

2. METHODEN

2.1 Voruntersuchungen

2.1.1 Untersuchungsstichprobe

In einer prospektiven klinischen Studie wurden 49 Probanden im Zeitraum zwischen Januar bis März 2003 im Alter von 17 bis 65 Jahren konsekutiv untersucht. Beide Augen wurden hierbei einbezogen.

Drei myope Probanden trugen zeitweise Kontaktlinsen.

Die Probanden wurden über den Zweck der Studie informiert und deren Einverständnis wurde eingeholt.

Die Untersuchungen fanden in den Räumlichkeiten der Ambulanz der Klinik für Augenheilkunde im Vivantes Klinikum Neukölln, Berlin statt und wurden stets nur von einem Untersucher durchgeführt. Der durchschnittliche zeitliche Untersuchungsaufwand für einen Probanden betrug ca. 2 Stunden.

2.1.2 Ein- bzw. Ausschlusskriterien

Um eine Normalverteilung der Untersuchungsgruppe zu erreichen, wurden in die Studie nur Probanden mit einem Mindestalter von 17 Jahren mit regelrechtem Augenbefund bei Emmetropie, geringer bis mittlerer Myopie (sphärisches Äquivalent (SE) bis -8 D) sowie Hyperopie (SE maximal +5 D) aufgenommen. Der Betrag eines vorhandenen Astigmatismus sollte 4 Dioptrien nicht überschreiten.

Mit Ausnahme eines Refraktionsdefizites war eine unauffällige Augenanamnese gefordert. Frühere Augenoperationen, bisherige oder aktuelle Erkrankungen und Verletzungen der Augen (Fremdkörper, Hornhautnarben), Hornhautdegenerationen, trockene Augen sowie Zustand nach refraktiven Eingriffen wurden ausgeschlossen.

Voraussetzung für die Messung der Aberrationen waren klare brechende Medien sowie ein unauffälliger zentraler Netzhautbefund.

2.1.3 Untersuchungsvorbereitung

Ausgehend vom Ziel der Studie sollten möglichst optimale und konstante, aber auch klinisch reale Untersuchungsbedingungen geschaffen werden.

Zunächst wurde pro Auge die aus 3 Messungen gemittelte objektive Refraktion mit einem Autorefraktometer (TOPCON RM A7300) und die subjektive Refraktion unter Verwendung einer Meßbrille mit von einem Projektor in 6 Metern dargebotenen LANDOLT - Ringen nach DIN 58220 bestimmt. Dabei wurde zur Ermittlung des Visus, die Werte zunächst logarithmiert, dann der Mittelwert gebildet und anschließend wieder delogarithmiert.

Mittels Spaltlampenbiomikroskopie und Ophthalmoskopie wurden pathologische Befunde der vorderen und hinteren Augenabschnitte ausgeschlossen.

Für die okulären Messungen wurde eine Pupillenmindestweite von 6,5 mm festgelegt. Dabei wurde die Pupillenweite während der Zentrierung beim Meßvorgang mit dem Aberrometer registriert. Frühere Erfahrungen (*Gießler 2002*) ergaben, daß mit Phenylephrin 10% eine 0,19 D, mit Tropicamid eine 0,35 D und mit Cyclopentolat 1% 0,42 D Abweichung vom subjektiven sphärischen Äquivalent (SE) verursacht werden kann. Daher wurde Tropicamid (Mydrum® Chauvin ankerpharm) gegeben. In Fällen mangelnder Dilatation nach 1-2 Augentropfen (AT) Tropicamid erfolgte eine zusätzliche Applikation von 1-2 AT Phenylephrin (Neosynephrin-Pos® 5% Ursapharm). Die Gesamt-Einwirkzeit der Mydriatika betrug mindestens 30 Minuten.

Der eigentliche Untersuchungsablauf der kornealen und okulären Messungen der Aberrationen wird nachfolgend beschrieben.

2.2 Ermittlung der kornealen und okulären Wellenfront

In einer Übersicht sind die wichtigsten technischen Spezifikationen des kornealen Topographen Keratron Scout (Optikon 2000) und des Wellenfrontaberrometers (ORK Schwind) zur Ermittlung der kornealen und okulären Wellenfront-Aberrationen dargestellt (Tabelle 1).

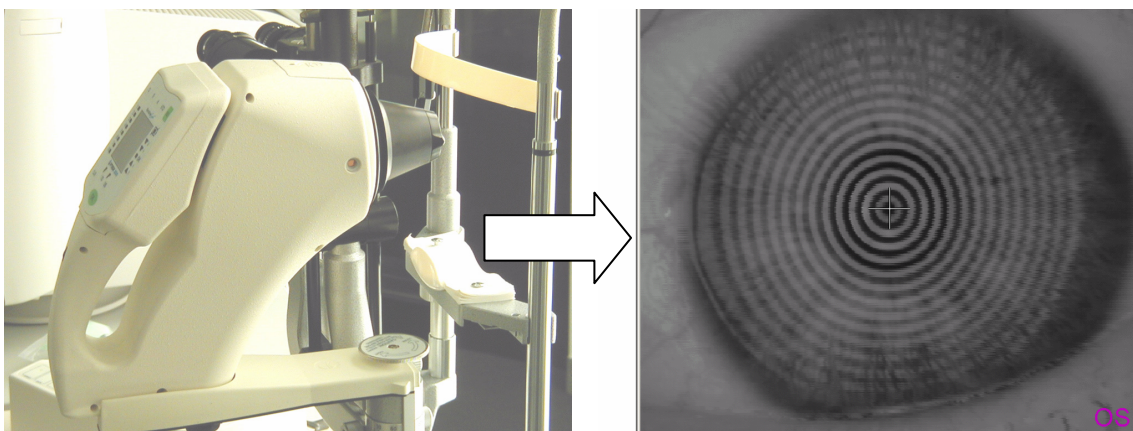
Tab. 1: Technische Spezifikationen

	Keratron Scout (OPTIKON 2000)	Wellenfront-Aberrometer (ORK SCHWIND)
Messung	Korneale Aberrationen	Okuläre Aberrationen
Prinzip	Placido	Tscherning-Gittermuster
Auflösungsvermögen	1 μm ; $\pm 0,01$ D	0,1 μm
Genauigkeit der Messung		sph $\pm 0,25$ D; zyl $\pm 0,1$ D
Reproduzierbarkeit	$\pm 0,1$ D	$< 0,1$ D sph (Linsenwert)
Meßbereich	1 – 100 D	sph -8,0 D bis +5,0 D; zyl -4,0 D
Meßareal	95 % der HH-Oberfläche	10x10 mm Areal auf der Kornea
Anzahl der Meßpunkte	7168	168
Anzahl der Analyse-Punkte	$> 75\ 000$	96 bei einer Pupille von 7 mm
Software- Version	3.5.0	1.1

2.2.1 Ableitung der kornealen Aberrationen

Die Ableitung der **kornealen Aberrationen** erfolgte indirekt unter Verwendung der Höhendaten aus je einer Meßserie von 8 Infrarot-Messungen der Hornhautoberfläche kontaktfrei nach dem Placido-Prinzip mit einem kornealen Topographen (Bogan 1990), dem Videokeratoskop Keratron Scout (OPTIKON 2000) (Abb.10).

Abb. 10: Videokeratoskop mit Placidoaufnahme (Keratron Scout OPTIKON)



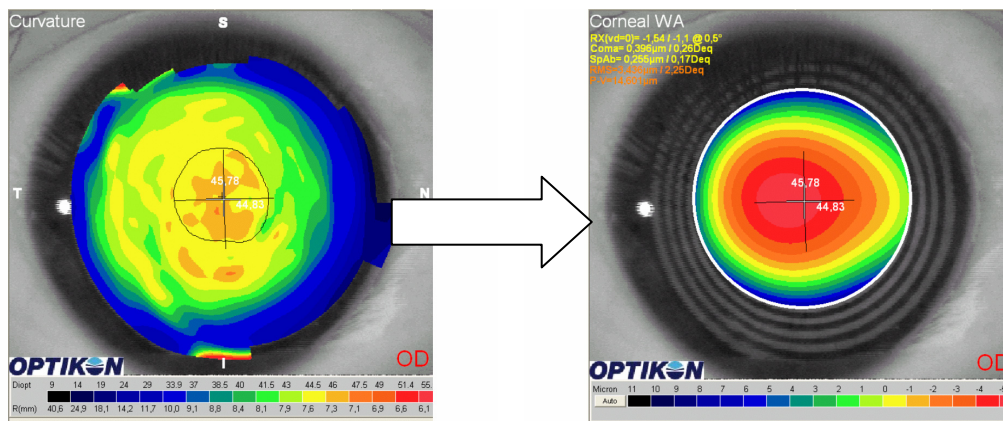
Dabei nahm der Proband eine aufrechte Sitzposition ein und sein Kopf wurde auf einer Kinnstütze positioniert. Er wurde aufgefordert, mit dem zu messenden Auge direkt in das Fixierlicht des dicht an das Auge heranfahrenden Meßkonus zu blicken, beide Augen weit zu öffnen und zwischen jeder Messung einen Lidschluß auszuführen. Die Messungen erfolgten nacheinander per Fußschalter unter visueller Kontrolle.

Während des Meßvorganges wurden vom Gerät zunächst 28 Ringe auf die Hornhaut projiziert, 7168 Punkte der Oberfläche gemessen und mehr als 75000 Punkte analysiert. Aus der Differenz der einzelnen Reflexionsdaten und den theoretischen Daten der idealen sphärischen Kornea ermittelte das System, unter Berücksichtigung der Asphärizität der Kornea („Arc-Step-Algorithmus“), die tatsächliche Topographie, d.h. die wahre Krümmung der Hornhaut (Abb.11).

Nach Überprüfung von Artefakten, wie beispielsweise störende Lider, Tränenfilm-instabilität, Tränenseen, Wimpern, der Beurteilung der detektierten Pupillengrenzen und des optischen Vergleichs bezüglich der Ähnlichkeit der aufgenommenen

Topographie-Bilder wurden unter Berücksichtigung der Reproduzierbarkeit („Repeatability -check“) 3 Messungen für die weitere Auswertung ausgewählt. Nur Meßergebnisse mit guter bis vorwiegend sehr guter Reproduzierbarkeit wurden zur weiteren statistischen Bearbeitung verwendet. Die gewählten Topographien dienen als Grundlage für die Ermittlung der kornealen Wellenfront. Die Wellenfrontkarten wurden durch das im Videokeratographen integrierte Rechenprogramm erstellt (Abb.11).

Abb. 11: Ableitung der kornealen Wellenfront aus der Topographie (Keratron Scout OPTIKON)

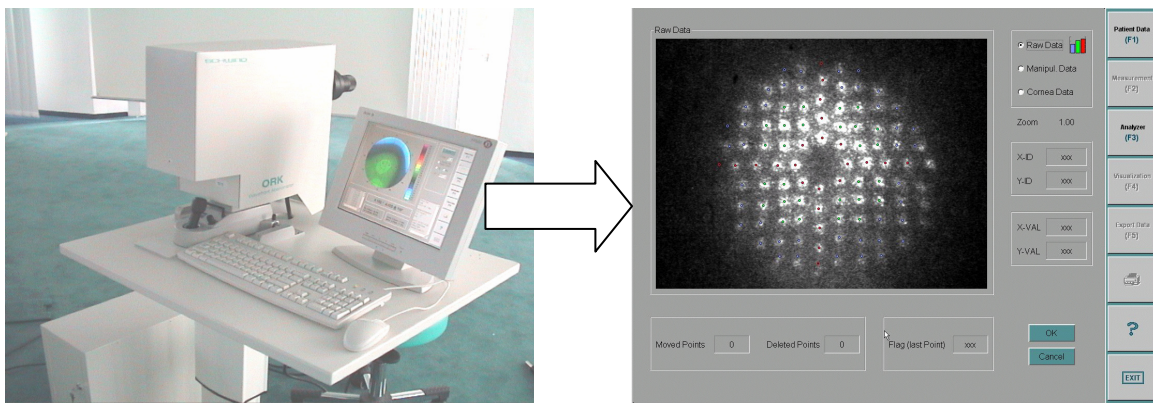


Weitere Software-Berechnungen führten zu den kornealen Zernike-Koeffizienten und RMS-Wellenfrontfehlern.

2.2.3 Messung der okulären Wellenfront

Die Messungen der gesamten **okulären Aberrationen** erfolgten im Anschluß ebenfalls sitzend mit entsprechend positioniertem Kopf, bei dilatierter Pupille im gleichen nun abgedunkelten Untersuchungsraum. Sie wurden mit dem Wellenfront-Aberrometer nach dem Tscherning-Prinzip (Aberrometer ORK SCHWIND) (Abb.12) mittels eines Diodenlaserstrahls mit einer Wellenlänge von 660 nm und einer Leistung von 0,2 mW durchgeführt. Der Meßvorgang dauerte weniger als 50 ms.

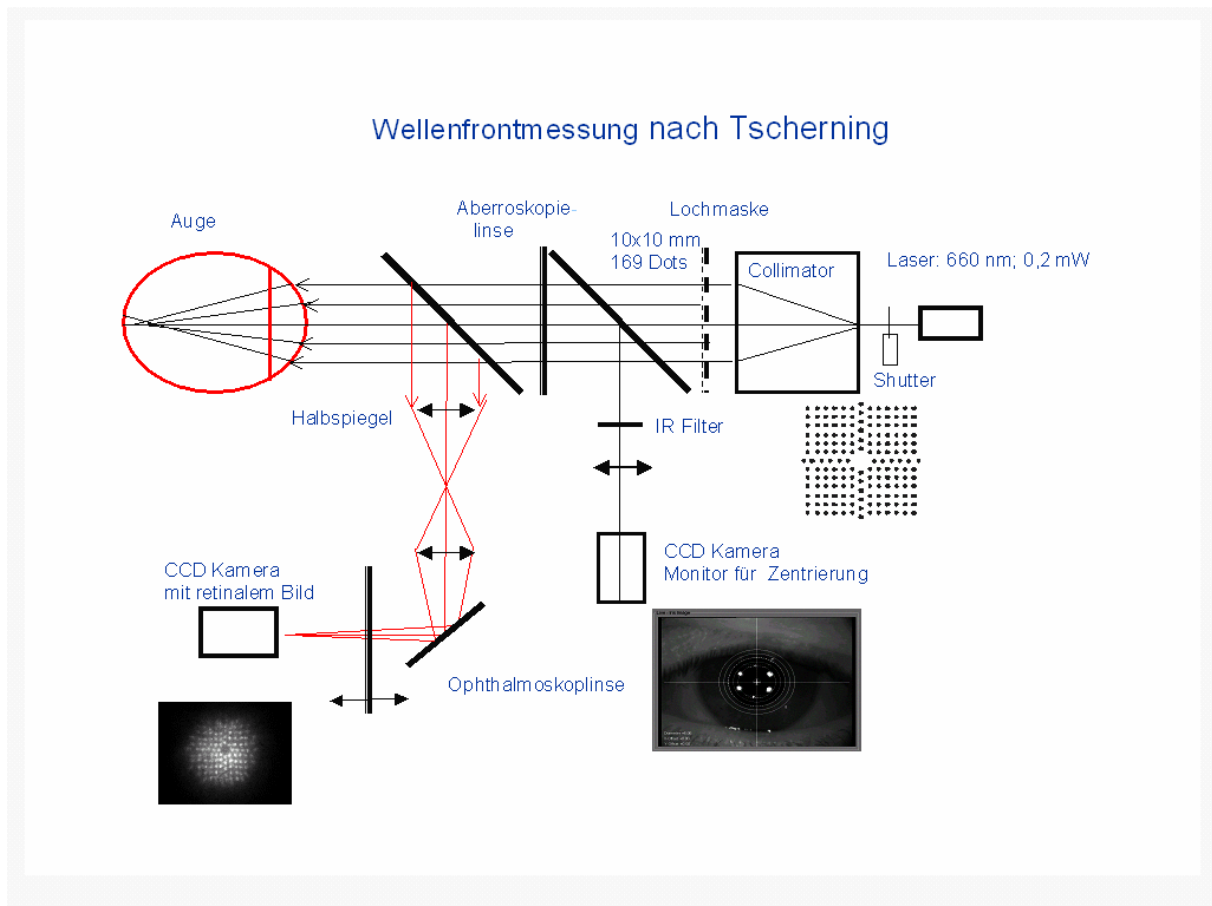
Abb. 12: Wellenfront-Aberrometer mit Projektion des Gittermusters auf die Netzhaut (Aberrometer ORK SCHWIND)



Ausgehend von einer Laserlichtquelle gelang der Laserstrahl durch eine Lochmaske mit 168 Aperturen, die ein Strahlenbündel erzeugte. Dieses Lichtbündel passierte die Aberroskopielinse, deren Stärke der zuvor subjektiv ermittelten und eingegebenen Refraktion entsprach. Die Lichtstrahlen mit einem Durchmesser von 220 µm trafen auf die Hornhaut innerhalb eines Areal mit einer Kantenlänge von 10 mm und passierten anschließend das gesamte Auge. Der Fokus entstand etwa 1-3 mm vor der Retina mit einer gut sichtbaren Schattenabbildung der Maskenlöcher auf der Netzhaut. Die Bildgröße betrug konstant 1 mm im Durchmesser.

Das durch das Pupillenzentrum gitterförmig auf die zentrale Retina fokussierte Lichtbündel, welches entsprechend der Aberrationen des Auges verzerrt abgebildet wurde, konnten nach der Reflexion über eine indirekte Ophthalmoskopielinse von einer integrierten CCD - Kamera aufgenommen werden (Abb.13).

Abb. 13: Meßprinzip nach Tscherning (modifiziert nach Mierdel 1997)

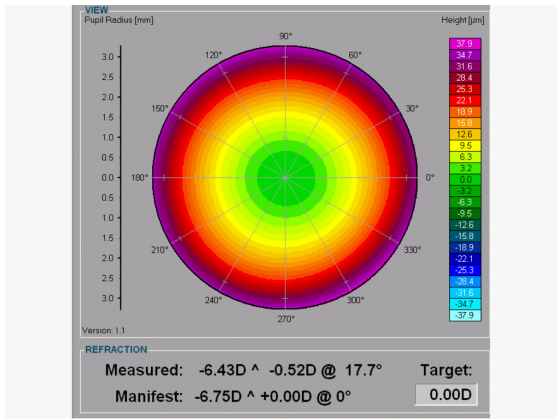


Eine okuläre Messung wurde akzeptiert, sofern die u. g. Kriterien für eine gelungene Messung erfüllt waren. Dies war für den Untersucher erkennbar an der Zentrierung mittels Beurteilung des auf die Kornea projizierten Lichtgitters und des retinalen Bildes sowie an einer geräteinternen Auswertung der Güte der jeweiligen Messung in Form von Balkendiagrammen.

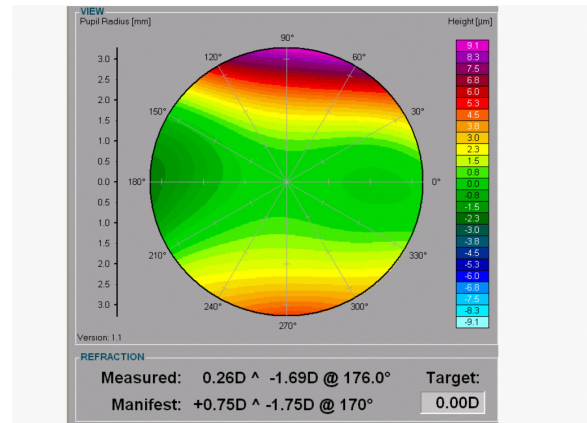
Mit einem internen Programm wurden die Aberrationen (deformierte Wellenfront) nach einem SOLL-IST-Vergleich auf Grund der relativen Abweichung zur idealen Position der vom Lichtgitter (Lochmaske) auf der Retina erzeugten Punkte kalkuliert und mathematisch durch Zernike-Koeffizienten beschrieben (Mierdel 1997; Mrochen 2001d; Mrochen 2000; Kaemmerer 2000).

Abschließend konnte eine Darstellung der Aberrationen/ Wellenfront-Deformationen als Höhenprofil erfolgen (Abb.14 und 15).

**Abb. 14: Beispiel Defokus - Myopie
(Aberrometer ORK SCHWIND)**



**Abb. 15: Beispiel Astigmatismus
(Aberrometer ORK SCHWIND)**



Eine Voraussetzung für intraindividuelle reproduzierbare und vergleichende Messungen zwischen verschiedenen Aberrometrieverfahren war eine einheitliche Referenzachse (Applegate 2000b). Die optische Kontrolle erfolgte über die Pupillendetektion mit automatischer Anzeige auf dem Monitor. Bei beiden Meßmethoden war die geforderte Einstellung die „line of sight“ - der Verbindungslinie zwischen Fixierlicht und Fovea über dem Zentrum der Eintritts- und Austrittspupille - gemäß der Empfehlung der OSA-Standards nach VSIA-Taskforce, gewährleistet (Klein 2000; Thibos 2002).

2.3 Statistische Auswertung

Im Anschluß an die Erfassung aller Parameter und Beendigung der Untersuchung aller Probanden erfolgte die statistische Aufbereitung aller verfügbaren Daten mit Excel 2000 und SPSS Version 11.0. Zunächst wurden alle erzeugten und aufgenommenen Daten über eine gemeinsame Endsoftware aus beiden Geräten exportiert, in Excel-Tabellen übertragen, transformiert und systematisch in eine Rohdatenbank eingegeben. Nach Auswahl und Reduzierung der auszuwertenden Variablen erfolgte die endgültige Übertragung der Daten in die SPSS-Software zur weiteren Bearbeitung und detaillierten Datenanalyse.

Zur Beantwortung der Fragestellungen war die Vergleichbarkeit der kornealen und okulären Aberrationen, hier der biophysikalischen Meßgrößen - Zernike-Koeffizienten und RMS-Wellenfrontfehler - zwischen den beiden Meßmethoden innerhalb eines gesunden normalen Kollektivs statistisch nachzuweisen.

Die Nullhypothese lautete hiermit:

Beide Verfahren liefern vergleichbare Ergebnisse hinsichtlich Größe und Verteilung der kornealen und okulären Aberrationen.

Der o.g. Hypothese stand folgende Alternativhypothese gegenüber:

Die mit den vorgenannten Verfahren gemessenen und ermittelten Aberrationen korrelieren nicht generell, sondern weisen signifikante Unterschiede voneinander auf.

Die anderen Parameter - demographische, topographische und refraktiven Daten - sowie die Beantwortung weiterer Fragestellungen wurden in dieser Studie deskriptiv bearbeitet.

Folgende Tabelle zeigt eine Übersicht der zu untersuchenden Parameter (Tabelle 2):

Tab. 2: Zusammenfassung der Untersuchungsparameter

Untersuchungsparameter	
Demographische Faktoren	
Meßgrößen (Variablen)	Alter Geschlecht Visus ohne Korrektur Visus mit Korrektur Autorefraktion Subjektive Refraktion Physiologische Pupillengröße Dilatierte Pupillengröße
Bedeutung	Charakterisierung der Gesamtstichprobe zur möglichen Differenzierung zwischen einzelnen Gruppen, ob bestimmte demographische Größen relevant für die zu untersuchenden Aberrationen waren
Topographische Faktoren	
Meßgrößen (Variablen)	Korneale Brechkraft Kornealer Astigmatismus Korneale Achse Topographische Klassifizierung
Bedeutung	Nachweis einer regelrechten Hornhautanatomie Ausschluß von verzerrenden Störfaktoren auf die Aberrationen
Biophysikalisch-mathematische Faktoren der Aberrationen	
Meßgrößen (Variablen)	Zernike-Koeffizienten C03 bis C14 der 2. bis 4. Ordnung RMS-Wellenfrontfehler der 2. bis 4. Ordnung
Bedeutung	Beschreibung und Analyse der zu untersuchenden Aberrationen, jeweils korneal und okulär

2.3.1 Deskriptive Statistik

Die explorative Datenanalyse erfolgte deskriptiv mit der Erstellung von Häufigkeitstabellen und Graphiken in Form von Boxplots. Der Kasten (Box) stellte dabei den Interquartilsbereich (IQR) zwischen 25. und 75. Perzentil dar. Die kräftige Linie in der Box entsprach dem Median. Die Werte, die maximal 1,5 des IQR über oder unter der Box lagen, stellten jeweils den kleinsten und größten Wert dar. Werte außerhalb dieses IQR, aber noch innerhalb des Dreifachen des IQR, galten als

Ausreißer und wurden als Kreis dargestellt. Extremwerte, die mehr als das Dreifache von der Box entfernt waren, wurden als Sterne gekennzeichnet. Die Darstellung von Mittelwerten, Standardabweichungen, Minimum und Maximum erfolgte tabellarisch. Dabei wurden für die Berechnung der Zernike-Koeffizienten und RMS-Fehler jeweils der Mittelwert aus den 3 Messungen pro Auge des jeweiligen Probanden und Verfahrens verwendet.

Da für die Beurteilung der Aberrationen des menschlichen Auges nur die Zernike-Polynome bis einschließlich der 4. Ordnung noch sicher meßbar und klinisch relevant sind, erfolgte die Auswertung einschließlich der 2. bis 4. Ordnung (*Artal 1998; Chalita 2003; Guirao 2000a; Liang 1997; Liang 1997a; Mierdel 1999; Mrochen 2000a; Mrochen 2001; Mrochen 2001c; Nagy 2002; Nagy 2002a; Panagopoulou 2001; Seiler 2000a*).

2.3.2 Reproduzierbarkeit

Um die Zuverlässigkeit der gemessenen Aberrationen zu prüfen, wurde die Reproduzierbarkeit innerhalb des Meßverfahrens aus jeweils 3 Messungen ermittelt. Dazu wurden der Mittelwert und der Median der Zernike-Koeffizienten bestimmt und mit deren intraindividuelle Standardabweichung der Variationskoeffizient (= SD/ Mittelwert bzw. Median in %) errechnet (*Mirshahi 2003*).

Da die Reproduzierbarkeit vom Mittelwert abhängig war, konnten sehr geringe Werte zu einer Verzerrung des resultierenden Variationskoeffizienten führen. Da dies eine schlechtere Reproduzierbarkeit vortäuschen konnte, wurde zusätzlich zum arithmetischen Mittelwert auch der Median verwendet, um die Reproduzierbarkeit besser wiederzugeben (*Mirshahi 2003*).

2.3.3 Anwendung der Korrelations- und Regressionsanalysen

Vorraussetzung für die richtige Anwendung zahlreicher statistischer Verfahren ist eine Normalverteilung der zu untersuchenden Daten in der Grundgesamtheit. Auf Grund der vorliegenden Fallzahl und Zusammensetzung der Stichprobe lag bei der Gesamtbetrachtung eine Normalverteilung vor (Test nach Kolmogorov-Smirnov).

Die linearen Zusammenhänge zwischen den kornealen und okulären Meßergebnissen aus beiden Untersuchungsverfahren ließen sich durch zweiseitige Korrelation nach Pearson, auf dem 95%-Signifikanzniveau ($p < 0,05$), nachweisen.

Auf Grund des Einflusses der Refraktion besonders auf die Aberrationen der niedrigen Ordnung, erfolgte wegen fehlender Normalverteilung der Refraktionswerte auch eine Darstellung nach dem nichtparametrischen Korrelationskoeffizienten Spearman. Auch die verringerte Fallzahl bei der Unterteilung der Probandengruppe zur Untersuchung verschiedener Faktoren erforderte eine Auswertung nach Spearman.

Die Ergebnisse der Korrelationen wurden tabellarisch und graphisch in ausgewählten Streudiagrammen (Punktwolken) dargestellt.

Mit Hilfe der linearen Regressionsanalyse wurden die Regressionsgeraden aus den kleinsten Abstandsquadraten der Beobachtungspunkte von der Geraden konstruiert, die die Punktwolken optimal repräsentierten.

2.3.4 Bland-Altman-Analyse und Differenzvergleich mittels T-Test

Die Bland-Altman-Analyse ist eine deskriptive Methode, die geeignet ist, die Übereinstimmung der durch zwei diagnostische Meßverfahren bestimmten Werte graphisch zu beschreiben (*Bland 1986; Bland 1999*). Systematische Zusammenhänge bzw. Fehler („Bias“) können dabei ebenfalls aufgedeckt werden. Die Bland-Altman-Diagramme beschreiben nicht nur die intraindividuellen Abweichungen, sondern lassen auch erkennen, ob die Größe der Abweichung von den absoluten Meßwerten abhängt, d.h. ob vor allem für besonders kleine oder große Meßwerte die Geräte stark voneinander abweichen (*Krummenauer 2002*).

Hier wurde wie folgt vorgegangen:

1. Berechnung des Mittelwertes der Meßmethoden für jedes Polynom (Summe des entsprechenden kornealen und okulären Zernike-Koeffizienten, geteilt durch 2)
2. Bildung der Differenz des zu vergleichenden Meßwertpaares eines Zernike-Koeffizienten (kornealer minus okulärer Zernike-Koeffizient)
3. Berechnung des Mittelwertes und der Standardabweichung der Differenzen

4. Auftragen der Differenzen (Ordinate) gegen die Mittelwerte (Abszisse)
5. Einzeichnung der horizontalen Geraden für den Mittelwert der Differenzen
6. Darstellung der horizontalen Geraden für die Grenzen der Übereinstimmung – („limits of agreement“) - entsprechend dem Mittelwert der Differenzen $\pm 1,96$ facher Standardabweichung, die 95% aller Paardifferenzen einschließt

Die Grenzen der Übereinstimmung beider Meßmethoden, d.h. der Bereich der 95% aller Paardifferenzen einschließt, wurden anhand klinischer Angaben und Voruntersuchungen definiert. Für die Aberrationen der niedrigeren Ordnung (C03/C05) wurde als Grenze $\pm 0,5 \mu\text{m}$ festgelegt (*Porter 2001; Castejón-Mochón 2002*). Bezüglich Defokus variierte die Höhe der Aberrationen in Abhängigkeit der Refraktion sehr stark. Der mittlere Zernike-Wert einer Normalpopulation für 7mm konnte sogar über $2 \mu\text{m}$ betragen (*Castejón-Mochón 2002*). Für die Aberrationen der höheren Ordnungen (C06 bis C14) scheint ein Grenzwert für die Übereinstimmung von $\pm 0,2 \mu\text{m}$ realistischer zu sein (*Porter 2001; Wang 2003; Wang 2003b*).

Die Differenzen wurden mit dem T-Test für verbundene Stichproben verglichen. Aufgrund der statistischen Analyse von mehreren Differenzen wurde das Signifikanzniveau mit Hilfe der Bonferroni-Korrektur - aus dem Quotienten aus dem 5% Signifikanzniveau und Anzahl der Testungen (12 Zernike-Koeffizienten) plus einem Freiheitsgrad ($p' < 0,05/13$) bestimmt. Dadurch wurde ein Signifikanzniveau von $p' < 0,004$ ermittelt.

Um den Zusammenhang von Alter und Refraktion zu untersuchen, wurde jeweils innerhalb kornealer und okulärer Aberrationen der Test für unabhängige Stichproben (Mann-Whitney-U-Test) angewandt. Hierbei lag das Signifikanzniveau ebenfalls bei $p' < 0,004$ (s.oben).