

# **Der Einfluss der Linse auf die multimodale Bildgebung der Netzhaut und Entwicklung eines personalisierten Linsenkorrekturfaktors**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. med.)

der Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

**Geena Celine Rennen**

aus Gummersbach

2026

Angefertigt mit der Genehmigung  
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Frank G. Holz
2. Gutachterin: Prof. Dr. med. Stefanie Kürten

Tag der mündlichen Prüfung: 22.01.2026

Aus der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde

## Inhaltsverzeichnis

	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	4
<b>1.</b>	<b>Deutsche Zusammenfassung</b>	6
1.1	Einleitung	6
1.2	Material und Methoden	9
1.3	Ergebnisse	14
1.4	Diskussion	17
1.5	Zusammenfassung	22
1.6	Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	24
<b>2.</b>	<b>Veröffentlichungen</b>	29
2.1	Veröffentlichung 1	29
2.2	Veröffentlichung 2	29
<b>3.</b>	<b>Erklärung zum Eigenanteil</b>	30
<b>4.</b>	<b>Danksagung</b>	32

## Abkürzungsverzeichnis

AC-OCT	Anterior chamber optical coherence tomography, Vorderabschnitts-optische-Kohärenztomographie
AMD	Altersabhängige Makuladegeneration
BAF	Blaue Fundusautofluoreszenz
BCVA	Best corrected visual acuity, bestkorrigierte Sehschärfe
cSLO	Confocal scanning laser ophthalmoscopy, Konfokale Scanning-Laser-Ophthalmoskopie
FAF	Fundusautofluoreszenz
GAF	Grüne Fundusautofluoreszenz
IR	Infrarotbild
LASSO	Least Absolute Shrinkage and Selection Operator, Kleinste absolute Reduktion und Selektionsoperator
LOCS III	Lens Opacities Classification System III, Klassifizierungssystem für Linsentrübungen III
LQAF	Quantitative Autofluoreszenz der Linse
M	Mittelwert
MAE	Mean absolut error, mittlerer absoluter Fehler
MOS	Mean opinion score, mittlere Meinungsbewertung
N	Stichprobengröße
NN	Neuronales Netzwerk
PNS	Pentacam Nucleus Staging

RSME	Root mean square error, mittlerer quadratischer Fehler
SD	Standardabweichung
SD-OCT	Spectral domain optical coherence tomography, Spektrale optische Kohärenztomographie
QAF	Quantitative Fundusautofluoreszenz

# 1. Deutsche Zusammenfassung

## 1.1 Einleitung

Die Fundusautofluoreszenz (FAF) ist ein bildgebendes Verfahren der Retina, das eine genaue Kartierung u.a. der Fluorophore des retinalen Pigmentepithels (RPE) ermöglicht (Schmitz-Valckenberg et al., 2021). Sie beruht auf den autofluoreszierenden Eigenschaften von Bisretinoiden, die als Nebenprodukte des Sehzyklus im lysosomalen Kompartiment des RPE akkumulieren (Ach et al., 2014). Bei der weit verbreiteten blauen Fundusautofluoreszenz (BAF; 488nm Anregung) werden vor allem Lipofuszin und Melanolipofuszin (als Gemische von mehreren, z.T. unbekannten Fluorophoren) angeregt (Greenberg et al., 2013). Das RPE hat neben der Verarbeitung der Retinoide des Sehzyklus eine Vielzahl von weiteren wichtigen Funktionen zur Unterstützung der Photorezeptoren (Strauss, 2005). Durch die genaue Detektion der Zu- und Abnahme der Fluorophore des RPE können nicht nur seine physiologische Funktionsweise, sondern auch Pathologien mithilfe der FAF ermittelt werden (Schmitz-Valckenberg et al., 2021). Somit bildet die FAF ein wichtiges Instrument zur Überwachung und Diagnose von Netzhauterkrankungen, die mit Veränderungen des RPEs einhergehen, wie der altersabhängigen Makuladegeneration (AMD) oder dem Morbus Stargardt (Ach et al., 2015; Burke et al., 2014).

Die quantitative Fundusautofluoreszenz (QAF), als Weiterentwicklung der FAF, ermöglicht durch den Einbau einer internen Referenz im Aufnahmegerät den Vergleich von Autofluoreszenzintensitäten zwischen ProbandInnen, unabhängig vom Zeitpunkt der Aufnahme, dem Gerät und dem Bediener (Greenberg et al., 2013). Dabei wird die Genauigkeit der QAF-Bildgebung jedoch maßgeblich von der Klarheit der optischen Medien wie der Hornhaut, der Linse und dem Glaskörper beeinflusst (Reiter et al., 2021). Der Störfaktor durch die Linse zeigt sich insbesondere im höheren Alter, da die Linsentrübung (Katarakt) durch Anreicherung von Glykosiden in den Linsenfasern kontinuierlich zunimmt (Bron et al., 2000). Eine getrübbte Linse blockiert vor allem im kurzwelligen Spektrum den Lichteinfall auf die Netzhaut. Dadurch beeinflusst sie

insbesondere die QAF-Bildgebung, in der kurzwelliges blaues Licht verwendet wird (Artigas et al., 2012).

Um den Einfluss der Linse auf die QAF zu quantifizieren, führten Delori et al. (2013) einen altersabhängigen Linsenkorrekturfaktor ein. Frühere Studien haben jedoch gezeigt, dass es auch innerhalb einer Alterskohorte große individuelle Schwankungen der Linsentrübung gibt, wodurch die alleinige altersabhängige Korrektur nicht adäquat ist (Berlin et al., 2022; Charng et al., 2017). In einigen klinischen Studien wurden infolgedessen ProbandInnen mit natürlichem Linsenstatus oder einem Alter über 65 Jahren kategorisch ausgeschlossen (Gliem et al., 2016; Greenberg et al., 2013; Orellana-Rios et al., 2018). Dies ist jedoch eine große Einschränkung für die Rekrutierung von StudienprobandInnen, da die Prävalenz vieler Netzhauterkrankungen, wie der AMD, vor allem im höheren Alter ansteigt (Fleckenstein et al., 2021).

Es gibt verschiedene Methoden zur Messung der Linsentrübung. In der klinischen Anwendung wird derzeit am häufigsten das Lens Opacities Classification System III (LOCS III) verwendet (Benčić et al., 2005). Dabei werden sowohl der Schweregrad als auch die anatomische Position der Katarakt klassifiziert. Dies erfordert jedoch eine umfangreiche, klinische Erfahrung der Untersuchenden und kann eine eingeschränkte Retest-Reliabilität aufweisen.

Darüber hinaus gibt es verschiedene objektive Bildgebungsverfahren der Linse. Mit der Scheimpflug-Fotografie können Informationen über die Linsendichte gewonnen werden (Domínguez-Vicent et al., 2016a). Zusätzlich lässt sich aus der optischen Vorderkammer-Kohärenztomographie (AC-OCT) ein Schnittbild der Linse anfertigen und ihre Reflektivität ableiten (Domínguez-Vicent et al., 2016b). Außerdem können fluorophotometrische Messungen die Linsentransmission mithilfe von blauen und grünen Autofluoreszenzbildern quantifizieren, indem die Differenz der Autofluoreszenzintensität zwischen dem vorderen und hinteren Linsenanteil gebildet wird (Van Best und Kuppens, 1996).

Eine weitere Methode, die von Charng et al. (2017) eingeführt wurde, ermöglicht die Messung der Linsen-Autofluoreszenz (LQAF), indem der Fokus des konfokalen Scanning-Laser-Ophtalmoskops auf die Linse verschoben wird. Die vorliegende Arbeit

konzentriert sich hauptsächlich auf die Untersuchung der Linsenparameter aus Scheimpflug, AC-OCT und LQAF.

Die genaue Quantifizierung der Linsentrübung soll die Entwicklung von Grenzwerten der lentikulären Parameter für den Einschluss phaker PatientInnen in klinische Studien ermöglichen. Dabei sind die Art der retinalen Bildgebungsmethode und das hierfür verwendete Licht von zentraler Bedeutung, da kurzwelliges Licht am stärksten durch die Linsentrübung abgeblockt wird (Artigas et al., 2012). Neben der konventionellen Anwendung der BAF wird auch zunehmend der Einsatz der grünen Fundusautofluoreszenz (GAF) mit einer Anregung im Bereich von langwelligerem Licht (514nm) untersucht (Bittencourt et al., 2019; Müller et al., 2018; Reznicek et al., 2013). Diese innovative Methode ermöglicht vor allem eine detailreichere Darstellung der Fovea (Pfau et al., 2017). Bei der BAF zeigt sich im Bereich der Fovea zirkulär eine herabgesetzte Autofluoreszenz, da das kurzwellige Licht durch das dort vorliegende Makulapigment absorbiert wird (Wolf-Schnurrbusch et al., 2011). Zusätzlich zu diesem Effekt könnte die herabgesetzte Autofluoreszenz auch einer niedrigeren Lipofuszin-konzentration des RPE der Fovea zugrunde liegen (Bermond et al., 2020). Im Gegensatz zur BAF-Bildgebung wird die GAF aufgrund fehlender Absorption jedoch nicht wesentlich durch das Makulapigment beeinträchtigt (Delori et al., 2001).

Ziel der vorliegenden Dissertation ist es, (I) den Nutzen der drei oben genannten Linsen-Metriken zu analysieren und anhand derer einen personalisierten Linsenkorrekturfaktor zu entwickeln sowie (II) die Auswirkung der lentikulären Autofluoreszenz und Trübung auf die Netzhaut-Bildqualität zu ermitteln. Für die Erstellung des Linsenkorrekturfaktors sollen QAF-Werte mit Hilfe von gemischten Spline-Modellen vorhergesagt werden, die sowohl das Alter als auch die Linsenwerte als Einflussfaktoren berücksichtigen. Zur Validierung des Faktors werden QAF-Werte bei phaken PatientInnen vor und nach einer Kataraktoperation gemessen und der derzeit angewandte altersbasierte mit dem personalisierten Linsenkorrekturfaktor verglichen. Zur Ermittlung der Bildqualität der Netzhaut unter Einfluss der Linse sollen verschiedene retinale Bildgebungsmodalitäten, Infrarot (IR), BAF und GAF, anhand festgelegter Parameter beurteilt und verglichen werden. Eine genauere Korrektur des lentikulären Einflusses auf die Autofluoreszenz-



Bildgebung könnte zukünftig ihre Anwendbarkeit verbessern und zu präziseren Einschlusskriterien für phake PatientInnen in interventionellen Studien führen.

## 1.2 Material und Methoden

### 1.2.1 ProbandInnen

Die ProbandInnen wurden im Zeitraum von November 2021 bis November 2022 in der Universitäts-Augenklinik Bonn rekrutiert. Nachdem sie ausführlich aufgeklärt wurden, gaben alle TeilnehmerInnen ihre schriftliche Einverständniserklärung ab. Die ProbandInnen ließen sich zwei Gruppen zuteilen. Die erste Gruppe von phaken PatientInnen, die eine routinemäßige Katarakt-Operation benötigten, wurde aus der Katarakt-Sprechstunde der Klinik einbezogen. Die zweite Gruppe bestand aus gesunden Partneraugen von stationären PatientInnen der Klinik. Die Einschlusskriterien waren in jedem Fall ein Alter über 18 Jahren ohne vorherige Kataraktoperation. Die Ausschlusskriterien waren Refraktionsfehler  $\geq 5,00$  Dioptrien sphärisches Äquivalent sowie  $>1,50$  Dioptrien Zylinder, gemessen mittels Autorefraktion (ARK-560A; Nidek, Gamagori, Japan). Außerdem eine vorangegangene intraokulare Operation, das Vorliegen einer Netzhauterkrankung, ein Glaukom oder relevante Erkrankungen des vorderen Augenabschnitts, die zu Medientrübungen führen. Wenn beide Augen die Einschlusskriterien erfüllten, wurde das rechte Auge eingeschlossen. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Bonn (Nr. 385/20) genehmigt und alle Studienverfahren entsprachen den Grundsätzen der Deklaration von Helsinki.

**Tabl. 1:** Aufteilung der ProbandInnen auf die Studienarme

ProbandInnen insgesamt	227
davon Frauen	46%
Altersspanne	19 – 89 Jahre
Durchschnittsalter	60 $\pm$ 17 Jahre
Bildgebungsmethoden:	
IR, BAF, GAF	227 ProbandInnen
Scheimpflug, LQAF	227 ProbandInnen
AC-OCT	90 ProbandInnen
QAF	130 ProbandInnen
davon zweizeitig untersucht	30 ProbandInnen

### 1.2.2 Protokoll der Bildgebung

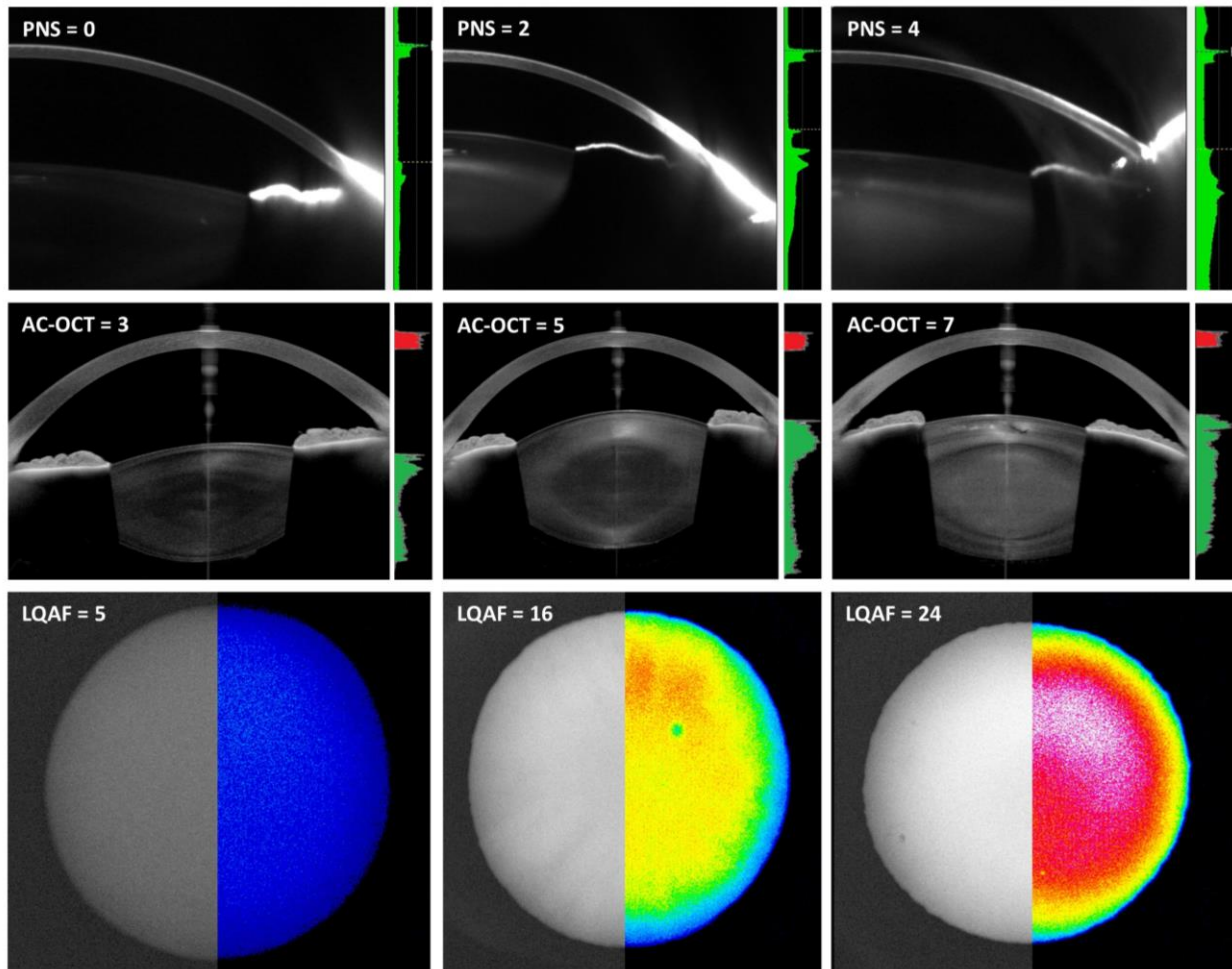
Bei den ProbandInnen, die eine routinemäßige Katarakt-Operation erhielten, wurde das Bildgebungsprotokoll zweimal erhoben. Einmal vor und dann zwei Wochen nach der OP. Die zweite Gruppe von NormalprobandInnen erhielt die Bildgebung nur einmal.

Nachdem die ProbandInnen klinisch auf ihre bestkorrigierte Sehschärfe (BCVA) untersucht wurden, wurde die Pupille des Studienauges mit 1 % Tropicamid und 2,5 % Phenylephrin dilatiert. Danach erfolgte die klinische Untersuchung an der Spaltlampe.

Anschließend begann die multimodale Bildgebung der Linse mit Scheimpflug-Aufnahmen (Pentacam, Oculus, Wetzlar, Deutschland). Dazu wurden 25 Einzelspaltbilder pro Scan (in Rotation von 0° bis 180° um das Auge, Schrittweite 10 µm) angefertigt (Pei et al., 2008). Darüber hinaus wurde die Linse mit einem Swept-Source AC-OCT (Anterior Cataract App, Anterior, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland) abgebildet (Domínguez-Vicent et al., 2016b). Zusätzlich wurde ein quantitatives Autofluoreszenzbild der Linse nach dem Studienprotokoll von Charng et al. (2017) aufgenommen. Dazu wurde der Fokus auf +45 Dioptrien eingestellt und es wurden 64 Bilder über 8 mm mit dem QAF-Modus (488 nm-Anregung; Laserleistung 100 %, Empfindlichkeit 67 %; 30°-Linse) erstellt.

Als Bildgebungsmodalitäten der Netzhaut wurden standardisierte Aufnahmen mit einer Kombination aus konfokaler Scanning-Laser-Ophthalmoskopie (cSLO) und optischer Kohärenztomographie im Spektralbereich (SD-OCT) durchgeführt (30° × 25°, ART 25, 121 B-Scans, Spectralis HRA-OCT 2, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland). Darüber hinaus wurden mit demselben Gerät blaue 30°-Fundus-Autofluoreszenz- (BAF; Anregung 488 nm, Emission 500 nm - 700 nm), grüne 30°-Fundus-Autofluoreszenz- (GAF; Anregung 518 nm, Emission 550-700 nm) sowie Infrarot-Aufnahmen (IR; Wellenlänge 815nm) angefertigt. Schließlich wurde noch ein QAF-Bild des Fundus erstellt. Für eine adäquate QAF-Bildgebung wurden die Photorezeptoren für mindestens 20 Sekunden gebleicht und anschließend 12 Einzelbilder akquiriert (Greenberg et al., 2013). Die Einzelbilder wurden dann auf ihre Qualität überprüft und mit Hilfe der internen Software zu einem durchschnittlichen QAF-Bild (aus mindestens 9 der 12 Einzelbilder) verrechnet. Insgesamt wurden drei QAF-Bilder nach kurzen Pausen aufgenommen. Das QAF-Gerät enthält eine interne Referenz, die während der Aufnahme gleichzeitig mit Licht

(Anregung 488 nm, Emission 500-750 nm; Bildgröße: 30° x 30°, 768 x 768 Pixel) angeregt und anschließend am oberen Bildrand abgebildet wird. Dadurch wird sichergestellt, dass die Laserleistung und die Empfindlichkeit der Kameraeinstellungen, die von Untersuchung zu Untersuchung oder von Person zu Person unterschiedlich sind, auf die interne Referenz normiert werden können (Kleefeldt et al., 2020).



**Abb. 1:** Die Abbildung demonstriert die multimodale Bildgebung der Linse an neun verschiedenen ProbandInnen. Die Spalten von links nach rechts zeigen Augen mit zunehmendem Grad an Linsentrübung und Autofluoreszenz. In der ersten Zeile sind Scheimpflug-Bilder von drei Augen mit PNS-Werten von 0, 2 und 4 dargestellt. Ein Diagramm auf der rechten Seite veranschaulicht die Reflexionsintensität der Hornhaut und der Linse, die von der Software des Herstellers bereitgestellt werden. Die mittlere Zeile zeigt AC-OCT-Bilder mit durchschnittlichen Reflexionswerten der Linse von 3, 5 bzw. 7. Das rechts abgebildete Diagramm skizziert die Berechnung des entwickelten AC-OCT-Trübungsscores: Nach der Normalisierung wird die Linsenreflexion (in Grün) mit der Hornhautreflexion (in Rot) verglichen. Die unterste Zeile demonstriert die LQAF-Intensitäten, die auf der rechten Seite farblich gekennzeichnet sind. Schwarz und Blau symbolisieren niedrige, Rot und Weiß hohe Werte.

### 1.2.3 Bildanalyse

#### 1.2.3.1 Quantitative Analyse der Autofluoreszenz

Der Pentacam Nucleus Staging (PNS)-Wert wurde durch die interne Scheimpflug-Analyse-Software (PNS und 3D-Katarakt-Analysepaket, Pentacam) ermittelt. Er liefert Informationen über den mittleren Linsendichtewert, die Standardabweichung und die maximale Kernlinsendichte und unterteilt den Grad der Katarakt auf einer Skala von 0-5 (genaue Formel nicht veröffentlicht). Die AC-OCT-Bilder wurden in ImageJ importiert und auf Werte zwischen null und eins normalisiert, wobei „weiß“ eins und „schwarz“ null entsprach. Anschließend wurde die relative Reflektivität der Linse im Vergleich zur Hornhaut für einen zentralen Bildabschnitt mit einem Durchmesser von etwa 800  $\mu\text{m}$  in axialer Richtung berechnet und extrahiert (von der Emde et al., 2024).

Die LQAF-Bilder wurden als Stapel von 64 Bitmap-Bildern (768  $\times$  850 Pixel) in ImageJ importiert und der LQAF-Wert wurde gemäß dem Studienprotokoll von Charng und Kollegen (2017) unter Verwendung der angegebenen Formel berechnet. Dazu wurde der Autofluoreszenzwert in einem 60  $\times$  60-Pixel-Bereich zentral der Linse gemessen und durch den Autofluoreszenzwert eines 200  $\times$  18-Pixel-Bereichs des internen Referenzbalkens geteilt.

Anschließend wurde das QAF-Bild der Netzhaut mit Hilfe von speziell entwickelten Fiji-Plugins analysiert, wie kürzlich beschrieben (Kleefeldt et al., 2020). Dazu wurde das OCT-Bild anhand von Gefäßverzweigungen mit dem QAF-Bild aligniert. Dies ermöglichte die exakte Ausrichtung vorgefertigter QAF-Analyseraster zur präzisen Messung der Autofluoreszenzintensitäten an vergleichbaren Lokalisationen zwischen den ProbandInnen. Schließlich wurde der Mittelwert des QAF8-Rings, der in der Perifovea bei 6 bis 8 Grad Exzentrizität lokalisiert ist, bestimmt und für die statistische Analyse extrahiert. Für die vorliegende Arbeit wurde der QAF8-Ring gewählt, da er für die Analyse der QAF-Intensität allgemein anerkannt ist (Burke et al., 2014; Gliem et al., 2016; Greenberg et al., 2013).

#### 1.2.3.2 Qualitative Analyse der Autofluoreszenz

Zur Analyse der Bildqualität wurden die drei Netzhautbilder BAF, GAF und IR exportiert und anschließend von zwei unabhängigen Gutachtern (Geena Rennen und Leon von der

Emde) auf einer Skala von 1 bis 10 (1 wahrgenommene geringe Bildqualität / 10 wahrgenommene hohe Bildqualität) bewertet. Die Kriterien für die Bewertung waren Schärfe (kleine Gefäße erkennbar), Symmetrie (oberer und unterer / linker und rechter Teil des Bildes gleichmäßig ausgeleuchtet), Ausleuchtung (ausreichende Bildausleuchtung ohne Überbelichtung), Zoom (Bildausleuchtung einschließlich der Ränder des Bildes) und Zentrierung (zentrale Abbildung der Fovea und des Sehnervenkopfes). Abschließend wurde der Mittelwert aus den Punktwerten (Mean opinion score; MOS) gebildet.

#### 1.2.4 Statistische Analyse

##### 1.2.4.1 Quantitative Analyse der Autofluoreszenz

Bei der Untergruppe der ProbandInnen, die sich einer Kataraktoperation unterzogen, wurde eine LASSO-Regression (Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) mit Rückwärtsselektion durchgeführt, um festzustellen, welcher Linsen-Wert, LQAF, PNS oder AC-OCT, den QAF-Wert nach der Linsenextraktion am besten vorhersagt (Hastie et al., 2001). Die Prädiktoren wurden normalisiert und der Regulationsparameter wurde durch Leave-One-Out-Kreuzvalidierung mit 100 verschiedenen Parametern bestimmt. Zusätzlich wurden der mittlere absolute Fehler (MAE) und die Standardabweichung (SD) des alterskorrigierten QAF-Wertes vor der Operation mit dem QAF-Wert nach der Operation (ohne Korrektur) als Referenz für die Genauigkeit des aktuellen Ansatzes berechnet. Schließlich wurde ein Spline-Modell angewandt, um den Einfluss von LQAF und PNS auf den QAF-Wert in einer großen Kohorte zu quantifizieren. Das Modell bestand aus einem Spline, der den Anstieg der QAF in Abhängigkeit vom Alter zeigt, kombiniert mit zwei Interaktionssplines, die einen Verbesserungsterm des Alters entsprechend dem LQAF/PNS-Wert bilden.

##### 1.2.4.2 Qualitative Analyse der Autofluoreszenz

Für die Analyse der retinalen Bildqualität der Bildgebungsmodalitäten IR, BAF und GAF wurde ein neuronales Netzwerk (NN) mit drei Faltungsschichten und Max-Pooling sowie einem vollständig verbundenen Regressionskopf im TensorFlow Framework (TensorFlow 2.2, Google Brain) für Python implementiert. Das NN wurde trainiert, um die Bildqualität in Bezug auf die Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme (RMSE) zu regressieren, und

mit 5-facher Kreuzvalidierung bewertet. Die Details der Netzwerkarchitektur und der Trainingshyperparameter sind in Abbildung 4 (Veröffentlichung 2) zu finden. Um den Zusammenhang zwischen der retinalen Bildqualität und den Linsen-Bildgebungsmodalitäten LQAF, PNS und AC-OCT zu bewerten, wurde eine Korrelationsanalyse in der Programmiersprache R (Version 4.3), aufgetrennt nach der Bewertung der Gutachter und der Validierungsergebnisse des NN, durchgeführt. Die Korrelationswerte wurden mit ihren jeweiligen Konfidenzintervallen versehen, mit einem Signifikanzniveau von 0,05.

### 1.3 Ergebnisse

#### 1.3.1 Beschreibung der Kohorte

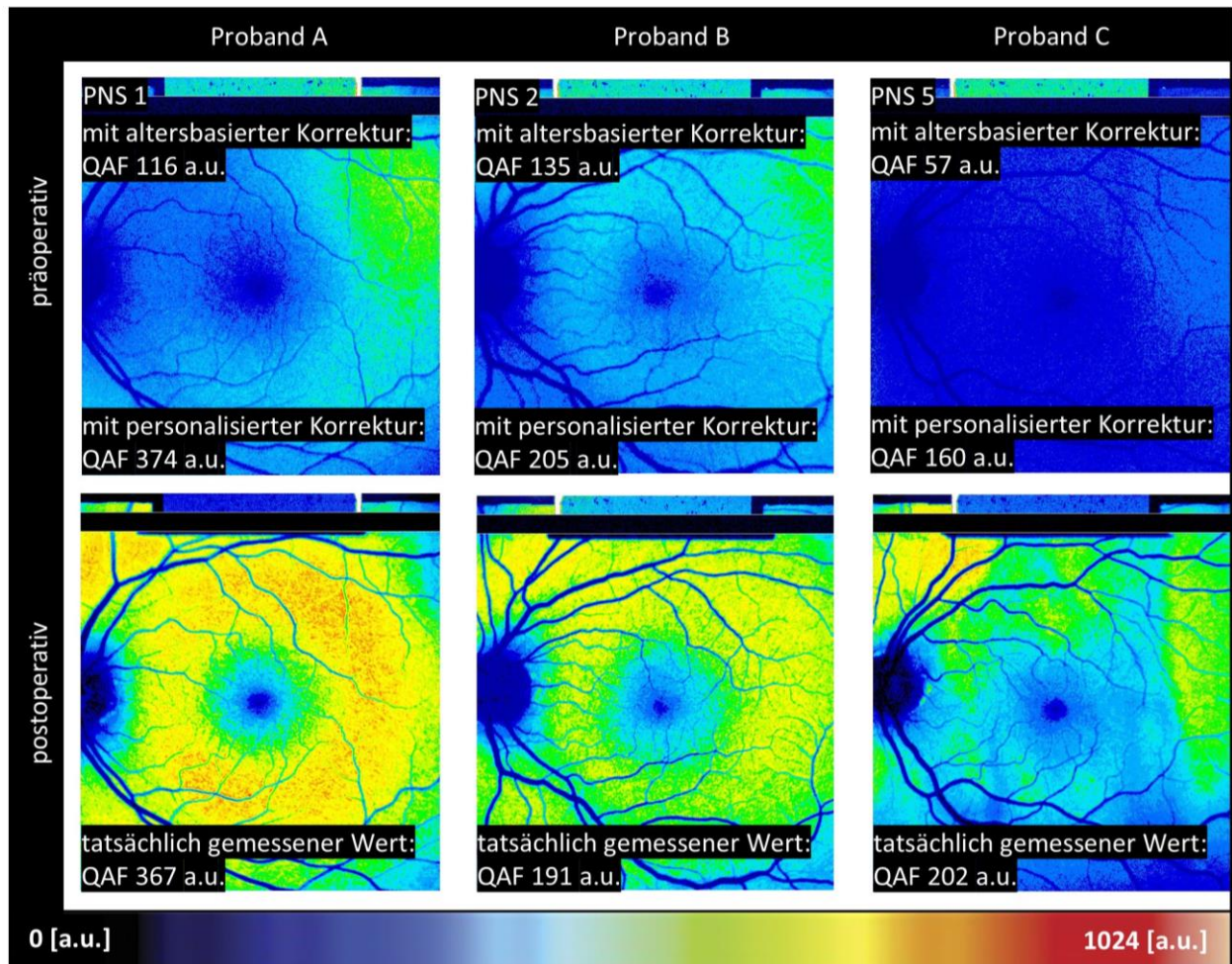
Es wurden 227 gesunde Augen von 227 ProbandInnen, davon 46 % Frauen, in die Studie aufgenommen (Durchschnittsalter  $60 \pm 17$  Jahre [Spanne 19 – 89 Jahre]). Eine Untergruppe von 130 ProbandInnen erhielt zusätzlich eine QAF-Bildgebung. Aus diesen wurde von dreißig ProbandInnen, bei denen routinemäßig eine Kataraktoperation durchgeführt wurde, QAF-Aufnahmen sowohl vor als auch mindestens zwei Wochen nach der Operation angefertigt. Die AC-OCT-Bildgebung wurde zudem aufgrund der Verfügbarkeit des Bildgebungsgeräts nur bei einer Untergruppe von 90 ProbandInnen durchgeführt.

#### 1.3.2 Quantitative Analyse der Autofluoreszenz

##### 1.3.2.1 Evaluation des aktuellen altersabhängigen Korrekturfaktor

Um die Genauigkeit des derzeit angewandten altersbasierten Korrekturfaktors zu bestimmen, wurden die QAF-Werte vor und nach der Linsenextraktion bei Kataraktoperierten verglichen. Dabei wurde der gemessene QAF-Wert vor OP mit Alterskorrektur dem tatsächlich gemessenen QAF-Wert nach OP ohne Alterskorrektur gegenübergestellt. Wenn die Formel von Delori et al. (2013) den Einfluss der Linse auf die QAF korrekt wiedergibt, sollte der Unterschied zwischen den beiden Messungen minimal sein. Die Ergebnisse zeigten eine Genauigkeit von 96,1 QAF a. u. für den MAE

und eine SD von 93,5 QAF a. u. für den aktuell verwendeten altersbasierten Korrekturfaktor (Abbildung 2) (Greenberg et al., 2013).



**Abb. 2:** Die Abbildung zeigt QAF-Bilder vor und nach der Kataraktoperation von drei verschiedenen ProbandInnen mit unterschiedlich starker Linsen­trübung. Es wurden folgende ProbandInnen verglichen: (A) eine 56-jährige Frau, (B) ein 45-jähriger Mann und (C) eine 57-jährige Frau. Nach der Operation wurden die tatsächlichen QAF-Werte der Netzhaut bestimmt und mit der altersabhängigen Schätzung des QAF-Wertes vor der Operation unter dem Einfluss der getrübbten Linse verglichen. Eine Alterskorrektur der Linse ist in den nach der Operation aufgenommenen Bildern nicht notwendig, da die eingesetzte Kunstlinse trübungsfrei ist.

### 1.3.2.2 Einführung von Linsen-Metriken zur QAF-Korrektur

Um die Präzision der Linsenkorrektur weiter zu steigern, wurde untersucht, anhand welcher Linsen-Metriken sich der Einfluss der Linse auf die QAF am besten bestimmen lässt. Die LASSO-Regression wählte dabei zuerst das Alter und dann die LQAF-Messungen als die wichtigsten Variablen zur Vorhersage der QAF-Unterschiede vor und nach der Kataraktoperation aus. Sowohl die AC-OCT-Messungen als auch die PNS



wurden hingegen durch Rückwärtsselektion eliminiert. Die Ergebnisse für die Linsenwerte LQAF, PNS und AC-OCT lagen bei einem Mittelwert  $\pm$  SD [95 % Konfidenzintervall])  $15,90 \pm 6,65$  [2,59 - 28,88],  $1,53 \pm 1,18$  und  $4,26 \pm 1,03$  [2,11 - 6,81] a. u.. Eine Zunahme von sowohl PNS als auch LQAF waren dabei mit einer Abnahme der QAF-Werte verbunden (Abbildung 3, Veröffentlichung 1). Das gemischte Spline-Modell zeigte eine Vorhersagegenauigkeit von 32,2 QAF a. u. für den MAE und eine SD von 23,4 QAF a. u.. Im Vergleich zur altersbasierten Methode konnte die Hinzunahme von Linsenwerten für die QAF-Vorhersage den gemessenen Vorhersagefehler deutlich reduzieren. Beide Parameter, LQAF und PNS, waren für das Spline-Modell signifikant, mit  $p < 0,01$  (Tabelle 2, Veröffentlichung 1). Dies deutet auf eine signifikante Wechselwirkung zwischen dem Alter und LQAF/PNS auf die QAF-Messungen hin.

### 1.3.3 Qualitative Analyse der Autofluoreszenz

#### 1.3.3.1 Evaluation der Netzhautbildqualität und Korrelation mit Linsen-Metriken

Die retinale Bildqualität zeigte bei allen drei Bildgebungsmodalitäten, IR, BAF und GAF, ein hohes Niveau mit einer durchschnittlichen Bewertung von 8 oder höher für die meisten Kriterien (Abbildung 2, Veröffentlichung 2). Die IR-Bildgebung hatte die höchsten Mittelwerte für alle fünf Bewertungskriterien, gefolgt von GAF und BAF (Tabelle 2, Veröffentlichung 2). Die Kriterien Zoom und Zentrierung erzielten die höchsten Werte. Das Kriterium Fokussierung ergab niedrigere Werte: IR  $8,38 \pm 1,39$ , BAF  $7,03 \pm 2,29$  und GAF  $7,28 \pm 2,29$  (MAE  $\pm$  SD). Der Mittelwert der Beleuchtungsstärke  $\pm$  SD für IR betrug  $8,23 \pm 1,42$ , für BAF  $7 \pm 2,26$  und für GAF  $7,16 \pm 2,73$ .

Insgesamt zeigte die LQAF für alle drei Bildgebungsmodalitäten die höchste Korrelation mit den Kriterien für die Einstufung der Bildqualität, mit einem Pearson-Korrelationskoeffizienten von -0,13 bis -0,3 (Tabelle 3, Veröffentlichung 2), gefolgt von PNS und AC-OCT. Der Fokus korrelierte am stärksten mit den Linsenwerten und erwies sich für alle Netzhautmodalitäten als statistisch signifikant (z. B. -0,35 [-0,50, -0,18] für BAF/LQAF). Die BAF-Bildqualität wies die größte Anfälligkeit für einen Anstieg der Linsentrübung auf, insbesondere für die Kriterien Ausleuchtung, Symmetrie und Fokus. Im Gegensatz dazu zeigte die Infrarotbildgebung die höchste Widerstandsfähigkeit gegenüber lentikulärer Alterung, wobei nur der Fokus (z. B. PNS/Fokus -0,28) bei der



menschlichen Bewertung statistisch signifikant war. In Korrelationsanalysen mit Linsenwerten (z. B. Symmetrie/AC-OCT:  $H=0,15$   $[-0,41, 0,12]$ ; NN  $0,15$   $[-0,12, 0,40]$ ) ergaben das NN- und die Bewertung durch Untersucher ähnliche Ergebnisse.

#### 1.3.3.2 Implementierung eines neuronalen Netzwerks zur Vorhersage der Bildqualität

Die Vorhersage der Bildqualitätskriterien nach Implementierung des NN lieferte hervorragende Ergebnisse mit einem durchschnittlichen MAE von 0,9 (RMSE von 1,3; Abbildung 3, Veröffentlichung 2). Dabei konnte die Vorhersagequalität des Modells die des Nullmodells (MAE 1,1, RMSE 1,6) übertreffen. Für die fünf verschiedenen Kriterien erzielte das vorliegende Modell (MAE/RMSE) jeweils (0,9/1,2) für den Fokus, (0,8/1,1) für die Beleuchtung, (1,0/1,4) für die Zentrierung, (1,1/1,4) für die Symmetrie und (0,7/1,3) für den Zoom. Die Vorhersagen wichen bei allen fünf Kriterien nicht signifikant von der Bewertung durch Untersucher ab. Es sollte berücksichtigt werden, dass der Datensatz insbesondere für die Kriterien Zoom und Zentrierung in Richtung höherer Bildqualitätseinstufungen verzerrt war und bei Bildern mit stark reduzierter Bildqualität möglicherweise nicht so präzise ist.

### 1.4 Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Dissertation zeigen, dass Linsenwerte wie LQAF, PNS und AC-OCT verwendet werden können, um den Einfluss der Linse auf die retinale Autofluoreszenz-Bildgebung sowohl qualitativ als auch quantitativ zu beschreiben. Im Vergleich der verschiedenen retinalen Bildgebungsmethoden IR, BAF und GAF konnte herausgestellt werden, dass es signifikante Unterschiede in der Beeinträchtigung durch die Linse je nach verwendetem Licht gibt, da kurzwelliges Licht am stärksten durch die Linsentrübung beeinflusst wird (Artigas et al., 2012). Dementsprechend war die Qualität der BAF am anfälligsten für steigende Linsentrübungswerte, insbesondere für die Kriterien Fokus, Symmetrie und Ausleuchtung. Die IR-Bildgebung zeigte hingegen eine größere Widerstandsfähigkeit gegenüber lenticulärer Alterung. Bei der Evaluation der drei Linsen-Metriken zeigten die LQAF-, gefolgt von PNS- und AC-OCT-Messungen, die höchste Korrelation mit den Bewertungskriterien bei allen drei Bildgebungsmodalitäten. Auch in der quantitativen Analyse des Einflusses der Linse auf die QAF stellte sich die

LQAF-Messung gegenüber PNS und AC-OCT als die wichtigste Variable heraus. Die vorliegenden Untersuchungen deuten darauf hin, dass die Linsentrübung und nicht die intrinsische Linsen-Autofluoreszenz der treibende Faktor für den Einfluss der Linse auf die QAF-Bildgebung ist, welches durch den negativen Zusammenhang der Linsenwerte PNS/LQAF zu den QAF-Werten deutlich wurde. Eine genauere Analyse des lentikulären Einflusses könnte die Interpretation der Autofluoreszenz-Bildgebung zukünftig verbessern.

In Übereinstimmung mit früheren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Alterung der Linse von Person zu Person stark variiert (Berlin et al., 2022; Charng et al., 2017). Dies wird auch eindrücklich in Abbildung 2 (A und C) verdeutlicht, in der die beiden beinahe gleich alten Probandinnen stark abweichende Linsentrübungswerte aufweisen. Es wurden verschiedene genetische und umweltbedingte Faktoren beschrieben, die interindividuelle Unterschiede bei der Entwicklung der Katarakte verursachen können (Hashemi et al., 2020). Die Hauptfaktoren in der vorliegenden Kohorte gesunder ProbandInnen ohne Vorgeschichte einer Augenerkrankung sind höchstwahrscheinlich Rauchen, genetische Faktoren und die Sonnenexposition. Als Hauptursache für die Linsentrübung wird die Aggregation von Linsen kristallinen angesehen (Petrash, 2013). Durch zunehmenden Einfluss von oxidativem Stress auf die alternde Linse bilden sich abnormale, vernetzte  $\alpha$ -Kristalline, die zu einer nukleären Katarakt führen (Petrash, 2013). Die Aggregate bewirken eine Diskontinuität in der Brechkraft der Linse und verursachen eine Lichtstreuung, einen Verlust der Lichtdurchlässigkeit zur Netzhaut sowie eine erhöhte spektrale Absorption, insbesondere für kurzwelliges blaues Licht (Artigas et al., 2012; Petrash, 2013). Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen die Vulnerabilität der BAF für steigende Linsentrübungswerte gegenüber den resilienteren Bildgebungsmethoden IR und GAF. Neben der Trübung reichern sich mit zunehmendem Alter auch Fluorophore (z. B. 3-OH-I-Kynurenin-O- $\beta$ -Glucosid) in der Linse an, die theoretisch einen additiven Effekt auf retinale Autofluoreszenzbilder haben könnten (Yappert et al., 1992; Yu et al., 1989). Die im Rahmen dieser Arbeit erzielten Ergebnisse zeigen jedoch einen generellen Anstieg der QAF-Werte nach Linsenextraktion, da die Linsentrübung vermutlich mehr zur Lichtblockade beiträgt als zur Verstärkung des retinalen Autofluoreszenzsignals (Reiter et al., 2021). In Übereinstimmung dazu haben Reiter et al. (2021) kürzlich eine Korrelation

zwischen dem Schweregrad der Linsentrübung vor der Operation und dem Anstieg der QAF nach der Operation beschrieben. Die Ergebnisse waren nur für die kortikale Katarakt signifikant, zeigten aber auch für eine nukleäre Katarakt einen Trend zum Anstieg der QAF nach der Operation (Reiter et al., 2021). Ob die LQAF ein alleiniger Surrogat-Marker für die Linseneintrübung ist oder ob die intrinsische Linsen-Autofluoreszenz bei der QAF-Bildgebung eine Rolle spielt, muss noch ermittelt werden.

In Anbetracht der Bildgebungsmodalitäten, die in dieser Studie verwendet wurden, gibt es je nach Katarakttyp, nukleär, kortikal oder subkapsulär-posterior, Unterschiede in der Genauigkeit. Der Pentacam Nucleus Grading Score, der ein dreidimensionales Bild der gesamten Linse verwendet, eignet sich möglicherweise am besten dazu, alle drei Katarakttypen darzustellen (Pei et al., 2008). Für die LQAF-Messung wurde ein 60 x 60 Pixel großes Quadrat zentral des Bildstapels der Linse verwendet (Charng et al., 2017). Dadurch werden periphere Trübungen, die typisch für eine kortikale Katarakt sind, möglicherweise nicht abgebildet. Die Methode könnte zukünftig durch eine Variation der Flächengröße, in der die dreidimensionalen lentikulären Autofluoreszenz-Daten erhoben werden, weiter präzisiert werden (Charng et al., 2017). Im AC-OCT-Bild wurde die Linsendichte ebenfalls in einem zentralen Abschnitt axial zur Hornhaut gemessen. Dadurch wurde nur ein kleiner Teil der Linse in die Berechnung einbezogen. Die Methode wurde dennoch gemäß der vertretenen Hypothese gewählt, dass die peripheren Teile der Linse nicht zum QAF-Bild beitragen, da bei der QAF-Bildgebung konfokale Abtastlaser verwendet werden, die sich in einer konjugierten Ebene mit der zentralen Lochblende befinden. Diese Theorie wird auch durch Abbildung 2 (Veröffentlichung 1) gestützt, in der unterschiedliche Linsentrübungsmuster dargestellt werden, die sich jedoch nicht auf dem Netzhautbild abzeichnen, sondern zu einer gleichmäßig über das gesamte Bild herabgesetzten Qualität führen.

Zur Identifikation der wichtigsten Bereiche der Linsentrübung und einer Verbesserung der Vorhersageleistung hätten alternative Ansätze von Vorteil sein können. Anstelle der Reduktion komplexer Bilder auf einfache numerische Linsenwerte hätte ein Deep-Learning-Ansatz verwendet werden können, um die Bildgebungsverfahren LQAF, AC-OCT und PNS in ihrer rohen, hochdimensionalen Form zu analysieren. Bei der Bewertung der Auswirkungen der Linsentrübung auf die retinale Bildgebung verwendeten Mauschitz

et al. (2017) die Rohwerte der Densitometrie der Scheimpflug-Bildgebung anstelle des PNS. Rohwerte könnten auch bei der Korrelation der Bildqualität besser abschneiden als ordinal skalierte Werte. Da die derzeitigen Linsenmodalitäten mit frei zugänglicher Software leicht reproduziert werden können, wäre die Verwendung eines Deep-Learning-Ansatzes jedoch auf Kosten der Anwendbarkeit gegangen.

Um eine einfache Anwendung der im Rahmen dieser Studie erfolgten Linsenkorrektur zur Interpretation des QAF-Wertes zu ermöglichen, wäre es wünschenswert, sie direkt in die angewandte Bildgebungssoftware zu integrieren. Der PNS verspricht dafür eine einfache und zeitsparende Anwendung, da die Bildaufnahme nur wenige Sekunden dauert und der Grad der Linsentrübung sofort intern angezeigt wird, ohne dass er separat berechnet werden muss (Pei et al., 2008). Im Gegensatz dazu erfordern LQAF- und AC-OCT-Aufnahmen derzeit eine Nachbearbeitung. Ein Lösungsansatz dafür könnten angepasste Fiji-Plugins sein, die eine automatische Berechnung ermöglichen (Schindelin et al., 2012). Die Verwendung von Deep-Learning-Methoden zur Schätzung der Linsentrübung auf der Grundlage der Bildqualität des Netzhautbildes wäre ein weiterer vielversprechender Ansatz. Auf diese Weise wäre für die Bestimmung des Linsenwerts nur ein QAF-Bild der Netzhaut erforderlich (Abdul-Rahman et al., 2008; Xiong et al., 2017).

Indem der entwickelte Linsenkorrekturfaktor in Bezug auf die Reliabilität der QAF-Bildgebung gesetzt wird, kann eine Bewertung der Prognosefähigkeit durchgeführt werden. Der Intraclass-Korrelationskoeffizient (ICC) liegt zwischen 0,76 und 0,93 für die Variabilität der QAF-Messungen zwischen zwei Messzeitpunkten (Dhooge et al., 2023; Reiter et al., 2019). Dementsprechend ist die erreichbare Genauigkeit des vorliegenden QAF-Vorhersagemodells begrenzt. Derzeit konnte mit diesem Modell eine erklärte Abweichung von 36,3 % erreicht werden. Dabei sollte beachtet werden, dass der vorliegende Korrekturfaktor vor allem an ProbandInnen mit stärkerer Linsentrübung, die eine Kataraktoperation benötigten, angewandt wurde. In einer Kohorte, in der nur geringfügige Linsentrübungen vorliegen, wäre die Vorhersagekraft wahrscheinlich geringer. Die Präzision des aktuellen altersbasierten Korrekturfaktors wurde ebenfalls nur bei ProbandInnen mit fortgeschrittener Katarakt untersucht. Es ist möglich, dass der altersbasierte Korrekturfaktor in einer breiteren Patientenkohorte genauer ist. Dies kann jedoch aus ethischen Gründen nicht untersucht werden, da es eine medizinisch nicht

indizierte Kataraktextraktion bei ProbandInnen mit nur leichten Linsentrübungen erfordern würde.

Das vorliegende Modell zur automatisierten Bewertung der Bildqualität, basierend auf den Wertungen der Gutachter, konnte hervorragende Ergebnisse erzielen. Derzeit bestehende Methoden zur automatisierten Bildqualitätsauswertung sind der Material-Gewebe-Kontrastindex, das Signal-Rausch-Verhältnis und das Verhältnis der Detail Anzahl (Abdel-Hamid et al., 2016; Anam et al., 2022; Ohashi et al., 2023). Im Gegensatz zu der vorliegenden Methode können diese automatisierten Bewertungen die subtilen Bildgebungsmerkmale, die bei Gutachtern bereits zu Punktabzügen der Qualitätskriterien führen, eventuell nicht erfassen (Wang et al., 2002). Da die NN-Bewertung auf den MOS trainiert ist, kann sie sich als empfindlicher gegenüber Schwankungen in der Bildqualität erweisen, die die Bewertung durch Menschen beeinflussen. Das entwickelte Modell muss jedoch weiter trainiert und an ProbandInnen mit Netzhautpathologien verifiziert werden, damit es für die Routineversorgung geeignet ist. Dabei können hochauflösende Bildgebungsmethoden wie das kürzlich untersuchte High-Resolution OCT dazu beitragen, Netzhautschichten zuverlässiger zu differenzieren und dort vorhandene Netzhautpathologien für das NN sichtbar zu machen (von der Emde et al., 2023). Wünschenswert wäre eine Bildqualitätsbewertung, die zwischen pathologischen Bildveränderungen der Netzhaut und solchen, die auf präretinale Einflüsse oder schlechte Handhabung zurückzuführen sind, unterscheiden kann. Dies könnte durch das entwickelte NN umgesetzt werden, indem ProbandInnen mit retinalen Bildveränderungen aufgrund von präretinaler Absorption herausgefiltert werden.

Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Studie lassen sich Grenzwerte für die lentikuläre Autofluoreszenz und Trübung zur Auswahl von ProbandInnen in klinischen Studien ableiten. Die Anforderungen an die Bildqualität unterscheiden sich je nach durchgeführter Analyse (Bindewald-Wittich et al., 2023; Kleefeldt et al., 2020; von der Emde et al., 2019). Für die quantitative Autofluoreszenzanalyse ist ein MOS/NN MOS von 7 oder höher empfehlenswert (Abbildung 2, Veröffentlichung 2). Ein MOS/NN MOS von 5-6 könnte für eine rein qualitative Analyse noch akzeptabel sein.

Die Stärken dieser Studie sind die umfangreiche multimodale Bildgebung der Linse und Netzhaut, sowie die umfangreiche PatientInnenstichprobe, die Personen aller Altersgruppen und Kataraktschweregrade umfasst. Darüber hinaus gewährleistet die ausschließliche Anwendung derselben Art von klaren, intraokularen Linsen bei allen PatientInnen, dass keine Abweichungen auftreten, die vom Implantat selbst verursacht werden. Außerdem wurden in der Studie sowohl qualitative (MOS) als auch quantitative Messungen der retinalen Bildqualität vorgenommen, was eine robustere Bewertung ermöglicht.

Zu den Einschränkungen dieser Studie gehört die relativ geringe Anzahl von Kontrollen ( $n = 30$ ) mit QAF-Daten mit und ohne natürliche Linse. Außerdem konnten, wie bereits erwähnt, nur ProbandInnen mit schwerer Katarakt in diese Kohorte aufgenommen werden. Die Hinzunahme von ProbandInnen mit Netzhautpathologien hätte eine robustere Bewertung der Bildqualität ermöglichen können. Schließlich hätten alternative Linsen-Metriken und Bewertungsmethoden die Ergebnisse verbessern können.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Einführung von Linsen-Werten zu einer genaueren Quantifizierung der linsenbedingten Einflüsse auf die retinale Autofluoreszenz-Bildgebung führen könnte. Dies zeigt sich sowohl in einer genaueren Quantifizierung der Autofluoreszenz bei der QAF-Bildgebung als auch bei der Abschätzung der Bildqualitäts-Abnahme der retinalen Bildgebungsmodalitäten IR, BAF und GAF mit zunehmender Linsenalterung. Insbesondere bei Längsschnittstudien mit kurzweiliger Autofluoreszenz kann das Wissen um die Linsenalterung und ihre Auswirkungen auf die Bildqualität für die PatientInnenauswahl bedeutend sein. Zudem ermöglicht die Anwendung von Linsen-Werten zur Abschätzung des lentikulären Einflusses auf die Autofluoreszenz-Bildgebung, auch ältere, phake PatientInnen in zukünftige Studien einzubeziehen.

## 1.5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Dissertation wurde der Einfluss von lentikulärer Autofluoreszenz und Trübung auf die Autofluoreszenz-Bildgebung der Netzhaut anhand von verschiedenen Linsen-Metriken untersucht. In die Studie wurden 227 gesunde Augen von 227 ProbandInnen, darunter 46 % Frauen, aufgenommen (Durchschnittsalter  $60 \pm 17$  Jahre

[Spanne 19 bis 89 Jahre]). Die Untersuchungen beinhalteten die multimodale Bildgebung der Linse mit Scheimpflug, Vorderabschnitts-optische-Kohärenztomographie und Quantitative Autofluoreszenz-Aufnahmen der Linse sowie Standardaufnahmen der Retina mit einer Kombination aus konfokaler Scanning-Laser-Ophthalmoskopie und optischer Kohärenztomographie im Spektralbereich. Zusätzlich wurden Infrarotbilder, blaue und grüne Autofluoreszenz-Aufnahmen des Fundus, sowie Quantitative Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen bei einer Untergruppe von 130 ProbandInnen angefertigt. Bei einer Untergruppe von ProbandInnen ( $n = 30$ ), die eine routinemäßige Katarakt-Operation erhielten, wurde das Bildprotokoll sowohl davor als auch mindestens zwei Wochen nach OP erneut durchgeführt. Anhand einer Regression der kleinsten absoluten Reduktion und Selektionsoperator wurden das Alter und die Quantitative Autofluoreszenz-Aufnahme der Linse als die wichtigsten Linsen-Metriken zur Vorhersage der Quantitativen Fundusautofluoreszenz nach Kataraktoperation ausgewählt. Das entwickelte Vorhersagemodell konnte eine Genauigkeit von 32,2 a. u. mit einer Standardabweichung von  $\pm 23,4$  a. u. erreichen und im Vergleich zur altersbasierten Methode durch die Hinzunahme von Linsenwerten den gemessenen Vorhersagefehler deutlich reduzieren. Zur Analyse der Netzhautbildqualität wurden die Infrarotbild-Aufnahmen sowie die blauen und grünen Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen von zwei unabhängigen Untersuchern bewertet und ein faltungsneuronales Netzwerk implementiert. Die Qualität der blauen Fundusautofluoreszenz-Aufnahmen zeigte dabei die höchste Anfälligkeit für steigende Linsentrübungswerte, wohingegen die Infrarot-Bildgebung eine größere Widerstandsfähigkeit erwies. Um den Zusammenhang zwischen der Bildqualität und den Linsen-Metriken zu ermitteln, wurde eine Korrelationsanalyse in der Programmiersprache R, aufgetrennt für die Bewertung der Untersucher und den Validierungsergebnissen des neuronalen Netzwerkmodells, durchgeführt. Insgesamt zeigte die Quantitative Autofluoreszenz der Linse für alle drei Bildgebungsmodalitäten die höchste Korrelation mit den Bildbewertungskriterien, mit einem Pearson-Korrelationskoeffizienten von -0,13 bis -0,3 gefolgt vom Scheimpflug der Linse und der Vorderabschnitts-optischen-Kohärenztomographie. In Korrelationsanalysen mit Linsenwerten ergaben das Neuronale Netzwerk und die Bewertung durch Menschen ähnliche Ergebnisse. Die zukünftige Anwendung von Linsen-Metriken in der Klinik könnte zu einer Verbesserung der Genauigkeit der Autofluoreszenz-Bildinterpretation führen.

## 1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung

Ach T, Huisinigh C, McGwin G, Messinger JD, Zhang T, Bentley MJ, Gutierrez DB, Ablonczy Z, Theodore-Smith R, Sloan KR, Curcio CA. Quantitative autofluorescence and cell density maps of the human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 14-14802

Ach T, Tolstik E, Messinger JD, Zarubina AV, Heintzmann R, Curcio CA. Lipofuscin redistribution and loss accompanied by cytoskeletal stress in retinal pigment epithelium of eyes with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 3242–3252

Artigas JM, Felipe A, Navea A, Fandiño A, Artigas C. Spectral transmission of the human crystalline lens in adult and elderly persons: Color and total transmission of visible light. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 4076–4084

Bencić G, Zorić-Geber M, Sarić D, Corak M, Mandić Z. Clinical importance of the lens opacities classification system III (LOCS III) in phacoemulsification. *Coll Antropol* 2005; 29: 91-94

Berlin A, Clark ME, Swain TA, Fischer NA, McGwin G, Sloan KR, Owsley C, Curcio CA. Impact of the Aging Lens and Posterior Capsular Opacification on Quantitative Autofluorescence Imaging in Age-Related Macular Degeneration. *Transl Vis Sci Technol* 2022; 11: 23-23

Bermond K, Wobbe C, Tarau IS, Heintzmann R, Hillenkamp J, Curcio CA, Sloan KR, Ach T. Autofluorescent Granules of the Human Retinal Pigment Epithelium: Phenotypes, Intracellular Distribution, and Age-Related Topography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020; 61: 35–35

Bittencourt MG, Hassan M, Halim MS, Afridi R, Nguyen NV, Plaza C, Tran ANT, Ahmed MI, Nguyen QD, Sepah YJ. Blue light versus green light fundus autofluorescence in normal subjects and in patients with retinochoroidopathy secondary to retinal and uveitic diseases. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2019; 9: 1-9

Bron AJ, Vrensen GFJM, Koretz J, Maraini G, Harding JJ. The ageing lens. *Ophthalmologica* 2000; 214: 86–104



Burke TR, Duncker T, Woods RL, Greenberg JP, Zernant J, Tsang SH, Theodore-Smith R, Allikmets R, Sparrow JR, Delori FC. Quantitative fundus autofluorescence in recessive Stargardt disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 2841–2852

Charng J, Tan R, Luu CD, Sadigh S, Stambolian D, Guymer RH, Jacobson SG, Cideciyan AV. Imaging lenticular autofluorescence in older subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58: 4940-4947

Delori FC, Goger DG, Hammond BR, Snodderly DM, Burns SA. Macular pigment density measured by autofluorescence spectrometry: comparison with reflectometry and heterochromatic flicker photometry. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2001; 18: 1212-1230

Dhooge PPA, Möller PT, Meland N, Stingl K, Boon CJF, Lotery AJ, Parodi MB, Herrmann P, Klein W, Fsadni MG, Wheeler-Schilling TH, Holz FG, Hoyng CB, Schmitz-Valckenberg S. Repeatability of Quantitative Autofluorescence Imaging in a Multicenter Study Involving Patients With Recessive Stargardt Disease 1. *Transl Vis Sci Technol* 2023; 12: 1-1

Domínguez-Vicent A, Birkeldh U, Carl-Gustaf L, Nilson M, Brautaset R. Objective assessment of nuclear and cortical cataracts through scheimpflug images: Agreement with the LOCS III scale. *PLoS ONE* 2016a; 11: e0152953

Domínguez-Vicent A, Trussardi C, Wogatai U, Montés-Micó R, Brautaset R. Precision of High-Resolution OCT for Anterior Chamber Measurement: Agreement With Scheimpflug Imaging. *J Refract Surg* 2016b; 32: 766–772

Fleckenstein M, Keenan TDL, Guymer RH, Chakravarthy U, Schmitz-Valckenberg S, Klaver CC, Wong WT, Chew EY. Age-related macular degeneration. *Nat Rev Dis Primers* 2021; 7: 31-31

Gliem M, Müller PL, Finger RP, McGuinness MB, Holz FG, Issa PC. Quantitative fundus autofluorescence in early and intermediate age-related macular degeneration. *JAMA Ophthalmol* 2016; 134: 817–824

Greenberg JP, Duncker T, Woods RL, Smith RT, Sparrow JR, Delori FC. Quantitative fundus autofluorescence in healthy eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 5684–5693

Hashemi H, Pakzad R, Yekta A, Aghamirsalim M, Pakbin M, Ramin S, Khabazkhoob M. Global and regional prevalence of age-related cataract: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Eye (Lond)* 2020; 34: 1357–1370

Hastie T, Friedman J, Tibshirani R. *The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction*. New York: Springer, 2009

Van Best JA, Kuppens EV. Summary of studies on the blue-green autofluorescence and light transmission of the ocular lens. *J Biomed Opt* 1996; 1: 243-250

Kleefeldt N, Bermond K, Tarau IS, Hillenkamp J, Berlin A, Sloan KR, Ach T. Quantitative fundus autofluorescence: Advanced analysis tools. *Transl Vis Sci Technol* 2020; 9: 2-2

Mauschitz MM, Roth F, Holz FG, Breteler MMB, Finger RP. The Impact of Lens Opacity on SD-OCT Retinal Nerve Fiber Layer and Bruch's Membrane Opening Measurements Using the Anatomical Positioning System (APS). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58: 2804–2809

Müller PL, Pfau M, Mauschitz MM, Möller PT, Birtel J, Chang P, Gliem M, Schmitz-Valckenberg S, Fleckenstein M, Holz FG, Herrmann P. Comparison of Green Versus Blue Fundus Autofluorescence in ABCA4-Related Retinopathy. *Transl Vis Sci Technol* 2018; 7: 13-13

Orellana-Rios J, Yokoyama S, Agee JM, Challa N, Bailey-Freund K, Yannuzzi LA, Theodore-Smith R. Quantitative Fundus Autofluorescence in Non-Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 2018; 49: 34–42

Pei X, Bao Y, Chen Y, Li X. Correlation of lens density measured using the Pentacam Scheimpflug system with the Lens Opacities Classification System III grading score and visual acuity in age-related nuclear cataract. *Br J Ophthalmol* 2008; 92: 1471–1475

Petrash JM. Aging and Age-Related Diseases of the Ocular Lens and Vitreous Body. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 54-59

Pfau M, Goerdt L, Schmitz-Valckenberg S, Mauschitz MM, Mishra DK, Holz FG, Lindner M, Fleckenstein M. Green-Light Autofluorescence Versus Combined Blue-Light Autofluorescence and Near-Infrared Reflectance Imaging in Geographic Atrophy

Secondary to Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58: 121-130

Reiter GS, Told R, Baratsits M, Hecht A, Schlanitz FG, Sacu S, Schmidt-Erfurth U. Repeatability and reliability of quantitative fundus autofluorescence imaging in patients with early and intermediate age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol* 2019; 97: 526-532

Reiter GS, Schwarzenbacher L, Schartmüller D, Röggl V, Leydolt C, Menapace R, Schmidt-Erfurth U, Sacu S. Influence of lens opacities and cataract severity on quantitative fundus autofluorescence as a secondary outcome of a randomized clinical trial. *Sci Rep* 2021; 11: 12685-12685

Reznicek L, Dabov S, Haritoglou C, Kampik A, Kernt M, Neubauer AS. Green-light fundus autofluorescence in diabetic macular edema. *Int J Ophthalmol* 2013; 6: 75-80

Schmitz-Valckenberg S, Pfau M, Fleckenstein M, Staurengli G, Sparrow JR, Bindewald-Wittich A, Spaide RF, Wolf S, Sadda SR, Holz FG. Fundus autofluorescence imaging. *Prog Retin Eye Res* 2021; 81: 100893-100893

Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 2005; 85: 845-881

von der Emde L, Saßmannshausen M, Morelle O, Rennen G, Holz FG, Wintergerst MWM, Ach T. Reliability of Retinal Layer Annotation with a Novel, High-Resolution Optical Coherence Tomography Device: A Comparative Study. *Bioengineering (Basel)* 2023; 10: 438-438

von der Emde L, Rennen GC, Liegl RG, Sloan KR, Holz FG, Ach T. Personalized lens correction for quantitative fundus autofluorescence measurements. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2023; 64: 2382–2382

von der Emde L, Rennen GC, Vaisband M, Hasenauer J, Liegl R, Fleckenstein M, Pfau M, Holz FG, Ach T. Personalized Lens Correction Improves Quantitative Fundus Autofluorescence Analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2024; 65: 13

Wolf-Schnurrbusch UEK, Wittwer VV, Ghanem R, Niederhaeuser M, Enzmann V, Framme C, Wolf S. Blue-light versus green-light autofluorescence: lesion size of areas of geographic atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 9497-9502

Yappert MC, Lal S, Borchman D. Age dependence and distribution of green and blue fluorophores in human lens homogenates. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33: 3555-3560

Yu NT, Barron BC, Kuck JFR. Distribution of two metabolically related fluorophors in human lens measured by laser microprobe. *Exp Eye Res* 1989; 49: 189-194

## 2. Veröffentlichungen

Dieser Publikationsdissertation liegen die folgenden, unabhängig begutachteten Veröffentlichungen zugrunde:

### 2.1 Veröffentlichung 1

von der Emde L, Rennen GC, Vaisband M, Hasenauer J, Liegl R, Fleckenstein M, Pfau M, Holz FG, Ach T. Personalized Lens Correction Improves Quantitative Fundus Autofluorescence Analysis. Invest Ophthalmol Vis Sci 2024; 65: 13

<https://doi.org/10.1167/iovs.65.3.13>

### 2.2 Veröffentlichung 2

von der Emde L, Rennen GC, Vaisband M, Hasenauer J, Liegl R, Fleckenstein M, Pfau M, Holz FG, Ach T. Impact of lens autofluorescence and opacification on retinal imaging. BMJ Open Ophthalmol 2024; 9: e001628

<https://doi.org/10.1136/bmjophth-2023-001628>

### **3. Erklärung zum Eigenanteil**

Die Arbeit wurde von mir in der Augenklinik des Universitätsklinikums Bonn unter Betreuung von Prof. Dr. med. Frank G. Holz und Prof. Dr. med. Thomas Ach durchgeführt.

Ich habe bei der Gestaltung des analytischen Rahmens der Studie mitgewirkt. Die wissenschaftliche Fragestellung wurde mithilfe von Prof. Dr. med. Thomas Ach entwickelt.

Die Datenerhebung wurde eigenständig von mir bei einem Hauptteil der Kohorte von 227 Proband\*innen durchgeführt. Die multimodale Bildgebung umfasste Scheimpflug-Aufnahmen, optische Vorderkammer-Kohärenztomographie, quantitative Autofluoreszenzaufnahmen der Linse sowie blaue, grüne und quantitative Fundus-Autofluoreszenz- und Infrarot-Aufnahmen der Netzhaut. Um eine qualitativ hochwertige Datenerhebung zu gewährleisten, wurden alle angewandten Bildgebungsverfahren zuvor mithilfe von Dr. med. Leon von der Emde eingeübt und die Qualität der Bilder durch ihn überprüft.

Die Auswertung der multimodalen Bildgebung erfolgte eigenständig durch mich. Dazu wurden ImageJ und speziell entwickelte Fiji-Plugins angewandt, um die Bilddaten zu extrahieren und statistisch auszuwerten. Die Entwicklung einer LASSO-Regression zur Festlegung der wichtigsten Linsenmetriken wurde durch Dr. med. Leon von der Emde unterstützt.

Ich fungierte als unabhängige Gutachterin zur Analyse der Bildqualität der Netzhautbilder anhand festgelegter Kriterien. Dr. med. Leon von der Emde wirkte als zweiter unabhängiger Gutachter bei der Auswertung der Bildqualität der Netzhautbilder mit. Die Implementierung eines neuronalen Netzwerks zur Analyse der Bildqualität wurde ebenfalls durch seine Expertise unterstützt.

Die Interpretation und Einordnung der Studienergebnisse in die aktuelle Datenlage erfolgte eigenständig durch mich nach einer ausführlichen Literaturrecherche. Die wichtigsten Gesichtspunkte zur Interpretation der Studienergebnisse wurden gemeinsam durch mich und Dr. med. Leon von der Emde diskutiert und festgelegt.

Ich versichere, die Dissertationsschrift selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

## 4. Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Holz für die Möglichkeit bedanken, dass ich an diesem interessanten Thema an der Universitäts-Augenklinik Bonn arbeiten durfte.

Besonders danken möchte ich außerdem Herrn Prof. Dr. Ach für die herausragende Betreuung und Unterstützung während der gesamten Promotion. Der wöchentliche Austausch in der Arbeitsgruppe hat zu einer wertvollen und produktiven Arbeitsatmosphäre beigetragen. Danke für Ihre Bereitschaft, mir auch darüber hinaus jederzeit mit Ihrer Erfahrung und Ihrem Feedback zur Seite zu stehen. Ihr unermüdlicher Einsatz hat entschieden zu dem Erfolg meiner Arbeit beigetragen.

Vielen Dank auch an Dr. Leon von der Emde, der mich in allen Phasen der Promotion unterstützt und mir immer mit seinem Rat beiseite gestanden hat. Lieber Leon, durch dich konnte ich meiner Arbeit mit mehr Leichtigkeit und Freude nachgehen, wofür ich dir sehr dankbar bin.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern Anja und Ralf, die mich weit über das Studium hinaus immer unterstützt haben. Ihr habt mir die Stärke, die Liebe und das Selbstvertrauen gegeben, immer meinen eigenen Weg zu gehen.