

Minitest

- Gib jeweils ein Beispiel in dem sich ein Elektron strahlungsfrei oder unter Emission von Strahlung bewegt?

Multiphotonenmikroskop

Ein **Multiphotonenmikroskop** ([englisch](#) *Multi-Photon Laser Scanning Microscope* – MPLSM, auch: *multi-photon microscopy* - MPM) ist ein spezielles [Lichtmikroskop](#) aus der Gruppe der [Laser-Scanning-Mikroskope](#).

Bilder werden erzeugt, indem eines von zwei unterschiedlichen physikalischen Phänomenen ausgenutzt wird:

- *Multiphotonen-Fluoreszenz* (meist Zwei-Photonen-Fluoreszenz) oder
- *Higher Harmonic Generation* ([Verdopplung](#) (Second Harmonic Generation, SHG) oder Verdreifachung (Third Harmonic Generation, THG) der Schwingungsfrequenz des eingestrahnten Lichtes).

Mit Hilfe eines starken, fokussierten [Laserstrahls](#) werden dabei [nichtlineare optische Effekte](#) erzeugt, die auf dem Zusammenspiel mehrerer gleichzeitig in einem Molekül eintreffenden [Photonen](#) (Lichtteilchen) beruhen. Die Stärke des erzeugten Signals steigt daher nicht [linear](#) mit der Zahl der eingestrahnten Photonen, sondern mit dem Quadrat (bei Zwei-Photonen-Effekten) oder der dritten Potenz (bei Drei-Photonen-Effekten).

Die Arbeitsweise eines Multiphotonenmikroskops ähnelt der eines [konfokalen Laser-Scanning-Mikroskops](#). Während jedoch konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie eine Eindringtiefe je nach Präparat von 50–80 µm hat, können mit Multi-Photonen-Mikroskopie tiefere Bereiche, z. B. von 200 µm, in sehr günstigen Fällen sogar bis zu 1000 µm (=1 mm) erreicht werden. Dadurch sind Aufnahmen von lebenden Geweben möglich, die anderweitig für die Bildgebung unerreichbar sind.

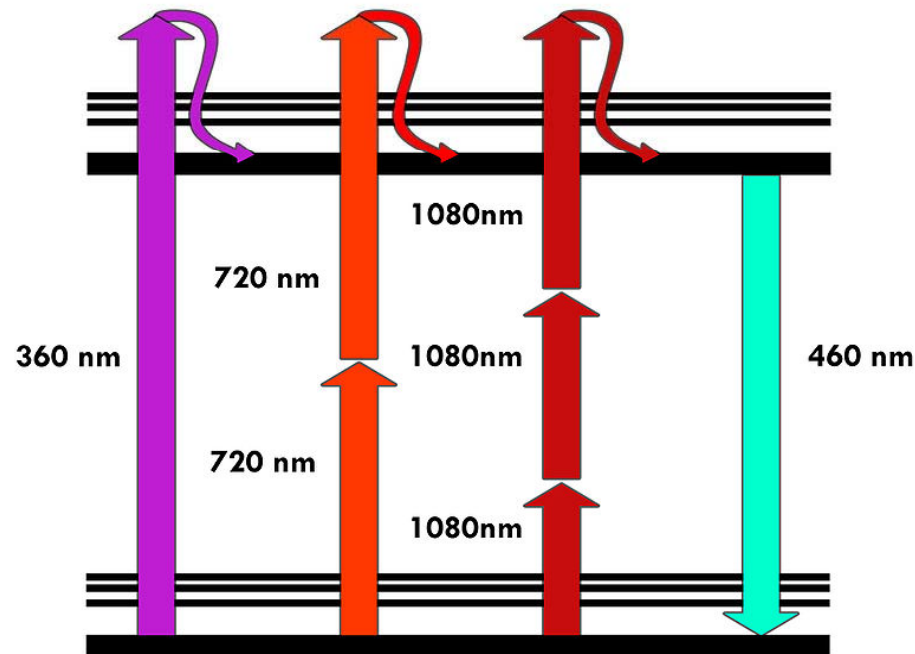
Die am weitesten verbreitete Multiphotonen-Technik ist die Zwei-Photonen-Fluoreszenzmikroskopie, manchmal auch nur Zweiphotonenmikroskopie genannt. Bei der herkömmlichen [Fluoreszenzmikroskopie](#) wird in einem [fluoreszierenden](#) Molekül ein Elektron durch die Absorption jeweils eines Photons [angeregt](#), also in einen höheren Energiezustand versetzt. Bei der Zwei-Photonen-Fluoreszenzmikroskopie wird die Anregung des Elektrons durch die gleichzeitige Absorption zweier Photonen hervorgerufen ([Zwei-Photonen-Absorption](#)). Auch eine Anregung mit drei oder mehr gleichzeitig eintreffenden Photonen ist möglich.

Prinzip

Fluoreszenz entsteht, wenn **Farbstoffe** ankommende Photonen absorbieren und in der Folge ein anderes Photon wieder abgeben. Durch das ankommende, „anregende“ Photon wird ein **Elektron** auf ein höheres **Energieniveau** gehoben, die Energie also derart zwischengespeichert. Bei normaler Fluoreszenzmikroskopie geschieht diese Anregung durch genau ein Photon. Das Elektron bleibt für einige Nanosekunden auf dem höheren Energieniveau, bevor es wieder zurück fällt und dabei ein neues, längerwelliges, energieärmeres Photon aussendet. Wenn etwa mit blauem Licht angeregt wird, entsteht meist grüne Fluoreszenz, beispielsweise bei **Fluorescein**.

Das eine Anregungsphoton kann durch zwei oder mehr Photonen ersetzt werden, wenn diese in der Summe die gleiche Energie haben wie sonst ein Anregungsphoton. So kann **dunkelrotes** oder **infrarotes** Licht eingesetzt werden, um grüne Fluoreszenz zu erzeugen. Außerdem müssen beide Photonen gleichzeitig (innerhalb einer **Attosekunde** = 10^{-18} s) eintreffen, da kein stabiles Zwischenenergieniveau existiert.

Bei normaler Fluoreszenzmikroskopie hat das anregende Photon eine kürzere **Wellenlänge**, höhere **Frequenz** und damit mehr Energie als das abgestrahlte Photon. Der Wellenlängen-Abstand der beiden Photonen wird als **Stokes-Shift** bezeichnet. Im Gegensatz hierzu wird bei der Multi-Photonen-Anregung mit Photonen angeregt, die eine deutlich größerer Wellenlänge, niedrigere Frequenz und somit pro Photon weniger Energie haben, als die ausgesandten Photonen. Dies ist nur möglich, weil hier zwei oder mehr anregende Photonen zur Erzeugung nur eines ausgesandten Photons führen. Bei der Zwei-Photonen-Anregung beträgt die Anregungswellenlänge in etwa das Doppelte der normalerweise verwendeten Anregungswellenlänge, bei Drei-Photonen-Anregung ein Dreifaches



Technische Umsetzung

Um ein gleichzeitiges Eintreffen zweier oder mehr Photonen bei den anregbaren Elektronen im [Fokuspunkt](#) zu erreichen, sind sehr hohe Photonendichten erforderlich. Diese werden nur erzielt, wenn ein [gepulster Laser](#) mit [Modenkopplung](#) eingesetzt wird. Das Besondere an diesem Lasertyp ist, dass sehr kurze (z.B. $0,14 \text{ ps} = 0,14 \cdot 10^{-12} \text{ s}$), intensive Laserpulse ausgesandt werden, die z.B. 80 Millionen mal pro Sekunde wiederholt werden. Die Pausen zwischen zwei Pulsen sind im gegebenen Beispiel also $12,5 \text{ ns} (= 12500 \text{ ps})$ lang, so dass die gesamte im Laser erzeugte Energie in einem Bruchteil der Zeit abgegeben werden kann.

Die für die Anregung in der Regel eingesetzten [Titan:Saphir-Laser](#) sind kostspielig (~ 150.000 Euro) und stellen daher eine große Hürde für einen verbreiteten Einsatz dar. Ti:Sa-Laser können auf Wellenlängen von etwa 700 nm bis etwa 1050 nm eingestellt werden. Größere Wellenlängen können durch den Einsatz eines „[Optisch parametrischen Oszillators](#)“ (OPO) erzeugt werden. Dieser wird mit dem Ti:Sa-Laser „gepumpt“ und kann dann Wellenlängen bis über 1300 nm erzeugen. Damit können auch rote und dunkelrote Fluoreszenzfarbstoffe im Zwei-Photonen-Modus angeregt werden.

Wie bei einem [konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop](#) wird der Laserstrahl durch das Objektiv des Mikroskops auf einen Punkt des Präparats fokussiert. Durch im Strahlengang befindliche bewegliche Spiegel (Scanspiegel; englisch *to scan* = abrastern) wird der Laserstrahl in seiner Lage so verändert, dass der Fokuspunkt sich durch das Präparat bewegt, dieses also abrastert. Die dadurch entstehende Fluoreszenz wird vom Objektiv aufgefangen, über [dichroitische Strahlteiler](#) spektral aufgetrennt und schließlich von Detektoren aufgefangen. Diese Detektoren, [Photomultiplier](#), messen die Helligkeit jedes Bildpunktes also *nacheinander*. Zu keinem Zeitpunkt entsteht im Mikroskop ein vollständiges Bild des Präparats. Dies wird erst im Steuerungscomputer zusammengesetzt.

Auf Grund der Komplexität der Geräte werden diese nur von wenigen Herstellern angeboten. In Europa sind dies derzeit (Stand 2008) nur vier, [Carl Zeiss](#), [LaVision BioTec](#), [Leica Microsystems](#) und [Olympus](#). Da die Scanning- und Detektortechnik eines Multiphotonenmikroskops der eines konfokalen Laser-Scanning-Mikroskops sehr ähnlich ist, gibt es auch Arbeitsgruppen, die solch ein Mikroskop in Eigenregie mit einem geeigneten Anregungslaser und den entsprechenden Filtern zum Multiphotonenmikroskop aufrüsten.

Vorteile

Wie oben dargestellt, erfordert die Erzeugung des Zweiphotonen-Effekts eine sehr hohe Photonendichte, die nur ein gepulster Laser erzielt. Selbst dann kommt es *nur* im Fokuspunkt zu einer genügend hohen Photonendichte, um eine Fluoreszenzanregung zu erzeugen, nicht aber darüber und darunter (siehe Abbildung): Außerhalb der Fokusebene verteilt sich die gleiche Menge Anregungsphotonen auf einen stark zunehmenden Durchmesser des Strahlkegels. Zwei-Photonen-Anregung hängt aber vom Quadrat der Lichtintensität ab, so dass die Lichtintensitäten außerhalb der Fokusebene, im Gegensatz zu anderen Fluoreszenzmikroskopen, für die Erzeugung von Fluoreszenz nicht mehr ausreicht.

Daraus ergeben sich praktische Vorteile:

- Ein [Ausbleichen](#) von Fluoreszenzfarbstoffen und die Erzeugung von [Phototoxizität](#) ist auf eine extrem kleine Umgebung des Fokuspunktes beschränkt. Ebenen darüber und darunter sind nicht betroffen.
- Die gesamte vom Objektiv aufgefangene Fluoreszenz kann für das zu erstellende Bild verwendet werden. Im Gegensatz zum konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop ist also keine Lochblende (Pinhole) nötig, um Licht aus anderen Ebenen auszufiltern. Daher ist es, wiederum im Vergleich zum konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop, auch nicht nötig, die Fluoreszenz über die Scanspiegel aufzufangen, stattdessen kann eine „non-descanned detection“ durchgeführt werden. Die Detektion kann dadurch räumlich dichter am Präparat erfolgen, was wiederum das Auffangen eines Teils der im Präparat gestreuten Fluoreszenz erlaubt.
- Ein davon unabhängiger Vorteil ist die höhere Eindringtiefe durch die geringere [Streuung](#) von längerwelligem Licht. Der [Streuquerschnitt](#) σ hängt sehr stark von der Frequenz ν ab und steigt proportional zu ν^4 . Kurzwelliges violettes Licht (400 nm) hat eine doppelt so hohe Frequenz wie langwelliges rotes Licht (800 nm) und wird daher 16-mal stärker gestreut (siehe [Das Blau des Himmels](#)). Wellenlängenabhängige Streuung geschieht auch in biologischen [Gewebe](#)n: Wenn mit einer starken Taschenlampe durch eine Hand geleuchtet wird, dringt fast nur der rote Lichtanteil durch. Da bei der 2-Photonen-Mikroskopie infrarotes oder dunkelrotes Licht für die Fluoreszenzanregung eingesetzt wird, können entsprechend tiefere Regionen erreicht werden.

Geschichte

Das physikalische Prinzip der Fluoreszenz-Anregung eines Moleküls durch mehrere Photonen wurde zuerst 1931 von [Maria Goeppert-Mayer](#) vorhergesagt^[9]. Die erste experimentelle Beobachtung von Zwei-Photonen-Fluoreszenzanregung erfolgte 1961, bald nach Entwicklung der ersten Laser.^[4] Mikroskopie mit Zwei-Photonen-Fluoreszenz-Anregung gelang 1990 das erste Mal^[10].

Nachdem Denk et al. 1990 das erste Mal Zweiphotonen-Fluoreszenzmikroskopie demonstriert hatten,^[10] dauerte es nur vier weitere Jahre, bis es gelang, sie an lebenden Tieren durchzuführen ([Intravitalmikroskopie](#)), in diesem Fall um den Blutfluss und das Verhalten von weißen Blutkörperchen in der Niere zu untersuchen.^[15]

Die Vorteile eines Multiphotonenmikroskops, speziell die hohe Eindringtiefe, kommen besonders in Geweben zu tragen, bei denen strukturelle Unterschiede zwischen den oberen und den tieferen Gewebeschichten vorliegen: die tieferen Gewebeschichten sind für andere Arten der Mikroskopie nicht bzw. nur in fixierten, geschnittenen Präparaten zugänglich. Dortige Vorgänge können daher in lebenden Organen nicht anders beobachtet werden. Beispiele sind Lebenduntersuchungen in verschiedenen [Hirnschichten](#),^[16] die Beobachtung von verschiedenen Zellen des [Immunsystems](#) in [Lymphknoten](#),^{[1][17]} Untersuchungen, wie Tumorzellen in benachbarte Gewebe eindringen können^[18] und Untersuchungen an Muskelzellen im intakten Herzen.^[19] In den genannten Beispielen wurde jeweils Zwei-Photonen-Fluoreszenz und teilweise zusätzlich SHG eingesetzt.

Konfokalmikroskop

Ein **Konfokalmikroskop** ist ein [Lichtmikroskop](#) mit folgenden Besonderheiten: Im Gegensatz zur normalen Lichtmikroskopie wird nicht das gesamte Präparat beleuchtet, sondern zu jedem Zeitpunkt nur ein Bruchteil davon, in den meisten Fällen nur ein Punkt. Mit diesem Beleuchtungspunkt wird das Präparat Punkt für Punkt abgerastert. Im Mikroskop entsteht also zu keinem Zeitpunkt ein vollständiges Bild, die Lichtintensitäten zu jedem Punkt werden jedoch gemessen, so dass eine anschließende Konstruktion des Bildes möglich ist. Der Vorteil dieser Beleuchtung liegt darin, dass im Strahlengang eine Lochblende (englisch: Pinhole) angebracht werden kann, die Licht, welches von außerhalb der Schärfebene kommt, blockieren kann. Dadurch verringert sich die [Schärfentiefe](#) erheblich, wodurch wiederum die [Auflösung](#) entlang der optischen Achse (z-Richtung) steigt.

Heute verbreitete Konfokalmikroskope sind allesamt *konfokale Laser-Scanning-Mikroskope* (engl. *confocal laser scanning microscope*, CLSM, auch LSCM). Diese Geräte benutzen [Laserlicht](#) um [Fluoreszenz](#)-Farbstoffe anzuregen, es handelt sich also um [Fluoreszenzmikroskope](#). Weit verbreitet sind Punktscanner, bei denen ein fokussierter Laserstrahl das Präparat abrastert (engl. *to scan*: rastern). Bei sogenannten Line Scannern wird dagegen eine ganze Bildzeile auf einmal erstellt, so dass eine höhere Geschwindigkeit erreicht werden kann. Eine dritte Variante benutzt viele Punkte, die jeweils einen Teilbereich des Präparats abrastern, z. B. Spinning Disk Geräte. Alle heutigen Geräte haben die Möglichkeit, Bilder in vielen [Schärfeebenen](#) nacheinander aufzunehmen und somit ein dreidimensionales Bild zu erstellen. Jedoch ist diese 3D-Fähigkeit unabhängig vom [konfokalen](#) Prinzip, auch gibt es andere Mikroskope, die ebenfalls 3D-Bilder aufnehmen können.

Das Prinzip eines konfokalen Mikroskops wurde von [Marvin Minsky](#) in den 1950er Jahren entwickelt, also noch vor der Erfindung des Lasers. Das damalige Funktionsprinzip beruhte auf Hellfeld-Mikroskopie, also auf Weißlicht. Dieser Ansatz ist heute nur noch von historischem Interesse.

Seit 1990 sind verschiedene Weiterentwicklungen des Laser-Scanning-Mikroskops gelungen, die in eigenen Artikeln dargestellt werden und daher hier keine Berücksichtigung finden. Dies sind [Multiphotonenmikroskop](#), [4Pi-Mikroskop](#) und [STED-Mikroskop](#).

Prinzip

In einem normalen Lichtmikroskop ist das Bild eine Überlagerung aus einer scharfen Abbildung der Punkte in der [Fokalebene](#) und einer unscharfen Abbildung der Punkte außerhalb dieser. In einem Konfokalmikroskop wird das Anregungslicht in die Probe hineinfokussiert, Licht aus diesem Fokus wird nun in der Regel durch das gleiche Objektiv auf eine Lochblende abgebildet und gelangt von dort auf einen [Detektor](#) (meist ein [Photomultiplier](#) oder eine [Lawinenfotodiode](#) (englisch *avalanche photodiode*, APD)). Anregungs- und Detektionsfokus liegen konfokal, also übereinander.

Optische Information, die nicht aus der Fokalebene kommt, wird somit zweifach unterdrückt: Erstens wird sie nicht „abgefragt“, da die Beleuchtungsintensität außerhalb des Fokus schwach ist, und zweitens wird Licht von außerhalb der Fokalebene nicht auf die Lochblende fokussiert sondern erscheint dort als Scheibchen, so dass es fast komplett geblockt wird. Dies ist in der Abbildung für einen Punkt hinter der Fokalebene dargestellt (gestrichelte Linie).

Da man lediglich Licht aus einem Punkt der Probe erhält, ist es notwendig die Probe abzurastern und das Bild am Computer zusammensetzen.

Wie bei einem Lichtmikroskop begrenzt [Beugung](#) die [Auflösung](#). Bei blauem Licht beträgt sie ca. 200 Nanometer lateral und 500 Nanometer axial.

Technische Ausführung

Die meisten Konfokalmikroskope sind Laserrastersondenmikroskope. Bei diesen [rastert](#) ein Laserstrahl punktweise ein Objekt, wobei er in der Fokusebene der zu mikroskopierenden Probe maximal fokussiert ist. Es werden nun die Fluoreszenzmoleküle angeregt, die sich im Lichtweg des fokussierten Laserstrahles befinden. Bildet man die Fluoreszenzsignale nun wieder auf einer Bildebene ab, in der sich eine kleine [Lochblende](#) befindet, so können nur die Signale, die aus der Fokusebene kommen, exakt in dieses pinhole fallen. Die Signalanteile, die aus anderen Ebenen oberhalb oder unterhalb der Fokusebene in der Probe stammen, werden dadurch ausgeblendet und es kommt zu einer Schichtaufnahme. Hinter der Lochblende befindet sich ein lichtempfindlicher Empfänger, aus dessen Signal dann punktweise ein (Schnitt-)Bild zusammengesetzt wird. Der Durchmesser der Blende bestimmt nun zusammen mit dem Mikroskopobjektiv und dessen numerischer Apertur die Dicke des optischen Schnittes. Die Dicke der abgebildeten Schicht kann bei sehr enger Blende und sehr guten Objektiven auf Werte unter 1 μm eingegrenzt werden. Zeichnet man mehrere Schnitte in verschiedenen Fokusebenen auf, so erhält man eine Schichtung und kann daraus am Computer eine dreidimensionale Rekonstruktion des abgebildeten Objektes erstellen.

Typische Laser-Scanning-Mikroskope sind komplexe Systeme, die aus folgenden Komponenten bestehen:

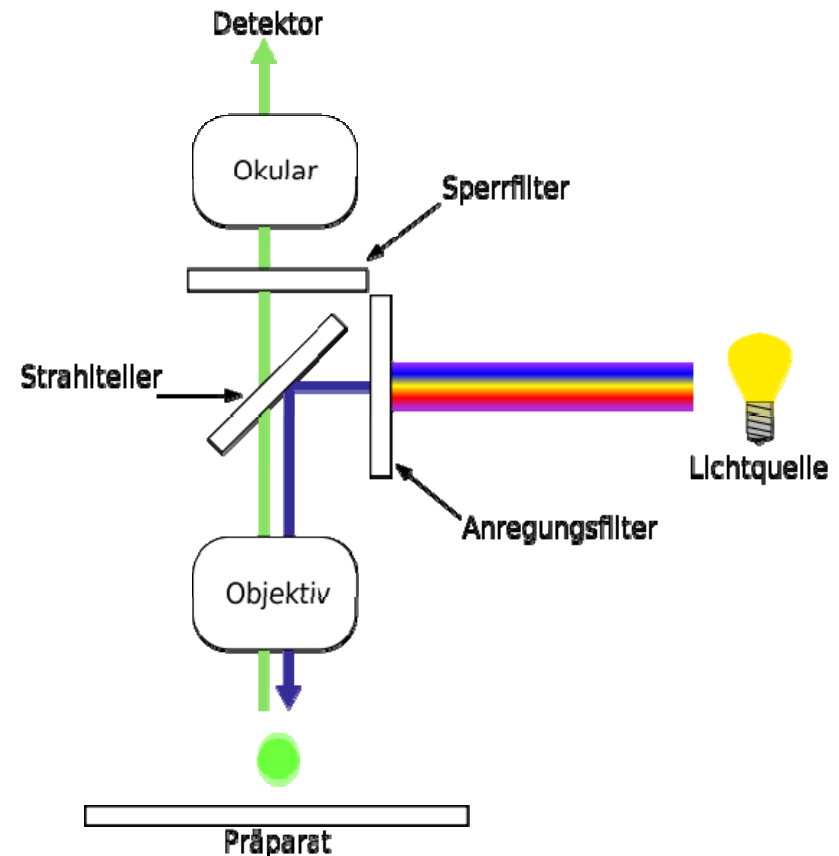
- einem klassischen Mikroskop
- einem oder mehreren Lasern
- einem Scankopf
- Hardware und Software zur Steuerung der Signalerfassung, -auswertung, -darstellung und -archivierung

Fluoreszenzmikroskopie

Die Funktion eines Fluoreszenzmikroskopes beruht stets auf folgenden Prinzipien:

- Im zu untersuchenden Präparat befinden sich fluoreszierende Stoffe ([Fluorochrome](#)), die mit Licht einer bestimmten Wellenlänge zum Leuchten angeregt werden.
- Die so angeregten Fluorochrome emittieren Licht, welches durch die [Stokesverschiebung](#) in der Regel langwelliger als das anregende Licht ist (wichtige Ausnahme: sogenannte 2-Photonenanregung mit einem Near-Infrared-(NIR)-fs-Laser).
- Anregungs- und Emissionslicht können im selben Strahlengang optisch getrennt werden und die Größe der zu untersuchenden Objekte kann aufgrund ihres Eigenleuchtens bei ausreichend hohem Kontrast weit unter der Auflösungsgrenze eines Lichtmikroskopes liegen.

Der Grundaufbau der meisten Fluoreszenzmikroskope entspricht dem eines [Auflichtmikroskopes](#). Das zu beobachtende Objekt wird dabei nicht durchstrahlt, sondern durch das Objektiv beleuchtet. (Die korrekte Bezeichnung lautet daher **Epifluoreszenzmikroskop**). Als Lichtquellen werden in der Regel [Quecksilberdampf lampen](#) oder [Laser](#) eingesetzt. Quecksilberdampf lampen emittieren Licht über das gesamte [sichtbare Spektrum](#) sowie im ultravioletten Bereich. Die für die Anregung des Fluoreszenzfarbstoffes notwendige Wellenlänge wird mit [optischen Filtern](#) isoliert und das einfarbige Licht auf das Objekt geleitet, worauf dieses zu fluoreszieren beginnt. Das emittierte, in der Regel längerwellige Fluoreszenzlicht wird durch das Objektiv gesammelt. Im Strahlengang befindliche [Farbteiler](#) trennen anschließend das Fluoreszenzlicht vom anregenden Licht und leiten es in das Okular des Mikroskopes, auf eine Fotokamera (analog oder digital) oder auf einen elektronischen Verstärker ([Photomultiplier](#)).



In der [Biologie](#) werden Fluoreszenzmikroskope vielfältig eingesetzt. Im einfachsten Falle werden Zellbestandteile, die von Natur aus fluoreszieren ([Autofluoreszenz](#)) sichtbar gemacht. Dies ist vor allem bei Pflanzen möglich, denn [Chlorophylle](#) und andere pflanzliche Pigmente haben die natürliche Eigenschaft, zu fluoreszieren. Im Allgemeinen ist diese Eigenschaft aber unerwünscht, denn unspezifische Autofluoreszenz verschiedener Zellbestandteile führt zu starken Hintergrundsignalen.

Die wichtigsten Anwendungen basieren auf der spezifischen Färbung einzelner Zellbestandteile, meist bestimmter Proteine. Diese werden zuvor entweder mit Hilfe spezifisch bindender fluoreszenzmarkierter Liganden (z. B. [Phalloidin-FITC](#) für [Aktin](#), [DAPI](#) für [DNA](#)), spezifischer [Antikörper](#) ([Immunfluoreszenz](#)) oder durch Fusion mit einem fluoreszierenden Protein wie [GFP](#) markiert. Aus dem fluoreszenzmikroskopischen Bild können anschließend Rückschlüsse auf die Lokalisation des Proteins in der Zelle gezogen (z. B. im Kern, im Cytoplasma, membrangebunden oder nach außen exportiert) bzw. Zellbestandteile durch ihre spezifischen Proteine visualisiert werden (z. B. Cytoskelett durch Aktin, Mikrotubuli durch Tubulin). Auch Interaktionen von Proteinen untereinander sind beobachtbar. Durch [Genexpression](#) eines Markerproteins wie GFP unter Kontrolle eines spezifischen [Promotors](#) können auch [Zelltypen](#) identifiziert werden, die allein aufgrund ihres lichtmikroskopischen Erscheinungsbild nicht sicher angesprochen werden können. Je nach angewandter Methode ist auch die Verfolgung einzelner Vorgänge in lebenden Zellen möglich. Heute existiert eine breite Palette an Fluoreszenzmarkern, Markierungsmethoden und Mikroskopietechniken.

Röntgen

Das Wort **Röntgen** (nach dem Physiker [Wilhelm Conrad Röntgen](#)) steht für den Prozess des Durchstrahlens eines Körpers mit [Röntgenstrahlen](#) unter Verwendung eines [Röntgenstrahlers](#) sowie die Darstellung der Durchdringung des Körpers, etwa mittels eines fluoreszierenden Schirms oder eines [Bildverstärkers](#) ([Durchleuchtung](#)). Die Bilder werden entweder auf geeignetem Filmmaterial ([Radiografie](#)), [Phosphorplatten](#) oder mittels elektronischer Sensoren, zum Beispiel [CCDs](#) (digitale Radiografie), sichtbar. Röntgen ist ein weit verbreitetes [bildgebendes Verfahren](#). [Stand der Technik](#) ist [Digitales Röntgen](#).

Am 8. November 1895 entdeckte [Wilhelm Conrad Röntgen](#) in Würzburg die unsichtbaren Strahlen.^[1] Ausgehend von dieser Entdeckung entwickelte [Carl Heinrich Florenz Müller](#) gemeinsam mit Ärzten die erste wassergekühlte [Anode](#).

Medizin

Verschiedene Röntgenbilder für den medizinischen Gebrauch

In der [Medizin](#) dient das Röntgen zur Feststellung von Anomalien im Körper, die im Zusammenhang mit Symptomen, Zeichen und eventuell anderen Untersuchungen eine [Diagnose](#) ermöglichen (Röntgendiagnostik). Die unterschiedlich dichten Gewebe des menschlichen (oder tierischen) Körpers absorbieren die Röntgenstrahlen unterschiedlich stark, so dass man eine Abbildung des Körperinneren erreicht ([Verschattung](#), [Aufhellung](#) und andere [Röntgenzeichen](#)). Das Verfahren wird zum Beispiel häufig bei Verdacht auf einen [Knochenbruch](#) angewendet: Zeigt das Röntgenbild eine Unterbrechung der Kontinuität des Knochens, ist der Verdacht bestätigt.

Für unterschiedliche Bereiche des Körpers werden unterschiedliche „Strahlenqualitäten“ benötigt, um unterschiedlich dichte Gewebe, wie z. B. Fettgewebe oder Knochen zu durchdringen. In der Röntgendiagnostik spricht man von weicher und harter Strahlung. Ausschlaggebend ist die Spannung in [Kilovolt](#) (kV), die der Röntgenröhre zugeführt wird. Je nach gewünschter Bildaussage wird die Röhrenspannung zwischen 38 und 120 kV gewählt. Bei weicher Strahlung (ca. 40 kV) wird viel Strahlung vom Gewebe absorbiert. Dadurch werden auch feinste Gewebeunterschiede auf dem Röntgenfilm sichtbar gemacht. Dies ist der Fall bei der [Mammografie](#) (Röntgenuntersuchung der weiblichen Brust), jedoch ist die Strahlenbelastung des durchstrahlten Gewebes dadurch relativ hoch. Einige Ärzte vermuten, dass die Entstehung von Brustkrebs durch diese Form der Vorsorgeuntersuchung begünstigt wird. [Harte Strahlung](#) (über 100 kV) durchdringt Gewebe und Materialien (Gips und sogar Bleischürzen von geringerer Dicke) wesentlich leichter. Kontrastunterschiede werden stark abgemildert, wie z. B. bei Lungenaufnahmen (120 kV), bei denen sonst im Bereich der Rippen keine Beurteilung der Lungenstruktur möglich wäre.

Häufig werden dem Patienten bei oder vor der Röntgenuntersuchung [Kontrastmittel](#) verabreicht. Manche Strukturen, die sich normalerweise nicht abgrenzen lassen, können so hervorgehoben werden. Zum Teil lässt sich mit einem Kontrastmittel auch die Funktion eines Organsystems darstellen, so etwa in der [Urografie](#). Je nach Fragestellung bieten sich verschiedene Substanzen und Darreichungsformen an.

In Deutschland können Patienten im Falle einer Röntgenuntersuchung vom behandelnden Arzt verlangen, Informationen wie Datum und bestrahlte Körperregion in einen [Röntgenpass](#) einzutragen oder sich einen solchen Pass ausstellen zu lassen.

Deutschland nimmt beim Röntgen einen Spitzenplatz ein: etwa 1,3 Röntgenaufnahmen und 2 [mSv](#) pro Einwohner und Jahr. Auf diese [Strahlenbelastung](#) lassen sich theoretisch 1,5 % der jährlichen Krebsfälle zurückführen.^[2] Ärzte unterschätzen laut Heyer die Strahlenbelastung bei der [Computertomographie](#): Diese machten im Jahr 2003 gut 6 % aller Röntgenuntersuchungen aus, waren aber für mehr als 50 % der medizinischen [Röntgenstrahlung](#) verantwortlich.^[3] Beispiel: Bei der Koronaruntersuchung mittels [Computertomographie](#) (CT) erkaufen sich Patienten die erhöhte [Sensitivität](#) mit einem gesteigerten Krebsrisiko. So errechneten amerikanische Wissenschaftler, dass bei Zwanzigjährigen eine von 143 mittels [Koronar-CT](#) untersuchten Frauen im Laufe ihres Lebens infolge dieser [Angiographie](#)-Strahlung an Krebs erkrankt, aber nur einer von 686 gleich alten Männern. Die CT-Angiographie der Koronarien scheint vor allem bei Frauen und jungen Menschen das Krebsrisiko nicht unerheblich zu erhöhen.^[4] Unter welchen Voraussetzungen ein Arzt für Hautschäden wegen einer röntgenärztlichen Untersuchung haftet, ist Gegenstand einer Entscheidung des Oberlandesgerichts Jena.^[5]

Materialprüfung

Weitere Anwendungen findet man beim Röntgen in der [Werkstoffprüfung](#). Durch Röntgen kann man im Verlauf der [Durchstrahlungsprüfung](#) Objekte auf Risse und Hohlräume im Innern untersuchen. Dies geschieht mit sogenannten Röntgenrefraktionsanlagen, meist mit einem Belastungsmechanismus zum leichten Öffnen der Mikrorisse (engl. crazes).^[6]

Qualitätssicherung

Immer häufiger verlangen große Handelsketten von den Nahrungsmittelherstellern eine bessere Detektion von Fremdkörpern zur Erhöhung der Produktqualität. Nachdem der Metalldetektor in den letzten Jahren das Mittel der Wahl war, kommen jetzt immer häufiger Röntgensysteme zum Einsatz. Diese Röntgensysteme bestehen zum einen aus dem bekannten Röntgensystem (Röhre/[Kollimator](#) und Empfänger) sowie aus einer weitentwickelten computergestützten Bildverarbeitung mit Aussteuergerät. Das heißt, das Röntgenbild des jeweiligen Nahrungsmittels wird hinsichtlich möglicher Verunreinigungen (Kontaminationen) mittels spezieller Computerprogramme untersucht. Sollte die Röntgenbildanalyse ergeben, dass ein Nahrungsmittel verunreinigt ist, so wird dem angeschlossenen Aussteuergerät umgehend mitgeteilt, dass dieses Nahrungsmittel auszusteuern ist. Es landet im Abfallbehälter.

Allerdings sind gerade zu Beginn des Einsatzes solcher Röntgensysteme in der Nahrungsmittelindustrie Hürden zu überwinden. Die Angst vor einer Belastung durch mögliche Strahlung ist oft groß und bedarf einer Aufklärung. Abgesehen von Röntgensystemen, die Nahrungsmittel bestrahlen, um sie haltbarer zu machen, ist die Röntgenuntersuchung hinsichtlich möglicher Kontaminationen absolut ohne jegliche Wirkung auf das Nahrungsmittel selbst. Das Röntgen hat hier weder eine haltbarmachende noch eine zerstörende Wirkung. Was bleibt, ist die Sicherheit des Röntgensystems für den Anwender. Da Röntgen in Deutschland gemäß der [Verordnung über den Schutz vor Schäden durch Röntgenstrahlen](#) genehmigungspflichtig ist, sind die Hürden für mögliche Verletzungen sehr hoch. Letzten Endes hängt die jeweilige Sicherheit von dem Betreiber selbst und dem erworbenen System ab. Vergessen sollte man jedoch nicht, dass das medizinische Röntgen und Flugreisen (in normaler Höhe) temporär weit größere Belastungen mit sich bringen, als es bei einem Röntgensystem zur Qualitätssicherung der Fall ist. Wer sich in feuchten Kellern von Häusern oder in Wasserwerken aufhält, bekommt in der Regel höhere Ausschläge auf dem Messgerät (Dosimeter) als vor dem eingeschalteten Röntgensystem. Sie kommt aus dem Erdboden wie auch aus dem Weltraum zu uns und wird mitgemessen.

Ein Röntgensystem kann metallische und nichtmetallische Kontaminationen detektieren, jedoch nicht alle. Röntgen ist zum heutigen Zeitpunkt (2005) die einzige Möglichkeit, um möglichst viele und unterschiedliche kleine Kontaminationen in Nahrungsmittel erkennen zu können. Die Annahme, das Produkt sei nach der Untersuchung zu 100 % kontaminationsfrei, ist jedoch falsch. Sicher ist, dass in den kommenden Jahren mittels besserer Technik das Detektionsvermögen noch weiter gesteigert werden kann. Man wird aber nie alles finden können. Das hängt in erster Linie damit zusammen, dass je näher die „Röntgeneffekte“ von Kontaminationen und dem eigentlichen Produkt zusammenliegen, es dem bildverarbeitenden System auch umso schwerer fällt, zwischen beiden zu unterscheiden. In der sogenannten [Hounsfield-Skala](#) sind Röntgeneffekte unterschiedlichster Materialien aufgelistet. Je näher sich die jeweiligen Materialien in dieser Liste sind, umso schlechter vermag ein Röntgendetektor sie zu unterscheiden (Beispiel: Fleisch und Fett). Ist hingegen der Unterschied groß, wie z. B. zwischen einem Käsestück (verpackt oder unverpackt) und einem kleinen Stein oder Eisen- oder Aluminiumstück, so fällt es dem Röntgendetektor besonders leicht, die Verunreinigungen im Käse zu erkennen und auszusortieren.

Archäologie

In der [Archäologie](#) wird die Röntgenaufnahme beispielsweise zum Durchleuchten von [Mumien](#) genutzt, wenn deren [Einbandagierung](#) nicht zerstört werden soll. Ferner können kompliziert aufgebaute Funde wie Waffen, verzierte [Ornamente](#) oder unter Verschluss befindliche Objekte in Truhen ohne Öffnung untersucht werden.

Geologie und Mineralogie [\[Bearbeiten\]](#)

Die chemische Analyse von Gesteinen und Mineralen ist mit Hilfe der [Röntgenfluoreszenz](#)-Analyse möglich. Durch Bestrahlung mit Röntgenstrahlen von ca. 50 kV werden die in einer Probe enthaltenen [chemischen Elemente](#) zu einer Fluoreszenz-Strahlung angeregt, deren Wellenlänge charakteristisch für das betreffende Element ist. Durch Messung der Wellenlänge dieser Strahlung können die Elemente qualitativ bestimmt werden. Durch Messung der Intensität und Vergleich mit einer Standardprobe bekannter Zusammensetzung kann auch eine quantitative Analyse durchgeführt werden. Die Methode ist im Gegensatz zu nasschemischen Analyseverfahren zerstörungsfrei, d. h. die Probe ist nach der Analyse unverändert und kann für andere Zwecke verwendet werden. Allerdings muss eine geologische Probe fein gemahlen und zu einer flachen Tablette (gewöhnlich mit einem Bindemittel) gepresst werden.

Maltechnik

[Kurt Wehlte](#) setzte erstmals die Röntgentechnik ein, um die verschiedenen Schichten des Bildaufbaus bei Gemälden sichtbar zu machen. Er gründete in Berlin die Röntgenbildstelle für Gemäldeuntersuchung.

Astronomie

Im Januar 2003 gelang amerikanischen und japanischen Astronomen erstmals das Röntgen der Gashülle des [Saturnmondes Titan](#). Möglich wurde diese Aufnahme durch den ersten Titan-[Transit](#) des Krebsnebels seit Beginn der Beobachtung; die nächste Konjunktion dieser Art wird im Jahr 2267 erwartet. Auch senden bestimmte Himmelskörper wie z. B. [Röntgenpulsare](#) Röntgenstrahlung aus, durch deren Messung man Daten der Körper bestimmen kann.

Strukturanalyse

Indem man die [Beugung](#) von Röntgenstrahlen beim Durchtritt durch eine Substanzprobe misst, lässt sich die Kristallstruktur von Substanzen aufklären. [Moleküle](#) können so visualisiert werden. Bei organischen Molekülen wie [DNA](#), [RNA](#) und [Proteinen](#) lässt die Struktur Schlüsse auf die Funktion zu, daher greifen [Molekularbiologen](#) besonders oft auf die Röntgen-Strukturanalyse zurück. Die einzelnen Vorgänge bei diesem Verfahren werden in dem Artikel [Kristallstrukturanalyse](#) erläutert.

Neben der Röntgenbeugung kann auch Röntgenabsorption gemessen werden. Dies wird bei der [Röntgenabsorptionsspektroskopie](#) als Verfahren zur Strukturaufklärung verwendet. Die Methode ist nicht auf kristalline Proben beschränkt, allerdings ist sie nur für die Aufklärung von Nahstrukturen geeignet. Insbesondere im Bereich biologischer Proben wird die Röntgenabsorptionsspektroskopie zunehmend zur gezielten Aufklärung aktiver Zentren von Enzymen verwendet.

Sicherheit

Durchleuchtung eines Zuges in den USA zur Vermeidung von [Menschenschmuggel](#)

An manchen Kontrollpunkten wird die Röntgentechnik in [Scannern](#) angewendet, um zeitsparend aber wirksam Hohlräume oder [Menschen](#) zu durchleuchten.

Ferner wird das Röntgen auch bei der [Delaborierung](#) von Bomben zur Hilfe genommen; dies dient der Analyse.

Computertomographie

Die **Computertomographie** (von [altgr.](#) τομή, *tome*, „Schnitt“ und γράφειν, *graphein*, „schreiben“), Abkürzung **CT**, ist die rechnerbasierte Auswertung einer Vielzahl aus verschiedenen Richtungen aufgenommener [Röntgenaufnahmen](#) eines Objektes, um ein dreidimensionales Bild zu erzeugen ([Voxeldaten](#)). Es handelt sich dabei um ein schnitt**bildgebendes Verfahren**. Es wird auch CT-Scan oder CAT-Scan (von *computed axial tomography*) abgekürzt.

Beim herkömmlichen [Röntgenverfahren](#) wird das abzubildende Objekt von einer Röntgenquelle durchleuchtet und auf einem Röntgenfilm abgebildet ([bildgebendes Verfahren](#)). Es entsteht eine [Projektion](#) des Volumens auf eine Fläche. Bei dieser Projektion gehen Informationen, welche die dritte Dimension (Dicke) des durchleuchteten Körpers betreffen weitgehend verloren. Grund hierfür ist, dass im Nachhinein nicht mehr unterschieden werden kann, ob die im Röntgenbild sichtbare Schwächung (helle Bereiche im Bild) durch ein Material höherer [Absorption](#) oder durch eine größere Schichtdicke hervorgerufen wurde.

Die Computertomographie umgeht dieses Problem, indem sie viele Röntgenbilder des Objekts aus den unterschiedlichsten Richtungen erstellt und nachträglich aus diesen Abbildungen die nicht erfasste Volumenstruktur rekonstruiert (sog. Rekonstruktion oder [Rückprojektion](#)^[1]). In der Regel setzen sich diese 3D-Rekonstruktionen aus Einzelschnitten ([Schnittbildverfahren](#)) zusammen, die quer durch das Objekt verlaufen. Auf diese Weise kann für jedes Volumenelement des Objektes (sog. [Voxel](#)) entspricht einem dreidimensionalen [Pixel](#)) der [Absorptionsgrad](#) ermittelt werden.

Die Computertomographie wird vorwiegend in der [Medizin](#), aber auch in anderen Fachgebieten angewendet wie zum Beispiel CT von Bäumen, zur zerstörungsfreien Untersuchung von [archäologischen Funden](#) wie Mumien, oder auch in der [Materialprüfung](#). Die Röntgenstrahlen, die durch das Untersuchungsobjekt geschickt werden, werden von mehreren Detektoren gleichzeitig aufgezeichnet. Der Vergleich zwischen ausgesandter und gemessener Strahlungsintensität gibt Aufschluss über die Abschwächung ([Absorption](#)) der Strahlung durch das zu untersuchende Gewebe. Die Daten werden mittels eines mathematischen Verfahrens im Computer zu einem Volumendatensatz zusammengefügt, aus dem man [Schnittbilder](#) und [3D](#)-Ansichten in beliebigen Ebenen rekonstruieren kann. Zur Untersuchung eines Organs wird in der Praxis meist eine Serie von Schnittbildern angefertigt.

Der [Absorptionsgrad](#) (Schwächungskoeffizient, oft physikalisch ungenau als Dichte oder Röntgendichte bezeichnet) wird in der CT in Grauwerten dargestellt und auf der [Hounsfield-Skala](#) angegeben. Luft hat auf dieser Skala einen Absorptionswert von -1000, Wasser von 0 und Metall (zum Beispiel Implantate) von über 1000. Spongiöses Knochengewebe ([Knochenbälkchen](#), zum Beispiel in den Wirbelkörpern) liegt typischerweise bei etwa 400 bis 800 Hounsfield-Einheiten (HE oder HU), kompaktes Knochengewebe (zum Beispiel im Schaft langer [Röhrenknochen](#)) weit über 1000 HU. Nach oben ist die Hounsfield-Skala offen, sie ist jedoch in der praktischen Anwendung auf 12 Bit (-1024 bis +3071) begrenzt. In der praktischen Anwendung wird jedem akquirierten HU ein Grauwert in der bildlichen Darstellung des CT-Scans zugeordnet. Da das menschliche Auge nicht in der Lage ist, diese 4000 Grauwerte zu differenzieren, wird der Bereich der Grauwert-Darstellung je nach untersuchtem Organsystem begrenzt (Fenster-Weite und Fenster-Zentrum). Vorteilhaft ist auch die [Falschfarbendarstellung](#).

Synchrotron

Das **Synchrotron** ist ein [Teilchenbeschleuniger](#), in dem geladene [Elementarteilchen](#) oder [Ionen](#) auf sehr hohe (*relativistische*) Geschwindigkeiten beschleunigt werden können, wodurch die Teilchen sehr hohe [kinetische Energien](#) erhalten, da das mehrmalige Durchlaufen der Bahn häufigere Beschleunigung als beispielsweise ein [Linearbeschleuniger](#) ermöglicht. Die grundlegenden Konzepte für das Synchrotron wurden unabhängig in Russland von [Wladimir Iossifowitsch Weksler](#) (1944 am [Lebedew-Institut](#)) und von [Edwin McMillan](#) (während des Zweiten Weltkriegs in Los Alamos) entwickelt.

Beim Elektronensynchrotron erzeugt eine Glühkathoden-Elektronenquelle freie Elektronen, die dann über eine elektrostatische Beschleunigungsstrecke in einen [Linearbeschleuniger](#), ein [Mikrotron](#) oder sogar schon in einen ersten Beschleunigungsring geleitet werden. In diesem werden die Elektronen bis zu einer Endenergie elektrodynamisch beschleunigt und dann – im Fall einer Speicherringanlage – im Synchrotronspeicherring (Durchmesser um die 50 m) gespeichert. Die Elektronen werden so lange im Speicherring gehalten, bis sie durch Kollisionen mit Restgasmolekülen unter die verwertbare Dichte verringert sind.

An Synchrotrons wurde erstmalig die intensive und breitbandige elektromagnetische Strahlung nachgewiesen, die aufgrund der Ablenkung leichter geladener Teilchen entsteht. Sie wird daher als [Synchrotronstrahlung](#) bezeichnet und 1949 von [Julian Schwinger](#) theoretisch beschrieben. Sie trat anfangs an teilchenphysikalischen Beschleunigern störend in Erscheinung, da durch ihre Abstrahlung die Energie der Teilchen verloren geht. Sie eignet sich aufgrund ihrer Beschaffenheit jedoch für Untersuchungen in anderen Bereichen der Physik sowie weiterer Naturwissenschaften, aber auch für industrielle und medizinische Anwendungen. Die Synchrotronstrahlung wird daher inzwischen gezielt produziert, wozu nicht mehr die zur Führung des Teilchenstrahls benötigten [Dipolmagneten](#) eingesetzt werden, sondern sogenannte [Wiggler](#) oder [Undulatoren](#). Ein Undulator hat den Vorteil, dass sein Emissionswinkel schmaler als beim Wiggler ist, es treten allerdings [Harmonische](#) der emittierten Photonenenergie auf. Wiggler haben ein breiteres Strahlungsspektrum als Undulatoren und ihre Magnete werden typischerweise in der Anordnung eines [Halbach-Arrays](#) gebaut.