

Doppel-Röntgenblick hilft Tuberkulose- und Osteoporoseforschung

Mit einer Röntgen-Kombinationstechnik hat ein Forscherteam Nanotransporter für Tuberkulose-Medikamente mit sehr hoher Präzision in biologischen Zellen aufgespürt. Die Methode vereint zwei ausgeklügelte Röntgenmessungen und kann kleinste Mengen verschiedener Metalle in biologischen Proben mit sehr hoher Auflösung lokalisieren, wie das Team um DESY-Wissenschaftlerin Karolina Stachnik im Fachblatt „Scientific Reports“ berichtet. Um die Vielseitigkeit des Verfahrens zu veranschaulichen, haben die Forscher die Kombinationsmethode darüber hinaus zur Kartierung des Kalziumgehalts in menschlichem Knochen eingesetzt, eine Analyse, die der Erforschung von Osteoporose helfen kann.

„Metalle spielen bei zahlreichen biologischen Prozessen eine Schlüsselrolle, vom Sauerstofftransport in unseren roten Blutkörperchen über die Mineralisierung der Knochen bis hin zur schädlichen Anreicherung von Metallen in Nervenzellen, wie sie bei Krankheiten wie Alzheimer zu beobachten ist“, erklärt Stachnik, die am Center for Free-Electron Laser Science CFEL bei DESY arbeitet. Die hochenergetische Röntgenstrahlung regt Metalle zu Fluoreszenz an, was selbst bei kleinsten Mengen noch nachweisbar ist. „Die Röntgenfluoreszenzmessungen zeigen jedoch in der Regel nicht die Ultrastruktur einer Zelle“, sagt DESY-Wissenschaftler Alke Meents, der die Forschung leitete. „Wenn man die Metalle in der Probe genau lokalisieren will, muss man die Messungen mit einem bildgebenden Verfahren kombinieren.“ Die Ultrastruktur der Zelle umfasst die feinen Details der Zellarchitektur, die nicht mehr mit dem Lichtmikroskop erkennbar sind.

Da biologische Proben wie Zellen sehr empfindlich auf Röntgenstrahlung reagieren, sollte ihre Struktur nach Möglichkeit gleichzeitig mit der Fluoreszenzanalyse abgebildet werden, um Strahlenschäden zu minimieren. Daher kombinierte das Team die Fluoreszenzmessungen mit einer bildgebenden Methode, der so genannten Ptychographie. „Ein Ptychographie-Mikroskop ist der Aufnahme eines Panoramabildes ziemlich ähnlich“, erklärt Stachnik. „Eine ausgedehnte Probe wie eine biologische Zelle wird mit einem kleinen Röntgenstrahl abgerastert, der viele überlappende Bilder von Teilen der Probe erzeugt. Diese überlappenden Bilder werden dann anschließend zusammengefügt.“

Die Röntgenstrahlen liefern dabei jedoch nicht direkt Fotografien, sondern erzeugen ein sogenanntes Beugungsmuster, das Informationen über die räumliche Struktur des jeweiligen Teils der Probe enthält. Die Struktur lässt sich dann aus dem Muster berechnen. „Dies führt am Ende zu einer quantitativen Abbildung der optischen Probendichte“, erklärt Stachnik. „Die Ptychographie liefert mit diesem komplexen Verfahren eine räumliche Auflösung, die über die üblichen Grenzen der Röntgenoptik hinausgeht.“

Die Rasteraufnahme einer Ptychographie lässt sich optimal mit gleichzeitigen Röntgenfluoreszenzmessungen kombinieren, die eine Art Karte der chemischen Elemente in der Probe liefern. Ptychographiebilder und Fluoreszenzkarten lassen sich dann überlagern. „Die Kombination dieser beiden Abbildungsmethoden ermöglicht eine weitgehend störungsfreie Korrelation von Spurenelementen mit der hochaufgelösten Struktur der Probe“, sagt Meents.

Grundvoraussetzung für diese Methode ist, dass die Röntgenstrahlen nur eine „Farbe“ haben, also alle dieselbe Wellenlänge besitzen (monochromatisch sind), und dass sie wie bei einem Laser alle im Gleichtakt schwingen (kohärent sind). „Ausreichend helle, kohärente, monochromatische Röntgenstrahlung mit Energien, die hoch genug sind, um Metalle wie Eisen fluoreszieren zu lassen, sind erst mit modernen Synchrotronstrahlungsquellen wie DESYs PETRA III verfügbar geworden“, sagt Meents.

Um die Methode zu testen, untersuchten die DESY-Forscherinnen und -Forscher zusammen mit der Gruppe von Ulrich Schaible vom Forschungszentrum Borstel die Lokalisierung und Konzentration von Nanotransportern für Tuberkulosemedikamente in Fresszellen des Immunsystems, den Makrophagen. „Normalerweise zerstören Makrophagen Krankheitserreger wie Viren und Bakterien. Leider gelingt es den Tuberkulosebakterien jedoch, der Zerstörung zu entgehen und sich stattdessen in den Makrophagen zu verstecken und sie sogar zum Wachstum zu nutzen“, sagt Schaible. „Eine Barriere für eine wirksame Behandlung ist dabei, dass die Nischen der Bakterien innerhalb der Makrophagen erstmal von den Antibiotika erreicht werden müssen, damit sie wirken können.“

Eine neue Strategie baut auf das Vorbild des Trojanischen Pferds und verwendet nanometerkleine Eisenkäfige, um Antibiotika direkt in die Zellen zu bringen. Die Käfige sind mit Antibiotika gefüllt und haben weniger als 20 Nanometer Durchmesser (ein Nanometer ist ein millionstel Millimeter). „Die Makrophagen schlucken die Behälter, und sobald sie sich im Inneren der Zelle befinden, lösen sich die Eisenwände der Käfige langsam auf, da die Bakterien Eisen benötigen. Schließlich werden die Antibiotika freigesetzt und töten die Bakterien ab“, erläutert Schaible.

Um die Wirksamkeit dieser Strategie zu bewerten, untersuchte das Team Makrophagen, die mit Eisenbehältern gefüttert worden waren. Mit einer speziell entwickelten Probenbühne an der Beamline P11 zur Untersuchung von biologischen Proben an DESYs Röntgenquelle PETRA III konnten die Forscherinnen und Forscher Ptychographie- und Fluoreszenzbilder von 14 Zellen mit subzellulärer Auflösung aufnehmen und in diesen insgesamt 22 Ansammlungen von Nanotransportern identifizieren.

In einer zweiten Anwendung analysierten die Forscher zusammen mit der Gruppe von Björn Busse vom Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) den Kalziumgehalt in einer menschlichen Knochenprobe. „Kalzium ist ein Schlüsselement, das unsere Knochen stark macht“, betont Ko-Autorin Katharina Jähn aus Busses Gruppe. „In Zeiten eines hohen Kalziumbedarfs löst der Körper dieses jedoch aus den Knochen, um es anderweitig zu verwenden. Diese und andere altersbedingte Prozesse können zu Osteoporose führen, von der in Deutschland fast ein Viertel aller Frauen im Alter von mehr als 50 Jahren betroffen ist.“

Experimentelle Untersuchungen zur Knochenmineralisierung werden normalerweise an kleinen Knochenscheiben durchgeführt. „Allerdings wird auf diese Weise meist nur der Gesamtgehalt an Kalzium abgebildet“, sagt Stachnik. „Um ein echtes Maß für die Kalziumkonzentration zu erhalten, muss man die oft variierende Dicke der Probe korrigieren.“ Das Team verwendete eine simultan aufgenommene Ptychographie, um in der Karte der Kalziumverteilung in der Knochenprobe diese sogenannte Massendickenverzerrung zu korrigieren. „Mit diesem Ansatz konnten wir an bestimmten Stellen im Knochen einen lokal niedrigeren Kalziumgehalt beobachten, was dazu beiträgt, den Prozess von Knochenerkrankungen besser zu verstehen und die Wirkung von Veränderungen der Knochenmineralisierung bei Patienten zu quantifizieren“, betont Stachnik.

Um die Methode noch weiter zu verbessern, wollen die Forscher die Analyse in Zukunft auf dreidimensionale Messungen ausweiten. „Der Versuchsaufbau wird derzeit erweitert, um die Erfassung von dreidimensionalen, tomographischen Datensätzen an der Messstation P11 zu

ermöglichen“, berichtet Meents. „Da viele Synchrotronstrahlungsquellen aufgerüstet werden, um noch helleres Röntgenlicht zu erzeugen, gehen wir davon aus, dass damit der Durchsatz an Proben deutlich erhöht werden kann und zu einem Routineverfahren an diesen Anlagen wird.“

An der Arbeit waren Forscherinnen und Forscher des Forschungszentrums Borstel, des Paul-Scherrer-Instituts in der Schweiz, des Karlsruher Instituts für Technologie, des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf und von DESY beteiligt.

DESY zählt zu den weltweit führenden Teilchenbeschleuniger-Zentren und erforscht die Struktur und Funktion von Materie – vom Wechselspiel kleinster Elementarteilchen, dem Verhalten neuartiger Nanowerkstoffe und lebenswichtiger Biomoleküle bis hin zu den großen Rätseln des Universums. Die Teilchenbeschleuniger und die Nachweisinstrumente, die DESY an seinen Standorten in Hamburg und Zeuthen entwickelt und baut, sind einzigartige Werkzeuge für die Forschung: Sie erzeugen das stärkste Röntgenlicht der Welt, bringen Teilchen auf Rekordenergien und öffnen neue Fenster ins Universum. DESY ist Mitglied der Helmholtz-Gemeinschaft, der größten Wissenschaftsorganisation Deutschlands, und wird zu 90 Prozent vom Bundesministerium für Bildung und Forschung und zu 10 Prozent von den Ländern Hamburg und Brandenburg finanziert.

Originalveröffentlichung

Multimodal X-ray imaging of nanocontainer-treated macrophages and calcium distribution in the perilacunar bone matrix; Karolina Stachnik, Martin Warmer, Istvan Mohacsi, Vincent Hennicke, Pontus Fischer, Jan Meyer, Tobias Spitzbart, Miriam Barthelmess, Jacqueline Eich, Christian David, Claus Feldmann, Björn Busse, Katharina Jähn, Ulrich E. Schaible, and Alke Meents; „Scientific Reports“, 2020; DOI: 10.1038/s41598-020-58318-7