

# **Ein neues Konzept zur automatischen Erstellung von Mosaikbildern der Kornea für die Diagnose neuropathischer Erkrankungen**

Zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der Ingenieurwissenschaften**

der Fakultät für Maschinenbau  
Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

genehmigte

**DISSERTATION**

von

**Dipl.-Inform. Stephan Thomas Allgeier**

Tag der mündlichen Prüfung: 25. April 2017  
Hauptreferent: Prof. Dr.-Ing. habil. Georg Bretthauer  
Korreferent: Prof. Dr.-Ing. Barbara Deml

## Danksagung

Die vorliegende Dissertation entstand im Rahmen eines Forschungsprojekts am Institut für Angewandte Informatik (IAI) des Karlsruher Instituts für Technologie.

Herrn Prof. Dr.-Ing. habil. Georg Bretthauer danke ich ganz herzlich, dass er mich zur Promotion ermutigt hat, für die Förderung und Betreuung meines Promotionsvorhabens und seine inspirierenden und wertvollen Ratschläge zur Erstellung der Dissertation. Frau Prof. Dr.-Ing. Barbara Deml danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Bei meinen langjährigen Kollegen in der Arbeitsgruppe von Dr.-Ing. Bernd Köhler, Franz Eberle, Susanne Maier, Klaus-Martin Reichert und Lorenzo Toso, bedanke ich mich für die immer sehr gute Zusammenarbeit und die außerordentlich freundliche, ja freundschaftliche Arbeitsatmosphäre. Ein besonderer Dank gilt Bernd Köhler, der mich in meiner Promotion immer wohlwollend und unterstützend begleitet hat. Mit seinen hilfreichen Vorschlägen zur Dissertation, seinem offenen Ohr für jedes Anliegen und den Freiräumen, die er mir stets gewährt hat, hat er enorm zur erfolgreichen Durchführung dieser Arbeit beigetragen. In besonderem Maße danke ich auch Franz Eberle, für unzählige begeisternde, motivierende und fruchtbare Stunden, in denen wir gemeinsam in mathematischen Gesprächen vertieft waren. Er war mir ein sehr guter Mentor.

Für ihre Beiträge zum Aufbau der experimentellen Testhardware, ohne die die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen wäre, danke ich neben den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Köhler ganz herzlich auch Herrn PD Dr.-Ing. Ingo Sieber und Herrn Wolfgang Rössler.

Ebenfalls unentbehrlich waren die an der Universitätsaugenklinik in Rostock stattfindenden Versuchskampagnen zur Erprobung der entwickelten Hard- und Software, die von Herrn Prof. Dr. med. Rudolf F. Guthoff und apl. Prof. Dr. rer. nat. Oliver Stachs organisiert und begleitet und von Sabine Peschel mit viel Geduld und Fingerspitzengefühl durchgeführt wurden. Vielen Dank für jegliche Unterstützung.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei allen anderen Kollegen am IAI, die mich in meinem Promotionsvorhaben fachlich oder organisatorisch unterstützt haben, insbesondere (in alphabetischer Reihenfolge) Dr.-Ing. Christoph Beck, Dr.-Ing. Ulrich Gengenbach, PD Dr.-Ing. Lutz Gröll, Dr. rer. nat. Helmut Guth, Andreas Hofmann, Dr.-Ing. Liane Koker, Dr.-Ing. Markus Krug, Dr.-Ing. Thomas Martin, apl. Prof. Dr.-Ing. Ralf Mikut, Dr.-Ing. Jörg Nagel, apl. Prof. Dr. med. Christian Pylatiuk, Jan Rothmund, Georg Schwartz, Waldemar Spomer, Peter Stiller, Martin Ungerer und Dr.-Ing. Patrick Waibel.

Meinen Eltern möchte ich ganz herzlich dafür danken, dass sie mich in meinen Interessen stets bestärkt und gefördert haben, mich auf meinem Weg unterstützt haben und immer an mich geglaubt haben.

Mein größter Dank gilt meiner Esther, auch für die vielen Stunden des Korrekturlesens, vor allem aber dafür, dass sie mich mit motivierenden Worten und grenzenloser Geduld auf diesem Weg begleitet und mir dabei stets einen bedingungslosen Rückhalt gegeben hat. Ich danke Dir von ganzem Herzen.



## Kurzfassung

Die hochauflösende Abbildung der Nervenstrukturen im sub-basalen Nervenplexus der Kornea mittels der in-vivo-Konfokalmikroskopie birgt ein immenses Potential für die Diagnostik bei unterschiedlichsten Erkrankungen mit Beteiligung des peripheren Nervensystems. Bislang fehlt es jedoch an Verfahren zur zuverlässigen automatischen Erfassung eines ausreichend großen Bereichs des Nervenplexus als Grundlage einer belastbaren Diagnose. In der vorliegenden Dissertation wird hierfür ein neues Konzept zur automatischen Erstellung einer großflächigen Abbildung des sub-basalen Nervenplexus in der zentralen Kornea entwickelt. Wesentliche Anforderungen sind dabei ein möglichst hoher Automatisierungsgrad, die Abbildung einer kompakten zusammenhängenden Fläche und die Minimierung der dazu erforderlichen Aufnahmedauer.

Das erarbeitete Konzept wird durch einen zweigeteilten Ablauf realisiert, mit einem Prozess zur Bilddatengewinnung einerseits und einem Prozess zur Erstellung einer großflächigen Darstellung andererseits. Beide Prozesse stellen in wesentlichen Teilen Neuentwicklungen dar, die ausführlich hergeleitet und beschrieben werden.

Die Kernidee bei der Aufnahme der Bilddaten ist die kontinuierliche Führung der Blickrichtung des Patienten durch eine bewegte Fixationsmarke vor dem nicht untersuchten Auge während des Aufnahmeprozesses. Da die Augenbewegungen synchron erfolgen, überträgt sich die Bewegung auf das untersuchte Auge. Durch eine angepasste Bahnführung der Fixationsmarke wird eine kontinuierliche Erweiterung des aufgenommenen Areals der Kornea erreicht. Damit die Führung der Blickrichtung hinsichtlich der oben genannten Randbedingungen zielgerichtet geschieht, beinhaltet das Konzept ein Verfahren zur Analyse der akquirierten Bilddaten und zur Rückkopplung auf die Bahn der Fixationsmarke.

Die zur Verarbeitung der Bilddaten zu großflächigen Mosaikbildern aufgebaute Prozesskette wird detailliert hergeleitet. Die Aufgabe der Mosaikbilderzeugung aus den akquirierten Aufnahmesequenzen kann in die Registrierung der Bilddaten und die anschließende Bildfusion unterteilt werden. Eine zentrale Herausforderung bei der vorliegenden Aufgabenstellung besteht in der Korrektur der Bewegungsartefakte, die durch die Bewegung des Auges während der Bildgebung verursacht werden. Die Bewegungsartefakte manifestieren sich in den Aufnahmen als für die Aufnahmetechnik charakteristische horizontale und vertikale Verzerrungen, die im Rahmen der Registrierung bestimmt und korrigiert werden.

Die Beschreibung eines Labormusters zur experimentellen Erprobung der entwickelten Prozesse komplettiert die Darstellung des neuen Gesamtkonzepts zur Erzeugung großflächigen konfokalmikroskopischen in-vivo-Bildgebung des sub-basalen Nervenplexus der Kornea.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>vii</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>ix</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Bedeutung neuropathischer Erkrankungen . . . . .	1
1.2 Darstellung des Entwicklungsstands . . . . .	2
1.2.1 Konfokalmikroskopie der Kornea . . . . .	2
1.2.2 Diabetische Neuropathie . . . . .	4
1.2.3 Innervation der Kornea . . . . .	6
1.2.4 Veränderung der sub-basalen Nervenstrukturen der Kornea . . . . .	9
1.2.5 Erzeugung großflächiger Mosaikbilder des sub-basalen Nervenplexus . . .	15
1.3 Ziele und Aufgaben . . . . .	21
<b>2 Neues Konzept zur automatischen Erstellung von Mosaikbildern der Kornea</b>	<b>23</b>
2.1 Beschreibung der Komponenten zur Bilddatengewinnung . . . . .	23
2.1.1 Anzeige der Fixationsmarke . . . . .	25
2.1.2 Bildgebung . . . . .	25
2.1.3 Steuerungssoftware . . . . .	26
2.2 Beschreibung der Komponenten zur Mosaikbilderzeugung . . . . .	28
2.2.1 Registrierung der Bildserie . . . . .	28
2.2.2 Fusion der Bilddaten zu einem Mosaikbild . . . . .	29
2.3 Zusammenfassung . . . . .	29
<b>3 Algorithmen für einen automatisierten Aufnahmeprozess</b>	<b>30</b>
3.1 Bidirektionaler Datenaustausch mit der Mikroskopsoftware . . . . .	31
3.2 Neue Bahnführung der Fixationsmarke . . . . .	32
3.3 Zusammenhänge zwischen den beteiligten Koordinatensystemen . . . . .	35
3.3.1 Nicht-lineare globale Modellierung der Koordinatentransformation . . . .	36
3.3.2 Lineare lokale Modellierung der Koordinatentransformation . . . . .	42
3.4 Ansätze zur adaptiven Anpassung der Fixationsmarkenbahn . . . . .	46
3.4.1 Vorbetrachtungen . . . . .	46
3.4.2 Adaptive Anpassung der Spiralgeometrie . . . . .	48

3.5	Zusammenfassung . . . . .	50
<b>4</b>	<b>Algorithmen zur automatisierten Erzeugung von Mosaikbildern der Kornea</b>	<b>51</b>
4.1	Abstraktion des Aufnahmesystems . . . . .	51
4.2	Entstehung der Bewegungsartefakte . . . . .	53
4.2.1	Bewegungsartefakte bei gleichförmiger vertikaler Bewegung . . . . .	55
4.2.2	Bewegungsartefakte bei gleichförmiger horizontaler Bewegung . . . . .	57
4.2.3	Bewegungsartefakte bei beliebigen Bewegungen . . . . .	59
4.3	Ableitung einer neuen Prozesskette zur Registrierung der Aufnahmeserie . . . . .	60
4.3.1	Vorbemerkungen zu den Bewegungsartefakten . . . . .	60
4.3.2	Vorbemerkungen zu Torsionsbewegungen des Auges . . . . .	61
4.3.3	Vorbemerkungen zur Modellierung der Abbildungsfläche . . . . .	61
4.3.4	Aufbau der Prozesskette . . . . .	63
4.4	Versatzbestimmung mittels der Phasenkorrelationsfunktion . . . . .	65
4.4.1	Schätzung des Subpixelversatzes . . . . .	66
4.4.2	Interpretation des Korrelationswerts . . . . .	66
4.4.3	Interpretation der Bilder als periodische Signale . . . . .	68
4.5	Registrierung von Bildpaaren . . . . .	70
4.5.1	Registrierung der Gesamtbilder . . . . .	71
4.5.2	Registrierung von Teilbildern . . . . .	73
4.5.3	Auswahl von zu registrierenden Bildpaaren . . . . .	77
4.6	Schätzung des Bewegungsverlaufs der Aufnahmeserie . . . . .	79
4.6.1	Formulierung eines linearen Gleichungssystems . . . . .	81
4.6.2	Regularisierung des linearen Gleichungssystems . . . . .	82
4.6.3	Lösung des linearen Gleichungssystems . . . . .	83
4.6.4	Bestimmung der Bildzeilenversatzwerte . . . . .	84
4.7	Korrektur der Bewegungsartefakte . . . . .	87
4.8	Fusion der Bilddaten . . . . .	89
4.9	Zusammenfassung . . . . .	91
<b>5</b>	<b>Experimenteller Versuchsaufbau</b>	<b>93</b>
5.1	Labormuster 1: Monokulare Videobrille . . . . .	94
5.2	Labormuster 2: Smartphone mit Displaylupe . . . . .	95
5.3	Labormuster 3: Smartphone mit angepasstem 4-Linsen-System . . . . .	96
5.4	Zusammenfassung . . . . .	98
<b>6</b>	<b>Erprobung des neuen Konzepts</b>	<b>99</b>
6.1	Übersicht der durchgeführten Messkampagnen . . . . .	99
6.1.1	Messkampagne 1 . . . . .	101
6.1.2	Messkampagne 2 . . . . .	102
6.1.3	Messkampagne 3 . . . . .	103
6.1.4	Messkampagne 4 . . . . .	103

6.1.5	Messkampagne 5 . . . . .	104
6.2	Bestimmung eines geeigneten Schwellwerts für die offline-Bildregistrierung . . . . .	105
6.2.1	Einführung der Konfusionsmatrix . . . . .	105
6.2.2	Verteilung der nicht korrekten Registrierergebnisse . . . . .	107
6.2.3	Ableitung des Schwellwerts . . . . .	108
6.2.4	Diskussion der Ergebnisse . . . . .	111
6.3	Analyse der offline-Bildregistrierung . . . . .	111
6.3.1	Wahl der Schrittweite . . . . .	112
6.3.2	Laufzeitanalyse . . . . .	113
6.3.3	Vergleich der Strategien zur Auswahl zu registrierender Bildpaare . . . . .	115
6.3.4	Diskussion der Ergebnisse . . . . .	119
6.4	Beurteilung der Markenbahnparameter . . . . .	120
6.4.1	Bewertung der Markengeschwindigkeit . . . . .	122
6.4.2	Bewertung des Windungsabstands . . . . .	123
6.4.3	Diskussion der Ergebnisse . . . . .	125
6.5	Analyse der online-Bildregistrierung . . . . .	126
6.5.1	Berechnete Lagekoordinaten im Vergleich zur offline-Registrierung . . . . .	126
6.5.2	Relative Häufigkeit nicht registrierbarer Aufnahmen . . . . .	128
6.5.3	Diskussion der Ergebnisse . . . . .	130
6.6	Vergleich der Transformationsansätze . . . . .	131
6.6.1	Beurteilung der globalen nicht-linearen Transformation . . . . .	131
6.6.2	Beurteilung der lokal linear approximierten Transformation . . . . .	135
6.6.3	Diskussion der Ergebnisse . . . . .	137
6.7	Bewertung der Ansätze zur Anpassung der Spiralparameter . . . . .	138
6.8	Zusammenfassung . . . . .	141
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>144</b>
<b>A</b>	<b>Konfokalmikroskopie</b>	<b>147</b>
A.1	Tandem-Scanning-Konfokalmikroskopie . . . . .	149
A.2	Spalt-Scanning-Konfokalmikroskopie . . . . .	150
A.3	Laser-Scanning-Konfokalmikroskopie . . . . .	150
<b>B</b>	<b>Morphometrische Merkmale des sub-basalen Nervenplexus</b>	<b>152</b>
B.1	Nervenfasertortuosität . . . . .	152
B.2	Weitere Merkmale . . . . .	155
	<b>Literatur</b>	<b>157</b>

# Abbildungsverzeichnis

1.1	Prinzip der Konfokalmikroskopie . . . . .	3
1.2	Gewebeschichten der Kornea . . . . .	8
1.3	Konfidenzintervalle der Nervenfaserverparameter in Abhängigkeit der Anzahl untersuchter Einzelaufnahmen . . . . .	15
1.4	Landmarken für die merkmalsbasierte Registrierung bei Turuwhenua et al. . . . .	18
1.5	Trajektorien der bewegten Fixationsmarke bei Edwards et al. . . . .	19
2.1	Aufbau des Bildgewinnungsprozesses . . . . .	24
2.2	Prozesskette zur Mosaikbilderzeugung . . . . .	28
3.1	Am Aufnahmeprozess beteiligte Einzelprozesse . . . . .	31
3.2	Geschwindigkeitsvektoren in einer lokalen Umgebung der Trajektorie . . . . .	33
3.3	Archimedische Spirale . . . . .	34
3.4	Geschwindigkeitsprofil der Fixationsmarke in der Beschleunigungsphase . . . . .	35
3.5	Schematische Darstellung der Aufnahmesituation . . . . .	36
3.6	Nichtlinearer Zusammenhang zwischen Display- und Mosaikbildkoordinaten . . . . .	37
3.7	Berechnungsschritte der nicht-linearen Transformation . . . . .	38
3.8	Abhängigkeit des Skalierungsfaktors vom Blickwinkel . . . . .	43
3.9	Approximation eines konstanten Streckfaktors auf einem Spiralabschnitt . . . . .	43
3.10	Abweichung der Fokusebene aus der SNP-Schicht aufgrund der Augengeometrie . . . . .	47
4.1	Bewegungsartefakte bei vertikaler Bewegung . . . . .	56
4.2	Bewegungsartefakte bei horizontaler Bewegung . . . . .	58
4.3	Kugelabschnitt . . . . .	62
4.4	Phasenkorrelationsfunktion . . . . .	65
4.5	Häufigkeitsdichte der Phasenkorrelationswerte . . . . .	67
4.6	Auswirkung der Periodizität des Signals bei der Phasenkorrelation . . . . .	68
4.7	Phasenkorrelationsfunktion ohne Erweiterung der Periodenlänge . . . . .	69
4.8	Phasenkorrelationsfunktion mit Erweiterung der Periodenlänge um $k = \frac{n}{3}$ . . . . .	70
4.9	Phasenkorrelationsfunktion mit Erweiterung der Periodenlänge um $k = n$ . . . . .	70
4.10	Translation zwischen Einzelaufnahmen ohne Bewegungsartefakte . . . . .	71
4.11	Phasenkorrelationsfunktion zweier Aufnahmen ohne Bewegungsartefakte . . . . .	72

4.12	Translation zwischen Einzelaufnahmen mit Bewegungsartefakten . . . . .	72
4.13	Phasenkorrelationsfunktion zweier Aufnahmen mit Bewegungsartefakten . . . . .	73
4.14	Überlappungsbereich zweier Bilder bei Translation um Vektor $\vec{u}$ . . . . .	75
4.15	Maskierung der Bilder zur Registrierung von Teilbildern . . . . .	76
4.16	Ableitung einer Relation zwischen Stützpunkten der Bewegungstrajektorie aus einer Teilbildregistrierung . . . . .	80
4.17	Stützpunkte zur Interpolation der Zeilenversatzwerte . . . . .	87
4.18	Interpolation der Intensitätswerte im Pixelraster des Mosaikbilds . . . . .	88
5.1	Labormuster 1 . . . . .	94
5.2	Labormuster 2 . . . . .	95
5.3	Labormuster 3 . . . . .	97
6.1	Alternierendes Mäander als Fixationsmarkenbahn . . . . .	102
6.2	Konfusionsmatrix . . . . .	106
6.3	Häufigkeitsdichte der Korrelationswerte nicht korrekter Registrierungen . . . . .	107
6.4	Sensitivität und Spezifität eines Schwellwertklassifikators . . . . .	109
6.5	Schwellwert für die offline-Registrierung . . . . .	110
6.6	Vergleich der Ergebnisbilder für verschiedene Schwellwerte . . . . .	110
6.7	Laufzeiten der offline-Algorithmen . . . . .	116
6.8	Defizit der Minimalstrategie . . . . .	117
6.9	Korrektur der Positionierfehler der Minimalstrategie . . . . .	117
6.10	Beispiel für die Strategie der konstanten Schrittweite . . . . .	118
6.11	Flächen und Aufnahmedauern bei unterschiedlichen Spiralparametern . . . . .	121
6.12	Flächenzuwachsrate bei unterschiedlichen Spiralparametern . . . . .	122
6.13	Registriergraphen für variierende Windungsabstände . . . . .	124
6.14	Verteilung der Lageabweichung zwischen online- und offline-Registrierung . . . . .	127
6.15	Vergleich der Lagekoordinaten zwischen online- und offline-Registrierung 1 . . . . .	127
6.16	Vergleich der Lagekoordinaten zwischen online- und offline-Registrierung 2 . . . . .	128
6.17	Anteil nicht registrierbarer Aufnahmen bei unterschiedlichen Spiralparametern . . . . .	130
6.18	Globale Koordinatentransformation bei spiralförmiger Bahn . . . . .	133
6.19	Globale Koordinatentransformation bei verzerrter Spiraltrajektorie . . . . .	134
6.20	Globale Koordinatentransformation bei erratischer Trajektorie . . . . .	134
6.21	Lokal angepasste Koordinatentransformation bei verzerrter Spiraltrajektorie . . . . .	136
6.22	Verlauf der Restfehlerwerte bei offline-Registrierung . . . . .	136
6.23	Verlauf der Restfehlerwerte bei online-Registrierung . . . . .	137
6.24	Vergleich der Ergebnisse der Ansätze zur Anpassung der Spiralparameter . . . . .	140
A.1	Prinzip der Konfokalmikroskopie . . . . .	148
A.2	Airy-Scheibe als zweidimensionale Funktion . . . . .	149
A.3	Nipkow-Scheibe . . . . .	149
A.4	Aufbau eines Laser-Scanning-Konfokalmikroskops . . . . .	151

# Tabellenverzeichnis

6.1	Versuchsprotokolle der Messkampagnen . . . . .	100
6.2	Schwellwerte für die offline-Bildregistrierung . . . . .	110
6.3	Wahl der Schrittweite bei der Selektion der zu registrierenden Bildpaare . . . . .	113
6.4	Statistik der Knotengrade im Registriergraph . . . . .	125
6.5	Statistik der nicht registrierbaren Aufnahmen . . . . .	129
6.6	Statistik der Restfehler bei globaler Transformation . . . . .	132
6.7	Statistik der Restfehler bei lokaler Transformation . . . . .	137

# Kapitel 1

## Einleitung

### 1.1 Bedeutung neuropathischer Erkrankungen

Der Diabetes Mellitus ist nicht nur in den Industrienationen eine der Erkrankungen mit der höchsten Prävalenz in der Gesamtbevölkerung, seine Verbreitung nimmt auch in den Entwicklungs- und Schwellenländern enorm zu [1]. Schätzungen zufolge leiden weltweit mehr als 285 Millionen Menschen unter Diabetes [2],<sup>1</sup> bis ins Jahr 2030 wird diese Zahl auf über 438 Millionen ansteigen [2]. Die Zunahme zeigt sich nicht allein in den absoluten Zahlen. Lag die Prävalenz in der Weltbevölkerung im Jahr 1980 noch bei geschätzten 7,9%, wird sie für das Jahr 2008 bereits mit 9,5% angenommen [3], mit weiter zunehmender Tendenz.<sup>2</sup> Diese Zahlen belegen eindrücklich die enorme, nicht zuletzt auch sozioökonomische Bedeutung des Diabetes Mellitus weltweit.

Die schädigende Wirkung des Diabetes Mellitus, kurz Diabetes, auf den Organismus zeigt sich in erster Linie in Form zahlreicher Folgeerkrankungen, die durch den Diabetes verursacht werden. Im Vergleich zur diabetischen Retinopathie, diabetischen Nephropathie und diabetischen Kardiopathie ist die diabetische Neuropathie mit einer Prävalenz von ca. 18,6% bei Diabetikern die mit Abstand häufigste Folgeerkrankung [5]. Die Symptome der diabetesbedingten Schädigung des peripheren Nervensystems zeigen sich zunächst vor allem in den Extremitäten in Form einer reduzierten Berührungs-, Vibrations- und Temperaturempfindlichkeit. Neben einer Reduzierung der Lebensqualität für den Patienten führt der zunehmende Verlust dieser Sensibilität, im Zusammenhang mit einer ebenfalls verminderten Durchblutung der unteren Extremitäten, nicht selten zu Ulzera am Fuß — dem sogenannten diabetischen Fuß Syndrom —, wodurch im Extremfall eine Amputation notwendig werden kann [6, S. 295].

Je früher im Verlauf der diabetischen Neuropathie therapeutische Maßnahmen eingeleitet werden, desto größer ist der zu erwartende Therapieerfolg [7, S. 376]. Deshalb werden sensitive, mess- und idealerweise quantifizierbare Indikatoren gesucht, die pathologische Veränderungen des peripheren Nervensystems möglichst frühzeitig erkennen können. Neben der Erstdiagnose

---

<sup>1</sup>Danaei et al. nennen hier mit 347 Millionen eine etwas höhere Zahl, der Unterschied wird auch diskutiert [3].

<sup>2</sup>In der CoDiM-Studie wurden ähnliche Werte für Deutschland ermittelt. Demnach stieg die Prävalenz in der Gesamtbevölkerung von 6,9% in 2001 [4] auf 10,0% im Jahr 2010 [5].

besteht ein zweiter wichtiger Anwendungszweck eines sensitiven Indikators für periphere Neuropathie im Nachweis einer potentiellen Verbesserung des Nervenzustands. Dies kann der Erfolgskontrolle therapeutischer Maßnahmen in der klinischen Praxis dienen, wird aber vor allem dringend zum Nachweis der Wirksamkeit bei der Entwicklung neuer Therapieansätze benötigt.

Heute existieren eine Reihe von Untersuchungsmethoden zur Diagnose und Beurteilung einer peripheren Neuropathie. Die meisten beurteilen die Nervenfunktion und signalisieren eine Schädigung naturgemäß erst in einem Stadium, in dem die Funktion der Nerven eingeschränkt ist. Im Gegensatz dazu wird bei der Untersuchung der Nervenfaserdichte mit einer Hautbiopsie unmittelbar die Morphologie der Nerven betrachtet. Obwohl dieses Verfahren als sensitiv und prinzipiell für eine Frühdiagnose geeignet gilt [8], wird es in der Praxis eher selten angewendet. Einer der Hauptgründe dürfte sicherlich die Invasivität der Biopsie sein.

Mit der Entwicklung der in-vivo-Konfokalmikroskopie an der Kornea (CCM von engl. corneal confocal microscopy) zeichnet sich eine Alternative zur Hautbiopsie ab. Dank ihrer Transparenz ist die Kornea das einzige Gewebe des menschlichen Körpers, in welchem Nervenstrukturen der Darstellung durch hochauflösende optische Bildgebungsverfahren unmittelbar und nicht-invasiv zugänglich sind. Bei der CCM werden in vivo Aufnahmen der innervierten Kornea gewonnen, in denen daraufhin die Morphologie der aufgenommenen Nervenfasern untersucht werden kann. Die Möglichkeit zur qualitativen oder quantitativen Charakterisierung der kornealen Nervenstrukturen birgt ein immenses Potential für die Diagnostik bei unterschiedlichsten Erkrankungen mit Beteiligung des peripheren Nervensystems. Bislang wird die CCM ausschließlich in der medizinischen Forschung eingesetzt. Die Erforschung dieser neuartigen Untersuchungsmethode wird von mehreren Forschergruppen weltweit vorangetrieben [9–23], mit dem Ziel, ein standardisiertes Vorgehen zu etablieren und für die klinische Praxis verfügbar zu machen.<sup>3</sup>

Eines der Kernprobleme dabei ist das eingeschränkte Bildfeld bei der hochauflösenden Konfokalmikroskopie, das bei den heute verfügbaren und für die Untersuchung der Augen zugelassenen Geräten in der Größenordnung von 0,15–0,2 mm<sup>2</sup> liegt [9; 25; 26]. Aufgrund der inhomogenen Verteilung der Nervenfasern auf dieser Größenskala reicht eine einzelne Aufnahme für die zuverlässige Beurteilung der Nervenmorphologie nicht aus. Eine Vorgehensweise zur Vergrößerung des effektiven Bildfelds ist daher zwingend erforderlich, bevor die in-vivo-Konfokalmikroskopie der Kornea Einzug in die klinische Praxis finden kann. Die vorliegende Dissertation soll hierzu einen Beitrag leisten.

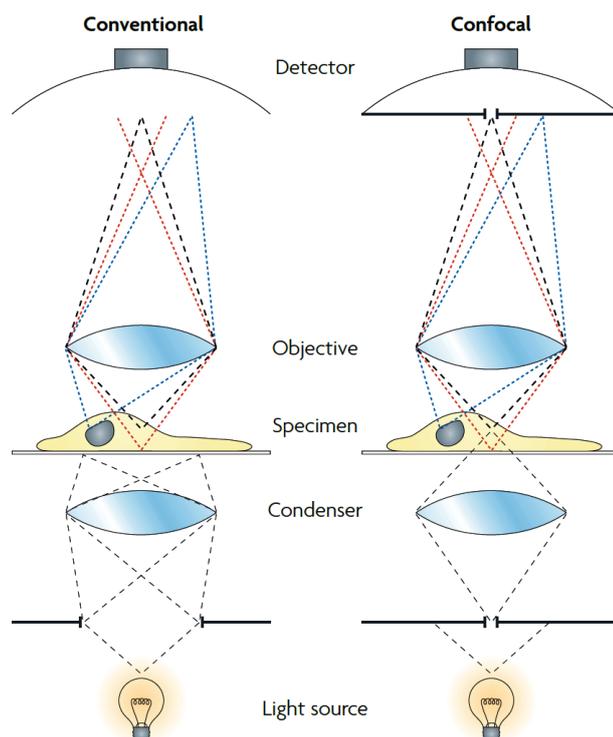
## 1.2 Darstellung des Entwicklungsstands

### 1.2.1 Konfokalmikroskopie der Kornea

Das bildgebende Verfahren der Konfokalmikroskopie ermöglicht die Abbildung eines optischen Schnitts, d.h. einer eng begrenzten, dünnen Schicht, im Inneren einer (lichtdurchlässigen) Probe mit hoher lateraler Auflösung und zugleich sehr geringer Schärfentiefe. Im Folgenden werden das

---

<sup>3</sup>Die Charakterisierung der kornealen Nervenstrukturen stellt dabei nicht das einzige mögliche Anwendungsfeld der CCM dar. Weitere Forschungen befassen sich beispielsweise mit der Diagnose einer Hornhautentzündung (Keratitis) durch den direkten Nachweis verschiedener Erreger [24].



**Abbildung 1.1:** Prinzip der Konfokalmikroskopie (aus [27], dort nach [28, S. 54])

Funktionsprinzip der Konfokalmikroskopie skizziert und die bisher realisierten Umsetzungen für den Einsatz an der lebenden Kornea dargestellt. Für eine detailliertere Erläuterung des konfokalmikroskopischen Prinzips sei auf Anhang A verwiesen.

Abbildung 1.1 stellt den prinzipiellen Aufbau eines Konfokalmikroskops dem eines konventionellen Lichtmikroskops gegenüber. Bei der konventionellen Lichtmikroskopie wird das Licht einer Lichtquelle durch ein Linsensystem derart fokussiert, dass der gesamte abzubildende Bereich der Probe beleuchtet wird. Ein zweites Linsensystem fokussiert das transmittierte Licht auf den Detektor, auf dem durch die lokale Akkumulation des einfallenden Lichts über einen definierten Zeitraum — die Belichtungsdauer — die Abbildung entsteht.

Demgegenüber wird bei der Konfokalmikroskopie auf der Seite der Lichtquelle sowie auf der Seite des Detektors jeweils eine nahezu punktförmige Lochblende in den Strahlengang eingefügt. Das erste Linsensystem erzeugt dadurch die Abbildung einer quasi punktförmigen Lichtquelle in einem lateral und axial eng begrenzten Bereich der Probe. Das zweite Linsensystem bildet eben diesen Bereich auf den Detektor ab, wobei die detektorseitige Lochblende das — ohnehin geringe — Streulicht aus anderen Regionen der Probe abschirmt. Durch Akkumulation des einfallenden Lichts über eine definierte Belichtungsdauer entsteht auf dem Detektor die Abbildung einer eng begrenzten, annähernd punktförmigen Region der Probe, woraus sich das hohe laterale und vor allem axiale Auflösungsvermögen der Konfokalmikroskopie begründet. Zur Erzeugung eines optischen Schnitts in Form einer Fläche<sup>4</sup> muss der abzubildende Bereich, das sogenannte

<sup>4</sup>Die Form einer Fläche wird hier in Analogie zur zweidimensionalen Abbildung bei der konventionellen Lichtmikroskopie gewählt. Ganz problemlos kann bei der Konfokalmikroskopie der abgebildete Bereich auf eine Dimension beschränkt werden. Auch der Abbildung eines Volumens stehen allenfalls praktische, keineswegs jedoch prinzipielle

Bildfeld, daher punktweise abgetastet werden [29]. Anstatt wie in Abbildung 1.1 das die Probe durchdringende Licht zu detektieren, kann auch das im jeweils abgebildeten Punkt reflektierte Licht gemessen werden, indem die Lichtquelle und der Detektor auf derselben Seite der Probe angeordnet werden. Dabei können sogar die Lochblende und das Linsensystem sowohl für das einfallende wie für das ausfallende Licht gleichermaßen verwendet werden, indem zwischen Lochblende und Lichtquelle bzw. Detektor ein Strahlteiler angeordnet wird. Dieses Prinzip findet bei der CCM Anwendung.

Drei kommerzielle konfokalmikroskopische Systeme besitzen die Zulassung für die Anwendung am lebenden Auge: das Tandem Scanning Confocal Microscope (TSCM; Tandem Scanning Corporation, Reston, Virginia, USA), das ConfoScan (Nidek Technologies Srl, Padua, Italien), sowie der Heidelberg Retina Tomograph in Verbindung mit dem Rostock Cornea Module (HRT/RCM; Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland). Die drei Geräte basieren auf jeweils unterschiedlichen Variationen des konfokalmikroskopischen Prinzips, die im Anhang A in den Abschnitten A.1 bis A.3 näher erläutert werden. Allen drei System gemeinsam ist die Möglichkeit zur Erzeugung von Einzelaufnahmen und Aufnahmeserien, sowie zur gezielten Einstellung und Veränderung der Fokussiertiefe (d.h. der Lage der Fokusebene des Mikroskops relativ zum Gerät). Das Bildfeld ist bei allen drei Systemen ähnlich. Das TSCM arbeitet mit einem Bildfeld von  $450 \times 360 \mu\text{m}^2 = 0,162 \text{ mm}^2$  [9], das Confoscan mit  $460 \times 345 \mu\text{m}^2 = 0,159 \text{ mm}^2$  [25] und das HRT/RCM in der üblichen Konfiguration mit  $400 \times 400 \mu\text{m}^2 = 0,160 \text{ mm}^2$  [26].<sup>5</sup> Deutliche Unterschiede weisen die drei Geräte jedoch hinsichtlich ihrer Abbildungseigenschaften wie Auflösungsvermögen, Schärfentiefe und Kontrast der erzeugten Aufnahmen auf. Für eine vergleichende Analyse in Bezug auf ihre Eignung zur Abbildung der kornealen Nervenstrukturen sei an dieser Stelle auf Abschnitt 2.1.2 verwiesen.

### 1.2.2 Diabetische Neuropathie

Der Begriff der diabetischen Neuropathie beschreibt ganz generell eine durch den Diabetes verursachte pathologische Veränderung des Nervensystems, die sich in einer fortschreitenden Degeneration der Nervenfasern manifestiert [31]. Die auftretende Ausprägung der Neuropathie kann von Patient zu Patient sehr individuell ausfallen, es wird jedoch je nach Art der involvierten Nerven grundsätzlich zwischen einer peripheren und einer autonomen Neuropathie unterschieden.<sup>6</sup> Häufig treten beide Formen gemeinsam auf [32, S. 176; 33, S. 199].

Im peripheren Nervensystem lassen sich verschiedene Fasertypen unterscheiden, insbesondere Fasern mit Myelinscheide<sup>7</sup> und großem Durchmesser und dünne, unmyelinisierte Fasern, die unterschiedliche Informationen transportieren. Je nachdem, welche der Fasern geschädigt

---

Erwägungen entgegen.

<sup>5</sup>Durch eine austauschbare Linse kann das HRT/RCM alternativ auch mit einem Bildfeld von  $300 \times 300 \mu\text{m}^2 = 0,090 \text{ mm}^2$  betrieben werden [20; 30].

<sup>6</sup>Das periphere oder somatische Nervensystem umfasst die sensorischen und motorischen Nerven, die die über die Haut wahrgenommenen Sinneseindrücke und die Ansteuerung der Muskeln des Bewegungsapparats übertragen. Demgegenüber versorgt das autonome Nervensystem alle inneren Organe.

<sup>7</sup>Eine zelluläre Ummantelung von Nervenfasern, die ihrer elektrischen Isolation und der Beschleunigung der elektrischen Leitgeschwindigkeit dient.

sind, wird von einer Large-Fiber-Neuropathie oder einer Small-Fiber-Neuropathie gesprochen.<sup>8</sup> Auch hier können beide Varianten gemeinsam vorliegen. Oft geht eine Schädigung der dünnen Nervenfasern einer Large-Fiber-Neuropathie voraus [34, S. 129].

Die periphere Neuropathie kann asymmetrisch auftreten und auf eine (fokal) oder auf wenige Stellen im Körper (multi-fokal) beschränkt sein. Die typischste Ausprägung ist jedoch die symmetrische distale Polyneuropathie, die sich beidseitig manifestiert und einen grundsätzlich durch die Länge der Nervenfasern definierten Verlauf nimmt. Die Schädigungen beginnen in den Zehen und setzen sich dann über den Fuß und das Bein von unten nach oben fort [33, S. 200]. Die Schädigung der oberen Extremitäten beginnt später, verläuft dann aber analog [33, S. 200]. Die typischen Symptome dieser Form der diabetischen Neuropathie sind ein kribbelndes, stechendes oder pelziges Gefühl, teilweise begleitet von einem als Hitze wahrgenommenem Schmerz, sowie der zunehmende Verlust der sensorischen Wahrnehmung und der Reflexe in den betroffenen Regionen [33, S. 199]. Dieser schleichend verlaufende Rückgang der Sensibilität in den Füßen ist maßgeblich an der Ausbildung des diabetischen Fuß Syndroms beteiligt [6, S. 295].

Es existieren verschiedene Ansätze zur Diagnose der diabetischen Neuropathie, mit spezifischen Vorzügen und Nachteilen. Bei einer klinischen Untersuchung wird die Funktion der Nerven durch Induzieren spezifischer Reize — z.B. Vibrationen über eine Stimmgabel, leichte Berührung mittels eines Monofilaments — und Abfragen der wahrgenommenen Empfindung bzw. durch Prüfung der Funktionsfähigkeit von Reflexen in den Extremitäten ermittelt und durch den Untersucher beurteilt. Klinische Untersuchungen sind sehr einfach durchzuführen, die Interpretation der Ergebnisse erfordert aber ein hohes Maß an Expertenwissen und sie sind in der Regel zumeist qualitativer Natur. Darüber hinaus sind sie stark vom subjektiven Eindruck des Patienten abhängig und unterliegen somit auch variablen, unkontrollierbaren Einflüssen [35, S. 170].

Mit sogenannten quantitativen sensorischen Tests (QST) wird prinzipiell dasselbe Ziel verfolgt, der Reiz wird jedoch durch elektronisch angesteuerte Geräte erzeugt und kann sehr genau dosiert und variiert werden. Die Ergebnisse bei QST sind quantitativ, in Form einer Wahrnehmungsschwelle, und gelten als besser reproduzierbar [21], unterliegen aber dennoch wie die klinische Untersuchung der subjektiven Wahrnehmung des Patienten [36, S. 189].

Ein weiterer Ansatz besteht darin, das Vorhandensein von Symptomen beim Patienten auf der Basis standardisierter Fragebögen abzufragen und daraus durch ein vorgegebenes Bewertungsschema einen einzelnen Ergebniswert — den Symptom Score oder Deficit Score — abzuleiten, der den Schweregrad der Neuropathie bemisst. Wie bei den QST erfordert dieser Ansatz keine Interpretation seitens des Arztes, unterliegt aber subjektiven und teilweise psychologischen Einflüssen seitens des Patienten [35, S. 171].

Bei der elektrophysiologischen Untersuchung der Nervenleitung werden durch auf der Haut angebrachte Elektroden elektrische Impulse in eine Nervenbahn induziert und an anderer Stelle wieder gemessen. Verschiedene Parameter wie die Latenz, die Geschwindigkeit und die Amplitude des gemessenen Signals sind bei geschädigten Nerven verändert und lassen daher Rückschlüsse

---

<sup>8</sup>Die Verwendung der englischen Begriffe ist auch im deutschen Sprachgebrauch üblich.

auf die Schwere einer peripheren Neuropathie zu. Die elektrophysiologische Untersuchung unterliegt keinerlei subjektiven Einflüssen, weder beim Patienten noch beim Arzt. Aufgrund hoher Variabilität der etablierten Normalwerte ist eine milde Neuropathie mittels der Nervenleitwerte schwer zu diagnostizieren [36, S. 184], dennoch gilt die elektrophysiologische Untersuchung als derzeit zuverlässigste Methode zur Beurteilung der großen Nervenfasern [36, S. 177]. Die dünnen Fasern werden hingegen nicht erfasst, weshalb sich eine Small-Fiber-Neuropathie nicht nachweisen lässt [36, S. 184; 21].

Schließlich existiert das Verfahren der Hautbiopsie, bei der mittels einer 3 mm-Stanze eine Probe der oberen Hautschichten entnommen wird [36, S. 194–198]. Als nicht-invasive Alternative lässt sich durch provozierte Blasenbildung mittels Unterdruck auch eine nur ca. 40–60  $\mu\text{m}$  dicke Probe der obersten Zellschichten erhalten. Die Nervenstrukturen in der entnommenen Probe werden durch Farbstoffe markiert und anschließend unter dem Mikroskop analysiert und quantifiziert. Bei einer peripheren Neuropathie ist die Anzahl der in der Probe nachgewiesenen Nervenfasern reduziert, die Anzahl ihrer Verzweigungen ist erhöht [36, S. 197]. Im Gegensatz zu den oben erwähnten Methoden beurteilt dieses Verfahren nicht die Funktion der Nervenfasern, sondern unmittelbar ihre Morphologie. Es ist quantitativ, objektiv und gilt aufgrund der Beurteilung der Nervenenden, die häufig als erster Teil der Nervenfasern geschädigt werden, als sensitiv. Small-Fiber-Neuropathien können auf diese Weise diagnostiziert werden, selbst wenn alle anderen beschriebenen Verfahren keine abnormalen Werte anzeigen [36, S. 197].

### 1.2.3 Innervation der Kornea

Die Kornea ist das am dichtesten innervierte oberflächliche Gewebe des menschlichen Körpers. Die dünnen kornealen Nervenfasern entstammen dem Nervus ophthalmicus, dem ersten Hauptast des fünften Hirnnervs, des Nervus trigeminus. Sie sind dem peripheren Nervensystem zugeordnet und übertragen überwiegend sensorische Signale von der Oberfläche der Kornea.<sup>9</sup> Die dichte sensorische Innervierung der Kornea geht mit einer hohen Sensitivität ihrer Oberfläche einher, welche zum einen beim geringsten Kontakt durch einen Fremdkörper für das schnelle Auslösen des Lidschlussreflexes sorgt und somit eine bedeutsame Rolle für die Unversehrtheit der Kornea und des Auges insgesamt spielt. Zum anderen registrieren die Nervenenden auch das Aufreißen des Tränenfilms auf der Augenoberfläche, woraufhin ebenfalls der Lidschlussreflex ausgelöst und der Tränenfilm erneuert wird, der das Epithelgewebe mit Nährstoffen versorgt und das Austrocknen der Oberfläche verhindert.

Die wissenschaftliche Erforschung der kornealen Innervation beginnt bereits in der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts [37].<sup>10</sup> Seitdem finden sich in der Literatur verschiedene detaillierte Beschreibungen der kornealen Nervenstrukturen. Da frühere bildgebende Verfahren zur in-vivo-Untersuchung der Kornea (insbesondere die Spaltlampe) nicht über die benötigte Auflösung zur Abbildung der dünnen Nervenstrukturen verfügten, war der Erkenntnisgewinn lange Zeit

<sup>9</sup>Es wird zusätzlich auch eine trophische Bedeutung der Nerven für das korneale Gewebe, speziell das Epithelgewebe, beschrieben, d.h. die kornealen Nervenstrukturen spielen auch eine Rolle für das Wachstum und die Aufrechterhaltung des Epithelgewebes.

<sup>10</sup>Lassmann datiert den Beginn der systematischen Erforschung der kornealen Innervation in das Jahr 1830.

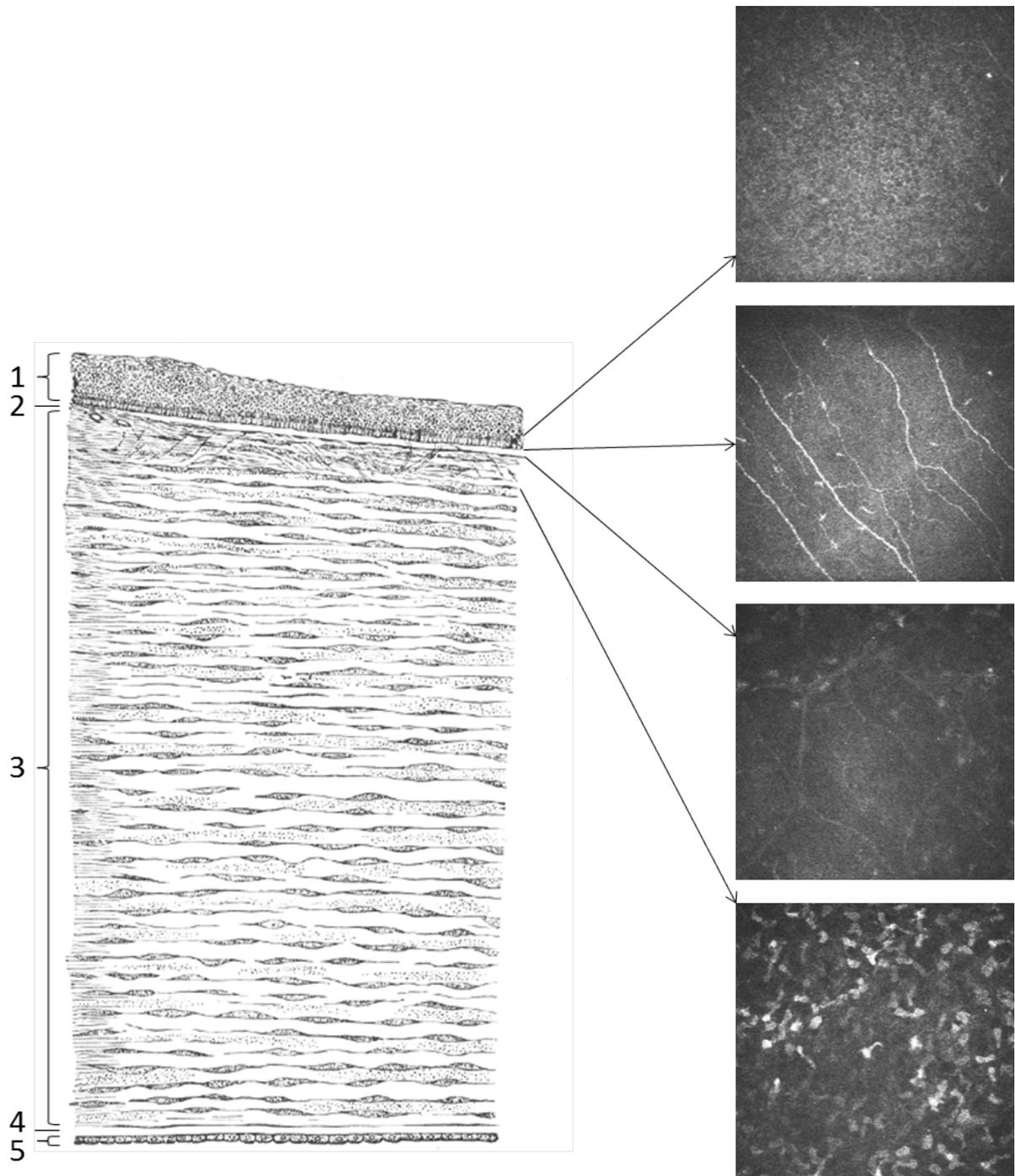
auf die mikroskopische Untersuchung explantierter Proben angewiesen. Dieser Ansatz ist jedoch in verschiedener Hinsicht mit Schwierigkeiten verbunden, da die Nervenfasern in totem Gewebe sehr rasch zu degenerieren beginnen [13; 38] und gesunde Spender-Hornhäute in der Regel dringend zur Transplantation benötigt werden [38]. Mit der in-vivo-Konfokalmikroskopie steht erstmals ein bildgebendes Verfahren zur Verfügung, mit dem die Gewebeschichten der Kornea einschließlich der Nervenstrukturen auf zellulärem Maßstab am lebenden Auge abgebildet werden können und welches somit auch eine häufige Wiederholung und die Erstellung von Zeitreihenmessungen ermöglicht. Abbildung 1.2 zeigt links eine schematische Darstellung der kornealen Gewebeschichten sowie exemplarische konfokalmikroskopische Aufnahmen derselben. Die folgende Beschreibung der kornealen Nervenstrukturen fasst den aktuellen Wissensstand zusammen und basiert im Wesentlichen auf den Arbeiten von Müller et al. [38].

Die Nervenfasern treten in mehreren Bündeln von der Lederhaut (Sklera) radial in das mittlere Stroma der Kornea ein, von wo sie vorzugsweise weiterhin radial und in Richtung der Oberfläche (anterior) verlaufen. Kurz hinter ihrem Eintrittspunkt in das Stroma verlieren die Nervenfaserbündel ihre Myelinscheide, um die Transparenz der Kornea nicht zu beeinträchtigen. Die Nervenfaserbündel teilen sich im Stroma mehrfach, bis sie die Bowman-Membran erreichen und senkrecht von unten durchdringen. An der anterioren Grenzfläche der Bowman-Membran ändern die Nervenfasern ihre Richtung um  $90^\circ$  und verlaufen als Einzelfasern oder in kleinen Bündeln parallel zur Oberfläche unmittelbar zwischen der anterioren Grenzfläche der Bowman-Membran und den basalen Epithelzellen. Sie bilden hier ein dichtes Nervengeflecht mit zahlreichen Verzweigungen und Verbindungen zwischen den Einzelfasern. Dieses Nervengeflecht wird als sub-basaler Nervenplexus (SNP) der Kornea bezeichnet. Der SNP eignet sich durch seine flache, oberflächenparallele Anordnung in besonderer Weise für die Bildgebung mittels Konfokalmikroskopie.

Von den Durchtrittspunkten durch die Bowman-Membran aus verlaufen die Nervenfasern in einem charakteristischen radialen Muster auf einen Punkt ca. 1–2 mm inferior des kornealen Apex zu, wo sie eine wirbelartige Struktur ausbilden [40]. Über der gesamten Fläche des SNP zweigen dünne Fasern senkrecht von den Nervenbahnen des SNP ab, die oberflächennah in freien, sensiblen Nervenenden auslaufen.<sup>11</sup> Patel et al. konnten 2008 nachweisen, dass die Nervenbahnen des SNP nicht statisch bleiben, sondern im Gegenteil eine hoch-dynamische Struktur darstellen, die einer kontinuierlichen radialen Bewegung von peripher in Richtung der Wirbelstruktur unterworfen sind [41]. Die Anordnung des SNP verändert sich dabei innerhalb weniger Wochen derart, dass einzelne Punkte nicht mehr miteinander identifiziert werden können. Diese Bewegung ist konsistent mit der bereits zuvor bekannten zentripetalen Dynamik des Epithelgewebes [42].

---

<sup>11</sup>Es werden zwei morphologisch unterscheidbare Typen von Nervenfasern im SNP beschrieben: glatte und solche mit regelmäßigen, perlschnurartigen Verdickungen. Die zur Oberfläche hin verlaufenden Fasern entstammen ausschließlich den verdickten und sind — wie auch viele Nerven im SNP selbst — zu dünn, um durch die in-vivo-Konfokalmikroskopie abgebildet zu werden.



**Abbildung 1.2:** (Links) Gewebeschichten der Kornea (aus [39, S. 1008]) von der Oberfläche nach innen: Epithel (1), Bowman-Membran (2), Stroma (3), Descemet-Membran (4), Endothel (5). (Rechts) CCM-Einzelaufnahmen des sub-basalen Nervenplexus und der benachbarten Gewebeschichten; von oben nach unten: Epithel, sub-basaler Nervenplexus, Bowman-Membran, Stroma. (CCM-Aufnahmen: Sabine Peschel, Universitätsaugenklinik Rostock)

### 1.2.4 Veränderung der sub-basalen Nervenstrukturen der Kornea

Nachdem mit der in-vivo-Konfokalmikroskopie ein bildgebendes Verfahren zur nicht-invasiven Abbildung der kornealen Nervenstrukturen verfügbar ist, formulierten erstmals im Jahr 2000 Rosenberg et al. die Idee, mögliche Veränderungen der kornealen Nervenstrukturen bei der diabetischen peripheren Neuropathie zu untersuchen und zu quantifizieren [9]. Seitdem wurde zu diesem Zweck eine Vielzahl von morphometrischen Parametern vorgeschlagen und untersucht. Die am häufigsten verwendeten Merkmale — die Nervenfaserdichte, die Nervenfaserverlänge, die Nervenverzweigungsdichte und die Nervenfasertortuosität — werden im Folgenden erläutert und die wichtigsten publizierten Studienergebnisse dazu dargestellt. Eine Übersicht über weitere vereinzelt untersuchte morphometrische Merkmale findet sich im Anhang B.

#### Nervenfaserdichte

Die *Nervenfaserdichte* (CNFD von engl. corneal nerve fiber density) misst die Anzahl an Nervenfasern, bezogen auf die analysierte Fläche. Häufig werden dabei nur lange, annähernd zentripetal verlaufende Nervenfaserbündel gezählt [9; 15; 16; 20; 30; 43–47]. Dahinter steckt der Grundgedanke, die eigentlichen Nervenfaserbündel von lediglich verbindenden und in der Regel deutlich dünneren Nervenstrukturen zu unterscheiden. Diese Definition ist jedoch insbesondere bei stark verzweigten Nervenfasernetzwerken mitunter nicht eindeutig anwendbar. Nicht alle Untersuchungen folgen daher dieser Konvention. Andere Autoren zählen stattdessen die Anzahl an Nervenfaserssegmenten pro Flächeneinheit, wobei unter einem Segment ein Abschnitt einer Nervenstruktur zu verstehen ist, der beidseitig von einer Verzweigung, dem Bildrand oder dem abrupten Ende des sichtbaren Nervenfaserverlaufs begrenzt wird. Die ermittelte Anzahl wird in der entsprechenden Literatur Nervenfasernanzahl [12; 48], Nervenastanzahl [14] oder auch ebenfalls Nervenfaserdichte [23] genannt und soll zur Abgrenzung von der zuvor definierten CNFD im Rahmen der vorliegenden Arbeit als *Nervenfaserssegmentdichte* (CNFSD von engl. corneal nerve fiber segment density) bezeichnet werden. Sowohl die CNFD als auch die CNFSD werden in der Einheit  $\frac{1}{\text{mm}^2}$  angegeben.<sup>12</sup>

#### Nervenfaserverlänge

Die *Nervenfaserverlänge* (CNFL von engl. corneal nerve fiber length) ist definiert als die Gesamtlänge aller im Bildfeld abgebildeten Nervenstrukturen, bezogen auf die untersuchte Fläche. Die Länge wird dabei stets entlang der Mittellinie der Nervenstrukturen gemessen. Einzelne Autoren verwenden diese Definition unter der Bezeichnung Nervenfaserdichte [10; 48; 49]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird im Folgenden ausschließlich der Begriff Nervenfaserverlänge verwendet werden. Die CNFL wird in der Regel in der Einheit  $\frac{\text{mm}}{\text{mm}^2}$  angegeben.<sup>13</sup>

<sup>12</sup>Verschiedene Autoren geben zwar die Anzahl pro Bildfeld an, nennen aber auch die Abmessungen des Bildfelds, sodass die Werte unmittelbar umgerechnet werden können [9; 12; 14; 48].

<sup>13</sup>Anhand der Einheit wird deutlich, dass es sich bei der Nervenfaserverlänge aufgrund des Bezugs auf die untersuchte Fläche nicht um eine Länge im eigentlichen physikalischen Sinn handelt.

## Nervenverzweigungsdichte

Die *Nervenverzweigungsdichte* (CNBD von engl. corneal nerve branch density) misst die Anzahl der von Nervenfasern abgehenden Verzweigungen, bezogen auf die analysierte Fläche. Analog der Nervenfaserdichte werden dabei entweder nur die langen, annähernd zentripetal verlaufenden Nervenfaserbündel in Betracht gezogen und ausschließlich die von diesen abgehenden Verzweigungen gezählt [15; 16; 20; 30; 43–47], oder es tragen sämtliche Verzweigungen der abgebildeten Nervenstrukturen zur Verzweigungsdichte bei [14; 23]. Zur deutlichen Unterscheidung soll das erste Maß im Rahmen der vorliegenden Arbeit als *Hauptnervenverzweigungsdichte* (CMNBD von engl. corneal major nerve branch density) bezeichnet werden.<sup>14</sup> Die CNBD bzw. die CMNBD werden in der Einheit  $\frac{1}{\text{mm}^2}$  angegeben.

## Nervenfasertortuosität

Die *Nervenfasertortuosität* (CNFT von engl. corneal nerve fiber tortuosity) ist ein Maß dafür, wie stark gewunden die Nervenstrukturen verlaufen. In der Literatur finden sich verschiedene Vorschläge zur qualitativen oder quantitativen Beschreibung dieses Merkmals. Alle vorgeschlagenen Definitionen belegen einen tendenziell geradlinigen Verlauf mit einem niedrigen Wert, während stark gekrümmte Nervenstrukturen mit höheren Werten bemessen werden. Darüber hinaus lassen sich die vorgeschlagenen Maße jedoch nicht unmittelbar vergleichen. Eine detaillierte Zusammenfassung der publizierten Vorschläge findet sich im Anhang B.

## Übersicht der publizierten Literatur

Zahlreiche Studien untersuchen die Morphologie des SNP bei gesunden Personen und Veränderungen bei Diabetes und diabetischer Neuropathie unter Verwendung der in den vorangehenden Abschnitten dargestellten quantitativen morphologischen Merkmale. Die absoluten Werte lassen sich in vielen Fällen nur schwer miteinander vergleichen. Das liegt zum einen an der bereits beschriebenen uneinheitlichen Verwendung der Merkmalsdefinitionen oder Methoden zur Quantifizierung, zum anderen aber auch an den großen Unterschieden zwischen den eingesetzten Konfokalmikroskopen hinsichtlich ihrer Abbildungseigenschaften. Unabhängig von den Absolutwerten lassen sich die Studienergebnisse jedoch in Bezug auf die beschriebenen Veränderungen der Parameter miteinander vergleichen.

Zwischen den beiden Augen einer Person lassen sich sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Personen mit Diabetes keine systematischen Unterschiede erkennen. Weder die (mit einem Cochet-Bonnet-Ästhesiometer gemessene) Sensitivität der Hornhaut [9], noch die CNFD [9] oder die CNFL [49] weisen signifikante Abweichungen beim interokularen Vergleich auf.

Ein potentieller Einfluss des Alters auf die Innervierung der Kornea stellt sich sehr unterschiedlich dar. Die CNFT [14; 15; 50] sowie der mittlere Nervenfaserdurchmesser und die Häufigkeit der perlschnurartigen Verdickungen [10] scheinen keinem Alterseinfluss zu unterliegen. Während Messmer et al. [15] ebenfalls keine altersbedingten Veränderungen der CNFD, der

<sup>14</sup>Die langen, tendenziell zentripetal verlaufenden Nervenfaserbündel werden in den entsprechenden Publikationen oft als *major nerve fibers* bezeichnet.

CNFL und der CNBD erkennen, beschreiben Niederer et al. eine Reduzierung der CNFD [11] und Grupcheva et al. eine Verringerung der CNFL [10] mit zunehmendem Alter. Im völligen Gegensatz dazu befinden sich die Ergebnisse von Holmes et al. [14]. Dort finden die Autoren eine statistisch signifikante Zunahme der CNFSD, der CNFL und der CNBD bei gleichzeitig abnehmender mittlerer Nervenfaserssegmentlänge. Die Zunahme von CNFSD und CNBD und die Verringerung der mittleren Nervenfaserssegmentlänge legen einen insgesamt stärkeren Vernetzungsgrad der Nervenstrukturen des SNP nahe. Ein Grund für den scheinbaren Widerspruch zu den Ergebnissen anderer Studien könnte in der Altersspanne der untersuchten Probanden zu suchen sein. Während bei der Auswertung von Holmes et al. nur Probanden mit einem Alter von mindestens 55 Jahren berücksichtigt wurden, gingen in die Untersuchungen von Grupcheva et al. [10] und Messmer et al. [15] auch Nervenfaserverwerte von deutlich jüngeren Personen ein. In der Diskussion ihrer Ergebnisse weisen Holmes et al. außerdem darauf hin, dass in einer Untersuchung von Hautbiopsien bei Diabetespatienten im Alter zwischen 50 und 90 Jahren ebenfalls eine zunehmende Innervierung der Epidermis nachgewiesen werden konnte.

Holmes et al. beschreiben außerdem einen statistisch signifikanten Einfluss des Geschlechts auf die Morphologie des SNP [14]. Frauen weisen demzufolge eine höhere CNFSD, CNBD, CNFL sowie eine geringere CNFT auf als Männer.

Bei Patienten mit Diabetes Mellitus ist ein deutlicher Rückgang der Nervenstrukturen des SNP verglichen mit gesunden Personen zu beobachten, der sich in einer Verminderung der CNFD [15; 47] bzw. CNFSD [12; 23], der CNFL [15; 23; 45; 47] und der CNBD [23] bzw. CMNBD [15; 47] manifestiert. Zur Beurteilung der Aussagekraft der morphometrischen Merkmale des SNP als Indikatoren für diabetische periphere Neuropathie werden in zahlreichen Studien zusätzlich etablierte Neuropathieuntersuchungen durchgeführt, z.B. mittels MNSI<sup>15</sup> [9], über den NDS<sup>16</sup> [16; 43; 45], den TCNS<sup>17</sup> [51], die Wahrnehmungsschwelle von Vibrationen [43; 51], die Messung von Nervenleitparametern [20; 23; 43; 51], über eine Elektromyographie-Untersuchung [14] oder durch Ermittlung der Hitzeschmerzschwelle [16] oder der Kältewahrnehmungsschwelle [51].

Beim Vergleich mit gesunden Probanden weisen Patienten mit diabetischer Neuropathie eine signifikant reduzierte CNFD [9; 16; 20; 43–45] bzw. CNFSD [14], CNFL [14; 16; 20; 43; 44] und CMNBD [16; 20; 43–45] auf. Analog lässt sich eine Verminderung der CNFD [9; 15; 20], der CNFL [14; 15; 20] und der CNBD [14] bzw. CMNBD [15; 20] bei Patienten mit diabetischer Neuropathie im Vergleich mit Diabetespatienten ohne nachweisbare Neuropathie feststellen. Der Rückgang der sub-basalen Nervenstrukturen setzt sich mit Fortschreiten der Neuropathie fort, was sich in einer statistisch signifikanten negativen Korrelation der morphometrischen Parameter mit dem ermittelten Grad der Neuropathie niederschlägt [9; 14; 16; 23].

Neben der CNFSD und der CNBD untersuchen Holmes et al. auch das Verhältnis  $\frac{\text{CNFSD}}{\text{CNBD}}$ . Während die CNFSD und die CNBD eine negative Korrelation mit dem Grad der Neuropathie aufweisen, korreliert ihr Verhältnis positiv mit ihm [14]. Offenbar geht die Anzahl der Verzweigungen mit zunehmendem Fortschreiten der neuropathischen Erkrankung schneller zurück als

<sup>15</sup>Michigan Neuropathy Screening Instrument

<sup>16</sup>Neuropathy Deficit Score

<sup>17</sup>Toronto Clinical Neuropathy Score

die Anzahl der Nervenfaserssegmente.

Die wiederholt und von verschiedenen Forschergruppen festgestellten Korrelationen konfokalmikroskopisch erhobener morphometrischer Parameter des SNP mit dem in unterschiedlicher Weise erhobenen Neuropathiegrad belegen die prinzipielle Eignung der CCM zur Neuropathiediagnostik. Darüber hinaus deuten verschiedene Studienergebnisse auf eine Überlegenheit der CCM gegenüber den etablierten Methoden der Neuropathiediagnostik hinsichtlich ihrer Sensitivität hin. So beschreiben Messmer et al. im Vergleich mit gesunden Personen eine signifikante Abnahme der CNFD, CNFL und CMNBD nicht nur bei Diabetespatienten mit verringertem Vibrationsempfinden am Fuß oder reduzierter kornealer Sensitivität, sondern auch bei solchen Diabetespatienten, bei denen beide Werte im Normalbereich liegen [15]. Tavakoli et al. gelingt der Nachweis einer signifikanten Verringerung der CNFD bei Diabetespatienten ohne (anhand des NDS) diagnostizierte Neuropathie gegenüber der gesunden Kontrollgruppe [16].<sup>18</sup> Dieses Ergebnis lässt sich als Hinweis auf eine beginnende Degeneration der kornealen Nervenstrukturen bereits im — durch viele der etablierten Untersuchungen der Nervenfunktion nicht diagnostizierbaren — präsymptomatischen Frühstadium einer peripheren Neuropathie deuten [16]. Die Autoren weisen jedoch darauf hin, dass ihre These erst in einer sogenannten Längsschnittstudie einwandfrei belegt werden könne, bei der ein Probandenkollektiv zu mehreren Zeitpunkten mit größerem zeitlichem Abstand untersucht wird. Die Ergebnisse einer solchen Längsschnittstudie über einen Zeitraum von vier Jahren berichten Lovblom et al. [51]. Von dem Kollektiv aus Personen mit Typ 1-Diabetes, für die zu Beginn der Studie mit etablierten Methoden (Nervenleitparametern und TCNS) keine neuropathische Erkrankung festgestellt worden war, entwickelte ein Teil im Verlauf der vier Jahre eine diagnostizierbare Neuropathie. Verglichen mit dem Rest des Kollektivs weist diese Gruppe neu diagnostizierter Neuropathiepatienten im Rückblick bereits bei der ersten Untersuchung statistisch signifikante Abweichungen der CNFL und der CMNBD nach unten und der CNFT nach oben auf, während alle anderen gemessenen Parameter — neben dem TCNS und den Nervenleitwerten auch die Schwellwerte für das Vibrationsempfinden und die Kältewahrnehmung — unauffällig sind, insbesondere auch die CNFD [51].

Auch die Ergebnisse zweier Studien von Mehra et al. [44] und Tavakoli et al. [47] zu den Auswirkungen einer gleichzeitigen Transplantation der Niere und der Bauchspeicheldrüse auf den Zustand der kornealen Nerven und des peripheren Nervensystems insgesamt deuten darauf hin, dass die Charakterisierung der Morphologie des SNP anderen Untersuchungsmethoden im Hinblick auf ihre Sensitivität überlegen sein könnte. Dieser Eingriff wird bei Patienten mit Typ 1-Diabetes und schwerer Nephropathie (Schädigung der Nieren) vorgenommen, die in aller Regel auch bereits eine fortgeschrittene Neuropathie aufweisen. In beiden Studien wird eine signifikante Verbesserung der Morphologie des SNP sechs Monate [44] bzw. zwölf Monate [47] nach dem Eingriff beschrieben, während sich bei der Sensitivität der Kornea [44] oder bei umfangreichen

---

<sup>18</sup>Rosenberg et al. konnten zehn Jahre zuvor keinen signifikanten Unterschied der SNP-Morphologie zwischen gesunden Probanden und Diabetespatienten ohne Neuropathie feststellen [9]; Ursachen für die Diskrepanz können z.B. in den unterschiedlichen verwendeten Konfokalmikroskopen (TSCM bei Rosenberg et al., SSCM bei Tavakoli et al., s. Anhang A), der Anzahl der untersuchten Einzelbilder (1 bei Rosenberg et al., 3–5 bei Tavakoli et al.), der Methode zur Einstufung der Neuropathie (MNSI bei Rosenberg et al., NDS bei Tavakoli et al.) oder anderen, nicht dokumentierten Unterschieden bei der Auswertung beider Studien begründet sein.

Untersuchungen der Nervenfunktion des peripheren Nervensystems [47] keine oder nur leichte, aber nicht-signifikante Veränderungen nachweisen lassen. Die Ergebnisse beider Studien sind nicht vollständig konsistent. Mehra et al. beschreiben eine signifikante Verbesserung der CNFD und der CNFL, aber keinerlei Veränderung der CMNBD sechs Monate nach dem Eingriff [44]. Tavakoli et al. hingegen können sechs Monate nach dem Eingriff noch keine signifikante Verbesserung der CNFD und CNFL erkennen, sondern erst nach zwölf Monaten, weisen jedoch eine signifikant erhöhte CMNBD bereits nach sechs Monaten nach.

Während die sukzessive Abnahme der kornealen Nervenstrukturen, gemessen anhand der Nervenfaserdichte, Nervenfaserverlänge und Nervenverzweigungsdichte, mit dem Fortschreiten einer diabetischen Neuropathie zumindest qualitativ übereinstimmend vielfach bestätigt wurde, gilt dies nicht in gleicher Weise für die Nervenfasertortuosität. In mehreren Studien wird (auf der Basis unterschiedlicher Maße) bei Diabetespatienten [12] bzw. bei Patienten mit diabetischer Neuropathie [14; 44; 50] eine gegenüber gesunden Probanden erhöhte Tortuosität festgestellt.<sup>19</sup> Dabei beschreiben ausschließlich Holmes et al. eine messbare Erhöhung bereits bei Patienten mit leichter Neuropathie [14], wohingegen Kallinikos et al. bei Patienten mit nur leichter Neuropathie überhaupt keine Veränderung der CNFT, und erst bei solchen mit schwerer Neuropathie eine signifikant erhöhte CNFT feststellen [50]. Im Gegensatz dazu finden Messmer et al. und Ziegler et al. keine signifikante Änderung der CNFT bei Diabetespatienten [15; 23], und Tavakoli et al. beschreiben sogar eine signifikant reduzierte CNFT bei Patienten vor einer Bauchspeicheldrüsen- und Nierentransplantation gegenüber gesunden Kontrollprobanden [46].

### **Einfluss der untersuchten Fläche**

Neben dem Einsatz verschiedener Konfokaltechniken und der beschriebenen Verwendung voneinander abweichender Merkmalsdefinitionen unterscheiden sich die publizierten Studien auch in der Menge und Auswahl der für die Erhebung der morphometrischen Merkmale eines Probanden analysierten Einzelaufnahmen.

In praktisch allen Studien wird eine Vielzahl von Aufnahmen akquiriert, aus denen anschließend einige wenige für die morphometrische Analyse anhand verschiedener Kriterien selektiert werden. Da bei den unterschiedlichen Vorgehensweisen für die Bilddatenakquirierung vielfach nicht nur Aufnahmen aus der Gewebeschicht der Basalmembran des Epithels entstehen, in welcher sich der SNP befindet, sondern auch aus anterior und posterior dazu angeordneten Gewebeschichten, ist das erste Kriterium für die Selektion stets eine möglichst gute Fokussierung des SNP. Darüber hinaus werden teilweise weitere Selektionskriterien formuliert, etwa die Anzahl sichtbarer Nervenstrukturen in Form einer möglichst hohen Nervenfaserdichte [9; 20; 30] oder die Forderung nach sichtbaren Nervenstrukturen über dem gesamten Bildfeld [15]. Holmes et al. schließen Aufnahmen ohne sichtbare Nervenstrukturen von der Auswertung aus und definieren zusätzlich eine maximal zulässige paarweise Überlappung der Einzelaufnahmen [14]. Vielfach

---

<sup>19</sup>Bei der tabellarischen Auflistung der Untersuchungsergebnisse von Mehra et al. ist bei der Gruppe der Diabetespatienten tatsächlich ein geringerer Tortuositätskoeffizient als bei der Kontrollgruppe angegeben, bei der Beschreibung der Ergebnisse im Text ist jedoch von einer erhöhten Tortuosität die Rede [44]. Es wird hier davon ausgegangen, dass die Werte in der Tabelle versehentlich vertauscht sind.

werden die verwendeten Selektionskriterien jedoch nicht näher spezifiziert [16; 44; 45; 47; 50].

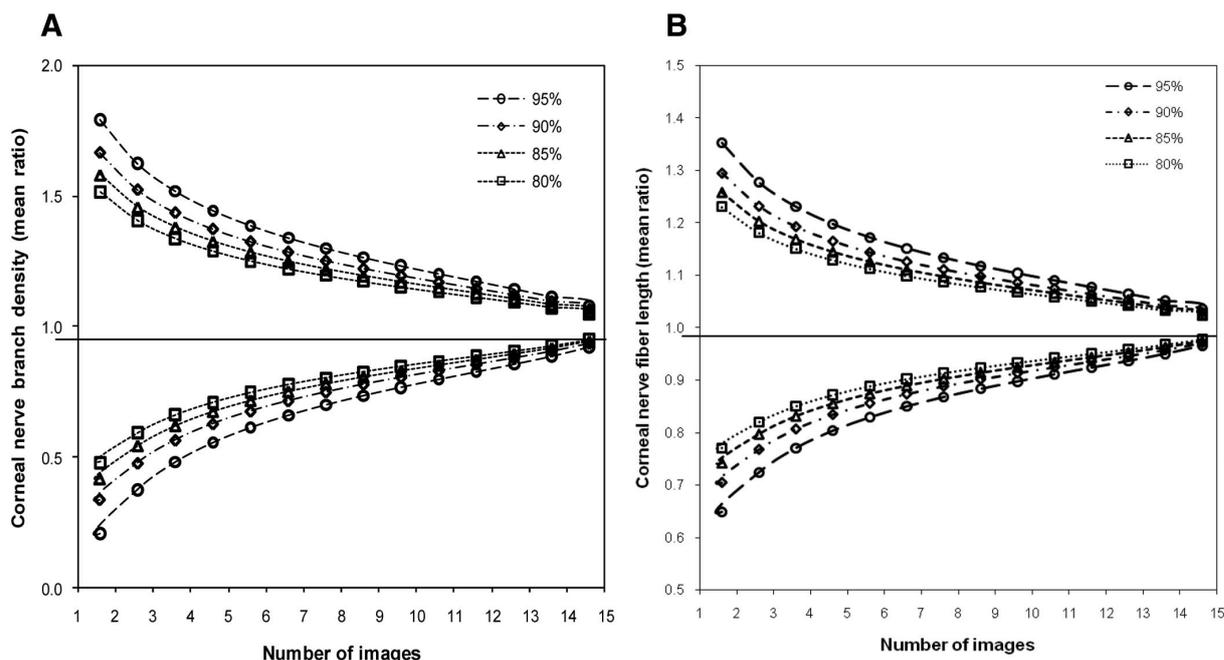
Die Anzahl der letztlich selektierten und nachfolgend morphometrisch ausgewerteten Einzelaufnahmen liegt in fast allen der publizierten Studien bei maximal 5 [15; 16; 43–47], häufig sogar nur im Bereich zwischen 1 und 3 [9; 10; 12; 20; 30; 50]. Eine Diskussion der gewählten Anzahl der pro Proband ausgewerteten Aufnahmen fehlt in den genannten Publikationen. Es ist jedoch bekannt, dass die Verteilung der sub-basalen Nervenfaserbündel über der kornealen Fläche nicht homogen ist [40], sondern im Gegenteil auf der Größenskala des bei der CCM eingesetzten Bildfeldes (vgl. Abschnitt 1.2.1) größere lokale Variationen aufweisen kann [52]. Es ist daher davon auszugehen, dass mit der morphometrischen Analyse mehrerer Einzelaufnahmen mit anschließender Mittelung der Merkmalswerte aus allen Aufnahmen grundsätzlich das Ziel verfolgt wird, die analysierte Fläche zu vergrößern, auf deren Basis folglich robustere Merkmalswerte zu erwarten sind. Die Beschränkung auf eine geringe Anzahl von Einzelbildern ist dann als Kompromiss im Sinne eines handhabbaren Aufwands zu verstehen, sowohl hinsichtlich der Aufnahmedauer als auch in Bezug auf die Auswertung der Aufnahmen.

Eine erste systematische Untersuchung zum Einfluss der untersuchten Fläche auf die resultierenden Merkmalswerte wurde 2012 von Vagenas et al. durchgeführt [53]. Dazu wurden bei 20 Probanden jeweils 16 Einzelaufnahmen des SNP in der zentralen Kornea unter der Maßgabe gewonnen, dass sich die Aufnahmen paarweise auf maximal 20 % ihrer Fläche überlappen. Für jede Aufnahme wurden die CNFL und die CMNBD ermittelt. Unter der Prämisse, dass die aus allen 16 Einzelaufnahmen eines Probanden resultierenden Mittelwerte der Merkmale eine (ausreichend) gute Schätzung der realen Nervenfasernlänge bzw. Hauptnervenzweigdichte des SNP in der zentralen Kornea darstellen, wurden für alle möglichen Kombinationen aus 2 bis 15 Einzelaufnahmen die gemittelten Merkmalswerte bestimmt und auf die jeweiligen Referenzwerte normiert. Daraus leiteten die Autoren für jede Stichprobengröße (Anzahl der analysierten Einzelaufnahmen) eine Normalverteilung ab, auf deren Basis wiederum Konfidenzintervalle angegeben werden können. Abbildung 1.3 zeigt die Konfidenzintervalle für die 80 %-, 85 %-, 90 %- und 95 %-Quantile der ermittelten Verteilungen für aus 2 bis 15 Bildern gemittelte Merkmalswerte. Auf der Basis ihrer Untersuchung empfehlen die Autoren die Analyse von mindestens acht paarweise höchstens minimal überlappenden Einzelaufnahmen, wodurch mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % ein Messfehler von höchstens 30 % bei der CMNBD und von höchstens 13 % bei der CNFL erwartet werden könne.

Die von Vagenas et al. genannten Konfidenzen sind freilich als Untergrenzen zu interpretieren, da sie in hohem Maß von der Validität der Prämisse, also der Robustheit der aus 16 Aufnahmen gemittelten Merkmalswerte abhängen. Da die in Abbildung 1.3 dargestellten Konfidenzintervalle allerdings auch bei 15 analysierten Aufnahmen noch eine deutliche Breite aufweisen und die Merkmalswerte für diese Stichprobengröße somit noch deutlich um den Referenzwert streuen, darf davon ausgegangen werden, dass selbiges auch bei 16 Aufnahmen noch der Fall ist und folglich die Konfidenzintervalle tatsächlich etwas breiter als in Abbildung 1.3 ausfallen.<sup>20</sup> Die Un-

---

<sup>20</sup>Eine aktuelle Untersuchung zur Entwicklung der gemessenen CNFL in Abhängigkeit der analysierten Fläche bei großflächigen Abbildungen des SNP (vgl. dazu Abschnitt 1.2.5) stützt hingegen die Prämisse von Vagenas et al. und gelangt zu der Empfehlung einer zu analysierenden Mindestfläche von  $1,5 \text{ mm}^2$  [54; 55].



**Abbildung 1.3:** Konfidenzintervalle der CMNBD (links) und CNFL (rechts) in Abhängigkeit der Anzahl untersuchter Einzelaufnahmen (aus [53])

tersuchung zeigt jedoch eindrücklich auf, dass bei den bislang publizierten Studien auf der Basis von maximal fünf ausgewerteten Einzelaufnahmen pro Proband von nicht zu vernachlässigenden Unsicherheiten bei den gemessenen Merkmalswerten ausgegangen werden muss.

Durchaus könnten einige der widersprüchlichen Ergebnisse verschiedener Studien darauf zurückzuführen sein. Auf jeden Fall sollten bei Studien auf der Basis einer größeren Anzahl von ausgewerteten Einzelaufnahmen pro Proband die Streubreiten der erhobenen morphometrischen Parameter des SNP geringer ausfallen und tatsächlich vorhandene signifikante Korrelationen mit klinischen Befunden, etwa des Neuropathieverlaufs, deutlicher erkennbar werden. Mit anderen Worten zeigen die Ergebnisse von Vagenas et al., dass das Potential der CCM in Bezug auf ihre Sensitivität bei der diagnostischen Beurteilung einer diabetischen Neuropathie in den bisher publizierten Studien noch nicht ausgeschöpft worden ist.

### 1.2.5 Erzeugung großflächiger Mosaikbilder des sub-basalen Nervenplexus

Die im vorangehenden Abschnitt genannte statistische Untersuchung von Vagenas et al. beschreibt die erzielbaren Konfidenzen in Abhängigkeit der Anzahl ausgewerteter Einzelaufnahmen [53]. Der Grund für die bei zunehmender Anzahl an Einzelaufnahmen sich verringernden Unsicherheiten bei den ermittelten morphometrischen Parametern des SNP liegt in der größeren erfassten Fläche, wodurch die vorhandenen lokalen Variationen der Nervenfaserverteilung des SNP besser ausgemittelt werden. Eine Alternative zur Auswertung einer größeren Anzahl von Einzelaufnahmen besteht folglich in der Erzeugung einer Abbildung mit größerem Bildfeld. Die Vergrößerung des Bildfelds unmittelbar bei der Bildgebung ist — bei gleichbleibend hoher lateraler Auflösung — mit den derzeit existierenden CCM-Bildgebungssystemen nicht möglich. Es

finden sich in der Literatur jedoch mehrere Ansätze zur algorithmischen Erzeugung großflächiger Abbildungen des SNP aus CCM-Aufnahmeserien.

Die ersten aus mehreren Einzelaufnahmen zusammengesetzten Mosaikbilder stammen aus einer Reihe von Publikationen von Patel und McGhee [40; 41; 56]. Zur Erzeugung geeigneter Bildsequenzen verwenden sie ein Muster aus starren Fixationszielen, die vom Probanden auf Anweisung des Untersuchers der Reihe nach mit dem kontralateralen, d.h. dem nicht untersuchten Auge fixiert werden. Für jede derart definierte Blickrichtung des Probanden wird eine Reihe von Einzelaufnahmen erzeugt. Die manuelle Bedienung des Systems durch einen geschulten Mediziner stellt die gezielte Gewinnung qualitativ hochwertiger Einzelaufnahmen sicher. Der beschriebene Aufnahmeprozess dauert insgesamt ca. 40 Minuten [40].<sup>21</sup> Die mehreren hundert Aufnahmen pro Proband werden im Anschluss in einem manuell geführten Prozess zu einem Mosaikbild zusammengefügt. Den Autoren gelingt auf diese Weise die erste Beschreibung der großflächigen Anordnung des SNP am lebenden Auge [40]. Mithilfe desselben Verfahrens untersuchen Patel und McGhee in den folgenden Jahren die pathologische Anordnung des SNP bei Keratokonus, einer krankhaften Verformung der Kornea [56], sowie die Dynamik des SNP im Verlauf mehrerer Wochen [41]. Andere Autoren übernehmen den Prozess für die Beschreibung des anterioren kornealen Mosaiks, eines Netzwerks aus starren Strukturen posterior der Bowman-Membran [57], die großflächige Regeneration der kornealen Nerven nach operativen Eingriffen [58], die Untersuchung von Veränderungen des SNP bei Trägern von orthokeratologischen Kontaktlinsen [59], sowie für den interokularen Vergleich der sub-basalen Nervenstrukturen [49]. Angesichts des extrem aufwändigen Prozesses — der Zeitaufwand für die Mosaikbildmontage wird mit zwischen 10 [49] und 20 Stunden [60] angegeben — beschränken sich alle genannten Untersuchungen allerdings auf wenige Probanden, für größer angelegte Studien eignet sich der Ansatz nicht.

Über den beschriebenen, manuell geführten Prozess hinaus werden in der Literatur einige automatisierte bzw. teilautomatisierte Ansätze zur Erzeugung von Bildsequenzen eines ausgedehnten Areals des SNP und zur Generierung von großflächigen Abbildungen vorgeschlagen [17; 22; 60; 61]. Die Kernaufgabe bei der Mosaikbilderzeugung aus einer Menge von Einzelaufnahmen besteht darin, für jede Einzelaufnahme eine Transformationsvorschrift zur Überführung der Aufnahme in das Koordinatensystem des Mosaikbildes unter der Vorgabe zu bestimmen, dass sich korrespondierende Bildbereiche danach möglichst gut überdecken. Dieser Prozess wird als Bildregistrierung oder, im Kontext der Bildverarbeitung, auch einfach als Registrierung bezeichnet. Bei der Mosaikbilderzeugung wird üblicherweise keine Registrierung von Einzelaufnahmen mit einem iterativ wachsenden Mosaikbild durchgeführt, sondern es werden in der Regel durch paarweise Registrierung der Einzelaufnahmen untereinander *relative* Transformationen zwischen den Einzelaufnahmen bestimmt, aus denen sich in einem zweiten Schritt die *absoluten* Transformationen der Einzelbilder in das Mosaikkoordinatensystem ermitteln lassen. Zwei wesentliche Aspekte bei der Betrachtung verschiedener Ansätze liegen in der Vorgehensweise zum Auffinden von korrespondierenden Bildbereichen und in der Art der zugelassenen Transformationen. Letz-

---

<sup>21</sup>Darin sind erforderliche Pausen für den Probanden enthalten, die reine Aufnahmedauer wird mit weniger als 20 Minuten beziffert.

tere enthalten stets mindestens eine (explizit oder implizit beschriebene) translatorische Komponente, um die Lage der Einzelaufnahmen zu erfassen, sie können aber auch verschiedenartige Deformationen erlauben, um beispielsweise rotatorische Komponenten oder Bewegungsartefakte in den Bilddaten zu korrigieren.

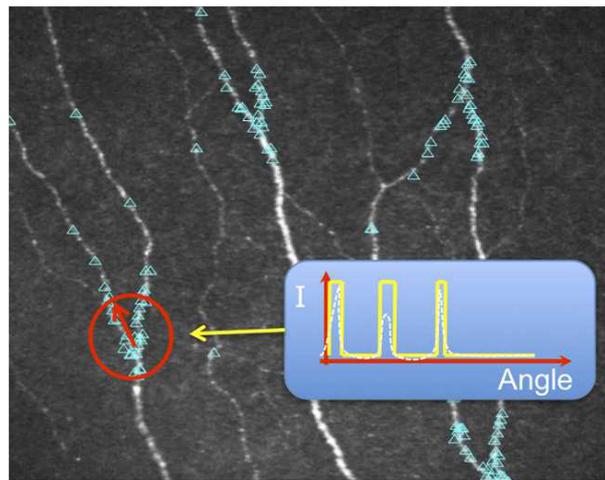
Zhivov et al. beschreiben ein Verfahren zum Aufbau eines Mosaikbildes des untersuchten Gewebes unmittelbar während der Aufnahme [17]. Es ist bislang das einzige onlinefähige Mosaikbildverfahren, das sich im Zusammenhang mit der CCM in der Literatur findet. Während des Bildgebungsprozesses wird eine Menge von Referenzbildern angelegt, die zu Beginn nur die erste Einzelaufnahme enthält. Danach wird sie sukzessive um solche Einzelaufnahmen erweitert, die mit wenigstens einem bereits in der Menge enthaltenen Referenzbild einen korrespondierenden Bildbereich aufweisen und deren Überlappung mit jedem der enthaltenen Referenzbilder geringer als 75 % des Bildfelds ausfällt. Jede neu vom Mikroskop akquirierte Einzelaufnahme wird gegen alle Referenzbilder auf der Basis von automatisch extrahierten Bildpunkten registriert, wobei neben einer Translation zusätzlich eine affine Deformation zur Korrektur von Bewegungsartefakten zugelassen wird. Bei erfolgreicher Registrierung der Aufnahme mit mehr als einem Referenzbild wird die Transformation durch Mittelwertbildung aus allen ermittelten Einzeltransformationen berechnet. Jede registrierte Einzelaufnahme wird durch gewichtete Mittelung dem bisherigen Mosaikbild überlagert, unabhängig davon, ob sie in die Menge der Referenzbilder übernommen wird. Das von Zhivov et al. vorgeschlagene Verfahren ist das einzige in der Literatur beschriebene, bei dem das Mosaikbild unmittelbar nach Beendigung der Aufnahme vorliegt. Die Erweiterung des erfassten Areals wird durch den Bediener gesteuert, der während der Aufnahme das Mikroskop lateral über die Korneaoberfläche führt. Die zielführende und lückenfreie Erfassung eines ausgedehnten Areals erfordert viel Erfahrung und selbst ausgewiesene Experten benötigen dafür oftmals mehrere Versuche.<sup>22</sup> Zhivov et al. geben eine maximale Aufnahmedauer von drei Minuten an, die erreichten Größen der Mosaikbilder werden nicht genannt [17].

Turuwhenua et al. beschreiben ein Verfahren zur automatisierten Erzeugung von Mosaikbildern aus vorliegenden Aufnahmesequenzen des SNP [60]. Auf die Erzeugung der Bilddaten gehen die Autoren nicht ein. Den Kern des Verfahrens bildet eine merkmalsbasierte Bildregistrierung, die auf einer einfachen Schwellwert-Segmentierung heller Bildstrukturen beruht. Die Segmentierung extrahiert neben den abgebildeten Nervenfasern auch kontrastreiche Zellwände des Epithels sowie andere, von den Autoren als Artefakte bezeichnete, helle Bildstrukturen.<sup>23</sup> Aufnahmen mit einem hohen Epithelanteil oder den erwähnten Artefakten werden verworfen und im Folgenden nicht weiter betrachtet. Um die durchzuführenden Registrierungen auf aussichtsreiche Bildpaare einzuschränken, wird für die verbleibenden Einzelaufnahmen zunächst jeweils die Vorzugsorientierung der abgebildeten Nervenstrukturen bestimmt. Anhand dieser Eigenschaft wird die Menge der Einzelaufnahmen in mehrere disjunkte Teilmengen unterteilt.

---

<sup>22</sup>Diese Aussage lässt sich nicht aus der Literatur belegen, sondern beruht auf persönlichen Erfahrungen des Autors. Bei Zhivov et al. ist lediglich davon die Rede, dass das erzielbare Resultat maßgeblich von der Komplianz des Patienten abhängig ist.

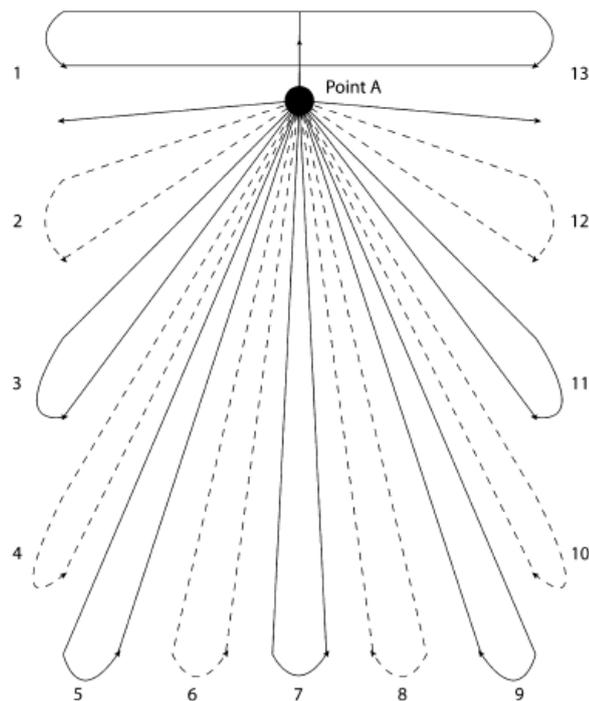
<sup>23</sup>Vermutlich handelt es sich zumeist nicht um Artefakte im strengen Wortsinn, sondern um tatsächlich vorhandene, hochreflektive Gewebestrukturen, die aber keine Nervenstrukturen und daher tendenziell unerwünscht sind.



**Abbildung 1.4:** Automatisch extrahierte potentielle Nervenverzweigungspunkte als Landmarken für die merkmalsbasierte Registrierung bei Turuwhenua et al. (aus [60])

Die anschließende Bildregistrierung beschränkt sich dann auf Paare von Bildern aus derselben Teilmenge, zuzüglich solchen, die während der Aufnahme unmittelbar hintereinander aufgezeichnet wurden und daher mit hoher Wahrscheinlichkeit überlappende Bildbereiche besitzen. Die Merkmale der merkmalsbasierten Registrierung sind automatisch extrahierte, charakteristische Bildpunkte. Turuwhenua et al. ziehen dafür potentielle Nervenverzweigungspunkte heran, definiert als segmentierte Pixel, deren Umkreis mit einem empirisch festgelegten Radius genau drei segmentierte Nervenarme schneidet (s. Abb. 1.4). Für jede solche Landmarke wird neben ihrer Position zusätzlich das Binärmuster entlang des Umkreises gespeichert. Über dem Binärmuster wird ein Ähnlichkeitsmaß definiert, auf dessen Basis bei der Registrierung eines Bildpaares zwei Landmarken als korrespondierend gelten, wenn sie wechselseitig die ähnlichste Landmarke im jeweils anderen Bild sind. Die gefundenen Landmarkenkorrespondenzen werden einer Konsistenzprüfung unterzogen und aus der resultierenden konsistenten Teilmenge eine affine Transformation abgeleitet. Grundsätzlich erlaubt der Ansatz von Turuwhenua et al. folglich Rotation sowie die Scherung und Skalierung der Aufnahmen in beiden Koordinatenachsen. Stark deformierende Transformationen werden jedoch als unplausibel verworfen. Ebenso wird das Ergebnis der Registrierung verworfen, wenn in einer der beiden Aufnahmen im überlappenden Bildbereich ein hoher Anteil an segmentierten Strukturen vorhanden ist, die in der anderen Aufnahme fehlen. Die akzeptierten Bildregistrierungen definieren einen — in der Regel nicht vollständig zusammenhängenden — Graphen auf der Menge der Aufnahmen des Datensatzes. Mittels Breitensuche werden zusammenhängende Gruppen von Aufnahmen bestimmt und über die berechneten Transformationen ein oder mehrere Mosaikbilder erzeugt. Obgleich das beschriebene Vorgehen an mehreren Stellen auf empirisch gesetzte Parameter zurückgreift, sind alle Schritte vollständig automatisiert.<sup>24</sup> Der Zeitaufwand für die verwendeten Datensätze mit zwischen 370 und 850 Einzelaufnahmen wird mit 1,3 bis 3 Stunden angegeben. Die erzielten

<sup>24</sup>In der Diskussion des vorgeschlagenen Verfahrens erwähnen Turuwhenua et al. einen kurzen manuellen Eingriff, erläutern diesen allerdings nicht weiter.



**Abbildung 1.5:** Trajektorien der bewegten Fixationsmarke bei Edwards et al. (aus [61])

Mosaikbildflächen werden von Turuwhenua et al. nicht genannt, ein exemplarisch dargestelltes Resultat zeigt einen erfassten Bereich von ca.  $7,84 \text{ mm}^2$  [60].

Edwards et al. beschreiben ein Verfahren zur Bildgebung eines ausgedehnten Bereichs des SNP in der zentralen Kornea und zur Generierung von Mosaikbildern des abgebildeten Areal in einem mehrstufigen, weitgehend automatisierten offline-Prozess [61]. Die gezielte Erweiterung der abgebildeten Fläche bei der Bildgewinnung wird über ein rechnergesteuertes, bewegtes Fixationsziel auf einem Bildschirm ca. 1,5 m vor dem kontralateralen Auge erreicht. Das Fixationsziel bewegt sich entlang von 13 vordefinierten, keulenförmigen Trajektorien (s. Abb. 1.5). Jede der 13 Trajektorien beginnt am selben Punkt A auf dem Bildschirm. Vor dem (jeweils manuell ausgelösten) Start jeder Trajektorie wird das Bildfeld des Mikroskops jeweils in die Wirbelstruktur des SNP platziert, sodass effektiv die Fixation des Punktes A im Bildschirmkoordinatensystem (mit dem kontralateralen Auge) stets mit der Position des Wirbels im Aufnahmekoordinatensystem identifiziert werden kann. Aufgrund der bekannten Lage der Wirbelstruktur inferior des kornealen Apex führt die deutliche Konzentration der Trajektorien im Bereich unterhalb des Punktes A zur Aufnahme des SNP primär im kornealen Zentrum. Die mit jeder Trajektorie entstandene Sequenz von Einzelaufnahmen wird zunächst unabhängig von den anderen unmittelbar nach der Aufnahme mithilfe kommerziell erhältlicher Software<sup>25</sup> automatisch zu einem Teilmosaik zusammengefügt. Durch grobes manuelles Positionieren der 13 entstandenen Teilmosaik kann der Bediener noch in Anwesenheit des Patienten verifizieren, ob die akquirierten Bilddaten das gewünschte Areal des SNP lückenlos abdecken und gegebenenfalls einzelne Trajektorien

<sup>25</sup>Image-Pro Plus 7.0

gezielt wiederholen. Abschließend wird aus der Menge aller vorliegender Bilddaten in einem aufwändigeren Prozess erneut mittels kommerziell erhältlicher Software<sup>26</sup> ein qualitativ hochwertiges finales Mosaikbild erzeugt. Für diesen letzten Schritt ist die Anwesenheit des Patienten nicht mehr erforderlich. Durch die Zweiteilung des Prozesses zur Mosaikbilderzeugung in einen schnellen, eventuell mit Ungenauigkeiten behafteten Schritt zur Verifikation der gewonnenen Bilddaten und einen zweiten, zeitaufwändigeren Schritt mit Priorisierung der Ergebnisqualität soll der Ansatz von Edwards et al. eine hohe Zuverlässigkeit und Qualität des Mosaikbildes erzielen und gleichzeitig den zeitlichen Aufwand für den Patienten möglichst gering halten. Die erforderliche Anwesenheitsdauer des Patienten wird mit insgesamt ca. 30 Minuten beziffert, bei einer reinen Aufnahmedauer von ca. fünf Minuten; der Zeitaufwand des zweiten Schrittes zur Berechnung des finalen Mosaikbildes wird nicht angegeben. Die bei zwei Probanden erzielten Mosaikbilder erreichen lückenlos abgebildete Flächen von mindestens  $9,42 \text{ mm}^2$  [61].

Poletti et al. beschreiben ein Verfahren zur automatisierten Erzeugung von Mosaikbildern aus vorliegenden Aufnahmesequenzen des SNP [22]. Wie Turuwhenua et al. gehen die Autoren auf die Erzeugung der Bilddaten nicht ein. Der Algorithmus arbeitet in drei Schritten. Im ersten Schritt werden durch eine erweiterte, parametrierbare Phasenkorrelationsfunktion [62] die relative Translation und Rotation zwischen zwei Aufnahmen ermittelt. Die Parametrierung ist dabei zunächst auf eine geringe Genauigkeit, aber möglichst kurze Laufzeit ausgerichtet. Sämtliche Bildpaare werden auf diese Weise registriert und die errechneten Korrelationswerte in eine (symmetrische) Registriermatrix  $M = (m_{i,j})$  eingetragen. Im zweiten Schritt wird für Gruppen von sich paarweise zu mehr als 90 % der Bildfläche überlappenden Aufnahmen diejenige bestimmt, in welcher der höchste Anteil an Nervenstrukturen abgebildet ist [63]. Dadurch sollen Aufnahmen aus anterior oder posterior zum SNP gelegenen Gewebeschichten verworfen werden, falls an derselben Stelle der Kornea eine besser den SNP fokussierende Aufnahme vorhanden ist. Im dritten Schritt wird, ausgehend von einer geeignet gewählten Einzelaufnahme als Ankerbild, dieses iterativ um jeweils eine Einzelaufnahme erweitert, bis alle vorhandenen Bilddaten verwendet worden sind oder sich keine der verbleibenden Einzelaufnahmen mehr zuverlässig dem Mosaikbild hinzufügen lässt. Die Reihenfolge, in der die Einzelaufnahmen verarbeitet werden, ermittelt sich aus  $M$ . Als Ankerbild wird die Aufnahme mit der maximalen Spaltensumme in  $M$  gewählt, von der angenommen wird, dass sie die meisten Überlappungen mit anderen Aufnahmen aufweist. In jedem Iterationsschritt wird nun das aktuelle Mosaikbild  $I_i$  mit derjenigen Aufnahme  $I_j$  ( $j \neq i$ ) registriert, für die der Wert  $m_{i,j}$  maximal wird. Die Registrierung geschieht wiederum mit der erweiterten Phasenkorrelationsfunktion zur Bestimmung von Translation und Rotation — hier jedoch auf eine möglichst hohe Genauigkeit parametrierbar — und einer affinen Projektion, welche aus automatisch bestimmten Pixelkorrespondenzen eines Punktgitters abgeleitet wird. Die zwei registrierten Bilder werden durch gewichtete Mittelwertbildung zu einem neuen Mosaikbild montiert. Nach jeder Iteration wird  $M$  angepasst. Die Korrelationswerte aller verbleibenden Aufnahmen  $I_k$  ( $k \neq i, j$ ) mit dem neuen Mosaikbild werden jeweils als Maximum ihrer Korrelationswerte mit dem vorherigen Mosaikbild  $I_i$  und der zuletzt hinzugefügten Auf-

---

<sup>26</sup>Adobe Photoshop CS4

nahme  $I_j$  angenommen und in die  $i$ -te Zeile und Spalte in  $M$  eingetragen; die der Aufnahme  $I_j$  zugeordneten Einträge in  $M$  werden zu 0 gesetzt. Da die derart ermittelten neuen Korrelationswerte sukzessive ungenauer werden, wird die gesamte Matrix  $M$  alle sieben Iterationen analog zum ersten Schritt neu berechnet. Die Laufzeit wird für acht exemplarische Datensätze aus 50–80 Einzelaufnahmen mit 400–700 Sekunden angegeben, bei einer grundsätzlich quadratischen Abhängigkeit von der Problemgröße. Die von Poletti et al. erzeugten Mosaikbilder weisen Flächen zwischen  $1,2 \text{ mm}^2$  und  $2,9 \text{ mm}^2$  auf [22].<sup>27</sup>

Die Darstellung der Literatur zur Veränderung der kornealen sub-basalen Nervenstrukturen bei diabetischer peripherer Neuropathie in Abschnitt 1.2.4 verdeutlicht das enorme Potential der CCM bei der — möglicherweise präsymptomatischen — Diagnose von Nervenschädigungen bei Diabetespatienten. Neben anderen noch offenen Fragen<sup>28</sup> fehlt es jedoch bislang an Verfahren zur zuverlässigen automatischen Abbildung eines ausreichend großen Bereichs des SNP als Grundlage einer belastbaren Diagnose. Die oben beschriebenen Vorschläge zielen in diese Richtung, lassen aber entweder den Aspekt der Bildgewinnung vollständig unberücksichtigt [22; 60], beinhalten eine manuelle Führung des Mikroskops über die Kornea [17] oder erfordern relativ lange Untersuchungszeiten [61].

### 1.3 Ziele und Aufgaben

Das Ziel der vorliegenden Dissertation besteht in der Entwicklung eines neuen Konzepts zur automatischen Erstellung einer großflächigen Abbildung des sub-basalen Nervenplexus der zentralen Kornea mittels der Laser-Scanning-Konfokalmikroskopie zum Zweck der Diagnose neuropathischer Erkrankungen. Im Sinne eines gesamtheitlichen Systems soll das zu erarbeitende Konzept sowohl die Gewinnung der Bilddaten als auch deren Verarbeitung zu einem Mosaikbild beinhalten. Diese zwei Teilaufgaben sind weitgehend unabhängig voneinander und können somit separat gelöst werden. Eine wesentliche Anforderung an das zu entwickelnde System ist ein möglichst hoher Automatisierungsgrad.

Aus dieser Zielsetzung lassen sich die folgenden wissenschaftlichen Teilziele formulieren. Im Hinblick auf eine weitestgehende Automatisierung des Gesamtkonzepts sind zunächst geeignete Verfahren und Algorithmen für die zielgerichtete Bildgewinnung und die Verarbeitung der Bilddaten zu einer großflächigen Abbildung des SNP zu identifizieren bzw. neu zu entwickeln. Zwei wesentliche zu beachtende Randbedingungen sind dabei die Abbildung einer kompakten zusammenhängenden Fläche des SNP und die Minimierung der dazu erforderlichen Aufnahmedauer. Im Anschluss sollen die entwickelten Verfahren und Algorithmen simulativ und experimentell erprobt werden. Aus den Resultaten sind Aussagen zu deren Leistungsfähigkeit abzuleiten und abschließend der Nachweis der Funktionsfähigkeit des neuen Konzepts zu erbringen.

---

<sup>27</sup>Diese Angaben beziehen sich offenbar nicht nur auf die mit tatsächlicher Bildinformation behaftete Fläche, sondern beinhalten die gesamte, rechteckige Umrandung dieser Fläche, einschließlich der „schwarzen“ Randbereiche ohne eigentliche Bildinformation.

<sup>28</sup>So ist beispielsweise noch nicht abschließend geklärt, welche morphometrischen Merkmale des SNP den höchsten diagnostischen und/oder prädiktiven Wert besitzen.

Kapitel 2 gibt zunächst einen Überblick über das erarbeitete Gesamtkonzept und beschreibt die allgemeine Arbeitsweise sämtlicher Einzelkomponenten.

Thema des Kapitels 3 sind der Prozess zur Aufnahme der Bilddaten und die dabei benötigten Algorithmen. Die Kernidee dabei ist die kontinuierliche Führung der Blickrichtung des Patienten durch eine bewegte Fixationsmarke vor dem nicht untersuchten, kontralateralen Auge während des Aufnahmeprozesses. Da die Augenbewegungen synchron erfolgen, überträgt sich die Bewegung auf das untersuchte Auge. Durch eine angepasste Bahnführung der Fixationsmarke soll eine kontinuierliche Erweiterung des aufgenommenen Areals der Kornea erreicht werden; einen Richtwert für die erforderliche Größe des zu erfassenden Bereichs des SNP stellt die von Vagenas et al. empfohlene Fläche von acht Bildfeldern des Konfokalmikroskops, entsprechend  $1,28 \text{ mm}^2$ , dar [53]. Damit die Führung der Blickrichtung hinsichtlich der oben genannten Randbedingungen zielgerichtet geschieht, beinhaltet das Konzept ein Verfahren zur Analyse der akquirierten Bilddaten und zur Rückkopplung auf die Bahn der Fixationsmarke.

Kapitel 4 behandelt die Verarbeitung der Bilddaten zu Mosaikbildern des SNP. Die aufgebaute Prozesskette wird im Detail beschrieben und die dabei eingesetzten Algorithmen werden hergeleitet. Die Aufgabe der Erzeugung eines Mosaikbildes aus einer Menge von Einzelbildern — hier den akquirierten Aufnahmesequenzen — kann ganz allgemein in die Registrierung der Bilddaten und die anschließende Bildfusion unterteilt werden. Eine zentrale Herausforderung bei der vorliegenden Aufgabenstellung besteht in der Korrektur der den konfokalmikroskopischen Aufnahmen inhärenten Bewegungsartefakte, die durch die Bewegung des Auges während der CCM-Bildgebung verursacht werden. Die Bewegungsartefakte manifestieren sich in den Aufnahmen als für die Aufnahmetechnik charakteristische horizontale und vertikale Verzerrungen, die im Rahmen der Registrierung zu bestimmen und zu korrigieren sind.

Für die skizzierte Aufgabe sollen im Rahmen der vorliegenden Dissertation hard- und softwaretechnische Lösungen entwickelt und praktisch umgesetzt werden. Die aufgebauten Funktionsmuster sind in Kapitel 5 beschrieben.

Die Erprobung des neuen Konzepts wird in Kapitel 6 behandelt. Dazu sind mit den Labor- und klinischen Experimenten durchgeführt worden, auf deren Basis die Leistungsfähigkeit der in den vorangehenden Kapiteln entwickelten Algorithmen sowie des neuartigen Gesamtkonzepts untersucht und beurteilt werden können. Die Untersuchungen und Ergebnisse werden detailliert dargestellt, diskutiert und bewertet.

Kapitel 7 fasst die durchgeführten Arbeiten und die gewonnenen Ergebnisse zusammen und schließt mit einem Ausblick auf mögliche Erweiterungen. Dabei werden auch die zur Translation der Forschungsergebnisse in die klinische Praxis erforderlichen weiteren Schritte aufgezeigt.

## Kapitel 2

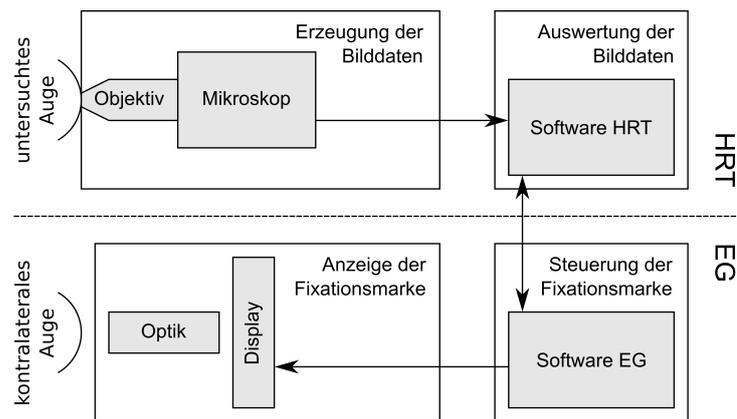
# Neues Konzept zur automatischen Erstellung von Mosaikbildern der Kornea

In diesem Kapitel werden der Aufbau und die Arbeitsweise des in der vorliegenden Dissertation entwickelten Systems dargestellt. Dazu wird unter anderem die Konfiguration des zugrundeliegenden Konfokalmikroskops beschrieben, sowie die für den Betrieb des neuen Konzepts erforderlichen Anpassungen. Anschließend wird auf die weiteren an der Aufnahme der Bilddaten des SNP beteiligten Komponenten eingegangen und abschließend ein Überblick über die Arbeitsschritte zur Verarbeitung der Bilddaten zu einer großflächigen Abbildung des SNP gegeben.

### 2.1 Beschreibung der Komponenten zur Bilddatengewinnung

Bei der CCM bestehen grundsätzlich zwei Möglichkeiten zur Erfassung einer über das Bildfeld des Mikroskops hinausgehenden Fläche. Es kann entweder das Mikroskop über die Probe, oder die Probe unter dem Mikroskop (oder beide) bewegt werden. Beide Ansätze wurden bereits zur Bildgebung des SNP eingesetzt.

Die zur CCM zugelassenen Konfokalmikroskope bieten über Stellschrauben (Gerätreihe HRT, Heidelberg Engineering, s. Anhang A.3) bzw. eine Joystickbedienung (Gerätreihe Confo-Scan, Nidek Technologies, s. Anhang A.2) eine Möglichkeit zur manuellen Positionierung des Mikroskops. Bei der Akquisition weniger Einzelaufnahmen wird in der Regel dieser Ansatz gewählt, teilweise unterstützt durch eine stationäre Fixationshilfe [10; 12; 20; 30; 50]. Bei der durch Patel et al. eingeführten nicht-automatisierten Erzeugung von Mosaikbildern aus mehreren hundert Einzelaufnahmen [40; 41; 49; 56–59] kommt ein Gitter mit mehreren starren Fixationspunkten zum Einsatz, mit der Zielsetzung, unterschiedliche Bereiche des SNP zu erfassen. Jede der derart definierten Blickrichtungen wird vom Probanden für eine bestimmte Dauer gehalten, während der Bediener des Geräts die Mikroskopposition manuell variiert und Einzelaufnahmen erzeugt. Auch bei der von Zhivov et al. beschriebenen online-Erzeugung von Mosaikbildern des SNP wird



**Abbildung 2.1:** Aufbau des Bildgewinnungsprozesses

das Mikroskop mittels der Stellschrauben manuell über die Kornea geführt [17].

Edwards et al. wählen dagegen den anderen Weg und bewegen das Mikroskop ausschließlich vor der eigentlichen Bildgewinnung an eine geeignete Initialposition im SNP (den charakteristischen Wirbel) [61]. Bei der automatisierten Aufnahme kurzer Bildserien bleibt die Mikroskopposition unverändert, während der Proband mit dem nicht untersuchten Auge einer bewegten Fixationsmarke auf einem Bildschirm in ca. 1,5 m Entfernung folgt. Aufgrund der beim Menschen in der Regel synchronen Augenbewegung<sup>1</sup> überträgt sich die Bewegung identisch auf das untersuchte Auge, wodurch die erforderliche Relativbewegung zwischen Auge und Mikroskop entsteht.

Dieser Ansatz stellt sich für automatisierte Lösungen zur Akquisition von Aufnahmeserien des SNP als vorteilhaft dar, da er keine zusätzliche Ansteuerung des Mikroskops erfordert. Der in der vorliegenden Dissertation entwickelte Aufbau basiert daher ebenfalls auf einer gezielten Führung der Augenbewegungen durch eine rechnergesteuerte, bewegte Fixationsmarke. Abbildung 2.1 zeigt den Aufbau des zur Akquisition der Bilddaten konzipierten Gesamtsystems im Überblick und weist die einzelnen Komponenten aus, die in den folgenden Abschnitten näher erläutert werden. In der unteren Hälfte der Abbildung findet sich eine schematische Darstellung des EyeGuidance-Systems (EG), das im Rahmen der vorliegenden Dissertation entwickelt wurde. Es besitzt ein Display zur Anzeige der bewegten Fixationsmarke vor dem nicht untersuchten, kontralateralen Auge. Eine zwischen Display und Auge angeordnete Optik passt die wahrgenommene Entfernung der Fixationsmarke an und ermöglicht eine optimale Wahrnehmung auch bei Weit- oder Kurzsichtigkeit des Patienten. Das Display wird von einer Softwarekomponente angesteuert, welche die Führungsbahn der Fixationsmarke berechnet. Die obere Hälfte der Abbildung 2.1 skizziert das System zur Erzeugung der Bilddaten. Hierfür wird das HRT-Konfokalmikroskop verwendet. Das Mikroskop wird von der Software des Herstellers angesteuert, welche die Bilddaten sammelt und auswertet. Eine im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelte Schnittstelle erlaubt den bidirektionalen Austausch von Daten zwischen der HRT-Software und der

<sup>1</sup>Die Akkommodation, bei der durch nicht-synchrone Augenbewegungen gezielt der Vergenzwinkel zwischen den Augen verändert wird, kann hier außer Acht gelassen werden, da beim Verfolgen der Fixationsmarke in einer gleichbleibenden Entfernung keine nennenswerte Akkommodation auftreten sollte.

EG-Software.

Die grundlegenden Eigenschaften des EG-Systems sowie die für die vorliegende Arbeit relevanten Bildgebungseigenschaften und Software-Komponenten des HRT-Systems werden in den folgenden Abschnitten näher erläutert. Eine detaillierte Beschreibung der für das EG-System entwickelten Algorithmen und Verfahren, einschließlich der Datenschnittstelle zwischen HRT- und EG-Software folgen in Kapitel 3, der Hardwareaufbau wird in Kapitel 5 im Einzelnen dargestellt.

### 2.1.1 Anzeige der Fixationsmarke

Bei den bisher in der Literatur beschriebenen Ansätzen zur Erfassung eines ausgedehnten Bereichs der Kornea unter Zuhilfenahme bewegter Fixationshilfen wurde dazu ein Computerbildschirm in einer Entfernung von mindestens 70 cm vom Probanden und damit auch vom Mikroskopsystem verwendet [19; 49; 59; 61]. Im Hinblick auf eine größtmögliche Integration des Gesamtsystems und zur Realisierung einer möglichst kompakten Bauform wird hingegen in der vorliegenden Arbeit ein kleines Display in geringem Abstand zum nicht-untersuchten Auge positioniert. Über eine optische Linse bzw. ein Linsensystem wird das Display auf das Auge abgebildet. Zur Minimierung der Vergenz wird die Optik so ausgelegt, dass der Ziliarmuskel des Auges entspannt ist und die Fixationsmarke für den Betrachter in der Ferne erscheint. Ferner soll die Optik auf unterschiedliche Sehstärken der untersuchten Personen einstellbar sein.

### 2.1.2 Bildgebung

Die Grundlage für die Bildgebung der kornealen Nervenstrukturen im hier vorgeschlagenen Konzept bildet das Konfokalmikroskop HRT<sup>2</sup> in Verbindung mit dem Objektivaufsatz RCM (beide Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland). Die primär für die Abbildung der Netzhaut (Retina) entwickelten und hauptsächlich zu Glaukomvorsorgeuntersuchungen eingesetzten Konfokalmikroskope der Produktreihe HRT (Heidelberg Retina Tomograph) arbeiten nach dem Prinzip der Laser-Scanning-Konfokalmikroskopie (LSCM, s. Anhang A.3). Das RCM (Rostock Cornea Module) ist ein Modul zum Aufsatz auf das Objektiv des HRT. Als wesentliche optische Komponente enthält das RCM ein Immersionsobjektiv mit einer hohen numerischen Apertur, welches die Fokusebene des Mikroskops in den vorderen Augenabschnitt verlagert und die Abbildung sämtlicher Gewebeschichten der Kornea ermöglicht. Da im Zusammenhang der vorliegenden Dissertation ausschließlich die Bildgebung der Kornea von Interesse ist, wird im Folgenden der Einfachheit halber mit der Bezeichnung HRT stets die Kombination mit dem RCM gemeint sein.

Neben dem HRT existiert derzeit am Markt lediglich ein weiteres für die Anwendung am lebenden Auge zugelassenes Konfokalmikroskopsystem. Die Geräte der Produktreihe ConfoScan (Nidek Technologies Srl, Padua, Italien) arbeiten nach dem Prinzip der Spalt-Scanning-

---

<sup>2</sup>Tatsächlich sind zwei unterschiedliche Modelle erhältlich, namentlich die Modelle II und 3. Die Unterschiede zwischen beiden liegen in der Bedienung und den Schnittstellen zur Anbindung an den Steuerungsrechner. In allen für die vorliegende Arbeit relevanten Aspekten sind beide Modelle austauschbar.

Konfokalmikroskopie (SSCM, s. Anhang A.2). Aufgrund ihrer höheren Schärfentiefe und der kontrastärmeren Aufnahmen ist die SSCM jedoch speziell für die Abbildung der sehr feinen Nervenstrukturen des SNP weniger gut geeignet als die LSCM [64]. In der überwiegenden Zahl der neueren in-vivo-Untersuchungen des SNP wird das HRT-System eingesetzt.<sup>3</sup>

### 2.1.3 Steuerungssoftware

Ein vorrangiges Ziel der vorliegenden Arbeit besteht in einem hohen Grad an Integration und Automatisierung. Insbesondere soll dazu die Bahnführung der Fixationsmarke adaptiv geregelt werden, um eine robuste, geschlossene Erfassung der abzubildenden Fläche einerseits und eine möglichst geringe Untersuchungsdauer andererseits zu erreichen. Dazu bestimmt eine Softwarekomponente des HRT online die aktuelle Aufnahmeposition. Die Position wird an die Software des EG-Systems übermittelt, welche die eigentliche Bahnregelung und die Ansteuerung des Displays implementiert.

#### Software-Komponente zur online-Positionsbestimmung

Zur Bestimmung der aktuellen Aufnahmeposition wird die jeweils letzte Einzelaufnahme mit den zuvor akquirierten Bilddaten durch Bildregistrierung in Beziehung gesetzt. Da die Bildgebung beim HRT mit einer Aufnahmerate von 30 Einzelaufnahmen pro Sekunde erfolgt, darf der hierfür verwendete Algorithmus eine mittlere Laufzeit von ca. 33 ms für die Registrierung einer Aufnahme nicht überschreiten, um keine Bilddaten verwerfen zu müssen. Für diese Aufgabe wird der bereits bei Zhivov et al. beschriebene ART Composite-Aufnahmemodus des HRT eingesetzt [17], bei dem bereits während der Aufnahme der Bildserie ein Mosaikbild des erfassten Gewebes aufgebaut wird. Die Bestimmung der aktuellen Aufnahmeposition in der ART Composite-Software erfolgt relativ zur initialen Position bei Beginn des Aufnahmeprozesses, die Lage der ersten Einzelaufnahme definiert also den Ursprung und die Ausrichtung des zugrunde liegenden Koordinatensystems.

#### Software-Komponente zur Bahnregelung der Fixationsmarke

Das Ziel der Regelung der Fixationsmarkenbahn in der EG-Komponente ist die Führung des untersuchten Auges auf einer spiralförmigen Trajektorie. Auf diese Weise kann der Aufnahmeprozess direkt im Zentrum der Kornea beginnen und die erfasste Fläche anschließend in alle Richtungen gleichmäßig erweitert werden.

Die Fixationsmarke folgt daher ebenfalls einer grundsätzlich spiralförmigen Bahn, beginnend aus einer zentralen Markenposition. Der Verlauf der von der ART-Komponente übermittelten Aufnahmepositionen wird kontinuierlich ausgewertet, um bei einer Abweichung der Aufnahmepositionen von der gewünschten Spiralförmigkeit die Markentrajektorie entsprechend anzupassen.

---

<sup>3</sup>Ein drittes System, das Tandem Scanning Confocal Microscope (TSCM, s. Anhang A.1, Tandem Scanning Corporation, Reston, Virginia, USA), ist inzwischen nicht mehr erhältlich. Die erreichte Schärfentiefe liegt zwischen derjenigen des HRT und des ConfoScan, der Kontrast der Aufnahmen fällt im Vergleich zum ConfoScan nochmals ab. Obgleich Bailly et al. lediglich die Systeme HRT und ConfoScan vergleichen [64], bleibt ihre Empfehlung zur Nutzung des HRT bei der Bildgebung des SNP daher auch bei Einbeziehung des TSCM unverändert.

Die Anpassung der spiralförmigen Markentrajektorie erfolgt ausschließlich durch langsame Veränderung ihrer geometrischen Parameter, die spiralförmige Bahnführung bleibt dabei grundsätzlich erhalten. Auf diese Weise bleibt die Markenbahn für den Patienten stets vorhersehbar; er kann der Marke mittels sogenannter *langsamer Augenfolgebewegungen* (engl. *smooth pursuit eye movements*, SPEM) folgen, die mit gleichbleibender Geschwindigkeit und praktisch verzögerungsfrei erfolgen. Unvorhersehbare Bewegungen oder Sprünge der Fixationsmarke führen zu sakkadischen Korrekturen der Blickrichtung, die aber erst mit einer deutlichen Verzögerung von ca. 300 ms [65; 66] einsetzen. Die während einer Sakkade entstehenden Aufnahmen enthalten stets starke Bewegungsartefakte in Gestalt extrem verzerrender Deformationen des Bildinhalts und sind daher in der Regel für die weitere Verarbeitung unbrauchbar. Das Auftreten von sakkadischen Augenbewegungen sollte daher möglichst vermieden bzw. zumindest nicht provoziert werden.

Der Bezug zwischen dem Koordinatensystem, in dem die Aufnahmepositionen bestimmt werden, und jenem des Displays, in dem der Verlauf der Fixationsmarke definiert ist, wird über eine entsprechende Transformationsfunktion hergestellt. Die Transformation ist nicht inhärent gegeben und grundsätzlich auch nicht a priori bestimmbar, sondern muss über die Auswertung einer Menge korrespondierender Paare von Aufnahme- und Markenpositionen geeignet ermittelt werden. Darüber hinaus ist die Güte der Transformation über die Dauer des Aufnahmeprozesses zu überwachen und gegebenenfalls anzupassen. Aufgrund der geometrischen Anordnung der Augen, des Displays und des Mikroskops sowie der gekrümmten Augenoberfläche und des flachen Displays ist die Transformation grundsätzlich nicht-linear. Zur Modellierung der Transformationsfunktion werden zwei Ansätze vorgeschlagen:

1. Ein nicht-lineares Modell zur Beschreibung der korrekten, globalen Beziehung der Koordinatensysteme.
2. Ein (zeitlich variables) affines Modell zur lokalen linearen Approximation der Koordinatentransformation.

Die konkrete Transformationsfunktion, d.h. die zu verwendenden Parameterwerte, muss in beiden Fällen während des Aufnahmeprozesses aus den zu verknüpfenden Daten, den Aufnahme- und den Markenpositionen, berechnet werden. Das nicht-lineare Modell erfordert dazu einen aufwändigeren nicht-linearen Optimierungsansatz, während die affine Transformationsfunktion mit einem deutlich einfacheren linearen Optimierungsverfahren ermittelt werden kann. Der Vorteil der nicht-linearen Transformation besteht hingegen in ihrer globalen Gültigkeit über dem gesamten Koordinatenraum, wohingegen die nur lokal gültige lineare Transformation zwangsläufig kontinuierlich angepasst werden muss.

Die Bahnführung der Fixationsmarke auf einer spiralförmigen Trajektorie, die adaptive Anpassung der Trajektorie auf der Basis online ermittelter Positionsdaten, die Einführung einer Datenschnittstelle zwischen der Steuerungssoftware des Mikroskops und der Steuerungssoftware der Fixationsmarke, sowie allgemein der mit dem vorgestellten Konzept erreichte Grad an Integration und Automatisierung des Gesamtsystems stellen wesentliche Neuerungen gegenüber dem



Abbildung 2.2: Prozesskette zur Mosaikbilderzeugung

Stand der Technik dar. Entsprechend bilden die zur Realisierung erforderlichen Algorithmen und Verfahren nach der Erarbeitung des Gesamtkonzepts den ersten wissenschaftlichen Schwerpunkt der Dissertation.

## 2.2 Beschreibung der Komponenten zur Mosaikbilderzeugung

Nach Beendigung der Bilddatengewinnung wird die Bildserie zu einem Mosaikbild verarbeitet. Dieser Bildverarbeitungsprozess ist von der Bildgewinnung vollständig entkoppelt. Insbesondere können die hierfür eingesetzten Algorithmen jederzeit auf die bereits von Beginn an komplett vorliegenden Eingangsdaten zurückgreifen.<sup>4</sup> Die Prozesskette zur Erzeugung eines Mosaikbilds aus den aufgenommenen Bilddaten ist in Abbildung 2.2 dargestellt. Durch einen neuartigen, auf die spezifische Problemstellung ausgerichteten Algorithmus zur Bildregistrierung werden die Einzelbilder der aufgenommenen Bildserie zueinander in Bezug gebracht. Die durch die Registrierung ermittelten Transformationen ermöglichen dabei insbesondere auch eine Korrektur der in den Bilddaten enthaltenen Bewegungsartefakte. Abschließend können die Bilddaten zu einem großflächigen Mosaikbild fusioniert werden.

Die Entwicklung adäquater Algorithmen zur Realisierung der Prozesskette stellt den zweiten wissenschaftlichen Schwerpunkt der vorliegenden Dissertation dar. Als zentraler Aspekt dabei und wesentliche Innovation gegenüber dem Stand der Technik sei hier die präzise Beschreibung und Adressierung der Bewegungsartefakte hervorgehoben. Die grundlegenden Eigenschaften und Randbedingungen der Bildregistrierung und Bilddatenfusion werden in den folgenden Abschnitten näher betrachtet, in Kapitel 4 folgt eine detaillierte Herleitung und Beschreibung der hierfür entwickelten Algorithmen.

### 2.2.1 Registrierung der Bildserie

Die Aufgabe der Registrierung einer Bildserie  $M_I = \{I_k \mid k = 1, \dots, N\}$  mit  $N$  Einzelbildern ist ganz allgemein die Bestimmung einer Menge von Transformationen  $M_T = \{T_k \mid k = 1, \dots, N\}$ , durch welche die Einzelaufnahmen in ein gemeinsames Koordinatensystem überführt werden. Nach Anwendung der Transformationen  $T_k$  auf die Aufnahmen  $I_k$  sollen alle Bildbereiche, die dasselbe Gewebe darstellen, im gemeinsamen Koordinatensystem deckungsgleich sein. Die Transformationen  $T_k$  müssen dazu eine translatorische Komponente enthalten, um die Aufnahmen  $I_k$

<sup>4</sup>Man spricht in einem solchen Fall auch von *offline*-Verfahren oder der *offline*-Verarbeitung. Im Gegensatz dazu arbeiten *online*-Verfahren auf Datensätzen während deren Erfassung, d.h. auf einem potentiell unvollständigen, sich erweiternden Datensatz, wie beispielsweise bei der in Abschnitt 2.1 genannten Komponente zur Auswertung der Bilddaten.

an den korrekten Positionen anzuordnen. Des Weiteren müssen die den Bilddaten inhärenten Bewegungsartefakte ermittelt und korrigiert werden, die durch die gerasterte Aufnahmetechnik bei der LSCM verursacht werden.

### 2.2.2 Fusion der Bilddaten zu einem Mosaikbild

Durch die aus der Registrierung hervorgehenden Transformationsfunktionen  $T_k$  werden die Aufnahmen  $I_k$  in ein gemeinsames Koordinatensystem überführt. Der finale Schritt zur Erzeugung einer großflächigen Abbildung des insgesamt erfassten Bereichs des SNP besteht in der Fusion der transformierten Bilddaten. Besondere Beachtung finden hierbei jene Bildbereiche, in denen sich mehrere der transformierten Originalaufnahmen überlappen. Bei der Fusion dieser redundant erfassten Geweberegionen ist eine Bewertung der Bildqualität der Originalaufnahmen sinnvoll, die aufgrund des Randlichtabfalls zu den Ecken hin abnimmt.

## 2.3 Zusammenfassung

Ausgehend von der Zielsetzung der vorliegenden Dissertation, der Entwicklung eines möglichst weitgehend automatisierten Verfahrens zur großflächigen Abbildung des SNP in kurzer Aufnahmedauer, wurde in den vorangehenden Abschnitten ein neuartiges Gesamtkonzept entwickelt und vorgestellt. Dabei wurden die eigentliche Gewinnung der Bilddaten in Form einer Sequenz von konfokalmikroskopischen Aufnahmen und die anschließende Erzeugung eines Mosaikbilds aus selbigen als zwei entkoppelte Teilprozesse identifiziert und für beide unter Berücksichtigung der relevanten Anforderungen geeignete Prozessabläufe hergeleitet.

Für den Prozess der Bilddatengewinnung wurde ein Aufbau bestehend aus einem für die Anwendung am Auge zugelassenen Konfokalmikroskop und einem in geringem Abstand vor dem kontralateralen Auge angeordneten Display beschrieben. Der Zweck des Displays besteht in der Anzeige einer rechnergesteuerten bewegten Fixationsmarke zur zielgerichteten Führung der Blickrichtung beider Augen während des laufenden Aufnahmeprozesses. Neben den hardwaretechnischen Komponenten wurden die Arbeitsweise und das Zusammenspiel zweier Softwarekomponenten zur online-Bestimmung der jeweils aktuellen Aufnahmeposition bzw. zur Steuerung und adaptiven Anpassung der Fixationsmarkenbahn dargestellt.

Für den Prozess der Mosaikbilderzeugung wurden eine Prozesskette aus einer Registrierung der Aufnahmeserie und einer anschließenden Fusion der registrierten Bilddaten aufgebaut und die Anforderungen an beide Schritte skizziert. Als wesentliche Herausforderungen bei den genannten Bildverarbeitungsschritten wurden die der gerasterten Aufnahmetechnik geschuldeten Bewegungsartefakte sowie der Randlichtabfall in den Aufnahmen identifiziert.

Nach der hier gegebenen Darstellung des erarbeiteten Gesamtkonzepts werden im folgenden Kapitel die für die Führung der Blickrichtung während der Bilddatengewinnung erforderlichen Algorithmen detailliert hergeleitet und beschrieben.

## Kapitel 3

# Algorithmen für einen automatisierten Aufnahmeprozess

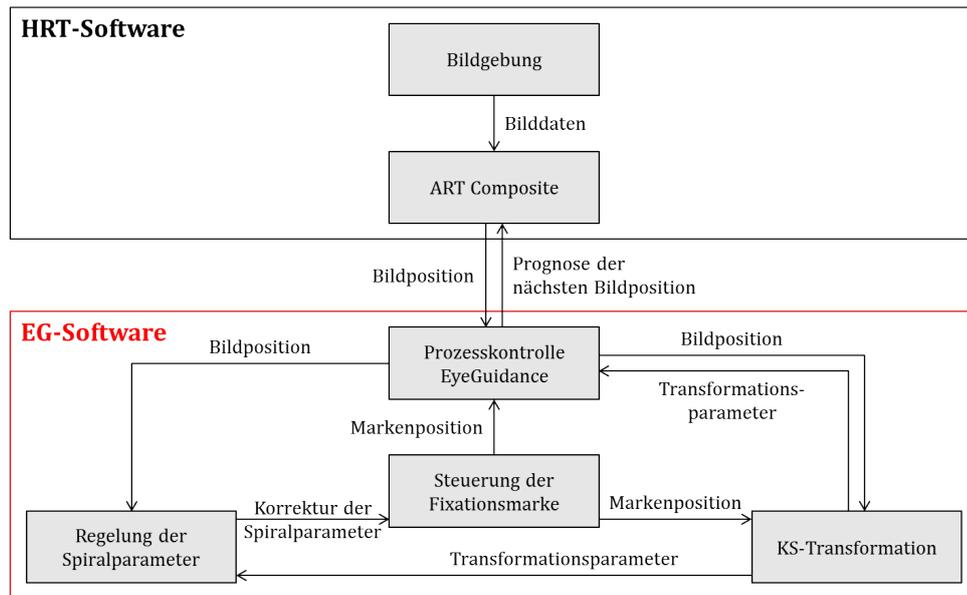
Dieses Kapitel beschreibt die Algorithmen und Methoden, die während des Aufnahmeprozesses zum Einsatz kommen, um die Erfassung eines ausreichend großen zusammenhängenden Bereichs des zentralen SNP bei möglichst kurzer Aufnahmedauer zu realisieren. Wie in der Übersicht in Abschnitt 2.1 dargestellt, erfolgt die Bildgebung durch das konfokale Mikroskopsystem HRT. Die Anzeige und geregelte Führung der bewegten Fixationsmarke zur zielgerichteten kontinuierlichen lateralen Erweiterung des erfassten SNP-Areals wird durch das neu entwickelte EG-System umgesetzt.

Für jede Art einer zielgerichteten Bahnführung der Fixationsmarke, die über eine rein vorprogrammierte Trajektorie hinausgeht, ist der Aufbau einer Karte des bereits erfassten Areals des SNP erforderlich, die online (und idealerweise mit möglichst geringer Verzögerung) aktualisiert wird. Zu diesem Zweck wird der bereits bei Zhivov et al. beschriebene ART Composite-Aufnahmemodus des HRT eingesetzt [17].

Abbildung 3.1 zeigt den Datenfluss zwischen der HRT-Software und der EG-Software sowie deren Einzelkomponenten während des Aufnahmeprozesses.<sup>1</sup> Die Bildgebungskomponente der HRT-Software realisiert die softwaretechnische Anbindung an die Mikroskophardware und sammelt und verwaltet den Zugriff auf die mit 30 Hz anfallenden Einzelaufnahmen. Die ART Composite-Komponente implementiert eine online-Registrierung der akquirierten Bilddaten und ermittelt so die Position jeder Einzelaufnahme bezüglich des online aufgebauten Mosaikbilds. Beide Komponenten sind Teil der HRT-Software (s. Abb. 3.1) und stellen somit keine Entwicklungen im Rahmen der vorliegenden Dissertation dar. Eine Beschreibung des bei der online-Registrierung eingesetzten Verfahrens findet sich bei Zhivov et al. [17] und im Abschnitt 1.2.5. Gegenüber jener Darstellung wurde die HRT-Software jedoch um eine Datenschnittstelle zur EG-Software und dadurch insbesondere um die Möglichkeit erweitert, eine Prognose der erwarteten Bildposition als a priori-Information in den Registrierprozess zu integrieren.

---

<sup>1</sup>Die als „HRT-Software“ und „EG-Software“ dargestellten Blöcke repräsentieren separate Betriebssystemprozesse, die in den untergeordneten Blöcken abgebildeten logischen Einzelkomponenten sind jeweils in nebenläufigen Threads implementiert.



**Abbildung 3.1:** Am Aufnahmeprozess beteiligte Einzelprozesse; die rot gekennzeichnete EG-Software beinhaltet die in der vorliegenden Arbeit neu entwickelten Komponenten.

Die EG-Software stellt den ersten wissenschaftlichen Schwerpunkt der vorliegenden Dissertation dar. Sie besteht aus einer Komponente zur Prozesskontrolle des EG-Moduls, welche die Datenschnittstelle zur HRT-Software implementiert, sowie drei weiteren Komponenten zur Umsetzung der in der Arbeit entwickelten algorithmischen Verfahren des EG-Moduls. Die Komponente zur Steuerung der Fixationsmarke berechnet die Fixationsmarkenbewegung aus der grundlegenden Trajektorie und einer gegebenenfalls zu berücksichtigenden Korrektur der Spiralparameter. Die in Abbildung 3.1 mit „KS-Transformation“ bezeichnete Komponente ermittelt aus den zurückliegenden Bild- und Markenpositionen eine Transformation zwischen den Koordinatensystemen des Displays und des ART Composite-Mosaikbilds. Die Komponente zur Regelung der Spiralparameter schließlich überwacht den Verlauf der Bildpositionen im Mosaikbild und bestimmt gegebenenfalls eine erforderliche Korrektur der Fixationsmarkenbahn.

Nach einer Beschreibung der Datenschnittstelle in Abschnitt 3.1 befassen sich die anschließenden Abschnitte mit den oben genannten algorithmischen Komponenten des EG-Moduls. Abschnitt 3.2 beschreibt das grundlegende Muster und die Berechnung der Fixationsmarkenbewegung (Komponente „Steuerung der Fixationsmarke“). Abschnitt 3.3 behandelt zwei Ansätze zur Bestimmung und adaptiven Anpassung einer Koordinatentransformation zwischen Display und ART Composite-Mosaikbild (Komponente „KS-Transformation“). Der Abschnitt 3.4 schließlich befasst sich mit algorithmischen Ansätzen zur adaptiven online-Anpassung der geometrischen Markenbahnparameter (Komponente „Regelung der Spiralparameter“).

### 3.1 Bidirektionaler Datenaustausch mit der Mikroskopsoftware

Die Definition einer bidirektionalen Datenschnittstelle zwischen der HRT-Software und der im Rahmen der Arbeit entwickelten EG-Software ermöglicht die Übermittlung von den in der

ART-Composite-Komponente berechneten Bildpositionen an die EG-Software sowie den Transfer der prognostizierten Lagekoordinaten der aktuell akquirierten Aufnahme in der Gegenrichtung. Die Schnittstelle stellt darüber hinaus die Grundlage für die Synchronisierung des Beginns und der Beendigung des Aufnahmeprozesses und der Fixationsmarkenbewegung dar. Die Datenübertragung findet in Form separater Nachrichten statt.

Während des Aufnahmeprozesses übermittelt die HRT-Software der EG-Software für jede Einzelaufnahme nach erfolgter Bildregistrierung eine TRAF0-Nachricht, welche unter anderem den Bildindex  $i$  und ein Valid-Flag enthält. Letzteres gibt an, ob die Aufnahme erfolgreich registriert werden konnte. Bei gesetztem Valid-Flag beinhaltet die Nachricht außerdem die ermittelte affine Transformation in Form des Lagevektors  $\vec{x}'_i$  der Aufnahme im Mosaikbild sowie einer affinen Transformationsmatrix  $T_i$ . Die EG-Software antwortet darauf unmittelbar mit einer TRAF0RET-Nachricht, in welcher die Lageprognose für die zu diesem Zeitpunkt erfasste Aufnahme an die ART Composite-Komponente übermittelt wird. Auf die Lageprognose wird in Abschnitt 3.3 näher eingegangen.

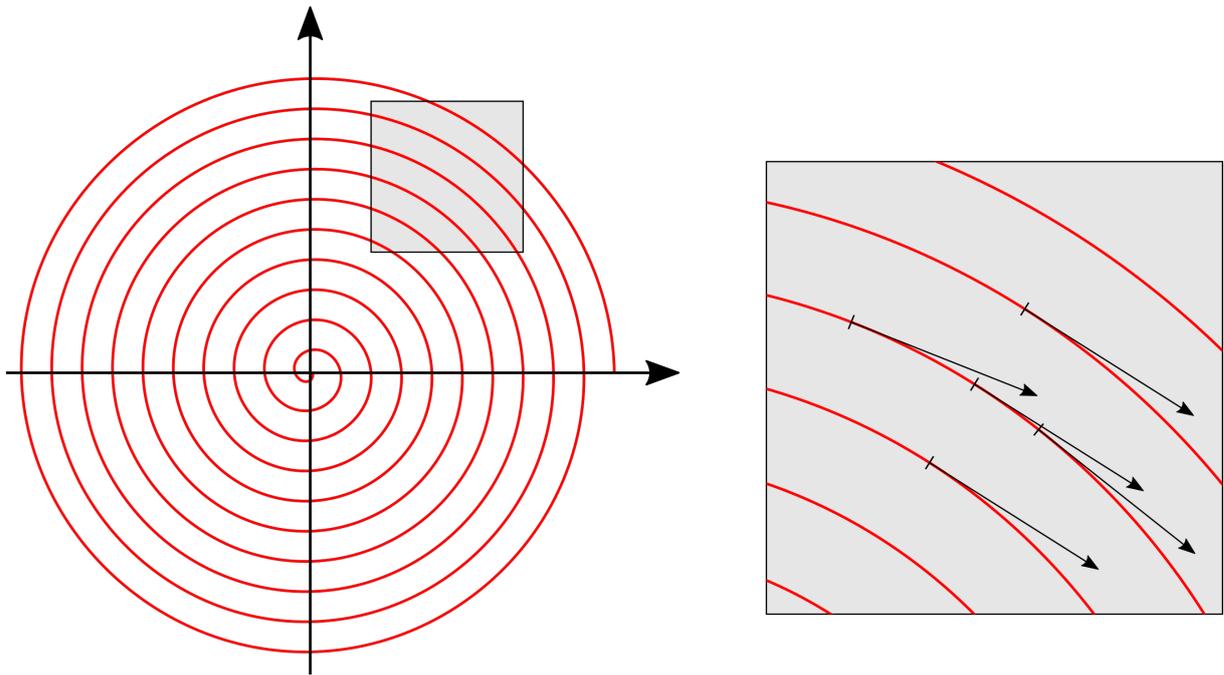
Zur Koordinierung des Aufnahmeprozesses sieht die Schnittstellenspezifikation darüber hinaus die folgenden Nachrichtentypen vor; in Klammern ist jeweils die Richtung des Datenflusses angegeben. Die Initiierung bzw. Beendigung des Aufnahmeprozesses durch den Bediener wird durch eine START- bzw. STOP-Nachricht (jeweils HRT  $\rightarrow$  EG) signalisiert; die START-Nachricht wird durch eine STARTRET-Antwort (EG  $\rightarrow$  HRT) bestätigt. Die Ablage der Ergebnisse und Protokolle wird schließlich mittels einer SAVE-Nachricht (HRT  $\rightarrow$  EG) mit dem Ablagepfad als Argument synchronisiert.

## 3.2 Neue Bahnführung der Fixationsmarke

Die Wahl einer grundlegenden Bahngeometrie der Fixationsmarkenbewegung hängt von verschiedenen zu erfüllenden Anforderungen ab, mit dem Ziel einer kompakten zusammenhängenden erfassten Fläche und einer möglichst geringen Aufnahmedauer.

Grundsätzlich ist die Induktion langsamer Augenfolgebewegungen anzustreben, da diese einer Bewegung im Blickfeld sehr gleichmäßig und praktisch verzögerungsfrei folgen [66; 67]. Voraussetzung dafür sind vorhersehbare und nicht zu schnelle Bewegungsmuster des zu verfolgenden Objekts. Bei Verletzung der Voraussetzungen reagiert das menschliche Auge mit sakkadischen Bewegungen, die mit hohen Geschwindigkeiten und Beschleunigungen einhergehen und dadurch starke Bewegungsartefakte in den währenddessen akquirierten Konfokalaufnahmen verursachen (s. Abschnitt 4.2). Sakkaden erfolgen mit der bereits genannten Verzögerung von bis zu 300 ms ( $\cong$  9 Einzelaufnahmen). Die grundsätzliche Vorhersehbarkeit der Markenbewegung für den Patienten ist daher die wichtigste Anforderung an die Markenführung. Eine notwendige Voraussetzung dafür ist in jedem Fall die Stetigkeit und Differenzierbarkeit der Trajektorie. Außerdem sollten Änderungen des Geschwindigkeitsvektors der Fixationsmarke über der Zeit möglichst langsam und gleichmäßig erfolgen, sowohl bezüglich seiner Richtung als auch seines Betrags.<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Wenn  $\vec{v}(t) = (v_x(t), v_y(t))^T$  den Verlauf der Fixationsmarkengeschwindigkeit über der Zeit beschreibt, dann sollen also die Ableitungen  $\frac{dv_x}{dt}$ ,  $\frac{dv_y}{dt}$  und  $\frac{d|\vec{v}|}{dt}$  über der gesamten Aufnahmedauer betragsmäßig möglichst kleine



**Abbildung 3.2:** Geschwindigkeitsvektoren in einer lokalen Umgebung der spiralförmigen Fixationsmarkentrajektorie

Die genannten Anforderungen werden von einer spiralförmigen Trajektorie besser erfüllt als beispielsweise von einem Mäandermuster, wie es bei Lum et al. verwendet wird [59]. Tatsächlich weist die Spiralförmigkeit weitere vorteilhafte Eigenschaften auf. Zum einen kann die Aufnahme durch Aufsetzen des HRT auf dem kornealen Apex direkt im Zentrum des interessierenden Bereichs begonnen werden und das erfasste Areal davon ausgehend nach allen Seiten hin gleichmäßig erweitert werden, wohingegen bei einem Mäandermuster der Startpunkt am Rand des anschließend abgefahrenen Bereichs liegt. Zum anderen weist die spiralförmige Trajektorie in lokalen Umgebungen stets ähnliche Geschwindigkeitsvektoren auf und zwar nicht nur für die Umgebung entlang der Trajektorie, sondern auch für nahegelegene Abschnitte auf benachbarten Spiralwindungen (s. Abb. 3.2). Aufgrund der Entstehung der Bewegungsartefakte — auf die in Abschnitt 4.2 detailliert eingegangen wird — sind sich partiell überlappende Aufnahmen (die somit per se aus einer lokalen Umgebung der Grundfläche stammen) daher tendenziell in ähnlicher Weise verzerrt, wodurch eine robuste Registrierung der Aufnahmen prinzipiell begünstigt wird.

Konzipiert wird eine archimedische Spirale (s. Abb. 3.3), bei welcher der Radius (definiert als der Abstand vom Mittelpunkt  $M$ ) während einer vollen Umdrehung stets um den gleichen Betrag, den Windungsabstand  $b$ , zunimmt [68, S. 106–107].<sup>3</sup> Liegt der Mittelpunkt  $M$  wie in Abbildung 3.3 im Ursprung, so lässt sich eine archimedische Spirale in Polarkoordinaten durch

Werte annehmen, ohne dies exakt zu spezifizieren.

<sup>3</sup>Der Parameter  $a$  in der angegebenen Literaturstelle wird hier durchgehend durch  $b = 2\pi a$  substituiert, um die Formeln unmittelbar mit dem Windungsabstand  $b$  in Bezug zu setzen.

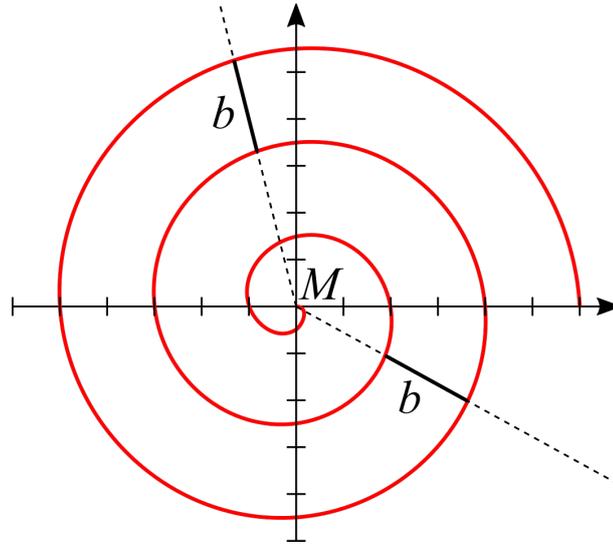


Abbildung 3.3: Geometrie einer archimedischen Spirale

die Gleichung [68, S. 106, Gl. (2.247)]

$$r(b; \phi) = \frac{b\phi}{2\pi}, \quad (3.1)$$

angeben, in der  $r$  den Radius und  $\phi$  den (nach oben nicht begrenzten) Drehwinkel bezeichnet. Daraus ergeben sich die kartesischen Koordinaten der Spiralpunkte zu [68, S. 197, Gl. (3.290a)]

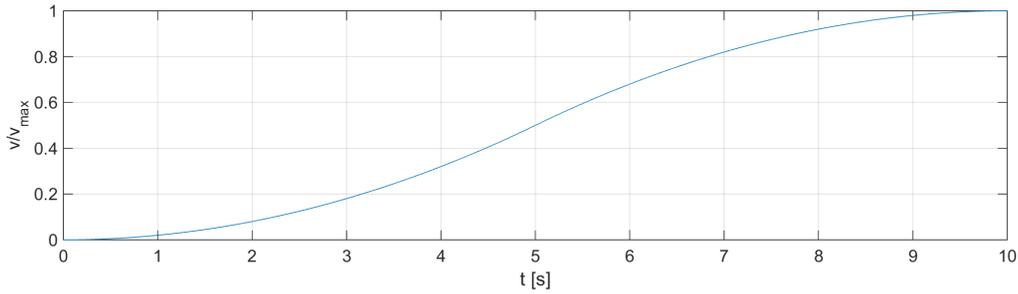
$$\vec{s}(b; \phi) = r(b; \phi) \begin{pmatrix} \cos \phi \\ \sin \phi \end{pmatrix} = \frac{b\phi}{2\pi} \begin{pmatrix} \cos \phi \\ \sin \phi \end{pmatrix}, \quad (3.2)$$

bzw.

$$\vec{s}(b, \vec{m}; \phi) = r(b; \phi) \begin{pmatrix} \cos \phi \\ \sin \phi \end{pmatrix} + \vec{m} = \frac{b\phi}{2\pi} \begin{pmatrix} \cos \phi \\ \sin \phi \end{pmatrix} + \vec{m}, \quad (3.3)$$

wenn der Mittelpunkt  $M$  (mit Ortsvektor  $\vec{m}$ ) nicht im Koordinatenursprung liegt. Bei gegebenem Windungsabstand  $b$  und Mittelpunkt  $M$ , den einzigen Geometrieparametern der Spirale, ist also jeder Punkt eindeutig über den Drehwinkel definiert.

Während des Aufnahmeprozesses soll sich die Fixationsmarke mit einer vorgegebenen Geschwindigkeit  $v$  auf der mittels  $b$  und  $M$  definierten Spiralbahn bewegen. Der für die Aktualisierung der Fixationsmarkenposition (und die Ansteuerung des Displays) zuständige Prozess (s. Abb. 3.1) berechnet dazu kontinuierlich neue Koordinaten  $\vec{s}(b; \phi_i)$  der Fixationsmarke auf der Basis des zuletzt berechneten Punkts  $\vec{s}(b; \phi_{i-1})$  mit dem Drehwinkel  $\phi_{i-1}$  und der seit dessen Berechnung vergangenen Zeit  $\Delta t$ . Das Bogenstück zwischen  $\vec{s}(b; \phi_{i-1})$  und dem neuen Punkt  $\vec{s}(b; \phi_i)$  entlang der Spiralbahn muss folglich eine Länge von  $a = v\Delta t$  aufweisen. Die Länge des



**Abbildung 3.4:** Geschwindigkeitsprofil der Fixationsmarke in der Beschleunigungsphase

gesuchten Bogenstücks errechnet sich zu [68, S. 106, mit S. 94, Gl. (2.211)]

$$a = \frac{b}{4\pi} \left[ \phi \sqrt{\phi^2 + 1} + \ln \left( \phi + \sqrt{\phi^2 + 1} \right) \right]_{\phi_{i-1}}^{\phi_i}, \quad (3.4)$$

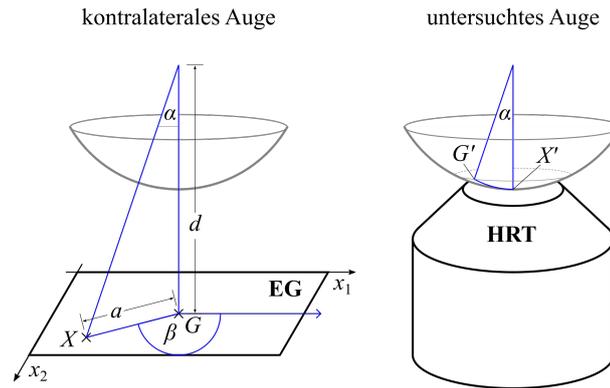
wobei  $\phi_{i-1}$  bekannt und  $\phi_i$  gesucht ist. Da sich die Gleichung nicht nach  $\phi_i$  lösen lässt, muss numerisch approximiert werden. Schließlich lassen sich nach den Gleichungen (3.1) bis (3.3) die Koordinaten des gesuchten Spiralpunkts berechnen.

Die Fixationsmarkengeschwindigkeit  $v$  ist ebenso wie der Spiralabstand  $b$  geeignet vorzugeben, der Mittelpunkt  $M$  ergibt sich (experimentell) als Schnittpunkt der Displayebene mit der optischen Achse der davor angeordneten Optik (s. Abb. 2.1). Um der Forderung nach einer langsamen und gleichmäßigen Änderung des Geschwindigkeitsvektors der Fixationsmarke auch zu Beginn des Aufnahmeprozesses nachzukommen, wird die Fixationsmarke innerhalb der ersten 10 Sekunden aus dem Stillstand im Mittelpunkt zunächst langsam beschleunigt, bis die Zielgeschwindigkeit erreicht wird. Während dieser initialen Beschleunigungsphase folgt  $v$  dem in Abbildung 3.4 dargestellten Geschwindigkeitsprofil. Beide Hälften des Geschwindigkeitsprofils werden durch eine quadratische Gleichung der Zeit berechnet, besitzen also die Form einer Parabel, mit einer Ableitung von 0 zu Beginn und am Ende der Beschleunigung. Der Geschwindigkeitsverlauf der Fixationsmarke ist somit, auch beidseitig über die initiale Beschleunigungsphase hinaus, stetig differenzierbar und unterstützt ideal die eingangs des Abschnitts geforderte Vorhersehbarkeit der Markenbewegung.

### 3.3 Zusammenhänge zwischen den beteiligten Koordinatensystemen

Um die von der HRT-Software online ermittelten Lagekoordinaten der Einzelaufnahmen im Koordinatensystem des ART-Mosaikbildes und die mit den Aufnahmen jeweils korrespondierenden Koordinaten der Fixationsmarke miteinander in Beziehung setzen zu können, muss eine Transformationsvorschrift  $T$  definiert werden. Da sie während der Aufnahmedauer kontinuierlich verifiziert und angepasst werden soll, wird sie als zeitlich veränderlich,  $T(t)$ , modelliert.

Sie wird auf Seiten der EG-Software an zwei Stellen innerhalb des beschriebenen Prozesses benötigt. Zum einen wird der HRT-Software zur Unterstützung der online-Registrierung



**Abbildung 3.5:** Schematische Darstellung der geometrischen Zusammenhänge beim Aufnahmeprozess

der Einzelaufnahmen jeweils eine Prognose der Lagekoordinaten jeder Aufnahme als a priori-Information übermittelt. Dazu wird die Markenposition (im Display-Koordinatensystem)  $\vec{s}_D(t_i)$  zu einem Zeitpunkt  $t_i$  durch Anwendung der aktuell gültigen Transformation  $T(t_i)$  in das Koordinatensystem des Mosaikbildes abgebildet. Die resultierenden Koordinaten  $\vec{s}_M(t_i)$  stellen die Prognose für die Bildposition dar. Zum anderen ist sie für die adaptive Anpassung der Markentrajektorie erforderlich.

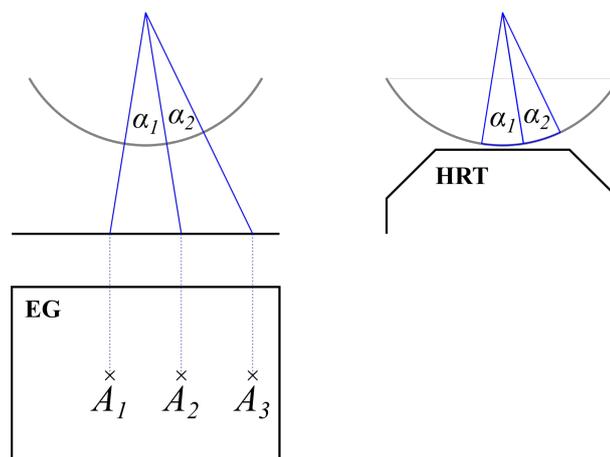
In den folgenden Abschnitten werden zwei verschiedene Modellierungen einer solchen Transformation vorgeschlagen. Das erste Modell wird aus einer (leicht vereinfachten) Analyse der geometrischen Zusammenhänge zwischen Augen, Display und Mikroskop abgeleitet und definiert eine globale, nicht-lineare Koordinatentransformation. Das zweite Modell definiert eine einfacher bestimmbare lineare Transformation, die als lineare Approximation an eine inhärent nicht-lineare Abbildung nur in einer lokalen Umgebung Gültigkeit besitzt, und mithin nicht nur zeitlich variiert, sondern auch von der Position  $\vec{s}_D$  abhängt.

### 3.3.1 Nicht-lineare globale Modellierung der Koordinatentransformation

Abbildung 3.5 stellt die geometrischen Zusammenhänge der Aufnahmesituation schematisch dar. Der rechte Teil zeigt das untersuchte Auge vor dem Mikroskop, während links das kontralaterale Auge mit Blick auf das Display zu sehen ist. Der Winkel  $\alpha$  wird zwischen der optischen Achse (also der Blickrichtung) des kontralateralen Auges und der Normalen der Displayebene gemessen;  $\alpha$  ist somit eng verbunden mit der Radiuskomponente  $r_s$  der Spirale. Mit  $\alpha = 0$  wird ein eindeutiger „Geradeaus-Punkt“  $G$  in der Displayebene markiert.<sup>4</sup> Der korrespondierende Punkt im Mosaikbild, der in der optischen Achse des Mikroskops erfasst wird, wenn das kontralaterale Auge  $G$  fixiert, wird hier mit  $G'$  bezeichnet. Bei paralleler Stellung der Augen ohne Vergenzwinkel und einem zentral auf das untersuchte Auge aufgesetzten Mikroskop fällt  $G'$  mit dem Zentrum der Kornea, dem Apex, zusammen.<sup>5</sup> Der Winkel  $\beta$  beschreibt die Rotationskomponente eines Punktes gegenüber der durch  $G$  verschobenen positiven  $x$ -Achse im Display-Koordinatensystem

<sup>4</sup>Im Idealfall fällt  $G$  mit dem Startpunkt  $M$  der Spirale zusammen, was durch sorgfältige Vorbereitung des Patienten angenähert und begünstigt, aber nicht garantiert werden kann.

<sup>5</sup>Diese Konstellation ist wünschenswert, wird im Folgenden aber nicht vorausgesetzt.



**Abbildung 3.6:** Nichtlinearer Zusammenhang zwischen Display- und Mosaikbildkoordinatensystem

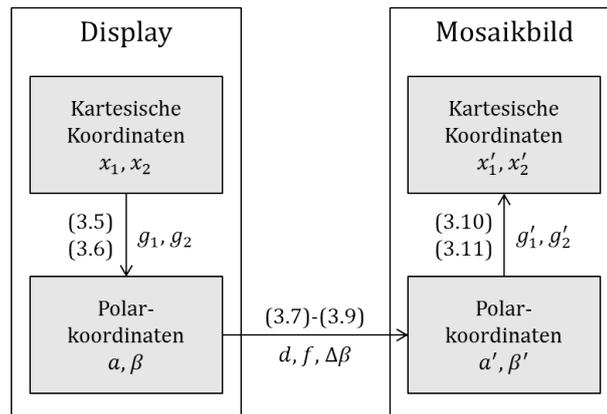
und ist somit eng mit dem Drehwinkel  $\phi$  der Spirale verknüpft. Ist  $G$  mit dem Spiralmittelpunkt  $M$  identisch, dann gilt  $\beta = \phi$ . Analog definiert  $\beta'$  die Rotation eines Punkts gegenüber der positiven  $x$ -Achse im Mosaikbildkoordinatensystem.<sup>6</sup> Des Weiteren bezeichnet schließlich  $d$  den Abstand der Displayebene vom Rotationszentrum des Auges.

Die Nichtlinearität der Transformation zwischen den beiden beteiligten Koordinatensystemen begründet sich aus der Tatsache, dass sich Entfernungen zwischen Punkten im Mosaikbild proportional zu den zu ihrer Messung vollführten Blickwinkeländerungen verhalten, wenn man die (leicht vereinfachende) Annahme zugrunde legt, dass sich die abgebildeten Gewebepunkte auf einer sphärischen Fläche um das Rotationszentrum des Auges befinden. Die gleiche Proportionalität gilt nicht für Punkte auf dem Display: Während die Abstände  $a_1$  zwischen den Punkten  $A_1$  und  $A_2$  und  $a_2$  zwischen  $A_2$  und  $A_3$  in Abbildung 3.6 identisch sind, sind die zugehörigen Winkel  $\alpha_1$  und  $\alpha_2$  und deshalb auch die korrespondierenden Abstände  $a'_1$  und  $a'_2$  im Mosaikbild verschieden.

### Ansatz der Transformation

Seien nun  $(x_1, x_2)^T$  die Koordinaten eines beliebigen Punktes  $X$  der Displayebene und  $(g_1, g_2)^T$  bzw.  $(g'_1, g'_2)^T$  die Koordinaten von  $G$  (bezüglich des Displaykoordinatensystems) bzw.  $G'$  (bezüglich des Mosaikbildkoordinatensystems). Überführt man die Koordinaten von  $X$  in ein Polarkoordinatensystem mit  $G$  als Ursprungspunkt, so ergeben sich nach [68,

<sup>6</sup>Eine Differenz zwischen  $\beta$  und  $\beta'$  weist im Wesentlichen auf eine unterschiedliche Ausrichtung der beiden beteiligten Koordinatensysteme hin. Kleine Abweichungen können sich jedoch auch dadurch ergeben, dass die einander zugeordnete Paare von Fixationsmarkenkoordinaten und Lagekoordinaten der Einzelaufnahmen im Mosaikbild zeitlich nicht exakt miteinander korrespondieren, sondern einen (systematischen) zeitlichen Versatz aufweisen.



**Abbildung 3.7:** Übersicht über die Berechnungsschritte (Pfeile) der nicht-linearen Transformation zwischen Display-Koordinaten und Mosaikbild-Koordinaten; neben den Pfeilen sind die verwendeten Parameter und die relevanten Gleichungen angegeben.

S. 198, Gl. (3.290b) und (3.290c)]

$$a = \sqrt{(x_1 - g_1)^2 + (x_2 - g_2)^2} \tag{3.5}$$

$$\beta = \begin{cases} + \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} & \text{für } x_2 - g_2 \geq 0 \\ - \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} & \text{für } x_2 - g_2 < 0 \\ 0 & \text{für } a = 0 \end{cases} \tag{3.6}$$

als Radial- respektive Winkelkoordinate. Aus  $a$  lässt sich mit dem Wert  $d$  aus Abbildung 3.5 unmittelbar der Blickwinkel

$$\alpha = \arctan \frac{a}{d} \tag{3.7}$$

bestimmen. Die Polarkoordinaten des zu  $X$  korrespondierenden Punkts  $X'$  im Mosaikbild, auch hier mit  $G'$  als Ursprungspunkt, ergeben sich zu

$$a' = f\alpha \tag{3.8}$$

$$\beta' = \beta + \Delta\beta \tag{3.9}$$

mit einem Proportionalitätsfaktor  $f$  und einem Differenzwinkel  $\Delta\beta$ . Durch Rücküberführung in kartesische Koordinaten erhält man schließlich

$$x'_1 = a' \cos \beta' + g'_1 \tag{3.10}$$

$$x'_2 = a' \sin \beta' + g'_2. \tag{3.11}$$

Die durch die Gleichungen (3.5) bis (3.11) definierte Koordinatentransformation lässt sich ohne Weiteres invertieren. Abbildung 3.7 fasst den Prozess nochmals zusammen.

Die Transformation  $T$  wird durch den Parametervektor

$$\vec{p} = \begin{pmatrix} g_1 \\ g_2 \\ g'_1 \\ g'_2 \\ d \\ \Delta\beta \\ f \end{pmatrix} \quad (3.12)$$

eindeutig definiert und lässt sich daher mit  $\vec{x} = (x_1, x_2)^T$  und  $\vec{x}' = (x'_1, x'_2)^T$  als

$$T(\vec{p}; \vec{x}) = \vec{x}' \quad (3.13)$$

schreiben.

### Geschlossene Darstellung der Transformation

Es sei nun ein Parametervektor  $\vec{p}$  aus Gleichung (3.12) gegeben und  $a > 0$ . Dann gilt gemäß den Gleichungen (3.10) und (3.11) mithilfe der Gleichungen (3.9) und (3.6)<sup>7</sup>

$$x'_1 - g'_1 = a' \cos \beta' \stackrel{(3.9)}{=} a' \cos(\beta + \Delta\beta) \stackrel{(3.6)}{=} a' \cos\left(\pm \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} + \Delta\beta\right) \quad (3.14)$$

$$x'_2 - g'_2 = a' \sin \beta' \stackrel{(3.9)}{=} a' \sin(\beta + \Delta\beta) \stackrel{(3.6)}{=} a' \sin\left(\pm \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} + \Delta\beta\right). \quad (3.15)$$

Zugunsten der Übersichtlichkeit wird hier die Fallunterscheidung aus Gleichung (3.6) nicht ausgeschrieben, sondern durch das bedingte Vorzeichen  $\pm$  vor dem arccos impliziert. Bei den obigen und den folgenden Gleichungen gilt immer das oben stehende Vorzeichen für den Fall  $x_2 - g_2 \geq 0$  und entsprechend das untere für den Fall  $x_2 - g_2 < 0$ .

Für die trigonometrischen Funktionen gelten die Additionstheoreme [68, S. 81, Gl. (2.90) und (2.91)]

$$\sin(\omega_1 \pm \omega_2) = \sin \omega_1 \cos \omega_2 \pm \cos \omega_1 \sin \omega_2 \quad (3.16)$$

$$\cos(\omega_1 \pm \omega_2) = \cos \omega_1 \cos \omega_2 \mp \sin \omega_1 \sin \omega_2, \quad (3.17)$$

und Symmetrien [68, S. 80, Gl. (2.76) und (2.77)]

$$\sin(-\omega) = -\sin \omega \quad (3.18)$$

$$\cos(-\omega) = \cos \omega, \quad (3.19)$$

---

<sup>7</sup>Die in der folgenden Gleichung verwendete Notation mit Gleichungsnummer über einem Gleichheitszeichen dient dem Verweis auf die für eine Umformung eingesetzte Gleichung.

sowie die Beziehung [68, S. 87, Gl. (2.146)]<sup>8</sup>

$$\arccos w = \begin{cases} \pi - \arcsin \sqrt{1 - w^2} & \text{für } -1 \leq w < 0 \\ \arcsin \sqrt{1 - w^2} & \text{für } 0 \leq w \leq 1. \end{cases} \quad (3.20)$$

Aus der letzteren Beziehung lässt sich für  $-1 \leq w < 0$  mit Gleichung (3.16)

$$\begin{aligned} \sin \arccos w &= \sin \left( \pi - \arcsin \sqrt{1 - w^2} \right) \\ &= \sin \pi \cos \arcsin \sqrt{1 - w^2} - \cos \pi \sin \arcsin \sqrt{1 - w^2} \\ &= \sin \arcsin \sqrt{1 - w^2} = \sqrt{1 - w^2}, \end{aligned} \quad (3.21)$$

sowie für  $0 \leq w \leq 1$  unmittelbar ebenfalls

$$\sin \arccos w = \sin \arcsin \sqrt{1 - w^2} = \sqrt{1 - w^2} \quad (3.22)$$

ableiten. Mit den Gleichungen (3.16) bis (3.22) lässt sich Gleichung (3.14) weiter nach

$$\begin{aligned} x'_1 - g'_1 &= a' \left( \cos \left( \pm \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} \right) \cos \Delta\beta - \sin \left( \pm \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} \right) \sin \Delta\beta \right) \\ &= a' \left( \cos \left( \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} \right) \cos \Delta\beta \mp \sin \left( \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} \right) \sin \Delta\beta \right) \\ &= a' \left( \frac{x_1 - g_1}{a} \cos \Delta\beta \mp \sqrt{1 - \left( \frac{x_1 - g_1}{a} \right)^2} \sin \Delta\beta \right) \\ &= a' \left( \frac{x_1 - g_1}{a} \cos \Delta\beta \mp \frac{1}{a} \sqrt{a^2 - (x_1 - g_1)^2} \sin \Delta\beta \right) \\ &= \frac{a'}{a} \left( (x_1 - g_1) \cos \Delta\beta \mp \sqrt{a^2 - (x_1 - g_1)^2} \sin \Delta\beta \right) \end{aligned} \quad (3.23)$$

und mit  $a^2 = (x_1 - g_1)^2 + (x_2 - g_2)^2$  gemäß Gleichung (3.5) weiter nach

$$\begin{aligned} x'_1 - g'_1 &= \frac{a'}{a} \left( (x_1 - g_1) \cos \Delta\beta \mp \sqrt{(x_2 - g_2)^2} \sin \Delta\beta \right) \\ &= \frac{a'}{a} \left( (x_1 - g_1) \cos \Delta\beta \mp |x_2 - g_2| \sin \Delta\beta \right) \\ &= \frac{a'}{a} \left( (x_1 - g_1) \cos \Delta\beta - (x_2 - g_2) \sin \Delta\beta \right) \end{aligned} \quad (3.24)$$

umformen. Für den letzten Schritt sei daran erinnert, dass das (oben stehende) negative Vorzeichen vor  $|x_2 - g_2|$  für den Fall  $x_2 - g_2 \geq 0$  und das (unten stehende) positive Vorzeichen für

<sup>8</sup>In der angegebenen Literaturstelle wird die untere Grenze für den ersten Fall fälschlicherweise mit  $\pi - 1$  statt  $-1$  angegeben; der Fehler ist hier korrigiert.

den Fall  $x_2 - g_2 < 0$  gilt. Ganz analog ergibt sich aus Gleichung (3.15)

$$\begin{aligned}
x'_2 - g'_2 &= a' \left( \sin \left( \pm \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} \right) \cos \Delta\beta + \cos \left( \pm \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} \right) \sin \Delta\beta \right) \\
&= a' \left( \pm \sin \left( \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} \right) \cos \Delta\beta + \cos \left( \arccos \frac{x_1 - g_1}{a} \right) \sin \Delta\beta \right) \\
&= a' \left( \pm \sqrt{1 - \left( \frac{x_1 - g_1}{a} \right)^2} \cos \Delta\beta + \frac{x_1 - g_1}{a} \sin \Delta\beta \right) \\
&= a' \left( \pm \frac{1}{a} \sqrt{a^2 - (x_1 - g_1)^2} \cos \Delta\beta + \frac{x_1 - g_1}{a} \sin \Delta\beta \right) \\
&= \frac{a'}{a} \left( \pm \sqrt{a^2 - (x_1 - g_1)^2} \cos \Delta\beta + (x_1 - g_1) \sin \Delta\beta \right)
\end{aligned} \tag{3.25}$$

und wiederum mit Gleichung (3.5)

$$\begin{aligned}
x'_2 - g'_2 &= \frac{a'}{a} \left( \pm \sqrt{(x_2 - g_2)^2} \cos \Delta\beta + (x_1 - g_1) \sin \Delta\beta \right) \\
&= \frac{a'}{a} \left( \pm |x_2 - g_2| \cos \Delta\beta + (x_1 - g_1) \sin \Delta\beta \right) \\
&= \frac{a'}{a} \left( (x_2 - g_2) \cos \Delta\beta + (x_1 - g_1) \sin \Delta\beta \right).
\end{aligned} \tag{3.26}$$

Durch Überführen in Vektor/Matrix-Notation erhält man aus den Gleichungen (3.24) und (3.26) schließlich

$$\vec{x}' - \vec{g}' = \frac{a'}{a} \begin{pmatrix} \cos \Delta\beta & -\sin \Delta\beta \\ \sin \Delta\beta & \cos \Delta\beta \end{pmatrix} (\vec{x} - \vec{g}) = s_{d,f}(a) R_{\Delta\beta} (\vec{x} - \vec{g}). \tag{3.27}$$

Die Matrix

$$R_{\Delta\beta} = \begin{pmatrix} \cos \Delta\beta & -\sin \Delta\beta \\ \sin \Delta\beta & \cos \Delta\beta \end{pmatrix} \tag{3.28}$$

beschreibt eine Rotation des Vektors  $\vec{x} - \vec{g}$  um den Winkel  $\Delta\beta$ . Die Nichtlinearität der Transformation wird durch den Skalierungsfaktor

$$s_{d,f}(a) = \frac{a'}{a} \stackrel{(3.8)}{=} \frac{f}{a} \alpha \stackrel{(3.7)}{=} \frac{f}{a} \arctan \frac{a}{d} \tag{3.29}$$

verursacht, der von  $a$  (und damit von der Lage von  $X$ ) abhängig und folglich nicht konstant ist.

### Bestimmung des Parametervektors

Da der Parametervektor  $\vec{p}$  a priori nicht bekannt ist, muss er während des laufenden Aufnahmeprinzesses aus akquirierten Daten — d.h. aus einer Menge von Paaren korrespondierender Punkte  $(X_i, X'_i)$  — ermittelt werden. Dazu wird eine Minimierung der Fehlerquadratsumme der

über alle erfassten Daten auftretenden Fehler bezüglich Gleichung (3.13)

$$E(\vec{p}; X_i, X'_i) = T(\vec{p}; \vec{x}_i) - \vec{x}'_i \quad (3.30)$$

angesetzt, sodass sich die Schätzung  $\hat{\vec{p}}$  der Transformationsparameter als

$$\hat{\vec{p}} = \arg \min_{\vec{p}} \sum_i E(\vec{p}; X_i, X'_i)^2 \quad (3.31)$$

ergibt. Für die Aufgabe der Minimierung der Fehlerquadratsumme existieren eine Reihe von wohlbekannten Lösungsverfahren, wie sie etwa bei Nocedal et al. beschrieben sind. [69, S. 245–269]. In der vorliegenden Aufgabe mit nicht-linearer Funktion  $T$  eignet sich der *Levenberg-Marquardt*-Ansatz [69, S. 258–262] zur Bestimmung des optimalen Parametervektors  $\hat{\vec{p}}$ .

### 3.3.2 Lineare lokale Modellierung der Koordinatentransformation

Obgleich die in Abschnitt 3.3.1 ermittelte Transformation  $T$  nicht linear ist, weist sie eine relativ einfache Struktur auf, die eine lokale lineare Approximation begünstigt. Tatsächlich lässt sich leicht zeigen, dass sie sich auf kreisförmigen Punktmengen des Displaykoordinatensystems mit dem Zentrum  $G$  exakt linear verhält.

#### Betrachtungen zum Verhalten des Skalierungsfaktors

Da die Radialkoordinate  $a$  nach Gleichung (3.5) der Polardarstellung eines Punktes  $X$  den Abstand von  $G$  angibt, enthält eine solche kreisförmige Punktmenge  $K_a$  mit festem  $a$  genau alle Punkte  $X$ , die Gleichung (3.5) erfüllen. Es sei daher nun neben einem Parametervektor  $\vec{p}$  aus Gleichung (3.12) ein Radius  $a > 0$  gegeben. Mit konstantem  $a$  nimmt nach Gleichung (3.29) der Skalierungsfaktor  $s_{d,f}(a)$  ebenfalls einen konstanten Wert

$$c_{a,d,f} = s_{d,f}(a) = \text{const} \quad (3.32)$$

an und es gilt nach Gleichung (3.27) für alle Punkte  $X \in K_a$  die lineare Beziehung

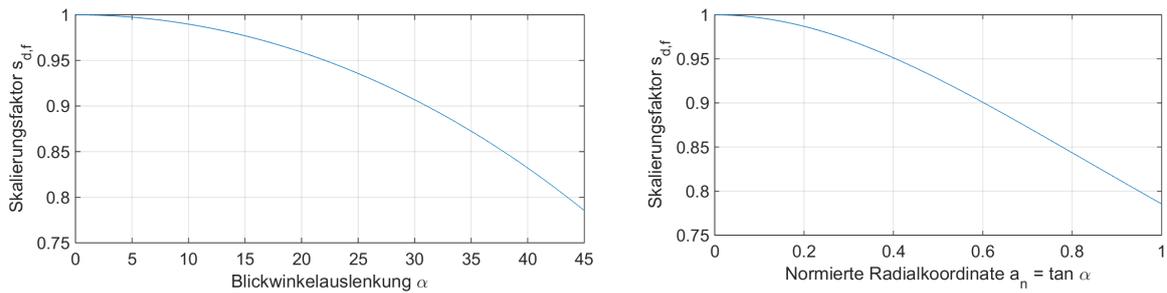
$$\vec{x}' - \vec{g}' = c_{a,d,f} R_{\Delta\beta}(\vec{x} - \vec{g}) \quad (3.33)$$

zwischen  $\vec{x}$  und  $\vec{x}'$ .

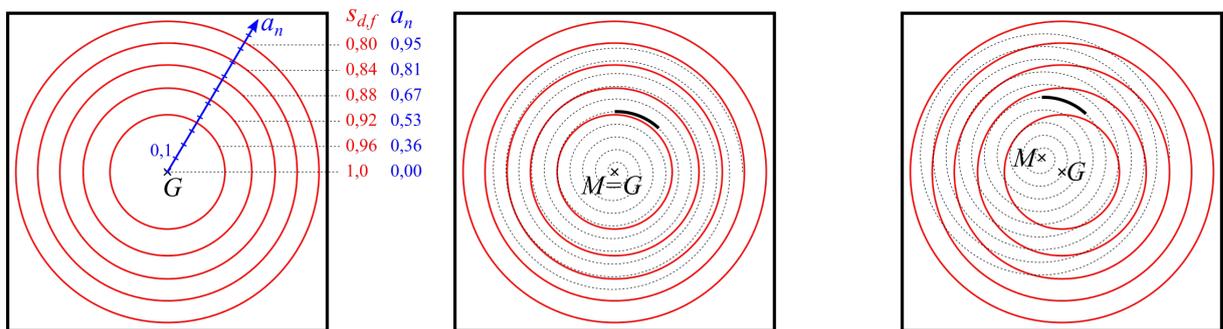
Das Verhalten der Transformation in der dazu senkrechten, bezüglich  $G$  radialen Richtung wird durch den Streckfaktor  $s_{d,f}$  beschrieben, der sich nach Gleichung (3.29) mit der Radialkoordinate  $a$  verändert. Statt durch  $a$  lässt er sich mit  $a_n = \frac{a}{d} = \tan \alpha$  (gemäß Abb. 3.5 und Gleichung (3.7)) auch als

$$s_{d,f}(a_n) = \frac{f}{d} \frac{\arctan a_n}{a_n} \text{ bzw.} \quad (3.34)$$

$$s_{d,f}(\alpha) = \frac{f}{d} \frac{\alpha}{\tan \alpha} \quad (3.35)$$



**Abbildung 3.8:** Abhängigkeit des Skalierungsfaktors  $s_{d,f}$  von der Auslenkung  $\alpha$  der Blickrichtung gemäß Gleichung (3.34) (links) bzw. deren Tangens gemäß Gleichung (3.35) (rechts) im Bereich zwischen  $0^\circ$  und  $45^\circ$ .



**Abbildung 3.9:** Der Streckfaktor  $s_{d,f}$  der Transformation  $T$  ist entlang konzentrischer Kreise konstant und  $T$  auf diesen Punkt Mengen linear (links; die angegebenen Werte von  $s_{d,f}$  sind normiert bezüglich des Streckfaktors am „Geradeaus-Punkt“  $G$ ). Darstellung der Spiraltrajektorie für die Fälle  $M = G$  (Mitte) und  $M \neq G$  (rechts).

durch die auf  $d$  normierte Radialkomponente  $a_n$  oder unmittelbar durch die Blickwinkelauslenkung  $\alpha$  beschreiben. Diese Darstellung besitzt den Vorteil, dass der Term in zwei Faktoren zerfällt, von denen der eine nur von den Parametern  $f$  und  $d$  und der andere nur von den variablen Größen  $\alpha$  bzw.  $a_n$  abhängt. Für Winkel zwischen  $0^\circ$  und  $45^\circ$ <sup>9</sup> ergibt sich die in Abbildung 3.8 dargestellte Abhängigkeit des Streckfaktors. Die vertikale Achse ist jeweils auf den Wert 1 normiert, da deren absolute Skalierung vom Wert von  $\frac{f}{d}$  abhängt; auf die Form des Graphen hat der Wert indes keine Auswirkung. In der unmittelbaren Umgebung des Punkts  $G$  verhält sich die Transformation  $T$  mit annähernd konstantem  $s_{d,f}$  nahezu linear, mit wachsender Entfernung von  $G$  nehmen die nicht-linearen Einflüsse zu.

Abbildung 3.9 zeigt links die betrachtete Variation des Skalierungsfaktors  $s_{d,f}$  im Displaykoordinatensystem. Anhand einer in die Darstellung projizierten spiralförmigen Trajektorie (s. Abb. 3.9 Mitte und rechts) wird deutlich, dass kurze Abschnitte der Trajektorie in der Regel nur einen sehr engen Wertebereich von  $s_{d,f}$  überdecken und der Fehler bei der Annahme eines mittleren, konstanten Skalierungsfaktors — und damit einer linearen Transformation — für den gewählten Trajektorienabschnitt entsprechend klein ausfällt. Es ist zu beachten, dass der von einem Spiralabschnitt gegebener Länge überdeckte Bereich auch von der Lage der Spira-

<sup>9</sup>Dieser Bereich entspricht etwa dem maximalen physiologischen Bewegungsumfang des menschlichen Auges [70]. Die durch das EG-System induzierten Blickwinkel sind hingegen auf etwa  $20^\circ$  begrenzt.

le bezüglich des Punkts  $G$  abhängt. Mit zunehmender Entfernung des Spiralmittelpunkts  $M$  von  $G$  (vgl. Abb. 3.9 rechts) ist grundsätzlich mit einem größeren überdeckten Wertebereich zu rechnen, als wenn beide Punkte zusammenfallen (vgl. Abb. 3.9 Mitte).

### Ansatz einer (lokalen) linearen Koordinatentransformation

Der Ansatz einer linearen Koordinatentransformation erfolgt aus Gleichung (3.27), indem der variable Streckfaktor  $s_{d,f}$  durch die Konstante  $s$  ersetzt wird. Daraus ergibt sich die lineare Beziehung

$$\vec{x}' - \vec{g}' = s \begin{pmatrix} \cos \Delta\beta & -\sin \Delta\beta \\ \sin \Delta\beta & \cos \Delta\beta \end{pmatrix} (\vec{x} - \vec{g}), \quad (3.36)$$

die sich weiter zu

$$\begin{aligned} \vec{x}' &= \begin{pmatrix} s \cos \Delta\beta & -s \sin \Delta\beta \\ s \sin \Delta\beta & s \cos \Delta\beta \end{pmatrix} (\vec{x} - \vec{g}) + \vec{g}' \\ &= \begin{pmatrix} s \cos \Delta\beta & -s \sin \Delta\beta \\ s \sin \Delta\beta & s \cos \Delta\beta \end{pmatrix} \vec{x} - \begin{pmatrix} s \cos \Delta\beta & -s \sin \Delta\beta \\ s \sin \Delta\beta & s \cos \Delta\beta \end{pmatrix} \vec{g} + \vec{g}' \end{aligned} \quad (3.37)$$

umformen lässt. Substitution der jeweils konstanten Terme

$$\begin{aligned} c_1 &= s \cos \Delta\beta, \\ c_2 &= s \sin \Delta\beta \end{aligned} \quad (3.38)$$

und

$$\vec{v} = \vec{g}' - \begin{pmatrix} s \cos \Delta\beta & -s \sin \Delta\beta \\ s \sin \Delta\beta & s \cos \Delta\beta \end{pmatrix} \vec{g} \quad (3.39)$$

führt auf

$$\vec{x}' = \begin{pmatrix} c_1 & -c_2 \\ c_2 & c_1 \end{pmatrix} \vec{x} + \vec{v}. \quad (3.40)$$

bzw. die zwei Gleichungen

$$x'_1 = c_1 x_1 - c_2 x_2 + v_1 \quad (3.41)$$

$$x'_2 = c_2 x_1 + c_1 x_2 + v_2. \quad (3.42)$$

Durch Umstellen und Umgruppieren der Terme in den Gleichungen (3.41) und (3.42) ergibt sich schließlich (wieder in Matrixnotation)

$$\begin{pmatrix} x_1 & -x_2 & 1 & 0 \\ x_2 & x_1 & 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} c_1 \\ c_2 \\ v_1 \\ v_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x'_1 \\ x'_2 \end{pmatrix}. \quad (3.43)$$

Die linearen Transformationsparameter  $c_1$ ,  $c_2$ ,  $v_1$  und  $v_2$  werden in einem Parametervektor

$$\vec{q} = \begin{pmatrix} c_1 \\ c_2 \\ v_1 \\ v_2 \end{pmatrix} \quad (3.44)$$

zusammengefasst, wodurch in der zu Gleichung (3.13) analogen Notation die lineare Transformation

$$T(\vec{q}; \vec{x}) = \vec{x}' \quad (3.45)$$

unmittelbar nach Gleichung (3.40) definiert wird.

### Bestimmung der Transformationsparameter

Sei nun  $t_k$  ein Zeitpunkt während des Aufnahmeprozesses, zu dem bereits  $k > 0$  Einzelaufnahmen akquiriert wurden. Seien weiterhin  $X'_i$  (mit  $i = 1 \dots k$ ) die ermittelten Bildpositionen und  $X_i$  die dazu korrespondierenden Fixationsmarkenkoordinaten in den jeweiligen Koordinatensystemen. Die Bestimmung der Transformationsparameter  $\vec{q}_k$  für eine lokal approximierte, lineare Transformation  $T_k$  zum Zeitpunkt  $t_k$  erfolgt auf der Basis der zuletzt erfassten  $n$  Punktpaare  $(X_j, X'_j)$  (mit  $k - n < j \leq k$  und  $2 \ll n \leq k$ ). Durch Anwendung der Gleichung (3.43) auf alle  $(X_j, X'_j)$  ergibt sich das überbestimmte lineare Gleichungssystem

$$\begin{pmatrix} x_{k-n+1,1} & -x_{k-n+1,2} & 1 & 0 \\ x_{k-n+1,2} & x_{k-n+1,1} & 0 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ x_{j,1} & -x_{j,2} & 1 & 0 \\ x_{j,2} & x_{j,1} & 0 & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ x_{k,1} & -x_{k,2} & 1 & 0 \\ x_{k,2} & x_{k,1} & 0 & 1 \end{pmatrix} \vec{q}_k = \begin{pmatrix} x'_{k-n+1,1} \\ x'_{k-n+1,2} \\ \vdots \\ x'_{j,1} \\ x'_{j,2} \\ \vdots \\ x'_{k,1} \\ x'_{k,2} \end{pmatrix}, \quad (3.46)$$

das mittels eines linearen kleinste-Fehlerquadrate-Ansatzes nach  $\vec{q}_k$  gelöst werden kann [71, S. 249–263]. Die Kenntnis der Parameter  $\vec{g}$ ,  $\vec{g}'$ ,  $s$  und  $\Delta\beta$  aus Gleichung (3.36) ist für die

Anwendung der Transformation nicht erforderlich. Sie können aber bei Bedarf teilweise aus  $\vec{q}_k$  ermittelt werden. Über die Beziehung

$$c_1^2 + c_2^2 \stackrel{(3.38)}{=} (s \cos \Delta\beta)^2 + (s \sin \Delta\beta)^2 = s^2 \left( (\cos \Delta\beta)^2 + (\sin \Delta\beta)^2 \right) = s^2 \quad (3.47)$$

lassen sich  $s$  und  $\Delta\beta$  zu

$$s = \sqrt{c_1^2 + c_2^2} \quad (3.48)$$

$$\Delta\beta = \begin{cases} \arccos \frac{c_1}{s} & \text{für } c_2 \geq 0 \\ \pi + \arccos \frac{c_1}{s} & \text{für } c_2 < 0 \end{cases} \quad (3.49)$$

aus  $c_1$  und  $c_2$  ableiten. Die Punkte  $\vec{g}$  und  $\vec{g}'$  lassen sich im Fall der linearen Transformation nicht eindeutig bestimmen. Wird einer von beiden vorgegeben (z.B. auf die Koordinaten  $(0, 0)^T$ ), dann ergibt sich der andere unmittelbar durch Gleichung (3.39).

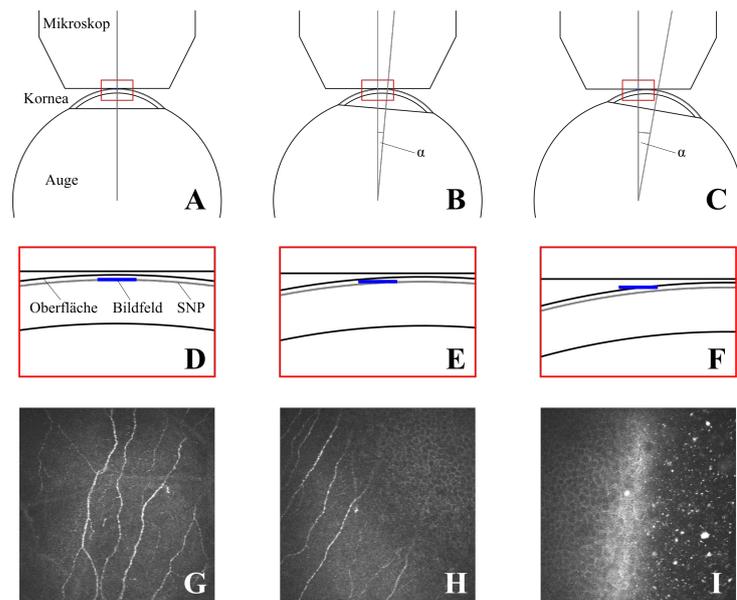
### 3.4 Ansätze zur adaptiven Anpassung der Fixationsmarkenbahn

Wie in der Beschreibung des Aufnahmevorgangs in Kapitel 2 dargestellt, soll durch eine über die online-Auswertung der Aufnahmepositionen rückgekoppelte Anpassung der vorprogrammierten Spiralbahn der Fixationsmarke eine lückenlose Erfassung eines (ausreichend großen) Areals des zentralen SNP bei gleichzeitig möglichst kurzer Aufnahmedauer erreicht werden.

#### 3.4.1 Vorbetrachtungen

Die direkte Regelung der Fixationsmarkentrajektorie, um den Verlauf der Aufnahmepositionen exakt auf einer ideal dimensionierten Spiralbahn zu halten, ist aus mehreren Gründen nicht realisierbar. Zum einen besitzt der menschliche Sehapparat — bezogen auf die Bildgewinnung mit 30 Aufnahmen pro Sekunde — mit bis zu 300 ms eine relativ lange Reaktionszeit [65; 66]. Eine Abweichung der Fixationsmarkenbewegung von der antizipierten Richtung führt eine Unterbrechung der langsamen Augenfolgebewegungen durch (oft mehrere aufeinanderfolgende) Aufhol- und Korrektursakkaden nach sich [72], die wiederum die Bildgewinnung und Auswertung der Aufnahmen stark beeinträchtigen. Viel entscheidender ist aber die Fähigkeit und Bereitschaft des Patienten, der Fixationsmarke kontinuierlich zu folgen, die hier als *Komplianz* bezeichnet werden soll.<sup>10</sup> Bei guter Komplianz ist nämlich ohnehin davon auszugehen, dass die Augenbewegungen der Fixationsmarke prinzipiell kontinuierlich folgen, unterbrochen höchstens durch kurzzeitige Abweichungen (z.B. aufgrund von Lidschlussreflex, Reizen in der Umgebung, u.Ä.), die keiner Korrektur zur Wiederherstellung der Soll-Trajektorie bedürfen. Bei schlechter Kom-

<sup>10</sup>In der Regel wird der Begriff der Komplianz (oft wird auch im Deutschen der englische Begriff *Compliance* verwendet) nur im Kontext der Therapie gebraucht und meint dort die Bereitschaft des Patienten, einen Therapieplan einzuhalten.



**Abbildung 3.10:** Idealierte Darstellung der geometrischen Anordnung des Mikroskops relativ zum untersuchten Auge (angepasst aus [74]). (A-C) Da der (gedachte) Mittelpunkt der sphärisch gekrümmten Korneaoberfläche nicht mit dem Rotationszentrum des Augapfels identisch ist, weicht die Fokusebene mit zunehmendem Blickwinkel  $\alpha$  von der abzubildenden Gewebeschicht ab. (D-F) Vergrößerte Abbildung der umrandeten Bereiche in A-C. (G-I) Exemplarische Einzelaufnahmen zu den Situationen A-C.

plianz hingegen ist der Einfluss von Korrekturen der Bahntrajektorie auf das Regelungsziel stark eingeschränkt und nicht erfassbar.

Neben kurzzeitigen Divergenzen zwischen Blickrichtung und Fixationsmarkenbahn kann es gelegentlich auch zu vorübergehendem Abweichen der erfassten Fokusebene des Mikroskops von der Gewebeschicht des SNP kommen. Ursächlich dafür kann einerseits ein kurzzeitiger Kontaktverlust zwischen Mikroskop und Auge sein, z.B. bei zu geringem Anpressdruck<sup>11</sup> oder bei Bewegung des Kopfes. Solche Ursachen sollten bereits bei der Vorbereitung und Initiierung des Aufnahmevorgangs weitestgehend ausgeschlossen werden.

Ein vorübergehendes Abweichen der Fokusebene von der SNP-Gewebeschicht kann andererseits auch dadurch bedingt sein, dass der Krümmungsmittelpunkt der annähernd sphärischen Korneaoberfläche nicht mit dem Rotationszentrum des Auges übereinstimmt und der SNP, wie in Abbildung 3.10 dargestellt, sich teilweise oder komplett aus der Fokusebene des Mikroskops „herausbewegt“. Diese Situation tritt unweigerlich ab einem (hier nicht näher bestimmten) Grenzwinkel  $\alpha_{max}$  der Augenauslenkung ein [74] und definiert somit gleichzeitig eine Obergrenze für die in einem kontinuierlichen Aufnahmevorgang (ohne Bewegung des Kopfes oder des Mikroskops) überhaupt erfassbare Fläche. Bei idealem Aufsetzen des Mikroskops auf dem kornealen Apex und gleichzeitiger Fixierung des Spiralmittelpunkts  $M$  im „Geradeaus-Punkt“  $G$  (s. Abschnitt

<sup>11</sup>Die Verwendung des Begriffs „Anpressdruck“ darf hier nicht missverstanden werden. In der Tat soll die Kraft, mit der das Mikroskop auf die (betäubte) Augenoberfläche drückt, möglichst gering sein, um Gewebedeformationen im Bereich des SNP [18; 73] zu minimieren und Beeinträchtigungen des Oberflächengewebes zu vermeiden. Sie muss jedoch ausreichend groß sein, um einen durchgehenden Kontakt zwischen Mikroskop und Augenoberfläche sicherzustellen, sodass die Fokusebene grundsätzlich in der gewünschten Gewebeschicht verweilt und nicht beispielsweise mit dem Puls oder der Atmung variiert.

3.3) mit dem kontralateralen Auge geschieht das auf allen Seiten des akquirierten Bereichs etwa synchron [74]. In der praktischen Anwendung muss damit gerechnet werden, dass nicht alle Voraussetzungen für diese Idealsituation erfüllt sind, und dass der Rand des erfassbaren Gewebeareals zunächst einseitig erreicht wird, während auf der gegenüberliegenden Seite noch eine Erweiterung der erfassten Fläche zu erwarten ist.

Die nachfolgend dargelegten Ansätze zur rückgekoppelten Anpassung der Fixationsmarkenbahn sollen die beschriebenen Situationen adressieren, um das eingangs erwähnte Ziel der lückenlosen Erfassung des gewünschten Gewebeareals in kurzer Aufnahmedauer zu erreichen. In allen geschilderten Fällen kann davon ausgegangen werden, dass Aufnahmen, die nicht dem SNP zuzuordnen sind, nicht registriert werden können und durch ein nicht gesetztes Valid-Flag in der zugehörigen Netzwerk-Nachricht gekennzeichnet sind.

Da aus den oben genannten Gründen eine unmittelbare Regelung der Markentrajektorie nicht in Betracht kommt und ohnehin die grundlegende Form der Markenbahn unverändert bleiben soll, damit sie für den Patienten zu jedem Zeitpunkt vorhersehbar ist, werden in jedem Fall nur relativ einfache Anpassungen der Spiralparameter vorgenommen.

### 3.4.2 Adaptive Anpassung der Spiralgeometrie

Im Folgenden werden zwei (einzeln oder kombiniert anwendbare) Adaptionsansätze vorgeschlagen. Der erste sorgt für eine vorübergehend konstant gehaltene Radialkoordinate der Fixationsmarke, der andere verlagert langsam den Spiralmittelpunkt (und in der Folge die gesamte Spirale). Für die Vorgabe eines Zielpunkts der Mittelpunktverlagerung werden weiterhin drei Ansätze beschrieben. Alle vorgeschlagenen Anpassungen sind so ausgelegt, dass sie von der untersuchten Person in der Regel überhaupt nicht als Veränderung wahrgenommen werden.

#### **Ansatz 1 – Bedingtes Einfrieren der Radialkomponente**

Hierbei wird das Valid-Flag in der nach jeder Bildregistrierung versendeten TRAF0-Nachricht (vgl. Abschnitt 3.1) ausgewertet und nach einer nicht erfolgreichen Registrierung die ansonsten streng monoton wachsende Radialkomponente der Markenkoordinaten in Polardarstellung sofort eingefroren. Erst nach der nächsten Nachricht einer erfolgreichen Bildregistrierung wird sie wieder für das spiralförmige Wachstum nach Gleichung (3.1) freigegeben. Effektiv wird die Fixationsmarke durch das Einfrieren der Radialkomponente auf eine Kreisbahn gezwungen. Diese Maßnahme soll unterbinden, dass bei Nicht-Registrierung (vor allem über größere Winkelbereiche hinweg) die Radialkomponente über die Grenzen des bereits erfassten Areal anwächst und eine Registrierung künftiger Einzelaufnahmen dadurch effektiv ausschließt.

#### **Ansatz 2a – Globaler Schwerpunkt als Attraktor für den Mittelpunkt**

Die Idee dieses Ansatzes besteht darin, den Mittelpunkt der als annähernd spiralförmig angenommenen Trajektorie der Bildpositionen im Mosaikbildkoordinatensystem in Richtung auf den Schwerpunkt des insgesamt erfassten Bereichs zu verlagern, da nur dann der abgebildete Gewebereich in alle Richtungen gleichmäßig erweitert werden kann. Praktisch wird dazu zu

jedem Zeitpunkt  $t_k$  für die Menge  $M_k = \{X'_i \mid 1 \leq i \leq k, X'_i \text{ existiert}\}$ <sup>12</sup> der bisher erfassten Bildpositionen  $X'_i$  und mit  $|M_k|$  der Anzahl ihrer Elemente der Schwerpunkt

$$S'_k = \frac{1}{|M_k|} \sum_{X'_i \in M_k} X'_i \quad (3.50)$$

bestimmt. Mittels der aktuell gültigen inversen Transformation  $T_k^{-1}$  wird der dazu korrespondierende Punkt  $S_k = T_k^{-1}(S'_k)$  im Displaykoordinatensystem berechnet und als Ziel einer langsamen Verlagerung des Spiralmittelpunkts festgelegt. Die Geschwindigkeit dieser — der spiralförmigen Bewegung der Fixationsmarke additiv überlagerten — Translation muss offensichtlich (deutlich) unterhalb der Fixationsmarkengeschwindigkeit  $v$  angesetzt werden, um die Spiralförmigkeit der Trajektorie für den Patienten nicht störend zu beeinträchtigen.<sup>13</sup>

### **Ansatz 2b – Schwerpunkt der zurückliegenden Umrundung als Attraktor für den Mittelpunkt**

Dieser Ansatz ist dem Ansatz 2a sehr ähnlich, das Ziel der Verlagerungsbewegung des Spiralmittelpunkts wird aber stets nur aus den Punkten der zurückliegenden Spiralwindung errechnet. Durch die Berücksichtigung lediglich einer begrenzten Historie der Bildpositionen wird eine schnellere Reaktion auf eine Schwerpunktverlagerung erzielt als bei Ansatz 2a, bei welchem stets die gesamte zurückliegende Historie in die Schwerpunktberechnung eingeht. Dazu sei  $M_{k,-1} = \{X'_i \mid X'_i \in M_k, \phi_k - 2\pi < \phi_i \leq \phi_k\}$  die Menge der dabei betrachteten Bildpositionen, mit  $\phi_i$  als (nicht Modulo  $2\pi$  gerechneter sondern streng monoton ansteigender) Winkelkoordinate der Fixationsmarkenposition  $X_i$ . Mit  $M_{k,-1}$  anstelle von  $M_k$  ergeben sich die weiteren Berechnungen ganz analog zum Ansatz 2a.

### **Ansatz 2c – Verlagerung des Mittelpunkts entlang des Gradienten der Schwerpunkttrajektorie**

Im Gegensatz zum vorigen Ansatz wird hierbei das Ziel der Mittelpunktverlagerung nicht durch die absolute Position des Schwerpunkts aus der letzten Spiralwindung vorgegeben, sondern durch dessen Veränderung bezüglich der vorletzten Spiralwindung. Dazu werden neben  $M_{k,-1}$  zusätzlich die Menge  $M_{k,-2} = \{X'_i \mid X'_i \in M_k, \phi_k - 4\pi < \phi_i \leq \phi_k - 2\pi\}$  aller Bildpositionen der vorletzten Spiralwindung definiert und anschließend die Schwerpunkte  $S'_{k,-1}$  und  $S'_{k,-2}$  aller  $X'_i \in M_{k,-1}$  respektive  $X'_i \in M_{k,-2}$  nach Gleichung (3.50) berechnet. Das Ziel der Verlagerungsbewegung des Mittelpunkts ergibt sich dann aus  $S_{k,-1} = T_k^{-1}(S'_{k,-1})$ ,  $S_{k,-2} = T_k^{-1}(S'_{k,-2})$  und dem aktuellen Mittelpunkt  $M_k$  durch  $\vec{m}_k + (\vec{s}_{k,-1} - \vec{s}_{k,-2})$ . Die Richtung der Mittelpunktverlagerung wird hierbei gewissermaßen durch den Gradienten der Schwerpunkttrajektorie vorgegeben.

<sup>12</sup>Für nicht erfolgreich registrierte Einzelaufnahmen existiert keine Position  $X'_i$  (vgl. Abschnitt 3.1).

<sup>13</sup>Für die praktische Erprobung wurde eine Geschwindigkeit der Verlagerung des Spiralmittelpunkts von  $\frac{1}{10}v$  gewählt, vgl. dazu Abschnitt 6.7.

### 3.5 Zusammenfassung

Aufbauend auf dem in Kapitel 2 dargestellten Gesamtkonzept zur Erzeugung großflächiger Abbildungen des SNP wurde im vorliegenden Kapitel der Prozess der Bilddatengewinnung und der dazu verwendeten Führung der Blickrichtung mit einer bewegten Fixationsmarke näher beleuchtet und insbesondere die dazu erforderlichen und im Rahmen der Dissertation entwickelten Algorithmen und Verfahren hergeleitet und detailliert beschrieben. Das Ziel der dargelegten Verfahren, insbesondere der Planung und adaptiven Anpassung der Markentrajektorie, bestand dabei stets in der möglichst lückenlosen Erfassung einer großen Fläche unter Minimierung der Aufnahmedauer.

Zunächst wurde in Abschnitt 3.1 eine Schnittstelle zum Datenaustausch zwischen der Software des HRT-Mikroskops und der Software des in der Arbeit entwickelten EG-Systems definiert. Die Schnittstelle dient der Übermittlung der in der HRT-Software berechneten Lagekoordinaten der Einzelaufnahmen an die EG-Software während des Aufnahmeprozesses, sowie einer Prognose der Lagekoordinaten der folgenden Aufnahmen in der Gegenrichtung.

In Abschnitt 3.2 wurde die grundlegende Führung der Fixationsmarke auf einer spiralförmigen Bahn eingeführt. Neben einer mathematischen Beschreibung der Spiralförmigkeit wurden deren entscheidende Vorteile gegenüber den bisher in der Literatur publizierten Bahnformen diskutiert.

Ein weiterer neuer Aspekt des in der Dissertation entwickelten EG-Systems ist die adaptive Anpassung der grundsätzlich spiralförmigen Fixationsmarkenbahn zur Optimierung des Aufnahmeprozesses. Dazu wurden zunächst in Abschnitt 3.3 aus einer Betrachtung der geometrischen Zusammenhänge der Aufnahmesituation zwei Ansätze zur Berechnung einer Koordinatentransformation zwischen den Lagekoordinaten der Aufnahmen und den Bahnkoordinaten der Fixationsmarke hergeleitet. In Abschnitt 3.4 schließlich wurden die relevanten Randbedingungen einer adaptiven Veränderung der Markentrajektorie identifiziert und darauf aufbauend mehrere Ansätze für die online-Anpassung der Bahnparameter entwickelt.

Das folgende Kapitel behandelt den zweiten wissenschaftlichen Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit, die Erzeugung von Mosaikbildern aus den akquirierten Aufnahmeserien.

## Kapitel 4

# Algorithmen zur automatisierten Erzeugung von Mosaikbildern der Kornea

Dieses Kapitel beschreibt die Algorithmen zur Registrierung und Fusion der akquirierten Aufnahmesequenz. Wie bereits in der Übersicht der Prozesskette in Abschnitt 2.2 erwähnt, sind die Schritte hier von der Bildgewinnung vollständig entkoppelt. Im Gegensatz zu dem in Kapitel 3 beschriebenen Registrierverfahren zur online-Auswertung der Bilddaten während des Aufnahmeprozesses sind Laufzeitaspekte daher zweitrangig. Das primäre Ziel besteht vielmehr in der exakten Korrektur der Bewegungsartefakte und der genauen Registrierung der Aufnahmesequenz.

Im Folgenden werden zunächst der Prozess der Bildentstehung beim HRT und die Ursachen und Charakteristika der Bewegungsartefakte analysiert, um im Anschluss aus den erkannten Zusammenhängen die Algorithmen für die Bildserienregistrierung einschließlich der Korrektur der bewegungsbedingten Verzerrungen abzuleiten. Zu Beginn wird eine mathematische Definition der HRT-Aufnahmen eingeführt, die für die weiteren Verarbeitungsschritte verwendet wird.

### 4.1 Abstraktion des Aufnahmesystems

Wie bei allen bildgebenden Verfahren handelt es sich auch bei der Konfokalmikroskopie bei der eigentlichen Bildgebung um einen Messprozess, das Bild entsteht also durch die Messung einer Eigenschaft des durch die Aufnahme erfassten Bereichs der vorliegenden Szene. Der erfasste Bereich wird als Bildfeld bezeichnet. Das Ergebnis der Messung bzw. Messungen innerhalb des Bildfelds definiert die Intensitätswerte des resultierenden Bilds. Bei der LSCM wird durch einen Laser punktuell Lichtenergie in die abzubildende Szene eingebracht und die Intensität des reflektierten Lichts gemessen (s. auch Anhang A.3); eine LSCM-Aufnahme gibt also die Reflektivität der abgebildeten Strukturen wieder.

Das HRT besitzt ein quadratisches Bildfeld mit einer Seitenlänge von

$$l_{BF} = 400 \mu\text{m} \quad (4.1)$$

und einer Fläche von

$$A_{BF} = 400 \times 400 \mu\text{m}^2 = 0,16 \text{ mm}^2, \quad (4.2)$$

das in einem regelmäßigen Raster von Messpunkten abgetastet wird [26]. Die Abtastung des Bildfelds erfolgt zeilenweise, von oben nach unten. Die gemessenen Intensitätswerte werden mit einer Auflösung von 8 bit digitalisiert und schließlich aus den diskretisierten Messwerten eine quadratische Aufnahme mit einer Seitenlänge von

$$l_B = 384 \quad (4.3)$$

Pixeln erzeugt.<sup>1</sup> Der Abstand zweier benachbarter Pixel — genau genommen ihrer Mittelpunkte — beträgt folglich

$$d_P = \frac{l_{BF}}{l_B} = \frac{400}{384} \mu\text{m} = 1,042 \mu\text{m} \quad (4.4)$$

in beiden Koordinatenrichtungen.

Eine Aufnahme des HRT lässt sich nun als zweidimensionale diskrete und diskretwertige Funktion

$$I: D_I \rightarrow W_I \quad (4.5)$$

$$D_I = [0, 383]^2 \subset \mathbb{N}_0^2$$

$$W_I = [0, 255] \subset \mathbb{N}_0$$

der über dem Bildfeld reflektierten Intensität auffassen. Der Definitionsbereich  $D_I$  entspricht dem Pixelraster, der Wertebereich  $W_I$  ist durch die Auflösung bei der Digitalisierung gegeben. Aufgrund der Abtastrichtung des Bildfelds von oben nach unten wird die Intensitätsfunktion in einem Koordinatensystem mit nach unten orientierter positiver  $y$ -Achse (einem sogenannten Linkssystem) definiert.<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup>Die Pixel entsprechen nicht den real abgetasteten Punkten. Der Laser des HRT wird über zwei bewegte Spiegel über das Bildfeld gelenkt. Während der Laser das Bildfeld in der vertikalen Richtung mit konstanter Geschwindigkeit abfährt, gilt das für die horizontale Ablenkung nicht. Als Folge davon haben die Zeilen des Abtastrasters einen gleichbleibenden Abstand voneinander, wohingegen die Spalten nicht äquidistant verteilt sind. Um eine Abbildung des Bildfelds mit einheitlichem Pixelabstand zu erreichen, müssen die Pixelwerte in der horizontalen Richtung zwischen den Abtastpunkten interpoliert werden. Diese Tatsache ist für die Entwicklung der dargestellten Algorithmen nicht von Bedeutung; im Folgenden werden daher stets die äquidistanten Pixel der Aufnahme mit den Abtastpunkten gleichgesetzt, d.h. es wird von einem gleichermaßen äquidistanten Abtastraster ausgegangen.

<sup>2</sup>Eine solche Konvention ist in der Bildverarbeitung durchaus üblich.

## 4.2 Entstehung der Bewegungsartefakte

Die Auswirkungen von Bewegungen in der aufgenommenen Szene während des konfokalmikroskopischen Aufnahmeprozesses unterscheiden sich grundsätzlich von denen in der konventionellen Lichtmikroskopie. In der konventionellen Lichtmikroskopie wird wie in der Photographie die gesamte Szene auf einmal abgebildet, indem über einen definierten Zeitraum hinweg der gesamte photosensitive Rezeptor belichtet wird. Bei Bewegungen in der Szene während der Belichtung wird das von einem Punkt einer sich bewegenden Struktur zurückgeworfene Licht nicht an einem einzelnen Punkt auf dem Photorezeptor registriert, sondern, mit verminderter Intensität, an allen Punkten entlang des Bewegungspfad. Umgekehrt trifft auf einen Punkt des Photorezeptors, der auf dem Bewegungspfad einer sich bewegenden Struktur liegt, nicht nur das von einem einzelnen Punkt der abgebildeten Szene ausgehende Licht, sondern das von einer Vielzahl verschiedener Punkte reflektierte. In der Folge kommt es — abhängig von der Belichtungszeit — zu Bewegungsunschärfefeffekten.

Bei der Konfokalmikroskopie hingegen wird die Szene nicht auf einmal abgebildet, sondern in einem Raster punktweise abgetastet. Jeder Punkt wird somit einzeln abgebildet (s. auch Abschnitt 1.2.1 und Anhang A). Da sich die gesamte in die abzubildende Probe eingebrachte Lichtenergie auf jenen Punkt konzentriert, kann die Belichtungszeit für die Abbildung jedes Punktes extrem kurz ausfallen.

Beim HRT beginnt der punktweise Abtastprozess einer  $384 \times 384$  Pixel großen Aufnahme in der obersten Zeile und setzt sich dann zeilenweise nach unten fort. Die Aufnahme eines ganzen Bildfelds dauert etwa

$$T_B \approx 25 \text{ ms}, \quad (4.6)$$

für eine Bildzeile sind es dementsprechend

$$T_Z = \frac{T_B}{l_B} \approx 65 \mu\text{s} \quad (4.7)$$

und die Erfassung eines einzelnen Bildpunkts benötigt weniger als  $0,2 \mu\text{s}$  [18]. Zwischen der Erfassung des letzten Punktes einer Aufnahme und des ersten Punktes der folgenden Aufnahme entsteht eine technisch bedingte Aufnahmepause von

$$T_P \approx 8 \text{ ms}, \quad (4.8)$$

wodurch sich die Bildfrequenz von 30 Aufnahmen pro Sekunde erklärt. Auf der Basis der genannten Zeiten und der Größe des Bildfelds lassen sich die Vertikalgeschwindigkeit

$$v_{L,y} = \frac{l_{BF}}{T_B} \approx 16 \frac{\text{mm}}{\text{s}} \quad (4.9)$$

und, mit Gleichung (4.7), die Horizontalgeschwindigkeit

$$v_{L,x} = \frac{l_{BF}}{T_Z} = l_b \cdot v_{L,y} \approx 6,15 \frac{\text{m}}{\text{s}} \quad (4.10)$$

angeben, mit denen der Abtastlaser das Bildfeld überstreicht.

Aufgrund der extrem kurzen Belichtungszeit eines jeden Bildpunkts ist in den LSCM-Aufnahmen praktisch keinerlei Bewegungsunschärfe erkennbar. Da jedoch alle Punkte einer Aufnahme zu jeweils unterschiedlichen Zeitpunkten erfasst werden, manifestieren sich Bewegungen während der Aufnahme in Form von charakteristischen Verzerrungen, die sich aus der Überlagerung der Bewegungstrajektorie des Abtastlasers über die Szene und der Bewegungstrajektorie  $\vec{s}(t)$  der Szene selbst ergeben. Relevant sind dabei die Momentangeschwindigkeiten

$$\vec{v}_{L,x}(t) = \begin{pmatrix} v_{L,x} \\ 0 \end{pmatrix} \quad \text{und} \quad \vec{v}_{L,y}(t) = \begin{pmatrix} 0 \\ v_{L,y} \end{pmatrix} \quad (4.11)$$

der Lasertrajektorie<sup>3</sup> und

$$\vec{v}(t) = \dot{\vec{s}}(t) = \begin{pmatrix} v_x(t) \\ v_y(t) \end{pmatrix} \quad (4.12)$$

der Bewegungstrajektorie der Szene, genauer die resultierenden Relativgeschwindigkeiten

$$\vec{v}_{R,x}(t) = \vec{v}_{L,x}(t) - \vec{v}(t) \quad (4.13)$$

$$\vec{v}_{R,y}(t) = \vec{v}_{L,y}(t) - \vec{v}(t) \quad (4.14)$$

des Lasers über die Szene. Dabei beeinflusst  $\vec{v}_{R,x}$  die Lage der Abtastpunkte innerhalb einer Abtastzeile und  $\vec{v}_{R,y}$  die Lage der Abtastzeilen zueinander. In einer unbewegten Szene mit  $\vec{v} \equiv \vec{0}$  liegen die Abtastpunkte in einem quadratischen Raster mit einem Abstand von  $d_P$  in beiden Richtungen angeordnet. Mit  $\vec{v} \neq \vec{0}$  folgt  $\vec{v}_{R,x} \neq \vec{v}_{L,x}$  sowie  $\vec{v}_{R,y} \neq \vec{v}_{L,y}$ . Eine Abweichung zwischen  $\vec{v}_{R,x}$  und  $\vec{v}_{L,x}$  in der  $x$ -Koordinate beeinflusst die horizontalen Abstände der Abtastpunkte innerhalb einer Abtastzeile, eine Abweichung in der  $y$ -Koordinate die vertikale Lage der Abtastpunkte einer Abtastzeile zueinander. Analog führt eine Abweichung zwischen  $\vec{v}_{R,y}$  und  $\vec{v}_{L,y}$  in der  $x$ -Koordinate zu einer Veränderung der vertikalen Abstände der Abtastzeilen, eine Abweichung in der  $y$ -Koordinate verändert die horizontale Lage der Abtastzeilen zueinander. Effektiv wird durch  $\vec{v}(t)$  die Lage des Bildfelds in der Szene in einer charakteristischen Weise deformiert.

Mit

$$q_x = \frac{v_x}{v_{L,y}} \quad \text{und} \quad q_y = \frac{v_y}{v_{L,y}} \quad (4.15)$$

---

<sup>3</sup>Die Zeilensprünge stellen in dem angesetzten Modell Polstellen in der Ortskoordinate des Lasers dar, an denen für die Ableitung stets ein linksseitiger und ein rechtsseitiger Grenzwert mit identischen Werten angegeben werden kann. Es kann daher trotz der Polstellen mit einem durchgehend konstanten Geschwindigkeitsvektor gerechnet werden.

sowie Gleichung (4.10) ergeben sich aus den Gleichungen (4.13) und (4.14) die normierten Relativgeschwindigkeiten

$$\frac{1}{v_{L,x}} \vec{v}_{R,x}(t) = \begin{pmatrix} 1 - \frac{v_x(t)}{v_{L,x}} \\ -\frac{v_y(t)}{v_{L,x}} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 - \frac{1}{l_b} q_x(t) \\ -\frac{1}{l_b} q_y(t) \end{pmatrix} \quad (4.16)$$

$$\frac{1}{v_{L,y}} \vec{v}_{R,y}(t) = \begin{pmatrix} -\frac{v_x(t)}{v_{L,y}} \\ 1 - \frac{v_y(t)}{v_{L,y}} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -q_x(t) \\ 1 - q_y(t) \end{pmatrix}, \quad (4.17)$$

mit denen sich die Deformation des Bildfelds beschreiben lässt. Die Zusammenhänge sollen im Folgenden anhand eines Schachbrettmusters verdeutlicht werden. Das Schachbrettmuster sei dabei so angeordnet, dass die Feldbegrenzungen achsparallel zur horizontalen und vertikalen Abtastrichtung des Lasers und somit (bei ruhender Szene) auch achsparallel zum Bildfeld des HRT ausgerichtet sind. Bei ruhender Szene wird das Muster in der Aufnahme unverzerrt abgebildet.

#### 4.2.1 Bewegungsartefakte bei gleichförmiger vertikaler Bewegung

Bei einer vertikalen Bewegung der Szene mit konstanter Geschwindigkeit

$$\vec{v}_v(t) = \begin{pmatrix} 0 \\ v_y \end{pmatrix} \quad (4.18)$$

ergibt sich nach Gleichung (4.14) eine Relativgeschwindigkeit  $\vec{v}_{R,y}$  von

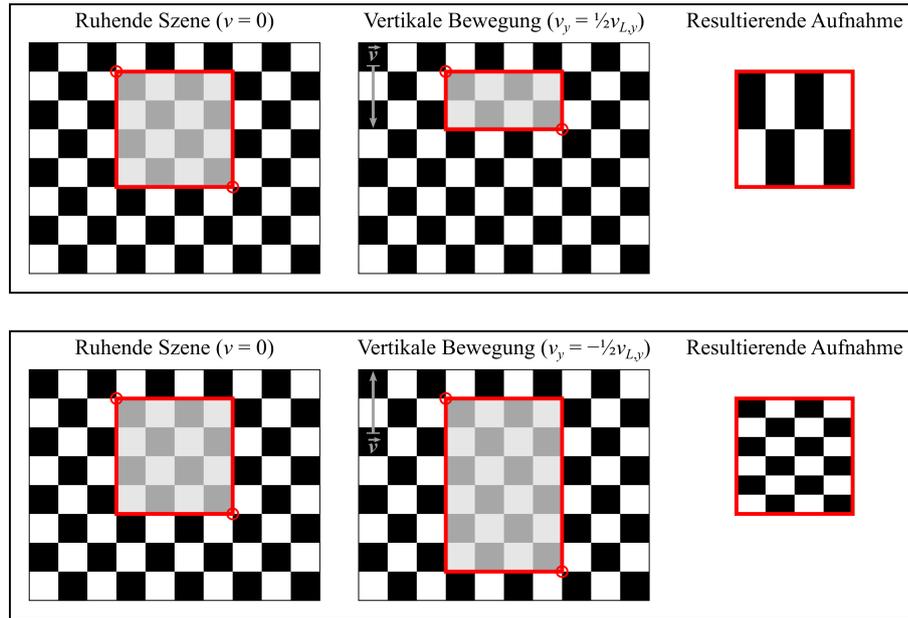
$$\vec{v}_{R,y} = \begin{pmatrix} 0 \\ v_{L,y} - v_y \end{pmatrix} \quad (4.19)$$

des Abtastlasers über die Szene. Bei einer Bewegung der Szene nach unten (mit  $v_y > 0$ ) vermindert sich aufgrund der verringerten  $y$ -Komponente von  $\vec{v}_{R,y}$  der vertikale Abstand der abgetasteten Rasterzeilen in der Szene gegenüber  $d_P$ . Der abgebildete Bereich erscheint in der Aufnahme in vertikaler Richtung gedehnt, wie in Abbildung 4.1 oben rechts dargestellt. Umgekehrt führt eine aufwärts gerichtete Bewegung der Szene (mit  $v_y < 0$ ) zu einer gegenüber  $v_{L,y}$  erhöhten vertikalen Relativgeschwindigkeit und dementsprechend einem gegenüber  $d_P$  vergrößerten Abstand der Abtastzeilen in der Szene, was sich in der Aufnahme in einer scheinbaren vertikalen Stauchung der abgebildeten Szene äußert (s. Abb. 4.1 unten rechts).

Die Änderung des Abstands benachbarter Abtastzeilen in der Szene gegenüber dem unbewegten Fall lässt sich durch den Faktor

$$f_y = \frac{v_{L,y} - v_y}{v_{L,y}} = 1 - \frac{v_y}{v_{L,y}} = 1 - q_y \quad (4.20)$$

beschreiben, mit  $q_y$  aus Gleichung (4.15). Die Lage des Bildfelds in der Szene ergibt sich dann aus der Lage des unverzerrten Bildfelds durch eine affine Abbildung (vgl. Abb. 4.1) mit der



**Abbildung 4.1:** Entstehung der Bewegungsartefakte bei vertikaler Bewegung der Szene parallel (oben) und entgegengesetzt (unten) zur vertikalen Abtastrichtung des Lasers. Links ist jeweils das erfasste Bildfeld (rot) in der unbewegten Szene dargestellt, in der Mitte das vertikal gestauchte bzw. gedehnte Bildfeld bei Bewegung der Szene mit  $v_y = \pm \frac{1}{2}v_{L,y}$ , rechts die resultierende Abbildung des erfassten Bereichs der Szene in der Aufnahme. Die Aufnahme erscheint im Vergleich mit dem Bildfeld gerade invers verzerrt; ein gestauchtes Bildfeld resultiert in einer gedehnt anmutenden Aufnahme (oben) während ein gedehntes Bildfeld zu einer gestaucht wirkenden Aufnahme führt (unten).

Abbildungsmatrix

$$A'_y = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 - q_y \end{pmatrix}, \quad (4.21)$$

deren zweiter Spaltenvektor der normierten Relativgeschwindigkeit nach Gleichung (4.17) entspricht. Zur Ermittlung der resultierenden Aufnahme kann stattdessen das Bildfeld unverändert belassen und die Szene durch die zu  $A'_y$  inverse Abbildungsmatrix

$$A_y = A_y'^{-1} = \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & \frac{1}{1 - q_y} \end{pmatrix} \quad (4.22)$$

deformiert werden, wodurch sich die scheinbare vertikale Skalierung der erfassten Szene in der Aufnahme ergibt.

Die vertikale Bewegung der Szene ist gemäß Gleichung (4.13) als

$$\vec{v}_{R,x} = \begin{pmatrix} v_{L,x} \\ -v_y \end{pmatrix} \quad (4.23)$$

auch der Horizontalbewegung des Lasers überlagert. Genau betrachtet, verändert sich deshalb auch die vertikale Lage der Abtastpunkte innerhalb einer Rasterzeile. Bei einer abwärts ge-

richteten Bewegung ( $v_y > 0$ ) liegen die Abtastpunkte am Ende einer Rasterzeile jeweils etwas oberhalb der Abtastpunkte am Beginn derselben Rasterzeile, was sich theoretisch als Scherung des Bildfelds in der Szene in Richtung der negativen  $y$ -Achse manifestiert. Für  $v_y < 0$  kehrt sich die Richtung der Scherung um. Die Auslenkung lässt sich dabei (mit Gleichung (4.10)) mit  $\frac{-v_y}{v_{L,x}} = \frac{-v_y}{l_B \cdot v_{L,y}} = \frac{-q_y}{l_B}$  beziffern (d.h.  $\frac{-q_y}{l_B} d_P$  pro Abtastpunkt oder  $-q_y \cdot d_P$  auf der ganzen Breite des Bildfelds). Prinzipiell lässt sich die beschriebene Deformation des Bildfelds durch eine affine Abbildung mit der Abbildungsmatrix

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 \\ -\frac{1}{l_B} q_y & 1 \end{pmatrix} \quad (4.24)$$

darstellen, deren erster Spaltenvektor der normierten Relativgeschwindigkeit nach Gleichung (4.16) entspricht. Da dieser Effekt jedoch um ein Vielfaches (nämlich um einen Faktor von  $l_B = 384$ ) geringer ausfällt als der oben beschriebene Skalierungseffekt, kann er vernachlässigt werden. Das gilt umso mehr, wenn man auch die in der Versuchsanordnung real vorherrschenden Augenbewegungen, nämlich die durch die Blickführung induzierten langsamen Augenfolgebewegungen, in Betracht zieht. Deren Geschwindigkeit ist prinzipiell durch die Bewegung der Fixationsmarke vorgegeben und blieb bei allen zur Erprobung des Konzepts durchgeführten Tests deutlich unter  $\frac{1}{4} v_{L,y}$ , die Scherung folglich im Bereich unter einem Viertel Pixelabstand bezogen auf die gesamte Bildfeldbreite.

Abbildung 4.1 stellt die Auswirkungen einer während des Aufnahmeprozesses konstanten, vertikalen Bewegung der Szene mit einer Geschwindigkeit von  $v_y = \pm \frac{1}{2} v_{L,y} \approx \pm 8 \frac{\text{mm}}{\text{s}}$  dar. Entsprechend beträgt der Geschwindigkeitsquotient in Gleichung (4.20)  $q_y = \pm \frac{1}{2}$  und die erfasste Szene wird gemäß Gleichung (4.22) bei der Abwärtsbewegung um einen Faktor von 2 bzw. bei der Aufwärtsbewegung um einen Faktor von  $\frac{2}{3}$  skaliert abgebildet.

#### 4.2.2 Bewegungsartefakte bei gleichförmiger horizontaler Bewegung

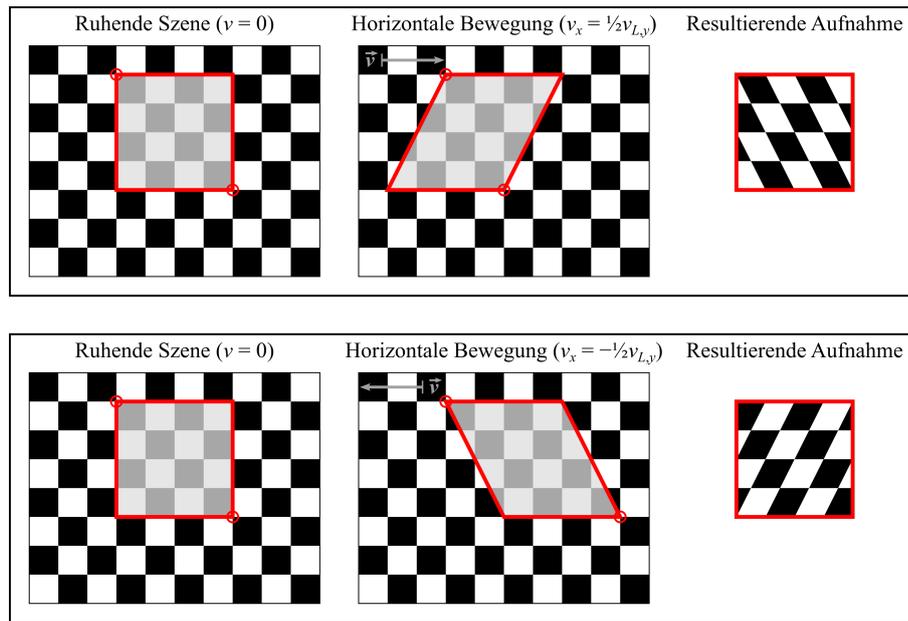
Bei einer horizontalen Bewegung der Szene mit konstanter Geschwindigkeit

$$\vec{v}_h(t) = \begin{pmatrix} v_x \\ 0 \end{pmatrix} \quad (4.25)$$

ergibt sich nach Gleichung (4.14) eine Relativgeschwindigkeit von

$$\vec{v}_{R,y} = \begin{pmatrix} -v_x \\ v_{L,y} \end{pmatrix} \quad (4.26)$$

des Abtastlasers über die Szene. Aufgrund der unveränderten  $y$ -Komponente von  $\vec{v}_{R,y}$  bleibt der vertikale Abstand der Zeilen des Abtastrasters im Vergleich zur unbewegten Szene unverändert bei  $d_P$ . Da sich die Szene aber zwischen dem Beginn einer Abtastzeile und dem Beginn der nächsten horizontal bewegt, liegen die Abtastpunkte in der Szene nicht senkrecht untereinander, sondern weisen entsprechend  $\vec{v}_{R,y}$  bei einer Bewegung nach rechts (mit  $v_x > 0$ ) einen zunehmen-



**Abbildung 4.2:** Entstehung der Bewegungsartefakte bei horizontaler Bewegung der Szene nach rechts (oben) und nach links (unten). Links ist jeweils das erfasste Bildfeld (rot) in der unbewegten Szene dargestellt, in der Mitte das in der horizontalen Richtung gescherte Bildfeld bei Bewegung der Szene mit  $v_x = \pm \frac{1}{2}v_{L,y}$ , rechts die resultierende Abbildung des erfassten Bereichs der Szene in der Aufnahme. Der in der Aufnahme abgebildete Szenenausschnitt erscheint im Vergleich mit dem Bildfeld gerade entgegengesetzt geschert.

den Versatz nach links auf, was sich in einer Scherung des Bildfelds in negativer  $x$ -Richtung äußert (s. Abb. 4.2 oben Mitte). Bei einer Bewegung nach links (mit  $v_x < 0$ ) kehrt sich die Richtung der Scherung um (s. Abb. 4.2 unten Mitte).

Der in Gleichung (4.15) definierte Geschwindigkeitsquotient  $q_x$  setzt den seitlichen Versatz mit der vertikalen Koordinate in Relation. Pro Abtastzeile (also einem vertikalen Abstand von  $d_P$  in der Szene bzw. einem Pixel in der Aufnahme) beträgt der horizontale Versatz  $-q_x \cdot d_P$  in der Szene bzw.  $-q_x$  Pixel in der Aufnahme, der Scherwinkel (gemessen von der  $y$ -Achse) berechnet sich zu

$$\phi = \arctan(q_x). \quad (4.27)$$

Die Lage des Bildfelds in der Szene ergibt sich dann aus der Lage des unverzerrten Bildfelds durch eine affine Abbildung mit der Abbildungsmatrix

$$A'_x = \begin{pmatrix} 1 & -q_x \\ 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad (4.28)$$

wobei wie im vorhergehenden Abschnitt der zweite Spaltenvektor auch hier mit der normierten Relativgeschwindigkeit nach Gleichung (4.17) identisch ist. Die zu  $A'_x$  inverse Abbildungsmatrix

$$A_x = A_x'^{-1} = \begin{pmatrix} 1 & q_x \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (4.29)$$

beschreibt die scheinbare entgegengesetzte Scherung der Szene in der Aufnahme (s. Abb. 4.2).

Tatsächlich verändert sich wegen

$$\vec{v}_{R,x} = \begin{pmatrix} v_{L,x} - v_x \\ 0 \end{pmatrix} \quad (4.30)$$

auch der horizontale Abstand der Abtastpunkte in einer Rasterzeile, wodurch die Aufnahmen geringfügig in Richtung der horizontalen Achse gestaucht oder gedehnt sind. Analog zu den bisherigen Ausführungen lässt sich dieser Effekt als affine Deformation des Bildfelds in der Szene mit der Abbildungsmatrix

$$\begin{pmatrix} 1 - \frac{1}{l_B} q_x & 0 \\ 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (4.31)$$

auffassen, deren erster Spaltenvektor der normierten Relativgeschwindigkeit nach Gleichung (4.16) entspricht. Er wird jedoch vom Scherungseffekt deutlich dominiert (nämlich wiederum um einen Faktor von  $l_B = 384$ ) und ist ganz analog zum vertikalen Scherungseffekt bei Vertikalbewegungen vernachlässigbar.

Abbildung 4.2 zeigt die Auswirkungen einer während des Aufnahmeprozesses konstanten Bewegungen der Szene in horizontaler Richtung mit einer Geschwindigkeit von  $v_x = \pm \frac{1}{2} \cdot v_{L,y} \approx \pm 8 \frac{\text{mm}}{\text{s}}$ . Der Geschwindigkeitsquotient aus Gleichung (4.15) beträgt  $q_x = \pm \frac{1}{2}$ , der Scherwinkel ergibt sich nach Gleichung (4.27) zu  $\pm \arctan\left(\frac{1}{2}\right) \approx \pm 26,6^\circ$ .

### 4.2.3 Bewegungsartefakte bei beliebigen Bewegungen

Bei Bewegungen mit horizontalen und vertikalen Komponenten überlagern sich die beschriebenen Effekte. Bei einer Bewegung mit der konstanten Geschwindigkeit

$$\vec{v} = \begin{pmatrix} v_x \\ v_y \end{pmatrix} \quad (4.32)$$

ergibt sich aus der normierten Darstellung der Relativgeschwindigkeiten aus den Gleichungen (4.16) und (4.17) die affine Abbildungsmatrix

$$A'_{xy} = \begin{pmatrix} 1 - \frac{1}{l_B} q_x & -q_x \\ -\frac{1}{l_B} q_y & 1 - q_y \end{pmatrix}, \quad (4.33)$$

bzw. bei Vernachlässigung der aus  $\vec{v}_{R,x}$  resultierenden Effekte

$$A'_{xy} = \begin{pmatrix} 1 & -q_x \\ 0 & 1 - q_y \end{pmatrix}, \quad (4.34)$$

welche die Deformation des Bildfelds aufgrund der Bewegung der Szene beschreibt. Analog zu den beiden vorangehenden Abschnitten lässt sich durch Inversion von  $A'_{xy}$  die Abbildungsmatrix

$$A_{xy} = A'_{xy} = \begin{pmatrix} 1 & \frac{q_x}{1-q_y} \\ 0 & \frac{1}{1-q_y} \end{pmatrix} \quad (4.35)$$

ableiten, welche die Deformation der Szene definiert, aus der durch Überlagern des unveränderten Bildfelds direkt die resultierende Aufnahme ermittelt werden kann.

Anhand der dargestellten affinen Verzerrungen des Bildfelds bzw. der abgebildeten Szene, die sich bei konstanten Geschwindigkeitsvektoren ergeben, lässt sich die Entstehung der Bewegungsartefakte anschaulich erläutern. Veränderung des Geschwindigkeitsvektors während der Aufnahme eines Bildes führen hingegen zu nicht-linearen Bewegungsartefakten, weil die Geschwindigkeitsquotienten  $q_x(t)$  und  $q_y(t)$  dann nicht mehr konstant sind, sondern zeitlich variieren. Dies muss als Normalfall angesehen werden, da die Augen ständig unvermeidbaren, unbewussten Bewegungen unterworfen sind.

### 4.3 Ableitung einer neuen Prozesskette zur Registrierung der Aufnahmeserie

Zur Fusion einer Aufnahmeserie zu einem großflächigen Mosaikbild müssen die Bilddaten zueinander registriert werden. Gesucht sind Transformationen  $T_k$ , durch welche die Aufnahmen  $I_k$  der Serie derart in das Koordinatensystem des Mosaikbilds abgebildet werden, dass Aufnahmebereiche derselben Geweberegion auf dieselbe Position des Mosaikbilds abgebildet werden. Aufgrund der im vorigen Abschnitt 4.2 beschriebenen, in der Regel nicht-linearen Bewegungsartefakte reichen einfache Translationen der Aufnahmen dazu ebenso wenig aus wie affine Transformationen. Die Hauptaufgabe wird in der Korrektur der bewegungsbedingten Bildverzerrungen bestehen.

Einer ausführlichen formalen Beschreibung der Prozesskette zur Bildregistrierung, Bewegungskorrektur und Bilddatenfusion sollen zunächst einige Vorbetrachtungen und vereinfachende Annahmen vorangestellt werden.

#### 4.3.1 Vorbemerkungen zu den Bewegungsartefakten

Wie bereits im vorangehenden Abschnitt 4.2 gezeigt, lassen sich die Bewegungsartefakte im Prinzip ganz überwiegend als vertikale Skalierung und horizontale Scherung beschreiben. Die ebenfalls vorhandenen Effekte der horizontalen Skalierung und der vertikalen Scherung fallen im Gegensatz dazu derart gering aus, dass sie in der überwiegenden Mehrheit der Aufnahmen (nämlich für  $|q_x|, |q_y| \ll 1$  während des Aufnahmeprozesses) im niederen Subpixelbereich liegen. Dagegen sind bei den wenigen von Sakkaden betroffenen Aufnahmen (bei denen zumindest während Teilen der Aufnahmedauer  $q_x$  und  $q_y$  betragsmäßig nahe bei 1 oder darüber liegen können) die dominierenden Bewegungseffekte derart ausgeprägt, dass eine exakte Bewegungskorrektur ohnehin schwer zu erreichen ist. Als Konsequenz dieser Aussagen können die Bewe-

gungsartefakte auf die dominierenden Effekte der vertikalen Skalierung und der horizontalen Scherung reduziert werden.

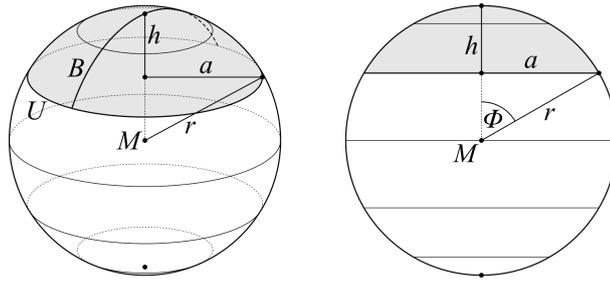
Die entscheidende Erkenntnis aus den ausgeführten Betrachtungen zu den Bewegungsartefakten besteht nun darin, dass die beiden dominierenden Effekte ausschließlich die Lage einer Abtastzeile als Einheit betreffen, nicht der Abtastpunkte innerhalb der Zeile. Die Abtastzeile, und entsprechend die daraus resultierende Bildzeile, kann daher als in beiden Koordinatenrichtungen unveränderliche Einheit abstrahiert werden.

### 4.3.2 Vorbemerkungen zu Torsionsbewegungen des Auges

Die Augenmuskulatur ermöglicht dem Auge prinzipiell Rotationen (mit begrenzter Auslenkung) um alle denkbaren Rotationsachsen, die durch den Augenmittelpunkt, also dessen Rotationszentrum, verlaufen. Insbesondere ist aus anatomischer Sicht auch eine Rotation um die optische Achse möglich. Mit Ausnahme besonderer Situationen (in erster Linie bei der Fixation eines rotierenden Objekts [66]) wird die als Torsion bezeichnete Rotationskomponente um die optische Achse bei allen Augenbewegungen stets minimiert. Diese Beobachtung ist als *Listing'sches Gesetz* bekannt [75], demzufolge alle für eine gegebene Ausgangsposition der Augen tatsächlich in Frage kommenden Rotationsachsen in einer Ebene, der *Listing'schen Ebene*, liegen. Beim Blick in die Ferne liegt jene senkrecht zur optischen Achse, während sie bei der Akkommodation in die Nähe leicht nach temporal kippt [76]. Insgesamt sind Torsionsbewegungen unter den Randbedingungen einer HRT-Untersuchung mit dem EG-System nicht zu erwarten. Für die Bildregistrierung hat das zur Folge, dass die gesuchten Transformationen  $T_k$  neben der Korrektur der Bewegungsartefakte ausschließlich einen translatorischen, aber keinen Rotationsanteil zur korrekten Positionierung der Einzelaufnahmen enthalten. Wenn die Rotationsfreiheit für Einzelaufnahmen gilt, dann offensichtlich auch für jeden Teilbereich derselben, insbesondere also auch für jede Bildzeile.

### 4.3.3 Vorbemerkungen zur Modellierung der Abbildungsfläche

Eine letzte Vorbetrachtung gilt der Art des Mosaikbildkoordinatensystems. Bei Ansätzen wie sie etwa von Zhivov et al. beschrieben werden [17], bei denen das Mikroskop über das ruhende Auge geführt wird, liegen die akquirierten Bilddaten (bei unveränderter Fokussstellung) sämtlich in einer Ebene. Rotiert hingegen das Auge unter dem Mikroskop, wie in der vorliegenden Arbeit, so entstammen die Bilddaten einer annähernd sphärisch gekrümmten Fläche (bzw. Tangentialebenen an eine solche, in denen die Fokusebenen der Aufnahmen liegen) und lassen sich daher in der Theorie nicht verzerrungsfrei und grundsätzlich nicht längentreu in einem ebenen Mosaikbild zusammenführen. Praktisch kann aber die ebene Abbildung die real gekrümmten Verhältnisse hinreichend gut approximieren, solange nur ein kleiner Teil der Sphäre betrachtet wird. Geht man von einer möglichst kompakten, also näherungsweise kreisförmigen erfassten Fläche aus, so stellt sich die Situation wie in Abbildung 4.3 dar. Betrachtet man den in der Abbildung mit  $U$  bezeichneten Umfangkreis und den mit  $B$  bezeichneten (Meridian-)Bogen, und fordert von der Transformation in die Ebene eine Abbildung von  $B$  (sowie allgemein aller Meridianbögen)



**Abbildung 4.3:** Schematische Darstellung der sphärisch gekrümmten aufgenommenen Fläche des SNP (nach [77])

als gerade Linie und von  $U$  als Kreis, so liegt auf der Hand, dass nicht beide längentreu abgebildet werden können. Bei Erhaltung der Länge der Meridianbögen wird zwangsläufig  $U$  (sowie jede Strecke, die nicht auf einem Meridianbogen liegt) gedehnt. Bei Erhaltung der Länge von  $U$  werden die Meridianbögen gestaucht. Eine Abbildung, welche die Längenänderung zwischen beliebigen Punkten minimiert, muss zwischen den beiden Extremfällen liegen und sowohl den Umfangkreis leicht vergrößert als auch die Meridianbögen leicht verkürzt abbilden. Der Unterschied des Umfangs zwischen dem sphärisch gewölbten und dem planen Mosaikbild bei gegebener Fläche kann daher zur Abschätzung einer oberen Schranke des real auftretenden Fehlers dienen.

Der Krümmungsradius der Kornea beträgt in der Umgebung des Apex etwa  $r \approx 7,76$  mm [78].<sup>4</sup> Betrachtet man eine Zielfläche von  $A = 1,28$  mm<sup>2</sup> (entsprechend der empfohlenen Minimalfläche, s. Abschnitt 1.3), so kommt man mit [68, S. 163, Gl. (3.164) und Gl. (3.162)] auf eine Wölbungshöhe

$$h = \frac{A}{2\pi r} \approx 26,3 \mu\text{m} \quad (4.36)$$

der erfassten Fläche über der kreisförmigen Basis, die einen Radius von

$$a = \sqrt{h(2r - h)} \approx 637,8 \mu\text{m} \quad (4.37)$$

und einen Umfang von

$$u_1 = 2\pi a \approx 4007,2 \mu\text{m} \quad (4.38)$$

aufweist. Mit [68, S. 145, Gl. (3.73) und Gl. (3.75a)] ergibt sich der Zentralwinkel zu

$$\phi = \arcsin\left(\frac{a}{r}\right) \approx 0,082 \quad (\hat{=} 4,7^\circ) \quad (4.39)$$

und schließlich die halbe Länge des Meridianbogens  $B$  zu

$$b = r\phi \approx 638,5 \mu\text{m}. \quad (4.40)$$

<sup>4</sup>Tatsächlich variiert der Krümmungsradius der Kornea in Abhängigkeit der gemessenen Richtung, er beträgt in der Horizontalen ca. 7,86 mm, in der Vertikalen ca. 7,65 mm [78]. Für die Berechnungen wird eine sphärische Krümmung mit einem mittleren Krümmungsradius angenommen.

Bildet man die Bilddaten nun auf eine plane kreisförmige Fläche mit Radius  $b$  ab, so kommt man auf einen Umfang von

$$u_2 = 2\pi b \approx 4011,7 \mu\text{m}. \quad (4.41)$$

Die Differenz der beiden Umfänge beträgt

$$d_u = u_2 - u_1 \approx 4,5 \mu\text{m} \quad (4.42)$$

oder ca. 0,11 %. Bei einer Verdoppelung der Zielfläche auf  $A = 2,56 \text{ mm}^2$  ergeben sich mit den Gleichungen (4.36) bis (4.42) Werte von  $u_1 \approx 5662,3 \mu\text{m}$ ,  $u_2 \approx 5675,1 \mu\text{m}$ ,  $d_u \approx 12,8 \mu\text{m}$  und mit hin eine prozentuale Abweichung des Flächenumfangs von ca. 0,23 %. Bei einer Verfünffachung der Zielfläche auf  $A = 6,40 \text{ mm}^2$  steigen die Werte auf  $u_1 \approx 8930,0 \mu\text{m}$ ,  $u_2 \approx 8980,7 \mu\text{m}$ ,  $d_u \approx 50,7 \mu\text{m}$  und die prozentuale Abweichung des Flächenumfangs auf ca. 0,57 %. Angesichts dieser äußerst geringen zu erwartenden Abweichungen können die Registrierung und die Mosaikbilderzeugung auf der Basis eines kartesischen Koordinatensystems durchgeführt werden, wodurch sich sowohl die Berechnungen als auch die Darstellung des Ergebnisses vereinfachen.

#### 4.3.4 Aufbau der Prozesskette

Mit Kenntnis der Entstehung und Charakteristik der bewegungsbedingten Bildverzerrungen und unter Berücksichtigung der in den vorangehenden Abschnitten als kleinster unveränderlicher Einheit postulierten Bildzeile und deren Torsionsfreiheit lässt sich das Registrierproblem der Bildserie — einschließlich der Korrektur der Bewegungsartefakte — nun darauf reduzieren, die Lagekoordinaten jeder Bildzeile im gemeinsamen, zweidimensionalen, kartesischen Koordinatensystem des Mosaikbilds zu ermitteln. Ist nämlich die Lage jeder Bildzeile einer Aufnahme  $I_i$  bezüglich des Mosaikbilds bekannt, so definieren die Lagekoordinaten zusammengenommen die gesuchte Transformation  $T_i$ .

Formal handelt es sich bei den Transformationen  $T_i$  um Koordinatentransformationen vom Definitionsbereich  $D_I$  der Intensitätsfunktionen  $I_i$  (s. Gleichung (4.5)) in den Definitionsbereich des Mosaikbilds,

$$T_i: D_I \rightarrow \mathbb{R}^2, \quad (4.43)$$

sodass sich das ins Mosaikbildkoordinatensystem transformierte Bild  $M_i$  als

$$\begin{aligned} M_i: \mathbb{R}^2 &\rightarrow \mathbb{R} \\ M_i(T_i(x, y)) &= I_i(x, y) \end{aligned} \quad (4.44)$$

ergibt. Es sei darauf hingewiesen, dass im Gegensatz zur Definition der HRT-Aufnahmen  $I$  als Intensitätsfunktionen in Gleichung (4.5) zunächst weder der Definitionsbereich noch der Wertebereich des entstehenden Mosaikbilds auf ganzzahlige Werte beschränkt werden, da die Koordinaten des Aufnahmebereichs  $D_I$  durch die Transformationen  $T_i$  im Allgemeinen

nicht auf ganzzahlige Werte abgebildet werden. Zur Generierung der Ergebnisbilder werden später die Intensitätswerte an den ganzzahligen Koordinaten des Pixelrasters interpoliert.

Es bezeichne nun  $I_i^{(y)}$  die Bildzeile von  $I_i$  mit dem Zeilenindex  $y$  und es seien

$$\vec{p}'_{i,y} \in \mathbb{R}^2 \quad (4.45)$$

die Lagekoordinaten des ersten Pixels von  $I_i^{(y)}$  im Mosaikbildkoordinatensystem. Es wird sich später als geschickt erweisen, die Lage der Bildzeilen in einer auf den ersten Abtastpunkt der Aufnahme bezogenen Form anzugeben, die also um die (vertikale) Position des Abtastlasers zu

$$\vec{p}_{i,y} = \vec{p}'_{i,y} - \begin{pmatrix} 0 \\ y \end{pmatrix} \quad (4.46)$$

korrigiert ist. Die  $I_i$  zugeordnete Koordinatentransformation  $T_i$  ist nun unmittelbar durch

$$T_i(x, y) = \vec{p}'_{i,y} + \begin{pmatrix} x \\ 0 \end{pmatrix} = \vec{p}_{i,y} + \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} \quad (4.47)$$

gegeben. Jeder Bildzeile  $I_i^{(y)}$  kann außerdem ein eindeutiger und bekannter Aufnahmezeitpunkt  $t_{i,y}$  zugeordnet werden.<sup>5</sup> Die Lagekoordinaten  $\vec{p}_{i,y}$  im Zusammenhang mit den korrespondierenden Aufnahmezeitpunkten  $t_{i,y}$  definieren somit Punkte auf einer zeitabhängigen Trajektorie

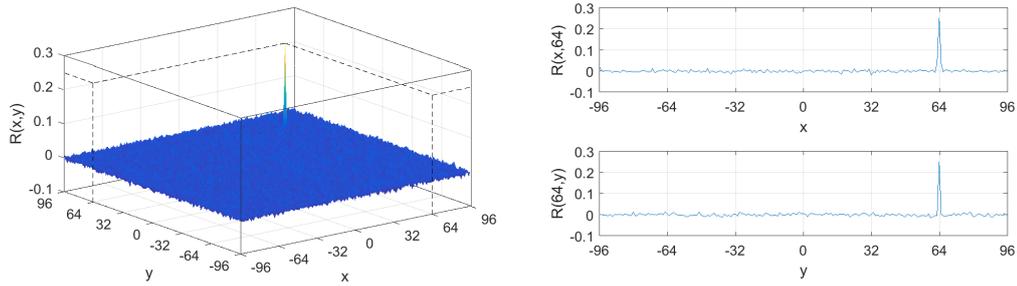
$$\begin{aligned} \vec{s}: \mathbb{R} &\rightarrow \mathbb{R}^2, \\ t &\mapsto \vec{s}(t), \\ \vec{s}(t_{i,y}) &= \vec{p}_{i,y}, \end{aligned} \quad (4.48)$$

die dem Bewegungsverlauf der Augenbewegungen<sup>6</sup> entspricht. Hier zeigt sich der Vorteil der Angabe der Lagekoordinaten nach Gleichung (4.46) statt nach Gleichung (4.45). Während erstere unmittelbar die Augenbewegungen wiedergeben, ist letzteren noch das sägezahnartige Muster der Vertikalbewegung des Abtastlasers überlagert.

Die Trajektorie  $\vec{s}$  ist nicht a priori bekannt, sie lässt sich aber, wie in den folgenden Abschnitten ausgeführt wird, aus der Kenntnis korrespondierender Bildbereiche in Bildpaaren ableiten, die wiederum unter Zuhilfenahme eines korrelationsbasierten Ansatzes zur Registrierung von Teilbereichen der Aufnahmen ermittelt werden können. Die grundlegende Idee besteht darin, durch die Bestimmung von Versatzvektoren zwischen korrespondierenden Bildbereichen ein System von Differenzvektoren — also linearen Abhängigkeiten — zwischen den unbekanntem

<sup>5</sup>Das für die Aufnahme der Rasterzeile erforderliche Zeitintervall der Länge  $T_Z$  aus Gleichung (4.7) wird hier gewissermaßen auf einen Zeitpunkt reduziert. Es ist für die weiteren Betrachtungen unerheblich, welcher Zeitpunkt innerhalb des Intervalls gewählt wird, relevant ist nur, dass die Zeitpunkte  $t_{i,y}$  äquidistant sind, mit einem Abstand von  $T_Z$ .

<sup>6</sup>Da das Mikroskop während der Aufnahme nicht bewegt wird, resultiert jeder Versatz zwischen Mikroskop und dem untersuchten Auge ausschließlich vom untersuchten Probanden. Ob es sich dabei um Bewegungen der Augen oder des Körpers relativ zum Mikroskop handelt, ist für die folgenden Überlegungen unerheblich. Es wird daher nur von Augenbewegungen die Rede sein.



**Abbildung 4.4:** Phasenkorrelationsfunktion zweier Bilder  $I_1$  und  $I_2$  mit einem Versatz von jeweils genau 64 Pixeln in  $x$ - und  $y$ -Richtung; als Bilder  $I_1$  und  $I_2$  wurden hierfür zwei quadratische Teilbereiche mit einer Kantenlänge von 192 Pixeln und entsprechendem Versatz aus einer HRT-Einzelaufnahme ausgeschnitten.

Lagekoordinaten  $\vec{p}_{i,y}$  aufzustellen, das anschließend nach  $\vec{p}_{i,y}$  gelöst werden kann. Da eine einzelne Bildzeile jedoch für eine robuste Versatzbestimmung nicht ausreichend Information enthält, wird diese auf der Basis von Teilbildern aus mehreren Bildzeilen durchgeführt.

Die korrelationsbasierte Registrierung von Teilbildbereichen, das Aufstellen und Lösen des aus den Ergebnissen abgeleiteten Gleichungssystems zur Berechnung der Trajektorie  $\vec{s}$  und die Anwendung der daraus gewonnenen Transformationen  $T_i$  auf die Aufnahmen  $I_i$  werden in den folgenden Abschnitten im Detail erläutert.

#### 4.4 Versatzbestimmung mittels der Phasenkorrelationsfunktion

Die erstmals von Kuglin et al. beschriebene Phasenkorrelationsfunktion [79] ist eine in der digitalen Bildverarbeitung wohlbekannte und gegen Störungen wie Bildrauschen oder Unterschieden in der Bildhelligkeit äußerst robuste Methode zur Bestimmung eines Translationsvektors  $\vec{u}$  zwischen zwei Bildern  $I_1$  und  $I_2$ . Die folgende Darstellung orientiert sich an derjenigen bei Alba et al. [80]. Es sei  $\mathcal{I} = \mathcal{I}(\xi, \nu)$  die diskrete Fourier-Transformierte eines Bildes  $I = I(x, y)$  und  $\mathcal{I}^*$  deren komplexe Konjugation, dann ist

$$\mathcal{R} = \frac{\mathcal{I}_1 \cdot \mathcal{I}_2^*}{|\mathcal{I}_1 \cdot \mathcal{I}_2^*|} \quad (4.49)$$

das normierte Kreuzleistungsspektrum von  $I_1$  und  $I_2$ . Die Phasenkorrelationsfunktion  $R(x, y)$  ergibt sich schließlich durch die inverse diskrete Fourier-Transformation von  $\mathcal{R}(\xi, \nu)$ . Die Koordinaten  $(x_{max}, y_{max})$  des Maximums von  $R$  entsprechen den Komponenten  $u_x$  und  $u_y$  von  $\vec{u}$ . Wie sich später herausstellen wird, ist es für die hier betrachtete Anwendung sinnvoll, die Phasenkorrelationsfunktion stets auf der Basis zweier mittelwertfreier Bilder  $I'_1 = I_1 - \bar{I}_1$  und  $I'_2 = I_2 - \bar{I}_2$  zu berechnen. Dabei bezeichne  $\bar{I}$  den Mittelwert eines Bildes  $I$ .

Abbildung 4.4 zeigt ein Beispiel einer Phasenkorrelationsfunktion für zwei HRT-Bilder mit perfekter Überlappung (d.h. ohne zusätzliches Bildrauschen oder Bewegungsartefakte) bei einer bekannten Translation von jeweils 64 Pixeln in beiden Koordinatenrichtungen.

#### 4.4.1 Schätzung des Subpixelversatzes

Eine Einschränkung der Verwendung der Phasenkorrelationsfunktion (wie auch anderer korrelationsbasierter Ansätze) zur Bestimmung eines Bildversatzes besteht darin, dass nur ganzzahlige Pixelversätze ermittelt werden. Zur Abschätzung potentieller Subpixel-Anteile des Translationsvektors  $\vec{u}$  kann in die lokale Umgebung des Maximums eine Parabel zweiten Grades<sup>7</sup> eingepasst werden, deren Maximum den Subpixel-Versatz approximiert [81]. Die geschätzte Abweichung der Lage des tatsächlichen Maximums von den ermittelten Koordinaten  $(x_{max}, y_{max})$  ergibt sich dann zu [81]

$$d_x = \frac{R(x_{max} + 1, y_{max}) - R(x_{max} - 1, y_{max})}{2(2R(x_{max}, y_{max}) - R(x_{max} + 1, y_{max}) - R(x_{max} - 1, y_{max}))} \quad (4.50)$$

und

$$d_y = \frac{R(x_{max}, y_{max} + 1) - R(x_{max}, y_{max} - 1)}{2(2R(x_{max}, y_{max}) - R(x_{max}, y_{max} + 1) - R(x_{max}, y_{max} - 1))} \quad (4.51)$$

und schließlich der geschätzte Translationsvektor zu

$$\vec{u} = \begin{pmatrix} x_{max} \\ y_{max} \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} d_x \\ d_y \end{pmatrix}. \quad (4.52)$$

#### 4.4.2 Interpretation des Korrelationswerts

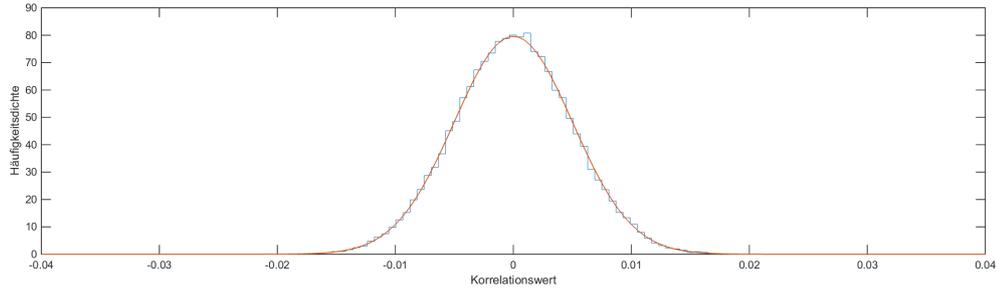
Bei der Anwendung der Phasenkorrelationsfunktion zur Registrierung eines Bildpaares im Rahmen der vorliegenden Aufgabenstellung geht es nicht nur darum, eine Translation zwischen den beiden Bildern zu ermitteln. Da im Allgemeinen a priori nicht bekannt ist, ob ein gegebenes Bildpaar überhaupt einen gemeinsamen Gewebereich abbildet, muss das Resultat darüber hinaus validiert werden. Die Entscheidung, ob der ermittelte Translationsvektor als gültig anzusehen ist und im Registrierprozess weiter verwendet werden kann oder aber als ungültig verworfen wird, geschieht auf der Basis des maximalen Korrelationswerts  $r = R(x_{max}, y_{max})$ .

Betrachtet man dazu zunächst die Phasenkorrelationsfunktion der Bilder in Abbildung 4.4, so zeigt sich ein einzelnes hohes Signal an der erwarteten Stelle, das aus einem flachen Grundrauschen herausragt. Abbildung 4.5 stellt die zugehörige Häufigkeitsdichte der Korrelationswerte (exklusive des Maximums) dar, die derjenigen einer Normalverteilung mit Mittelwert  $\mu = 0$  und einer Standardabweichung von  $\sigma \approx 0,005$  entspricht. Zur Validierung wird die Korrelationsfunktion  $R$  nun zunächst durch

$$R_n(x, y) = \frac{R(x, y) - \mu_R}{\sigma_R} \quad (4.53)$$

derart transformiert, dass die Normalverteilung ihrer Korrelationswerte in eine Standardnormalverteilung überführt wird [68, S. 832]. Der dazu erforderliche Mittelwert  $\mu$  und die Stan-

<sup>7</sup>Auch andere Funktionen werden in der Literatur vorgeschlagen, z.B. eine Gaußkurve, ein kubischer Spline oder der Sinus cardinalis.



**Abbildung 4.5:** Häufigkeitsdichte der Korrelationswerte der in Abbildung 4.4 dargestellten Phasenkorrelationsfunktion  $R$ ; die real gemessenen Häufigkeiten sind in Form eines Histogramms in der blauen Treppenfunktion dargestellt, die rote Kurve entspricht einer Normalverteilung mit  $\mu_R = 0$  und  $\sigma_R = 0,005$ .

Standardabweichung  $\sigma$  von  $R$  müssen nicht rechnerisch aus jeder für ein Bildpaar resultierenden Phasenkorrelationsfunktion  $R(x, y)$  bestimmt werden, sondern ergeben sich wie folgt.

Der Mittelwert von 0 resultiert aus der Verwendung mittelwertfreier Eingangsbilder  $I'_1, I'_2$  wegen  $\mathcal{I}(0, 0) = \bar{I}$ , weshalb nach Gleichung (4.49)  $\mathcal{R}(0, 0) = 0$  und damit  $\bar{R} = \mu_R = 0$  gilt. Es zeigt sich, dass die Standardabweichung nicht von den Intensitäten der Eingangsbilder, sondern ausschließlich von der Anzahl  $m \cdot n$  ihrer Pixel abhängt. Aufgrund der auf das Kreuzleistungsspektrum angewandten Normierung in Gleichung (4.49) gilt nämlich

$$|\mathcal{R}(\xi, \nu)| = 1 \quad (4.54)$$

für alle  $(\xi, \nu)$ <sup>8</sup> und nach dem Energiesatz der diskreten Fourier-Transformation (DFT) [82, S. 260, Gl. 5.94] und Gleichung (4.54)

$$\sum_{x,y} |R(x, y)|^2 = \frac{1}{mn} \sum_{\xi,\nu} |\mathcal{R}(\xi, \nu)|^2 \stackrel{(4.54)}{=} 1. \quad (4.55)$$

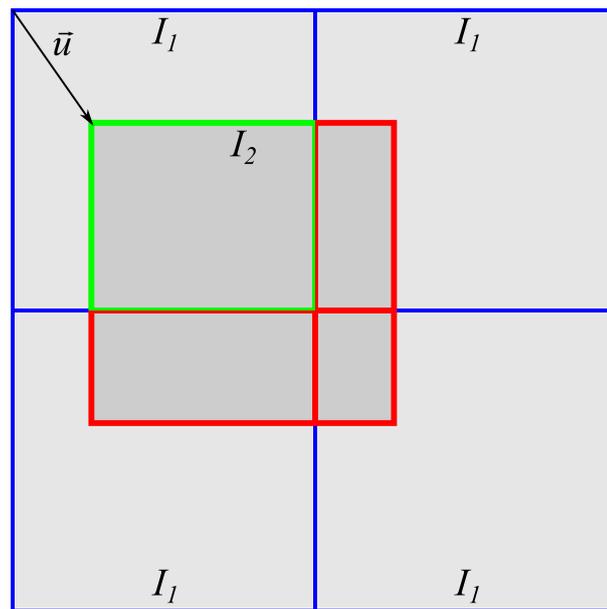
Mit der Definition der Varianz und Gleichung (4.55) folgt weiter

$$\begin{aligned} \text{Var}(R) &= \sum_{x,y} \frac{1}{mn} (R(x, y) - \mu_R)^2 \\ &= \frac{1}{mn} \sum_{x,y} (R(x, y))^2 \\ &= \frac{1}{mn} \sum_{x,y} |R(x, y)|^2 \stackrel{(4.55)}{=} \frac{1}{mn} \end{aligned} \quad (4.56)$$

und schließlich

$$\sigma_R = \sqrt{\text{Var}(R)} = \sqrt{\frac{1}{mn}}. \quad (4.57)$$

<sup>8</sup>Ausgenommen alle Stellen  $(\xi, \nu)$  mit  $\mathcal{R}(\xi, \nu) = 0$ , z.B.  $(\xi, \nu) = (0, 0)$ ; unter der berechtigten Annahme, dass dies höchstens auf einzelne Stellen zutrifft, spielen jene Stellen in den nachfolgend auftretenden Summen keine wesentliche Rolle.



**Abbildung 4.6:** Die Auswirkung der Annahme eines periodischen Signals bei der Berechnung der Phasenkorrelationsfunktion auf den Korrelationswert einer gegebenen Translation  $\vec{u}$ ; der grün umrandete Bereich kennzeichnet den sich eigentlich überlappenden Bereich der Bilder, der rot umrandete Bereich fließt jedoch ebenfalls in den Korrelationswert mit ein.

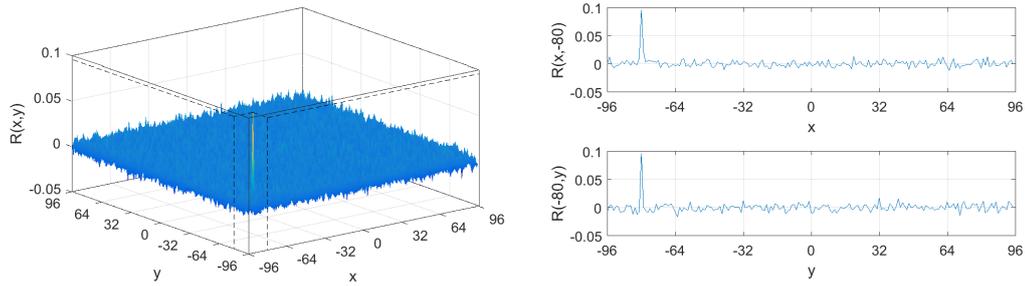
Mit den Werten  $m = n = 192$  aus Abbildung 4.4 ergibt sich der gemessene Wert von  $\sigma_R = \frac{1}{192} \approx 0,005$ .

Der normierte maximale Korrelationswert  $r_n = R_n(x_{max}, y_{max})$  lässt sich nun einfacher als  $r$  dahingehend interpretieren, wie stark sich das potentielle Signal  $r = R(x_{max}, y_{max})$  aus dem Grundrauschen abhebt und kann daher als Maß dafür gelten, mit welcher Wahrscheinlichkeit es sich bei dem Befund um ein korrektes Signal, also den Versatzvektor zwischen den beiden Bildern handelt. Auf die Validierung des Resultats der Phasenkorrelation wird an späterer Stelle näher eingegangen (s. Abschnitt 6.2).

#### 4.4.3 Interpretation der Bilder als periodische Signale

Bei der praktischen Anwendung ist zu beachten, dass die Fourier-Transformation eines Signals in den Frequenzraum stets unter der impliziten Annahme eines periodischen Signals geschieht. Die Abmessungen der zu transformierenden Bilddaten definieren dabei genau eine Periodenlänge in jeder Dimension, nach der sich die Funktion identisch wiederholt.

Diese Eigenschaft der Fourier-Transformation hat zweierlei Konsequenzen. Erstens gehen die Werte der Phasenkorrelationsfunktion somit nicht nur aus der Überlagerung der für eine gegebene Translation sich eigentlich überlappenden Teilflächen von  $I_1$  und  $I_2$  hervor, die in Abbildung 4.6 durch den grünen Rahmen gekennzeichnet sind. Es fließen auch die in der Abbildung rot umrandeten Bereiche in die Korrelationsberechnung mit ein. Zweitens sind die ermittelten Translationswerte im Sinne eines periodischen Signals stets modulo der Periodenlängen — also der Bildabmessungen — zu interpretieren. Dies ist insofern relevant, als dass bei zwei sich teilweise überlappenden Bildern mit einer Ausdehnung von  $n$  Pixeln in der betrachteten Dimension



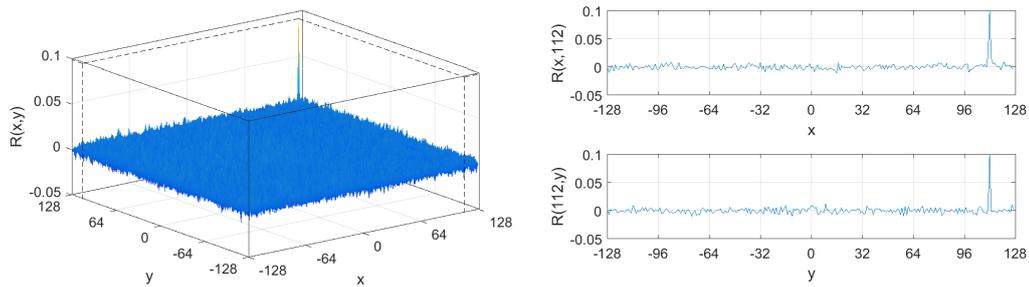
**Abbildung 4.7:** Phasenkorrelationsfunktion zweier Bilder  $I_1$  und  $I_2$  mit einem Versatz von jeweils genau 112 Pixeln in  $x$ - und  $y$ -Richtung ohne Erweiterung der Periodenlänge; als Bilder  $I_1$  und  $I_2$  wurden hierfür zwei quadratische Teilbereiche mit einer Kantenlänge von 192 Pixeln und entsprechendem Versatz aus einer HRT-Einzelaufnahme ausgeschnitten. Durch die Annahme eines periodischen Signals wird das Maximum bei einem Versatzwert von  $-80$  Pixeln (wegen  $-80 \equiv 112 \pmod{192}$ ) in beiden Koordinaten angezeigt.

prinzipiell Versatzwerte im offenen Intervall  $(-n, n)$  möglich sind, in dem aber (abgesehen von dem Wert 0) zu jedem beliebigen Wert  $u_1$  ein weiterer Wert  $u_2$  existiert mit  $u_1 \equiv u_2 \pmod{n}$ . Ohne Zusatzinformationen lässt sich allein aus der Phasenkorrelationsfunktion heraus folglich nicht entscheiden, ob es sich bei dem gefundenen Signal um einen Versatz um  $u_1$  oder um  $u_2$  Pixel handelt.

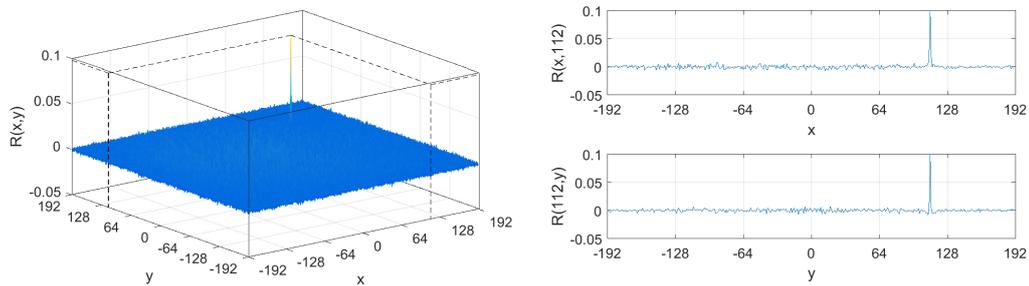
Um die beiden nachteiligen Effekte zu verringern, kann die Periodenlänge erhöht werden, indem die Bilder  $I'_1$  und  $I'_2$  vor der Anwendung der Fouriertransformation in einen entsprechend größeren Rahmen eingebettet werden; die Bereiche außerhalb des ursprünglichen Definitionsbereichs der Bilder werden mit der Intensität 0 belegt.<sup>9</sup> Dieser Vorgang wird auch als *Zero-Padding* bezeichnet [82, S. 267–268]. Betrachtet man wiederum eine der Dimensionen, so führt eine Ausdehnung der Periodenlänge um  $k$  auf  $k + n$  Pixel dazu, dass sich ein Maximum der Phasenkorrelationsfunktion im Bereich  $[-k, k]$  einem eindeutigen Versatzwert  $u$  zuordnen lässt, und der Korrelationswert sich ausschließlich aus den bei dieser Translation tatsächlich überlappenden Bildbereichen errechnet, da alle sonstigen Bildbereiche der erweiterten Fläche mit Intensität 0 überlagert sind. Offensichtlich werden die beschriebenen nachteiligen Effekte bei einer Wahl von  $k = n$  vollständig vermieden. Die Abbildungen 4.7 bis 4.9 zeigen exemplarisch die Auswirkungen einer Erweiterung der Periodenlänge um  $k = \frac{n}{3}$  bzw.  $k = n$  auf die Phasenkorrelationsfunktion zweier quadratischer Bilder mit Seitenlänge  $n = 192$ . Der Korrelationswert  $r$  bleibt praktisch unverändert (vgl. Höhe des Maximums in den Abb. 4.7 bis 4.9), da sich die Beiträge der (in Abbildung 4.6 rot gekennzeichneten) nicht korrekt überlappten Bildregionen aufgrund der Mittelwertkorrektur der Bilder annähernd aufheben. Es zeigt sich hingegen, dass sich mit zunehmender Erweiterung der Periodenlänge das Niveau des Grundrauschens in der Phasenkorrelationsfunktion signifikant verringert (vgl. Abb. 4.7 bis 4.9), und zwar nach Gleichung (4.57) von  $\sigma_R = \frac{1}{n}$  auf  $\sigma_R = \frac{1}{n+k}$ , weswegen der normierte Korrelationswert  $r_n$  um den Faktor  $\frac{n+k}{n}$  ansteigt.

Die beschriebenen Vorzüge führen allerdings zu einer erhöhten Laufzeit, da die Berech-

<sup>9</sup>Aufgrund der Verwendung mittelwertkorrigierter Bilder bleibt die mittlere Bildintensität unverändert bei 0.



**Abbildung 4.8:** Phasenkorrelationsfunktion der zwei Bilder  $I_1$  und  $I_2$  aus Abbildung 4.7 bei Erweiterung der Periodenlänge um  $k = \frac{n}{3}$  auf  $n + k = 256$  Pixel.



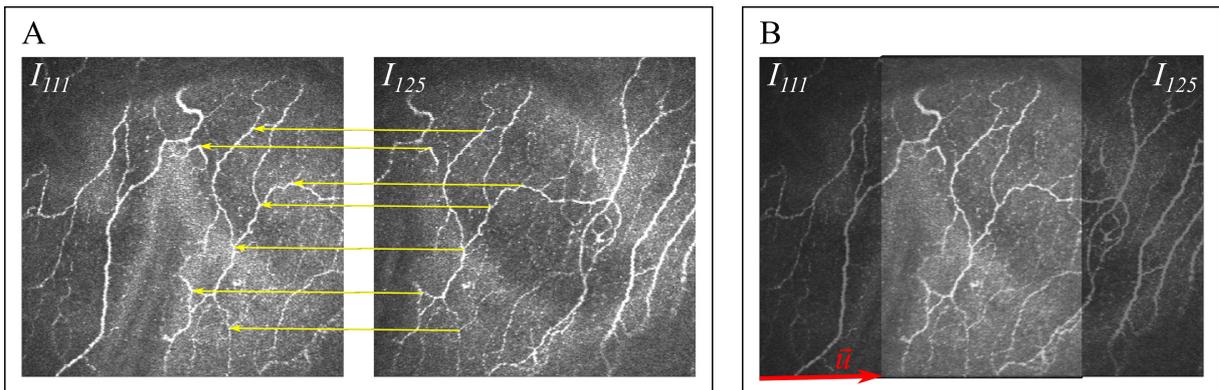
**Abbildung 4.9:** Phasenkorrelationsfunktion der zwei Bilder  $I_1$  und  $I_2$  aus Abbildung 4.7 bei Erweiterung der Periodenlänge um  $k = n$  auf  $n + k = 384$  Pixel.

nungsdauer der Fourier-Transformation und ihrer Inversen unter Verwendung der  $O$ -Notation eine von der Bildgröße  $m \cdot n$  abhängige Laufzeiteffizienz von  $O(mn \log(mn))$  aufweisen [83, S. 316]. Wie die Messungen in Abschnitt 6.3 zeigen werden, haben die Berechnung der Fourier-Transformierten bzw. der Rücktransformation einen signifikanten Anteil an der Gesamtlaufzeit.

## 4.5 Registrierung von Bildpaaren

Dieser Abschnitt beschreibt die Anwendung der Phasenkorrelationsfunktion zur Bestimmung eines Versatzes zwischen zwei diskreten Signalen auf Paare einer vorliegenden Bildserie. Im Gegensatz zum Abschnitt 4.4, in welchem die sich überlappenden Bildbereiche stets tatsächlich identisch waren, wird die Aufgabenstellung in der vorliegenden, realen Anwendung durch Effekte wie Bildrauschen, bewegungsinduzierte Bildverzerrungen oder unterschiedliche Lage der Fokusebene erschwert.

Es wird hier ein neuer zweistufiger Prozess der Bildregistrierung beschrieben, in dem die Phasenkorrelation zuerst auf der Basis des gesamten Bildfelds und anschließend, zur Abschätzung der Bewegungsartefakte, auf der Basis von aus mehreren Bildzeilen bestehenden Teilbildern angewandt wird. Der Abschnitt 4.5.3 befasst sich mit der Auswahl der zu registrierenden Bildpaare.



**Abbildung 4.10:** Die dargestellten Einzelaufnahmen  $I_{111}$  und  $I_{125}$  einer Aufnahmeserie sind weitgehend frei von Bewegungsartefakten (A). Sie lassen sich durch eine einfache Translation um den Vektor  $\vec{u} = (145, 24, -2, 29)^T$  (in Pixeln) einander fast perfekt überlagern (B). (CCM-Bilddaten: Sabine Peschel, Universitätsaugenklinik Rostock)

#### 4.5.1 Registrierung der Gesamtbilder

Seien  $I_i = I_i(x, y)$  und  $I_j = I_j(x, y)$  (mit  $i \neq j$ ) zwei Aufnahmen der Aufnahmeserie gemäß Gleichung (4.5). Gesucht sind korrespondierende Bildbereiche, also Teilbereiche von  $I_i$  und  $I_j$ , die dieselbe Geweberegion abbilden. Es sei zunächst angenommen, dass eine solche Korrespondenz existiert und beide Aufnahmen sich somit in Teilen überlappen.

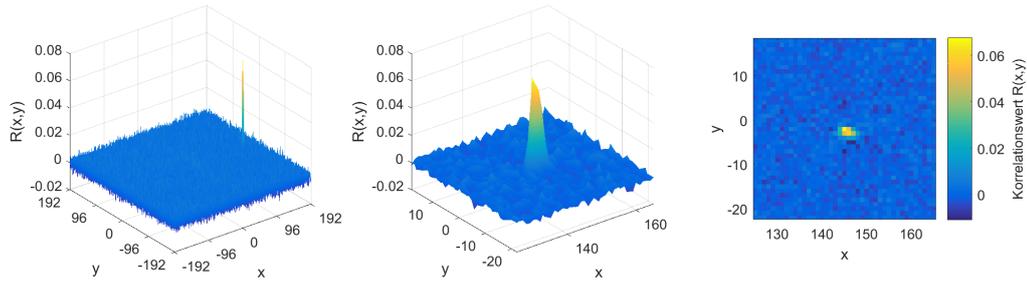
Sind beide Aufnahmen frei von Bewegungsartefakten, dann besteht, unter der Annahme der Torsionsfreiheit, eine rein translatorische Beziehung zwischen beiden Aufnahmen, d.h. es existiert ein Vektor

$$\vec{u} = \begin{pmatrix} u_x \\ u_y \end{pmatrix}, \quad (4.58)$$

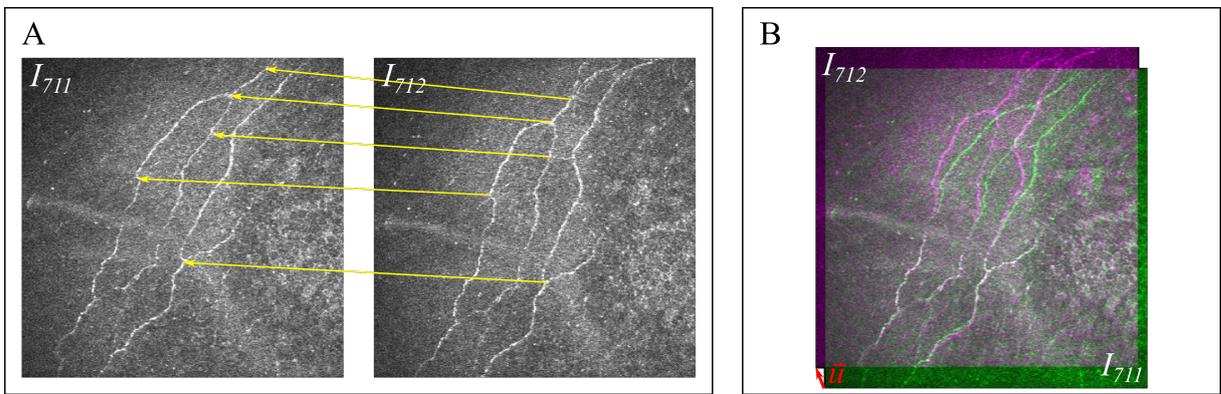
der die Aufnahmen einander korrekt überlagert (s. Abb. 4.10). Der gleiche Vektor  $\vec{u}$  entspricht hierbei auch für alle Paare von korrespondierenden Bildzeilen  $I_i^{(y_i)}$  und  $I_j^{(y_j)}$  der Differenz  $p_{j,y_j} - p_{i,y_i}$  ihrer Lagekoordinaten gemäß Gleichung (4.46), da sich diese jeweils auf den Koordinatenursprung der Aufnahmen beziehen.

Unter den beschriebenen Randbedingungen eignet sich die Phasenkorrelationsfunktion ideal zur Bestimmung der gesuchten Translation. Abbildung 4.11 zeigt die Phasenkorrelationsfunktion der beiden in Abbildung 4.10 dargestellten Aufnahmen. Der Maximalwert der Phasenkorrelationsfunktion an der Stelle  $(x, y) = (145, -2)$  ist deutlich erkennbar, mit dem Verfahren zur Schätzung des Subpixelanteils ergibt sich ein Versatzvektor  $\vec{u} = (145, 24, -2, 29)^T$ . Im Gegensatz zu den in Abschnitt 4.4 gezeigten Beispielen zur Erläuterung der Phasenkorrelationsfunktion ist der Impuls in der hier betrachteten Anwendung nicht auf ein einzelnes Pixel beschränkt, sondern über einen Bereich von wenigen Pixeln verteilt. Da die Gesamtenergie des Signals<sup>10</sup> einen konstanten, nur von der sich überlappenden Fläche abhängigen Wert annimmt, muss die

<sup>10</sup>Im kontinuierlichen Fall berechnet sich die Energie über das Integral des Signals über der Fläche, im vorliegenden diskreten Fall als Summe der Korrelationswerte.



**Abbildung 4.11:** Phasenkorrelationsfunktion der beiden Aufnahmen aus Abbildung 4.10 (links), ein Ausschnitt in der unmittelbaren Umgebung des Maximums (Mitte) und derselbe Ausschnitt in einer zweidimensionalen Darstellung (rechts).



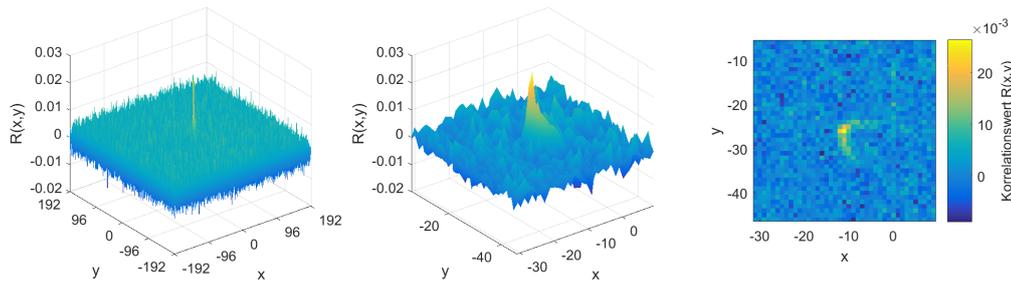
**Abbildung 4.12:** Die dargestellten Einzelaufnahmen  $I_{711}$  und  $I_{712}$  einer Aufnahmeserie enthalten deutlich erkennbare Bewegungsartefakte und lassen sich daher nicht durch eine einfache Translation einander überlagern. Es bestehen aber die durch Pfeile angedeuteten rein translatorischen Beziehungen zwischen den korrespondierenden Bildzeilenpaaren. Im Gegensatz zu Abbildung 4.10 sind die entsprechenden Verzatzvektoren nicht identisch. (CCM-Bilddaten: Sabine Peschel, Universitätsaugenklinik Rostock)

laterale Ausdehnung zwangsläufig zu einer Reduzierung des Maximalwerts führen.

Im Allgemeinen sind die Einzelaufnahmen nicht frei von Bewegungsartefakten und lassen sich daher nicht durch eine reine Translation des gesamten Bildes miteinander vollständig zur Deckung bringen. Gemäß den in Abschnitt 4.3 beschriebenen Grundannahmen bestehen jedoch auch in diesem Fall rein translatorische Beziehungen zwischen Paaren  $I_i^{(y_i)}$  und  $I_j^{(y_j)}$  miteinander korrespondierender Bildzeilen (s. Abb. 4.12). Die entsprechenden Differenzen

$$\vec{u}_{(i,y_i),(j,y_j)} = p_{j,y_j} - p_{i,y_i} \quad (4.59)$$

sind nun aber nicht mehr alle identisch. Dies manifestiert sich in der Phasenkorrelationsfunktion beider Bilder (s. Abb. 4.13) deutlich in Form eines lateral ausgedehnten und abgeflachten Signals mit signifikant geringerem Maximalwert. Der Ausdehnungsbereich des Signals wird durch sämtliche in den korrespondierenden Bildregionen auftretenden Zeilenversätze  $\vec{u}_{(i,y_i),(j,y_j)}$  definiert. Wird mit einem gegebenen Translationsvektor zwischen  $I_i$  und  $I_j$  nur eine einzelne Zeile beider Bilder korrekt überlappt, so besitzt das dadurch an der entsprechenden Stelle der Phasenkorrelationsfunktion hervorgerufene Signal eine derart geringe Intensität, dass es sich nicht



**Abbildung 4.13:** Phasenkorrelationsfunktion der beiden Aufnahmen aus Abbildung 4.12.

vom Rauschen abhebt. Erst wenn sich die Signalanteile mehrerer Bildzeilen aufaddieren, weil sie den gleichen Translationsvektor aufweisen, entsteht ein mit ausreichender Sicherheit vom Hintergrundrauschen separierbares Signal.

Das Ergebnis der Registrierung des Bildpaares wird abschließend mittels eines einfachen Schwellwertansatzes validiert. Die ermittelte Translation  $\vec{u}$  wird als korrekt akzeptiert, wenn der normierte Korrelationswert  $r_n$  einen vorzugebenden Schwellwert übersteigt. In diesem Fall wird das Bildpaar zur genaueren Analyse der Bewegungsartefakte der im folgenden Abschnitt 4.5.2 beschriebenen teilbildbasierten Registrierung zugeführt. Andernfalls wird das Resultat verworfen und die teilbildbasierte Registrierung für das vorliegende Bildpaar entfällt. Die Wahl des Schwellwerts beeinflusst maßgeblich die Qualität des am Ende des Gesamtprozesses entstehenden Mosaikbilds. Wird er zu niedrig angesetzt, so können fälschlicherweise als korrekt akzeptierte Bildkorrespondenzen die Schätzung der Bewegungstrajektorie  $\vec{s}(t)$  potentiell stark verfälschen, was das Endergebnis in der Regel unbrauchbar macht. Ein Verfahren zur geeigneten Wahl des Schwellwerts und die möglichen Konsequenzen einer nicht optimalen Wahl werden in Abschnitt 6.2 beschrieben.

#### 4.5.2 Registrierung von Teilbildern

Es seien  $I_i = I_i(x, y)$  und  $I_j = I_j(x, y)$  (mit  $i \neq j$ ) wiederum zwei Aufnahmen der Aufnahmeserie. Weiterhin wird im Folgenden angenommen, dass  $I_i$  und  $I_j$  bereits erfolgreich auf der Basis des gesamten Bildfelds registriert worden sind, dass also der daraus resultierende Translationsvektor  $\vec{u} = (u_x, u_y)^T$  den ungefähren Versatz zwischen den beiden Aufnahmen angibt. Präziser ausgedrückt wird nach den Erläuterungen im vorhergehenden Abschnitt 4.5.1 davon ausgegangen, dass ein Intervall von Bildzeilenindizes

$$Y_i = [y_1, y_1 + n] \tag{4.60}$$

in  $I_i$  und ein dazu korrespondierendes Intervall

$$Y_j = [y_2, y_2 + n] \tag{4.61}$$

in  $I_j$  existiert, in denen für alle Bildzeilenpaare  $I_i^{(y_i)}$  und  $I_j^{(y_j)}$  mit  $y_i \in Y_i$  und  $y_j \in Y_j$

$$\vec{u}_{(i,y_i),(j,y_j)} = \vec{u} \quad (4.62)$$

annähernd gilt.<sup>11</sup>

Zur Schätzung der Bewegungsartefakte in den Aufnahmen  $I_i$  und  $I_j$  werden nach der Registrierung des gesamten Bildfelds anschließend kleinere Bildbereiche der Aufnahmen zueinander registriert. Dazu wird zunächst  $I_j$  in disjunkte Teilbilder  $I_{j,k}$  mit voller Bildbreite und einer Höhe von  $h$  Pixeln zerlegt. Auf diese Weise entsprechen die Teilbilder einem zusammenhängenden Zeitintervall der Aufnahmedauer sowie dem zugehörigen Abschnitt der Bewegungstrajektorie  $\vec{s}(t)$ . Die Wahl einer geeigneten Teilbildhöhe  $h$  hängt von einigen Randbedingungen ab, vor allem hinsichtlich ihrer Konsequenzen für die zu erwartenden Ergebnisse der Registrierung. Mit abnehmendem  $h$  erhöht sich gewissermaßen die zeitliche Auflösung der Ergebnisse, zudem reduziert sich die maximale laterale Ausdehnung des Signalbereichs in der Phasenkorrelationsfunktion auf maximal etwa  $h$  diskrete Punkte, entsprechend den maximal  $h$  unterschiedlichen Zeilenversatzvektoren. Gleichzeitig steigt aber nach Gleichung (4.57) die Standardabweichung der Phasenkorrelationsfunktion an, was grundsätzlich die Stabilität der Registrierung beeinträchtigt. Ein Wert von

$$h = 32, \quad (4.63)$$

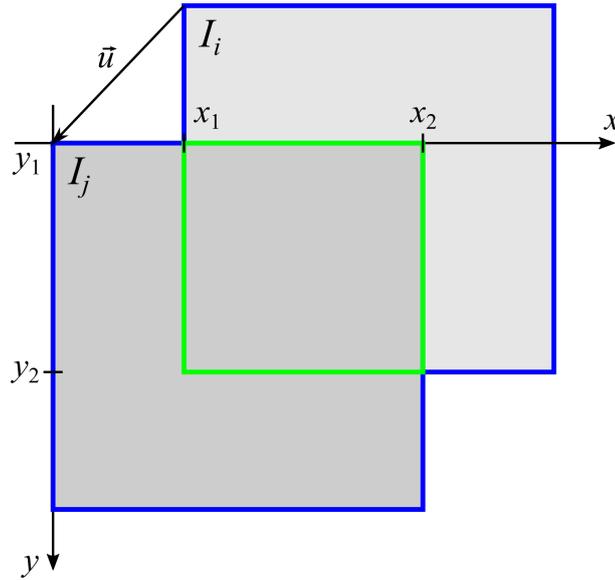
also eine Aufteilung von  $I_j$  in 12 Teilbilder  $I_{j,0}$  bis  $I_{j,11}$ , hat sich in der Praxis bezüglich der genannten Kriterien empirisch als geeignet erwiesen, eine weitergehende systematische Suche nach einer optimalen Teilbildhöhe wurde nicht vorgenommen.

Eine wichtige Idee bei der Teilbildregistrierung besteht darin, die Teilbilder  $I_{j,k}$  nicht mit dem gesamten Bildfeld von  $I_i$ , sondern nur mit dem korrespondierenden Ausschnitt aus  $I_i$  zu korrelieren.<sup>12</sup> Diese Vorgehensweise besitzt im Wesentlichen zwei Vorzüge. Erstens wird dadurch der zu erwartende Korrelationswert maximiert, was die Robustheit des Verfahrens erhöht. Zweitens ist der Ansatz effizienter bezüglich der Laufzeit, weil diese ganz wesentlich von den Größen der zu korrelierenden Bilder abhängt (vgl. Abschnitt 4.4). Eine notwendige Voraussetzung bei der Herangehensweise ist allerdings die Kenntnis eines guten Schätzwerts  $\hat{u}_{i,j,k}$  für den Versatz zwischen  $I_i$  und  $I_{j,k}$ .

Für die erste Schätzung einer Teilbildkorrespondenz wird auf die Gleichungen (4.60) bis (4.62) zurückgegriffen. Es seien dazu  $[x_1, x_2]$  bzw.  $[y_1, y_2]$  die Koordinaten in  $I_j$  des sich mit  $I_i$  überlappenden Bildbereichs, wie in Abbildung 4.14 dargestellt. Auf dieser Basis werden zeilen-

<sup>11</sup>Der Theorie nach müssen die Bildzeilen mit identischem Versatzvektor  $\vec{u}_{(i,y_i),(j,y_j)}$  nicht zusammenhängend sein; da sich die Zeilenversätze jedoch unmittelbar aus den Augenbewegungen ergeben, die den Gesetzen der Physik, insbesondere einer maximal möglichen Beschleunigung, unterworfen sind, beschränkt die Annahme eines zusammenhängenden Bildbereichs mit identischem Translationsvektor bezogen auf die vorliegende Aufgabenstellung die Allgemeinheit der Aussage nicht.

<sup>12</sup>Es sei bereits hier angemerkt, dass der genannte korrespondierende Bereich in  $I_i$  in der Regel keinem der Teilbilder  $I_{i,t}$  von  $I_i$  entspricht. Dies wird bei der Schätzung des Bewegungsverlaufs von Bedeutung sein.



**Abbildung 4.14:** Darstellung der Grenzen des Überlappungsbereichs zweier Aufnahmen  $I_i$  und  $I_j$  bei Translation um einen Versatzvektor  $\vec{u}$ .

weise die Korrelationswerte

$$c(y) = \sum_{x=x_1}^{x_2} (I_i(x + u_x, y + u_y) I_j(x, y)) \quad (4.64)$$

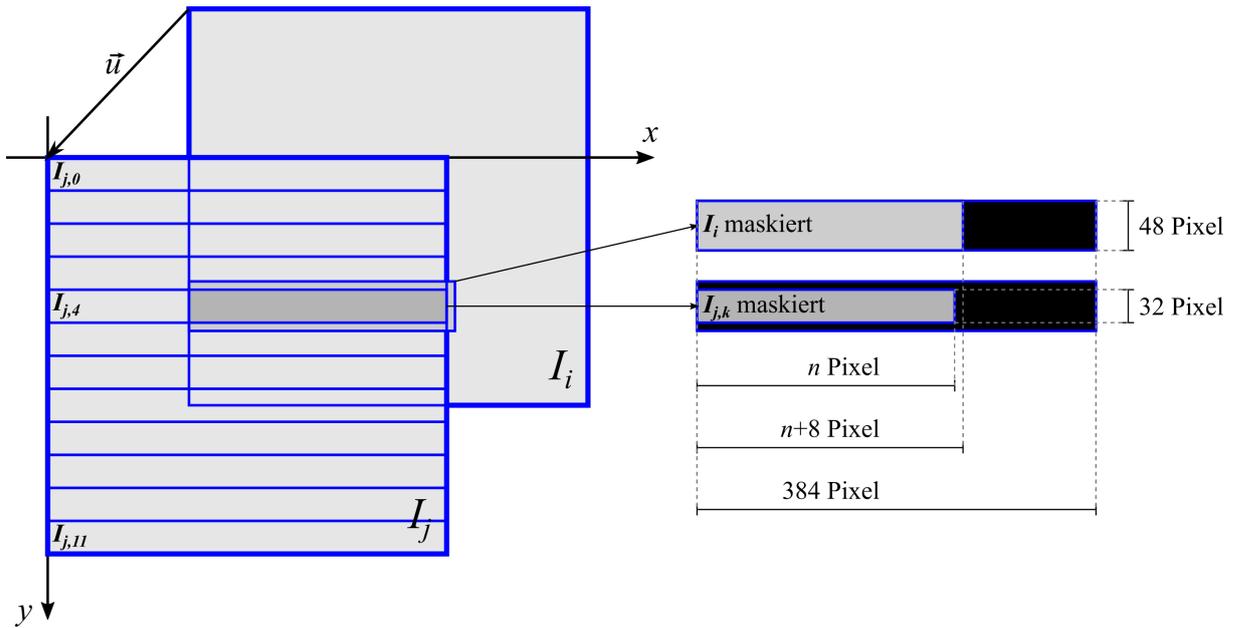
der Bildzeilen  $I_j^{(y)}$  im überlappenden Bereich berechnet.

Für solche Bildzeilen  $I_j^{(y)}$ , die durch  $\vec{u}$  korrekt auf die korrespondierende Zeile in  $I_i$  abgebildet werden, resultiert ein hoher Korrelationswert  $c(y)$ , für alle anderen sind geringere Korrelationswerte zu erwarten. Wenn die Zeile  $y_{cmax} = \arg \max(c(y))$  mit dem höchsten Korrelationswert nach Gleichung (4.64) durch  $\vec{u}$  korrekt auf das Bild  $I_i$  abgebildet wird, dann liegt sie in dem durch Gleichung (4.61) definierten Bereich, und es ist davon auszugehen, dass selbiges auch für mehrere der benachbarten Bildzeilen gilt. Die Translation  $\vec{u}$  kann daher als a priori-Approximation  $\hat{\vec{u}}_{i,j,k_{start}}$  des Versatzes für dasjenige Teilbild  $I_{j,k_{start}}$  gelten, das den Zeilenindex  $y_{cmax}$  enthält. Unter Verwendung der Abrundungsfunktion  $\lfloor \cdot \rfloor$  [68, S. 1229] ergibt sich der Teilbildindex  $k_{start}$  aus  $y_{cmax}$  zu

$$k_{start} = \left\lfloor \frac{y_{cmax}}{h} \right\rfloor. \quad (4.65)$$

Der Prozess der Teilbildregistrierung zwischen  $I_i$  und  $I_j$  beginnt mit dem Teilbild  $I_{j,k_{start}}$  und wird mit den nach unten folgenden Teilbildern  $I_{j,k_{start}+1}$  bis  $I_{j,11}$  fortgesetzt. Für  $I_{j,k_{start}+1}$  dient der aus der ersten Teilbildregistrierung resultierende Versatzvektor  $\vec{u}_{i,j,k_{start}}$  zur a priori-Approximation des Versatzes, für die folgenden Teilbilder  $I_{j,k}$  wird sie gemäß

$$\hat{\vec{u}}_{i,j,k} = \vec{u}_{i,j,k-1} + (\vec{u}_{i,j,k-1} - \vec{u}_{i,j,k-2}) \quad (4.66)$$



**Abbildung 4.15:** Maskierung der Bilder  $I_i$  und  $I_{j,k}$  vor der Berechnung der Teilbildregistrierung auf der Basis des geschätzten Versatzes.

aus den Registrierergebnissen  $\vec{u}_{i,j,k-1}$  und  $\vec{u}_{i,j,k-2}$  von  $I_{j,k-1}$  respektive  $I_{j,k-2}$  linear extrapoliert. Im Anschluss wird der gleiche Prozess analog für die nach oben auf  $I_{j,k_{start}}$  folgenden Teilbilder  $I_{j,k_{start}-1}$  bis  $I_{j,0}$  angewandt, wobei sich die a priori-Approximation des Versatzes zu

$$\hat{\vec{u}}_{i,j,k} = \vec{u}_{i,j,k+1} + (\vec{u}_{i,j,k+1} - \vec{u}_{i,j,k+2}) \quad (4.67)$$

ergibt. In beiden Richtungen wird der Prozess vorzeitig abgebrochen, sobald aufgrund der a priori-Approximation des Versatzes keine Überlappung mehr zwischen  $I_i$  und  $I_{j,k}$  erwartet wird.

Wie bereits erwähnt, sollen bei der Teilbildregistrierung nur die tatsächlich sich überlappenden Bildbereiche korreliert werden. Dazu werden sowohl  $I_i$  als auch  $I_{j,k}$  wie in Abbildung 4.15 dargestellt maskiert, d.h. alle sich gemäß  $\hat{\vec{u}}_{i,j,k}$  nicht überlappenden Bildbereiche werden ausmaskiert. Die Maske für  $I_i$  wird dabei allerdings etwas größer gewählt (8 Pixel in jeder Richtung), um Ungenauigkeiten bei  $\hat{\vec{u}}_{i,j,k}$  kompensieren zu können. Die Intensität der ausmaskierten Bildbereiche wird auf den Mittelwert der verbleibenden Bildinformation gesetzt.<sup>13</sup>

Mit der gleichen Begründung wie bei der Gesamtbildregistrierung wird das durch den Maskierungsprozess entstandene, jeweils  $384 \times 48$  Pixel große Bildpaar durch Zero-Padding (s. Abschnitt 4.4.3) mit einem Drittel der Bildabmessungen auf eine Größe von  $512 \times 64$  Pixeln erweitert. Das Bildpaar wird mittels der Phasenkorrelationsfunktion wie in Abschnitt 4.4 beschrieben registriert. Aufgrund der a priori-Approximation des Versatzes und der Maskierung wird in diesem Fall ein resultierender Versatz  $\vec{u}'_{i,j,k}$  nahe  $\vec{0}$  erwartet, der als Korrekturvektor zu  $\hat{\vec{u}}_{i,j,k}$  zu

<sup>13</sup>Das hat den Hintergrund, dass der Mittelwert des entstehenden Bildes dem des maskierten Bildbereichs entspricht und hohe Intensitätsgradienten an den Maskengrenzen vermieden werden. Bei der in Abschnitt 4.4 beschriebenen Mittelwertkorrektur erhalten die ausmaskierten Bildbereiche dann die Intensität 0.

verstehen ist. Der endgültige Versatzvektor ergibt sich folglich zu

$$\vec{u}_{i,j,k} = \hat{u}_{i,j,k} + \vec{u}'_{i,j,k}. \quad (4.68)$$

Analog zur Registrierung der gesamten Bildfelder muss auch bei der Teilbildregistrierung das Ergebnis durch Vergleich des resultierenden Korrelationswerts mit einem zuvor gewählten Schwellwert validiert werden. Da die Korrelationswerte wegen der von der Gesamtbildregistrierung abweichenden Vorgehensweise eine etwas andere Verteilung aufweisen, wird hierfür ein eigener Schwellwert verwendet, der jedoch ganz analog bestimmt werden kann (s. Kap. 6).

Nach der Berechnung der Teilbildregistrierungen für ein Bildpaar  $I_i$  und  $I_j$  und deren Validierung gegen einen Schwellwert erfolgt ein zusätzlicher Validierungsschritt, bei dem die Anzahl der akzeptierten Teilbildregistrierungen für das Bildpaar geprüft wird. Liegt diese unter 3, so werden sämtliche Ergebnisse für das betrachtete Bildpaar verworfen. Bei tatsächlich miteinander korrespondierenden Aufnahmen sind die Ergebnisse der Teilbildregistrierung für benachbarte Teilbilder nämlich nicht unabhängig, sondern weisen im Gegenteil oft ähnliche Korrelationswerte (und Versatzvektoren) auf. Wird dabei für ein Teilbild ein ausreichend hoher Korrelationswert erzielt, dann mit hoher Wahrscheinlichkeit auch für die benachbarten Teilbilder. Bei einem Aufnahme paar ohne korrespondierende Bildbereiche wird dagegen von einer weitgehenden Unabhängigkeit der Ergebnisse der Teilbildregistrierungen ausgegangen. Die Häufung mehrerer nur zufällig auftretender hoher Korrelationswerte bei den Teilbildern eines solchen Bildpaars ist daher entsprechend unwahrscheinlich.

### 4.5.3 Auswahl von zu registrierenden Bildpaaren

Die Auswahl der registrierten Bildpaare hat einen großen Einfluss auf das resultierende Mosaikbild. Im Folgenden werden verschiedene Auswahlstrategien beschrieben, die im Kapitel 6 evaluiert werden. Der Einfachheit halber soll ein Bildpaar  $I_i$  und  $I_j$  hierfür als Tupel seiner Bildindizes  $(i, j)$  bezeichnet werden. Es sei  $N$  die Anzahl der Einzelaufnahmen der Aufnahmeserie und es gelte stets  $0 \leq i < j < N$ . Teilweise wird in den folgenden Betrachtungen eine graphentheoretische Interpretation der Bildserienregistrierung und der Auswahlstrategien gewählt. Jede Einzelaufnahme  $I_i$  der Bildserie entspricht dabei genau einem Knoten  $i$  und jede akzeptierte Registrierung eines Bildpaars  $(i, j)$  einer Kante  $(i, j)$  eines ungerichteten, ungewichteten Graphen. Die aufgrund geringer Korrelationswerte verworfenen Registrierungen werden in dieser Interpretation nicht berücksichtigt. Der derart aufgebaute Graph wird im Folgenden als *Registriergraph* bezeichnet.

#### Strategie 1 – Minimalstrategie

Offensichtlich muss jedes Bild mit mindestens einem anderen Bild registriert worden sein, um auf seine korrekte Lage im Mosaikbild schließen zu können. Zudem müssen zwei Bilder  $I_i$  und  $I_j$  im Registriergraphen über eine Folge von Kanten miteinander verbunden sein, um sie zueinander in Beziehung setzen zu können. Allgemein muss der Registriergraph zusammenhängend sein,

um alle Einzelaufnahmen zu einem einzigen Mosaikbild zu fusionieren; andernfalls kann aus jedem zusammenhängenden Teilgraphen ein Mosaikbild erzeugt werden. Die minimale Anzahl von Kanten in einem zusammenhängenden Graphen mit  $N$  Knoten beträgt  $N - 1$ .<sup>14</sup> Es ist naheliegend, für eine solche minimale Strategie alle in unmittelbarer Folge akquirierten Bildpaare zu registrieren, da sie in der Regel einen hohen Grad an Überlappung aufweisen und sich, abgesehen von seltenen Fällen mit extremen Bewegungsartefakten, sehr zuverlässig registrieren lassen. Die Menge der zu registrierenden Bildpaare ergibt sich folglich zu

$$P_{Min} = \{(i, i + 1) \mid 0 \leq i < N - 1\}. \quad (4.69)$$

Bei dieser Vorgehensweise können sich allerdings kleine Ungenauigkeiten bei den Bildpaarregistrierungen über die Serie derart aufsummieren, dass sich bei überlappenden Bildern  $I_i$  und  $I_{i+k}$  mit großem  $k$  signifikante Lagefehler ergeben [84]. Solche Lagefehler können sich etwa in der mehrfachen Abbildung von Nervenstrukturen manifestieren und das Mosaikbild für die Charakterisierung des SNP praktisch unbrauchbar machen.

### Strategie 2 – Maximalstrategie

Neben der beschriebenen Minimalstrategie soll mit einer Maximalstrategie, bei der alle Bildpaare  $(i, j)$  mit  $i < j$  registriert werden, auch der maximal mögliche Aufwand betrachtet werden. Die Menge der insgesamt  $\frac{N(N-1)}{2}$  zu registrierenden Bildpaare ist durch

$$P_{Max} = \{(i, j) \mid 0 \leq i < j < N\} \quad (4.70)$$

gegeben. Von diesem Ansatz ist das bestmögliche Mosaikbild zu erwarten, da die relative Lage von Bildpaaren mit korrespondierenden Bildbereichen nicht über lange Ketten von Bildpaarregistrierungen abgeleitet werden muss, sondern aus der direkten Registrierung des Bildpaars ermittelt wird.

### Strategie 3 – konstante Schrittweite

Die dritte Strategie basiert auf der Annahme, dass bei erfolgreicher Registrierung eines Bildpaars  $(i, j)$  aufgrund der Stetigkeit der Augenbewegungen auch die Bildpaare  $(i, j \pm a)$  mit kleinem  $a$  mit hoher Wahrscheinlichkeit erfolgreich registriert werden können, damit aber nur ein geringer Zugewinn an neuer Information einher geht. Es genügt daher, für eine geeignet vorgegebene Schrittweite  $\delta \in \mathbb{N}$ , nur alle Bildpaare in

$$P_{KS}(\delta) = \{(i, i + 1 + k\delta) \mid k \in \mathbb{N}_0, i \geq 0, i + 1 + k\delta < N\} \quad (4.71)$$

zu registrieren. Die letztgenannte Bedingung  $i + 1 + k\delta < N$  lässt sich auch durch die äquivalente Ungleichung  $k < \lceil \frac{N-i-1}{\delta} \rceil$  ersetzen.<sup>15</sup> Die geeignete Wahl der Schrittweite hängt maßgeblich

<sup>14</sup>Es handelt sich bei dem Graphen dann um einen Baum.

<sup>15</sup>Die in der Ungleichung verwendete Aufrundungsfunktion  $\lceil \cdot \rceil$  sei ganz analog zur Abrundungsfunktion  $\lfloor \cdot \rfloor$  (s. [68, S. 1229]) definiert als kleinste ganze Zahl größer gleich ihrem Argument.

von der durchschnittlichen Geschwindigkeit der Augenbewegungen ab. Sei  $v = \left| \dot{\vec{s}} \right|$  die Absolutgeschwindigkeit der Augenbewegungen bezüglich des Mosaikbildkoordinatensystems entlang der Trajektorie  $\vec{s}(t)$  und  $\bar{v}$  deren Mittel, dann ist  $d = \bar{v}T_B$  (mit  $T_B$  aus Gleichung (4.6)) der mittlere absolute Versatz zweier aufeinanderfolgender Einzelaufnahmen. Geeignete Werte für die Schrittweite liegen dann im Bereich  $\delta < \frac{l_B}{d}$  (mit  $l_B$  aus Gleichung (4.3)), sodass sich ein mittlerer Versatz von weniger als einem Bildfeld zwischen  $I_j$  und  $I_{j+\delta}$  einstellt. Unabhängig vom gewählten  $\delta$  umfasst dieser Ansatz immer alle Bildpaare der Minimalstrategie. Für  $\delta = 1$  ergibt sich die Maximalstrategie, für andere Werte von  $\delta$  verringert sich die Anzahl der zu registrierenden Bildpaare bezogen auf die Maximalstrategie um einen Faktor von annähernd  $\delta$ .

## 4.6 Schätzung des Bewegungsverlaufs der Aufnahmeserie

Durch die Art und Weise der Zerlegung der  $N$  Einzelaufnahmen  $I_i$  bei der Teilbildregistrierung in streifenförmige Teilbilder  $I_{i,k}$  (mit  $0 \leq i < N$  und  $0 \leq k < 12$ ) entspricht jedes Teilbild einem zusammenhängenden Aufnahmezeitintervall der Länge

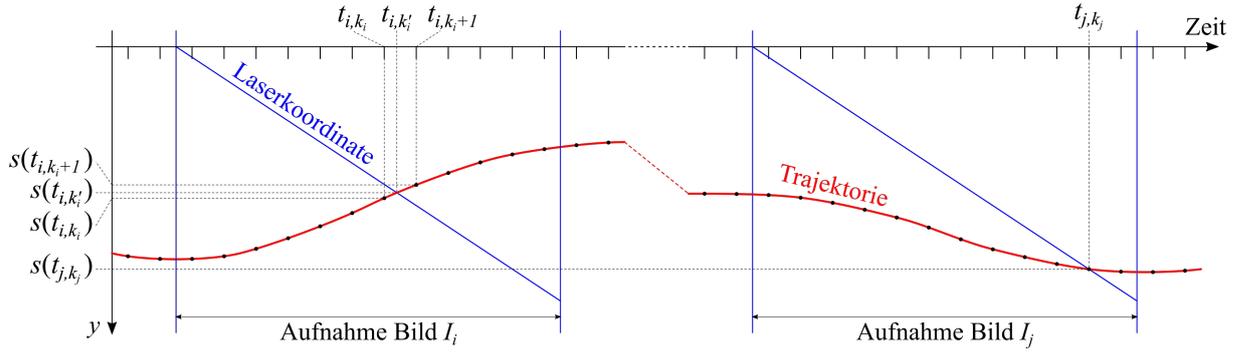
$$T_{TB} = hT_Z = h \frac{T_B}{384} \approx 2,08 \text{ ms} \quad (4.72)$$

mit der Teilbildhöhe  $h = 32$  Pixel aus Gleichung (4.63) und der Aufnahmedauer einer Bildzeile  $T_Z$  aus Gleichung (4.7). Unterteilt man zusätzlich die zwischen den Einzelaufnahmen auftretenden, technisch bedingten Aufnahmepausen der Länge  $T_P$  (aus Gleichung (4.8)) in vier Zeitintervalle der Länge  $\frac{T_P}{4} \approx 2 \text{ ms} \approx T_{TB}$ , so erhält man eine annähernd gleichmäßige Zerlegung der gesamten Aufnahmedauer der Bildserie.

Es ist für die folgenden Ausführungen zweckmäßig, für jede der Aufnahmepausen die ersten beiden ihrer vier Zeitintervalle logisch der vorhergehenden und die letzten beiden der folgenden Aufnahme zuzuordnen. Abgesehen von der ersten und der letzten Einzelaufnahme der Aufnahmeserie,  $I_0$  und  $I_{N-1}$ , sind dann mit jeder Einzelaufnahme genau 16 Zeitintervalle assoziiert, nämlich zwei der vorhergehenden Aufnahmepause, zwölf für ihre Teilbilder und zwei der nachfolgenden Aufnahmepause. Fügt man vor der ersten Einzelaufnahme  $I_0$  und nach der letzten Einzelaufnahme  $I_{N-1}$  jeweils zwei virtuelle Pausenintervalle hinzu, so ergibt sich für die gesamte Aufnahmeserie eine konsekutive Folge von insgesamt  $16N$  Zeitintervallen.

Es seien nun  $t_{i,k}$  mit  $0 \leq k \leq 11$  jeweils die Mittelpunkte der Aufnahmeintervalle der Teilbilder  $I_{i,k}$ ,  $t_{i,-2}$  und  $t_{i,-1}$  die Mittelpunkte der zwei  $t_{i,0}$  vorausgehenden, sowie  $t_{i,12}$  und  $t_{i,13}$  die Mittelpunkte der zwei auf  $t_{i,11}$  folgenden Pausenintervalle.<sup>16</sup> Dann bilden die derart definierten  $t_{i,k}$  eine Folge von annähernd äquidistanten Zeitpunkten. Diese werden im Folgenden als Stützstellen für zu schätzende Stützpunkte  $\vec{s}(t_{i,k})$  auf der gesuchten Bewegungstrajektorie  $\vec{s}(t)$  verwendet. Für die den Teilbildern zugeordneten Zeitpunkte  $t_{i,k}$  entsprechen die Stützpunkte  $\vec{s}(t_{i,k})$  den (mittleren) Lagekoordinaten der Teilbilder.

<sup>16</sup>Die Punkte  $t_{0,-2}$ ,  $t_{0,-1}$ ,  $t_{N-1,12}$  und  $t_{N-1,13}$  korrespondieren strenggenommen natürlich mit keiner Aufnahmepause, stören aber auch nicht bei der weiteren Beschreibung und erweisen sich später sogar als hilfreich bei der Randwertbetrachtung.



**Abbildung 4.16:** Schematische Darstellung zur Ableitung einer Relation zwischen Stützpunkten der Bewegungstrajektorie aus einer Teilbildregistrierung. Die rot dargestellte Trajektorie zeigt den Verlauf einer Lagekoordinate eines einzelnen Gewebepunkts, der in den Aufnahmen  $I_i$  und  $I_j$  erfasst wird. Aus der Bildkoordinate des Punkts in beiden Aufnahmen, die durch den Schnittpunkt mit der blau dargestellten Lasertrajektorie eindeutig definiert ist, kann auf die Zeitpunkte  $t_{i,k'_i}$  und  $t_{j,k_j}$  zurückgeschlossen werden (angepasst aus [85]).

Es sei nun  $\vec{u}_{i,j,k_j}$  der in der Teilbildregistrierung des Teilbilds  $I_{j,k_j}$  mit dem Bild  $I_i$  ermittelte und validierte Versatzvektor. Der Vektor definiert eine Relation

$$\vec{u}_{i,j,k_j} = \vec{s}(t_{j,k_j}) - \vec{s}(t_{i,k'_i}) \quad (4.73)$$

zwischen  $I_{j,k_j}$  und einer Region von  $I_i$ , wobei  $t_{i,k'_i}$  der Mittelpunkt des Aufnahmeintervalls der mit  $I_{j,k_j}$  korrespondierenden Region in  $I_i$  ist. Der Zeitpunkt  $t_{i,k'_i}$  ist bekannt, da er direkt aus der mittleren vertikalen Koordinate der Region abgeleitet werden kann. In der Regel entspricht diese Region nicht einem der Teilbilder von  $I_i$ , sondern überschneidet sich mit zwei Teilbildern  $I_{i,k_i}$  und  $I_{i,k_{i+1}}$ . Der Zeitpunkt  $t_{i,k'_i}$  liegt dann zwischen den beiden Stützstellen  $t_{i,k_i}$  und  $t_{i,k_{i+1}}$  und entsprechend der Punkt  $\vec{s}(t_{i,k'_i})$  zwischen den beiden Stützpunkten  $\vec{s}(t_{i,k_i})$  und  $\vec{s}(t_{i,k_{i+1}})$ . Abbildung 4.16 stellt die Situation für den eindimensionalen Fall dar. Es sei nun

$$q = \frac{t_{i,k'_i} - t_{i,k_i}}{t_{i,k_{i+1}} - t_{i,k_i}} \quad (4.74)$$

die Lage von  $t_{i,k'_i}$  bezüglich den benachbarten Stützstellen. Durch lineare Interpolation zwischen den benachbarten Stützstellen ergibt sich dann

$$\begin{aligned} \vec{s}(t_{i,k'_i}) &= \vec{s}(t_{i,k_i}) + q(\vec{s}(t_{i,k_{i+1}}) - \vec{s}(t_{i,k_i})) \\ &= q\vec{s}(t_{i,k_{i+1}}) + (1 - q)\vec{s}(t_{i,k_i}) \end{aligned} \quad (4.75)$$

und mit Gleichung (4.73) die lineare Beziehung

$$\vec{u}_{i,j,k_j} = \vec{s}(t_{j,k_j}) - q\vec{s}(t_{i,k_{i+1}}) - (1 - q)\vec{s}(t_{i,k_i}) \quad (4.76)$$

zwischen dem in der Teilbildregistrierung ermittelten Versatzvektor und drei der Stützpunkte auf der gesuchten Bewegungstrajektorie.

### 4.6.1 Formulierung eines linearen Gleichungssystems

Die Beziehungen nach Gleichung (4.76) aller akzeptierten Teilbildregistrierungen bilden zusammen ein lineares Gleichungssystem (LGS)

$$WS = U. \quad (4.77)$$

$S$  und  $U$  sind zweispaltige Matrizen, wobei jeweils die erste Spalte die  $x$ -Koordinaten der  $\vec{s}$  bzw.  $\vec{u}$  und die zweite Spalte die zugehörigen  $y$ -Koordinaten enthält. Die weiteren Dimensionen der Matrizen ergeben sich aus der Anzahl  $N$  der Einzelaufnahmen in der Bildserie und der Anzahl  $M$  der akzeptierten Teilbildregistrierungen zu

$$W^{(M \times 16N)} S^{(16N \times 2)} = U^{(M \times 2)}. \quad (4.78)$$

Seien  $0 \leq m < M$  der Zeilenindex von  $W$  und  $U$  und

$$\vec{u}_{i,j,k_j} = \vec{s}(t_{j,k_j}) - q\vec{s}(t_{i,k_i+1}) - (1-q)\vec{s}(t_{i,k_i}) \quad (4.79)$$

die zur  $m$ -ten Zeile von  $W$  und  $U$  korrespondierende Beziehung gemäß Gleichung (4.76). Sei weiterhin  $-2 \leq n < 16N - 2$  der Spaltenindex von  $W$  und der Zeilenindex von  $S$ . Dann ist die Systemmatrix  $W = w_{m,n}$  durch

$$w_{m,n} = \begin{cases} -(1-q) & \text{für } n = 16i + k_i \\ -q & \text{für } n = 16i + k_i + 1 \\ 1 & \text{für } n = 16j + k_j \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (4.80)$$

definiert, enthält also in jeder Zeile die drei Koeffizienten aus der ihr zugeordneten Gleichung (4.79). Die Matrix  $S$  enthält als Zeilenvektoren die  $16N$  gesuchten Stützpunkte,

$$S = \begin{pmatrix} \vec{s}(t_{0,-2})^T \\ \vdots \\ \vec{s}(t_{0,13})^T \\ \vec{s}(t_{1,-2})^T \\ \vdots \\ \vec{s}(t_{N-1,13})^T \end{pmatrix}, \quad (4.81)$$

während sich die Zeilenvektoren

$$U^{(m)} = \vec{u}_{i,j,k_j}^T \quad (4.82)$$

der Matrix  $U$  aus den  $M$  ermittelten Teilbildversatzvektoren aus Gleichung (4.79) ergeben.

### 4.6.2 Regularisierung des linearen Gleichungssystems

Unabhängig von der Anzahl  $M$  der durchgeführten Registrierungen, die in der Regel die Zahl der Unbekannten,  $16N$ , um ein Vielfaches übersteigt, ist die Anzahl der linear unabhängigen Gleichungen in dem im vorigen Abschnitt 4.6.1 definierten LGS, und damit auch der Rang der Systemmatrix  $W$ , stets deutlich geringer als die Anzahl der Unbekannten. Ein solches System wird auch als *rangdefizient* bezeichnet [68, S. 322, Abschnitt 4.5.3.2]. Effektiv verbleiben dadurch Freiheitsgrade im Gleichungssystem, die seine eindeutige Lösung verhindern. Um sie aus dem System zu entfernen, müssen zusätzliche Randbedingungen für die zu ermittelnden Unbekannten formuliert werden; dieser in realen Problemstellungen häufig erforderliche Schritt wird *Regularisierung* des Gleichungssystems genannt [86]. Im vorliegenden Fall lassen sich die verbleibenden Freiheitsgrade unmittelbar auf zwei Ursachen zurückführen, die im Folgenden kurz dargestellt werden.

Ein Freiheitsgrad in jeder Dimensionen entsteht dadurch, dass ausschließlich Differenzgleichungen in das System eingehen, es fehlt folglich ein absoluter Bezug auf einen definierten Punkt des Koordinatensystems. Die Wahl des Absolutbezugs ist für alle praktischen Belange unerheblich, die Regularisierung kann also z.B. einfach dadurch erfolgen, dass der Koordinatenursprung mit dem ersten Stützpunkt identifiziert wird. Dies lässt sich einfach in Form einer zusätzlichen Gleichung

$$\vec{s}(t_{0,-2}) = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (4.83)$$

umsetzen, wodurch sich das erweiterte LGS

$$W_r S = U_r \quad (4.84)$$

mit der um eine Zeile erweiterten Systemmatrix

$$W_r = \begin{pmatrix} 1 & 0 & \cdots & 0 \\ & & & W \end{pmatrix} \quad (4.85)$$

und der ebenfalls um eine Zeile erweiterten Matrix

$$U_r = \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ & U \end{pmatrix} \quad (4.86)$$

der Versatzvektoren ergibt.

Alle anderen verbleibenden Freiheitsgrade entstehen durch Stützpunkte, die in keiner der Gleichungen des Gleichungssystems vorkommen. Das gilt insbesondere für alle Stützstellen in den Aufnahmepausen,  $t_{i,k}$  mit  $k \in \{-2, -1, 12, 13\}$ ,<sup>17</sup> aber auch für solche Stützpunkte, die mit einem Teilbild assoziiert sind, welches etwa durch seine Lage am Rand des Aufnahmebereichs

<sup>17</sup>Die Definition der Indizes  $k$  erfolgte in der Einleitung zu Abschnitt 4.6; vgl. außerdem Abb. 4.16.

keine mit einer anderen Aufnahme korrespondierenden Bildbereiche aufweist, oder welches sich aufgrund sehr stark ausgeprägter Bewegungsartefakte mit keiner anderen Aufnahme zuverlässig registrieren lässt. Offensichtlich kann das Gleichungssystem per se für diese Stützpunkte keine Lösung liefern. In der Systemmatrix  $W$  äußern sie sich durch Spalten, die ausschließlich mit dem Wert 0 besetzt sind. Sinnvolle Lagekoordinaten für die betroffenen Stützstellen lassen sich jedoch auf der Basis der Physik der Augenbewegungen aus dem Verlauf der unmittelbar vorhergehenden und nachfolgenden Stützpunkte ableiten. Als Regularisierungsansatz wird hier die zusätzliche Nebenbedingung einer minimalen Krümmung des Bewegungsverlaufs über der Zeit eingebracht. Die Krümmung der Trajektorie berechnet sich über ihre zweite Ableitung nach der Zeit,<sup>18</sup> welche sich in der vorliegenden, diskreten Problemstellung an einer Stützstelle  $t_{i,k}$  mit [87, S. 739, Gl. (C.33)]<sup>19</sup> als

$$\vec{\kappa}(t_{i,k}) = \ddot{\vec{s}}(t_{i,k}) = \begin{cases} \vec{s}(t_{i,k-1}) - 2\vec{s}(t_{i,k}) + \vec{s}(t_{i,k+1}) & \text{für } -2 < k < 13 \\ \vec{s}(t_{i-1,13}) - 2\vec{s}(t_{i,-2}) + \vec{s}(t_{i,-1}) & \text{für } k = -2 \\ \vec{s}(t_{i,12}) - 2\vec{s}(t_{i,13}) + \vec{s}(t_{i+1,-2}) & \text{für } k = 13 \end{cases} \quad (4.87)$$

approximieren lässt. Für die Randwerte wird  $\vec{\kappa}(t_{0,-2}) = -\vec{s}(t_{0,-2}) + \vec{s}(t_{0,-1})$  bzw.  $\vec{\kappa}(t_{N-1,13}) = \vec{s}(t_{N-1,12}) - \vec{s}(t_{N-1,13})$  definiert. In Matrixnotation ergibt sich unmittelbar die äquivalente Gleichung

$$K = LS = \begin{pmatrix} -1 & 1 & 0 & \cdots & \cdots & 0 \\ 1 & -2 & 1 & \ddots & & \vdots \\ 0 & 1 & \ddots & \ddots & \ddots & \vdots \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & 1 & 0 \\ \vdots & & \ddots & 1 & -2 & 1 \\ 0 & \cdots & \cdots & 0 & 1 & -1 \end{pmatrix} S \quad (4.88)$$

mit der Tridiagonalmatrix  $L$  (vgl. [86, S. 197]) und  $S$  aus Gleichung (4.81).

### 4.6.3 Lösung des linearen Gleichungssystems

Die Schätzung der gesuchten Bewegungstrajektorie  $\vec{s}(t)$  ergibt sich aus der Lösung des in den Gleichungen (4.84) bis (4.86) definierten und durch die im vorigen Abschnitt 4.6.2 eingeführten Nebenbedingungen regularisierten LGS, die über den Ansatz der kleinsten Fehlerquadrate ermittelt wird. Dazu wird das zu minimierende Energiefunktional

$$f_\alpha(S) = \|W_r S - U_r\|_2^2 + \alpha \|LS\|_2^2 \quad (4.89)$$

<sup>18</sup>Physikalisch interpretiert entspricht die Nebenbedingung folglich der Minimierung der auftretenden Beschleunigungen, letztendlich also auch der aufzuwendenden Kräfte.

<sup>19</sup>In der angegebenen Quelle wird der Operator  $[1 \ -2 \ 1]$  zur numerischen Approximation der zweiten Ableitung in zwei Varianten definiert, zur Anwendung auf Bilder in beiden Dimensionen. Der Schritt zur Anwendung auf die hier vorliegende eindimensionale Funktion  $\vec{s}(t)$  ist trivial.

definiert.<sup>20</sup> Dabei sorgt der erste Term  $\|W_r S - U_r\|_2^2$  für die Minimierung der Fehlerquadrate, der zweite Term  $\alpha \|LS\|_2^2$  für die Minimierung der Krümmung der Trajektorie aus Gleichung (4.88). Der geeignet zu definierende Vorfaktor  $\alpha$  dient der relativen Gewichtung der beiden Terme. Sein genauer Wert ist relativ unerheblich, solange  $\alpha \ll 1$  gewählt wird und die Registrierergebnisse selbst somit einen erheblich größeren Einfluss auf die resultierenden Stützpunkte erhalten als der Regularisierungsterm. In der praktischen Umsetzung der Algorithmen wird ein Wert von  $\alpha = 0.01$  verwendet. Die geschätzte Lösung für die Bewegungstrajektorie ergibt sich dann zu

$$\begin{aligned} \hat{S} &= \arg \min (f_\alpha (S)) \\ &= \arg \min \left( \|W_r S - U_r\|_2^2 + \alpha \|LS\|_2^2 \right) \\ &= \arg \min \left( (W_r S - U_r)^T (W_r S - U_r) + \alpha (LS)^T (LS) \right) \\ &= \arg \min (S^T W_r^T W_r S - 2U_r^T W_r S + U_r^T U_r + \alpha S^T L^T L S). \end{aligned} \quad (4.90)$$

Nullsetzen der partiellen Ableitungen bezüglich der Stützpunkte  $\vec{s}(t_{i,k})$  führt auf ein System linearer Gleichungen

$$2W_r^T W_r \hat{S} - 2W_r^T U_r + 2\alpha L^T L \hat{S} \stackrel{!}{=} 0 \quad (4.91)$$

und schließlich

$$(W_r^T W_r + \alpha L^T L) \hat{S} \stackrel{!}{=} W_r^T U_r, \quad (4.92)$$

das sich mit den einschlägig bekannten Verfahren nach  $\hat{S}$  lösen lässt.

In realen Anwendungsfällen während der Erprobung des Verfahrens erreichen bei Aufnahmedauern von bis zu 2 Minuten die akquirierten Bildserien einen Umfang von bis zu  $N = 3600$  Einzelbildern und das zu lösende Gleichungssystem aus Gleichung (4.92) mithin eine Größenordnung von  $16N > 55\,000$ . Hinsichtlich der numerischen Berechnung von  $\hat{S}$  ist daher die Tatsache relevant, dass es sich bei  $W_r^T W_r + \alpha L^T L$  um eine spärlich besetzte, symmetrische und positiv definite Matrix handelt, was die Umsetzung mittels speichereffizienter Datenstrukturen und eines iterativen Lösungsansatzes ermöglicht. Ein bewährtes Standardverfahren für LGS mit derartigen Systemmatrizen ist das *CG-Verfahren* (von engl. *conjugated gradients*) [88, S. 156–164; 89, S. 187–220].

#### 4.6.4 Bestimmung der Bildzeilenversatzwerte

Die ermittelte Lösung  $\hat{S}$  liefert Schätzwerte für die Stützpunkte  $\vec{s}(t_{i,k})$  und gibt den Verlauf der Trajektorie  $\vec{s}(t)$  daher mit einer zeitlichen Auflösung von  $T_{TB}$  wieder. Wie in Abschnitt 4.3 ausgeführt wurde, besteht das Ergebnis der Bildserienregistrierung in der Menge der Koordinatentransformationen  $T_i$  aus Gleichung (4.43), die wiederum durch die Angabe von Lagevektoren

<sup>20</sup>Dieser Ansatz zur Regularisierung wird in der Literatur als *Tikhonov-Regularisierung* oder teilweise als *allgemeine Tikhonov-Regularisierung* bezeichnet (vgl. etwa [86]).

$\vec{p}_{i,y}$  für alle Bildzeilen  $I_i^{(y)}$  der Ursprungsaufnahmen  $I_i$  bezüglich des gemeinsamen Mosaikbildkoordinatensystems eindeutig definiert sind. Nach Gleichung (4.48) gilt  $\vec{p}_{i,y} = \vec{s}(t_{i,y})$ . Gesucht sind Punkte auf der Bewegungstrajektorie mit einer zeitlichen Auflösung von  $T_Z = \frac{1}{h}T_{TB}$  mit  $h = 32$  Bildzeilen pro Teilbild. Zur Ermittlung der Punkte  $\vec{s}(t_{i,y})$  muss folglich der Verlauf der Trajektorie zwischen den geschätzten Stützpunkten interpoliert werden. Mit der gleichen Begründung wie bereits bei der Regularisierung des LGS wird auch hier eine Interpolationsfunktion  $f(t)$  mit minimaler Gesamtkrümmung auf dem zu interpolierenden Intervall  $[t_{0,-2}, t_{N-1,13}]$  gesucht. Diese Forderung erfüllen die *kubischen Spline-Funktionen* — oft auch als *kubische Splines* oder nur *Splines* bezeichnet — gemäß ihrer Minimum-Norm-Eigenschaft [71, S. 115–116].

Die Beschreibung der Approximation des vollständigen Verlaufs der gesuchten Trajektorie  $\vec{s}$  durch eine kubische Spline-Funktion  $\hat{\vec{s}}$  folgt der Darstellung bei Freund et al. [71, S. 112–121], adaptiert an die vorliegende Aufgabenstellung und Nomenklatur. Während dort eine eindimensionale Formulierung verwendet wird, besitzt die Trajektorie  $\vec{s}(t) = (s_1(t), s_2(t))^T$  einen zweidimensionalen Wertebereich. Da jedoch durchgehend beide Dimensionen unabhängig voneinander betrachtet werden können und  $\hat{\vec{s}}$  somit durch zwei eindimensionale kubische Spline-Funktionen  $\hat{s}_1$  und  $\hat{s}_2$  dargestellt werden kann, wird die eindimensionale Formulierung übernommen. Des Weiteren stellt die äquidistante Anordnung der Stützstellen einen Spezialfall dar, der die allgemeingültigen Gleichungen bei Freund et al. teilweise stark vereinfacht. Zur weiteren Vereinfachung wird im Folgenden mit einer auf  $T_{TB}$  (aus Gleichung (4.72)) normierten Zeitachse gerechnet, sodass sich jeweils ein Abstand von 1 zwischen den Stützstellen ergibt. Eine umfassende Herleitung der interpolierenden kubischen Spline-Funktion einschließlich der folgenden Formeln findet sich bei Freund et al. [71, S. 112–121].

Es sei nun  $\Delta = \{a = t_{0,-2} < t_{0,-1} < \dots < t_{N-1,13} = b\}$  die bereits bekannte, äquidistante Unterteilung des Intervalls  $[a, b]$  durch die Stützstellen von  $\vec{s}(t)$ . Eine kubische Spline-Funktion ist dann definiert als eine Funktion  $S_\Delta: [a, b] \rightarrow \mathbb{R}$ , die auf dem Intervall  $[a, b]$  zweimal stetig differenzierbar ist und auf jedem der Teilintervalle  $[t_{i,k}, t_{i,k+1}]$  bzw.  $[t_{i,13}, t_{i+1,-2}]$  mit einem Polynom dritten Grades übereinstimmt [71, S. 113]. Die durch die Stützpunkte  $\hat{\vec{s}}(t_{i,k})$  eindeutig definierte kubische Spline-Funktion ist durch

$$\hat{\vec{s}}(t) = \vec{\alpha}_{i,k} + \vec{\beta}_{i,k}(t - t_{i,k}) + \vec{\gamma}_{i,k}(t - t_{i,k})^2 + \vec{\delta}_{i,k}(t - t_{i,k})^3 \quad (4.93)$$

für  $t \in [t_{i,k}, t_{i,k+1}]$ ,  $i = 0 \dots N - 1$ ,  $k = -2 \dots 12$  bzw.  $t \in [t_{i,13}, t_{i+1,-2}]$ ,  $i = 0 \dots N - 2$ ,  $k = 13$

gegeben. Die Koeffizienten berechnen sich dabei nach [71, S. 118] zu

$$\vec{\alpha}_{i,k} = \hat{s}(t_{i,k}), \quad (4.94)$$

$$\vec{\beta}_{i,k} = \begin{cases} \hat{s}(t_{i,k+1}) - \hat{s}(t_{i,k}) - \frac{1}{6}(2\vec{m}_{i,k} + \vec{m}_{i,k+1}) & \text{(für } k = -2 \dots 12) \\ \hat{s}(t_{i+1,-2}) - \hat{s}(t_{i,13}) - \frac{1}{6}(2\vec{m}_{i,13} + \vec{m}_{i+1,-2}) & \text{(für } k = 13), \end{cases} \quad (4.95)$$

$$\vec{\gamma}_{i,k} = \frac{1}{2}\vec{m}_{i,k}, \quad (4.96)$$

$$\vec{\delta}_{i,k} = \begin{cases} \frac{1}{6}\vec{m}_{i,k+1} - \vec{m}_{i,k} & \text{(für } k = -2 \dots 12) \\ \frac{1}{6}\vec{m}_{i+1,-2} - \vec{m}_{i,13} & \text{(für } k = 13). \end{cases} \quad (4.97)$$

Die  $\vec{m}_{i,k}$  sind die sogenannten Momente, die den zweiten Ableitungen

$$\vec{m}_{i,k} = \ddot{\hat{s}}(t_{i,k}) \quad (4.98)$$

der gesuchten kubischen Spline-Funktion an den Stützstellen entsprechen [71, S. 117]. Sie ergeben sich gemäß [71, S. 119, Gl. (2.5.2.9)] durch (direktes) Lösen des einfachen LGS<sup>21</sup>

$$\frac{1}{2} \begin{pmatrix} 4 & 1 & 0 & \cdots & 0 \\ 1 & 4 & 1 & \ddots & \vdots \\ 0 & 1 & \ddots & \ddots & 0 \\ \vdots & \ddots & \ddots & 4 & 1 \\ 0 & \cdots & 0 & 1 & 4 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \vec{m}_{0,-2} \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \\ \vec{m}_{N-1,13} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \vec{d}_{0,-2} \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \\ \vec{d}_{N-1,13} \end{pmatrix} \quad (4.99)$$

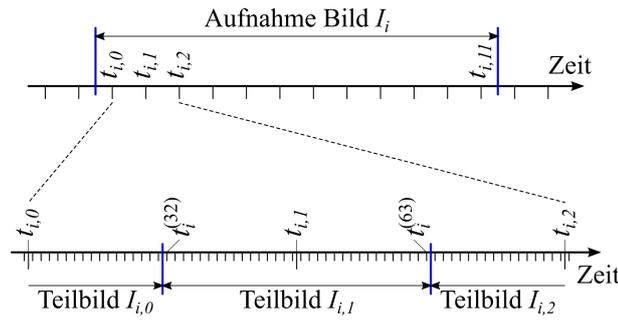
mit

$$\vec{d}_{i,k} = \begin{cases} 3 \left( \hat{s}(t_{i,k+1}) - 2\hat{s}(t_{i,k}) + \hat{s}(t_{i,k-1}) \right) & \text{(für } k = -1 \dots 12) \\ 3 \left( \hat{s}(t_{i,-1}) - 2\hat{s}(t_{i,-2}) + \hat{s}(t_{i-1,13}) \right) & \text{(für } k = -2, i > 0) \\ 3 \left( \hat{s}(t_{i+1,-2}) - 2\hat{s}(t_{i,13}) + \hat{s}(t_{i,12}) \right) & \text{(für } k = 13, i < N - 1). \end{cases} \quad (4.100)$$

Die hierbei noch fehlenden Randwerte werden zu  $\vec{d}_{0,-2} = \vec{d}_{N-1,13} = (0, 0)^T$  festgelegt.<sup>22</sup>

Die Auswertung der derart definierten kubischen Spline-Funktion  $\hat{s}$  an den geeigneten Stellen erlaubt nun die Bestimmung der Lagevektoren aller Bildzeilen der Aufnahmeserie. Aufgrund der Berechnung der Spline-Funktion über einer auf  $T_{TB}$  normierten Zeitachse liegen die mit den Bildzeilen  $I_i^{(y)}$  korrespondierenden Stellen  $t_i^{(y)}$  bei einer Teilbildhöhe von 32 Bildzeilen in einem Abstand von  $\frac{T_Z}{T_{TB}} = \frac{1}{32}$  auf der Zeitachse, und zwar derart, dass die mit den Teilbildern assoziierten Stützstellen  $t_{i,k}$  jeweils zentrisch in dem ihnen zugeordneten Zeitintervall liegen (vgl. Abb. 4.17). Für eine Einzelaufnahme  $I_i$  ergeben sich die relevanten Stellen auf der Zeitachse dann

<sup>21</sup>Das LGS entspricht unmittelbar der Darstellung bei Freund et al. [71, S. 119, Gl. (2.5.2.9)], wobei alle dort vorkommenden Koeffizienten  $\lambda$  und  $\mu$  zu  $\frac{1}{2}$  gesetzt werden. Letzteres ergibt sich aus [71, S. 119, Gl. (2.5.2.6)] und der Tatsache, dass die Abstände zwischen den Stützpunkten (bei Freund et al. mit  $h$  bezeichnet) bei der



**Abbildung 4.17:** Zeitachse für eine Aufnahme  $I_i$  mit den Stützstellen  $t_{i,k}$  für die Teilbilder (oben) und vergrößerter Ausschnitt der Zeitachse zwischen  $t_{i,0}$  und  $t_{i,2}$  mit den Stützstellen  $t_i^{(y)}$  der einzelnen Bildzeilen (unten). Für das Teilbild  $I_{i,1}$  sind die Stützstellen  $t_i^{(32)}$  seiner ersten Bildzeile und  $t_i^{(63)}$  seiner letzten Bildzeile markiert. Der Stützpunkt  $t_{i,1}$  liegt zwischen den Stützpunkten der Bildzeilen 47 und 48.

zu

$$t_i^{(y)} \in \mathcal{T}_i = \left\{ t_{i,0} - \frac{31}{64}, t_{i,0} - \frac{29}{64}, \dots, t_{i,0} + \frac{29}{64}, t_{i,0} + \frac{31}{64}, t_{i,1} - \frac{31}{64}, \dots, t_{i,11} + \frac{31}{64} \right\} \quad (4.101)$$

und die Lagevektoren demnach zu

$$\vec{p}_{i,y} = \hat{s} \left( t_i^{(y)} \right) \quad (4.102)$$

mit den  $t_i^{(y)}$  aus Gleichung (4.101). Die Abschnitte in den Aufnahmepausen sind im Folgenden nicht mehr von Interesse.

Nach Gleichung (4.47) ergibt sich mit den Lagevektoren  $\vec{p}_{i,y}$  unmittelbar die vollständige Transformation  $T_i$  der Aufnahme  $I_i$  in das gemeinsame Mosaikbildkoordinatensystem als Ergebnis der Bildserienregistrierung.

## 4.7 Korrektur der Bewegungsartefakte

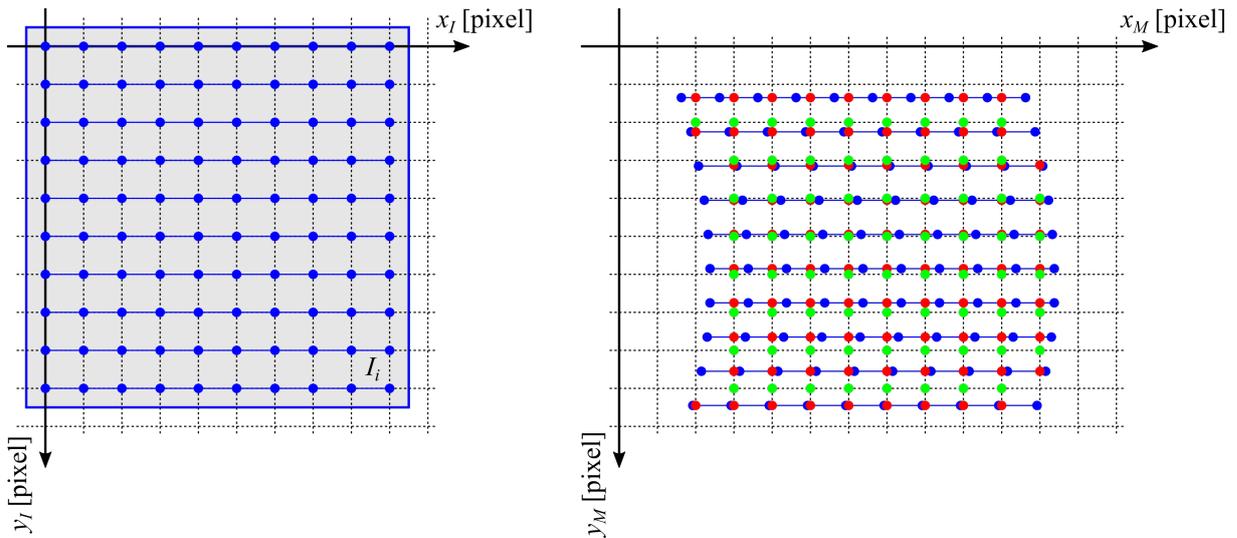
Gleichung (4.44) definiert die Berechnung der bewegungskorrigierten und in das Mosaikbildkoordinatensystem überführten Bilder  $M_i$  durch Anwendung der in den vorangehenden Abschnitten ermittelten Transformationen  $T_i$  auf die Bilder  $I_i$  gemäß

$$M_i(T_i(x, y)) = I_i(x, y). \quad (4.103)$$

Dabei werden die diskreten Punkte der Intensitätsfunktionen  $I_i$  auf wiederum diskrete Punkte  $T_i(x_I, y_I)$  im Mosaikbildkoordinatensystem abgebildet, im Allgemeinen jedoch nicht auf die ganzzahligen Stellen des Pixelrasters (s. Abb. 4.18). Zur Erzeugung bewegungskorrigierter Versionen der Aufnahmen  $I_i$  in Form von Bildern  $M_i$  müssen die Intensitätswerte an den ganzzahligen Stellen des Pixelrasters aus den umliegenden transformierten Intensitätswerten interpoliert

vorliegenden Problemstellung allesamt identisch und zu 1 normiert worden sind.

<sup>22</sup>Dies entspricht dem Fall a) bei Freund et al., vgl. [71, S. 119, Gl. (2.5.2.7)].



**Abbildung 4.18:** Die Bildzeilen  $I_i^{(y)}$  der Aufnahme  $I_i$  (links) werden durch die in der Registrierung der Bildserie ermittelte Transformation  $T_i$  im Allgemeinen nicht auf die ganzzahligen Stellen des Pixelrasters des Zielkoordinatensystems (rechts) abgebildet. Sie liegen jedoch stets parallel zur  $x_M$ -Achse und mit unverändertem Pixelabstand innerhalb der Bildzeilen (blaue Punkte). Durch eine zweistufige Interpolation werden zunächst die Intensitätswerte der transformierten Aufnahme an den ganzzahligen  $x_M$ -Koordinaten (rote Punkte) und anschließend an den ganzzahligen  $y_M$ -Koordinaten (grüne Punkte) berechnet.

werden. Gängige Interpolationsansätze für zweidimensionale Funktionen setzen üblicherweise entweder Basisdaten voraus, die in einem regelmäßigen, zum Zielkoordinatensystem achsparallel ausgerichteten Gitter angeordnet sind, oder sie gehen von gänzlich ungeordneten Messpunkten aus. Die erstgenannte Voraussetzung ist in der vorliegenden Situation nicht gegeben, der zweite Fall hingegen ist allgemeiner als nötig. Aufgrund der in Abschnitt 4.3 getroffenen Annahmen liegen die transformierten Bildzeilen nämlich stets mit unverändertem Pixelabstand parallel zur  $x$ -Achse des Zielkoordinatensystems. Seien nun  $p_{i,y}^{(y)}$  die  $y$ -Koordinaten der tatsächlichen Bildzeilenlagevektoren  $\vec{p}_{i,y}^{\rightarrow}$  nach Gleichung (4.45) (an dieser Stelle also explizit nicht des zugehörigen Trajektorienpunkts  $\vec{p}_{i,y}$  nach Gleichung (4.46)). Die interpolierten Intensitätswerte  $M_i(x_M, y_M)$  an den ganzzahligen Koordinaten  $(x_M, y_M)$  können dann sehr einfach in einem spezifischen zweistufigen Prozess ermittelt werden, indem zunächst die Werte  $M_i(x_M, p_{i,y}^{(y)})$  an den in Abbildung 4.18 rot dargestellten Punkten und anschließend aus diesen die gesuchten Werte  $M_i(x_M, y_M)$  an den grün dargestellten Pixelpositionen interpoliert werden. Der erste Schritt entspricht einer eindimensionalen (horizontalen) Interpolation entlang jeder ganzzahligen  $y$ -Koordinate des Ursprungskordinatensystems; hierfür kann eine Spline-Interpolation eingesetzt werden. Der zweite Schritt entspricht analog jeweils einer eindimensionalen (vertikalen) Interpolation entlang jeder ganzzahligen  $x$ -Koordinate des Zielkoordinatensystems. Hierfür wird eine einfache lineare Interpolation verwendet.

Es sei angemerkt, dass die Erzeugung bewegungskorrigierter Einzelaufnahmen  $M_i$  mit  $I_i$  als Eingangsdaten nur während der Entwicklung der Prozesskette zur Validierung der beschriebenen Algorithmen durch visuelle Prüfung eingesetzt wurde. In der Prozesskette zur Mosaikbilderzeu-

gung verwendet das im folgenden Abschnitt beschriebene Verfahren zur Fusion der Bilddaten hingegen nicht die ursprünglichen  $I_i$  als Eingangsdaten.

## 4.8 Fusion der Bilddaten

Nachdem nach der Registrierung der Bildserie und dem im vorangehenden Abschnitt beschriebenen Interpolationsprozess der Intensitätswerte die bewegungskorrigierten Bilddaten im gemeinsamen, diskreten Koordinatensystem des Mosaikbilds vorliegen, verbleibt als abschließender Schritt zur Erzeugung des Mosaikbilds die eigentliche Fusion der Bilddaten.

Es sei  $P = \{(x, y)\} \subset \mathbb{N}^2$  die Menge aller ganzzahligen Koordinatenpaare des Mosaikbildkoordinatensystems, an denen in mindestens einem der transformierten Bilder  $M_i$  ein interpolierter Intensitätswert vorliegt. Da die Einzelaufnahmen — schon um eine robuste Registrierung der Daten überhaupt zu ermöglichen — sich vielfach paarweise überlappen, liegt stets an den meisten Stellen  $(x, y) \in P$  nicht nur ein einziger Intensitätswert  $M_i(x, y)$  vor, sondern mehrere  $M_{i_1}(x, y)$  bis  $M_{i_n}(x, y)$ ,<sup>23</sup> die bei der Fusion auf geeignete Weise gemittelt werden sollen.

Ein dabei zu beachtender Aspekt ist die charakteristische Verteilung des Informationsgehalts über dem Bildfeld der Einzelaufnahmen. Die HRT-Aufnahmen weisen einen Abfall der Intensitätswerte von der Mitte des Bildfelds zu den Rändern hin auf, mit dem in gleichem Maße ein Abfall des lokalen Kontrastes und mithin des Informationsgehalts einhergeht. Um daher Intensitätswerte aus dem zentralen Bereich einer Aufnahme  $I_{i_1}$  gegenüber solchen aus der Bildfeldperipherie einer anderen Aufnahme  $I_{i_2}$  stärker in die Fusion einfließen zu lassen, wird an jeder Pixelposition  $(x_M, y_M)$  des zu erzeugenden Mosaikbilds  $M$  ein gewichteter Mittelwert

$$M(x_M, y_M) = \frac{\sum_{i=i_1}^{i_n} g(x_I, y_I) M_i(x_M, y_M)}{\sum_{i=i_1}^{i_n} g(x_I, y_I)} \quad (4.104)$$

aus den vorliegenden Intensitätswerten  $M_{i_1}(x_M, y_M)$  bis  $M_{i_n}(x_M, y_M)$  gebildet, mit einer Gewichtsfunktion  $g(x_I, y_I)$ , die von den Koordinaten  $(x_I, y_I)$  des Intensitätswerts bezüglich des Koordinatensystems der ursprünglichen Einzelaufnahme  $I_i$  abhängt und vom Zentrum des Bildfelds zu den Bildrändern hin abnimmt. Die Funktion

$$g(x_I, y_I) = \sin\left(\frac{x_I}{l_B - 1}\pi\right) \sin\left(\frac{y_I}{l_B - 1}\pi\right), x_I, y_I \in [0, l_B - 1] \quad (4.105)$$

mit der Seitenlänge der Einzelaufnahmen  $l_B = 384$  (in Pixeln) aus Gleichung (4.3) erfüllt diese

<sup>23</sup>Unter der Annahme von Idealbedingungen bei Aufnahme und Registrierung sind alle diese Intensitätswerte als Messwerte aus  $n$ -fach wiederholten Messungen eines einzelnen Gewebepunkts (bzw. eines Volumenelements mit einem der Pixelgröße identischen Querschnitt und einer der Schärfentiefe des Aufnahmesystems entsprechenden Höhe) zu interpretieren. Selbst unter derart idealisierten Voraussetzungen kann aufgrund des Rauschens, dem jeder physikalische Messprozess unterworfen ist, nicht von identischen Messwerten ausgegangen werden. Darüber hinaus lassen sich zahlreiche weitere Faktoren aufzählen — etwa Ungenauigkeiten der Registrierergebnisse, Deformationen des elastischen Gewebes, Variationen der Fokussiertiefe, usw. — die darauf hinauslaufen, dass die für eine Pixelposition vorliegenden Intensitätswerte  $M_{i_1}(x, y)$  bis  $M_{i_n}(x, y)$  tatsächlich nicht notwendigerweise aus Messungen eines identischen Gewebepunkts stammen. Im Endeffekt muss an den genannten Stellen immer von nicht-identischen Intensitätswerten ausgegangen werden.

Anforderungen in einfacher Weise.<sup>24</sup>

Die Anwendung der gewichteten Mittelwertbildung nach den Gleichungen (4.104) und (4.105) über dem gesamten Definitionsbereich  $P$  des Mosaikbilds  $M(x_M, y_M)$  lässt sich wie folgt praktisch umsetzen. Es seien dazu wie bisher  $I_i, i = 1 \dots N$  die akquirierten Einzelaufnahmen und  $T_i, i = 1 \dots N$  die zugehörigen Transformationen nach Gleichungen (4.47) und (4.102). Für die Beschreibung der Vorgehensweise ist es zweckmäßig, die durch  $T_i$  definierten Koordinatentransformationen in Form von Operatoren  $A_{i,1}$  bis  $A_{i,3}$  zu notieren.  $A_{i,1}(I_i)$  beschreibt dann die Funktion  $M_i$  aus Gleichung (4.44), welche nur an jenen Stellen einen Funktionswert aufweist, auf die durch  $T_i$  ein Wert aus  $I_i$  transformiert wird. In ähnlicher Weise seien  $A_{i,2}$  und  $A_{i,3}$  zwei Operatoren zur Anwendung auf diskrete Funktionen über dem Mosaikbildkoordinatensystem, welche die in Abschnitt 4.7 beschriebene horizontale respektive vertikale Interpolation der Funktionswerte an den ganzzahligen Rasterkoordinaten realisieren. Durch Verkettung der Operatoren  $A_i = A_{i,3} \circ A_{i,2} \circ A_{i,1}$  lässt sich dann der gesamte in Abschnitt 4.7 beschriebene Prozess der Erzeugung bewegungskorrigierter Aufnahmen  $M_i$  aus  $I_i$  einfach als

$$\begin{aligned} M_i &= A_i(I_i) \\ &= (A_{i,3} \circ A_{i,2} \circ A_{i,1})(I_i) \\ &= A_{i,3}(A_{i,2}(A_{i,1}(I_i))) \end{aligned} \quad (4.106)$$

darstellen. Schließlich seien  $P_i \subset P$  (mit  $P = \bigcup_{i=1}^N P_i$ ) die (endlichen) Mengen der ganzzahligen Koordinatenpaare des Mosaikbildkoordinatensystems, an denen für die zugehörigen transformierten Bilder  $M_i$  ein interpolierter Intensitätswert vorliegt. Gewichtet man nun die Einzelaufnahmen vor der Transformation,

$$I_{i,g}(x_I, y_I) = g(x_I, y_I) I_i(x_I, y_I), \quad (4.107)$$

und transformiert und interpoliert dann gleichermaßen die gewichteten Intensitätsfunktionen und die Gewichtsfunktion in das Mosaikbildkoordinatensystem,

$$M_{i,g}(x_M, y_M) = \begin{cases} A_i(I_{i,g}) & \text{für } (x_M, y_M) \in P_i \\ 0 & \text{sonst} \end{cases} \quad (4.108)$$

und

$$g_i(x_M, y_M) = \begin{cases} A_i(g) & \text{für } (x_M, y_M) \in P_i \\ 0 & \text{sonst,} \end{cases} \quad (4.109)$$

---

<sup>24</sup>Die genaue Form der Gewichtsfunktion ist von untergeordneter Bedeutung, solange sie eine Art „Kuppelform“ aufweist, d.h. ein Maximum in der Bildmitte besitzt, von dem ausgehend sie entlang jeder Geraden zu den Bildrändern hin streng monoton abnimmt.

so ergibt sich die diskrete Intensitätsfunktion des Mosaikbilds unmittelbar zu

$$M(x_M, y_M) = \frac{\sum_{i=1}^N M_{i,g}(x_M, y_M)}{\sum_{i=1}^N g_i(x_M, y_M)}. \quad (4.110)$$

Abschließend sei bemerkt, dass die derart berechneten Intensitätswerte an den diskreten Koordinaten im Allgemeinen nicht ganzzahlig sind und — aufgrund der Verwendung der Spline-Interpolation — auch über dem maximalen Intensitätswert der ursprünglichen Aufnahmen liegen können.

## 4.9 Zusammenfassung

Im vorliegenden Kapitel wurde die im Rahmen der Dissertation entwickelte Bildverarbeitungskette zur Berechnung von Mosaikbildern aus kontinuierlichen konfokalmikroskopischen Aufnahmeserien detailliert dargestellt. Gemäß dem in Kapitel 2 beschriebenen Gesamtkonzept ist die Bildverarbeitungskette von der Bildgewinnung getrennt, operiert also offline auf zuvor akquirierten Bilddaten. Laufzeitaspekte waren daher bei der Entwicklung der Algorithmen zweitrangig, vielmehr lag das Hauptaugenmerk entsprechend der Zielsetzung auf der weitestgehenden Automatisierung der Prozesskette und der Qualität der resultierenden Mosaikbilder. Als ganz entscheidend für die Ergebnisqualität hat sich eine präzise Korrektur der den Aufnahmen inhärenten Bewegungsartefakte erwiesen, welche auch eine der wesentlichen Innovationen des entwickelten Verfahrens darstellen.

Dazu wurde zunächst in Abschnitt 4.1 eine mathematische Beschreibung des Aufnahmeprozesses bei dem zur Bildgebung eingesetzten Konfokalmikroskop HRT eingeführt. Darauf aufbauend wurden in Abschnitt 4.2 die Entstehung der für den Aufnahmeprozess spezifischen Bewegungsartefakte und ihre Manifestation in den Bilddaten hergeleitet.

Aus den zuvor aufgestellten Grundlagen wurde daraufhin in Abschnitt 4.3 ein neuartiger, mehrstufiger Algorithmus zur Registrierung einer HRT-Aufnahmeserie abgeleitet. Gezeigt wurde, wie aus der Kenntnis korrespondierender Bildbereiche der Bewegungsverlauf des untersuchten Auges rekonstruiert und daraus die Transformationen der Einzelaufnahmen in ein gemeinsames Koordinatensystem ermittelt werden können. Die detaillierte Beschreibung der dafür erforderlichen Einzelschritte — der Bestimmung korrespondierender Bildbereiche in Bildpaaren mittels der Phasenkorrelationsfunktion, die Rekonstruktion des Bewegungsverlaufs und schließlich die Berechnung der transformierten Bilddaten — erfolgte in den Abschnitten 4.4 bis 4.7.

In Abschnitt 4.8 wurde schließlich ein Verfahren zur Fusion der transformierten Aufnahmen zu einem großflächigen Mosaikbild entwickelt, bei dem insbesondere der abnehmende Kontrast respektive Informationsgehalt der Aufnahmen zu den Bildrändern hin Berücksichtigung fand.

Eine zentrale Innovation des beschriebenen Registrierungsverfahrens gegenüber dem Stand der Technik besteht in seiner Fähigkeit zur präzisen Korrektur der Bewegungsartefakte. Diese wird durch die grundlegende Analyse und Modellbildung des Aufnahmeprozesses und der Bewegungsartefakte und einem sich spezifisch an jenem Modell orientierenden Aufbau des Registrierungsver-

fahrens erreicht. Die Kernidee liegt dabei in der Identifikation der Bildzeile als unveränderlicher, atomarer Einheit. Sie bildet die Basis dafür, dass die resultierenden Bildtransformationen  $T_i$  genau solche Deformationen der Aufnahmen erlauben, wie sie durch die Bewegungsartefakte hervorgerufen werden. Neben dem grundlegend neuen Ansatz zur Registrierung der kontinuierlichen konfokalmikroskopischen Aufnahmeserien bestehen weitere Neuerungen gegenüber anderen in der Literatur publizierten Verfahren in den Überlegungen zur Auswahl geeigneter zu registrierender Bildpaare, dem zweistufigen, auf die spezifischen Eigenschaften der Bilddaten zugeschnittenen Interpolationsansatz bei der Anwendung der Bildtransformationen  $T_i$ , sowie der eingeführten Gewichtung bei der Fusion der Bilddaten.

Nach der Darstellung der während des Aufnahmeprozesses und zur Verarbeitung der Bilddaten eingesetzten Algorithmen in den Kapiteln 3 und 4 beschreibt das folgende Kapitel die Entwicklung des für die Führung der Augenbewegung erforderlichen Hardwareaufbaus.

## Kapitel 5

# Experimenteller Versuchsaufbau

In diesem Kapitel wird der Hardware-Aufbau zur experimentellen Erprobung des in der vorliegenden Arbeit entwickelten Konzepts dargestellt. Zur Erprobung der Algorithmen und Konzepte wurden auch bereits während der Entwicklungsarbeiten mehrere Versuchskampagnen durchgeführt, deren Ergebnisse im anschließenden Kapitel 6 präsentiert werden. Da auch der Versuchsaufbau zwischen den Kampagnen weiterentwickelt wurde, werden hier alle drei eingesetzten Ausbaustufen beschrieben.

Auf Abweichungen zu den in Kapitel 3 erarbeiteten Methoden wird bei jedem Aufbau separat hingewiesen. Die Algorithmen zur offline-Verarbeitung der akquirierten Aufnahmesequenzen aus Kapitel 4 bleiben von der zur Bildgewinnung eingesetzten Konfiguration unberührt.

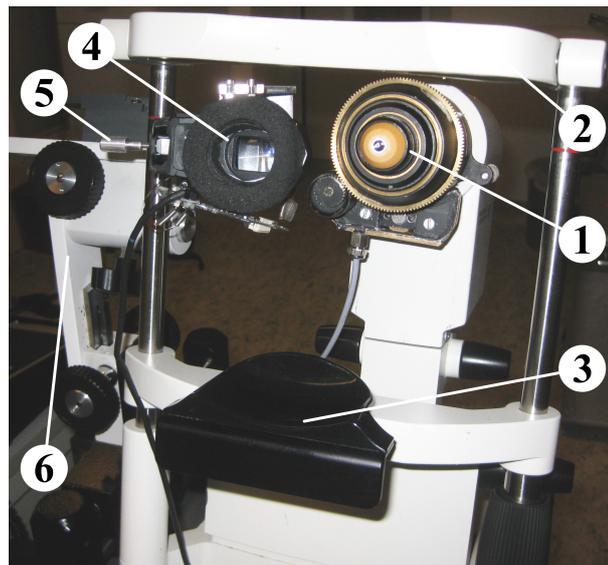
Die Entwicklung und Realisierung der Hardwareplattform zur Erprobung des dargestellten Gesamtkonzepts erfolgte im Rahmen des Forschungsprojekts „EyeGuidance“<sup>1</sup> am Institut für Angewandte Informatik (IAI) des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) innerhalb der Arbeitsgruppe Köhler.<sup>2</sup> Der Autor brachte für den Entwurf und die Konstruktion der drei Labormuster bezüglich ihrer Ergonomie und ihrem praktischen Einsatz bei Patienten seine Erfahrungen bei der Anwendung der CCM mit dem HRT-Konfokalmikroskopsystem an Patienten mit ein.

In bisherigen Ansätzen zur geführten Augenbewegung im Zusammenhang mit der CCM, wie sie von Lum et al. [59] und Edwards et al. [61] eingesetzt worden sind (s. Abschnitt 1.2.5), ist das Display zur Anzeige der bewegten Fixationsmarke 0,7 m bzw. 1,5 m vor dem fixierenden Auge platziert. Der Grundgedanke des in der vorliegenden Arbeit vorgeschlagenen alternativen Konzepts besteht in einem hohen Automatisierungsgrad und einem hohen Grad an Integration an das zur Bildgebung verwendete konfokalmikroskopische System. Neben der Möglichkeit zur engen Kopplung an die HRT-Hardware bietet die gewählte Lösung eines kleinen, nahe beim fixierenden Auge angeordneten Displays im Vergleich zu den oben genannten Ansätzen auch den Vorteil der Abdeckung eines größeren Bereichs des Blickfelds. Das gilt insbesondere in nasaler Richtung, da das kleine Displays (bzw. die abbildende Optik) aus Sicht des fixierenden Auges vor

---

<sup>1</sup>Ideenwettbewerb Biotechnologie und Medizintechnik Baden-Württemberg, Förderkennzeichen 7533-7-11.6-9A

<sup>2</sup>Herzlichen Dank dafür an alle beteiligten Mitglieder der Arbeitsgruppe, namentlich in alphabetischer Reihenfolge Franz Eberle, Dr.-Ing. Bernd Köhler, Susanne Maier, Klaus-Martin Reichert und Lorenzo Toso.



**Abbildung 5.1:** Komponenten des Labormusters 1 zur Erprobung der entwickelten Konzepte: (1) HRT, (2) Stirnstütze, (3) Kinnstütze, (4) EG-Display, (5) Stellschraube zum Dioptrienausgleich, (6) 3-Achsen-Positioniermechanik (Photographie: Dr.-Ing. Bernd Köhler)

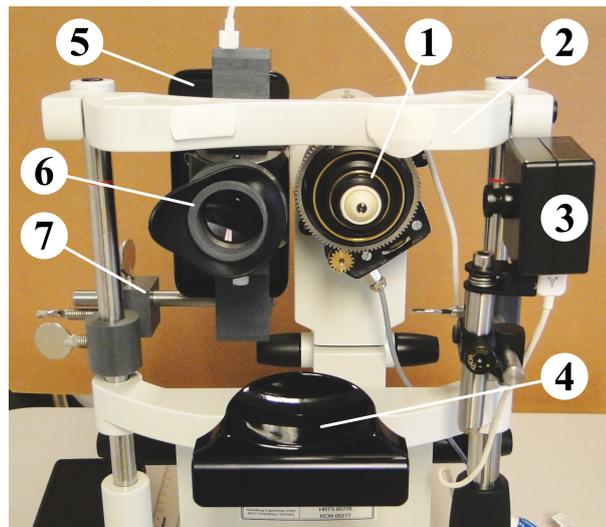
dem Mikroskopkörper platziert werden kann, womit auch Blickwinkel realisiert werden können, die ansonsten durch das Mikroskop verdeckt sind. Durch die Anordnung wird außerdem das kontralaterale Auge effektiv von der Umgebung abgeschottet, wodurch potentiell ablenkende visuelle Reize im Raum ausgeblendet werden können. Nicht zuletzt besteht bei diesem Ansatz für den das System bedienenden Ophthalmologen die Möglichkeit, dem Patienten gegenüber zu sitzen, ohne die Sicht auf das Display zu blockieren.

Bei der dargelegten Grundidee muss die Lage des zu fixierenden Ziels in der Nähe des Auges berücksichtigt werden. Sofern keine optische Korrektur stattfindet, ist daher eine während der gesamten Aufnahmedauer anhaltende Kontraktion des Ziliarmuskels erforderlich und Personen mit Presbyopie<sup>3</sup> können unter Umständen Probleme bei der scharfen Wahrnehmung der Fixationsmarke haben. Bei kontrahiertem Ziliarmuskel entsteht außerdem ein Vergenzwinkel zwischen beiden Augen, der die Abbildung des zentralen Bereichs des SNP erschwert, weil bei senkrechter Fixierung des Displays mit dem kontralateralen Auge das untersuchte Auge in Richtung nasal rotiert.

## 5.1 Labormuster 1: Monokulare Videobrille

Abbildung 5.1 zeigt das Labormuster 1 des EG-Moduls. Als Anzeigeeinheit wird ein einzelnes, einschließlich der Ansteuerelektronik aus einer kommerziell vertriebenen Videobrille (Modell „Zeiss cinemizer PLUS“; Carl Zeiss AG, Oberkochen) ausgebautes Display verwendet [90]. Das Display besitzt eine Auflösung von  $640 \times 480$  Pixeln und wird von der Elektronik mit 60 Hz angesteuert, die Einspeisung der darzustellenden Bilddaten erfolgt hingegen als analoges PAL-Signal,

<sup>3</sup>Presbyopie bezeichnet die „Altersweitsichtigkeit“, bei der die Fähigkeit zur Nahakkommodation aufgrund der fortschreitenden Versteifung der Linse zunehmend verloren geht.



**Abbildung 5.2:** Komponenten des Labormusters 2 zur Erprobung der entwickelten Konzepte: (1) HRT, (2) Stirnstütze, (3) seitliche Kamera zur Unterstützung des Aufsetzvorgangs, (4) Kinnstütze, (5) EG-Display, (6) Vergrößerungsoptik, (7) Fixierung des EG-Aufbaus an der Kinn- und Stirnstütze des HRT (Photographie: Dr.-Ing. Bernd Köhler)

d.h. mit einer Auflösung von  $768 \times 576$  Pixeln und einer Bildwiederholrate von 50 Halbbildern pro Sekunde. Vermutlich aufgrund der internen Umwandlung des Signals wird eine teilweise nicht-kontinuierliche, als leicht sprunghaft wahrgenommene Markenbewegung verursacht. Über eine neben dem Display angeordnete Stellschraube kann eine Linse eingestellt werden, die die Korrektur von Fehlsichtigkeit innerhalb eines Bereichs von  $-3,5$  bis  $+3,5$  Dioptrien erlaubt [91].

Das Display ist auf einem separaten Gestell neben dem HRT angeordnet. Mittels drei Linearachsen sowie einem Kugelgelenk unmittelbar beim Display (in der Abbildung nicht zu sehen) ist eine probandenindividuelle Positionierung möglich.

Mit dem Labormuster 1 wurden zu Beginn der Entwicklungsarbeiten ausschließlich Experimente zur Untersuchung der Machbarkeit durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt war noch keine Kommunikationsverbindung zwischen dem EG-Modul und dem HRT-System realisiert. Beide wurden getrennt voneinander manuell gestartet, sodass eine zeitliche Synchronisierung der aufgezeichneten Daten bei Bedarf analytisch ermittelt werden musste.

## 5.2 Labormuster 2: Smartphone mit Displaylupe

Aufgrund der Erfahrungen mit dem Display des Labormusters 1 wurde die Anzeigevorrichtung in der Version 2 (s. Abb. 5.2) mit einem Smartphone (Modell „Motorola Moto G“; Motorola Mobility Germany GmbH, Idstein) realisiert, dessen hochauflösendes 4,5"-Display<sup>4</sup> digital angesteuert werden kann. Die Ansteuerung des Displays zur Darstellung der Fixationsmarke erfolgt durch eine eigens zu diesem Zweck implementierte Software für das Smartphone,<sup>5</sup> die kontinuierlich

<sup>4</sup>Die Auflösung des Displays beträgt  $720 \times 1280$  Pixel bei einer Pixeldichte von 329 dpi (Herstellerangabe).

<sup>5</sup>Herzlichen Dank dafür an Klaus-Martin Reichert, der für den gesamten Entwicklungsprozess von der Konzeption der Datenschnittstelle bis zur Implementierung der Smartphone-Software und der Integration der Schnittstelle in die EG-Software verantwortlich ist.

aktualisierte Positionsdaten über eine USB-Schnittstelle von der EG-Software empfängt [92].<sup>6</sup> Unmittelbar vor dem Display ist eine Vergrößerungsoptik<sup>7</sup> mit Augenschirm zur Abschirmung von potentiell störenden visuellen Stimuli in der Umgebung angeordnet [92]. Das Labormuster 2 mit der beschriebenen Optik erlaubt keine Fehlsichtigkeitskorrektur und besitzt keine Korrektur der wahrgenommenen Entfernung der Fixationsmarke. Da die Vergrößerungsoptik nah am Displayrand angebracht ist, um den Aufbau bei Bedarf (in Abhängigkeit des Augenabstands) möglichst nah am HRT platzieren zu können, ist zur Untersuchung des anderen Auges ein relativ aufwändiger Umbau erforderlich.

Die Anzeigevorrichtung des Labormusters 2 ist an der Kopfstütze des HRT montiert, mit der Möglichkeit zur probandenindividuellen Positionierung.

Die mit dem Labormuster 2 durchgeführten Experimente erfolgten zumeist mit aktiver Kommunikation zwischen der HRT- und der EG-Software, sowie dem in Abschnitt 3.4.2 beschriebenen Ansatz 1 zur Anpassung der Spiralgeometrie.

### 5.3 Labormuster 3: Smartphone mit angepasstem 4-Linsen-System

Die Anzeige der Fixationsmarke erfolgt beim Labormuster 3 (s. Abb. 5.3) über das gleiche Smartphone wie beim Labormuster 2. Um die Nachteile der dort verwendeten Vergrößerungsoptik zu beheben, wird stattdessen eine aufwändigere, speziell hierfür berechnete und konstruierte Optik aus 4 Linsen zwischen dem Auge und dem Display eingesetzt,<sup>8</sup> die zum einen die wahrgenommene Entfernung der Fixationsmarke nach Unendlich korrigiert und zum anderen durch axiale Verschiebung der dritten Linse eine Korrektur von Fehlsichtigkeit im Bereich von  $-10$  bis  $+10$  Dioptrien erlaubt [93]. Aufgrund der für die berechnete Optik erforderlichen Länge von 320 mm und des eingeschränkten Bauraums, wird der Strahlengang durch einen Umlenkspiegel um  $90^\circ$  nach oben umgelenkt [93]. Da das die Optik fassende Rohr schmaler ausfällt als das Display selbst, kann mit dieser Lösung der Strahlengang für das fixierende Auge außerdem etwas näher an das HRT verlagert werden als beim Labormuster 2, wodurch sich Vorteile bei geringeren Augenabständen ergeben.

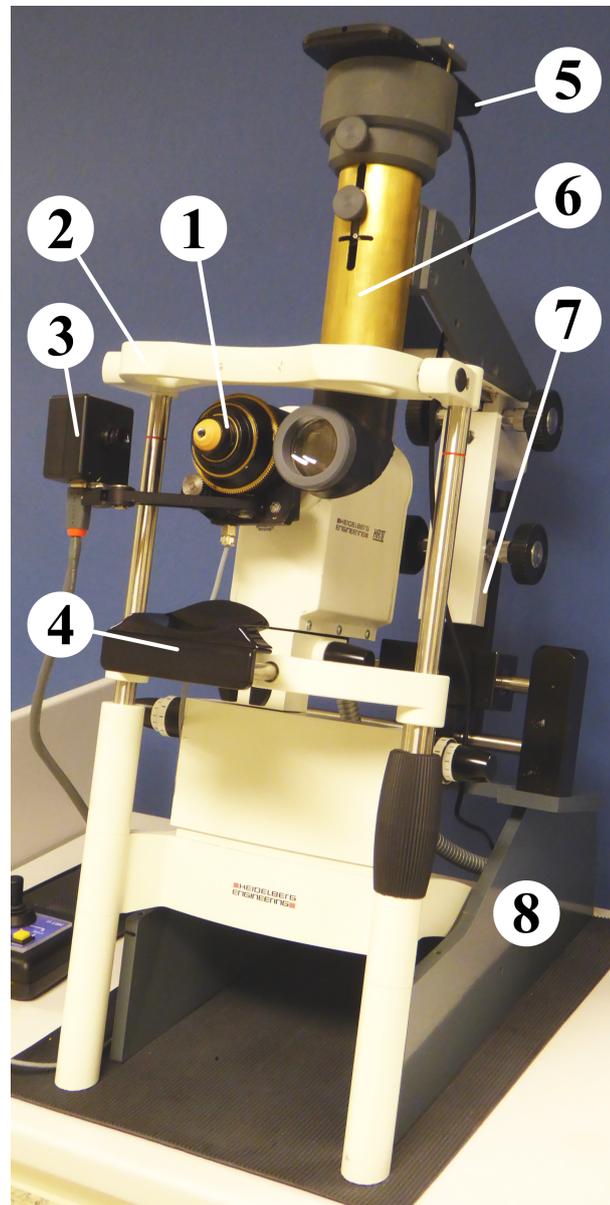
Die Optik einschließlich Display lässt sich über ein System aus drei orthogonalen Linearachsen zum fixierenden Auge ausrichten [93]. Der beschriebene Aufbau des EG-Moduls ist auf einer separaten Basis montiert, die sich an der Basis des HRT fixieren lässt. Aufgrund der symmetrischen Anordnung des Displays am Ende des Strahlengangs (im Gegensatz zum Labormuster 2, s. Abb. 5.2) ist auch ein Wechsel des untersuchten Auges relativ einfach möglich.

---

<sup>6</sup>Die Positionsdaten werden nach jedem Durchlauf einer Berechnungsschleife an die Anzeigesoftware auf dem Smartphone kommuniziert; in der realen Ausführung werden Frequenzen von deutlich größer als 100 Hz erreicht.

<sup>7</sup>Die eingesetzte Optik wird im Bereich der Digitalphotographie als sogenannte „Displaylupe“ zur Vergrößerung des Vorschaudisplays verwendet.

<sup>8</sup>Herzlichen Dank an Dr.-Ing. Ingo Sieber für die Berechnung und Simulation der Optik, sowie an Wolfgang Rössler für seine Arbeiten am mechanischen Aufbau des optischen Systems.



**Abbildung 5.3:** Komponenten des Labormusters 3 zur Erprobung der entwickelten Konzepte: (1) HRT, (2) Stirnstütze, (3) seitliche Kamera zur Unterstützung des Aufsetzvorgangs, (4) Kinnstütze, (5) EG-Display, (6) 4-Linsen-Optik, (7) 3-Achsen-Positioniermechanik, (8) EG-Basis (Photographie: Dr.-Ing. Bernd Köhler)

## 5.4 Zusammenfassung

Im vorliegenden Kapitel wurde anhand der drei am IAI in der Arbeitsgruppe Köhler aufgebauten Labormuster der Entwicklungsprozess der Hardware für das EyeGuidance-System dargestellt. Die zentralen Komponenten aller drei Labormuster sind ein Display zur Anzeige der bewegten Fixationsmarke und eine zwischen dem Display und dem fixierenden Auge angeordnete Optik. Um eine enge Integration mit dem Aufnahmesystem zu erreichen, wurde das Display jeweils in geringer Entfernung zum fixierenden Auge angeordnet.

Der mit allen drei beschriebenen Labormustern verfolgte Ansatz weicht deutlich von den in der Literatur vorgeschlagenen Konzepten mit größeren Bildschirmen ab und besitzt diesen gegenüber verschiedene Vorzüge, unter Anderem ein deutlich verringerter Platzbedarf, ein erweiterter Blickwinkelbereich und die Ausblendung störender visueller Reize durch Abschottung des nicht untersuchten Auges von der Umgebung. Darüber hinaus ermöglicht die zusätzlich zwischen Auge und Display angeordnete Optik die Korrektur von Fehlsichtigkeit in einem großen Bereich.

Das folgende Kapitel beschreibt die mit den drei Labormustern durchgeführten Versuchsreihen, ihre Auswertung und die daraus resultierenden Ergebnisse zur Bewertung der Leistungsfähigkeit der entwickelten Methoden.

## Kapitel 6

# Erprobung des neuen Konzepts

Dieses Kapitel stellt die zur Erprobung des neuen Konzepts und der konstruierten Labormuster durchgeführten Versuche und deren Ergebnisse dar. Einige Aspekte, insbesondere bei den offline-Methoden zur Mosaikbilderzeugung, konnten anhand von bereits bestehenden Bilddaten evaluiert werden. Die Hardwareaufbauten und die online-Methoden zur Führung der Augenbewegungen wurden in verschiedenen Versuchsreihen in insgesamt fünf Messkampagnen an der Universitätsaugenklinik (UAK) Rostock praktisch erprobt, aus denen auch sämtliche CCM-Aufnahmen in den Abbildungen des vorliegenden Kapitels stammen.

Zunächst werden die Messkampagnen beschrieben, die die Grundlage für alle im Rahmen der vorliegenden Dissertation an Realdaten durchgeführten Analysen bilden. Es folgen die Ergebnisse von Experimenten zur Erprobung der offline-Methoden zur Registrierung der akquirierten Bilddaten. Diese werden teilweise zur anschließenden Evaluation der online-Algorithmen herangezogen. Das Kapitel schließt mit einer zusammenfassenden Bewertung der Leistungsfähigkeit des neuen Gesamtkonzepts zur automatischen Erstellung von Mosaikbildern der Kornea.

### 6.1 Übersicht der durchgeführten Messkampagnen

Für die Testreihen jeder Messkampagne wurde jeweils ein Kollektiv von 7 bis 13 freiwilligen Probanden rekrutiert. Die Testreihen waren so konzipiert, dass bei jedem Probanden der Aufnahmeprozess mit geführter Augenbewegung mehrfach wiederholt und dabei jeweils nach einem festgelegten Protokoll bestimmte Prozessparameter variiert wurden (s. Tab. 6.1). Einzelne Durchläufe konnten dabei bis zu 2,5 Minuten andauern, die gesamte Untersuchungsdauer eines Probanden lag pro Messkampagne bei maximal 30 Minuten, in der Regel jedoch deutlich unter 20 Minuten. Alle bei einem einzelnen Durchlauf erfassten Daten — immer also die konfokalen Aufnahmesequenzen und die verwendeten Prozessparameter, sowie in der Regel weitere protokollierte Daten wie etwa die online bestimmten Bildpositionen oder der Verlauf der Fixationsmarkenpositionen — wurden in geeigneter Form gespeichert und werden im Folgenden als ein Datensatz bezeichnet. Vor der weiteren Verarbeitung wurden die Datensätze anonymisiert.

Die logistische Vorbereitung der Messkampagnen — insbesondere das Einholen der Zustimmung der zuständigen Ethikkommission und die Rekrutierung der Probanden — war Aufgabe

Bezeichnung	Bahnmuster	Marken- geschwindigkeit [Pixel/s]	Windungs-/ Zeilenabstand [Pixel]	Betriebsmodus	Adaptive Anpassung der Bahnparameter
V2-1	Mäander (hor.)	48	14	ART (1536)	keine
V2-2	Mäander (hor.)	48	14	Sequence	keine
V2-3	Spirale	48	10	ART (1536)	keine
V2-4	Spirale	48	10	Sequence	keine
V3-1	Spirale	80	20	Sequence	keine
V3-2	Spirale	160	16	Sequence	keine
V3-3	Spirale	240	12	Sequence	keine
V3-4	Spirale	320	8	Sequence	keine
V3-5	Spirale	160	12	Sequence	keine
V3-6	Spirale	240	16	Sequence	keine
V3-7	Linie (hor.)	160	0	Sequence	keine
V3-8	Linie (vert.)	160	0	Sequence	keine
V4-1	Spirale	80	10	ART (1536)	Ansatz 1
V4-2	Spirale	80	10	ART (3072)	Ansatz 1
V4-3	Spirale	80	15	ART (3072)	Ansatz 1
V4-4	Spirale	80	7,5	ART (3072)	Ansatz 1
V4-5	Spirale	100	10	ART (3072)	Ansatz 1
V4-6	Spirale	60	10	ART (3072)	Ansatz 1
V4-7	Spirale	80	10	ART (3072)	keine
V5-1	Spirale	60	10	ART (3072)	Ansatz 1
V5-2	Spirale	60	10	ART (3072)	Ansatz 1 + 2a(-)
V5-3	Spirale	60	10	ART (3072)	Ansatz 1 + 2a
V5-4	Spirale	60	10	ART (3072)	Ansatz 1 + 2b(-)
V5-5	Spirale	60	10	ART (3072)	Ansatz 1 + 2b
V5-6	Spirale	60	10	ART (3072)	Ansatz 1 + 2c(-)
V5-7	Spirale	60	10	ART (3072)	Ansatz 1 + 2c

**Tabelle 6.1:** Versuchsprotokolle der Messkampagnen 2 bis 5. Die Werte für die Markengeschwindigkeit und den Windungs- bzw. Zeilenabstand beziehen sich immer auf das eingesetzte Labormuster und sind nicht zwischen verschiedenen Labormustern vergleichbar. Beim ART Composite Betriebsmodus muss eine Maximalgröße für das online erstellte Mosaikbild vorgegeben werden, die in Klammer angegeben ist. Die Angaben in der letzten Spalte beziehen sich auf die in den Abschnitten 3.4.2 und 6.7 definierten Benennungen. Ein (-) kennzeichnet dort die Anwendung einer adaptiven Anpassung mit umgekehrtem Vorzeichen (vgl. dazu Abschnitt 6.7).

der UAK Rostock.<sup>1</sup> Die primären Ziele der Testreihen bestanden im Vergleich verschiedener Ansätze für bestimmte Teilaspekte und in der Bestimmung geeigneter Prozessparameter. Eine gute Komplianz<sup>2</sup> war daher das wichtigste Einschlusskriterium bei der Rekrutierung der Probanden. In der Regel hatten die rekrutierten Personen keine bekannten Augenerkrankungen oder Diabetes; lediglich bei der abschließenden fünften Kampagne waren zusätzlich vier Diabetes-Patienten Teil des Probandenkollektivs.

### 6.1.1 Messkampagne 1

Neben Fragen zur baulichen Anordnung und Fixierung des Labormusters 1 (s. Abschnitt 5.1) am HRT diente die erste Messkampagne hauptsächlich dem Nachweis der grundsätzlichen Machbarkeit des Ansatzes, insbesondere der Untersuchung der Sichtbarkeit der mit dem fixierenden Auge betrachteten Fixationsmarke. Da das Licht des Abtastlasers vom untersuchten Auge als roter Hintergrund wahrgenommen wird, der einen Großteil des Gesichtsfelds ausfüllt, muss sich die Fixationsmarke davon abheben. Weitere Fragestellungen galten der Akzeptanz der geführten Augenbewegung durch die Probanden und einem Vergleich des subjektiven Eindrucks im Vergleich mit konventionellen CCM-Untersuchungen. Schließlich sollte ein erster Eindruck davon gewonnen werden, wie sich der ART Composite Betriebsmodus des HRT im Zusammenspiel mit der geführten Augenbewegung — anstatt wie bei Zhivov et al. [17] mit manueller Führung des Mikroskops — verhält, da die in diesem Betriebsmodus realisierte online-Registrierung der Einzelaufnahmen die Basis für die online-Bestimmung der Aufnahmepositionen und der darauf aufbauenden adaptiven Anpassung der Markentrajektorie bilden sollte.

Im Gegensatz zu den folgenden Messkampagnen wurde kein spezielles Protokoll abgearbeitet, sondern in wechselnden Kombinationen unterschiedliche vorprogrammierte Bahnformen sowie eine manuell gesteuerte Nachführung der Fixationsmarke getestet und die Probanden anschließend nach ihren subjektiven Eindrücken befragt. Alle Probanden hatten bereits Erfahrungen mit konventionellen CCM-Untersuchungen. Eine weiße, kreisförmige Fixationsmarke vor schwarzem Hintergrund konnte von sämtlichen Probanden problemlos wahrgenommen und verfolgt werden.<sup>3</sup> Das Folgen der bewegten Fixationsmarke wurde im Vergleich zum längeren Fixieren eines unbewegten Punktes bei konventionellen CCM-Untersuchungen übereinstimmend als angenehmer empfunden. Ebenso wurde die Ausblendung externer visueller Stimuli durch die Abschottung des kontralateralen Auges von der Umgebung durch das Display als vorteilhaft beschrieben. Abgesehen von den in Abschnitt 3.2 angeführten Argumenten, die für eine spiralförmige Markentrajektorie sprechen, wurde eine solche Bahnführung auch von den Probanden aufgrund des immer gleichförmigen und vorhersehbaren Bewegungsverlaufs als am angenehmsten beurteilt.

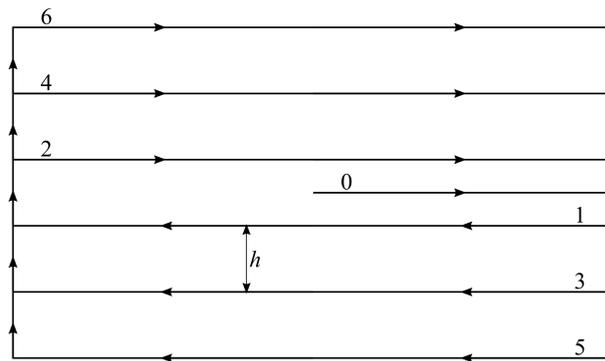
Der ART Composite Betriebsmodus offenbarte oftmals Probleme bei der online-Registrierung. Speziell der Beginn der online-Mosaikbilderzeugung wurde bei der Beobachtung

---

<sup>1</sup>Herzlichen Dank an Prof. Dr. med Rudolf F. Guthoff und Prof. Dr. rer. nat. Oliver Stachs für die Organisation und Begleitung der Messkampagnen. Ein ganz besonderer Dank gilt Sabine Peschel für die Durchführung der CCM-Aufnahmen in allen fünf Messkampagnen.

<sup>2</sup>Die Fähigkeit und Bereitschaft der betreffenden Person, mehrere aufeinanderfolgende CCM-Untersuchungen mit geführter Augenbewegung zu absolvieren; s. auch Abschnitt 3.4.1.

<sup>3</sup>Die weiße Fixationsmarke wurde auch als weiß wahrgenommen, der schwarze Hintergrund hingegen als rot.



**Abbildung 6.1:** Alternierendes Mäander als Fixationsmarkenbahn

der Durchläufe als kritische Phase identifiziert. Bildete sich nicht bereits in den ersten Sekunden ein Kern eines Mosaikbilds mit einer Ausdehnung, die deutlich über die initial in der Mitte platzierte erste Einzelaufnahme hinausging, dann geschah das mit hoher Zuverlässigkeit auch nicht mehr bei beliebig langer Fortsetzung der Aufnahme.<sup>4</sup> Bei allen folgenden Messkampagnen wurde daher die in Abschnitt 3.2 beschriebene initiale Beschleunigungsphase in die Berechnung der Markenposition integriert. Damit wird die Ausbildung eines solchen Mosaikbildkerns im ART-Betriebsmodus durch kleine, erratische, unkontrollierte Augenbewegungen bei anfangs nahezu stillstehender Fixationsmarke unterstützt.

### 6.1.2 Messkampagne 2

Die zweite Messkampagne wurde ebenfalls mit dem Labormuster 1 durchgeführt und diente dem systematischen Vergleich zwischen der Führung der Fixationsmarke entlang einer archimedischen Spirale, wie sie in Abschnitt 3.2 beschrieben ist, gegenüber einer Art alternierendem Mäander (vgl. Abb. 6.1), sowie einem direkten Vergleich des ART Composite Betriebsmodus mit dem Sequence Betriebsmodus des HRT.

Dazu wurden eine mäander- und eine spiralförmige Trajektorie mit den in Tabelle 6.1 genannten Parametern definiert und mit beiden Bahnvarianten jeweils eine Untersuchung im ART Composite Mode und im Sequence Mode durchgeführt, sodass für jeden Probanden insgesamt vier Datensätze akquiriert wurden. Eine Kopplung zwischen HRT-System und EG-System war dabei noch nicht vorhanden, beide wurden vom Bediener unabhängig voneinander etwa zeitgleich gestartet.

Übereinstimmend mit den Ergebnissen der ersten Messkampagne wurde das Spiralmuster von den Probanden als angenehmer beschrieben, vor allem hinsichtlich der abrupten Richtungswechsel an den Enden der horizontalen Liniensegmente bei der Mäanderbahn. Die resultierenden Mosaikbilder belegen die prinzipielle Eignung beider Muster zur Erfassung eines ausgedehnten Bereichs des SNP. Weder hinsichtlich der Verfolgung der Marke noch hinsichtlich der Bildregistrierung konnte jedoch ein Vorteil der abschnittsweise geraden Bahnführung nachgewiesen werden. Aufgrund der Aussagen der Probanden und der insgesamt gleichmäßigeren Erweiterung

<sup>4</sup>Es handelt sich hierbei um eine rein augenscheinliche, qualitative Beobachtung, die nicht weiter präzisiert oder quantifiziert wird.

des erfassten Bereichs um den zentralen Startpunkt, wurde für die nachfolgenden Messkampagnen die Spiralbahn als Grundform gewählt. Während im ART Composite Betriebsmodus die gleichen Schwierigkeiten bei der online-Bildregistrierung auftraten wie in der ersten Messkampagne, zeigten sich hinsichtlich der Aufzeichnung der Bildserie keine Unterschiede zwischen den eingesetzten Betriebsmodi des HRT. Die Bilderfassung wird durch die online-Registrierung nicht beeinträchtigt.

### 6.1.3 Messkampagne 3

Bei der dritten Messkampagne wurde letztmalig das Labormuster 1 eingesetzt. Nach der Festlegung auf eine spiralförmige Trajektorie der Fixationsmarke sollte hauptsächlich eine Versuchsreihe zur Erprobung verschiedener Parameter der Markenführung durchgeführt werden. Zwei weitere Untersuchungen sollten darüber hinaus Aufschluss über die maximal mögliche Ausdehnung des (in einem Aufnahmeprozess) erfassbaren Teils des SNP geben.

Zur Untersuchung verschiedener Spiralparameter wurden in den Versuchen V3-1 bis V3-6 die Markengeschwindigkeit und der Windungsabstand der Spiralform wie in Tabelle 6.1 angegeben variiert und im Anschluss an die Versuchsreihe der subjektive Eindruck der Probanden hinsichtlich der Markengeschwindigkeit abgefragt. Zur Bestimmung der maximalen lateralen Ausdehnung der erfassbaren Fläche wurde die Fixationsmarke in den Versuchen V3-7 und V3-8 (s. Tab. 6.1) mit mäßiger Geschwindigkeit mehrfach entlang einer horizontal bzw. vertikal orientierten und durch die Mitte des Sehfelds verlaufenden Linie bewegt. Die Geschwindigkeit wurde dabei jeweils sinusförmig variiert. Wie in den vorausgegangenen Messkampagnen wurden alle Versuche noch ohne Kopplung zwischen der HRT- und der EG-Software und aufgrund der zuvor beobachteten Einschränkungen des ART Composite Betriebsmodus im Sequence Mode durchgeführt. Zur Auslotung der Grenzen des EG-Konzepts wurde der Aufnahmeprozess erst abgebrochen, wenn die Beurteilung der Livebildanzeige keinen weiteren Zuwachs der erfassten Fläche erwarten ließ. Bei einem sehr frühen Abbruch wurde die entsprechende Untersuchung wiederholt.

Die Fragestellung der maximalen lateralen Ausdehnung des in einem Aufnahmevorgang erfassbaren Bereichs konnte durch die Auswertung der Versuchsreihen V3-7 und V3-8 nicht abschließend beantwortet werden. In der Regel konnten mindestens in einer Richtung der Fixationsmarkenbewegung, teilweise in beiden, bis zur maximalen Auslenkung gute Aufnahmen gewonnen werden. In Anbetracht der mit den Spiralbahnen erreichten Mosaikbildgrößen wurde die Fragestellung anschließend nicht weiter untersucht. Bezüglich der optimalen Parametrierung der Spiralbahn erwiesen sich ein enger Windungsabstand und eine hohe Geschwindigkeit als vorteilhaft. Eine ausführliche Darstellung der Analysemethoden und der Ergebnisse folgt in Abschnitt 6.4.

### 6.1.4 Messkampagne 4

Zur Erprobung des neuen Displays im Labormuster 2 (s. Abschnitt 5.2) sowie der erstmals implementierten Kommunikationsschnittstelle zwischen der HRT-Software und der EG-Software

wurde in der vierten Messkampagne eine weitere Messreihe mit variierenden Spiralparametern durchgeführt. Darüber hinaus sollten mögliche Einflüsse der Kommunikation zwischen den Software-Prozessen auf den eigentlichen Bildgebungsprozess (also das kontinuierliche Erfassen der Aufnahmeserie) untersucht werden.

Das Untersuchungsprotokoll der vierten Messkampagne war derart konzipiert, dass zunächst eine Basisuntersuchung V4-2 mit durchschnittlicher Markengeschwindigkeit und durchschnittlichem Windungsabstand durchgeführt wurde, um davon ausgehend in weiteren Versuchen getrennt voneinander den Windungsabstand (V4-3 und V4-4) sowie die Markengeschwindigkeit (V4-5 und V4-6) jeweils einmal zu verringern und anzuheben. Mit identischen Einstellungen für die Markentrajektorie wie bei V4-2 folgte ein Versuch V4-7 mit deaktivierter Kommunikation. Die Untersuchungsparameter finden sich in Tabelle 6.1. Abgesehen vom letzten Versuch war das vorübergehende Fixieren der Radiuskoordinate der Spirale bei nicht erfolgter online-Registrierung einer Aufnahme (Ansatz 1 in Abschnitt 3.4.2) durchgehend aktiviert, um den Aufbau des online-Mosaikbilds zu unterstützen. Im Gegensatz zur dritten Messkampagne wurde für jeden Versuch eine maximale Aufnahmedauer vorgegeben. Zusätzlich war die Möglichkeit eines vorzeitigen Abbruchs definiert, wenn aufgrund der Beobachtung des online-Mosaikbilds kein weiterer Zuwachs der erfassten Fläche zu erwarten war. Trat dieser Fall bereits vor Ablauf der Hälfte der Maximaldauer ein, wurde der Datensatz verworfen und der Versuch wiederholt.

Eine Analyse der aufgezeichneten Daten der online-Registrierung offenbart einen verhältnismäßig hohen Anteil nicht registrierbarer Aufnahmen sowie geringe, systematische Abweichungen der ermittelten Bildpositionen im Vergleich zu den offline-Algorithmen. Eine Beschreibung der Analyse und eine vergleichende Bewertung beider Registrierungsverfahren findet sich in Abschnitt 6.5. Eine analytische Betrachtung der erhobenen Daten hinsichtlich der in Abschnitt 3.3 beschriebenen Ansätze zur Koordinatentransformation zwischen dem Koordinatensystem des online-Mosaikbilds und dem für die Angabe der Markenpositionen verwendeten Displaykoordinatensystem erfolgt in Abschnitt 6.6. Ein Einfluss der aktivierten Kommunikation zwischen den Softwareprozessen auf die Bildaufzeichnung wurde nicht festgestellt.

### 6.1.5 Messkampagne 5

Neben der grundsätzlichen praktischen Erprobung des Labormusters 3 (s. Abschnitt 5.3) bestand das Ziel der abschließenden fünften Messkampagne im Vergleich der verschiedenen Ansätze zur adaptiven Anpassung des Spiralmittelpunkts auf Basis der Auswertung der online ermittelten Bildpositionen. Durch die explizite Einbeziehung von vier Personen mit Diabetes in das Probandenkollektiv sollten darüber hinaus potentielle Unterschiede bei der Fähigkeit zur Verfolgung der Fixationsmarke im Vergleich zu gesunden Probanden untersucht werden, die bereits Erfahrung mit CCM-Untersuchungen hatten.

Dazu wurden die Untersuchung V5-1 ohne Mittelpunktanpassung sowie die Untersuchungen V5-2 bis V5-7 (s. Tab. 6.1) durchgeführt, bei denen die Mittelpunktanpassung nach den in Abschnitt 3.4.2 beschriebenen Ansätzen 2a, 2b und 2c vorgenommen wurde. Im Vergleich der Datensätze der Diabetespatienten mit den Datensätzen der gesunden Probanden zeigen sich

keine systematischen Unterschiede. Die Auswertung der Daten hinsichtlich der Anpassung der Spiralparameter folgt in Abschnitt 6.7.

## 6.2 Bestimmung eines geeigneten Schwellwerts für die offline-Bildregistrierung

Die Abschnitte 4.4 und 4.5 beschreiben die Bestimmung eines Versatzvektors  $\vec{u}_{i,j}$  zwischen zwei Bildern  $I_i$  und  $I_j$  (bzw.  $\vec{u}_{i,j,k}$  zwischen  $I_i$  und  $I_{j,k}$  bei der in Abschnitt 4.5.2 dargestellten Teilbildregistrierung) über die Lage  $(x_{max}, y_{max})$  des globalen Maximums der Phasenkorrelationsfunktion  $R$  des Bildpaares. Dort wird mehrfach auf die Notwendigkeit eines Schwellwerts zur Validierung des erhaltenen Registrierergebnisses  $r = R(x_{max}, y_{max})$  hingewiesen, da zum einen a priori nicht bekannt ist, ob das registrierte Bildpaar überhaupt korrespondierende Bildbereiche aufweist, und zum anderen auch bei der Existenz einer Korrespondenz zwischen den Bildern das in der Korrelationsfunktion enthaltene Signal derart schwach ausgeprägt sein kann, dass es nicht vom Grundrauschen zu unterscheiden ist. Letzteres ist beispielsweise dann der Fall, wenn der korrespondierende Bereich im Verhältnis zur registrierten Bildfläche sehr klein ist (da mit dem Verhältnis auch der maximal zu erwartende Korrelationswert  $r$  abnimmt), oder wenn mindestens eine der Aufnahmen starke Bewegungsartefakte aufweist.<sup>5</sup> Im Folgenden wird dargestellt, wie auf der Basis theoretischer und praktischer Untersuchungen zur Verteilung der Korrelationswerte ein geeigneter Schwellwert zur Validierung der Registrierergebnisse ermittelt werden kann.

### 6.2.1 Einführung der Konfusionsmatrix

Ein Registrierergebnis  $(I_i, I_j, r, x_{max}, y_{max})$  wird nun als *korrekt* definiert, wenn der durch  $(x_{max}, y_{max})$  definierte Versatzvektor die Translation zumindest zwischen Teilbereichen zweier Bilder korrekt wiedergibt.<sup>6</sup> In allen anderen Fällen soll das Registrierergebnis als *nicht korrekt* bezeichnet werden. Offensichtlich definieren die zwei Klassen  $K_k$  aller korrekten und  $K_{nk}$  aller nicht korrekten Registrierergebnisse eine Partition (im Sinne der Mengenlehre) der Grundgesamtheit aller möglichen Registrierergebnisse.

Die Verwendung eines Schwellwerts  $r_s$  zur Validierung der Registrierergebnisse definiert ebenfalls eine Partition der Grundgesamtheit der Registrierergebnisse, mit einer Klasse  $K_a$  aller aufgrund  $r \geq r_s$  *akzeptierten* und einer Klasse  $K_{na}$  aller aufgrund  $r < r_s$  *nicht akzeptierten* Registrierergebnisse. Im Idealfall könnte  $r_s$  so gewählt werden, dass  $K_k \equiv K_a$  (und damit auch  $K_{nk} \equiv K_{na}$ ); die Klassen  $K_k$  und  $K_{nk}$  heißen in einem solchen Fall linear separierbar. Da (aus

<sup>5</sup>Genau genommen tritt der zuletzt genannte Fall nur dann ein, wenn die bewegungsbedingten Verzerrungen der beiden Aufnahmen sich deutlich unterscheiden. Aufnahmen mit stark ausgeprägten, aber gleichartig wirkenden Bewegungsartefakten (die also von Bewegungen mit ähnlichem Bewegungsvektor verursacht worden sind) würden in einem vergleichbar hohen Korrelationswert resultieren wie völlig unverzerrte Aufnahmen. Diese Tatsache wird in Abschnitt 3.2 als einer der Vorzüge der Spiralförmigkeit zur Führung der Blickrichtung genannt, da bei dieser Form die induzierten Bewegungsvektoren in lokalen Umgebungen stets nur geringe Unterschiede aufweisen.

<sup>6</sup>S. Abschnitt 4.5.1 und speziell Abb. 4.13 zur Überlagerung zweier Bilder mit Bewegungsartefakten und deren Auswirkung auf die Phasenkorrelationsfunktion.

	$K_k$ (korrekt)	$K_{nk}$ (nicht korrekt)
$K_a$ (akzeptiert)	$K_{rp}$ (richtig positiv)	$K_{fp}$ (falsch positiv)
$K_{na}$ (nicht akzeptiert)	$K_{fn}$ (falsch negativ)	$K_{rn}$ (richtig negativ)

**Abbildung 6.2:** Konfusionsmatrix für die Registrierergebnisse (nach [94, S. 199]).

den in der Einleitung zu Abschnitt 6.2 genannten Gründen) auch korrekte Registrierungen mit relativ geringem Korrelationswert vorkommen, während der aus inkorrekten Registrierungen resultierende Korrelationswert grundsätzlich nach oben unbeschränkt ist (vgl. Abschnitt 6.2.2), sind die Klassen  $K_k$  und  $K_{nk}$  der vorliegenden Aufgabenstellung — wie bei den meisten praktisch relevanten Klassifizierungsaufgaben — nicht linear separierbar.

Mit der (unbekannten) Aufteilung der Registrierergebnisse in korrekte und nicht korrekte einerseits und der (schwewertabhängigen) Aufteilung in akzeptierte und nicht akzeptierte andererseits lassen sich vier Schnittmengen bilden, deren Relation zueinander in der sogenannten *Konfusionsmatrix* (s. Abb. 6.2) dargestellt werden kann [94, S. 198–200]. Die beiden Schnittmengen  $K_{rp} = K_a \cap K_k$  (*richtig positiv*) und  $K_{rn} = K_{na} \cap K_{nk}$  (*richtig negativ*) enthalten diejenigen Registrierergebnisse, die durch Anwendung des Schwellwerts korrekt klassifiziert werden, in dem Sinn, dass korrekte Registrierungen akzeptiert und nicht korrekte Registrierungen nicht akzeptiert werden. Die Schnittmenge  $K_{fp} = K_a \cap K_{nk}$  (*falsch positiv*) enthält die Ergebnisse von nicht korrekten Registrierungen, die bei der Validierung durch den Schwellwert akzeptiert werden, während schließlich die Schnittmenge  $K_{fn} = K_{na} \cap K_k$  (*falsch negativ*) die korrekten Registrierungen beinhaltet, die nicht akzeptiert werden.

Über die relativen Mächtigkeiten der so definierten Mengen können verschiedene Maße zur Beurteilung der Klassifikationsgüte eines konkreten Klassifikators (d.h. eines konkreten Schwellwerts  $r_s$ ) definiert werden (vgl. [95, S. 14–15; 96, S. 56]), insbesondere die *Falsch-Negativ-Rate* (FNR)

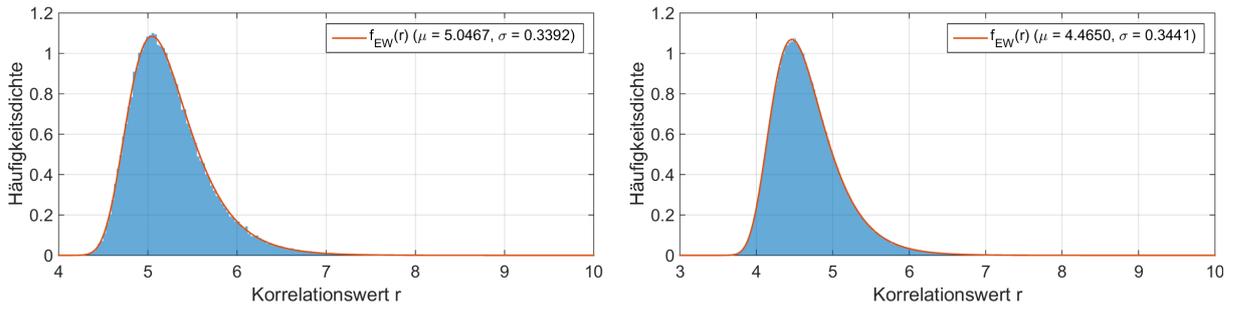
$$FNR = \frac{|K_{fn}|}{|K_{rp}| + |K_{fn}|} = \frac{|K_{fn}|}{|K_k|}, \quad (6.1)$$

die *Richtig-Positiv-Rate* (RPR) oder *Sensitivität*

$$RPR = \frac{|K_{rp}|}{|K_{rp}| + |K_{fn}|} = \frac{|K_{rp}|}{|K_k|} = 1 - FNR, \quad (6.2)$$

die *Falsch-Positiv-Rate* (FPR)

$$FPR = \frac{|K_{fp}|}{|K_{rn}| + |K_{fp}|} = \frac{|K_{fp}|}{|K_{nk}|}, \quad (6.3)$$



**Abbildung 6.3:** Häufigkeitsdichte der Korrelationswerte nicht korrekter Registrierungen der Gesamtbilder (links) und der Teilbilder (rechts).

sowie die *Richtig-Negativ-Rate* (RNR) oder *Spezifität*

$$RNR = \frac{|K_{rn}|}{|K_{rn}| + |K_{fp}|} = \frac{|K_{rn}|}{|K_{nk}|} = 1 - FPR. \quad (6.4)$$

Es sei darauf hingewiesen, dass für die experimentelle Bestimmung der genannten Maße die Zuordnung der verwendeten Registrierergebnisse zu  $K_k$  bzw.  $K_{nk}$  bekannt sein muss.

Alternativ lassen sich die Werte als bedingte Wahrscheinlichkeiten auf der Grundlage der Wahrscheinlichkeitsverteilungen der Registrierergebnisse bestimmen (vgl. [95, S. 14–15; 96, S. 56]). So ergibt sich die FPR als

$$FPR = P(X \in K_a | X \in K_{nk}) = \frac{P(X \in K_a \cap K_{nk})}{P(X \in K_{nk})} = \frac{P(X \in K_{fp})}{P(X \in K_{nk})}, \quad (6.5)$$

wobei  $X$  eine Zufallsvariable in Form eines Registrierergebnisses bezeichne. Die anderen Maße ergeben sich durch entsprechendes Ersetzen der Klassenzugehörigkeiten vollkommen analog.

### 6.2.2 Verteilung der nicht korrekten Registrierergebnisse

Die Verteilung der Korrelationswerte von nicht korrekten Registrierungen kann leicht anhand realer Bilddaten experimentell bestimmt werden. Durch die Korrelation von Bildpaaren, bei denen beide Aufnahmen von unterschiedlichen Probanden stammen, lassen sich praktisch beliebig viele Registrierergebnisse generieren, von denen a priori bekannt ist, dass sie nicht korrekt sind. Die Abbildung 6.3 zeigt die Häufigkeitsverteilungen der resultierenden (normierten) Korrelationswerte von ca. 100 000 derartigen Bildpaaren bei der Registrierung der Gesamtbilder, bzw. von ca. 1 500 000 Paaren von Teilbildern, wie sie bei der Registrierung von Teilbildern korreliert werden. Aufgrund der Auswahl des globalen Maximums der normalverteilten Phasenkorrelationswerte (s. Abschnitt 4.4.2), folgen die Registrierergebnisse  $r$  einer Extremwertverteilung [97, S. 45–47], deren Wahrscheinlichkeitsdichte ebenfalls in Abbildung 6.3 dargestellt ist.<sup>7</sup>

Die Schätzung der zugrundeliegenden Wahrscheinlichkeitsdichte auf der Basis der experimentell bestimmten Häufigkeitsdichte der Korrelationswerte erlaubt weitreichende Aussagen

<sup>7</sup>Genauer handelt es sich um eine Extremwertverteilung vom Typ I [98, S. 14, Theorem 1.5.3], auch Gumbel-Verteilung genannt.

zur Eignung eines Schwellwerts  $r_s$ . Die Verteilungsfunktion einer Extremwertverteilung über der Variablen  $x$  ist durch

$$F_{EW}(x) = e^{-e^{-\frac{x-\mu}{\sigma}}}, \quad (6.6)$$

gegeben [97, S. 46], ihre Dichtefunktion ergibt sich als deren Ableitung  $f_{EW} = F'_{EW}$  zu

$$f_{EW}(x) = \frac{1}{\sigma} e^{-\frac{x-\mu}{\sigma}} e^{-e^{-\frac{x-\mu}{\sigma}}}, \quad (6.7)$$

wobei  $\mu$  als Lageparameter und  $\sigma$  als Skalierungsparameter bezeichnet werden. Ähnlich zum Mittelwert und der Standardabweichung einer Normalverteilung definiert  $\mu$  die Lage der Dichtefunktion auf der  $x$ -Achse<sup>8</sup> und  $\sigma$  ihre Höhe und Breite. Durch Maximum-Likelihood-Regression können die Parameter der in Abbildung 6.3 dargestellten Häufigkeitsverteilungen zu

$$\begin{aligned} \mu_B &\approx 5,0467 \\ \sigma_B &\approx 0,3392 \end{aligned} \quad (6.8)$$

für die Gesamtbildregistrierung bzw. zu

$$\begin{aligned} \mu_{TB} &\approx 4,4650 \\ \sigma_{TB} &\approx 0,3441 \end{aligned} \quad (6.9)$$

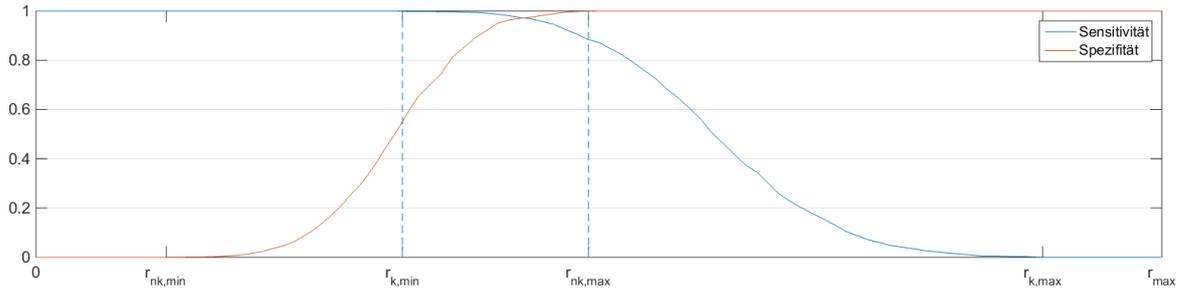
für die Teilbildregistrierung bestimmt werden.<sup>9</sup>

### 6.2.3 Ableitung des Schwellwerts

Zur Wahl eines Schwellwerts  $r_s$  wird auf die in Abschnitt 6.2.1 definierten Gütemaße zurückgegriffen. Offensichtlich ist grundsätzlich eine Maximierung der Sensitivität und der Spezifität (was mit einer Minimierung der FNR respektive FPR gleichbedeutend ist) wünschenswert. Tatsächlich sind beide jedoch negativ korreliert, wie die folgende Überlegung zeigt. Es sei  $G = K_k \cup K_{nk}$  eine gegebene, endliche Grundgesamtheit von Registrierergebnissen. Wählt man  $r_s = 0$ , so wird  $K_a = G$  und  $K_{na} = \emptyset$ , wodurch sich nach den Gleichungen (6.1) bis (6.4) die maximal mögliche Sensitivität von  $RPR = 1$ , gleichzeitig aber eine Spezifität von  $RNR = 0$  ergibt. Lässt man  $r_s$  langsam ansteigen, so verliert  $K_a$  zunehmend Elemente an  $K_{na}$ , niemals aber umgekehrt; die Anzahl der Elemente in den Klassen  $K_a$ ,  $K_{rp}$  und  $K_{fp}$  nimmt dabei folg-

<sup>8</sup>Im Gegensatz zur Normalverteilung liegt das Maximum von  $f_{EW}$  hingegen nicht an der Stelle  $\mu$ , sondern bei  $\mu + \sigma\gamma$ , mit der sogenannten Euler-Mascheroni-Konstante  $\gamma \approx 0,5772$ .

<sup>9</sup>Leadbetter et al. geben auch eine Berechnungsvorschrift für  $\mu$  und  $\sigma$  an, die, geht man von einer Standard-Normalverteilung der zugrundeliegenden Stichproben aus (was durch die Normierung der Korrelationswerte erfüllt ist), nur von der Stichprobengröße  $n$  abhängt. Der Skalierungsparameter wird durch  $\sigma = (2 \ln n)^{-\frac{1}{2}}$  bestimmt, der Lageparameter durch  $\mu = (2 \ln n)^{\frac{1}{2}} - \frac{1}{2} (2 \ln n)^{-\frac{1}{2}} (\ln \ln n + \ln 4\pi)$  [98, S. 20, Beispiel 1.7.1]. Für die Gesamtbildregistrierung ergeben sich daraus mit  $n = 384 \cdot 384$  die Werte  $\mu_B \approx 4,3656$  und  $\sigma_B \approx 0,2050$ , für die Teilbildregistrierung mit  $n = 384 \cdot 48$  die Werte  $\mu_{TB} \approx 3,8889$  und  $\sigma_{TB} \approx 0,2256$ , die nicht exakt, aber doch relativ nahe bei den durch Regression experimentell ermittelten Werten liegen.



**Abbildung 6.4:** Schematische Darstellung der Abhängigkeit der Sensitivität und Spezifität von der Wahl des Schwellwerts  $r_s$ . Die Punkte  $r_{nk,min}$  und  $r_{nk,max}$  kennzeichnen den kleinsten bzw. größten vorkommenden Korrelationswert einer nicht korrekten Registrierung,  $r_{k,min}$  und  $r_{k,max}$  den kleinsten bzw. größten vorkommenden Korrelationswert einer korrekten Registrierung.

lich monoton ab, während umgekehrt die Anzahl der Elemente in  $K_{na}$ ,  $K_{fn}$  und  $K_{rn}$  monoton zunimmt. Da  $K_k$  und  $K_{nk}$  unabhängig von  $r_s$  sind, folgt daraus unmittelbar, dass beim Anheben des Schwellwerts auch die Sensitivität einen monoton abnehmenden und die Spezifität einen monoton zunehmenden Verlauf aufweisen. Der andere Extremfall tritt ein, sobald  $r_s$  den höchsten vorkommenden Korrelationswert übersteigt; es gilt dann  $K_a = \emptyset$ ,  $K_{na} = G$ ,  $RPR = 0$  und  $RNR = 1$ . Abbildung 6.4 stellt die geschilderte Situation schematisch dar. Da die Klassen  $K_k$  und  $K_{nk}$  in Abschnitt 6.2.1 als nicht linear separierbar identifiziert worden sind, existiert kein Wert  $r_s$ , für den sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität einen Wert von 1 annehmen (vgl. Abb. 6.4).

Die Wahl eines optimalen Schwellwerts muss problemspezifisch ausfallen. Während für viele Anwendungen ein Kompromiss bei gleichzeitig hoher, aber nicht maximaler, Sensitivität und Spezifität geeignet ist, führen bereits einzelne falsch positive Registrierungen, also nicht korrekte Registrierungen mit Korrelationswert  $r \geq r_s$ , zu Inkonsistenzen in dem in Abschnitt 4.6 eingeführten Gleichungssystem, die das Resultat merklich verfälschen können. Es ist für die vorliegende Aufgabenstellung daher eine FPR von 0 bzw. eine Spezifität von 1 anzustreben. Offensichtlich wird dabei der kleinste Wert  $r_s$  gesucht, für den sich diese Spezifität einstellt.

Bei Vorgabe einer minimalen Spezifität  $RNR_{min}$  ergibt sich der zu verwendende Schwellwert  $r_s$  nach Gleichung (6.6) direkt als Lösung der Gleichung

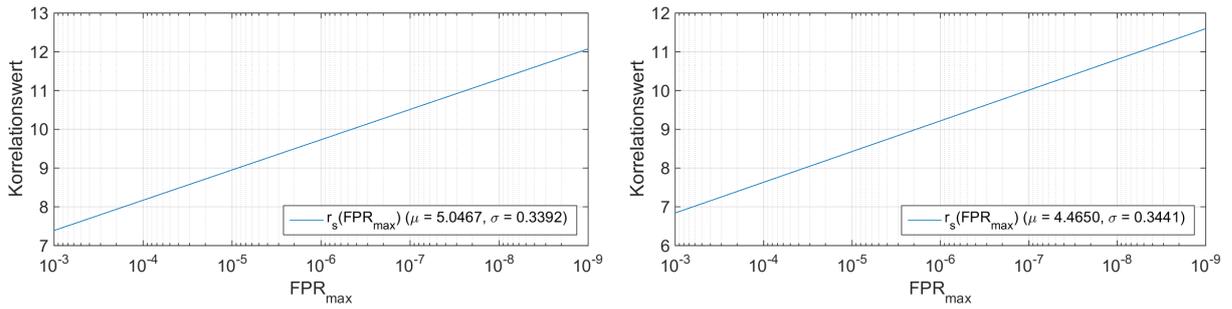
$$F_{EW}(r_s) = e^{-e^{-\frac{r_s - \mu}{\sigma}}} \stackrel{!}{=} RNR_{min} \quad (6.10)$$

zu

$$r_s = \mu - \sigma \ln(-\ln(RNR_{min})). \quad (6.11)$$

Mit den Werten  $\mu$  und  $\sigma$  aus den Gleichungen (6.8) und (6.9) folgen die in Abbildung 6.5 dargestellten Abhängigkeiten der Schwellwerte  $r_{s,B}$  bzw.  $r_{s,TB}$  für die Gesamtbildregistrierung respektive die Teilbildregistrierung von  $FPR_{max} = 1 - RNR_{min}$ .<sup>10</sup> Einige ausgewählte Punkte

<sup>10</sup>Unabhängig von der Problemstellung wird der resultierende Wert  $r_s$  auf der linken Seite von Gleichung (6.11) auch mit dem englischen Begriff *return level* und das in Abbildung 6.5 dargestellte Diagramm entsprechend als



**Abbildung 6.5:** Abhängigkeit der zu wählenden Schwellwerte  $r_{s,B}$  für die Gesamtbildregistrierung (links) und  $r_{s,TB}$  für die Teilbildregistrierung (rechts) von der maximal akzeptierten Falsch-Positiv-Rate  $FPR_{max} = 1 - RNR_{min}$  in Form von *return level plots* (nach [97, S. 49]).

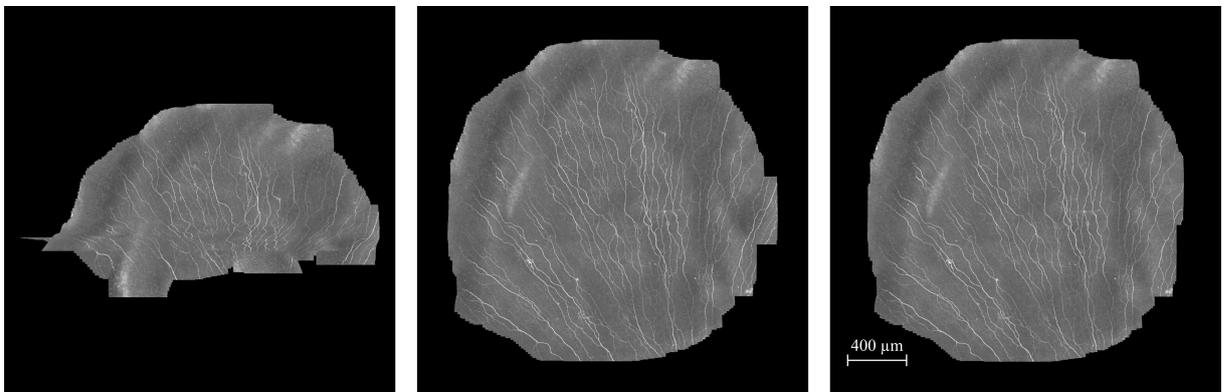
$FPR_{max}$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$
$r_{s,B}$	5,81	6,61	7,39	8,17	8,95	9,73	10,51	11,29	12,08
$r_{s,TB}$	5,24	6,05	6,84	7,63	8,43	9,22	10,01	10,80	11,60

**Tabelle 6.2:** Schwellwerte für die offline-Bildregistrierung von Gesamtbildern ( $r_{s,B}$ ) und Teilbilder ( $r_{s,TB}$ ) in Abhängigkeit einer vorgegebenen maximalen Falsch-Positiv-Rate  $FPR_{max}$ .

der Funktionen können der Tabelle 6.2 entnommen werden.

Die Auswirkungen der Wahl des Schwellwerts sind in Abbildung 6.6 dargestellt. Für das abgebildete Beispiel wurde ein Datensatz mit  $N = 1094$  Einzelaufnahmen aus der Versuchsreihe V3-1 der dritten Messkampagne jeweils einmal mit den Schwellwerteinstellungen in den Spalten  $FPR_{max} = 10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  und  $10^{-4}$  aus Tabelle 6.2 verarbeitet. Die zu registrierenden Bildpaare wurden mit der Maximalstrategie gewählt, die Anzahl der durchgeführten Gesamtbildregistrierungen betrug folglich  $\frac{N(N-1)}{2} = 597\,871$ . Die extremen Deformationen im linken Mosaikbild werden durch eine große Anzahl an falsch positiven Registrierungen verursacht. Da die wahre Unterteilung der Registrierungen in korrekte und nicht korrekte nicht bekannt ist, lässt sich

*return level plot* bezeichnet [97, S. 49].



**Abbildung 6.6:** Resultierendes Mosaikbild für verschiedene Schwellwerte  $r_{s,B}$  bei der Gesamtbild- und  $r_{s,TB}$  bei der Teilbildregistrierung nach Tabelle 6.2: Schwellwertwahl für  $FPR_{max} = 10^{-2}$  (links),  $10^{-3}$  (Mitte) und  $10^{-4}$  (rechts)

deren genaue Anzahl nicht ermitteln. Das in Abbildung 6.6 in der Mitte dargestellte Mosaikbild weist dagegen keine erkennbaren Bildfehler auf; es ist davon auszugehen, dass bei seiner Berechnung nur korrekte Registrierungen in das Gleichungssystem aufgenommen wurden, die FPR also bei 0 liegt. Diese Annahme wird letztendlich dadurch untermauert, dass sich bei einer weiteren Anhebung der Schwellwerte zunächst keine signifikanten Veränderungen im resultierenden Mosaikbild ergeben (s. Abb. 6.6 rechts).<sup>11</sup>

#### 6.2.4 Diskussion der Ergebnisse

Aufbauend auf den Ausführungen in Kapitel 4 wurde in den vorhergehenden Abschnitten zunächst die Bedeutung eines Schwellwerts zur Klassifizierung der Korrelationsergebnisse der offline-Registrierung in akzeptierte und nicht akzeptierte erläutert und argumentativ begründet, weshalb die vorliegende Problemstellung nicht linear separierbar ist. Es muss daher grundsätzlich mit falsch klassifizierten Ergebnissen gerechnet werden, entweder mit falsch positiven oder mit falsch negativen oder mit beiden. Es wurden verschiedene Kennzahlen zur Beurteilung der Schwellwertklassifikation eingeführt, insbesondere die Spezifität und die Sensitivität, und ihre Abhängigkeit von der Schwellwertwahl aufgezeigt. Aufgrund der extrem negativen Auswirkungen von falsch positiven Bildpaarregistrierungen auf das resultierende Mosaikbild wurde eine hohe Spezifität als für die vorliegende Problemstellung wichtiger identifiziert als eine hohe Sensitivität. Über die experimentell ermittelten Häufigkeitsverteilungen der nicht korrekten Bildpaarregistrierungen konnte mit Gleichung (6.11) schließlich eine Formel zur Berechnung der Schwellwerte für die Gesamtbildregistrierung und die Teilbildregistrierung unter Vorgabe einer minimalen Spezifität angegeben werden.

Es sei abschließend hervorgehoben, dass die oben dargestellte Herleitung geeigneter Schwellwerte auf zwei wesentlichen Eigenschaften der vorliegenden Problemstellung beruht. Zum einen auf der herausragenden Bedeutung der Spezifität, die bezogen auf die Registrierergebnisse eines konkreten Datensatzes stets den maximal möglichen Wert 1 annehmen sollte,<sup>12</sup> d.h. alle nicht korrekten Korrelationen auch tatsächlich nicht akzeptiert werden. Und zum anderen darauf, dass die Spezifität nur über die Mengen  $K_{rn}$  und  $K_{nk}$  definiert ist (vgl. Gleichung (6.4)), letztlich also nur von der Verteilung der nicht korrekten Korrelationsergebnisse abhängt, die sich in nahezu beliebiger Zahl aus realen Bilddaten erzeugen lassen. Das ist insofern von Bedeutung — und von Vorteil —, als dass letzteres, nämlich die hohe Verfügbarkeit, für korrekte Korrelationsergebnisse nicht in derselben Weise gilt.

### 6.3 Analyse der offline-Bildregistrierung

Zur Bewertung der offline-Algorithmen sollen verschiedene Aspekte analytisch und experimentell betrachtet werden. Der Fokus wird dabei auf den drei in Abschnitt 4.5.3 definierten Strategien

<sup>11</sup>Mit ansteigenden Schwellwerten nimmt freilich auch die Anzahl der richtig positiven Registrierungen ab (vgl. auch Abb. 6.4); bei einer weiteren Anhebung wird daher aufgrund von fehlenden Verbindungen das Mosaikbild sukzessive in kleinere Teilmosaikbilder zerfallen.

<sup>12</sup>Es sei jedoch abermals betont, dass sich das in der realen Anwendung nur schwer verifizieren lässt.

zur Auswahl der zu registrierenden Bildpaare liegen. Neben der Wahl der Schwellwerte für die Korrelationsergebnisse ist die verwendete Auswahlstrategie ein weiterer wesentlicher Einflussfaktor für die Qualität der resultierenden Ergebnisbilder.

In den folgenden Untersuchungen werden jeweils die Ergebnisse der Minimalstrategie, der Maximalstrategie und der Strategie der konstanten Schrittweite einander gegenübergestellt, die mit  $S_{min}$ ,  $S_{max}$  respektive  $S_\delta$  bezeichnet werden. Als Datenbasis dienen die Datensätze der Versuchsreihen V3-1 bis V3-4 der dritten Messkampagne (s. Tab. 6.1). Für  $S_\delta$  werden zwei verschiedene Schrittweiten  $\delta_1$  und  $\delta_2$  erprobt. Im Gegensatz zu  $S_{min}$  und  $S_\delta$  werden bei  $S_{max}$  nicht die vollständigen, sondern reduzierte Bildserien verwendet. Sei dazu  $N_{max}$  die Anzahl der Einzelaufnahmen des umfangreichsten Datensatzes einer Versuchsreihe. Dann wird ein Teilungsfaktor  $k = \lceil \frac{N_{max}}{1000} \rceil$  bestimmt<sup>13</sup> und die Verarbeitung aller Datensätze der Versuchsreihe mit  $S_{max}$  auf die Teilmengen  $\{I_i \mid 0 \leq i < N - 1, i = nk, n \in \mathbb{N}_0\}$  derjenigen Einzelaufnahmen mit ganzzahlig durch  $k$  teilbarem Bildindex beschränkt. Für die Versuchsreihe V3-1 ergibt sich auf diese Weise  $k = 5$ , für alle anderen Versuchsreihen  $k = 3$ .<sup>14</sup>

Nach der Beschreibung der Vorgehensweise zur Bestimmung der zwei Schrittweiten folgen theoretische Betrachtungen und Messergebnisse zu den Laufzeiten der algorithmischen Teilkomponenten. Abschließend wird eine qualitative Bewertung der Registrierstrategien vorgenommen.

### 6.3.1 Wahl der Schrittweite

Die Beschreibung der Strategie der konstanten Schrittweite in Abschnitt 4.5.3 geht auch auf die Bedeutung der vorzugebenden Schrittweite  $\delta$  ein und gibt ein Verfahren zur Bestimmung einer oberen Schranke  $\delta_{max} = \frac{l_B}{d}$  für sinnvolle Belegungen von  $\delta$  an. Dabei wird auf den mittleren absoluten Versatz  $d$  zwischen zwei aufeinanderfolgenden Einzelaufnahmen Bezug genommen, der jedoch per se nicht bekannt ist und daher zunächst experimentell ermittelt wird. Hauptsächlich wird  $d$  durch die Geschwindigkeit  $v$  der Fixationsmarkenbewegung beeinflusst.<sup>15</sup> Für jede Versuchsreihe wird eine der akquirierten Bildserien vorab unter Verwendung von  $S_{min}$  registriert. Um die Bestimmung von  $d$  auf eine möglichst umfangreiche Datenbasis zu stützen, wird dazu der jeweils größte Datensatz gewählt. Die mit  $S_{min}$  in den akzeptierten Registrierungen ermittelten Versatzvektoren liefern direkt die gesuchten Absolutversatzwerte zwischen aufeinanderfolgenden Aufnahmen. Der Median daraus wird als Schätzwert für  $d$  verwendet<sup>16</sup> und daraus nach der oben genannten Formel  $\delta_{max}$  bestimmt. Für die betrachteten Versuchsreihen ergeben sich die in Tabelle 6.3 zusammengefassten Werte. Zur Beurteilung von  $S_\delta$  und des Einflusses der Wahl der Schrittweite wurden sämtliche Datensätze der verwendeten Versuchsreihen einmal mit  $\delta_1 = \delta_{max}$

<sup>13</sup>Die hier verwendete Aufrundungsfunktion  $\lceil \cdot \rceil$  sei ganz analog zur Abrundungsfunktion  $\lfloor \cdot \rfloor$  (s. [68, S. 1229]) definiert als kleinste ganze Zahl größer gleich ihrem Argument, vgl. auch Abschnitt 4.5.3.

<sup>14</sup>Dass sich für die vier Versuchsreihen verschiedene Werte für  $k$  ergeben, ist nicht prinzipbedingt, sondern ausschließlich darauf zurückzuführen, dass bei der Versuchsreihe V3-1 in einem Fall ein Datensatz mit über 4000 Einzelaufnahmen erfasst wurde, während die Datensätze bei den übrigen Versuchsreihen durchgehend weniger als 3000 Einzelaufnahmen umfassen.

<sup>15</sup>In geringem Maß besteht auch ein Einfluss des Abstands des Auges von der Anzeigeeinheit, konkret der Vergrößerungsoptik, der an dieser Stelle aber vernachlässigt wird.

<sup>16</sup>Die Erfahrung zeigt, dass bei den akquirierten Absolutversatzdaten regelmäßig Ausreißer nach oben auftreten, hervorgerufen durch kurzzeitige Sakkaden, gegenüber denen der Median wesentlich robuster ist als der Mittelwert.

Versuchsreihe	V3-1	V3-2	V3-3	V3-4
$v$ [Pixel <sub>D</sub> /s]	80	160	240	320
$d$ [Pixel <sub>M</sub> ]	17,56	39,98	47,36	70,54
$\delta_{max}$	21,87	9,60	8,11	5,44

**Tabelle 6.3:** Mittlere absolute Versatzwerte  $d$  und daraus abgeleitete obere Schranken  $\delta_{max}$  der Schrittweite für die Selektion zu registrierender Bildpaare für V3-1 bis V3-4.

und einmal  $\delta_2 = \frac{\delta_{max}}{2}$  verarbeitet. Die Ergebnisse sind in Abschnitt 6.3.3 dargestellt.

### 6.3.2 Laufzeitanalyse

Die in Abschnitt 2.2 skizzierte und in Abschnitt 4.3 beschriebene Prozesskette zur Erzeugung von Mosaikbildern aus akquirierten Aufnahmeserien lässt sich in drei sequentiell durchzuführende Prozessschritte unterteilen — die paarweise Registrierung der Bilddaten, die Berechnung der Bewegungstrajektorie und die Fusion der Bilddaten — für die das Laufzeitverhalten  $T_1(N)$ ,  $T_2(N)$  respektive  $T_3(N)$  jeweils in Abhängigkeit der Problemgröße, d.h. der Anzahl  $N$  der Einzelaufnahmen, untersucht werden kann.

#### Registrierung der Bilddaten

Der für die Gesamtlaufzeit der Registrierung der Aufnahmeserie maßgebliche Faktor ist die Anzahl  $R$  der insgesamt registrierten Bildpaare, die für die drei Strategien zur Bildpaarselektion durch die Mengen  $P_{Min}$ ,  $P_{Max}$  bzw.  $P_{KS}(\delta)$  in den Gleichungen (4.69) bis (4.71) gegeben sind und für die die Teilmengenbeziehungen  $P_{Min} \subseteq P_{KS} \subseteq P_{Max}$  gelten. Für die Minimalstrategie und die Maximalstrategie lässt sich  $R$  unmittelbar durch

$$R_{Min}(N) = |P_{Min}| = N - 1 \text{ bzw.} \quad (6.12)$$

$$R_{Max}(N) = |P_{Max}| = \frac{N(N-1)}{2} \quad (6.13)$$

angeben. Für  $P_{KS}$  mit einer Schrittweite von 1 gilt  $P_{KS}(1) = P_{Max}$ , für Werte  $\delta > 1$  reduziert sich die Anzahl der Bildpaare in  $P_{KS}(\delta)$  um einen Faktor von etwa  $\delta$ . Die Mächtigkeit von  $P_{KS}(\delta)$  kann folglich durch

$$R_{KS}(\delta; N) = |P_{KS}(\delta)| \approx \frac{1}{\delta} |P_{Max}| = \frac{N(N-1)}{2\delta} \quad (6.14)$$

abgeschätzt werden. Grundsätzlich sollte sich die Laufzeit bei der Minimalstrategie folglich linear und bei den beiden anderen Strategien quadratisch in Bezug auf die Problemgröße verhalten.

Aufgrund des zweistufigen Aufbaus der Bildpaarregistrierung muss jedoch zwischen der Gesamtbildregistrierung und der Teilbildregistrierung unterschieden werden. Die Gesamtbildregistrierung wird für jedes der  $R$  betrachteten Bildpaare genau einmal durchgeführt und für jede Ausführung kann eine konstante Laufzeit  $T_{GBR}$  angesetzt werden. Bei der Teilbildregistrierung verhält es sich hingegen unterschiedlich. Zum einen wird sie nicht durchgeführt, wenn die Ge-

sambildregistrierung einen unterschwelligen Korrelationswert liefert, zum anderen werden bei jedem Bildpaar nur diejenigen der zwölf Teilbilder tatsächlich registriert, die nach der a priori-Versatzschätzung im Überlappungsbereich der beiden Bilder liegen (vgl. Abschnitt 4.5.2). Für die Registrierung eines einzelnen Teilbilds kann ebenfalls eine konstante Laufzeit  $T_{TBR}$  angesetzt werden. Wenn  $\bar{k}$  die durchschnittliche Anzahl der durchgeführten Teilbildregistrierungen pro Bildpaar ist, dann lässt sich mit den eingeführten Größen durch

$$T_1(N) = R(N) (T_{GBR} + \bar{k}T_{TBR}) \quad (6.15)$$

die Gesamtlaufzeit  $T_1$  des Teilprozesses der Registrierung der Bilddaten angeben, eine theoretische untere bzw. obere Schranke ergibt sich durch Einsetzen von  $\bar{k} = 0$  respektive  $\bar{k} = 12$ . Es sei angemerkt, dass der Wert  $\bar{k}$  in hohem Maß von den konkreten Bilddaten abhängt und nicht im Vorfeld für einen Datensatz oder gar allgemein abgeschätzt werden kann. Auf der verwendeten Testumgebung<sup>17</sup> wurden experimentell konkrete Werte von

$$T_{GBR} \approx 11,842 \text{ ms} \quad (6.16)$$

$$T_{TBR} \approx 1,594 \text{ ms} \quad (6.17)$$

gemessen.

### Berechnung der Bewegungstrajektorie

Die in Abschnitt 4.6 beschriebene Berechnung der Bewegungstrajektorie erfordert das Aufstellen und Lösen eines großen LGS. Das Aufstellen des Gleichungssystems, genauer der Systemmatrix  $W_r^T W_r + \alpha L^T L$  und der Resultatmatrix  $W_r^T U_r$  des regularisierten Gleichungssystems aus Gleichung (4.92), verhält sich prinzipiell linear in der Anzahl der akzeptierten Teilbildregistrierungen<sup>18</sup> und muss daher bei Verwendung von  $S_{max}$  bzw.  $S_\delta$  potentiell als quadratisch in  $N$  angesehen werden.

Das zur Lösung des regularisierten Gleichungssystems eingesetzte iterative CG-Verfahren konvergiert nach spätestens  $m$  Iterationen [89, S. 192, Satz 5.4], wenn  $m$  die Anzahl der Unbekannten ist. Im vorliegenden Fall gilt  $m = 16N$ . Die tatsächlich erforderliche Anzahl an Iterationen bis zur Konvergenz auf eine vorgegebenen Genauigkeit kann auch deutlich niedriger liegen, es wird hier aber zumindest von einer linearen Abhängigkeit von  $N$  ausgegangen. Jede Iteration enthält neben skalaren Rechenoperationen zwei Skalarprodukte und drei Vektoradditionen, die sich linear in  $m$  verhalten, sowie insbesondere eine Matrix-Vektor-Multiplikation, für die potentiell ein quadratischer Aufwand in  $m$  angesetzt werden muss [89, S. 192–193]. Es sei an dieser Stelle daran erinnert, dass die Systemmatrix des LGS spärlich besetzt ist, sodass der Aufwand der Matrix-Vektor-Multiplikation bei Verwendung geeigneter Datenstrukturen de facto proportional zur Anzahl der besetzten Matrixpositionen ausfällt. Für  $T_2(N)$  ist daher insgesamt ein in

<sup>17</sup>PC mit Intel Core i5-2400 CPU, 8 GB RAM, Microsoft Windows 7, Implementierung der Algorithmen in C++.

<sup>18</sup>Da jede akzeptierte Registrierung nach Gleichung (4.80) genau drei Koeffizienten ungleich 0 in das System einbringt, ist der Aufwand für das Eintragen der Koeffizienten konstant.

Bezug auf  $N$  mindestens quadratisches, potentiell aber kubisches Laufzeitverhalten zu erwarten.

### Fusion der Bilddaten

Die Erzeugung des Mosaikbilds ist in Abschnitt 4.8 im Wesentlichen durch die Gleichungen (4.107) bis (4.110) beschrieben. Zur softwaretechnischen Umsetzung des Verfahrens sind zunächst die Summen im Zähler und im Nenner von Gleichung (4.110) getrennt zu berechnen und abschließend die Division durchzuführen. Die Berechnung der Summen erfordert einen jeweils konstanten Aufwand  $T_{BK}$  pro Einzelaufnahme für die Gewichtung und Bewegungskorrektur der Aufnahme und der Gewichtsfunktion. Der für die (pixelweise durchgeführte) Division anfallende Aufwand hängt zwar unmittelbar von der Anzahl der Pixel des Mosaikbilds und folglich mittelbar auch von  $N$  ab,<sup>19</sup> fällt in der Praxis jedoch derart gering aus, dass sie hier vernachlässigt werden kann. Der Laufzeitaufwand für die Fusion der Bilddaten wird daher mit  $T_3(N) = NT_{BK}$  angesetzt. Auf der verwendeten Testumgebung wurde experimentell ein Wert von

$$T_{BK} \approx 65,815 \text{ ms} \quad (6.18)$$

gemessen.

### Gesamtbetrachtung

Abbildung 6.7 stellt die gemessenen Laufzeiten für die Daten der Versuchsreihe V3-1 und die vier verwendeten Strategien dar, separiert nach den einzelnen Prozessschritten. Die Gesamtlaufzeit wird maßgeblich durch die Laufzeit der Bildregistrierung beherrscht. Diese Dominanz gilt bereits bei  $S_{min}$ , wird jedoch mit zunehmendem  $R(N)$  weiter verstärkt, da die anderen Prozessschritte überhaupt nicht oder nur in geringem Maße von  $R(N)$  abhängig sind.

#### 6.3.3 Vergleich der Strategien zur Auswahl zu registrierender Bildpaare

Bei der Beurteilung der qualitativen Auswirkungen der Strategie zur Auswahl der registrierten Bildpaare auf die berechneten Mosaikbilder ist eine Visualisierung der registrierten Bildpaare hilfreich. In einigen der nachfolgenden Abbildungen ist den Mosaikbildern zu diesem Zweck eine Darstellung des Registriergraphen (vgl. Abschnitt 4.5.3) überlagert. Jede in das Mosaikbild eingegangene Einzelaufnahme  $I_i$  wird darin durch einen Knoten repräsentiert, der durch einen gelben Punkt an der Stelle der mittleren Lagekoordinaten  $\vec{s}_i$  der Aufnahme visualisiert wird. Bildpaare  $(i, j)$  mit akzeptierten Teilbildregistrierungen werden durch eine Kante zwischen den korrespondierenden Knoten dargestellt.<sup>20</sup> Nicht akzeptierte Registrierungen sind im Registrier-

<sup>19</sup>Theoretisch ist hierfür ebenfalls eine lineare Abhängigkeit von  $N$  anzusetzen, da im Idealfall mit jeder Einzelaufnahme ein konstanter Flächenzuwachs erzielt wird.

<sup>20</sup>Die Kanten sind darüber hinaus nach dem Betrag des Residualvektors  $\vec{r}_{i,j} = (\vec{s}_j - \vec{s}_i) - \vec{u}_{i,j}$  farbkodiert, wobei  $\vec{u}_{i,j}$  der Versatzvektor der Gesamtbildregistrierung ist. Blautöne repräsentieren kleine, Rottöne große Beträge. Die Zuordnung der Absolutbeträge zu den Farbtönen erfolgt individuell für jedes Mosaikbild derart, dass die auftretenden Beträge genau das gesamte Spektrum abdecken. Die Farbkodierung der Kanten kann bei der visuellen Prüfung einzelner Ergebnisbilder dabei helfen, falsch positive Registrierungen zu entdecken, die in der Regel durch

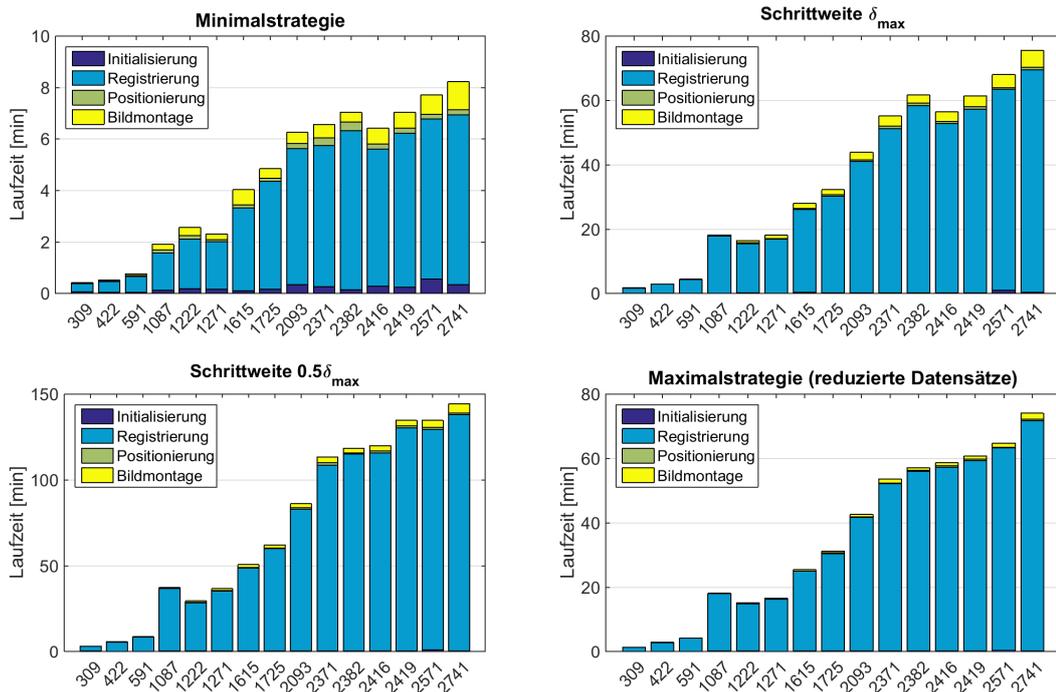


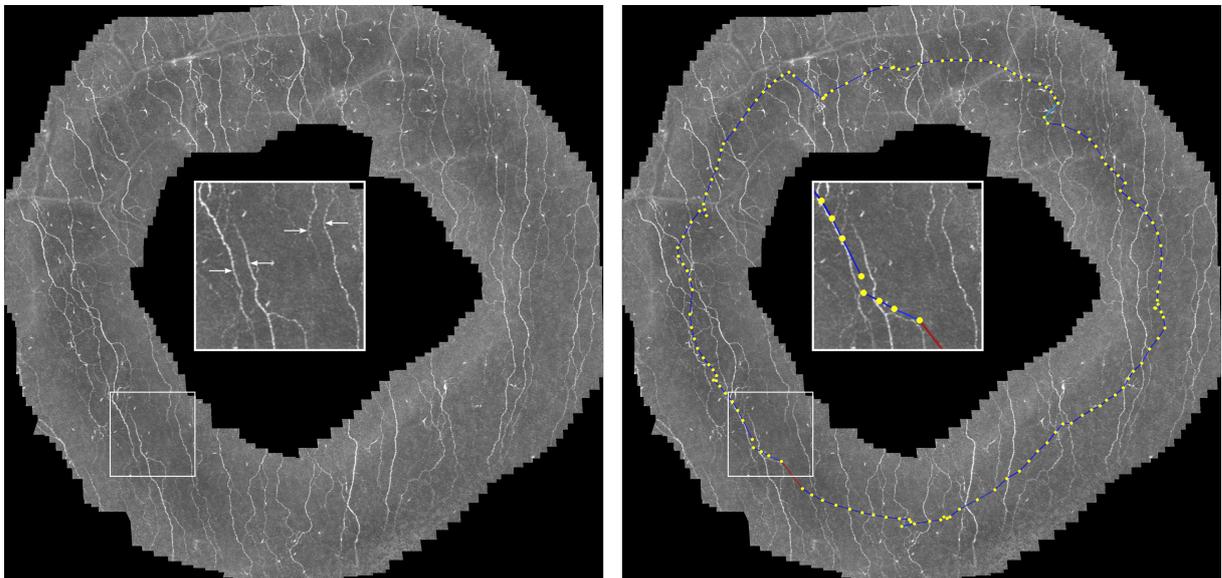
Abbildung 6.7: Gemessene Laufzeiten für die Datensätze der Versuchsreihe V3-2; unter den Balken ist jeweils die Anzahl der Einzelaufnahmen angegeben.

graphen nicht repräsentiert.

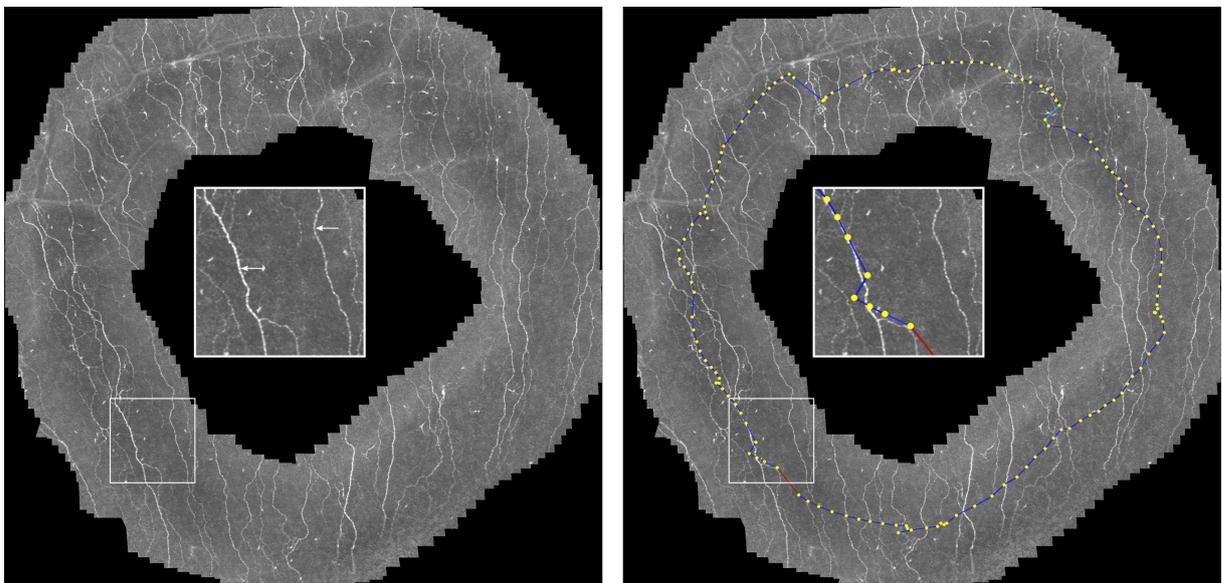
Bereits bei der Definition der Minimalstrategie wurde auf ihre Unzulänglichkeiten hingewiesen, da sich über lange Ketten von Bildpaarregistrierungen kleine Ungenauigkeiten zu signifikanten Fehlern in den resultierenden Lagekoordinaten der Aufnahmen aufsummieren können. Abbildung 6.8 zeigt ein Beispiel für einen zusammenhängenden Ausschnitt eines Datensatzes, der einem Umlauf der Spirale entspricht und bei dem sich die ersten und letzten Aufnahmen partiell überlappen. Im Bereich der Überlappung der beiden Enden der Bildsequenz ist deutlich erkennbar, dass die gemeinsamen Bildbereiche nur unzureichend zueinander positioniert sind. Durch eine weitere Registrierung der Aufnahmen an beiden Enden der Bildsequenz kann der Positionierfehler vollständig eliminiert werden (s. Abb. 6.9). Die Aufnahme der neuen Gleichungen in das zuvor minimal besetzte Gleichungssystem führt eine Redundanz in das System ein, durch welche der Fehler erst erkannt werden kann. Tatsächlich sind die neuen Gleichungen nicht exakt konsistent mit den zuvor vorhandenen — ansonsten wäre das Ergebnisbild bereits im ersten Fall fehlerfrei gewesen. Die Lösung des Gleichungssystems durch Minimierung der Fehlerquadratsumme verteilt die in das System eingebrachte geringe Inkonsistenz gleichmäßig auf die Gruppe der inkonsistenten Gleichungen.<sup>21</sup> Über die dargestellten Probleme bei der Aligrierung von mehrfach erfassten Bildbereichen hinaus lassen sich mit  $S_{min}$  grundsätzlich keine

einen Residualvektor mit großem Betrag gekennzeichnet sind.

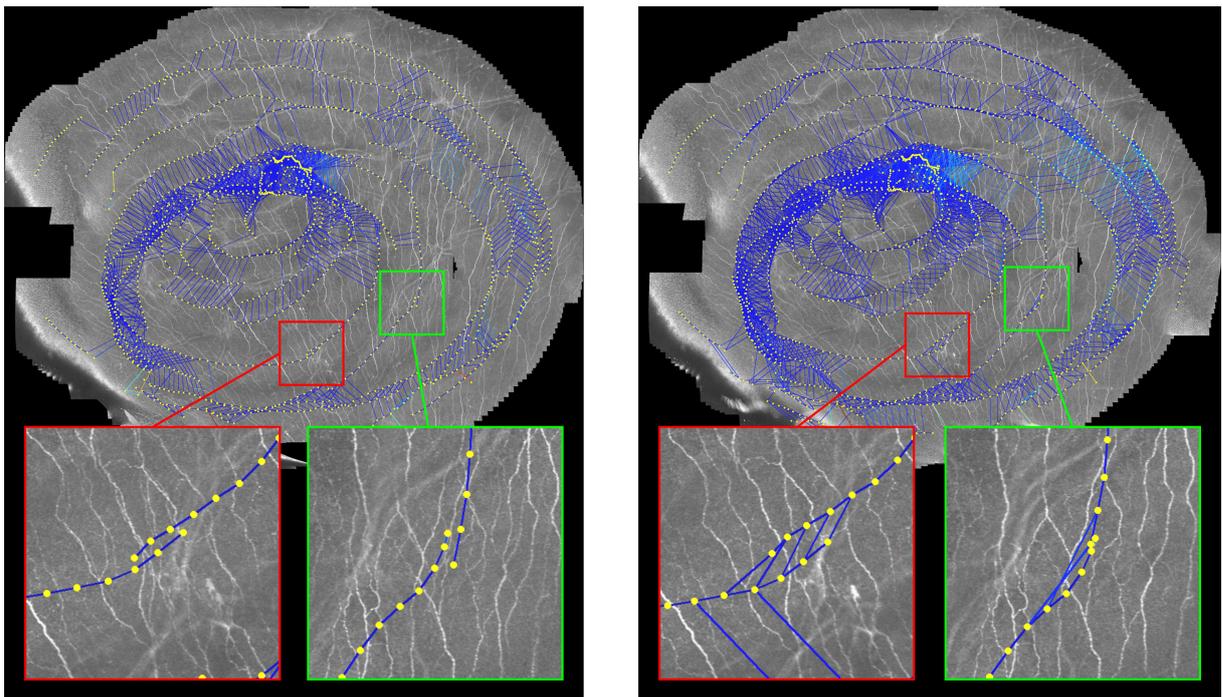
<sup>21</sup>Für das Beispiel in den Abbildungen 6.8 und 6.9 weisen nach der Lösung des Gleichungssystems tatsächlich alle Gleichungen exakt das gleiche Residuum auf. In der realen praktischen Anwendung des Verfahrens mit in der Regel hochgradig redundanten Gleichungssystemen stellt sich die Situation erheblich komplexer dar.



**Abbildung 6.8:** Mosaikbild (links) und der zugehörige Registriergraph (rechts) nach Registrierung einer Teilsequenz (eine Spiralwindung) mit der Minimalstrategie.



**Abbildung 6.9:** Mosaikbild (links) und der zugehörige Registriergraph (rechts) nach Registrierung der Teilsequenz aus Abbildung 6.8 mit zusätzlicher Registrierung der Einzelaufnahmen an den Enden der Teilsequenz.



**Abbildung 6.10:** Resultierende Mosaikbilder mit Registriergraph nach Registrierung einer Aufnahme­reihe der Versuchsreihe V3-2 unter Verwendung der Strategie  $S_\delta$ . Bei nicht registrierbaren konsekutiven Bildpaaren  $(i, i + 1)$  existiert mit  $\delta = \delta_1$  oft kein kurzer Pfad zwischen  $i$  und  $i + 1$  im Registriergraphen (links), während mit  $\delta = \delta_2$  in einigen Fällen nahe gelegene Bildpaare entlang der Windung registriert werden können, z.B.  $(i, i + 1 + \delta_2)$  (rechts).

großflächigen Mosaikbilder erzeugen, da die Kette der Registrierungen von Bildpaaren  $(i, i + 1)$  häufig unterbrochen wird, z.B. bei aufgrund von (unvermeidbaren) Mikrosakkaden stark verzerrten Aufnahmen. Die insgesamt erfasste Fläche wird so nur in zahlreichen bruchstückartigen Mosaikbildern wiedergegeben.

Unter Verwendung von  $S_{\delta_1}$  und  $S_{\delta_2}$  konnte ebenso wie bei der Registrierung mit  $S_{max}$  für jeden Datensatz jeweils eine großflächige Abbildung des erfassten Areals generiert werden.<sup>22</sup> Zwischen den Ergebnisbildern bei  $S_{\delta_2}$  und  $S_{max}$  konnten keine systematischen Abweichungen beobachtet werden. Bei  $S_{\delta_1}$  kommt es nicht selten an solchen Stellen, an welchen die Kette der Registrierungen konsekutiver Bildpaare  $(i, i + 1)$  unterbrochen ist, zu einer fehlerhaften Überlappung von Bilddaten. Ein solcher Fall ist exemplarisch in Abbildung 6.10 links dargestellt. Ausschlaggebend für die fehlerhafte relative Positionierung der relevanten Aufnahmen ist — ganz analog zu den Problemen der Minimalstrategie — die Länge des kürzesten Pfades zwischen den zugehörigen Knoten im Registriergraphen. Wird diese zu lang, äußern sich die aufsummierten Ungenauigkeiten der Registrierung in den dargestellten Bildartefakten. Unter Verwendung von  $S_{\delta_2}$  wird dieses Problem häufig dadurch vermieden, dass zwei Aufnahmen im

<sup>22</sup>In fast keinem Fall war der Registriergraph vollständig zusammenhängend, sondern zerfiel in mehrere nicht verbundene Teilgraphen. In sämtlichen ausgewerteten Datensätzen war jedoch der größte Teilgraph zum einen signifikant größer als der zweitgrößte Teilgraph — zumeist um ein bis zwei Größenordnungen — und enthielt zum anderen stets auch die erste Einzelaufnahme des Datensatzes, sodass dieser Teilgraph und das zugehörige Mosaikbild problemlos vor den übrigen als alleiniges Resultat des Prozesses ausgezeichnet werden können.

Intervall  $[i - \delta_2, i + \delta_2 + 1]$  mit einem Indexabstand von  $\delta_2 + 1$  registriert werden können (s. Abb. 6.10 rechts). Es sei daran erinnert, dass  $\delta_2$  gerade so gewählt wurde, dass der mittlere Versatz zweier solcher Aufnahmen etwa ein halbes Bildfeld beträgt, wohingegen sich das Bildfeld bei einem Indexabstand von  $\delta_1$  im Mittel bereits um eine ganze Kantenlänge verlagert hat. Abgesehen von dem beschriebenen Problem ist das im Registriergraphen visualisierte Netz der registrierten Bildpaare in der Regel ausreichend dicht für die Erzeugung eines Mosaikbilds ohne erkennbare Fehlpositionierungen. Voraussetzung dafür ist, dass die Spiralwindungen ausreichend nah beieinander liegen, um die Registrierung von Bildpaaren benachbarter Windungen prinzipiell zu gewährleisten (vgl. auch Abschnitt 6.4).

Weiterhin fällt auf, dass Registrierungen von Bildpaaren über zwei oder mehr Windungen hinweg in der Regel entweder nicht akzeptiert werden, weil sich die Bildfelder nicht überlappen, oder aber für die korrekte Positionierung der Aufnahmen nicht erforderlich sind, weil sie bereits über sehr kurze Pfade im Registriergraphen miteinander verbunden sind.

Ausgehend von den genannten Beobachtungen werden zwei Optimierungen der Strategie der konstanten Schrittweite vorgeschlagen. Erstens werden unabhängig von der gewählten Schrittweite  $\delta$  für jedes Bild  $i$  zwei zusätzliche Registrierungen mit den Bildern  $i+2$  und  $i+3$  eingeführt. Dadurch sollen die Unterbrechungen der Registrierkette konsekutiver Bildpaare überbrückt werden, die fast ausschließlich durch kurze, schnelle Bewegungen verursacht werden, die sich maximal über etwa die Dauer einer Aufnahme erstrecken, sodass maximal zwei Aufnahmen partiell betroffen sein können. Zweitens wird eine obere Schranke für die Differenz der Bildindizes  $(i, j)$  eines zu registrierenden Bildpaars definiert, die sich beispielsweise nach dem maximal zu erwartenden Umfang des äußersten Spiralumfangs richten kann. Dieser hängt, wie die Schrittweite, auch von der Markengeschwindigkeit ab; für die Versuchsreihen V3-1 bis V3-4 wurde in guter Übereinstimmung ein Maximalumfang von  $U_{max} = 30\delta_{max}$  empirisch ermittelt. Bezeichnet man die wie beschrieben angepasste Strategie mit  $S'_\delta$ , so lässt sich durch die Analyse der vorliegenden Datenbasis aus  $S_{\delta_1}$  bzw.  $S_{\delta_2}$  der Anteil der durch  $S'_{\delta_1}$  bzw.  $S'_{\delta_2}$  einzusparenden Bildpaarregistrierungen ermitteln, sowie die Anzahl derjenigen Registrierungen, die zuvor akzeptiert worden waren, bei  $S'$  aber aufgrund der Differenz der Bildindizes entfallen. Bei einer Begrenzung auf  $j - i \leq U_{max}$  entfallen im Mittel 76,2% aller Bildpaarregistrierungen, gleichzeitig bleiben aber 86,3% der akzeptierten Registrierungen erhalten. Bei einer Begrenzung auf  $j - i \leq 2U_{max}$  reduziert sich der Aufwand noch um durchschnittlich 56,0%, wobei 96,6% der akzeptierten Registrierungen erhalten bleiben.

### 6.3.4 Diskussion der Ergebnisse

Die Strategie zur Auswahl der zu registrierenden Bildpaare ist neben dem Schwellwert zur Validierung der Registrierergebnisse der zweite relevante Einflussfaktor auf die Qualität des resultierenden Mosaikbilds. Da bei der Laufzeitanalyse in Abschnitt 6.3.2 gerade die Bildregistrierung als derjenige Schritt identifiziert wurde, der die Gesamtlaufzeit maßgeblich dominiert, ist die Strategie zur Auswahl der zu registrierenden Bildpaare auch bezüglich der Laufzeit der entscheidende Einflussfaktor.

Die Strategie  $S_{min}$  erwies sich erwartungsgemäß als nicht praxistauglich, da sie entweder in qualitativ ungenügenden Mosaikbildern resultiert oder aber, sehr viel häufiger, die Datensätze aufgrund nicht akzeptierter Bildpaarregistrierungen in zahlreiche Teilmengen zerfallen, aus denen sich jeweils nur ein kleinflächiges Mosaikbild ergibt.

Grundsätzlich war bei  $S_{max}$  als entgegengesetztem Extremfall die beste Qualität des Ergebnisses zu erwarten, weil bei Paaren sich überlappender Einzelaufnahmen ihre relative Lage im Mosaikbild dann hauptsächlich durch die direkte Registrierung bestimmt wird, anstatt sich aus der Verkettung mehrerer anderer Bildpaarregistrierungen abzuleiten. Diese Annahme fand sich auch in den Versuchsreihen bestätigt. Hinsichtlich der gemessenen Laufzeiten bereits bei den reduzierten Datensätzen verbietet sich  $S_{max}$  jedoch für die praktische Anwendung.

Mit der Strategie  $S_\delta$  konnte eine erhebliche Reduzierung der Laufzeit und bei Verwendung der Schrittweite  $\delta_2$  eine mit  $S_{max}$  vergleichbare Qualität des Mosaikbilds erzielt werden. Die Begründung dafür ist darin zu sehen, dass nicht alle durchgeführten Registrierungen in gleiche Maße zu einer hohen Ergebnisqualität beitragen. Redundante Registrierungen<sup>23</sup> sind prinzipiell wichtig, wie das Beispiel in den Abbildungen 6.8 und 6.9 eindrücklich belegt. Das gilt aber umso mehr, je stärker die Pfade zwischen sich überlappenden Aufnahmen im Registriergraphen durch eine eingefügte Kante verkürzt werden. Einen bereits kurzen Pfad durch eine zusätzliche Registrierung weiter zu verkürzen, bringt hingegen kaum einen Qualitätsgewinn. Diesen Umstand macht sich die Strategie  $S_\delta$  zunutze, indem Zyklen der Länge 3 häufig vermieden werden, was sich auch in den in der Regel gleichmäßig dichten Registriergraphen anschaulich äußert (vgl. dazu auch Abschnitt 6.4). Die Strategie  $S_\delta$  wird auch in allen folgenden Untersuchungen eingesetzt.

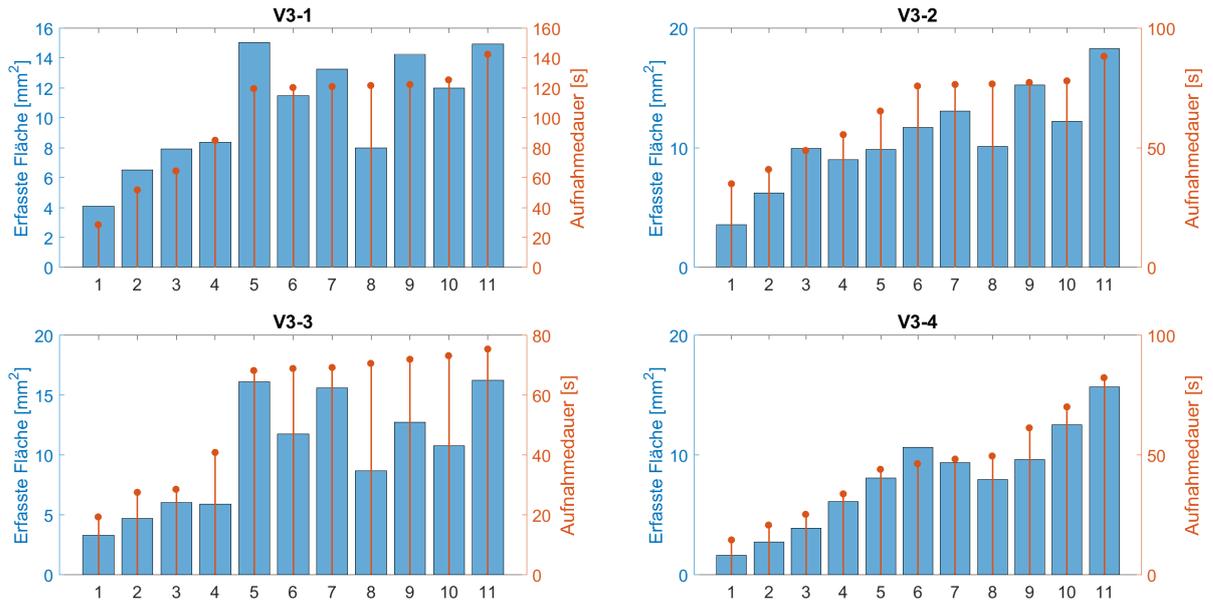
Überhaupt relevant für die Ergebnisqualität sind freilich nur die akzeptierten Registrierergebnisse, da nur sie überhaupt in das nach den Teilbildpositionen zu lösende Gleichungssystem eingehen. Dies wird in der in Abschnitt 6.3.3 vorgeschlagenen optimierten Strategie verwendet, indem die sehr häufig nicht akzeptierten (und auch nicht korrekten) Registrierungen von Bildpaaren mit einem großen Abstand der Bildindizes von vorn herein vermieden werden.

Abschließend sei bemerkt, dass sich die im Rahmen der vorliegenden Arbeit zur Visualisierung der Registrierergebnisse entwickelte Darstellungsform des Registriergraphen durch die Einfärbung der Kanten anhand der berechneten Restfehlerwerte als äußerst hilfreich insbesondere auch bei der Suche nach falsch positiven Korrelationsergebnissen erwiesen hat, die zumeist durch hohe Residuen charakterisiert sind.

## 6.4 Beurteilung der Markenbahnparameter

Die spiralförmige Markenbahn besitzt ihrer Definition in Abschnitt 3.2 nach — abgesehen vom Mittelpunkt  $\vec{m}$  der Spirale, der im Schnittpunkt der optischen Achse mit der Displayebene platziert wird — mit dem Windungsabstand  $b$  und der Geschwindigkeit  $v$  zwei variable Parameter. Die Auswirkungen der Wahl beider Größen auf die resultierenden großflächigen Abbildungen des SNP sollen im Folgenden untersucht werden. Es werden dazu die Datensätze von elf freiwilligen

<sup>23</sup>D.h. solche, die im Registriergraphen zu geschlossenen Zyklen führen.



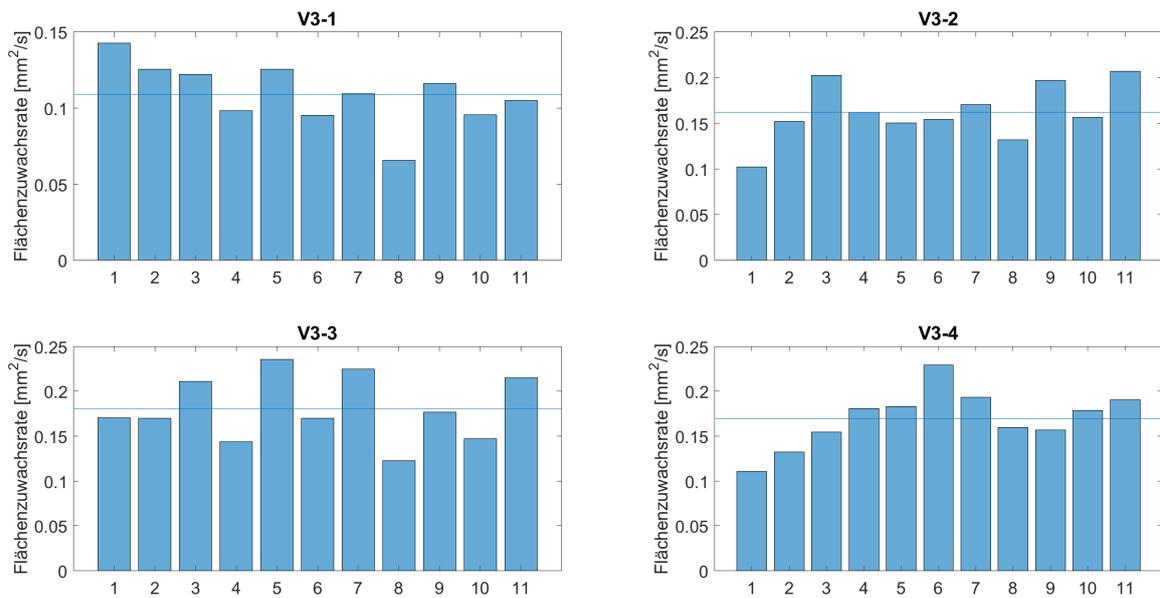
**Abbildung 6.11:** Erfasste Fläche (Balken) und Aufnahmedauer (Linie) der bei den Versuchsreihen V3-1 bis V3-4 mit unterschiedlichen Spiralparametern akquirierten Aufnahmeserien.

Probanden aus den Versuchsreihen V3-1 bis V3-4 (s. Tab. 6.1) der dritten Messkampagne verwendet, bei denen jeweils vier verschiedene Werte für  $b$  und  $v$  erprobt wurden. Ausgehend von Versuchsreihe V3-1 mit breitem Windungsabstand und langsamer Markengeschwindigkeit wurde in den nachfolgenden Versuchsreihen der Windungsabstand sukzessive verringert und gleichzeitig die Markengeschwindigkeit angehoben. Die Kriterien, unter denen die Ergebnisse beurteilt werden sollen, sind zum einen die Größe der erfassten Fläche in Relation zur erforderlichen Aufnahmedauer und zum anderen die erzielte Qualität der resultierenden Mosaikbilder. Es werden jeweils die mittels  $S_{\delta_2}$  mit einer Schrittweite von  $\delta_2 = \frac{\delta_{max}}{2}$  registrierten Daten verwendet.

Abbildung 6.11 stellt für alle 44 Datensätze die Aufnahmedauer  $T_{Aufnahme}$  und die erfasste Fläche  $A_{Mosaik}$  dar, nach den Versuchsreihen getrennt und jeweils angeordnet nach aufsteigender Aufnahmedauer. Über die konstante Aufnahmerate von 30 Bildern pro Sekunde besteht ein unmittelbar proportionaler Zusammenhang zwischen  $T_{Aufnahme}$  und der Größe  $N$  eines Datensatzes. Die erfasste Fläche entspricht der Anzahl der belegten Pixel des Mosaikbilds und lässt sich mit den bekannten Pixelabmessungen aus Gleichung (4.4) unmittelbar in  $\text{mm}^2$  angeben. Erwartungsgemäß steigt  $A_{Mosaik}$  mit zunehmender Aufnahmedauer tendenziell an. Aufgrund der Spiralform der Markenbewegung mit konstantem Windungsabstand und — nach Beendigung der initialen Beschleunigungsphase der Fixationsmarke (s. Abschnitt 3.2) — konstanter Geschwindigkeit lässt sich im Idealfall eine lineare Zunahme der erfassten Fläche mit der Aufnahmedauer erwarten, mit einer von den gewählten Bahnparametern abhängigen Steigung. Die durch

$$\frac{A_{Mosaik}}{T_{Aufnahme}} \quad (6.19)$$

rechnerisch ermittelten durchschnittlichen Flächenzuwachsraten der Aufnahmeserien sind in Ab-



**Abbildung 6.12:** Durchschnittliche Flächenzuwachsrate (Balken: Einzelergebnis, Linie: Mittelwert) der bei den Versuchsreihen V3-1 bis V3-4 mit unterschiedlichen Spiralparametern akquirierten Aufnahmeserien.

Abbildung 6.12 dargestellt. Die durch die horizontalen Linien gekennzeichneten Durchschnittswerte der Versuchsreihen liegen bei  $0,111 \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}$  (V3-1),  $0,165 \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}$  (V3-2),  $0,183 \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}$  (V3-3) und  $0,172 \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}$  (V3-4). Obwohl einzelne Datensätze erkennbar von der durchschnittlichen Flächenzuwachsrate abweichen — am stärksten bei Proband 1 in den Versuchsreihen V3-1, V3-2 und V3-4, bei Proband 5 in der Versuchsreihe V3-3, bei Proband 6 in der Versuchsreihe V3-4 und bei Proband 8 in den Versuchsreihen V3-1 und V3-3 — erscheinen die Abweichungen unsystematisch, sodass letztlich von zufälligen Schwankungen ausgegangen werden muss.

#### 6.4.1 Bewertung der Markengeschwindigkeit

Für eine Bewertung der Markengeschwindigkeit müssen neben den beschriebenen quantitativen Ergebnissen zwei weitere Aspekte betrachtet werden. Zum einen werden mit zunehmender induzierter Augengeschwindigkeit die Bewegungsartefakte in den Bilddaten verstärkt, zum anderen muss der Patient der Fixationsmarke problemlos folgen können. Der Aspekt der Bewegungsartefakte fällt insofern weniger stark ins Gewicht, als dass nach den Erläuterungen in Abschnitt 3.2 die Geschwindigkeitsvektoren in einer lokalen örtlichen Umgebung der spiralförmigen Fixationsmarkentrajektorie, inklusive der benachbarten Spiralwindungen, ähnliche Richtungen und Beträge aufweisen (vgl. Abb. 3.2). Sich überlappende Einzelaufnahmen sind daher in der Regel in ähnlicher Weise verzerrt, was somit die Registrierung der Aufnahmen nicht beeinträchtigt. Auch legen die Registrierergebnisse in keiner Weise einen nachteiligen Effekt hoher Markengeschwindigkeiten nahe. Die Verfolgung der Fixationsmarke war auch in der vierten Versuchsreihe mit der höchsten getesteten Markengeschwindigkeit von keinem der Probanden als problematisch beschrieben worden [74; 99]; ganz im Gegenteil wurde eine langsame Markenbewegung zuwei-

len als langweilig wahrgenommen. Hinsichtlich des Ziels einer möglichst kurzen Aufnahmedauer legen die beschriebenen Ergebnisse somit insgesamt die Verwendung einer hohen Markengeschwindigkeit nahe.<sup>24</sup> Da in den nachfolgend durchgeführten Versuchskampagnen der Fokus auf anderen Versuchszielen lag, wurden keine noch höheren Markengeschwindigkeiten erprobt als in der Versuchsreihe V3-4. Eine theoretische Grenze erhält man durch Extrapolation der in Tabelle 6.3 gelisteten Werte. Bei einer Markengeschwindigkeit von  $v \approx 913$  wird demnach ein mittlerer absoluter Versatz zwischen aufeinanderfolgenden Aufnahmen von  $\frac{l_B}{2} = 192$  erreicht, noch höhere Geschwindigkeiten sind hinsichtlich der zuverlässigen Registrierbarkeit sicherlich nicht sinnvoll.

#### 6.4.2 Bewertung des Windungsabstands

Unter der Annahme, dass durch die Spiralbahn der Fixationsmarke eine ebenfalls annähernd spiralförmige Trajektorie der Aufnahmeserie bezüglich des Mosaikbilds induziert wird, bestimmt die Wahl des Windungsabstands der Fixationsmarkenbahn im Wesentlichen den Grad der Überlappung der gewonnenen Aufnahmen mit jenen der vorangegangenen Windung. Hinsichtlich der Expansion der erfassten Fläche ist prinzipiell ein Abstand zwischen den Spiralwindungen ideal, bei welchem die neu akquirierten Aufnahmen gerade nahtlos an den bereits abgebildeten Bereich anschließen, mithin mit minimaler Überlappung zur vorhergehenden Windung. In einem solchen Szenario sind Registrierungen von Bildpaaren benachbarter Windungen unmöglich, die nach den Ergebnissen aus Abschnitt 6.3 jedoch essentiell sind für die Erzeugung verwertbarer Mosaikbilder. Die zuverlässige Berechnung dieser radialen Registrierungen muss daher das entscheidende Kriterium für die Wahl des Windungsabstands sein.

Abbildung 6.13 zeigt für jeweils einen repräsentativen Datensatz<sup>25</sup> pro Versuchsreihe den resultierenden Registriergraphen. Es ist zu erwarten, dass die relative Anzahl der radialen Kanten, bezogen auf die Anzahl der Knoten, mit abnehmendem Windungsabstand zunimmt. Dieser Zusammenhang wird im Folgenden durch eine Analyse der Knotengrade<sup>26</sup> untersucht und bewertet. Idealerweise ist jede Aufnahme im Registriergraphen mit ihrem Vorgänger, ihrem Nachfolger und jeweils mindestens einer Aufnahme auf der nach innen und auf der nach außen benachbarten Windung verbunden. Die meisten Knoten  $i$  des Graphen haben in der beschriebenen Situation einen Grad von  $d(i) \geq 4$ . Abgesehen vom dicht vernetzten zentralen Bereich (vgl. auch Abb. 6.13), der aus der initialen Beschleunigungsphase der Markenbewegung resultiert, weist ein Knotengrad von  $d(i) > 2$  bei der eingesetzten Registrierstrategie  $S_{\delta_1}$  mit  $\delta_1 = \delta_{max}$  fast immer auf Verbindungen zu benachbarten Windungen hin, da neben den Verbindungen zur unmittelbar vorausgehenden und nachfolgenden Aufnahme weitere erfolgreiche Registrierungen auf dersel-

<sup>24</sup>Diese Empfehlung muss jedoch für ein Anwendungsszenario eingeschränkt werden. Bei der Aufnahme sehr großer Flächen des SNP kann es in manchen Fällen in den Randbereichen zu einer langsamen Verlagerung der Fokusebene in benachbarte Gewebeschichten kommen, der prinzipiell durch manuelle Nachregelung der Fokustiefe entgegengewirkt werden kann. Eine solche manuelle Nachjustierung war vom Bediener des HRT während der Untersuchungen allerdings nur bei der Versuchsreihe V3-1 als machbar erachtet worden, in allen anderen Fällen war die durch die Fixationsmarke induzierte Augenbewegung zu schnell [74].

<sup>25</sup>Die Wahl des als repräsentativ angesehenen Beispiels erfolgte aufgrund des subjektiven Eindrucks bei der Betrachtung aller Registriergraphen einer Versuchsreihe im Überblick.

<sup>26</sup>Der Grad  $d(i)$  eines Knotens  $i$  in einem ungerichteten Graphen ist definiert als die Anzahl der Kanten  $(j, k)$  mit  $j = i \vee k = i$ .

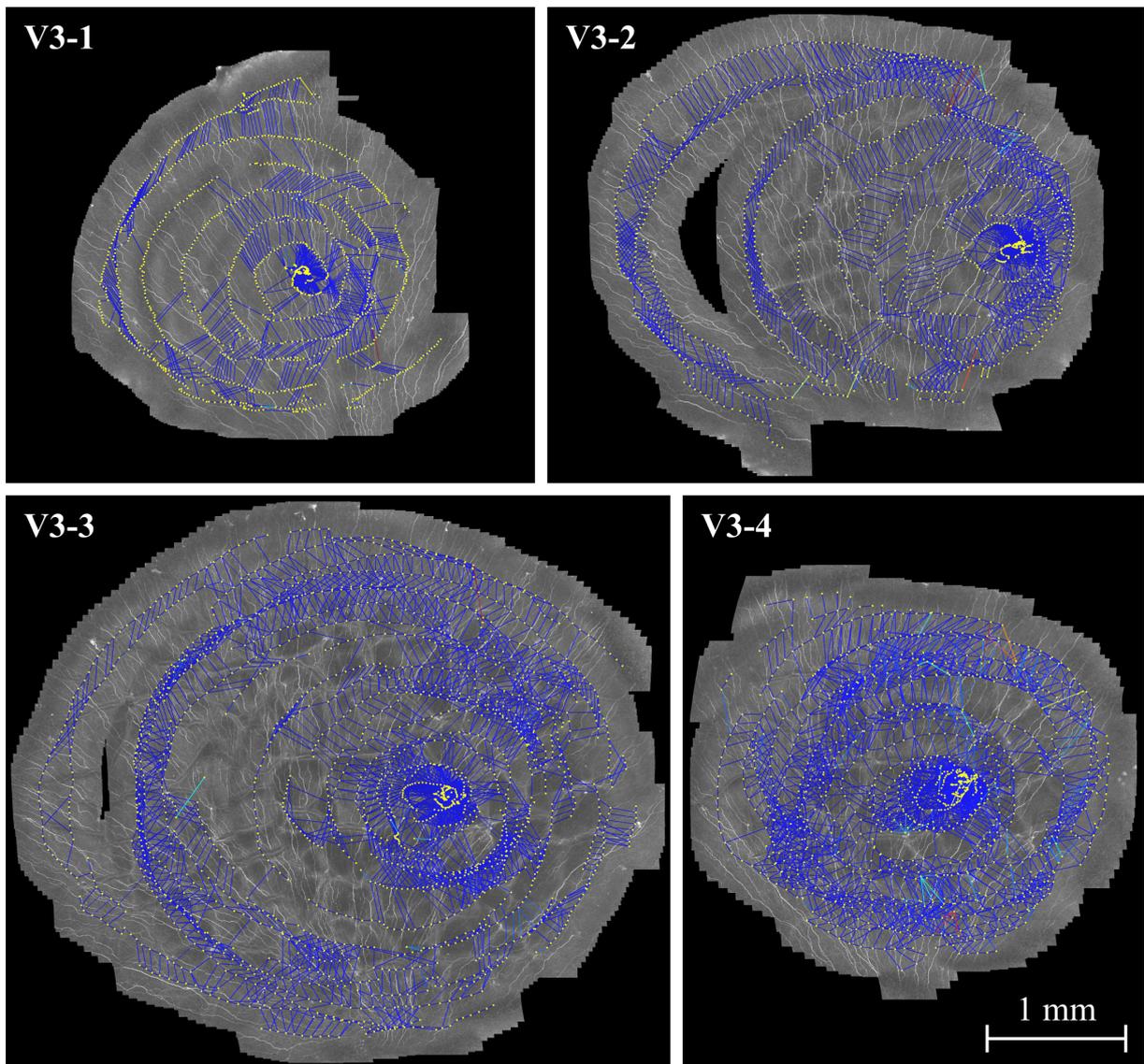


Abbildung 6.13: Exemplarische Registriergraphen für die Versuchsreihen V3-1 bis V3-4.

Versuchsreihe	V3-1	V3-2	V3-3	V3-4
Median der Knotengrade	3	4	5	6
Mittelwert der Knotengrade	3,82	4,97	6,16	8,73
Anteil Knoten mit $d < 3$ [%]	27,60	17,29	14,23	12,10
Anteil Knoten mit $d < 4$ [%]	55,19	39,09	31,23	24,26
Anteil Knoten mit $d \geq 4$ [%]	44,81	60,91	68,77	75,74

**Tabelle 6.4:** Statistische Werte der Knotengrade in den Registriergraphen für V3-1 bis V3-4.

ben Windung äußerst unwahrscheinlich sind. Eine Analyse der Verteilung der Knotengrade in den Registriergraphen lässt daher Aussagen über den Grad der Vernetzung zwischen den Spiralwindungen zu. Tabelle 6.4 gibt für die vier betrachteten Versuchsreihen jeweils den Median und den Mittelwert der Knotengrade sowie den durchschnittlichen prozentualen Anteil der Knoten mit einem Grad  $d < 3$ ,  $d < 4$  und  $d \geq 4$  an. Es zeigt sich, dass sowohl der Mittelwert als auch, in geringerem Ausmaß, der Median den visuell wahrgenommenen mittleren Knotengrad deutlich überschätzen und daher beide zur Bewertung der Windungsabstände ungeeignet erscheinen. Die Ursache dafür ist in dem flachen, zumeist aber sehr weit ausladenden Ende der Häufigkeitsverteilung bei hohen Graden zu suchen, das aus dem dicht vernetzten Bereich vom Beginn des Aufnahmeprozesses resultiert. Interessant sind hingegen die Anteile der Knoten mit geringem Grad. So sind für V3-1 mehr als die Hälfte der Einzelaufnahmen nur mit höchstens einer benachbarten Spiralwindung, mehr als ein Viertel sogar mit keiner davon verbunden. Der Anteil der Knoten mit einem Grad von mindestens 4 weist von V3-1 nach V3-4 mit jeder Versuchsreihe einen deutlichen Zuwachs auf. Es ist daher davon auszugehen, dass sich dieser Anstieg bei weiterer Verringerung des Windungsabstands noch fortsetzt. Da auch bei V3-4 etwa ein Viertel der Aufnahmen höchstens eine akzeptierte radiale Registrierung aufweist, ist die Verwendung einer noch engeren Spiralbahn anzustreben.

### 6.4.3 Diskussion der Ergebnisse

In Abschnitt 6.4.2 wurde gezeigt, dass eine Bahnführung der Fixationsmarke auf relativ engen Spiralbahnen gegenüber einem breiteren Windungsabstand zu bevorzugen ist. Dadurch fällt aufgrund des höheren durchschnittlichen Überlappungsgrads des Bildfelds mit der bereits erfassten Fläche zwar einerseits der Flächenzuwachs geringer aus, andererseits bleiben aber die wichtigen radialen Registrierungen auch bei nicht optimaler Übertragung der Spiralbahn auf die Augenbewegung gewährleistet. In Abschnitt 6.4.1 konnten in Bezug auf die Markengeschwindigkeit bei den in den Versuchsreihen erprobten Werten keinerlei negative Effekte bei höheren Geschwindigkeiten beobachtet werden, weder hinsichtlich der Fähigkeit der Probanden, der Marke zu folgen, noch bei der Registrierung der Bilddaten.

Auch wenn möglicherweise noch höhere Markengeschwindigkeiten realisierbar sind, stellen die in der Versuchsreihe V3-4 verwendeten Parameter eine gute Grundlage für die zuverlässige Bildgebung eines ausgedehnten SNP-Bereichs dar. Es konnte in den durchgeführten Versuchen gezeigt werden, dass bereits mit einer vorprogrammierten Bahnführung ohne dynamische Adap-

tion der Bahnparameter sehr gute Resultate hinsichtlich der Qualität und Größe der resultierenden Mosaikbilder sowie der erforderlichen Aufnahmedauer erzielt werden können. Insbesondere kann auf Basis der eingangs berechneten mittleren Flächenzuwachsrate von  $0,172 \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}$  die zu erwartende Aufnahmedauer bei Vorgabe einer zu erzielenden Fläche abgeschätzt werden. Legt man etwa die von Vagenas et al. empfohlene Fläche von acht Bildfeldern bzw.  $1,28 \text{ mm}^2$  zugrunde [53], so erhält man, unter Berücksichtigung der anfänglichen Beschleunigungsphase, eine erwartete Aufnahmedauer von ca. zehn Sekunden. Die minimale erfasste Fläche in den Versuchsreihen V3-1 bis V3-4 lag bei  $2,79 \text{ mm}^2$  bzw. ca. 17,5 Bildfeldern, die dafür benötigte Aufnahmedauer betrug knapp 21 Sekunden. Diese Werte liegen in einem Bereich, der auch einen Einsatz des Verfahrens in der klinischen Praxis ermöglicht. Insbesondere dürfte die Untersuchungsdauer zur Erfassung entsprechend vieler Einzelaufnahmen, wie sie von einigen Forschergruppen propagiert wird (s. Abschnitt 1.2.4), kaum geringer ausfallen [74].

## 6.5 Analyse der online-Bildregistrierung

Zur Bestimmung der Lagekoordinaten der Aufnahmen während des Bildgebungsprozesses wird die online-Bildregistrierung des ART-Moduls in der proprietären Software des HRT eingesetzt (s. Kap. 3). Der Registrierprozess selbst kann über die bei Zhivov et al. [17] und in Abschnitt 1.2.5 beschriebene grundlegende Arbeitsweise hinaus nicht näher analysiert werden. Durch die Auswertung der während des Aufnahmeprozesses aufgezeichneten Protokolle der HRT-EG-Kommunikation lassen sich jedoch Vergleiche zwischen den Resultaten der online- und der offline-Bildregistrierung ziehen, zum einen hinsichtlich der ermittelten Lagekoordinaten der Aufnahmen, zum anderen in Bezug auf die relative Häufigkeit nicht registrierbarer Aufnahmen. Als Datenbasis der folgenden Untersuchungen dienen die Datensätze der Versuchsreihen V4-2 bis V4-6 der vierten Messkampagne (s. Tab. 6.1), bei denen das EG-Konzept mit online-Registrierung und Netzwerkcommunication mit verschiedener Parametrierung der Fixationsmarkenbahn getestet wurde.

### 6.5.1 Berechnete Lagekoordinaten im Vergleich zur offline-Registrierung

Die online-Bildregistrierung generiert für jede erfolgreich registrierte Aufnahme  $I_i$  eine Transformationsvorschrift bestehend aus einer affinen Abbildungsmatrix  $A_i$  und einem Lagevektor  $\vec{x}'_i$  zur Abbildung von  $I_i$  in das ART-Mosaikbild;  $\vec{x}'_i$  definiert dabei die Lage des Bildmittelpunkts im Mosaikbild (s. Abschnitt 3.1). Die gleiche Information liegt für die offline-Registrierung in Form der nach Abschnitt 4.6 bestimmten Bewegungstrajektorie  $\vec{s}(t)$  vor. Genauer definieren die aus der Lösung des Gleichungssystems nach Gleichung (4.84) gewonnenen Stützpunkte  $\vec{s}(t_{i,k})$  (mit  $k = 0, \dots, 11$ ) die Lagekoordinaten der zwölf Teilbilder, deren arithmetisches Mittel  $\vec{s}_i$  als Lagekoordinaten des Bildmittelpunkts von  $I_i$  nach der offline-Registrierung dienen kann. Die Länge  $|\vec{d}_i|$  des Differenzvektors  $\vec{d}_i = \vec{s}_i - \vec{x}'_i$  ist dann ein Maß für die Abweichung der online und offline ermittelten Bildpositionen. Offensichtlich muss die Berechnung der Differenz auf solche Aufnahmen beschränkt werden, die mit beiden Verfahren erfolgreich registriert werden konnten.

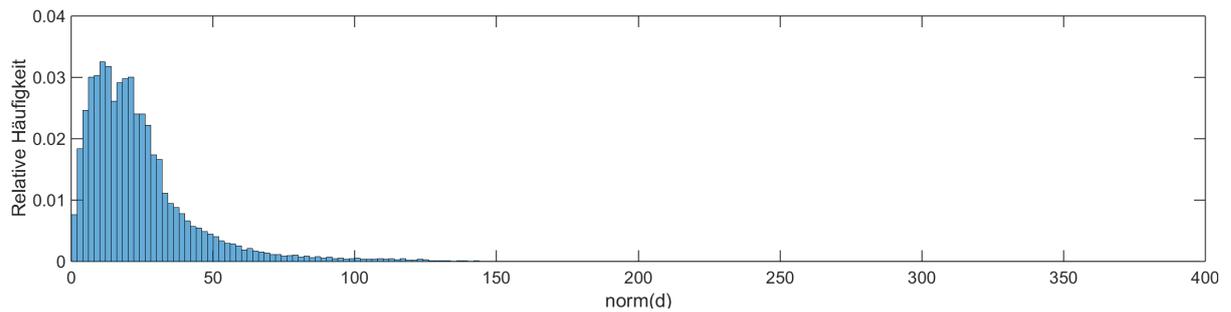


Abbildung 6.14: Verteilung der Abweichungen zwischen online und offline bestimmten Bildpositionen

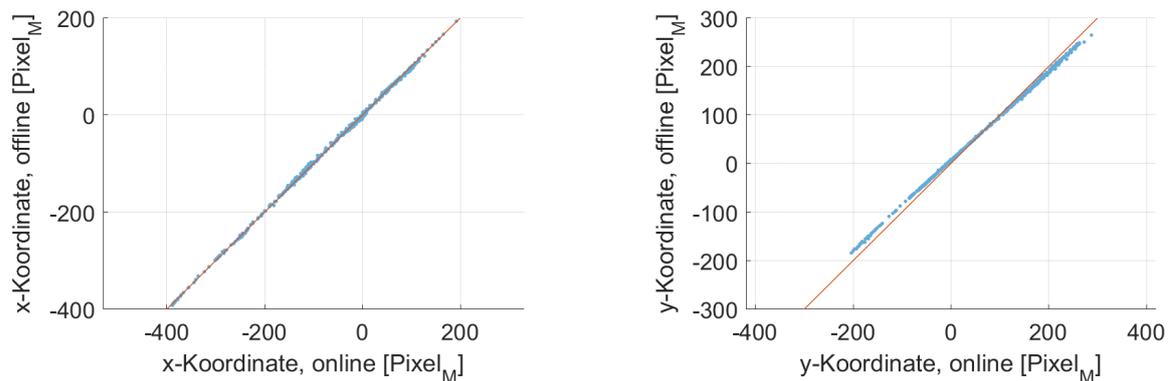
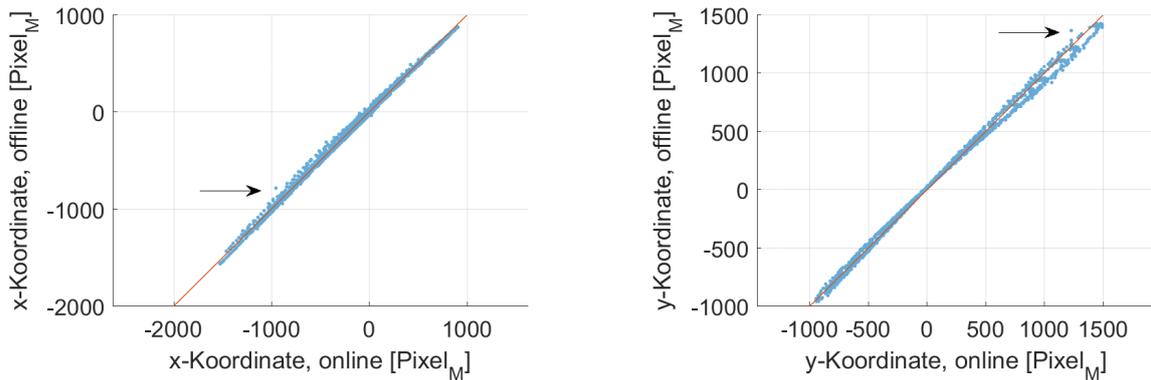


Abbildung 6.15: Vergleichende Darstellung der ermittelten Lagekoordinaten der Aufnahmen, getrennt nach  $x$ - (links) und  $y$ -Koordinate (rechts). Die Koordinaten der online-Registrierung sind auf der horizontalen Achse, die der offline-Registrierung auf der vertikalen Achse aufgetragen. Die rote Winkelhalbierende markiert die Identität beider Koordinaten.

Abbildung 6.14 stellt die Verteilung der in den betrachteten Versuchsreihen V4-2 bis V4-6 auftretenden Abweichungen auf. Der Mittelwert der Abweichungswerte liegt bei 23,69 Pixeln, bei einer Standardabweichung von 19,61. Immerhin 8,24 % der Punktpaare weisen einen Abstand von mehr als 50 Pixeln voneinander auf.

Um die Abweichungen auf der Basis einzelner Datensätze zu analysieren, werden die offline-Lagekoordinaten  $\vec{s}_i$  über den online-Lagekoordinaten  $\vec{x}'_i$  aufgetragen, getrennt nach  $x$ - und  $y$ -Komponente. Bei idealer Übereinstimmung ergibt sich ein Diagramm wie in Abbildung 6.15 links, bei dem die eingetragenen Punkte sehr nahe bei der Winkelhalbierenden liegen. Teilweise lässt sich eine zwar lineare, aber leicht von der Winkelhalbierenden abweichende Lage der Punkte beobachten (vgl. Abb. 6.15 rechts), die dann zu einem mit der Entfernung vom Ursprung zunehmenden Differenzvektor führen. Die Mehrheit der Datensätze verhalten sich hingegen wie das in Abbildung 6.16 dargestellte Beispiel, bei dem sich ein leicht unterschiedliches Verhalten zwischen der  $x$ - und der  $y$ -Komponente zeigt. In der Darstellung wird sichtbar, dass sich die Abweichungen besonders auf die Regionen mit betragsmäßig großem  $y$ -Wert und einer  $x$ -Koordinate nahe 0 konzentrieren, tendenziell also den Bildbereichen oben und unten im Mosaikbild, an denen die Trajektorie der Fixationsmarke annähernd horizontal verläuft. Umgekehrt weisen die spitzen Enden der Punktwolke im Diagramm der  $x$ -Koordinaten und die Einengung der Punktwolke beim Ursprung im Diagramm der  $y$ -Koordinaten auf eine nahezu identische Lagebestimmung



**Abbildung 6.16:** Beispiel eines typischen Datensatzes mit großen Abmessungen (ca. 2500 Pixel in beiden Richtungen); Darstellung wie in Abbildung 6.15. Der Pfeil kennzeichnet eine Aufnahme mit online fehlerhaft ermittelten Lagewerten.

der Aufnahmen am rechten und linken Rand des Mosaikbilds hin, bei überwiegend vertikaler Bewegung der Fixationsmarke. Allgemein ist festzuhalten, dass sich die in Abbildung 6.14 dargestellten Abweichungsbeträge nicht zufällig über die Trajektorie verteilen, sondern sich der Differenzvektor  $\vec{d}$  eher langsam und kontinuierlich in Abhängigkeit der Lage auf der Spiralbahn der Fixationsmarke verändert. Abgesehen von den beschriebenen charakteristischen Unterschieden in den mit beiden Verfahren ermittelten Lagekoordinaten existieren vereinzelt Datenpunkte, die davon deutlich abweichen (s. Abb. 6.16) und die schlicht durch eine fehlerhafte Lagebestimmung verursacht werden.

Die Ursache für die beschriebene charakteristische Abhängigkeit des Differenzvektors  $\vec{d}_i$  von der Lage im Mosaikbild und damit verbunden die Frage, welches der beiden Verfahren das abgebildete Gewebe realitätsgetreuer wiedergibt, lässt sich aus den vorliegenden Daten nicht abschließend klären. Es ist plausibel anzunehmen, dass die Art der durch horizontale respektive vertikale Bewegung induzierten Bewegungsartefakte dabei eine zentrale Rolle spielt (vgl. Abschnitt 4.2). Tatsächlich ist die Beantwortung dieser Frage im Hinblick auf die Verwendung der entstehenden Aufnahmen zur Charakterisierung der sub-basalen Nervenstrukturen von eher untergeordneter Bedeutung, da aufgrund der ortsabhängigen und daher lokal konsistenten Differenzen in keinem von beiden Fällen eine signifikante Verfälschung der daraus gewonnenen morphometrischen Nervenfaserverparameter zu erwarten ist.

### 6.5.2 Relative Häufigkeit nicht registrierbarer Aufnahmen

Das Valid-Flag in der für jede Aufnahme von der HRT-Software emittierten TRAF0-Nachricht (s. Abschnitt 3.1) gibt Auskunft darüber, ob die online-Registrierung die Lagekoordinaten der entsprechenden Aufnahme ermitteln konnte. Alle Aufnahmen, bei denen das Valid-Flag nicht gesetzt ist, sollen im Folgenden als *nicht registrierbar* bezeichnet werden.

Auch bei der offline-Bildregistrierung können selten sämtliche Aufnahmen in das generierte Mosaikbild eingebunden werden, wodurch sich ein unzusammenhängender Registriergraph ergibt. Bei allen akquirierten Datensätzen entstand bei der Registrierung ein zusammenhängender

Versuchsreihe	V4-2	V4-3	V4-4	V4-5	V4-6
Markengeschwindigkeit [Pixel <sub>D</sub> /s]	80	80	80	100	60
Windungsabstand [Pixel <sub>D</sub> ]	10	15	7,5	10	10
$\bar{q}_{nr,online}$ [%]	40,47	42,73	35,67	48,04	39,31
$\bar{q}_{nr,offline}$ [%]	9,64	13,39	12,20	14,24	12,31

**Tabelle 6.5:** Durchschnittlicher Anteil der nicht registrierbaren Aufnahmen für V4-2 bis V4-6.

Teilgraph, der den überwiegenden Teil der Bilddaten umfasste<sup>27</sup> und insbesondere auch die erste Einzelaufnahme enthielt. Dieser Teilgraph wird gegenüber den übrigen als Ergebnisgraph ausgezeichnet und repräsentiert das aus dem Prozess resultierende Mosaikbild (vgl. auch Abschnitt 6.3.3). Alle Aufnahmen, deren korrespondierende Knoten im Registriergraphen nicht mit dem Ergebnisgraphen verbunden sind, werden im Folgenden ebenfalls als *nicht registrierbar* bezeichnet. Es sei angemerkt, dass für eine nach dieser Definition nicht registrierbare Aufnahme durchaus akzeptierte Registrierungen mit anderen Aufnahmen vorliegen können, die zusammen einen eigenen, nicht mit dem Ergebnisgraphen verbundenen Teilgraphen bilden.

Sei  $N$  wie bisher die Gesamtzahl der Einzelaufnahmen eines Datensatzes und  $N_{nr,online}$  bzw.  $N_{nr,offline}$  die Anzahl derjenigen Aufnahmen, die in der online- respektive der offline-Registrierung als nicht registrierbar gemäß der obigen Definitionen gewertet wurden. Durch

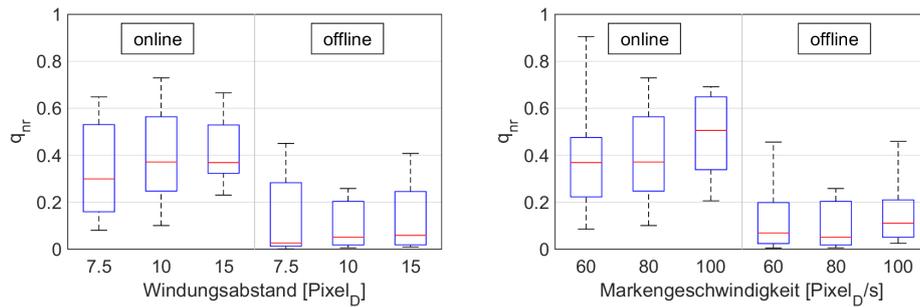
$$q_{nr,online} = \frac{N_{nr,online}}{N} \quad (6.20)$$

$$q_{nr,offline} = \frac{N_{nr,offline}}{N} \quad (6.21)$$

werden dann für einen Datensatz die jeweiligen relativen Häufigkeiten der nicht registrierbaren Aufnahmen bestimmt. Tabelle 6.5 gibt die Mittelwerte der bei V4-2 bis V4-6 für  $q_{nr,online}$  und  $q_{nr,offline}$  berechneten Werte wieder. Abbildung 6.17 stellt die ermittelten Häufigkeiten bei offline- und online-Registrierung in Abhängigkeit des Windungsabstands bzw. der Markengeschwindigkeit einander gegenüber. Bei der online-Registrierung — in geringerem Ausmaß auch bei der offline-Registrierung — lässt sich eine leichte Tendenz zu höheren Verlustraten sowohl bei zunehmendem Windungsabstand als auch bei höheren Geschwindigkeiten vermuten, die aber keine statistische Relevanz besitzt. Insgesamt weisen die relativen Häufigkeiten zumeist sehr hohe Streubreiten innerhalb der Versuchsreihen auf. Dennoch zeigt sich deutlich das signifikant höhere Niveau der Häufigkeit nicht registrierbaren Aufnahmen bei der online-Registrierung im Vergleich zum offline-Verfahren.<sup>28</sup> Durch die Analyse der Aufnahmeprotokolle hinsichtlich der Länge von Gruppen nicht registrierbarer Aufnahmen in unmittelbarer Folge lässt sich außerdem belegen, dass solche Aufnahmen zumeist nicht vereinzelt in regelmäßigen Abständen über die Aufnahmedauer verteilt sind, sondern in längeren Passagen gebündelt auftreten. In zusammenhängenden Gruppen mit einer Größe von maximal 5 befinden sich nur 9,9% der online nicht

<sup>27</sup>Mit Ausnahme der Minimalstrategie, vgl. Abschnitt 6.3.3.

<sup>28</sup>Alle paarweisen Vergleiche mit ANOVA zwischen einer beliebigen Gruppe der online-Registrierung und einer beliebigen Gruppe der offline-Registrierung liefern ein  $p < 0.05$ .



**Abbildung 6.17:** Anteil nicht registrierbarer Aufnahmen bei online- und offline-Registrierung bei Variation des Windungsabstands (links, Versuchsreihen V4-4, V4-2, V4-3) und der Markengeschwindigkeit (rechts, Versuchsreihen V4-6, V4-2, V4-5). Das Rechteck umfasst jeweils die zentralen Messwerte zwischen dem 25 %- und dem 75 %-Quantil; der rote Strich kennzeichnet den Median.

registrierbaren Aufnahmen. 80,8 % der online nicht registrierbaren Aufnahmen gehören dagegen zu Gruppen von mehr als 15 und 66,9 % zu Gruppen von mehr als 30 konsekutiven Aufnahmen. In der Konsequenz liegen in solchen Fällen für ausgedehnte Winkelbereiche der Spiralbahn keine Positionsdaten vor.

Über die Ursachen für die hohen Ausfallraten bei der online-Registrierung lassen sich ohne die Möglichkeit einer genaueren Analyse der verwendeten Algorithmen keine Aussagen machen. Die begrenzte Rechenzeit aufgrund der Echtzeitanforderung und — im Gegensatz zur offline-Registrierung — die Nicht-Verfügbarkeit der noch nicht akquirierten Bilddaten sind jedoch zwei Aspekte, die zumindest einen Teil der höheren Ausfallraten im Vergleich mit dem offline-Verfahren erklären können.

### 6.5.3 Diskussion der Ergebnisse

Im Vergleich der durch die online- und offline-Bildregistrierung berechneten Lagekoordinaten in Abschnitt 6.5.1 wurde eine im Mittel gute Übereinstimmung zwischen beiden Verfahren nachgewiesen, abgesehen von nur äußerst selten auftretenden Ausreißern, die auf eine falsche Lagebestimmung in der online-Registrierung zurückzuführen sind. Systematische, periodisch langsam zunehmende und wieder abnehmende Abweichungen wurden vor allem in den oberen und unteren Bereichen der Mosaikbilder festgestellt. Aufgrund der entlang der Trajektorie der Lagekoordinaten nur langsamen Änderung des berechneten Differenzvektors, sowie auch aufgrund der relativ zu den Abmessungen der Mosaikbilder geringen absoluten Differenz sind die festgestellten Abweichungen für die morphometrische Charakterisierung des SNP nicht von Bedeutung.

Von sehr viel größerer Relevanz sind die Unterschiede zwischen der online- und der offline-Registrierung hinsichtlich des Anteils der jeweils nicht registrierbaren Aufnahmen. In der in Abschnitt 6.5.2 beschriebenen Untersuchung wurden für die offline-Registrierung bei allen Versuchsreihen ein durchschnittlicher Anteil nicht registrierbarer Aufnahmen von unter 15 % ermittelt, während die entsprechenden Werte bei der online-Registrierung zwischen 35 % und 50 % lagen. Außerdem wurde gezeigt, dass die online nicht registrierbaren Aufnahmen nur selten vereinzelt, sondern in der Regel in langen konsekutiven Passagen innerhalb der akquirierten

Aufnahmeserie auftreten und deshalb in den online erzeugten Mosaikbildern häufig großflächige Teilregionen des insgesamt erfassten Arealen fehlen.

Wie sich in den folgenden Abschnitten zeigen wird, haben die in den hier beschriebenen Untersuchungen gewonnenen Erkenntnisse einen erheblichen Einfluss auf die Bestimmung der Koordinatentransformation zwischen dem Display- und dem Mosaikbildkoordinatensystem und die Ansätze zur adaptiven Anpassung der Spiralparameter während der Aufnahme. Für die beiden neuen algorithmischen Komponenten stellt insbesondere die hier nachgewiesene, zuverlässige online-Bestimmung der Lagekoordinaten (bei erfolgreich registrierten Aufnahmen) eine notwendige Voraussetzung dar.

## 6.6 Vergleich der Transformationsansätze

In Abschnitt 3.3 wurden zwei Ansätze zur Bestimmung einer Koordinatentransformation  $T$  zwischen dem Displaykoordinatensystem und dem Mosaikbildkoordinatensystem hergeleitet, die hier anhand real erfasster Daten verglichen und beurteilt werden sollen.

Die im Zusammenhang mit den vorgeschlagenen Ansätzen verwendeten Begriffe *global* und *lokal* beziehen sich auf die Gültigkeit der Transformation. Das in Abschnitt 3.3.1 eingeführte nicht-lineare Modell gilt seiner Herleitung nach über dem gesamten Displaykoordinatensystem gleichermaßen, also unabhängig von den Koordinaten des zu transformierenden Punkts und wird in diesem Sinne als global gültig bezeichnet. Die lineare Transformation ist ihrer Modellierung in Abschnitt 3.3.2 zufolge nur für kreisförmige Punktmengen auf dem Display um den Mittelpunkt  $G$  exakt gültig (vgl. Abb. 3.9). Für ausreichend kurze Teilabschnitte der Fixationsmarkenbahn lässt sich jedoch eine lineare Transformation bestimmen, welche in einer lokalen Umgebung des Teilabschnitts näherungsweise Gültigkeit besitzt.

Zur Beurteilung der beiden Modelle werden die in den Versuchsreihen V4-2 bis V4-6 erfassten Datensätze von 13 Probanden ausgewertet, für die jeweils für alle akquirierten Aufnahmen  $I_i$  ein Lagevektor  $\vec{x}_i$  der Fixationsmarke auf dem Display und für alle registrierten Aufnahmen ein korrespondierender Lagevektor  $\vec{x}'_i$  ihrer Lage im Mosaikbild gegeben sind. Um zu untersuchen, wie sich der relativ hohe Anteil nicht registrierbarer Aufnahmen (mit der Definition aus Abschnitt 6.5) und insbesondere längere nicht registrierte Teilsequenzen bei der online-Registrierung im Vergleich zu den insgesamt dichter gelegenen Lagewerten aus der offline-Registrierung verhalten, werden beide Datenmengen verwendet und die Ergebnisse einander gegenübergestellt.

### 6.6.1 Beurteilung der globalen nicht-linearen Transformation

Zur Veranschaulichung der Vor- und Nachteile der nicht-linearen, global gültigen Transformation wird sie einer, zu diesem Zweck ebenfalls als global gültig angenommenen, linearen Transformation gemäß Abschnitt 3.3.2 gegenübergestellt.

Es sei dazu nun  $P = \{X_i, X'_i \mid 0 \leq i < N, I_i \text{ erfolgreich registriert}\}$  die Menge aller vorliegenden Punktpaare eines Datensatzes von insgesamt  $N$  Aufnahmen. Dann kann nach Gleichung (3.31) der Parametervektor  $\vec{p}$  der nicht-linearen Transformation  $T_{nl}(\vec{p}; \vec{x})$  bestimmt werden,

	Minimum	Maximum	Mittelwert
$E_{mittel,nl}$ (online)	53,17	195,07	111,65
$E_{mittel,nl}$ (offline)	60,14	495,26	154,91
$E_{mittel,l}$ (online)	75,28	296,48	136,01
$E_{mittel,l}$ (offline)	65,17	581,63	183,51
$E_{max,nl}$ (online)	177,37	916,94	354,02
$E_{max,nl}$ (offline)	200,45	1187,73	507,13
$E_{max,l}$ (online)	202,42	1026,80	396,84
$E_{max,l}$ (offline)	217,40	1140,29	535,36

**Tabelle 6.6:** Statistik der mittleren und maximalen Restfehler  $E_{mittel}$  und  $E_{max}$ .

sodass der Restfehler  $E_{nl}(\vec{p}; X_i, X'_i) = T_{nl}(\vec{p}; \vec{x}_i) - \vec{x}'_i$  nach Gleichung (3.30) über alle Punktpaare minimiert wird. Ebenso kann nach Gleichung (3.46) mit  $n = k = N$  ein Parametervektor  $\vec{q}_N$  einer linearen Transformation  $T_l(\vec{q}_N; \vec{x})$  ermittelt werden, die analog den Restfehler  $E_l(\vec{q}_N; X_i, X'_i) = T_l(\vec{q}_N; \vec{x}_i) - \vec{x}'_i$  über alle Punktpaare minimiert. Bezogen auf einen Datensatz wird durch

$$E_{mittel,nl}(\vec{p}; P) = \frac{1}{|P|} \sum_P |E_{nl}(\vec{p}; X_i, X'_i)| \quad (6.22)$$

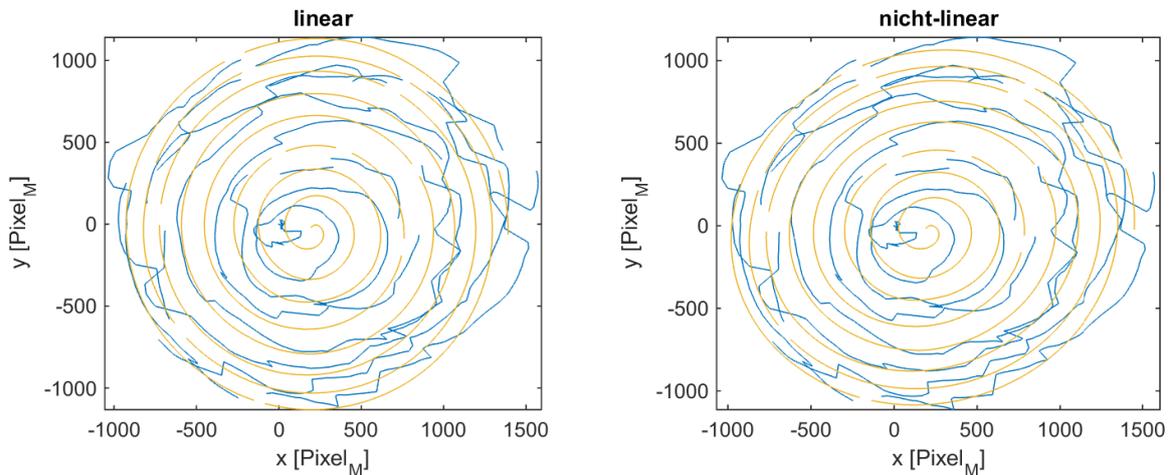
der durchschnittliche absolute Restfehler und durch

$$E_{max,nl}(\vec{p}; P) = \max_P |E_{nl}(\vec{p}; X_i, X'_i)| \quad (6.23)$$

der maximal aufgetretene absolute Restfehler der nicht-linearen Transformation definiert. Ganz analog ergeben sich die beiden Werte  $E_{mittel,l}(\vec{q}_N; P)$  und  $E_{max,l}(\vec{q}_N; P)$  für die lineare Transformation. Die Statistik der Restfehler ist deshalb von besonderem Interesse, weil  $T_{nl}(\vec{p}; \vec{x})$  bzw.  $T_l(\vec{q}; \vec{x})$  die vor der Registrierung prädizierte Lage der zu registrierenden Aufnahme definieren (vgl. Abschnitt 3.1). Der Restfehlervektor ist folglich dem Fehlervektor der Lageschätzung gleichzusetzen, weshalb die Restfehlerstatistik unmittelbar als Statistik des Prädiktionsfehlers zu verstehen ist.

Über alle 65 Datensätze ergeben sich die in Tabelle 6.6 angegebenen minimalen, maximalen und durchschnittlichen Werte für  $E_{mittel,nl}$ ,  $E_{mittel,l}$ ,  $E_{max,nl}$  und  $E_{max,l}$ , jeweils getrennt nach online und offline ermittelten Bildpositionen. Die fast durchgehend kleineren Fehlerwerte bei der online-Registrierung sind auf die deutlich höhere Häufigkeit von nicht registrierbaren Aufnahmen im Vergleich zur offline-Registrierung zurückzuführen (vgl. Abschnitt 6.5.2), die oft auch mit einer weitaus geringeren lateralen Ausdehnung der Trajektorie einhergehen. Auf die auffallend hohen Maximalwerte der mittleren Restfehler  $E_{mittel}$  bei der offline-Registrierung, die auf Ausreißer zurückzuführen sind, wird am Ende des Abschnitts noch explizit Bezug genommen.

Die durchschnittlichen absoluten Restfehler der global angewandten linearen Transformation liegen nicht nur im Mittel über denjenigen des nicht-linearen Ansatzes, sondern tatsächlich für jeden der verwendeten Datensätze. Das Verhältnis beider Werte kann jedoch in Abhängigkeit des



**Abbildung 6.18:** Spiralförmige Trajektorie einer Aufnahmeserie (blau), berechnet mittels offline-Registrierung, mit überlagerter Darstellung der transformierten Fixationsmarkenbahn (gelb) nach der globalen linearen (links) und der globalen nicht-linearen Transformation (rechts). Die Unterbrechungen in den dargestellten Linien kennzeichnen bei der Registrierung verworfene Einzelaufnahmen.

betrachteten Datensatzes sehr verschieden ausfallen, was an drei Beispielen verdeutlicht werden soll.

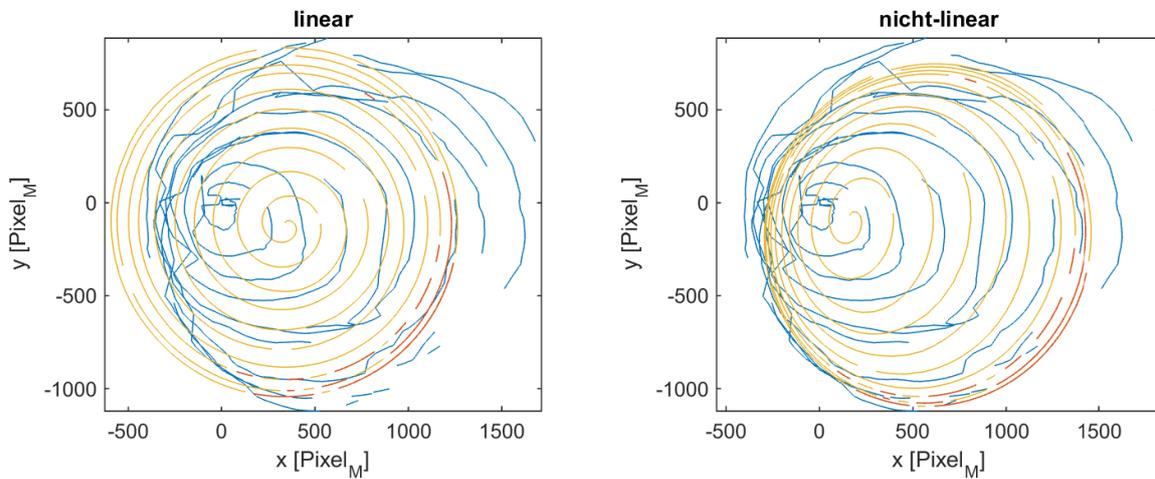
Abbildung 6.18 zeigt eine relativ gut reproduzierte spiralförmige Trajektorie der Aufnahmeserie. Die ins Mosaikbildkoordinatensystem transformierte Trajektorie der Fixationsmarke, auf welcher sich die prädizierten Lagekoordinaten der zu registrierenden Aufnahmen befinden, ist in beiden Fällen ähnlich, die durchschnittlichen Absolutfehler betragen 106,66 Pixel bzw. 114,77 Pixel für den nicht-linearen respektive den linearen Ansatz. Der Unterschied beläuft sich auf ca. 7,6%.

Das Beispiel in Abbildung 6.19 weist eine Trajektorie in Form einer deutlich degenerierten Spirale auf. Dieses Phänomen kann relativ häufig und in unterschiedlich starker Ausprägung beobachtet werden.<sup>29</sup> Offensichtlich ist die Verzerrung der Spiralförmigkeit nicht-linearer Natur und kann durch eine lineare Transformation der spiralförmigen Fixationsmarkenbahn nicht ausreichend approximiert werden. Das nicht-lineare Modell ist hingegen in der Lage, derartige Verzerrungen annähernd zu reproduzieren. Die durchschnittlichen absoluten Restfehler liegen dementsprechend bei  $E_{mittel,nl} = 166,33$  bzw.  $E_{mittel,l} = 209,69$  und einem Unterschied von 26,1%.

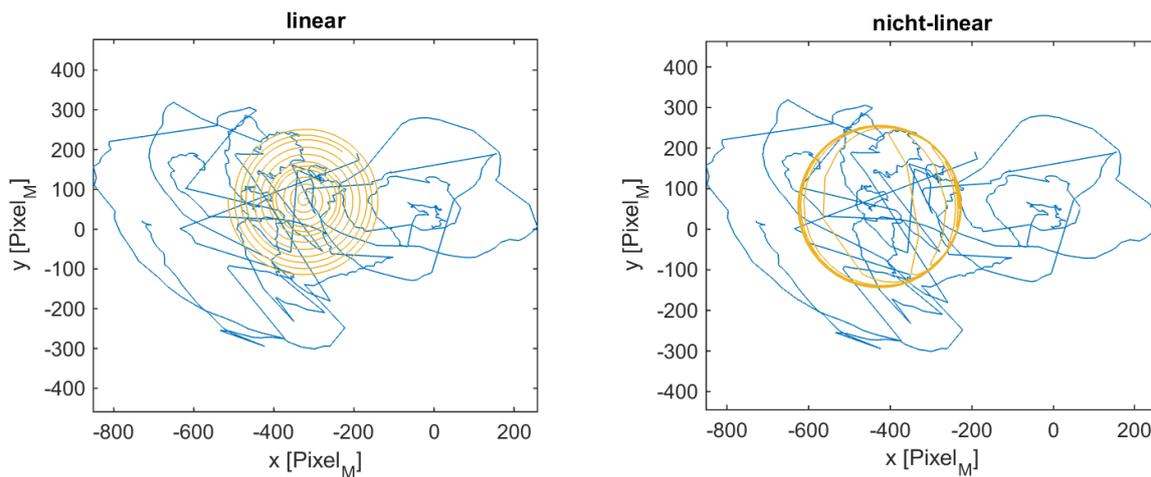
Abbildung 6.20 wiederum stellt einen Fall dar, bei dem trotz Registrierung fast sämtlicher Aufnahmen einer 30-sekündigen Aufnahmeserie, sowohl offline wie auch online, eine Spiralförmigkeit in der Bewegungstrajektorie kaum erkennbar ist.<sup>30</sup> Die Restfehlerwerte fallen im dargestellten Beispiel mit  $E_{mittel,nl} = 180,76$  und  $E_{mittel,l} = 209,79$  angesichts der offensichtlichen Abweichungen vergleichsweise gering aus, was jedoch vorwiegend auf die insgesamt geringere laterale

<sup>29</sup>Die Ursache ist nicht abschließend geklärt, hat aber möglicherweise mit der geometrischen Anordnung des Displays vor dem Auge und dem Auftreten eines Vergenzwinkels zwischen dem untersuchten und dem kontralateralen Auge zu tun.

<sup>30</sup>Obleich die Bewegungsmuster in der zweidimensionalen Darstellung zufällig erscheinen, lässt sich bei getrennter Darstellung der  $x$ - und  $y$ -Koordinaten auch in diesem Fall eine Korrelation mit der spiralförmigen Trajektorie der Fixationsmarke erkennen.



**Abbildung 6.19:** Trajektorie einer Aufnahmeserie in Form einer verzerrten Spirale (blau), berechnet mittels offline-Registrierung, mit überlagerter Darstellung der transformierten Fixationsmarkenbahn (gelb, rot) nach der globalen linearen (links) und der globalen nicht-linearen Transformation (rechts). Unterbrechungen in den gelben Linien kennzeichnen bei der Registrierung verworfene Einzelaufnahmen, rot dargestellte Abschnitte repräsentieren verworfene Teilsequenzen.



**Abbildung 6.20:** Trajektorie einer Aufnahmeserie mit erratisch erscheinenden Bewegungsmustern; Darstellung ansonsten wie in Abbildungen 6.18 und 6.19.

Ausdehnung der registrierten Bilddaten zurückzuführen ist. Ein solches Verhalten des Bewegungsverlaufs der Aufnahmeserie trat in den analysierten Testdaten deutlich seltener auf als das Phänomen der lateral verzerrten Spiralen, konkret aber immerhin bei zwei der 13 Probanden und sollte daher nicht als seltener Einzelfall ignoriert werden. Da bei beiden Probanden die Datensätze sämtlicher Versuchsreihen eine ähnliche Charakteristik aufweisen, ist davon auszugehen, dass das Ausbleiben einer spiralförmigen Bewegung auf eine eingeschränkte Fähigkeit zur guten Verfolgung der Fixationsmarke bei den Personen zurückzuführen ist.<sup>31</sup> Es sei allerdings erwähnt, dass von beiden Probanden zumindest aus einigen der akquirierten Datensätze dennoch gute Mosaikbilder erzeugt werden konnten, im Beispiel aus Abbildung 6.20 mit einer Fläche von ca.  $1,34\text{ mm}^2$  oder ca. 8,36 Bildfeldern.

Die in Tabelle 6.6 angegebenen auffallend hohen Maximalwerte der mittleren Restfehler  $E_{\text{mittel}}$  bei der offline-Registrierung werden durch vereinzelte Ausreißer verursacht. Von den insgesamt 65 Datensätzen weisen lediglich drei einen mittleren Restfehler  $E_{\text{mittel},nl}$  und fünf einen mittleren Restfehler  $E_{\text{mittel},l}$  von mehr als 300 Pixeln auf. In allen Fällen handelt es sich um extrem degenerierte spiralförmige oder vollkommen erratische Trajektorien mit einer großen lateralen Ausdehnung.

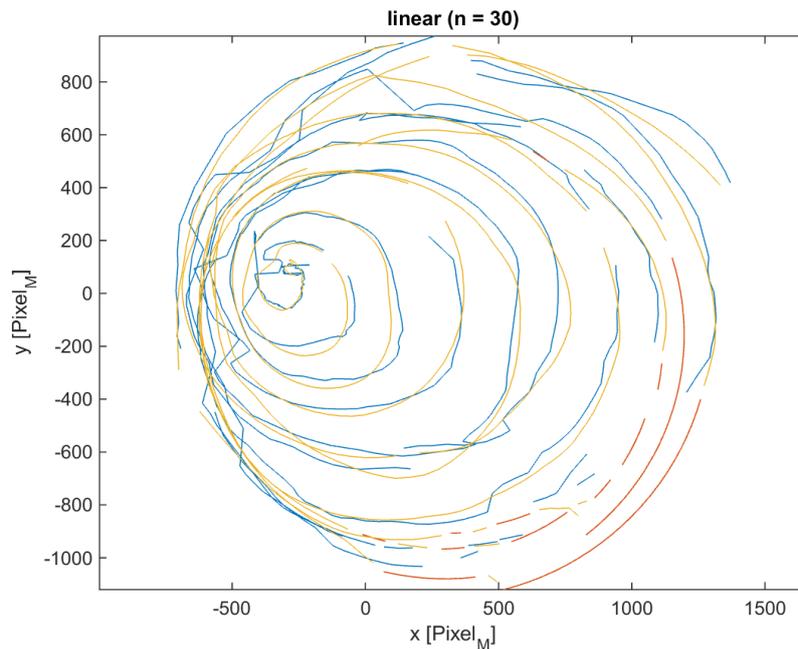
### 6.6.2 Beurteilung der lokal linear approximierten Transformation

Entgegen ihrer Verwendung im vorhergehenden Abschnitt ist für die in Abschnitt 3.3.2 eingeführte lokale lineare Approximation des nicht-linearen Transformationsmodells eine kontinuierliche Anpassung der Transformationsparameter  $\vec{q}_k$  zu einem Zeitpunkt  $k$  auf der Basis der  $n$  zuletzt erfassten Positionspaare  $(X_i, X'_i)$  vorgesehen. Der Parameter  $n$  ist dazu geeignet vorzugeben. Die Wahl von  $n$  hat erheblichen Einfluss auf die resultierende Transformation und damit auf die Qualität der prädizierten Bildpositionen bzw. die adaptive Anpassung der Spiralparameter. Mit wachsendem  $n$  nimmt auch die Ausdehnung der verwendeten Punktmenge zu, wodurch nach Abbildung 3.9 schließlich eine schlechtere Approximation der korrekten Transformationsparameter bezogen auf die aktuelle Position zu erwarten ist. Umgekehrt üben für kleine  $n$  hochfrequente erratische Schwankungen der Bildpositionen um die eigentlich verfolgte spiralförmige Bahn<sup>32</sup> einen größeren Einfluss auf die ermittelten Transformationsparameter  $\vec{q}_k$  aus.

Abbildung 6.21 zeigt exemplarisch das Resultat für den Datensatz aus Abbildung 6.19, wobei die lokal angepasste lineare Funktion zur Transformation der Fixationsmarkenbahn ins Mosaikbildkoordinatensystem mit  $n = 30$  berechnet wurde. Im Vergleich mit Abbildung 6.19 wird offensichtlich, dass die lokal berechnete lineare Transformation in diesem Fall die tatsächliche Bewegungstrajektorie der Bildserie deutlich besser zu approximieren vermag als die global berechnete nicht-lineare Transformation, was sich in einem deutlich geringeren durchschnittlichen

<sup>31</sup>Ein Grund dafür könnte sein, dass die Fixationsmarke aufgrund ihrer relativ geringen Größe nur sporadisch wahrgenommen wurde. In der fünften Versuchskampagne wurde daher in einem Fall, nach einem entsprechenden Hinweis eines Probanden, der Durchmesser der Marke vergrößert.

<sup>32</sup>Solche hochfrequenten Schwankungen der berechneten Trajektorie der Bildserie sind beispielsweise in den Abbildungen 6.18 und 6.19 gut zu erkennen.

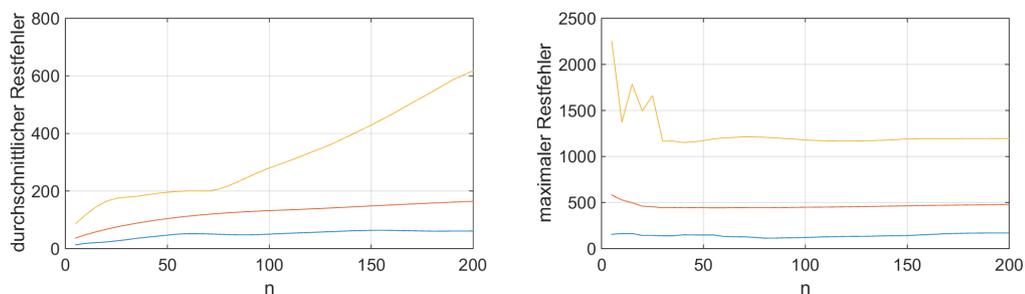


**Abbildung 6.21:** Trajektorie der Aufnahmeserie aus Abbildung 6.19 mit überlagerter Darstellung der transformierten Fixationsmarkenbahn nach der lokalen linearen Transformation; Darstellung wie in Abbildung 6.19.

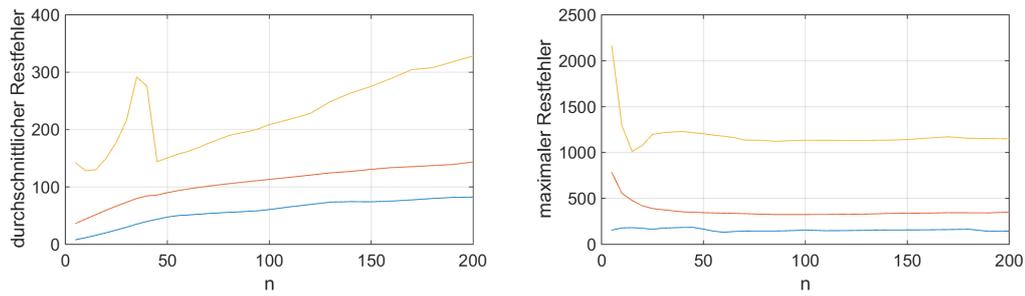
Restfehlerwert von  $E_{mittel,l} = 49,44$  äußert.

Legt man die offline errechneten Bewegungsverläufe zugrunde und trägt die über alle 65 Datensätze gemittelten Werte  $E_{mittel,l}$  über  $n$  auf, so ergibt sich der in Abbildung 6.22 links dargestellte Zusammenhang. Es zeigt sich eine streng monotone Zunahme  $E_{mittel,l}$  mit ansteigendem  $n$ .<sup>33</sup> Betrachtet man den in jedem Datensatz maximal auftretenden Restfehler  $E_{max,l}$ , so ergibt sich, wiederum bei Mittelung über alle Datensätze, der in Abbildung 6.22 rechts dargestellte Verlauf. Sehr niedrige Werte für  $n$  führen demnach zwar zu sehr geringen durchschnittlichen Restfehlern, neigen aber dazu, vereinzelt signifikant falsche Bildpositionen zu präzisieren (vgl.

<sup>33</sup>Auffällig ist auch der Knick im Verlauf der Kurve der Maxima in Abb. 6.22 links bei  $n = 75$ , der nicht unerwähnt bleiben soll, für den jedoch letztlich keine Begründung gefunden werden konnte.



**Abbildung 6.22:** Entwicklung von  $E_{mittel,l}$  (links) und  $E_{max,l}$  (rechts) bei variierendem  $n$  und offline-Registrierung. Dargestellt ist jeweils der Mittelwert über alle Datensätze (rot), sowie der maximale (gelb) und der minimale (blau) vorkommende Wert.



**Abbildung 6.23:** Entwicklung von  $E_{mittel,l}$  (links) und  $E_{max,l}$  (rechts) bei variierendem  $n$  und online-Registrierung. Dargestellt ist jeweils der Mittelwert über alle Datensätze (rot), sowie der maximale (gelb) und der minimale (blau) vorkommende Wert.

	Minimum	Maximum	Mittelwert
$E_{mittel,l}$ (online)	43,74	144,12	85,95
$E_{mittel,l}$ (offline)	43,10	191,75	99,36
$E_{max,l}$ (online)	185,04	1215,46	349,39
$E_{max,l}$ (offline)	148,04	1158,12	445,76

**Tabelle 6.7:** Statistik der mittleren und maximalen Restfehler  $E_{mittel}$  und  $E_{max}$ .

gelbe Kurve in Abb. 6.22 rechts). Für die im Vergleich deutlich lückenhafte Datenbasis der online berechneten Bildpositionen zeigen sich für kleine  $n$  Schwankungen im Verlauf vor allem der Maxima von  $E_{mittel,l}$ , ab etwa  $n = 45$  jedoch insgesamt ein sehr ähnliches Verhalten der Kurven (s. Abb. 6.23). Auf der Basis der dargestellten Daten erscheint ein Wert von  $n = 45$  daher als geeigneter Kompromiss.

Zum direkten Vergleich mit den Daten aus Tabelle 6.6 sind in Tabelle 6.7 die entsprechenden Daten für den lokalen linearen Ansatz exemplarisch für  $n = 45$  angegeben. Dabei zeigen sich vor allem die hier signifikant geringeren Fehlerwerte  $E_{mittel}$ , nicht nur gegenüber der globalen linearen, sondern auch im Vergleich mit der globalen nicht-linearen Transformation, die im folgenden Abschnitt diskutiert werden. Abschließend sei auch hier darauf hingewiesen, dass sich die kleineren durchschnittlichen Restfehlerwerte bei der online-Registrierung gegenüber der offline-Registrierung wie im vorigen Abschnitt mit der höheren Ausfallrate bei der Registrierung und der damit einhergehenden geringeren lateralen Ausdehnung der resultierenden Trajektorien erklären lassen.

### 6.6.3 Diskussion der Ergebnisse

Beim Vergleich der in den Tabellen 6.6 und 6.7 angegebenen Fehlerwerte zeigt sich auch bei den höheren Anteilen nicht registrierbarer Aufnahmen bei der online-Registrierung kein Vorteil des globalen nicht-linearen Ansatzes gegenüber dem lokalen linearen. Lediglich im Bereich der maximalen Prädiktionsfehler  $E_{max}$  bei Verwendung der online-Daten weist das lineare Modell etwas höhere Werte auf. Solche Fehlerspitzen treten insbesondere unmittelbar nach längeren nicht registrierten Teilsequenzen auf. In einer solchen Situation existieren keine lokalen Daten

zur Approximation der lokalen Transformationsparameter, sodass auf die zuletzt verwendete Transformationsfunktion zurückgegriffen werden muss, die aus den Lagekoordinaten vor der verworfenen Teilsequenz abgeleitet wurde. Die globale Transformation hingegen ist nicht auf das Vorhandensein lokaler Daten angewiesen.

Die guten Ergebnisse der lokalen linearen Approximation der Transformationsparameter deuten auf einen in der relevanten Region der Koordinatensysteme relativ flachen Parameterraum hin. Das in Abbildung 6.21 dargestellte Beispiel veranschaulicht die Fähigkeit der lokalen linearen approximierten Transformation zur guten Anpassung an lokale Variationen der Transformationsparameter. Tatsächlich gilt diese Fähigkeit nicht nur für lokale, sondern auch für zeitliche Variationen des Bezugs zwischen den Koordinatensystemen, wie sie etwa bei Kopfbewegungen während der Aufnahme auftreten und wie sie durch globale Transformationsansätze nicht kohärent abgebildet werden können.

## 6.7 Bewertung der Ansätze zur Anpassung der Spiralparameter

Die in Abschnitt 3.4 dargestellten Ansätze wurden in der fünften Messkampagne in den Versuchsreihen V5-1 bis V5-7 erprobt (s. Tab. 6.1). Dabei wurde bei neun gesunden freiwilligen Probanden der Ansatz 1 einmal ausschließlich angewandt (V5-1) und jeweils einmal mit den Ansätzen 2a, 2b und 2c kombiniert (V5-3, V5-5, V5-7).

Der in Abschnitt 3.4.2 dargelegte Grundgedanke besteht darin, den Mittelpunkt der als spiralförmig angenommenen Bewegungstrajektorie der Aufnahmeserie dem Schwerpunkt der bisher erfassten und registrierten Aufnahmen nachzuführen. Eine Verlagerung des Schwerpunkts der gemessenen Isttrajektorie führt also zu einer translatorischen Anpassung der Solltrajektorie, und in der Folge der Fixationsmarkentrajektorie, in die gleiche Richtung. Damit sollte vorwiegend auf das in Abschnitt 3.4 beschriebene einseitige Erreichen der Grenze des erfassbaren Bereichs reagiert werden, um in einem solchen Fall eine möglichst gleichmäßige Ausdehnung des erfassten Bereichs in alle Richtungen zu erreichen.

Weicht dagegen die Bewegungstrajektorie der Bildserie tatsächlich von der Spiralförmigkeit ab, weil sie beispielsweise durch eine Driftkomponente überlagert ist, dann ist der beschriebene Ansatz kontraproduktiv, da er die Abweichung von der Spiralförmigkeit verstärkt. Eine Driftkomponente kann punktuell auftreten, etwa bei kleinen Veränderungen der Kopfposition, oder aber systematisch kontinuierlich, wie im Fall der in Abschnitt 6.6 beschriebenen einseitig konzentrierten, degenerierten Spiralbahn (vgl. Abb. 6.19). In einem solchen Fall sollte die Solltrajektorie der Bildserie nicht der Isttrajektorie angepasst werden, sondern unverändert bleiben, und stattdessen durch eine translatorische Korrektur der Fixationsmarkentrajektorie in einer der Abweichung entgegengesetzten Richtung versucht werden, der Drift entgegenzuwirken und sie im Idealfall auszugleichen. Mit anderen Worten besteht das Ziel bei dieser Vorgehensweise darin, den Mittelpunkt der als spiralförmig angenommenen, gemessenen Isttrajektorie der Bildserie im Ursprung des Mosaikbildkoordinatensystems zu halten.<sup>34</sup> Die Erprobung dieser gewissermaßen

<sup>34</sup>Es sei daran erinnert, dass der Ursprung des Mosaikbildkoordinatensystems durch die erste Aufnahme der Bildserie definiert wird und folglich, im Idealfall, genau dem Zentrum des interessierenden Bereichs des SNP

invertierten Ansätze 2a(-), 2b(-) und 2c(-) erfolgte in den Versuchsreihen V5-2, V5-4 und V5-6, immer in Kombination mit Ansatz 1, durch Verwendung der am Ursprung gespiegelten Schwerpunkte  $S_k^-$ ,  $S_{k,-1}^-$  und  $S_{k,-2}^-$  statt  $S_k$ ,  $S_{k,-1}$  und  $S_{k,-2}$  bei der Bestimmung der Anpassung der Fixationsmarkentrajektorie (vgl. Abschnitt 3.4.2).

Die Geschwindigkeit, mit welcher die kontinuierliche Bewegung des Spiralmittelpunkts in Richtung seines berechneten Zielpunkts der Bewegung der Fixationsmarke entlang der Spiralbahn additiv überlagert war, wurde in allen Fällen auf 10 % der vorgegebenen Markengeschwindigkeit begrenzt. Die Vorhersehbarkeit der Markenbewegung wird dadurch nicht beeinträchtigt.

Abbildung 6.24 zeigt die Verteilung der Flächen der resultierenden Mosaikbilder, die mittlere Flächenzuwachsrate, sowie den Abstand des Schwerpunkts aller durch die Registrierung ermittelten Bildpositionen vom Ursprung des Koordinatensystems. Der letztere Ergebnisparameter kann — unter der Prämisse, dass der durch die erste Bildposition definierte Ursprung möglichst zentral im interessierenden Bereich der Kornea liegt — als Qualitätsmaß für die Lage des erfassten Bereichs interpretiert werden.

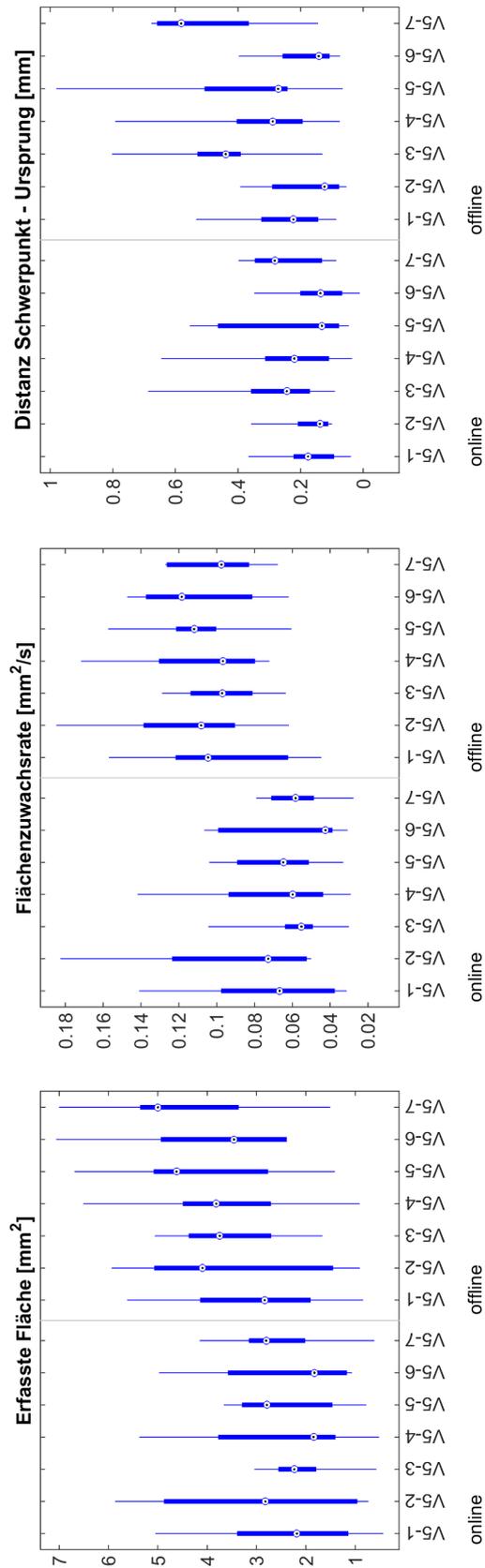
Für die Ansätze 2a(-), 2b(-) und 2c(-) ist zu erwarten, dass die Entfernung des Schwerpunkts vom Ursprung deutlich geringer ausfällt als für die Ansätze 2a, 2b und 2c, und tendenziell auch geringer als ohne Korrektur des Spiralmittelpunkts, da sie mit genau diesem Ziel definiert worden sind. Für die Ansätze 2a(-) und 2c(-) weisen die Ergebnisdaten genau dieses Verhalten auf. Interessanterweise zeigt sich der erwartete Effekt in den offline registrierten Daten noch wesentlich deutlicher als in den für die Regelung verwendeten online registrierten, sowohl beim Vergleich der Versuchsreihen V5-2 und V5-6 gegenüber V5-3 und V5-7 als auch bei beiden gegenüber V5-1. Bei den Ansätzen 2b und 2b(-) offenbart sich kein signifikanter Unterschied, und für beide liegen die durchschnittlichen Entfernungen des Schwerpunkts vom Ursprung höher als bei der Versuchsreihe V5-1 ohne Korrektur des Spiralmittelpunkts.

Bezüglich der Fläche des resultierenden Mosaikbilds und der mittleren Flächenzuwachsrate zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsreihen, obgleich bei beiden Parametern für die online ermittelten Daten bei der Versuchsreihe V5-2 der Wertebereich, in dem sich die mittleren 50 % der Messwerte befinden, etwas höher liegt als bei den übrigen Versuchsreihen. Insbesondere bei den Ergebnissen auf Basis der offline-Registrierung überlappen sich die Wertebereiche sämtlicher Versuchsreihen paarweise deutlich, sodass für diese Parameter keine systematischen Unterschiede nachgewiesen werden können. Insgesamt liegt die zu erwartende mittlere Flächenzuwachsrate bei der offline-Registrierung im Bereich zwischen  $0,096 \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}$  und  $0,119 \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}$  und damit deutlich unterhalb der in Abschnitt 6.4 beschriebenen  $0,172 \frac{\text{mm}^2}{\text{s}}$ . Das lässt sich direkt auf die im Mittel 47,8 % online nicht registrierbaren Aufnahmen zurückführen, wodurch aufgrund der Verwendung von Ansatz 1 während fast der Hälfte der Aufnahmedauer die Radialkoordinate der Fixationsmarkenbahn fixiert blieb.

Hinsichtlich der Fläche der resultierenden Mosaikbilder sowie der durchschnittlichen Flächenzuwachsrate konnten in den durchgeführten Untersuchungen keine systematischen Un-

---

entspricht.



**Abbildung 6.24:** Vergleich der erzielten Fläche (links), mittleren Flächenzuwachsrate (Mitte) und Entfernung des Schwerpunkts der Bildpositionen vom Ursprung (rechts) zwischen den Versuchsreihen V5-1 bis V5-7 und zwischen den online und offline registrierten Daten. Der dick hervorgehobene Teil umfasst jeweils die zentralen Messwerte zwischen dem 25%- und dem 75%-Quantil; der Kreis kennzeichnet den Median.

terschiede zwischen den sieben Varianten der adaptiven Anpassung der Spiralparameter nachgewiesen werden. Angesichts der Ergebnisse für die Lage des Schwerpunkts erscheinen die Ansätze 2a, 2b und 2c zur Korrektur des Spiralmittelpunkts durch Nachführung der Solltrajektorie als weniger geeignet, obgleich bei keinem Versuch Instabilitäten durch eine sich stetig verstärkende Abweichung von der Spiralf orm aufgetreten sind. Die Ansätze 2a(-) und 2c(-) erweisen sich auf Basis der analysierten Datensätze auch gegenüber der unkorrigierten Variante als vorteilhaft.

Auch wenn die Ergebnisse zur Lage des Schwerpunkts durchaus plausibel erscheinen, sind alle getroffenen Aussagen aus verschiedenen Gründen zunächst unter Vorbehalt zu betrachten. Erstens traten bei der Aufnahme der Daten in mehreren Fällen technische Probleme auf, die dazu führten, dass teilweise für mehrere Sekunden keine Bilddaten akquiriert und verarbeitet wurden, während sich die Fixationsmarke kontinuierlich weiterbewegte.<sup>35</sup> Zweitens kann der relativ hohe Anteil online nicht registrierbarer Aufnahmen die Bestimmung der Schwerpunkte  $S_{k,-1}$  und  $S_{k,-2}$  erheblich beeinflussen, sodass die ermittelten Punkte deutlich von den eigentlich intendierten Spiralzentren abweichen können. Drittens wurde für die Transformation zwischen dem Mosaikbild- und dem Displaykoordinatensystem stets das lokale lineare Modell verwendet, das jedoch streng genommen nur in der Umgebung der aktuellen Bildposition und daher nicht notwendigerweise gut im Bereich des Spiralmittelpunkts Gültigkeit besitzt. Viertens beruhen die Aussagen letztendlich auf jeweils nur neun Messpunkten. Angesichts der nicht unerheblichen Streubreiten der Messwerte in Abbildung 6.24 sollten sie für eine bessere statistische Absicherung durch weitere Messungen ergänzt werden.

## 6.8 Zusammenfassung

In Abschnitt 6.1 wurden zunächst die fünf Messkampagnen beschrieben, welche zur praktischen Erprobung der Hardwareaufbauten und Softwarekomponenten des EG-Systems, insbesondere der dafür entwickelten Algorithmen, durchgeführt wurden. In den folgenden Abschnitten wurden eine Reihe verschiedener Untersuchungen, die gewonnenen Ergebnisse sowie die daraus gezogenen Schlussfolgerungen im Detail dargestellt, die hier zunächst zusammenfassend wiedergegeben werden und die in ihrer Gesamtheit schließlich den Nachweis der Leistungsfähigkeit des in der Arbeit vorgestellten neuen Konzepts zur automatischen Erstellung von Mosaikbildern der Kornea erbringen.

In Abschnitt 6.2 wurden Untersuchungen zur Wahl eines geeigneten Schwellwerts zur Validierung der Ergebnisse der offline-Registrierung durchgeführt. Als primäre Anforderung an einen geeigneten Schwellwert wurde der Ausschluss möglichst aller nicht korrekter Bildpaarregistrierungen identifiziert. Die wesentlichen neuen Ergebnisse des Abschnitts sind die Analyse und Modellierung der Häufigkeitsverteilung der Korrelationswerte von nicht korrekten Bildpaarregistrierungen als Extremwertverteilung und daraus folgend die theoretische Untermauerung der Schwellwertberechnung durch Vorgabe einer maximal zu tolerierenden Falsch-Positiv-Rate (im Gegensatz zu einer rein experimentgetriebenen, empirischen Wahl der Schwellwerte).

---

<sup>35</sup>Die technischen Probleme konnten nachträglich mit hoher Wahrscheinlichkeit auf ein defektes Netzwerkkabel zurückgeführt werden.

In Abschnitt 6.3 wurde der Einfluss der Strategie zur Auswahl der bei der offline-Registrierung zu registrierenden Bildpaare auf die Qualität der Ergebnisbilder und das Laufzeitverhalten des Verfahrens untersucht. Dazu wurden die drei in Abschnitt 4.5.3 entwickelten Strategien einander gegenübergestellt. Die wesentlichen neuen Ergebnisse des Abschnitts sind das Aufzeigen der Defizite der Minimal- und der Maximalstrategie sowie der Nachweis der Leistungsfähigkeit der Strategie der konstanten Schrittweite, einschließlich der Ableitung einer weiter optimierten Strategie aus den gewonnenen Erkenntnissen. In Verbindung mit den Ergebnissen aus Abschnitt 6.2 wurde damit auch die Eignung der in Kapitel 4 entwickelten Algorithmen zur Erstellung von Mosaikbildern aus Aufnahmeserien des Konfokalmikroskopsystems HRT (unter Verwendung des EG-Systems) insgesamt belegt. Ein sekundäres, jedoch in seiner Bedeutung auch für andere Aufgabenstellungen nicht zu unterschätzendes Nebenergebnis besteht in der Entwicklung der Visualisierung des zu einem Mosaikbild gehörenden Registriergraphen, die sich als äußerst hilfreich beim Auffinden und der Analyse von durch die offline-Registrierung verursachten Fehlern im Mosaikbild herausgestellt hat.

In Abschnitt 6.4 wurden Untersuchungen zu den zwei veränderlichen Parametern der spiralförmigen Fixationsmarkenbahn, der Geschwindigkeit und des Windungsabstands, durchgeführt. Dazu wurde zum einen ein subjektiver qualitativer Vergleich der bei verschiedenen Parameterkombinationen resultierenden Mosaikbilder und Registriergraphen vorgenommen, wofür sich die visuelle Darstellung des Registriergraphen erneut als äußerst hilfreich erwiesen hat. Zum anderen wurde durch die Anwendung graphentheoretischer Methoden auf den Registriergraphen ein objektives quantitatives Maß für den Vernetzungsgrad benachbarter Spiralwindungen eingeführt. Die wesentlichen neu gewonnenen Ergebnisse des Abschnitts bestehen in der Empfehlung einer hohen Geschwindigkeit der Fixationsmarke und eines engen Windungsabstands der Spiralsbahn. Des Weiteren wurde bereits die Führung der Blickrichtung auf einer rein vorprogrammierten Spiralsbahn mit geeigneten Bahnparametern, ohne adaptive online-Anpassung derselben, als überraschend gut geeignet für die Erstellung hochwertiger, großflächiger Abbildungen des SNP bewertet.

In Abschnitt 6.5 wurden Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit der online-Registrierung der HRT-Software im direkten Vergleich mit der offline-Registrierung durchgeführt. Dazu wurden jeweils zwei Kriterien erfasst und bewertet, nämlich die berechneten mittleren Lagekoordinaten der registrierten Aufnahmen und die relative Häufigkeit von nicht registrierbaren Aufnahmen. Die wesentlichen neuen Erkenntnisse des Abschnitts sind zum einen die gute Übereinstimmung der berechneten Lagekoordinaten bei beiden Verfahren, die eine wesentliche Voraussetzung für die adaptive Anpassung der Fixationsmarkenbahn darstellt, und zum anderen die erhebliche Rate und das Auftreten in langen konsekutiven Sequenzen von nicht registrierbaren Aufnahmen bei der online-Registrierung.

In Abschnitt 6.6 wurden die zwei in Abschnitt 3.3 entwickelten Ansätze zur Koordinatentransformation zwischen den Koordinaten der Fixationsmarke und den Lagekoordinaten der Aufnahmen untersucht. Als Grundlage einer Bewertung wurde jeweils eine Statistik der Restfehler zwischen der transformierten Markenposition und den tatsächlich ermittelten Lagekoordinaten der Aufnahmen erstellt und analysiert. Als wesentliche neue Erkenntnis aus dem Abschnitt ist

eine fast durchgehend bessere Prädiktionsleistung des lokalen linear approximierten Modells gegenüber der globalen nicht-linearen Transformation festzuhalten. Eine nennenswerte Ausnahme dazu stellen kurzzeitige Fehlerspitzen unmittelbar nach längeren Passagen nicht registrierbarer Aufnahmen dar.

In Abschnitt 6.7 wurden schließlich die Ansätze zur adaptiven Anpassung der Bahnführung der Fixationsmarke während der Aufnahme erprobt. Aufgrund der in den vorangegangenen Untersuchungen gewonnenen Erkenntnisse zu den vorkommenden Trajektorien der Augenbewegungen wurden die in Abschnitt 3.4.2 entwickelten Ansätze um drei invertierte Ansätze ergänzt. Die wesentlichen neu gewonnenen Erkenntnisse des Abschnitts bestehen darin, dass die adaptive Anpassung der Spiralgeometrie keinen erkennbaren Einfluss auf die zu erwartende Größe der erfassten Fläche oder die Flächenzuwachsrate ausübt und die neu definierten Ansätze 2a(-) und 2c(-) eine geringfügig verbesserte Stabilisierung des Schwerpunkts im Startpunkt der Aufnahme zur Folge haben.

Insgesamt konnte mittels der durchgeführten Untersuchungen die Leistungsfähigkeit des neuen Konzepts zur Erstellung großflächiger Mosaikbilder des SNP nachgewiesen werden. Die Aufnahme und großflächige Darstellung einer für eine robuste Bestimmung von morphometrischen Kennzahlen des SNP ausreichend großen Fläche kann mithilfe der in der vorliegenden Arbeit entwickelten geführten Augenbewegung mit dem EG-System zuverlässig, automatisch und in kurzer Aufnahmedauer erreicht werden.

## Kapitel 7

# Zusammenfassung und Ausblick

Das Ziel der vorliegenden Dissertation bestand in der Entwicklung eines neuen Konzepts zur automatischen Erstellung von großflächigen Abbildungen des sub-basalen Nervenplexus (SNP) der menschlichen zentralen Kornea zum Zweck der Diagnose neuropathischer Erkrankungen. Aus der Zielsetzung wurden die Bildgebung eines ausgedehnten Bereichs des zentralen SNP in Form von konfokalmikroskopischen Aufnahmeserien und die Verarbeitung der akquirierten Bilddaten zu einer großflächigen Abbildung als zwei weitgehend unabhängige Teilaufgaben identifiziert. Eine wesentliche Anforderung des zu entwickelnden Konzepts bestand in einem möglichst hohen Automatisierungsgrad, um zum einen die Aufnahmedauer und zum anderen bedienerabhängige Einflüsse zu minimieren. Als Grundlage des zu erarbeitenden Konzepts für die Bildgebung des SNP im untersuchten Auge war eine Führung der Blickrichtung vorgesehen, stimuliert durch eine rechnergesteuerte, bewegte Fixationsmarke auf einem Display vor dem anderen, kontralateralen Auge.

Aus der Zielsetzung ergaben sich die folgenden wissenschaftlichen Teilziele. Zunächst waren die für die Umsetzung des Konzepts relevanten Randbedingungen zu erfassen und daraus geeignete Methoden und Algorithmen abzuleiten. Für den Bildgebungsprozess waren das einerseits die Definition einer geeigneten vorgegebenen Bahnführung der Fixationsmarke sowie andererseits Ansätze zu deren dynamischen Anpassung während des Aufnahmeprozesses auf der Basis von online ermittelten Lagekoordinaten der akquirierten Einzelaufnahmen. Für die Komponente zur Verarbeitung der Bilddaten wurden drei wesentliche, sequentiell aufeinander folgende Teilaufgaben identifiziert, nämlich die Bestimmung der relativen Lage von Bildpaaren zueinander durch geeignete Bildregistrieremethoden, die Ableitung der absoluten Lage der Aufnahmen aus dem System der zuvor ermittelten Relationen und die Fusion der Bilddaten zu einem großflächigen Mosaikbild. Eine entscheidende Anforderung an die zu entwickelnden Algorithmen stellten dabei die Erkennung und Korrektur der den Bilddaten inhärenten Bewegungsartefakte dar. Die entwickelten Verfahren sollten anschließend experimentell realisiert und validiert werden. Dazu waren die Algorithmen softwaretechnisch zu implementieren sowie ein Testaufbau zu konzipieren und umzusetzen, mit dem das Gesamtkonzept am Konfokalmikroskop praktisch angewandt werden konnte. Unter Verwendung der hard- und softwaretechnischen Umsetzung sollten schließlich geeignete Experimente zur Erprobung und Evaluierung der Leistungsfähigkeit der erarbeiteten

Konzepte durchgeführt werden.

In Kapitel 2 ist das im Rahmen der vorliegenden Dissertation entwickelte Gesamtkonzept in der Übersicht dargestellt. Es werden zum einen der Ansatz der geführten Blickrichtung zur Erfassung eines ausgedehnten Areals des SNP diskutiert und die am Bildgebungsprozess beteiligten Hard- und Softwarekomponenten identifiziert. Danach wird der Aufbau der erarbeiteten Prozesskette zur Erzeugung eines großflächigen Mosaikbilds aus konfokalmikroskopischen Aufnahmeserien skizziert.

Kapitel 3 widmet sich im Detail dem Aufnahmeprozess. Dazu wird zunächst das Zusammenwirken der Komponenten des Aufnahmeprozesses präzisiert und die vorteilhaften Eigenschaften einer spiralförmigen Fixationsmarkentrajektorie diskutiert. Anschließend werden zwei mathematische Modelle zur Transformation der Positionskoordinaten der Fixationsmarke in das Bildkoordinatensystem hergeleitet und schließlich verschiedene Ansätze zur geregelten Anpassung der Fixationsmarkentrajektorie vorgeschlagen, um die schnelle und lückenlose Erfassung der interessierenden Geweberegion zu gewährleisten.

In Kapitel 4 werden die Algorithmen zur Erzeugung des Mosaikbildes detailliert hergeleitet. Zunächst werden die Grundlagen zur Entstehung der charakteristischen Bewegungsartefakte erörtert und die Verwendung der Phasenkorrelationsfunktion zur Bestimmung eines Translationsvektors zwischen zwei Bildern dargestellt. Basierend auf der zeitlichen Kontinuität der akquirierten Bildserie wird anschließend ein Verfahren entwickelt, mit dem durch Anwendung der Phasenkorrelationsfunktion auf geeignete Ausschnitte der Einzelaufnahmen auf den Bewegungsverlauf des untersuchten Auges geschlossen werden kann. Schließlich wird gezeigt, wie mittels dieser Information die Bewegungsartefakte korrigiert, die Bilder global positioniert und die Bilddaten unter Berücksichtigung des Randlichtabfalls fusioniert werden können.

In Kapitel 5 werden drei Entwicklungsstufen des experimentellen Hardwareaufbaus beschrieben, die parallel zu den algorithmischen Entwicklungen realisiert worden sind.

Kapitel 6 gibt zunächst eine Übersicht über die fünf im Laufe der Arbeiten durchgeführten Versuchskampagnen zur experimentellen Erprobung der entwickelten Konzepte. Es folgen Darstellungen der Auswertung der in systematischen Versuchsreihen akquirierten Daten zum Zweck der Evaluierung der eingesetzten Methoden und Algorithmen. Auf der Basis der gewonnenen Ergebnisse werden Empfehlungen für geeignete Belegungen der vorzugebenden Parameter bei der Bildregistrierung und der Bahnführung der Fixationsmarke abgeleitet.

Die wesentlichen Ergebnisse der Arbeit sind:

1. Entwicklung eines Gesamtkonzepts zur automatischen Erstellung von Mosaikbildern der Kornea für die Diagnose neuropathischer Erkrankungen
2. Entwicklung einer adaptiven Regelung einer bewegten Fixationsmarke zur zielgerichteten Führung der Blickrichtung
3. Modellierung einer geeigneten Transformation zwischen dem Mikroskop- und dem Display-Koordinatensystem

4. Ableitung eines Verfahrens zur Korrektur der Bewegungsartefakte in den Bilddaten
5. Entwicklung eines Verfahrens zur Fusion der korrigierten Bilddaten
6. Implementierung der online-Algorithmen zur Regelung der Fixationsmarke
7. Implementierung der offline-Algorithmen zur Mosaikbilderzeugung aus den erfassten Bilddaten
8. Simulative und experimentelle Erprobung der online- und offline-Algorithmen in fünf Probandenstudien
9. Ableitung von Aussagen zur Leistungsfähigkeit der entwickelten Algorithmen
10. Nachweis der Funktionsfähigkeit des entwickelten Gesamtkonzepts.

Mit dem Hardwareaufbau des Labormusters 3 des EyeGuidance-Moduls, der softwaretechnischen Umsetzung der algorithmischen Komponenten und dem erbrachten Nachweis der Funktionsfähigkeit des Gesamtkonzepts im Zusammenspiel mit dem Konfokalmikroskop HRT ist erstmals ein Verfahren zur weitestgehend automatischen Erstellung von großflächigen Abbildungen des sub-basalen Nervenplexus der Kornea in kurzer Aufnahmedauer verfügbar. Der nächste Schritt auf dem Weg zur Translation der Forschungsergebnisse in die klinische Praxis der Diagnose diabetischer Neuropathien besteht im eindeutigen Nachweis der Überlegenheit des Verfahrens gegenüber etablierten Diagnosemethoden in einer klinischen Studie. Gelingt der Nachweis, so ist mit hoher Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass das Verfahren sich nicht nur auf die diabetische Neuropathie, sondern auch auf anders bedingte neuropathische Erkrankungen anwenden lässt.

Obgleich der in der vorliegenden Arbeit beschriebene Aufnahmeprozess vollständig automatisiert abläuft, erfordert die Vorbereitung der Aufnahme — d.h. das Aufsetzen des Objektivkopfes auf die Augenoberfläche, die laterale Positionierung des Bildfelds im Bereich des kornealen Apex sowie die exakte Einrichtung der Fokussstellung auf den SNP — nach wie vor ein hohes Maß an Expertise beim Bedienpersonal. Hier bieten sich interessante wissenschaftlich-technische Aufgabenfelder zur weiteren Optimierung und Automatisierung des Prozesses. Denkbar sind beispielsweise Ansätze zur automatischen Fokussierung und Fokusstabilisierung auf der Basis einer online-Klassifikation des abgebildeten Gewebes. Ferner können zur Minimierung von Gewebe- deformationen Konzepte zur Regelung des Anpressdrucks des Mikroskopobjektivs auf das Auge entwickelt werden, der auf einem minimalen Niveau gehalten werden sollte, ohne jedoch den Kontakt zu verlieren.

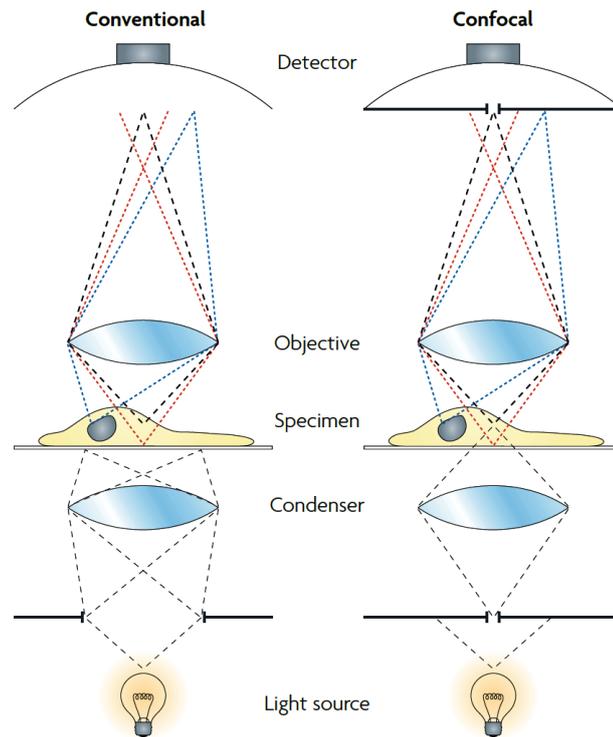
Des Weiteren ist die Anwendung des entwickelten Verfahrens nicht auf das Gewebe des Basalepithels beschränkt. Ergeben sich entsprechende medizinische Fragestellungen, so lassen sich bereits mit dem vorhandenen Aufbau prinzipiell großflächige Schnittbilder in beliebigen Ebenen der Kornea erzeugen. Unter diesem Aspekt kann auch eine 3D-Erweiterung des Verfahrens zur Abbildung von ausgedehnten Teilvolumen der Kornea von Interesse sein, da sich verschiedene Gewebestrukturen der Kornea auch in axialer Richtung erstrecken.

# Anhang A

## Konfokalmikroskopie

Die Erfindung der Konfokalmikroskopie geht auf Marvin Minsky zurück, der das Patent für diese Technologie 1957 einreichte und im Jahr 1961 erteilt bekam [29]. Mithilfe dieser Technologie wurde es möglich, optische Schnitte (Schnittbilder) mit hoher lateraler Auflösung und zugleich sehr geringer Schärfentiefe zu erzeugen. Das Prinzip der Konfokalmikroskopie ist in Abbildung A.1 dargestellt. Der Aufbau eines klassischen Lichtmikroskops besteht aus einer Lichtquelle, zwei Linsensystemen zur Fokussierung des Lichts (und zur Vergrößerung der Abbildung) sowie einem Detektor, auf dem die Abbildung entsteht. Das erste Linsensystem fokussiert das Licht der Lichtquelle in die zu untersuchende Region der Probe, das zweite Linsensystem fokussiert das transmittierte Licht auf den Detektor. Beide Linsensysteme besitzen einen gemeinsamen Fokuspunkt innerhalb der untersuchten Region. Bei der Konfokalmikroskopie wird jeweils zwischen der Lichtquelle bzw. dem Detektor und dem Linsensystem zusätzlich eine nahezu punktförmige Lochblende in den Strahlengang eingebracht, und zwar an den beiden außen liegenden Fokuspunkten der Linsensysteme. Dadurch wird das Licht der nun praktisch punktförmigen Lichtquelle auf eine eng begrenzte Region der Probe fokussiert. Durch das erste Linsensystem entsteht also gewissermaßen eine Abbildung der punktförmigen Lichtquelle innerhalb der Probe. Das zweite Linsensystem im Objektiv des Mikroskops bildet die beleuchtete Region wiederum genau auf die Lochblende vor dem Detektor ab. Durch diese Anordnung wird erreicht, dass nur eine nahezu punktförmige Region der Probe beleuchtet wird, die folglich als Einzige wesentlich zur Erzeugung der Abbildung am Detektor beitragen kann, und zusätzlich ein Großteil des ohnehin geringen Streulichtanteils von anderen Punkten der Probe durch die zweite Lochblende abgeschirmt wird.

Der beschriebene Aufbau wird als Transmissionsmikroskopie bezeichnet, weil das von der Lichtquelle emittierte Licht die Probe teilweise passiert und der transmittierte Anteil für die Bildentstehung verwendet wird. Tatsächlich kann, wie bereits Minsky in seiner Patentschrift anmerkt, die Lichtquelle auch auf derselben Seite der Probe wie der Detektor angeordnet sein, was sich beispielsweise durch einen halbdurchlässigen Spiegel erreichen lässt. Dieser kann zwischen der Lichtquelle bzw. dem Detektor und Lochblende im Strahlengang liegen, sodass die Lochblende und das Linsensystem für beide Laufrichtungen des Lichts verwendet werden [100]. In diesem Aufbau entsteht das detektierte Bild durch das in der Probe reflektierte Licht, weshalb auch von Reflexionsmikroskopie gesprochen wird.

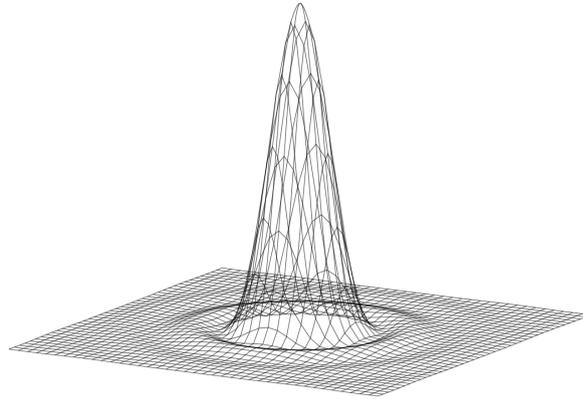


**Abbildung A.1:** Prinzip der Konfokalmikroskopie (aus [27], dort nach [28, S. 54])

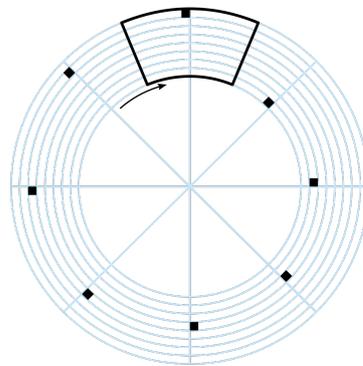
Die Intensitätsverteilung der Abbildung eines idealen Punkts durch ein abbildendes System wird durch dessen Point Spread Function (PSF) beschrieben (die zumeist als zweidimensionale Funktion in der Fokusebene angegeben wird, eigentlich aber als dreidimensionale Funktion auch die Intensitätsverteilung vor und hinter der Fokusebene definiert). Aufgrund von Beugungseffekten ist die PSF eines realen Systems selbst kein einzelner Punkt, sondern (in der Fokusebene) eine konzentrische Wellenfunktion mit einem hohen globalen Maximum im Ursprung und kreisförmigen Nebenmaxima, deren Amplituden mit wachsender Entfernung vom Ursprung abnehmen. Die Abbildung A.2 zeigt die auch als Airy-Scheibe bezeichnete PSF eines aberrationsfreien Systems.<sup>1</sup> Der Abstand des ersten (d.h. am nächsten zum Ursprung gelegenen) kreisförmigen Minimums vom Hauptmaximum im Ursprung wird Airy-Radius genannt und oft als Maß für die Auflösung eines abbildenden Systems verwendet. Der Airy-Radius definiert darüber hinaus eine geeignete Größe für die Lochblenden eines Konfokalmikroskops. Eine derart dimensionierte Lochblende lässt den größten Anteil des vom untersuchten Punkt ausgehenden Lichts zum Detektor passieren; größere Lochblenden führen zu einem Verlust an Konfokalität, kleinere reduzieren die Lichtausbeute spürbar und resultieren daher in einem schlechteren Signal-Rausch-Verhältnis [102, S. 16–17; 103, S. 5].

Mit dem beschriebenen Aufbau gelingt eine Abbildung mit hoher Auflösung und sehr geringer Schärfentiefe. Als Preis dafür nimmt jedoch mit abnehmender Größe der Lochblende und damit zunehmender Konfokalität die Lichtmenge ab, die in die Probe eingebracht und im Detektor wieder gemessen werden kann, was zwangsläufig einen Verlust an Kontrast in der Abbildung mit

<sup>1</sup>Die Airy-Scheibe ist nach dem englischen Mathematiker und Astronom Sir George Biddell Airy benannt.



**Abbildung A.2:** Dreidimensionale Darstellung der Airy-Scheibe als zweidimensionale Funktion (aus [101])



**Abbildung A.3:** Nipkow-Scheibe (aus [104])

sich bringt. Außerdem kann im Gegensatz zur konventionellen Lichtmikroskopie nur ein einzelner Punkt auf einmal abgebildet werden, weswegen in der Regel ein Photomultiplier als Detektor eingesetzt wird. Zur Erzeugung eines Bildes muss die Probe punktwise rasterförmig abgetastet werden. Der von Minsky verwendete Aufbau bewegt die Probe kontrolliert unter dem Mikroskop, was jedoch nur für kleine und unbelebte oder zumindest unbewegte Proben praktikabel ist. Alternativ dazu kann stattdessen der Strahlengang über die Probe geführt werden.

Für die in-vivo-Konfokalmikroskopie der Kornea wurden bisher drei verschiedene Techniken umgesetzt, die im Folgenden kurz dargestellt werden: die Tandem-Scanning- (TSCM), die Spalt-Scanning- (SSCM) und die Laser-Scanning-Konfokalmikroskopie (LSCM). Für die vorliegende Arbeit wird die LSCM eingesetzt.

## A.1 Tandem-Scanning-Konfokalmikroskopie

Bei der TSCM wird die feststehende Lochblende durch eine rotierende Scheibe ersetzt, auf der mehrere Lochblenden in spiralförmigen Mustern angeordnet sind (s. Abb. A.3). Das Prinzip geht auf Paul Nipkow zurück, welcher mit der nach ihm benannten Nipkow-Scheibe Bilddaten seriell abtasten, in eine zeitliche Spannungsfunktion umwandeln und damit letztlich eine

Fernübertragung der Bilddaten realisieren wollte [102, S. 5–6]. Mojmir Petráň et al. beschrieben 1968 erstmals ein Konfokalmikroskop mit Nipkow-Scheibe [105]. In ihrem Aufbau sind zahlreiche Spiralen von Lochblenden punktsymmetrisch zur Drehachse angeordnet. Durch ein System von Spiegeln wird die Probe durch die Lochblenden auf einer Seite der Scheibe beleuchtet, während die exakt punktsymmetrisch angeordneten Lochblenden im Strahlengang des Detektors liegen. Das gleichzeitige Beleuchten und Detektieren mehrerer Bildpunkte ermöglicht vergleichsweise hohe Bildraten. Aus dem gleichen Grund nimmt jedoch auch der erfasste Anteil an Streulicht zu, was zu kontrastärmeren Aufnahmen führt. Im Gegensatz zum von Minsky beschriebenen Aufbau kann in der TSCM im Prinzip ein Okular oder ein einfacher photosensitiver Chip als Detektor verwendet werden, da der Strahlengang des von der Probe reflektierten Lichts den Detektor überstreicht.

Die TSCM war die erste zur in-vivo-Konfokalmikroskopie der Kornea eingesetzte Technik. Das Gerät der Tandem Scanning Corporation (Reston, Virginia, USA) ist inzwischen nicht mehr erhältlich und kommt in neueren Veröffentlichungen nur noch selten zur Verwendung.

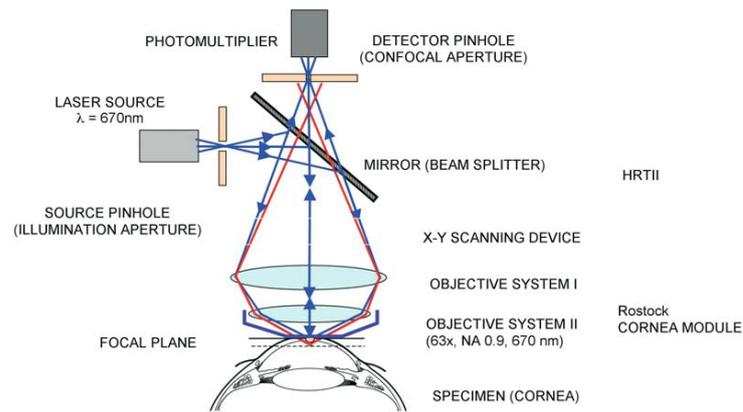
## A.2 Spalt-Scanning-Konfokalmikroskopie

Bei der SSCM wird die Lochblende durch eine Spaltblende ersetzt. Ein drehbar gelagerter Spiegel lenkt den Strahlengang um und tastet die Probe zeilenweise ab. Das reflektierte Licht kann wie bei der TSCM durch einen photosensitiven Chip erfasst und zu einem Bild verarbeitet werden. Diese Anordnung ermöglicht die gleichzeitige Erfassung einer ganzen Bildzeile statt nur eines einzigen Bildpunkts. Ähnlich der TSCM lassen sich so ebenfalls potentiell höhere Bildwiederholraten erreichen, gleichzeitig nimmt aber der Streulichteinfluss aus Regionen ober- und unterhalb der Fokusebene zu, was einen Verlust an Konfokalität und Kontrast mit sich führt.

Die für die in-vivo-Bildgebung der Kornea konzipierte Produktreihe ConfoScan wurde von der Tomey Corporation (Nagoya, Japan) entwickelt; inzwischen ist die Technologie im Besitz der Nidek Technologies Srl (Padua, Italien). Die aktuelle Gerätegeneration der Linie ist das ConfoScan 4 [25].

## A.3 Laser-Scanning-Konfokalmikroskopie

Bei der LSCM erfolgt die Beleuchtung durch eine Laserquelle statt der in den beiden anderen Technologien beschriebenen Weißlichtquelle. Der Vorteil beim Einsatz eines Lasers ist die höhere Lichtleistung, die punktuell in die Probe eingebracht werden kann, wodurch letztendlich ein höheres Signal-Rausch-Verhältnis erreicht wird. Im Gegensatz zur TSCM und SSCM setzt die LSCM durch die Verwendung einer punktförmigen Lochblende das Prinzip der Konfokalmikroskopie konsequent um, wie beim originalen Aufbau von Minsky dient ein Photomultiplier als Detektor. Das Bild muss nach der vollständigen Abtastung des abgerasterten Bereichs aus den Einzelbildpunkten rekonstruiert werden. Durch die Messung nur eines Bildpunktes zu jedem Zeitpunkt entsteht prinzipbedingt ein Geschwindigkeitsnachteil gegenüber der TSCM oder der



**Abbildung A.4:** Aufbau eines Laser-Scanning-Konfokalmikroskops (aus [106, S. 3])

SSCM; die höhere Lichtausbeute ermöglicht dagegen potentiell kürzere Belichtungszeiten, was diesen Nachteil zumindest teilweise wieder kompensiert.

Ein Gerät für den Einsatz am lebenden Auge wurde von der Heidelberg Engineering GmbH entwickelt und kommerzialisiert. Der hauptsächliche Einsatzzweck des Heidelberg Retina Tomograph (HRT) liegt in der Bildgebung der Retina (und dort vorwiegend in der Glaukomdiagnostik). Mittels eines separaten Objektivsatzes mit hoher numerischer Apertur, dem Rostock Cornea Module (RCM), wird der Arbeitsabstand derart verkürzt, dass sich die Fokusebene des Systems in die Kornea verlagert (s. Abb. A.4). Das Gerät verwendet rotes Laserlicht mit einer Wellenlänge von 670 nm und erzeugt Aufnahmen von  $384 \times 384$  Pixeln Größe bei einem Bildfeld von  $400 \times 400 \mu\text{m}^2$ . Das Gerät erreicht eine Bildwiederholrate von 30 Hz. Die aktuelle Gerätegeneration ist das HRT 3 [107].

## Anhang B

# Morphometrische Merkmale des sub-basalen Nervenplexus

In Abschnitt 1.2.4 werden die am häufigsten für konfokalmikroskopische Studien herangezogenen morphometrischen Merkmale des sub-basalen Nervenplexus der Kornea (SNP) — die Nervenfaserdichte, die Nervenfaserlänge, die Nervenverzweigungsdichte und die Nervenfasertortuosität — beschrieben. Abschnitt B.1 enthält zunächst eine über die Darstellung in Abschnitt 1.2.4 hinausgehende Zusammenfassung der verschiedenen Definitionen der Nervenfasertortuosität des SNP, die in der Literatur vorgeschlagen und untersucht wurden.

Neben den oben genannten wurden vereinzelt auch weitere morphometrische Merkmale des SNP erhoben und auf pathologische Veränderungen bei diabetischer Neuropathie oder anderen Erkrankungen untersucht. Abschnitt B.2 gibt eine Übersicht darüber.

### B.1 Nervenfasertortuosität

Oliveira-Soto et al. verwenden eine subjektive, rein qualitative Bewertung der Tortuosität. Anhand von Beispielaufnahmen wird eine Einteilung in fünf Klassen 0 bis 4 vorgenommen, denen die zu beurteilenden Bilder durch einen Experten zugeordnet werden [48]. Diese Methode (unter Verwendung derselben Beispielaufnahmen) wird auch von anderen Autoren übernommen [12; 15].

Kallinikos et al. schlagen ein als *Tortuositätskoeffizient* (TC von engl. tortuosity coefficient) bezeichnetes Maß auf der Basis der ersten und zweiten Ableitung des als Funktion interpretierten Nervenfaserverlaufs vor [50]. Der TC wird für jede Nervenfaser einzeln bestimmt und die TC-Werte aller abgebildeten Fasern anschließend gemittelt, um eine Gesamtbewertung der Aufnahme zu erhalten. Zur Berechnung des TC einer Nervenfaser wird zunächst die Aufnahme derart rotiert, dass die beiden Endpunkte der Faser auf einer horizontalen Linie zu liegen kommen. Der Faserverlauf kann daraufhin als Graph einer Funktion  $f(x)$  über der  $x$ -Achse des Bildkoordinatensystems betrachtet werden. Eine näherungsweise Bestimmung der ersten und zweiten Ableitungen  $f'(x)$  respektive  $f''(x)$  dieser Funktion an den ganzzahligen Pixelkoordina-

ten ist durch die Gleichungen

$$f'(x_j) = \frac{f(x_{j+1}) - f(x_j)}{dx}, \quad (\text{B.1})$$

$$f''(x_j) = \frac{f'(x_j) - f'(x_{j-1}))}{dx} = \frac{f(x_{j+1}) - 2f(x_j) + f(x_{j-1}))}{(dx)^2} \quad (\text{B.2})$$

gegeben. Der Tortuositätskoeffizient TC wird dann als

$$TC = \sqrt{\sum_{j=2}^{n-1} dx \left( (f'(x_j))^2 + (f''(x_j))^2 \right)} \quad (\text{B.3})$$

definiert. Der Term  $dx$  entspricht jeweils dem Abstand zwischen zwei benachbarten Abtastpunkten (also Pixeln) der Funktion  $f(x)$  und wird zu 1 gesetzt. Der TC ist dimensionslos. Für die Gesamtbewertung einer Aufnahme beschränken Kallinikos et al. die Berechnung des TC auf die langen, annähernd zentripetal verlaufenden Hauptnervenfaserbündel und nehmen die davon verzweigenden Nebennervenfaserbündel aus. Der TC wird in der Folge auch in Untersuchungen verschiedener anderer Autoren eingesetzt [20; 30; 44; 46].

Holmes et al. schlagen drei verschiedene Tortuositätsmaße  $T_{C1}$ ,  $T_{C2}$  und  $T_L$  vor [14]. Wie bei Kallinikos et al. wird zunächst die Tortuosität jeder abgebildeten Nervenfaser einzeln berechnet und die Einzelwerte für eine Gesamtbewertung einer Aufnahme anschließend gemittelt. Die Maße  $T_{C1}$ ,  $T_{C2}$  basieren auf einer Definition für die Krümmung einer Kurve und werden von den Autoren daher als *Krümmungstortuosität* (engl. curvature tortuosity) bezeichnet.<sup>1</sup> Die Tortuosität einer Nervenfaser wird entlang ihrer Mittellinie berechnet, welche dazu zunächst als (mindestens zweimal stetig differenzierbare) parametrisierte Kurve  $C = (x(t), y(t))$  im zweidimensionalen Raum gedacht wird. Die Krümmung  $\kappa$  ist dann definiert als

$$\kappa(t) = \frac{x'(t)y''(t) - x''(t)y'(t)}{\left( (y'(t))^2 + (x'(t))^2 \right)^{3/2}}. \quad (\text{B.4})$$

Im Pixelraster der Konfokalaufnahme ist die Mittellinie einer Nervenfaser gegeben als eine Liste  $F = (x_i, y_i)$ ,  $1 \leq i \leq n$  aller sie konstituierenden Pixel. Approximationen der ersten und zweiten Ableitungen der Mittellinienkurve ergeben sich dann zu

$$x'_j = x_{j+1} - x_j, \quad (\text{B.5})$$

$$y'_j = y_{j+1} - y_j, \quad (\text{B.6})$$

$$x''_j = x'_j - x'_{j-1} = x_{j+1} - 2x_j + x_{j-1}, \quad (\text{B.7})$$

$$y''_j = y'_j - y'_{j-1} = y_{j+1} - 2y_j + y_{j-1}. \quad (\text{B.8})$$

<sup>1</sup> $T_{C1}$ ,  $T_{C2}$  und die dabei verwendete Krümmungsdefinition gehen auf Hart et al. zurück [108], von denen sie zur quantitativen Beurteilung der Tortuosität von Blutgefäßen der Retina in Fundusaufnahmen vorgeschlagen worden waren.

Die Tortuosität  $T_k$  einer Nervenfasers der Länge<sup>2</sup>

$$L_k = \sum_{j=1}^n \sqrt{x_j'^2 + y_j'^2} \quad (\text{B.9})$$

berechnet sich zu

$$T_k = \frac{1}{L_k} \sum_{j=2}^{n-1} |\kappa_j| \quad (\text{B.10})$$

und die Krümmungstortuositäten  $T_{C1}$  bzw.  $T_{C2}$  einer Aufnahme ergibt sich schließlich als Mittel über alle  $K$  abgebildeten Nervenfasern,

$$T_{C1} = \frac{1}{K} \sum_{k=1}^K T_k \quad (\text{B.11})$$

respektive

$$T_{C2} = \frac{\sum_{k=1}^K T_k L_k}{\sum_{k=1}^K L_k}. \quad (\text{B.12})$$

Die beiden Maße unterscheiden sich in der Art der Gewichtung der in der Aufnahme abgebildeten Nervenfasern bei der Mittelwertbildung. In  $T_{C1}$  tragen alle Nervenfasern das gleiche Gewicht, wohingegen sie bei  $T_{C2}$  entsprechend ihrer Längen  $L_k$  gewichtet sind.  $T_{C2}$  wird auch von Ziegler et al. verwendet [23]. Das dritte von Holmes et al. untersuchte Tortuositätsmaß

$$T_L = \frac{1}{K} \sum_{k=1}^K \frac{L_k}{S_k} \quad (\text{B.13})$$

wird von den Autoren als *Längenverhältnistortuosität* (engl. length ratio tortuosity) bezeichnet und ist definiert als durchschnittliches Verhältnis zwischen den Längen  $L_k$  und den Sehnenlängen  $S_k$  aller Nervenfaserssegmente.<sup>3</sup> Die Sehnenlänge

$$S_k = \sqrt{(x_n - x_1)^2 + (y_n - y_1)^2} \quad (\text{B.14})$$

eines Nervenfaserssegmentes entspricht dem geometrischen Abstand seiner beiden Endpunkte.

<sup>2</sup>Holmes et al. [14] geben für die Berechnung der Länge eines Nervenfaserssegmentes unter der Wurzel fälschlicherweise die Differenz statt der Summe von  $x_j'^2$  und  $y_j'^2$  an.

<sup>3</sup>Holmes et al. übernehmen die Definition für  $T_L$  von Grisan et al. [109] zur quantitativen Beurteilung der Tortuosität von Blutgefäßen der Retina in Fundusaufnahmen. Eine ähnliche Definition wird erstmals von Lotmar et al. vorgeschlagen [110].

## B.2 Weitere Merkmale

Oliveira-Soto et al. schlagen die Untersuchung der *Nervenfaserorientierung* in der zentralen Kornea vor [48]. Dazu bestimmen sie eine Vorzugsausrichtung der langen abgebildeten Nervenfasern und deren Winkel gegenüber der Horizontalen. Die Autoren verweisen dabei auf den meistens tendenziell parallelen Verlauf der in den Aufnahmen abgebildeten langen Nervenstrukturen, räumen aber selbst ein, dass in Einzelfällen die subjektive Auswahl einer von mehreren abgebildeten Nervenstrukturen zur Erhebung der Nervenfaserorientierung erforderlich gewesen sei.

Ebenfalls von Oliveira-Soto et al. wird die Beurteilung der Nervenfaserverflexivität vorgeschlagen [48]. Analog der subjektiven Klassifizierung der Nervenfasertortuosität definieren die Autoren auch für die Reflexivität fünf Klassen 0 bis 4 durch Vorgabe von fünf, die Klassen repräsentierenden, Beispielaufnahmen. Das Merkmal wird auch von De Cillà et al. aufgenommen [12].

Neben der Reflexivität der Nervenfasern wird von De Cillà et al. zusätzlich die *Hintergrundreflexivität* der konfokalmikroskopischen Aufnahmen des SNP untersucht [12]. Ähnlich wie bei der Beurteilung der Nervenfaserverflexivität geben die Autoren drei Einzelaufnahmen als Stellvertreter für drei Klassen 1 bis 3 zur subjektiven Klassifizierung vor.

Holmes et al. verknüpfen beide Reflexivitätsmerkmale zu einer Beurteilung des *Faserkontrasts* und quantifizieren diesen, indem sie den mittleren Intensitätswert aller Nervenfaserpixel zum mittleren Intensitätswert aller Hintergrundpixel ins Verhältnis setzen [14].

Einige Autoren untersuchen die perlschnurartigen regelmäßigen Verdickungen mancher der kornealen Nervenfasern (s. Abschnitt 1.2.3). Oliveira-Soto et al. zählen dazu die Verdickungen entlang der betreffenden Fasern und teilen die Anzahl durch die Gesamtlänge der untersuchten Fasern. Die *Verdickungsdichte* wird bei Oliveira-Soto et al. in der Einheit  $(100 \mu\text{m})^{-1}$  angegeben [48]. Holmes et al. vermuten einen Zusammenhang zwischen der Verdickungsdichte und der Varianz  $\sigma^2$  der Intensitätswerte aller Nervenfaserpixel und geben daher zur einfacheren quantitativen Erfassung der Verdickungsdichte die Varianz  $\sigma^2$  an [14].

Der *mittlere Nervenfaserdurchmesser* wird in der Regel zunächst für jede Nervenfasern oder jedes Nervenfasernsegment einzeln bestimmt und anschließend gemittelt. Die Messung des Nervenfaserdurchmessers erfolgt stets senkrecht zum Nervenfaserverlauf. Oliveira-Soto et al. messen an jeweils drei Stellen entlang des Verlaufs aller abgebildeten Nervenfasern [48]. Der mittlere Nervenfaserdurchmesser wird in der Regel in  $\mu\text{m}$  angegeben. Ziegler et al. gewichten bei der abschließenden Mittelwertbildung die mittleren Nervenfaserdurchmesser aller Nervenfasernsegmente gemäß deren Länge [23]. Holmes et al. beschreiten einen gänzlich anderen Weg und schätzen den mittleren Nervenfaserdurchmesser eines Fasersegments als Quotient aus der Pixelanzahl des Segments und seiner Länge [14].<sup>4</sup>

Holmes et al. geben neben der CNFL auch die *mittlere Nervenfasernsegmentlänge* als Mittelwert der gemessenen Längen aller Nervenfasernsegmente an [14]. Die mittlere Nervenfasernseg-

<sup>4</sup>Durch Einsetzen der bekannten Fläche eines Pixels in  $\mu\text{m}^2$  kann dieser Wert ebenfalls in die Einheit  $\mu\text{m}$  umgerechnet werden.

mentlänge wird in  $\mu\text{m}$  angegeben.

Ziegler et al. untersuchen in ihrer Studie auch die *Anschlusspunkte*, definiert als die Anzahl der Nervenfaserssegmentendpunkte unmittelbar am Bildrand [23]. Die Anzahl wird auf die Länge des Bildrands normiert und in  $\frac{1}{\text{mm}}$  angegeben.

# Literatur

- [1] WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Fact sheet No. 312: Diabetes*. Online-Ressource. 2016. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/> (besucht am 16.01.2017).
- [2] SHAW, J. E.; SICREE, R. A.; ZIMMET, P. Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2010, **87**(1), 4–14.
- [3] DANAEI, G.; FINUCANE, M. M.; LU, Y.; SINGH, G. M.; COWAN, M. J.; PACIOREK, C. J.; LIN, J. K.; FARZADFAR, F.; KHANG, Y.-H.; STEVENS, G. A.; RAO, M.; ALI, M. K.; RILEY, L. M.; ROBINSON, C. A.; EZZATI, M. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *The Lancet*. 2011, **378**(9785), 31–40.
- [4] KÖSTER, I.; FERBER, L. v.; IHLE, P.; SCHUBERT, I.; HAUNER, H. The cost burden of diabetes mellitus: the evidence from Germany – the CoDiM study. *Diabetologia*. 2006, **49**(7), 1498–1504.
- [5] KÖSTER, I.; HUPPERTZ, E.; HAUNER, H.; SCHUBERT, I. Costs of Diabetes Mellitus (CoDiM) in Germany, Direct Per-capita Costs of Managing Hyperglycaemia and Diabetes Complications in 2010 Compared to 2001. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 2014, **122**(9), 510–516.
- [6] BOULTON, A. J. M. Clinical Features and Treatment of Diabetic Neuropathy. The Diabetic Foot. In: GRIES, F. A.; CAMERON, N. E.; LOW, P. A.; ZIEGLER, D. (Hrsg.). *Textbook of Diabetic Neuropathy*. Stuttgart und New York: Thieme, 2003, S. 295–305.
- [7] GRIES, F. A.; LOW, P. A.; ZIEGLER, D. Recommendations for Structured Care. In: GRIES, F. A.; CAMERON, N. E.; LOW, P. A.; ZIEGLER, D. (Hrsg.). *Textbook of Diabetic Neuropathy*. Stuttgart und New York: Thieme, 2003, S. 373–377.
- [8] SMITH, A. G.; RUSSELL, J.; FELDMAN, E. L.; GOLDSTEIN, J.; PELTIER, A.; SMITH, S.; HAMWI, J.; POLLARI, D.; BIXBY, B.; HOWARD, J.; SINGLETON, J. R. Lifestyle intervention for pre-diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 2006, **29**(6), 1294–1299.
- [9] ROSENBERG, M. E.; TERVO, T. M. T.; IMMONEN, I. J.; MÜLLER, L. J.; GRÖNHAGEN-RISKA, C.; VESALUOMA, M. H. Corneal structure and sensitivity in type 1 diabetes mellitus. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2000, **41**(10), 2915–2921.

- [10] GRUPCHEVA, C. N.; WONG, T.; RILEY, A. F.; MCGHEE, C. N. J. Assessing the sub-basal nerve plexus of the living healthy human cornea by in vivo confocal microscopy. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2002, **30**(3), 187–190.
- [11] NIEDERER, R. L.; PERUMAL, D.; SHERWIN, T.; MCGHEE, C. N. J. Age-related differences in the normal human cornea: a laser scanning in vivo confocal microscopy study. *British Journal of Ophthalmology*. 2007, **91**(9), 1165–1169.
- [12] CILLÀ, S. D.; RANNO, S.; CARINI, E.; FOGAGNOLO, P.; CERESARA, G.; ORZALESI, N.; ROSSETTI, L. M. Corneal subbasal nerves changes in patients with diabetic retinopathy: an in vivo confocal study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2009, **50**(11), 5155–5158.
- [13] CRUZAT, A.; PAVAN-LANGSTON, D.; HAMRAH, P. In vivo confocal microscopy of corneal nerves: analysis and clinical correlation. *Seminars in Ophthalmology*. 2010, **25**(5-6), 171–177.
- [14] HOLMES, T. J.; PELLEGRINI, M.; MILLER, C.; EPPLIN-ZAPF, T.; LARKIN, S.; LUCARELLI, S.; STAURENGHI, G. Automated software analysis of corneal micrographs for peripheral neuropathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2010, **51**(9), 4480–4491.
- [15] MESSMER, E. M.; SCHMID-TANNWALD, C.; ZAPP, D.; KAMPIK, A. In vivo confocal microscopy of corneal small fiber damage in diabetes mellitus. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2010, **248**(9), 1307–1312.
- [16] TAVAKOLI, M.; QUATTRINI, C.; ABBOTT, C. A.; KALLINIKOS, P. A.; MARSHALL, A.; FINNIGAN, J.; MORGAN, P.; EFRON, N.; BOULTON, A. J. M.; MALIK, R. A. Corneal confocal microscopy: a novel noninvasive test to diagnose and stratify the severity of human diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 2010, **33**(8), 1792–1797.
- [17] ZHIVOV, A.; BLUM, M.; GUTHOFF, R. F.; STACHS, O. Real-time mapping of the sub-epithelial nerve plexus by in vivo confocal laser scanning microscopy. *British Journal of Ophthalmology*. 2010, **94**(9), 1133–1135.
- [18] ALLGEIER, S.; ZHIVOV, A.; EBERLE, F.; KÖHLER, B.; MAIER, S.; BRETTHAUER, G.; GUTHOFF, R. F.; STACHS, O. Image reconstruction of the subbasal nerve plexus with in vivo confocal microscopy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2011, **52**(9), 5022–5028.
- [19] EFRON, N. The Glenn A. Fry award lecture 2010: Ophthalmic markers of diabetic neuropathy. *Optometry and Vision Science*. 2011, **88**(6), 661–683.
- [20] AHMED, A.; BRIL, V.; ORSZAG, A.; PAULSON, J.; YEUNG, E.; NGO, M.; ORLOV, S.; PERKINS, B. A. Detection of diabetic sensorimotor polyneuropathy by corneal confocal microscopy in type 1 diabetes: a concurrent validity study. *Diabetes Care*. 2012, **35**(4), 821–828.

- [21] SHTEIN, R. M.; CALLAGHAN, B. C. Corneal confocal microscopy as a measure of diabetic neuropathy. Comment. *Diabetes*. 2013, **62**(1), 25–26.
- [22] POLETTI, E.; WIGDAHL, J.; GUIMARAES, P.; RUGGERI, A. Automatic montaging of corneal sub-basal nerve images for the composition of a wide-range mosaic. In: *Proceedings of the 2014 36th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*. (Chicago, IL, 26.–30. Aug. 2014). 2014, S. 5426–5429.
- [23] ZIEGLER, D.; PAPANAS, N.; ZHIVOV, A.; ALLGEIER, S.; WINTER, K.; ZIEGLER, I.; BRÜGGEMANN, J.; STROM, A.; PESCHEL, S.; KÖHLER, B.; STACHS, O.; GUTHOFF, R. F.; RODEN, M.; GERMAN DIABETES STUDY (GDS) GROUP. Early detection of nerve fiber loss by corneal confocal microscopy and skin biopsy in recently diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes*. 2014, **63**(7), 2454–2463.
- [24] LABBÉ, A.; KHAMMARI, C.; DUPAS, B.; GABISON, E.; BRASNU, E.; LABETOULLE, M.; BAUDOIN, C. Contribution of in vivo confocal microscopy to the diagnosis and management of infectious keratitis. *The Ocular Surface*. 2009, **7**(1), 41–52.
- [25] NIDEK TECHNOLOGIES SRL. *Confoscan 4 [Nidek Technologies]*. Online-Ressource. URL: <http://www.nidektechnologies.it/ProductsCS4A11.htm> (besucht am 16.01.2017).
- [26] HEIDELBERG ENGINEERING GMBH. *HRT Produktdaten [Heidelberg Engineering]*. Online-Ressource. URL: <http://www.heidelbergengineering.com/germany/produkte/hrt/produktdaten/> (besucht am 10.08.2015).
- [27] SCHULDT, A. *Milestone 9: Confocal Microscopy [Nature Milestones in Light Microscopy]*. Online-Ressource. 2009. URL: <http://www.nature.com/milestones/milelight/full/milelight09.html> (besucht am 16.01.2017).
- [28] MURRAY, J. M. Confocal Microscopy, Deconvolution, and Structured Illumination Methods. In: SPECTOR, D. L.; GOLDMAN, R. D. (Hrsg.). *Basic Methods in Microscopy. Protocols and Concepts from Cells: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory, 2006, S. 43–81.
- [29] MINSKY, M. *Microscopy apparatus*. Patent. United States. 3.013.467. 19. Dez. 1961.
- [30] HERTZ, P.; BRIL, V.; ORSZAG, A.; AHMED, A.; NG, E.; NWE, P.; NGO, M.; PERKINS, B. A. Reproducibility of in vivo corneal confocal microscopy as a novel screening test for early diabetic sensorimotor polyneuropathy. *Diabetic Medicine*. 2011, **28**(10), 1253–1260.
- [31] MIZISIN, A. P.; POWELL, H. C.; SCHMIDT, R. E. Pathogenesis and Pathology of Diabetic Neuropathy. Histopathology. In: GRIES, F. A.; CAMERON, N. E.; LOW, P. A.; ZIEGLER, D. (Hrsg.). *Textbook of Diabetic Neuropathy*. Stuttgart und New York: Thieme, 2003, S. 83–91.
- [32] THOMAS, P. K. Clinical Features and Treatment of Diabetic Neuropathy. Classification of the Diabetic Neuropathies. In: GRIES, F. A.; CAMERON, N. E.; LOW, P. A.; ZIEGLER, D. (Hrsg.). *Textbook of Diabetic Neuropathy*. Stuttgart und New York: Thieme, 2003, S. 175–177.

- [33] NEUNDÖRFER, B.; THOMAS, P. K. Clinical Features and Treatment of Diabetic Neuropathy. Diabetic Sensorimotor Neuropathy: Clinical Features. In: GRIES, F. A.; CAMERON, N. E.; LOW, P. A.; ZIEGLER, D. (Hrsg.). *Textbook of Diabetic Neuropathy*. Stuttgart und New York: Thieme, 2003, S. 199–204.
- [34] ZIEGLER, D.; SIMA, A. A. F.; PIERSON, C. R.; BAYNES, J. W.; FELDMAN, E. L.; SULLIVAN, K. A.; STEVENS, M. J.; COTTER, M. A.; VEVES, A.; TESFAYE, S.; CAMERON, N. E.; LOW, P. A.; VINIK, A. I.; PITTINGER, G.; STANSBERRY, K.; PARK, T. S.; ERBAS, T.; SKEEN, M.; WATKINS, P. J.; SUNDKVIST, G. Pathogenesis and Pathology of Diabetic Neuropathy. Pathobiochemistry and Pathophysiology. In: GRIES, F. A.; CAMERON, N. E.; LOW, P. A.; ZIEGLER, D. (Hrsg.). *Textbook of Diabetic Neuropathy*. Stuttgart und New York: Thieme, 2003, S. 91–148.
- [35] DYCK, P. J. Clinical Features and Treatment of Diabetic Neuropathy. Severity and Staging of Diabetic Polyneuropathy. In: GRIES, F. A.; CAMERON, N. E.; LOW, P. A.; ZIEGLER, D. (Hrsg.). *Textbook of Diabetic Neuropathy*. Stuttgart und New York: Thieme, 2003, S. 170–175.
- [36] BRIL, V.; AREZZO, J. C.; ANDERSEN, H.; JAKOBSEN, J.; KENNEDY, W. R.; WENDELSCHAFFER-CRABB, G. Clinical Features and Treatment of Diabetic Neuropathy. Diabetic Sensorimotor Neuropathy: Methods of Assessment. In: GRIES, F. A.; CAMERON, N. E.; LOW, P. A.; ZIEGLER, D. (Hrsg.). *Textbook of Diabetic Neuropathy*. Stuttgart und New York: Thieme, 2003, S. 177–198.
- [37] LASSMANN, G. Die Innervation der Hornhaut. Untersuchungen an der ruhenden Hornhaut des Kaninchens, nach blander Scarifizierung, intraoculärer Infektion mit Box virus bovis und doppelseitiger Sympathektomie. *Albrecht von Graefes Archiv für Ophthalmologie*. 1961, **162**(6), 565–609.
- [38] MÜLLER, L. J.; MARFURT, C. F.; KRUSE, F.; TERVO, T. M. T. Corneal nerves: structure, contents and function. *Experimental Eye Research*. 2003, **76**(5), 521–542.
- [39] GRAY, H. *Anatomy of the Human Body*. 20th ed. Philadelphia und New York: Lea & Febiger, 1918.
- [40] PATEL, D. V.; MCGHEE, C. N. J. Mapping of the normal human corneal sub-Basal nerve plexus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2005, **46**(12), 4485–4488.
- [41] PATEL, D. V.; MCGHEE, C. N. J. In vivo laser scanning confocal microscopy confirms that the human corneal sub-basal nerve plexus is a highly dynamic structure. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2008, **49**(8), 3409–3412.
- [42] DUA, H. S.; WATSON, N. J.; MATHUR, R. M.; FORRESTER, J. V. Corneal epithelial cell migration in humans: 'hurricane and blizzard keratopathy'. *Eye*. 1993, **7**(1), 53–58.

- [43] MALIK, R. A.; KALLINIKOS, P. A.; ABBOTT, C. A.; SCHIE, C. H. M. v.; MORGAN, P.; EFRON, N.; BOULTON, A. J. M. Corneal confocal microscopy: a non-invasive surrogate of nerve fibre damage and repair in diabetic patients. *Diabetologia*. 2003, **46**(5), 683–688.
- [44] MEHRA, S.; TAVAKOLI, M.; KALLINIKOS, P. A.; EFRON, N.; BOULTON, A. J. M.; AUGUSTINE, T.; MALIK, R. A. Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration after pancreas transplantation in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2007, **30**(10), 2608–2612.
- [45] QUATTRINI, C.; TAVAKOLI, M.; JEZIORSKA, M.; KALLINIKOS, P. A.; TESFAYE, S.; FINNIGAN, J.; MARSHALL, A.; BOULTON, A. J. M.; EFRON, N.; MALIK, R. A. Surrogate markers of small fiber damage in human diabetic neuropathy. *Diabetes*. 2007, **56**(8), 2148–2154.
- [46] TAVAKOLI, M.; KALLINIKOS, P. A.; IQBAL, A.; HERBERT, A.; FADAVI, H.; EFRON, N.; BOULTON, A. J. M.; MALIK, R. A. Corneal confocal microscopy detects improvement in corneal nerve morphology with an improvement in risk factors for diabetic neuropathy. *Diabetic Medicine*. 2011, **28**(10), 1261–1267.
- [47] TAVAKOLI, M.; MITU-PRETORIAN, M.; PETROPOULOS, I. N.; FADAVI, H.; ASGHAR, O.; ALAM, U.; PONIRAKIS, G.; JEZIORSKA, M.; MARSHALL, A.; EFRON, N.; BOULTON, A. J. M.; AUGUSTINE, T.; MALIK, R. A. Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration in diabetic neuropathy after simultaneous pancreas and kidney transplantation. *Diabetes*. 2013, **62**(1), 254–260.
- [48] OLIVEIRA-SOTO, L.; EFRON, N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. *Cornea*. 2001, **20**(4), 374–384.
- [49] MISRA, S.; CRAIG, J. P.; MCGHEE, C. N. J.; PATEL, D. V. Interocular comparison by in vivo confocal microscopy of the 2-dimensional architecture of the normal human corneal subbasal nerve plexus. *Cornea*. 2012, **31**(12), 1376–1380.
- [50] KALLINIKOS, P. A.; BERHANU, M.; O'DONNELL, C.; BOULTON, A. J. M.; EFRON, N.; MALIK, R. A. Corneal nerve tortuosity in diabetic patients with neuropathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2004, **45**(2), 418–422.
- [51] LOVBLOM, L. E.; HALPERN, E. M.; WU, T.; KELLY, D.; AHMED, A.; BOULET, G.; ORSZAG, A.; NG, E.; NGO, M.; BRIL, V.; PERKINS, B. A. In vivo corneal confocal microscopy and prediction of future-incident neuropathy in type 1 diabetes: a preliminary longitudinal analysis. *Canadian Journal of Diabetes*. 2015, **39**(5), 390–397.
- [52] WINTER, K.; SCHEIBE, P.; KÖHLER, B.; ALLGEIER, S.; GUTHOFF, R. F.; STACHS, O. Local Variability of Parameters for Characterization of the Corneal Subbasal Nerve Plexus. *Current Eye Research*. 2016, **41**(2), 186–198.
- [53] VAGENAS, D.; PRITCHARD, N.; EDWARDS, K.; SHAHIDI, A. M.; SAMPSON, G. P.; RUSSELL, A. W.; MALIK, R. A.; EFRON, N. Optimal image sample size for corneal nerve morphometry. *Optometry and Vision Science*. 2012, **89**(5), 812–817.

- [54] ALLGEIER, S.; WINTER, K.; BRETTHAUER, G.; GUTHOFF, R. F.; PESCHEL, S.; REICHERT, K.-M.; STACHS, O.; KÖHLER, B. Analysis of corneal subbasal nerve fiber length in mosaic image series acquired by guided eye movements. *Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik*. 2016, **61**(Suppl 1).
- [55] ALLGEIER, S.; WINTER, K.; BRETTHAUER, G.; GUTHOFF, R. F.; PESCHEL, S.; REICHERT, K.-M.; STACHS, O.; KÖHLER, B. A novel approach to analyze the progression of measured corneal sub-basal nerve fiber length in continuously expanding mosaic images. *Current Eye Research*. 2016, 1–8.
- [56] PATEL, D. V.; MCGHEE, C. N. J. Mapping the corneal sub-basal nerve plexus in keratoconus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2006, **47**(4), 1348–1351.
- [57] YOKOGAWA, H.; KOBAYASHI, A.; SUGIYAMA, K. Mapping of normal corneal K-structures by in vivo laser confocal microscopy. *Cornea*. 2008, **27**(8), 879–883.
- [58] STACHS, O.; ZHIVOV, A.; KRAAK, R.; HOVAKIMYAN, M.; WREE, A.; GUTHOFF, R. F. Structural-functional correlations of corneal innervation after LASIK and penetrating keratoplasty. *Journal of Refractive Surgery*. 2010, **26**(3), 159–167.
- [59] LUM, E.; GOLEBIOWSKI, B.; SWARBRICK, H. A. Mapping the corneal sub-basal nerve plexus in orthokeratology lens wear using in vivo laser scanning confocal microscopy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2012, **53**(4), 1803–1809.
- [60] TURUWHENUA, J. T.; PATEL, D. V.; MCGHEE, C. N. J. Fully automated montaging of laser scanning in vivo confocal microscopy images of the human corneal subbasal nerve plexus. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2012, **53**(4), 2235–2242.
- [61] EDWARDS, K.; PRITCHARD, N.; GOSSCHALK, K.; SAMPSON, G. P.; RUSSELL, A. W.; MALIK, R. A.; EFRON, N. Wide-field assessment of the human corneal subbasal nerve plexus in diabetic neuropathy using a novel mapping technique. *Cornea*. 2012, **31**(9), 1078–1082.
- [62] LUCA, M. D. *New techniques for the processing and analysis of retinal images in diagnostic ophthalmology*. Dissertation. Padova: Università degli Studi di Padova, 2008.
- [63] POLETTI, E.; RUGGERI, A. Automatic nerve tracking in confocal images of corneal sub-basal epithelium. In: RODRIGUES, P. P.; PECHENIZKIY, M.; GAMA, J.; CRUZ-CORREIA, R.; LIU, J.; TRAINA, A.; LUCAS, P.; SODA, P. (Hrsg.). *Proceedings of the 2013 IEEE 26th International Symposium on Computer-Based Medical Systems (CBMS)*. (Porto, Portugal, 20.–22. Juni 2013). 2013, S. 119–124.
- [64] BAILLY, N.; SHERIF, Z. A. R.; PLEYER, U.; RIECK, P. Konfokale Scanning-Mikroskopie: Eine vergleichende Darstellung von Hornhautdystrophiebefunden mittels ConfoScanP2 und Rostock Cornea Modul-HRT II. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2006, **223**(9), 735–742.

- [65] CATZ, N.; THIER, P. Neural Control of Saccadic Eye Movements. In: STRAUBE, A.; BÜTTNER, U. (Hrsg.). *Neuro-Ophthalmology. Neuronal Control of Eye Movements*. Basel: Karger, 2007, S. 52–75.
- [66] ILG, U.; THIER, P. Zielgerichtete Augenbewegungen. In: KARNATH, H.-O.; THIER, P. (Hrsg.). *Kognitive Neurowissenschaften*. 3. Aufl. Berlin und Heidelberg: Springer, 2012, S. 377–388.
- [67] KOWLER, E.; AITKIN, C. D.; ROSS, N. M.; SANTOS, E. M.; ZHAO, M. Davida Teller Award Lecture 2013: the importance of prediction and anticipation in the control of smooth pursuit eye movements. *Journal of Vision*. 2014, **14**(5), 10.
- [68] BRONSTEIN, I. N.; SEMENDJAJEW, K. A.; MUSIOL, G.; MÜHLIG, H. *Taschenbuch der Mathematik*. 9., korrigierte Auflage. Haan-Gruiten: Europa-Lehrmittel, 2013.
- [69] NOCEDAL, J.; WRIGHT, S. J. *Numerical Optimization*. 2nd ed. New York: Springer, 2006.
- [70] LIM, H. W.; LEE, D. E.; LEE, J. W.; KANG, M. H.; SEONG, M.; CHO, H. Y.; OH, J.-E.; OH, S. Y. Clinical measurement of the angle of ocular movements in the nine cardinal positions of gaze. *Ophthalmology*. 2014, **121**(4), 870–876.
- [71] FREUND, R. W.; HOPPE, R. H. *Stoer/Bulirsch: Numerische Mathematik 1*. 10., neu bearbeitete Auflage. Berlin und Heidelberg: Springer, 2007.
- [72] BROUWER, S. D.; YUKSEL, D.; BLOHM, G.; MISSAL, M.; LEFÈVRE, P. What triggers catch-up saccades during visual tracking? *Journal of Neurophysiology*. 2002, **87**(3), 1646–1650.
- [73] ALLGEIER, S.; EBERLE, F.; KÖHLER, B.; MAIER, S.; WEZEL, J. v.; ZHIVOV, A.; BRETT-HAUER, G. A Confocal Microscopy Study of the Anterior Corneal Mosaic in the Sub-Basal Nerve Plexus. *Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik*. 2013, **58**(Suppl 1).
- [74] ALLGEIER, S.; MAIER, S.; MIKUT, R.; PESCHEL, S.; REICHERT, K.-M.; STACHS, O.; KÖHLER, B. Mosaicking the subbasal nerve plexus by guided eye movements. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2014, **55**(9), 6082–6089.
- [75] THIER, P. Grundlagen zielgerichteter Motorik. In: KARNATH, H.-O.; THIER, P. (Hrsg.). *Kognitive Neurowissenschaften*. 3. Aufl. Berlin und Heidelberg: Springer, 2012, S. 355–365.
- [76] STRAUMANN, D. Disconjugate Eye Movements. In: STRAUBE, A.; BÜTTNER, U. (Hrsg.). *Neuro-Ophthalmology. Neuronal Control of Eye Movements*. Basel: Karger, 2007, S. 90–109.
- [77] AG2GAEH. *Kugelsegment* [Wikimedia Commons]. Online-Ressource. 2015. URL: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Kugel-kappe-s.svg> (besucht am 16.01.2017).
- [78] EDMUND, C.; SJØNTOFT, E. The central-peripheral radius of the normal corneal curvature. A photokeratoscopic study. *Acta Ophthalmologica*. 1985, **63**(6), 670–677.

- [79] KUGLIN, C. D.; HINES, D. C. The Phase Correlation Image Alignment Method. In: *Proceedings of the 1975 International Conference on Cybernetics and Society (SMC)*. (San Francisco, CA, 23.–25. Sep. 1975). 1975, S. 163–165.
- [80] ALBA, A.; AGUILAR-PONCE, R. M.; VIGUERAS-GÓMEZ, J. F.; ARCE-SANTANA, E. Phase Correlation Based Image Alignment with Subpixel Accuracy. In: BATYRSHIN, I.; GONZÁLEZ MENDOZA, M. (Hrsg.). *Advances in Artificial Intelligence. 11th Mexican International Conference on Artificial Intelligence, MICAI 2012*. (San Luis Potosí, Mexico, 27. Okt.–4. Nov. 2012). Berlin und Heidelberg: Springer, 2013, S. 171–182.
- [81] ABDOU, I. E. Practical approach to the registration of multiple frames of video images. In: AIZAWA, K.; STEVENSON, R. L.; ZHANG, Y.-Q. (Hrsg.). *Visual Communications and Image Processing '99*. (San Jose, CA, 25.–27. Jan. 1999). 1998, S. 371–382.
- [82] PUENTE LEÓN, F.; KIENCKE, U.; JÄKEL, H. *Signale und Systeme*. 5., überarbeitete Auflage. München: Oldenbourg, 2011.
- [83] MANBER, U. *Introduction to Algorithms. A Creative Approach*. Reading: Addison-Wesley, 1989.
- [84] ALLGEIER, S.; EBERLE, F.; KÖHLER, B.; MAIER, S.; STACHS, O.; GUTHOFF, R. F.; BRETTHAUER, G. Ein neues Mosaikbildverfahren zur großflächigen Darstellung des sub-basalen Nervenplexus der Kornea in vivo. *Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik*. 2010, **55**(Suppl 1).
- [85] ALLGEIER, S.; KÖHLER, B.; EBERLE, F.; MAIER, S.; STACHS, O.; ZHIVOV, A.; BRETTHAUER, G. Elastische Registrierung von in-vivo-CLSM-Aufnahmen der Kornea. In: HANDELS, H.; EHRHARDT, J.; DESERNO, T. M.; MEINZER, H.-P.; TOLXDORFF, T. (Hrsg.). *Bildverarbeitung für die Medizin 2011. Algorithmen - Systeme - Anwendungen*. (Lübeck, 20.–22. März 2011). Berlin und Heidelberg: Springer, 2011, S. 149–153.
- [86] ENGL, H. W.; HANKE, M.; NEUBAUER, A. *Regularization of Inverse Problems*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000.
- [87] BURGER, W.; BURGE, M. J. *Digital Image Processing. An Algorithmic Introduction Using Java*. 2nd ed. London: Springer, 2016.
- [88] MEISTER, A. *Numerik linearer Gleichungssysteme. Eine Einführung in moderne Verfahren*. 5. Aufl. Wiesbaden: Springer, 2015.
- [89] KANZOW, C. *Numerik linearer Gleichungssysteme. Direkte und iterative Verfahren*. Berlin und Heidelberg: Springer, 2005.
- [90] KÖHLER, B.; ALLGEIER, S.; EBERLE, F.; REICHERT, K.-M.; STACHS, O.; BRETTHAUER, G. Generating extended images of the corneal nerve plexus by guided eye movements. *Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik*. 2012, **57**(Suppl 1).
- [91] CARL ZEISS AG. *Produktblatt cinemizer PLUS*. Online-Ressource. URL: [https://www.zeiss.de/content/dam/cinemizer/downloads/pdf/ger/Product-Information\\_plus\\_german.pdf](https://www.zeiss.de/content/dam/cinemizer/downloads/pdf/ger/Product-Information_plus_german.pdf) (besucht am 16.01.2017).

- [92] KÖHLER, B.; ALLGEIER, S.; EBERLE, F.; MAIER, S.; PESCHEL, S.; REICHERT, K.-M.; STACHS, O. Großflächige Abbildung kornealer Nervenfasern durch geführte Augenbewegungen. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. 2014, **231**(12), 1170–1173.
- [93] KÖHLER, B.; BRETTHAUER, G.; GUTHOFF, R. F.; REICHERT, K.-M.; SIEBER, I.; STACHS, O.; TOSO, L.; ALLGEIER, S. EyeGuidance – a computer controlled system to guide eye movements. *Current Directions in Biomedical Engineering*. 2016, **2**(1), 433–436.
- [94] LIVINGSTONE, D. *A Practical Guide to Scientific Data Analysis*. Chichester: Wiley, 2009.
- [95] ZHOU, X.-H.; OBUCHOWSKI, N. A.; MCCLISH, D. K. *Statistical Methods in Diagnostic Medicine*. 2nd ed. Hoboken: Wiley, 2011.
- [96] MIKUT, R. *Data Mining in der Medizin und Medizintechnik*. Karlsruhe: Universitätsverlag, 2008.
- [97] COLES, S. *An Introduction to Statistical Modeling of Extreme Values*. London, Berlin und Heidelberg: Springer, 2001.
- [98] LEADBETTER, M. R.; LINDGREN, G.; ROOTZÉN, H. *Extremes and Related Properties of Random Sequences and Processes*. New York, Heidelberg und Berlin: Springer, 1983.
- [99] ALLGEIER, S.; KÖHLER, B.; MAIER, S.; PESCHEL, S.; REICHERT, K.-M.; STACHS, O.; WEZEL, J. v.; MIKUT, R.; BRETTHAUER, G. Large scale in vivo imaging of the corneal sub-basal nerve plexus by guided eye movements. *Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik*. 2014, **59**(Suppl 1).
- [100] WEEKS, E. R. *How does a confocal microscope work?* Online-Ressource. URL: <http://www.physics.emory.edu/faculty/weeks/confocal/> (besucht am 16.01.2017).
- [101] SAKURAMBO. *Airy Disc [Wikipedia]*. Online-Ressource. 2008. URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/File:Airy-3d.svg> (besucht am 16.01.2017).
- [102] INOUÉ, S. Foundations of Confocal Scanned Imaging in Light Microscopy. In: PAWLEY, J. P. (Hrsg.). *Handbook Of Biological Confocal Microscopy*. Third Edition. New York: Springer, 2006, S. 1–19.
- [103] SEMWOGERERE, D.; WEEKS, E. R. Confocal Microscopy. In: WNEK, G. E.; BOWLIN, G. L. (Hrsg.). *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*. Second Edition. New York: Informa Healthcare, 2008, S. 705–714.
- [104] HZELLER. *Nipkow Disk [Wikimedia Commons]*. Online-Ressource. 2008. URL: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nipkow\\_disk.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nipkow_disk.svg) (besucht am 16.01.2017).
- [105] PETRÁŇ, M.; HADRAVSKÝ, M. Tandem-Scanning Reflected-Light Microscope. *Journal of the Optical Society of America*. 1968, **58**(5), 661–664.
- [106] GUTHOFF, R. F.; BAUDOUIN, C.; STAVE, J. *Atlas of Confocal Laser Scanning In-vivo Microscopy in Ophthalmology. Principles and Applications in Diagnostic and Therapeutic Ophthalmology*. Berlin und Heidelberg: Springer, 2006.

- [107] HEIDELBERG ENGINEERING GMBH. *HRT 3 [Heidelberg Engineering]*. Online-Ressource. URL: <https://business-lounge.heidelbergengineering.com/de/products/hrt/> (besucht am 16.01.2017).
- [108] HART, W. E.; GOLDBAUM, M.; CÔTÉ, B.; KUBE, P.; NELSON, M. R. Automated measurement of retinal vascular tortuosity. In: MASYS, D. R. (Hrsg.). *1997 AMIA Annual Fall Symposium. A Conference of the American Medical Informatics Association*. (Nashville, TN, 25.–29. Okt. 1997). Philadelphia: Hanley & Belfus, 1997, S. 459–463.
- [109] GRISAN, E.; FORACCHIA, M.; RUGGERI, A. A novel method for the automatic grading of retinal vessel tortuosity. *IEEE Transactions on Medical Imaging*. 2008, **27**(3), 310–319.
- [110] LOTMAR, W.; FREIBURGHANUS, A.; BRACHER, D. Measurement of vessel tortuosity on fundus photographs. *Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie*. 1979, **211**(1), 49–57.