SFB13

*K.S. Lips, M. Madzharova, I. Panzer, K. Kliemann, T. Bäuerle, Y. Liu, M. Kampschulte, A. Langheinrich, H. Christian, R. Schnettler, O. Kilian

Knochenstatus von nikotinischen Acetylcholinrezeptor alpha7 Knockout-Mäusen

Hintergrund

Kürzlich wurde gezeigt, dass das parasympathische Nervensystem über den muskarinischen Acetylcholinrezeptor M3 das Knochenremodelling dahingehend beeinflusst, dass Knochenaufbau gefördert und Knochenabbau gehemmt wird. Acetylcholin, der Neurotransmitter des parasympathischen Nervensystems, wirkt über zwei verschiedene Rezeptorklassen. Einmal über muskarinische G-Protein-gekoppelte Rezeptoren und zum Anderen über nikotinische Kationenkanäle, die als Pentamere aus 5 Untereinheiten aufgebaut sind. Der bekannteste nikotinische Acetylcholinrezeptor ist als Homopentamer aus 5 alpha7 Untereinheiten aufgebaut und ist besonders permeable für Calciumionen. Ihm wird eine entscheidende Bedeutung beim cholinergen anit-inflammatorischen Signalweg zugeschrieben. Wir untersuchen in dieser Studie, ob auch der nikotinische Acetylcholinrezeptor alpha7 am Knochenremodelling beteiligt ist.

Methode

Es wurden 8 weibliche 16-Wochen alte nikotinische Acetylcholinrezeptor alpha7 Knockout-Mäuse und ihre korrespondierenden Wildtypen (n=8) mittels vCT, MRT und DXA-Messungen untersucht. Nach Euthanasie wurden Wirbel und lange Röhrenknochen entnommen und histologisch, histomorphometrisch, emzym- und immunhistochemisch, elektronenmikroskopisch, molekularbiologisch und mittels micro-CT analysiert.

Ergebnisse

Erste Ergebnisse zeigen keine signifikanten Unterschiede in der Knochendichte sowie in der Verteilung der versorgenden Blutgefäße. Der mittels real-time RT-PCR ermittelte relative mRNA-Gehalt von alkalischer Phosphatase und Osteocalcin stellt ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen Knockout- und Wildtyp-Mäusen dar. Mittels von Kossa Färbung an Epon-eingebetteten Schnitten entsteht der Eindruck, dass in den Knockout-Mäusen der Anteil an Osteoid erhöht ist. Diese Ergebnisse werden durch histologische Auswertungen von Paraffinschnitten, bei denen die Trabekel in der Spongiosa von Knockout-Mäusen verdickt sind bestätigt.

Schlussfolgerung

Unsere Ergebnisse liefern Hinweise darauf, dass der nikotinische Acetylcholinrezeptor alpha7 im Gegensatz zum muskarinischen Acetylcholinrezeptor M3 keinen entscheidenden Einfluss auf das Knochenremodelling ausübt.

Gefördert durch DFG SFB/TRR 79

Korrespondenzanschrift
Katrin Susanne Lips
Justus-Liebig-Universität Giessen
Kerkraderstr. 9
35394 Giessen
Deutschland

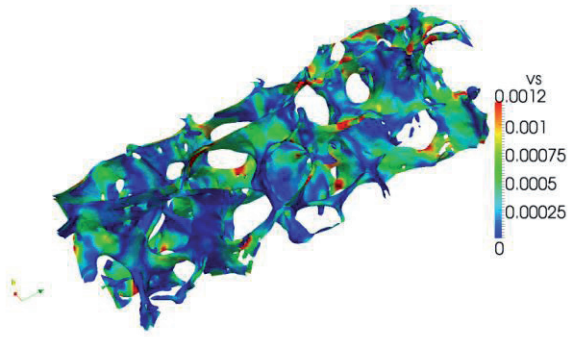
SFB14

*R. Mueller, C. Landsberg, A. Voigt, M. Bobeth, A. Deutsch, A. Langheinrich

Diffuse-domain approach for mathematical modelling of mechanically stimulated remodelling of trabecular bone

Remodelling of trabecular bone is stimulated by the mechanical loading of the trabeculae. Simulation of the remodelling process requires extremely time consuming calculations of the deformation of the trabecular structure under loading. Numerous researchers investigated the mechanical properties of trabecular bone using voxel-based micro finite element (µFE) models. Direct conversion of voxels, gained from computer tomography, into a hexahedral FE mesh is a robust method, but results in a mesh with rough surfaces. The generation of good tetrahedral meshes is still a nontrivial problem and leads to inherently unstructured meshes, prohibiting the application of geometric multigrid methods for efficient numerical computation. To overcome these disadvantages, a diffuse-domain approach is introduced which only requires the meshing of a regular domain in which the trabecular bone is embedded. Thereby, the trabecular bone structure is implicitly described by a phase-field function. This approach further allows adaptive meshing to increase computational efficiency. The trabecular bone geometry is obtained from µCT data and the local bone deformations are computed within the diffuse-domain approach. The results are compared with classical voxel-based µFE calculations. As an example, the figure shows the volumetric strain in an osteoporotic human bone specimen from iliac crest, exhibiting localized regions of highly strained trabeculae. The volumetric strain is thought to be a relevant mechanical quantity for mechanotransduction in bone. The remarkably higher computational efficiency of the adaptive diffuse-domain approach suggests this approach to be especially suited for future simulations of bone resorption and formation processes within trabecular bone. Combining µFE calculations with a cell population model, we consider the spatiotemporal change of bone–cell populations during remodelling of a bone specimen under mechanical loading.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Robert Mueller
TU Dresden
Hallwachsstraße 3
01062 Dresden
Deutschland

SFB15

*P. Simon, K.S. Lips, D. Grüner, R. Kniep

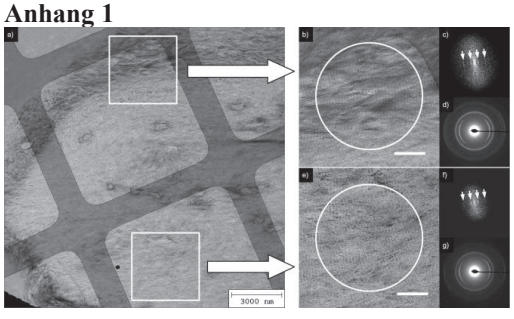
High-resolution electron microscopy of the mineralization front of bone

The ultrastructure of bone has been studied extensively, but only a small number of studies focus on the mineralization and growth of bone on atomic scale in vivo. The objective of this work is to examine the mineralization front, i. e. the locus where structural organization on an ultrstructural level is introduced by mineralization of apatite on collagen, and to compare the structures of the mineralization front and mineralized bone. This work focuses on the inorganic component, including its arrangement inside the collagen fibrils and differences between fibrils of the same bundle. For transmission electron microscopy (TEM) experiments we used unstained, OsO4 fixed thin sections of rabbit tibia.

The mineralization of bone occurs in mineralization fronts that form an interface layer between the non-mineralized osteoid and mineralized bone. There are also partially mineralized collagen fibrils in bone, which reveal the same arrangement, regular shape, and size of apatite platelets as collagen fibrils in the mineralization zone (Fig. 1). Apatite platelets with irregular shapes are observed on the outer boundary of the mineralization zone, i.e. the interface with non-mineralized collagen or osteoblasts. Frequently, these platelets reveal contrast variations that hint at internal structural mismatch. High-resolution TEM micrographs reveal the presence of small crystallites of apatite with an approximately 40° wide spread of the orientation of the crystallographic c-axes in the plane of the platelet, and very little orientation spread out of the plane.

Fig. 1: (a) Comparison of the mineralization front with mineralized bone. (b) Magnified view of part of the mineralization front. Apatite crystallites are arranged in bands perpendicular to collagen fibrils. (c) A Fourier diffractogram with peaks (arrows) due to the striped pattern of the collagen fibrils. (d) Diffraction pattern obtained from the region inside the circle in (b). The c-axes of apatite crystals are preferably oriented along the collagen fibrils. (e) Magnified view of mineralized bone, also revealing an arrangement of apatite crystallites in bands. (f) and (g) show the corresponding Fourier diffractogram and diffraction pattern. Scale bars, 3 µm (a) and 700 nm (b and e).

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Paul Simon
Max-Planck-Institut für Chemische Physik fester Stoffe
Nöthnitzer Srasse 40
01187 Dresden
Deutschland