

KEVIN ADAMS

Funktionelle Anatomie des equinen Kiefergelenkes:

Kollagenfaserarchitektur und Histologie
der Gelenkflächen

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei dem Autor dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2018

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2018

© 2018 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition linguistique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie

Betreuer: Prof. Dr. med. vet. Carsten Staszuk

Funktionelle Anatomie des equinen Kiefergelenkes:

Kollagenfaserarchitektur und Histologie der Gelenkflächen

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Kevin Adams

Tierarzt aus Ahaus

Gießen, 2018

**Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer
Klinik für Kleintiere, Chirurgie
Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. med. vet. C. Staszyk
Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie
Justus-Liebig-Universität Gießen

Prof. Dr. med. vet. S. Wenisch
Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie
Justus-Liebig-Universität Gießen

Tag der Disputation: 09. Juli 2018

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Publikation I.....	5
3	Publikation II.....	7
4	Übergreifende Diskussion.....	9
4.1	Diskussion der angewandten Methoden	9
4.1.1	Spaltlinientchnik.....	9
4.1.2	Histologische Färbungen	11
4.2	Diskussion und Interpretation der Ergebnisse	13
4.2.1	Kollagenfaserarchitektur	13
4.2.2	Histologie der Gelenkflächen	15
4.3	Schlussfolgerungen	18
4.4	Ausblick	18
5	Zusammenfassung	19
6	Summary.....	22
7	Literaturverzeichnis	24
8	Publikationsverzeichnis	33
9	Erklärung	35
10	Danksagung.....	36

1 Einleitung

Auf dem Gebiet der equinen Zahnheilkunde vollzog sich im vergangenen Jahrzehnt eine rasante Entwicklung. Diese spiegelt sich in der steigenden Anzahl wissenschaftlicher Studien sowie in den Fortschritten der praktischen Pferde Zahnbehandlung wider. Im Zuge dieser Entwicklung rückte auch der Kauzyklus und damit die Funktion des equinen Kiefergelenkes (*Articulatio temporomandibularis*; engl. temporomandibular joint, TMJ) verstärkt in den Mittelpunkt des Interesses. Der Einfluss von Zahnstellungen und Malokklusionen (Bonin et al., 2006), Zahnbehandlungen (Simhofer et al., 2011) und unterschiedlichem Futter (Bonin et al., 2007) auf die Bewegung des Kiefergelenkes wurde beschrieben. Aus den Ergebnissen dieser Studien wurde geschlossen, dass das Kiefergelenk des Pferdes stetig wechselnden, biomechanischen Anforderungen ausgesetzt ist.

Bemerkenswerterweise ist bis dato nur ein einziger Fallbericht über eine klinisch relevante, atraumatische, degenerative Erkrankung des Kiefergelenkes veröffentlicht (Smyth et al., 2017). Dieser augenfällige Widerspruch wirft die Frage auf, ob das equine Kiefergelenk besonders gut an seine biomechanischen Anforderungen angepasst ist oder ob es über reparative – oder sogar regenerative – Fähigkeiten verfügt?

Grundlegende Kenntnisse hinsichtlich des equinen Kiefergelenkes beschränken sich aktuell auf folgende Teilgebiete der veterinärmedizinischen Forschung: die makroskopische Anatomie (Rodríguez et al., 2006), die Darstellung durch bildgebende Verfahren (Weller et al., 2002; Rodríguez et al., 2007; Rodríguez et al., 2008; Rodríguez et al., 2010), die kinematischen Analysen mittels optischer Marker (Bonin et al., 2006; Bonin et al., 2007) und eine einzige pathohistologische Beschreibung (Smyth et al., 2017).

In der makroskopischen Anatomie wird das equine Kiefergelenk als ein inkongruentes, synoviales Gelenk beschrieben (Rodríguez et al., 2006). Sein dorsaler, knöcherner Gelenkanteil wird durch den Proc. zygomaticus der Schläfenbeinschuppe gebildet, der sich in drei Teile untergliedert: rostral - das Tuberculum articulare, zentral - die Fossa mandibularis und kaudal - der Proc. retroarticularis. Der ventrale, knöcherne Gelenkanteil wird durch das Caput

mandibulae des Proc. condylaris gebildet. Die relative Inkongruenz des Kiefergelenkes wird durch den faserknorpeligen Discus articularis ausgeglichen, der die Gelenkhöhle in eine dorsale (Art. discotemporalis) und eine ventrale Abteilung (Art. discomandibularis) unterteilt (Rodríguez et al., 2006, Carmalt et al., 2016, Pereira et al., 2016).

Neben dieser exakten makroskopischen Beschreibung sind zahlreiche Studien zur Darstellung des equinen Kiefergelenkes mittels bildgebender Verfahren abgeschlossen worden. Es existieren grundlegende Arbeiten zur röntgenologischen Darstellung des Kiefergelenkes (Ramzan et al., 2008; Townsend et al., 2009), Arbeiten zu Ultraschalluntersuchungen (Weller et al., 1999; Rodríguez et al., 2007), Computertomographie (Rodríguez et al., 2008), Magnetresonanztomographie (Rodríguez et al., 2010) und Arthroskopie (May et al., 2001). Damit wurden Grundlagen für Untersuchungen in Klinik und Praxis geschaffen. Darüber hinaus zeigten computertomographische Studien, inwieweit es sich bei der Darstellung anatomisch veränderter Strukturen um Normvarianten oder Fälle klinischer Relevanz handelt (Carmalt et al., 2016).

Abgesehen von den Untersuchungen des Kiefergelenkes in seiner anatomischen Ruheposition wurden kinematische Analysen zur Untersuchung des Kauzyklus vorgenommen. Die erste Arbeit dieser Art führte Leue schon 1941 mit Hilfe eines sogenannten Molographen durch (Leue, 1941). Neuere Arbeiten bedienten sich der Videoanalysen (Collinson, 1994). So konnte der equine Kauzyklus definiert und in drei Phasen unterteilt werden: „Opening Stroke“, „Closing Stroke“ und „Power Stroke“ (Collinson, 1994; Baker, 2002). In einem weiteren Schritt gelang es Videoanalysen mit optischen Marker-Systemen zu kombinieren und die Bewegung des Unterkiefers in einem dreidimensionalen Modell darzustellen (Bonin et al., 2006, Bonin et al., 2007, 2007). Mit Hilfe dieser Technik konnte ebenso das Ausmaß der rotatorischen und translatorischen Bewegungen in den einzelnen Phasen des Kauzyklus gemessen werden. Darüber hinaus wurde auf diese Art und Weise der Einfluss von Zahnbehandlungen (Bonin et al., 2006; Simhofer et al., 2011), unterschiedlichem Futter (Bonin et al., 2007) und künstlich induzierten Entzündungen auf die Bewegung des Kiefergelenkes untersucht (Smyth et al., 2016).

Das exakte biomechanische Verhalten der einzelnen beweglichen Komponenten des Kiefergelenkes (Caput mandibulae, Discus articularis) kann allerdings mit Hilfe dieser Methode nicht bestimmt werden. Für das humane Kiefergelenk existieren jedoch

genaue und detaillierte Kenntnisse zur Biomechanik der Gelenkbewegung. In der dorsalen Gelenketape (*Articulatio discotemporalis*) finden vorwiegend translatorische Bewegungen und in der ventralen Gelenketape (*Art. discomandibularis*) vornehmlich rotatorische Bewegungen statt (Perry, 2001; Okeson, 2013). Zu diesem Verständnis der Biomechanik und der Beziehung von Struktur und Funktion haben Studien zur Ultrastruktur des Kiefergelenkes und seines *Discus articularis* maßgeblich beigetragen (Detamore and Athanasiou, 2003; Detamore et al., 2005; Kalpakci et al., 2011).

Im Gegensatz zu allen peripheren Gelenken des Menschen, sind die Gelenkflächen des humanen Kiefergelenkes mit Faserknorpel überzogen, (Milam, 2003; Wadhwa and Kapila, 2008). Das *Caput mandibulae* zeigt einen charakteristischen Aufbau in vier Schichten (Wadhwa and Kapila, 2008; Singh and Detamore, 2009). Eine oberflächliche fibröse Zone ist unterlegt von einer zellreichen, proliferativen Schicht. Darauf folgen zwei Schichten von hyalin-ähnlichem Knorpel, wobei die oberste ebenfalls von sich teilenden Zellen gekennzeichnet ist (Wadhwa and Kapila, 2008, Singh and Detamore, 2009). Ein ähnlicher histomorphologischer Aufbau wird für das *Tuberculum articulare* beschrieben. Hier kann jedoch nur eine faserknorpelige Zone unterhalb der proliferativen Schicht detektiert werden (Ten Cate and Nanci, 2013). Im Gegensatz zu dem für das *Caput mandibulae* und das *Tuberculum articulare* beschriebenen Schichtaufbau weist die Gelenkfläche der *Fossa mandibularis* nur einen dünnen knorpeligen Überzug aus, der in den meisten Fällen sogar gänzlich fehlt (Ten Cate and Nanci, 2013; Bumann et al., 2002).

Nicht nur die knöchernen Strukturen, sondern auch der *Discus articularis* ist Gegenstand intensiver Forschung zahlreicher Spezies gewesen (Landesberg et al., 1996; Detamore and Athanasiou, 2003b; Allen and Athanasiou, 2006; Kalpakci et al., 2011; Stanković et al., 2013). Ein verlässlicher Indikator für druckbelastete Gewebe ist der Gehalt an Glykosaminoglykanen (Almarza and Athanasiou, 2004; Kalpakci et al., 2011; Arzi et al., 2015). Der *Discus articularis* herbivorer Säugetiere weist einen hohen Anteil an gleichmäßig verteilten Glykosaminoglykanen auf und ist dadurch vor allem durch translatorische Bewegungen charakterisiert (Herring, 2003; Kalpakci et al., 2011). Im Gegensatz dazu zeichnet sich das biomechanische Verhalten des *Discus articularis* omnivorer Säugetiere durch eine Kombination rotatorischer und translatorischer Bewegungen aus (Kalpakci et al., 2011). Entgegen der zuvor beschriebenen Druckbelastungen werden Zugbelastungen, denen der *Discus*

articularis ausgesetzt ist, durch die Ausrichtung und Orientierung von Kollagenfasern widergespiegelt (Detamore and Athanasiou, 2003b; Kalpakci et al., 2011; Vapniarsky et al., 2017). Die genaue Kenntnis der ultrastrukturellen Eigenschaften des gesunden Kiefergelenkes hat im Falle des Menschen und des Tieres (Schwein) zu einem fundierten Verständnis der Beziehung von Struktur und Funktion sowie der Biomechanik des Kiefergelenkes geführt (Detamore and Athanasiou, 2003a; Detamore et al., 2005; Vapniarsky et al., 2017). Um degenerative Erkrankungen und Funktionsstörungen des Kiefergelenkes beim Menschen diagnostizieren und behandeln zu können, sind diese Kenntnisse eine zwingende Voraussetzung gewesen (Bumann et al., 2002; Okeson, 2013).

Im Gegensatz zum Menschen sind Erkrankungen des equinen Kiefergelenkes bis dato nur in Folge von Traumata beschrieben worden (Smyth et al., 2017). Ein einzelner Fallbericht informiert über ein Pferd mit einer klinisch manifesten, degenerativen Kiefergelenkserkrankung (Smyth et al., 2017). Beschreibungen von funktionellen Störungen sind bis dato in der Literatur nicht zu finden.

Der geschilderte Überblick über den derzeitigen Kenntnisstand zum equinen Kiefergelenk veranlasst zu der Frage, ob das equine Kiefergelenk besonders gut an seine biomechanischen Anforderungen angepasst ist oder ob es über reparative – oder sogar regenerative – Fähigkeiten verfügt? Auf der Grundlage dieser Fragestellung sind die Ziele der vorliegenden Arbeit wie folgt definiert:

1. Visualisierung und Analyse der Kollagenfaserarchitektur der Gelenkoberflächen des gesunden equinen Kiefergelenkes zur Darstellung charakteristischer morphologischer Eigenschaften als Anpassung an biomechanische Anforderungen.
2. Beschreibung histomorphologischer Merkmale des gesunden equinen Kiefergelenkes als Beitrag zum biomechanischen Verständnis, als Basis für pathohistologische Untersuchungen und Überlegungen hinsichtlich der möglichen regenerativen Eigenschaften des equinen Kiefergelenkes.

2 Publikation I

Functional anatomy of the equine temporomandibular joint: collagen fiber texture of the articular surfaces

K. Adams, E. Schulz-Kornas, B. Arzi, K. Failing, J. Vogelsberg, C. Staszuk

The Veterinary Journal

(Journal impact factor 2016: 1,802)

Volume 217, November 2016, Pages 58 - 64

DOI: [10.1016/j.tvjl.2016.09.006](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.09.006)

Akzeptiert am 23. September 2016

Abstract

The last decade, the equine masticatory apparatus has received much attention. Numerous studies have emphasised the important role of the temporomandibular joint (TMJ) for the functional process of mastication. However, ultrastructural and histological data providing a basis for biomechanical as well as for histopathological considerations are not available. The aim of the present study was to analyse the architecture of the collagen fiber apparatus in the articular surfaces of the equine TMJ to reveal typical morphological features indicating biomechanical adaptations. Therefore, the collagen fiber alignment was visualised by means of the split-line technique in 16 adult warmblood horses without any history of TMJ disorders.

Within the central two-thirds of the articular surfaces of the articular tubercle, the articular disc and the mandibular head, split-lines ran in a correspondent rostrocaudal direction. In the lateral and medial aspects of these articular surfaces, the split-line pattern varied, displaying curved arrangements in the articular disc as well as punctual split-lines in the bony components. Mediolateral orientated split-lines were found in the rostral and caudal border of the articular disc as well as in the mandibular fossa. The complex movements during the equine chewing cycle are likely assigned to different areas of the TMJ. The split-line pattern of the equine TMJ is indicative of a relative movement of the joint components in a preferential rostrocaudal direction which is consigned to the central aspects of the TMJ. The lateral and medial aspects of the articular surfaces provide split-line patterns that indicate movements particularly around a dorsoventral axis.

Keywords: Anatomy; Collagen fibers; Horse; Split-lines; Temporomandibular joint

3 Publikation II

Functional anatomy of the equine temporomandibular joint: histological characteristics of the articular surfaces and underlining tissues

K. Adams, E. Schulz-Kornas, B. Arzi, K. Failing, J. Vogelsberg, C. Staszuk

The Veterinary Journal

(Journal impact factor 2016: 1,802)

in press

Akzeptiert am 18.04.2018

Abstract

Clinical and research interest in equine dentistry is on a rapid trajectory and as a result, the equine temporomandibular joint (TMJ) is gaining attention. It has been assumed that dental disorders may cause TMJ disorders due to biomechanical overload or aberrant loading. However, the incidence of published TMJ disorders in horses is low, which in turn leads to the question of the equine TMJ is either adapted very well to its biomechanical requirements or has special adaptive properties to remodel its articular surfaces in response to modified loading conditions. Thus, the aim of the present study was to determine the histological characteristics of healthy equine TMJs.

The tissue components of the articular surfaces of 10 TMJs obtained from horses without any clinical history of dental or TMJ disorders were analyzed. Apart from the mandibular fossa of the temporal bone, the osseous aspects of the temporomandibular joint showed a uniform zoning pattern. The articular surfaces were covered by a cell-rich dense connective tissue, underlined by fibrocartilage and succeeding hyaline-like cartilage. The articular disc was composed of an inner core of fibrocartilage and hyaline-like cartilage meshwork covered with both cell-rich dense connective tissue and fibrocartilage at its dorsal and ventral aspects. In contrast, the mandibular fossa was only covered by a dense connective tissue, frequently supplemented by a synovial membrane suggesting low biomechanical stress. Indicating the occurrence of compressive loads, glycosaminoglycans were predominantly present within the rostral part of the articular tubercle and retroarticular process, the dorsal part of articular disc, the entire mandibular head, but were absent within the mandibular fossa. The results of this study suggest the presence of different biomechanical demands in the dorsal and ventral compartment of the equine TMJ.

Keywords: Biomechanical properties; Histology; Horse; Mastication; TMJ

4 Übergreifende Diskussion

Mit Hilfe der vorliegenden Studie konnte erstmalig die Kollagenfaserarchitektur der Gelenkflächen des gesunden equinen Kiefergelenkes dargestellt werden. Dadurch ist es möglich, Hauptbewegungsrichtungen auf einer histomorphologischen Basis zu bestätigen und diese bestimmten Arealen des Gelenkes zuzuordnen.

Darüber hinaus konnte der grundlegende Aufbau der Gelenkoberflächen definiert werden. Anhand der Darstellung von Glykosaminoglykanen als Bestandteil der extrazellulären Matrix konnten Zonen unterschiedlicher Belastung des equinen Kiefergelenkes aufgezeigt werden.

4.1 Diskussion der angewandten Methoden

4.1.1 Spaltlinientechnik

Die Spaltlinientechnik ist eine etablierte Methode zur Darstellung der Ausrichtung oberflächlich gelegener Kollagenfaserzüge (Petersen and Tillmann, 1998a; Bae et al., 2008; Böttcher et al., 2009; Zeißler, 2013). Der strukturelle Zusammenhang zwischen optisch sichtbar gemachten Spaltlinien und der Vorzugsfaserrichtung von Kollagenfaserzügen wurde sowohl mittels Polarisations- (Ortmann, 1975) als auch durch Rasterelektronenmikroskopie (Petersen and Tillmann, 1998a) bewiesen. Zudem wurde mit Hilfe von mechanischen Tests untersucht, ob die Zugfestigkeit und Elastizität des Knorpelgewebes quer oder längs der Spaltlinien am größten ist. Dem Kenntnisstand der Autoren nach, gibt es nur eine Studie, die zu dem Ergebnis kommt, dass die Festigkeitseigenschaften der Gelenkoberflächen nicht der Kollagenfaserausrichtung und damit der Spaltlinien entspricht (Kamalanathan and Broom, 1993). Demgegenüber steht eine Vielzahl von Untersuchungen, die mit Hilfe von mechanischen Tests den proportionalen Zusammenhang zwischen Kollagenfaserverläufen und Dehungeigenschaften des Knorpels belegen können (Kempson et al., 1968, Woo et al., 1976; Roth and Mow, 1980). Auch in neueren Studien konnte mit Hilfe von Finite- Element- Analysen dieser direkte Zusammenhang bestätigt werden (Li et al., 2009; Mononen et al., 2012). Der Verlauf der Spaltlinien auf einer Gelenkoberfläche spiegelt somit deren biomechanische

Beanspruchung wieder (Madeira et al., 1977; Costa et al., 1982, Teixeira et al., 1989; Zeißler, 2013) und ist ein Indikator für die Hauptbewegungsrichtungen eines Gelenkes (Bullough and Goodfellow, 1968; Leo et al., 2004; Böttcher et al., 2009).

Die Spaltlinientechnik wurde an zahlreichen peripheren Gelenken mit hyalinem Knorpelüberzug, sowohl in der Human- (Vogt, 1999; Below et al., 2002; Bisson et al., 2005) als auch in der Veterinärmedizin (Eller, 2003; Boseckert, 2004; Riegert, 2004, Böttcher et al., 2009), angewendet. Als Gelenk mit faserknorpeligem Überzug wurde das humane Kiefergelenk untersucht (Werner et al., 1991). Ebenso war der Meniskus des Kniegelenkes, als morphologisches Analogon zum Diskus articularis des equinen Kiefergelenkes, Gegenstand von Untersuchungen (Petersen and Tillmann, 1998a). Es existieren somit geeignete wissenschaftliche Arbeiten, die einen Vergleich mit Ergebnissen der vorliegenden Studie ermöglichen. So wird eine Einordnung und Interpretation der Resultate im Vergleich mit anderen Spezies möglich.

Zur Durchführung der Spaltlinientechnik gibt es unterschiedliche Angaben in der Literatur. Dies betrifft unter anderem die Aufbereitung der Gelenke, die verwendet wurden. Es wurden sowohl in Formalin fixierte Gelenke (Koneremann, 1971; Werner et al., 1991; Petersen and Tillmann, 1998a) als auch frische Gelenkpräparate untersucht (Below et al., 2002). Obwohl die zuerst genannten Autoren vor der Durchführung der Spaltlinientechnik die in Formalin fixierten Gelenke in Wasser bzw. Kochsalzlösung wässerten, ist eine Schrumpfung der Faserstrukturen durch die vorherige Fixierung mit Formalin nicht auszuschließen. Möglicherweise hat dies einen Einfluss auf die weitere Bearbeitung und die Ergebnisse. Eine unmittelbare Bearbeitung der untersuchten Kiefergelenke war auch in den hier beschriebenen Untersuchungen des equinen Kiefergelenkes aus organisatorischen Gründen nicht immer gleich möglich. Jedoch entschieden wir uns für das Einfrieren als Mittel zur Konservierung anstatt für Formalin, da hiermit der schrumpfende Einfluss von Formalin auf das Kollagen vermieden werden konnte.

Desweiteren existieren in der Literatur unterschiedliche Angaben hinsichtlich der Aufbringung der Tinte auf die Gelenkfläche bzw. in die Spaltlinien. Einerseits wird beschrieben wie in einem ersten Schritt die komplette Gelenkfläche mit Tinte überzogen wird und anschließend mit einer Präpariernadel die Spaltlinien quasi blind erzeugt werden (Koneremann, 1971; Werner et al., 1991; Petersen and Tillmann, 1998a). Andererseits kann die Präpariernadel zuvor mit Tinte benetzt und die Spaltlinien in einem definierten Abstand auf der Gelenkfläche gestochen werden

(Below et al., 2002). Der beschriebene Vorteil der ersten Methode ist, dass keine Ergebnisse beeinflusst werden können, indem mit der Nadel kleine Schnitte anstatt von Einstichen vorgenommen werden und die Methode somit zusätzlich an Objektivität gewinnt (Koneremann, 1971). Dem ist jedoch zu entgegen, dass so lange die Präpariernadel in dem durch die Methode vorgegebenen 90° Winkel in die Gelenkoberfläche eingestochen wird (Below et al., 2002; Lieser, 2003), keine Manipulation der Ausrichtung der Spaltlinie möglich ist, da der oberflächliche Verlauf der Kollagenfasern den Spaltlinienverlauf vorgibt (Petersen and Tillmann, 1998a). Darum haben wir uns für die Vorgehensweise in Anlehnung an Below et al. (2002) entschieden, weil durch den definierten, probenunabhängigen Abstand der Einstiche ein objektiviertes Spaltlinienmuster entsteht, welches einen Vergleich zwischen allen untersuchten Einzelproben rechtfertigt.

4.1.2 Histologische Färbungen

Mit Hilfe der zuvor beschriebenen Spaltlinientechnik können Kollagenfaserausrichtungen dargestellt und daraus biomechanische Beanspruchungen in Form von Zugbelastungen abgeleitet werden. Zur weiteren Bestätigung der Kollagenfaserverläufe können rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen genutzt werden. In früheren Arbeiten konnte der direkte Zusammenhang zwischen Spaltlinienverläufen und dazu korrespondierenden Kollagenfaserverläufen in rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung bereits belegt werden (Petersen and Tillmann, 1998a). Folglich hätten diese Untersuchungen keinen weiteren Mehrwert in Bezug auf unsere Fragestellung ergeben.

Zur Analyse der histomorphologischen Grundstruktur und kompressiven Belastung von Gewebestrukturen bieten sich histologische Färbemethoden an. Eine etablierte histologische Färbung ist hierbei die Safranin-O-Färbung (Kalpakci et al., 2011). Mit dieser können Glykosaminoglykane als Zeichen kompressiver Belastung von Gelenkstrukturen sichtbar gemacht werden (Almarza and Athanasiou, 2004; Kalpakci et al., 2011; Arzi et al., 2015). Vergleichbare Ergebnisse anderer herbivorer Säugetiere existieren hierzu bereits für den *Discus articularis*. Neben der kompressiven Belastung können anhand der Verteilung von Glykosaminoglykanen

zusätzlich Aussagen zum biomechanischen Verhalten anatomischer Strukturen getroffen werden. Anhand der Ergebnisse kann abgeleitet werden, ob das untersuchte Gewebe eher rotatorischen oder translatorischen Bewegungen ausgesetzt ist (Kalpakci et al., 2011). Die Auswertung der histologischen Schnitte erfolgt dabei semiquantitativ. Um eine quantitative Analyse vorzunehmen sind biochemische Analysen erforderlich. Aus vorherigen Studien ist jedoch bekannt, dass sich die histologischen und biochemischen Analysen komplementär zueinander verhalten (Kalpakci et al., 2011).

Neben der Analyse von Glykosaminoglykanen anhand der Safranin-O-Färbung können grundlegende Aussagen zur Art des Gewebes und zu Zellverteilungsmustern getroffen werden. Vielfach wird dafür die Hämatoxylin-Eosin-Färbung verwendet. Nach dem Vergleich erster histologischer Schnitte mit beiden Färbungen stellte sich jedoch heraus, dass hinsichtlich der Zellverteilungsmuster und Ausrichtung von Kollagenfaserzügen die Hämatoxylin-Eosin-Färbung keinen wesentlichen Erkenntnisgewinn gegenüber der Safranin-O-Färbung hervorbringt. Aus diesem Grund wurde sie in dieser Studie nicht weiter eingesetzt.

Zur Beurteilung der Zellen hinsichtlich ihrer Vitalität und Teilungsfähigkeit sind ebenfalls keine näheren Informationen durch die H&E Färbung zu erwarten. Zur Beurteilung der Frage, ob das equine Kiefergelenk regenerative Fähigkeiten auf Grund von proliferativen Zellen in oberflächlich gelegenen Zellschichten besitzt, wie dies für den Menschen beschrieben ist (Hansson and Oberg, 1977; Carmalt et al., 2016), sind immunhistologische Färbungen und biochemische Analysen erforderlich. Diese Art der Analyse erfordert jedoch eine gänzlich andere Aufarbeitung und Entnahme der Proben. Die hier verwendeten Proben konnten jedoch mit Hilfe der Elastica-van-Gieson-Färbung untersucht werden, die eine Standardfärbung zur Visualisierung elastischer Fasern darstellt. Somit konnten die Gelenksstrukturen zusätzlich hinsichtlich ihrer viscoelastische Eigenschaften untersucht werden.

Demnach sind die Spaltlinientechnik und die verwandten histologischen Färbungen die Methoden der Wahl. Die Entnahmepositionen lehnen sich an vorherige Untersuchungen an (Almarza et al., 2006; Detamore et al., 2006; Kalpakci et al., 2011), sind in ihrer Anzahl erweitert worden und bilden damit eine breite Grundlage für die durchgeführten Untersuchungen.

4.2 Diskussion und Interpretation der Ergebnisse

4.2.1 Kollagenfaserarchitektur

Das Kiefergelenk des Pferdes zeichnet sich durch homogene Spaltlinienmuster aus. Die zentralen zwei Drittel der Gelenkflächen des Tuberculum articulare, des Discus articularis und des Caput mandibulae sind durch rostrokaudal ausgerichtete Spaltlinien gekennzeichnet.

Auf Grund dieses großen Anteils an rostrokaudalen Spaltlinien in Bezug auf die gesamte Gelenkoberfläche ist davon auszugehen, dass das Kiefergelenk des Pferdes allgemein und speziell diese Gelenkabschnitte durch Bewegungen in rostrokaudaler Richtung gekennzeichnet sind. Diese können zum einen aus Rotationsbewegungen um eine horizontale Gelenkachse (Öffnung und Schließung des Pferdemauls) und zum anderen aus Translationsbewegungen entlang der Horizontalebene resultieren. Diese Ergebnisse korrespondieren mit kinematischen Analysen, in denen das größte Ausmaß der Kiefergelenksbewegung in den beiden zuvor beschriebenen Bewegungen festgestellt worden ist (Bonin et al., 2006).

Desweiteren wurde in einer früheren Studie die große Bedeutung der rostrokaudalen Beweglichkeit für die Futteraufnahme herausgestellt (Rucker, 2004). Um eine vollständige Okklusion der Schneidezähne beim Herabsenken des Kopfes zur Futteraufnahme herzustellen, muss der Unterkiefer in rostrokaudaler Richtung verschiebbar sein (Rucker, 2004). Berücksichtigt man die Dauer der Futteraufnahme eines Pferdes von bis zu 17 Stunden pro Tag (McGreevy, 2012), so ist die ausgeprägte rostrokaudale Mobilität eine zwingende Funktion des equinen Kiefergelenkes und spiegelt sich im dargestellten Spaltlinienmuster wieder.

Wird die rostrokaudale Mobilität vor allem in den zentralen Gelenkanteilen abgebildet, so müssen alle weiteren notwendigen und beschriebenen Bewegungen des equinen Kiefergelenkes (Bonin et al., 2006) anderen Anteilen des Kiefergelenkes zugeordnet werden können. Demzufolge sind Rotationsbewegungen um eine vertikale Achse den medialen und lateralen Gelenkanteilen zuzuordnen. In den knöchernen Anteilen des Kiefergelenkes (Tuberculum articulare und Caput mandibulae) sind hier punktförmige Spaltlinienformationen erkennbar, die auf senkrecht wirkende Kräfte im Sinne einer Rotation um die vertikale Achse schließen lassen (Lieser, 2003). Korrespondierend dazu sind im medialen und lateralen

Randbereich des Discus articularis bogenförmige Spaltlinienformationen erkennbar, die als sogenannte „attractive singular points“ bezeichnet werden (Werner et al., 1991; Petersen and Tillmann, 1998a; Lieser, 2003). Diese sind ebenfalls Kennzeichen für Druckbelastungen entlang einer vertikalen Achse. Auf Grund der bikonkaven Form des Discus articularis werden in dessen medialem und lateralem Randbereich Axialkräfte in Tangentialkräfte umgeformt und resultieren so in den beobachteten kurvenförmigen Spaltlinienmustern. Diese Beobachtung konnte ebenfalls am Discus articularis des humanen Kiefergelenkes (Werner et al., 1991) und am Meniskus des Kniegelenkes (Petersen and Tillmann, 1998b) gemacht werden. Somit sind Rotationsbewegungen um eine vertikale Achse den medialen und lateralen Randbereichen des Kiefergelenkes zuzuordnen.

Neben dieser mechanischen Erklärung für das Auftreten der „attractive singular points“, sind diese ein Indiz für das Wirken großer biomechanischer Kräfte (Werner et al., 1991; Lieser, 2003). Biomechanische Spaltlinienuntersuchungen des humanen Kiefergelenkes zeigten das Auftreten von „attractive singular points“ insbesondere in dessen lateralen Randbereichen (Werner et al., 1991). Bemerkenswerterweise sind in degenerativ veränderten, humanen Kiefergelenken Pathologien in genau diesen Arealen zu beobachten. „Attractive singular points“ sind somit ein Indiz für große biomechanische Belastung und Abnutzung. Eine aktuelle Studie von Carmalt et al. (2016), in der CT- Untersuchungen von über 1000 Pferden ausgewertet wurden, konnte im Discus articularis des Pferdes Anzeichen von Mineralisierung in topographischer Nähe zum lateralen „attractive singular point“ feststellen. Diese Veränderung wurde zum einen mit dem zunehmenden Alter der untersuchten Pferde in Verbindung gebracht; zum anderen ist dies ein Anzeichen für die Akkumulation von biomechanischen Kräften, wie dies für den Menschen herausgefunden wurde (Jibiki et al., 1999).

Translationsbewegungen in mediolateraler Richtung entlang der Horizontalebene und Rotationen um die rostrokaudale Achse sind dem rostralen und kaudalen Randbereich des Discus articularis zuzuordnen, da hier mediolateral ausgerichtete Spaltlinienformationen erkennbar sind.

Wechselnde Spaltlinienverläufe sind im Bereich des rostralen und kaudalen Randbereiches des Discus articularis, dem Proc. retroarticularis und dem lateralen Anteil des Tuberculum articulare zu finden und sind Ausdruck von geringeren und wechselnden biomechanischen Anforderungen an diesen anatomischen Positionen.

Ein Bereich des equinen Kiefergelenkes, in dem die Durchführung der Spaltlinientechnik kaum möglich war, ist die Fossa mandibularis. Aus vergangenen Studien ist bekannt, dass dies ein Indiz für einen sehr dünnen Knorpelüberzug der Gelenkfläche ist (Lieser, 2003).

4.2.2 Histologie der Gelenkflächen

Einen detaillierten Aufschluss über die Art des knorpeligen Überzugs, den Aufbau der Gelenkflächen und Druckverteilungsmustern innerhalb dieser, sollten histologische Untersuchungen ergeben. Zu diesem Zweck wurden zwei histologische Färbungen verwendet.

Mit Hilfe der van-Gieson-Elastica-Färbung und der Safranin-O-Färbung konnte der grundlegende histologische Aufbau der knöchernen Gelenkflächen und des Discus articularis des Pferdes erstmalig beschrieben werden. Die Artikulationsoberfläche wird dabei von einer dünnen zellreichen Schicht aus straffem Bindegewebe gebildet, gefolgt von einer Schicht aus Faserknorpel und anschließendem hyalin-ähnlichen Knorpel. Letzterer weist innerhalb der Gelenkflächen des Kiefergelenkes unterschiedlich starke Einlagerungen von Glykosaminoglykanen auf.

Dieser grundlegende histologische Aufbau der Gelenkflächen zeigt deutliche Parallelen zu dem des Caput mandibulae des Menschen. Im humanen Kiefergelenk befindet sich jedoch zwischen den beiden obersten Gewebsschichten eine zellreiche, proliferative Schicht von mesenchymalen Zellen (Wadhwa and Kapila, 2008; Singh and Detamore, 2009). Es wird angenommen, dass in dieser Schicht die Vermehrung von Knorpelzellen stattfindet, als Reaktion auf funktionelle Anforderungen des Gelenkes (Wadhwa and Kapila, 2008). Sie scheint somit verantwortlich für die guten adaptiven Eigenschaften des menschlichen Kiefergelenkes an wechselnde biomechanische Anforderungen zu sein (Hansson and Oberg, 1977; Wadhwa and Kapila, 2008; Carmalt et al., 2016). Diese gesonderte Schicht ist beim Pferd nicht zu erkennen; auffällig ist jedoch der Zellreichtum bis an die Artikulationsoberfläche. In weiteren Studien wird herauszufinden sein, inwieweit es sich dabei um proliferative Zellen handelt und ob diese zu einer Regeneration der Gelenkoberflächen beitragen. Wäre dies der Fall, so würde sich die geringe Prävalenz von degenerativen

Kiefergelenkerkrankungen beim Pferd, wie sie in aktuellen Studien konstatiert wird (Carmalt et al., 2016; Carmalt et al., 2017), erklären.

Mit Hilfe der Safranin-O-Färbung konnte nicht nur der grundlegende Aufbau der knorpeligen Gelenkoberfläche beschrieben werden, sondern auch das Vorkommen und die Verteilung von Glykosaminoglykanen als Indikator für biomechanische Belastungen einzelner Gelenkabschnitte. Die Probenentnahme orientierte sich dabei an vorherigen Untersuchungen bei nicht-equinen Spezies. Sie wurde in ihrer Anzahl von uns erweitert und lässt somit vergleichende Schlüsse zu (Kalpakci et al., 2011).

Der Discus articularis herbivorer Spezies (Rind, Ziege, Kaninchen) zeigte einen hohen Gehalt an Glykosaminoglykanen in allen untersuchten Proben von rostral nach kaudal und medial nach lateral (Kalpakci et al., 2011). Demzufolge ist der Discus articularis eher translatorischen als rotatorischen Bewegungskomponenten ausgesetzt (Herring, 2003; Kalpakci et al., 2011). Die Analyse von Glykosaminoglykanen in unseren Untersuchungen für das Pferd zeigt ebenfalls einen hohen Gehalt an Glykosaminoglykanen innerhalb der untersuchten Proben von rostral nach kaudal und von medial nach lateral. Es darf angenommen werden, dass das biomechanische Verhalten des Discus articularis des Pferdes, dem anderer herbivorer Spezies (Rind, Ziege, Kaninchen) gleicht. Das vorherrschende rostrokaudale Spaltlinienmuster in den zentralen zwei Dritteln des Discus articularis des Pferdes unterstützt diese Annahme.

Im Gegensatz zu den Untersuchungen von Kalpakci et. al (2011) wurden die Proben der vorliegenden Studie zusätzlich in dorsoventraler Ausrichtung separat voneinander betrachtet und ausgewertet. Die Auswertung der dorsalen, intermediären und ventralen Schicht ergab deutliche Ausbildungen von Glykosaminoglykanen in der dorsalen Schicht des Discus articularis und weniger in der intermediären und ventralen. Betrachten wir das deutliche Vorkommen von Glykosaminoglykanen im Bereich des Caput mandibulae, sowie im rostralen Anteil des Tuberculum articulare und des Processus retroarticularis, so können wir konstatieren, dass die biomechanischen Druckbelastungen im gesamten Kiefergelenk verteilt werden, aber nicht zu gleichen Anteilen und mit Ausnahme der Fossa mandibularis.

Dieser Bereich des Gelenkes scheint von deutlichen Druckbelastungen ausgenommen zu sein. Er weist keine Glykosaminoglykane auf und weicht deutlich vom histologischen Grundaufbau aller anderen knöchernen Bestandteile ab. Im

Gegensatz zum zuvor beschriebenen dreischichtigen Aufbau, ist hier lediglich ein dünner Überzug von straffem Bindegewebe zu erkennen, der in den meisten Fällen durch eine Synovialmembran ergänzt wird. Dies spricht dafür, dass die Fossa mandibularis als anatomische Ruheposition des Caput mandibulae und des Discus articularis zu bewerten ist. Die Initialbewegung des Kiefergelenkes muss folglich eine Translation des Discus articularis und des Caput mandibulae nach rostral auf das Tuberculum articulare sein, da dies durch ein deutliches Vorkommen an Glykosaminoglykanen gekennzeichnet und somit für biomechanische Belastungen ausgelegt ist.

Diese Schlussfolgerung in Zusammenhang mit der zuvor beschriebenen Druckverteilung innerhalb des Kiefergelenkes lässt den Schluss zu, dass die Öffnung und Schließung des Pferdemauls, als Teil des Kauzyklus des Pferdes, in Bezug auf seine Biomechanik der Art und Weise der Öffnung und Schließung des menschlichen Mundes gleicht. Auch hier wird eine Initialbewegung des Caput mandibulae und Discus articularis auf das Tuberculum articulare beschrieben, sowie die Lokalisation von translatorischen Bewegungen in der Art. discotemporalis und Rotationsbewegungen in der Art. discomandibularis (Okeson, 2013).

Die genaue Kenntnis der Biomechanik und Funktion des Kiefergelenkes führte beim Menschen zur Möglichkeit der Diagnose von Dysfunktionen des Kiefergelenkes.

Die in dieser Studie gewonnenen Erkenntnisse stellen somit eine Basis für die detaillierte klinische und funktionelle Untersuchung des equinen Kiefergelenkes dar. Darüber hinaus bilden sie eine Grundlage für zukünftige pathohistologische Untersuchungen.

4.3 Schlussfolgerungen

Die Spaltlinientechnik bewährte sich als kostengünstige, adäquate Methode zur Darstellung der oberflächlichen Kollagenfaserarchitektur der Gelenkflächen. Sie lieferte wertvolle Hinweise zu biomechanischen Beanspruchungen und Hauptbewegungsrichtungen der einzelnen Gelenkanteile des equinen Kiefergelenkes. Es konnten rotatorische und translatorische Bewegungskomponenten bestimmten Arealen innerhalb des Gelenkes zugeordnet sowie Anzeichen kompressiver Belastbarkeit aufgedeckt werden. Diese Ergebnisse wurden mit Hilfe der durchgeführten histologischen Färbungen komplementär ergänzt, so dass bestehende biomechanische Annahmen zum equinen Kiefergelenk bestätigt und neue Erkenntnisse gewonnen werden konnten. Diese bilden eine Grundlage für zukünftige biomechanische und klinische Untersuchungen. Darüber hinaus konnten erste histologische Grundlagen geschaffen werden, die zum einen ein mögliches Erklärungsmodell für die geringe Prävalenz von Kiefergelenkserkrankungen beim Pferd darstellen und zum anderen eine Basis für histopathologische Untersuchungen sind.

4.4 Ausblick

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen verlangen nach einer gezielten Untersuchung der proliferativen und produktiven Eigenschaften der Zellen des equinen Kiefergelenkes, um den Umfang und die Modalitäten von eventuellen regenerativen Eigenschaften aufzudecken. In diesem Zusammenhang sind z.B. weitere immunhistochemische Untersuchungen mit Hilfe von Proliferationsmarkern oder molekularbiologische Untersuchungen zur Evaluation von RNA-Profilen zu empfehlen. Somit könnte geklärt werden, inwieweit besondere regenerative Eigenschaften des Kiefergelenkknorpels sich als Erklärung für die geringe Prävalenz von Kiefergelenkserkrankungen beim Pferd anbieten.

5 Zusammenfassung

Im Zuge des wachsenden, klinischen und wissenschaftlichen Interesses auf dem Gebiet der Pferde Zahnheilkunde, wird dem equinen Kiefergelenk (*Articulatio temporomandibularis*; engl. temporomandibular joint, TMJ) eine zunehmend größere Aufmerksamkeit geschenkt. Es existieren Studien zur makroskopisch-anatomischen Anatomie, zu bildgebenden Verfahren (Ultraschall, Röntgen, Computertomographie, Magnetresonanztomographie) und zu kinematischen Analysen der Kaubewegung mittels optischer Marker. Klinische Studien und Berichte über degenerative Kiefergelenkserkrankungen existieren nur vereinzelt. Zudem fehlt eine histologische Beschreibung des gesunden equinen Kiefergelenkes als Basis für eine detaillierte biomechanische Analyse, als Grundlage für das Verständnis von pathologischen Veränderungen sowie als Fundament zur Detektion von regenerativen, zellulären Eigenschaften.

Es wurden Kiefergelenke von 16 adulten, kiefergelenk- und gebissgesunden Pferden entnommen. Jede einzelne Gelenkfläche wurde mit Hilfe der Spaltlinienmethode untersucht und anschließend histologisch aufgearbeitet. Dabei kamen die Safranin-O und die Elastica-van-Gieson-Färbung zum Einsatz.

Mit Hilfe der Spaltlinienmethode konnte herausgefunden werden, dass die oberflächlichen Kollagenfaserbündel in den zentralen zwei Dritteln der Gelenkflächen vorzugsweise in rostrokaudaler Richtung verlaufen. Die lateralen und medialen Gelenkanteile weisen insbesondere gebogene und punktförmige Formationen auf. Anhand der histologischen Färbungen konnten grundsätzliche histomorphologische Eigenschaften des equinen Kiefergelenkes aufgezeigt werden. Mit Ausnahme der Fossa mandibularis zeigen alle knöchernen Anteile des Kiefergelenkes eine gleiche histologische Zonierung. Die oberste Schicht der Artikulationsoberfläche wird aus straffem Bindegewebe gebildet, gefolgt von einer faserknorpeligen Schicht und einer Schicht aus hyalin-ähnlichem Knorpel. Jede Schicht ist dabei durch Zellreichtum charakterisiert. Besonders auffällig war die stete Präsenz von fibroblastischen Zellen direkt unterhalb der Artikulationsflächen. Die Fossa mandibularis ist durch einen Überzug von straffem Bindegewebe gekennzeichnet, der häufig durch eine Synovialmembran ergänzt wird. Mit Hilfe der Safranin-O-Färbung konnten Glykosaminoglykane semiquantitativ nachgewiesen werden. Dabei zeigten

insbesondere der rostrale Anteil des Tuberculum articulare und des Processus retroarticularis, das gesamte Caput mandibulae und der dorsale Anteil des Discus articularis einen hohen Gehalt an Glykosaminoglykanen auf. In den übrigen Anteilen des Kiefergelenkes waren geringere Mengen an Glykosaminoglykanen nachweisbar, in der Fossa mandibularis keine.

Sowohl die Spaltlinientechnik als auch die verwendeten histologischen Färbemethoden sind vielfach etablierte Verfahren, die Aussagen zu biomechanischen Belastungen von Gelenken ermöglichen.

Die rostrokaudale Ausrichtung der Spaltlinien in den zentralen zwei Dritteln der Gelenkflächen des Kiefergelenkes lässt darauf schließen, dass dieser Region vornehmlich relative Bewegungen in rostrokaudaler Richtung zuzuordnen sind. Diese können entweder aus Rotationsbewegungen um eine horizontale Achse oder aus Translationsbewegungen des Unterkiefers in rostrokaudaler Ausrichtung resultieren. Die medialen und lateralen Anteile der Gelenkflächen sind durch punkt- oder kurvenförmige Spaltlinienformationen gekennzeichnet. Diese sind ein Hinweis für Bewegungen um eine senkrechte Achse, die in einer Lateralbewegung des Unterkiefers resultieren. Somit können die komplexen Bewegungen während des equinen Kauzyklus verschiedenen Bereichen des Kiefergelenkes zugeordnet werden.

Die Analyse des Gehaltes an Glykosaminoglykanen mit Hilfe der Safranin-O-Färbung lässt den Schluss zu, dass Druckbelastungen innerhalb des gesamten equinen Kiefergelenkes verteilt werden, jedoch nicht zu gleichen Teilen und mit Ausnahme der Fossa mandibularis. Diese nimmt darüber hinaus auch hinsichtlich der histologischen Zonierung der Artikulationsoberfläche eine Sonderrolle ein. Auf Grund der beschriebenen Ergebnisse scheint die Fossa mandibularis eine anatomische Ruheposition für das Caput mandibulae darzustellen. Es ist anzunehmen, dass die Initialbewegung des Kiefergelenkes eine Translationsbewegung des Caput mandibulae und des Discus articularis nach rostral auf das Tuberculum articulare ist. Der vorherrschende Gewebetyp und der hohe zelluläre Anteil bis an die Artikulationsoberfläche lassen sowohl eine ausgeprägte Fähigkeit zur Adaptation an sich verändernde biomechanische Beanspruchungen als auch hohe regenerative Fähigkeiten vermuten. Die Ergebnisse dieser Studie bieten sich demgemäß als eine mögliche Erklärung für die geringe Prävalenz von Kiefergelenkserkrankungen beim

Pferd an. Sowohl aus klinischer als auch aus zellbiologischer Sicht sollte dem in weiteren Studien nachgegangen werden.

Die Ergebnisse dieser Studie stellen darüber hinaus eine geeignete Basis für histopathologische Untersuchungen dar. Das erweiterte Verständnis der Biomechanik des Kiefergelenkes ermöglicht eine gezieltere klinische Untersuchung von Kiefergelenkspathologien und Dysfunktionen.

6 Summary

According to the increasing clinical and scientific interest in equine dentistry, the equine temporomandibular joint (*Articulatio temporomandibularis*; TMJ) gains more attention. There are studies on gross-anatomical features, imaging techniques (ultrasound, X-ray, computed tomography, magnetic resonance tomography) and kinematic analyses of the chewing cycle using optical tracking systems. Only few clinical studies and reports of degenerative TMJ diseases are available. Furthermore basic histological descriptions of the healthy, equine TMJ are missing and therefore no substantial basis for a detailed knowledge of TMJ biomechanics, pathologies and regenerative capabilities exist.

Sixteen equine TMJs were dissected from adult horses, which were free of TMJ or dental disease. Each articular surface was examined by use of the split-line method and was processed for histological evaluation subsequently. Safranin O and Elastica van Gieson staining was used.

The split-line method visualized that superficial collagen fiber bundles in the central two-thirds of the articular surfaces are preferably arranged in rostrocaudal direction. The lateral and medial joint parts showed curved and punctiforme formations particularly. On the basis of the histological evaluation fundamental histomorphological properties of the equine temporomandibular joint could be identified. With the exception of the mandibular fossa, all bony components of the TMJ expressed an identical histological zoning pattern. The superficial layer of the articular surface is composed of dense connective tissue, followed by a fibrocartilaginous layer and a layer of hyaline-like cartilage. Each layer is characterized by an abundance of cells. Especially noticeable was the constant presence of fibroblastic cells directly underneath the articular surfaces. The mandibular fossa is characterized by a coating of dense connective tissue, frequently complemented by a synovial membrane. Making use of the Safranin O staining, glycosaminoglycans could be detected in semiquantitative way. Particularly, the rostral aspects of the articular tubercle and retroarticular process, the entire mandibular head and the dorsal zone of the articular disc revealed marked contents of glycosaminoglycans. Minor amounts of glycosaminoglycans were detected in the remaining parts of the TMJ and no glycosaminoglycans were found within the mandibular fossa.

Both the split-line technique and the histological staining methods are widely used and provide information concerning biomechanical loads of joints.

The rostrocaudal alignment of split-lines in the central two-thirds of the articular surfaces suggests the occurrence of relative movements in rostrocaudal direction in these parts of the joint. These movements can result either from rotational movements around a horizontal axis or translational movements of the mandible in rostrocaudal direction. The medial and lateral aspects of the articular surfaces are characterized by punctiforme or curved split-line patterns. These patterns indicate movements around a vertical axis resulting in a lateral movement of the mandible. Thus, the complex movements during the equine chewing cycle can be dedicated to different areas of the TMJ. Based on the results of the Safranin O staining, the detected contents of glycosaminoglycans suggest that compressive loads are distributed throughout the equine TMJ, but not in equal shares and with exception of the mandibular fossa. Furthermore the latter takes up an exceptional position due to the histological zoning pattern of its articular surface. Due to these findings the mandibular fossa seems to serve as a resting position for the mandibular head and the initial movement of the TMJ seems to be rostral translation of the mandibular head and articular disc onto the articular tubercle. The predominant type of tissue and the high amount of cells reaching up to the articular surface propose the capability for adaptional changes to altering biomechanical conditions and regenerative capacities.

Thus, this study provides a possible explanation for the low prevalence of equine TMJ disease. Further clinical and cell biological studies are recommended.

Additionally, the obtained results provide a basis for prospective histopathological examinations. The extended understanding of TMJ biomechanics facilitates a more detailed, clinical examination of TMJ pathologies and dysfunctions.

7 Literaturverzeichnis

- Allen, K.D., Athanasiou, K.A., 2006. Viscoelastic characterization of the porcine temporomandibular joint disc under unconfined compression. *Journal of Biomechanics* 39, 312-322.
- Almarza, A.J., Athanasiou, K.A., 2004. Design Characteristics for the Tissue Engineering of Cartilaginous Tissues. *Annals of Biomedical Engineering* 32, 2-17.
- Almarza, A.J., Bean, A.C., Baggett, L.S., Athanasiou, K.A., 2006. Biochemical analysis of the porcine temporomandibular joint disc. *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery* 44, 124-128.
- Arzi, B., Murphy, M.K., Leale, D.M., Vapniarsky-Arzi, N., Verstraete, F.J.M., 2015. The temporomandibular joint of California sea lions (*Zalophus californianus*): part 1 - characterisation in health and disease. *Archives of Oral Biology* 60, 208-215.
- Bae, W., Wong, V., Hwang, J., Antonacci, J., Nugent-Derfus, G., Blewis, M., Temple-Wong, M., Sah, R., 2008. Wear-lines and split-lines of human patellar cartilage: relation to tensile biomechanical properties. *Osteoarthritis and Cartilage* 16, 841-845.
- Baker, G.J., 2002. Equine temporomandibular joints (TMJ): morphology, function and clinical disease. In: *Proceedings of the 48th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Orlando, USA*, pp. 442-447.845.
- Below, S., Arnoczky, S.P., Dodds, J., Kooima, C., Walter, N., 2002. The split-line pattern of the distal femur: A consideration in the orientation of autologous cartilage grafts. *Arthroscopy* 18, 613-617.
- Bisson, L., Brahmabhatt, V., Marzo, J., 2005. Split-Line Orientation of the Talar Dome Articular Cartilage. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery* 21, 570-573.

- Bonin, S.J., Clayton, H.M., Lanovaz, J.L., Johnston, T., 2007. Comparison of mandibular motion in horses chewing hay and pellets. *Equine Veterinary Journal* 39, 258-262.
- Bonin, S.J., Clayton, H.M., Lanovaz, J.L., Johnson, T.J., 2006. Kinematics of the equine temporomandibular joint. *American Journal of Veterinary Research* 67, 423-428.
- Boseckert, 2004. Funktionell-anatomische Untersuchungen an den Zehengelenken (Articulationes interphalangeae) der Schultergliedmaße des Pferdes. Thesis, Doctor of Veterinary Medicine, University of Munich.
- Böttcher, P., Zeissler, M., Maierl, J., Grevel, V., Oechtering, G., 2009. Mapping of split-line pattern and cartilage thickness of selected donor and recipient sites for autologous osteochondral transplantation in the canine stifle joint. *Veterinary Surgery* 38, 696-704.
- Bullough, P., Goodfellow, J., 1968. The significance of the fine structure of articular cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British Volume* 50, 852-857.
- Bumann, A., Lotzmann, U., Mah, J., 2002. Anatomy of the Masticatory System. In: TMJ disorders and orofacial pain. The role of dentistry in a multidisciplinary diagnostic approach, First Edn. Thieme, Stuttgart, Germany, New York, USA, pp. 1-17.
- Carmalt, J.L., Simhofer, H., Bienert-Zeit, A., Rawlinson, J.E., Waldner, C.L., 2017. The association between oral examination findings and the computed tomographic appearance of the equine temporomandibular joint. *Equine Veterinary Journal* 49, 780 - 783.
- Carmalt, J.L., Kneissl, S., Rawlinson, J.E., Zwick, T., Zekas, L., Ohlerth, S., Bienert-Zeit, A., 2016. Computed tomographic appearance of the temporomandibular joint in 1018 asymptomatic horses: a multi-institution study. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 57, 237-245.

- Ten Cate, A.R., Nanci, A., 2013. Ten Cate's oral histology. Development, structure, and function, Eighth Edn. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 311-327.
- Collinson, M. 1994. Food processing and digestibility in horses (*Equus caballus*). Thesis, Bachelor of Science with Honours, Monash University Clayton.
- Costa, J.R., Madeira, M.C., Watanabe, I., Oliveira, J.A. de, 1982. Changes in structure of the facial bones after experimental fracture and displacement of the zygomatic bone in the tufted capuchin (*Cebus apella*) by means of radiography, the split-line technique, and scanning electron microscopy. *Okajimas Folia Anatomica Japonica* 59, 321-336.
- Detamore, M.S., Hegde, J.N., Wagle, R.R., Almarza, A.J., Montufar-Solis, D., Duke, P.J., Athanasiou, K.A., 2006. Cell type and distribution in the porcine temporomandibular joint disc. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 64, 243-248.
- Detamore, M.S., Orfanos, J.G., Almarza, A.J., French, M.M., Wong, M.E., Athanasiou, K.A., 2005. Quantitative analysis and comparative regional investigation of the extracellular matrix of the porcine temporomandibular joint disc. *Matrix Biology* 24, 45-57.
- Detamore, M.S., Athanasiou, K.A., 2003a. Structure and function of the temporomandibular joint disc: implications for tissue engineering. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 61, 494-506.
- Detamore, M.S., Athanasiou, K.A., 2003b. Tensile Properties of the Porcine Temporomandibular Joint Disc. *Journal of Biomechanical Engineering* 125, 558.
- Eller, 2003. Anatomische und biomechanische Untersuchungen am Schultergelenk (Articulatio humeri) des Hundes (*Canis familiaris*). Thesis, Doctor of Veterinary Medicine, University of Munich.

- Hansson, T., Oberg, T., 1977. Arthrosis and deviation in form in the temporomandibular joint. A macroscopic study on a human autopsy material. *Acta Odontologica Scandinavica* 35, 167-174.
- Herring, S.W., 2003. TMJ anatomy and animal models. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions* 3, 391- 394.
- Jibiki, M., Shimoda, S., Nakagawa, Y., Kawasaki, K., Asada, K., Ishibashi, K., 1999. Calcifications of the disc of the temporomandibular joint. *Journal of Oral Pathology and Medicine* 28, 413-419.
- Kalpakci, K.N., Willard, V.P., Wong, M.E., Athanasiou, K.A., 2011. An interspecies comparison of the temporomandibular joint disc. *Journal of Dental Research* 90, 193-198.
- Kamalanathan, S., Broom, N.D., 1993. The biomechanical ambiguity of the articular surface. *Journal of Anatomy* 183, 567-578.
- Kempson, G.E., Freeman, M.A.R., Swanson, S.A.V., 1968. Tensile Properties of Articular Cartilage. *Nature* 220, 1127-1128.
- Konermann, 1971. Funktionelle Analyse der Knorpelstruktur des Talonaviculargelenkes. *Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte* 133, 1-36.
- Landesberg, R., Takeuchi, E., Puzas, J.E., 1996. Cellular, biochemical and molecular characterization of the bovine temporomandibular joint disc. *Archives of Oral biology* 41, 761-767.
- Leo, B.M., Turner, M.A., Diduch, D.R., 2004. Split-line pattern and histologic analysis of a human osteochondral plug graft. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery* 20 (Suppl. 2), 39-45.

- Leue, G., 1941. Beziehung zwischen Zahnanomalien und Verdauungsstörungen beim Pferd unter Heranziehung von Kaubildern. Thesis, Doctor of Veterinary Medicine, University of Hannover.
- Li, L.P., Cheung, J.T.M., Herzog, W., 2009. Three-dimensional fibril-reinforced finite element model of articular cartilage. *Medical and Biological Engineering and Computing* 47, 607-615.
- Lieser, B., 2003. Morphologische und biomechanische Eigenschaften des Hüftgelenks (Articulatio coxae) des Hundes (Canis familiaris). Thesis, Doctor of Veterinary Medicine, University of Munich.
- Madeira, M.C., Matheus, M.T., Oliveira, J.A. de, Watanabe, I.S., 1977. Split-line patterns of the mandible following masseterectomy in adult and growing monkeys. *American Journal of Physical Anthropology* 47, 41-45.
- May, K.A., Moll, H.D., Howard, R.D., Pleasant, R.S., Gregg, J.M., 2001. Arthroscopic anatomy of the equine temporomandibular joint. *Veterinary Surgery* 30, 564-571.
- McGreevy, P., 2012. Ingestive Behavior. In: *Equine Behavior: A Guide for Veterinarians and Equine Scientist*. Second Ed. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 192.
- Milam, S.B., 2003. Pathophysiology and epidemiology of TMJ. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal interactions* 3, 382-390.
- Mononen, M.E., Mikkola, M.T., Julkunen, P., Ojala, R., Nieminen, M.T., Jurvelin, J.S., Korhonen, R.K., 2012. Effect of superficial collagen patterns and fibrillation of femoral articular cartilage on knee joint mechanics-A 3D finite element analysis. *Journal of Biomechanics* 45, 579-587.
- Okeson, J.P. (Ed.), 2013. *Management of temporomandibular disorders and occlusion*. Seventh Ed. Mosby Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 1-45.

- Ortmann, R., 1975. Use of polarized light for quantitative determination of the adjustment of the tangential fibres in articular cartilage. *Anatomy and Embryology* 148, 109-120.
- Pereira, T.P., Staut, F.T., Machado, T.S.L., Brossi, P.M., Baccarin, R.Y.A., Michelotto, P.V., 2016. Effects of the oral examination on the equine temporomandibular joint. *Journal of Equine Veterinary Science* 43, 8-54.
- Perry, J.F., 2001. The temporomandibular joint. In: *Joint structure and function, a comprehensive analysis*, Third Ed. F.A. Davis Company, Philadelphia, USA, pp. 185-195.
- Petersen, W., Tillmann, B., 1998a. Collagenous fibril texture of the human knee joint menisci. *Anatomy and Embryology* 197, 317-324.
- Petersen, W., Tillmann, B., 1998b. Funktionelle Anatomie der Menisken des Kniegelenks Kollagenfasertextur und Biomechanik. *Arthroskopie* 11, 133-135.
- Ramzan, P.H.L., Marr, C.M., Meehan, J., Thompson, A., 2008. Novel oblique radiographic projection of the temporomandibular articulation of horses. *The Veterinary Record* 162, 714-716.
- Riegert Stefanie, 2004. Anatomische und biomechanische Untersuchungen am Kniegelenk (Articulatio genus) des Hundes (*Canis familiaris*). Thesis, Doctor of Veterinary Medicine, University of Munich.
- Rodríguez, M.J., Agut, A., Soler, M., López-Albors, O., Arredondo, J., Querol, M., Latorre, R., 2010. Magnetic resonance imaging of the equine temporomandibular joint anatomy. *Equine Veterinary Journal* 42, 200-207.
- Rodríguez, M.J., Latorre, R., López-Albors, O., Soler, M., Aguirre, C., Vázquez, J.M., Querol, M., Agut, A., 2008. Computed tomographic anatomy of the temporomandibular joint in the young horse. *Equine Veterinary Journal* 40, 566-571.

- Rodríguez, M.J., Soler, M., Latorre, R., Gil, F., Agut, A., 2007. Ultrasonographic anatomy of the temporomandibular joint in healthy pure-bred Spanish horses. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 48, 149-154.
- Rodríguez, M.J., Agut, A., Gil, F., Latorre, R., 2006. Anatomy of the equine temporomandibular joint: study by gross dissection, vascular injection and section. *Equine Veterinary Journal* 38, 143-147.
- Roth, V., Mow, V.C., 1980. The intrinsic tensile behavior of the matrix of bovine articular cartilage and its variation with age. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American volume* 62, 1102-1117.
- Rucker B.A., 2004. Incisor and Molar Occlusion: Normal Ranges and Indications for Incisor Reduction. In: *Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*. Denver, USA, pp. 7-12.
- Simhofer, H., Niederl, M., Anen, C., Rijkenhuizen, A., Peham, C., 2011. Kinematic analysis of equine masticatory movements: comparison before and after routine dental treatment. *The Veterinary Journal* 190, 49-54.
- Singh, M., Detamore, M.S., 2009. Biomechanical properties of the mandibular condylar cartilage and their relevance to the TMJ disc. *Journal of Biomechanics* 42, 405-417.
- Smyth, T., Allen, A.L., Carmalt, J.L., 2017. Clinically significant, nontraumatic, degenerative joint disease of the temporomandibular joints in a horse. *Equine Veterinary Education* 29, 72-77.
- Smyth, T.T., Carmalt, J.L., Treen, T.T., Lanovaz, J.L., 2016. The effect of acute unilateral inflammation of the equine temporomandibular joint on the kinematics of mastication. *Equine Veterinary Journal* 48, 523-527.

- Stanković, S., Vlajković, S., Bošković, M., Radenković, G., Antić, V., Jevremović, D., 2013. Morphological and biomechanical features of the temporomandibular joint disc: an overview of recent findings. *Archives of Oral Biology* 58, 1475-1482.
- Teixeira, L.A., Madeira, M.C., Martins, A.A., 1989. Padrões de linha de fenda da mandíbula após a transposição da inserção do músculo masséter no coelho adulto. *Revista da Faculdade de Odontologia de Lins* 2, 10-14.
- Townsend, N.B., Cotton, J.C., Barakzai, S.Z., 2009. A tangential radiographic projection for investigation of the equine temporomandibular joint. *Veterinary Surgery* 38, 601-606.
- Vapniarsky, N., Aryaei, A., Arzi, B., Hatcher, D.C., Hu, J.C., Athanasiou, K.A., 2017. The Yucatan minipig temporomandibular joint disc structure-function relationships support its suitability for human comparative studies. *Tissue engineering Part C: Methods* 23, 700-709.
- Vogt, 1999. Vorzugsrichtung der Kollagenfibrillen im sub-chondralen Knochen des Hüft- und Schultergelenks. *Annals of Anatomy* 181, 181-189.
- Wadhwa, S., Kapila, S., 2008. TMJ disorders: future innovations in diagnostics and therapeutics. *Journal of Dental Education* 72, 930-947.
- Weller, R., Maierl, J., Bowen, I.M., May, S.A., Liebich, H.G., 2002. The arthroscopic approach and intra-articular anatomy of the equine temporomandibular joint. *Equine Veterinary Journal* 34, 421-424.
- Weller, R., Taylor, S., Maierl, J., Cauvin, E.R., May, S.A., 1999. Ultrasonographic anatomy of the equine temporomandibular joint. *Equine Veterinary Journal* 31, 529-532.
- Werner, J.A., Tillmann, B., Schleicher, A., 1991. Functional anatomy of the temporomandibular joint. A morphologic study on human autopsy material. *Anatomy and Embryology* 183, 89-95.

Woo, S.-Y., Akeson, W., Jemmott, G., 1976. Measurements of nonhomogeneous, directional mechanical properties of articular cartilage in tension. *Journal of Biomechanics* 9, 785-791.

Zeißler, 2013. Gelenkknorpeldicke und Spaltlinienverlauf im Hinblick auf eine anatomische autologe osteochondrale Transplantation vom Knie- ins Ellbogengelenk beim Hund. Thesis, Doctor of Veterinary Medicine, University of Leipzig.

8 Publikationsverzeichnis

Ergebnisse dieser Dissertation wurden in international anerkannten Fachzeitschriften mit Gutachtersystem (peer review) zur Veröffentlichung angenommen:

- The Veterinary Journal (akzeptiert: 23.09.2016)
**Functional anatomy of the equine temporomandibular joint:
collagen fiber texture of the articular surfaces**
K. Adams, E. Schulz-Kornas, B. Arzi, K. Failing, J. Vogelsberg, C. Staszuk
DOI: 10.1016/j.tvjl.2016.09.006
Volume 217, November 2016, Pages 58 - 64
- The Veterinary Journal (akzeptiert: 18.04.2018)
**Functional anatomy of the equine temporomandibular joint:
histological characteristics of the articular surfaces and underlining
tissues**
K. Adams, E. Schulz-Kornas, B. Arzi, K. Failing, J. Vogelsberg, C. Staszuk

Teilergebnisse dieser Dissertation wurden auf folgenden Fachkongressen präsentiert:

- IGFP Kongress, Niedernhausen, 05. - 06. März 2016
**Funktionelle Anatomie des equinen Kiefergelenkes:
Kollagenfaserarchitektur und biomechanische Belastungen**
Kevin Adams*, Ellen Schulz-Kornas, Carsten Staszzyk
(ISBN: 978-3-00-052313-7)
- 25th European Congress of Veterinary Dentistry, Dublin, Ireland, 19. - 22. May 2016
The equine temporomandibular joint: collagenous fibrous texture of the articular surfaces
Kevin Adams, Ellen Schulz-Kornas, Carsten Staszzyk*
(ISBN: 978-0-9932920-1-9)
- 2nd Int. Congress of the German Equine Veterinary Association, Specialist sub-division Equine Diseases of the German Veterinary Medical Society, Berlin, Germany, 28. - 29. October 2016
Anatomy and biomechanics of the equine temporomandibular joint: Organization of the collagen fiber system of the articular surfaces
K Adams*, E Schulz-Kornas, B Arzi, J Vogelsberg, C Staszzyk
(ISBN: 978-3-86345-342-8)
Der Referent erhielt für diese Präsentation den Preis für einen ausgezeichneten Vortrag.
- IGFP Kongress, Niedernhausen, 10. - 11. März 2017
Das equine Kiefergelenk: anatomisch- histologische Untersuchungen als Basis für die manuelle Funktionsanalyse und pathohistologische Diagnostik
Kevin Adams*, Ellen Schulz-Kornas, Carsten Staszzyk
(ISBN: 978-3-00-055915-0)

* Referent

9 Erklärung

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Arbeit, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Ort, Datum

Unterschrift

10 Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Carsten Staszyk bedanken, der es mir ermöglichte ein so spannendes Thema zu bearbeiten. Für die stetige Förderung und Forderung, das Engagement und die Verlässlichkeit, die ich die ganze Zeit über erfahren durfte, bin ich sehr dankbar.

Ich danke der Karl und Veronica Carstens-Stiftung, insbesondere der Leiterin des Promotionsförderprogramms, Frau Dr. Beate Stock-Schröer, für die inhaltliche und finanzielle Unterstützung meiner Doktorarbeit. Ich hoffe, dass die Zusammenarbeit über die Promotion hinaus bestehen bleibt.

Ich danke der IGFP (Internationale Gesellschaft zur Funktionsverbesserung der Pferdezähne) für die Forschungsförderung und Unterstützung meiner Dissertation.

Ich danke den Co-Autoren meiner beiden wissenschaftlichen Veröffentlichungen: Dr. Ellen Schulz-Kornas, Dr. Boaz Arzi, Dr. Klaus Failing, Jörg Vogelsberg und Prof. Dr. Carsten Staszyk für die konstruktive Zusammenarbeit. In diesem Zusammenhang gilt ein besonderer Dank Frau Dr. Ellen Schulz-Kornas für die interessanten Einblicke in das Max-Planck-Weizmann-Zentrum für integrative Archäologie und Anthropologie, die ich während der guten Zusammenarbeit gewinnen durfte.

Ich danke Dr. Klaus Failing und Andreas Schaubmar für ihre Unterstützung beim statistischen Teil meiner Doktorarbeit, für die Auswahl der geeigneten statistischen Methoden, für die Hilfe beim Auswerten der Daten und für die Unterstützung bei der Interpretation der Ergebnisse.

Ich danke Lena Kaiser und Jörg Vogelsberg für die unentwegte Unterstützung bei den Laborarbeiten.

Ich danke Martina Gerwert und Eva Kammer für ihre Hilfe beim Erstellen der Grafiken – ohne sie wären die ausgezeichneten Abbildungen nicht zustande gekommen.

Ich danke der gesamten AG Staszyk für die schöne Zeit in Gießen, die ich nie vergessen werde.

Ich danke meiner Patentante Margrit und meiner Freundin Sara sowie meinen Freunden für die unermüdliche und vielfältige Unterstützung über die gesamte Phase der Doktorarbeit.

Ich danke Mareike Arts und ihrer ehemaligen Wohngemeinschaft – sie haben mich immer gastfreundlich und völlig unkompliziert bei all meinen Aufenthalten in Gießen aufgenommen.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6717-5



9 783835 196717 5