

CURRICULUM VITAE

EDUCATION

- 2009-Present Ph.D. (Craniofacial Health Sciences), Faculty of Dentistry, McGill University, Canada
- 2007 M.S.C. (Veterinary Medical Sciences/ Virology), Faculty of Veterinary Medicine Mansoura University, Egypt.
- 2004 Microbiology Analytical Diploma of Veterinary Medical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tanta University, Egypt.
- 1996 B.S.C of Veterinary Medical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tanta University, Egypt.

AWARDS

- 2012-2013 Graduate Excellence Award, McGill University
- 2012-2013 Internal McGill University, Faculty of Dentistry Studentship
- 2011-2012 Graduate Excel Fellowship, McGill University
- 2011-2012 Internal McGill University, Faculty of Dentistry Studentship
- 2010-2011 McGill International Doctoral Award (MIDAs)
- 2009-2010 McGill International Doctoral Award (MIDAs)
- 2009 Provost's Graduate Fellowship, McGill University
- 2009 Entrance Student Award 'One Time Award'

PUBLICATIONS RELATED TO Ph.D. STUDY

Publications

- Salwa Maria, Christiane Prukner, Zeeshan Sheikh, Frank Mueller, Jake. E. Barralet, Svetlana V. Komarova. Reproducible quantification of osteoclastic activity: Characterization of a biomimetic calcium phosphate assay. Appl. BiomaterJ Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2013 Nov 21. doi: 10.1002/jbm.b.33071 PMID: 24259122
- Salwa Maria, Christiane Prukner, Zeeshan Sheikh, Frank Mueller, Jake. E. Barralet, Svetlana V. Komarova. Characterization of biomimetic calcium phosphate labeled with fluorescent dextran for quantification of osteoclastic activity. (Submitted May 2014)



McGill
Faculty of Dentistry



Ph.D. Defense

Salwa M. Maria

*Innovative Methods to Study the Regulation of
Osteoclast Resorption and Migration*

Friday, July 11, 2014

1:00 pm

Strathcona Anatomy & Dentistry Building

3640 University

Faculty Council Room M/48

ADVISORY COMMITTEE:

Thesis Supervisor: Dr. Svetlana V. Komarova
Committee Member: Dr. Simon Tran
Committee Member: Dr. Giovanni DiBattista
Committee Member: Dr. Monzur Murshed

THESIS DEFENSE COMMITTEE:

Thesis Supervisor: Dr. Svetlana V. Komarova
Departmental Delegate: Dr. Laura Stone
Dentistry Member: Dr. Dieter P. Reinhardt
External Member: Dr. Janet Henderson
Internal examiner: Dr. Faleh Tamimi

ABSTRACT

Osteoclasts are responsible for bone and joint destruction in rheumatoid arthritis, periodontitis, and osteoporosis and thus represent an important therapeutic target for these diseases. The quantification of osteoclast resorptive activity in vitro is widely used for screening new anti-resorptive medications. While animal tusk slice assays are standard for evaluating the osteoclastic resorption, their use is clearly not sustainable. The first objective of the study was to develop and characterize a biomimetic calcium phosphate assay based on the use of phase pure hydroxyapatite coated as a thin film on the surface of culture plates. Osteoclasts were formed from RAW 264.7 mouse monocyte cell line using a pro-resorptive cytokine RANKL (50 ng/ml). We demonstrated that calcium phosphate dissolution was associated with the presence of osteoclasts and positively correlated with the osteoclast numbers ($R^2 = 0.99$). The resorbed area was significantly increased by the addition of RANKL, and decreased after application of osteoclast inhibitors, calcitonin (10 μM) or alendronate (100 μM). The second objective of the study was to develop a simplified semi-automated method for the quantification of osteoclastic resorption on biomimetic hydroxyapatite labeled with fluorescent dextran. An automated method was developed to quantify resorption using the images of fluorescent hydroxyapatite and was validated using manual quantification of the same areas. We also demonstrated that the fluorescent hydroxyapatite can provide additional information regarding the depth and volume of the resorption pits. Since reaching the locations that require remodeling is important for the proper execution of osteoclast function, the third objective of the study was to examine the migration of osteoclasts and their precursors on glass and hydroxyapatite coated substrates. To create a gradient of RANKL, a known osteoclast chemoattractant, it was applied locally through a glass micropipette. Cell migration was monitored using a novel device consisting of a holder for 6-12 glass micropipettes in a tissue culture plate. Cell position before and after 16 h incubation was identified relative to a grid drawn on the bottom of the tissue culture plate. The presence of RANKL gradient did not affect osteoclast motility, but induced significant directional migration towards RANKL source, which was abolished in the presence of RANKL decoy receptor osteoprotegerin (OPG). Similar average migration rates were obtained using the new device and using conventional time lapse microscopy performed in parallel for some samples. However, the new device allowed for simultaneous processing of 6-12 times more samples. Thus, we demonstrated that calcium phosphate coated substrates allow reliable monitoring of osteoclast resorptive activity, that labeling hydroxyapatite with fluorescent dextran permits automating quantification of osteoclastic resorption and that this substrate can be used to study RANKL induces directional migration of osteoclasts and their precursors.

RÉSUMÉ

Les ostéoclastes sont responsables de la destruction osseuse et articulaire dans la polyarthrite rhumatoïde, la parodontite, l'ostéoporose et représentent ainsi une cible thérapeutique importante pour ces maladies. La quantification de l'activité de résorption des ostéoclastes in vitro est largement utilisée pour le criblage de nouveaux médicaments anti-résorption. Bien que les essais utilisent des tranches de défense d'animal sont la norme pour l'évaluation de la résorption ostéoclastique, leur utilisation n'est clairement pas durable. Le premier objectif de l'étude était de développer et de caractériser un assai de phosphate de calcium biomimétique basé sur de l'utilisation de l'hydroxyapatite en phase pure attachée sur un film mince déposé à la surface de plaques de culture. Les ostéoclastes sont formés à partir de RAW 264.7, une lignée cellulaire de monocytes de souris, à l'aide d'une cytokine pro-résorption, RANKL (50 ng/ml). Nous avons démontré que la dissolution de phosphate de calcium a été associée à la présence d'ostéoclastes et qu'il y a une corrélation positive avec le nombre d'ostéoclastes ($R^2=0,99$). La zone résorbée est augmentée significativement avec l'addition de RANKL, et diminuée après l'application d'inhibiteurs d'ostéoclaste, la calcitonine (10 μM) ou l'alendronate (100 μM). Le deuxième objectif de l'étude était de développer une méthode semi-automatique simplifiée pour la quantification de la résorption ostéoclastique de l'hydroxyapatite biomimétique marquée avec la dextrane fluorescente. Une méthode automatisée a été développée pour quantifier la résorption en utilisant les images de l'hydroxyapatite fluorescente et été validée avec la quantification manuelle des mêmes zones. Nous avons également démontré que l'hydroxyapatite fluorescente peut fournir des informations supplémentaires concernant la profondeur et le volume des fosses de résorption. Puis le déplacement des ostéoclastes aux sites nécessitant un remodelage est important à leur bon fonctionnement. Le troisième objectif de l'étude était d'étudier la migration des ostéoclastes et de leurs précurseurs sur verre et sur des substrats recouverts d'hydroxyapatite. Pour créer un gradient de RANKL, un chimio-attractant connu des ostéoclastes, il a été appliqué localement par une micropipette de verre. La migration cellulaire a été évaluée en utilisant un nouveau dispositif constitué d'un support destiné à 6-12 micropipettes en verre dans une plaque de culture de tissu. La position des cellules avant et après 16 heures d'incubation a été comparée grâce à une grille tracée sur le fond de la plaque de culture de tissu. La présence d'un gradient de RANKL n'a pas d'incidence sur la motilité des ostéoclastes. Toutefois, elle induit une migration directionnelle significative vers la source de RANKL, effet abolie car la présence de récepteur leurre de RANKL, l'ostéoprotégérine (OPG). Des taux de migration moyens similaires ont été obtenus en utilisant le nouveau dispositif et la mesure conventionnelle d'intervalle de temps par microscopie sur quelques échantillons tests en parallèle. Toutefois, le nouveau dispositif a permis le traitement simultané de 6 à 12 fois plus d'échantillons. Ainsi, nous avons démontré ce que les substrats de phosphate de calcium revêtus permettent un contrôle fiable de l'activité de résorption des ostéoclastes, que le marquage de l'hydroxyapatite à la dextrane fluorescente permet la quantification automatique de la résorption ostéoclastique et que le substrat peut être utilisé pour étudier la migration directionnelle des ostéoclastes et de leurs précurseurs induit par RANKL.