

# 3D-RØNTGENSYN

## afslører knoglernes indre

**Knogler er opbygget i en kompleks struktur, som forskerne stadig ikke forstår vigtige dele af. Nye teknikker til at danne billeder af komplekse materialer ved hjælp af røntgenstråling hjælper nu forskerne til at besvare nogle af de mange åbne spørgsmål.**

Forfatterne



Nina Kolln Wittig er cand.scient i kemi og arbejder som videnskabelig assistent i Lektor Henrik Birkedals forskningsgruppe på Aarhus Universitet. Hun arbejder med røntgenbilleddannelse og elektronmikroskopi til at svare på aktuelle spørgsmål indenfor knogleforskning. Nina modtog i 2016 et scholarstipendium fra Novo Nordisk og Novozymes til hendes specialeprojekt. Artiklen er baseret på et foredrag, som hun gav ved symposiet for dette års stipendie-modtagere.  
nkww@chem.au.dk

**S**kelettet er et af de vigtigste organer i hvirveldyr. Det spiller en afgørende rolle for bevægeapparatet, og uden det ville vi slet ikke kunne stå oprejst. Desuden beskytter det andre livsvigtige organer som lunger, hjerte og hjerne, og det opbevarer bestemte mineraler, som kan udskilles, når det er nødvendigt. I en gravid kvinde bliver calcium eksempelvis taget fra hendes skelet til opbygning af fosterets knogler. Knogle er altså ikke et uforanderligt, eller *statisk*, materiale, som mange måske forestiller sig, men tværtimod *dynamisk*. Skelettet er under konstant forandring for hele tiden at tilpasse sig ydre betingelser og de behov, som netop er gældende.

Derfor mister en astronaut knoglemasse efter kun kort tid i rummet, idet der udenfor Jordens tyngdefelt ikke er de samme krav til skelettets evne til at modstå belastninger, mens en tennisspiller får større knogler i "spille-armen". Således forsøger kroppen at optimere hver enkelt knogle til at kunne modstå de belastninger, som den kan forvente at møde, men ved brug af mindst muligt materiale. Det stiller store krav til knoglers opbygning, og de er på mange måder konstrueret sådan, som en ingeniør finder det mest optimalt.

Faktisk viser det sig, at knogle er opbygget meget lig det, vi ser i Eiffeltårnet. Det er bygget op af mange

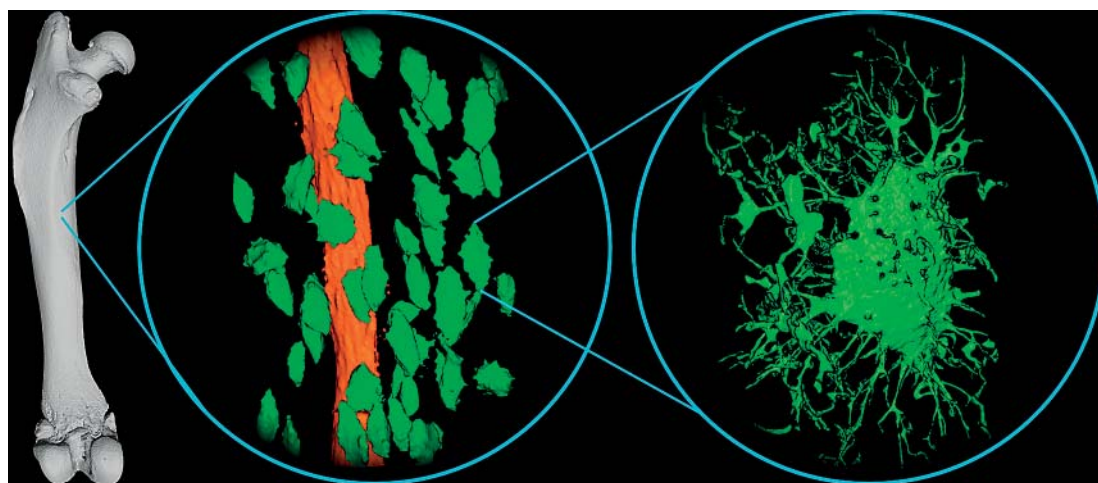
små stænger, som i et 3-dimensionelt gitterlignende netværk former en større bjælke, der sammen med mange identiske bjælker igen danner et stort netværk, der tilsammen udgør et af tårnets fire ben. Vi siger, at det består af strukturelle elementer på flere forskellige længdeskalaer i en hierarkisk struktur. Det samme er tilfældet i knogler, som indeholder strukturelle elementer på længdeskalaer, der spænder hele vejen fra atomar- og nanometer-skala til formen af den hele knogle.

### Hele skelettet udskiftes hvert 10. år

Vi forstår dog ikke præcis, hvordan skelettet er opbygget, og specielt ikke hvordan de enkelte komponenter



Henrik Birkedal er lektor ved institut for Kemi og ved forskningscentret iNANO på Aarhus Universitet. Han leder en forskningsgruppe, som arbejder med biologiske og bio-inspirerede materialer med specielt fokus på nye metoder til at karakterisere sådanne materialer.  
hbirkedal@chem.au.dk



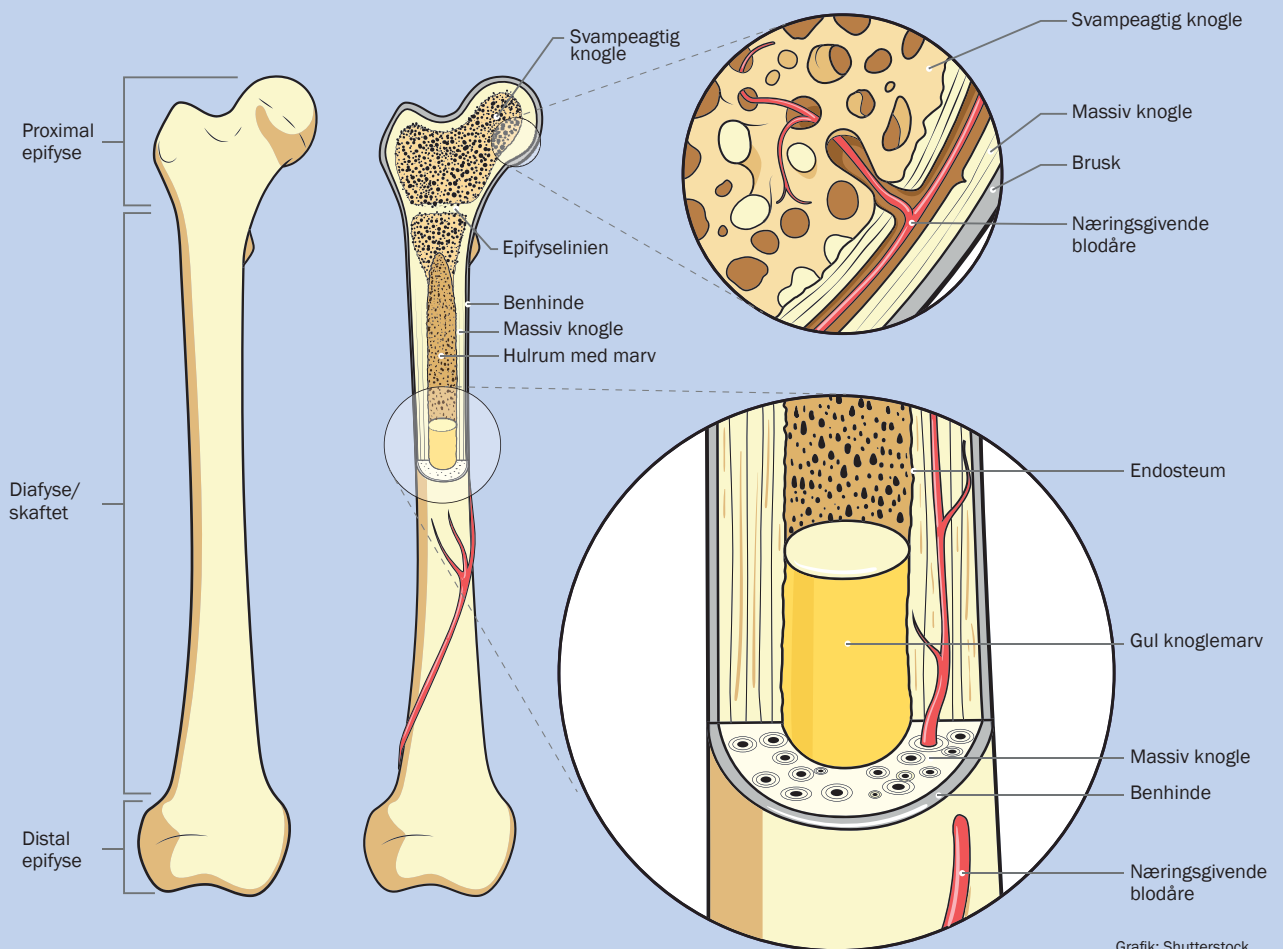
Ved hjælp af røntgenstråling kan vi se ind i knogle, og med de nyeste teknikker zoomer længere og længere ind på selv de helt små detaljer. Billedet til venstre er taget med laboratorie-CT, som giver et billede af hele knoglen. Billedet i midten er fra synkrotron-CT, hvor man kan se detaljer i knoglens opbygning. De grønne strukturer er celle-hulrummene i knoglen, mens det røde er et blodkar. Til højre ses et billede fra de nye nano-CT eksperimenter. Her afsløres strukturen i det netværk af celler, der ligger begravet inde i knoglen.

## Knoglers opbygning

Eiffeltårnet er bygget op af mange små stænger, som i et 3-dimensionelt gitterlignende netværk former en større bjælke, der sammen med mange identiske bjælker igen danner et stort netværk, der tilsammen udgør et af tårnets fire ben. Det samme er tilfældet i knogler, som indeholder strukturelle elementer på længdeskalaer, der spænder hele vejen fra atomar- og nanometer-skala til formen af den hele knogle. Tegningen viser strukturen af en lårbensknogle.



Foto: Joe deSouza



Grafik: Shutterstock

ter på nanometer-skala bidrager til knoglens overordnede egenskaber, såsom dens styrke. Samtidig er vores knogler fyldt med celler, som vedligeholder vores skelet ved hele tiden at fjerne gammel eller beskadiget knoglemasse og danne ny. Via denne proces, som vi kalder knogle-remodellering,

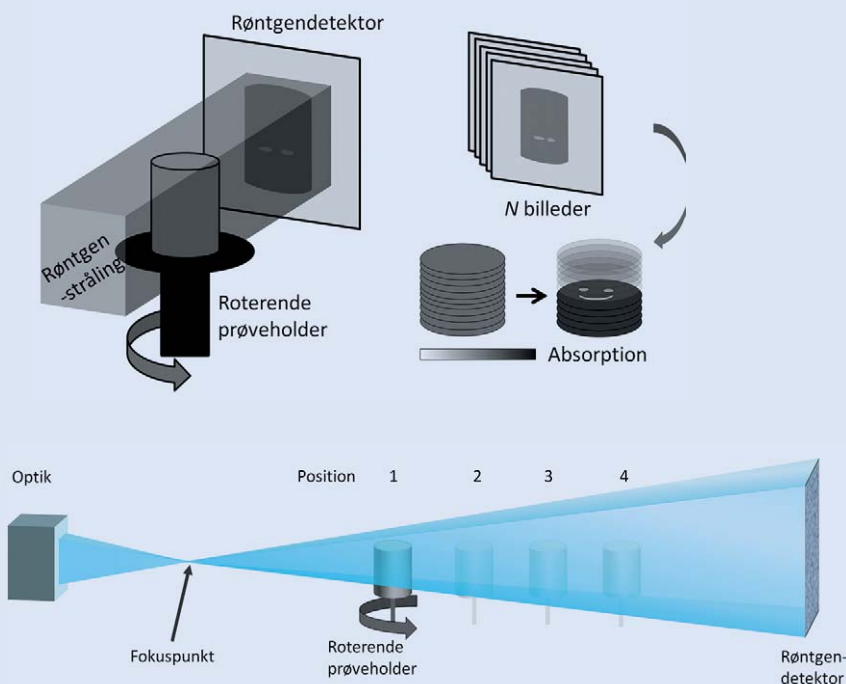
bliver hele skelettet i et voksent menneske i gennemsnit udskiftet i løbet af ca. 10 år. De celler, som aktivt udfører dette arbejde, sidder på alle knoglernes overflader, mens de celler, som styrer processen, ligger begravet inde i selve knoglen. Herfra kommunikerer de, ikke bare med hinanden og med de andre

knogleceller, men endda med flere andre organer via et enormt netværk af kanaler, som løber imellem cellerne internt og forbinder dem til blodforsyningen og dermed resten af kroppen.

Det er selvfølgelig enormt vigtigt, at alle disse processer foregår

## Billedannelse i 3D

Når røntgenstråling vekselvirker med stof, resulterer det i mange forskellige signaler. Vi kan måle de signaler og på den måde få information om materialet. Tomografi er en teknik til at danne billeder i 3D. Det gør man ved at tage billeder af prøven fra en mængde forskellige vinkler, hvorefter en computer kan beregne, hvordan prøvens interne 3D-struktur ser ud. Det mest brugte signal i tomografi er absorption, dvs., at man måler hvor meget røntgenstråling, der er blevet absorberet af prøven. Det fortæller os noget om mængden af materiale i prøven. Det er princippet bag de CT-skannere, der findes på hospitalerne, som skitseret i den øverste figur.



I nanotomografi, dvs. tomografi, hvor vi kan se detaljer indeni prøven på nanometer-skala, er vi nødt til at bruge nogle ekstra tricks for at opnå den meget høje opløsning. Først og fremmest skal røntgenkilden have nogle særlige egenskaber, der gør, at strålen ikke kun absorberes, men også danner interferensmønstre gennem afbøjning af strålen (refraktion). Ved en kort afstand mellem prøven og detektoren vil man hovedsageligt

måle absorption, mens afbøjningseffekterne bliver stærkere, når man øger denne afstand. Afbøjningen øger følsomheden ca. 100 gange i forhold til ren absorption. Af tekniske årsager udfører vi alle målingerne fire gange ved fire forskellige prøve-til-detektor afstande. Det er nødvendigt for at kunne udtrække den ekstra information optimalt, idet det gør det muligt at adskille absorptions- og afbøjningseffekter. For at opnå

en stor forstørrelse bruger vi noget helt særligt optik til at fokusere røntgenstrålingen ned til et meget lille punkt, fokuspunktet. Ved at placere prøven bagved fokuspunktet opnår vi automatisk en forstørrelse, idet strålen spredes yderligere fra den forlader prøven og til den når detektoren, som illustreret i den nederste figur. Resultatet er billeder med nano-opløsning, der indeholder præcis information om prøvens indhold.

præcist, som de skal, og når de ikke gør det, bliver vi syge. Knogleskørhed, også kaldet osteoporose (som betyder porøse knogler), er et eksempel på en meget almindelig knoglesygdom, som skyldes en ubalance i knogle-remodelleringen, sådan at der bliver fjernet mere knogle, end der dannes. Det betyder, at knoglerne bliver porøse og mere svage og dermed bliver risikoen for brud betydeligt forøget. Desværre forstår vi endnu ikke, hvorfor det sker, og derfor er vi heller ikke ret gode til hverken at diagnosticere eller behandle knogleskørhed, selvom ca. en halv million danskere over 50 år er ramt af sygdommen.

### Mange åbne spørgsmål

Det er utroligt svært at lære noget om knoglens opbygning ved brug af sædvanlige metoder, såsom almindelig mikroskopi, fordi knogler ikke er gennemsigtige. Vi kan simpelthen ikke se ind i dem med det blotte øje uden at skære i dem og dermed ødelægge dem. Derfor bruger læger røntgen til at undersøge skelettet.

Vi har brug for at undersøge store knogleprøver, men med meget høj grad af detalje pga. den komplekse struktur, som spænder fra nanometer-skala til den hele knogle. Ydermere er der mange cellulære processer på spil, som det er svært

at kortlægge, og som gør knogle til et meget heterogent materiale, der varierer fra individ til individ, fra knogle til knogle og fra sted til sted i knoglen. Det er altså lige præcis de ting, som giver knogler deres imponerende egenskaber, som gør dem svære at forstå for forskerne, og mange spørgsmål indenfor knogleforskning står derfor stadig vidt åbne.

Knogleforskning og teknikker til at danne billeder ved hjælp af røntgenstråling har traditionelt været tæt sammenknyttet, fordi røntgenstråler kan gå igennem skelettet. Det kender vi fra hospitalerne, hvor røntgenbilleder bliver brugt til



## Synkrotroner

En synkrotron er en stor partikel-accelerator, typisk med en omkreds på flere hundrede meter. Den fyldes almindeligvis med elektroner, som sendes rundt i den store ring med en hastighed, der er meget tæt på lysets. Ringen er udstyret med kraftfulde magneter, som sørger for at elektronerne afbøjes på en måde, så de følger ringens form, og mere kraftfulde magnetiske enheder kaldet undulatorer. Når elektronerne afbøjes af magneterne udsender de røntgenstråler.

Røntgenstrålingen fra undulatorer er op til en milliard gange mere kraftfuld, end hvad vi kan opnå i det almindelige laboratorium. Det er denne stråling, som vi og mange andre forskere primært bruger til vores eksperimenter. Fordi ringen er så stor, huser den faktisk en mængde laboratorier, kaldet beamlines. De er hver især optimeret til at bruge røntgenstrålingen til en bestemt type af eksperimenter, såsom forskellige typer af billeddannelses-teknikker.

Der findes omkring 50 internationale synkrotroner verden over, og de er dyre i drift. Synkrotron-tid er derfor meget kostbar, og der er skarp konkurrence om at få adgang til de bedste synkrotron-faciliteter. Når forskere er blevet tildelt et par dages måletid, arbejdes der døgnet rundt for at vride mest mulig viden ud af eksperimenterne. Fotografierne er fra den Europæiske Synkrotron Facilitet i Grenoble (Frankrig).

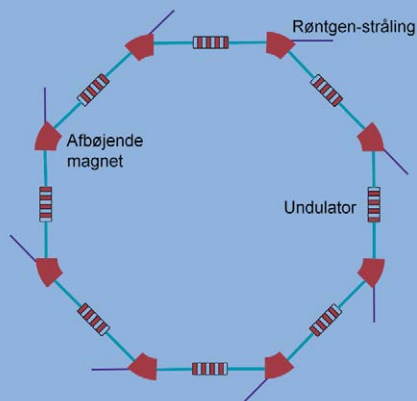
En ny synkrotron i absolut topklasse er netop blevet opført i Lund (Sverige), og den vil blive udstyret med en dansk beamline, DanMax. Den bliver optimeret til at udføre flere typer af eksperimenter, blandt andet forskellige typer af billed-dannelsesteknikker og vil uden tvivl blive til stor fordel for dansk forskning og industri.

<https://www.maxiv.lu.se/accelerators-beamlines/beamlines/danmax/>

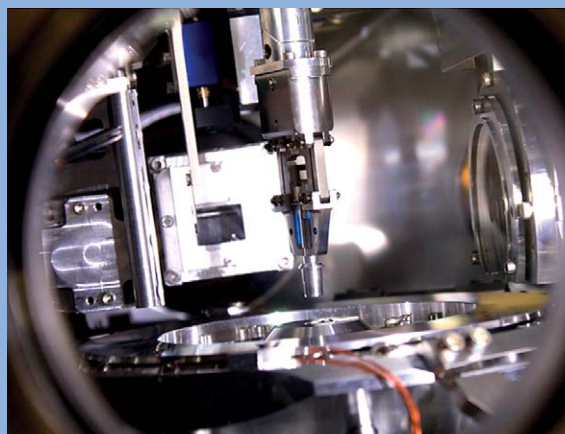


Luftfoto: EMBL-ESRF-ILLY/Denis Morel

Billedet viser European Synchrotron Radiation Facility i Grenoble, Frankrig, hvor vores nano-CT målinger er foretaget.



Princippet i en synkrotronring. Røntgenstråling dannes ved afbøjningsmagneter og undulatorer og er vist med lilla farve på tegningen. Det er den kraftige stråling fra undulatorerne, som vi primært bruger til forskning.



Billedet viser, hvordan vi sætter en knogle-prøve ind i instrumenter ved brug af en høj-præcisions robotarm.

**Forslag til yderligere læsning:**

M. E. Birckbak Multi-modal X-ray Imaging of Hierarchical Materials, PhD-afhandling, Aarhus Universitet, 2016.

N. K. Wittig, F. L. Bach-Gansmo, M. E. Birckbak, M. Laugesen, A. Brüel, J. S. Thomsen, H. Birckedal "Organ and Tissue Level Properties are more Sensitive to Age than Osteocyte Lacunar Characteristics in Rat Cortical Bone" Bone Reports 2016, 4, 28-34. DOI: 10.1016/j.bonr.2015.11.003

F. L. Bach-Gansmo, N. K. Wittig, A. Brüel, J. S. Thomsen, H. Birckedal "Immobilization and long-term recovery results in large changes in bone structure and strength but no corresponding alterations of osteocyte lacunar properties" Bone 2016, 91, 139-147

at identificere brud på knoglerne. Desværre har opløsningen i sådanne billeder ikke hidtil været tilstrækkelig til at kunne skelne strukturelle elementer på nanometer-skala og dermed give det fulde billede. Den ideelle teknik skal kunne tilbyde os Supermands røntgensyn, men koblet til et ekstremt kraftfuldt mikroskop og helst i 3D.

**Supermand findes**

Vi har altså længe vidst, at røntgenstråling er vejen frem, når vi skal kigge ind i fx knogleprøver uden at skære dem op. Vi har også længe vidst, hvordan vi kan bruge røntgenstråling til at tage billeder i 3D, sådan at vi ikke kun får en projektion af vores prøve, men et fuldkomment billede af prøvens indre. Den teknik kaldes *Computed Tomografi*, eller *CT*, og bruges på hospitalerne, fx når et almindeligt røntgenbillede ikke kan afgøre, om der er et brud. Det, vi hidtil har manglet, er muligheden for at se selv de mindste detaljer af knoglens opbygning.

Billedannelses-teknikker med røntgenstråling har været under rivende udvikling gennem de seneste årtier, og den ideelle teknik er, hvis ikke allerede tilgængelig, så lige på trapperne. Det betyder, at vi i dag har mulighed for at undersøge forholdsvist store stykker af knogle med meget høj opløsning og i 3D ved at tage hen til en såkaldt *synkrotron*. Disse store maskiner producerer den ekstremt kraftfulde røntgenstråling, der er nødvendig for at kunne lave sådanne eksperimenter. Ved at kombinere resultater fra forskellige typer af eksperimenter, som slår bro over flere forskellige længdeskalaer, kan vi få en meget større indsigt i hvilke processer, der finder sted i knogle, og hvordan de strukturelle elementer på de forskellige længdeskalaer hænger sammen og bidrager til den hele knogles egenskaber. Den kraftigt forbedrede opløsning svarer til den revolution, vi har set indenfor digitalkameraer, der nu er blevet

hvermandseje. Med synkrotron-CT kan vi fx kortlægge fordelingen af blodkar med stor nøjagtighed og se de hulrum, som knoglecellerne sidder i. Med de nye synkrotron nano-CT teknikker kan vi også se, hvordan knogle-cellerne kommunikationsnetværk er bygget op. Det giver adgang til mange nye svar, og vi har eksempelvis lige opdaget en ny struktur i celle-netværket inde i knoglen. Vi arbejder nu på at publicere opdagelsen, som kan betyde, at vi bliver nødt til at revidere de modeller for celle-kommunikation, som vi bruger i dag.

På den måde tager vi hele tiden nye skridt mod en komplet forståelse af knoglers opbygning. Det er vores forventning, at dette ikke kun vil bidrage til bedre diagnosticering og behandling af forskellige knoglesygdomme, men også give stor indsigt i, hvordan vi kan konstruere endnu bedre og smartere materialer til fremtidens teknologier. ■

---

# annonce