu  $M_1$  und  $M_2$  deutlich kleiner. Pulpagewebe ist nur an den Wurzelspitzen sichtbar.

Der *N. alveolaris inferior* hat zu allen Zähnen bzw. Zahnanlagen eine enge Lagebeziehung und verläuft gebogen nach distal-kranial.

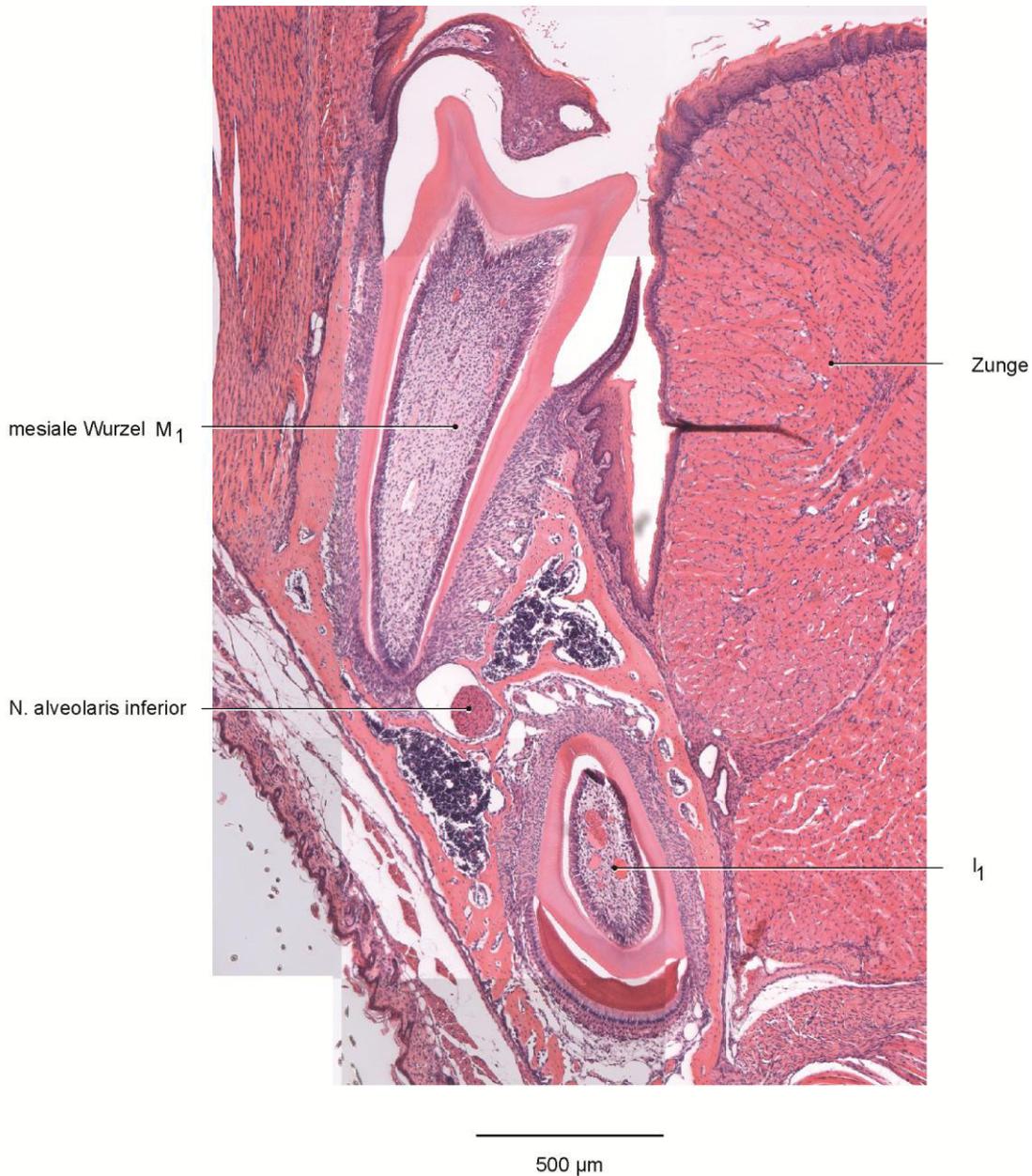
### 5.11 Stadium P18



**Abb. 34:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Zahnanlagen (grau); Stadium P18; Ansicht von kranial, 45° ventral; Dentin der durchgebrochenen Höckerspitzen von M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> sichtbar, da der Schmelz bei der Entkalkung der histologischen Präparate verlorengegangen ist (markiert mit \*).

In Abbildung 34 ist bei M<sub>1</sub> Schmelzepithel nur noch zwischen den Höckerspitzen erkennbar. Der Zahn ragt im Vergleich zum vorherigen Stadium weiter über die Ränder der linguale und bukkale knöchernen Lamelle hinaus. Das okklusale Relief von M<sub>2</sub> zeigt drei linguale und drei bukkale Höcker. Die beiden mesialen Höckerspitzen sind nicht von Schmelzepithel bedeckt. M<sub>3</sub> befindet sich im Stadium der sezernierenden Glocke, die Zahnanlage ist weit von Knochen umschlossen. Nur kranial besteht ein knochenfreier Bereich.

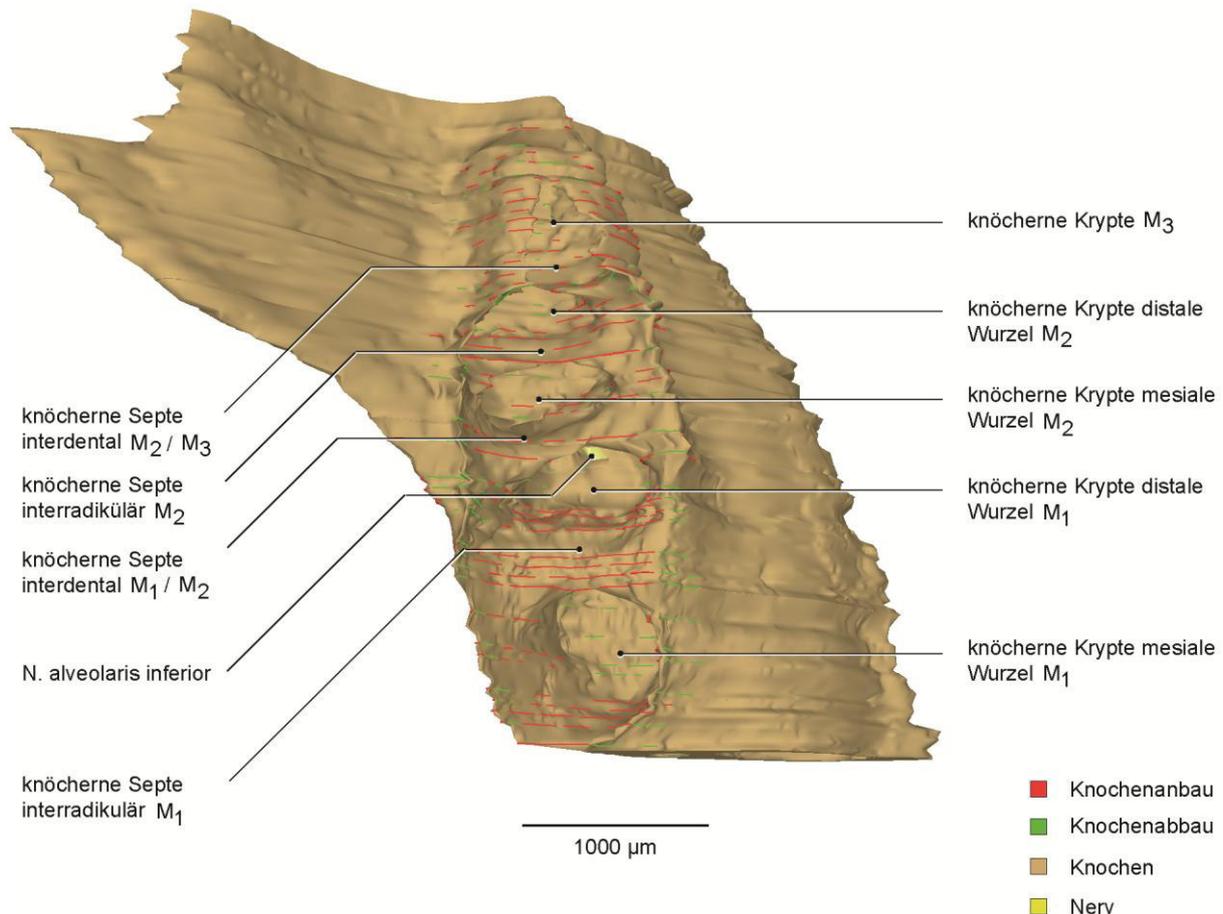
Es zeigt sich ein girlandenförmiger Verlauf der Ränder der knöchernen Lamellen mit fingerförmigen Knochenfortsätzen jeweils interdental.



**Abb. 35:** Frontalschnitt (Färbung H.E.) in Höhe der mesialen Wurzel von M<sub>1</sub>, Stadium P18, Schmelz bei der Entkalkung der histologischen Präparate verloren gegangen (markiert mit \*).

Dieses histologische Bild zeigt den Zahn M<sub>1</sub> im Frontalschnitt in etwa 100 μm nach mesial ausgehend von den mesialen Höckerspitzen. Die Zahnkrone wird im lingualen Teil nicht von Schmelzepithel bedeckt.

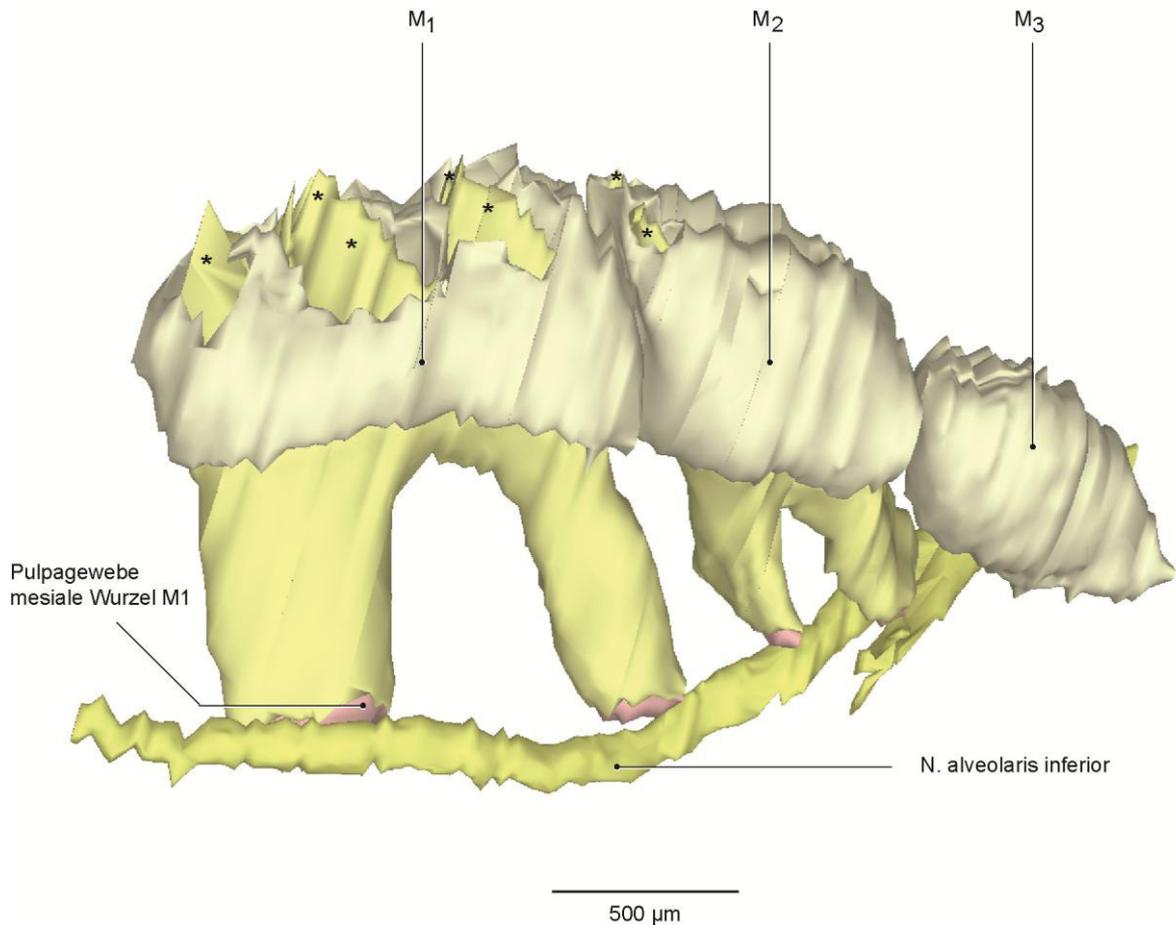
Der *N. alveolaris inferior* ist an dieser Stelle nicht komplett von Knochen umgeben und weist eine enge Lagebeziehung zu der mesialen Wurzel von  $M_1$  auf. Im Zusammenhang mit Abbildung 37 ist erkennbar, dass der *N. alveolaris inferior* nur im Bereich der Wurzelspitze nah an der Zahnhartsubstanz verläuft.



**Abb. 36:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit *N. alveolaris inferior* (gelb) und Knochenumbau, Stadium P18, Ansicht von kranial.

Knochenabbau ist an den Rändern der bukkalen und lingualen Knochenlamelle, am Boden der knöchernen Krypten und im Bereich von  $M_3$  an den Innenseiten der knöchernen Lamellen sichtbar.

Die Knochenanbauzonen sind interrädikulär und interdental, sowie an den Aussenseiten der bukkalen und lingualen Lamellen der knöchernen Krypte von  $M_3$  lokalisiert. Die Zonen des Knochenabbaus sind merklich kleiner bzw. seltener als in den zuvor beschriebenen Stadien. Die knöchernen Septen und Krypten sind deutlich ausgeprägt, eine durchgehende interrädikuläre Septe von  $M_2$  ist erkennbar. Der *N. alveolaris inferior* ist im Bereich der distalen Wurzel von  $M_1$  nicht von Knochen umgeben.



**Abb. 37:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen M<sub>1</sub> bis M<sub>3</sub> der rechten Hälfte der Mandibula mit N. alveolaris inferior, Stadium P18, Ansicht von medial.

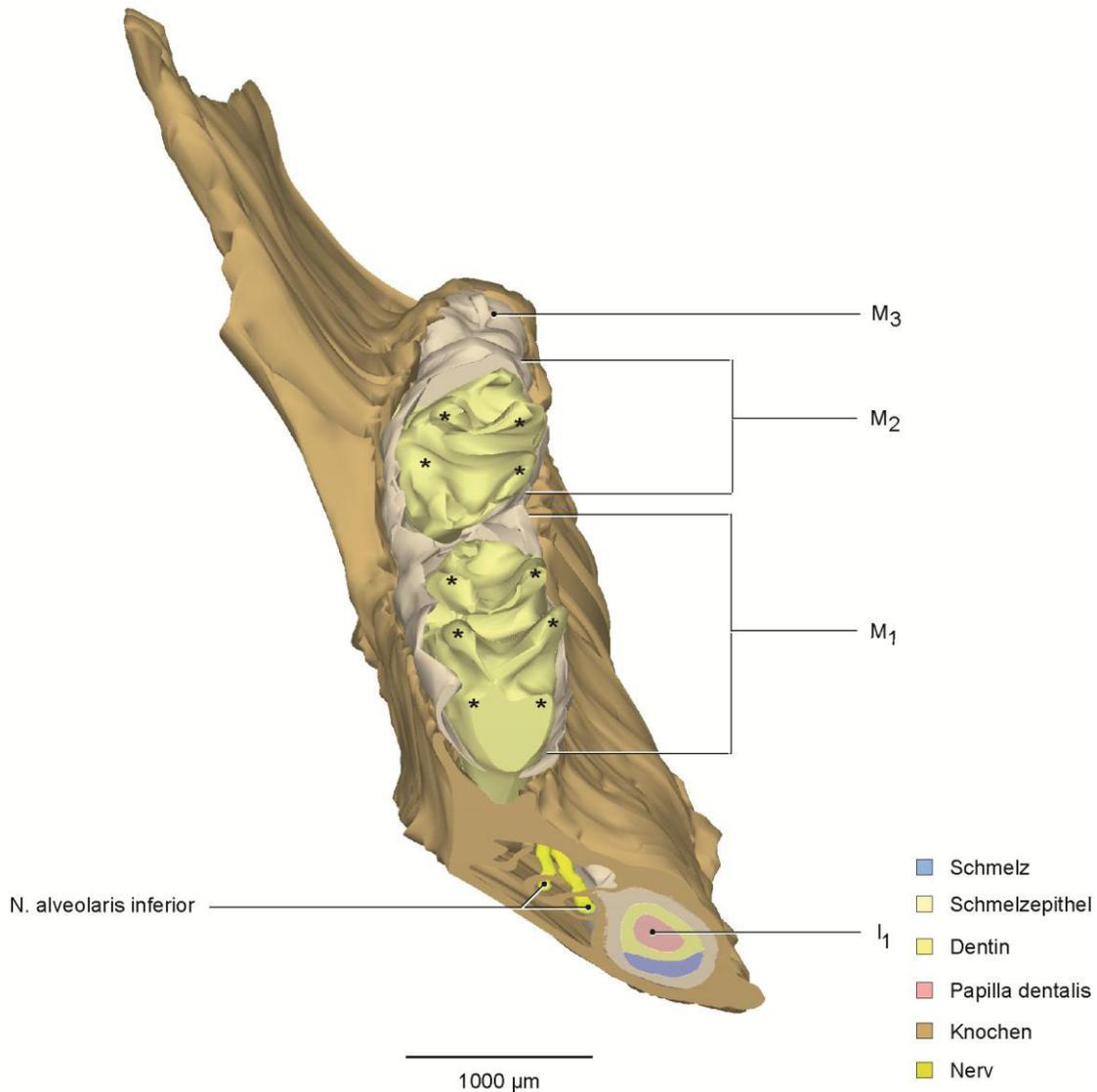
In diesem Stadium sind alle Höckerspitzen von M<sub>1</sub> und die mesialen Höckerspitzen von M<sub>2</sub> nicht mit Schmelzepithel bedeckt.

In Bezug auf Länge und Breite sind M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> und M<sub>3</sub> im Vergleich zu dem vorherigen Stadium nur geringfügig größer.

Die Wurzeln von M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> sind im Vergleich zu dem Stadium P16 länger, im Bereich der Wurzelspitzen ist Pulpagewebe sichtbar. Bei M<sub>3</sub> sind keine Anzeichen einer Wurzelbildung vorhanden.

Der N. alveolaris inferior verläuft im Bereich von M<sub>1</sub> geradlinig. Ab der distalen Wurzel knickt der Nerv in einem etwas flacheren Winkel nach kranial ab als bei dem Stadium P16.

## 5.12 Stadium P20



**Abb. 38:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Zahnanlagen (grau); Stadium P20; Ansicht von kranial, 45° ventral; Dentin der durchgebrochenen Höckerspitzen von M<sub>1</sub> und M<sub>2</sub> sichtbar, da Schmelz bei der Entkalkung der histologischen Präparate verlorengegangen ist (\*).\*

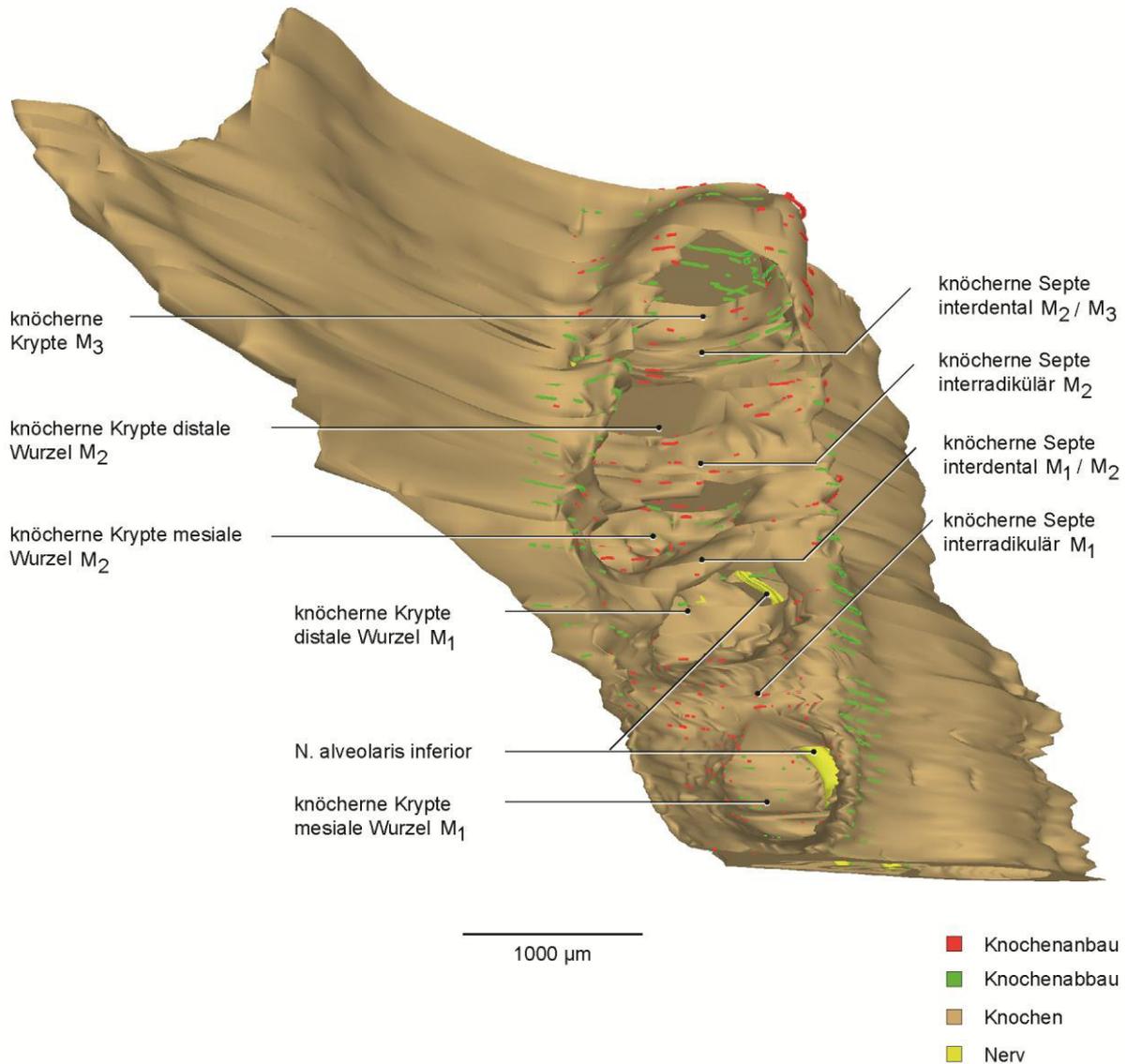
Der Zahndurchbruch von M<sub>1</sub> ist vollendet, Schmelzepithel ist nur noch bukkal und lingual im Kronenbereich sichtbar.

Die mesialen und medialen Höcker von M<sub>2</sub> werden nicht mehr von Schmelzepithel bedeckt. M<sub>3</sub> wird nun etwa 2/3 vom Knochen umschlossen, der knochenfreie Bereich nach kranial ist breiter als bei dem Stadium P18.

\* Quelle: Irene Schwarz (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)

Die Ränder der bukkalen und lingualen Knochenlamelle reichen bei  $M_1$  und  $M_2$  bis zur Kronen-Wurzel-Grenze bzw. bis zur Schmelz-Zement-Grenze.

Der girlandenförmige Verlauf der Ränder der knöchernen Lamellen bei  $M_1$  und  $M_2$  ist auch entlang des Höckerreliefs zu beobachten.



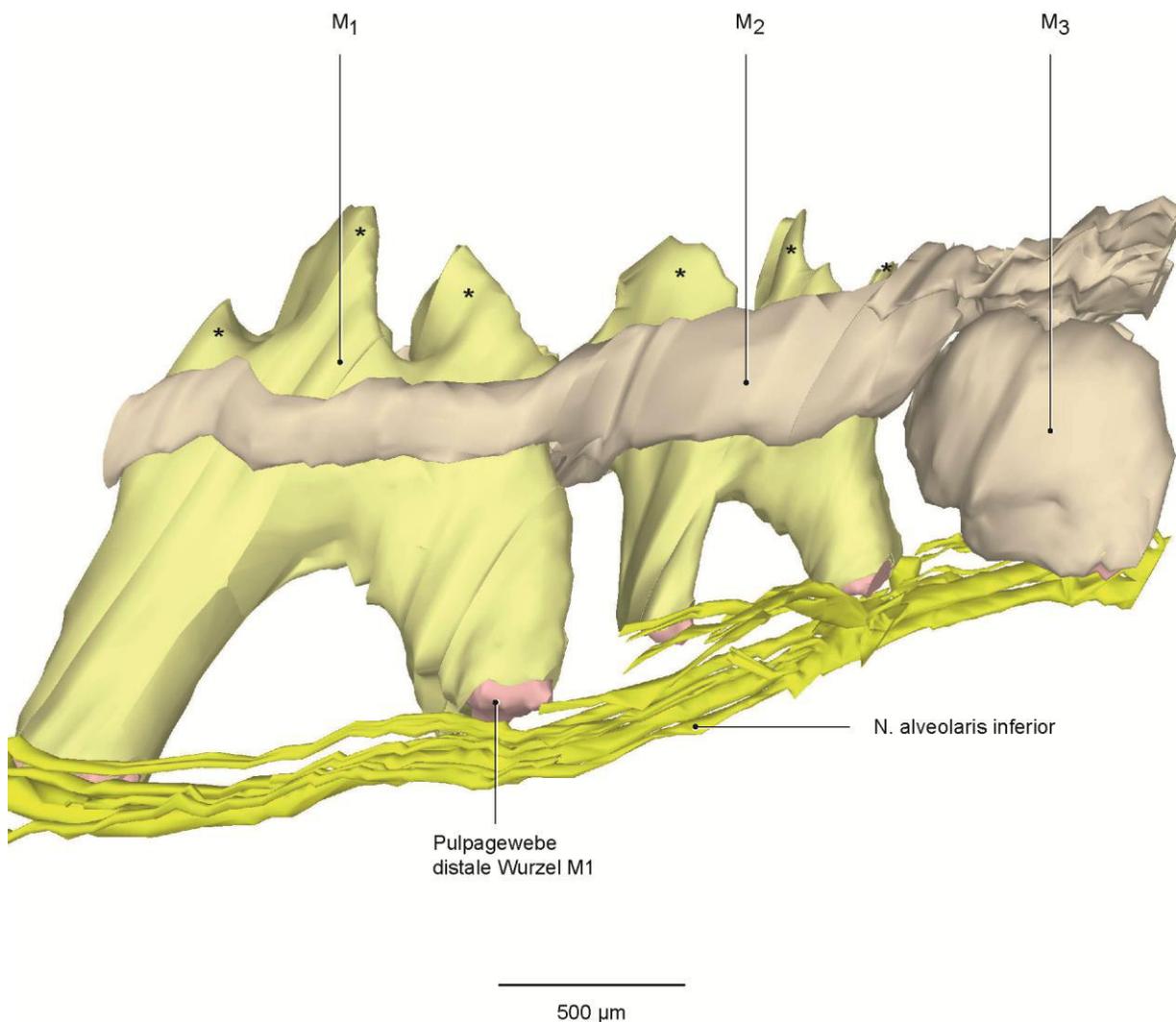
**Abb. 39:** 3D-Teilrekonstruktion der rechten Hälfte der Mandibula (ocker) mit N. alveolaris inferior (gelb) und Knochenumbau, Stadium P20, Ansicht von kranial.\*

Die knöcherner Krypte von  $M_1$  ist vollständig ausgebildet, ab diesem Stadium kann die Krypte als Alveole bezeichnet werden. Auch die interrädikuläre Septe bei  $M_2$  ist nahezu vollständig ausgebildet.

\* Quelle: Irene Schwarz (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)

Große Areale der Knochenoberfläche weisen weder Anzeichen von Knochenanbau, noch von Knochenabbau auf. Knochenanbau ist hauptsächlich im Bereich der interdentalen und interradikulären knöchernen Septen und an den Außenflächen der späteren Alveole von M<sub>3</sub> erkennbar. Knochenabbau ist vor allem an der Außenfläche der lingualen knöchernen Lamelle und an den Innenflächen der späteren Alveole von M<sub>3</sub> sichtbar. Die Intensität des Knochenumbaus nimmt von distal nach mesial ab.

Der *N. alveolaris inferior* wird im Bereich der tiefsten Punkte der knöchernen Krypten von M<sub>1</sub> nicht von Knochen bedeckt.



**Abb. 40:** 3D-Rekonstruktion der Zahnanlagen M<sub>1</sub> bis M<sub>3</sub> der rechten Hälfte der Mandibula mit *N. alveolaris inferior*, Stadium P20, Ansicht von medial.\*

Die Größenzunahme von M<sub>1</sub> ist nur unwesentlich im Vergleich zu dem vorherigen Stadium, das Wurzelwachstum ist zum größten Teil abgeschlossen. Bei M<sub>2</sub> ist eine Längenzunahme der

\* Quelle: Irene Schwarz (Abteilung für orale Struktur- und Entwicklungsbiologie, Charité Berlin)

Wurzeln zu beobachten.  $M_3$  befindet sich im Stadium der sezernierenden Glocke ohne Anzeichen von Wurzeln. Die Höckermorphologie der Zähne  $M_1$  und  $M_2$  ist deutlich erkennbar. Die Zahnanlage  $M_3$  ist in Bezug auf die Form noch weitgehend undifferenziert.

In Höhe der Schmelz-Zement-Grenze bei  $M_1$  ist noch Schmelzepithel vorhanden, ebenso bei  $M_2$ . Die Zahnanlage  $M_3$  ist bis auf einen kleinen Teil apikal komplett von Schmelzepithel umgeben. Pulpagewebe ist an den Wurzelspitzen von  $M_1$  und  $M_2$  und im apikalen Bereich von  $M_3$  zu sehen.

Der *N. alveolaris inferior* verläuft relativ geradlinigen. Im Bereich der distalen Wurzel von  $M_1$  wechselt der Nerv von der lingualen auf die bukkale Seite der Zähne bzw. Zahnanlagen. Einzelne Abzweigungen sind im Ansatz erkennbar.

### 5.13 Morphometrische Daten

Messdaten der mesio-distalen und bukkal-lingualen Ausdehnung der Zahnanlagen:

<b>Alter</b>	<b>Zahnanlage</b>	<b>mesio-distale Länge in <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>bukkal-linguale Breite in <math>\mu\text{m}</math></b>
P0	$M_1$	1060	501
	$M_2$	520	450
	$M_3$	40	110
P2	$M_1$	1050	714
	$M_2$	700	611
	$M_3$	230	188
P4	$M_1$	1200	846
	$M_2$	850	776
	$M_3$	170	274
P6	$M_1$	1300	888
	$M_2$	980	844
	$M_3$	380	311
P8	$M_1$	1420	799
	$M_2$	1110	773
	$M_3$	540	502

P10	M <sub>1</sub>	1370	898
	M <sub>2</sub>	900	929
	M <sub>3</sub>	580	572
P12	M <sub>1</sub>	1350	814
	M <sub>2</sub>	1000	880
	M <sub>3</sub>	680	597
P14	M <sub>1</sub>	1350	811
	M <sub>2</sub>	970	804
	M <sub>3</sub>	740	467
P16	M <sub>1</sub>	1220	849
	M <sub>2</sub>	1000	826
	M <sub>3</sub>	780	593
P18	M <sub>1</sub>	1430	899
	M <sub>2</sub>	1100	822
	M <sub>3</sub>	950	650
P20	M <sub>1</sub>	1246	954
	M <sub>2</sub>	950	907
	M <sub>3</sub>	780	652

**Tab. 5:** Messdaten der mesio-distalen Ausdehnung (Länge) und der bukko-lingualen Ausdehnung (Breite) von M<sub>1</sub> bis M<sub>3</sub> aller betrachteten Stadien.

Tabellarische Auflistung der Messwerte hinsichtlich des Abstandes der Zahnanlagen bzw. Zähne zum Knochen:

Alter	Zahnanlage bzw. Zahn	Stadium der Zahn- entwicklung	Messpunkt am Zahn	mesial	lingual	apikal	bukkal	distal
P0	M <sub>1</sub>	Glocken- stadium	mesial medial distal	70	18 36 13	43 76 21	9 8 13	-
P0	M <sub>2</sub>	Glocken- stadium	mesial medial distal	-	36 40 28	52 59 55	24 36 32	-
P0	M <sub>3</sub>	frühes Knospen- stadium	mesial medial distal	-	- 131 -	- 66 -	- 104 -	-
P2	M <sub>1</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	-	- 16 -	- 14 -	- 0 -	-
P2	M <sub>2</sub>	Glocken- stadium	mesial medial distal	-	- 48 -	- - 21	- - 18	-
P2	M <sub>3</sub>	frühes Knospen- stadium	mesial medial distal	-	- 113 -	- - -	- - -	-
P4	M <sub>1</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	25	18 24 8	87 42 25	11 0 26	-
P4	M <sub>2</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	-	- 31 -	- 22 -	- 24 -	-
P4	M <sub>3</sub>	Knospen- stadium	mesial medial distal	-	- 79 -	- - -	- 104 -	20
P6	M <sub>1</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	20	21 10 16	45 28 29	12 18 8	-

Ergebnisse

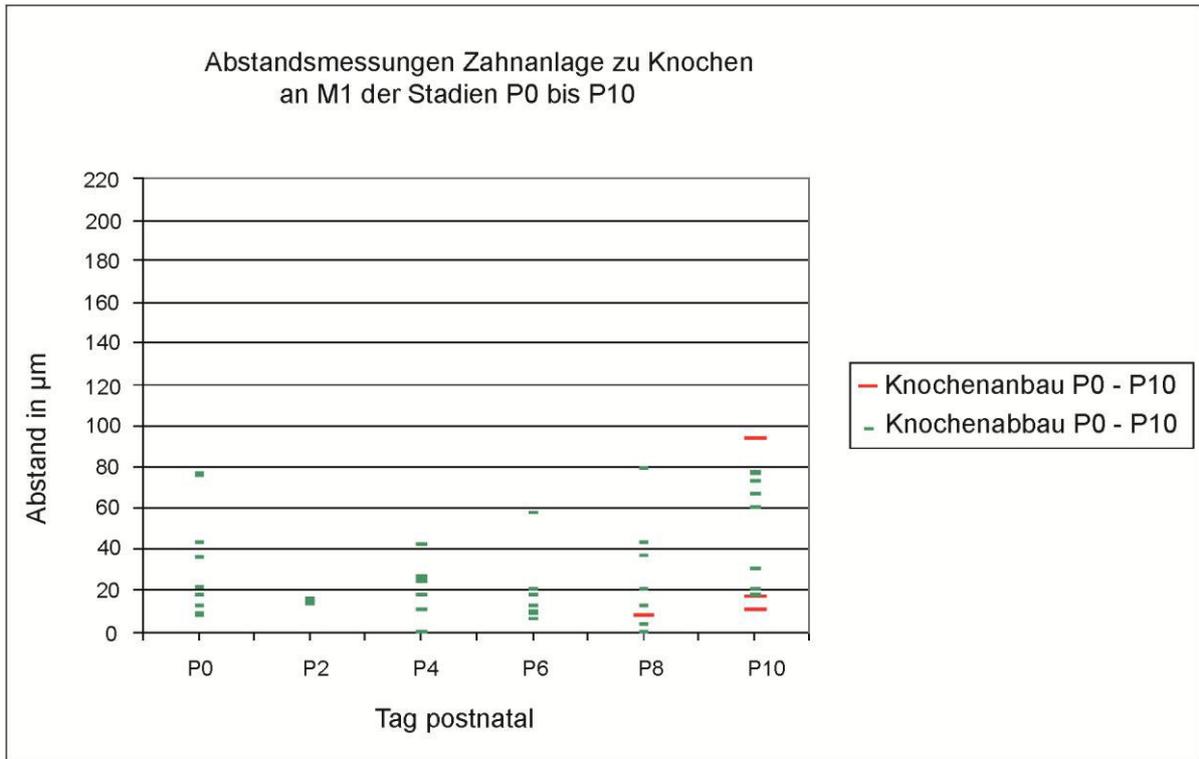
P6	M <sub>2</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	-	36 20 16	49 27 31	36 13 13	-
P6	M <sub>3</sub>	Knospen- stadium	mesial medial distal	-	- 41 -	- 15 -	- 13 -	56
P8	M <sub>1</sub>	beginnende Wurzel- bildung	mesial medial distal	20	8 3 3	37 79 43	13 0 0	-
P8	M <sub>2</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	-	33 20 8	51 59 25	39 30 0	-
P8	M <sub>3</sub>	Glocken- stadium	mesial medial distal	-	- 38 -	- 16 -	- 19 -	10
P10	M <sub>1</sub>	Wurzel- bildung 1/3	mesial medial distal	30	17 11 60	66 93 73	20 18 77	-
P10	M <sub>2</sub>	beginnende Wurzel- bildung	mesial medial distal	-	22 11 14	63 29 34	14 3 3	-
P10	M <sub>3</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	-	- 35 -	- 15 -	- 10 -	20
P12	M <sub>1</sub>	Wurzel- bildung	mesial medial distal	-	108 52 103	31 95 31	55 12 38	-
P12	M <sub>2</sub>	Wurzel- bildung	mesial medial distal	-	28 25 25	27 83 16	31 14 30	-
P12	M <sub>3</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	-	- 17 -	- 17 -	- 6 -	-
P14	M <sub>1</sub>	Wurzel- bildung 1/2	mesial medial distal	50	106 33 7	63 69 177	69 21 29	-
P14	M <sub>2</sub>	Wurzel-	mesial		181	150	19	

Ergebnisse

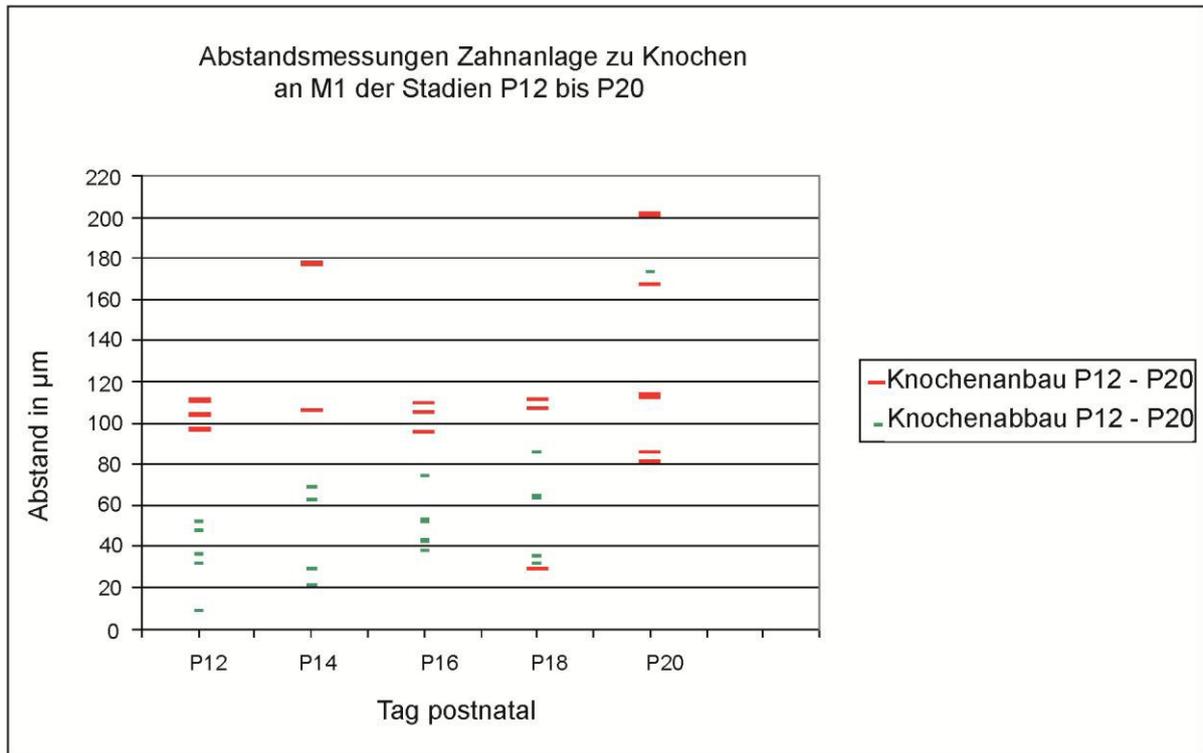
		bildung	medial distal	-	<b>29</b> <b>41</b>	<b>56</b> <b>59</b>	<b>15</b> <b>42</b>	-
P14	M <sub>3</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	-	<b>10</b> <b>20</b> <b>13</b>	<b>12</b> <b>17</b> <b>9</b>	<b>10</b> <b>10</b> <b>17</b>	<b>60</b>
P16	M <sub>1</sub>	Wurzel- bildung 2/3	mesial medial distal	-	<b>110</b> <b>105</b> <b>110</b>	<b>52</b> <b>95</b> <b>74</b>	<b>38</b> <b>43</b> <b>42</b>	-
P16	M <sub>2</sub>	Wurzel- bildung 1/3	mesial medial distal	-	<b>112</b> <b>27</b> <b>102</b>	<b>48</b> <b>45</b> <b>84</b>	<b>40</b> <b>31</b> <b>80</b>	-
P16	M <sub>3</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	-	- <b>16</b> -	- <b>28</b> -	- <b>0</b> -	<b>70</b>
P18	M <sub>1</sub>	Wurzel- bildung	mesial medial distal	-	<b>107</b> - <b>111</b>	<b>86</b> <b>29</b> <b>222</b>	<b>58</b> <b>58</b> <b>29</b>	-
P18	M <sub>2</sub>	Wurzel- bildung	mesial medial distal	-	<b>115</b> <b>104</b> <b>114</b>	<b>65</b> <b>106</b> <b>41</b>	<b>58</b> <b>58</b> <b>29</b>	-
P18	M <sub>3</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	-	- <b>10</b> -	- <b>6</b> -	- <b>18</b> -	<b>50</b>
P20	M <sub>1</sub>	Zahn- durchbruch abgeschl.	mesial medial distal	<b>50</b>	<b>113</b> <b>112</b> <b>81</b>	<b>81</b> <b>173</b> <b>129</b>	<b>86</b> <b>201</b> <b>167</b>	-
P20	M <sub>2</sub>	Wurzel- bildung 1/2	mesial medial distal	-	<b>57</b> <b>68</b> -	<b>146</b> <b>30</b> -	<b>94</b> <b>206</b> -	-
P20	M <sub>3</sub>	sez. Glocken- stadium	mesial medial distal	-	- <b>49</b> -	- <b>56</b> -	- <b>49</b> -	<b>50</b>

**Tab. 6:** Abstandsmessung der Zahnanlagen bzw. der Zähne an definierten Messpunkten zum Knochen von P0 bis P20.

Messdaten hinsichtlich des Abstandes von  $M_1$  zum Knochen, gemessen im Bereich des größten Umfanges mesial, lingual, bukkal, distal und apikal:



**Diagramm 1:** Graphische Darstellung der Messwerte aus Tab. 6 ohne Ruhezononen der Stadien P0 bis P10.



**Diagramm 2:** Graphische Darstellung der Messwerte aus Tab. 6 ohne Ruhezononen der Stadien P12 bis P20.

## 6 Diskussion

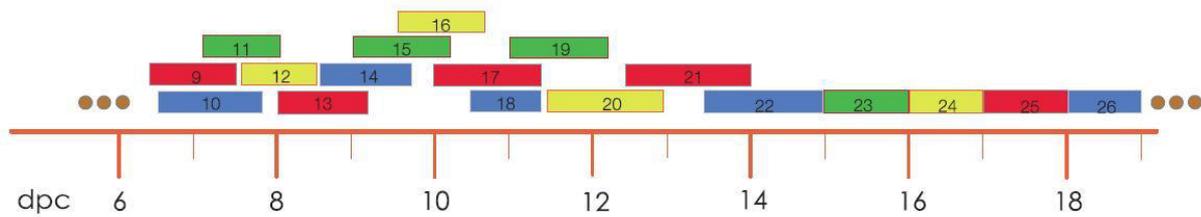
### 6.1 Material

Ziel dieser Untersuchungen war die Beschreibung der Entwicklung des Anteils der Mandibula der Hausmaus, der die Molaren enthält, vom Zeitpunkt der Geburt bis zu dem 20. postnatalen Tag. Das ist der Zeitpunkt, an dem der Zahn  $M_1$  den Zahndurchbruch vollendet hat und vermutlich in funktionellem Kontakt zu seinem Antagonisten  $M^1$  steht.

Die Hausmaus ist ein weltweit sehr häufig verwendetes Tiermodell, was der Vergleichbarkeit verschiedener Untersuchungen zuträglich ist. Murine Präparate sind in wesentlich größerer Anzahl verfügbar als Humanpräparate. Somit konnte eine lückenlose Auswahl der zu analysierenden Stadien gewährleistet werden.

Bei den untersuchten Präparaten waren keine Anzeichen von Fehlbildungen zu erkennen und es gab keinen Hinweis darauf, individuelle Entwicklungsunterschiede zu vermuten.

Bei der Gegenüberstellung ähnlicher Arbeiten ergaben sich oft Probleme hinsichtlich der genauen Altersbestimmung. Das sog. Schwangerschaftsalter wird klinisch ab dem ersten Tag der Periode bestimmt [Hinrichsen und Beier 1990]. Diese Altersbestimmung ist relativ ungenau, wenn man bedenkt, dass Präparate von zwei aufeinanderfolgenden postnatalen Tagen einen sehr deutlichen Unterschied in der Entwicklung aufweisen. In der Embryologie wird häufig das Entwicklungsalter ab der Ovulation gemessen [Witt und Kasper 1999]. Der genaue Zeitpunkt der Ovulation war bei den untersuchten Mäusen jedoch nicht ermittelbar. Stattdessen wurde durch den gesteuerten Zeitpunkt bzw. kurzen Zeitraum der Befruchtung, bei später festgestellter Gravidität des Muttertieres, das Alter der Embryonen errechnet. Es ist auch möglich, anhand der festgestellten Entwicklungsmerkmale auf das Alter des Versuchstieres schließen. Theiler [1989] hat eine entsprechende Einteilung nach Entwicklungsmerkmalen vorgenommen. Die Theiler-Stages überlappen einander, sodass ein bestimmtes Entwicklungs- oder Schwangerschaftsalter mehrere Theiler-Stages bedeuten kann.



**Abb. 41:** zeitliche Abfolge der Theiler-Stages, dpc: days *post coitum* (Quelle: The Atlas of Mouse Development von J.H. Kaufman (1996)). Jede Theiler-Stage besetzt keinen festen Zeitpunkt, sondern eine gewisse Zeitspanne. Dadurch kommt es zu Überlappungen aufeinander folgender Theiler-Stages.

Die Altersangaben der in dieser Arbeit untersuchten Mäuse können Schwankungen von bis zu 12 Stunden enthalten, da die Muttertiere einmal täglich auf Gravidität geprüft wurden. Weil der Zeitabstand der untersuchten Stadien zwei Tage betrug, konnte davon ausgegangen werden, dass die angegebene Reihenfolge der Stadien auch der Reihenfolge hinsichtlich der Entwicklungsmerkmale beziehungsweise der Theiler-Stages entsprachen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es jedoch nicht, die Entwicklungsstadien nochmals zu prüfen bzw. einzuordnen, sondern im Vordergrund stand die morphologische Darstellung der Entwicklung des peridentalen Knochens im Molarenbereich. Aufgrund des hohen Aufwands bei der Befundgewinnung durch dreidimensionale Serienschneitrekonstruktionen konnte pro Stadium lediglich eine Rekonstruktion erstellt werden. Zur Kontrolle lagen weitere Schnittserien derselben Stadien vor.

Bei allen histologischen Untersuchungen ist damit zu rechnen, dass die Dimensionen der Präparate durch den Verarbeitungsprozess nicht konstant bleiben [Hinrichsen und Beier 1990]. Während der Fixierung in der Bouin'schen Lösung können die Präparate um etwa 2,5% schrumpfen, nach der Tränkung in Alkohol ungefähr 10% und nach der Paraffineinbettung bis zu 20% [Mulish und Welsch 2010]. Dies musste bei der Beurteilung metrischer Werte Berücksichtigung finden.

## 6.2 Zellidentifizierung

Für die Segmentierung und nachfolgende dreidimensionale Darstellung war es essentiell, alle differenzierten Gewebe und Zelltypen identifizieren zu können.

Eine der ausgewählten Färbungen war die H.E.-Färbung, bei welcher die für diese Untersuchung relevanten Gewebe wie Knochen, Zahnschmelz, Dentin, Schmelzepithel, Nervengewebe und Pulpagewebe gleichermaßen gut identifiziert werden konnten.

Die Zellen allerdings, welche am Knochenumbau beteiligt sind, werden hinsichtlich ihrer Aktivität durch H.E. nicht spezifisch gefärbt. In anderen Arbeiten wurde Knochenumbau ebenfalls untersucht. Radlanski und Klarkowski [2001] markierten Osteoklasten immunhistochemisch mit Hilfe von TRAP. Jäger [1996] färbte die Osteoklasten ebenfalls spezifisch mit einer TRAP-Färbung und darüber hinaus wurde mikroradiographisch unter Verwendung einer Metallkugel bekannten Durchmessers die Größe der resorptiven Fläche ermittelt. Schlussendlich führte dies nicht zu einem Mehrwert an Information.

An nicht entkalkten Schnitten wurde Knochenanbau sichtbar gemacht. Mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie ließ sich die noch nicht mineralisierte Grundsubstanz des Knochengewebes, das Osteoid darstellen [Vignery und Baron 1980]. Für die in dieser Arbeit verwendeten Serienschnitte mussten die Präparate demineralisiert werden, wobei auch das Osteoid verloren ging. Radlanski und Klarkowski [2001] identifizierten Osteoblasten anhand deren Morphologie mikroskopisch. Weiterhin wurde eine Differenzierung in starke und schwache Anbauzonen durch eine Quantifizierung der Osteoblasten pro definierter Fläche vorgenommen. Es könnten jedoch auch inaktive Osteoblasten erfasst worden sein und es ist nicht bekannt, wie viel Knochen ein einzelner aktiver Osteoblast produziert. Die Regionen, in denen sich Osteoblasten aufhalten, konnten dennoch eindeutig identifiziert werden. Für Osteoklasten ist bekannt, dass ein einzelner aktiver das 2-4fache seines eigenen Volumens an Knochen pro Tag resorbiert [Vignery und Baron 1980].

In der vorliegenden Untersuchung wurde der Knochenabbau immunhistochemisch mit Hilfe der TRAP-Färbung markiert. Die aktive Isoform 5b der Tartrat-resistenten sauren Phosphatase ist spezifisch für aktive Osteoklasten und somit kennzeichnend für Knochenresorption [Alatalo et al. 2000]. In der Literatur wurde beschrieben, dass kleine Osteoklasten einen Teil der Knochensaumzellen bilden [Vilman 1978]. Diese tragen jedoch nicht zum Knochenabbau bei, da bei den vorgenommenen Untersuchungen im Bereich der Knochensaumzellen keine TRAP und somit keine aktiven Osteoklasten registriert werden konnten.

In dieser Arbeit wurden Osteoblasten anhand ihrer charakteristischen Zellform mikroskopisch identifiziert. Areale wurden dann als Knochenanbauflächen eingestuft, wenn Osteoblasten vorhanden und Osteoklasten abwesend waren.

Eine Einteilung der Umbauzonen in verschiedene Stärkegrade wurde nicht vorgenommen, da diese wie oben beschrieben nicht exakt möglich ist. Spezifisch angefärbt wurde nur der Knochenabbau. Mit der Anfärbung von Osteocalcin und alkalischer Phosphatase, ebenso mit der von-Kossa-Färbung und der Alizarin-Rot-Färbung könnte man Osteoblasten spezifisch

markieren. Die Alizarin-Rot-Färbung und die von-Kossa-Färbung sind nicht im entkalkten Zustand der histologischen Präparate anwendbar und wie die Anfärbung der alkalischen Phosphatase nicht spezifisch für aktive Osteoblasten. Das Vorhandensein von Osteocalcin ist spezifisch für aktive Osteoblasten [Paccione et al. 2001]. Dies konnte auch für unsere Präparate für die Anbauzonen bestätigt werden. Mit Hilfe der Probefärbungen wurde die Festlegung der Knochenanbauzonen überprüft. Da mit Schnittserien von mehreren hundert Schnitten gearbeitet wurde, musste von weitergehenden, differenzierenden Färbungen Abstand genommen werden. Darüber hinaus ließen wenig verschiedene Färbungen eine möglichst gleiche Bearbeitung der histologischen Präparate zu.

### **6.3 Rekonstruktionstechnik**

Die zu untersuchenden Strukturen wurden dreidimensional rekonstruiert. Damit wird die Betrachtung aus unterschiedlichen Perspektiven möglich und räumliche Beziehungen der einzelnen Elemente und Gewebetypen zueinander konnten sichtbar gemacht werden. Darüber hinaus konnten die Regionen des Knochenbaus räumlich dargestellt werden.

Mehrere Rekonstruktionen in aufeinanderfolgenden Stadien erlaubten eine Darstellung der Wachstumsvorgänge. Bereits vor über 140 Jahren wurden die 3D-Modelle anhand histologischer Schnittserien erstellt. Zunächst wurden diese Modelle aus Gips [His 1868] und aus Wachsplatten [Born 1883] hergestellt. Innen liegende Strukturen waren so allerdings nicht darstellbar. Die modifizierte Wachsplattenmodellierung [Blechsmidt 1954], bei der aus Wachs geformte Hohlformen mit Kunststoff ausgegossen wurden, ermöglichte eine dreidimensionale Darstellung auch der innen liegenden Strukturen. Die Detailgenauigkeit in der Darstellung bei dieser Methode ist jedoch sehr begrenzt. Anstelle aufwendiger räumlicher Modelle, wurden auch graphische Rekonstruktionen unter Verwendung von Konturlinienbildern [His 1887, Katschenko 1887] erstellt, durchaus auch durch einfache Computerprogramme zur 3D-Rekonstruktion [Radlanki und Jäger 1990]. Eine anatomische Oberflächendarstellung war so allerdings nicht möglich.

Das in dieser Arbeit verwendete 3D-Programm AnalySIS<sup>®</sup> (SoftImagingSolutionsGmbH 2008) erstellte eine Oberflächenrekonstruktion durch Triangulation von Konturlinienbildern. Das Erstellen der Konturlinien und das Alignieren derselben erfolgte manuell und die Triangulation der Konturlinien wurde computergestützt vorgenommen. Rekonstruierte Objekte erschienen dann gezackt, wenn ungenau aligniert wurde, oder wenn unterschiedliche

Schrumpfungsgrade bei der Herstellung der einzelnen histologischen Präparate vorkamen. Zur korrekten Ausrichtung dienten größere markante Strukturen, wie zum Beispiel die Hautkontur, der Knochen der Mandibula, die Augen, die Zunge, der Verlauf des Meckelschen Knorpels oder typische Verläufe von Gefäßen und Nerven. Es wurde vielfach versucht die Alignierung zu erleichtern, jedoch bleiben verschiedenste artifizielle Markierungen von dem Schneidevorgang nicht unbeeinflusst [Ongaro et al. 1991].

Denkbare Alternativen zu der Verwendung histologischer Schnittserien sind MRT, CT und Ultraschall. Bei keinem dieser Verfahren besteht allerdings bisher die Möglichkeit Zellen selektiv anzufärben, somit kann auch der Knochenumbau nicht markiert werden. Das MRT kann bei fixierten Präparaten nicht angewendet werden. Bei 3D-CT-Untersuchungen sind nur skelettale Strukturen darstellbar [Neumann et al. 1997].

Die Überführung zweidimensionaler Schnittserien in ein dreidimensionales Objekt war wesentlich für das Verständnis morphologischer Zusammenhänge. Die rein zweidimensionale Betrachtung wäre abhängig von der Schnittrichtung und damit sehr anfällig für Artefakte. Zusätzlich konnten Messfehler in 2D-Darstellung durch nicht achsengerechte Verarbeitung vermieden werden durch Messungen im 3D-Modell. Damit wurde eine 3D-Rekonstruktion notwendig.

#### **6.4 Ossifikation der Mandibula im Bereich der Zahnanlagen**

Die Mandibula ossifiziert den meisten Untersuchungen zufolge [Sperber 1992, Schuster 2012] nicht rein desmal. So konnte im Bereich der Symphyse enchondrales Knochenwachstum beobachtet werden [Doskocil 1989, Kjaer und Bagheri 1999]. Zusätzlich wurde sekundärer Knorpel im Bereich der Symphyse, des aufsteigenden Astes, des *Processus coronoideus* und des *Processus condylaris* [Goret-Nicaise 1982, Kjaer et al. 1999, Mérida-Velasco et al. 1999] beschrieben. Bei dem Mensch zeigten Schuster [2012] und Zimmermann [2013] sekundären Knorpel im Bereich der Zahnanlagen.

Für die Maus konnten bei der vorgenommenen Untersuchung derartige Inseln von sekundärem Knorpel im entstehenden Alveolarfortsatz allerdings nicht nachgewiesen werden. In der näheren Umgebung der Zahnanlagen bzw. der Zähne zeigte sich ausschließlich eine desmale Knochenentstehung.

Bei den embryonalen Gestaltbildungs- und Differenzierungsvorgängen auftretende mechanische Kräfte haben einen Einfluss auf molekulare Signalkaskaden und könnten somit

eine wichtige Rolle bei der Knochenentstehung einnehmen [Blehschmidt 2004, Ingber 2005, Radlanski und Renz 2005]. Vermutlich auftretende Scherkräfte durch das Längenwachstum des Meckelschen Knorpels induzieren eine Knochenneubildung [Blehschmidt 2004]. Auch Benjamin und Hillen [2003], Ingber 2005, Klein-Nulend et al. [2005] und Radlanski und Renz [2006] argumentierten, dass die Neubildung von Knochen unter anderem auf Scherkräfte zurückgeführt werden kann. Während der Zahnentwicklung ließ sich ein unterschiedliches Wachstum der Zahnanlagen beobachten (siehe Tab. 5) und so kann durchaus vermutet werden, dass Scherkräfte zwischen den verschiedenen Zahnanlagen zu der Bildung von interdentalen Septen führen.

Wirkt mechanischer Druck auf Knochen ein, so führt dies auch bei Nagetieren (untersucht an Wistar-Ratten) zu dessen Abbau [Markostamos 1991]. Es ist anzunehmen, dass durch das Wachstum der Zahnanlagen Druck auf den umliegenden Knochen ausgeübt wird. Dies wurde indirekt experimentell nachgewiesen. Wird eine Zahnanlage von dem umliegenden Gewebe isoliert, so führt eine erhöhte Zellproliferation zu einer Expansion der Zahnanlage. Alfaqeeh et al. [2013] schließen daraus, dass das Wachstum der Zahnanlage durch das umliegende Gewebe, besonders durch Knochen, gehemmt wird. Es ist anzunehmen, dass die Zahnanlage Druck auf den umliegenden Knochen ausübt. Damit lässt sich die beobachtete Knochenresorption apikal der Zahnanlagen und an den Innenseiten der bukkalen und lingualen Lamelle der knöchernen Rinne erklären, weil Druck auf bereits vorhandenen Knochen generell zu dessen Resorption führt [Fujiki et al. 2013]. Eine lokale Kontrolle dieser Annahmen ist nicht direkt möglich, weil die Kräfte nicht am lebenden Objekt gemessen werden können und da jede gegenwärtig denkbare mechanische Messung am Lebenden das Geschehen beeinflussen würde.

## **6.5 Morphologie der Mandibula im Bereich der Zahnanlagen**

Untersuchungen zur Morphologie der Mandibula im Bereich der Zahnanlagen existieren in einer sehr begrenzten Anzahl und meist ist der Mensch das Untersuchungsobjekt [Schröder 1986, Cho und Garant 2000]. Einige Studien hinsichtlich dieser Thematik beziehen sich auf die Maus, jedoch nur abschnittsweise für  $M_1$  [Lungova et al. 2011] oder  $M_3$  [Chlastakova et al. 2011].

Zum Zeitpunkt der Geburt (P0) war eine knöchernen Rinne, in welcher die Zahnanlagen liegen, klar zu erkennen. Dies wurde auch mehrfach beschrieben [Norberg 1933, Orliaguet et al.

1993, Schröder 2000]. Am Boden dieser Rinne in einer Vertiefung verlief der *N. alveolaris inferior*. Im gesamten betrachteten Bereich war der Nerv nach kranial nicht vollständig von Knochen bedeckt. Mesial des  $M_1$  zeigte sich ein Knochenfortsatz, welcher den Nerv unvollständig überbrückte.

In den folgenden Stadien entstanden vollständige knöcherne Überbrückungen des *N. alveolaris inferior* und weitere Knochenfortsätze durch Knochenanbau. Damit konnte die Aussage von Kjaer [1990] bestätigt werden, dass Nerven von Knochen umschlossen werden und nicht durch ihn hindurch wachsen.

Von einem zumindest fast vollständigen *Canalis mandibulae* konnte ab dem Stadium P6 gesprochen werden, obwohl der *N. alveolaris inferior* stets im Bereich mesial des  $M_1$  und ab dem Zeitpunkt der Wurzelbildung an den Wurzelspitzen der Zähne unvollständig von Knochen umschlossen blieb. Im Bereich des  $M_3$  zeigte sich der Mandibularkanal ab dem Stadium P6 bis zum Ende des betrachteten Entwicklungszeitraumes ununterbrochen.

Eine im Ansatz zu erkennbare Septierung der knöchernen Rinne war im Stadium P6 interdental zwischen  $M_1$  und  $M_2$  ausgehend vom Boden der Rinne sichtbar. Weitere Septierungen wurden ab dem Stadium P10 interdental Zwischen  $M_2$  und  $M_3$  und interrädikulär des  $M_1$  deutlich. Eine beginnende Septierung interrädikulär des  $M_2$  war in dem Stadium P12 zu erkennen.

Durch die fortschreitende Formbildung des Knochens im Bereich der Zahnanlagen, vor allem durch deutlichere Ausbildung der knöchernen Septen, konnte ab dem Stadium P16 nicht mehr von einer knöchernen Rinne gesprochen werden. Die spätere Alveole des  $M_1$  war zu diesem Zeitpunkt deutlich erkennbar.

Ab dem Stadium P18 war die interrädikuläre Septe des  $M_2$  prägnant ausgeprägt und das Zahnfach für den  $M_2$  deutete sich an.

In dem Stadium P20 waren die knöchernen Krypten für die mesiale und die distale Wurzel des  $M_1$  vollständig ausgebildet, der Zahndurchbruch war abgeschlossen und  $M_1$  stand vermutlich in funktionellem Kontakt mit seinem Antagonisten. Der Zahnhalteapparat zeigte sich zu diesem Zeitpunkt weit ausgebildet. Nun konnte von einer Alveole gesprochen werden. Den Durchbruchzeitpunkt des ersten unteren Molaren bei der Maus geben Lungova et al. [2011] mit P20 an. Dies konnte durch die vorliegenden Untersuchungen bestätigt werden.

Die Gestaltentwicklung des Knochens im Bereich des  $M_1$  war der des  $M_2$  stets 2-4 Tage voraus. Die Formbildung des Knochens im Bereich des  $M_3$  verlief im Vergleich zu  $M_1$  und  $M_2$  deutlich langsamer ab. Bei P20 war noch kein Ansatz einer interrädikulären Septe zu erkennen. Den Angaben Chlastkova et al. [2011] zufolge, macht  $M_3$  dieselben

Entwicklungsstadien wie  $M_1$  in einer vergleichbaren Zeit durch, es zeigten sich jedoch Unterschiede während der Entwicklung in der Lagebeziehung zu dem umgebenden Knochen. Die bukkale und die linguale Lamelle der knöchernen Rinne umschlossen die Zahnanlagen  $M_1$  und  $M_2$  zu dem Zeitpunkt der Geburt (P0) etwas mehr als bis zum größten Durchmesser. Die Zahnanlage des  $M_3$  zeigte nur apikal eine enge Lagebeziehung zum Knochen. Chlastkova et al. [2011] beschrieben im Gegensatz dazu, dass  $M_3$  perinatal noch keine engere räumliche Beziehung zum Knochen aufweist.

In dem Stadium P2 näherten sich die Ränder der knöchernen Lamellen im Bereich des  $M_1$  einander an. Die Zahnanlage wurde über den größten Durchmesser hinaus von Knochen umschlossen, sodass erstmals ein untersichgehender Bereich entstand.

In dem Stadium P6 überragten die Ränder der knöchernen Lamellen alle Zahnanlagen nach kranial. Der Abstand zwischen den Rändern zeigte sich weitgehend konstant. In diesem Stadium wurden die Zahnanlagen am weitesten von Knochen umschlossen, es blieb jedoch stets ein knochenfreier Bereich kranial bestehen. Die Zahnanlagen bzw. Zähne waren zu keinem Zeitpunkt komplett von Knochen umschlossen. Im weiteren Verlauf der Entwicklung wurden die Zahnanlagen bzw. Zähne wieder weniger von Knochen umschlossen. Es zeigte sich erst lingual, ab dem Stadium P8, und später, ab dem Stadium P10, ein girlandenförmiger Verlauf der Ränder der knöchernen Lamellen. Ab dem Stadium P12 überragten zuerst die sich entwickelnden Höckerspitzen des  $M_1$  die Ränder der knöchernen Lamellen und später, ab dem Stadium P14, auch die Höckerspitzen des  $M_2$ . Bis zum Ende des betrachteten Zeitraumes (P20) wurde  $M_3$  nach kranial von Knochen überragt. Der Durchtrittszeitpunkt von  $M_3$  ist laut Chlastakova et al. [2011] P26. Demzufolge läuft die Entwicklung des Knochens in der Region peridental des  $M_3$  in der zeitlichen Abfolge anders ab als bei  $M_1$  und  $M_2$ . Die Zahnanlage  $M_3$  blieb im Vergleich zu den anderen Molaren länger weit von Knochen umschlossen, sodass der Knochenabbau der Ränder der knöchernen Lamellen bis hin zum Zahndurchbruch schneller erfolgen muss.

## **6.6 Morphogenese der knöchernen Septen und Krypten**

in dieser Arbeit sollten die morphologisch erfassbaren Reaktion des Kieferknochens auf die wachsenden Zahnanlagen, bzw. auf die durchbrechenden Zähne, in Form von knöchernen Septen und knöchernen Krypten dargestellt werden.

Eine Untersuchung an Ratten hat ergeben, dass der Alveolarfortsatz sich während der Zahnentwicklung formt und defizitär ist an Stellen, an denen sich keine Zähne entwickeln. Es ist anzunehmen, dass das Wachstum des Alveolarfortsatzes, die Zahnentwicklung und der Zahndurchbruch miteinander in Zusammenhang stehen [Marks und Schroeder 1996].

Die mikroskopische Untersuchung histologischer Präparate embryonaler Stadien hat ergeben, dass die Zahnanlagen zu Beginn der Zahnentwicklung keinen engen räumlichen Kontakt zu dem Kieferknochen haben. Zu dem Zeitpunkt der Geburt, dem Beginn des untersuchten Zeitraumes, befinden sich die Zahnanlagen in einer knöchernen Rinne. Bukkal und lingual bilden knöcherne Lamellen eine Begrenzung, welche die Wände der späteren Alveolen darstellen.

In den Stadien P2 und P4 war Knochenresorption am Boden und an den Innenseiten der knöchernen Rinne vorherrschend, jedoch ließen sich noch keine Anzeichen für knöcherne Septen oder Krypten erkennen. Es konnte aufgrund der räumlichen Nähe zueinander vermutet werden, dass die wachsenden Zahnanlagen Druck auf den umgebenen Knochen ausübten und somit zu Knochenabbau führten. An den Außenseiten der knöchernen Lamellen konnte Knochenapposition beobachtet werden. Damit erfolgte die Größenzunahme der knöchernen Krypten zentrifugal durch Knochenresorption an den Innenseiten und Knochenapposition an den Außenseiten der späteren Alveolen. Dieses Wachstumsprinzip wird als „drift“ beziehungsweise als „shift“ bezeichnet [Enlow 1990].

Ab dem Stadium P6 begann die Bildung der knöchernen Septen interdental zwischen  $M_1$  und  $M_2$  durch Knochenanbau am Boden der knöchernen Rinne und an den Innenseiten der knöchernen Lamellen (siehe Abb. 16). Im weiteren Verlauf, ab dem Stadium P12, konnte man sowohl Knochenanbau als auch Knochenabbau im Bereich der Septen erkennen. Knochenabbau zeigte sich mesial und distal der knöchernen Septen und führte somit zu einer Ausdünnung der interdentalen Septen. Aktives Knochenwachstum nach kranial vergrößerte die kaudo-kraniale Ausdehnung der Septen (siehe Abb. 25).

Mit dem Beginn der Wurzelbildung ab dem Stadium P8 bei  $M_1$  und P10 bei  $M_2$  entstanden nach dem gleichen Prinzip interradikuläre Septen, nur wurden diese nicht von mesial oder distal resorbiert (siehe Abb. 22).

In der vorliegenden Arbeit konnte aufgrund der histomorphologischen Untersuchungen nachgewiesen werden, dass die Septen aktiv nach kranial wachsen. Das widerlegt die Annahme von Wetzel [1933], wonach die Entstehung der knöchernen Septen ausschließlich das passive Resultat von angrenzender Knochenresorption ist.

Schuster [2012] vermutet, bei humanem Untersuchungsmaterial, dass durch unterschiedliche Volumenzunahme der Zahnanlagen und der Mandibula und zusätzlich durch Stellungsänderungen der Zahnanlagen zueinander auftretende Scherkräfte interdental zu Knochenanbau führen. Stellungsänderungen der Zahnanlagen zueinander können hier ebenfalls beobachtet werden, sowie unterschiedliche Volumenzunahmen der einzelnen Zahnanlagen (siehe Tab. 5). Zimmermann [2013] beschreibt ebenfalls beim Menschen unterschiedlich starkes Wachstum der einzelnen Zahnanlagen zu einem bestimmten Zeitpunkt. Biodynamische Studien zeigen, dass Scherkräfte Knochenneubildung begünstigen [Blechsmidt 1948 und 2004, Benjamin und Hillen 2003, Ingber 2005, Klein-Nulend 2005, Radlanski und Renz 2006]. Solche Scherkräfte konnten bisher nicht direkt am lebenden Individuum gemessen werden, sondern durch Proportionsveränderungen verschiedener Strukturen allenfalls vermutet werden. Eventuell könnten Finite-Element-Methoden hilfreich sein aus dreidimensionalen Rekonstruktionen auftretende Kräfte zu errechnen [Gedrange et al. 2008, Hambli et al. 2011, Fujiki et al. 2012].

## 6.7 Morphometrische Analyse

Die maßstabsgetreue Digitalisierung der histologischen Präparate ermöglichte die Abstandsmessung zwischen der Zahnanlage und dem Knochen. Pro Stadium wurden an definierten Punkten mehrere Messungen durchgeführt. Zusätzlich wurde bei jedem Messwert das Knochenumbauverhalten des Knochens markiert. So wurden Zusammenhänge zwischen dem Umbauverhalten des Knochens und dem Abstand der Zahnanlage zum Knochen erkennbar. Nicht bei allen Messpunkten konnte Knochenanbau oder Knochenabbau registriert werden. Es zeigten sich auch Bereiche an denen Knochensaumzellen die Knochenoberfläche bedeckten oder keine knochenregulierenden Zellen an der Knochenoberfläche sichtbar waren. Diese Messwerte wurden in Tabelle 6 blau markiert. Graphisch wurden die Messwerte, bei denen Knochenanbau oder Knochenabbau festgestellt wurde, aus Gründen der Übersicht in zwei Diagrammen exemplarisch für den  $M_1$  dargestellt (Diagramme 1 und 2). In den Stadien P0 bis P8 wurden Abstände von der Zahnanlage zum Knochen von bis zu 80  $\mu\text{m}$  gemessen. In diesen Entwicklungsstadien zeigte sich fast ausschließlich Knochenabbau an den Messstellen. In dem Stadium P10 wurden erstmals mehrere Werte gemessen, an denen Knochenanbau dominierte. Ab dem Stadium P12 wurden Abstände über 90  $\mu\text{m}$  gemessen. Lagen die Messwerte über 90  $\mu\text{m}$ , so korrelierten diese nahezu ausnahmslos mit Knochenanbau. Die

Anzahl der Messwerte pro Stadium und die Anzahl der untersuchten Präparate ließen zwar keine abschließende, statistische Analyse zu, jedoch konnten Tendenzen aufgezeigt werden. Das Umbauverhalten des Knochens schien mit der Breite des späteren Parodontalspalt in Wechselwirkung zu stehen. Der Parodontalspalt bei adulten Mäusen liegt in etwa bei 90  $\mu\text{m}$ . In der untersuchten Zeitspanne wurde bei einem Abstand der Zahnanlagen zum umliegenden Knochen unter 90  $\mu\text{m}$  Knochen resorbiert, bei einem Abstand über 90  $\mu\text{m}$  wurde Knochenneubildung angeregt. Dieser Befund wurde in ähnlicher Weise auch bei humanen Präparaten mit einem Parodontalspalt von ca. 200  $\mu\text{m}$  erhoben [Schuster 2012]. Um allgemeingültige Aussagen dazu treffen zu können, ist eine genauere Betrachtung des Parodontalspalt und des umliegenden Knochens mit dazugehörigem Knochenumbauverhalten notwendig.

Bei der Betrachtung der Verteilung der Knochenumbauzonen ließ sich ein Muster erkennen. Innerhalb der Krypten, unmaßgeblich ob die Wurzelbildung begonnen hat oder nicht, überwiegte Knochenabbau. An den Außenseiten der späteren Alveolen dominierte Knochenanbau obwohl teilweise auch gemischte Zonen zu erkennen waren. Die interdentalen als auch die interradiikulären Septen wurden durch Knochenabbau nach kaudal und Knochenanbau nach kranial gebildet. Ab dem Zeitpunkt der Geburt im Vergleich zu dem Ende des betrachteten Zeitraumes wurde deutlich, dass die Knochenumbauzonen in ihrer Häufigkeit im Verhältnis zu der befundeten Knochenoberfläche abnahmen. Daraus kann gefolgert werden, dass die Intensität des Knochenumbaus im Verlauf der Entwicklung abnimmt.

Im betrachteten Entwicklungszeitraum nahm die mesio-distale Ausdehnung (Länge) des  $M_2$  proportional mehr zu als die des  $M_1$ . Die Länge des  $M_3$  nahm proportional mehr zu als die des  $M_2$ . Ebenso verhielt es sich mit der bucco-lingualen Ausdehnung (Breite) (Tab. 5). Die unterschiedliche Volumenzunahme der einzelnen Zahnanlagen könnte die Entstehung der o.g. Scherkräfte bewirkt haben. Die vorliegende Arbeit konnte dazu beitragen das morphologische Gerüst während seiner Entstehung zu verstehen. Dadurch könnte die räumliche Zuordnung der Vielzahl bereits entdeckter Signalmoleküle erleichtert werden.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

2D	zweidimensional
3D	dreidimensional
Abb.	Abbildung
AMELX	Amelogenin
BARX-1,-2	BARX homeobox 1, 2
BMP	Bone morphogenetic protein
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CT	Computertomographie
d.h.	das heißt
et al.	<i>et alii</i>
DLX	Distal-less homeobox
DLX-1,-2	Distal-less homeobox 1, 2
dpi	dots per inch
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FGF	Fibroblast growth factor
H.E.	Hämatoxylin-Eosin
Hox-a,-b	Homöobox-Gen a, b
HSL	Hue, saturation, lightness
I <sub>1</sub>	1. <i>Dens incisivus</i> der Mandibula
IHH	Indian hedgehog homolog
Lig.	<i>Ligamentum</i>
M <sub>1</sub> -M <sub>3</sub>	1. bis 3. <i>Molar</i> der Mandibula
Mikro-CT	Mikrocomputertomographie
MMP	Matrix-Metalloproteinase
MRT	Magnetresonanztomographie
MSX-1,-2	MSH homeobox 1, 2
N.	<i>Nervus</i>
o.g.	oben genannt
OPG	Osteoprogerin
P0-P20	Tag postnatal 0-20
PAX	Paired-box-Gene

RANK	Receptor activator of nuclear factor $\kappa$ B
RANKL	Receptor activator of nuclear factor ligand
RUNX-2	Runt-related transcription factor 2
s.o.	siehe oben
sez.	sezernierend
sog.	sogenannt
Tab.	Tabelle
TGF	Transforming growth factor
TGF- $\beta$	Transforming growth factor- $\beta$
TNF	Tumornekrosefaktor
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
TRAP	Tartrate-Resistant Acid Phosphatase
u.a.	unter anderem
z.B.	zum Beispiel

## 8 Literaturverzeichnis

Aberg T, Wang XP, Kim JH, Yamashiro T et al. Runx2 mediates FGF signaling from epithelium to mesenchyme during tooth morphogenesis. *Dev Biol.* 2004 Jun 1;270(1):76-93.

Agas D, Sabbieti MG, Marchetti L et al. FGF-2 enhances Runx-2/Smads nuclear localization in BMP-2 canonical signaling in osteoblasts. *J Cell Physiol.* 2013 Nov;228(11):2149-58.

Alatalo SL, Halleen JM, Hentunen TA et al. Rapid screening method for osteoclast differentiation in vitro that measures tartrate-resistant acid phosphatase 5b activity secreted into the culture medium. *Clin Chem.* 2000 Nov;46(11):1751-4.

Alberch P, Gould SJ, Oster GF et al. Size and shape in ontogeny and phylogeny. *Paleobiology.* 5(3),1979,296-317.

Alfaqeeh SA, Gaete M und Tucker AS. Interactions of the tooth and bone during development. *J Dent Res.* 2013 Dec;92(12):1129-35.

Ash P, Loutit JF und Townsend KM. Osteoclasts derived from haematopoietic stem cells. *Nature.* 1980 Feb 14;283(5748):669-70.

Avery JK, ed. *Oral Development and Histology.* 3rd ed. Stuttgart: Thieme, 2002.

Baron R, Neff L, Louvard D et al. Cell-mediated extracellular acidification and bone resorption: evidence for a low pH in resorbing lacunae and localization of a 100-kD lysosomal membrane protein at the osteoclast ruffled border. *J Cell Biol* (1985); 101(6):2210-22.

Blair HC, Robinson LJ, Zaidi M. Osteoclast signalling pathways. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005 Mar 18;328(3):728-38.

Byers BA, Pavlath GK, Murphy TJ et al. Cell-type-dependent up-regulation of in vitro mineralization after overexpression of the osteoblast-specific transcription factor Runx2/Cbfa1. *J Bone Miner Res.* 2002 Nov;17(11):1931-44.

Bègue-Kirn C, Smith AJ, Ruch JV et al. Effects of dentin proteins, transforming growth factor beta 1 (TGF beta 1) and bone morphogenetic protein 2 (BMP2) on the differentiation of odontoblast in vitro. *Int J Dev Biol.* 1992 Dec;36(4):491-503.

Benjamin M und Hillen B. Mechanical influences on cells, tissues and organs - 'Mechanical Morphogenesis'. *Eur J Morphol.* 2003; 41(1):3-7.

Blechschild E. *Mechanische Genwirkungen.* Göttingen: Musterschildt, 1948.

Blechschild E. Rekonstruktionsverfahren mit Verwendung von Kunststoffen. Ein Verfahren zur Ermittlung und Demonstration von Entwicklungsbewegungen. *Z Anat Entwicklungsgesch.* 1954;118(2):170-4.

Blechschild E. *The ontogenetic basis of human anatomy: a biodynamic approach to development from conception to birth.* Berkeley: North Atlantic Books 2004.

Böcker FW und Becker R. Zahnentwicklung und Kieferwachstum. *Dtsch Zahnärztebl.* 1965;19:454-462.

Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res.* 2011 Feb;26(2):229-38.

Born G. Die Plattenmodellirmethode. *Archiv für Mikroskopische Anatomie.* 1883;22(1):584-599.

Bower RC. Furcation development of human mandibular first molar teeth. A histologic graphic reconstructive study. *J Periodontal Res.* 1983 Jul;18(4):412-9.

Butler PM. Studies of the mammalian dentition. Differentiation of the post-canine dentition. *Proc Zool Soc Lond B.* 1939;109:1-36.

Cahill DR und Marks SC Jr. Tooth eruption: evidence for the central role of the dental follicle. *J Oral Pathol.* 1980;9(4):189-200.

Carey EJ. Studies in the dynamics of histogenesis. I. Tension of differential growth as a stimulus to myogenesis. *J Gen Physiol.* 1920 Mar 20;2(4):357-72.

Chappard D, Baslé MF, Legrand E et al. Trabecular bone microarchitecture: a review. *Morphologie.* 2008 Dec;92(299):162-70.

Chlastakova I, Lungova V, Wells K et al. Morphogenesis and bone integration of the mouse mandibular third molar. *Eur J Oral Sci.* 2011;119:265–274.

Cho MI und Garant PR. Development and general structure of the periodontium. *Periodontol.* 2000;24:9-27.

Correia C, Grayson WL, Park M et al. In Vitro Model of Vascularized Bone: Synergizing Vascular Development and Osteogenesis. *PLoS One.* 2011;6(12):e28352.

Curtis A. Cell forces in tissues. *Med Eng Phys.* 2005 Nov;27(9):773-9.

D'Alonzo RC, Selvamurugan N, Karsenty G et al. Physical interaction of the activator protein-1 factors c-Fos and c-Jun with Cbfa1 for collagenase-3 promoter activation. *J Biol Chem.* 2002 Jan 4;277(1):816-22.

D'Souza RN, Aberg T, Gaikwad J et al. Cbfa1 is required for epithelial-mesenchymal interactions regulating tooth development in mice. *Development.* 1999;126(13):2911-20.

de la Fuente L und Helms JA. Head, shoulders, knees, and toes. *Dev Biol.* 2005 Jun 15;282(2):294-306.

Diekwisch TG. Pathways and fate of migratory cells during late tooth organogenesis. *Connect Tissue Res.* 2002;43(2-3):245-56.

Dixon AD. The development of the jaws. *Dent Pract.* 1958;9:10-17.

Domon T, Sugaya K, Yawaka Y et al. Electron microscopic and histochemical studies of the mononuclear odontoclast of the human. *Anat Rec.* 1994 Sep;240(1):42-51.

Doskocil M. Mechanism of the reduction of Meckel's cartilage in man. *Folia Morphol (Praha).* 1989;37(1):113-8.

Drenckhahn D und Kugler P. Knochengewebe. In: Drenckhahn D, Hrsg. Benninghoff Anatomie. Munchen: Elsevier, Urban und Fischer, 2004:133-49.

Durst-Zivković B und Davila S. Structural changes of Meckel's cartilage during the course of mandibular corpus development. *Anat Anz.* 1974;135(1-2):12-23.

Enlow DH und Harris DB. A study of the postnatal growth of the human mandible. *Am J Orthod.* 1964 Jan;50(1):25-50.

Enlow DH und Bang S. Growth and remodeling of the human maxilla. *Am J Orthod.* 1965 Jun;51:446-64.

Enlow DH, Bianco HJ und Eklund S. The remodeling of the edentulous mandible. *J Prosthet Dent.* 1976 Dec;36(6):685-93.

Enlow DH. Facial growth. 3.Edition. Philadelphia: Saunders 1990.

Fleischmannova J, Matalova E, Sharpe PT et al. Formation of the tooth-bone interface. *J Dent Res.* 2010;89(2):108-15.

Frommer J und Margolies MR. Contribution of Meckel's cartilage to ossification of the mandible in mice. *J Dent Res.* 1971 Sep-Oct;50(5):1260-7.

Fujiki K, Aoki K, Marcian P et al. The influence of mechanical stimulation on osteoclast localization in the mouse maxilla: bone histomorphometry and finite element analysis. *Biomech Model Mechanobiol.* 2013 Apr;12(2):325-33.

Garant PR. Oral cells and tissues. Chicago: Quintessence Pub. Co, 2003.

Gedrange T, Mai R, Weingaertner J et al. Finite element representation of bone substitute remodelling in the jaw bone. *Biomed Tech (Berl)* 2008;53(5):220-3.

Goldhaber P. Remodeling of Bone in Tissue Culture. *J Dent Res.* 1966;45:490-9.

Goret-Nicaise M. The mandibular symphysis of the newborn. Histologic and microradiographic study. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 1982;83(5):266-72.

Gottlieb B. Der Epithelansatz am Zahne. *Dtsch Mschr f Zahnheilk.* 1921;39:142-7.

Gould SJ. *Ontogeny and Phylogeny.* Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 1977.

Green RE, Krause J, Briggs AW et al. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science.* 2010 May 7;328(5979):710-22.

Hall BK. Developmental mechanisms underlying the formation of atavisms. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 1984;59:89-124.

Hambli R, Katerchi H und Benhamou CL. Multiscale methodology for bone remodelling simulation using coupled finite element and neural network computation. *Biomech Model Mechanobiol.* 2011;10(1):133-45.

Hinrichsen KV und Beier HM. *Humanembryologie: Lehrbuch und Atlas der vorgeburtlichen Entwicklung des Menschen.* Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1990.

His W. Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion und über deren Bedeutung für Anatomie und Entwicklungsgeschichte. *Anat Anz.* 1887;2:382-94.

Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR et al. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res.* 2000;15(1):2-12.

Huggins CB, McCarroll HR und Dahlberg AA. Transplantation of tooth germ elements and the experimental heterotopic formation of dentin and enamel. *J Exp Med.* 1934 Jul 31;60(2):199-210.

Ingber DE. Mechanical control of tissue growth: function follows form. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(33):11571-2.

Jäger A. Untersuchung der Remodellierungsvorgänge an der Lamina dura menschlichen Alveolarknochens: Entwicklung und Anwendung eines halbautomatischen Messsystems zur histomorphometrischen Analyse. Berlin: Quintessenz Verlags-GmbH, 1996.

Jernvall J, Kettunen P, Karavanova I et al. Evidence for the role of the enamel knot as a control center in mammalian tooth cusp formation: non-dividing cells express growth stimulating Fgf-4 gene. *Int J Dev Biol.* 1994 Sep;38(3):463-9.

Jernvall J und Thesleff I. Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mech Dev.* 2000;92(1):19-29.

Jerosch J, Bader A, Uhr G. Knochen: curasan Taschenatlas spezial. Stuttgart: Thieme, 2002.

Kanzaki H, Chiba M, Shimizu Y et al. Dual regulation of osteoclast differentiation by periodontal ligament cells through RANKL stimulation and OPG inhibition. *J Dent Res.* 2001 Mar;80(3):887-91.

Katschenko N. Die graphische Isolierung. (Weitere Mitteilung über meine Methode der Rekonstruktion.) *Anat. Anz.* 1887;13:426-36.

Kalter H und Warkany J. Experimental production of congenital malformations in strains of inbred mice by maternal treatment with hypervitaminosis A. *Am J Pathol.* 1961 Jan;38:1-21.

Keränen SV, Kettunen P, Aberg T et al. Gene expression patterns associated with suppression of odontogenesis in mouse and vole diastema regions. *Dev Genes Evol.* 1999 Aug;209(8):495-506.

Kim EJ, Cho SW, Shin JO et al. Ihh and Runx2/Runx3 signaling interact to coordinate early chondrogenesis: a mouse model. PLoS One. 2013;8(2):e55296.

Kjaer I. Correlated appearance of ossification and nerve tissue in human fetal jaws. J Craniofac Genet Dev Biol. 1990;10(3):329-36.

Kjaer I. Neuro-osteology. Crit Rev Oral Biol Med. 1998;9(2):224-44.

Kjaer I und Bagheri A. Prenatal development of the alveolar bone of human deciduous incisors and canines. Dent Res. 1999;78(2):667-672.

Klein-Nulend J, Bacabac RG und Mullender MG. Mechanobiology of bone tissue. Pathol Biol. (Paris) 2005;53(10):576-80.

Knothe Tate ML, Niederer P und Knothe U. In vivo tracer transport through the lacunocanalicular system of rat bone in an environment devoid of mechanical loading. Bone. 1998 Feb;22(2):107-17.

Knudsen PA. Fusion of upper incisors at bud or cap stage in mouse embryos with exencephaly induced by hypervitaminosis A. Acta Odontol Scand. 1965 Oct;23(5):549-65.

Knudsen PA. Dental malformations in rat embryos with exencephaly induced by hypervitaminosis A. Acta Odontol Scand. 1967 Nov;25(3):267-87.

Koch WE. In vitro differentiation of tooth rudiments of embryonic mice. I. Transfilter interaction of embryonic incisor tissues. J Exp Zool. 1967 Jul;165(2):155-70.

Koelliker A, Zähne in „Handbuch der Gewebelehre“, Engelmann, Leipzig, 5. Aufl., 1867.

Kollar EJ und Baird GR. Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. I. Reorganization of the dental epithelium during tooth-germ reconstruction. J Embryol Exp Morphol. 1970 Aug;24(1):159-71.

Kollar EJ und Lumsden AG. Tooth morphogenesis: the role of the innervation during induction and pattern formation. *J Biol Buccale*. 1979;7(1):49-60.

Kollar EJ und Fisher C. Tooth induction in chick epithelium: expression of quiescent genes for enamel synthesis. *Science*. 1980 Feb 29;207(4434):993-5.

Kornak U, Kasper D, Bösl MR et al. Loss of the ClC-7 chloride channel leads to osteopetrosis in mice and man. *Cell*. 2001 Jan 26;104(2):205-15.

Kroll F. Die Rolle des Transkriptionsfaktors CBFA1 im Rahmen der Unterkieferentwicklung bei der Maus. Diss Hohe Med. Fakultät, Universität Bonn, 2010.

Kronfeld R. Development and calcification of the human deciduous and permanent dentition. *Bur*. 1935;35:18.

Kronmiller JE, Upholt WB und Kollar EJ. Alteration of murine odontogenic patterning and prolongation of expression of epidermal growth factor mRNA by retinol in vitro. *Arch Oral Biol*. 1992 Feb;37(2):129-38.

Kronmiller JE und Beeman CS. Spatial distribution of endogenous retinoids in the murine embryonic mandible. *Arch Oral Biol*. 1994 Dec;39(12):1071-8.

Krumlauf R. Mouse Hox genetic functions. *Curr Opin Genet Dev*. 1993 Aug; 3(4):621-5.

Kummer B. Anatomy and biomechanics of the mandible. *Fortschr Kieferorthop*. 1985 Oct;46(5):335-42.

Kvam E. Topography of principal fibers. *Scand J Dent Res*. 1973;81(7):553-7.

Landsberger R. Histologic research concerning the growth of the alveolar process in its relation to the development of the tooth germ. *Dental Cosmos*. 1924;66:1334-1345.

Lang BR. The use of gold in construction of mandibular denture bases. *J Prosthet Dent*. 1974 Oct;32(4):398-404.

Lawrence PA, Struhl G. Morphogens, compartments, and pattern: lessons from drosophila? Cell. 1996 Jun 28;85(7):951-61.

Le Douarin NM. The Neural Crest. Cambridge: Cambridge University Press; 1982.

Lekic P, Sodek J und McCulloch CA. Relationship of cellular proliferation to expression of osteopontin and bone sialoprotein in regenerating rat periodontium. Cell Tissue Res. 1996 Sep;285(3):491-500.

Li J, Sarosi I, Yan XQ et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Feb 15;97(4):1566-71.

Linkhart TA, Mohan S, Baylink DJ. Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF beta and BMP. Bone. 1996;19:1-12.

Linß W und Fanghänel J. Histologie. Zytologie, allgemeine Histologie, mikroskopische Anatomie. Berlin: Walter de Gruyter, 1999.

Lüllmann-Rauch R. Taschenlehrbuch Histologie. 3. Aufl. Kiel: Georg Thieme Verlag, 2009.

Lumsden AG. Pattern formation in the molar dentition of the mouse. J Biol Buccale. 1979 Mar;7(1):77-103.

Lumsden AG. Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the initiation of the mammalian tooth germ. Development. 1988;103 Suppl:155-69.

Lungova V, Radlanski RJ, Tucker AS et al. Tooth-bone morphogenesis during postnatal stages of mouse first molar development. J Anat 2011;218(6):699-716.

Markostamos K. Orthodontic movement through compact bone and spongy bone. The difference in tissue reaction with 2 different forces. Orthod Fr. 1991;62 Pt 3:875-91.

Marks SC Jr. Tooth eruption depends on bone resorption: experimental evidence from osteopetrotic (ia) rats. *Metab Bone Dis Relat Res.* 1981;3(2):107-15.

Marks SC Jr. und Cahill DR. Experimental study in the dog of the non-active role of the tooth in the eruptive process. *Arch Oral Biol.* 1984;29:311-22.

Marks SC Jr. und Schroeder HE. Tooth eruption: theories and facts. *Anat Rec.* 1996;245(2):374-93.

Merida-Velasco JR, Rodriguez-Vazquez JF, Merida-Velasco JA et al. Development of the human temporomandibular joint. *Anat Rec.* 1999;255(1):20-33.

Mina M. Regulation of mandibular growth and morphogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2001;12(4):276-300.

Mina M, Wang YH, Ivanisevic AM et al. Region- and stage-specific effects of FGFs and BMPs in chick mandibular morphogenesis. *Dev Dyn.* 2002;223(3):333-52.

Miller SC, de Saint-Georges L, Bowman BM et al. Bone lining cells: structure and function. *Scanning Microsc.* 1989 Sep;3(3):953-60.

Moss-Salentijn L. Vestigial Teeth in the Rabbit, Rat and Mouse; their Relationship to the Problem of Lacteal Dentitions In „Development, Function and Evolution of Teeth“, pp. 13-29, Eds. Butler, Joysey, Academic Press, London, New York, San Francisco, 1978.

Mulisch M und Welsch U. *Romeis Mikroskopische Technik.* 18.Aufl. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 2010.

Mundlos S, Otto F, Mundlos C et al. Mutations involving the transcription factor CBFA1 cause cleidocranial dysplasia. *Cell.* 1997 May 30;89(5):773-9.

Miyazaki T, Kanatani N, Rokutanda S et al. Inhibition of the terminal differentiation of odontoblasts and their transdifferentiation into osteoblasts in Runx2 transgenic mice. *Arch Histol Cytol.* 2008 Sep;71(2):131-46.

Nanci A und Ten Cate AR. Ten Cate's oral histology: development, structure, and function. 6. Edition. St. Louis: Mosby, 2003.

Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. Nat Med. 2011 Sep 11;17(10):1231-4.

Nakamura M, Bringas P Jr, Nanci A et al. Translocation of enamel proteins from inner enamel epithelia to odontoblasts during mouse tooth development. Anat Rec. 1994 Mar;238(3):383-96.

Neumann K, Moegelin A, Temminghoff M et al. 3D-computed tomography: a new method for the evaluation of fetal cranial morphology. J Craniofac Genet Dev Biol. 1997;17(1):9-22.

Norberg O. Untersuchungen über das dento-gingivale Epithelleistensystem im intrauterinen Leben des Menschen: Stockholm; 1929.

Norberg O. Die Morphogenese der primitiven Zahnalveolen beim Menschen und ihre Bedeutung für die Stellungsanomalien der Zähne. Anat Embryol (1933); 100(3):394-432.

Norberg O. Studies of the human jaws and teeth during the first years of life. Z Anat Entwicklungsgesch. 1960;122:1-21.

Nüsslein-Volhard C. Gradients that organize embryo development. Sci Am. 1996 Aug;275(2):54-5; 58-61.

Oesterreich D. „Gesund beginnt im Mund – krank sein oftmals auch“. Zentrale Auftaktpressekonferenz 11. September 2009 in Berlin zum Tag der Zahngesundheit (TdZ) am 25. September 2009.

Ohazama A, Courtney JM und Sharpe PT. Opg, Rank, and Rankl in tooth development: coordination of odontogenesis and osteogenesis. J Dent Res. 2004; 83(3):241-4.

Olsen BR, Reginato AM, Wang W. Bone development. Annu Rev Cell Dev Biol. 2000;16:191-220.

Ongaro I, Sperber GH, Machin GA et al. Fiducial points for three-dimensional computer-assisted reconstruction of serial light microscopic sections of umbilical cord. *Anat Rec.* 1991;229(2):285-9.

Orliaguet T, Dechelotte P, Scheye T et al. The relationship between Meckel's cartilage and the development of the human fetal mandible. *Surg Radiol Anat.* 1993; 15(2):113-8.

Orliaguet T, Darcha C, Déchelotte P et al. Meckel's cartilage in the human embryo and fetus. *Anat Rec.* 1994 Apr;238(4):491-7.

Osborn JW. The evolution of dentitions. The study of evolution suggests how the development of mammalian dentitions may be controlled. *Am Sci.* 1973 Sep-Oct;61(5):548-59.

Osborn JW. Morphogenetic gradients: fields versus clones. In: Butler PM, Joysey KA, editors *Development, function and evolution of teeth.* London: Academic Press, 1978. p. 171-201.

Otto F, Thornell AP, Crompton T et al. *Cbfa1*, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell.* 1997 May 30;89(5):765-71.

Paccione MF, Warren SM, Spector JA et al. A mouse model of mandibular osteotomy healing. *J Craniofac Surg.* 2001 Sep;12(5):444-50.

Pander CH. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Hühnchens im Eye. Diss. Würzburg, 1817.

Patterson B. Early Cretaceous mammals and the evolution of mammalian molar teeth *Fieldiana, Geology.* 1956;13:1-105.

Petkovich M. Regulation of gene expression by vitamin A: the role of nuclear retinoic acid receptors. *Annu Rev Nutr.* 1992;12:443-71.

Peterková R, Peterka M, Vonesch JL et al. Contribution of 3-D computer-assisted reconstructions to the study of the initial steps of mouse odontogenesis. *Int J Dev Biol.* 1995 Feb;39(1):239-47.

Peterková R, Lesot H, Vonesch JL et al. Mouse molar morphogenesis revisited by three dimensional reconstruction. I. Analysis of initial stages of the first upper molar development revealed two transient buds. *Int J Dev Biol.* 1996 Oct;40(5):1009-16.

Peters H und Balling R. Teeth. Where and how to make them. *Trends Genet.* 1999 Feb;15(2):59-65.

Proffit WR und Frazier-Bowers SA. Mechanism and control of tooth eruption: overview and clinical implications. *Orthod Craniofac Res.* 2009;12(2):59-66.

Radlanski RJ. Contributions to the development of human deciduous tooth primordia. Illinois: Quintessence Pub. Co. 1993.

Radlanski RJ, Renz H und Klarkowski MC. Prenatal development of the human mandible. 3D reconstructions, morphometry and bone remodelling pattern, sizes 12-117 mm CRL. *Anat Embryol (Berl)* 2003;207(3):221-32.

Radlanski RJ, Renz H, Kalinke U et al. Prenatal Formation of the Maxillary and Mandibular Alveolar Bone in Humans. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol* 2011;49(3):113-5.

Radlanski RJ. *Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie.* 1.Aufl. Berlin: Quintessenz Verlags-GmbH 2011.

Radlanski RJ und Jäger A. Computergestützte 3-D-Rekonstruktion zur Darstellung embryonaler Gestaltentwicklung. *Wiss Z. Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald.* 1990;39-40:68-9.

Radlanski RJ und Klarkowski MC. Bone remodeling of the human mandible during prenatal development. *J Orofac Orthop.* 2001 May;62(3):191-201.

Radlanski RJ und Renz H. Explainable and critical periods during human dental morphogenesis and their control. Arch Oral Biol. 2005 Feb;50(2):199-203.

Radlanski RJ und Renz H. Genes, forces and forms: mechanical aspects of prenatal craniofacial development. DevDyn. 2006;235(5):1219-29.

Raff RA. Evolution of developmental decisions and morphogenesis: the view from two camps. Dev Suppl. 1992:15-22.

Rath-Deschner B, Deschner J, Reimann S et al. Regulatory effects of biomechanical strain on the insulin-like growth factor system in human periodontal cells. J Biomech. 2009 Nov 13;42(15):2584-9.

Richany SF, Bast TH und Anson BJ. The development of the first branchial arch in man and the fate of Meckel's cartilage. Q Bull Northwest Univ Med Sch. 1956;30(4):331-55.

Romeis. Mikroskopische Technik, 17, Verlag Urban & Schwarzenberg, München- Wien-Baltimore, 1989.

Ruberte E, Dolle P, Chambon P et al. Retinoic acid receptors and cellular retinoid binding proteins. II. Their differential pattern of transcription during early morphogenesis in mouse embryos. Development. 1991 Jan;111(1):45-60.

Ruberte E, Friederich V, Morriss-Kay G et al. Differential distribution patterns of CRABP I and CRABP II transcripts during mouse embryogenesis. Development. 1992 Aug;115(4):973-87.

Ruch JV, Lesot H, Karcher-Djuricic V et al. Epithelial-mesenchymal interactions in tooth germs: mechanisms of differentiation. J Biol Buccale. 1983 Sep;11(3):173-93.

Schenk RK, Olah RJ und Merz A. Bone and cell counts. Excerpta Medica, International Congress Series. 1973;270:103-13.

Schinke T und Karsenty G. Characterization of Osf1, an osteoblast-specific transcription factor binding to a critical cis-acting element in the mouse Osteocalcin promoters. *J Biol Chem.* 1999 Oct 15;274(42):30182-9.

Schnorr B. Embryologie der Haustiere, 3. Aufl., Enke Verlag Stuttgart, 1993.

Schumacher GH und Schmidt H. Anatomie und Biochemie der Zähne. 4. Aufl. Berlin: VEB Verlag Volk und Gesundheit, 1990.

Schuster FP. Zur Entwicklung des Kieferknochens im Bereich der Zahnanlagen. Histologische und morphologische Untersuchungen an der fetalen Mandibula des Menschen während des Glockenstadiums der Zahnanlagen (68 - 160 mm SSL). Diss Charite - Universitätsmedizin Berlin, 2012.

Schröder HE. The periodontium. Handbook of microscopic anatomy. Berlin: Springer-Verlag, 1986.

Schröder HE. Orale Strukturbiologie: Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle und des Kiefergelenks. 5. Aufl. Stuttgart: Thieme, 2000.

Schroeder HE und Listgarten MA. Fine structure of the developing epithelial attachment of human teeth. In: Wolsky A, editor. *Monogr Develop Biol.* 2nd ed. Basel: Karger. 1977:100.

Sisask G, Silfverswärd CJ, Bjurholm A et al. Ontogeny of sensory and autonomic nerves in the developing mouse skeleton. *Auton Neurosci.* 2013 Oct;177(2):237-43.

Smith CE und Nanci A. Overview of morphological changes in enamel organ cells associated with major events in amelogenesis. *Int J Dev Biol.* 1995 Feb;39(1):153-61.

Sperber GH. Craniofacial Embryology. London Boston Singapore Sidney Toronto Wellington: Wright, 1989.

Sperber GH. First year of life: prenatal craniofacial development. *Cleft Palate Craniofac J*. 1992 Mar;29(2):109-11.

Sperber GH. *Craniofacial Development*. Hamilton: BC Decker, 2001.

Steedle JR und Proffit WR. The pattern and control of eruptive tooth movements. *Am J Orthod*. 1985 Jan;87(1):56-66.

Summerbell D, Lewis JH, Wolpert L. Positional information in chick limb morphogenesis. *Nature*. 1973 Aug 24;244(5417):492-6.

Ten Cate AR. The development of the periodontium - a largely ectomesenchymally derived unit. *Periodontol 2000*. 1997;13(1):9-19.

Ten Cate AR. *Oral Histology. Development, Structure, and Function*. 5th ed. St. Louis: Mosby, 1998.

Theiler K. *The House Mouse: Atlas of Embryonic Development*. Department of Anatomy; University of Zurich, Switzerland, 1989.

Thesleff I. Developmental biology and building a tooth. *Quintessence Int*. 2003 Sep;34(8):613-20.

Thesleff I und Hurmerinta K. Tissue interactions in tooth development. *Differentiation*. 1981;18(2):75-88.

Tummers M, Yamashiro T und Thesleff I. Modulation of epithelial cell fate of the root in vitro. *J Dent Res*. 2007 Nov;86(11):1063-7.

Tucker A und Sharpe P. The cutting-edge of mammalian development; how the embryo makes teeth. *Nat Rev Genet*. 2004;5(7):499-508.

Tyler MS. Epithelial influences on membrane bone formation in the maxilla of the embryonic chick. *Anat Rec*. 1978 Oct;192(2):225-33.

Tyler MS und Hall BK. Epithelial influences on skeletogenesis in the mandible of the embryonic chick. *Anat Rec.* 1977 Jun;188(2):229-39.

Uchida M, Shima M, Chikazu D et al. Transcriptional induction of matrix metalloproteinase-13 (collagenase-3) by 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in mouse osteoblastic MC3T3-E1 cells. *J Bone Miner Res.* 2001 Feb;16(2):221-30.

Van Valen L. An analysis of developmental fields. *Dev Biol.* 1970 Nov;23(3):456-77.

Vignery A und Baron R. Dynamic histomorphometry of alveolar bone remodeling in the adult rat. *Anat Rec.* 1980;196(2):191-200.

Vilmann H. Characteristics of growing bone surfaces. *Scand J Dent Res.* 1979 Feb;87(1):65-72.

Von Baer KE. *Entwicklungsgeschichte der Thiere. Beobachtung und Reflexion. Erster Theil.* Königsberg, 1828.

Wetzel G. *Lehrbuch der Anatomie für Zahnärzte und Studierende der Zahnheilkunde.* 3. Aufl. Jena: Fischer, 1933.

Weiss K, Stock D, Zhao Z et al. Perspectives on genetic aspects of dental patterning. *Eur J Oral Sci.* 1998;106:55-63.

Wendler D, Bertolini R und Röhner O. Die embryofetale Entwicklung des Canalis mandibulae beim Menschen. In: Schumacher GH, Fanghänel J, Lange H (eds.) *Oral-Anatomie*, Eigen-Verlag Universität Rostock. 1980:46–51.

Wise GE, Frazier-Bowers S und D'Souza RN. Cellular, molecular, and genetic determinants of tooth eruption. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(4):323-34.

Wise GE und King GJ. Mechanisms of tooth eruption and orthodontic tooth movement. *J Dent Res.* 2008;87(5):414-34.

Wise GE. Cellular and molecular basis of tooth eruption. *Orthod Craniofac Res.* 2009;12(2):67-73.

Wise GE und Yao S. Expression of tumour necrosis factor-alpha in the rat dental follicle. *Arch Oral Biol.* 2003 Jan;48(1):47-54.

Witt M und Kasper M. Distribution of cytokeratin filaments and vimentin in developing human taste buds. *Anat Embryol (Berl)* 1999; 199(4): 291-9.

Wolf HF, Rateitschak EM, Rateitschak KH. Parodontologie. Farbatlant der Zahnmedizin Bd. 1, 3. Aufl. Stuttgart: Thieme-Verlag, 2003.

Yang Y. Skelatal morphogenesis during embryonic development. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2009;19(3):197-218.

Yoshida CA, Yamamoto H, Fujita T et al. Runx2 and Runx3 are essential for chondrocyte maturation, and Runx2 regulates limb growth through induction of Indian hedgehog. *Genes Dev.* 2004 Apr 15;18(8):952-63.

Zhao Z, Weiss KM und Stock DW. Development and evolution of dentition patterns and their genetic basis In "Development, function, and evolution of teeth"  
Cambridge University Press, Eds. Teaford, Smith, Ferguson, 2000:3-12

Zhang Z, Song Y, Zhang X et al. Msx1/Bmp4 genetic pathway regulates mammalian alveolar bone formation via induction of Dlx5 and Cbfa1. *Mech Dev* 2003;120(12):1469-79.

Zimmermann CA. Histologische und morphologische Untersuchungen an der fetalen Mandibula des Menschen während des späten Glockenstadiums der Zahnanlagen (160 - 270 mm SSL). Diss Charite - Universitätsmedizin Berlin, 2013.

Zuckermandl E: Mikroskopische Anatomie der Zähne. In: J. Scheff. Handbuch der Zahnheilkunde. Bd. 1. Wien: Alfr. Holder, 1891.

## 9 Anhang

### 9.1 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Robert Mey, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Umbauvorgänge des peridentalen Knochens in der Molarenregion der Maus. Histologische und morphologische Untersuchungen der Stadien P0 bis P20.“, selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

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

Datum

Unterschrift

## **Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen**

Robert Mey hatte folgenden Anteil folgender Publikation:

Radlanski RJ, Renz H, Matalova E, Kalinke U, Konietzny M, Mey R, Tsengelsaikhan N, Schuster F, Wehofsky R, Zimmermann C. Zusammenhang zwischen Abstand und Knochenumbau bei der Zahn- und Alveolenentwicklung? 44. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung der DGZMK, 12.-13.01.2012 in Mainz, Tagungsband S. 26.

Beitrag im Einzelnen: Erstellung und Auswertung neuer Befunde für die Entwicklungsstadien P0 bis P20.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

## **9.2 Lebenslauf**

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

### **9.3 Danksagung**

Herrn Prof. Dr. Dr. Ralf Johannes Radlanski danke ich sehr für die Überlassung des Promotionsthemas und für die intensive Begleitung in den vergangenen Jahren.

Ebenfalls möchte den Mitarbeitern der Abteilung Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie Herrn Dr. Herbert Renz, Frau Beate Lion, Frau Irene Schwarz und Frau Barbara Danielowski für ihre freundliche Unterstützung danken.

Schließlich bedanke ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden, ohne deren Unterstützung diese Arbeit nicht entstanden wäre.