



Muskulatur

Die Skelettmuskulatur ermöglicht alle Bewegungen, die mit dem Skelett verbunden sind. Ein ganzer Muskel besteht aus vielen Bündeln von Muskelfasern oder Myofasern. Sie enthalten mehrere Myofibrillen, die wiederum aus Tausenden von Myofilamenten bestehen, was lange Ketten aus Sarkomeren sind. Durch die Proteine Aktin und Myosin kommt es auf dieser Ebene zur Krafterzeugung.¹

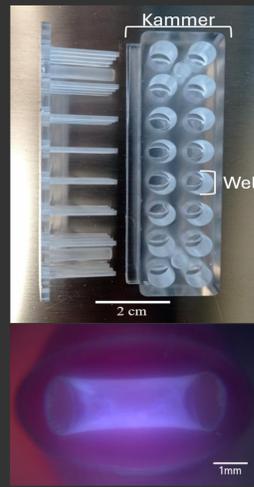
Duchenne-Muskeldystrophie (DMD) ist die häufigste vererbte Muskelerkrankung. Da das rezessiv vererbte Merkmal an das X-Chromosom gebunden ist, sind hauptsächlich Männer betroffen, nämlich etwa einer von 3500–5000 Neugeborenen. Die Erkrankung verringert die Synthese vom Protein Dystrophin, was einen starken Muskelschwund bedeutet. Da DMD bis heute unheilbar ist, führt die Erkrankung in der Regel im dritten Lebensjahrzehnt zum Tod.²

Vorherige Forschungsergebnisse konnten zeigen, dass die homöostatische Spannung (Kraft ohne äußere Stimulation) bei DMD-Zellen größer zu sein scheint als bei gesunden Zellen.³ Dieser Anomalie soll sich qualitativ gewidmet werden und quantitativ soll die homöostatische Spannung zeitlich vermessen werden.

Zellkultur

Das benötigte Muskelgewebe wurde mithilfe von Myoblasten-Kulturen hergestellt. Myoblasten sind Vorläuferzellen, die sich zu funktionsfähigen Muskelzellen entwickeln können. In diesem Projekt wurden Maus-Muskelzellen der C2C12 Linie sowie gesunde und mit DMD erkrankte menschliche Muskelzellen verwendet. Eine ausreichende Anzahl von Myoblasten wird in einem Inkubator, der die natürliche Umgebung der Zellen simuliert, kultiviert.

Sodann können Gewebe in speziell präparierte Acrylglaskammern eingesät werden. In einer gelartigen extrazellulären Matrix ordnen sich die Myoblasten neu an, um zu Muskelzellen zu verschmelzen und den für die Messungen erforderlichen Muskelstrang auszubilden. Dieser umschließt zwei Pfosten, die aufgrund der homöostatischen Spannung zusammengezogen werden.

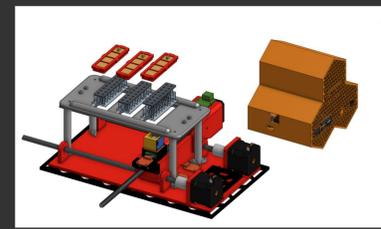


Aufbau

Es wurde ein Mikroskop anhand folgender **Rahmenbedingungen** entwickelt:

- Ausreichende Bildqualität zur Beobachtung der Pfostenbewegung (ca. 10µm über 14 Tage)
- Aufnahme Frequenz von einem Bild pro Stunde pro Muskelstrang mit einer Beobachtung von möglichst vielen Strängen gleichzeitig
- Funktionsfähig in Inkubator-Umgebung (37°C & 100% Luftfeuchtigkeit)

Realisiert wurde dieses Konzept durch einen optischen Aufbau bestehend aus einem Kameramodul, einer speziell abgestimmten Linse sowie einem piezoelektrischen Fokusmodul, montiert auf zwei beweglichen Achsen, gesteuert durch einen Mikrocontroller und einen "Raspberry Pi"-Mini-Computer mit zahlreichen 3D gedruckten Komponenten.



Methodik

Bildverarbeitung

Zur Bildverarbeitung kommen leicht zugängliche Python-Algorithmen (OpenCV) sowie eigens trainierte neuronale Netzwerke zum Einsatz. Diese ermöglichen die präzise Ermittlung der Auslenkungen der Pfosten während des Versuchs. Zusätzlich wird die Breite der Pfosten in Pixeln ausgelesen.

Skalierung

Da die reale Breite eines Pfostens bekannt ist, können die aus den Bildern gewonnenen Auslenkungen mithilfe des Verhältnisses der Breite der Pfosten in Pixeln zur realen Breite skaliert werden.

Kraft

Gemäß dem Hooke'schen Gesetz ergibt sich die auf den Pfosten wirkende Kraft F als Produkt aus der Auslenkung x und der Steifigkeit k des Pfostens.

$$F = x \cdot k$$

Die Steifigkeit des Pfostens wurde mithilfe eines einfachen Versuchsaufbaus experimentell überprüft. Im Rahmen des Versuchs wurden Pfosten mit einem Mikrometertrieb gezielt ausgelenkt und die dabei wirkende Kraft gemessen. Dies lieferte konsistente und stabile Werte für die Steifigkeit der Pfosten.

Ergebnisse

Erste Messreihe mit früher Version des Mikroskops: Die gemessenen Daten sind sehr sprunghaft, teils gibt es negative Kraft - das ist physikalisch nicht sinnvoll. Der Durchschnitt aller aufgenommenen Daten zeigt, dass die durchschnittliche Kraft der DMD-Zellen größer ist, als die der gesunden Zellen.

$$\overline{F}_{\text{gesund}} = 0.3 \pm 3.9 \text{ mN}$$

$$\overline{F}_{\text{DMD}} = 1.6 \pm 2.8 \text{ mN}$$

Zweite Messreihe mit verbesserter Version: Sowohl visuell in den Bildern als auch in den Daten ist eine deutliche Kraft (Bewegung der Pfosten) zu erkennen. Die Kraftentwicklung entspricht dabei einem beschränkten Wachstum, bei dem sich die Kraft einem Grenzwert annähert. Dies zeigt, dass unsere Methode sinnvolle Daten produziert. In einem nächsten Schritt könnten diese nun systematischer für mehr Proben und in längeren Messreihen erhoben werden. Darüber hinaus sind Verbesserungen, zum Beispiel die Integration von automatischer Stimulation der Zellen, möglich.

