

Aus dem Institut für Experimentelle Ophthalmologie
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes, Homburg (Saar)
Direktor: Prof. Dr. Achim Langenbacher

**Dreidimensionale Vermessung von
Hornhautspendergewebe mit der optischen
Kohärenztomografie des vorderen
Augenabschnitts**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes
2021

vorgelegt von
Stephanie Mäurer
geboren am 3. September 1991 in Salzgitter-Bad

Dekan: Prof. Dr. Michael Menger
Institut für Klinisch-Experimentelle Chirurgie

Referent: Prof. Dr. Achim Langenbacher
Institut für Experimentelle Ophthalmologie

1. Korreferent: Prof. Dr. Tobias Hartmann
Institut für Experimentelle Neurologie

Tag der mündlichen Prüfung 8.März.2022

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung/Abstract	1
1.1	Dreidimensionale Vermessung von Hornhautspenden	1
1.2	Three-dimensional measurement of donor corneas	2
1.3	Beiträge	3
2	Hintergrund	5
2.1	Hornhaut	5
2.2	Optische Kohärenztomografie	11
2.3	Stand der Technik der Hornhauttransplantation	15
2.4	Fragestellungen	18
3	Material und Methoden	19
3.1	Material	19
3.1.1	Proben	19
3.1.2	Messsysteme	20
3.2	Methodik	23
3.2.1	Messprotokoll	23
3.2.2	Datenanalyse	25
3.3	Statistische und systematische Messunsicherheiten	38
3.3.1	Messungen an einem Phantom	38
3.3.2	Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Fit-Modelle	39
3.3.3	Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Messsysteme	42
3.4	Messungen an Patienten/Probanden	48
3.4.1	Vergleich der Ergebnisse zweier Analyseverfahren	48
3.4.2	Identifikation von Hornhautpathologien	50
3.5	Messungen an Hornhautspenden	51
3.5.1	Reproduzierbarkeit	51
3.5.2	Korrektur systematischer Messfehler durch Raytracing	52
3.5.3	Anwendung der Methode	52
4	Ergebnisse	55
4.1	Statistische und systematische Messunsicherheiten	55
4.1.1	Messungen an einem Phantom	55
4.1.2	Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Fit-Modelle	56

4.1.3	Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Messsysteme	58
4.2	Messungen an Patienten/Probanden	65
4.2.1	Vergleich der Ergebnisse zweier Analyseverfahren	65
4.2.2	Identifikation von Hornhautpathologien	67
4.3	Messungen an Hornhautspenden	73
4.3.1	Reproduzierbarkeit	73
4.3.2	Korrektur systematischer Messfehler durch Raytracing	74
4.3.3	Anwendung der Methode	75
5	Diskussion	76
5.1	Statistische und systematische Messunsicherheiten	76
5.1.1	Messungen an einem Phantom	76
5.1.2	Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Fit-Modelle	77
5.1.3	Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Messsysteme	81
5.2	Messungen an Patienten/Probanden	86
5.2.1	Vergleich der Ergebnisse zweier Analyseverfahren	86
5.2.2	Identifikation von Hornhautpathologien	90
5.3	Messungen an Hornhautspenden	93
5.3.1	Reproduzierbarkeit	93
5.3.2	Korrektur systematischer Messfehler durch Raytracing	93
5.3.3	Anwendung der Methode	94
6	Schlussfolgerungen und Ausblick	97
	Literaturverzeichnis	99
A	Anhang	106
A.1	Eigene Publikationen	106
A.2	Abkürzungsverzeichnis	110
A.3	Variablenverzeichnis	111
A.4	Danksagung	114
A.5	Lebenslauf	115

1 Zusammenfassung/Abstract

1.1 Dreidimensionale Vermessung von Hornhautspenden

Fragestellungen: Ziel der Arbeit war die Entwicklung einer Methode, mit der Hornhautspendergewebe in der Zellkulturflasche objektiv und kontaktfrei tomografisch vermessen werden kann. Zudem soll sie pathologische Spenderhornhäute erkennen.

Methoden: Nach der Prüfung der Anwendbarkeit der optischen Kohärenztomografie (OCT) für die optische Vermessung des Gewebes wurde ein Matlab-basierter Algorithmus zur Bildverarbeitung der dreidimensionalen Rohdaten und Vorder- und Rückflächenerkennung der Hornhautspenden entwickelt. Durch die Anpassung eines mathematischen Modells an diese Flächen können die Krümmungsradien der Vorder- und Rückfläche sowie die Hornhautdicke bestimmt werden. Anhand simulierter Flächendaten wurden verschiedene Fitmodelle getestet und verglichen. Ebenfalls erfolgte eine Gegenüberstellung zweier OCT-Systeme. Die Validierung des Algorithmus wurde an einem Phantom durchgeführt. Einem Vergleich der tomografischen Ergebnisse des OCT-Systems mit den Ergebnissen des Algorithmus an Patientmessungen folgte die Untersuchung der Eignung des Algorithmus zur Erkennung von pathologischen Hornhäuten an Messungen von erkrankten Patienten. Abschließend wurden Messungen an 579 Spenderhornhäuten durchgeführt und mit dem Algorithmus ausgewertet. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und der Vorteil der Durchführung eines Raytracings im Algorithmus wurden anhand einiger Spendergewebe diskutiert.

Ergebnisse: Die Auswertung von 579 Spenderhornhäuten ergab im Mittel einen steilen und flachen Krümmungsradius der Vorderfläche von (7.42 ± 0.28) mm und (7.67 ± 0.23) mm. Die entsprechenden Radien für die Rückfläche betragen (6.52 ± 0.30) mm und (6.78 ± 0.27) mm. Die mittlere zentrale Hornhautdicke lag bei (607.51 ± 78.02) μ m. Abnormitäten (außerhalb von ± 3 Standardabweichungen) wurden bei fünf Hornhäuten (0.9%) für die Vorderflächenkrümmung, sieben Hornhäuten (1.2%) für die Rückflächenkrümmung und fünf Hornhäuten (0.9%) für die Hornhautdicke gefunden. Insgesamt konnten zehn auffällige Spenderhornhäute mit dem Algorithmus erkannt werden, wovon bei einer Hornhaut ein Keratokonus und bei einer

anderen eine Narbe klinisch anamnestisch bestätigt wurden. Diese Spendergewebe wurden daraufhin für die Verwendung als Transplantat verworfen.

Schlussfolgerung: Die optische Kohärenztomografie ermöglicht eine schnelle, dreidimensionale und kontaktlose Vermessung von Spenderhornhautgewebe im Kulturmedium unter sterilen Bedingungen. Dabei kann nahezu der gesamte für die Transplantation relevante Bereich von >7 mm untersucht werden. Anhand des entwickelten Algorithmus konnten aus dem 3D-Datensatz topografische und pachymetrische Parameter ermittelt werden, welche mit den physiologischen Literaturwerten der menschlichen Hornhaut übereinstimmen. Ebenfalls ist die Erkennung von pathologischen Spendergeweben möglich. Die entwickelte Methode könnte einen wichtigen Beitrag zur Routineuntersuchung von Hornhautspendergewebe liefern. Es könnte als Entscheidungshilfe dienen, welches Gewebe welchem Patienten und welcher Transplantationsart zugeordnet wird und somit möglicherweise die Anzahl an zur Verfügung stehenden Transplantaten für die Hornhauttransplantation erhöhen.

1.2 Three-dimensional measurement of donor corneas

Purpose: The aim of the work was to develop a method to measure corneal donor tissue in the cell culture flask objectively and contact-free using tomography. In addition, it should be able to detect pathological donor corneas.

Methods: After testing the applicability of optical coherence tomography (OCT) for the optical measurement of tissue, a Matlab based algorithm was developed with image processing of the three-dimensional raw data and front and back surface recognition of donor corneas. By fitting a mathematical model to these surfaces, the radii of curvature of the anterior and posterior surface as well as the corneal thickness could be determined. Using simulated surface data, different fit models were tested and compared. A comparison of two OCT systems was also performed. The validation of the algorithm was performed on a phantom. A comparison of the tomographic results of the OCT system and the algorithm on patient measurements was followed by proof of suitability of the algorithm for detection of pathological corneas on measurements of diseased patients. Finally, measurements of 579 donor corneas were performed and evaluated with the algorithm. The reproducibility of the results and the benefit of performing a ray tracing in the algorithm were discussed on some donor tissues.

Results: The evaluation of 579 donor corneas showed an average steep/flat radius of curvature of the anterior surface of (7.42 ± 0.28) mm/ (7.67 ± 0.23) mm. The corresponding radii for the rear surface were (6.52 ± 0.30) mm/ (6.78 ± 0.27) mm. The mean central corneal thickness was (607.51 ± 78.02) μ m. Abnormalities (outside ± 3 standard deviations) were found for five corneas (0.9%) for anterior surface curvature, seven corneas (1.2%) for posterior surface curvature and five corneas (0.9%) for corneal thickness. A total of ten suspicious donor corneas could be identified with the algorithm. One cornea showed a keratoconus configuration and another had a scar confirmed by clinical anamnesis. These donor tissues were discarded for use as transplant.

Conclusion: Optical coherence tomography allows fast, three-dimensional and contactless measurements of donor corneal tissue under sterile conditions in the culture medium. The measurable range covers almost the entire optically relevant graft diameter of >7 mm. Using an algorithm, topographic and pachymetric parameters could be calculated from the volume data, which are consistent with literature values of the human cornea. It is also possible to identify pathological donor tissue. The developed method is a fundamental step in the routine examination of corneal donor tissue. Towards quality control it could assist clinicians in decision assigning a donor tissue to specific surgery types or clinical situations and thus possibly increase the number of available transplants for corneal transplantation.

1.3 Beiträge

Hiermit bestätige und würdige ich die Beiträge der folgenden Kollegen zu dieser Dissertation:

Prof. Dr. Achim Langenbacher, Priv.-Doz. Dr. Timo Eppig: Durchführung der Reliabilitätsstatistik für die Untersuchung der Reproduzierbarkeit (Abschnitt 3.5.1), Unterstützung bei der Programmierung des Algorithmus (Abschnitt 3.2.2) und der Auswertung der Messungen zum Vergleich zwischen OCT und Algorithmus basierter Auswertung (Abschnitt 5.2.1)

Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux Trier/Westpfalz: Bereitstellung des Hornhautspendergewebes

Loic Hamon, Adrien Quintin, Fatema Asi: Tägliche Messungen der Hornhautspendergewebe (Abschnitt 3.5.3)

Universitätsklinikum des Saarlandes Klinik für Augenheilkunde, Prof. Dr. med. Berthold Seitz: Bereitstellung des Vorderabschnitts-OCTs Casia 2

Angela Damian: Bereitstellung der für das Spectral Domain OCT Spectralis entwickelten Bildvorverarbeitung

Simon Schröder: Proband für den Vergleich zwischen OCT und Algorithmus-gestützter Auswertung (Abschnitt 3.4.1) und Bereitstellung des Raytracing-Algorithmus (Abschnitt 3.2.2.3)

Magdalena Wegmann: Proband für den Vergleich zwischen OCT und Algorithmus-gestützter Auswertung (Abschnitt 3.4.1)

Antonia Rawer: CAD-Design der Halterung der Zellkulturflasche

OPTOPOL Technology Sp. z o.o.: Bereitstellung des Spectral Domain OCT Revo Nx

Galifa Contactlinsen AG: Bereitstellung des Hornhaut-Phantoms zur Validierung des Algorithmus

2 Hintergrund

2.1 Hornhaut

Anatomie

Die Hornhaut ist ein gewölbtes, transparentes und uhrenglasförmiges Fenster, welches in die weniger gewölbte, nicht transparente Lederhaut (Sklera) eingelassen ist. Am Übergang von der Kornea zur Sklera (Limbus) wird die Krümmung der Hornhaut flacher und ihre Dicke nimmt zu. Sie besteht aus fünf Schichten: dem Hornhautepithel, der Bowman-Lamelle, dem Stroma, der Descemet-Membran und dem Hornhautendothel (Abb. 2.1).

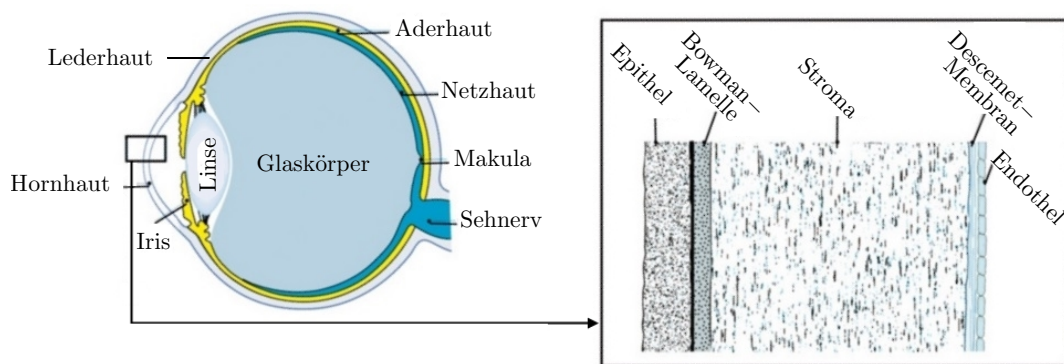


Abbildung 2.1: Makroskopischer Aufbau des Auges mit mikroskopischer Nahaufnahme des Hornhautaufbaus (aus [50] mit freundlicher Genehmigung von © 2016 by MVZ Prof. Neuhann GmbH)

Das **Hornhautepithel** macht 10% [27] der Hornhautdicke aus. Es ist nicht verhornt und besteht aus fünf bis sieben Zellschichten. Die basalständige Schicht des Epithels besteht aus senkrecht angeordneten, hochprismatischen Zellen, deren Kerne durch Mitose innerhalb von sieben Tagen das gesamte Epithel erneuern können [69]. Die Intermediärschicht enthält rundliche, mit Dendriten versehene Stachelzellen. Die oberste Schicht besteht aus etwa zwei Zelllagen mit langen, schmalen Deckzellen, welche am äußeren Rand der Hornhaut Mikrovilli (Zotten) besitzen. Zusammen mit dem benetzenden Tränenfilm bildet das Epithel eine Diffusionsbarriere, um die Hornhaut vor dem Eindringen von Fremdkörpern, Mikroorganismen, aber auch Wasser zu schützen [27, 61].

Die **Bowman-Lamelle** schließt sich an das Epithel an und besteht aus Fibrillen, kreuzenden Kollagenfasern und einer dichten Interzellulärsubstanz. Sie bildet die Grenze zum Stroma und ist mit verantwortlich für die Stabilität und Festigkeit der Kornea [69].

Den größten Teil der Hornhaut (90%) bildet das **Stroma**. Es besteht hauptsächlich aus parallel angeordneten Kollagenfibrillen, deren Zwischenräume von Keratozyten und einer Interzellulärsubstanz ausgefüllt werden. Durch die Regelmäßigkeit der Fibrillen und der Avaskularität des Stromas wirkt dieses transparent. Im gesunden Zustand enthält die Schicht ca. 75% Wasser. Variiert der Wassergehalt, wirkt sich dies auf den Abstand der Fibrillen aus, wodurch sich auch die Dicke und Transparenz der Hornhaut ändern kann [27].

Die nächste posteriore Membran wird als **Descemet-Membran** bezeichnet. Sie besteht ebenfalls aus einem Netzwerk von Kollagenfasern, welche in eine homogene Grundsubstanz eingebettet sind [69]. Da sie die dickste und zugleich widerstandsfähigste Membran des menschlichen Körpers ist, bietet sie einen effektiven Schutz der tieferliegenden Zellen [51].

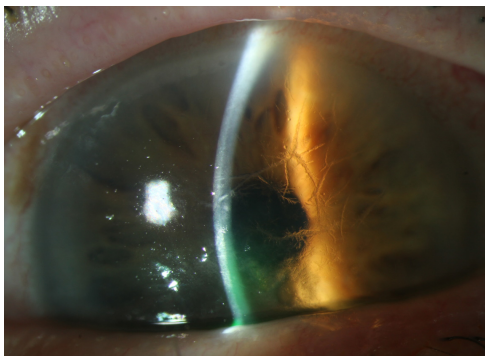
Die hinterste Schicht der Hornhaut bildet das **Endothel**. Es besteht aus einem einschichtigen Plattenepithel mit hexagonalen Zellen, welches für die Regulation des Stoffwechsels und für die Versorgung höher liegender Hornhautschichten verantwortlich ist. Gleichzeitig sorgen im Endothel enthaltenen Ionenpumpen für ein Gleichgewicht zwischen Hydratation und Dehydrierung der Hornhaut. Ist durch den passiven Einstrom von Wasser in die Hornhaut der Wassergehalt zu hoch, pumpen sie aktiv Wasser entgegen dem intrazellulären osmotischen Druck aus der Hornhaut in die Vorderkammer [19].

Zur Untersuchung der Hornhaut stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Besonderes Augenmerk liegt dabei auf der Hornhautkrümmung (Topografie) und der -dicke (Pachymetrie), um mögliche Erkrankungen zur erkennen. Neben einer Spaltlampenuntersuchung und einer auf dem Scheimpflug-Prinzip beruhenden Fotografie zur ersten Betrachtung und Beurteilung der Hornhaut wird in vielen Fällen eine Untersuchung mithilfe der optischen Kohärenztomografie durchgeführt. Moderne Geräte ermöglichen eine Darstellung aller zuvor erläuterten Hornhautschichten *in vivo* [21].

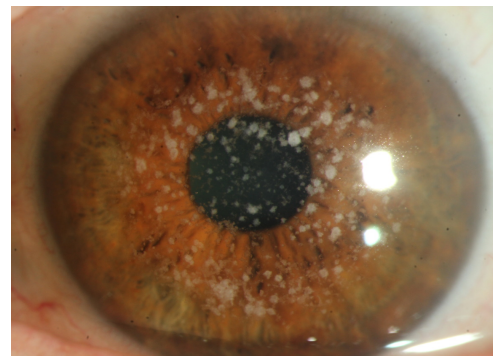
Pathologien

Hornhautdystrophien Zur Gruppe der Hornhautdystrophien zählen genetisch bedingte, bilaterale und eher seltene Erkrankungen der Hornhaut, deren Verlauf i.d.R. langsam fortschreitet und deren Entstehen bisher weder auf Umwelteinflüsse noch auf systemische Faktor zurückzuführen ist. Meist zeigen sich die ersten Symptome in der 1. oder 2. Lebensdekade. Durch die Eintrübung der Hornhaut, welche mit dem Fortschreiten der Krankheit zunimmt, verschlechtert sich das Sehvermögen. Zusätzlich kommt es bei epithelialen und stromalen Dystrophien meist zu rezidivierenden und schmerzhaften Hornhauterosionen. Zur Therapie wird je nach Visus und Ort der Ablagerung eine phototherapeutische Keratektomie (PTK) oder eine Hornhauttransplantation (Keratoplastik) durchgeführt [35].

Die Untersuchung einer *gittrigen Dystrophie* zeigt spinnennetzartige Amyloidablagerungen im Stroma [27]. Diese lichtbrechenden, dünnen Linien sowie die manchmal damit einhergehende epitheliale Trübung befinden sich im zentralen Bereich der Hornhaut und reichen nicht bis zum Limbus (Abb.2.2a). Um das Fortschreiten der Krankheit zu unterbinden, wird eine Keratoplastik durchgeführt [35]. Die *granuläre Hornhautdystrophie* wird gekennzeichnet von mehreren, weißlichen Trübungen im Stroma (Abb. 2.2b). Diese Ablagerungen bestehen aus hyalinen Strukturen, die zunächst mit einer PTK behandelt werden. Gegebenenfalls muss noch eine anteriore lamelläre oder perforierende Keratoplastik (siehe Abschnitt 2.3) durchgeführt werden [35].



(a) Gittrige Dystrophie



(b) Granuläre Dystrophie

Abbildung 2.2: Hornhautdystrophien

Bei der *Schnyderschen Dystrophie* zeigen sich kristalline, aus Cholesterin bestehende Einlagerungen im vorderen, zentralen Stroma (Abb. 2.3). Durch die ebenfalls getrübe

Umgebung der Einlagerungen ist ein relativ gutes Sehvermögen nur gegeben, wenn die Einlagerungen weit genug auseinander liegen [61].

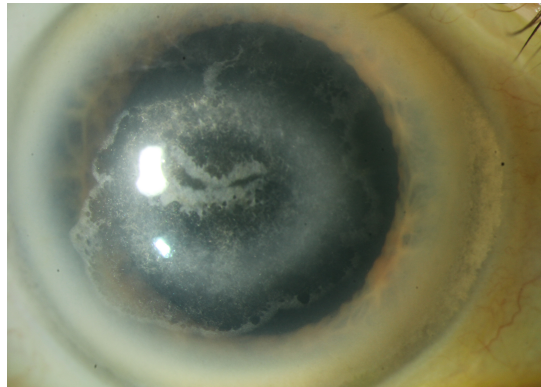


Abbildung 2.3: Schnydersche Dystrophie

Wölbungsanomalien Als *Keratokonus* bezeichnet man eine kegelförmige, meist bilaterale, asymmetrische Verformung im Zentrum der Hornhaut und eine Verdünnung dieser im peripheren Bereich (Abb. 2.4a). Das diagnostische Bild zeichnet sich durch einen irregulären myopen Astigmatismus aus. Ohne Behandlung kann es in sehr seltenen Fällen zum Reißen der Descemet-Membran und einem Anschwellen der Hornhaut kommen (akuter Keratokonus), wodurch ein plötzlicher Visusverlust und mögliche Schmerzen auftreten können. Zu Beginn des Krankheitsverlaufs kann der Verschlechterung des Sehvermögens noch durch eine Brille, später aber nur noch durch harte Kontaktlinsen entgegengewirkt werden. Ist ein stabiler Sitz der Kontaktlinsen durch das Fortschreiten des Keratokonus nicht mehr gewährleistet, besteht die Möglichkeit, durch das Implantieren stromaler kornealer Ringsegmente (INTACS) oder durch eine Keratoplastik die Symptome der Krankheit zu lindern [35]. Eine andere Möglichkeit, das Fortschreiten der Krankheit zu vermindern, besteht darin, ein Cross-Linking durchzuführen. Dabei wird durch ultraviolette Strahlung nach der Gabe von Riboflavin-Augentropfen eine photooxidative Quervernetzung des Kollagens in der Hornhaut hervorgerufen, sodass die Hornhautstabilität erhöht wird [31].

Die dem Keratokonus ähnliche, sehr seltene Erkrankung des *Keratoglobus* bezeichnet eine Verdünnung bei gleichzeitiger kugelförmiger Hornhaut-Vorwölbung (Abb. 2.4b) [27].

Die *pelluzide marginale Hornhautdegeneration* (PMD) ist gekennzeichnet von einer steileren, verdünnten Hornhaut zwischen 4 und 8 Uhr und einer abgeflachten Hornhaut

im oberen Bereich. Dazu kommt ein starker Astigmatismus, sodass die topografische Auswertung eine schmetterlingsartige Aufteilung der Hornhaut zeigt (sog. „Kissing birds“). Meist kommt es durch diese Aufteilung zu stark voneinander abweichenden Hornhautradien von mehr als 2 mm. Die sehr komplexe Hornhauttopografie erlaubt zur Therapie keine weichen, sondern nur speziell angepasste harte Kontaktlinsen als Einzelanfertigung. Eine Verbesserung kann aber auch durch intrastromale Ringsegmente oder durch eine Hornhauttransplantation erreicht werden [30, 35]. Allerdings müssen bei der Transplantation aufgrund der Lage der Hornhautverdünnung nahe des Limbus große exzentrische Transplantate genutzt werden, wodurch ein erhöhtes Risiko für Abstoßung, nahtinduzierte Komplikationen und Hornhautneovaskularisation besteht [24].

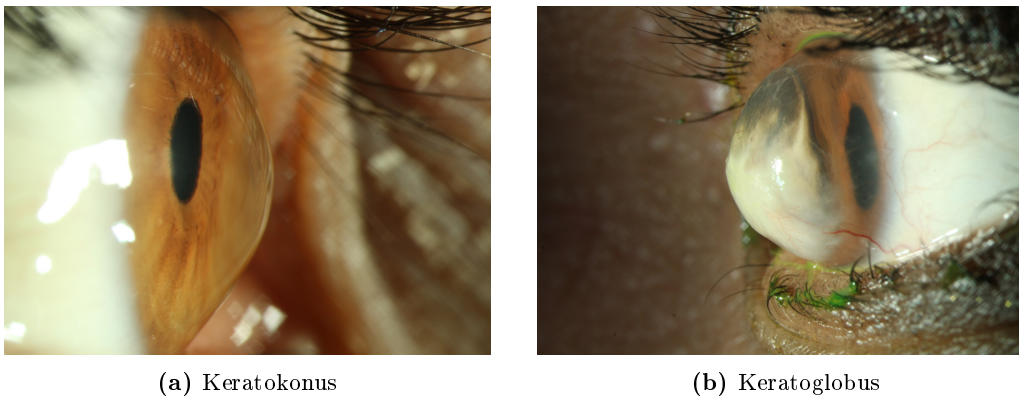


Abbildung 2.4: Wölbungsanomalien

Narben Eine Hornhautnarbe kann nach einer Verletzung oder Infektion der Hornhaut entstehen. Sie bestehen aus Fibrozyten, deren Kollagen aus sehr dicken Fibrillen aufgebaut ist. Dadurch erscheinen sie meist undurchsichtig und grau-weißlich. Eine Begrenzung der Narbe ist sowohl auf eine Fläche als auch auf eine Schicht des Stromas möglich. Je nach Lage, Größe und Transparenz kann die Narbe unterschiedlich starke Sehbeeinträchtigungen hervorrufen. Befinden sich Narben an der Oberfläche des Stromas, können sie durch das Verkürzen des Kollagens zu einer Veränderung der Krümmung der Hornhaut führen und somit einen Narbenastigmatismus begünstigen. Allerdings können solche oberflächlichen Narben auch gut mit einer PTK therapiert werden. Bei tieferen Narben kann jedoch nur eine Keratoplastik auftretende Sehverschlechterungen ausgleichen [61].

Salzmann'sche noduläre Hornhautdegeneration Bei dieser Erkrankung kommt es zu grau-weißen Kollagenknoten in der Bowman-Lamelle und subepithelial (Abb. 2.5). Zusätzlich ist der Visus durch einen irregulären Astigmatismus verschlechtert. Die einzige Therapiemöglichkeit stellt das Abtragen der Knoten dar [35]. Da diese Trübung aber meist im peripheren Bereich der Hornhaut auftritt, wird das Sehvermögen oft weniger stark beeinträchtigt [61].

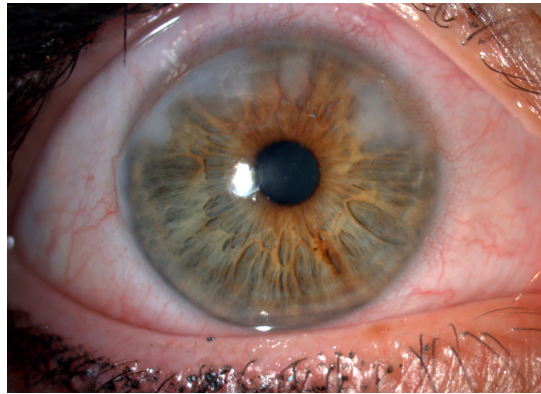


Abbildung 2.5: Salzmann'sche Degeneration

Akanthamöbenkeratitis Die Akanthamöbenkeratitis ist eine durch Akanthamöben hervorgerufene Hornhautentzündung, die zu Beginn der Erkrankung aufgrund der sehr ähnlichen Symptome mit einer Herpeskeratitis oder auch einer bakteriellen oder mykotischen Keratitis verwechselt werden kann (Abb. 2.6). Ebenso wie diese anderen Formen der Keratitis zeichnet sich die Akanthamöbenkeratitis durch eine sehr langsam entstehende Keratitis aus, die auf Antibiotika keine Reaktion zeigt. Nach einigen Wochen klagen die Patienten aufgrund der vorliegenden Perineuritis über starke Schmerzen und eine Abnahme der Hornhautsensibilität. Häufig zeigen sich im klinischen Bild eine chamäleonartige Epithelveränderung (pseudodendritiforme Epitheliopathie), perineurale Infiltrate, Ringinfiltrate und stromale Infiltrate. Das größte Risiko, an einer Akanthamöbenkeratitis zu erkranken, besteht für Kontaktlinsenträger, die ihre weichen Kontaktlinsen nur mit Leitungswasser reinigen oder sie beim Baden nicht herausnehmen. Zur Therapie dieser Erkrankungen gibt es sowohl medikamentöse als auch chirurgische Ansätze, die aber bislang noch nicht durch randomisierte kontrollierte klinische Studien bestätigt wurden. Bei frühzeitiger Erkennung kann mit einer dreifachen Medikamententherapie (Diamidine, Biguanide, Antibiotika) gearbeitet werden. Andernfalls konnte in Publikationen gezeigt werden, dass durch Kryotherapie, Amnionmembran-

transplantation, Crosslinking-Therapie oder Keratoplastik eine Behandlung erfolgen kann [35].

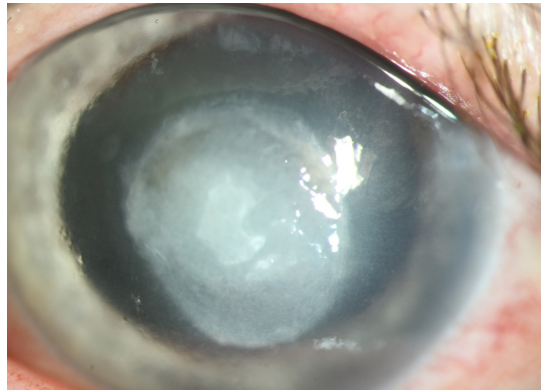


Abbildung 2.6: Akantamoebenkeratitis

2.2 Optische Kohärenztomografie

Die optische Kohärenztomografie (OCT) bezeichnet ein nichtinvasives, berührungsloses und hochauflösendes Bildgebungsverfahren, bei welchem die Interferenz von Lichtstrahlen zur tiefenaufgelösten Vermessung von Gewebe genutzt wird. Das Fundament der heutigen OCT Technik bildet die ursprünglich in der Biotechnologie verwendete Low-Coherence Interferometry (LCI), mit welcher eindimensionale Aufnahmen erzeugt werden können. Am menschlichen Auge wurde dieses Verfahren erstmals 1988 von Fercher et. al. angewandt [15]. Die ersten zweidimensionalen *in vivo* Schichtaufnahmen des hinteren Augenabschnitts eines Rinderauges erfolgten 1991 durch D. Huang et al. in Massachusetts. Pioniere im Bereich der faserbasierten OCT Technik waren J.G. Fujimoto und G. Häusler, wobei Häusler maßgeblich zur Entwicklung des auf der spektralen Interferometrie basierendem OCT beitrug [3, 16]. Heute gehört das OCT-Verfahren zu den Standardanwendungen in der ophthalmologischen Diagnostik.

Funktionsweise der optischen Kohärenztomografie

Der prinzipielle Aufbau eines OCT ist vergleichbar mit dem eines Michelson- Interferometers. Allerdings wird in der OCT-Technik eine breitbandige Lichtquelle (Weißlichtquelle, Superlumineszenzdiode) anstatt eines Laser verwendet. Das Licht wird

zunächst an einem Strahlteiler aufgespalten (Abb. 2.7). Ein Teil des Lichts dient als Referenzstrahl und wird von einem Spiegel reflektiert, dessen Abstand zum Strahlteiler in axialer Richtung variiert werden kann. Der zweite Lichtpfad wird auf die Probe geleitet.

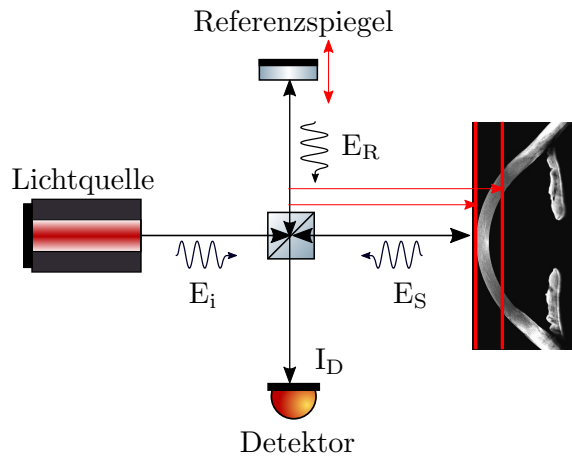


Abbildung 2.7: Vereinfachter Aufbau eines OCT- Systems: Licht (E_i) wird durch einen Strahlteiler in zwei Anteile aufgespalten. Ein Teil des Lichtes gelangt über einen beweglichen Referenzspiegel zurück zum Strahlteiler (E_R), während der andere Teil durch die Probe zurückgeworfen wird (E_S). Die elektrischen Felder E_R und E_S interferieren anschließend am Detektor. Die Auswertung des Interferenzsignals zusammen mit der Position des Spiegels am Referenzarm liefert die Tiefeninformationen der Probe (nach [10]).

Das an der Probe reflektierte oder zurückgestreute Licht wird zurück zum Strahlteiler geleitet und dort mit dem Referenzstrahl überlagert. Anschließend interferiert das kombinierte Licht auf einem Detektor [10, 29]. Beim Vergleich der Intensitäten der jeweils reflektierten Strahlen entstehen je nach Gewebeschicht und deren optische Eigenschaften unterschiedlich starke Interferenzen. Stellt man diese Tiefeninformation am Fokuspunkt einer lateralen Position der Probe dar, bezeichnet man dies wie in der Ultraschalltechnik als Amplitudenscan (A-Scan) (Abb. 2.8). Analog entsteht ein Brightness Mode Scan (B-Scan) beim zweidimensionalen Abrastern der Probe mithilfe einer Scan-Einheit. Dabei werden mehrere A-Scans prozessiert, die über den Computer zu einem zweidimensionalen Querschnittsbild der Probe verrechnet werden. Durch mehrere hintereinander ausgeführte B-Scans ist eine dreidimensionale Erfassung des Gewebes möglich.

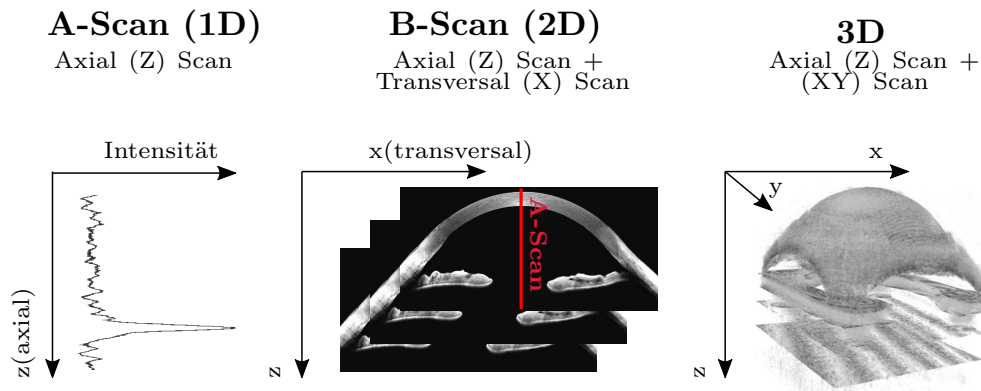


Abbildung 2.8: Schematische Darstellung der verschiedenen Scan-Verfahren bei der OCT-Technik: Der axiale Tiefenscan an einer lateralen Position der Probe wird als A-Scan bezeichnet. Für die Erzeugung von zweidimensionalen Schnittbildern werden mehrere A-Scans an verschiedenen Positionen durchgeführt (B-Scan). Dreidimensionale Daten können durch eine Serie hintereinander ausgeführter B-Scans erzeugt werden (nach [10]).

Grundsätzlich lassen sich zwei verschiedene OCT-Verfahren unterscheiden (Abb. 2.9). Die älteste Technik wird als **Time Domain OCT** (TD-OCT) bezeichnet. Durch den Einsatz einer spektral breitbandigen Lichtquelle entstehen bei der TD-OCT nur dann Interferenzen, wenn der optischen Weglängenunterschied zwischen dem Referenz- und dem Probenarm kleiner als die Kohärenzlänge ist. Da diese indirekt proportional zur Breite des Spektrums ist, beträgt sie bei den verwendeten Lichtquellen nur wenige Mikrometer. Zur Aufnahme der gesamten Probentiefe muss demnach der Spiegel des Referenzarms sukzessive verschoben werden. Die Probenschicht, bei der die Länge des Referenz- und Probenarms übereinstimmt, zeigt dabei das größte Interferenzsignal. Die Signale der übrigen Probenschichten werden, da sie nicht im Bereich der Kohärenzlänge liegen, unterdrückt. Um die gesamte Probe axial in der Tiefe zu vermessen, wird zunächst der Referenzarm auf eine bestimmte Probenschicht eingestellt und anschließend in dieser Tiefe jede transversale Position angefahren. Dieser Vorgang wird für jede Tiefe wiederholt. Dieser mechanische Vorgang kann nur langsam erfolgen und führt zu relativ langen Messzeiten. Allerdings liegt bei der breitbandigen Lichtquelle der Vorteil in der hohen Auflösung, da diese direkt von der kurzen Kohärenzlänge des Lasers bestimmt wird. Zurzeit liegt die Bandbreite von handelsüblichen OCT-Systemen bei $20 \text{ nm} - 30 \text{ nm}$ mit einer daraus resultierenden axialen Auflösung von $10 \mu\text{m} - 15 \mu\text{m}$ [11].

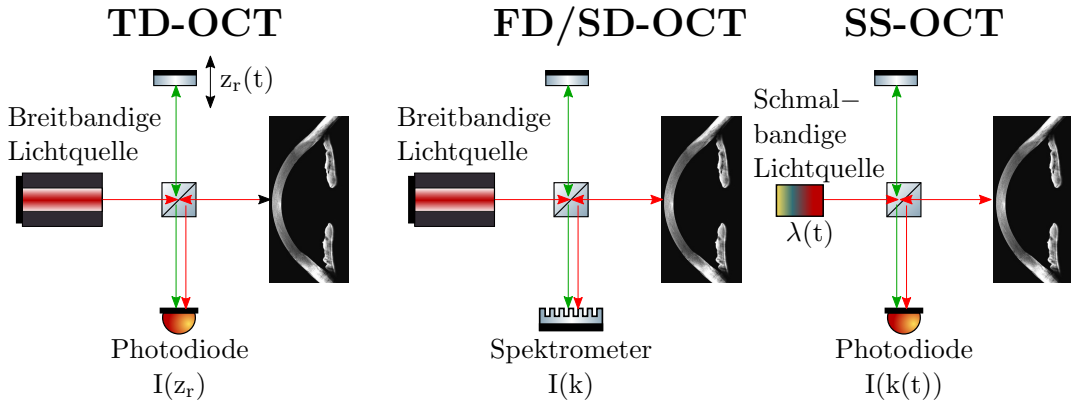


Abbildung 2.9: Schematische Darstellung der Time Domain OCT, der Fourier Domain OCT und der Swept Source OCT: Bei der Time Domain OCT (TD-OCT) sendet die Lichtquelle breitbandiges, kurzkohärentes Licht aus, welches von einem Strahlteiler in zwei Strahlen aufgespalten wird. Der Referenzstrahl wird von einem Spiegel zurück zum Strahlteiler gelenkt und anschließend mit dem in der Probe reflektierten Strahl am Detektor überlagert. Bei gleicher Weglänge von Referenz- und Probenarm kommt es innerhalb der Kohärenzlänge zur Interferenz. Die gesamte Gewebetiefe wird bei TD-OCT durch Verschieben des Referenzspiegels detektiert. Bei der Fourier Domain OCT (FD-OCT), welche auch Spectral Domain OCT (SD-OCT) genannt wird, wird das Interferenzsignal spektral zerlegt, um die Tiefeninformation der Probe zu gewinnen. Es nutzt dazu ein Spektrometer zur Detektion. Beim Swept Source OCT (SS-OCT) wird eine schmalbandige Lichtquelle in der Wellenlänge durchgestimmt und das Interferenzsignal mit einem Detektor aufgenommen (nach [29]).

Eine neuere Methode ist die **Fourier Domain OCT** (FD-OCT), welche auch als **Spectral Domain OCT** (SD-OCT) bezeichnet wird. Dabei wird mithilfe von spektraler Zerlegung des Interferenzsignals das Interferenzspektrums detektiert, welches die gesamte Tiefeninformation des Gewebes umfasst. Durch eine Fouriertransformation kann aus dem Spektrum das Tiefenprofil ohne Variation des Referenzarmes bestimmt werden. Bei der SD-OCT wird eine breitbandigere Lichtquelle als bei der TD-OCT verwendet, wobei das Interferenzsignal hier mit einem Spektrometer anstelle einer Photodiode detektiert wird. Neben dem Austausch des Detektors kann die spektrale Information auch aus der Lichtquelle stammen. Die sogenannte **Swept Source OCT** (SS-OCT) benutzt deshalb eine Lichtquelle mit schmaler, der TD-OCT ähnlichen Linienbreite, die schnell in der Wellenlänge durchgestimmt werden kann. Zur Detektion wird hier eine Photodiode verwendet, die das Interferenzsignal als Funktion der Zeit aufnimmt. Durch den Einsatz dieser neuen Verfahren kann die Schnelligkeit der Messung von ca. 400 A-Scans/s beim TD-OCT auf ca. 100000 A-Scans/s beim SS-OCT gesteigert werden [10, 28, 29].

Transversale und axiale Auflösung

Zur Bestimmung der transversalen Auflösung der OCT wird das Strahlenbündel, welches auf die Probe fokussiert wird, näher betrachtet. Da dieses Bündel meist aus dem Ende einer Single-Mode Faser austritt und dieses wie eine Lochblende für das ausgestrahlte Licht dient, wird es häufig mithilfe des Konzepts des Gauß-Strahls beschrieben. Für die Funktionsweise der OCT wird der Lichtstrahl auf die Probe fokussiert, sodass die transversale Auflösung durch die minimale Spotgröße bestimmt wird. Nach [10] ist der minimale Durchmesser des Strahlenbündels, der über die Halbwertsbreite der maximalen Leistung berechnet wird:

$$\Delta x \approx \frac{\lambda_0}{NA} \quad (2.1)$$

Hierbei steht λ_0 für die zentrale Wellenlänge und NA für die numerische Apertur der fokussierenden Linse.

Ein wesentlicher Vorteil der OCT gegenüber anderen optischen Messmethoden ergibt sich durch die bei der interferometrischen Messmethode bedingte hohe axiale Auflösung [10]. Die axiale Auflösung der OCT wird meist als die Halbwertsbreite der Kohärenzfunktion $\gamma(z)$ der Lichtquelle angegeben und ist daher identisch mit der Kohärenzlänge l_c der Lichtquelle. Für ein gaußförmig verteiltes Spektrum, welches näherungsweise für alle in der OCT verwendeten Lichtquellen vorliegt, gilt:

$$l_c = \frac{2 \ln(2)}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{\Delta\lambda} \quad (2.2)$$

λ_0 kennzeichnet hier die zentrale Wellenlänge und $\Delta\lambda$ die Halbwertsbreite des Spektrums. Die axiale Auflösung der OCT ist somit antiproportional zur Breite des Spektrums und proportional zum Quadrat der zentralen Wellenlänge.

2.3 Stand der Technik der Hornhauttransplantation

Die erstmals 1905 von Eduard Zirm durchgeführte Hornhauttransplantation (Keratoplastik) ist die älteste und am häufigsten durchgeführte Transplantationsart [76, 65]. Laut dem Leistungsbericht 2017 der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft wurden im Jahr 2017 insgesamt 9766 Spenderhornhäute für die Transplantation vorbereitet. Allerdings mussten 2139

hiervon aufgrund von geringer Endothelzellichte, Serologie oder Kontamination verworfen werden. Zusätzlich wurden bei 791 verworfenen Hornhäuten keine genaueren Angaben zum Ausschlussgrund vermerkt. Somit konnten insgesamt nur ca. zwei Drittel der eingebrachten Hornhäute transplantiert werden [62]. Ein weiteres Problem stellt die trotz steigender Anzahl an Operationen stetig rückläufige Spenderbereitschaft dar. Die Anzahl der postmortalen Organspenden in Deutschland erreichte 2017 den niedrigsten Stand seit 20 Jahren [66]. Deshalb wurden 2017 zusätzlich über 1500 Hornhäute aus dem Ausland importiert. Trotzdem kann die Nachfrage nach Transplantaten bei Weitem nicht gedeckt werden. Ende 2017 befanden sich noch immer 2548 Patienten auf der Warteliste für ein Hornhauttransplantat [62]. Durch eine gezielte Verwendung der Hornhautspenden und eine Verbesserung der Spenderbereitschaft durch Information der Bürger könnte in Zukunft der Bedarf an Transplantaten besser gedeckt werden. Heutzutage werden neben der durchgreifenden, perforierenden Keratoplastik aller Hornhautschichten vor allem Transplantationen durchgeführt, bei denen nur spezielle Schichten der Hornhaut verpflanzt werden. Diese lamellären Hornhauttransplantationen werden unterteilt in posteriore und anteriore Keratoplastiken. Bei den posterioren Methoden wird entweder nur das Endothel und die Descemet-Membran oder zusätzlich noch ein geringer Teil des Stromas transplantiert. Ersteres wird als Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK) und letzteres als Decemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (DSAEK) bezeichnet [35]. Laut einer Umfrage von 2016 wurden bei 58% von 3659 erhobenen Keratoplastiken eine DMEK-Transplantation durchgeführt [73]. Pathologische Spendergewebe von Patienten mit stromalen Narben, Keratokonus oder operativen Modifikationen wie nach Laser in-situ Keratomileusis (LASIK), sofern diese mit der Spaltlampe erkannt wurden, meist verworfen. Da jedoch für die DMEK nur die Descemet-Membran mit unbeschädigtem Endothel benötigt wird, könnten diese pathologischen Hornhautspenden möglicherweise für die Herstellung von DMEK- und DSAEK-Transplantaten verwendet werden [1, 39, 48]. Für perforierende Keratoplastiken sind diese Hornhautspenden größtenteils kontraindiziert. In der Literatur wurde daher bisher auch nur von wenigen Fällen von Transplantationen mit Hornhäuten mit Zustand nach LASIK berichtet [13, 14, 45, 44]. Inwieweit eine krankhafte Hornhaut dennoch für eine perforierte Keratoplastik genutzt werden kann, muss individuell, am besten objektiv, für jede Hornhaut geprüft werden.

Nach dem Tod eines Menschen muss zunächst ermittelt werden, ob eine Spende Einwilligung vorliegt. Anschließend wird die Todesursache geklärt und überprüft, ob ein absolutes Ausschlusskriterium (siehe [37]) beim Spender vorliegt. Trifft keines dieser Kriterien zu, wird die Entnahme analog zu einem ophthalmologischen Eingriff durchge-

führt. Sie beginnt mit der Prüfung und Dokumentation der Identität des Verstorbenen. Anschließend erfolgt eine Blutentnahme und Spaltlampenuntersuchung beider Hornhäute am Spender. Nach dem Einsetzen eines Lidsperrers wird die Sklera mit einem 15 mm Trepan trepaniert und eine Korneoskleralscheibe mittels einer Hornhautschere ausgeschnitten. Dem Abziehen der Skleralscheibe von der Uvea folgt das Einbringen des Spenderscheibchens in ein Transportmedium. Abschließend wird der Status der Linse ermittelt und die Lider durch eine Lidnaht verschlossen. Dieses Vorgehen wird am Partnerauge wiederholt [37].

In der Hornhautbank werden die Spenderhornhäute nach der Entnahme in der Regel in einem Nährmedium kultiviert und subjektiv an der Spaltlampe auf stromale Narben und Gewebsveränderungen untersucht. Nach einer Woche im Kulturmedium werden die Endothelzellen am Phasenkontrastmikroskop gezählt und das Medium mikrobiologisch untersucht. Vor der Operation werden diese morphologischen und mikrobiologischen Untersuchungen noch einmal wiederholt. Falls anamnestisch keine Auffälligkeiten festgestellt wurden, könnten kleinste Veränderungen wie ein älterer, verblaster Flap nach refraktiver Chirurgie, ein Zustand nach photorefraktiver Keratektomie (PRK) oder eine klinisch unauffällige Form des Keratokonus hierbei übersehen werden. In der Literatur wird von unterschiedlichen falsch-negativ-Raten berichtet, die, je nachdem ob eine klinische Anamnese und Spaltlampenuntersuchung einzeln oder zusammen zur Diagnose genutzt werden, zwischen 3,4% und 50% liegen [26, 46, 71]. Mithilfe der Dunkelfeldmikroskopie könnten diese strukturellen Veränderungen möglicherweise dargestellt werden, allerdings ist diese Technik bisher nicht in die Routineuntersuchung einer Hornhautbank integriert [42]. Es gibt bereits verschiedene Ansätze von mehreren Autoren zum Spenderscreening mit klinischen Diagnostikgeräten [55, 56, 67, 68]. Allerdings können Keratometrie und Scheimpflug-Technologie nur am Spender direkt oder an ganzen Bulbi durchgeführt werden. Die optische Kohärenztomografie hingegen scheint aufgrund der hohen Auflösung eine geeignete Technologie für ein Screening von Spendergewebe in der Zellkultur unter sterilen Bedingungen zu sein [8, 23, 59]. Die Relevanz der hier vorgestellten Forschungsarbeit zur Optimierung der Spendergewebsuntersuchung wird besonders durch die klinische Entwicklung betont: Durch die vermehrte Durchführung von refraktiv-chirurgischen Eingriffen variiert zunehmend die Transplantatqualität, während die allgemeine Spendenbereitschaft abnimmt und somit die Verfügbarkeit von geeigneten Hornhautspenden beeinflusst. Damit soll diese Arbeit dazu beitragen, einem möglichen Versorgungsengpass vorzubeugen.

2.4 Fragestellungen

Das Ziel dieser Arbeit ist die Einführung und Optimierung einer Methode, mit der Spenderhornhäute objektiv, kontaktfrei und unter sterilen Bedingungen in der Kulturflasche tomographisch vermessen werden können. Dabei soll untersucht werden:

- Mit welchem OCT-System müssen die Spenderhornhäute vermessen werden, um die bestmögliche Darstellung bezüglich Auflösung und Rauschen zu erhalten?
- Wie können die Messdaten mithilfe von Bildverarbeitung aufbereitet werden, um die Hornhaut deutlich vom Umgebungsmedium abzugrenzen?
- Wie können die Vorder- und Rückfläche der Hornhaut erkannt und mit welchen tomografischen Parametern charakterisiert werden?
- Welche mathematischen Oberflächenmodelle eignen sich zur Auswertung der Flächen?
- Wie kann der entwickelte Algorithmus kalibriert werden?
- Welche Auswirkungen hat die Verwendung eines Raytracing-Algorithmus auf die Ergebnisse?

Des Weiteren soll es diese neue Methode ermöglichen, pathologische Spenderhornhäute zu erkennen und eine Entscheidungshilfe geben, ob dieses Gewebe trotz struktureller Veränderung für eine spezielle Art von Keratoplastik verwendet werden kann.

- Wie können pathologische Hornhäute vom Algorithmus erkannt werden?
- Welche Darstellungsmöglichkeiten der Pathologien gibt es?

Zusätzlich soll die Methode den untersuchenden Arzt in verschiedenen Bereichen unterstützen und dabei beispielsweise die folgenden Fragen beantworten:

- Für welche Art der Keratoplastik ist die untersuchte Spenderhornhaut geeignet?
- Für welche anderen klinischen Situationen kann die untersuchte Spenderhornhaut genutzt werden?

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Proben

Insgesamt wurden 579 Hornhautspendergewebe innerhalb der Zellkulturflasche (Primaria 25 cm² Canted-Neck Cell Culture Flask, Corning Inc., New York, USA) vermessen (Abb. 3.1a). Sie stammen aus dem Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux Trier/Westpfalz in Homburg/Saar und wurden tomografisch mithilfe der optischen Kohärenztomografie charakterisiert. Die Messung erfolgte bei Raumtemperatur von 23 °C und wurde ca. 24 h nach dem Umsetzen in ein zur Abschwellung mit Dextran angereichertes Kulturmedium durchgeführt.

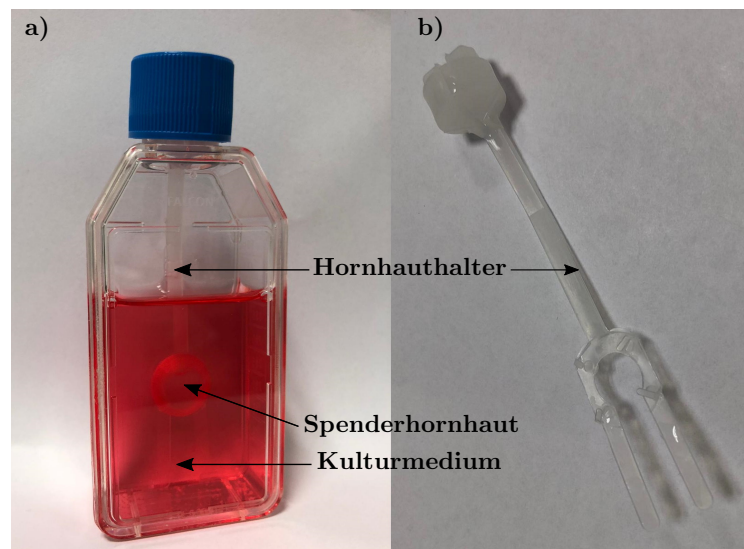


Abbildung 3.1: (a) Spenderhornhaut in Zellkulturflasche mit Kulturmedium, (b) Halter, an welchem die Hornhaut im Kulturmedium spannungsfrei befestigt ist

Des Weiteren wurden für Vergleiche auch Probandenmessungen durchgeführt oder die bereits in Datenbanken vorliegenden Patientenmessungen verwendet. Die selbst durchgeführten Messungen wurde an zwei gesunden Probanden vorgenommen, indem

sie ihr Kinn wie bei einer standardmäßigen ophthalmologischen Untersuchung auf der Kinnstütze des OCTs platzieren und in das Gerät schauen.

3.1.2 Messsysteme

Zur dreidimensionalen Vermessung wurden in der vorliegenden Arbeit zwei OCT-Geräte genutzt und die Ergebnisse verglichen: das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und das Spectral Domain OCT Revo Nx. Sie erreichen aufgrund ihrer unterschiedlichen zentralen Wellenlänge und Numerischen Apertur verschiedene Auflösungen und Eindringtiefen. Zudem nutzen sie die zwei zuvor beschriebenen Techniken der Spectral Domain OCT und Swept Source OCT. Die von den Herstellern angegebenen Spezifikationen der Geräte sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst.

Tabelle 3.1: Spezifikationen der Hersteller für die zwei verwendeten OCT-Geräte Casia 2 und Revo Nx [54, 70]

	Casia 2	Revo Nx
Technologie	SS-OCT	SD-OCT
Zentralwellenlänge (nm)	1310	830
Axiale Auflösung (μm)	10	5
Transversale Auflösung (μm)	30	18
Geschwindigkeit (A-Scans/s)	50000	110000
Scan-Tiefe (mm)	13	2.4

SS-OCT: Swept Source OCT, SD-OCT: Spectral Domain OCT

Vorderabschnitts-OCT Casia 2

Das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 (Tomey Corp., Nagoya, Japan) eignet sich aufgrund seiner Zentralwellenlänge von 1310 nm speziell für die Vermessung des vorderen Augenabschnitts. Die weniger starke Rayleigh-Streuung ($1/\lambda^4$) bei Licht höherer Wellenlängen ermöglicht größere Eindringtiefen für diese Wellenlängen [10]. Das Casia 2 ermöglicht dadurch eine Vermessung der Vorder- und Hinterkammertiefe, des Kammerwinkels und der Vorder- und Rückfläche der Linse. Des Weiteren kann die Hornhautdicke sowie die Topografie der Hornhaut direkt am Gerät ermittelt werden (Abb. 3.2). Durch diese vielfältigen Messmodi ist das Vorderabschnitts-OCT für verschiedenste Anwendungen, z.B. Glaukomdiagnostik, Keratokonusdiagnostik und -darstellung,

Kontaktlinsenanpassung, Beobachtung von Krankheitsverläufen usw. geeignet. Auch eine Bestimmung der Flapdicke nach refraktiver Chirurgie ist mit dieser Methode direkt nach der Operation möglich [33, 36, 70].

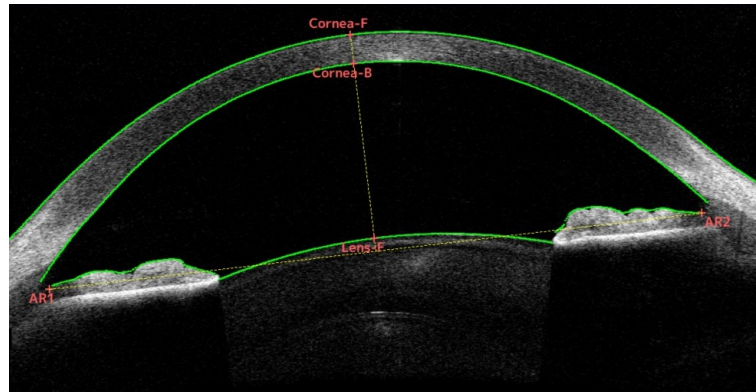


Abbildung 3.2: Schnittbilder einer mit dem Vorderabschnitts-OCT Casia 2 aufgenommenen Patientenhornhaut: Das Gerät ermöglicht eine automatische Erkennung, Darstellung und topografische Auswertung der Hornhautvorder- und rückfläche beruhend auf den unterschiedlichen Brechungsindizes von Luft, Hornhaut und Kammerwasser (grün)

Spectral Domain OCT Revo Nx

Das zweite verwendete OCT-Gerät ist das Spectral Domain OCT Revo Nx (Optopol Technology Sp. z o.o., Zawiercie, Polen). Anders als das Casia 2 wird dieses Gerät primär für den hinteren Augenabschnitt verwendet und benötigt für Vermessung des vorderen Augenabschnitts eine spezielle Zusatzoptik. Es bietet neben der anterioren Vermessung der Hornhaut (Abb. 3.3) Möglichkeiten zur Analyse der Retina und der Sehnervschädigung bei Glaukomen, einer Biometrie des Auges sowie zur Angiographie, bei der die Mikrovaskularisierung der Retina detailreich dargestellt werden kann [54].

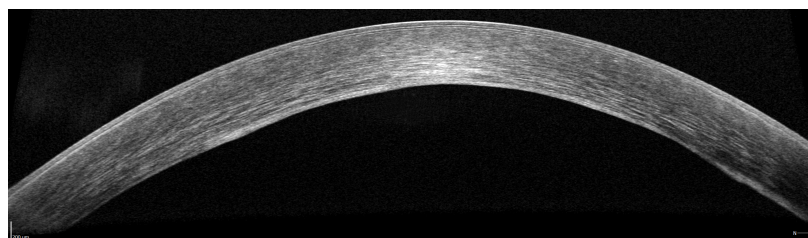


Abbildung 3.3: Anteriores Schnittbild einer mit dem Spectral Domain OCT Revo Nx aufgenommenen Patientenhornhaut (aus [54] mit freundlicher Genehmigung von © 2016 by OPTOPOL Technology Sp. z o.o.)

Durch den Einsatz einer Adapterlinse kann zusätzlich der Untersuchungsbereich vergrößert werden, sodass eine Vermessung der Patientenhornhäute von Kammerwinkel zu Kammerwinkel möglich ist (Abb. 3.4).

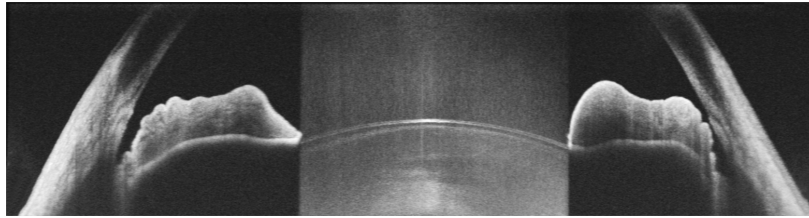
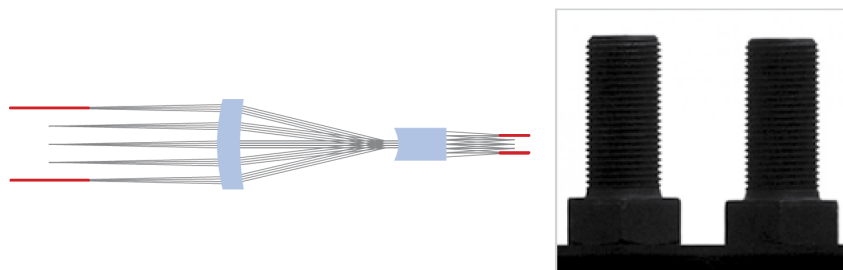
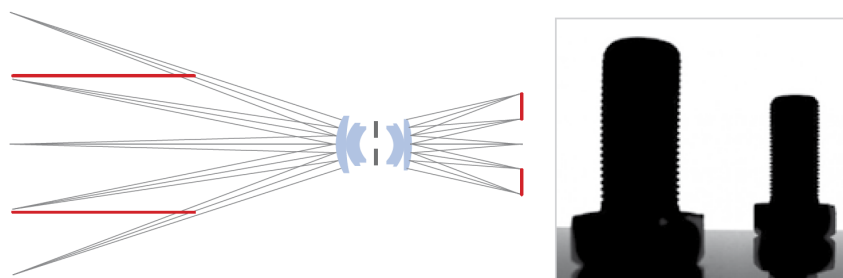


Abbildung 3.4: Schnittbild einer mit dem Spectral Domain OCT Revo Nx von Kammerwinkel zu Kammerwinkel aufgenommenen Patientenhornhaut (aus [54] mit freundlicher Genehmigung von © 2016 by OPTOPOL Technology Sp. z o.o.)

Allerdings ist aufgrund der Adapterlinse keine telezentrische Abbildung möglich. Durch die Abhängigkeit der Vergrößerung bei diesen herkömmlichen, entozentrischen Objektiven vom Abstand des Objektes zum Objektiv, verändert sich durch Verschieben des Objektes die Größe der Abbildung (Abb. 3.5). Eine Vermessung der Größe eines Objektes muss deshalb immer mit dem Abstand korrigiert werden [53].



(a) Telezentrisches Objektiv: Objekte mit unterschiedlichen Abständen zum Objektiv werden mit derselben Größe abgebildet.



(b) Entozentrisches Objektiv: Objekte werden abhängig vom Abstand zum Objektiv unterschiedlich groß abgebildet.

Abbildung 3.5: Strahlverlauf verschiedener Objektivarten (aus [53] mit freundlicher Genehmigung von © 2017 by Opto Engineering Srl)

3.2 Methodik

3.2.1 Messprotokoll

Aufgrund der Eindringtiefen von 2 bis 13 mm für die verschiedenen OCT-Systeme konnten die Spenderhornhäute innerhalb der Zellkulturflasche kontaktfrei vermessen werden. Zur Befestigung der Kulturflasche wurde mithilfe eines 3D-Druckers (Ultimaker 2 Go, Ultimaker B.V., Geldermalsen, Niederlande) eine Halterung gefertigt. Diese wurde dann auf die Kinnstütze des jeweiligen OCTs geschraubt (Abb. 3.6) und die Flasche fest zwischen Schaumgummiplatten in die Halterung fixiert. Anschließend wurden die OCT-Aufnahmen angefertigt. Je nach OCT-Gerät standen dabei verschiedene Scan-Methoden zur Verfügung, wobei im Folgenden nur die genutzten Methoden erläutert werden sollen.

Das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 bietet zum einen den dreidimensionalen, radialen „Corneal Map“ Scan. Dieser ist bereits auf dem Gerät vorprogrammiert und vermisst innerhalb von 0.3s einen runden Bereich mit einem Durchmesser von 10 mm. Dabei werden 16 Schnittbilder in Form von Meridianen mit je 800 Abtastpunkten pro Meridian sternförmig durchgeführt [70]. Der Winkel zwischen den Schnittbildern beträgt $11,25^\circ$. Angewendet wurde dieser Radial-Scan für die Vermessung von Patienten (Abb. 3.7a). Für die Spenderhornhäute wurde ein selbst definierter, dreidimensionaler Rasterscan genutzt. Dabei wird ein rechteckiges Volumen mit einer Breite und Höhe von 12 mm und einer Tiefe von 10.5 mm vermessen. In axiale z-Richtung (Tiefe) werden 1865 Schnittbilder mit je 64 Zeilen in transversale y-Richtung und 2000 Abtastpunkten pro Zeile in transversale x-Richtung aufgenommen (Abb. 3.7b (rot)). Da bei dieser Scan-Art die Auflösung in x-Richtung wesentlich größer ist als in y-Richtung, wird es als Zeilenabtastverfahren bezeichnet. Das Casia 2 ermöglicht auch einen Scan mithilfe des Spaltenabtastverfahrens, bei dem die Auflösung der x- und y- Richtung vertauscht vorliegen. Dieses wird



Abbildung 3.6: Befestigung der Zellkulturflasche mithilfe einer Halterung (orange) auf der Kinnstütze vor dem OCT (Beispiel Casia 2)

in dieser Arbeit jedoch nicht genutzt. Das Ergebnis ist sowohl beim Radial- als auch beim Rasterscan ein Volumendatensatz.

Das Spectral Domain OCT Revo Nx ermöglicht mit dem vorinstallierten „3D Weitwinkel-Scan“ eine dem Rasterscan des Casia 2 ähnliche Messkonfiguration für die Spenderhornhäute. Laut Hersteller wird auch hier ein rechteckiges Volumen vermessen. Bei diesem Gerät soll dieses eine Breite und Höhe von 8 mm und eine Tiefe von 2.4 mm besitzen. Es wird jedoch vernachlässigt, dass durch die nicht telezentrische Abbildung kein Quader sondern eher ein trapezförmiges Prisma vermessen wird. Der Gerätesoftware ist zu entnehmen, dass die Anzahl der Schnittbilder in z-Richtung 1864 beträgt, wobei in y-Richtung 256 Zeilen mit je 1024 Abtastpunkten pro Zeile in x-Richtung definiert sind (Abb. 3.7b (grün)). Allerdings muss beachtet werden, dass bei 1864 Schnittbildern in z-Richtung eine Überabtastung erfolgt. Dieselben Informationen würden bei einer axialen Auflösung von $6\ \mu\text{m}$ und einer Scan-Tiefe von 2.4 mm 417 Schnittbilder in z-Richtung liefern.

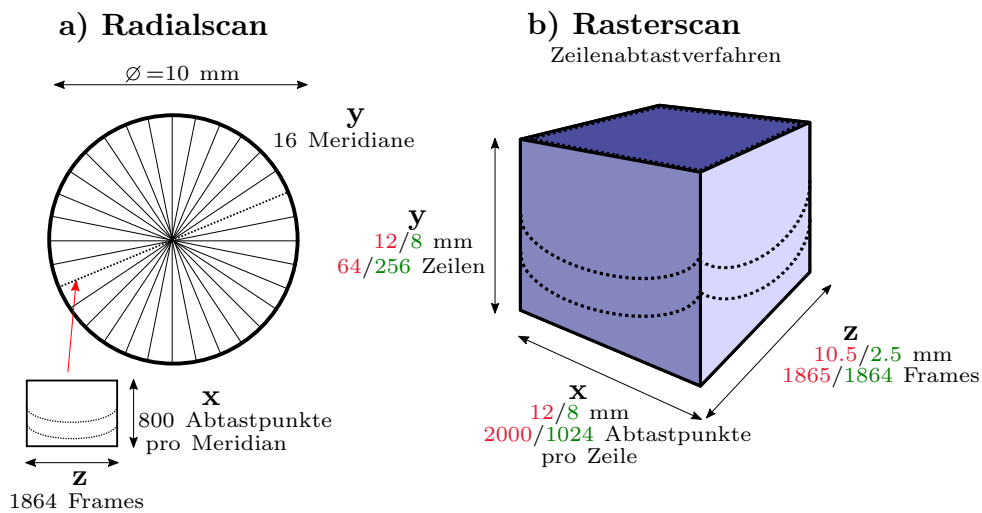


Abbildung 3.7: Schematische Darstellung der verwendeten Scan-Methoden: Casia 2-Messungen wurden entweder mit einem (a) Radialscan (Patientmessungen) oder mithilfe eines (b) Rasterscans (rot) durchgeführt. Dreidimensionale Revo Nx-Daten wurden ebenfalls durch Abrastern der Probe gewonnen (grün).

3.2.2 Datenanalyse

Zur Auswertung der aufgenommenen Rohdaten wurden diese in Matlab (The MathWorks Inc., Version 2019b, Natick, USA) importiert. Anschließend wurden die Bilddaten schichtweise vorverarbeitet, wobei Artefakte und Rauschen entfernt wurden und eine Kantendetektion der Vorder- und Rückfläche durchgeführt wurde. An diese Oberflächen wurde dann jeweils ein sphäro-zylindrisches Flächenmodell angepasst, wobei die Vorderfläche aus der Rückfläche mithilfe eines Raytracings berechnet wurde. Aus den angepassten Oberflächen ergeben sich Krümmungsradius und Dicke der Hornhaut (Abb. 3.8).

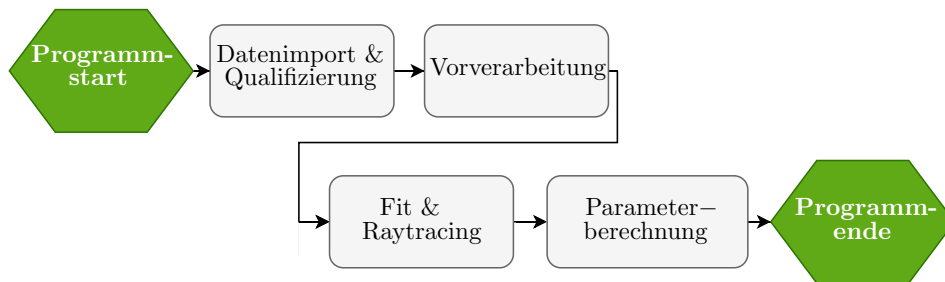


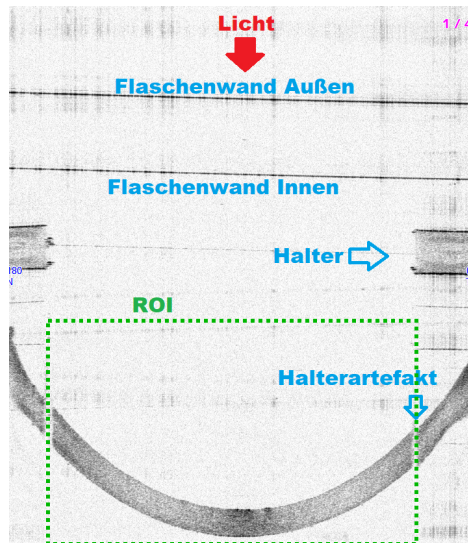
Abbildung 3.8: Schematische Abfolge der Datenanalyse

3.2.2.1 Bildvorverarbeitung

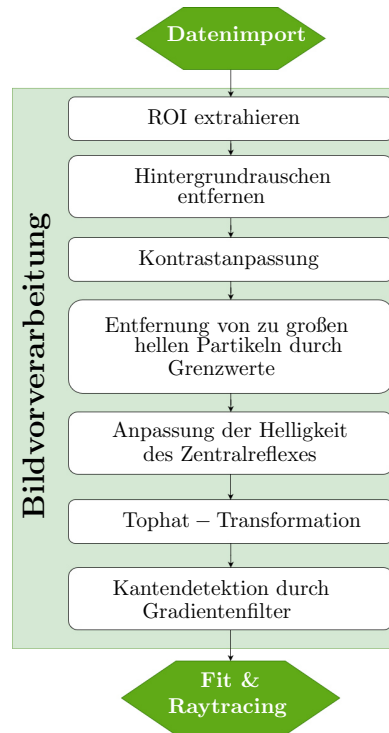
Die Grundlagen der Bildvorverarbeitung wurden bereits von Damian et al. dargestellt [8]. Sie erfolgt schichtweise für jeden B-Scan (Abb. 3.9b). Auf dem zentralen B-Scan des Casia 2 erkennt man neben der Hornhaut auch die Wände der Zellkulturflasche und den Hornhauthalter deutlich (Abb. 3.9a und 3.1b).

Im ersten Schritt der Vorverarbeitung wird deshalb eine Region of Interest (ROI) so definiert, dass die Bilddatenmenge nur auf die für die Auswertung relevanten Hornhautdaten reduziert wird (Abb. 3.10a). Anschließend wurde das Hintergrundrauschen mithilfe eines (5x5) Medianfilters reduziert. Da der Helligkeitsumfang durch Reflexionen an der Flaschenwand oder an der Hornhaut selbst im Bild stark variiert, wurden durch eine Anpassung des Kontrastumfangs alle Grauwerte des Bildes in ein Intervall zwischen [0,1] geschoben (Abb. 3.10b). Dieses Vorgehen wird als adaptiver Kontrast bezeichnet. Partikel des Hintergrundrauschens, die nicht durch den Medianfilter entfernt

wurden, werden bereinigt, wenn ihre Größe einen festgelegten Grenzwert überschreitet (Abb. 3.10c). Der Grenzwert für die Größe der Partikel wurde iterativ angepasst. Es wurde darauf geachtet, dass mithilfe dieses Wertes zwar Partikel im Umgebungsmedium entfernt werden, aber die Hornhaut selbst durch den Filter nicht verändert wird.



(a) Zentraler B-Scan aus Volumendatensatz: Beschränkung der Bilddaten auf relevanten Hornhautbereich mithilfe der Region of Interest (ROI, grün) (nach [12]).



(b) Flussdiagramm der Bildvorverarbeitung in Matlab (ROI: Region auf Interest)

Abbildung 3.9: Grafische Darstellungen der Rohdaten (B-Scans) und Programmierung der Bildvorverarbeitung

Helligkeitsunterschiede, die nun noch zwischen der Peripherie und dem Zentrum der Hornhaut bestehen, werden entsprechend ihres Abstands zum Zentrum angepasst. Die Lücken im Hornhautschnittbild, die durch die vorangegangenen Operationen entstanden sind, werden nun mithilfe einer Tophat-Transformation digital wieder geschlossen:

$$T(b) = b - b_i \circ s \quad (3.1)$$

Dabei bezeichnet b das unbearbeitete Grauwertbild (Abb. 3.10c), b_i das invertierte Grauwertbild und s das Strukturelement des Opening-Operators \circ . Eine Opening-Operation bezeichnet eine Erosion mit anschließender Dilation, die zu den morphologischen Basisoperationen in der Bildverarbeitung gehören. Das Strukturelement s , welches im vorliegenden Fall aus einer Scheibe mit einem Radius von zehn Pixeln und einsen als Elementen trägt, wird für beide Operationen an alle Bildpositionen geschoben und die jeweilige Mengenoperation auf das Strukturelement und die darunter liegenden Bildpixel angewandt. Im vorliegenden Fall ist das Zentrum des Strukturelements der Referenzpunkt, der beim Verschieben des Strukturelements auf die Bildposition gesetzt wird. Bei der Erosion wird für jede Bildposition der Durchschnitt zwischen dem Strukturelement und den darunter liegenden Bildpixeln bestimmt. Überdeckt das Strukturelement Bildpixel mit dem Wert null, so wird im Ergebnisbild der Wert des betrachteten Bildpunktes ebenfalls null gesetzt. Bei der Dilation wird anstatt des Durchschnitts die Vereinigung des Strukturelements und den darunter liegenden

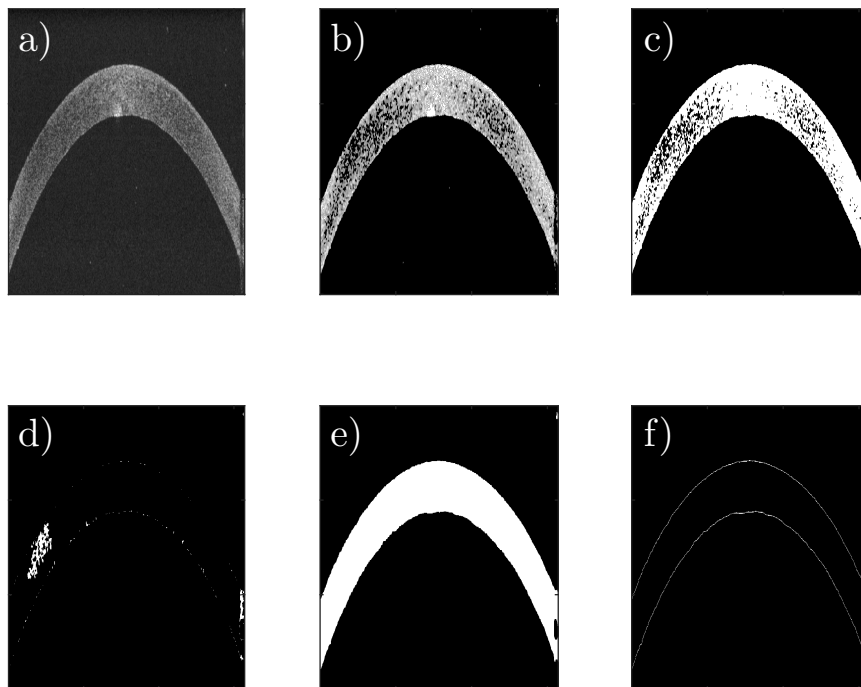


Abbildung 3.10: Schritte der Bildvorverarbeitung: (a) Originalbild, (b) Bild nach Entfernung des Hintergrundrauschens und Kontrastanpassung, (c) Bild nachdem restliche, kleine Partikel entfernt wurden, (d) Tophat-Transformation des invertierten Bildes c), (e) Subtraktion von Bild c) von Bild d), (f) Kantendetektion

Bildpixeln berechnet. Befindet sich mindestens ein Bildpixel mit dem Wert eins unterhalb des Strukturelements, wird der Wert des Bildpunkts im Ergebnispunkt eins gesetzt [47]. Beim Opening werden die Erosion und die Dilation nacheinander ausgeführt. Die fehlenden Bereiche im unbearbeiteten Grauwertbild b (Abb. 3.10c) werden nach dem Opening des invertierten Grauwertbildes b_i in Abb. 3.10d hervorgehoben. Durch die Subtraktion dieses Bildes vom unbearbeiteten Grauwertbild werden die Lücken in diesem geschlossen (Abb. 3.10e). Abschließend werden die Vorder- und Rückfläche durch einen Canny-Gradientenfilter, welcher im nächsten Abschnitt erläutert wird, detektiert (Abb. 3.10f). Nachdem die Kanten für alle B-Scan detektiert wurden, werden sie zusammengefügt und als zwei Oberflächen ausgegeben.

Die Bildvorverarbeitung und Kantendetektion werden schichtweise durchgeführt, da durch messungsbedingte oder pathologische Helligkeitsunterschiede in der Hornhaut und Bewegungen des Auges bei Patientmessungen nicht durch den Algorithmus detektierbare Hornhautareale innerhalb eines Schnittbildes oder zur übrigen Messung verschobenen Schnittbilder entstehen können. Eine dreidimensionale Verarbeitung der Bilder würde dazu führen, dass diese Artefakte eines Schnittbildes zunächst in die Berechnungen der benachbarten Schnittbilder und darauf aufbauend in alle Schnittbilder der Messung einfließen. In der zweidimensionalen Bildverarbeitung deutlich erkennbare Vorder- und Rückflächen der Hornhaut werden, bedingt durch die umgebenden, mangelhaften Schnittbilder, in der dreidimensionalen Bildverarbeitung zu schwer detektierbaren Flächen (Abb. 3.11).

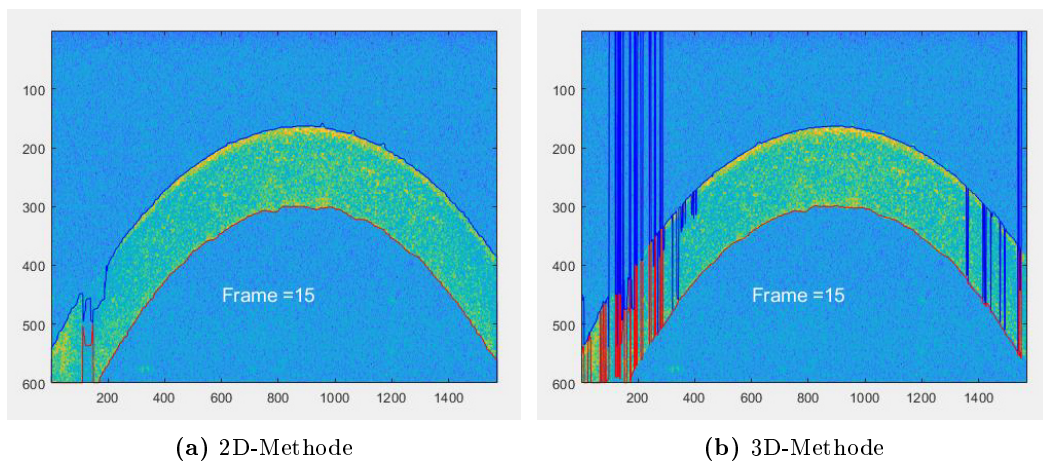


Abbildung 3.11: Gegenüberstellung der 2D- und 3D- Bildvorverarbeitung und Kantendetektion der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut anhand eines Schnittbildes

3.2.2.2 Canny-Gradientenfilter

Zur Kantendetektion wird in dieser Arbeit der von J. Canny entwickelte Canny-Gradientenfilter genutzt. Einen Vorteil gegenüber anderen Filtern begründet Canny damit, dass im Gegensatz zu anderen Gradientenfiltern, die als Ergebnis Grauwertbilder liefern, der Canny-Filter Binärbilder erzeugt. Somit kann ein Pixel direkt als Kante (Wert=1) oder nicht (Wert=0) erkannt werden. Der Algorithmus des Canny-Filters ist in vier Schritte unterteilt [72]:

1. Glättung: Zur Rauschunterdrückung wird das Bild zunächst mithilfe eines Gauß-Filters geglättet. Dazu wird das Bild A mit dem Filterkern des Gauß-Filters G gefaltet:

$$A_G(x, y) = \sum_{i=-\frac{p}{2}}^{\frac{p}{2}} \sum_{j=-\frac{q}{2}}^{\frac{q}{2}} A(x+i, y+j) \cdot G\left(i + \frac{p}{2}, j + \frac{q}{2}\right) \quad (3.2)$$

A_G ist dabei das gefilterte Bild, wobei x und y die Koordinaten des zu filternden Pixels sind. p und q definieren die Größe des Filterkerns. Je mehr Dimensionen der Kern besitzt, desto mehr Pixel um den zu filternden Pixel werden mit in die Berechnung einbezogen. Die Einträge des Filterkerns werden mithilfe der Gauß-Funktion berechnet:

$$G_f = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2} \quad (3.3)$$

μ bezeichnet den Erwartungswert und somit das Maximum der Funktion, während σ die Standardabweichung angibt. Kleinere σ -Werte führen zu schneller abfallenden Funktionen. Elemente im Zentrum des Filterkerns werden demnach stärker gewichtet als jene am Rand. In der vorliegenden Arbeit wurde $\sigma = 1$ gewählt.

2. Kantendetektion: Anschließend wird der Sobel-Operator H_x bzw. H_y mit dem geglätteten Bild A_G gefaltet, um den horizontalen und vertikalen Helligkeitsgra-

dienten D_x bzw. D_y des Bildes A_G an jedem Bildpunkt zu bestimmen:

$$D_x = A_G * H_x \text{ bzw. } D_y = A_G * H_y \quad (3.4)$$

$$H_x = \begin{bmatrix} -1 & 0 & 1 \\ -2 & 0 & 2 \\ -1 & 0 & 1 \end{bmatrix} \text{ bzw. } H_y = \begin{bmatrix} -1 & -2 & -1 \\ 0 & 0 & 0 \\ 1 & 2 & 1 \end{bmatrix} \quad (3.5)$$

Ebenso wie der Gauß-Filter wirkt der Sobel-Operator nur auf den zentralen Pixel des Operators. Der Helligkeitsgradient dieses Pixels wird über die Faltung mit den umgebenden Pixel bestimmt. Aus den Gradienten wird dann die Kantestärke sowie die Kantenrichtung in jedem Pixel ermittelt. Das erhaltene Kanten- und Richtungsbild dient als Basis für den nächsten Schritt.

3. Entfernung von Nicht-Maxima: Zur Lokalisation der Kanten wird die Kantenbreite auf einen Pixel reduziert. Dazu werden bei einer Kante, die mehr als einen Pixel Breite aufweist, nur die Pixel als Kante beibehalten, die ein Maxima im Betrag des Gradienten aufweisen. Die übrigen Pixel werden auf 0 gesetzt.
4. Hysterese-Schwellwert Verfahren: Im letzten Schritt werden die Kantenpixel anhand ihrer Grauwerte bewertet. Dazu wird ein sogenanntens Hysterese-Verfahren angewandt, bei welchem zwei Schwellenwerte S_1 und S_2 ($S_1 < S_2$) definiert werden. Ist der Grauwert eines Pixel kleiner als S_1 , wird er 0 gesetzt. Ein Pixel mit einem Grauwert über S_2 wird hingegen gleich 1 gesetzt und somit als Kante definiert. Für Pixel, deren Grauwert zwischen den Schwellenwerten liegt, gilt eine besondere Regelung: Pixel, bei denen in Gradientenrichtung mindestens ein Nachbarpixel eine Kante aufweist, werden ebenfalls mit 1 markiert. Liegt in der Nachbarschaft kein weiterer Kantenpixel vor, wird der betrachtete Pixel 0 gesetzt. Das Ergebnis ist somit ein binäres Kantenbild.

3.2.2.3 Sphäro-zylindrischer Fit

Angesichts der nicht hinreichend bekannten optischen, mechanischen und geometrischen Eigenschaften des OCT-Systems und der Hornhautspendergewebe wurde zur Kalibrierung des Fits eines sphäro-zylindrischen Flächenmodells, welcher nach der Bildvorverarbeitung jeweils für die Vorder- und Rückfläche durchgeführt wird, zunächst ein Polymethylmethacrylat (PMMA)- Phantom in Form einer Hornhaut mit

definierter sphärischer Vorder- und Rückfläche vermessen (ausführliche Beschreibung in Abschnitt 3.3.1). Anschließend wurde die Bildvorverarbeitung aus Abschnitt 3.2.2.1 und der im folgenden genauer erläuterte sphäro-zylindrische Fit für die Vorder- und Rückfläche des Phantoms durchgeführt. Die darin enthaltenen Fitparameter (*tolFun*, Bedingungen zur Entfernung von Ausreißern) wurden iterativ variiert, um die Fit-ergebnisse den Herstellerangaben des Phantoms anzugleichen. Die somit optimierten Fitparameter wurden im Anschluss für die Auswertung von Hornhautspendergewebe genutzt.

Nach der Kalibrierung durch das PMMA-Phantom und der Bildvorverarbeitung wurden an die Vorder- und Rückfläche der Hornhautgewebe je ein sphäro-zylindrisches Flächenmodell angenähert. Dabei wurde zunächst durch eine ROI der Fitbereich auf den Innendurchmesser des Halters ($\varnothing \approx 9 \text{ mm}$) begrenzt. Alle Datenpunkte, die außerhalb liegen, wurden aus dem Datensatz entfernt. Damit die anschließende Modelanpassung unabhängig von der Position der Spenderhornhaut in der Zellkulturflasche geschieht, müssen die Verschiebung des Apex der Spenderhornhaut vom Nullpunkt des Koordinatensystems im Raum (x_0, y_0, z_0) und die Verkipfung der Hornhaut in allen drei Drehwinkel im Raum (α, β, γ) berücksichtigt werden. Deshalb werden die Daten der beiden Flächen einzeln mit einer um eine Translation und Rotation versehenen sphäro-zylindrischen Funktion der folgenden Form gefittet:

$$z = \frac{\frac{x'^2}{R_x} + \frac{y'^2}{R_y}}{1 + \sqrt{1 - \frac{x'^2}{R_x^2} - \frac{y'^2}{R_y^2}}} - z_0 \quad (3.6)$$

Darin bezeichnen R_x und R_y die Krümmungsradien und x', y' und z die um die Translation und Rotation korrigierten Ortskoordinaten. z_0 bezeichnet die z-Position des Apex. Diese Koordinaten werden durch die Matrixmultiplikation der Translationsmatrix, deren Einträge aus der Differenz der ursprünglichen Koordinaten x und y und der Apexpositionen x_0 und y_0 bestehen, mit den Rotationsmatrizen für die Drehungen um die z-Achse $R_{rot,z}$, die y-Achse $R_{rot,y}$ und die x-Achse $R_{rot,x}$ berechnet:

$$\begin{bmatrix} x' & y' \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x - x_0 & y - y_0 \end{bmatrix} \cdot R_{rot} \quad (3.7)$$

Dabei gilt:

$$\begin{aligned}
 R_{rot} &= R_{rot,z} \cdot R_{rot,y} \cdot R_{rot,z} & (3.8) \\
 &= \begin{bmatrix} \cos(\alpha) & -\sin(\alpha) & 0 \\ \sin(\alpha) & \cos(\alpha) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \cos(\beta) & 0 & \sin(\beta) \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin(\beta) & 0 & \cos(\beta) \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos(\gamma) & -\sin(\gamma) \\ 0 & \sin(\gamma) & \cos(\gamma) \end{bmatrix} & (3.9)
 \end{aligned}$$

Insgesamt gibt es bei dieser Funktion acht Parameter bzw. Freiheitsgrade, die bestimmt werden müssen: R_x , R_y , α , β , γ , x_0 , y_0 , z_0 . Um ein besseres Ergebnis zu erzielen, wird der Fit iterativ in drei Schritten für einen gegebenen Satz von Anfangsparametern mit der nichtlinearen Methode der kleinsten Quadrate nach dem Trust-Region Verfahren durchgeführt. Die Anfangsparameter für einen der Fitparameter umfassen dabei den oberen und unteren Grenzwert sowie den Startwert für die jeweilige Größe. Bei der Methode der kleinsten Quadrate werden die Fitkoeffizienten so gewählt, dass die Summe der quadrierten Differenz zwischen der angepassten Fitfunktion und den Datenpunkten minimal ist [6].

Zunächst wird der in Abbildung 3.12b dargestellte Ablauf für die Rückfläche der Spenderhornhaut durchgeführt. Im ersten Iterationsschritt werden die Krümmungsradien auf das Normalauge nach Liou & Brennan [38] gesetzt und der Freiheitsgrad für die z-Translation z_0 freigegeben. Der Fit wird beendet, wenn die Funktionswerte der Modelfunktion sich von einem Iterationsschritt zum nächsten nicht mehr als 10^{-6} mm ändern. Diese Bedingung wird als *tolFun* bezeichnet. Nachdem der Fit durch die Konvergenz der Modellparameter beendet wurde, werden alle Datenpunkte entfernt, deren Residuum größer als $1.5 \cdot RMSE$ des Fits sind. *RMSE* bezeichnet hier den Root-Mean-Square Error. Im zweiten Schritt werden zusätzlich die x- und y-Translation sowie die Rotation um alle drei Raumachsen freigegeben. Ein Abbruch nach *tolFun* = 10^{-6} führt wieder zum Entfernen weiterer Ausreißer (Residuum $> 1.6 \cdot RMSE$ des Fits). Im letzten Iterationsschritt werden nun auch die Krümmungsradien zum Fit freigegeben. In einer while-Schleife wird der Fit so oft durchgeführt, bis er entweder konvergiert oder die Änderung der Fitfunktion kleiner als *tolFun* ist.

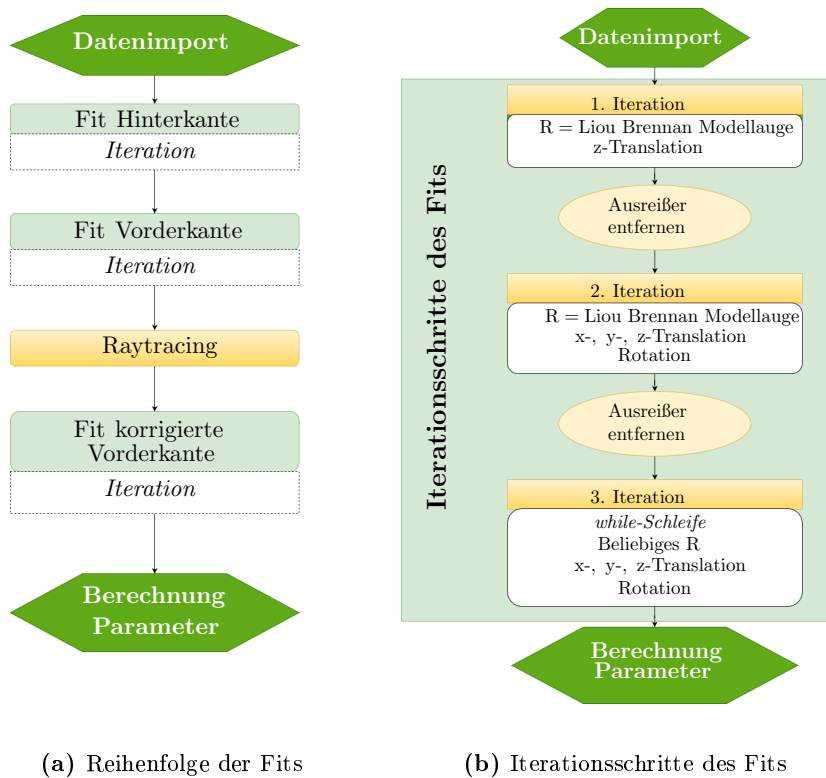


Abbildung 3.12: Ablaufalgorithmen der Fits in Matlab

Die Startwerte für die Parameter ergeben sich jeweils aus dem vorherigen Iterationsschritt. Zusätzlich wird der Datensatz nach jedem Schritt der while-Schleife um die Datenpunkte reduziert, deren Residuum im oberen oder unteren 1.25% Bereich aller Werte liegen. Nachdem die Anpassung an die Rückfläche beendet ist, wird im nächsten Schritt derselbe Ablauf bei der Vorderfläche der Hornhaut angewandt (Abb. 3.12a). Die im OCT-Bild dargestellte vordere Oberfläche der Hornhaut ist jedoch durch optische Effekte verzerrt. In Abbildung 3.13 ist der Strahlverlauf in einem Schnitt der Hornhaut dargestellt. Der Lichtstrahl durchdringt im vorliegenden Fall zuerst die Wand der Zellkulturflasche. Da die planparallelen Flaschenwände durch die auf die Kinnstütze aufgeschraubte Halterung nahezu senkrecht vom Lichtstrahl getroffen werden, wird die Brechung an dieser Stelle vernachlässigt. Die nachfolgende Betrachtung bezieht sich somit nur auf den Strahlverlauf innerhalb der Flasche. Nach der Flaschenwand passiert der Lichtstrahl die Rückfläche der Hornhaut und wird in Punkt *A* beim Übergang vom Kulturmedium in die Hornhaut gebrochen. Im Objektpunkt *O* schneidet der

Strahl die Vorderfläche, sodass das Licht eine Distanz von AO in der Hornhaut zurücklegt. Das OCT setzt den Bildpunkt I zwar in einen Abstand, welcher der Strecke AO multipliziert mit dem Brechungsindex n der Hornhaut entspricht. Jedoch befindet sich der Bildpunkt I des Objektpunktes O nicht auf dem gebrochenen Strahl AO , sondern entlang des Strahls AI . Der Strahl AI verläuft so, als würde das Licht nicht an der Hornhaut gebrochen werden und folgt demnach dem Strahlverlauf des Lichtes vor dem Eintritt in die Hornhaut. Der Strahl AI wird deshalb im Folgenden als Eingangsstrahl bezeichnet. Das OCT bestimmt also einen Punkt der Vorderfläche O mithilfe des gebrochenen Strahls, setzt diesen im Bild aber entlang des Eingangstrahls [58]. Dies kann in der Bestimmung der Vorderfläche in der beschriebenen Fitmethode durch ein Raytracing berücksichtigt werden. Dabei wird zunächst der Normalenvektor an jedem Punkt der Rückfläche nach der in Meyer et. al. beschriebenen Vorgehensweise berechnet [43]. Anschließend wird über diesen Normalenvektor an jedem Punkt der Richtungsvektor des gebrochenen Strahls berechnet. Im nächsten Schritt wird der Abstand zwischen der Rückfläche und der zuvor ohne Raytracing bestimmten Vorderfläche entlang der z -Richtung, welcher der Richtung des Eingangsstrahls entspricht, bestimmt. Um nun die korrigierte Vorderfläche zu erhalten, wird von jedem Punkt der Rückfläche der jeweilige Abstand entlang des Richtungsvektors des gebrochenen Strahls gegangen. Somit erhält man aus der Rückfläche die um das Raytracing korrigierte Vorderfläche. Die erhaltenen Datenpunkte der neuen Vorderfläche werden im Anschluss für den iterativen Fit des sphäro-zylindrischen Flächenmodells genutzt.

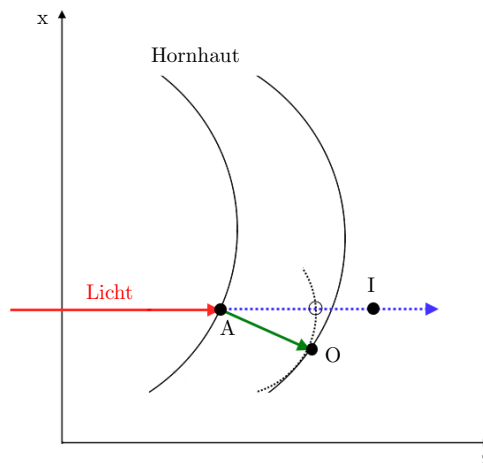


Abbildung 3.13: Schematische Darstellung des Strahlverlaufs beim Raytracing: Punkte der Hornhaut, die sich entlang der Linie AO befinden, werden im Bild vom OCT entlang der gestrichelten Linie AI dargestellt

Die beiden Flächenmodellen für Vorder- und Rückfläche dienen als Grundlage für die Bestimmung der Krümmungsradien R , der Flächenbrechwerte F sowie der Keratometerwerte K der Hornhaut. Der Flächenbrechwert ist für eine sphärische Fläche definiert als

$$F = \frac{n' - n}{R}, \quad (3.10)$$

wobei n' der Brechungsindex des Mediums hinter und n des Mediums vor der Fläche sind. R bezeichnet auch hier den Radius der Fläche [18]. Der Keratometerwert K wird als der Brechwert der Hornhaut bezeichnet, der aufgrund des geringen Beitrags der Hornhautrückfläche zur Gesamtbrechkraft des Auges nur basierend auf den Hornhautradien der Vorderfläche bestimmt wird. Unter der Annahme eines konstanten Verhältnisses der Vorder- und Rückflächenradien (82.2%) und der Vereinfachung, dass die Hornhaut nur eine brechende Fläche darstellt, kann mithilfe eines fiktiven Brechungsindex der Hornhaut, dem Keratometerindex n_k , die Brechkraft der Hornhaut über den Krümmungsradius der Vorderfläche R bestimmt werden [9]:

$$K = \frac{n_K - 1}{R} \quad (3.11)$$

Sowohl für die Vorder- als auch die Rückfläche der Hornhaut wurden die flachen und steilen Komponenten von R , F und K ausgegeben, wobei die flache und die steile Komponente senkrecht zueinander angeordnet sind. Die entsprechenden Formeln sind in Tabelle 3.2 zusammengetragen. Für die Berechnung werden die Brechungsindizes nach dem Gullstand Augenmodell ($n_{\text{Cornea}} = 1.376$, $n_{\text{Kammerwasser}} = 1.336$) und der Javal-Keratometerindex ($n_{\text{Javal}} = 1.3375$) verwendet.

Tabelle 3.2: Gleichungen zur Berechnung des Krümmungsradius, Keratometer- und Flächenbrechwert

	Fläche	Flache Achse	Steile Achse
Krümmungsradius (mm)	Beide	$R_f = \max(R_x, R_y)$	$R_s = \min(R_x, R_y)$
Flächenbrechwert (dpt)	Vorderfläche	$F_f = \frac{(1.376-1) \cdot 1000}{R_f}$	$F_s = \frac{(1.376-1) \cdot 1000}{R_s}$
	Rückfläche	$F_f = \frac{(1.336-1.376) \cdot 1000}{R_f}$	$F_s = \frac{(1.336-1.376) \cdot 1000}{R_s}$
Keratometerwert (dpt)	Vorderfläche	$K_f = \frac{(1.3375-1) \cdot 1000}{R_f}$	$K_s = \frac{(1.3375-1) \cdot 1000}{R_s}$

$R_{x,y}$: Krümmungsradius in x- und y-Richtung in mm; $R_{s,f}$: Steiler/flacher Krümmungsradius in mm; $K_{s,f}$: Steiler/flacher Keratometerwert in Dioptrien; $F_{s,f}$: Steiler/flacher Flächenbrechwert in Dioptrien

Die zentrale Hornhautdicke ist der Abstand zwischen der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut senkrecht zur Vorderfläche an der Stelle $x' = y' = 0$. Zusätzlich wurde ein Dickenprofil der gesamten Hornhaut erzeugt, indem der Abstand zwischen der Vorder- und Rückfläche senkrecht zur Vorderfläche an bestimmten Rasterpunkten der Hornhaut ausgewertet wurde.

3.2.2.4 Fit durch Zernike-Polynome

Neben dem sphäro-zylindrischen Flächenmodell können die charakteristischen Größen einer Hornhaut auch durch Zernike-Polynome aus den Daten der Vorder- und Rückfläche bestimmt werden. Diese sind ein Satz orthogonaler Polynome, die normalerweise zur mathematischen Beschreibung einer optischen Wellenfront und deren Aberrationen auf einem Einheitskreis genutzt werden. Eine beliebige Oberfläche $O(r, \theta)$ in Polarkoordinaten kann durch eine Reihe von Zernike-Polynomen Z auf einem Einheitskreis beschrieben werden:

$$O(r, \theta) = \sum_{a,b} C_a^b Z_a^b(r, \theta) \quad (3.12)$$

Dabei bezeichnet r den normierten Radius ($0 \leq r \leq 1$), θ den Azimutwinkel und C die sogenannten Zernike-Koeffizienten. Für die Zernike-Polynome Z gilt:

$$Z_a^b(r, \theta) = R_{poly,a}^b(r) \begin{cases} \sin(b\theta) & b < 0 \\ \cos(b\theta) & b \geq 0 \end{cases} \quad (3.13)$$

Der Grad des Polynoms a durchläuft die nicht-negativen ganzen Zahlen und für b gilt: $-a, -a + 2, \dots, a - 2, a$. Die enthaltenen Radialpolynome R_{poly} sind definiert als:

$$R_{poly,a}^b(r) = \sum_{l=0}^{(a-b)/2} \frac{(-1)^l (a-l)!}{l! [\frac{1}{2}(a+b) - l]! [\frac{1}{2}(a-b) - l]!} r^{a-2l} \quad (3.14)$$

Sie werden mithilfe der folgenden Normalisierungskonstante zu $R_{poly,a}^{\pm b}(1) = 1$ normiert:

$$N_{poly,a}^b = \left(\frac{2(a+1)}{1 + \delta_{b0}} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (3.15)$$

Dabei ist δ_{b0} das Kronecker Delta ($\delta_{b0} = 0$ für $b \neq 0$) [34, 52].

Um die Oberfläche O durch Gleichung (3.12) darzustellen, werden zunächst die Zernike-

Polynome bis zu einem Grad a berechnet. Anschließend müssen die Zernike-Koeffizienten C so bestimmt werden, dass Gleichung (3.12) erfüllt ist. Dabei handelt es sich um ein lineares Gleichungssystem, welches mit Matlab sukzessive mit der Methode der kleinsten Quadrate gelöst werden kann. In dieser werden die Zernike-Koeffizienten so gewählt, dass die Summe der quadrierten Differenz zwischen der angepassten Fitfunktion und den Datenpunkten minimal ist [6]. Allerdings muss beachtet werden, dass nur für einen kontinuierlichen Datensatz auf dem Einheitskreis die Orthornomalität der Polynome gilt. Somit wäre nur in diesem Fall die lineare Unabhängigkeit der Zernike-Koeffizienten gegeben. Navarro et. al. zeigten jedoch, dass bei einer hinreichend dichten Datenab-tastung in guter Näherung die Zernike-Koeffizienten mithilfe der zuvor beschriebenen Methode bestimmt werden können [49]. Aus den berechneten Koeffizienten kann für eine konische Oberfläche die Achse des Astigmatismus θ_a laut Schwiederling et. al. [64] mithilfe der folgenden Formel berechnet werden:

$$\theta_a = \begin{cases} \theta_0 & C_2^{-2} \sin(2\theta_0) + C_2^2 \cos(2\theta_0) < 0 \\ \theta_0 + 90 & C_2^{-2} \sin(2\theta_0) + C_2^2 \cos(2\theta_0) > 0 \end{cases} \quad (3.16)$$

Dabei gilt:

$$\theta_0 = \frac{1}{2} \arctan\left(\frac{C_2^{-2}}{C_2^2}\right) \quad (3.17)$$

Bei einem negativen θ_a werden stets 180° addiert, damit liegt der Wert stets zwischen 0° und 180° . Die Krümmungsradien entlang θ_0 und senkrecht dazu werden als steiler und flacher Krümmungsradius R_s und R_f bezeichnet. Sie berechnen sich aus den Koeffizienten wie folgt:

$$R_s = \frac{r_{max}^2}{2[2\sqrt{3}C_2^0 - 6\sqrt{5}C_4^0 + \sqrt{6}(C_2^2 \cos(2\theta_0) + C_2^{-2} \sin(2\theta_0)) - 3\sqrt{10}(C_4^2 \cos(2\theta_0) + C_4^{-2} \sin(2\theta_0))]} \quad (3.18)$$

$$R_f = \frac{r_{max}^2}{2[2\sqrt{3}C_2^0 - 6\sqrt{5}C_4^0 - \sqrt{6}(C_2^2 \cos(2\theta_0) + C_2^{-2} \sin(2\theta_0)) + 3\sqrt{10}(C_4^2 \cos(2\theta_0) + C_4^{-2} \sin(2\theta_0))]} \quad (3.19)$$

Dabei bezeichnet r_{max} den Radius, auf dem die Oberfläche definiert ist. Dieser ist durch die Normierung meist etwas kleiner als der Einheitskreis. Über die Krümmungsradien können mithilfe der Formeln in Tabelle 3.2 die Keratometerwerte K und Flächenbrechwerte F für die steile und flache Achse bestimmt werden. Die Differenz der Keratometerwerte der beiden Achse liefert den Zylinder bzw. den Astigmatismus C_{yl}

der Fläche:

$$Cyl = K_f - K_s \quad (3.20)$$

Die Darstellung erfolgt in Minuszylinderschreibweise.

Die beschriebene Vorgehensweise wurde sowohl für die Vorderfläche als auch für die Rückfläche der Hornhaut angewandt. Das Raytracing zur Berechnung der Datenpunkte der Vorderfläche aus der Rückfläche wurde dabei wie beim sphäro-zylindrischen Flächenfit berücksichtigt. Abschließend wurde auch hier die zentrale Hornhautdicke aus dem Abstand der Vorder- und Rückfläche am Apex bestimmt.

3.3 Statistische und systematische Messunsicherheiten

3.3.1 Messungen an einem Phantom

Vor der Auswertung von Hornhautspendergewebe erfolgte eine Kalibrierung des Algorithmus aus Abschnitt 3.2.2. Zu diesem Zweck kann kein Hornhautgewebe verwendet werden, da die realen Parameter wie Krümmungsradius und Dicke nicht bekannt sind. Deshalb wurde ein Polymethylmethacrylat (PMMA)- Phantom in Form einer Hornhaut mit sphärischer Vorder- und Rückfläche (Abb. 3.14a) hergestellt (Galifa Contactlinsen AG, St. Gallen, Schweiz). Die Fertigung eines Phantoms mit unterschiedlichen Krümmungsradien für senkrecht zueinander stehenden Achslagen war aufgrund des spanenden Herstellungsverfahrens nicht möglich. Das Phantom wurde mit dem Vorderabschnitts-OCT Casia 2, wie in Abschnitt 3.2.1 beschrieben, vermessen. Es wurde dazu wie die Spenderhornhäute auf dem Halter (Abb. 3.1b) platziert und in ein Zellkulturfläschen mit Kulturmedium eingebracht. Abbildung 3.14b zeigt das zentrale Schnittbild des Volumendatensatzes für das Phantom. Dieser Datensatz wurde anschließend mit dem erstellten Datenanalyse-Verfahren aus Abschnitt 3.2.2 ausgewertet. Der abweichende Brechungsindex des PMMA ($n_{\text{PMMA}} = 1.4820$ [4]) wurde dabei berücksichtigt.

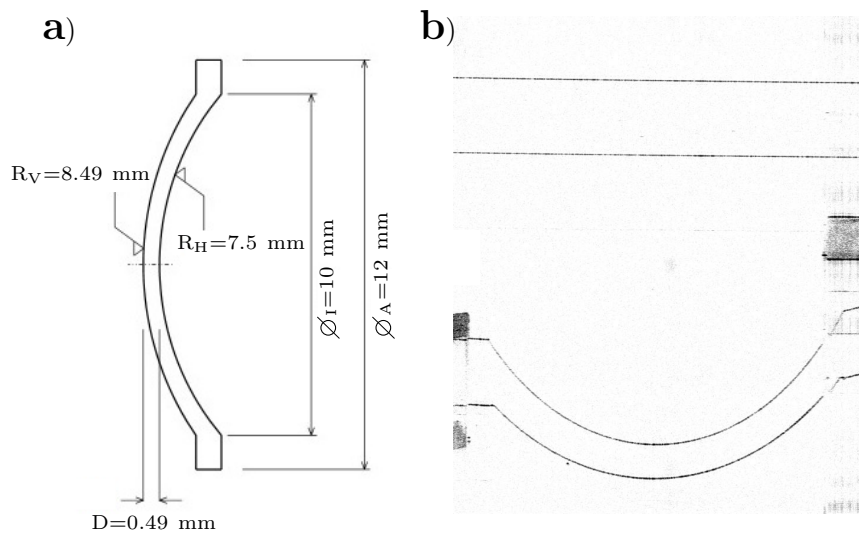


Abbildung 3.14: (a) Technische Zeichnung des PMMA-Phantoms (b) Zentrales Schnittbild aus dem Volumendatensatz des PMMA-Phantoms (nach [41])

3.3.2 Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Fit-Modelle

Nachdem der Algorithmus validiert wurde, sollte mithilfe einer nach festen Vorgaben simulierten Fläche überprüft werden, ob der sphäro-zylindrische Flächenfit oder der Fit mit Zernike-Polynomen die genaueren Ergebnisse liefert. Dazu wurden verschiedene Fälle betrachtet, die im folgenden vorgestellt werden sollen.

Simulation

Zernike-Flächen Zunächst wurde durch die umgekehrte Reihenfolge der Fitschritte in Abschnitt 3.2.2.4 eine Fläche entsprechend den Zernike-Polynomen erzeugt. Der flache und steile Krümmungsradius R_f und R_s , die Winkellage der steilen Achse α sowie der Winkel der Verkippung β und dessen Lage γ wurden der Fläche vorgegeben. Da der Apex einer realen Spenderhornhaut durch die Lage in der Kulturflasche immer etwas vom Koordinatenursprung abweicht, wurde der Apex der simulierten Fläche zusätzlich auf die Koordinaten (x_0, y_0, z_0) vom Ursprung verschoben. Anschließend wurde der in Abschnitt 3.2.2.4 beschriebene Fit durch Zernike-Polynome auf diese Fläche angewen-

det. Da die Dezentrierung der Fläche durch Zernike-Polynome nicht zu beschreiben ist, wurde dieser Fit nur zur Vollständigkeit durchgeführt.

Um genauere Ergebnisse zu erhalten, musste die Fläche vor dem Fit zentriert werden. Eine Möglichkeit, die bereits von Jong et. al. beschrieben wurde, ist die Position des Punktes mit minimalen Höhendaten P_{min} als Zentrum zu nutzen [25]. Die Koordinaten von P_{min} können vor dem Fit über eine Minimumfunktion bestimmt werden. Die korrigierte Fläche ergibt sich aus der ursprünglich verschobenen Fläche, indem die Position von P_{min} von jedem Datenpunkt subtrahiert wird.

Eine andere Methode zur Zentrierung der Fläche ist der Fit durch eine Kugel. Dabei wird zunächst der Mittelpunkt der Kugel bestimmt, welche die Fläche am besten beschreibt. Danach wird die Fläche durch eine Ebene angenähert und ein Lot vom Kugelmittelpunkt mithilfe des Normalenvektors der Ebene auf die Kugel gefällt. Der Schnittpunkt des Lots mit der Kugel bezeichnet das Zentrum bzw. den Apex der Fläche. Auch hier ergibt sich die korrigierte Fläche durch Subtraktion des Schnittpunktes von den ursprünglichen Datenpunkten. Beide Zentrierungsmethoden sind in Abbildung 3.15 schematisch dargestellt.

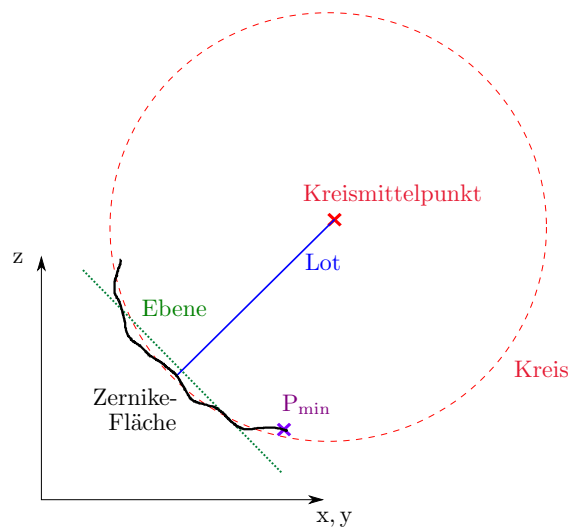


Abbildung 3.15: Schematische Darstellung der Zentrierung einer simulierten Zernike-Fläche mithilfe einer Kugel oder durch das Minimum von z (P_{min})

Sphäro-zylindrische Flächen Nach der Simulation durch Zernike-Polynome wurde eine sphäro-zylindrische Fläche nach dem Modell in Gleichung 3.6 erzeugt. Auch hier

wurden die Krümmungsradien R_f, R_s , die Winkel α, δ und ϵ und die Verschiebung des Ursprungs (x_0, y_0, z_0) vorgegeben. Dabei bezeichnet α die Winkellage der steilen Achse und die Winkel δ und ϵ die Verkippung in x- bzw. y-Richtung.

Im ersten Schritt wurde auch bei diesem Flächenmodell der Zernike-Fit aus Abschnitt 3.2.2.4 durchgeführt. Zur Zentrierung wurde der zuvor beschriebene Fit durch eine Kugel benutzt.

Anschließend wurde ein sphäro-zylindrischer Fit nach Abschnitt 3.2.2.3 an die simulierte Fläche angepasst.

Verrauschte Flächen Im nächsten Schritt wurden die idealen Flächen durch verrauschte Flächen ersetzt. Die Vorder- und Rückflächen der Hornhaut werden aus Grauwertschnittbildern gewonnen, deren Bildqualität durch Bildrauschen herabgesetzt ist. Die Ursachen für dieses Bildrauschen sind verschieden: thermisches Rauschen, Photonenrauschen, Ausleserauschen, Quantisierungsrauschen, Inhomogenitäten im CCD-Chip [20]. Zwar sind meist mehrere Rauschquellen mit verschiedenen mathematischen Wahrscheinlichkeitsverteilungen in komplexen Messsystemen beteiligt, jedoch resultiert die Kombination der Verteilungen aufgrund des zentralen Grenzwertsatzes der Statistik in einer Normalverteilung. Das Rauschen wurde deshalb durch das Generieren von pseudo-Zufallszahlen aus einer Normalverteilung gewonnen. Zur Überlagerung der Fläche mit dem Rauschen wurde eine Matrix aus diesen Zufallszahlen erstellt, deren Dimension mit jener der z Koordinaten der Fläche übereinstimmte und deren Einträge unkorreliert waren. Dabei wurden sowohl Flächen mit Zernike-Polynomen als auch mithilfe des sphäro-zylindrischen Flächenmodells vorgegeben. Anschließend wurden an die jeweiligen Flächen wieder ihre dazugehörigen Fitmodelle angepasst.

Hornhaut

Gemäß den simulierten Flächen wurde 117 Hornhäute sowohl mit dem sphäro-zylindrischen Fit als auch mit dem Fit durch Zernike-Polynome mit einer Kugel zur Zentrierung ausgewertet.

3.3.3 Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Messsysteme

Wie bereits im Abschnitt 3.1.2 beschrieben, wurden für die Vermessung der Hornhautspendergewebe verschiedene OCT-Systeme verwendet. Da diese Messsysteme unterschiedliche Spezifikationen besitzen (vgl. Tabelle 3.1) und somit möglicherweise verschiedene Messergebnisse bezüglich der Genauigkeit der Darstellung der Hornhaut liefern, sollen im folgenden die Unterschiede zwischen den Ergebnissen der Messsysteme untersucht werden.

Vergleich Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und Spectral Domain OCT Revo Nx

Für den Vergleich der Messungen mit dem Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und dem Spectral Domain OCT Revo Nx wurden drei Spenderhornhäute mit beiden Geräten vermessen. Dazu wurden die in Abschnitt 3.2.1 beschriebenen Raster-scans durchgeführt. Das Revo Nx bietet außerdem noch die Möglichkeit, den C-Gate Modus zwischen dem oberen Bereich des Aufnahmebildes und dem unteren Teil zu wählen. Die Auswahl zwischen dem C-Gate Modus „up“ und „down“ kann verwendet werden, um bei Patientenmessungen den Fokuspunkt des Lasers zu variieren. Damit kann beispielsweise der Kontrast in der Aderhaut oder im Glaskörper verbessert werden. Im Fall der Vermessung von Hornhautspendergewebe kann bei feststehender Position der Kulturflasche der Fokus innerhalb der Flasche verändert werden. Für den vorliegenden Vergleich wurde die Hornhaut mit beiden Modi vermessen, sodass bei der Vermessung mit dem Revo Nx von jeder Hornhaut zwei Aufnahmen gemacht wurden. Anschließend wurden die Rohdaten exportiert. Das Casia 2 ermöglicht das Exportieren der gesamten Volumendaten als Stapel von Grauwertschnittbildern. Im Gegensatz dazu bietet das Revo Nx für den 3D Weitwinkel-Scan nur einen Export der Bilddateien der einzelnen Schnittbilder des Scans oder die vom Gerät bestimmte Position der Vorder- und Rückfläche der Spenderhornhäute für jedes Schnittbild an. Zur Lagebestimmung der Flächen werden im Gerät für jedes Schnittbild die Wendepunkte der Helligkeitsverteilung entlang der z-Richtung für eine Pixelspalte vom oberen zum unteren Bildrand berechnet. Die Pixelzeile des ersten Wendepunkts entspricht der Position der Rückfläche, während die Zeile des zweiten Wendepunkts der Vorderfläche zugeordnet wird. Die Lagen der Vorder- und Rückfläche wurden dann als Rohdaten für die Auswertung der Spendergewebe verwendet. Dabei muss jedoch beachtet werden, dass der Strahl

des Revo Nx aufgrund der entozentrischen Adapterlinse eine Divergenz aufweist (siehe Abschnitt 3.1.2) und die zwei Messungen mit unterschiedlichem C-Gate Modus entsprechend dem Abstand des Fokuspunktes zur Adapterlinse korrigiert werden müssen. Anhand eines Prüfkörpers definierter Größe, bei dem es sich in diesem Fall um eine runde Milchglasscheibe handelte, wurde versucht über je eine Messungen an beiden Positionen jeweils ein Korrekturfaktor für die Größe zu berechnen. Dazu wurde der Durchmesser der Scheibe an beiden Positionen mit der Gerätesoftware vermessen und anschließend mit dem zuvor mit einer Schiebelehre ermittelten Durchmesser verglichen. Der Quotient ergibt den Korrekturfaktor. Nach dem Exportieren der Rohdaten in Form der Lage der Vorder- und Rückfläche erfolgte die Korrektur dieser Daten mithilfe des ermittelten Korrekturfaktors. Anschließend wurden die Rohdaten beider Geräte bezüglich der steilen und flachen Krümmungsradien der Vorder- und Rückfläche ausgewertet. Zusätzlich wurde der RMSE-Wert für den Vorder- und Rückflächenfit angegeben, um die Anpassungsgüte des jeweiligen Fits zu bestimmen. Der RMSE-Wert (Root-mean-squared error) berechnet sich als die Wurzel der mittleren Fehlerquadrate:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (z_i - z'_i)^2}{m}} \quad (3.21)$$

Dabei bezeichnet z_i den gemessenen z-Wert und z'_i den vom Fit erwarteten z-Wert. m spiegelt die Anzahl der Messpunkte wieder [63]. Der RMSE-Wert berechnet sich somit nur über die Differenz der Funktionswerte in z-Richtung bei festen x- und y-Komponenten.

Vergleich verschiedener Messtechniken am Revo Nx und Casia 2

Neben den Messungen für den Vergleich der Messgeräte wurden weitere Messung mit dem Revo Nx und dem Casia 2 durchgeführt, um den Einfluss von Raumbeleuchtung und Medium, in welchem sich die Probe befand, zu untersuchen. Dazu wurden eine Spenderhornhaut mit dem anterioren 3D Weitwinkel-Scan beim Revo Nx und dem Raster-Scan beim Casia 2 bei verschiedenen Bedingungen vermessen und die Bilddateien exportiert.

Zur objektiven Auswertung wurden je ein Schnittbild der Hornhautmessungen in Wasser, Luft und Kulturmedium in Matlab eingelesen und der mittlere Helligkeitswert und dessen Standardabweichung in definierten Bereichen in der Hornhaut und im Wasser, Luft bzw. Kulturmedium im Schnittbild bestimmt (Abb. 3.16).

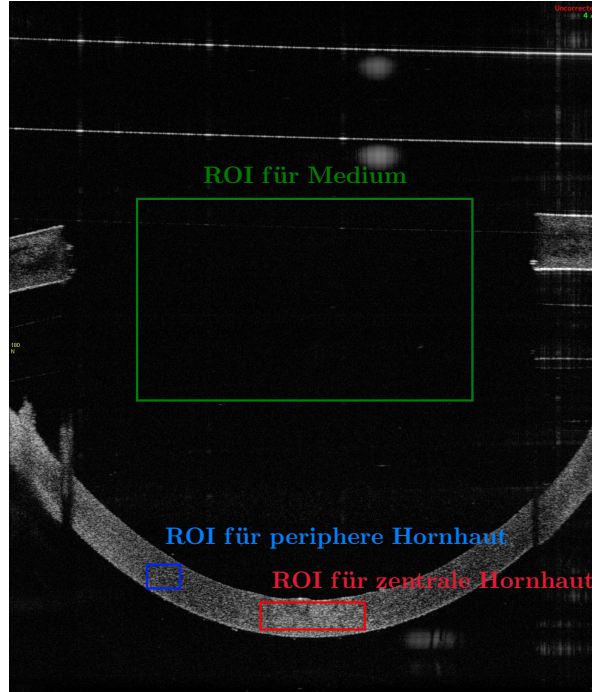


Abbildung 3.16: Schnittbild einer Spenderhornhaut aufgenommen mit dem Spectral Domain OCT Revo Nx im Kulturmedium mit farblich markierten Bereichen zur Auswertung der Helligkeit

Dies diente dazu, zunächst den grundsätzlichen Helligkeitsunterschied zwischen der Hornhaut und dem umgebenden Medium zu untersuchen. Da im Zentrum der Hornhaut aufgrund des senkrechten Auftreffens des Lichtes starke Reflexionen im Gewebe auftreten, wurde die Hornhaut in zwei Bereichen untersucht: ein peripheres und ein zentrales Areal. Beide Bereiche wurden separat betrachtet und berechnet, wobei das im Folgenden beschriebene Vorgehen für beide Areale identisch ist. Anschließend wurden aus den Standardabweichungen der Medien s_M und der jeweils enthaltenen Hornhaut s_H die gepoolten Standardabweichungen berechnet:

$$s_{pool} = \sqrt{\frac{(m_M - 1)s_M^2 + (m_H - 1)s_H^2}{m_M + m_H - 2}} \quad (3.22)$$

Dabei bezeichnet m die Anzahl der Pixel innerhalb des untersuchten Bereichs. Mithilfe der gepoolten Standardabweichungen können die Effektstärken aus den mittleren Helligkeitswerten der Medien μ_M und der enthaltenen Hornhaut μ_H berechnet werden:

$$E = \frac{\mu_H - \mu_M}{s_{pool}} \quad (3.23)$$

Die Effektstärken verdeutlichen die Stärke des Helligkeitsunterschieds zwischen den Medien und der jeweils darin enthaltenen Hornhaut.

Im nächsten Schritt wurde der Helligkeitsgradient an der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut in den verschiedenen Umgebungsmedien untersucht. Die Hornhautflächen stellen in der durchgeführten Bildverarbeitung das Signal dar, während das Umgebungsmedium das Rauschen charakterisiert. Um das Signal bzw. die Fläche im Rauschen zu detektieren, nutzen sowohl das Revo Nx als auch der Canny-Gradientenfilter des entwickelten Algorithmus den Helligkeitsgradienten in z-Richtung. Je steiler der Gradient, desto einfacher ist es die Fläche und deren Lage zu bestimmen. Zur Berechnung des Gradienten wurden die Helligkeitswerte entlang eines Pixels in z-Richtung aus je einem Schnittbild für jedes Umgebungsmedium ermittelt und aufgrund des Rauschens dieser Rohdaten zunächst mit einem Gauß-Filter ($\sigma = 8$) geglättet (Abb. 3.17 a)).

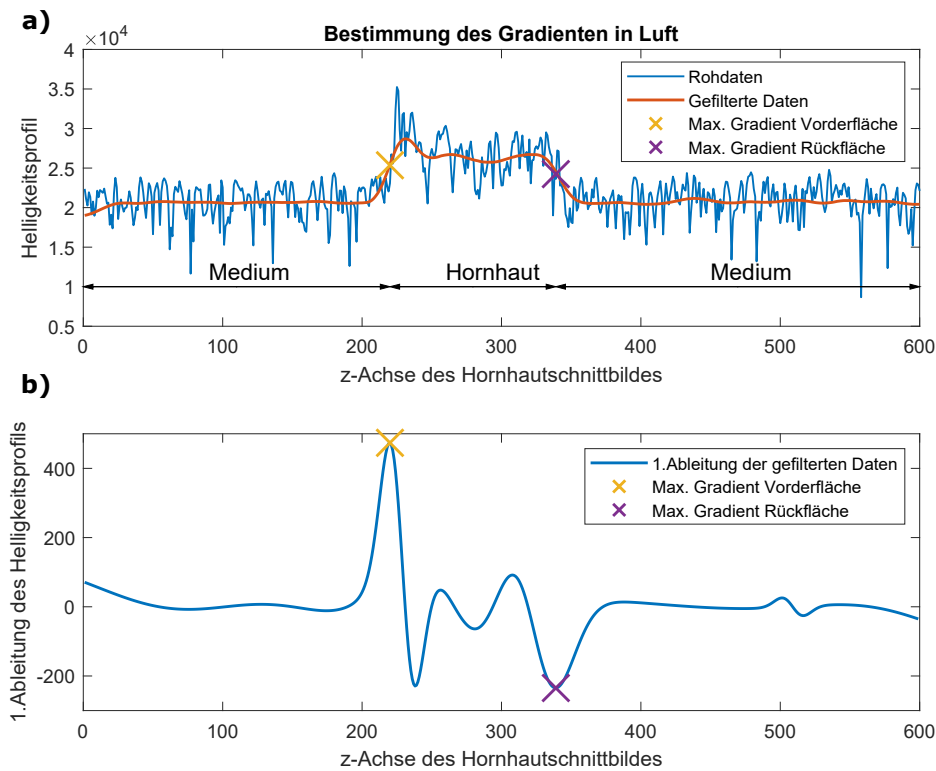


Abbildung 3.17: Bestimmung des Gradienten in Luft: (a) Rohdaten des Helligkeitsprofils in z-Richtung entlang eines Pixels/Spalte eines Schnittbildes einer Hornhaut im Umgebungsmedium Luft (blau); Durch einen Gauß-Filter geglättete Daten (rot); Markierungen an Koordinaten des maximalen Gradienten für Vorder- und Rückfläche (gelb,lila); (b) 1. Ableitung der geglätteten Daten (blau); Markierungen an Koordinaten des maximalen Gradienten für Vorder- und Rückfläche (gelb,lila)

Die Filtergröße wurde so gewählt, dass durch die Filterung die Anteile des Hintergrundrauschens minimiert wurden. Gleichzeitig wurden die Helligkeitswerte des Bereichs der Hornhaut möglichst wenig beeinflusst, sodass im Helligkeitsprofil auch die Überhöhung der Helligkeit durch den Brechungsindexunterschied zwischen Hornhaut und Umgebungsmedium beim Ein- und Austritt ins Hornhautgewebe beibehalten wird. Nach der Filterung wurde ein Polynom 5. Ordnung an die Daten angepasst. Die Maxima der ersten Ableitung des Polynoms liefern die Wendepunkte und somit den Helligkeitsgradienten der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut (Abb. 3.17 b)). In Abbildung 3.17 und 3.18 ist das Vorgehen für die Medien Luft und Wasser dargestellt.

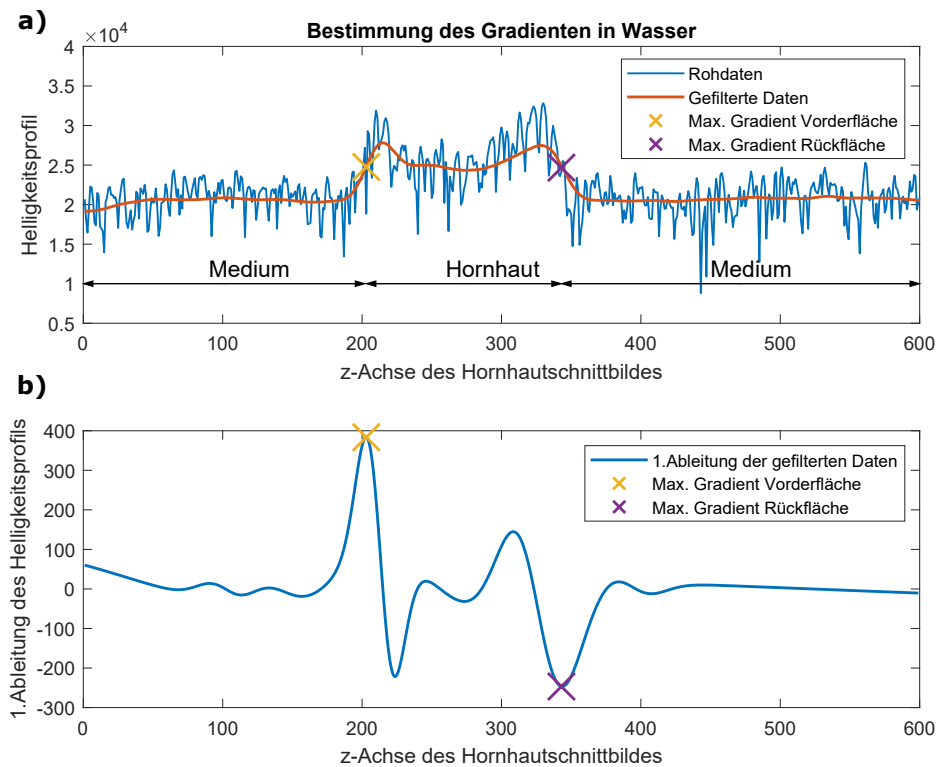


Abbildung 3.18: Bestimmung des Gradienten in Wasser: (a) Rohdaten des Helligkeitsprofils in z-Richtung entlang eines Pixels/Spalte eines Schnittbildes einer Hornhaut im Umgebungsmedium Wasser (blau); Durch einen Gauß-Filter geglättete Daten (rot); Markierungen an Koordinaten des maximalen Gradienten für Vorder- und Rückfläche (gelb, lila); (b) 1. Ableitung der geglätteten Daten (blau); Markierungen an Koordinaten des maximalen Gradienten für Vorder- und Rückfläche (gelb, lila)

Abbildung 3.19 zeigt exemplarisch den Verlauf des Gradienten entlang der Vorderfläche für eine Hornhaut in den drei untersuchten Umgebungsmedien.

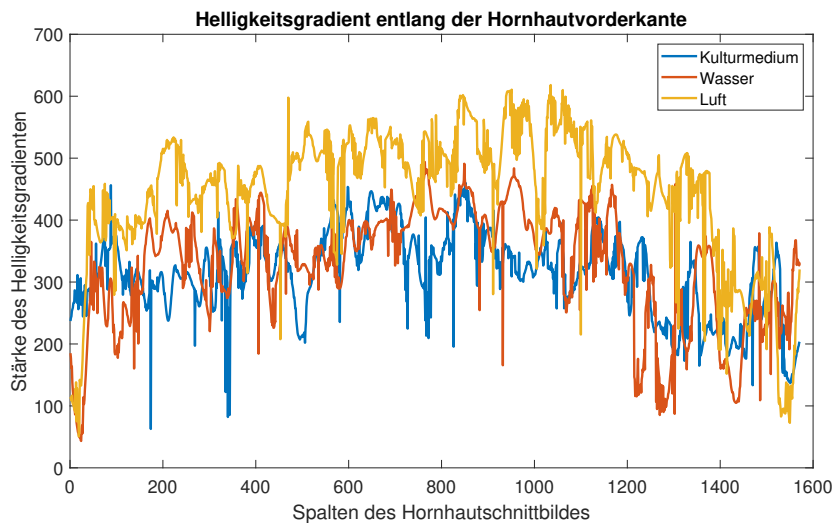


Abbildung 3.19: Helligkeitsgradient entlang der Hornhautvorderfläche innerhalb eines Schnittbildes für verschiedenen Umgebungsmedien

Nachdem die Gradienten für die drei Umgebungsmedien in jedem Pixel/ jeder Spalte des Schnittbildes bestimmt wurden, wurde die mittlere Größe des Gradienten und dessen Standardabweichung entlang der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut berechnet. Im Anschluss wurden wieder die gepoolten Standardabweichungen und die Effektstärken bestimmt. Allerdings geht es diesmal um den Vergleich der Größe des Gradienten (Gradientenstärke) in den verschiedenen Medien, sodass es je drei Kombinationen zwischen den Medien für Vorder- und Rückfläche zu untersuchen gilt. Um eine mögliche Veränderung des Helligkeitsgradienten bei Mittelung über mehrere Schnittbilder zu ermitteln, wurden die Effektstärken bei einer Mittelung über vier Schnittbilder in den drei verschiedenen Medien am Casia 2 berechnet. Am Revo Nx konnte keine Mittelung durchgeführt werden, da zur untersuchten Spenderhornhaut nur eine Messung am Gerät vorlag.

Nach der Untersuchung des Einflusses verschiedener Umgebungsmedien wurden verschiedene Beleuchtung während der Messung an beiden Geräten getestet. Dazu wurden wie zuvor die gepoolten Standardabweichungen und Effektstärken für den Vergleich der Helligkeitsgradientenstärken bei verschiedenen Beleuchtungen berechnet.

3.4 Messungen an Patienten/Probanden

Neben der Charakterisierung von Spenderhornhäuten soll geprüft werden, ob der entwickelte Algorithmus Erkrankungen und Strukturveränderungen, die beispielsweise durch eine refraktive Chirurgie entstanden sind, darstellen und erkennen kann. Da solche abnormen Spendergewebe aber meist gar nicht erst am Verstorbenen entnommen werden, mussten zur Überprüfung hauptsächlich Patientenmessungen genutzt werden. In den bisher vorgestellten Ergebnissen wurden Hornhautspenden untersucht, sodass zunächst geprüft wurde, ob der Algorithmus auch für Patienten- bzw. Probandenmessungen hinreichend genaue Resultate liefert. Anschließend wurden Patientenmessungen, bei denen eine Erkrankung diagnostiziert wurde, mithilfe des Algorithmus ausgewertet.

3.4.1 Vergleich der Ergebnisse zweier Analyseverfahren

Für die Untersuchung der Unterschiede zwischen der vom Vorderabschnitts-OCT Casia 2 durchgeführten Parameterbestimmung der Flächenbrechwerte der Vorder- und Rückfläche sowie der zentralen Hornhautdicke und der Algorithmus-gestützten Berechnung wurden drei Augen von zwei gesunde Probanden mit beiden Methoden charakterisiert. Das Vorgehen ist im Folgenden für beide Auswertungen beschrieben.

Auswertung mit Casia 2

Das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 ermöglicht bei Patienten- bzw. Probandenmessungen eine automatische Erkennung der Grenzflächen der Hornhaut beruhend auf den unterschiedlichen Brechungsindizes von Luft, Hornhaut und Kammerwasser. Zudem berechnet es direkt die wichtigsten Parameter der Hornhaut wie die Krümmungsradien und die Hornhautdicke. Dazu platziert der Patient/Proband sein Kinn auf der Kinnstütze des Gerätes und es wird der in Abschnitt 3.2.1 beschriebene radiale Corneal Map Scan durchgeführt. Die Auswertung der erhaltenen 3D-Daten übernimmt die herstellereigene Software des Gerätes. Abbildung 3.20 zeigt das Messergebnis. Dabei sind in der linken Tabelle die vom Gerät ermittelten Parameter der Patienten- bzw. Probandenhornhaut aufgeführt.

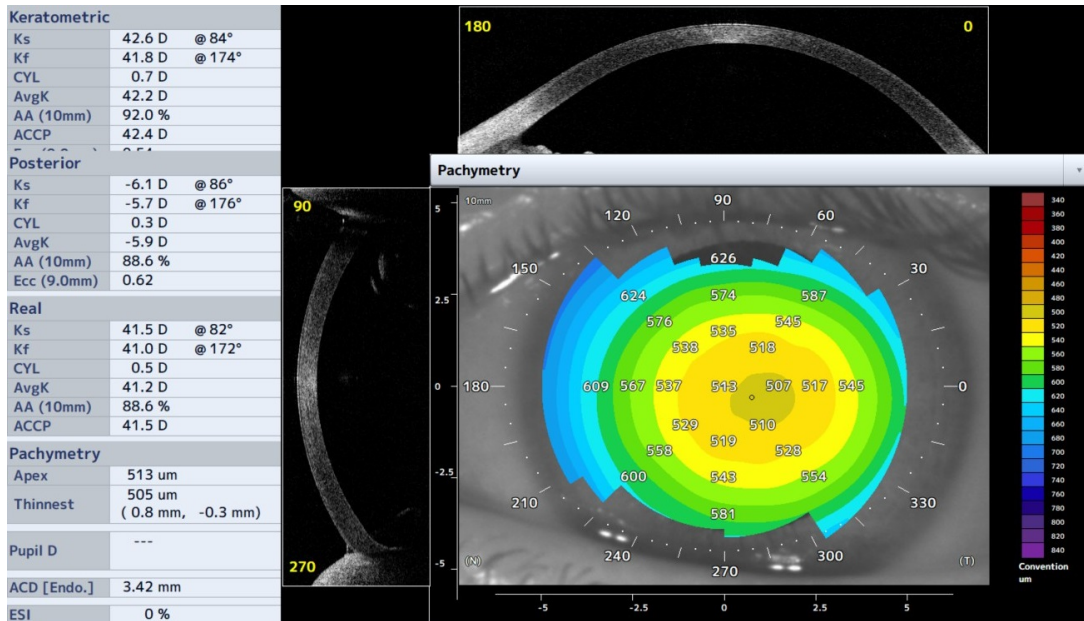


Abbildung 3.20: Auswertung einer Probandenhornhaut mithilfe des Vorderabschnitts-OCTs Casia 2: Tabelle (links) zeigt vom Gerät berechnete Parameter der Hornhaut. Keratometric: Keratometerwerte der steilen/flachen Achse der Hornhautvorderfläche. Posterior: Flächenbrechwerte der steilen/flachen Achse der Hornhaurückfläche. Pachymetry: Hornhautdicke am Apex bzw. der dünnsten Stelle der Hornhaut

Ein besonderes Augenmerk soll auf den ermittelten Keratometer- und Flächenbrechwerten sowie der Stärke und Lage des Astigmatismus in den ersten beiden Abschnitten der Tabellen und der Hornhautdicke im vierten Abschnitt liegen. Im ersten Abschnitt „Keratometric“ zeigt das Gerät die für die Patienten- bzw. Probandenhornhaut ermittelten Keratometerwerte der Vorderfläche und die Stärke und Lage des Astigmatismus an. Im zweiten Abschnitt „Posterior“ werden die Flächenbrechwerte der Rückfläche und ebenfalls der Astigmatismus aufgelistet. Die Keratometer- und Flächenbrechwerte stehen über die in Tabelle 3.2 beschriebenen Gleichungen im Bezug zum Krümmungsradius R . Die für den Vergleich relevante Hornhautdicke findet sich im vierten Abschnitt „Pachymetry“ unter dem Stichpunkt „Apex“. Als Hornhautdicke wird hierbei der Abstand zwischen der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut senkrecht zur Vorderfläche bezeichnet. Des Weiteren zeigt Abbildung 3.20 das Dickenprofil der gesamten Hornhaut als farbige Zonen, wobei auch hier der Abstand zwischen Vorder- und Rückfläche senkrecht zur Vorderfläche bestimmt wurde.

Auswertung mit dem Programm

Um eine Patienten- bzw. Probandenhornhaut mithilfe des entwickelten Algorithmus auswerten zu können, wurde neben dem bereits für Abschnitt 3.4.1 durchgeführten Corneal Map Scan ein Rasterscan entsprechend Abschnitt 3.2.1 durchgeführt. Anstatt der Kulturflasche wurde das Kinn des Patienten/Probanden auf der Kinnstütze platziert. Da der Rasterscan ca. 10.75s dauert, muss der Patient/Proband in dieser Zeitspanne sein Auge geöffnet und ruhig halten können. Da dies nur gesunden Probanden zugemutet werden kann, liegen für den Vergleich bei diesem Scan nur wenige Daten vor. Nach der Messung wurden die Rohdaten der beiden Scans wie die einer Spenderhornhaut vorverarbeitet und anschließend sowohl mit dem sphäro-zylindrischen Modell als auch mit dem Fit durch Zernike-Polynome ausgewertet. Zum Vergleich wurde zusätzlich eine Darstellung des Dickenprofils der Hornhaut erzeugt.

3.4.2 Identifikation von Hornhautpathologien

Zur Überprüfung, ob der Algorithmus Erkrankungen und Strukturveränderungen darstellen und erkennen kann, wurden im ersten Schritt willkürlich 29 Patientenakten mit verschiedenen Erkrankungen aus der Datenbank der Homburger Klinik für Augenheilkunde herausgesucht, die eine Untersuchung am Vorderabschnitts-OCT Casia 2 erhalten haben. Ausgewählt wurden Patienten mit den in Abschnitt 2.1 beschriebenen Erkrankungen der Hornhaut. Zusätzlich wurden Patienten, die im Zuge einer refraktiven Chirurgie eine LASIK zur Fehlsichtigkeitskorrektur erhalten haben, notiert. In der folgenden Auflistung ist die Häufigkeit der einzelnen Pathologien dargestellt:

- Granuläre Dystrophie: 7
- Gitterige Dystrophie: 1
- Schnydersche Dystrophie: 1
- Keratokonus: 7
- Keratoglobus: 1
- Narben: 2
- Salzmann'sche noduläre Degeneration: 3
- Akanthamöbenkeratitis: 1
- Pelluzide marginale Degeneration: 5
- LASIK: 2

Um sicher zu stellen, dass nur Pathologien durch den Algorithmus erkannt werden, wurden die Messungen der drei gesunden Probanden aus Abschnitt 3.4.1 mit in die Betrachtung einbezogen. Anschließend wurden die Messungen dieser Patienten bzw. Probanden pseudonymisiert und auf einen PC mit Zugriffsbeschränkung am Institut für experimentelle Ophthalmologie Homburg/Saar exportiert. Anschließend wurden die Messungen in den bestehenden Algorithmus aus Abschnitt 3.2.2 eingelesen. Das Studienprotokoll zur Auswahl der Patienten wurde durch die Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes geprüft und genehmigt (Kenn-Nummer: 184/19). Zur Darstellung und Auswertung wurden mehrere Verfahren genutzt. Zum einen wurden die Dickenprofile der Casia 2 Software in den Algorithmus eingelesen und mit den Daten, die der Algorithmus berechnet hat, verglichen. Zum anderen wurden Pixel, die einen erhöhten Helligkeitswert im Vergleich zum umgebenden Helligkeitswert aufweisen, durch ein Kreuz markiert. Dazu wurde der mittlere Helligkeitswert eines Schnittbildes $mean(s)$ berechnet. Anschließend wurden alle peripheren Pixel, deren Helligkeitswert $> 1.48 \cdot mean(s)$ beträgt, mit einem Kreuz markiert. Dieser Grenzwert wurde iterativ anhand der Auswertung eines gesunden Probanden, bei dem keine Pixel markiert werden sollten, und eines schwer erkrankten Patienten mit Granulärer Dystrophie, bei dem die in der Casia-Messungen deutlich erkennbaren Bereiche markiert werden sollten, ermittelt.

3.5 Messungen an Hornhautspenden

Nach der Validierung des Algorithmus durch ein Phantom, der Überprüfung der Genauigkeit der Fitmodelle anhand von simulierten und gemessene Daten, der Beurteilung unterschiedlicher Messsysteme und dem Test des Vermögens des Algorithmus zur Identifikation von Hornhautpathologien anhand von Patientendaten wurden Messungen nach der entwickelten Methode an Hornhautspenden durchgeführt.

3.5.1 Reproduzierbarkeit

Um die Reproduzierbarkeit der durch den Algorithmus bestimmten Parameter der Hornhautspenden zu ermitteln, wurden zehn Spendergewebe jeweils vier mal mithilfe des Rasterscans gemessen. Vor jeder Messung wurde die Zellkulturflasche wieder

aus dem Halter genommen und anschließend neu darin positioniert. Danach wurden die Messungen sphäro-zylindrisch durch den Algorithmus ausgewertet. Mithilfe der Software SPSS (International Business Machines Corporation, Version 19.0, Armonk, USA) wurde dann eine Reliabilitätsstatistik für die Krümmungsradien und die Hornhautdicke durchgeführt und Cronbachs α für jeden dieser Parameter errechnet. Das Cronbachs α zeigt dabei über einen Wert zwischen 0 und 1 die interne Konsistenz zwischen den einzelnen Messergebnissen eines Parameters für eine Hornhaut an. Je höher das Cronbachs α , desto größer ist die Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen [7]. Für klinische Studien muss das Cronbachs α mindestens einen Wert von 0.9 aufweisen, damit die ermittelten Ergebnisse als zuverlässig und konsistent gelten [5].

3.5.2 Korrektur systematischer Messfehler durch Raytracing

Für die Algorithmus-gestützte Auswertung von Spenderhornhäuten wird wie in Abschnitt 3.2.2.3 beschrieben ein Raytracing-Verfahren benutzt. Dabei wird der Strahlverlauf im Gewebe aufgrund der Brechung an der Rückfläche der Hornhaut korrigiert, um die Hornhautvorderfläche und -dicke korrekt darstellen und auswerten zu können. Zum Vergleich wurden sieben Spendergewebe sowohl mit als auch ohne Raytracing ausgewertet. In Abbildung 3.12a wurden dazu das Raytracing und der nachfolgende Fit der korrigierten Vorderfläche aus der Fitreihenfolge entfernt und direkt nach der Auswertung der unkorrigierten Vorderfläche die Parameter der Spenderhornhaut mit dem Algorithmus bestimmt. Dabei wurden der flache und steile Krümmungsradius der Vorder- und Rückfläche und die Hornhautdicke wie in Abschnitt 3.2.2.3 beschrieben ermittelt. Zusätzlich wurde zur Bestimmung der Fit-Güte der RMSE-Wert angegeben.

3.5.3 Anwendung der Methode

Mithilfe der entwickelten Methode wurden Messungen an nahezu allen Hornhautspenden, die im Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux Trier/Westpfalz in Homburg/Saar zur Transplantation entnommen wurden, durchgeführt. Es handelt sich dabei um 579 Spendergewebe, die zwischen dem 28.02.2017 und dem 25.02.2020 in der Hornhautbank lagerten. Die Messungen wurden am Vorderabschnitts-OCT Casia 2 mithilfe des Rasterscans durchgeführt und anschließend mit dem entwickelten Algorithmus mithilfe des sphäro-zylindrischen Fits

ausgewertet. Die ermittelten Krümmungsradien der Vorder- und Rückfläche sowie die zentrale Hornhautdicke wurden für jede Hornhaut mit Auswertedatum und Spendernummer in eine Microsoft Excel-Datei übertragen (Abb. 3.21). Des Weiteren wurden der aus der Differenz der flachen und steilen Krümmungsradien berechnete Astigmatismus der Vorder- und Rückfläche, die nach Tabelle 3.2 ermittelten Flächenbrechwerte und Keratometerwerte in die Datei übernommen. Zusätzlich finden sich die RMSE-Werte des Vorder- und Rückflächenfits sowie das Verhältnis der flachen und steilen Krümmungsradien ($V_f = R_{fv}/R_{fH}, V_s = R_{sv}/R_{sH}$) in der exportierten Datei. Die letzte Spalte zeigt durch das Aufleuchten des Eintrags „Mögliche Pathologie“ an, dass bei der untersuchten Hornhaut wie bei den in Abschnitt 3.4.2 untersuchten Erkrankungen eine erhöhte Anzahl an Pixeln mit erhöhtem Helligkeitswert vorliegen. Solche Hornhäute wurden noch einmal an der Spaltlampe durch einen Ophthalmologen auf eine Pathologie untersucht. Zudem können unter Berücksichtigung der Standardabweichung die Spenderhornhäute bestimmt werden, die außerhalb der Grenzen der zweifachen bzw. dreifachen Standardabweichungen für die Krümmungsradien und Hornhautdicke liegen und dadurch pathologisch auffällig erscheinen. Unter der Annahme, dass die ermittelten Größen normalverteilt sind, befinden sich im Intervall ± 2 bzw. ± 3 Standardabweichungen um den Mittelwert der Größe 95.45% bzw. 99.73% der Messwerte. Das Auftreten von Messwerten außerhalb dieser Grenzen zeigt, dass es sich bei diesem Messwert um ein Ereignis handelt, das nur mit einer Wahrscheinlichkeit von 4.54% bzw. 0.27% auftritt [2]. Eine Spenderhornhaut mit Ergebnissen in diesen Bereichen erscheint dadurch auffällig, da ihre Ergebnisse stark vom Mittelwert der Verteilung abweichen. Sie werden in der Excel-Datei farbig markiert und können anschließend durch einen Ophthalmologen auf mögliche Wölbungsanomalien (siehe Abschnitt 2.1) untersucht werden. Neben der Ausgabe der Excel-Datei wurden ein Video der Schnittbilder mit den eingezeichneten Kreuzen bei erhöhtem Kontrast und ein Dickenprofil für jeden Hornhaut abgespeichert.

Datum	Spender- nummer	R _{fH} / mm	R _{sH} / mm	asti _H / mm	R _{fV} / mm	R _{sV} / mm	asti _V / mm	CCT / μ m	RMSE _H
28.03.2017	2710R	6,6726	6,5555	0,1170	7,6967	7,4647	0,2321	590,4540	10,4779
28.03.2017	2715L	6,3396	6,1510	0,1886	7,3036	7,0470	0,2566	542,4890	8,3905
05.04.2017	2713L	6,6512	6,6014	0,0498	7,5910	7,3559	0,2351	555,0217	7,6410
05.04.2017	2718R	6,7791	6,5509	0,2282	7,7378	7,4866	0,2512	583,5000	9,1100
07.04.2017	2714R	6,5486	6,1944	0,3542	7,6950	7,6888	0,0061	607,4124	8,1494
03.05.2017	2733R	6,7127	6,6242	0,0885	7,7043	7,6806	0,0237	596,0562	9,7930
03.05.2017	2740R	6,8453	6,7122	0,1331	7,5336	7,4899	0,0437	575,8843	11,5178
03.05.2017	2744R	6,7822	6,7791	0,0031	7,5000	7,3518	0,1483	588,4746	21,9891
03.05.2017	2745L	6,7053	6,4640	0,2413	7,4933	7,2312	0,2621	586,9406	6,5465
04.05.2017	2737L	6,3362	6,1130	0,2232	7,6517	7,6469	0,0047	614,9703	8,0273
09.05.2017	2746L	6,9029	6,4487	0,4542	7,9778	7,2510	0,7268	569,0740	8,6840
09.05.2017	2749L	6,7641	6,5887	0,1754	7,6993	7,6992	0,0001	610,3409	7,0736
09.05.2017	2750L	6,7827	6,7014	0,0812	7,6739	7,5451	0,1289	594,5779	10,4361
09.05.2017	2750R	6,7892	6,6663	0,1229	7,6928	7,6924	0,0005	615,4784	10,9472
09.05.2017	2754L	6,7350	6,7142	0,0208	7,6311	7,5696	0,0615	556,2628	8,7882
23.05.2017	2759R	6,8054	6,6327	0,1727	7,5880	7,5754	0,0126	512,4465	8,2259

(a)

RMSE _V	K _s / dpt	K _f / dpt	F _{fH} / dpt	F _{sH} / dpt	F _{fV} / dpt	F _{sV} / dpt	V _f	V _s	Patho
0,0271	45,2130	43,8498	-5,9947	-6,1017	48,8519	50,3707	1,1535	1,1387	
0,0110	47,8927	46,2100	-6,3095	-6,5030	51,4814	53,3560	1,1521	1,1457	
0,0421	45,8815	44,4603	-6,0140	-6,0593	49,5320	51,1154	1,1413	1,1143	
1,0191	45,0803	43,6171	-5,9005	-6,1061	48,5927	50,2228	1,1414	1,1428	Mögliche Pathologie
11,8346	43,8948	43,8599	-6,1081	-6,4574	48,8631	48,9021	1,1750	1,2413	
5,6265	43,9418	43,8069	-5,9588	-6,0385	48,8041	48,9544	1,1477	1,1595	
0,0166	45,0606	44,7991	-5,8435	-5,9593	49,9096	50,2009	1,1006	1,1159	
4,3931	45,9074	44,9998	-5,8978	-5,9005	50,1331	51,1443	1,1058	1,0845	
0,0220	46,6725	45,0400	-5,9655	-6,1881	50,1779	51,9967	1,1175	1,1187	
7,6566	44,1353	44,1081	-6,3130	-6,5434	49,1397	49,1699	1,2076	1,2509	
0,0650	46,5452	42,3049	-5,7946	-6,2028	47,1308	51,8548	1,1557	1,1244	
0,0619	43,8357	43,8354	-5,9136	-6,0710	48,8359	48,8363	1,1382	1,1685	
5,1226	44,7311	43,9800	-5,8974	-5,9689	48,9969	49,8337	1,1314	1,1259	
0,3929	43,8746	43,8720	-5,8917	-6,0003	48,8766	48,8795	1,1331	1,1539	
0,3840	44,5862	44,2269	-5,9391	-5,9575	49,2720	49,6723	1,1331	1,1274	
3,7205	44,5520	44,4783	-5,8777	-6,0307	49,5521	49,6342	1,1150	1,1421	

(b)

Abbildung 3.21: Ausschnitt aus der Excel-Datei mit den Ergebnissen von 16 mit entwickeltem Algorithmus ausgewerteten Hornhautspendergeweben. R_{fH}, R_{sH} : flacher/steiler Krümmungsradius der Rückfläche, $asti_H$ Astigmatismus der Rückfläche, R_{fV}, R_{sV} : flacher/steiler Krümmungsradius der Vorderfläche, $asti_V$ Astigmatismus der Vorderfläche, CCT : zentrale Hornhautdicke, $RMSE_H, RMSE_V$: Root-Mean-Square Error für Rückfläche/Vorderfläche, K_s, K_f : steiler/flacher Keratometerwert, F_{fH}, F_{sH} : flacher/steiler Flächenbrechwert der Rückfläche, F_{fV}, F_{sV} : flacher/steiler Brechwert der Vorderfläche, V_f/V_s : flaches/steiles Verhältnis der Krümmungsradien, $Patho$: Eintrag zeigt mögliche Pathologie an

4 Ergebnisse

4.1 Statistische und systematische Messunsicherheiten

4.1.1 Messungen an einem Phantom

Zur Validierung des Algorithmus wurde das in Abschnitt 3.3.1 beschriebene PMMA-Phantom in einer mit Kulturmedium gefüllten Zellkulturflasche vermessen. Abbildung 3.14b) zeigt, dass mithilfe des Vorderabschnitts-OCTs Casia 2 das Phantom dargestellt werden kann. Durch das optisch homogene Material des Phantoms werden hierbei nur die Kanten scharf dargestellt, wobei das Phantominnere optisch leer erscheint. Der aufgenommene Datensatz wurde anschließend mit dem Algorithmus ausgewertet. Der Fit erfolgte dabei sowohl mit dem sphäro-zylindrischen Flächenmodell als auch durch Zernike-Polynome. Die Vorderfläche wurde dabei mithilfe des beschriebenen Raytracings generiert. Aufgrund fehlender optischer, mechanischer und geometrischer Informationen des Messsystems und der Proben wurde eine Raumtransformation der Messdaten durch iterative Anpassung der Fitparameter ($tolFun$, Bedingung zur Entfernung von Ausreißern) zur Annäherung der Fitergebnisse an die Herstellerangaben durchgeführt. Die Herstellerangaben und Ergebnisse sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst.

Tabelle 4.1: Herstellerangaben und Fitergebnisse der Vermessung des PMMA-Phantoms in einer mit Kulturmedium gefüllten Zellkulturflasche

	Rückfläche		Vorderfläche		Zentrale Dicke
	R_f	R_s	R_f	R_s	
Phantom	7.5		8.49		490
Sphäro-zylindrisch	7.46	7.31	8.37	8.15	494
Zernike	7.47	7.39	8.44	8.08	496

$R_{s,f}$: Steiler/flacher Krümmungsradius in mm; Zentrale Dicke in μm

4.1.2 Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Fit-Modelle

Simulation

Nach der Validierung des Algorithmus wurden zur Überprüfung der Fitqualität Flächen entsprechend dem sphäro-zylindrischen und Zernike-Flächenmodell simuliert und mit den jeweiligen Fits ausgewertet. Die Tabellen 4.2 und 4.3 zeigen die Ergebnisse. In diesen sind die absoluten Abweichungen zu den vorgegebenen Parametern der Fläche für jede der durchgeführten Arten der Zentrierung aufgelistet. Kein Tabelleneintrag bedeutet, dass für diesen Parameter mit dem Fit kein Ergebnis gewonnen werden konnte. Es wurden verschiedene Varianten an Vorgaben für die Variablen getestet und anschließend die Ergebnisse gemittelt.

Die Simulation und Auswertung von Flächen, die mit einem normalverteilten Rauschen überlagert wurden, liefern die in Tabelle 4.4 aufgelisteten Ergebnisse. Auch hier sind die absoluten Abweichungen zur Vorgabe gezeigt.

Tabelle 4.2: Auswertung einer simulierten Zernike-Fläche mit verschiedenen Zentrierungsarten. Vorgaben: R_f , R_s : flacher, steiler Krümmungsradius; α : Winkellage der steilen Achse; β : Winkel der Verkippung; γ : Lage der Verkippung; (x_0, y_0, z_0) : Koordinaten des Ursprungs. Fehler: Absolute Abweichung zur Vorgabe

Art der Zentrierung	Absolute Fehler f							
	$f(R_f)$ [mm]	$f(R_s)$ [mm]	$f(\alpha)$ [rad]	$f(\beta)$ [rad]	$f(\gamma)$ [rad]	$f(x_0)$ [mm]	$f(y_0)$ [mm]	$f(z_0)$ [mm]
Ohne Zentrierung	0.1	0.1	0	0.02	-0.25	—	—	—
Minimum von z	0.1	0.1	0	-0.1	-0.15	-0.52	0.2	-0.15
Kugel	0.1	0.1	0	0.06	0.1	0.07	0.15	-0.02

Tabelle 4.3: Auswertung einer simulierten sphäro-zylindrischen Fläche mit verschiedenen Fitarten. Vorgaben: R_f , R_s : flacher, steiler Krümmungsradius; α : Winkellage der steilen Achse; δ : Verkippung in x-Richtung; ϵ : Verkippung in y-Richtung; (x_0, y_0, z_0) : Koordinaten des Ursprungs. Fehler: Absolute Abweichung zur Vorgabe

Art des Fits	Fehler in %							
	$f(R_f)$ [mm]	$f(R_s)$ [mm]	$f(\alpha)$ [rad]	$f(\delta)$ [rad]	$f(\epsilon)$ [rad]	$f(x_0)$ [mm]	$f(y_0)$ [mm]	$f(z_0)$ [mm]
Zernike	-0.21	-0.67	0.06	0.46	0.26	0.01	0.51	0.03
Sphäro- zylindrisch	0	0	0	0.03	0	0.03	-0.09	0.03

Tabelle 4.4: Auswertung simulierter verrauschter Zernike- und sphäro-zylindrischer Flächen mit dem dazugehörigen Fit. Vorgaben: R_f , R_s : flache, steile Krümmungsradius; α : Winkellage der steilen Achse; β : Winkel der Verkippung; γ : Lage der Verkippung; δ Verkippung in x-Richtung; ϵ Verkippung in y-Richtung; (x_0, y_0, z_0) : Koordinaten des Ursprungs; Rauschen: Normalverteilung. Fehler: Absolute Abweichung zur Vorgabe

Rauschen	Fehler in %							
	$f(R_f)$ [mm]	$f(R_s)$ [mm]	$f(\alpha)$ [rad]	$f(\beta)$ [rad]	$f(\gamma)$ [rad]	$f(x_0)$ [mm]	$f(y_0)$ [mm]	$f(z_0)$ [mm]
Zernike	0.1	0.1	0	0.06	0.1	0.07	0.15	-0.02
Sphäro-zylindrisch	$f(R_f)$ [mm]	$f(R_s)$ [mm]	$f(\alpha)$ [rad]	$f(\delta)$ [rad]	$f(\epsilon)$ [rad]	$f(x_0)$ [mm]	$f(y_0)$ [mm]	$f(z_0)$ [mm]
	0	0	0	0	0	0	-0.1	0

Hornhaut

Im Anschluss an die Simulation wurden 117 Hornhautspendergewebe mit dem sphäro-zylindrischen Fit und dem Zernike-Fit ausgewertet. Zunächst wurde die Abweichung der mittleren, steilen Krümmungsradien für die Vorder- und Rückfläche zwischen den beiden Fitmodellen ermittelt. Sie beträgt sowohl für die Rück- und Vorderfläche 0.06 mm. Danach wurden mithilfe der Winkellage der steilen Achse α und den steilen Krümmungsradien der Vorder- und Rückfläche die Anteile des Radius in x- und y-Richtung für jede Hornhaut und beide Fitmodelle bestimmt:

$$x_{R_{sH}} = R_{sH} \cdot \cos \alpha \text{ bzw. } x_{R_{sV}} = R_{sV} \cdot \cos \alpha \quad (4.1)$$

$$y_{R_{sH}} = R_{sH} \cdot \sin \alpha \text{ bzw. } y_{R_{sV}} = R_{sV} \cdot \sin \alpha \quad (4.2)$$

Dadurch können die Ergebnisse der Fitmodelle verglichen werden, auch wenn die Winkellagen der steilen Achsen voneinander abweichen. Anschließend wurde für jede Hornhaut die absolute Differenz jeweils zwischen den x- und den y-Komponenten des steilen Krümmungsradius beider Fitmodelle bestimmt. Ebenso wurde die absolute Differenz der zentralen Hornhautdicke der beiden Fitmodelle ermittelt. Die Mittelung über alle Hornhäute ergibt die in Tabelle 4.5 aufgezeigten Differenzen:

Tabelle 4.5: Mittlere Differenz M und Standardabweichung SD der x- und y-Komponenten des steilen Krümmungsradius der Vorder- und Rückfläche in mm und der zentralen Hornhautdicke CCT in μm zwischen einem sphäro-zylindrischen Fit und einem Fit durch Zernike-Polynome für 117 Hornhautspendergewebe

	Rückfläche		Vorderfläche		CCT	
	M	SD	M	SD	M	SD
x-Komponente	3.43	4.10	4.01	4.13	9.57	9.12
y-Komponente	3.23	3.30	4.11	2.69		

4.1.3 Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Messsysteme

Vergleich Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und Spectral Domain OCT Revo Nx

Für den Vergleich zwischen dem Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und dem Spectral Domain OCT Revo Nx wurden drei Spenderhornhäute mit beiden Geräten vermessen. Da durch die Auswahl des C-Gate Modus beim Revo Nx zwischen dem oberen Bereich des Aufnahmebildes und dem unteren Teil gewählt werden kann, gibt es bei diesem Gerät für jede Hornhaut zwei Messungen. Nach der Messung erfolgte die Auswertung mit dem in Abschnitt 3.2.2 beschriebenen Algorithmus. In Tabelle 4.6 sind die Ergebnisse der Krümmungsradien im steilen und flachen Meridian der Vorder- und Rückfläche sowie der RMSE-Wert für den jeweiligen Fit angegeben. In Abbildung 4.1 sind die Rohdaten der Rückfläche (blau) für die jeweilige Messung mit den Fitdaten (rot) exemplarisch für eine Spenderhornhaut gegenübergestellt.

Tabelle 4.6: Auswertung von drei Spenderhornhäuten nach der Messung mit den Geräten Revo Nx und Casia 2

Spender- nummer		Rückfläche		Vorderfläche		RMSE	
		R_f	R_s	R_f	R_s	Rückfläche	Vorderfläche
3206R	Unten	6.39	6.12	7.24	7.22	58.62	0.21
	Oben	6.73	5.98	7.05	7.00	102.79	0.19
	Casia 2	6.73	6.60	7.58	7.52	8.77	3.61
3203L	Unten	6.95	6.49	7.31	7.28	96.83	0.31
	Oben	7.46	6.44	7.46	7.42	149.75	0.18
	Casia 2	6.49	6.13	7.30	6.89	13.64	0.24
3218R	Unten	6.74	6.69	8.71	7.47	80.56	0.40
	Oben	7.55	6.61	8.88	8.04	153.06	0.27
	Casia 2	6.67	6.64	7.58	7.56	18.62	0.53

$R_{s,f}$: Steiler/flacher Krümmungsradius in mm; Unten/Oben: C-Gate Modus der Revo Nx Messung; RMSE in μm

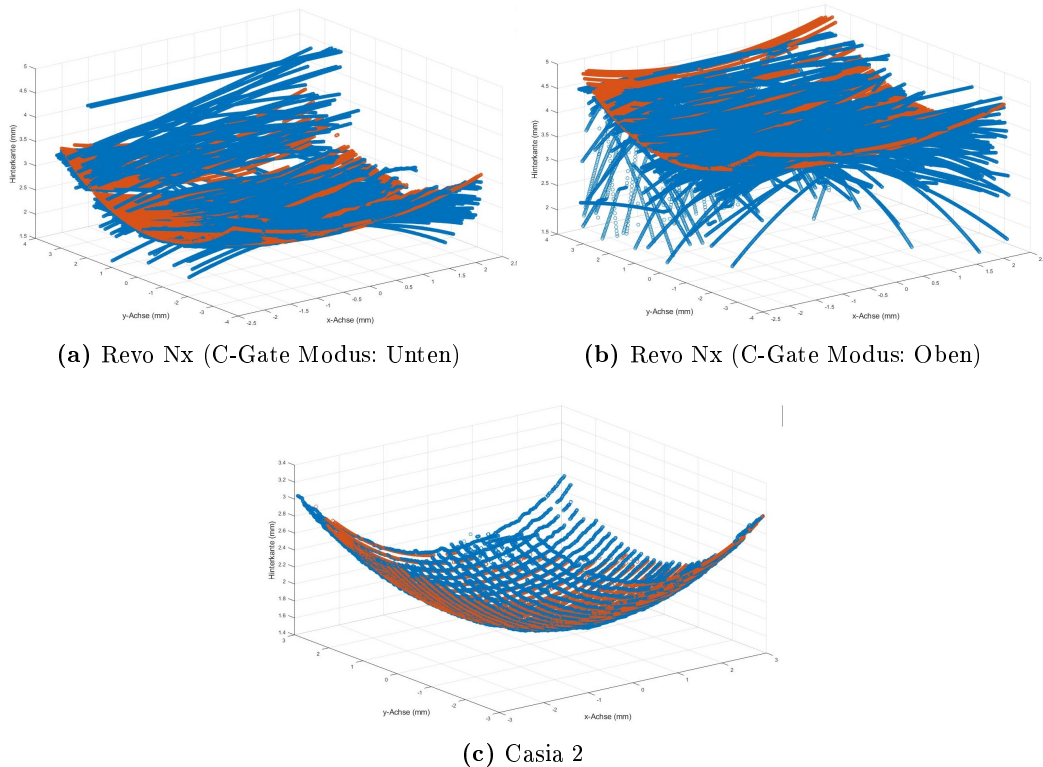


Abbildung 4.1: Darstellung der Rohdaten der Rückfläche (blau) und der Fitdaten (rot) für das Spectral Domain OCT Revo Nx ((a) C-Gate Modus: Unten, (b): C-Gate Modus: Oben) und das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 (c) für die Spenderhornhaute 3218R

Vergleich verschiedener Messtechniken am Revo Nx und Casia 2

Nach dem Vergleich der Geräte wurden Messungen am Revo Nx und Casia 2 durchgeführt, um die Unterschiede zwischen verschiedenen Messbedingungen zu untersuchen. Zunächst wurde eine Spenderhornhaut in Wasser, im Kulturmedium und in einer mit Luft gefüllten Zellkulturflasche vermessen. In den Abbildungen 4.2 und 4.3 sind jeweils ein Schnittbild pro Messung gegenübergestellt. Die zunächst bestimmte mittlere Größe des Helligkeitsgradienten und dessen Standardabweichung an der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut in den verschiedenen Umgebungsmedien ist in Tabelle 4.7 dargestellt. Die Tabellen 4.8 und 4.9 zeigen die nach Formel 3.23 ermittelten Effektstärken für den Vergleich der Helligkeitsunterschiede und -gradienten in den verschiedenen Medien für ein Schnittbild. Die Ergebnisse der Mittelung über vier Schnittbilder sind in den Tabellen 4.10 und 4.11 zu finden.

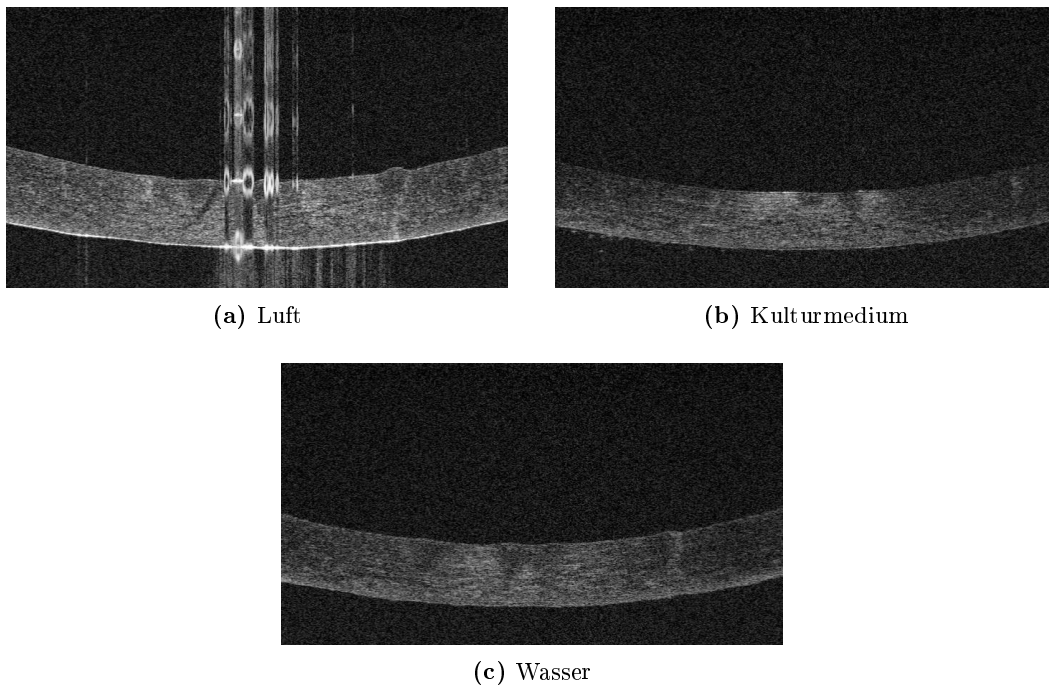


Abbildung 4.2: Schnittbilder der Spenderhornhaut Messungen am Spectral Domain OCT Revo Nx in unterschiedlichen Medien

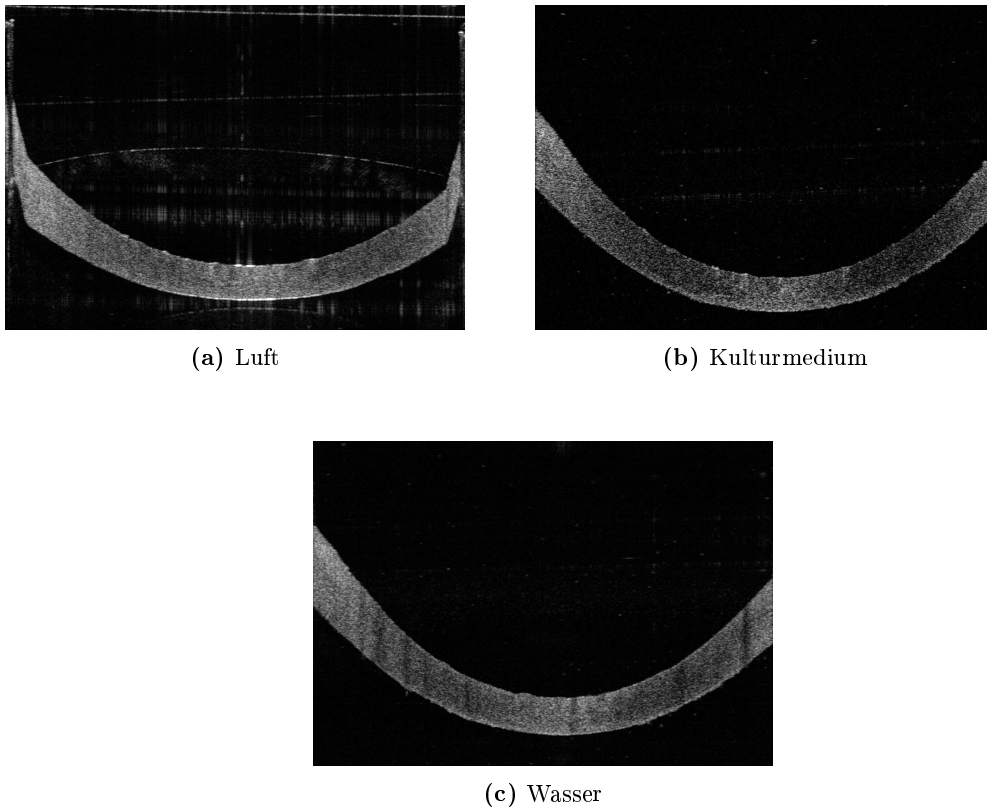


Abbildung 4.3: Schnittbilder der Spenderhornhaut Messungen am Vorderabschnitts-OCT Casia2 in unterschiedlichen Medien

Tabelle 4.7: Mittlere Größe des Helligkeitsgradienten M und dessen Standardabweichung SD in Grauwert pro Pixel an der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut in den verschiedenen Umgebungsmedien für das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und Spectral-Doamin OCT Revo Nx

Mittlere Größe des Gradienten für ...		Casia 2		Revo Nx	
		M	SD	M	SD
Medium	Vorderfläche	314.52	66.59	1.74	1.16
	Rückfläche	-195.3	69.99	-2.68	1.01
Wasser	Vorderfläche	325.58	92.26	2.33	1.72
	Rückfläche	-243.96	67.30	-3.28	1.34
Luft	Vorderfläche	444.52	108.59	3.10	2.22
	Rückfläche	-303.23	86.81	-4.75	2.00

Tabelle 4.8: Effektstärken für den Vergleich der Helligkeit zwischen verschiedenen Medien und der enthaltenen Hornhaut für das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und Spectral-Domain OCT Revo Nx

Effektstärke für ...		Casia 2	Revo Nx
Medium-Hornhaut	Zentral	2,35	2,35
	Peripher	1,21	1,21
Wasser-Hornhaut	Zentral	2,36	2,39
	Peripher	1,81	1,23
Luft-Hornhaut	Zentral	3,36	2,77
	Peripher	3,04	2,61

Tabelle 4.9: Effektstärken für den Vergleich der Helligkeitsgradienten verschiedener Umgebungsmedien für das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und Spectral-Domain OCT Revo Nx

Effektstärke für ...	Casia 2		Revo Nx	
	Vorderfläche	Rückfläche	Vorderfläche	Rückfläche
Wasser-Medium	0.15	0.71	0.50	0.40
Luft-Medium	1.44	1.18	1.20	0.76
Luft-Wasser	1.18	0.76	0.86	0.39

Tabelle 4.10: Effektstärken für den Vergleich der Helligkeit zwischen verschiedenen Medien und der enthaltenen Hornhaut für das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 bei einer Mittelung über vier Schnittbilder vier verschiedener Messungen an derselben Position im Volumenstapel (z -Position)

Effektstärke für...		Casia 2
Medium- Hornhaut	Zentral	3.89
	Peripher	2.19
Wasser- Hornhaut	Zentral	4.33
	Peripher	3.64
Luft- Hornhaut	Zentral	5.71
	Peripher	5.70

Tabelle 4.11: Effektstärken für den Vergleich der Helligkeitsgradienten verschiedener Umgebungsmedien für das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 bei einer Mittelung über vier Schnittbilder vier verschiedener Messungen an derselben Position im Volumenstapel (z -Position)

Effektstärke für ...	Casia 2	
	Vorderfläche	Rückfläche
Wasser-Medium	0.10	0.69
Luft-Medium	1.33	1.16
Luft-Wasser	1.07	0.70

Anschließend wurde die Spenderhornhaut im Zellkulturmedium bei verschiedenen Beleuchtungen vermessen. Es erfolgten Messungen bei normalem Raumlicht und übergestülptem Pappkarton über Gerät und Probe. Zusätzlich wurde eine Messung in einem annähernd dunklen Raum durchgeführt. Dabei wurden die Gerätehaube und der Pappkarton verwendet und zusätzlich noch das Außenrollo des Raumes heruntergefahren. In den Abbildungen 4.4 und 4.5 sind die Schnittbilder der beschriebenen Messungen dargestellt. In Tabelle 4.12 sind die mittlere Größe des Helligkeitsgradienten und dessen Standardabweichung an der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut bei den verschiedenen Beleuchtungen dargestellt. Tabelle 4.13 zeigt die Effektstärken für den Vergleich bei verschiedenen Beleuchtungen.

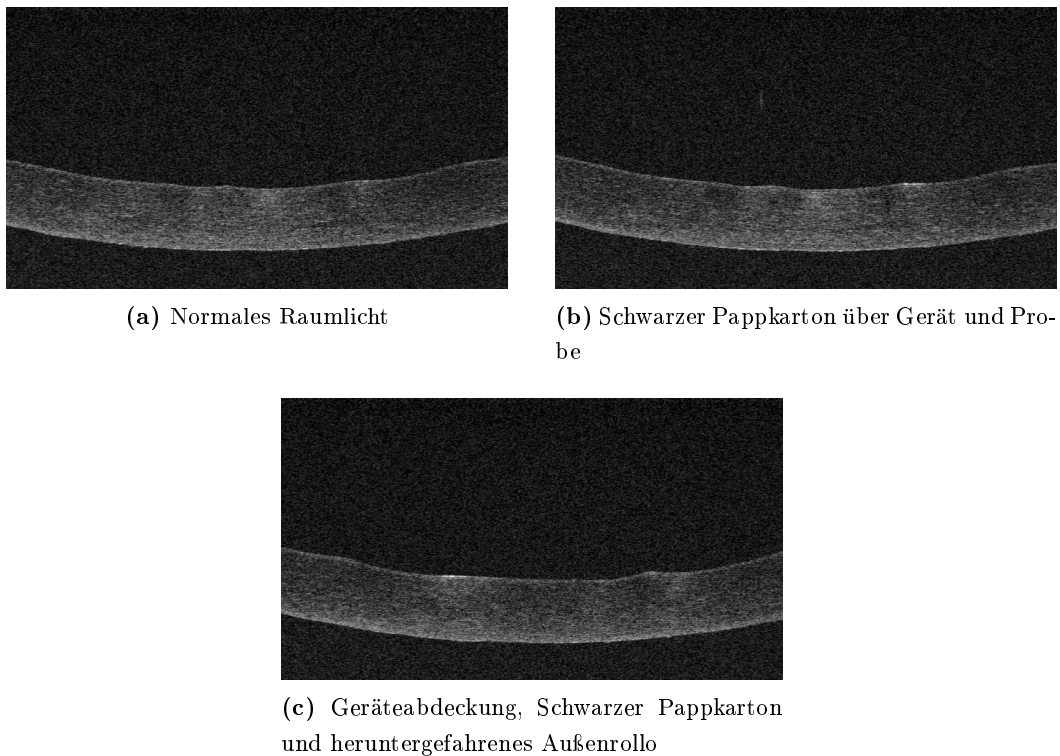


Abbildung 4.4: Schnittbilder der Spenderhornhautmessungen am Spectral Domain OCT Revo Nx bei verschiedenen Beleuchtungen

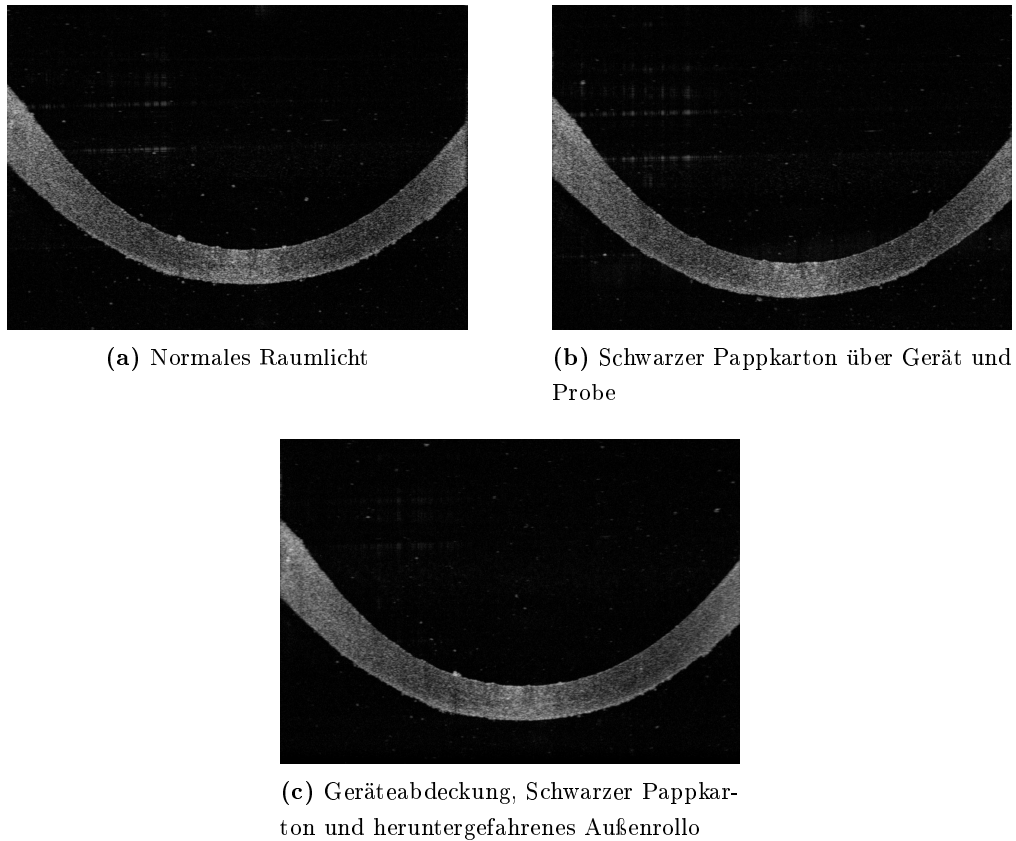


Abbildung 4.5: Schnittbilder der Spenderhornhautmessungen am Vorderabschnitts-OCT Casia 2 bei verschiedenen Beleuchtungen

Tabelle 4.12: Mittlere Größe des Helligkeitsgradienten M und dessen Standardabweichung SD in Grauwert pro Pixel an der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut bei verschiedenen Beleuchtungen für das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und Spectral-Domain OCT Revo Nx

Mittlere Größe des Gradienten für ...		Casia 2		Revo Nx	
		M	SD	M	SD
Raumlicht	Vorderfläche	314.52	66.59	1.74	1.16
	Rückfläche	-195.30	69.99	-2.68	1.01
Pappe	Vorderfläche	308.70	69.60	1.95	0.95
	Rückfläche	-192.68	65.01	-3.34	0.67
Abdeckung	Vorderfläche	332.62	69.04	2.12	1.09
	Rückfläche	-207.22	64.98	-3.71	0.91

Tabelle 4.13: Effektstärken für den Vergleich der Helligkeitsgradienten verschiedener Umgebungsmedien für das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und Spectral-Domain OCT Revo Nx

Effektstärke für ...	Casia 2		Revo Nx	
	Vorderfläche	Rückfläche	Vorderfläche	Rückfläche
Raumlicht-Pappe	0,09	0,04	-0,76	-0,19
Abdeckung-Raumlicht	0,27	0,18	1,07	0,33
Abdeckung-Pappe	0,35	0,22	0,47	0,17

4.2 Messungen an Patienten/Probanden

4.2.1 Vergleich der Ergebnisse zweier Analyseverfahren

Für den Vergleich der Parameterauswertung des Vorderabschnitts-OCTs Casia 2 und der Algorithmus-gestützten Auswertung wurden insgesamt drei Probandenaugen sowohl mit einem Raster- als auch mit einem Corneal Map Scan vermessen. Das Gerät berechnet für jedes Auge aus den Höhendaten des Corneal Map Scans die Keratometerwerte, die Flächenbrechwerte der Rückfläche, die zentrale Hornhautdicke sowie die Stärke und Lage des jeweiligen Astigmatismus. Zum Vergleich wurden die Keratometerwerte K_s mithilfe folgender Formel in Flächenbrechwerte F_s umgerechnet:

$$F_s = \frac{(1.376 - 1)}{(1.3375 - 1)} \cdot K_s \quad (4.3)$$

Diese Formel ergibt sich durch das Umstellen der Formeln in Tabelle 3.2. Die Auswertung durch den Algorithmus erfolgte sowohl für die Daten des Raster- als auch für die des Corneal Map Scans mithilfe des sphäro-zylindrischen Fits und dem Fit durch Zernike-Polynome. In Tabelle 4.14 sind die Flächenbrechwerte, die zentrale Hornhautdicke und der Astigmatismus als Ergebnisse der Casia 2 Software und des Algorithmus für den Raster-Scan gegenübergestellt, während Tabelle 4.15 die Ergebnisse der Auswertung des Corneal Map Scans für beide Analyseverfahren zeigt. In Abbildung 4.6 sind die Hornhautdickenprofile des Casia 2 und des Algorithmus für den Raster-Scan und den Corneal Map Scan beispielhaft für einen Probanden gegenübergestellt.

Tabelle 4.14: Auswertung von gesunden Probandenhornhäuten mit Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und Algorithmus bei durchgeführtem Raster-Scan

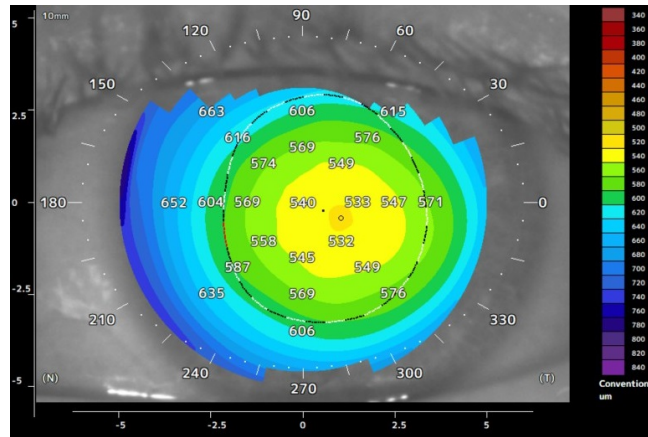
Auge		Casia 2	Sphäro-zylindr.	Zernike
1	F_s -Cyl/ θ_1 (ant.)	47.5 – 0.9/84°	48.8 – 0.7/79°	44.0 – 0.7/63°
	F_s -Cyl/ θ_1 (post.)	–5.7 – 0.4/176°	–6.0 – 0.2/175°	–5.0 – 0.3/165°
	CCT (Apex)	512	552	547
2	F_s -Cyl/ θ_1 (ant.)	49.8 – 1.3/95°	46.5 – 1.8/70°	57.7 – 2.9/87°
	F_s -Cyl/ θ_1 (post.)	–6.4 – 0.3/181°	–6.0 – 0.2/150°	–5.9 – 0.1/176°
	CCT (Apex)	540	579	573
3	F_s -Cyl/ θ_1 (ant.)	49.6 – 1.2/84°	48.9 – 1.1/94°	51.0 – 1.9/80°
	F_s -Cyl/ θ_1 (post.)	–6.1 – 0.3/175°	–5.8 – 0.3/158°	–5.6 – 0.3/177°
	CCT (Apex)	548	583	578

F_s : Flächenbrechwert für steile Achse der Vorder- und Rückfläche in Dioptrien, Cyl : Stärke des Astigmatismus in Dioptrien, θ_1 : Achslage des Astigmatismus in Grad, CCT : Zentrale Hornhautdicke in μm , ant./post.: anterior/posterior

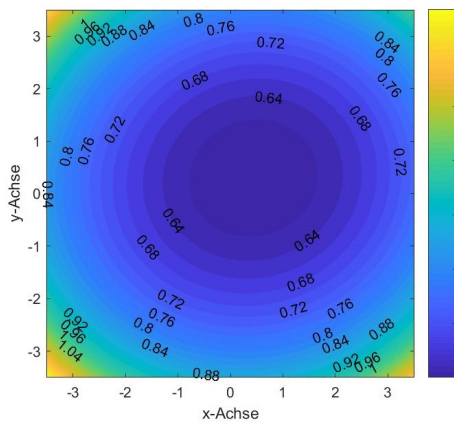
Tabelle 4.15: Auswertung von gesunden Probandenhornhäuten mit Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und Algorithmus bei durchgeführtem Corneal Map Scan

Auge		Casia 2	Sphäro-zylindr.	Zernike
1	F_s -Cyl/ θ_1 (ant.)	47.5 – 0.9/84°	49.1 – 0.7/73°	51.8 – 1.2/69°
	F_s -Cyl/ θ_1 (post.)	–5.7 – 0.4/176°	–6.1 – 0.4/176°	–5.2 – 0.2/162°
	CCT (Apex)	512	538	535
2	F_s -Cyl/ θ_1 (ant.)	49.8 – 1.3/95°	49.2 – 0.3/95°	53.4 – 1.0/111°
	F_s -Cyl/ θ_1 (post.)	–6.4 – 0.3/181°	–6.0 – 0.2/172°	–5.5 – 0.5/173°
	CCT (Apex)	540	570	564
3	F_s -Cyl/ θ_1 (ant.)	49.6 – 1.2/84°	49.6 – 0.7/66°	53.6 – 1.0/67°
	F_s -Cyl/ θ_1 (post.)	–6.1 – 0.3/175°	–6.2 – 1.2/175°	–5.46 – 0.02/147°
	CCT (Apex)	548	583	576

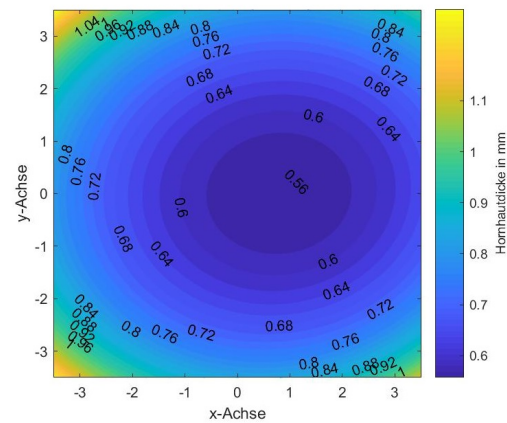
F_s : Flächenbrechwert für steile Achse der Vorder- und Rückfläche in Dioptrien, Cyl : Stärke des Astigmatismus in Dioptrien, θ_1 : Achslage des Astigmatismus in Grad, CCT : Zentrale Hornhautdicke in μm , ant./post.: anterior/posterior



(a) Casia 2



(b) Programm RasterScan Sphäro-zylindrischer Fit



(c) Programm Corneal Map Scan Sphäro-zylindrischer Fit

Abbildung 4.6: Hornhautdickenprofile von gesundem Probandenauge (2. Auge)

4.2.2 Identifikation von Hornhautpathologien

Zur Überprüfung, ob Hornhauterkrankungen und vorausgegangene refraktive Eingriffe mithilfe des Algorithmus erkannt werden können, wurden Patientmessungen ausgewertet, bei denen diese Gegebenheiten vorliegen. Dabei wurden nur die in Abschnitt 2.1 beschriebenen Hornhauterkrankungen berücksichtigt, da diese mit der vorliegenden Auflösung des Casia 2 dargestellt werden können. Zur Kontrolle, dass nur pathologische Strukturen vom Algorithmus erkannt werden, wurden drei Messungen von gesunden

Probanden mit einbezogen. In den Abbildungen 4.7 bis 4.9 sind die Schnittbilder aus der Casia 2 Software mit denen des Algorithmus für Patienten mit einer Hornhautdystrophie gegenübergestellt. Die Pixel in der Hornhaut, bei denen der Helligkeitswert stark von den umgebenden Helligkeitswerten abweicht, werden im Algorithmus mit weißen Kreuzen markiert. Die entsprechenden Schnittbilder für einen Patienten mit Salzmann'scher nodulärer Hornhautdegeneration und einen an Akanthamöbenkeratitis erkrankten Patienten sind in den Abbildungen 4.10 und 4.11 zu finden. Ebenfalls mit diesen Kreuzen versehen wurde die Messung eines Patienten nach einer LASIK-Operation (Abb. 4.12) und die Messungen der gesunden Probanden (Abb. 4.13 bis 4.15).

In den Abbildungen 4.16 bis 4.18 sind die Hornhautdickenprofile der Casia 2 Software und des Algorithmus sowie die Differenz dieser beiden Profile für einen Patienten mit Keratokonus, Keratoglobus und PMD dargestellt.

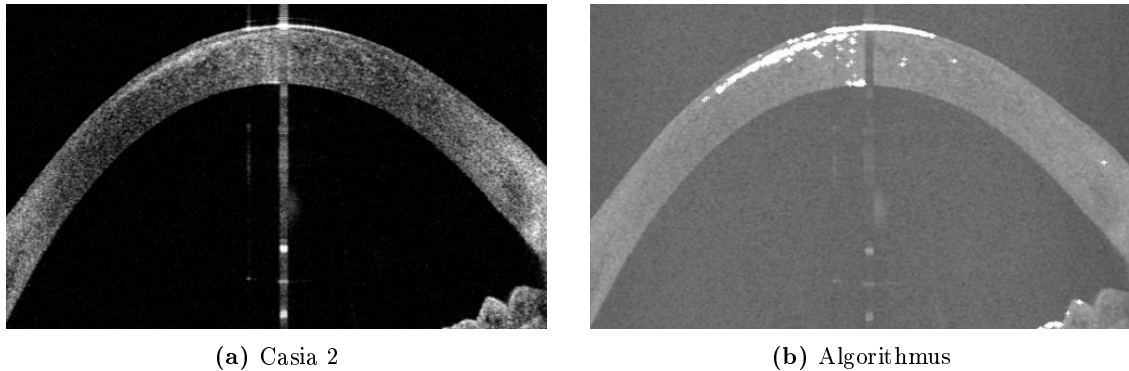


Abbildung 4.7: Schnittbilder einer Messung eines Patienten mit gittriger Hornhautdystrophie

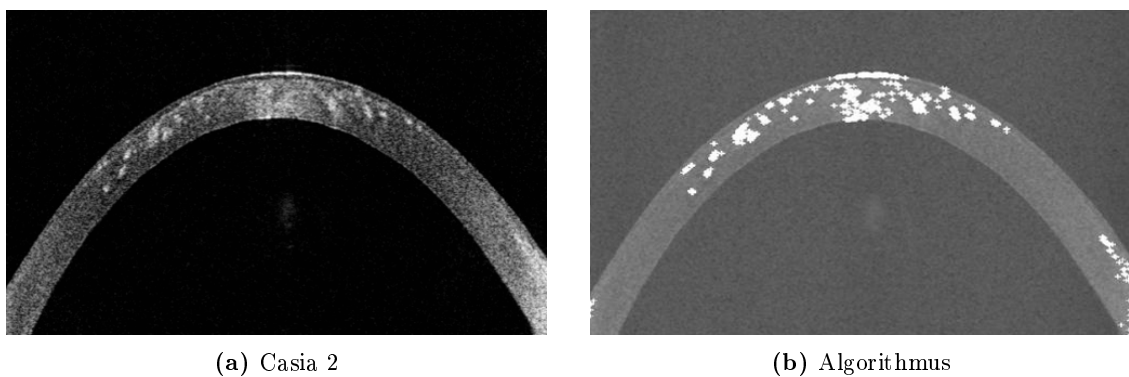


Abbildung 4.8: Schnittbilder einer Messung eines Patienten mit granulärer Hornhautdystrophie

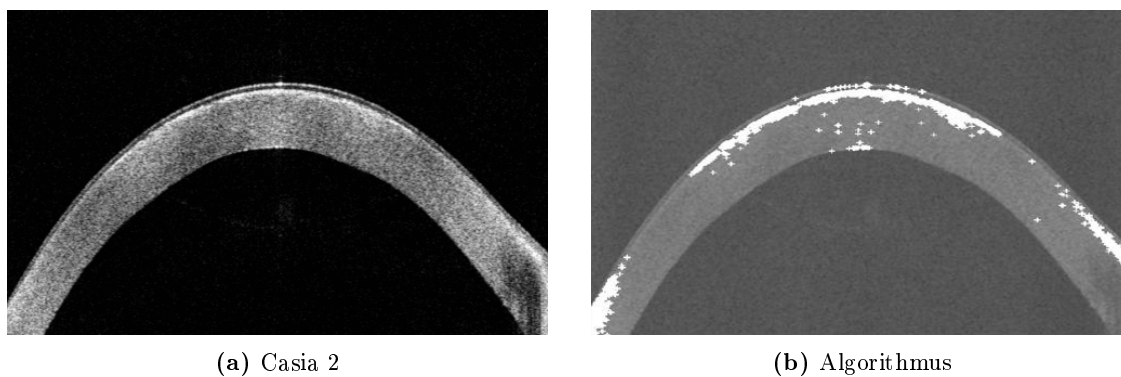


Abbildung 4.9: Schnittbilder einer Messung eines Patienten mit schnyderscher Hornhautdystrophie

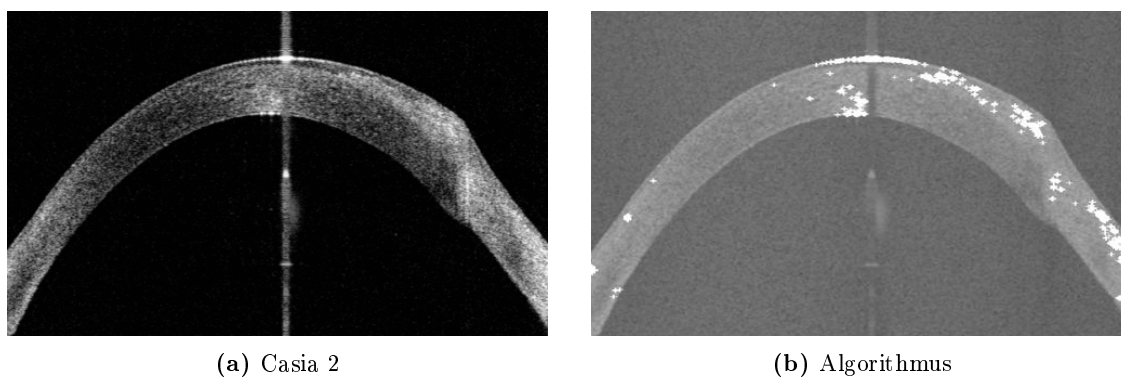


Abbildung 4.10: Schnittbilder einer Messung eines Patienten mit Salzmann'scher nodulärer Hornhautdegeneration

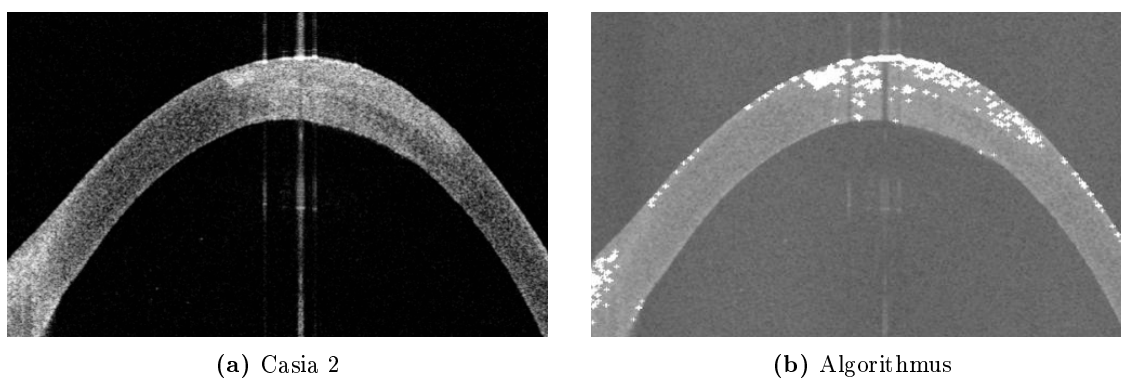
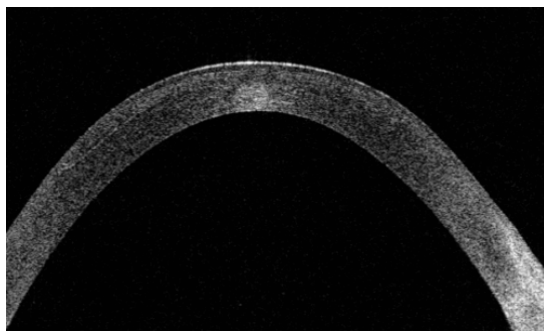
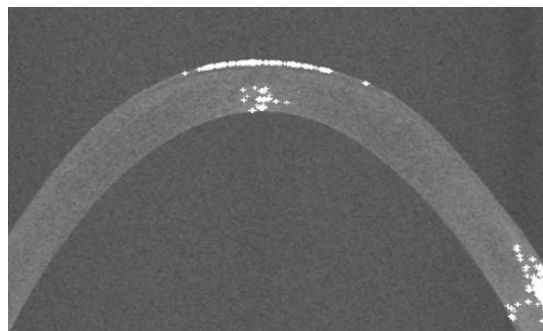


Abbildung 4.11: Schnittbilder einer Messung eines Patienten mit Akanthamöbenkeratitis

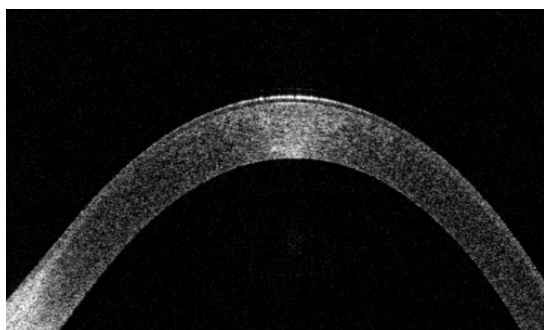


(a) Casia 2

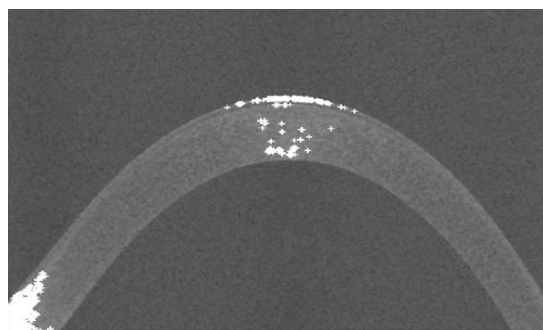


(b) Algorithmus

Abbildung 4.12: Schnittbilder einer Messung eines Patienten nach LASIK

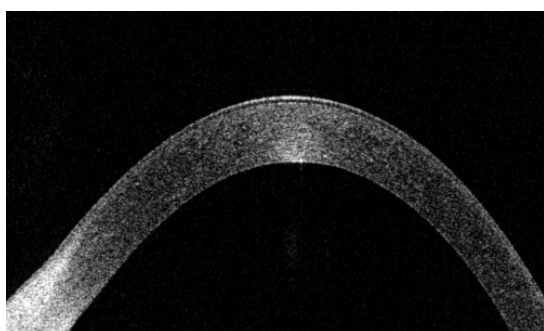


(a) Casia 2

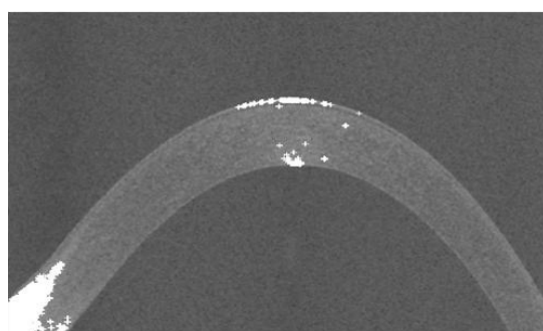


(b) Algorithmus

Abbildung 4.13: Schnittbilder einer Messung des gesunden Probanden 1



(a) Casia 2



(b) Algorithmus

Abbildung 4.14: Schnittbilder einer Messung des gesunden Probanden 2

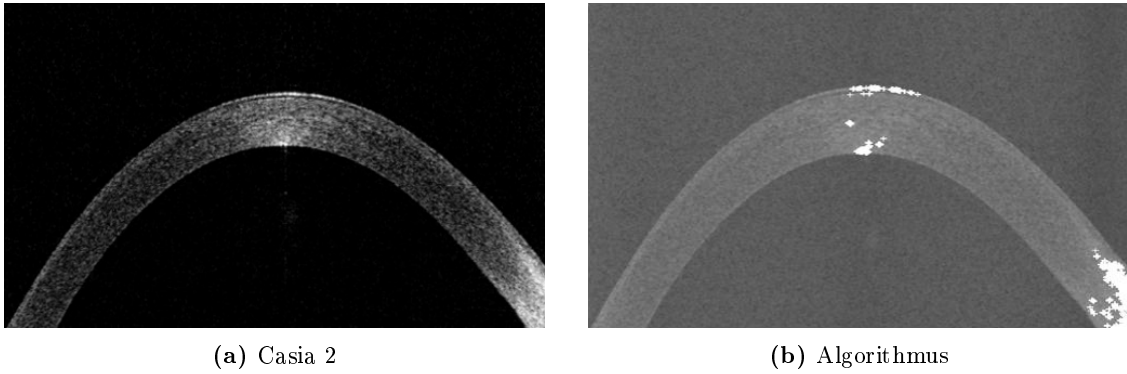


Abbildung 4.15: Schnittbilder einer Messung des gesunden Probanden 3

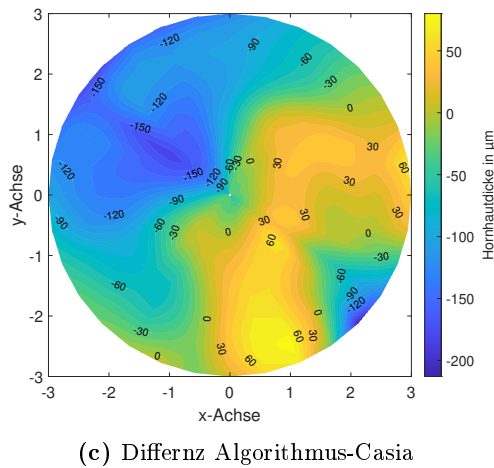
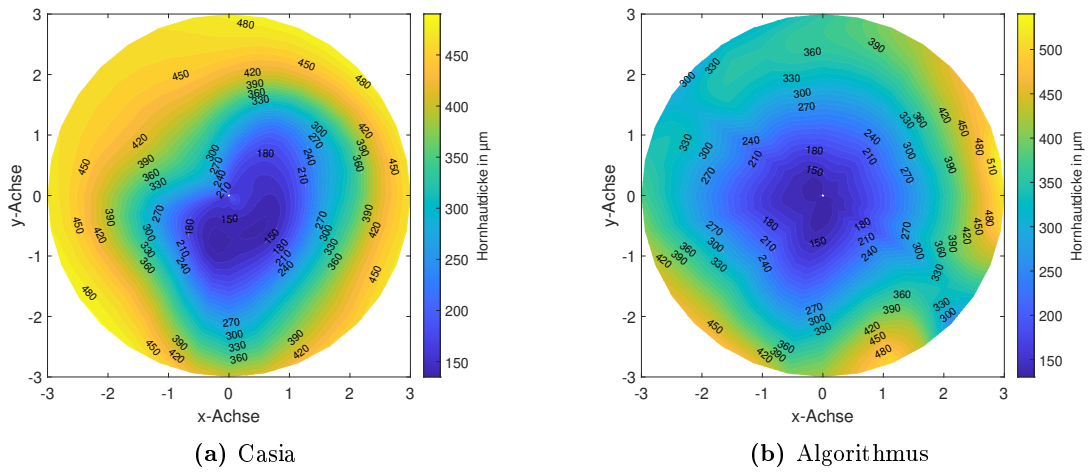


Abbildung 4.16: Hornhautdickenprofile eines Patienten mit Keratokonus

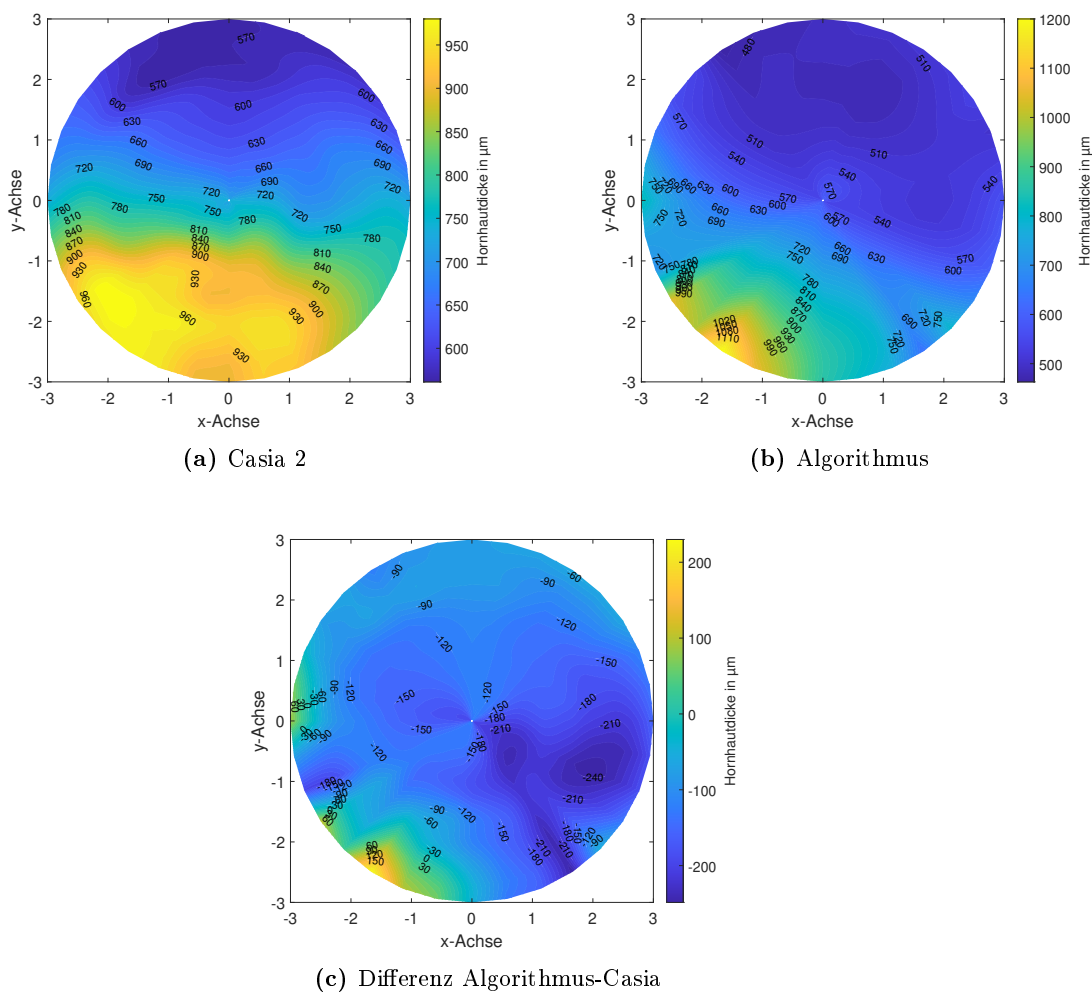


Abbildung 4.17: Hornhautdickenprofile eines Patienten mit Keratoglobus

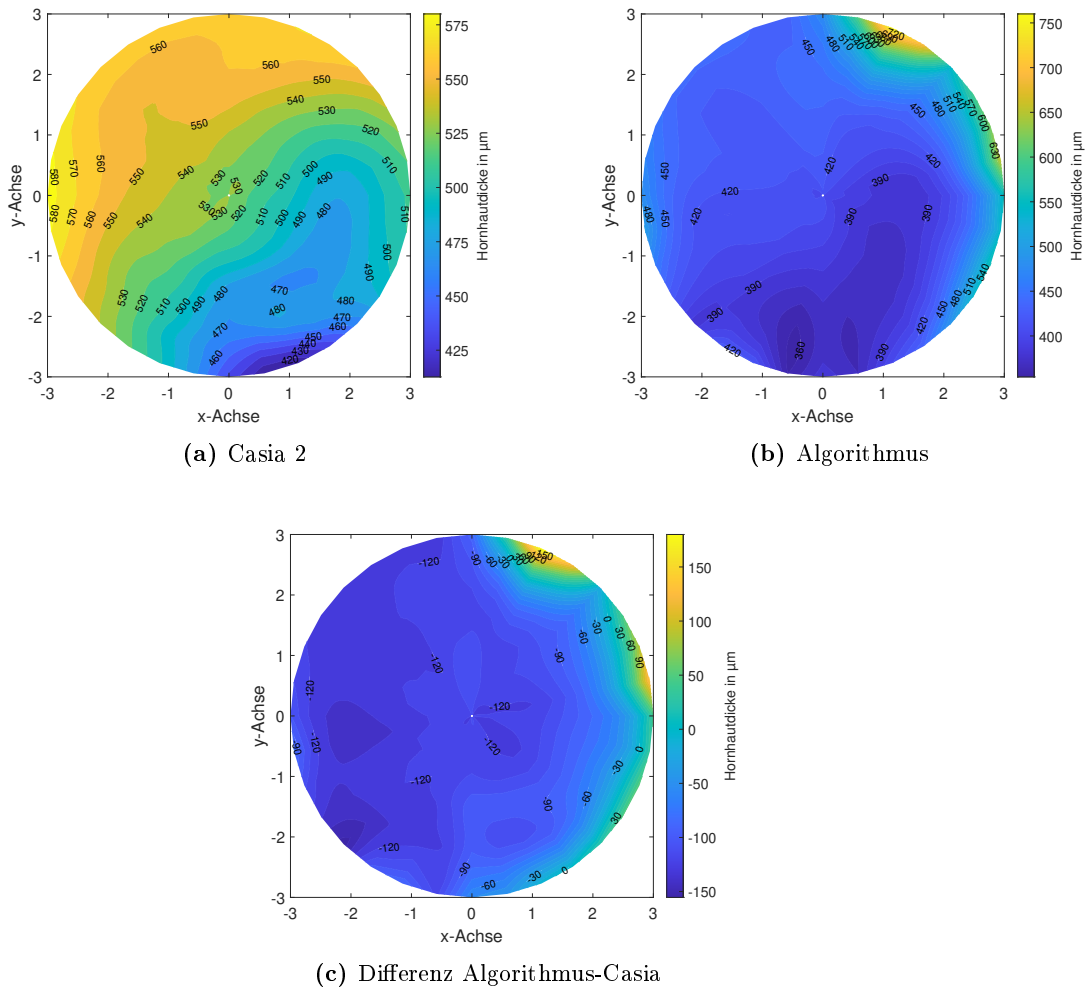


Abbildung 4.18: Hornhautdickenprofile eines Patienten mit pelluzider marginaler Degeneration

4.3 Messungen an Hornhautspenden

4.3.1 Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse des Algorithmus wurde für zehn Spenderhornhäute bei je vier Messungen anhand des Cronbachs α ermittelt. In der nachfolgenden Tabelle sind die Cronbachs α für die Krümmungsradien und die Hornhautdicke aufgelistet:

Tabelle 4.16: Statistische Auswertung von zehn Spenderhornhautmessungen: Cronbachs α für die Krümmungsradien und die zentrale Hornhautdicke bei vier Wiederholungsmessungen

	Rückfläche		Vorderfläche		CCT
	R_f	R_s	R_f	R_s	
Cronbachs α	0.945	0.935	0.931	0.973	0.998

$R_{s,f}$: Steiler/flacher Krümmungsradius der Rück- bzw. Vorderfläche; *CCT* Zentrale Hornhautdicke

4.3.2 Korrektur systematischer Messfehler durch Raytracing

Zur Überprüfung, wie sinnvoll die Durchführung eines Raytracing-Verfahrens bei der Algorithmus-gestützten Auswertung von Spenderhornhäuten ist, wurden die charakteristischen Parameter von sieben Hornhäuten sowohl mit als auch ohne Raytracing bestimmt. Die Mittelwerte M und Standardabweichungen SD der Krümmungsradien und die RMSE-Werte des Vorder- und Rückflächenfits sowie die Hornhautdicke sind in der Tabelle 4.17 für die Berechnung ohne und mit Raytracing angegeben.

Tabelle 4.17: Auswertung ohne/ mit Raytracing: Mittelwerte M und Standardabweichungen SD der steilen/flachen Krümmungsradien $R_{s,f}$ in mm, der zentralen Hornhautdicke CCT in μm und der RMSE-Werte der Vorder- und Rückfläche in μm für sieben Spendergewebe

		Rückfläche		Vorderfläche		CCT	RMSE	
		R_f	R_s	R_f	R_s		Rückfläche	Vorderfläche
Ohne	M	6.69	6.46	7.66	7.53	586.3	9.99	8.00
	SD	0.15	0.14	0.20	0.22	86.73	6.39	2.17
Mit	M	6.69	6.46	7.56	7.44	586.68	9.99	0.85
	SD	0.15	0.14	0.17	0.22	86.90	6.39	0.93

Zusätzlich wurde für jede der sieben Hornhäute die Differenz d zwischen den Ergebnissen der Krümmungsradien und Hornhautdicke mit und ohne durchgeführtes Raytracing berechnet und anschließend gemittelt. Die Mittelwerte der Differenzen und deren Standardabweichung sind in Tabelle 4.18 aufgeführt. Für die Differenz gilt:

$$d = V_{MitRaytracing} - V_{OhneRaytracing} \quad (4.4)$$

Dabei steht V für den entsprechenden Parameter ($R_{s,f}$ der Vorder- bzw. Rückfläche, CCT), der betrachtet werden soll. Für die Auswertung ohne Raytracing benötigt der Algorithmus 2 Minuten, während für eine Berechnung mit Raytracing 6 Minuten erforderlich sind.

Tabelle 4.18: Differenz zwischen Auswertung ohne/ mit Raytracing: Mittelwerte M und Standardabweichungen SD der Differenz der steilen/flachen Krümmungsradien $d(R_{s,f})$ in mm, der zentralen Hornhautdicke $d(CCT)$ in μm für sieben Spendergewebe

	Rückfläche		Vorderfläche		$d(CCT)$
	$d(R_f)$	$d(R_s)$	$d(R_f)$	$d(R_s)$	
M	0	0	-0.10	-0.08	0.37
SD	0	0	0.03	0.01	0.55

4.3.3 Anwendung der Methode

Mithilfe der entwickelten Methode wurden 579 Hornhautspendergewebe bezüglich ihrer tomografischen und pachymetrischen Parameter vermessen und ausgewertet. Es erfolgte die Ausgabe der in Abschnitt 3.5.3 beschriebenen Excel-Tabelle mit den Markierungen auffälliger Spenderhornhäute, der Videos der Schnittbilder mit den eingezeichneten Kreuzen bei erhöhtem Kontrast und der Dickenprofile für jede untersuchte Spenderhornhaut. Tabelle 4.19 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen für die flachen und steilen Krümmungsradien der Vorder- und Rückfläche sowie die zentrale Hornhautdicke. Der Astigmatismus, die Flächenbrechwerte und das Radienverhältnis für die Vorder- und Rückfläche sowie der Keratometerwert können aus den Radien berechnet werden und werden deshalb nicht explizit in Tabelle 4.19 aufgeführt.

Tabelle 4.19: Mittelwerte und Standardabweichungen der steilen/flachen Krümmungsradien $R_{s,f}$ in mm, der zentralen Hornhautdicke CCT in μm und der RMSE-Werte der Vorder- und Rückfläche in μm für 579 Spenderhornhäute

	Mittelung über 579 Hornhäute		RMSE
	R_f	R_s	
Vorderfläche	7.67 ± 0.23	7.42 ± 0.28	1.48 ± 2.76
Rückfläche	6.78 ± 0.27	6.53 ± 0.30	12.84 ± 6.86
CCT	607.51 ± 78.02		

5 Diskussion

5.1 Statistische und systematische Messunsicherheiten

5.1.1 Messungen an einem Phantom

Die Validierung des Algorithmus erfolgte durch die Vermessung eines PMMA-Phantoms. Aufgrund mangelnder Informationen über den Brechungsindex des Kulturmediums konnte die Tiefenauflösung des Systems nicht eindeutig bestimmt werden. Diese ergibt sich aus dem Quotienten der Auflösung in Luft und des Brechungsindex des Kulturmediums. Da sowohl die Zusammensetzung des Kulturmediums unbekannt ist als auch keine Möglichkeit zur Messung des Brechungsindex bestand, wurde der Brechungsindex anhand der Sellmeier-Koeffizienten-Gleichung nach [32] für Dextran 40, aus welchem das Kulturmedium laut Hornhautbank hauptsächlich besteht, bei einer Wellenlänge von 1310 nm, berechnet. Des Weiteren ist nicht bekannt, ob der Lichtstrahl und die mechanischen Einheiten, wie der Scanner des OCTs, exakt kollimiert bzw. ausgerichtet sind. Aus diesen Gründen wurde eine Raumtransformation der Messdaten durch iterative Anpassung der Fitparameter zur Annäherung der Fitergebnisse an die Herstellerangaben durchgeführt.

Der berechnete Krümmungsradius der Phantomvorderfläche wich im Mittel für beide Fitmodelle um 2.7% vom Sollwert ab. Für die Rückfläche ergab sich eine mittlere Abweichung von 1.5% für den sphäro-zylindrischen Fit und 1% für den Zernike-Fit. Die zentrale Dicke des Phantoms wich bei der Auswertung mithilfe des sphäro-zylindrischen Fits nur um 1% von den Herstellerangaben ab, wobei die Abweichung beim Zernike-Fit bei 1.2% lag.

Bei genauerer Betrachtung der Ergebnisse fällt auf, dass sowohl beim Zernike- als auch beim sphäro-zylindrischen Fit der steile Krümmungsradius der Rückfläche stärker von den Herstellerangaben abweicht als der flache. Ein möglicher Grund ist, dass der Scanner des OCTs in der senkrechten und waagerechten Dimension nicht so justiert wurde, dass das Raster beim Raster-Scan äquidistante Abstände aufweist. Die Auswertung des Algorithmus basiert allerdings auf einem solchen Raster. Bei der geräteinternen topografischen Auswertung von Patientmessungen wird vom Hersteller eine unbekannte Kalibrierungsdatei genutzt, um die mögliche Fehljustage des Scanners in den Dimensionen zu korrigieren. Da diese Datei nicht frei zugänglich ist und die Messungen

an Phantom bzw. Spenderhornhaut nicht von der Software des Gerätes ausgewertet werden können, kann keine Korrektur durchgeführt werden. Auch die schon zuvor beschriebene möglicherweise nicht ausreichende Kollimation des Lichtstrahls könnte die Unterschiede zwischen der flachen und steilen Komponente begünstigen. Ein Fehler in der Fertigung des Phantoms kann ausgeschlossen werden, da durch das spanende Fertigungsverfahren auf der Drehbank das Phantom auf jeden Fall eine sphärische Oberfläche aufweist. Beide Komponenten des Radius müssten somit auf jeden Fall denselben Wert aufweisen, auch wenn dieser von den Herstellerangaben abweichen könnte. Ebenfalls kann die Ursache für die Unterschiede zwischen den Radiuskomponenten nicht auf die Positionierung des Phantoms im Halter zurückgeführt werden. Da es sich um eine sphärische Oberfläche handelt, stellt jeder Ausschnitt einer Kugel wieder eine Kugel dar.

Die Diskrepanz zwischen den Komponenten der Rückfläche setzt sich aufgrund des durchgeführten Raytracings an der Vorderfläche fort, wobei die größere Abweichung zu den Herstellerangaben der Vorderfläche ebenfalls vermutlich aus eben diesem Raytracing resultiert. Da die Differenz der Brechungsindizes zwischen umgebenden Kulturmedium und Phantom ins Raytracing einfließt, führt die zuvor beschriebene Ungenauigkeit eben dieser Indizes zu Fehlern im Raytracing. Die minimalen Abweichungen in der zentralen Hornhautdicke zu den Herstellerangaben zeigen jedoch, dass das Raytracing vom Grundprinzip her funktioniert. Im Zentrum des Phantoms ergeben sich keine Unterschiede zwischen der Auswertung mit und ohne Raytracing (vgl. Abschnitt 5.3.2).

5.1.2 Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Fit-Modelle

Simulation

Zur Bestimmung der Güte des Zernike- und sphäro-zylindrischen Fits wurden Zernike- und sphäro-zylindrische Flächen simuliert und durch die beiden Fit-Modelle ausgewertet.

Zernike-Flächen Da die Dezentrierung der Fläche durch Zernike-Polynome nicht berücksichtigt werden kann, wurden in Tabelle 4.2 verschiedene Verfahren zur Zentrierung der simulierten Zernike-Fläche gegenübergestellt. Zunächst wurde als Referenz

keine Zentrierung bei einer verschobenen Fläche durchgeführt, bei der es keine Angaben zum absoluten Fehler x_0, y_0 und z_0 gibt. Die Verschiebung des Apex wird bei diesem Fit als Verkippung der Fläche interpretiert. Anschließend wurde vor dem Fit durch Zernike-Polynome eine Zentrierung der Fläche zum einen durch die Suche des Minimums von z und zum anderen durch den Fit einer Kugel durchgeführt (Abschnitt 3.3.2). Während die Fehler der Winkellage der steilen Achse α für beide Verfahren bei 0 rad liegen, sind die Fehler des Winkels der Verkippung β und seiner Lage γ bei der Zentrierungsmethode mithilfe der Kugel im Vergleich zur Zentrierung durch das Minimum von z geringer. Der Grund dafür liegt darin, dass bei der Bestimmung des Lots die Verkippung der Fläche mit einbezogen wird. Ohne dieses Lot würde der Kugelmittelpunkt mit dem Apex der Fläche bzw. dem Minimum von z zusammenfallen. Diese Berücksichtigung der Verkippung existiert bei der Suche des Minimums von z nicht, sodass der Fehler der Verkippung für dieses Prinzip einen höheren Wert aufweist. Der Fehler der Verschiebung des Apex entspricht beim der Suche des Minimums von z der Abweichung der Koordinaten des Punktes P_{min} von den vorgegebenen Apexkoordinaten x_0, y_0, z_0 und bei der Methode mithilfe der Kugel der Abweichung der Schnittpunktkoordinaten des Lots mit der Fläche von x_0, y_0, z_0 . Aufgrund dessen weisen die Fehler der Apexkoordinaten für die Zentrierungsmethode mithilfe der Kugel im Betrag geringere Werte auf als die Methode der Suche nach dem Minimum von z . Die Fehler der Krümmungsradien R_f, R_s stimmen für alle drei Fits überein. Es lässt sich schlussfolgern, dass die Berechnung der Krümmungsradien, der Verkippung und Verschiebung bei einer nach Zernike-Polynomen erzeugten Fläche mit der Zentrierung durch eine Kugel und dem anschließenden Fit durch Zernike-Polynome zuverlässig ist.

Sphäro-zylindrische Flächen In Tabelle 4.3 wird deutlich, dass die Fehler der Krümmungsradien bei einem Fit einer sphäro-zylindrischen Fläche mit Zernike-Polynomen stärker von den Vorgaben abweichen als in den bisherigen Betrachtungen. Der Grund hierfür liegt darin, dass eine sphäro-zylindrische Fläche nicht mit einer Zernike-Fläche übereinstimmt. Unter Berücksichtigung dieser Information erscheinen die Fehler doch eher gering. Die Verschiebung und Verkippung zeigen auch hier zu große Fehler, als dass sie verlässlich angegeben werden könnten. Anschließend wurde an die sphäro-zylindrische Fläche ein sphäro-zylindrischer Fit angepasst. Die Abweichung der Krümmungsradien liegt bei diesem Fitmodell bei 0 mm. Die Verkippung und Verschiebung weisen für den sphäro-zylindrischen Fit ähnliche, geringe Wert wie beim Zernike-Fit einer Zernike-Fläche mithilfe der Zentrierung durch eine Kugel auf. Es muss aller-

dings beachtet werden, dass die Optimierung der Verkippung und Verschiebung beim sphäro-zylindrischen Fit auf der Methode der kleinsten Quadrate (Abschnitt 3.2.2.3) beruht. Diese Methode wird in Matlab mithilfe der Funktion *lsqnonlin*, welche einen Solver nichtlinearer Gleichungssysteme beinhaltet, realisiert. Die Abfolge der Optimierungsschritte ist aus dem Programmcode der Funktion nicht ersichtlich, sodass die Verschiebung nicht gleichzeitig und unabhängig von der Verkippung bestimmt werden kann. Für eine Verbesserung der Ergebnisse müsste zuerst einzeln die Verschiebung ohne Beachtung der Verkippung mithilfe des Fits berechnet werden. Nach einer Zentrierung der Daten könnte dann der Fit genutzt werden, um die Verkippung ohne Berechnung der Verschiebung zu ermitteln.

Verrauschte Flächen Die Ergebnisse der Auswertung verrauschter Flächen in Tabelle 4.4 zeigen im Vergleich zur Auswertung unverrauschter Flächen nur minimale Abweichungen für beide Fitmodelle.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sowohl bei idealen als auch bei verrauschten, simulierten Flächendaten beide Fitmodelle für die Krümmungsradien, Verschiebung und Verkippung hinreichend genaue Ergebnisse liefern. Zwar hat die Bestimmung der Verkippung und Verschiebung für die Hornhautspendergewebe, die in dieser Arbeit hauptsächlich untersucht werden, keine Bedeutung für die Charakterisierung der Gewebe. Allerdings könnten diese Informationen möglicherweise für andere Einsatzgebiete benötigt werden.

Hornhaut

Nach der Auswertung von 117 Hornhautspendergeweben mit dem sphäro-zylindrischen Fit und dem Zernike-Fit wurde die mittlere absolute Differenz jeweils zwischen den x- und den y-Komponenten des steilen Krümmungsradius beider Fitmodelle für die Vorder- und Rückfläche bestimmt (Tabelle 4.5). Es zeigen sich sehr hohe Differenzen zwischen den beiden Fitmodellen für beide Komponenten und Flächen. Betrachtet man nur die Differenz der mittleren steilen Krümmungsradien in Abschnitt 4.1.2, liegt diese in der erwarteten Größenordnung. Der Grund für die hohe Differenz zwischen den einzelnen Komponenten muss somit mit der Winkellage der steilen Achse α zusammenhängen. Deshalb wurde die Differenz der Achslage der beiden Fitmodelle für jede Hornhaut berechnet und gemittelt. Die mittlere Differenz der Achslagen für die

Rückfläche ergibt 57.98° . Für die Vorderfläche liegt diese bei 53.39° . Werte in diesem Bereich führen eindeutig zu den hohen Abweichungen der x- und y-Komponenten des steilen Krümmungsradius der beiden Fitmodelle. Dies widerspricht im ersten Moment den Ergebnissen der Simulation in Abschnitt 4.1.2, wo die Winkellage der steilen Achse keine Abweichungen zu den Vorgaben für beide Fitmodelle zeigt. Allerdings beträgt das Minimum der Differenz der Achslagen bei der Rückfläche 0.13° und bei der Vorderfläche 0.05° . Das Maximum liegt bei der Rückfläche bei 189.47° und bei der Vorderfläche bei 187.96° . Es ergibt sich demnach eine breite Verteilung der Differenz der Winkellage der steilen Achse für die Flächen. Somit finden sich innerhalb dieser Verteilung sowohl Hornhautspendegewebe, die ähnliche Ergebnisse liefern wie die Simulation, als auch Gewebe, die Ergebnisse weit neben der Simulation ergeben. Ein möglicher Grund könnte die starke Verkipfung und Verschiebung der Hornhautspendegewebe innerhalb der Zellkulturflasche sein, wodurch es zu Fehlern in der Anpassung der Fitmodelle kommen kann. Simuliert wurden zuvor nur Flächen mit Werten im Kleinwinkelbereich, sodass extreme Verkipfungen und Verschiebungen dort nicht betrachtet wurden.

Die mittlere absolute Differenz zwischen den zentralen Hornhautdicken der beiden Fitmodelle zeigt einen geringen Wert. Für beide Fitmodelle wurden dieselben Daten verwendet. Die Daten im Zentrum der Hornhaut wurden bei den Fitmodellen durch das Raytracing nicht verändert, sodass es hier erwartungsgemäß nur zu geringen Unterschieden kommen kann.

Insgesamt wird bei der Auswertung der Hornhautspenden mit beiden Fit-Modellen deutlich, dass, je nachdem welches Modell benutzt wird, sich unterschiedliche Krümmungsradien und Hornhautdicken ergeben. Bisher ist nicht bekannt, welches Modell die geometrischen Eigenschaften einer Hornhaut am geeignetsten widerspiegelt. In der Literatur werden sowohl sphärische [23, 17] als auch Zernike-Fits [22] zur Charakterisierung von Hornhautoberflächen genutzt. Die Simulation zeigt, dass immer das Fit-Modell die genauesten Ergebnisse liefert, durch welches auch die Fläche simuliert wurde. Da es sich bei der Hornhaut um reale Daten handelt, kann auf diese Tatsache nicht zurückgegriffen werden. Auch die Ergebnisse der Vermessung des Hornhaut-Phantoms in 4.1.1 zeigen keine eindeutig Tendenz zu einem Fit-Modell. Es wurde daher willkürlich festgelegt, dass für die Auswertung der Hornhautspendegewebe das sphäro-zylindrische Fit-Modell genutzt wird.

5.1.3 Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener Messsysteme

Vergleich Vorderabschnitts-OCT Casia 2 und Spectral Domain OCT Revo Nx

Beim Vergleich der Darstellungen der Rohdaten (Abb. 4.1) wird deutlich, dass die Datenpunkte der Rückenflächenmessung am Vorderabschnitts-OCT Casia 2 weniger streuen als die Oberflächenmessungen des Spectral Domain OCT Revo Nx. Die Datenpunkte des Revo Nx werden aus der internen Kantenerkennung des Gerätes gewonnen. Diese detektiert eine Kante anhand des Helligkeitsgradienten im aufgenommenen Schnittbild. Bei nicht ausreichendem Gradienten wird eine künstliche, parabolische Kante erzeugt, die nicht dem eigentlichen Verlauf der Hornhaut folgt (Abb. 5.1).

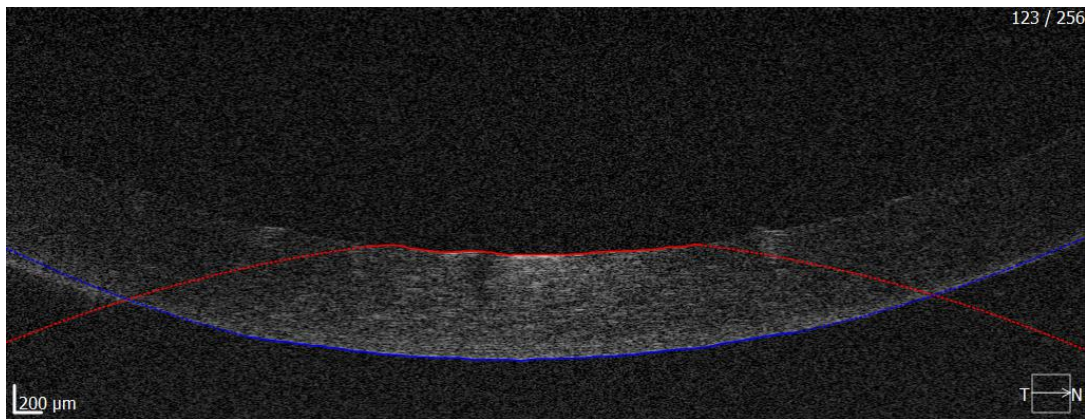


Abbildung 5.1: Schnittbild einer Spenderhornhaut aufgenommen mit dem Spectral Domain OCT Revo Nx im Kulturmedium: Farbige Darstellung der vom Gerät detektierten Vorder (blau)- und Hinterkante (rot)

Dies zeigt sich auch in der Auswertungen der drei Spenderhornhäute in Tabelle 4.6. Die RMSE-Werte, welche die Güte des jeweiligen Fits widerspiegeln, sind bei den Revo Nx Rückflächenmessungen größer als die der Casia 2-Messungen. Es ist zu unterscheiden, ob die Messung am Revo Nx in der unteren oder der oberen Messposition durchgeführt wurde. Die untere Messposition liefert für alle drei Hornhäute einen kleineren RMSE-Wert als die obere Position. Die stärkere Streuung der Datenpunkte am Revo Nx im Vergleich zum Casia 2 bedingt also eine ungenauere Auswertung der Messung, wobei für die untere Messposition eine genauere Berechnung möglich ist. Die Unterschiede in der Fitgüte führen zu stark unterschiedlichen Krümmungsradien in der Rückfläche.

Für die Vorderfläche ergeben sich vergleichbare Radien. Bestände die Möglichkeit, die Rohdaten der Revo Nx Messungen wie die des Casia 2 direkt als Stapel von Grauwertschnittbildern auszugeben, könnten die Messungen mit demselben Algorithmus wie die des Casia 2 ausgewertet werden.

Ein andere Ursache für die Abweichung der Krümmungsradien in den beiden Geräten und den beiden Messpositionen ist der divergente Strahl des Revo Nx aufgrund der entozentrischen Adapterlinse (siehe Abschnitt 3.1.2). Möglicherweise muss für eine genauere Auswertung die Ermittlung des Korrekturfaktors erneut mit einem anderen Prüfkörper durchgeführt werden (siehe Abschnitt 3.3.3). Auch die Angabe des Divergenzwinkels und des axialen Abstandes der Fokuspunkte für beide Messpositionen durch den Hersteller würde die Korrektur der Daten erleichtern und verbessern.

Vergleich verschiedener Messtechniken am Revo Nx und Casia 2

Nach dem Gerätevergleich wurden aufgrund der in Abschnitt 5.1.3 beschriebenen unzureichenden Kantenerkennung, die vom Revo Nx anhand des Helligkeitsgradienten durchgeführt wird, verschiedene Messtechniken am Spectral Domain OCT Revo Nx und Vorderabschnitts-OCT Casia 2 durchgeführt. Durch verschiedene Medien und Beleuchtungen sollte anhand eines Schnittbildes getestet werden, ob unter anderen Bedingungen ein höherer Gradient erreicht werden kann. Dies wurde an einer Spenderhornhaut geprüft.

Zunächst wurde der Einfluss verschiedener Medien auf den Helligkeitsunterschied zwischen Hornhaut und Medium überprüft. Die Effektstärken in Tabelle 4.8 zeigen, dass die Helligkeitsunterschiede zwischen den zentralen Bereichen in Hornhaut und umgebendem Medium für Wasser und Kulturmedium für beide Geräte bei ähnlichen Werten liegen. Die Effektstärke für Hornhaut in Luft liegt im zentralen Bereich beim Casia 2 bei einem um 43% und beim Revo NX bei einem um 18% erhöhten Wert im Vergleich zu Wasser oder Kulturmedium. Im peripheren Bereich der Hornhaut zeigen sich für alle drei Umgebungsmedien geringere Effektstärken, da es aufgrund des fehlenden Zentralreflexes zu geringeren Helligkeitswerten in der Hornhaut kommt. Allerdings liefert der Vergleich der im peripheren Bereich bestimmten Effektstärken wiederum ähnliche Werte für Wasser und Kulturmedium und einen höheren Wert für Luft. Der Grund dafür ist, dass die Lichtabsorption für Wasser und Kulturmedium höher ist als in Luft und es dadurch zur einer Abschwächung der Lichtintensität in Wasser und Kulturmedium kommt. Da Wassermoleküle wesentlich kleiner als die verwendeten Wellenlängen

sind, gilt die Rayleigh-Streuung. Ihre $1/\lambda^4$ -Abhängigkeit sorgt dafür, dass sie nur im kurzwelligen Bereich von Bedeutung ist und im vorliegenden Fall einen verschwindend kleinen Beitrag zur Abnahme der Lichtintensität liefert.

Nachdem gezeigt wurde, dass die Helligkeitsunterschiede zwischen Hornhaut und Umgebungsmedium für Wasser, Luft und Kulturmedium hinreichend große Effektstärken zur Unterscheidung liefern, wurde der Helligkeitsgradient an der Vorder- und Rückfläche in einem Schnittbild der Hornhaut für verschiedene Medien untersucht. Die Effektstärken in Tabelle 4.9 zeigen beim Vergleich von Wasser und Kulturmedium für beide Geräte und Flächen geringe positive Werte. Dies bedeutet, dass der Gradient zwischen Hornhaut und Umgebungsmedium in Wasser minimal stärker ausgeprägt ist als im Kulturmedium. Dies zeigt auch Tabelle 4.7. Somit kann sowohl die Vorder- als auch die Rückfläche im Wasser minimal besser detektiert werden als im Kulturmedium. Beim Vergleich von Luft und Kulturmedium bzw. Luft und Wasser ergeben sich meist größere positive Effektstärken für beide Geräte und Flächen als beim Vergleich von Wasser und Kulturmedium. Die Helligkeitsgradienten an den Flächen sind somit für Luft am größten, sodass die Kanten in Luft am besten erkannt werden können. Dies wird durch Tabelle 4.7 verdeutlicht.

Die Betrachtung der Effektstärken für die Vorder- und Rückfläche weist für alle Medien und beide Geräte einen höheren Gradienten für die Vorder- als für die Rückfläche auf. Der Grund hierfür liegt in der Anordnung der Gewebeschichten in der Hornhaut. Während die Vorderfläche der Hornhaut aus Epithel mit einem Brechungsindex von 1.4 besteht, bildet das Endothel mit einem Brechungsindex von 1.373 die Rückfläche der Hornhaut [57]. Der Reflexionsgrad R_{grad} zwischen zwei Medien mit zwei verschiedenen Brechungsindizes n_1 und n_2 kann im Zentrum der Hornhaut bei senkrechtem Lichteinfall mithilfe folgender Formel berechnet werden:

$$R_{grad} = \left(\frac{n_2 - n_1}{n_2 + n_1} \right)^2 \quad (5.1)$$

Daraus ergeben sich die in Tabelle 5.1 aufgelisteten Reflexionsgrade zwischen den Gewebeschichten der Hornhaut und den Umgebungsmedien im Zentrum der Hornhaut. Es zeigen sich deutlich höhere Grade für die Vorderfläche als für die Rückfläche bei allen Umgebungsmedien. Die daraus resultierenden höheren Helligkeitswerte an der Vorderfläche führen zum höheren Helligkeitsgradienten und somit zu höheren Effektstärken an der Vorderfläche als an der Rückfläche. Auffällig ist, dass beim Vergleich von Wasser und Kulturmedium beim Casia 2 die Rückfläche eine höhere Effektstärke aufweist als die Vorderfläche. Aufgrund des Reflexionsgrades in Tabelle 5.1 dürfte dies

jedoch nicht der Fall sein. Möglicherweise ist hier ein Messfehler aufgetreten. Zusätzlich verdeutlichen die Reflexionsgrade in Luft, die bei ca. 45-fach höheren Werten liegen, die höheren Gradienten und Effektstärken in Luft.

Tabelle 5.1: Reflexionsgrad für das Hornhautepithel und Endothel in verschiedenen Umgebungsmedien

	Reflexionsgrad	
	Ephithel	Endothel
Wasser	$6.01 \cdot 10^{-4}$	$2.19 \cdot 10^{-4}$
Kulturmedium	$5.45 \cdot 10^{-4}$	$1.86 \cdot 10^{-4}$
Luft	0,028	0,025

Durch den erhöhten Helligkeitsgradienten bei Messungen der Hornhaut in Luft kann am Revo Nx eine bessere Kantenerkennung durch das Gerät durchgeführt werden (Abb. 5.2). Möglicherweise könnten durch Messungen in Luft das Ergebnis aus Abschnitt 5.1.3 für das Revo Nx verbessert werden. Da jedoch die Hornhautspendergewebe nicht in Luft gelagert werden können und sie bei jedem Entnehmen einer möglichen Kontamination ausgeliefert sind, kann dieses Vorgehen nicht in der Praxis durchgeführt werden. Das gleiche Ausschlusskriterium für die Messungen in Luft gilt für das Casia 2, da auch hier durch den erhöhten Gradienten in Luft möglicherweise verbesserte Ergebnisse erzielt werden könnten.

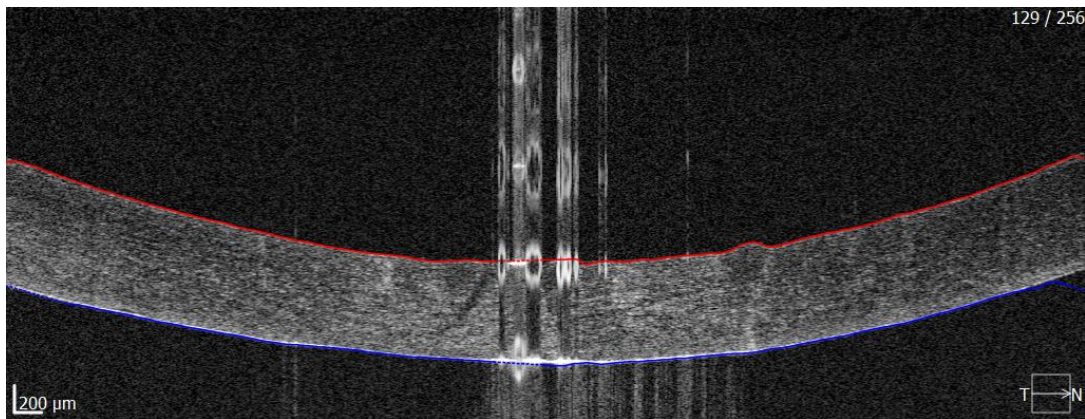


Abbildung 5.2: Schnittbild einer Spenderhornhaut aufgenommen mit dem Spectral Domain OCT Revo Nx in Luft: Farbige Darstellung der vom Gerät detektierten Vorder- (blau) und Rückfläche (rot)

Eine Erhöhung des Helligkeitsgradienten durch die Mittlung über mehrere Schnittbilder konnte am Casia 2 geprüft und nicht bestätigt werden. Zwar erhöht sich durch die Mittlung die Effektstärke des Helligkeitsunterschieds zwischen dem umgebenden Medium und der Hornhaut sowohl für den peripheren als auch den zentralen Bereich (Tab. 4.10), jedoch bleiben die Effektstärken des Gradienten in derselben Größenordnung wie ohne Mittlung (Tab. 4.11). Eine Überprüfung mit dem Revo Nx konnte nicht durchgeführt werden, da zur untersuchten Spenderhornhaut nur eine Messung am Gerät vorlag. Es wird jedoch davon ausgegangen, dass das Revo Nx ein ähnliches Verhalten wie das Casia 2 zeigt, sodass durch Wiederholungsmessungen die Kantenerkennung am Revo Nx nicht verbessert werden kann.

Im Anschluss an die Betrachtung verschiedener Medien folgte die Untersuchung bei verschiedenen Beleuchtungen. Da die spektrale Intensitätsverteilung des Raumlichtes, welches sich aus der Sonneneinstrahlung durch die Fenster des Raumes und die Beleuchtung durch Leuchtstoffröhren zusammensetzt, Anteile im Bereich der Zentralwellenlänge des Revo Nx (830 nm) aufweist, werden die Messungen bei diesem Gerät durch das Raumlicht beeinflusst. Die Effektstärken beim Vergleich von Raumlicht und eines übergestülpten Pappkartons zeigen daher beim Revo Nx zu erwartende negative Werte für beide Flächen, wobei die Vorderfläche einen negativeren Wert aufweist als die Rückfläche. Dies zeigt, dass die Gradienten zum einen bei einer Abdeckung mit einem Pappkarton stärker ausgeprägt sind als beim Raumlicht und somit die Kanten leichter erkannt werden können. Zum anderen wird durch den negativeren Wert der Vorderfläche erneut die zuvor beschriebene höhere Gradientenstärke aufgrund verschiedener Brechungsindizes in den Gewebeschichten der Hornhaut deutlich. Die jeweiligen Gradientenstärken sind in Tabelle 4.12 zu finden. Anders verhält es sich beim Casia 2, wo beide Flächen sehr kleine positive Werte ausweisen. Es zeigt sich keine klare Tendenz, ob eine Messung bei Raumlicht oder mit Abdeckung durch einen Pappkarton sinnvoller ist. Die Messungen am Casia 2, dessen Zentralwellenlänge bei 1310 nm liegt, werden weder durch das Raumlicht noch die Sonneneinstrahlung beeinflusst. Es gibt nur minimale Überschneidungen der Spektren.

Beim Vergleich einer kompletten Abdeckung des Gerätes mit Raumlicht bzw. Pappe zeigen beide Geräte und Flächen positive Werte, sodass die komplette Abdeckung in allen Fällen eine verbesserte Kantenerkennung ermöglicht. Auch hier liegen die Werte der Vorderfläche oberhalb der Werte der Rückkante. Auffällig ist, dass die Effektstärken am Revo Nx für den Vergleich von Abdeckung und Raumlicht größer sind als die beim Vergleich von Abdeckung und Pappe, während die Effektstärken am Casia 2 den umgekehrten Effekt zeigen. Erwartungsgemäß sollte der Unterschied zwischen

Raumlicht und Abdeckung größer sein als zwischen Raumlicht und Pappe, so wie es die Effektstärken am Revo Nx zeigen. Sollte es bei der Messung mit Pappabdeckung zu Messfehlern gekommen sein, so würden sich diese wohl auf den Vergleich mit Raumlicht als auch mit Abdeckung auswirken.

Zusammenfassend wäre es möglich durch Abdeckung der Geräte den Helligkeitsgradienten zu erhöhen. In der Anwendung hat sich gezeigt, dass auch ohne Abdeckung des Casia 2 der Gradient ausreicht, um mithilfe des entwickelten Algorithmus eine Kantenerkennung durchzuführen. Möglicherweise könnte die Kantenerkennung durch die Abdeckung verbessert werden, jedoch steht dazu in Relation der vermehrte Zeitaufwand für die Messung in der Ambulanz der Klinik. Da das Gerät zeitgleich sowohl für Forschungszwecke als auch für routinemäßige Patientenmessungen genutzt wird, sollte die Arbeitszeit am Gerät möglichst gering gehalten werden.

5.2 Messungen an Patienten/Probanden

5.2.1 Vergleich der Ergebnisse zweier Analyseverfahren

Drei Probandenaugen wurden zur Überprüfung der Genauigkeit des Algorithmus sowohl durch die Software des Vorderabschnitts-OCTs Casia 2 als auch mithilfe des Algorithmus bezüglich der Flächenbrechwerte der Vorder- und Rückfläche der Hornhaut sowie der Stärke und Lage des Astigmatismus ausgewertet. Ebenfalls erfolgte eine Bestimmung der zentralen Hornhautdicke.

Die Software des Casia 2, die ausschließlich die Daten des Corneal Map Scans auswerten kann, liefert für alle drei Augen physiologische Werte für die Brechwerte der Flächen, den Astigmatismus und die zentrale Hornhautdicke. Für die Algorithmusgestützte Auswertung gibt es Unterschiede in den Ergebnisse je nachdem, ob der Corneal Map Scan oder der RasterScan ausgewertet und welches Fitmodell benutzt wurde. Um die Ergebnisse der Tabellen 4.14 und 4.15 miteinander vergleichen zu können, wurden für jedes Auge, jede Fläche und jedes Analyseverfahren (Casia-Software, Zernike-

Fit, sphäro-zylindrischer Fit) für beide Scans nach der Humphrey Notation [60] der mittlere Brechwert MF und Stärke des Astigmatismus Cyl berechnet:

$$MF = \frac{F_s + F_f}{2} \quad (5.2)$$

$$C_0 = (F_s - F_f) \cdot \cos(2\alpha) \quad (5.3)$$

$$C_{45} = (F_s - F_f) \cdot \sin(2\alpha) \quad (5.4)$$

$$Cyl = \sqrt{C_0^2 + C_{45}^2} \quad (5.5)$$

Dabei bezeichnen $F_{s,f}$ die steilen und flachen Flächenbrechwerte, α die Achslage des Astigmatismus und $C_{0,45}$ die Komponente des Astigmatismus in 0° und 45° . Anschließend wurden die Differenzen zwischen den Werten der Casia-Software und dem Zernike-Fit bzw. dem sphäro-zylindrischen Fit für beide Flächen und Scans berechnet und über die Anzahl der untersuchten Augen gemittelt. Dies wurde ebenfalls für die zentrale Hornhautdicke durchgeführt. Es ergaben sich die in Tabelle 5.2 aufgelisteten Werte.

Tabelle 5.2: Differenzen der mittleren Brechwerte MF in Dioptrien, der zentralen Hornhautdicke CCT in μm und der Stärke des Astigmatismus Cyl in Dioptrien zu den Werten der Casia-Software als Mittelung über drei Probandenaugen für den Corneal Map Scan bzw. Rasterscan bei durchgeführtem Zernike-Fit bzw. sphäro-zylindrischen Fit

	Augen		Zernike			Sphäro-zylindrisch		
			MF	Cyl	CCT	MF	Cyl	CCT
Corneal Map Scan	1	Vorderfläche	4.18	0.64	23.00	1.74	0.36	26.00
		Rückfläche	0.60	0.24		0.00	0.00	
	2	Vorderfläche	3.73	0.72	24.00	0.08	1.04	30.00
		Rückfläche	0.98	0.20		0.35	0.13	
	3	Vorderfläche	4.12	0.69	28.00	0.29	0.78	35.00
		Rückfläche	0.78	0.29		0.30	0.20	
Rasterscan	1	Vorderfläche	3.12	0.74	35.00	1.44	0.24	75.00
		Rückfläche	0.75	0.17		0.00	0.20	
	2	Vorderfläche	7.13	4.20	33.00	3.53	1.39	79.00
		Rückfläche	0.3	0.20		0.35	0.27	
	3	Vorderfläche	1.11	0.70	30.00	0.61	0.42	54.00
		Rückfläche	0.50	0.02		0.60	0.18	

Obwohl die Kantendetektion und der Fit zur Bestimmung der Krümmungsradien beim Casia 2 aufgrund fehlender Informationen durch den Gerätehersteller unbekannte Arbeitsschritte darstellen, werden für die nachfolgende Diskussion die Ergebnisse der Casia-Software als korrekte Darstellung der untersuchten Probandenhornhaut betrachtet. Wie bereits in vorherigen Arbeiten [74, 75] gezeigt wurde, korrelieren die Topografieergebnisse der Casia-Software gut mit denen anderer Topografiegeräte wie der Pentacam (OCULUS Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Germany) und der Scheimpflug Kamera Galilei G6 (Zieler Ophthalmic Systems AG, Port, Schweiz). Die Betrachtung der Ergebnisse der Casia-Software als Referenzwert ist somit sinnvoll. Ebenfalls ist zu beachten, dass die Keratometerwerte der Casia-Software nur anhand von durch den Corneal Map Scan ermittelten Höhendaten, die auf einem Kreis mit einem Durchmesser von 2.5 mm – 3 mm liegen, berechnet werden. Die Auswertung durch den Algorithmus erfolgt auf einer Fläche mit einem Durchmesser von 8 mm. Allein diese unterschiedlichen oder unbekanntenen Arbeitsschritte können zu Differenzen zwischen den Ergebnissen der Casia-Software und denen des Algorithmus führen.

Tabelle 5.2 zeigt, dass es keine klare Tendenz der Abweichungen der mittleren Brechwerte und der Stärke des Astigmatismus der Vorder- und Rückfläche zur Casia-Software zu einem der beiden durchgeführten Scans gibt. Bei der Betrachtung von beispielsweise Auge 1 zeigt der mittlere Brechwert der Vorderfläche eine geringe Abweichung zur Casia-Software beim Raster-Scan, während der mittlere Brechwert der Rückfläche dieses Auges eine geringere Abweichung beim Corneal Map Scan aufweist. Bei der Stärke des Astigmatismus dieses Auges verhält es sich genau umgekehrt. Die anderen untersuchten Probanden zeigen ein ähnliches, nicht eindeutiges Verhalten. Es wäre zu erwarten, dass die Abweichungen beim Corneal Map Scan geringer ausfallen, da die Casia-Software wie bereits erwähnt die Höhendaten des Corneal Map Scans auswertet. Beide Analyseverfahren nutzen somit dieselben Daten. Das vorliegende Ergebnis sollte durch die Vermessung anderer Probanden erneut geprüft werden. Anders verhält es sich bei der zentralen Hornhautdicke. Hier zeigt sich eindeutig die geringere Abweichung zur Casia-Software beim Corneal Map Scan. Ein vom Gerät unabhängiger Vorteil des Corneal Map Scans ist, dass aufgrund der sternförmigen Abrasterung in jedem Schnittbild die Fixationsachse als ausgezeichneter Punkt vorliegt. Die starke Lichtreflexion aufgrund des senkrechten Einfalls kann sehr gut zur Ausrichtung der einzelnen Schnittbilder zueinander genutzt werden. Der Raster-Scan zeigt die Fixationsachse nur im mittleren Schnittbild, sodass eine Bewegung des Probanden Auges zu Sprüngen zwischen den Höhendaten in z-Richtung führen kann. Die Durchführung eines zweiten Raster-Scans, der um 90° gegenüber dem ersten gedreht ist und anschlie-

ßend mit dem ersten Scan verrechnet wird, könnte eine Lösung für dieses Problem sein. Allerdings setzt dies eine sehr gute Gerätejustierung voraus. Der Rasterscan hat jedoch nicht nur Nachteile gegenüber dem Corneal Map Scan. Im Vergleich zu diesem weist der Rasterscan eine höhere Auflösung in der Peripherie auf, sodass dieser zu genaueren Ergebnissen in diesem Bereich führt. Da durch die Casia-Software aber nur die Auswertung des Corneal Map Scans möglich ist, kann diese Hypothese nicht überprüft werden.

Der Vergleich der Abweichungen für den mittleren Brechwert und die Stärke des Astigmatismus zur Casia-Software zeigt für die beiden durchgeführten Fitmodelle in Tabelle 5.2 zumeist geringere Werte für den sphäro-zylindrischen Fit. Einzig die zentrale Hornhautdicke weist beim sphäro-zylindrischen Fit eine höhere Differenz auf als beim Zernike-Fit. Allerdings liegt der Unterschied zwischen den Abweichungen für die zentrale Hornhautdicke beim Zernike- und sphäro-zylindrischen Fit für den Corneal Map Scan bei ca. $5\ \mu\text{m}$. Ein Unterschied in dieser Größenordnung kann vernachlässigt werden, sodass für die zentrale Hornhautdicke beide Fitmodelle beim Corneal Map Scan gleich gute Ergebnisse im Vergleich zur Casia-Software liefern. Die Abweichung beim Rasterscan liegt bei ca. $37\ \mu\text{m}$. Wie zuvor beschrieben zeigt der Rasterscan die Fixationsachse nur im zentralen Schnittbild, sodass Bewegungen des Probandenauges zu Sprüngen in den Höhendaten führen können. Dies könnte die größeren Abweichungen der Hornhautdicke beim Rasterscan erklären.

Die geringere Differenz zur Casia-Software beim sphäro-zylindrischen Fit bedeutet zwar, dass durch diesen im Algorithmus die Flächenbrechwerte der Probandenhornhaut näher am gewählten Referenzwert, welcher den Ergebnissen der Casia-Software entspricht, liegen. Allerdings gilt dies nur, wenn sich die Fixationsachse sowohl in der Casia-Software als auch im Algorithmus im Zentrum des jeweiligen Koordinatensystems befindet. Bei vorliegender Dezentrierung und Verkippung der Probandenhornhaut kann aufgrund der unbekanntem Reihenfolge der Winkel- und Verschiebungsoptimierung beim sphäro-zylindrischen Fit die Dezentrierung nicht gleichzeitig und unabhängig von der Verkippung bestimmt werden. Es müsste zunächst einzeln die Dezentrierung ohne Beachtung der Verkippung mithilfe des Fits berechnet werden. Nach einer Zentrierung der Daten würde der Fit dann ohne Berechnung der Dezentrierung zur Ermittlung der Verkippung genutzt werden. Eine Berechnung der Lage und Stärke des Astigmatismus wäre sonst mit dem sphäro-zylindrischen Fit nicht möglich. Auch beim Zernike-Fit müsste die Dezentrierung vor dem eigentlichen Fit herausgerechnet werden, wenn sich die Fixationsachse nicht zentral im Koordinatensystem befindet (vgl. Abschnitt 5.1.2). Im Gegensatz zum sphäro-zylindrischen Fit wird die Winkeloptimierung

beim Zernike-Fit jedoch gleichzeitig für alle Winkel durchgeführt. Ein Nachteil dieser Fitmethode ist allerdings, dass der bestimmte Radius bzw. Flächenbrechwert von der Anzahl der zur Optimierung benutzten Polynome abhängig ist. Je mehr Polynome in Formel 3.19 genutzt werden, desto geringer ist der RMSE-Wert des Fits und desto genauer ist das Ergebnis [64]. Beide Fitmodelle könnten durch die Einführung sogenannter Penalty-Funktionen, bei denen bestimmte Parameter des Fits mehr gewichtet werden, verbessert werden. Dadurch könnte beispielsweise die doppelte Durchführung des Fits beim sphäro-zylindrischen Modell durch unterschiedliche Gewichtungen der Verkipfung und Dezentrierung umgangen werden.

Ein Vergleich der Hornhautdickenprofile in Abbildung 4.6 zeigt, dass sowohl der Raster- als auch der Corneal Map Scan bei der Auswertung mit dem sphäro-zylindrischen Fitmodell eine der Gerätesoftware sehr ähnliche Verteilung der Dicken liefern. Beide Profile verdeutlichen wie die Gerätesoftware, dass sich der dünnste Bereich der betrachteten Probandenhornhaut bei einer x/y -Position von $(1,0)$ befindet. Die Profile der beiden anderen Probanden zeigen gleiche Ergebnisse. Das Dickenprofil einer Hornhaut, die mithilfe des Algorithmus ausgewertet wurde, zeigt also verlässlich für die drei untersuchten Probanden die dünnsten und dicksten Bereich der Hornhaut an. Für genauere Aussagen müsste eine größere Anzahl an Probanden untersucht werden, die sich trotz langer Messdauer für die Untersuchung bereit erklären (siehe Abschnitt 3.4.1).

5.2.2 Identifikation von Hornhautpathologien

Das Vermögen des Algorithmus zur Darstellung und Erkennung von Hornhautpathologien wurde an Patienten bewertet, bei denen eine Hornhauterkrankung diagnostiziert und ein Corneal Map Scan am Vorderabschnitts-OCT Casia 2 durchgeführt wurde.

Die Abbildungen 4.7 bis 4.11 zeigen Messungen, bei denen dem Patienten eine Hornhautdystrophie, eine Salzmann'sche noduläre Hornhautdegeneration oder eine Akanthamöbenkeratitis diagnostiziert wurde. Anhand der Anordnung und Dichte der weißen Kreuze, durch die der Algorithmus Pixel mit einem erhöhten Helligkeitswert gegenüber den umgebenden Helligkeitswerten markiert hat, können die Messungen den jeweiligen Erkrankungen zugeordnet werden. Zudem zeigt die Dichte der Kreuze das Ausmaß der Erkrankung an. Der erhöhte Helligkeitswert dieser Pixel im Schnittbild der Hornhaut entsteht durch die höhere optische Dichte der bei diesen Erkrankungen im Stroma vorliegenden, pathologischen Strukturen (vgl. Abschnitt 2.1). Anhand der vorliegenden

Helligkeitswerte dieser Strukturen bei den Patientenmessungen konnte der Grenzwert, ab dem die Kreuze aufgezeigt werden, evaluiert werden.

Die Darstellung eines Flaps nach einer LASIK war mithilfe der Kreuze leider nicht möglich (Abb. 5.3). Die linienförmige Anordnung der Kreuze zeigt nicht wie gewünscht den Flap der LASIK Operation, sondern die Vorderfläche bestehend aus Epithelzellen der Hornhaut. Sie ist in allen Abbildungen 4.7 bis 4.12 zu finden und wird irrtümlich vom Algorithmus markiert. Die Kennzeichnung des tiefer im Stroma liegenden Flaps kann aufgrund des zu geringen Helligkeitsunterschieds des Flapschnittes nicht erfolgen.

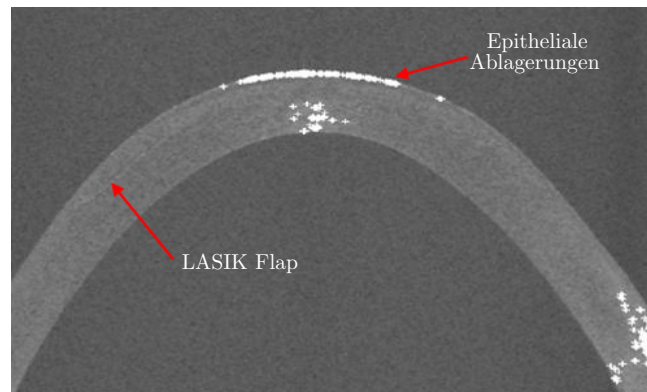


Abbildung 5.3: Schnittbild einer Messung eines Patienten nach LASIK mit Kennzeichnung der vom Algorithmus markierten Epithelzellen und des LASIK Flaps

Ein weiterer Nachteil dieser Methodik besteht im zentralen Bereich der Messungen. Durch die Zentralreflexion des Lichtstrahls der Hornhaut entstehen vermehrt Pixel erhöhter Helligkeit an der Rückfläche der Hornhaut. Diese werden vom Algorithmus fälschlicherweise auch als pathologische Strukturveränderungen erkannt (Abb. 4.7 bis 4.12).

Sowohl die Markierungen der Epithelzellen als auch des Zentralreflexes finden sich ebenfalls in den Abbildungen der gesunden Probanden (Abb. 4.13 bis 4.15). Neben diesen Kennzeichnungen und Effekten am Rand der Bilder, wo die Hornhaut in die Sklera übergeht, finden sich bei den Probandenmessungen keine weiteren Auffälligkeiten. Der Algorithmus ist demnach in der Lage für dezentrale Bereiche im Stroma pathologische Strukturen darzustellen und dadurch die Zuordnung einer Hornhauterkrankung zu unterstützen. Möglicherweise kann durch die Anpassung des Grenzwertes für die Darstellung der Kreuze im Zentrum der Rückfläche und des Epithels der Hornhaut die Begrenzung auf einen bestimmten Bereich aufgehoben werden. Das Zentrum der Rückfläche der Hornhaut wird individuell für jede Hornhaut durch die aus dem

Algorithmus bekannte Apexposition x_0, y_0, z_0 bestimmt.

Die Abbildungen 4.16 bis 4.18 zeigen die Dickenprofile von Patientenhornhäuten mit diagnostiziertem Keratokonus, Keratoglobus oder Pelluzide marginale Degeneration. Durch die farbige Darstellung der verschiedenen Dicken mithilfe eines Konturplots kann das Profil einer der genannten Erkrankungen zugeordnet werden. Beim Vergleich der vom Algorithmus und der von der Casia-Software erzeugten Dickenprofile erscheinen Differenzen zwischen den Profilen, die für den Keratokonus zwischen -200 und $50 \mu\text{m}$, für den Keratoglobus zwischen -200 und $200 \mu\text{m}$ und für die PMD zwischen -150 und $150 \mu\text{m}$ liegen. Diese Differenzen entstehen, obwohl die Hornhautdicke sowohl im Algorithmus als auch in der Casia-Software senkrecht zur Vorderfläche nach durchgeführtem Raytracing bestimmt wird. Dafür gibt es verschiedene Ursachen. Das Raytracing wird in der Casia-Software zweidimensional und im Algorithmus dreidimensional durchgeführt. Dies führt im Fall der Casia-Software zu Problemen bei Patienten, deren Hornhaut durch irreguläre, nicht rotationssymmetrische Krümmungen zu Abbildungsfehlern wie Koma und Astigmatismus führt. Die Lichtstrahlen treten bei diesen Patienten bei der Brechung an der Vorderfläche aus der zweidimensionalen Ebene, die durch den betrachteten Meridian aufgespannt wird, heraus. Ein zweidimensionales Raytracing führt demnach zu ungenauen Rückflächen und somit auch falschen Hornhautdicken bei Hornhäuten mit Keratokonus, Keratoglobus und PMD. Eine andere Ursache für die Differenzen zwischen dem Algorithmus und der Casia-Software liegt im unbekanntem Vorgehen bei der Kantenerkennung und dem Fit der Kanten in der Casia-Software (vgl. Abschnitt 5.2.1). Für den Fit der Kanten wurde in den einzelnen Meridianen im Algorithmus ein zweidimensionales Polynom 4. Ordnung genutzt. Allerdings bewirken die Eigenschaften dieser Fitfunktion, dass es zu Oszillationen der Funktion und somit zu Ungenauigkeit am Rand des Fits kommt. Diese Ungenauigkeiten zeigen sich auf den Abbildungen 4.16 bis 4.18 in Form der gelben Bereiche in den Dickenprofilen des Algorithmus. Zudem bewirken die Fitfehler im Algorithmus die erhöhten Differenzen zur Casia-Software, die ebenfalls als gelbe Bereiche im Differenzdickenprofil des Algorithmus und der Casia-Software aufgezeigt werden. Trotzdem stellt die Darstellung der Hornhautdicke als Konturplot ein sinnvolles Tool zur Erkennung von Pathologien dar, denn die Ungenauigkeiten durch den zweidimensionalen Polynomfit zeigen sich nur in den Vergleichsergebnissen mit den Casia-Software. Der zur Aufwertung von Hornhautspendergewebe genutzte Algorithmus verwendet hingegen dreidimensionale Flächenfits ohne Randartefakte.

5.3 Messungen an Hornhautspenden

5.3.1 Reproduzierbarkeit

Da die Cronbach α für die Krümmungsradien und die zentrale Hornhautdicke in Tabelle 4.16, welche für zehn Spenderhornhäute mit je vier Messungen ermittelt wurden, für jeden Parameter einen Wert größer als 0.9 aufweisen, können die Ergebnisse des Algorithmus als konsistent angesehen werden. Eine mehrfache Messung einer Spenderhornhaut zeigt somit bei der Auswertung durch den entwickelten Algorithmus dasselbe Ergebnis.

5.3.2 Korrektur systematischer Messfehler durch Raytracing

Beim Vergleich der Ergebnisse der sieben Spenderhornhäute, die sowohl mit als auch ohne Raytracing ausgewertet wurden, ergeben sich, wie zu erwarten, steilere Krümmungsradien der Vorderfläche, keine Veränderungen der Radien in der Rückfläche und eine nahezu unveränderte zentrale Hornhautdicke bei der Auswertung mit Raytracing (Tab. 4.17). Die mittlere Differenz zwischen den Ergebnissen der Krümmungsradien mit und ohne Raytracing zeigt bei der Rückfläche einen Wert von null. Für die Vorderfläche ergibt sich beim steilen Radius eine Differenz von -0.08 mm und beim flachen Radius ein Wert von -0.1 mm. Da die Differenz nach Gleichung 4.4 berechnet wurde, zeigt das negative Vorzeichen der Differenzen der Vorderfläche ebenfalls, dass das Raytracing zu steileren Krümmungsradien dieser Fläche führt. Die Differenz der zentralen Hornhautdicke beträgt $0.37 \mu\text{m}$ und ist somit im Vergleich zur Hornhautdicke selbst vernachlässigbar. Da im Zentrum der Hornhaut der Eingangslichtstrahl senkrecht auf die Hornhaurückfläche trifft, wird der Strahl nach dem Brechungsgesetz an dieser Stelle nicht gebrochen. Der Strahl folgt im Zentrum somit beim Raytracing demselben Weg. Ebenfalls entspricht die Wegstrecke zwischen Rück- und Vorderfläche mit Raytracing der ohne Raytracing, sodass die Hornhautdicke an dieser Stelle gleich ist. Die geringe Abweichung der zentralen Hornhautdicke bestätigt dies. Der niedrigere RMSE-Wert des Vorderflächen-Fits mit Raytracing ist auf die Konstruktion der Vorderfläche aus der Rückfläche zurückzuführen, da hierbei eine wesentlich genauere, weniger verrauschte Fläche errechnet wird als zuvor in der Messung detektiert wurde.

5.3.3 Anwendung der Methode

Die Auswertung der 579 vermessenen Spenderhornhäute ergibt im Mittel für die Krümmungsradien und zentrale Hornhautdicke physiologische Ergebnisse (Tab. 4.19). Durch die farbige Markierung der Spenderhornhäute, die außerhalb der zwei- bzw. dreifachen Standardabweichung für die Krümmungsradien und Hornhautdicke liegen, können ihre Anzahlen in Tabelle 5.3 aufgelistet werden.

Tabelle 5.3: Anzahl der Spenderhornhäute, die von 579 vermessenen Geweben außerhalb der zwei- bzw. dreifachen Standardabweichung SD für die steilen Krümmungsradien R_s der Vorder- und Rückfläche sowie der zentralen Hornhautdicke CCT liegen

	Nur Rückfläche	Nur Vorderfläche	Beide	CCT
	R_s			
Außerhalb $\pm 2SD$	13	17	10	27
Außerhalb $\pm 3SD$	4	2	3	5

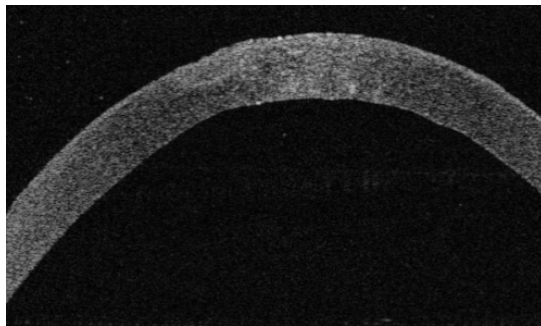
Bei zu steilen Krümmungsradien der Vorder- und Rückfläche der Spendergewebe könnte möglicherweise ein Keratokonus vorliegen, sodass der Ophthalmologe bei einer farbigen Markierung in der Datei das Gewebe nochmals untersuchen kann. Innerhalb der 579 vermessenen Hornhautspendergewebe konnte auf diese Weise ein Keratokonus für die Transplantation ausgeschlossen werden. Eine weitere Hornhaut, deren Krümmungsradien zu steil war, wurde als „auffällig“ vom Ophthalmologen markiert und nur als Notfall-Hornhaut (*à chaud*) verwendet. Zwar werden zu flache Krümmungsradien ebenfalls markiert, jedoch gibt es bisher keine bekannte Erkrankung bei der diese Veränderung der Radien auftritt. Hornhäute, deren zentralen Dicke außerhalb der zwei- oder dreifachen Standardabweichung liegen, wurden möglicherweise zu früh nach dem Umsetzen in Medium 2 gemessen. Der Vorgang des Entquellens war zu diesem Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen.

Bei Spendergeweben mit einer erhöhten Anzahl von Pixeln mit erhöhtem Helligkeitswert werden in der letzte Spalte der Excel-Datei die Worte „Mögliche Pathologie“ ausgegeben. Für die ausgewerteten Hornhäute erfolgte dies in 216 Fällen, worauf jede dieser Hornhäute erneut durch einen Ophthalmologen begutachtet wurde. Insgesamt wurden neun dieser Hornhäute daraufhin als auffällig markiert. In der nachfolgenden Tabelle 5.4 sind die Befunde und das weitere Verfahren mit diesen Geweben notiert. Zudem zeigen die Abbildungen 5.4 bis 5.6 die OCT-Aufnahmen oder Spaltlampenaufnahmen gegenüber den vom Algorithmus erzeugten Bildern mit markierten Pixeln für

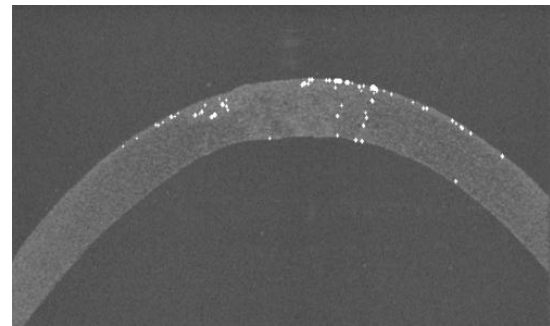
drei dieser erkrankten Hornhautspendergewebe.

Tabelle 5.4: Befund und Einstufung/OP von auffälligem Hornhautspendergewebe, das zunächst vom Algorithmus und anschließend vom Ophthalmologen erkannt wurde

Hornhaut	Befund	Einstufung/OP
1	Narbe	Verworfen
2	Epitheliale Ablagerungen, retrocorneale Beschläge	à chaud/nicht benötigt
3	Epitheliale Ablagerungen	à chaud/nicht benötigt
4	Epitheliale Ablagerungen	à chaud/nicht benötigt
5	Epitheliale Ablagerungen	à chaud/nicht benötigt
6	Retrocorneale Beschläge	à chaud/KPL
7	Auffällig	à chaud/nicht benötigt
8	Auffällig	à chaud/nicht benötigt
8	Auffällig	à chaud/nicht benötigt

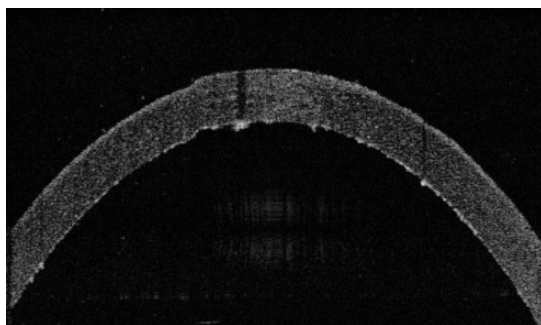


(a) Casia Aufnahme

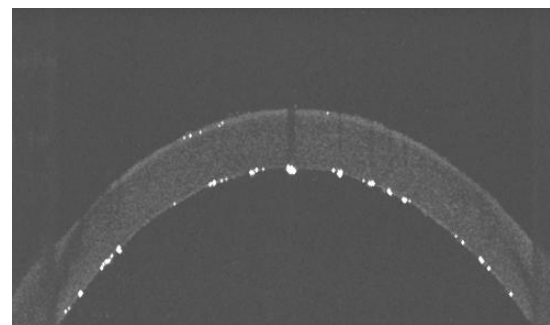


(b) Algorithmus mit markierten Pixeln erhöhter Helligkeit

Abbildung 5.4: Schnittbilder einer Messung einer Hornhautspende mit Narbe (Hornhaut 1 aus Tabelle 5.4)



(a) Casia Aufnahme



(b) Algorithmus mit markierten Pixeln erhöhter Helligkeit

Abbildung 5.5: Schnittbilder einer Messung einer Hornhautspende mit retrocornealen Beschlägen (Hornhaut 7 aus Tabelle 5.4)

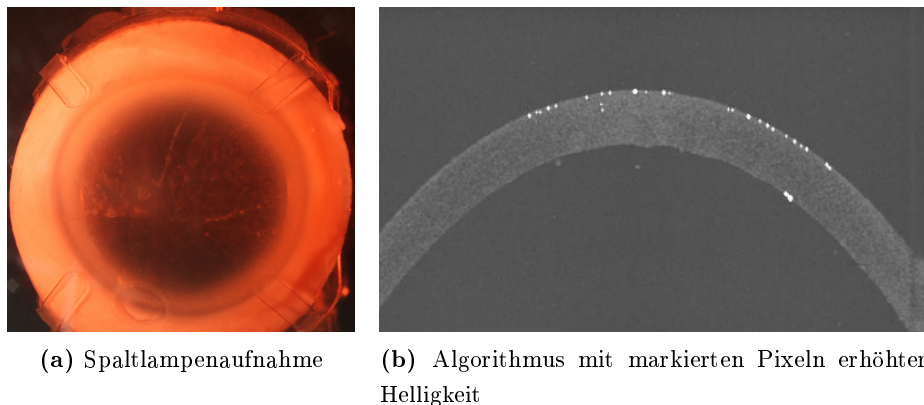


Abbildung 5.6: Schnittbilder einer Messung einer Hornhautspende mit epithelialen Ablagerungen und retrocornealen Beschlägen (Hornhaut 3 aus Tabelle 5.4)

Nach der Beurteilung durch den Algorithmus und den Ophthalmologen wurden die Spendergewebe zwei bis neun aus Tabelle 5.4 als „à chaud“ Hornhäute gekennzeichnet. Handelt es sich beim Befund um eine Auffälligkeit am Epithel, ist diese jedoch nicht der Grund für die Einstufung als „à chaud“ Hornhaut. Epitheliale Abnormitäten können vor der Transplantation abgetragen werden (Abrasio) und stellen damit kein Problem dar. Für eine Einordnung als „à chaud“ Hornhaut müssen bei den Hornhäuten drei bis sechs demnach dem Ophthalmologen andere Gründe vorgelegen haben. Trotz der bekannten und unbekanntenen Gründe für die Klassifizierung als „à chaud“ Hornhaut konnten die Hornhäute zwei bis neun für eine Hornhauttransplantation genutzt werden. Allerdings wurde im Endeffekt nur eine dieser sieben Hornhäute benötigt. Sie wurde für eine perforierende Keratoplastik genutzt, während die übrigen „à chaud“ Hornhäute nach Ablauf der Aufbewahrungszeit (4 Wochen) verworfen wurden. Die Hornhaut eins wurden verworfen, obwohl sie möglicherweise für eine hintere lamelläre Keratoplastiken hätten verwendet werden können.

Von insgesamt 579 vermessenen Hornhäuten konnten nur 35 nicht ausgewertet werden. Dabei waren 31 dieser Fälle auf anwenderbedingte Fehler bei der Hornhautvermessung zurückzuführen. Sie wurden entweder zu früh nach dem Umsetzen in Medium 2 gemessen oder die Zellkulturflasche wurde nicht richtig im Halter auf der Kinnstütze positioniert, sodass es zu starken Spiegelungen der Flaschenwand im Bild kam. Die übrigen vier Messungen konnten aufgrund der Programmierung des Algorithmus nicht ausgewertet werden. Aufgrund nicht ausreichender Konvergenz der Krümmungsradien wurde der iterative Fit der Rückfläche in diesen vier Fällen vorzeitig beendet (vgl. Abschnitt 3.2.2.3).

6 Schlussfolgerungen und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Verfahren zur objektiven, kontaktfreien und tomografischen Vermessung und Beurteilung von Hornhautspendergewebe entwickelt. Die optische Kohärenztomografie wird aufgrund ihrer hohen axialen Auflösung als optisches Messsystem für dieses Verfahren genutzt. Nach eingehender Recherche und Testmessungen von Hornhautspendergewebe zur Beurteilung verschiedener OCT-Systeme wurde das Vorderabschnitts-OCT Casia 2 (Tomey Corp., Nagoya, Japan) als zukünftiges Messsystem gewählt. Es besitzt aufgrund seiner hohen Eindringtiefe, dem kollimierten Messstrahl und der Export-Funktion von dreidimensionalen Grauwertschnittbildern viele Vorteile gegenüber dem ebenfalls untersuchten Spectral Domain OCT Revo Nx ((Optopol Technology Sp. z o.o., Zawiercie, Polen).

Der Wahl des Messsystems folgte die Programmierung eines Algorithmus zur Auswertung der Rohdaten in Matlab. Der Algorithmus berechnet aus den darin ermittelten Vorder- und Rückflächendaten der Hornhautspendergewebe durch die Anpassung eines Flächenmodells die Krümmungsradien der Flächen und die Hornhautdicke. In dieser Arbeit wurden zur Überprüfung der Genauigkeit verschiedener Flächenmodelle Oberflächen simuliert und anschließend mit einem Fit durch Zernike-Polynome und einem sphäro-zylindrischen Flächenmodell analysiert. Beide Modelle lieferten hinreichend genaue Ergebnisse für die Krümmungsradien, die Verkipfung und Verschiebung der simulierten und realen Hornhautoberflächen. Zur Validierung des Algorithmus wurde ein Hornhaut-Phantom aus PMMA vermessen und ausgewertet.

Es wurde gezeigt, dass der Algorithmus auch für die geometrischen Parameter der Hornhaut von Probandenmessungen wie die Flächenbrechwerte der Vorder- und Rückfläche sowie die Hornhautdicke physiologische und mit der Casia-Software vergleichbare Ergebnisse liefert. Daraufhin wurden Patientenmessungen in den Algorithmus eingelesen, bei denen eine Hornhauterkrankung oder strukturelle Veränderung an der Hornhaut bekannt war. Anhand dieser Messungen wurde der Algorithmus auf die Erkennung von Pathologien programmiert. Durch die Verteilung und Dichte von Markierungen, die der Algorithmus bei Pixeln mit erhöhtem Helligkeitswerten gegenüber den umgebenden Werten setzt, und die Darstellung der Hornhautdicke in Form von farbigen Kontourplots können die Messungen bestimmten Erkrankungen zugeordnet werden.

Abschließend wurden 579 Spenderhornhäute vermessen und analysiert. Dabei wurden im Mittel für Vorder- und Rückflächenkrümmung sowie die zentrale Hornhautdicke

Ergebnisse erzielt, die in der Größenordnung der Literaturangaben der menschlichen Hornhaut liegen. Zudem wurden mithilfe des Algorithmus Abnormitäten in den Spenderhornhäuten erkannt, die zuvor vom Ophthalmologen an der Spaltlampe übersehen wurden. Die entwickelte Methode ist somit in der Lage, Hornhautspendergewebe zu charakterisieren und pathologische Strukturen zu erkennen. Sie könnte als Routineuntersuchung in der Hornhautbank angewendet werden und die Ärzte bei der Auswahl des richtigen Gewebes für die verschiedenen Transplantationsarten unterstützen. Einer Verwerfung von möglicherweise brauchbarem Gewebe könnte dadurch entgegenwirkt werden.

Ein anderes Einsatzgebiet der Methode könnte die „Harmonisierung“ von Spender- und Empfängertomografie bei der Hornhauttransplantation sei [40]. Als Harmonisierung wird die gezielte Ausrichtung von Spender- und Empfängergewebe zueinander bezeichnet, bei der die Höhendaten am Trepanationsrand bestmöglich miteinander übereinstimmen. Möglicherweise kann durch die Ausrichtung des Gewebes der Restastigmatismus, der nach dem Entfernen der Naht entsteht, verringert werden. Mithilfe der entwickelten Methode wären die Vermessung und Bestimmung der Höhendaten am Trepanationsrand von Spender- und Empfängergewebe möglich. Durch eine simulierte Rotation des Spendergewebes im Empfängerbett könnte die optimale Position gefunden werden.

Literaturverzeichnis

- [1] Armour RL, Ousley PJ, Wall J, Hoar K, Stoeger C, Terry MA (2007). Endothelial keratoplasty using donor tissue not suitable for full-thickness penetrating keratoplasty. *Cornea* 26: 515–519.
- [2] Bartsch HJ, Sachs M (2018). Taschenbuch mathematischer Formeln für Ingenieure und Naturwissenschaftler. 24., überarbeitete Auflage. München: Fachbuchverlag Leipzig im Carl Hanser Verlag. ISBN: 9783446457072.
- [3] Baudisch F (2018). Die Optische Kohärenztomographie (OCT) - Analyse der retinalen Nervenfaserschicht und der Retinafundusdicke nach Alter, Papillengröße und Refraktionsfehler sowie bei Patienten mit Optikopathien und arterieller Hypertonie. Ludwig-Maximilians-Universität München.
- [4] Beadie G, Brindza M, Flynn RA, Rosenberg A, Shirk JS (2015). Refractive index measurements of poly(methyl methacrylate) (PMMA) from 0.4-1.6 μm . *Applied Optics* 54: F139–43.
- [5] Bland JM, Altman DG (1997). Cronbach's alpha. *BMJ (Clinical research ed.)* 314(7080): 572.
- [6] Bronstein IN, Semendjaev KA (1987). Taschenbuch der Mathematik. 23. Aufl. Frankfurt/M.: Deutsch.
- [7] Cronbach LJ (1951). Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika* 16(3): 297–334.
- [8] Damian A, Seitz B, Langenbacher A, Eppig T (2017). Optical coherence tomography-based topography determination of corneal grafts in eye bank cultivation. *Journal of Biomedical Optics* 22: 16001.
- [9] Die Topographie-Karten der Pentacam®. URL: <https://www.pentacam.com/us/augenarzt-operativ-ohne-pentacamr/technik/topographie-karten.html> (besucht am 25.02.2020).
- [10] Drexler W, Fujimoto JG (2015). Optical coherence tomography: Technology and applications. 2. ed. Cham: Springer.

- [11] Drexler W, Morgner U, Ghanta RK, Kärtner FX, Schuman JS, Fujimoto JG (2001). Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography. *Nature Medicine* 7(4): 502–507.
- [12] Eppig T, Mäurer S, Daas L, Seitz B, Langenbacher A (2018). Imaging the Cornea, Anterior Chamber and Lens in Corneal and Refractive Surgery. *OCT - Applications in Ophthalmology*. Hrsg. von Lanza M. London: InTech Open, S. 133–152.
- [13] Fargione RA, Channa P (2016). Cornea donors who have had prior refractive surgery: Data from the Eye Bank Association of America. *Current Opinion in Ophthalmology* 27: 323–326.
- [14] Farias R, Parolim A, Sousa L (2005). Transplante de córnea com uso inadvertido de córnea de doador previamente submetido à cirurgia refrativa—relato de caso. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia* 68: 266–269.
- [15] Fercher AF, Mengedoht K, Werner W (1988). Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light. *Optics Letters* 13(3): 186–188.
- [16] Garg A, Yeoh R, Hrsg. (2014). Anterior & posterior segment OCT: Current technology and future applications. 1. ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publ.
- [17] Gatinel D, Malet J, Hoang-Xuan T, Azar DT (2011). Corneal elevation topography: Best fit sphere, elevation distance, asphericity, toricity, and clinical implications. *Cornea* 30(5): 508–515. DOI: 10.1097/IC0.0b013e3181fb4fa7.
- [18] Goersch H (2000). *Handbuch für Augenoptik*. 4. Aufl. Oberkochen: Carl Zeiss.
- [19] Grehn F (2011). *Augenheilkunde*. 31. Aufl. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag.
- [20] Haasdonk B (2006). *Digitale Bildverarbeitung*. Einheit 5. Bilder und Statistik. Lehrauftrag SS 2006. Fachbereich M+I der FH-Offenburg. Albert-Ludwigs-Universität Freiburg.
- [21] Heidelberg Engineering GmbH - Spectralis. URL: <https://business-lounge.heidelbergengineering.com/de/de/products/spectralis/anterior-segment-module/downloads/#downloads> (besucht am 02.07.2019).

- [22] Iskander DR, Collins MJ, Davis B (2001). Optimal modeling of corneal surfaces with Zernike polynomials. *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* 48(1): 87–95.
- [23] Janunts E, Kannengießer M, Langenbacher A (2015). Parametric fitting of corneal height data to a biconic surface. *Zeitschrift für Medizinische Physik* 25: 25–35.
- [24] Jinabhai A, Radhakrishnan H, O’Donnell C (2011). Pellucid corneal marginal degeneration: A review. *Contact Lens and Anterior Eye* 34(2): 56–63.
- [25] Jong T de, Sheehan MT, Koopmans SA, Jansonius NM (2017). Posterior corneal shape: Comparison of height data from 3 corneal topographers. *Journal of Cataract and Refractive Surgery* 43: 518–524.
- [26] Kang SJ, Schmack I, Edelhauser HF, Grossniklaus HE (2010). Donor corneas misidentified with prior laser in situ keratomileusis. *Cornea* 29: 670–673.
- [27] Kanski JJ, Spitznas M, Göbbels MJ (1987). *Lehrbuch der klinischen Ophthalmologie: 41 Tabellen*. Stuttgart: Thieme.
- [28] Kirsten L, Gärtner M, Koch E. *Optische Kohärenztomografie (OCT): Versuch im Fortgeschrittenenpraktikum Physik*. URL: https://tu-dresden.de/med/mf/ksm/ressourcen/dateien/OCT_Anleitung.pdf?lang=de (besucht am 28.02.2019).
- [29] Klein T (2013). *Ultraschnelle optische Kohärenztomographie am Augenhintergrund*. Ludwig-Maximilians-Universität München.
- [30] Kloevekorn-Fischer U (2015). Kontaktlinsen und Pelluzidale Marginale Hornhautdegeneration (PMCD). *Die Kontaktlinse* (7-8).
- [31] Kohlhaas M (2008). Kollagen-Crosslinking mit Riboflavin und UVA-Licht beim Keratokonus. *Der Ophthalmologe* 105: 785–93; quiz 794.
- [32] Koralewski M, Reinholz F, Karoń J, Waraczewski K (2006). Refractive and chiroptical properties of clinical dextrans. *Polish Journal of Environmental Studies* 15: 66.

- [33] Kramme R, Hrsg. (2017). *Medizintechnik: Verfahren - Systeme - Informationsverarbeitung*. 5., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Springer Reference Technik. Berlin: Springer.
- [34] Lakshminarayanan V, Fleck A (2011). Zernike polynomials: A guide. *Journal of Modern Optics* 58: 545–561.
- [35] Lang GK, Lang GE, Hrsg. (2015). *Augenheilkunde essentials. Essentials Intensivkurs zur Weiterbildung*. Stuttgart und New York: Georg Thieme Verlag.
- [36] Li S (2016). Einsatz der hochauflösenden Swept-Source-OCT zur Vermessung der Hornhautgeometrie bei Keratokonus und Normalen. Universität des Saarlandes.
- [37] LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux Trier/Westpfalz (2017). *Qualitätsmanagement-Handbuch Teil B - Kernprozesse B2 B.2.2. Ablauf Hornhautentnahme*. Homburg/Saar.
- [38] Liou HL, Brennan NA (1997). Anatomically accurate, finite model eye for optical modeling. *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, image science, and vision* 14(8): 1684.
- [39] Maharana P, Jhanji V, Vajpayee RB (2014). Inadvertent use of cornea with previous LASIK in deep lamellar keratoplasty. *Optometry and Vision Science* 91: e59–62.
- [40] Mäurer S, Seitz B, Langenbacher A (2020). "Harmonization" of donor and recipient tomography in corneal transplantation. *Zeitschrift für medizinische Physik*. DOI: 10.1016/j.zemedi.2020.05.006.
- [41] Mäurer S, Asi F, Rawer A, Damian A, Seitz B, Langenbacher A, Eppig T (2018). Konzept zur 3D Vermessung von Hornhautspenderewebe mit Hilfe eines klinischen OCT. *Der Ophthalmologe*.
- [42] Merin LM, Brown MF, Howdeshell LL (2001). Darkfield biomicrography of eye bank donor corneas. *Cornea* 20: 210–213.
- [43] Meyer TH, Eriksson M, Maggio RC (2001). Gradient Estimation from Irregularly Spaced Data Sets. *Mathematical Geology* 33(6): 693–717.

- [44] Michaeli-Cohen A, Lambert AC, Coloma F, Rootman DS (2002). Two cases of a penetrating keratoplasty with tissue from a donor who had undergone LASIK surgery. *Cornea* 21(1): 111–113.
- [45] Mifflin M, Kim M (2002). Penetrating keratoplasty using tissue from a donor with previous LASIK surgery. *Cornea* 21: 537–8; author reply 538–9.
- [46] Mootha VV, Dawson D, Kumar A, Gleiser J, Qualls C, Albert DM (2004). Slitlamp, specular, and light microscopic findings of human donor corneas after laser-assisted in situ keratomileusis. *Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)* 122: 686–692.
- [47] Morphologische Operationen: Grundlagen Bildverstehen/Bildgestaltung (2007). URL: <http://www9.cs.tum.edu/seminare/ps.WS06.gdbv/ausarbeitungen/Kohl-Morphologie.pdf> (besucht am 08.10.2020).
- [48] Moshirfar M, Khalifa YM, Davis D, Fenzl CR, Espandar L, Chang JC, Mamalis N, Mifflin MD (2012). Descemet stripping automated endothelial keratoplasty using donor corneas with previous laser in situ keratomileusis or photorefractive keratectomy: A case series and donor cap histopathology. *Cornea* 31: 533–537.
- [49] Navarro R, Arines J, Rivera R (2009). Direct and inverse discrete Zernike transform. *Optics Express* 17(26): 24269–24281.
- [50] Neuhann T. Hornhauttransplantation-Keratoplastik. URL: <http://www.neuhann.de/hornhauttransplantation-keratoplastik/> (besucht am 01.04.2020).
- [51] Nickel S. Äußere Augenhaut. URL: <http://www.operation-augen.de/anatomie/aeussere-augenhaut/#der-allgemeine-aufbau-der-ausseren-augenhaut> (besucht am 15.01.2019).
- [52] Noll RJ (1976). Zernike polynomials and atmospheric turbulence*. *Journal of the Optical Society of America* 66(3): 207.
- [53] Opto Engineering [®] Grundlagen (2017). URL: https://www.opto-e.de/media/downloads/docs/Basics_Opto-Engineering_2017_DE.pdf (besucht am 01.04.2020).
- [54] Optopol technology- REVO NX. URL: <http://www.optopol.com/products/revo-nx> (besucht am 20.05.2019).

- [55] Ousley PJ, Terry MA (2002a). Objective screening methods for prior refractive surgery in donor tissue. *Cornea* 21: 181–188.
- [56] — (2002b). Use of a portable topography machine for screening donor tissue for prior refractive surgery. *Cornea* 21: 745–750.
- [57] Patel S, Tutchenko L (2019). The refractive index of the human cornea: A review. *Contact Lens and Anterior Eye* 42(5): 575–580.
- [58] Podoleanu A, Charalambous I, Plesea L, Dogariu A, Rosen R (2004). Correction of distortions in optical coherence tomography imaging of the eye. *Physics in Medicine and Biology* 49: 1277–1294.
- [59] Priglinger SG, Neubauer AS, May CA, Alge CS, Wolf AH, Mueller A, Ludwig K, Kampik A, Welge-Luessen U (2003). Optical coherence tomography for the detection of laser in situ keratomileusis in donor corneas. *Cornea* 22: 46–50.
- [60] Rabbetts RB (1996). Scalar representation of astigmatism. *Ophthalmic & Physiological Optics* 16(3): 257–263.
- [61] Reim M (1989). *Augenheilkunde: 13 Tabellen. 2., neu bearb. Aufl.* Stuttgart: Enke.
- [62] Reinshagen H, Maier PC, Böhringer D (2019). Aktivitäten der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft: Leistungsbericht 2017. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde* 236(10): 1229–1232.
- [63] Riedl D. Modellierung in der Geoinformation: RMSE (Root-mean-squared error). URL: https://homepage.univie.ac.at/doris.riedl/model0910/tut_geostat/RMS.htm (besucht am 30.01.2019).
- [64] Schwiegerling J, Greivenkamp JE, Miller JM (1995). Representation of videokeratographic height data with Zernike polynomials. *Journal of the Optical Society of America. A, Optics, image science, and vision* 12(10): 2105–2113.
- [65] Seitz B, Langenbacher A, Naumann GOH (2005). Die perforierende Keratoplastik. Eine 100-jährige Erfolgsgeschichte. *Der Ophthalmologe* 102(12): 1128–36, 1138–9.

- [66] Statistiken zur Organspende für Deutschland und Europa. URL: <https://www.organspende-info.de/zahlen-und-fakten/statistiken.html> (besucht am 18.06.2019).
- [67] Stoiber J, Ruckhofer J, Hitzl W, Grabner G (2001). Evaluation of donor tissue with a new videokeratoscope: The Keratron Scout. *Cornea* 20: 859–863.
- [68] Terry MA, Ousley PJ (1999). New screening methods for donor eye-bank eyes. *Cornea* 18: 430–436.
- [69] Thannhäuser CL (2009). Messung der Hornhautdicke mittels Optischer Kohärenz-Tomographie (OCT). Charité - Universitätsmedizin Berlin.
- [70] Tomey GmbH - CASIA2. URL: <https://tomey.de/en/products/oct/casia2> (besucht am 22.05.2018).
- [71] Vavra DE, Enzenauer RW (2005). Predictive value of slitlamp examinations in screening donor corneas for prior refractive surgery. *Archives of Ophthalmology* (Chicago, Ill. : 1960) 123: 707–8; author reply 708–9.
- [72] Wagner C (2006). Kantendetektion -Klassische Verfahren. URL: http://www.mathematik.uni-ulm.de/stochastik/lehre/ws05_06/seminar/ausarbeitung_wagner.pdf.
- [73] Wenzel M, Dick HB, Scharrer A, Schayan K, Reinhard T (2017). Ambulante und stationäre Intraokularchirurgie 2016: Ergebnisse der aktuellen Umfrage von DGII, DOG, BVA und BDOC. *Ophthalmology* 29: 185–194.
- [74] Wylegała A, Mazur R, Bolek B, Wylegała E (Apr. 2020). Reproducibility, and repeatability of corneal topography measured by Revo NX, Galilei G6 and Casia 2 in normal eyes. *PLOS ONE* 15(4): 1–11.
- [75] Zhang T, Zhou Y, Young CA, Chen A, Jin G, Zheng D (2020). Comparison of a New Swept-Source Anterior Segment Optical Coherence Tomography and a Scheimpflug Camera for Measurement of Corneal Curvature. *Cornea*. ISSN: 0277-3740. DOI: 10.1097/IC0.0000000000002280.
- [76] Zirm E (1906). Eine erfolgreiche totale Keratoplastik. *Albrecht von Graefe's Archiv für Ophthalmologie* 64(3): 580–593.

A Anhang

A.1 Eigene Publikationen

Wissenschaftliche Originalarbeiten

- [1] **Mäurer S**, Asi F, Rawer A, Damian A, Seitz B, Langenbacher A, Eppig T. Konzept zur 3D Vermessung von Hornhautspendergewebe mit Hilfe eines klinischen OCTs. *Ophthalmologe* 2019; 116:640-646
- [2] **Mäurer S**, Seitz B, Langenbacher A. „Harmonization“ of donor and recipient tomography in corneal transplantation. *Zeitschrift für medizinische Physik* 2020. DOI: 10.1016/j.zemedi.2020.05.006

Bücher und Bucheinträge

- [1] **Mäurer S**, Asi F, Rawer A, Damian A, Seitz B, Langenbacher A, Eppig T. Konzept zur 3D Vermessung von Hornhautspendergewebe mit Hilfe eines klinischen OCTs. *Ophthalmologe* 2019; 116:640-646
- [2] **Mäurer S**, Seitz B, Langenbacher A. "Harmonization" of donor and recipient tomography in corneal transplantation. *Zeitschrift für medizinische Physik* 2020. DOI: 10.1016/j.zemedi.2020.05.006

Kurzveröffentlichungen, Vorträge und Poster (zitierfähig)

- [1] **Mäurer S**, Rawer A, Damian A, Seitz B, Langenbacher A, Eppig T. Dreidimensionale Vermessung von Hornhautspendergewebe mit optischer Kohärenztomografie des vorderen Augenabschnitts am Beispiel des Tomey CASIA 2 (Poster). *Ophthalmologe* 2017; 114 (Suppl 2):95

- [2] Hamon L, Daas L, **Mäurer S**, Schulz K, Asi F, Langenbacher A, Seitz B. Kinetik der Entquellung von humanen Hornhauttransplantaten in Dextran-haltigem Medium vor Keratoplastik (Poster). Ophthalmologie 2019; 116 (Suppl 2):199
- [3] **Mäurer S**, Seitz B, Hamon L, Langenbacher A, Eppig T. Bildbasierte Kennzeichnung von Veränderungen in Hornhautspenderewebe mithilfe der optischen Kohärenztomografie (Poster). Ophthalmologie 2019; 116 (Suppl 2):198
- [4] Quintin A, Hamon L, **Mäurer S**, Asi F, Eppig T, Langenbacher A, Bekhit A, Seitz B. Comparison of donor tomography in the eye bank and graft tomography after penetrating keratoplasty (Vortrag). Ophthalmologie 2019; 116 (Suppl 2):33

Sonstige relevante Kurzveröffentlichungen, Vorträge, Poster

- [1] **Mäurer S**. Dreidimensionale Vermessung von Hornhautspenderewebe mit der optischen Kohärenztomografie des vorderen Augenabschnitts (Vortrag) 26. Treffen des Arbeitskreises Ophthalmische Optik 2017, Hofheim-Rügheim
- [2] **Mäurer S**, Damian A, Asi F, Seitz B, Langenbacher A, Eppig T. Dreidimensionale Vermessung von Hornhautspenderewebe mit der optischen Kohärenztomografie des vorderen Augenabschnitts (Vortrag) 90. Versammlung des Vereins Rhein-Mainischer Augenärzte 2017, Marburg
- [3] **Mäurer S**. Dreidimensionale Vermessung von Hornhautspenderewebe mit der optischen Kohärenztomografie des vorderen Augenabschnitts (Vortrag) Linzer Herbstakademie/ Linzer Augenärztliche Fortbildung 2017, Linz (Österreich)
- [4] Seitz B, **Mäurer S**, Asi F, Hamon L, Daas L, Abdin A, Bischoff-Jung M, Eppig T, Langenbacher A. Routinemäßige Spender-Tomographie in der Hornhautbank als sterile Screening-Methode zur verbesserten Transplantatauswahl bei der Hornhauttransplantation (Eingeladenes Referat) 91. Versammlung des Vereins Rhein-Mainischer Augenärzte 2018, Frankfurt a. M.
- [5] **Mäurer S**. Optische Kohärenztomografie von Hornhautspenderewebe-Update (Vortrag) 27. Treffen des Arbeitskreis Ophthalmische Optik 2018, Lübeck

- [6] **Mäurer S.** Optische Kohärenztomografie von Hornhautspendergewebe in Zellkulturmedium (Vortrag) Workshop Biosignale „Innovative Verarbeitung bioelektrischer und biomagnetischer Signale“ 2018, Erfurt
- [7] Abdin A, Asi F, **Mäurer S**, Hamon L, Daas L, Eppig T, Langenbucher A, Seitz B. Routine donor tomography in the eye bank as sterile screening method for improved graft selection in corneal transplantation (Vortrag) Eye banking challenges, Session VII The XXXI Annual Meeting of the European Eye Bank Association (EEBA) 2019, Rotterdam (Niederlande)
- [8] Seitz B, Asi F, **Mäurer S**, Abdin A, Hamon L, Daas L, Eppig T, Langenbucher A. Routine donor tomography in the eye bank as sterile screening method for improved graft selection in corneal transplantation (Vortrag) Rapid Fire Cornea, External Eye Diseases & Eye Banking Update Session 3, The 34th Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO) Congress 2019, Bangkok (Thailand)
- [9] Seitz B, **Mäurer S**, Asi F, Hamon L, Daas L, Abdin A, Eppig T, Langenbucher A. Routine donor tomography in the eye bank as sterile screening method for improved graft selection in corneal transplantation (Poster) Tagung der Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2019, Vancouver (Kanada)
- [10] Hamon L, Daas L, **Mäurer S**, Schulz K, Asi F, Langenbucher A, Seitz B. Kinetics of the deswelling process of corneal grafts with dextran-containing culture medium before keratoplasty (Poster). Tagung der Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2019, Vancouver (Kanada)
- [11] Hamon L, Daas L, **Mäurer S**, Schulz K, Asi F, Langenbucher A, Seitz B. Cinétique du processus de déturgescence cornéenne en milieu riche en dextran avant une greffe de cornée (Poster) 125e Congrès international de la société française d'ophtalmologie (SFO) 2019, Paris (Frankreich)
- [12] **Mäurer S**, Seitz B, Asi F, Hamon L, Daas L, Abdin A, Bischoff-Jung M, Eppig T, Langenbucher A. Routinemäßige Spender-Tomographie in der Hornhautbank (Kurzveröffentlichung) Ophthalmologische Nachrichten 03/2019, S.12
- [13] Seitz B, **Mäurer S**, Hamon H, Quintin A, Asi F, Abdin A, Eppig T, Langenbu-

- cher A. Routine donor tomography in the eye bank as sterile screening method for improved graft selection in corneal transplantation (Vortrag) 45th European Cornea Conference ECC 2019, Stresa (Italien)
- [14] Seitz B, **Mäurer S**, Hamon K, Quintin A, Asi F, Abdin A, Eppig E, Langenbucher A Routine donor tomography in the eye bank improves graft selection for corneal transplantation (Invited Lecture) Tagung des Middle East African Council of Ophthalmology (MEACO) 2019, Al Weimeh, Dead Sea (Jordanien)
- [15] Quintin A, Hamon L, **Mäurer S**, Asi F, Eppig T, Langenbucher A, Bekhit A, Seitz B. Verbesserung der Kunstlinsenberechnung bei klassischer Triple-Procedure durch sterile Spender-Tomographie in der Hornhautbank? (Vortrag) 92. Versammlung der Vereinigung Rhein-Mainischer Augenärzte 2019, Darmstadt
- [16] **Mäurer S**. Harmonisierung von Spender- und Empfängertomografie bei der Hornhauttransplantation + Update: Optische Kohärenztomografie von Hornhautspendergewebe (Vortrag) Linzer Herbstakademie/ Linzer Augenärztliche Fortbildung 2019, Linz (Österreich)
- [17] **Mäurer S**. Harmonisierung von Spender- und Empfängertomografie bei der Hornhauttransplantation + Update: Optische Kohärenztomografie von Hornhautspendergewebe (Vortrag) 28. Treffen des Arbeitskreis Ophthalmische Optik 2019, Herrsching
- [18] Hamon L, Daas L, **Mäurer S**, Schulz K, Asi F, Langenbucher A, Seitz B. Changes in thickness and curvature of human corneal grafts in dextran-containing culture medium before keratoplasty (Vortrag) XXXII Annual Meeting of the European Eye Bank Association EEBA 2020, Hannover

Preise

- [1] **Mäurer S**, Damian A, Asi F, Seitz B, Langenbucher A, Eppig T. Dreidimensionale Vermessung von Hornhautspendergewebe mit der optischen Kohärenztomografie des vorderen Augenabschnitts (Vortragspreis) 90. Versammlung des Vereins Rhein-Mainischer Augenärzte 2017, Marburg

- [2] **Mäurer S**, Rawer A, Damian A, Seitz B, Langenbacher A, Eppig T. Dreidimensionale Vermessung von Hornhautspendergewebe mit optischer Kohärenztomografie des vorderen Augenabschnitts am Beispiel des Tomey CASIA 2 (Posterpreis DOG 2017). *Ophthalmologie* 2017; 114 (Suppl 2):95

A.2 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
A-Scan	Amplitudenscan
B-Scan	Brightness Mode Scan
CCD	Charge-coupled device
DMEK	Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty
DSAEK	Decement Stripping Automated Endothelial Keratoplasty
FD-OCT	Fourier Domain OCT
INTACS	Intrakorneale Ringsegmente
LCI	Low-Coherence Interferometry
LASIK	Laser-in-situ-Keratomileusis
OCT	Optische Kohärenztomografie
PMD	Pelluzide marginale Hornhautdegeneration
PMMA	Polymethylmethacrylat
PRK	Phthorefraktive Keratektomie
PTK	Phototherapeutische Keratektomie
RMSE	Root-mean-squared error
ROI	Region of Interest
SD-OCT	Spectral Domain OCT
SS-OCT	Swept Source OCT
TD-OCT	Time Domain OCT

A.3 Variablenverzeichnis

Symbol	Bedeutung
A	Schnittbild
A_G	Mit Gauß-Filter geglättetes Schnittbild
a	Grad des Zernike-Polynoms
α	Winkellage der steilen Achse
b	Unbearbeitetes Grauwertbild
b_i	Invertiertes Grauwertbild
β	Verkippung in x-Richtung (sphäro-zylindrischer Fit)
C	Zernike-Koeffizienten
C_0, C_{45}	Komponente des Astigmatismus in $0^\circ/45^\circ$
CCT	Zentrale Hornhautdicke
Cyl	Stärke des Astigmatismus
D_x, D_y	Horizontaler/vertikaler Helligkeitsgradient
d	Differenz zwischen den Ergebnissen mit und ohne Raytracing
$\Delta\lambda$	Halbwertsbreite des Spektrums
Δx	Transversale Auflösung eines OCTs
δ	Winkel der Verkippung (Zernike-Fit)
E	Effektstärke
E_i	Elektrische Feldstärke des Eingangslichtstrahls
E_R, E_S	Elektrische Feldstärke des am Referenzspiegel/ an der Probe reflektierten Lichtstrahls
ϵ	Lage der Verkippung (Zernike-Fit)
$f(\dots)$	Fehler von (...)
F	Flächenbrechwert
F_s, F_f	Steiler/Flacher Flächenbrechwert
F_{fH}, F_{fV}	Flacher Flächenbrechwert der Rück- bzw. Vorderfläche
F_{sH}, F_{sV}	Steiler Flächenbrechwert der Rück- bzw. Vorderfläche
G_f	Gauß-Funktion
G	Filterkern des Gauß-Filters mit Dimension $[p,q]$
γ	Verkippung in y-Richtung (sphäro-zylindrischer Fit)
$\gamma(z)$	Kohärenzfunktion
H_x, H_y	Horizontaler/vertikaler Sobel-Operator
I	Intensität

k	Wellenzahl
K	Keratometerwert
K_s, K_f	Steiler/Flacher Keratometerwert
l_c	Kohärenzlänge/ Axiale Auflösung eines OCTs
λ	Wellenlänge
λ_0	Zentrale Wellenlänge
M	Mittelwert
m	Anzahl der Messpunkte/Pixel
MF	Mittlerer Brechwert
μ_M, μ_H	Mittlerer Helligkeitswert des Mediums/der Hornhaut
μ	Erwartungswert der Gauß-Funktion
n	Brechungsindex
n_K	Keratometerindex
n_{Cornea}	Brechungsindex der Hornhaut
$n_{\text{Kammerwasser}}$	Brechungsindex des Kammerwasser
n_{Javal}	Javal-Keratometerindex
n_{PMMA}	Brechungsindex von Polymethylmethacrylat
NA	Numerische Apertur
N_{poly}	Normierte Radialpolynome
$O(r, \theta)$	Beliebige Oberfläche in Polarkoordinanten
P_{min}	Punkt mit minimalen Höhendaten
r	Normierter Radius
R_s, R_f	Steiler/Flacher Krümmungsradius
R_x, R_y	Krümmungsradius in x-Richtung/y-Richtung
R_{fH}, R_{fV}	Flacher Krümmungsradius der Rück- bzw. Vorderfläche
R_{sH}, R_{sV}	Steiler Krümmungsradius der Rück- bzw. Vorderfläche
R_{poly}	Radialpolynome
r_{max}	Radius, auf dem Oberfläche für Zernike-Polynome definiert ist
R_{grad}	Reflexionsgrad
R	Krümmungsradius
R_{rot}	Rotationsmatrix für aufeinanderfolgende Drehung um z-,y- und x-Achse
$R_{\text{rot},x}, R_{\text{rot},y}, R_{\text{rot},z}$	Rotationsmatrix für Drehung um x-,y- und z-Achse
s	Strukturelement bei Tophat-Transformation
S_1, S_2	Schwellenwerte beim Hysterese-Schwellwert Verfahren des Canny-Gradientfilters

SD	Standardabweichung
s_{pool}	Gepoolte Standardabweichung
s_M, s_H	Standardabweichung des Mediums/der Hornhaut
σ	Standardabweichung der Gauß-Funktion
t	Zeit
tol_{fun}	Abbruch-Toleranz bei Funktionswert (sphäro-zylindrischer Fit)
T	Tophat-Transformation
θ	Azimutwinkel
θ_1	Achslage des Astigmatismus
V_s, V_f	Steiles/Flaches Verhältnis der Krümmungsradien
V	Platzhalter für genutzte Variable
x', y', z	Um Translation und Rotation korrigierten Ortskoordinaten (sphäro-zylindrischer Fit)
x_0, y_0, z_0	Koordinaten des Apex
x_{RsH}, y_{RsV}	x- bzw. y-Komponente des steilen Krümmungsradius für Rück- bzw. Vorderfläche
z_i, z'_i	Gemessene/vom Fit erwartete z-Werte
z_R	Position des Referenzspiegels
Z	Zernike-Polynome
\circ	Opening-Operator

A.4 Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei allen herzlich bedanken, die mich während der Zeit als Doktorandin am Institut für experimentelle Ophthalmologie der Universität des Saarlandes unterstützt haben. Insbesondere denen in Abschnitt 1.3 angeführten Personen und Firmen gebührt Dank, da sie einen direkten Beitrag zu dieser Dissertation geleistet haben.

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Achim Langenbacher, der mir die Möglichkeit gab, diese Dissertation anzufertigen. Für seine Unterstützung, Beratung und Ideen bin ich ihm sehr dankbar.

Des Weiteren möchte ich mich bei Priv.-Doz. Dr. Timo Eppig für die Betreuung dieser Arbeit bedanken. Seine Kenntnisse im Bereich der Bildverarbeitung und Matlab-Programmierung schafften es mich für die Welt der Programmierung zu begeistern. Mit viel Geduld hat er maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Prof. Dr. med. Berthold Seitz, dem Team der KFZH inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux Trier/Westpfalz sowie dem Personal des Universitätsklinikums des Saarlandes Klinik für Augenheilkunde danke ich für die sehr gute Zusammenarbeit. Die klinische Relevanz dieser Arbeit wurde mir durch Diskussionen und klinische Fälle verdeutlicht. Für die schöne und produktive Zeit im Institut möchte ich mich bei allen momentanen und ehemaligen Mitarbeitern bedanken. Dazu gehören Angela Damian, Stephanie Bixler, Antonia Rawer, Robert Ribicki, Kathrin Rubly, Christina Schmidt, Michael Schwemm, Magdalena Wegmann, Simon Schröder und Pooria Omid. Sie stellten sich bereitwillig als Probanden zur Verfügung und hatten immer ein offenes Ohr bei Fragen und Problemen.

Der Dr. Rolf M. Schwiete Stiftung möchte ich für die Finanzierung des Projektes „Entwicklung und Implementierung eines Verfahrens für die topografische Vermessung von Spenderhornhäuten in der Augenbank und zur Harmonisierung von Spender- und Empfängerhornhäuten bei der Hornhauttransplantation“ danken. Durch diese Förderung wurde die Durchführung dieser Arbeit erst ermöglicht.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Freunden, Großeltern und Eltern für die tagtägliche Unterstützung in jeglicher Art während meiner Promotion bedanken. Ihr Vertrauen in meine Fähigkeiten hat mir über einige Stolpersteine hinweggeholfen.

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

