

Mesoskopische Struktur biologischer Materialien

von Peter Fratzl, Wien

Vortrag, gehalten am 22. November 1995

Viele biologische Materialien, wie zum Beispiel Knochen oder Holz müssen hohen mechanischen Anforderungen genügen ohne ein allzu hohes Gewicht aufzuweisen. Deshalb ist das Studium dieser Materialien nicht nur für Biologie und Medizin, sondern auch für die Materialphysik von großem Interesse (FRATZL, 1995).

Denken wir nur an einen Baumstamm. In erster Näherung handelt es sich um eine zylindrische Säule, die das Gewicht der Baumkrone tragen muß und auch eine ausreichende Biegefestigkeit aufweisen soll, damit der Baum auch bei starkem Wind aufrecht bleiben kann. Die leichteste Säule einer bestimmten Höhe, die einer gegebenen Druck- oder Biegebelastung standhält, ist jene mit dem größten

Wert für E/ρ^2 , wobei E der Elastizitätsmodul und ρ die Dichte des Materials sind (ASHBY, 1983). In dieser Kenngröße ist Holz allen gängigen Metallegierungen überlegen und gerade noch mit Diamant vergleichbar (ASHBY, 1989). Der Grund dafür sind der zelluläre Aufbau des Holzes aus vielen parallelen zylindrischen Röhren (den auch für den Wassertransport verantwortlichen Holzzellen), sowie die Qualität des Zellwandmaterials selbst. Darüber hinaus besitzt der Baum die Fähigkeit adaptiven Wachstums, das es ihm ermöglicht, seine mechanische Stabilität durch möglichst gleichmäßige Verteilung der inneren Spannungen zu erhöhen (MATTHEK & KUBLER, 1995). Die Idee des adaptiven Wachstums - in ein Computerprogramm umgesetzt - wird heute erfolgreich beim Design diverser Werkstücke, wie z.B. Brillenfassungen, eingesetzt, um längere Lebensdauern zu erzielen (MATTHEK, 1990).

Ähnliches läßt sich auch über den Knochen sagen, der noch die zusätzliche Besonderheit einer Sandwichkonstruktion, bestehend aus einer kompakten Außenhaut und einem spongiösen Inneren, besitzt. Dieser Aufbau erhöht noch zusätzlich die Festigkeit bei geringem Gewicht (VINCENT, 1990, FUNG, 1993). Durch Beobachtungen im Lichtmikroskop war schon lange bekannt, daß der innere Aufbau des Knochens in Hinblick auf die typische mechanische Belastung optimiert ist. So hat WOLFF schon 1870 den inneren Aufbau des Oberschenkelkopfes mit einer gotischen Kathedrale verglichen, weil die Verstrebrungen (die Trabekel des Knocheninneren) etwa dem typischen

Verlauf der Hauptspannungsrichtungen folgen. Heute kann die Verteilung der Materialdichte im Inneren des Knochens mit Hilfe von Computerprogrammen, wie sie üblicherweise in den Ingenieurwissenschaften eingesetzt werden („Finite Elemente Methode“), quantitativ vorhergesagt werden (CARTER & ORR 1992, REITER *et al.*, 1991, 1993): Die Prozesse, die bei der Entstehung von mineralisiertem Gewebe (wie z.B. Knochen) auftreten, dienen inzwischen auch als Vorbild für die chemische Synthese neuartiger Materialien (MANN & OZIN, 1996).

Weit weniger ist über die supramolekulare Struktur dieser Materialien bekannt. In diesem mesoskopischen Größenbereich (von wenigen Nanometern bis Mikrometern) können viele biologische Materialien als Faserverbundwerkstoffe aufgefaßt werden. Holz ist in diesem Sinne ein Zellulosefaserverbund mit einer Matrix aus Lignin und Hemizellulose (FENGEL & WEGENER, 1984) und Knochen ein Kollagenfaserverbund mit harten Mineraleinlagerungen aus Kalziumphosphat (POSNER, 1987, BONUCCI, 1993). Eine der Besonderheiten von Holz und Knochen gegenüber künstlich hergestellten Faserverbundmaterialien ist sicherlich die äußerst feine Durchmischung der Komponenten, die praktisch auf molekularer Ebene, d.h. im Bereich weniger Nanometer, erfolgt, was besonders gute mechanische Eigenschaften bedingt (WAGNER & WEINER, 1992). Andererseits wird die Erforschung solcher Strukturen besonders schwierig, weil Experimentiertechniken mit entsprechend hoher Auflösung verwendet wer-

den müssen. Transmissionselektronenmikroskopie ist in diesem Zusammenhang sowohl für Holz (FENGEL & WEGENER, 1984) als auch für Knochen (BONUCCI, 1993, TRAUB *et al.* 1989, LANDIS *et al.*, 1993, 1996) angewandt worden. Eine besondere Schwierigkeit ist hier allerdings die Präparation geeignet dünner Proben, ohne die ursprüngliche Struktur dieser extrem heterogenen Materialien zu beeinflussen.

Hier hat sich der Einsatz von Röntgenstreuungsmethoden, insbesondere der Röntgenkleinwinkelstreuung („Small-Angle X-ray Scattering“, SAXS) bewährt, die in den letzten Jahren vor allem in Wien systematisch für die Erforschung von Knochen (FRATZL *et al.*, 1991, 1992, 1994, 1996abc, 1997ab) und Holz (JAKOB *et al.*, 1994, 1995, 1996) weiterentwickelt worden ist. Der Hauptvorteil von SAXS liegt in dem Umstand, daß praktisch keine Probenpräparation erforderlich ist, und somit die Struktur wirklich im nativen Zustand erforscht werden kann. Das erhaltene Streubild liefert zwar nur indirekte Aussagen über die Struktur, dafür aber mit hoher statistischer Genauigkeit. Im folgenden werden die Methode sowie einige typische Ergebnisse vorgestellt.

Röntgenkleinwinkelstreuung

Bei dieser Technik wird der Strahl einer punktförmigen, monochromatischen Röntgenquelle durch die Probe geschickt und die unter kleinen Winkeln gestreute Intensität, z.B. in einem ortsauflösenden

Flächendetektor gemessen. Abb. 1 zeigt schematisch den Aufbau einer SAXS-Kammer. Die Bewegung der Probe in die Richtungen X und Y kann von einem Computer aus gesteuert werden und somit das SAXS-Signal an unterschiedlichen Positionen der Probe gemessen werden („Scanning-SAXS“, FRATZL *et al.* 1997b).

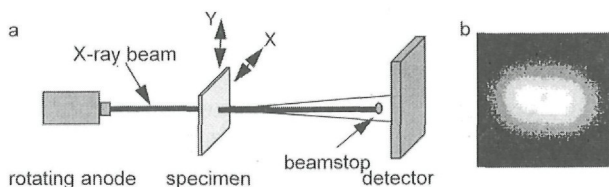


Abb.1: (a) Schema einer SAXS-Apparatur. Röntgenstrahlen aus einem Drehanodengenerator („rotating anode“) treffen auf die Probe. Der Anteil der Strahlung, der unter kleinen Winkeln gestreut wurde, wird im Detektor gemessen. Der Rest wird mittels eines Primärstrahlfängers („beamstop“) ausgeblendet.

(b) Typisches SAXS-Spektrum. Die unterschiedlichen Graustufen symbolisieren die Streuintensitäten (weiß = hohe, schwarz = niedrige Intensität.)

(Aus RINNERTHALER *et al.*, 1996)

Der SAXS-Kontrast entsteht durch Inhomogenitäten der Elektronendichte in der Probe. Dabei erzeugt eine Inhomogenität der Breite b ein Signal mit einer Breite proportional zu λ/b , wobei λ die Wellenlänge der Röntgenstrahlung (typisch, $\lambda = 0.154 \text{ nm}$) bezeichnet.

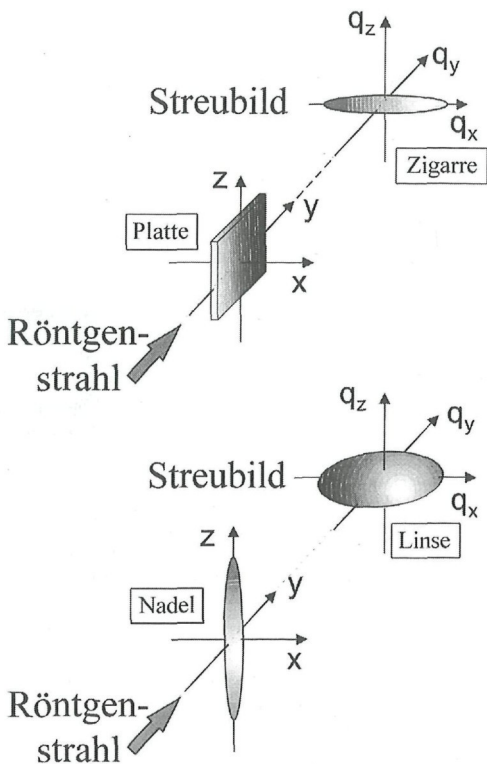


Abb.2: SAXS invertiert die Dimensionen und transformiert eine Platte in ein zigarrenförmiges Streubild, das senkrecht auf die Platte steht. Das SAXS-Spektrum einer Nadel gibt ein linsenförmiges Streubild, das senkrecht auf die Nadel steht.

Wie in Abb. 2 gezeigt, führt das zu einer Invertierung der Dimensionen des streuenden Objekts. Zum Beispiel wird ein plattenförmiges Teilchen in ein etwa

zigarrenförmiges Streusignal transformiert. Da die Messung des Streusignals zu kleinen Winkeln hin (durch das Ausblenden des Primärstrahls, Abb. 1) begrenzt ist, führt das dazu, daß SAXS nur auf Größen im Bereich 0.5 - 50 nm empfindlich ist.

Genau genommen ist das Streusignal proportional zum Quadrat der Fouriertransformierten der Elektronendichteverteilung in der Probe. Detaillierte Grundlagen können in Lehrbüchern (GUINIER & FOURNET, 1955, GLATTER & KRATKY, 1982) oder Ferienschulmanuskripten (z. B. FRATZL, 1996 a,b) nachgelesen werden. Hier soll aus Gründen der Einfachheit auf eine Beschreibung der mathematischen Methoden zur Auswertung von SAXS-Spektren verzichtet werden.

Mineralkristalle im Knochen:

In einer Kooperation zwischen dem Institut für Materialphysik der Universität Wien und dem Ludwig Boltzmann Institut für Osteologie wurde SAXS als eine Methode zur Bestimmung von Größe und mittlerer Ausrichtung der Mineralkristalle im Knochen etabliert.

Ein Querschnitt durch einen typischen Wirbelknochen ist in Abb. 3a zu sehen. Die Trabekel bilden das Netzwerk im Inneren (Spongiosa). Jeder dieser Trabekel ist etwa 200 μm dick und aus einem Faserverbund aus Kollagen und Mineral (Abb. 3b) aufgebaut.

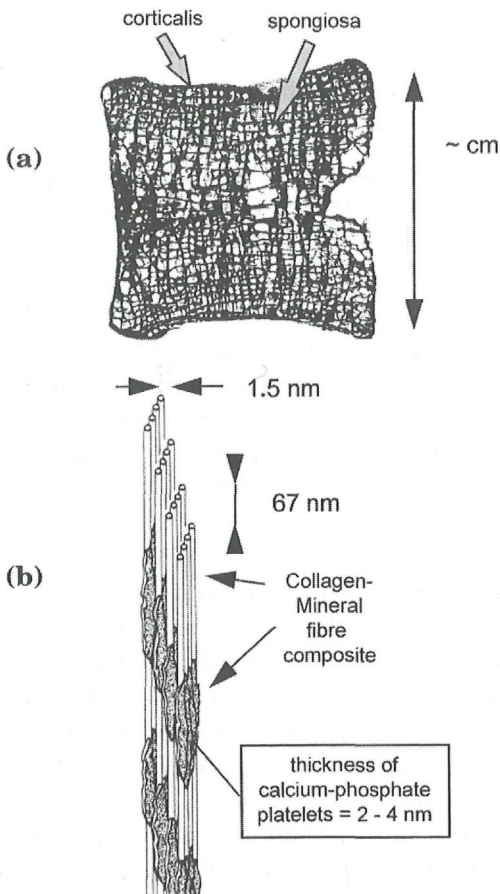


Abb. 3: (a) Querschnitt durch einen Wirbelknochen und (b) schematischer Aufbau des Kollagen/Mineral Verbundes dem die Knochenmatrix besteht (nach LANDIS *et al.*, 1996).

Die Kollagenmoleküle (etwa 1.5 nm dicke Triplehelizes) sind in Längsrichtung periodisch mit einer relativen Verschiebung von etwa 67 nm angeordnet. In die Hohlräume dieser Struktur eingelagert sind Plättchen- oder nadelförmige Mineralkristalle, deren Dicke im Bereich 2 bis 4 nm liegt (LANDIS *et al.*, 1996, FRATZL *et al.*, 1991). Der Elektronendichteunterschied zwischen Kristallen und organischen Molekülen liefert den Kontrast für das SAXS Signal .

Die typische Ausrichtung der länglichen Kristalle kann mit Hilfe der in Abb. 2 skizzierten Beziehung zwischen Form der streuenden Objekte (der Mineralkristalle) und dem entsprechenden Streusignal bestimmt werden. Beispiele sind in Abb. 4 gezeigt. Ein wesentliches Ergebnis solcher Untersuchungen ist, daß die Ausrichtung in verschiedenen Knochentypen (wie Röhrenknochen, Abb. 4e, oder Schädeldecke, Abb. 4f) deutlich unterschiedlich und an die typischen mechanischen Anforderungen des jeweiligen Knochens optimal angepaßt ist. Diese Strukturoptimierung kann sich auch im Verlauf der Altersentwicklung ändern. So haben Untersuchungen der Knochenmineralstruktur in Röhrenknochen von Mäusen gezeigt, daß im embryonalen Tier keine Vorzugsorientierung vorliegt, daß sich diese aber unmittelbar nach der Geburt auszubilden beginnt und schließlich nach mehreren Wochen den endgültigen - auf die mechanischen Anforderungen hin optimierten - Zustand erreicht (FRATZL *et al.*, 1991).

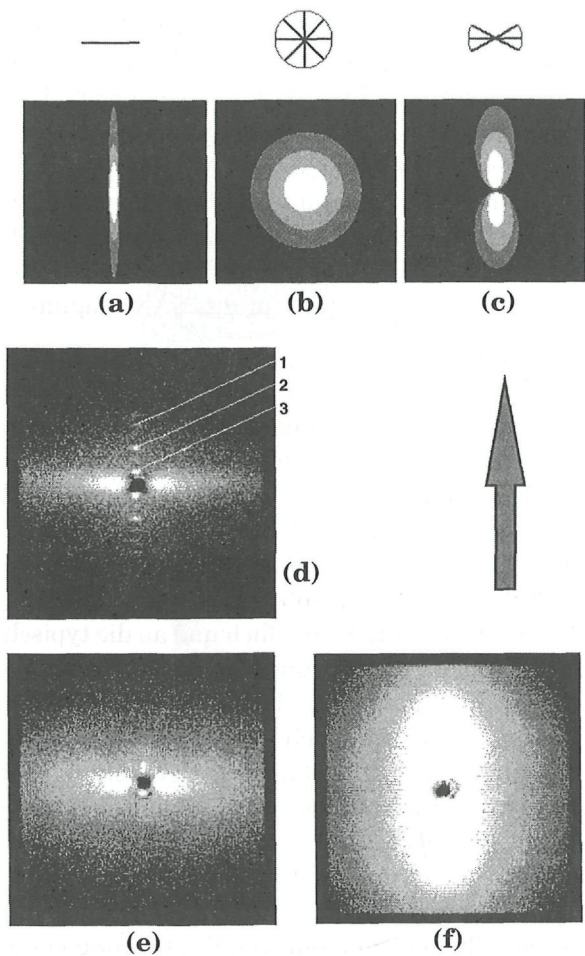


Abb. 4:

Bestimmte Knochenkrankheiten, wie Osteogenesis Imperfecta, können zu einer Störung dieser Richtungsoptimierung und damit zu Knochen von geringer mechanischer Qualität führen (FRATZL *et al.* 1996b). Osteogenesis Imperfecta (auch Glasknochenkrankheit genannt) tritt bei gewissen genetischen Mutationen auf, die zur Bildung von defektem Kollagen führen, dessen Zugfestigkeit stark reduziert ist (MISOF *et al.*, 1977 b)

Abb.4: Wie bereits in Abb.2 skizziert, steht das Streubild einer Nadel oder Platte genau senkrecht auf das streuende Objekt. Daraus folgt das Streubild einer waagrecht stehenden Nadel, wie in (a) skizziert. Wenn nun in einem Bereich des Knochens kleine Mineralkristalle existieren, deren Ausrichtung beliebig ist, so wird das gesamte SAXS Spektrum zu einem kreisförmigen Signal verschmiert (b). Liegt eine Vorzugsorientierung vor, so entsteht ein fächerförmiges oder ellipsoidales SAXS-signal (c), das gerade senkrecht auf die mittlere Ausrichtung der Kristalle steht. In (d) bis (f) sind gemessene SAXS Spektren von Knochen zu sehen (aus FRATZL *et al.*, 1992). (d) zeigt das Spektrum einer mineralisierten Truthahnsehne. In diesem System ist die Kollagenfaserrichtung genau parallel und entlang des Pfeils ausgerichtet. Es ist gut zu sehen, daß das Streusignal im wesentlichen in der waagrechten liegt, was bedeutet, daß die lange Achse der Mineralpartikel parallel zur Faserrichtung des Kollagens verläuft. Darüber hinaus sind noch Reflexe (1., 3., und 5. Ordnung, Bild d) zu sehen, die auf die periodische Anordnung der Struktur in Längsrichtung (67 nm, siehe Abb. 3) zurückgehen. Die Streuung eines Rattenfemurs (e) zeigt, daß die Kristalle parallel zur Röhrenachse des Knochens (in Pfeilrichtung) ausgerichtet sind. In der Calvaria (Schädeldecke) einer Maus (f) sind die Kristalle vorwiegend parallel zur Ebene der Schädeldecke (senkrecht zum Pfeil) ausgerichtet.

Ein zweiter Parameter, der aus den SAXS-Daten gewonnen werden kann ist die mittlere Kristalldicke T . Dieser Parameter ist genau genommen für quaderförmige Mineralpartikel mit den Seitenlängen a , b und c wie folgt definiert (FRATZL, 1994):

$$T = 2(1 - f) / (1/a + 1/b + 1/c),$$

wobei f der Volumenanteil der Mineralphase in der Knochenmatrix ist (der Rest, das heißt der Anteil $1 - f$ wäre organisch, vorwiegend Kollagen und Wasser). Aus der obigen Gleichung folgt zum Beispiel für plättchenförmige Mineralkristalle (d.h. a sehr viel kleiner als b und c), daß $T \approx 2(1 - f)a$. Da man gewöhnlich davon ausgehen kann, daß $f \approx 0.5$, ergibt sich T genau als die Dicke des Plättchens, nämlich a .

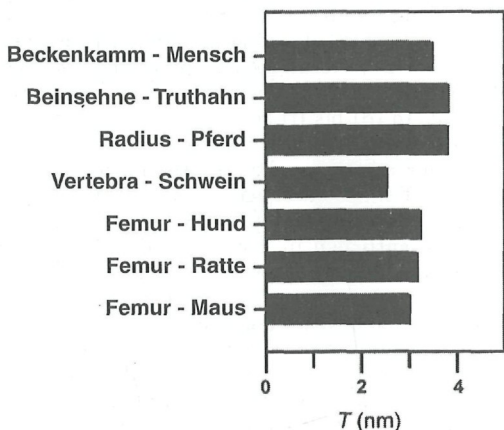


Abb. 5: Mittlere Kristalldicke T für einige Beispiele von Knochengewebe (aus FRATZL *et al.*, 1997a).

Die genaue Interpretation der „Kristalldicke“ T hängt also von einigen Annahmen ab, sie kann aber im großen und ganzen als die kleinste Dimension (Dicke von Plättchen oder Durchmesser von Nadeln) der Mineralpartikel aufgefaßt werden. Abb. 5 zeigt, daß T meist im Bereich von 2 bis 4 Nanometern liegt. Im allgemeinen nimmt T mit dem Alter kontinuierlich zu (FRATZL *et al.*, 1991, 1997a).

Schließlich wurde die SAXS-Technik soweit weiter entwickelt, daß in einem typischen Knochenschliff (z. B. eines Wirbelknochens, Abb. 6) mittlere Dicke und Ausrichtung an verschiedenen Stellen gemessen werden können (Scanning-SAXS, FRATZL *et al.*, 1997b). Die Ortsauflösung dieses Verfahrens beträgt zur Zeit etwa 200 Mikrometer. In Abb. 6 sind einige bemerkenswerte Ergebnisse zu sehen. Erstens sind die Mineralkristalle systematisch parallel zu den Trabekeln ausgerichtet (Abb. 6b). Dieser Umstand optimiert die mechanischen Eigenschaften des Gesamtsystems Wirbelknochen. Ein weiteres Ergebnis ist, daß die Kristalldicke innerhalb der Corticalis (das heißt der äußeren Knochenschicht) von innen nach außen abnimmt (C in Abb. 6c). Bedenkt man, daß T mit dem Alter des Knochens ansteigt, so bedeutet das, daß die äußersten Schichten der Corticalis die jüngsten sind. Das dürfte wohl mit dem Wachstumsprozess dieses Knochens zusammenhängen.

Während die in Abb. 6b gezeigten Ergebnisse eine biomechanische Optimierung der typischen Ausrichtung der Mineralkristalle innerhalb der Spongiosa

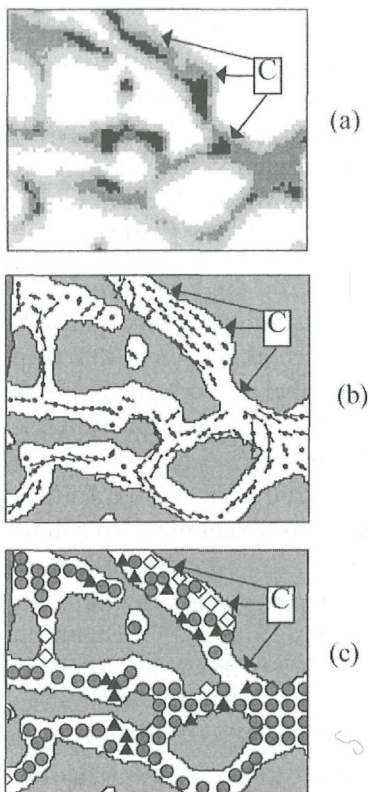


Abb. 6: (a) Elektronendichteverteilung (hell=geringe, dunkel=hohe Dichte) in einem humanen Wirbelknochen (w., 18 Jahre). Die Trabekel, bzw. die Corticalis (C) sind als dunkle Streifen zu sehen. (b) Die mit Scanning-SAXS gemessene typische Ausrichtung und (c) die mittlere Dicke T (weiße Symbole: $T < 3.1$, schwarze: $T > 3.5$ nm) der Mineralkristalle (aus RINNERTHALER *et al.*, 1996).

nahelegen, so wurde in einer anderen Untersuchung am Pferderadius eine ähnliche Optimierung auch in der Corticalis gefunden (FRATZL *et al.*, 1996a). Insbesondere zeigte sich, daß die Mineralkristalle an der Vorderseite des Radius, die üblicherweise sowohl Zug- als auch Druckbelastungen ausgesetzt ist, wesentlich stärker parallel zur Knochenachse ausgerichtet waren als an der Hinterseite, die ausschließlich Druckbelastungen ausgesetzt ist.

Abschließend soll noch bemerkt werden, daß auch medizinisch sehr relevante Fragestellungen, wie zum Beispiel der Einfluß von verschiedenen Therapien der Osteoporose auf die Struktur des Kollagen/Mineral-Verbunds im Knochen mit SAXS erforscht werden können (FRATZL *et al.*; 1994, 1996c).

Biomechanik und Struktur von Kollagen

Kollagen ist nicht nur der überwiegende Anteil des organischen Materials im Knochen (VEIS & SABSAY, 1987) es ist darüber hinaus auch noch in den meisten Bindegeweben präsent (HUKINS, 1984). Sehnen zum Beispiel bestehen zum größten Teil aus parallelen Faserbündeln von Kollagen Typ I. Der Aufbau ist hierarchisch, wobei Kollagenmoleküle zuerst zu Fibrillen zusammengefaßt sind. Diese sind sehr ähnlich jenen, die auch in Knochen zu finden sind (Abb. 3) nur daß keine Mineraleinlagerung stattfindet. Typischerweise sind die Kollagenmoleküle 1.5 nm dick und etwa 300 nm lang. Die Fibrillen mit einem Durchmesser von etwa 20 bis 200 nm sind wieder zu größeren Fasern zusammengefaßt. Röntgenbeugung

und SAXS im besonderen ist eine weit verbreitete Methode zur Erforschung der mesoskopischen Struktur von Kollagengeweben (VEIS & SABSAY, 1987). Aufgrund der typischen Größenordnungen im Nanometerbereich erlaubt SAXS z.B. eine Charakterisierung von Ausrichtung und Durchmesser der Fibrillen, sowie der molekularen Packung in ihrem Inneren (FRATZL *et al.*, 1993, HULMES *et al.*, 1995).

Als Beispiel seien hier einige Ergebnisse über die mesoskopische Struktur der Hornhaut erwähnt, die in Zusammenarbeit mit der Augenklinik Innsbruck erzielt wurden. Hornhaut besteht aus Schichten, in denen parallele Kollagenfibrillen eingelagert sind, wobei sich die Ausrichtung der Fibrillen aber von Schicht zu Schicht ändert.

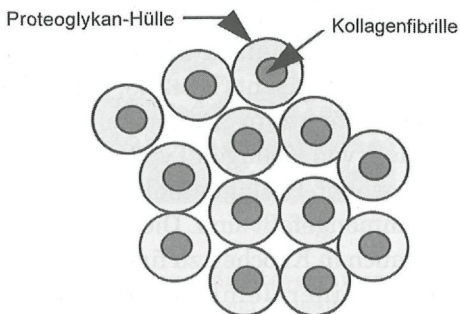


Abb. 7: Schema eines Schnitts durch die Hornhaut quer zur Richtung der Kollagenfibrillen (FRATZL & DAXER, 1993).

SAXS Untersuchungen an menschlichen Hornhäuten haben gezeigt, daß diese Ausrichtung genau zwischen waagrecht und senkrecht (entsprechend der Position der Augenmuskeln) abwechselt (DAXER & FRATZL, 1997). Die genaue Kenntnis solcher Parameter ist wichtig, um die Veränderung der Hornhautkrümmung z.B. bei Laser-Operationen vorherzusagen zu können. Ein weiterer Aspekt ist, daß die Transparenz der Hornhaut von der - sehr regelmäßigen - Anordnung der Fibrillen im Querschnitt zur Faserichtung abhängt (MAURICE, 1957, HART & FARRELL, 1969). SAXS Messungen haben gezeigt, daß ein regelmäßiger Abstand zwischen den Fibrillen dadurch zustande kommt, daß jede Fibrille von einer Proteoglykan-Schicht umgeben ist, die als Abstandhalter wirkt (Abb. 7).

Noch weitgehend ungeklärt ist der genaue molekulare Ursprung der hervorragenden elastischen Eigenschaften von Kollagen, dem wesentlichen Bestandteil z.B. von Sehnen. Die Erforschung dieser Fragestellung erfordert, daß mechanische Parameter (wie Spannung und Dehnung) mit Veränderungen der Struktur korreliert werden können. Deshalb haben wir eine Apparatur konstruiert (Abb.8), die es erlaubt, dünne Sehnen einer bestimmten Kraft oder Dehnung auszusetzen und gleichzeitig die mesoskopische Struktur mittels Röntgenstreuungsmethoden zu messen. Um ausreichende Zählstatistik bei der Röntgenbeugung zu erhalten, sind Messungen an einer Synchrotronquelle unbedingt erforderlich.

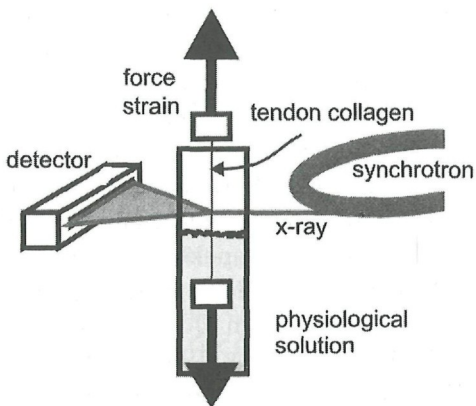


Abb.8: Schema einer in-situ Dehnapparatur zur Messung der Röntgenstreuung an gedehnten Kollagen Fasern (aus MISOF *et al.*, 1997a)

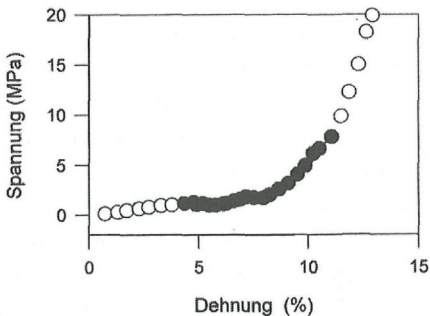


Abb.9: Typische Spannungs-Dehnungskurve einer Rattenschwanzsehne. Man sieht deutlich eine geringe Steifigkeit (das heißt Steigung in Graph) bei kleinen Dehnungen und eine hohe Steifigkeit bei großen Dehnungen. Der Übergangsbereich (schwarze Punkte) dürfte mit der Streckung von geknickten Molekülen zusammenhängen (MISOF *et al.*, 1997a).

In Zusammenarbeit mit dem Europäischen Labor für Molekularbiologie in Hamburg, wurden auf diese Weise Struktur und Eigenschaften von Sehnen aus dem Rattenschwanz untersucht. Eine typische Spannungs-Dehnungs-Kurve ist in Abb.9 gezeigt. Der Bereich bei kleinen Dehnungen zeigt einen extrem flachen Anstieg, das heißt sehr geringe Steifigkeit. Im Bereich sehr hoher Dehnungen ist die Faser hingegen wesentlich steifer. Im Übergangsbereich (dunkle Punkte in Abb. 9) zeigen Messungen der Röntgenbeugung, daß sich die Moleküle zunehmend stärker parallel ausrichten (MISOFF *et al.*, 1997a). Das kann als eine durch den Zug induzierte Streckung von geknickten Molekülen interpretiert werden. Die als Reaktion auf den Zug auftretende Gegenkraft wäre - in Analogie zur Gummielastizität - auf entropische Kräfte zurückzuführen, weil eine stärkere Parallelität der Moleküle die Entropie verringert und damit die gesamte freie Energie der Faser erhöht.

Mesoskopische Struktur der Holzzellwand

In Kooperation mit der Wiener Universität für Bodenkultur (Institut für Physik) ist in den letzten Jahren die mesoskopische Struktur von Fichtenholz, als weiteres Beispiel eines biologischen Materials, untersucht worden. Wie bereits eingangs erwähnt, besteht die Holzzellwand aus einem Faserverbund aus Zellulosefibrillen und einer Lignin/Hemizellulose Matrix. Durch eine Kombination von verschiedenen Untersuchungsmethoden, wie Elektronenmikroskopie und Streumethoden, konnte zuerst gezeigt

werden, daß die Zellulosefibrillen als Elementarfibrillen mit einem Durchmesser von etwa 2.5 nm vorliegen (JAKOB *et al.*, 1995). Aufgrund der in Abb. 2 gezeigten Beziehungen, kann das Streusignal von dünnen, sehr langen und in erster Näherung zylindrischen Zellulosefibrillen als dünne Scheibe beschrieben werden (Abb. 10). Mittels SAXS können planare Schnitte durch diese Verteilung gemessen werden. Insbesondere das SAXS-Spektrum in Abb. 10 (rechts unten) kann unmittelbar dazu herangezogen werden, um die Ausrichtung der Zellulosefibrillen gegenüber der makroskopischen Holzfaserrichtung zu bestimmen.

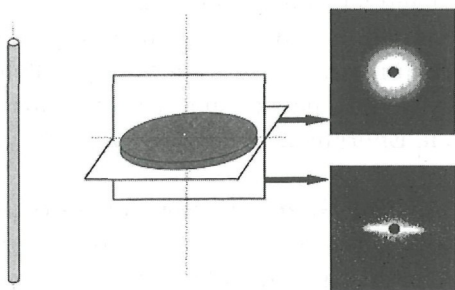


Abb. 10: Schematische Darstellung des Streusignales (Mitte) von parallelen Zellulosefibrillen (links). Gemessene SAXS-Spektren eines Querschnitts (rechts oben) und eines Radialschnitts aus dem Frühholz der Fichte (rechts unten, wobei die senkrechte Richtung im Bild der Holzfaserrichtung des Stammes entspricht). Solche SAXS Spektren sind Schnitte durch das dreidimensionale Streubild und erlauben die Rekonstruktion der Figur in der Mitte. Die Orientierung dieser Scheibe zeigt, daß die Fibrillen im Frühholz im wesentlichen parallel zur Holzfaserrichtung stehen.

Diese Technik wurde dazu verwendet, den Neigungswinkel der Zellulosefibrillen gegenüber der Faserichtung im Stamm der Fichte an verschiedenen Stellen des Baumstammes zu vermessen (JAKOB *et al.*, 1994).

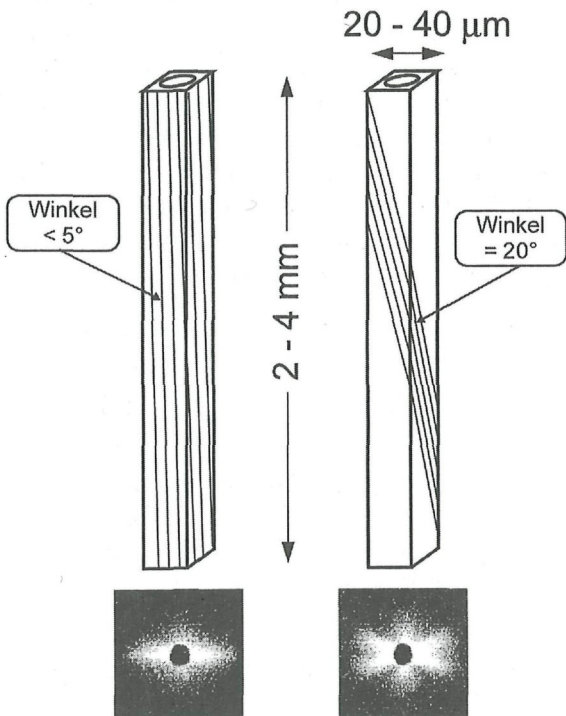


Abb. 11: Schematische Darstellung des Fibrillenwinkels in der Zellwand von Frühholz (links), bzw. Spätholz (rechts) der Fichte. Darunter die entsprechenden SAXS-Spektren von Radial-schnitten (JAKOB *et al.*, 1994).

Dabei stellte sich heraus, daß die Zellulosefibrillen im Frühholz (dessen Zellen dünnwandig sind und vor allem dem Transport von Wasser und Mineralstoffen dienen) praktisch parallel zur Faserrichtung waren, während im Spätholz (dessen Zellen dickwandig sind und der mechanischen Stabilisierung des Stammes dienen) die Fibrillen mit einem Spiralwinkel von etwa 20° um die Zellachse gewunden sind (Abb. 11). Der Unterschied ist auf den ersten Blick in den SAXS-Spektren (Abb. 11, unten) zu erkennen.

Abb. 12 zeigt den genauen Verlauf des Spiralwinkels der Zellulosefibrillen über zwei Jahrringe. Man erkennt einen Sprung von nahe 0° auf etwa 20° beim Übergang von Frühholz zu Spätholz.

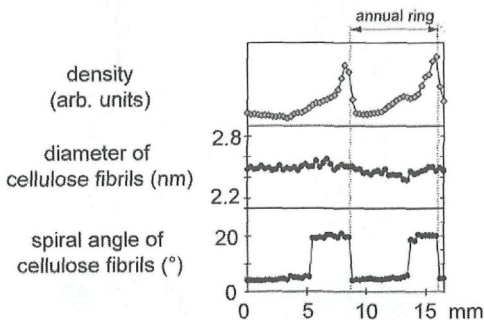


Abb.12: Elektronendichte eines Radialschnittes durch den Stamm einer Fichte (oben), sowie Durchmesser (Mitte) und Spiralwinkel (unten) der Zellulosefibrillen gegenüber der makroskopischen Faserrichtung des Holzes. Die Abszisse bezeichnet die Entfernung von einer Jahrringgrenze radial nach außen. Der Verlauf der Elektronendichte dient als interner Maßstab, weil die Dichte zum Spätholz hin stark ansteigt und an der Jahrringgrenze jäh abfällt (aus JAKOB *et al.*, 1994).

Bemerkenswerterweise bleibt der Fibrillendurchmesser über den ganzen Bereich hinweg völlig konstant. Die Änderung des Spiralwinkels zwischen Früh- und Spätholz legt eine biomechanische Optimierung dieses Parameters nahe, weil ja nur das Spätholz eine mechanische Funktion zu erfüllen hat. Diese Überlegung wird dadurch gestärkt, daß an der Ober- und Unterseite von Ästen, jeweils andere Spiralwinkel vorliegen. So beträgt der Winkel etwa 30° im Spätholz der - vorwiegend Zugkräften ausgesetzten - Oberseite des Astes und etwa 35° an der - hauptsächlich Druckkräften ausgesetzten - Unterseite (FRATZL *et al.*, 1997b).

Abschließend läßt sich sagen, daß der Aufbau von Holz sowie einer Reihe anderer biologischer Materialien nicht nur im makroskopischen sondern auch im mesoskopischen Größenbereich für die mechanische Funktion optimiert erscheint. Die systematische Anwendung von Röntgenstreuungsmethoden hat sich bereits für die Erforschung dieser Fragestellung bewährt, weil sie zerstörungsfreie Messungen erlauben und somit eine einfache Zuordnung zwischen der Form und Funktion der makroskopischen Probe und ihrer mesoskopischen Struktur erlauben. Weitere Fortschritte wären sicherlich von einer kombinierten Anwendung dieser Strukturuntersuchungen mit mikromechanischen Meßmethoden zu erwarten. Auch die Verbindung mit biologischen Parametern, wie z.B. Zellaktivitäten wäre ein vielversprechender Ansatz. Insgesamt handelt sich also um ein Forschungsgebiet an dem Physiker, Materialwissenschaftler und

Biologen gleichermaßen Freude haben, und in intensiver Zusammenarbeit auch erfolgreich sein können.

Danksagungen

Diese Arbeiten wären nicht möglich gewesen ohne die intensive Zusammenarbeit mit Kollegen aus dem Institut für Materialphysik der Univ. Wien (H. Peterlik, G. Vogl), dem Ludwig Boltzmann-Institut für Osteologie (J. Eschberger, N. Fratzl-Zelman, K. Klaushofer, H. Plenk Jr., P. Roschger), der Wiener Universität für Bodenkultur (S.E. Tschegg) und der Augenklinik Innsbruck (A. Daxer). Viele der besprochenen Ergebnisse entstanden in internationalen Kooperationen, mit der Edinburgh University (D.J.S Hulmes, T. Wess), dem University College London (A. Boyde), der Harvard University (W.J. Landis), der Universität München (D. Fengel), dem Europäischen Labor für Molekularbiologie in Hamburg (G. Rapp) und dem Merck Research Laboratory (G.A. Rodan). Einige der Arbeiten wurden durch den Fonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung teilweise finanziert (P10729-BIO, P11762-PHY). Ganz besonderes bedanken möchte ich mich aber für die technische Unterstützung (P. Seebacher und P. Willbacher an der Univ. Wien, G. Dinst und J. Thorwig am Ludwig Boltzmann Institut für Osteologie) sowie vor allem bei den Diplomanden und Dissertanten, die einen Großteil der besprochenen Daten und Ergebnisse erarbeitet haben (M. Groschner, H. Jakob, K. Misof, O. Paris, S. Rinnerthaler, S. Schreiber). B. Grabner und R. Weinkamer danke ich für eine kritische Durchsicht des Manuskripts.

Literatur

- ASHBY, M.F. (1983): The mechanical properties of cellular solids. Metall. Trans. 14A, 1755-1769
- ASHBY, M.F. (1989): On the engineering properties of materials. Acta Metall. 37, 1273-1293.
- BONUCCI, E. (1993): Calcification in biological systems (Bonucci E, ed.). CRC press, Boca Raton.
- CARTER D.R. & ORR, T.E. (1992): Skeletal development and bone functional adaptation. J. Bone Miner. Res. 7 (suppl. 2), S389-S395.
- DAXER, A. & FRATZL, P. (1997): Collagen fibril orientation in the human corneal stroma and its implications to the pathology of keratoconus. Invest. Ophthalm. Vis. Sci. (38, 121-129).
- FENGEL, D. & WEGENER, G. (1984): Wood - Chemistry, Ultrastructure, Reactions. De Gruyter, Berlin.
- FRATZL, P. (1994) Statistical model of the habit and arrangement of mineral crystals in the collagen of bone. J. Stat. Phys. 77, 125-143.
- FRATZL, P. (1995): Holz und Knochen - Intelligente Werkstoffe der Natur. Phys. Blätter 51, 1191-1192.
- FRATZL, P. (1996a): Kleinwinkelstreuung an komplexen Festkörpern: Beispiele aus Materialwissenschaft und Biologie. Vorlesungsmanuskripte, 27. IFF Ferienkurs, S. C8.1-C8.14, Forschungszentrum Jülich.
- FRATZL, P. (1996b): Small-angle neutron scattering in materials science - an introduction. Lecture notes of the introductory course in neutron scattering, pp. 162-174. Furrer, A., editor, PSI-proceedings 96-01, Paul Scherrer Institut, Villigen.
- FRATZL, P., FRATZL-ZELMAN, N., KLAUSHOFER, K., VOGL, G., & KOLLER, K. (1991): Nucleation and growth of mineral crystals in bone studied by SAXS. Calcif Tissue Int. 48, 407-413.
- FRATZL, P., GROSCHNER, M., VOGL, G., PLENK JR, H., ESCHBERGER, J., FRATZL-ZELMAN, N., KOLLER, K. & KLAUSHOFER, K. (1992): Mineral crystals in calcified tissues: a comparative study by small-angle x-ray scattering. J. Bone Miner. Res. 7, 329-334.

- FRATZL, P., FRATZL-ZELMAN N. & KLAUSHOFER, K. (1993): Collagen packing and mineralization. An x-ray scattering investigation of turkey leg tendon. *Biophys. J.* 64, 260-266.
- FRATZL, P. & DAXER, A. (1993): structural transformation of collagen fibrils in corneal stroma during drying. *Biophys. J.* 64, 1210-1214.
- FRATZL, P., ROSCHGER, P., ESCHBERGER, J., ABENDROTH, B. & KLAUSHOFER, K. (1994): Abnormal bone mineralization after fluoride treatment in osteoporosis: a small-angle scattering study. *J. Bone Miner. Res.* 9, 1541-1549.
- FRATZL, P. SCHREIBER & S., BOYDE, A. (1996a): Characterization of bone mineral crystals in horse radius by small-angle x-ray scattering. *Calcif. Tissue Int.* 58, 341-346.
- FRATZL, P., PARIS, O., KLAUSHOFER, K., & LANDIS, W.J. (1996b): Bone mineralization in an osteogenesis imperfecta mouse model. *J. Clin. Invest.* 97, 396-402.
- FRATZL, P., SCHREIBER, S., ROSCHGER, P., LAFAGE, M.H., RODAN G.A. & KLAUSHOFER, K. (1996c): Effects of sodium fluoride and alendronate on the bone mineral in minipigs. A small-angle x-ray scattering study. *J. Bone Miner. Res.* 11, 248-253.
- FRATZL, P., SCHREIBER, S. & KLAUSHOFER, K. (1997a): Bone mineralization as studied by small-angle x-ray scattering. *Conn. Tissue Res.* (34, 247-254).
- FRATZL, P., JAKOB, H.F., RINNERHALER, S., ROSCHGER, P. & KLAUSHOFER, K. (1997b): Position resolved small-angle x-ray scattering of complex biological materials. *J. Appl. Cryst.* (in press).
- FUNG, Y.C. (1993): *Biomechanics*, 2nd edition, Springer Verlag, New York.
- GUINIER, A. & FOURNET, G. (1955): *Small-Angle Scattering of X-rays*. John Wiley, New York.
- GLATTER, O.; KRATKY O., Editors (1982): *Small Angle X-ray Scattering*, Academic Press, London.
- HART, R.W. & FARRELL, R.A. (1969): Light scattering in the cornea. *J. Opt. Soc. Am.* 59, 766-774.
- HUKINS, D.W.L. (1984): *Connective Tissue Matrix*, Hukins, D.W.L., editor, Verlag Chemie, Weinheim.

- HULMES, D.J.S., WESS, T.J., PROCKOP, D.J. & FRATZL, P. (1995): Radial packing, order, and disorder in collagen fibrils. *Biophys. J.* 68, 1661-1670.
- JAKOB, H.F., FRATZL, P. & TSCHEGG, S.E. (1994): Size and arrangement of elementary cellulose fibrils in wood cells: a small-angle x-ray scattering study of *Picea abies*. *J. Struct. Biol.* 113, 13-22.
- JAKOB, H.F., FENGEL, D., TSCHEGG, S.E. & FRATZL, P. (1995): The elementary cellulose fibril in *Picea abies*: comparison of transmission electron microscopy, small-angle x-ray scattering, and wide-angle x-ray scattering results. *Macromol.* 28, 8782-8787.
- JAKOB, H.F., TSCHEGG, S.E. & FRATZL, P. (1996): Hydration dependence of the wood-cell wall structure in *Picea abies*: a small-angle x-ray scattering study. *Macromol.* 29, 8435-8440.
- LANDIS, W.J., SONG, M.J., LEITH, A., MCEWEN, L. & MCEWEN, B. (1993): Mineral and organic matrix interaction in normally calcifying tendon visualized in three dimensions by high-voltage electron microscopic tomography and graphic image reconstruction. *J. Struct. Biol.* 110, 39-54.
- LANDIS, W.J., HODGENS, K.J., ARENA, J., SONG, M.J. & MCEWEN, B.F. (1996): Structural relations between collagen and mineral in bone as determined by high voltage electron microscopic tomography. *Microsc. Res. Tech.* 33, 192-202.
- MANN, S. & OZIN, G.A. (1996): Synthesis of inorganic materials with complex form. *Nature* 382, 313-318.
- MATTHEK, C. & KUBLER, H. (1995): Wood - The Internal Optimization of Trees. Springer Series in Wood Science. Timell, T.E., Editor. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- MATTHEK, C. (1990) Engineering components grow like trees. *Materialwissenschaft und Werkstofftech* 21, 143-168.
- MAURICE, D.M. (1957): The structure and transparency of the corneal stroma. *J. Physiol.* 136, 263-286.
- MISOF, K., RAPP, G. & FRATZL, P. (1997a): A new molecular model of collagen elasticity based on synchrotron x-ray scattering evidence. *Biophys. J.* 72 (1376-1381).

- MISOFF, K., LANDIS, W.J., KLAUSHOFER, K. & FRATZL, P. (1997b): Collagen from the osteogenesis imperfecta mouse model (oim) shows reduced resistance against tensile stress. *J. Clin. Invest.* 100, 40-45.
- POSNER, A.S. (1987): Bone mineral and the mineralization process. *Bone and Mineral Res* 5, 65-116.
- REITER, T.J., RAMMERSTORFER, F.G. & BÖHM, H.J. (1991): Zur numerischen Prognose spannungsbedingter Knochenumbildungen. *Z. angew. Math. Mech.* 71, T693-T697.
- REITER, T.J., RAMMERSTORFER, F.G. & BÖHM, H.J. (1993): Structural design improvement by functional adaptation. *Structural Optimization 93, Proceedings Vol. I*, J. Herskovits, editor.
- RINNERTHALER, S., ROSCHGER, P., KLAUSHOFER K. & FRATZL, P. (1996): Analysis of bone mineral nanostructure using small-angle x-ray scattering. *J. Miner. Stoffwechs.* 5, 16-18.
- TRAUB, W., ARAD, T. & WEINER, S. (1989) Three-dimensional ordered distribution of crystals in turkey tendon collagen fibers. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86, 9822-9826.
- VEIS, A.S. & SABSAY, B. (1987): The collagen of mineralized matrices. *Bone Miner. Res.* 5, 1-63.
- VINCENT, J.F.V. (1990). *Structural Biomaterials*. Princeton University Press.
- WAGNER, H.D. & WEINER, S. (1992) On the relationship between the microstructure of bone and its mechanical stiffness. *J. Biomech.* 25, 1311-1320
- WOLFF, J. (1870): Über die innere Architektur der Knochen und ihre Bedeutung für die Frage von Knochenwachstum. *Virchow's Archiv* 50, 389-450.

Anschrift des Verfassers:

Univ.-Doz. Dr. Peter Fratzl

Institut für Materialphysik der Universität Wien

& Ludwig Boltzmann-Institut für Osteologie

Strudlhofgasse 4

A-1090 Wien

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Schriften des Vereins zur Verbreitung naturwissenschaftlicher Kenntnisse Wien](#)

Jahr/Year: 1997

Band/Volume: [135](#) [136](#)

Autor(en)/Author(s): Fratzl Peter

Artikel/Article: [Mesoskopische Struktur biologischer Materialien. 141-168](#)