

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>1. Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1    Peroxisomen und ihre Stoffwechselfunktionen .....	1
1.1.1    Entdeckung der Peroxisomen .....	1
1.1.2    Bedeutung der Peroxisomen im Lipidmetabolismus.....	1
1.1.3    Schutzfunktion der Peroxisomen vor reaktiven Sauerstoffspezies.....	5
1.2    Kooperation von Peroxisomen und Mitochondrien in Stoffwechselprozessen .....	6
1.3    Peroxine und die peroxisomale Biogenese .....	8
1.3.1    Übersicht der bisher bekannten Peroxine .....	8
1.3.2    Der peroxisomale Matrixproteinimport .....	11
1.3.3    Die peroxisomale Membranbiogenese.....	12
1.4    Peroxisomale Proliferation.....	13
1.4.1    Der Prozess der Vermehrung von Peroxisomen .....	13
1.4.2    Die PEX 11-Isoformen .....	14
1.4.2.1    PEX11 $\alpha$ .....	15
1.4.2.2    PEX11 $\beta$ .....	16
1.4.2.3    PEX11 $\gamma$ .....	16
1.5    Peroxisomale Funktionsstörungen .....	17
1.5.1    Peroxisomale Biogenesestörungen .....	17
1.5.2    Peroxisomale Einzelenzymdefekte .....	18
1.5.3    Therapiemöglichkeiten .....	19
1.6    Tiermodelle zur Erforschung von peroxisomalen Biogenesedefekten .....	20
1.6.1    Bekannte Tiermodelle mit peroxisomalen Gendefekten .....	20
1.6.2    Details über die <i>Pex11<math>\beta</math></i> -Knockoutmaus .....	20
1.7    Der Prozess der Odontogenese.....	22
1.7.1    Das Knospenstadium .....	22
1.7.2    Das Kappenstadium .....	23
1.7.3    Das Glockenstadium.....	24
1.7.4    Die Differenzierung der Odontoblasten.....	25
1.7.5    Die Differenzierung der Ameloblasten.....	26
1.7.6    Die Differenzierung der Zahnwurzel und der Zahndurchbruch .....	27
1.8    Kraniofaziale und dentoalveolare Auswirkungen von peroxisomalen Biogenesestörungen....	28
1.9    Zielsetzung der Arbeit.....	30
<b>2 Material und Methodik .....</b>	<b>31</b>
2.1    Versuchstiere, deren Fixierung und Einbettung der Präparate.....	31
2.1.1    Versuchstiere .....	31
2.1.2    Gewebefixierung.....	32
Fixantien und Puffer .....	32

## Inhaltsverzeichnis

---

1.	PBS (phosphate buffered saline) 10x Stammlösung: .....	32
2.	Fixierungs-Lösung:.....	32
2.1.3	Paraffineinbettung.....	32
2.2	Labogeräte und Chemikalien .....	33
2.2.1	Labogeräte .....	33
2.2.2	Verbrauchsmaterialien.....	35
2.2.3	Chemikalien .....	37
2.3	Herstellung der Schnitte für die verschiedenen Färbungen .....	39
2.4	Hämatoxylin-Eosin (HE) -Färbung und Bildverarbeitung.....	39
2.5	Immunfluoreszenz.....	40
2.5.1	Entparaffinieren und Rehydrieren: .....	40
2.5.2	Antigenfreisetzung.....	40
2.5.3	Citratpuffer .....	41
2.5.4	Blocken der unspezifischen Bindungsstellen .....	41
2.5.5	Primärantikörper .....	41
2.5.6	Sekundärantikörper.....	42
2.5.7	Doppelimmunfluoreszenzen .....	43
2.5.8	Kernfärbung mit Hoechst und TOTO .....	43
2.5.9	Eindecken und Lagerung der Präparate .....	43
2.6	Fluoreszenzmikroskopie .....	44
2.7	Bestimmung der Infiltration der Schnitte durch die Antikörper .....	44
2.8	Statistische Analyse .....	45
<b>3</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>46</b>
3.1	Kompletaufnahmen der ersten Molaren der Mäuse zur Beurteilung vorhandener Unterschiede in den Zellen der Zähne .....	46
3.1.1	HE-Aufnahmen der ersten Molaren.....	47
3.1.2	Hoechst-Zellkernaufnahmen.....	48
3.1.3	statistische Auswertung der Zellkernaufnahmen.....	50
3.2	Vergleich der mitotischen Aktivität in den ersten Molaren der drei Genotypen mithilfe des Ki-67-Antikörpers.....	53
3.3	Charakterisierung und Quantifizierung der peroxisomaler Proteine in den ersten Molaren der drei Genotypen mittels Immunfluoreszenz .....	56
3.3.1	Nachweis der Katalase in den ersten Molaren der Mäuse .....	56
3.3.2	Nachweis des peroxisomalen Matrixproteins PEX14 in den dentalen Zellen.....	60
3.3.3	Immunfluoreszenz der ersten Molaren mit dem peroxisomalen Matrixprotein PEX13.....	64
3.3.4	Ausprägung des PTS1-Matrixprotein-Rezeptorproteins PEX5 in den dentalen Zellen .....	67
3.3.5	Untersuchung der Ausprägung von PEX19 in den ersten Molaren der Mäuse .....	68
3.3.6	Immunfluoreszenz der ersten Molaren mit PEX3 .....	72
3.3.7	Fazit zum peroxisomalen Kompartiment in dentalen Zellen der verschiedenen Genotypen	73

## Inhaltsverzeichnis

---

3.4	Charakterisierung und Quantifizierung der Veränderungen in den Mitochondrien der ersten Molaren .....	73
3.4.1	Immunfluoreszenz mit den mitochondrialen Atmungskettenkomplex IV (OxPhos) .....	73
3.4.2	Ausprägung des mitochondrialen SOD2 in den dentalen Zellen der Mäuse.....	75
3.5	Zytoskelettale Komponenten in Ameloblasten und Odontoblasten der Inzisiven und ersten Molaren .....	79
3.5.1	Nachweis von Vimentin in den dentalen Zellen.....	79
3.5.2	Nachweis von Cytokeratinen in den dentalen Zellen .....	83
3.5.3	Nachweis von Amelogenin als Marker für die Schmelzmineralisierung .....	88
3.6	Charakterisierung und Vergleich der Odontoblasten und des Alveolarknochens der drei Genotypen anhand geeigneter Marker .....	91
3.6.1	Markierung der Osteoblasten und des Alveolarknochens mithilfe eines Osteopontinmarkers	
	91	
3.6.2	Markierung der Odontoblasten und des Alveolarknochens mit Osteokalzin .....	93
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>96</b>
4.1	Vergleich der mitotischen Aktivität von Wildtypmäusen mit den transgenen Mäusen.....	96
4.2	Ausprägung der Katalase in Ameloblasten und Odontoblasten der transgenen Mäuse und deren Auswirkung auf die Redox-Balance.....	97
4.3	Ausprägung und Funktion des peroxisomalen Kompartiments in den verschiedenen Zellen der Zähne in den untersuchten Genotypen .....	99
4.3.1	Reduktion der Peroxisomenanzahl in den <i>Pex11β</i> -Knockoutmäusen.....	99
4.3.2	Wachstums- und Transkriptionsfaktoren und deren Einfluss auf die Peroxisomale Biogenese und die Odontogenese .....	101
4.3.3	Mögliche Bedeutung der Peroxisomen im Lipidstoffwechsel der Zahngewebe .....	103
4.4	Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und deren Funktion im Zusammenspiel von Peroxisomen und Mitochondrien .....	104
4.4.1	OxPhos-Komplex IV- Herunterregulierung in den <i>PEX11β</i> -Knockoutmäusen .....	104
4.4.2	SOD2-Hochregulierung in den Ameloblasten der <i>Pex11β</i> -Knockoutmäuse .....	106
4.4.3	Mitochondriale Morphologie und Proliferation bei peroxisomalen Biogenesestörungen.	107
4.5	Beziehung der Peroxisomen zu Intermediärfilamenten in den Zahngeweben.....	109
4.6	Hypomineralisationserscheinungen in den Hartgeweben der <i>Pex11β</i> -Knockoutmäuse.....	111
4.6.1	Bedeutung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) für die Odontogenese .....	111
4.6.2	Connexin 43 und seine Bedeutung für die Mineralisation von Hartgeweben .....	113
4.6.3	Hypomineralisation des Dentins und des Alveolarknochens in den <i>Pex11β</i> -Knockoutmäusen.....	114
4.6.4	Schmelzhypomineralisation und Zusammenhang mit Hypomineralisation des Alveolarknochens und Dentins .....	116
4.6.5	Bedeutung der Peroxisomen im $Ca^{2+}$ -Haushalt von Schmelz, Dentin und Knochen .....	117
4.7	Der menschliche <i>PEX11β</i> -Gendefekt im Vergleich zu den <i>Pex11β</i> -Knockoutmäusen .....	119

## **Inhaltsverzeichnis**

---

4.8	Patienten mit peroxisomalen Biogenesestörungen im klinischen Alltag.....	120
4.9	Ausblick .....	123
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>125</b>
<b>6</b>	<b>Summary (englische Zusammenfassung) .....</b>	<b>127</b>
<b>7</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>129</b>
<b>8</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>132</b>
<b>9</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>135</b>
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>136</b>
<b>11</b>	<b>Erklärung zur Dissertation.....</b>	<b>160</b>
<b>12</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>161</b>