# Live-optagelse via mikroskop af levende celler øger forståelsen af kardiovaskulære sygdomme

## Hvordan kommunikerer cellerne i vores blodkar? Og hvad afslører det om vores helbredstilstand, når cellerne pludselig ændrer adfærd? Ved hjælp af advanceret konfokal mikroskopi og levende celler er det nu muligt at se live-optagelser af, hvordan cellerne udvikler sig og kommunikerer over tid. Det har blandt andet betydning for vores forståelse af kardiovaskulære sygdomme som fx forhøjet blodtryk

**Af journalist Lone C. Drejet**

De seneste år har budt på store fremskridt inden for billeddannende teknikker. Det betyder, at vi i dag ved hjælp af avanceret mikroskopi har mulighed for at se live-optagelser af cellers kommunikation med hinanden. Den nye teknologi kan åbne op for nye landvindinger inden for forståelsen af den menneskelige organisme, blandt andet gennem kortlægning af den fysiologiske opbygning af det kardiovaskulære system, som er et af de områder, som Institut for Medicinsk Biologi ved Syddansk Universitet arbejder intenst med i disse år.

Cand. med., ph.d. Torben R. Uhrenholt forsker ved instituttets afdeling for Fysiologi og Farmakologi og er blandt dem, der på verdensplan har størst erfaring med de muligheder, som de nye billeddannende teknikker åbner op for. Blandt andet har han i forbindelse med et ophold på Yale University i USA udviklet prototyper af nyt apparatur, som gør det muligt at rotere det objekt, der mikroskoperes, så man kan betragte det fra flere sider på én gang. Prototypen er forsynet med en kanyle, som man fx kan montere et blodkar på, hvorefter man kan punktstimulere objektet på celleniveau. Dette kan lade sig gøre fordi mikroskopet er forsynet med en SIM-scanner, der betyder, at man kan punktstimulere og optage billeder på samme tid. Metoden er skånsom over for det objekt, der skal mikroskoperes og giver et endnu mere nuanceret billede end mikroskopi på XY-plan, som de hidtidige teknikker lægger op til. Prototypen testes i øjeblikket på instituttet, hvor det er koblet på det mest avancerede, konfokale mikroskop, FV1000 CLSM fra Olympus.

### Finder årsagen til udvikling af forhøjet blodtryk

Forhøjet blodtryk er en tilstand, som bidrager med stor sygelighed og dødelighed i befolkningen, og som kræver livslang ▶

behandling. Blodtryk reguleres i et komplekst samspil mellem cirkulerende substanser i blodet (vasoaktive substanser), reguleret saltudskillelse og centralnervesystemet. I et blodkar findes glatte muskelceller, som ved aktivering trækker sig sammen (kontraktion) og derved øger blodtrykket. Desuden beklædes blodkarrets inderside at et enkelt cellelag (endotelceller), der frisætter substanser, der modvirker blodkarrets sammentrækning. Samspillet mellem disse celler og nerverne er derfor afgørende for en perfekt blodtryksregulering i vores krop. Et af projekterne ved Institut for Medicinsk Biologi skal således belyse, hvorledes glatte muskelceller og endotelcellerne i blodkar kommunikerer indbyrdes (figur 1), og hvordan nerverne påvirker denne kommunikation. Disse forsøg udføres ved hjælp af det avancerede konfokale mikroskop, og resultaterne vil hjælpe os til at forstå ændringerne i arbejdskapacitet ved motion, fysisk inaktivitet, aldring og sygdom. Resultaterne vil ligeledes åbne op for nye behandlingsstrategier til hjerte-kar sygdomme og derigennem øge kvaliteten af livet.

### Hvordan kommunikerer celler?

Det, der gør visualiseringsteknikken så anvendelig er, at man direkte kan følge, hvad der foregår i cellerne. Man skal ikke teoretisere eller analysere sig frem til resultatet. Og på Institut for Medicinsk Biologi undersøges cellekommunikationen på flere niveauer: Dels ved at tage hele blodkar ud og holde cellerne i live over en periode, således at man kan følge hvordan de 12 mikrometer tykke blodkar reguleres og tager fx stoffer til sig.

**Faktaboks 1:**

Institut for Medicinsk Biologi ved Syddansk Universitet i Odense arbejder med en lang række forskningsprojekter med henblik på at kortlægge den fysiologiske opbygning af det kardiovaskulære system ved hjælp af nye billeddannende teknikker.

Det projekt, som er skitseret i denne artikel, blev iværksat i august 2006, og er baseret på sponsorater, blandet fra Olympus Danmark, der i den forbindelse har stillet det til dato mest avancerede konfokale mikroskop, FV1000 CLSM, til rådighed for forskerne.

Institut for Medicinsk Biologi ved Syddansk Universitet er en af de instanser herhjemme, som benytter konfokal-mikroskopiens muligheder i den mest avancerede og ekstreme udstrækning, og instituttet afventer i december 2007 Forskningsrådets afklaring med hensyn til muligheden for etablering af et officielt Nationalt Bio-Imaging Center på Syddansk Universitet i Odense.

Dels in vivo hvor overfladiske kar og muskler på levende, bedøvede dyr - primært mus – undersøges direkte i mikroskopet.

Det mikroskopiske studie af levende celler giver et helt andet indtryk af den konstante aktivitet, der foregår i og mellem de enkelte celler. Cellerne 'taler' hele tiden med hinanden ved at udsende tynde udløbere til alle omkringliggende celler, såkaldte 'Tunnelling Nanotubes' (TNT), og i den forbindelse overføres proteiner, resistens, væv mv. fra celle til celle.

Eksistensen af disse udløbere har man kendt fra planter i mange år, men at samme mekanisme finder sted hos mennesker har man kun haft kendskab til i 2-3 år, og opdagelsen har haft stor betydning for forståelsen af kommunikation mellem menneskelige celler.

Typisk har disse udløbere kun en diameter mellem 50 og 200 nm, hvilket naturligvis gør dem vanskelige at studere i traditionelle mikroskoper, men med det konfokale mikroskop og levende celler, kan man fx tilkoble blodkarrene RNA med transmitterende 'tags' på RNA og helt konkrete følge RNAs vej rundt i cellerne over tid. Overførslen ses som tydelige grønne prikker i konstant bevægelse.

Man kan desuden tilføre forskellige tracer-stoffer til de enkelte celler, fx fluo-4, og følge, hvor hurtigt cellen bringer calcium videre til andre celler. Eller vi kan give et blodtryksænkende signal til en celle og på den mikroskopiske live-optagelse betragte, hvor hurtigt kædereaktionen sættes i gang, så endotelcellerne giver signal til glatte muskelceller om karrene til at slappe af og blodtrykket falder.

Med denne teknik forventer Torben Uhrenholt meget snart, at det vil være muligt at lave live-optagelser af blodkarrene i vitale organer, fx i fungerende nyrer.

### Perspektiverne i den nye viden

Der ligger væsentlige perspektiver i, at vi nu er i stand til at følge de blodtryksregulerende processer i levende væv i forhold til i dag, hvor videnskaben kun haft mulighed for at teste hypoteser om blodtrykkets regulering ved at foretage biopsier og kultivere de enkelte celler.

Den nye billeddannende teknik som her er beskrevet, kan fx have stor betydning for lægevidenskaben. Det faktum, at vi nu kan lave live-optagelser af fysiologiske fænomener på det niveau, som konfokal mikroskopi giver mulighed for, kan blandt andet udvikle sig til at være en central faktor i forbindelse med udvikling af nye lægemidler:

For det første, fordi vi med kendskab til den miskommunikation, som er den bagvedliggende årsag til ødelæggelsen af fx endotelcellelaget, vil være bedre rustet til at tracke de konkrete forhold, man ønsker at 'reparere' og efterfølgende gennemteste

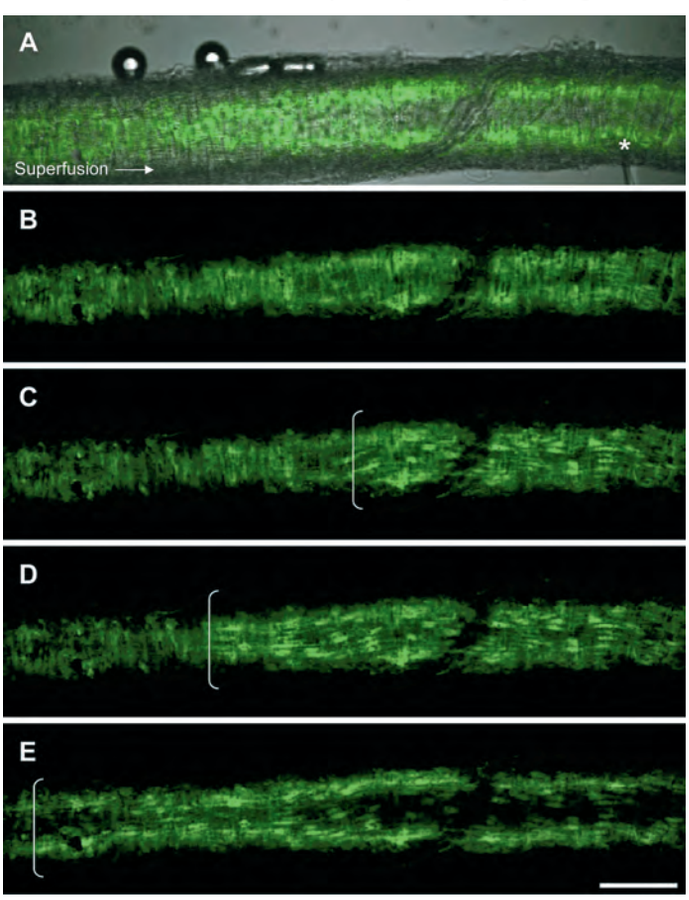
**Faktaboks 2:**
Det konfokale mikroskop kan på kort tid skabe tredimensionelle billeder af enheder med en opløsning ned til 10-50 nm
I praksis fungerer det således, at det konfokale mikroskop kan udelukke lys fra andre planer end det, der fokuseres på. Dermed frasorteres alt lys, der ikke er skarpt, og man får et 'snitbillede' af fx en celle, som er et hundrede procent skarpt. Processen gentages i andre snit, hvorefter rækken af billeder lægges sammen til en tredimensionel enhed.

specifikke hypoteser på et niveau, som er meget tættere på den realistiske fysiologiske funktion, end vi nogensinde før har været i stand til. Dermed vil teknikken bidrage til fremskyndelse af valideringen af fremtidens lægemidler.

### Imaging bliver mere og mere udbredt

Konfokal live-mikroskopi af levende celler er kun en blandt mange billeddannende teknikker, som vinder frem i disse år, og Torben Uhrenholt er overbevist om, at de billeddannende teknikker fremover vil spille en langt større rolle i forskningen med henblik på forståelse og kortlægning af den levende organisme.

*Forskningsprojektet på Institut for Medicinsk Biologi ved Syddansk Universitet ledes bl.a. af cand. med., ph.d. Torben R. Uhrenholt, som kan kontaktes for uddybende oplysninger.*




*Calcium-bølge i en arterie*
*En isoleret arterie blev behandlet med den fluorescerende probe Fluo-4. Billeder blev visualiseret med Olympus FV1000 konfokal mikroskop. A: Reflekteret billede og Fluo-4 signal. Stjerne markerer stimulations pipette med acetylcholin. B: Basis fluorescens før stimulation. C-E: Acetylcholin initierer en calcium-bølge gennem endotelcellerne. Fronten af bølgen er markeret. E: Hvid reference bar = 100 µm. C: 300 µm på 5 s; D: 450 µm på 6.7 s; E: 700 µm på 9 s. Læs mere her: Uhrenholt et al. (2007) Am J Physiol Heart Circ Physiol 292:1634-1640*

ChemManager®

**Software til kemikaliestyring**

**ChemManager® giver overblik og hjælper virksomheder med kravene i REACH og GHS, herunder:**

- Kommunikation og registrering
- Eksponeringsscenarier
- Kemikaliesikkerhedsrapporter
- Sikkerhedsdatablade
- Arbejdsbrugsanvisninger
- Transportdokumenter

DHI

**Se mere på www.chemmanager.com**

DHI Center for Miljø og Toksikologi Agern Allé 5 Hørsholm
Tel: 4516 9200

DANDIAG

BIOHIT
Innovating for Heath

Vi har mere end 20 års erfaring i salg og service af Biohit Pipetter

Alle pipette priser er en samlet pris af 1 pipette + 1 gratis eftersyn/år

Kontakt os
- Ring og få flere informationer
- Ring hvis du ønsker et uforpligtende møde
- Ring hvis du ønsker en snak om kalibreringer

Dandiag A/S l Mårkærvej 9 l 2630 Tåstrup
T: 4343 3057 l www.dandiag.dk l dandiag@dandiag.dk