

SONDERDRUCK

aus

2 | 2022

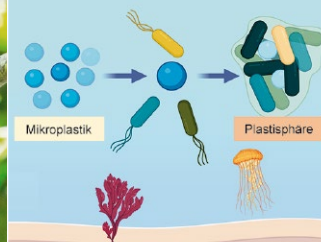
**VBio**

Verband | Biologie, Biowissenschaften  
& Biomedizin in Deutschland



**ZOOLOGIE**

Monogamie bei  
Springaffen



**MIKROBIOLOGIE**

Bakterien als  
Plastikmüllabfuhr



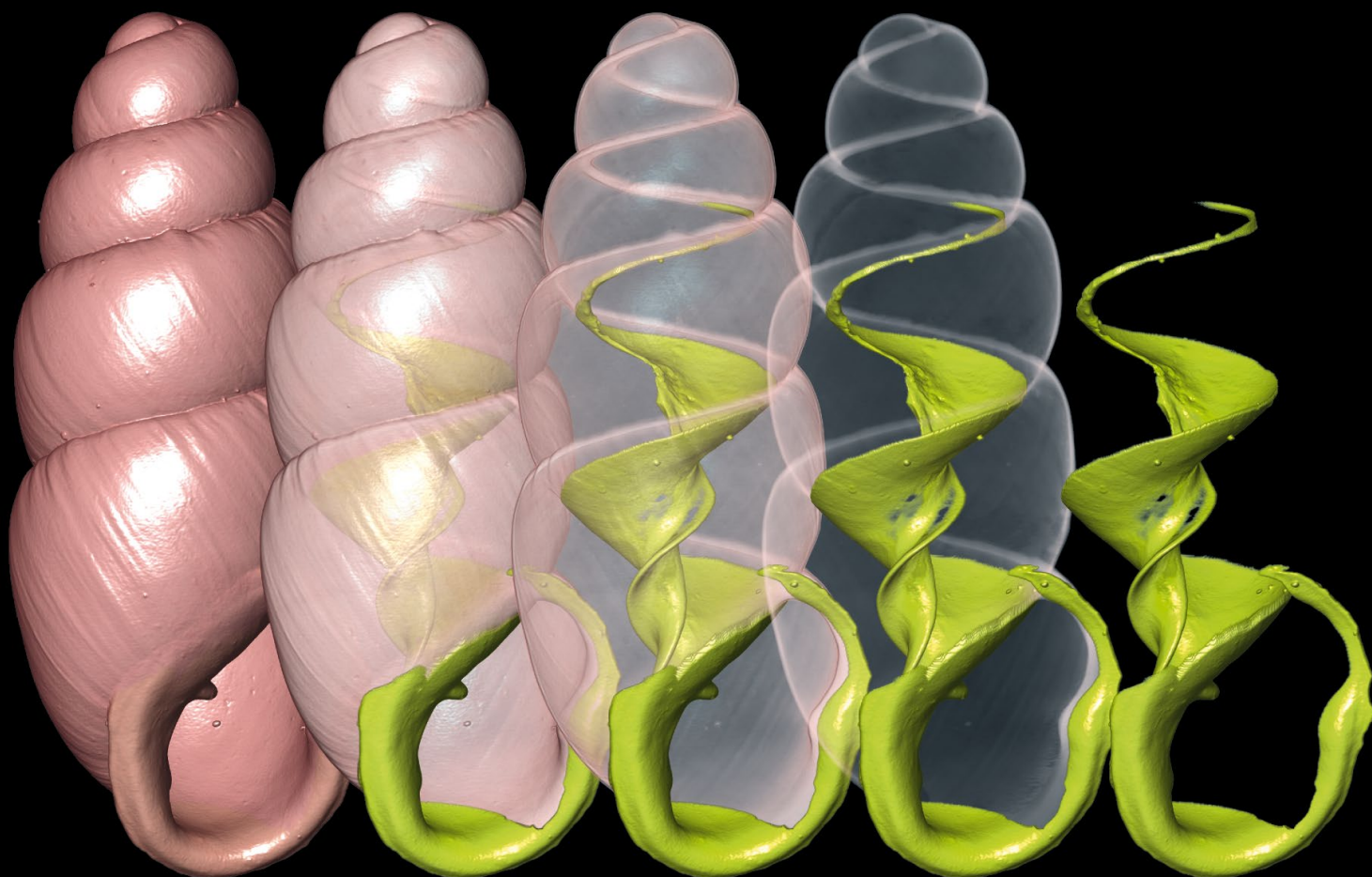
**SCHULE**

Die Immuno-Viren-  
Show

# BIOLOGIE

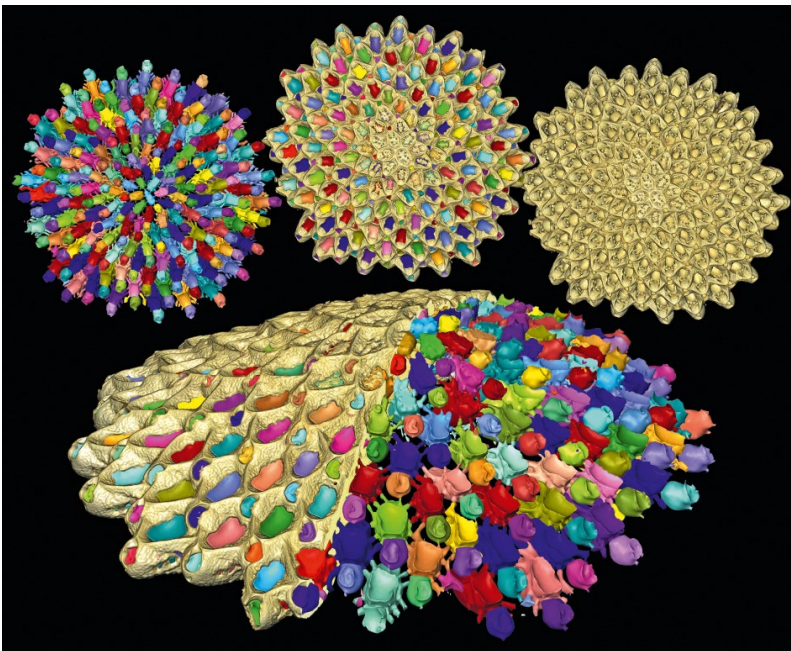
IN UNSERER ZEIT

**Mit Röntgen  
in die dritte Dimension**



# Mikro-Computertomographie in der Biologie Mit Röntgen in die dritte Dimension

STEPHAN HANDSCHUH | BERNHARD RUTHENSTEINER



**Kolonie des marinen Moostierchens *Cupuladria* sp. (Durchmesser ca. 4,6 mm). Kalkskelett metallisch-beige, virtuelle Ausgüsse der inneren Kammern einzelner Individuen (Zooide) verschiedenfarbig.**

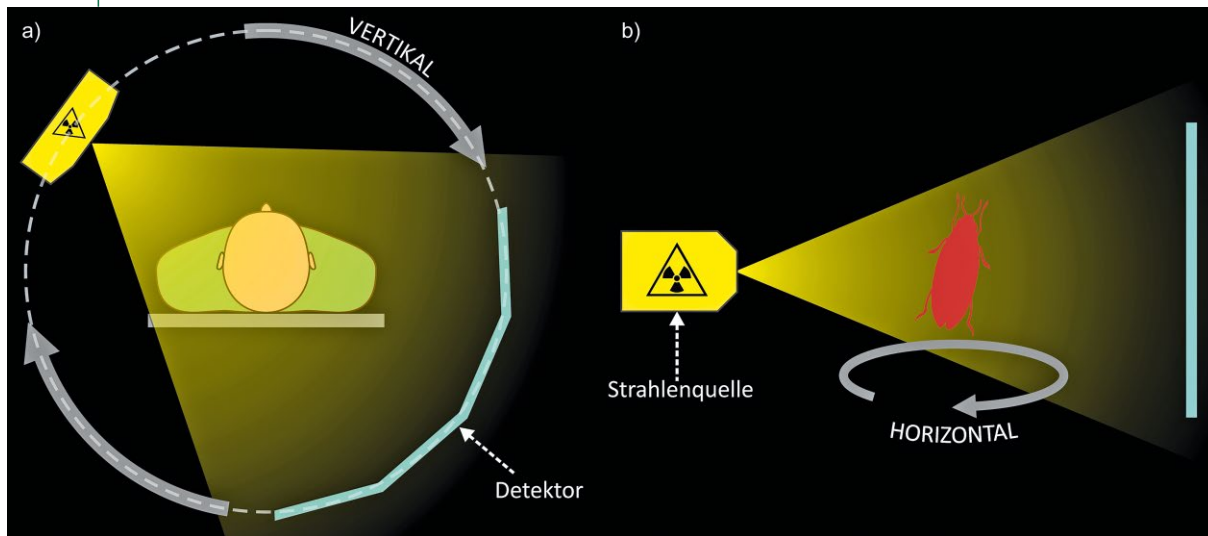
*Die Mikro-Computertomographie hat sich in den vergangenen Jahren als Standarduntersuchungsmethode in der Biologie etabliert. Die Vorteile gegenüber althergebrachten Methoden wie Schnitt- oder Schliffserien sind naheliegend: Die Objekte bleiben intakt, die Datengewinnung erfolgt schnell und auf relativ einfachem Weg, und die Ergebnisse lassen sich unmittelbar dreidimensional darstellen und bearbeiten. Wir bieten einen Streifzug durch damit verbundene Themen wie technische Hintergründe, Nutzungsmöglichkeiten und Betrieb von vor allem laborbasierten MikroCT-Anlagen.*

*Die mit einem grünen Pfeil markierten Begriffe werden im Glossar auf Seite 153 erklärt.*

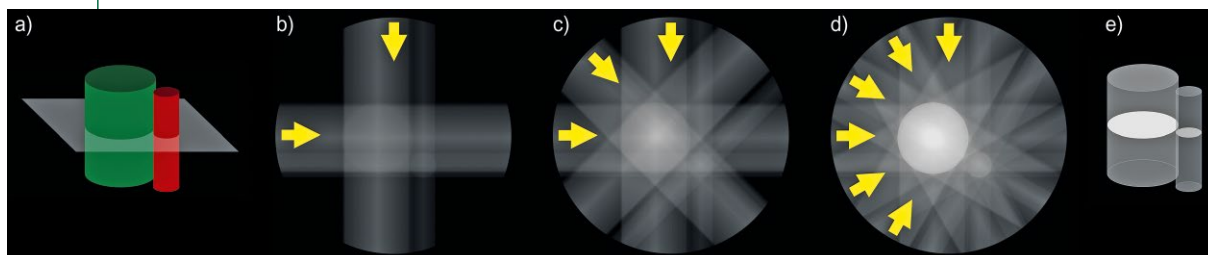
Die Geschichte der Röntgen-Computertomographie (► CT) ist eine wahre Erfolgsgeschichte. In den frühen 1970er Jahren wurde das erste klinische CT-Gerät in Betrieb genommen, wodurch es zum ersten Mal ermöglicht wurde, exakte dreidimensionale anatomische Informationen aus dem Körperinneren zu gewinnen ohne den Körper zu eröffnen. Seitdem ist die CT, gemeinsam mit anderen tomographischen Verfahren wie MRT (Magnet-Resonanz-Tomographie), ein nicht mehr wegzudenkender Bestandteil in der klinischen Diagnostik. Technische Weiterentwicklungen während der 1980er und 1990er Jahre verbesserten die Bildqualität und erlaubten in der Folge die Untersuchung kleinerer Objekte mit höherer ► Auflösung: die Geburtsstunde der mikroskopischen Computertomographie (► MikroCT). Das machte die CT zunehmend für die Materialwissenschaften und die Industrie interessant, wo sie heute allgegenwärtig ist.

Mit etwas Verzögerung, und über den Umweg der industriellen Anwendungen, schaffte die MikroCT auch eine beeindruckende Ausbreitung in der biomedizinischen und biologischen Grundlagenforschung. Bereits in den 1980ern erkannte man das Potenzial der MikroCT für die strukturelle Analyse mineralisierter Gewebe. Ab den späten 1990ern wurden, analog zu klinischen CT-Geräten, MikroCT-Geräte speziell für die präklinische Forschung an lebenden Labortieren wie Mäusen und Ratten entwickelt. Ab den 2000ern wurde die MikroCT auch vermehrt für die dreidimensionale mikroskopische Bildgebung nicht-mineralisierter biologischer Proben und Gewebsbiopsien eingesetzt, einhergehend mit neuen Methoden zur Gewebepreparation. Seitdem nahmen die MikroCT-Anwendungen in den Biowissenschaften stetig zu und sind heute aus den meisten Bereichen nicht mehr wegzudenken.

Dieser Artikel soll einen Eindruck über das technische Grundprinzip der MikroCT, ihre Stärken und Schwächen sowie einen kurzen Überblick über kontemporäre Applikationen und Einsatzbereiche in der biologischen Forschung liefern. Zusätzlich werden aktuelle Gerätekonzepte und praktische Aspekte bei Beschaffung und Betrieb von laborbasierten MikroCT-Geräten, welche heute beinahe flächendeckend an Universitäten und Museen verfügbar und somit für den Großteil der gewonnenen und publizierten MikroCT-Daten verantwortlich sind, aufgezeigt. MikroCT-Anwendungen in Synchrotron-Anlagen (soge-

**ABB. 1 | VERGLEICH VON KLINISCHEM CT UND MIKROCT**


Während Strahlenquelle und Detektor bei klinischem CT (a) den Patienten vertikal umfahren, dreht sich bei der MikroCT (b) das Objekt horizontal zwischen Strahlenquelle und Detektor.

**ABB. 2 | TOMOGRAPHISCHE REKONSTRUKTION**


Schematische Darstellung zum Vorgang der Erstellung von 3D-Datensätzen aus einzelnen Projektionsbildern. a) Zwei zylindrische Objekte mit in b–e ausgewählter Ebene. b–d) Zunehmende Abbildungsqualität der Zylinderquerschnitte bei zunehmender Anzahl der Projektionen. e) Visualisierung von Zylindern mit Querschnitten in ausgewählter Ebene.

nannte *Synchrotron-Beamlines*), die üblicherweise zwar eingeschränkter zugänglich sind, jedoch qualitativ hochwertigere Bilder liefern und zudem einen besonders hohen Probendurchsatz erlauben, werden ebenfalls in einigen Aspekten gestreift.

### Was versteht man unter CT, MikroCT und NanoCT?

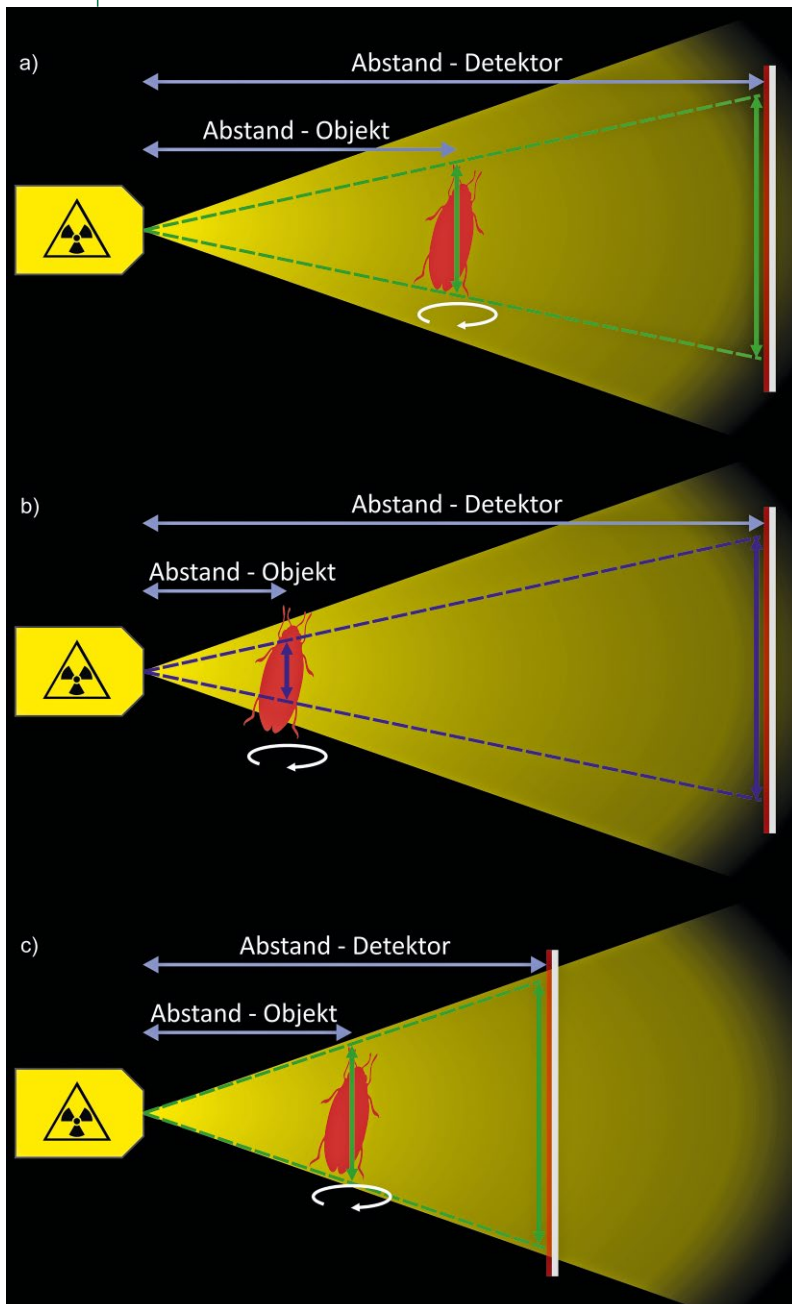
Computertomographie (CT, auch Röntgentomographie, engl. *X-ray tomography*) ist die Untersuchungsmethode, bei der durch Röntgenstrahlung aus verschiedenen Richtungen digitale (virtuelle) Schnittbilder erstellt werden (Abbildungen 1–4). Die mikroskopische Computertomographie (MikroCT,  $\mu$ CT) umfasst die Labor- oder Synchrotron-basierte nicht-klinische Röntgen-Computertomographie mit hoher Auflösung und einem Sichtfeld zwischen etwa 1 und 400 mm. Dabei wird der Begriff MikroCT sowohl für die *In-vivo*-Bildgebung kleiner Labortiere analog zur klinischen CT als auch für die *Ex-vivo*-Bildgebung biologischer und anderer Präparate verwendet. Die maximal erreichbare Auflösung gängiger MikroCT-Geräte liegt

meist im ein- bis zweistelligen Mikrometerbereich, in manchen Fällen auch knapp unter einem Mikrometer. Manche der speziell hochauflösenden kommerziellen MikroCT-Geräte werden von Herstellern auch als NanoCT (nCT)

### IN KÜRZE

- Die MikroCT ist ein nicht-invasives **tomographisches bildgebendes Verfahren**. In der Biologie wird sie zur strukturellen/morphologischen Analyse von kleinen Organismen, Organen und Gewebe eingesetzt.
- MikroCT ist besonders **gut geeignet für mineralisierte Gewebe** wie Knochen, Zähne oder Skelette von Wirbellosen wie Weichtieren, Stachelhäutern, Korallen oder Krebstieren.
- **Röntgenkontrastmittel** erlauben eine qualitativ hochwertige Darstellung auch von nicht-mineralisierten Geweben.
- MikroCT-Daten sind dreidimensional und „quantitativ“, dadurch erlauben sie Messungen hinsichtlich **Geometrie, Volumen und Dichte** von Objekten.
- Spezialsoftware für die Verarbeitung von 3D-Bilddaten liefert unzählige Möglichkeiten zur **Visualisierung und Auswertung** von MikroCT-Daten.
- MikroCT kann mit anderen bildgebenden – z. B. licht- und elektronmikroskopischen – Verfahren kombiniert werden (**korrelative multimodale Bildgebung**).
- Anschaffung und Betrieb einer MikroCT-Anlage sind **aufwändig und kostenintensiv**.

ABB. 3 | GEOMETRISCHE VERGRÖßERUNG



Die geometrische Vergrößerung wird durch die Abstände von Objekt und Detektor zur Strahlenquelle eingestellt. Je näher das Objekt und je weiter entfernt der Detektor, desto höher die Vergrößerung. a, c) Gleiche Vergrößerung bei unterschiedlichen Abständen von Objekt und Detektor. b) Detailvergrößerung durch geringeren Objektabstand.

beworben. Diese Bezeichnung ist aber irreführend und sollte Geräten vorbehalten sein, die mit echter Röntgenoptik (wie z. B. Kapillar-Kondensator, Fresnel-Zonenplatte) arbeiten und Auflösungen von ca. 50 nm erreichen können. Diese echten NanoCT-Anwendungen können, ebenso wie klinische CT und *In-vivo*-MikroCT-Anwendungen, im gegenwärtigen Artikel aus Platzgründen nicht berücksichtigt werden.

### Technische Grundprinzipien der MikroCT

Der Bildkontrast bei Röntgenaufnahmen beruht auf der Interaktion von Materie und hochenergetischen elektromagnetischen Wellen, den Röntgenstrahlen. Als Strahlenquelle kommt in Laborgeräten eine Mikro- oder Nanofokus-Röntgenröhre zum Einsatz, welche ein polychromatisches Röntgenspektrum erzeugt. Im Gegensatz dazu arbeiten *Synchrotron-Beamlines* entweder mit einem poly- oder monochromatischen Spektrum. Dabei können mit einem polychromatischen Spektrum besonders hohe Photonendichten und dadurch kurze Scanzeiten erreicht werden, während ein monochromatisches Spektrum Bildartefakte reduziert und Vorteile für spektrale Tomographie-Verfahren liefert. Bei der Aufnahme eines Röntgenbilds befindet sich das Untersuchungsobjekt zwischen Strahlenquelle und Röntgendetektor. Die Röntgenstrahlen durchdringen bzw. durchleuchten das Untersuchungsobjekt und werden dabei abgeschwächt (attenuiert). Das Röntgenbild kann somit als partielles Schattenbild bzw. Projektionsbild verstanden werden. Generell attenuieren Elemente mit hoher Ordnungszahl Röntgenstrahlen stärker als Elemente mit niedriger Ordnungszahl. Das hat zur Folge, dass z. B. mineralisierte tierische Gewebe (Knochen, Zähne, Schalen von Weich- oder Krebstieren) einen höheren Röntgenkontrast liefern als nicht-mineralisierte Gewebe. Die Detektion der Röntgenstrahlung erfolgt üblicherweise in zwei Schritten: Zuerst wird die einfallende Röntgenstrahlung durch einen Szintillator in sichtbares Licht konvertiert, welches vom dahinterliegenden Detektor, der im Prinzip ähnlich wie der Sensor einer Digitalkamera beschaffen ist, verarbeitet wird.

Röntgenbilder erlauben es, in dichte und lichteoptisch nicht-transparente Objekte hineinzusehen, liefern jedoch nur limitierte zweidimensionale Informationen eines dreidimensionalen Körpers. Es ist daher nicht möglich, im Bild erkannte Strukturen räumlich exakt zu lokalisieren. Zu diesem Zweck ist es nötig, mehrere Röntgenbilder aus unterschiedlichen Blickwinkeln zu generieren. Bei klinischen Geräten und *In-vivo*-MikroCT-Geräten werden hierfür die Strahlenquelle und der Detektor rund um den Patienten gedreht, während bei *Ex-vivo*-MikroCT-Geräten nur die untersuchte Probe mittels eines Drehtisches gedreht wird (Abbildung 1). Bei allen CT-Verfahren, wie auch bei MikroCT, werden üblicherweise einige hundert bis einige tausend Röntgenbilder in kleinen Winkelschritten generiert, und aus diesen vielen Bildern werden später, mit Hilfe von Computern, virtuelle Schnittbilder errechnet (Abbildung 2). Die Schnittbilder werden also nicht direkt aufgezeichnet, sondern aus den Rohdaten (Projektionsbildern) mit dem Computer errechnet. Üblicherweise werden bei einer einzigen CT-Untersuchung zumindest einige hundert Schnitte generiert (rekonstruiert), die gestapelt ein dreidimensionales Bildvolumen ergeben. CT-Datensätze besitzen zwei grundlegende Vorteile gegenüber dem konventionellen Röntgenbild: Erstens können Strukturen räumlich lokalisiert werden, und ihre

Größe, Dichte und Geometrie kann exakt vermessen werden. Zweitens wird der Bildkontrast durch die rechnerisch aufgehobene Überlagerung einzelner Strukturen deutlich erhöht.

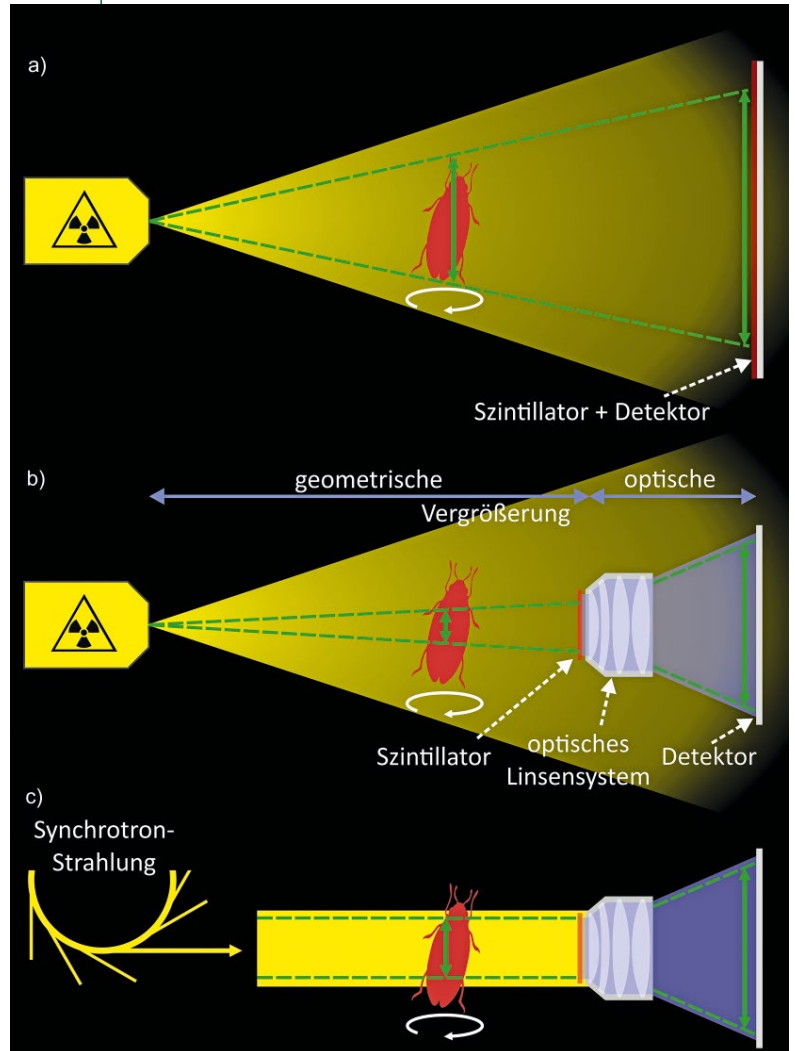
### Wie wird das Röntgenbild eines kleinen Objektes vergrößert?

MikroCT-Geräte erlauben die Untersuchung kleiner Proben mit hoher Auflösung; dabei sind die untersuchten Proben häufig um ein Vielfaches kleiner als der verwendete Detektor. Da Mikrofokus-Röntgenröhren einen Kegelstrahl erzeugen, wird das Objekt am Detektor vergrößert abgebildet (Abbildungen 3 und 4a). Durch Veränderung der Position der untersuchten Probe zu Strahlenquelle/Detektor wird die Vergrößerung modifiziert (Abbildung 3). Bei diesem Prinzip der geometrischen Vergrößerung wird das Objekt kleiner abgebildet, wenn es nahe an den Detektor gebracht, und größer, wenn es nahe an die Röntgenröhre gebracht wird. Dieser einfache Bautyp von MikroCT-Geräten ermöglicht die Untersuchung eines breiten Probenspektrums, hat jedoch technische Limitierungen hinsichtlich erreichbarer Vergrößerung und Auflösung. Diese können mit einer zweistufigen Vergrößerung umgangen werden. Dabei wird das Bild zuerst geometrisch mittels Kegelstrahl vergrößert und, nach der Konvertierung der Röntgenstrahlung in sichtbares Licht durch einen Szintillator, mit lichtoptischen Objektiven nachvergrößert (Abbildung 4b). Bei *Synchrotron-Beamlines* wird üblicherweise nicht mit Kegelstrahl, sondern mit einer parallelen Strahlengeometrie gearbeitet, wobei eine Vergrößerung ebenfalls durch optische Komponenten erfolgen kann (Abbildung 4c).

### Ist MikroCT die am besten geeignete Methode für meine Fragestellung?

Wie bei jedem anderen Verfahren sollte zunächst immer hinterfragt werden, ob diese Methode die bestgeeignete für das jeweilige Untersuchungsvorhaben darstellt, da es meist zahllose alternative Methoden gibt. Kurz zusammengefasst liefern lichtmikroskopische Techniken, die am ehesten für ein ähnliches Probenspektrum in Frage kommen, klare Vorteile hinsichtlich der erreichbaren Auflösung, der spezifischen Markierung von Biomolekülen (z. B. Antikörper für Proteine) und der Beobachtung dynamischer Prozesse in lebendigen Zellen, Geweben und Organismen. Auf der anderen Seite liefert die MikroCT Vorzüge hinsichtlich der geometrischen Qualität der Daten für quantitative Analysen (räumliche Isotropie). Außerdem erlaubt sie es, dichte und mineralisierte Proben zu untersuchen (z. B. keine Entkalkung notwendig im Vergleich zu seriellen Schnitttechniken), benötigt in vielen Fällen keine oder nur minimale Probenpräparation (z. B. kein Aufhellen notwendig im Gegensatz zu Konfokal- oder Lichtscheiben-Mikroskopie) und lässt somit das Untersuchungsobjekt in vielen Fällen vollständig intakt. Daher ist die MikroCT die Methode der Wahl, wenn (i) innen liegende Strukturen (ii)

**ABB. 4 | VERGLEICH VERSCHIEDENER MIKROCT-STRAHL- UND VERGRÖßERUNGSKONZEPTE**



**a) Nur geometrische Vergrößerung mit Szintillator plus Detektor als Funktionseinheit. b) Der Strahl wird, nachdem er durch einen Szintillator in sichtbares Licht umgewandelt wurde, durch ein optisches Linsensystem nachvergrößert. Prinzip bei Zeiss/X-Radia Geräten. c) Synchrotron-Strahlung (parallel, monochromatisch) wird meist ebenfalls mit einem optischen Linsensystem nachvergrößert.**

dichter bzw. nicht transparenter Untersuchungsobjekte (iii) geometrisch korrekt (iv) dreidimensional und (v) zerstörungsfrei dargestellt werden sollen. Abbildungen der Außenoberfläche von Objekten sind mit MikroCT auch möglich, erreichen aber normalerweise nicht die Qualität von lichtmikroskopischer Photographie oder Rasterelektronenmikroskopie. Falls aber die 3D-Geometrie der Außenoberfläche von Objekten gefordert ist, kann MikroCT doch die Methode der Wahl sein. Alternativen wären hier 3D-Fotographie-Verfahren wie Photogrammetrie oder auch 3D-Oberflächen-Scanner für größere Objekte. Diese Verfahren liefern zusätzlich noch die Abbildungs- bzw. Farbinformation („Textur“) zur Oberfläche; die Geometrie könnte aber weniger verlässlich als bei MikroCT sein.

Die Minimalgröße von Objekten zur Untersuchung mit konventionellen hochauflösenden MikroCT-Systemen liegt bei ca. 1 mm, wobei Geräte mit zweistufigem Vergrößerungsverfahren für sehr kleine Proben besonders gut geeignet sind. Bei noch kleineren Objekten ist der Informationsgehalt stark limitiert. Nach oben hin gibt nur der Gerätetyp Grenzen vor, wobei ab einer gewissen Größe (> 400 µm Sichtfeld) nicht mehr von MikroCT im eigentlichen Sinn gesprochen werden kann. Objektgröße und Auflösung stehen bedingt durch räumliche Bilderfassungsmöglichkeiten sowie Limitierungen im Datenumfang immer in Abhängigkeit zueinander. Dementsprechend ist die Auflösung bei großen Untersuchungsobjekten deutlich geringer als bei kleinen. Bei der Auflösung von MikroCT-Systemen sollte man keine Wunderdinge erwarten. Eine Auflösung im einstelligen µm-Bereich wird nur mit kleinem Sichtfeld und auch dann nicht mit allen Gerätemodellen erreicht, eine Auflösung von weniger als 1 µm gar nur mit wenigen Modellen (vorrangig aber nicht ausschließlich mit zweistufigem Vergrößerungsverfahren) und auch dann nur bei kontrastreichen Untersuchungsobjekten. Eine häufig beobachtete Diskrepanz aus suggerierter und tatsächlicher Auflösung beruht darauf, dass bei bildgebenden Verfahren zwei sehr unterschiedliche Begriffe für Auflösung in Verwendung sind: die Pixel- bzw. Voxel-Größe und die tatsächliche räumliche bzw. optische Auflösung. Letztere wird durch den geringsten Abstand definiert, bei dem zwei Punkte noch getrennt erkannt werden können. Dieser ist mindestens um den Faktor 2,5 größer als die Pixelgröße. Eine Pixelgröße von z. B. 0,3 µm würde im besten Fall einer optischen (räumlichen) Auflösung von ca. 0,75 µm entsprechen. Dieser Wert nimmt sich im Vergleich zur maximalen Auflösung von anderen mikroskopischen Verfahren als relativ grob aus.

Vor der Bildaufnahme sollte der Anwender bereits Vorkenntnisse über die Beschaffenheit der Probe sowie Vorstellungen vom Ergebnis der MikroCT-Untersuchung haben. Grundlegende Fragen betreffen die Größe der Probe sowie ganz generell, welcher Typ von MikroCT für solch eine Probe am besten geeignet ist. Einige Beispiele gängiger Gerätemodelle in der biomedizinischen Forschung sind in Abbildung 5 dargestellt. Wichtig ist auch die Entscheidung, ob die ganze Probe oder nur ein Teilbereich davon gescannt werden soll. Natürlich kann auch nach einer Übersichtsaufnahme – und den dadurch gewonnenen Erkenntnissen – ein Teilbereich definiert und mit höherer Auflösung gescannt werden (Innentomographie). Weiterhin ist zu beachten, dass die Probe genug inhärenten Röntgenkontrast aufweisen muss, um die Strukturen von Interesse adäquat darzustellen. Beispielsweise liefern nicht-mineralisierte biologische Gewebe einen vergleichsweise geringen Röntgenkontrast und sind in Wasser, Pufferlösungen, Formalin oder Agarose im Röntgenbild nahezu unsichtbar. Deshalb ist es oft notwendig, den Bildkontrast durch Trocknung, Entwässerung

oder mittels Röntgenkontrastmittel zu erhöhen. Für die Erhöhung des Röntgenkontrastes im Gewebe werden Elemente wie z. B. Jod, Barium, Wolfram, Molybdän, Blei und Osmium verwendet. Dabei werden die Präparate üblicherweise für einige Stunden bis Tage in eine Kontrastmittellösung eingelegt, wobei das Kontrastmittel langsam das Gewebe durchdringt und an bestimmte Gewebekomponenten bindet. Ebenfalls zu überlegen ist, ob die Probe im Anschluss noch mit anderen Verfahren untersucht werden soll. Wenn eine Probe in Flüssigkeit gescannt wird, muss sie nicht getrocknet werden und bleibt für weitere Analysen wie z. B. Immunhistochemie oder molekularbiologische Untersuchungen verfügbar.

### Wie werden biologische Proben in das MikroCT-Gerät eingebracht?

Bevor eine Probe in das MikroCT-Gerät eingebracht wird, muss sie bewegungsfrei auf einem Probhalter befestigt werden. Dieser Prozess wird als ‚Mounting‘ bezeichnet, und die Vorrichtungen und Probhalter sind dabei so variabel in Größe und Form, wie es die untersuchten Proben sind (Abbildung 6). Der Probhalter wird wiederum auf einer Drehbühne platziert, welche während des Scans eine Drehung von meist 360° um die Vertikalachse vollzieht. Während des MikroCT-Scans, der mehrere Stunden dauern kann, dürfen sich Position und Form einer Probe nicht verändern, ein stabiles *mounting* ist daher entscheidend. Trockene Proben können auf Nadeln befestigt, auf einem Probhalter angeklebt, mit Schaumstoff (z. B. Steckschaum) fixiert oder in einem Plastikröhrchen mit Hilfe von Watte oder Zellstoff stabilisiert werden. Typische biologische Präparate, die an Luft gescannt werden, sind z. B. trockene Knochenpräparate, Fossilien oder Pflanzenteile wie Holz. Außerdem eignen sich ganz generell biologische Präparate, die mittels Kritisch-Punkt-Trocknung getrocknet wurden. Solche Präparate, wie sie auch z. B. für die Rasterelektronenmikroskopie (REM) hergestellt werden, liefern einen besonders hohen Bildkontrast. Beim CT-Scannen von Feuchtpräparaten (nach Konservierung in z. B. Formalin oder Ethanol) an Luft empfiehlt es sich, diese in Plastiktüten oder -gefäßen dicht zu verpacken, um ein Austrocknen und Schrumpfen des Präparates sowie den Austritt von Flüssigkeit und eine dadurch verbundene Kontamination des Gerätes zu verhindern.

Für das Scannen in Flüssigkeit eignen sich die unterschiedlichsten Plastikgefäße, von hitzeversiegelten Pipettenspitzen über Eppendorf-Röhrchen, Zentrifugenröhrchen bis hin zu speziell von Firmen oder durch 3D-Druck angefertigten MikroCT-Probenhaltern oder größeren Labor-Probengefäßen. Proben können z. B. in destilliertem Wasser, Phosphatpuffer (PBS), Ethanol oder Formalin gescannt werden, wobei Alkohole wie Ethanol weniger röntgendicht als wässrige Lösungen wie PBS oder Formalin sind und deshalb im Ergebnis einen höheren Bildkontrast liefern. Die mechanische Stabilisierung der Proben in der Flüssigkeit erfolgt typischerweise mit Zellstoff, Watte oder



**ABB. 5** Verschiedene MikroCT-Geräte und deren Innenraum. a) Nanotom m (Phoenix), GE Sensing & Inspection, mit offener Röntgenröhre und einem Flat Panel Detektor. b) MicroXCT-400 (XRadia), Carl Zeiss X-ray Microscopy, mit geschlossener Röntgenröhre und mehreren optischen Detektoren (zweistufige Vergrößerung). c)  $\mu$ CT35, SCANCO Medical AG, ein Tischgerät, ausgestattet mit einem automatischen Probenwechsler für hohen Probendurchsatz.

Schaumstoff. Alternativ können fragile Objekte auch in einem Gel wie Niedertemperatur-Agarose gemountet werden.

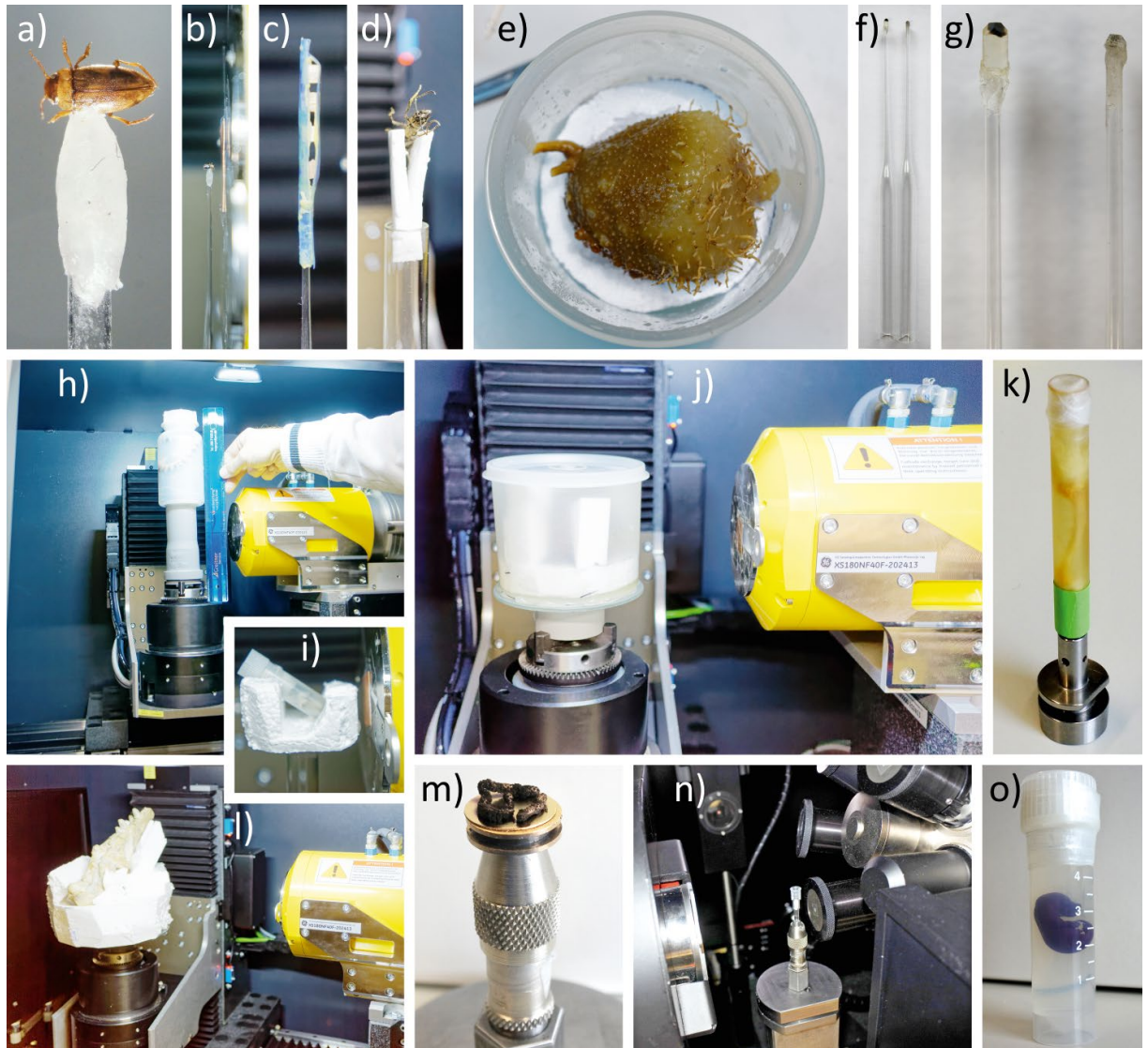
### Was sind geeignete Aufnahmebedingungen für eine bestimmte Probe?

Die Wahl der Geräteeinstellungen (Scanparameter) richtet sich nach der Beschaffenheit der Probe und der angestrebten Auflösung. Die Spitzenspannung (kVp) ist so zu wählen, dass das zu untersuchende Präparat adäquat durchleuchtet wird. Kleine und wenig röntgendichte Objekte

werden dabei mit vergleichsweise geringen Spitzenspannungen gescannt (z. B. 40 kVp), während größere und sehr röntgendichte Objekte häufig mit Spitzenspannungen zwischen 100 und 150 kVp gescannt werden. Weiterhin kann ein Filter in Form eines dünnen Plättchens vor die Röntgenröhre gebracht werden, um das durch die Röntgenröhre generierte Spektrum einzuengen (zu „härten“). Häufig verwendete Filtermaterialien sind Glas, Aluminium, Kupfer, Zinn und andere Metalle. Die Stromstärke ( $\mu$ A) ist ebenfalls anzupassen: Höhere Stromstärken erzeugen einen höheren Photonenfluss (‘Flux’), und dadurch kann

die Belichtungszeit verkürzt werden. Hohe Stromstärken vergrößern jedoch auch im Allgemeinen den Brennfleck und limitieren dadurch die Auflösung, so dass für sehr hohe Auflösungen oft geringere Stromstärken und lange Belichtungszeiten gewählt werden müssen. Die Zahl der Winkelschritte wird üblicherweise an die Detektorgröße

angepasst. Dabei soll die Zahl der Winkelschritte bzw. Projektionen idealerweise in etwa um den Faktor 1,6 mal größer sein als die Pixelzahl der Detektorbreite. Ist der Detektor also 2000 Pixel breit, sollten 3200 Projektionen aufgenommen werden. In der Praxis werden bei geringem Qualitätsverlust oft nur die Hälfte oder ein Drittel der ide-



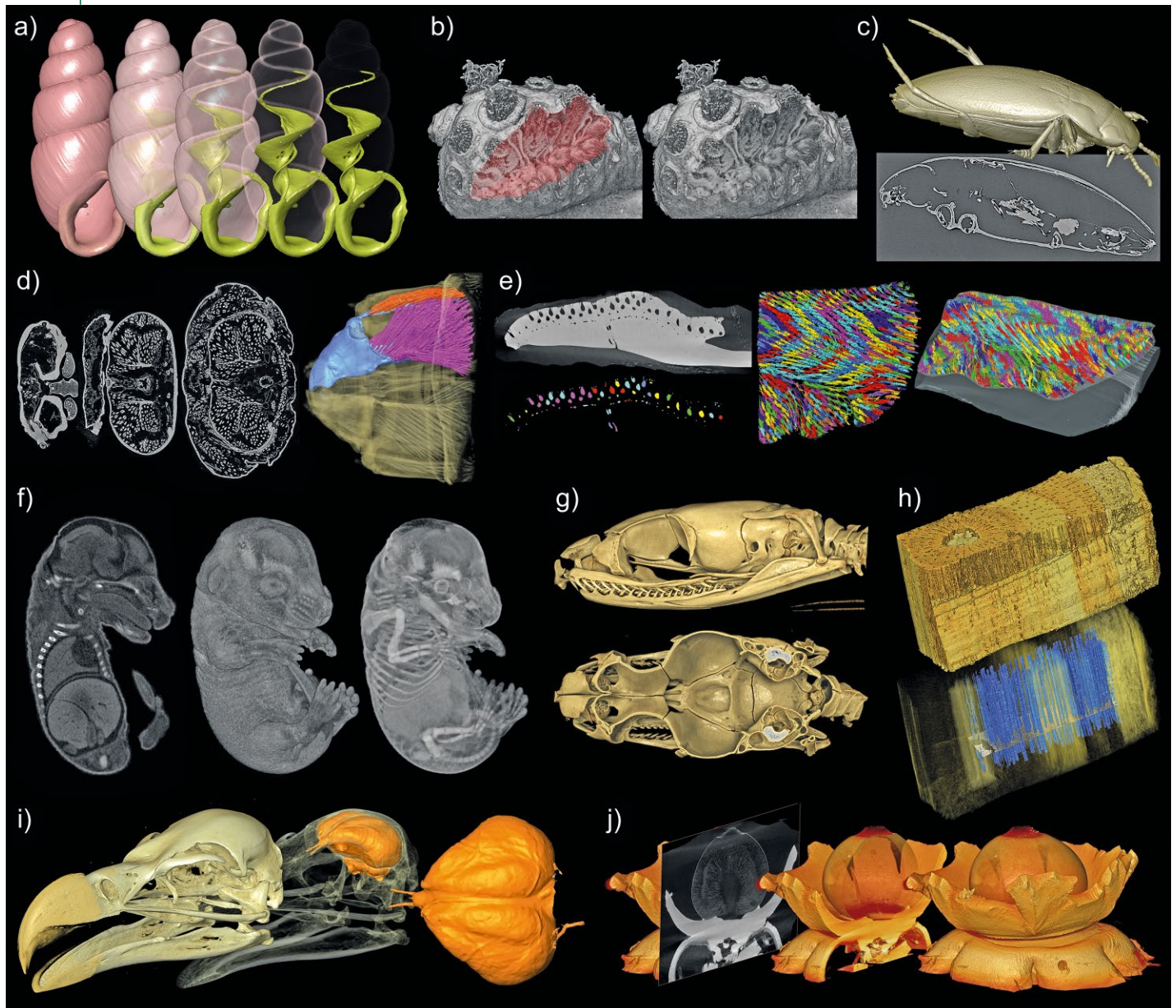
**ABB. 6** Möglichkeiten des *mountings* von Objekten unterschiedlicher Größe und Beschaffenheit. a, b) Wasserkäfer (Länge ca. 3 mm) mit Dentalwachs an Spitze von Pasteurpipette befestigt. b) In Scanposition sehr nahe der Röntgenröhre. c) Vier Holzklötzchen (ca. 3 mm Länge) übereinander in adaptiertem Plastikstrohhalm. d) Große Ameise (ca. 1,5 cm Länge) eingeklemmt in gespaltenem Stück Styropor. e, j) Alkohol-konservierte Pflanzenknolle (ca. 13 cm Durchmesser) in Plastikgefäß (Tupperware) stabilisiert mit Styropor. Deckel wird zum Schutz vor Austrocknung verschlossen. f, g) Osmium behandelte und in Epoxidharz für TEM/LM-Schnitte eingebettete Objekte an Spitze von Pasteurpipetten geklebt. TEM = Transelektronenmikroskopie, LM = Lichtmikroskopie. h) Schlange in aneinander gefügten, adaptierten Plastikteilen. Großteil des Körpers in oberem Gefäß, während der Kopf im unteren Rohr (eigentlich Wasserabflussmodul) in Scanposition vor die Röhre gebracht wurde. i) Chamäleon in Alkohol in mit Styropor befestigtem Plastikgefäß (Länge ca. 6 cm). k) Ratten-Tibia (Länge ca. 4 cm) in 70% Ethanol für Knochen-Morphometrie gemountet in Scanco-Probenhalter. l) Massiv fossilisierter Schädel eines Pistosauriers (Länge ca. 18 cm) in angepasstem Styropor. m) Kolonie des Süßwassertierchens *Cristatella mucedo* präpariert für Rasterelektronenmikroskopie (Probe nach Osmium Behandlung und Trocknung mit Gold besputtert). n) Stanze einer Paraffin-eingebetteten Gewebsbiopsie in Pipettenspitze gemountet und auf Zeiss-Probenhalter fixiert. o) Rutheniumrot-kontrastierter Mäusefetus gemountet in 1,5% Niedertemperatur-Agarosegel.



alen Winkelschritte aufgezeichnet, um die Scandauer zu verkürzen, was tendenziell zu Auflösungsverminderung in der Peripherie von Objekten führt. Die Belichtungszeit wird nach unterschiedlichen Kriterien angepasst. Ein idealer Kompromiss zwischen Bildqualität (Signal-Rausch-Verhältnis) und Scandauer (Kosten durch Verschleiß an

z. B. Strahlenquelle oder Detektor) wird oft in einem Vor-experiment evaluiert. Belichtungszeiten liegen normalerweise im Bereich von einer Sekunde bis zu einer Minute pro Projektionsbild. Größere Flachbilddetektoren (*flat-panel detector*) erlauben durchgehend kürzere Belichtungszeit als kleinere CCD/CMOS-Detektoren (siehe auch

### ABB. 7 | MIKROCT IN DER BIOLOGIE



Unterschiedliche Visualisierungen (*volume/surface renderings*, virtuelle *endocastings* („Innenausgüsse“), Schnittbilder etc. a) Schale einer kleinen Schnecke (*Carychium* sp., Höhe ca. 1,6 mm), innere Windungsstrukturen hervorgehoben. b) Süßwassermoostierchen (*Cristatella mucedo*, Kolonielänge ca. 1 cm), MikroCT-Darstellung eines Rasterelektronenmikroskopie-Präparates (siehe Abbildung 6m) macht Details aus dem Inneren der Kolonie sichtbar. c) Kleiner Wasserkäfer (*Limbodessus baliem*, Länge ca. 3 mm). d) Kopf der Larve des asiatischen Laubholzbockkäfers (*Anoplophora glabripennis*, Breite ca. 5 mm). Darstellung der rechten Mandibel und deren Muskulatur. e) Teil der Schalenplatte (Gesamtbreite ca. 10 mm) einer Käferschnecke (*Chiton olivaceus*) zur Darstellung der Schalenkanäle. f) Rutheniumrot-kontrastierter Mäusefetus (Länge ca. 2 cm). Durch Erhöhung der Transparenz werden Teile des sich entwickelnden Skeletts sichtbar. g) Schädel einer Schlange (*Panterophis guttatus*, Schädelhöhe ca. 2 cm). Die virtuelle Sektion des Schädels macht zerstörungsfrei Details aus dem Inneren des Schädels (z. B. Innenohr) sichtbar. h) Holzklötzchen (Länge ca. 4 mm, *Achornea lojaensis*) mit Hauptgefäßen (blau). i) Schädel (Gesamtlänge ca. 15 cm) des Gänsegeiers (*Gyps fulvus*) mit *endocasting* der Gehirnhöhle. j) Erdstern (*Geastrum fimbriatum*, Durchmesser oben ca. 3 cm).

Glossar unter Röntgendetektor). Oft wird auch, auf Kosten der Bildauflösung, Detektorbinning (Signal mehrerer Detektorpixel zusammengefasst) eingesetzt, um die Belichtungszeit zu verkürzen und/oder das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern. Generell kann bei der Bildaufnahme eine Vielzahl von Artefakten auftreten. Die Kenntnis ihrer Ursachen und entsprechend ihre Vermeidung bzw. Reduktion ist höchst bedeutsam für gute Ergebnisse (hohe Bildqualität).

### MikroCT-Anwendungen in der biologischen Forschung

Abbildung 7 soll einen groben Überblick über das breite Spektrum an Forschungsobjekten liefern, welche mittels MikroCT untersucht werden können. Ein Hauptanwendungsbereich in der biologischen Forschung ist – ähnlich wie in der ursprünglichen Nutzung der CT – die Darstellung von Wirbeltierskeletten. Dies beinhaltet sowohl die quantitative Charakterisierung der Knochenmikroarchitektur von Labortiermodellen in biomedizinischen Knochenstoffwechselstudien (z. B. Osteoporoseforschung) als auch die generelle Analyse von Knochen und Skeletten in der vergleichenden und funktionellen Morphologie. Besonders hervorzuheben sind hier sicherlich Museumspräparate, für die eine zerstörungsfreie Bildgebung in den meisten Fällen unumgänglich ist. In diesen Fällen eröffnet die MikroCT oft ganz neue Forschungszugänge. Generell zeigen sich bei der Untersuchung von Skelettelementen die Vorzüge der MikroCT als quantitatives Verfahren: So können Größe (Länge, Breite, Volumen), Porosität, Form (Geometrische Morphometrie), aber auch die Mineraldichte automatisch oder semi-automatisch erfasst werden. MikroCT-basierte Skelettmodelle sind außerdem häufig der Ausgangspunkt komplexer Analysen und Simulationen. So können z. B. mit Verfahren wie der ► Finite-Elemente-Analyse mechanische Berechnungen zur Kraftverteilung im Knochen angestellt und Dehnungen bzw. Kompressionen im Knochen durch virtuelle Krafteinwirkung simuliert werden. Neben Wirbeltierskeletten werden auch die Skelette und Hartteile vieler anderer Organismengruppen wie z. B. Weichtiere, Stachelhäuter, Korallen, Moostierchen und natürlich auch Arthropoden wie Krebstiere und Insekten mit MikroCT untersucht. Neben der Darstellung mineralisierter Gewebe bietet ein zunehmendes Spektrum von Kontrastierungsverfahren die Möglichkeit zur Untersuchung von Weichgeweben. Diese Kontrastierungsverfahren werden in diversen Tiergruppen vielfältig eingesetzt, wie z. B. zur Visualisierung und/oder Analyse von Muskulatur, Nervensystem und innerer Organe. Für die Entwicklungsbiologie ist die Phänotypisierung kontrastierter Embryonen als wichtige Applikation zu nennen. Auch botanische Objekte wie Fruchtstände, Blätter, Pilzkörper oder Holz eignen sich sehr gut und bieten guten Kontrast. In der Paläontologie hat sich die MikroCT-Bearbeitung von Fossilien ebenfalls zu einer Standardmethode entwickelt. Zur Sichtbarmachung des Fossils sind ausrei-

chende Unterschiede in der Röntgenabsorption zwischen Fossil und umgebenden Gestein erforderlich. Bei großen Objekten im Gesteinsverband kann die Durchstrahlkraft ein limitierender Faktor sein. Im Gegensatz zur Schliffbearbeitung bleibt das Fossil unversehrt im Gestein erhalten. Bei Bernsteininklusionen wie z. B. Insekten und Spinnen kann die Bearbeitung durch MikroCT ebenfalls eine Fülle von Informationen liefern.

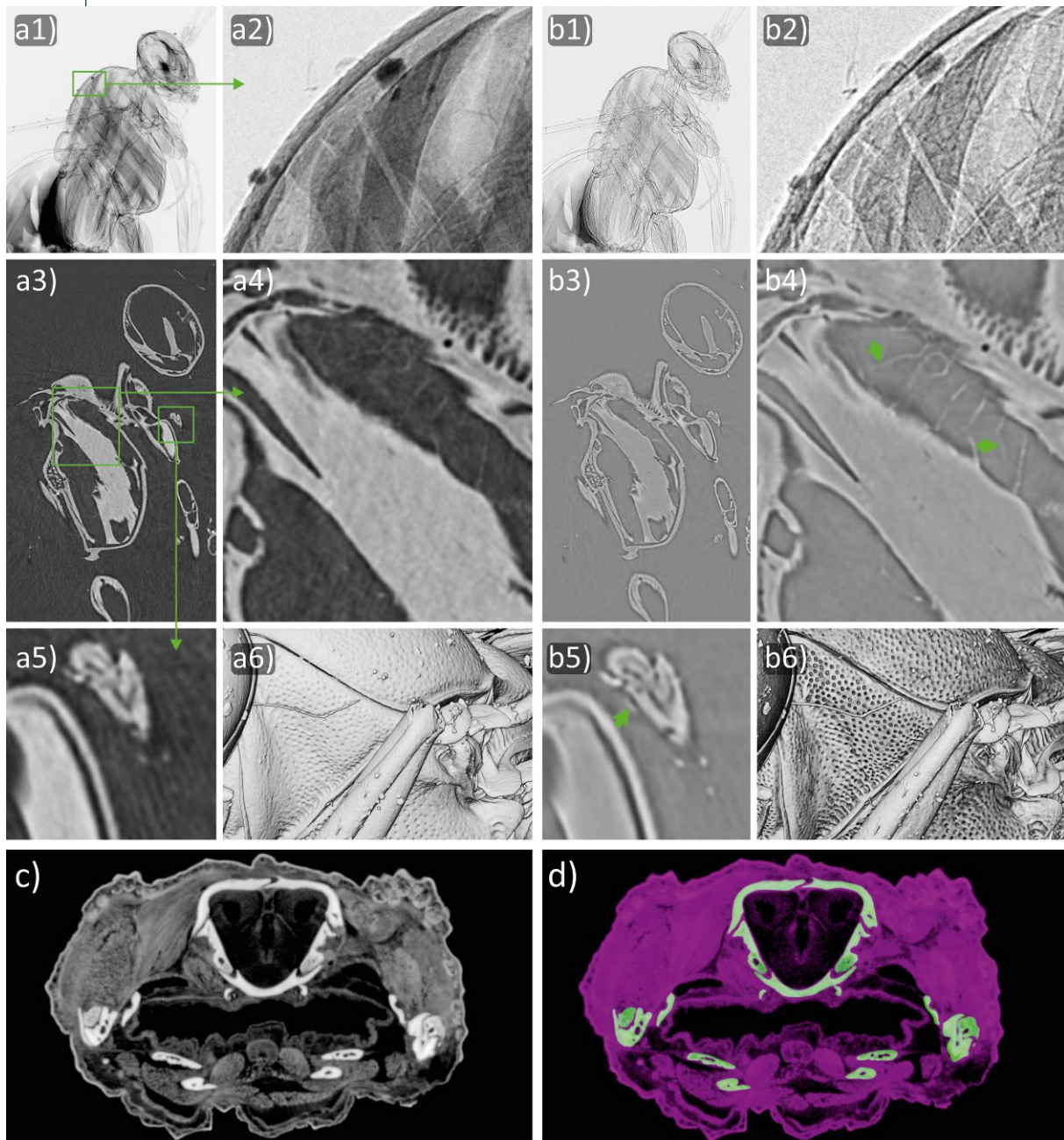
Ein weiteres Anwendungsfeld der MikroCT liegt im Screening von tierischen Biopsien vor einer licht- oder elektronenmikroskopischen Analyse. Sowohl nicht-kontrastierte Proben in Paraffinblöcken als auch Schwermetall-kontrastierte Proben in Kunstharzblöcken liefern üblicherweise genug Kontrast, um Gewebe dreidimensional darzustellen. Durch die mittels MikroCT gewonnene Information kann die Qualität der Präparate evaluiert werden. Weiterhin können Strukturen von Interesse exakt im Block lokalisiert und auch die gewünschte Schnittebene definiert werden, wodurch speziell bei der ultrastrukturellen Analyse viel Zeit gespart werden kann. Ganz generell eignet sich die MikroCT als zerstörungsfreie Technik bestens für die korrelative multimodale Bildgebung in Kombination mit z. B. Licht- und Elektronenmikroskopie. In einigen Studien wurde die MikroCT verbindend zwischen *In-vivo*-Fluoreszenzmikroskopie-Daten und einer *Post-mortem*-Analyse subzellulärer Strukturen eingesetzt.

Darüber hinaus werden aber auch einige Spezialverfahren immer beliebter. Eines dieser Verfahren ist die Phasenkontrasttomographie. Besonders gute Phasenkontrastbilder lassen sich mit einem kohärentem Parallelstrahl am Synchrotron generieren, aber auch in Laborgeräten lässt sich durch Phasenverschiebungen und Wellenpropagation bei langen Detektorabständen ein Phasenkontrast erzielen, wodurch der Bildkontrast bei wenig röntgendichten Präparaten, wie z. B. unkontrastierten Pflanzen oder Insekten, deutlich erhöht werden kann (Abbildung 8a, b). Weiterhin sind spektrale Verfahren wie das Mehrfachenergieverfahren (*dual-energy CT*) zu nennen. Dabei wird eine Probe mit zwei unterschiedlichen Energiespektren gescannt, wodurch farbige Röntgenbilder generiert und dadurch Elemente/Materialien spektral unterschieden werden können (Abbildung 8c, d).

### Analyse, Visualisierung und Archivierung von MikroCT-Daten

Zur Analyse und/oder Visualisierung der fertigen CT-Daten (Volumendatensatz) ist fast immer eine weitere Bearbeitung erforderlich. Diese stellt aber in der Praxis häufig eine größere technische Herausforderung als die Erhebung der Daten dar, und der damit verbundene Aufwand wird meist unterschätzt. Im einfachsten Fall werden die Daten mittels *volume rendering* visualisiert (siehe unten). Hierfür reichen – vorhandene Hard- und Software vorausgesetzt – einige wenige Einstellungen über z. B. Schieberegler, um beispielsweise die Skelettelemente von Wirbel-

ABB. 8 | BEISPIELE FÜR SPEZIELLE CT-METHODEN



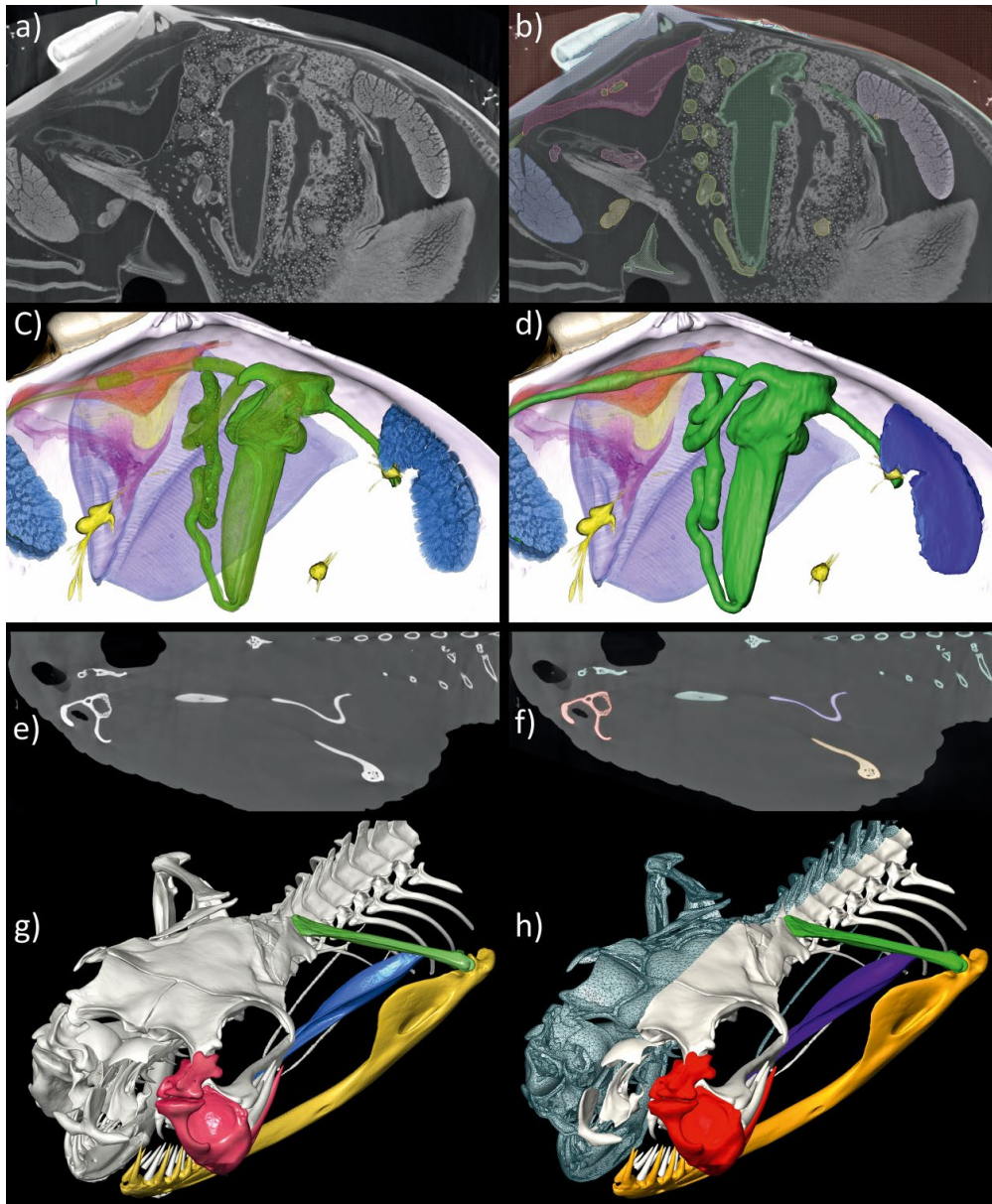
**a, b) Vergleich der Ergebnisse eines luftgetrockneten Insekts (Länge ca. 8 mm) mit konventioneller Absorption (a) und Phasenkontrast (b). a1–2, b1–2) Projektionsbild mit Detailvergrößerung. a3–5, b3–5) Schnitt mit Detailvergrößerungen. Grüne Pfeile markieren Details, die im Phasenkontrast klar deutlicher hervortreten. a6, b6) Oberflächendetails bei *volume rendering*. c, d) Mikroskopische *dual-energy CT* eines aquatischen Salamanders (*Triturus* sp., Kopfbreite ca. 1,5 cm). Querschnitt Kopfbereich. c) Einfaches Schnittbild eines 40 kVp Scans. d) Mineralisierte (grün) Elemente getrennt von Jod-kontrastiertem Weichgewebe (violett) nach durchgeführter Materialseparierung.**

tieren darstellen zu können. Selbst solche Daten werden aber normalerweise im Vorfeld noch verbessert, indem z. B. Grauwerttiefe, Kontrast und Bildrauschen bearbeitet werden. Auch so einfache Vorgänge können aufgrund der typischerweise großen Datenmengen und dadurch bedingten Übertragungszeiten bereits erheblichen Zeitaufwand verursachen. Eine direkte Visualisierung mittels

*volume rendering* wird beispielsweise dadurch erschwert, dass die Probe während des Scans mit Materialien wie Watte stabilisiert wurde. In diesem Fall muss die Probe im virtuellen Datensatz noch freigestellt werden.

Die Aufteilung eines Datensatzes in mehrere Bereiche/Segmente (= Segmentierung) ist ein zentraler Vorgang, der in vielen Fällen sinnvoll, vorteilhaft oder auch zwingend

ABB. 9 | VISUALISIERUNG DER DATEN



**Segmentierung und Visualisierung am Beispiel einer Muschel (Länge ca. 3 cm, kontrastiert mit Jod a–d) und dem Kopf einer Klammerschlange (Länge ca. 5 cm e–h) mit der Software Amira. a, e) Einfaches Schnittbild. b, f) Strukturen (Organe, Knochen) segmentiert. c, g) 3D-Visualisierung mittels *volume rendering*. d, h) 3D-Visualisierung mittels *surface rendering* (teilweise).**

erforderlich ist. Man setzt sie ein, um Bereiche im Datensatz unterschiedlich darzustellen, bzw. um Oberflächenmodelle zu generieren, welche in weiterer Folge einen 3D-Druck oder analytische Bearbeitungen wie Finite-Elemente-Analysen ermöglichen. Die Segmentierung wird entweder „manuell“ über subjektive Interpretation oder (semi-)automatisch über eine Vielfalt unterschiedlicher Algorithmen bzw. Werkzeuge vorgenommen. Häufig wird eine Kombination von beidem eingesetzt. Im Extremfall können Arbeiten zur Interpretation und Segmentierung bis zu mehrere Monate für einen einzelnen Datensatz in

Anspruch nehmen. Typisch für aufwändige Bearbeitungen wären Organrekonstruktionen an tierischen Objekten mit Weichteilkontrastierung.

Zur Visualisierung der Daten werden zwei unterschiedliche Strategien, nämlich *volume* und *surface rendering*, eingesetzt. Im ersteren Fall (*volume rendering*) werden die Voxel (Volumen-Pixel) direkt in 3D visualisiert: Basierend auf ihrer Intensität werden Bildbereiche über die sogenannte Transferfunktion, welche eine Farb- und Transparenzkomponente beinhaltet, in eine Bilddarstellung „übersetzt“. Im anderen Fall (*surface rendering*) werden an Grenzen von segmentierten Bereichen Netze oder Punktwolken gesetzt, welche Oberflächen definieren und als solche dargestellt werden. *Volume rendering* eignet sich besser für diffuse, nicht klar abgegrenzte Strukturen bzw. ganz generell für die Darstellung von Dichteunterschieden (z. B. Mineraldichte in Skeletten), aber auch für klar definierte Elemente (z. B. Knochen). *Surface Rendering* eignet sich besonders zur Darstellung von Strukturen, die über Interpretationen (Segmentierung) erfasst wurden (z. B. Weichteilorgane bei Tieren). Daraus ergibt sich bereits, dass sich *volume rendering* näher an der Realität befindet und *surface rendering* einen eher schematischen Charakter hat. In Analogie entspricht Ersteres eher einer Photographie und Zweiteres eher einer Zeichnung. Unterschiedliche Aspekte der Segmentierung und Datenvisualisierung sind in Abbildung 9 illustriert.

Visualisierungen und Analysen von 3D-Bilddaten erfordern hochwertige Computerhardware sowie komplexe Software. Dafür existiert eine große Anzahl von sowohl kommerziellen als auch nicht-kommerziellen Softwaresystemen. Hier seien nur einige wenige populäre wie Amira/Avizo (kommerziell, breite Werkzeugpalette), Dragonfly (kommerziell, breite Werkzeugpalette auch zur Datenanalyse, gratis für nicht-kommerzielle Forschung!), Drishti (nicht-kommerziell, *volume rendering*), Ilastik (nicht-kommerziell, Segmentierung), ImageJ (nicht kommerziell, extrem breite Werkzeugplatte vor allem zur Datenanalyse) oder VGStudio (kommerziell, v. a. *volume rendering*) erwähnt.

Ein Aspekt, der keinesfalls vernachlässigt werden sollte, ist die Menge der generierten Daten. Bereits die Rohdaten (Projektionsbilder) eines Scans erreichen häufig einen Umfang von 50 GB. Die resultierenden Volumendaten haben (im 16-Bit-Format) meist einen nur etwas geringeren Umfang. Daraus ist ersichtlich, dass der Betrieb eines CT-Geräts auch einen Datenspeicher bzw. ein Datenarchivierungssystem mit einem Fassungsvermögen von vielen Terabyte (TB) erfordert. Die für die Weiterbearbeitung zurechtgetrimmten und oft zu 8-bit konvertierten Datensätze sind handlicher und meist unter 10 GB. Es spricht aber vieles dafür, auch die Originaldaten aufzuheben. Unter anderem werden die Algorithmen zur tomographischen Rekonstruktion weiter entwickelt, wodurch zukünftig bessere Ergebnisse auf Basis vorhandener Daten erzielt werden könnten.

### Anschaffung und Betrieb eines MikroCT-Geräts

Im Fall der Anschaffung eines MikroCT-Geräts ist anzunehmen, detaillierte Planungen zu einer Reihe von Faktoren wie Gerätetyp in Bezug auf Probenspektrum, Anschaffungskosten, Wartungskosten, Räumlichkeiten und Bedienungspersonal vorzunehmen. MikroCT-Geräte sind Großgeräte, deren Beschaffung und noch viel mehr deren Betrieb aufwändig sind. Die Anschaffungskosten liegen im geringsten Fall für kleine Tischgeräte im Bereich von 150.000,- € und reichen bei größeren Geräten durchaus über 1 Mio. €. Die jährlichen Betriebs-, Wartungs- und Reparaturkosten können 20.000,- € zum Teil deutlich übersteigen. Besonders teure Komponenten sind Strahlenquellen und Detektoren. Vom Aufbau der Strahlenquelle her gibt es zwei Grundtypen: solche mit geschlossener bzw. mit offener Röntgenröhre. Geräte mit geschlossener Röhre sind häufig relativ klein und für kleine Untersuchungsobjekte vorgesehen. Geschlossene Röntgenröhren können vom Anwender nicht geöffnet werden, demnach können Verschleißteile wie das Kathodenfilament auch nicht ersetzt werden. Somit haben geschlossene Röntgenröhren eine modellabhängig begrenzte Lebensdauer von meist mehreren Jahren. Der Ersatz ist mit Kosten von mehreren Zehntausend Euro verbunden. Im Betrieb benötigen geschlossene Röntgenröhren allerdings so gut wie keine Wartung und erlauben einen hohen Probendurchsatz und eine gute Planbarkeit. Für größere und dichtere Objekte sind offene Röhren mit größerer Durchstrahlkraft erforderlich. Bei offenen Röhren muss üblicherweise nicht die ganze Röhre getauscht werden, dafür muss regelmäßig das Kathodenfilament gewechselt werden, und zusammen mit Wartungen und Reparaturen der Peripherie (Vakuumsystem, Hochspannungsgenerator) ist der Betrieb offener Röhren normalerweise bei weitem aufwändiger.

Heutzutage ist ein großes Portfolio von kommerziellen MikroCT-Geräten verfügbar: Tatsächlich kommen Geräte von über 20 Anbietern in Frage, wobei wiederum viele der Anbieter eine Reihe von Geräten für spezielle Einsatzge-

### GLOSSAR

**Auflösung:** Der Begriff Auflösung wird im gegenwärtigen Artikel im Sinne der tatsächlichen optischen bzw. räumlichen Bildauflösung verstanden (englisch: „true spatial resolution“) und bezeichnet die geringstmögliche Distanz zur Darstellung zweier Strukturen im MikroCT-Datensatz. Als grobe Faustformel für MicroCT-Geräte mit modernen Detektoren gilt, dass die Auflösung in etwa  $1/1000$  des Probendurchmessers beträgt.

**CT:** Computertomographie (früher auch „computed axial tomography“ bzw. „CAT“), ein ursprünglich klinisches bildgebendes Verfahren. Basierend auf den Arbeiten von Sir Godfrey Hounsfield und Allan McLeod Cormack, die für ihre bahnbrechenden Entwicklungen 1979 den Nobelpreis für Physiologie und Medizin erhielten, wurden in den frühen 1970er Jahren durch die britische Firma EMI die ersten klinischen CT-Geräte in Betrieb genommen.

**Ex vivo:** Untersuchungen am toten Tier oder entnommenen Organen oder Gewebsbiopsien. Üblicherweise sind diese Präparate in Lösungen wie Formalin oder Ethanol fixiert und konserviert.

**Finite-Elemente-Analyse:** Ein numerisches Verfahren, das im Computer die Berechnung unterschiedlicher physikalischer Aspekte basierend auf dreidimensionalen Polygonmodellen erlaubt. Zu den bekanntesten Anwendungen zählen Festigkeits-, Spannungs- und Verformungsanalysen.

**In vivo:** Untersuchungen am lebenden Tier oder Patienten.

**MikroCT:** mikroskopische Computertomographie. Sammelbegriff für die CT-Untersuchung verhältnismäßig (verglichen zu klinischer CT) kleiner Objekte mit hoher Auflösung.

**Pixelgröße:** Bezeichnet die Größe (Kantenlänge) der digitalen Bildelemente (Pixel). Häufig wird von Geräteherstellern die kleinstmöglich erreichbare Pixelgröße eines Gerätes beworben, was zu falschen Erwartungen bzw. Fehlinterpretationen hinsichtlich der tatsächlich erreichbaren Auflösung führen kann.

**Röntgendetektor:** Ein Bauteil zur Detektion von Röntgenstrahlen. Üblicherweise erfolgt die digitale Detektion von Röntgenstrahlen in zwei Schritten. Ein Szintillator konvertiert die Röntgenstrahlung in sichtbares Licht, dessen Intensität dann vom eigentlichen digitalen Sensor (Charge-Coupled Device CCD, Complementary Metal-Oxide Semiconductor CMOS, Flachbild) pro Bildpunkt (Pixel) registriert wird.

**Röntgenstrahlung:** Hochenergetische elektromagnetische Wellen. Für die Ex-vivo-MikroCT-Bildgebung werden üblicherweise harte Röntgenstrahlen mit Photonenenergien zwischen 10 keV und 200 keV eingesetzt.

**Strahlenquelle:** Ein Bauteil zur Generierung von Röntgenstrahlung. In Labor-MikroCTs kommen Mikro- oder Nanofokus-Röntgenröhren zum Einsatz, welche ein polychromatisches, also aus vielen Wellenlängen zusammengesetztes, Röntgenspektrum generieren. In Synchrotron-MikroCT-Anlagen dient ein Speicherring als Strahlenquelle. Dieser kann ein mono- oder polychromatisches Spektrum erzeugen.

**Szintillator:** Ein Material, welches durch Röntgenstrahlung angeregt wird und in Folge sichtbares Licht emittiert.

biete oder sogar speziell auf Kundenwünsche angepasste Gerätekonfigurationen anbieten. Viele europäische biowissenschaftliche Institutionen arbeiten mit Geräten der Hersteller BRUKER (Skyscan), *Waygate Technologies* (ehem. *GE Inspection & Technologies*, Phönix), Carl Zeiss X-ray Microscopy (ehem. XRadia), YXLON und SCANCO Medical, um nur einige wenige aus einem beträchtlichen Kreis von Herstellern zu erwähnen. Manche Gerätemodelle wie z. B. viele Modelle der Hersteller BRUKER oder YXLON haben einen sehr breiten Einsatzbereich. Andere haben hingegen ein relativ spezifisches Einsatzgebiet. So sind z. B. Tischsysteme der Firma SCANCO mit einem automatischen Probenwechsler ausgestattet und speziell für die quantitative Phänotypisierung von Labortierknochen optimiert. Geräte der Firma Carl Zeiss X-ray Microscopy verfügen über ein zweistufiges Vergrößerungsverfahren mit optischen Detektoren (Abbildungen 4b, 5b), wodurch speziell hochauflösende Scans, auch Innentomographien, ermöglicht werden.

Antransport und Installation eines MikroCT-Geräts können Baumaßnahmen erfordern. Große Geräte können deutlich mehr als eine Tonne wiegen, wodurch Fragen hinsichtlich der Tragfähigkeit des Raumbodens bzw. zur Benutzbarkeit von Aufzügen zu klären sind. Ein Faktor bei Neuanschaffungen sollte auch der Kontakt zur Herstellerfirma sein. Bei Wartung, Ersatzteilbeschaffung, Fragen zur Bedienung und anderem besteht oft für die gesamte Lebensdauer eines Geräts eine enge Abhängigkeit von der Herstellerfirma, und es ist vorteilhaft, wenn Servicetechniker und Ansprechpartner mit deren Eigenheiten langjährig vertraut sind. Der Betrieb eines Geräts setzt eigenes Personal vor Ort voraus. Je nach Komplexität der Systeme kann dies bis zu einer Vollzeitstelle in Anspruch nehmen. Neben der technischen Betreuung fallen Aufgaben wie Nutzer- und Datenverwaltung und eventuell auch die Verrechnung von Nutzungsgebühren an. Ebenfalls zu bedenken ist der Sicherheitsaspekt. Labor-MikroCT-Geräte sind üblicherweise Hochschutzgeräte, das heißt, dass die Geräte einen ausreichend dimensionierten Metallmantel besitzen und keine Röntgenstrahlung nach außen tritt, wodurch die Anwender keiner Strahlung ausgesetzt sind. Trotzdem muss jede Röntgenanlage behördlich bewilligt und regelmäßig geprüft werden. Außerdem sind von Strahlenschutzbeauftragten durchgeführte Schulungen und regelmäßige Strahlenschutzunterweisungen von Anwendern erforderlich.

### Ausblick

MikroCT-Geräte sind heutzutage verbreiteter und leichter zugänglich als je zuvor, und es ist anzunehmen, dass MikroCT-Applikationen in den biomedizinischen Wissenschaften weiter zunehmen werden. Zusätzlich bietet die Möglichkeit der Datenlagerung über diverse internetbasierte Ressourcen neue hoch effiziente Möglichkeiten, um wissenschaftliche Daten mit anderen Forschern zu teilen. In den letzten Jahren ist, um ein konkretes Beispiel zu

nennen, z. B. MorphoSource (<https://www.morphosource.org>) mit seiner hohen Funktionalität (Datenverknüpfungen, webbasierte Visualisierung etc.) für biologische Daten sehr populär geworden und beinhaltet bereits einen enormen Umfang unterschiedlicher Daten. Durch die öffentliche Verfügbarkeit von (3D)- Bilddaten eröffnen sich neue Forschungszugänge, speziell im Fall von vergleichenden Studien oder schwer zugänglichem Material wie namensgebenden Typen. Auch für die universitäre Lehre eröffnen 3D-Bilddaten komplett neue Zugänge: So können 3D-Modelle für Studierende ausgedruckt oder direkt als 3D-PDFs verfügbar gemacht werden. Somit können reale Sektionen und Betrachtungen von z. B. Skeletten mit „digitalen Sektionen“ ergänzt werden.

### Zusammenfassung

*Die mikroskopische Computertomographie (MikroCT) ist ein tomographisches bildgebendes Verfahren zur hochauflösenden dreidimensionalen Visualisierung und quantitativen Analyse von Untersuchungsobjekten. Während diese Technik vor 20 Jahren in der biologischen und biomedizinischen Grundlagenforschung noch als exotisch galt und kaum eingesetzt wurde, ist sie heute aus diesen Forschungsbereichen nicht mehr wegzudenken. Der gegenwärtige Artikel beleuchtet technische Grundprinzipien und Anwendungsgebiete der MikroCT in der Biologie. Außerdem werden einige praktische Aspekte zum Betrieb von laborbasierten MikroCT-Geräten aufgezeigt.*

### Summary

#### *Microscopic computed tomography (microCT) – With X-ray into the third dimension*

*Microscopic X-ray computed tomography (MicroCT) is a tomographic imaging technique for high-resolution 3D visualization and quantitative analysis of samples. Whereas twenty years ago this technique was considered to be exotic within biological and biomedical basic research and was hardly ever used, it is thought to be indispensable in these fields of research today. The present article focuses on both basic technical principles and application fields of microCT for the science of biology. Furthermore, it discusses some practical aspects important for researchers and institutions planning to establish a microCT setup in their labs.*

### Schlagworte:

Tomographie, 3D, Bildgebung, Röntgen

### Literatur

Zum Thema CT bzw. MikroCT gibt es eine enorme Fülle an Primär- und Sekundärliteratur. An dieser Stelle wird vorrangig auf Sekundärliteratur im Sinne von Büchern und Übersichtsarbeiten (Reviews) verwiesen. Eine umfangreiche Abhandlung der technischen Grundprinzipien der CT/MikroCT findet sich in den Arbeiten und Büchern von W. Kalender [1] (Buch auch auf Deutsch erhältlich), E. L. Ritman [2, 3] und S. R. Stock [4]. Die Arbeiten von

R. Mizutani und Y. Suzuki [5] sowie Rawson et al. [6] liefern einen Überblick über Anwendungen der MikroCT in den Lebenswissenschaften, ähnliche Zusammenstellungen liefern E. Maire und P. J. Withers [7] sowie L. Vásárhelyi et al. [8] für die Materialwissenschaften sowie De Chiffre et al. [9] für industrielle Anwendungen. Abschließend sei noch auf einige Beispiele aus der Primärliteratur verwiesen: Die Arbeit von J. T. Johnson et al. war wegweisend für den Einsatz von Röntgenkontrastmitteln für die MikroCT-Darstellung nicht-mineralisierter biologischer Gewebe [10] – ein Zugang, der wenige Jahre später vor allem durch die Arbeiten von B. D. Metscher (z. B. [11]) populär gemacht wurde. S. Handschuh et al. [12] demonstrierten den Einsatz von MikroCT in der korrelativen multimodalen Bildgebung von biologischen Präparaten. Als Beispiele für Spezialverfahren seien P. Bidola et al. [13] für Phasenkontrast-MikroCT sowie S. Handschuh et al. [14] für Material-Separierung mittels Mehrfachenergie-Verfahren erwähnt. Eine ausführliche technische Abhandlung zu Verhältnis und Abhängigkeit von Auflösung und Pixelgröße liefern Wegerhoff et al. [15].

- [1] W. Kalender (2021). *Computed Tomography: Fundamentals, System Technology, Image Quality, Applications*, 4th ed. Erlangen, Publicis.
- [2] E. L. Ritman (2004). *Micro-Computed Tomography-Current Status and Developments*. *Annual Review of Biomedical Engineering* 6, 185–208.
- [3] E. L. Ritman (2011). *Current Status of Developments and Applications of Micro-CT*. *Annual Review of Biomedical Engineering* 13, 531–52.
- [4] S. R. Stock (2020). *Microcomputed Tomography: Methodology and Applications*, 2nd ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis.
- [5] R. Mizutani, Y. Suzuki (2012). *X-Ray Microtomography in Biology*. *Micron* 43, 104–15.
- [6] S. D. J. Rawson et al. (2020). *X-Ray Computed Tomography in Life Sciences*. *BMC Biology* 18, 21.
- [7] E. Maire, P. J. Withers (2014). *Quantitative X-Ray Tomography*. *International Materials Reviews* 59, 1–43.
- [8] L. Vasarhelyi et al. (2020). *Microcomputed Tomography-Based Characterization of Advanced Materials: A Review*. *Materials Today Advances* 8.
- [9] L. S. De Chiffre et al. (2014). *Industrial Applications of Computed Tomography*. *Cirp Annals-Manufacturing Technology* 63, 655–77.
- [10] J. T. Johnson et al. (2006). *Virtual Histology of Transgenic Mouse Embryos for High-Throughput Phenotyping*. *Plos Genetics* 2, 471–77.
- [11] B. D. Metscher (2009). *Microct for Comparative Morphology: Simple Staining Methods Allow High-Contrast 3d Imaging of Diverse Non-Mineralized Animal Tissues*. *BMC Physiol* 9, 11.

- [12] S. Handschuh et al. (2013). *A Correlative Approach for Combining MicroCT, Light and Transmission Electron Microscopy in a Single 3d Scenario*. *Frontiers in Zoology* 10.
- [13] P. Bidola et al. (2017). *Application of Sensitive, High-Resolution Imaging at a Commercial Lab-Based X-Ray Micro-CT System Using Propagation-Based Phase Retrieval*. *Journal of Microscopy* 266, 211–20.
- [14] S. Handschuh et al. (2017). *Microscopic Dual-Energy CT (Micro-DECT): A Flexible Tool for Multichannel Ex Vivo 3d Imaging of Biological Specimens*. *Journal of Microscopy* 267, 3–26.
- [15] R. Wegerhoff et al. (2011). *„Basics of Light Microscopy and Imaging“*. Special Edition of *Imaging and Microscopy*, 2nd ed., GIT VERLAG, A Company of John Wiley & Sons, Inc.

### Verfasst von:



© Dr. Michael Bernkopf/  
Vetmeduni Vienna

*Stephan Handschuh, Jahrgang 1981, ist studierter Biologe und arbeitet seit 2012 als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Imaging Core Facility der Veterinärmedizinischen Universität Wien. In dieser Funktion betreut er Projekte aus den unterschiedlichsten biologischen und biomedizinischen Forschungsbereichen mit einem Schwerpunkt auf MikroCT-Bildgebung sowie dreidimensionaler Daten-Visualisierung und -Analyse. Weiterhin arbeitet er kontinuierlich an neuen Methoden zur Präparation und 3D-Darstellung tierischer Gewebe, ein spezieller Fokus seiner Arbeit liegt dabei in der spektralen Röntgenbildgebung.*



*Bernhard Ruthensteiner, Jahrgang 1960, ist Kurator für Gruppen Wirbelloser Tiere an der SNSB Zoologischen Staatssammlung München. Er beschäftigt sich seit Jahrzehnten mit methodischen Aspekten zur strukturellen Untersuchung von biologischen Objekten. Durch die Auswertung von Schnittserien erarbeitete er sich frühzeitig Kenntnisse zur 3D-Bearbeitung. Er etablierte die MikroCT-Methode an den Staatlichen Naturwissenschaftlichen Sammlungen Bayerns. Hierbei konnte er umfangreiche technische Erfahrungen mit MikroCT sowie dem Umgang mit Objekten verschiedenster (geo-)biologischer Disziplinen aufbauen.*

### Korrespondenz

*Dr. Bernhard Ruthensteiner  
Section Evertebrata varia  
Zoologische Staatssammlung München  
Münchhausenstr. 21  
81247 München  
E-mail: ruthensteiner@snsb.de  
www.zsm.mwn.de*



Verband | Biologie, Biowissenschaften  
& Biomedizin in Deutschland

**GEMEINSAM  
FÜR DIE**

**BIEWISSENSCHAFTEN**

### **Gute Gründe, dem VBIO beizutreten:**

- Werden Sie Teil des größten Netzwerks von Biowissenschaftlern in Deutschland
- Unterstützen Sie uns, die Interessen der Biowissenschaften zu vertreten
- Nutzen Sie Vorteile im Beruf
- Bleiben Sie auf dem Laufenden – mit dem VBIO-Newsletter und dem Verbandsjournal „Biologie in unserer Zeit“
- Treten Sie ein für die Zukunft der Biologie



[www.vbio.de](http://www.vbio.de)

**Jetzt beitreten!**

