



19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

12 Patentschrift
10 DE 198 37 932 C 2

51 Int. Cl. 7:
A 61 B 3/107
A 61 B 5/107
G 01 B 11/255
A 61 F 9/013

21 Aktenzeichen: 198 37 932.3-35
22 Anmeldetag: 20. 8. 1998
43 Offenlegungstag: 23. 3. 2000
45 Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: 7. 9. 2000

DE 198 37 932 C 2

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

73 Patentinhaber:
BioShape AG, 12163 Berlin, DE

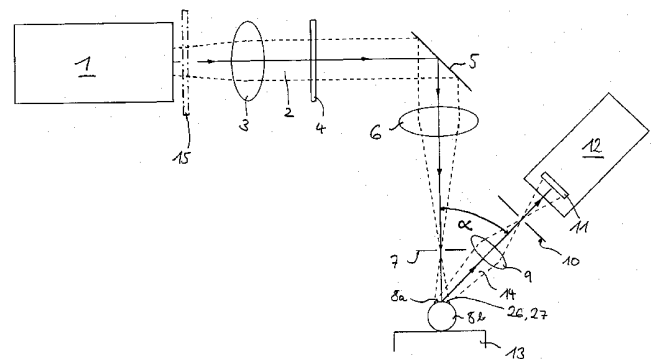
74 Vertreter:
Canzler & Bergmeier, Patentanwälte, 85055
Ingolstadt

72 Erfinder:
Antrag auf Nichtnennung

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:
GB 22 03 831 A
US 51 59 361 A
US 49 95 716 A
US 47 61 071 A

54 Verfahren und Vorrichtung zur Ermittlung der Oberflächenform von biologischem Gewebe

57 Verfahren zur Bestimmung der Oberflächenform von biologischem Gewebe, bei dem das Gewebe (8a) direkt mit einem mit Hilfe einer Anregungsstrahlung (2) erzeugten Bestrahlungsmuster (26) bestrahlt wird, so daß die bestrahlten Gewebebereiche zur Emission eines aus Fluoreszenzstrahlung (14) bestehenden Fluoreszenzmusters (27) angeregt werden, welches detektiert und zur Berechnung der Oberflächenform des Gewebes (8a) ausgewertet wird.



DE 198 37 932 C 2

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Ermittlung der Oberflächenform von biologischem Gewebe.

Die exakte Kenntnis der Topologie von biologischen Geweben ist beispielsweise zur Durchführung von Operationen an der Gewebeoberfläche in vielen Fällen unerlässlich. Als Beispiel sei die Hornhautoberfläche des menschlichen Auges angeführt. Da die Hornhaut eine Brechkraft von über 40 Dioptrien besitzt, ist sie maßgeblich an der Brechung des in das Auge einfallenden Lichtes und somit am Sehvorgang beteiligt. Die Brechkraft hängt hierbei vorrangig von der Form der Hornhautoberfläche und insbesondere ihrer Krümmung ab. Moderne Verfahren zur Korrektur von Fehlsichtigkeiten zielen daher auf eine Änderung der Hornhautform durch den Abtrag von Hornhautgewebe mit Hilfe eines Lasers ab. Voraussetzung für eine gezielte Bearbeitung der Hornhaut ist deshalb die genaue Kenntnis der Form ihrer äußeren Oberfläche. Diese wird derzeit vor und mehrere Tage nach der Fehlsichtigkeitskorrektur mit Hilfe optischer Verfahren ermittelt, bei denen die Meßwerte – aufgrund der Schnelligkeit dieser Verfahren – durch die statistischen und unwillkürlichen Bewegungen des Auges nicht nennenswert beeinflusst werden.

Ein bekanntes Verfahren zur Vermessung der Hornhautform, welches vor bzw. nach einer Fehlsichtigkeitsoperation oder auch zur Anpassung von Kontaktlinsen zum Einsatz kommt, stützt sich auf die Verwendung sog. Keratometer, bei denen die Reflexion von konzentrischen Ringen (sog. Placido-Ringe) an dem die Hornhaut benetzenden Tränenfilm mit einer Kamera aufgenommen und ausgewertet wird. Hierbei wird vor dem Auge eine Beleuchtungseinrichtung plaziert, vor welcher eine Scheibe mit kreisförmigen, zueinander konzentrischen Schlitzen angeordnet ist, in deren Zentrum wiederum eine Kamera aufgestellt wird. Das vom Tränenfilm reflektierte und von der Kamera aufgenommene Licht – in Form eines durch die Krümmung der Hornhaut verzerrten Ringmusters – wird zur Ermittlung der spezifischen Eigenarten der zu vermessenden Hornhautform mit einer vorgegebenen Hornhautform eines Standardauges, das einen Hornhautradius von 7,8 mm aufweist, verglichen. Zur Rekonstruktion der Oberflächenform der jeweiligen Hornhaut legt der Anwender zunächst manuell das Zentrum der zumeist ca. 20 Ringe mit Hilfe eines Fadenkreuzes fest. Danach werden durch das Zentrum 180 Meridiane über die Hornhaut mit einem Abstand von je 1° gelegt. Der Abstand der Schnittpunkte der Meridiane mit den Ringen nimmt mit wachsendem Radius der Ringe bis auf Werte um 300 µm zu. Insgesamt ergeben sich damit 180 (Meridiane) × 20 (Ringe) × 2 (Schnittpunkte) = 7200 Datenpunkte, aus denen die Krümmung der Hornhaut berechnet werden kann. Nachteilig bei diesem bekannten Verfahren bzw. dieser bekannten Vorrichtung ist, daß aufgrund der konzentrischen Anordnung der Beleuchtungseinrichtung und der Kamera keine Daten in einer Fläche des Zentrums mit einem Durchmesser von mindestens 1,5 mm aufgenommen werden können. Jedoch sind gerade in diesem Bereich Messungen besonders wichtig. Weiterhin lassen sich Fehlmessungen bei einer Hornhautform nicht vermeiden, die von der Form des Standardauges – wie beispielsweise bei einer zentralen Abflachung – stärker als üblich abweicht. Zudem ist die Anzahl von 7200 Datenpunkten für die zur Ermittlung der Hornhauttopologie notwendige Interpolation in manchen Fällen nicht befriedigend. Diese Anzahl an Datenpunkten stellt faktisch ein oberes Limit dar, da sich die Meridiane aufgrund ihrer endlichen Linienbreite nicht in geringerem Winkelabstand als 1° einteilen lassen.

Da das zuvor beschriebene Verfahren bzw. die entsprechende Vorrichtung keine Kontrolle während des Abtragsvorgangs erlaubt, sind insbesondere bei hohen Fehlsichtigkeiten über –6 Dioptrien relativ häufig Fehlkorrekturen zu verzeichnen. Zwar können diese Fehlkorrekturen vom Anwender bzw. Operateur statistisch zur Anfertigung sog. "Nomogramme" ausgewertet werden, die bei darauffolgenden operativen Eingriffen die Fehlkorrekturen im Mittel verhindern helfen; befriedigen kann diese Lösung jedoch nicht.

Des Weiteren ist das industriell etablierte sog. Streifenprojektionsverfahren zur optischen Vermessung von Oberflächen verschiedenster lebloser Materialien bekannt, welches eine zuverlässige, berührungslose und schnelle Meßwerterfassung gestattet. Die grundlegende Idee der Streifenprojektionstechnik besteht in der Verbindung der meßtechnischen Möglichkeiten der geometrisch-optischen Triangulation mit denen der klassischen Interferometrie. Die mathematischen Zusammenhänge sind im Anhang näher dargestellt. Dieses Verfahren bzw. die entsprechende Vorrichtung sind besonders geeignet, schnelle Vorgänge zu erfassen, da nur eine einzige Aufnahme notwendig ist. Hierbei wird zunächst ein geeignetes Streifenmuster auf die zu vermessende Oberfläche projiziert. Die Streifen werden interferometrisch oder durch die Abbildung einer geeigneten Struktur (Gitter, Ätzstruktur in Glas, LCD-Matrix, Mikrospiegel) erzeugt. Das von der Oberfläche diffus gestreute Licht in Form eines durch die Oberflächenform der Hornhaut verzerrten Streifenmusters wird in einem Winkel α zur Projektions- bzw. Bestrahlungsrichtung detektiert und mittels geeigneter Algorithmen ausgewertet. Die erforderlichen und früher zeitintensiven Fouriertransformationen stellen aufgrund neuer Rechnermöglichkeiten keine nennenswerte Verzögerung mehr dar.

Problematisch wird die Auswertung der Streifenmuster jedoch bei relativ schwachem Kontrast des detektierten Streifenmusters. Dabei treten zuweilen Phasenmeßfehler auf, die sich in Sprüngen in der Fläche bemerkbar machen. Kontrasterhöhende Maßnahmen bestehen bekanntermaßen im Bedampfen des Objekts mit stark streuenden Schichten oder in der Zugabe von Fluoreszenzfarbstoffen. Letzteres ist insbesondere in der Augenheilkunde vorgeschlagen worden, so beispielsweise von Windecker et al. (Applied Optics 34, 3644 ff., 1995), die in einem Streifenprojektionsverfahren die Anreicherung des Tränenfilms vor der Hornhaut mit Fluorescein vorschlugen, um die Form der Hornhautoberfläche zu ermitteln. Bei diesem Verfahren wird blaues Licht, welches mittels eines Filters aus weißem Licht herausgefiltert wurde, auf die Hornhaut gelenkt, woraufhin der vorgelagerte, Fluorescein-angereicherte Tränenfilm als Folge der Anregung grünes Licht emittiert. In der US 54 06 342 ist ein ähnliches Verfahren (und eine entsprechende Vorrichtung) beschrieben, bei dem die Überlagerung von zwei Teilmustern, die auf die mit fluoreszierender Flüssigkeit versehene Hornhaut aus zwei Richtungen projiziert werden, zur Entstehung eines auswertbaren Moiré-Musters führt. Die vom Flüssigkeitsfilm abgestrahlte Fluoreszenzstrahlung wird nach Durchlaufen eines optischen Filters durch die sukzessive Aufnahme von zwei Halbbildern mit einer Videokamera vereinigt und durch speziell entwickelte Algorithmen ausgewertet. Die Projektion der Strahlung aus zwei Richtungen hilft – zusätzlich zu dem Filter –, die Detektion des direkten Reflexes zu vermeiden, welcher an dem Ort auf der Hornhaut entsteht, dessen Flächennormale den Winkel zwischen Bestrahlungs- und Beobachtungsrichtung in zwei gleich große Winkel teilt und immer dann in Erscheinung tritt, wenn die Detektionseinheit empfindlich für die das Muster projizierende Wellenlänge ist.

Weitere Verfahren bzw. Vorrichtungen zur Bestimmung

der Hornhauttopographie, bei denen ein fluoreszierendes Mittel auf das Auge aufgebracht wird, sind aus der US-A-4,995,716, US-A-4,761,071 sowie US-A-5,159,361 bekannt.

Nachteilig bei diesen bekannten Verfahren bzw. Vorrichtungen ist, daß der Tränenfilm stets lokal und individuell unterschiedliche Dicken aufweist, so daß durch seine Vermessung nicht zuverlässig auf die Oberfläche der Hornhaut rückgeschlossen werden kann. Da sich das fluoreszierende Medium weiterhin im Tränenfilm verteilt und somit Streulicht aus der gesamten Dicke des Tränenfilms liefert, kann die Meßgenauigkeit nicht höher als die Filmdicke sein, die bis zu 200 µm beträgt. Weiterhin würde die Flüssigkeit bei nicht vorhandener oder aus dem Strahlengang weggeklappelter Epithelschicht auf der Hornhaut in das Hornhautgewebe eindringen, woraus eine Verbreiterung der Tiefenauflösung resultieren würde. Außerdem würde sich in einem solchen Fall die Oberflächenform der Hornhaut verändern, da diese aufquillt. Somit ist für die Anwendung dieses bekannten Verfahrens bzw. dieser bekannten Vorrichtung eine intakte Epithelschicht erforderlich, die vor einer Operation jedoch gerade entfernt werden muß, so daß Messungen während einer Operation beispielsweise nicht möglich sind.

Des weiteren ist aus der GB-A-2 203 831 eine Vorrichtung zur Untersuchung von Tumoren mittels Fluoreszenzstrahlung bekannt. Hierzu wird das zu untersuchende Gewebe (Tumor) mittels einer Lichtquelle, die Licht im UV-Bereich abstrahlt, bestrahlt. Das Gewebe wird hierdurch zur Emission von Fluoreszenzstrahlung angeregt, die mittels eines Detektionssystems detektiert und anschließend gemessen wird. Die bekannte Vorrichtung eignet sich aber nur zur Untersuchung der Gewebeeigenschaften von biologischem Gewebe wie Tumoren, nicht jedoch zur Bestimmung der Oberflächenform des biologischen Gewebes.

Es ist daher Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren bzw. eine Vorrichtung der eingangs genannten Art derart weiterzubilden, daß sich die Topologie eines biologischen Gewebes auf einfache Weise und in Abwesenheit jedweder, insbesondere fluoreszierender Flüssigkeiten ermitteln läßt und die Ergebnisse ggf. zur operativen Behandlung verwendet werden können.

Diese Aufgabe wird bei dem Verfahren der eingangs genannten Art dadurch gelöst, daß das Gewebe direkt mit einem mit Hilfe einer Anregungsstrahlung erzeugten Bestrahlungsmuster bestrahlt wird, so daß die bestrahlten Gewebereiche zur Emission eines aus Fluoreszenzstrahlung bestehenden Fluoreszenzmusters angeregt werden, welches detektiert und zur Berechnung der Oberflächenform des Gewebes ausgewertet wird.

Weiterhin wird die Aufgabe bei einer Vorrichtung der eingangs genannten Art gelöst durch mindestens eine Strahlungsquelle zum Erzeugen einer Anregungsstrahlung, Mittel zum Erzeugen eines Bestrahlungsmusters aus der Anregungsstrahlung direkt auf dem Gewebe, so daß die bestrahlten Gewebereiche zur Emission eines aus Fluoreszenzstrahlung bestehenden Fluoreszenzmusters angeregt werden, mindestens eine Detektionsvorrichtung zum Detektieren der vom Gewebe emittierten Fluoreszenzstrahlung und eine Auswerteeinheit zur Berechnung der Oberflächenform des Gewebes aus der detektierten Fluoreszenzstrahlung.

Die Vorteile der Erfindung sind insbesondere darin zu sehen, daß kein dem biologischen Gewebe vorgelagerter und ggf. mit einer geeigneten Substanz angereicherter Film zur Emission von fluoreszierender Strahlung angeregt wird, sondern das biologische Gewebe selbst. Hierzu werden die Intensität und insbesondere die Wellenlänge der Anregungsstrahlung derart gewählt, daß ihre Eindringtiefe in das Gewebe gering ist und tatsächlich nur die äußersten Gewebe-

bereiche (beispielsweise 2–3 µm) zur Fluoreszenz angeregt werden. Das zu detektierende Fluoreszenzmuster entspricht hierbei im wesentlichen dem zuvor auf das Gewebe projizierten Bestrahlungsmuster, verzerrt durch die ggf. gekrümmte Oberfläche des zu vermessenden Gewebes sowie dem Winkel zwischen der Beobachtungsrichtung und der Bestrahlungsrichtung. Die nicht bestrahlten Gewebereiche werden hierbei nicht zur Emission von Fluoreszenzstrahlung angeregt. Da eine unerwünschte räumliche Verteilung der fluoreszierenden Materie – wie beispielsweise bei einem fluoreszierenden Flüssigkeitsfilm auf dem Gewebe – unterbleibt, können hierdurch keine Meßverfälschungen auftreten. Ebenso wird ein Aufquellen des Gewebes durch einen solchen vorgelagerten Flüssigkeitsfilm vermieden.

Insbesondere im Falle der Hornhaut kann bei dem erfindungsgemäßen Verfahren bzw. der erfindungsgemäßen Vorrichtung auf fluoreszierende oder andersartig markierende Flüssigkeiten zur Aufbringung auf das Auge verzichtet werden. Somit ist es in überraschend einfacher Weise möglich, die Hornhautoberfläche durch Fluoreszenzstrahlung direkt darzustellen, ohne den unpräzisen Umweg über einen vorgelagerten, fluoreszierenden Film einschlagen zu müssen.

Vorteilhafterweise liegt die Anregungswellenlänge im ultraviolett (UV) Wellenlängenbereich, da in diesem Fall die UV-Strahlung nur wenige Mikrometer in die Hornhaut eindringt (oberhalb des UV-Wellenlängenbereichs bis ins nahe Infrarot (IR) ist die Hornhaut transparent). Folglich stammt die von der Hornhaut emittierte Fluoreszenzstrahlung im wesentlichen aus der äußersten Gewebeschicht und repräsentiert somit deren Topologie hinreichend exakt. Weiterhin kann die Messung in ausreichend kurzer Zeit erfolgen, um Fehlmessungen aufgrund von Augenbewegungen zu vermeiden.

Mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens bzw. der erfindungsgemäßen Vorrichtung lassen sich beispielsweise auch Deformationen an Extremitäten oder Oberflächenveränderungen und andere strukturelle Merkmale der Haut (beispielsweise Fingerabdrücke) vermessen. Gegebenenfalls ist es vorher angezeigt, im Lichtweg befindliche störende Objekte – wie beispielsweise Haare – von der Gewebeoberfläche zu entfernen. Die Form der Oberfläche des zu vermessenden Gewebes kann prinzipiell beliebig ausgebildet sein; allerdings sollten keine groben Stufen vorhanden sein.

Die Auswerteeinheit zur Auswertung des Fluoreszenzmusters der Fluoreszenzstrahlung umfaßt bevorzugt einen Computer mit einer geeigneten Analysesoftware, die beispielsweise an sich bekannte mathematischen Methoden verwendet. Eine solche – an sich bekannte – mathematische Methode zur Auswertung der Fluoreszenzstrahlung ist im Anhang wiedergegeben.

Da das erfindungsgemäße Verfahren bzw. die erfindungsgemäße Vorrichtung auf den Fluoreszenzeigenschaften des Gewebes selbst basiert, ist es insbesondere auch geeignet, die Topologie während der refraktiven Operation an der Hornhaut zu erfassen, während der kein Tränenfilm und keine Epithelschicht – zumindest im Strahlengang der Anregungsstrahlung – vorhanden ist. Beispielsweise wird vor und während der Operation hinreichend oft die momentane Gewebetopologie bestimmt, so daß der nächste Operationsschritt auf das aktuelle Ergebnis abgestimmt werden kann. Dies gestattet somit die Steuerung/Regelung des Abtragprozesses während der Operation mit beispielsweise einem Laser, indem zwischen dem Operationsmodus und dem Modus zur Ermittlung der Oberflächenform der Hornhaut hin- und hergeschaltet wird, so daß eine exaktere Korrektur aufgrund ständigen Kontrollierens und entsprechenden Reagierens als bisher möglich ist. Dadurch werden auch individuell vom Anwender aus statistischen Untersuchungen festgelegte No-

mogramme überflüssig, die insbesondere bei großen Korrekturen über -6 Dioptrien bislang noch erforderlich sind.

Besonders bevorzugt sind die Strahlungsquelle zur Bestimmung der Oberflächenform des biologischen Gewebes und diejenige zur operativen Behandlung des Gewebes identisch. Auf diese Weise läßt sich eine kompakte und relativ kostengünstige Vorrichtung zur Bestimmung der Gewebetopologie und Operation des Gewebes realisieren. Mit Hilfe des erfindungsgemäßen Verfahrens bzw. der erfindungsgemäßen Vorrichtung lassen sich somit schnell und einfach sehr präzise Gewebekorrekturen vornehmen. Die Aufgabe wird daher bei einem Verfahren zur Unterstützung eines operativen Eingriffs an einem biologischen Gewebe auch dadurch gelöst, daß das Ergebnis der Auswertung in die aktuelle operative Behandlung des biologischen Gewebes regelnd und/oder steuernd einbezogen wird.

Weiterhin ist vorteilhaft, daß die Detektion der Fluoreszenzstrahlung mit einer Vorrichtung erfolgen kann, deren Empfindlichkeit für die Anregungswellenlänge aufgrund des Wellenlängenunterschiedes zwischen der Anregungsstrahlung und der Fluoreszenzstrahlung a priori sehr gering ist. Hierbei bietet sich eine CCD-Kamera an, die eine orts aufgelöste Detektion erlaubt. Es kann gegebenenfalls auch eine im Ultravioletten empfindliche Kamera verwendet werden. Zusätzlich oder alternativ läßt sich die Empfindlichkeit der jeweiligen Detektionsvorrichtung für die Anregungswellenlänge durch ein Filter (Farbfilter oder Polarisationsfilter) verringern. Auf diese Weise tritt der direkte Reflex bei der Detektion nicht störend in Erscheinung. Zwar läßt er sich ebenso wie bei den bekannten Verfahren bzw. Vorrichtungen nicht vermeiden; er wird aufgrund der in einem anderen Wellenlängenbereich liegenden Empfindlichkeit der Detektionsvorrichtung jedoch nicht detektiert und kann daher das gewünschte Signal nicht überdecken. Somit ist nur eine einzige Aufnahme zur vollständigen Rekonstruktion der Oberfläche des biologischen Gewebes erforderlich.

Vorzugsweise wird die vom biologischen Gewebe emittierte Fluoreszenzstrahlung unter einem von der Bestrahlungsrichtung verschiedenen Winkel detektiert, der beispielsweise 45° beträgt. Auf diese Weise wird das Fluoreszenzmuster perspektivisch verzerrt beobachtet, so daß insbesondere eine Krümmung der Gewebeoberfläche präziser vermessen werden kann. Die benachbarten Streifen eines Fluoreszenzstreifenmusters beispielsweise erscheinen bei einer derartigen Beobachtung aufgrund der Perspektive gekrümmter als bei einer Frontalbeobachtung, weshalb genauere Informationen über den Krümmungsverlauf erhalten werden können.

Falls die direkte Fluoreszenzstrahlung lediglich mit einer einzigen Detektionsvorrichtung aufgefangen wird und die Bestrahlungs- und die Beobachtungsrichtungen nicht zusammenfallen, erhält man – wie erörtert – ein perspektivisch verzerrtes Abbild des Fluoreszenzmusters. Bei einem sehr feinen Bestrahlungs- und damit Fluoreszenzmuster, das eine sehr genaue Auflösung der Gewebetopologie ermöglicht, können daher Linien, die in von der Detektionsvorrichtung abgewandten Bereichen liegen, unerwünschtermaßen zusammenfließen und sind dann nicht mehr präzise aufzulösen. Daher kann vorteilhafterweise mindestens eine weitere Detektionsvorrichtung verwendet werden, welche – bezüglich der Bestrahlungsrichtung – der ersten Detektionsvorrichtung beispielsweise gegenüberliegt und dazu dient, die Fluoreszenzstrahlung aus einem von der ersten Detektionsvorrichtung nicht präzise erfassbaren Bereich des biologischen Gewebes zu detektieren. Alternativ kann auch ein geeignet vor dem biologischen Gewebe positionierter Spiegel verwendet werden, der die Fluoreszenzstrahlung von der (einzigsten) Detektionsvorrichtung abgewandten Seite des

biologischen Gewebes zu dieser Detektionsvorrichtung spiegelt. Somit lassen sich beispielsweise zwei räumliche Halbbilder gleichzeitig (mit zwei Detektionsvorrichtungen) bzw. nacheinander (mit einer Detektionsvorrichtung und einem Spiegel) aufnehmen und zur Auswertung entsprechend vereinigen.

Zusätzlich oder alternativ wird das biologische Gewebe aus mindestens zwei Richtungen bestrahlt, um aufgrund der perspektivischen Verzerrung ansonsten schwer auszuleuchtende Gewebebereiche hinreichend zu erfassen. Vorteilhafterweise ist hierbei im Falle einer Hornhautvermessung ein symmetrischer Aufbau der erfindungsgemäßen Vorrichtung vorgesehen, wobei beispielsweise die beiden Projektions- bzw. Bestrahlungsrichtungen den gleichen Winkel mit einer zwischen ihnen verlaufenden Beobachtungsrichtung einschließen. Auch kann neben dem Einsatz von mehreren Strahlungsquellen die Verwendung von mehreren Detektionsvorrichtungen vorgesehen sein. Um das biologische Objekt von mehreren Seiten zu beleuchten bzw. zu bestrahlen, bieten sich ebenfalls Spiegel oder andere Lichtumlenkeinrichtungen an.

Das biologische Gewebe und insbesondere die Hornhaut wird vorzugsweise mit Wellenlängen zwischen 150 nm und 370 nm zur Fluoreszenz angeregt. Kürzere Wellenlängen als ca. 150 nm lassen sich derzeit nur mit hohem technischen Aufwand mit hinreichender Energie erzeugen. Außerdem erzeugen sie eine Fluoreszenzstrahlung, die sich mit konventioneller Technik aufgrund ihrer ebenfalls nur geringfügig längeren Wellenlänge schlecht detektieren ließe. Längere Wellenlängen als ca. 370 nm hingegen weisen – zumindest im Falle der Hornhaut für sichtbares Licht – eine zu große Eindringtiefe auf, um die Emission von Fluoreszenzstrahlung auf die äußersten Zellschichten zu beschränken und somit die erforderliche Genauigkeit der Messung zu gewährleisten. Außerdem könnten in diesem speziellen Fall Schädigungen am Auge auftreten.

Da im Falle der Hornhautvermessung das Auge unwillkürliche Bewegungen, sogenannte Sakkaden, vollzieht, ist es vorteilhaft, die Bestrahlungsdauer entsprechend zu beschränken, vorzugsweise unter 20 ms, da ansonsten das detektierte Fluoreszenzmuster verzerrt werden könnte.

Neue Lasergeräte sind in der Lage, Pulse in der Größenordnung von Femtosekunden zu emittieren, die ggf. ebenfalls verwendet werden können.

Das genannte Problem der zwangsläufigen Begrenztheit der Bestrahlungsdauer aufgrund der Augenbewegungen kann durch Einsatz eines sog. Eye-Trackers umgangen werden, mittels welchem längere Bestrahlungszeiten zu realisieren sind. Der Eye-Tracker zeichnet hierbei die Bewegungsabläufe des Auges – vorteilhafterweise während der Bestrahlung mittels der Anregungsstrahlung – als Funktion der Zeit auf, die bei der Auswertung des Fluoreszenzmusters miteinbezogen werden.

Es hat sich als vorteilhaft herausgestellt, wenn das Bestrahlungsmuster in kurzen zeitlichen Abständen auf das Gewebe geworfen wird. Mit einer solchen Bestrahlungspulsserie wird eine hinreichende Fluoreszenzintensität bei gleichzeitiger Schonung des Gewebes vor lichtinduziertem Abtrag realisiert. Bei schnell schaltenden optischen Elementen können mehrere hundert Strahlungspulse innerhalb der vorgegebenen Blitzdauer appliziert werden. Vorzugsweise liegt die Wiederholrate zwischen 1 Hz und 1 MHz.

Um Hornhautgewebe oder anderes biologisches Gewebe durch die Anregungsstrahlung nicht dauerhaft zu beschädigen, wird bevorzugt die Projektion des geometrischen Bestrahlungsmusters mit einer hinreichend niedrigen Fluence (Energie/Fläche) vorgenommen. Diese sollte bei einer kreisförmigen Fläche mit einem Durchmesser von 10 mm weni-

ger als 10 mJ betragen. Gleichfalls werden somit phototoxische Wirkungen vermieden. Die Energie der Anregungsstrahlung liegt vorzugsweise zwischen 1 μ J und 1 J.

Die die Fluoreszenz anregende Strahlung wird beispielsweise von einem Excimer-Laser emittiert, der auch zur operativen Bearbeitung der Hornhaut verwendet wird. Beispielsweise kommt ein ArF-Laser mit einer Wellenlänge von 193 nm zum Einsatz. Alternative Lasergeräte, die die Emission von Bestrahlungspulsen erlauben, sind neben Excimer-Lasern (ArF mit einer Wellenlänge $\lambda = 193$ nm, KrF mit $\lambda = 248$ nm, XeCl mit $\lambda = 308$ nm, XeF mit $\lambda = 351$ nm) und Stickstofflasern ($\lambda = 337$ nm) auch frequenzvervielfachte Festkörperlaser (Nd:YAG 5-fach mit $\lambda = 213$ nm bzw. 4-fach mit $\lambda = 266$ nm bzw. 3-fach mit $\lambda = 355$ nm oder Alexandrit) oder durch derartige Festkörperlaser gepumpte Farbstofflaser. Vorteilhaft ist die Wahl einer Wellenlänge, bei der die Intensität der Fluoreszenzstrahlung möglichst hoch ist, da dadurch die Anforderungen an die Detektionsvorrichtung sinken.

Alternativ zu einem Laser bietet sich die Verwendung von kostengünstigeren Blitzlampen an, die mit Xenon- oder Deuterium-haltigen Gasgemischen gefüllt sind. Diese werden vorzugsweise durch geeignete Filter auf die Emission von UV-Strahlung begrenzt. Da die Ausgangsleistungen dieser Blitzlampen im UV zumeist niedriger als die von Lasern sind, müssen ggf. höhere Anforderungen an die Detektionsvorrichtung gestellt werden.

Das auf das biologische Gewebe, wie beispielsweise die Hornhaut, projizierte geometrische Bestrahlungsmuster besteht vorzugsweise aus parallelen Streifen mit sinus-, \cos^2 - oder rechteckförmigem Intensitätsverlauf. Durch geeignete Algorithmen läßt sich somit beispielsweise bei einer Streifenbreite und einem Streifenabstand von 100 μ m die Oberfläche mit einer Auflösung von wenigen Mikrometern vermessen. Alternativ kann ein Raster, dessen Schnittpunkte zur Auswertung herangezogen werden, ein Lochmuster, ein Muster aus mehreren konzentrischen Kreislinien mit radial vom Zentrum ausgehenden und mit gleichem Winkelabstand angeordneten Linien, ein aus zwei Linienmustern bestehendes Moiré-Muster oder ein sonstiges geometrisches Muster gewählt werden.

Die Mittel zum Erzeugen des geometrischen Bestrahlungsmusters umfassen vorzugsweise eine Maske mit beispielsweise parallelen Schlitzen oder regelmäßig angeordneten Löchern, welche durch Bestrahlung mit der Anregungsstrahlung auf das Gewebe abgebildet werden. Die Intensitätsverluste sind bei diesen Mustern relativ gering, was insbesondere bei Bestrahlungssystemen mit verhältnismäßig geringer Leistung von Vorteil ist.

Alternativ lassen sich durch geeignete Präparation bereichsweise strukturell veränderte Substrate (z. B. Glas) als Mittel zum Erzeugen des Bestrahlungsmusters verwenden, bei denen sich beispielsweise Bereiche starker Streuung oder Absorption mit unpräparierten Bereichen hoher Transmission abwechseln. Derartige Substrate gestatten die Erzeugung eines sinusförmigen Intensitätsverlaufs.

Das Bestrahlungsmuster kann vorteilhafterweise auch durch an sich bekannte diffraktive optische Elemente, wie beispielsweise Mikrolinsen, erzeugt werden. Die Mikrolinsen, deren Durchmesser beispielsweise 100 μ m beträgt, sind hierbei z. B. in einer engen, regelmäßigen Anordnung auf einem transparenten Glassubstrat aufgebracht, welches in den Strahlengang der Anregungsstrahlung plaziert wird, die beispielsweise einen Strahldurchmesser von 8 mm aufweist. Sind die einzelnen Mikrolinsen als Zylinderlinsen ausgebildet, lassen sich auf diese Weise Streifenmuster erzeugen. Auch andere Linsenformen – beispielsweise halbkugelförmige – sind möglich und definieren ein anderes Bestrah-

lungs- und damit Fluoreszenzmuster. Die Mikrolinsen erlauben es, eine höhere Tiefenschärfe zu erreichen, die bei der gekrümmten Hornhaut von Vorteil ist. Außerdem wird die Energie der Anregungsstrahlung besser genutzt als bei Verwendung einer Maske, welche einen Teil dieser Strahlung nicht zum Auge gelangen läßt. Weiterhin kann ein genauere sinusförmiger Intensitätsverlauf von beispielsweise sich abwechselnden hellen und dunklen Streifen als bei einer Maske erzeugt werden.

Alternativ läßt sich das Bestrahlungsmuster auf dem biologischen Gewebe auch durch Interferenz erzeugen, indem die gegebenenfalls aufgeweitete Strahlung von einer monochromatischen, kohärenten Strahlungsquelle (Laser) durch einen Strahlteiler geschickt wird und auf dem biologischen Gewebe rekombiniert bzw. vereinigt wird. Alternativ läßt sich ein Interferenzmuster auf dem Gewebe mittels zweier aufeinander abgestimmter Strahlungsquellen mit zueinander kohärenter Strahlung erzeugen.

Das Bestrahlungsmuster läßt sich auch durch ein Feld aus Mikrosiegeln erzeugen, an denen die Anregungsstrahlung in geeigneter Weise zum Gewebe reflektiert wird. Solche Spiegel zeichnen sich durch kurze Einstellzeiten und die Erzeugung individueller Bestrahlungsmuster aus. Beispielsweise sind 300 \times 400 Mikrospiegel gleichmäßig nebeneinander angeordnet.

Das auf dem biologischen Gewebe erzeugte Bestrahlungsmuster kann sich auch aus mehreren Teilmustern zusammensetzen, die auf eine oder mehrere der oben genannten Arten erzeugt werden.

Die strukturierte Fluoreszenzstrahlung wird vorzugsweise durch eine hinreichend empfindliche CCD-Kamera mit hoher räumlicher Auflösung (hoher Pixelzahl, beispielsweise 1280 \times 1024 Pixel) aufgenommen, die eine ortsauflöste Detektion des Fluoreszenzmusters ermöglicht (eine ortsauflöste Detektion ist aufgrund der relativen Einfachheit der Auswertung sowie ihrer Präzision von besonderem Vorteil). Auf diese Weise lassen sich einige Hunderttausend auswertbare Datenpunkte erhalten. Falls die Anregungsstrahlung zudem im UV-Bereich liegt und die Fluoreszenzstrahlung im Sichtbaren, bietet sich eine CCD-Kamera vorteilhafterweise auch deshalb an, weil ihre Empfindlichkeit im sichtbaren Wellenlängenbereich höher ist als im ultravioletten Bereich. Zudem wirkt das Kameraobjektiv der üblichen CCD-Kameras als Bandpaßfilter für Wellenlängen oberhalb von 300 nm, so daß Fluoreszenzstrahlung oberhalb dieser Wellenlänge detektiert wird, nicht hingegen die vom Gewebe reflektierte Anregungsstrahlung, falls diese im kürzerwelligen UV-Bereich liegt. Die CCD-Kamera kann bei relativ schwachen Strahlungstintensitäten – wie auch bei der Verwendung von Blitzlampen – mit einem Verstärker verbunden werden.

Vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind durch die Merkmale der Unteransprüche gekennzeichnet.

Im folgenden wird ein Ausführungsbeispiel der Erfindung anhand der Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 einen schematischen Aufbau einer ersten Ausführungsform einer Vorrichtung zur Projektion eines Bestrahlungsmusters auf eine Hornhaut und zur Detektion des erzeugten Fluoreszenzmusters;

Fig. 2 einen schematischen Aufbau eines zweiten Ausführungsform zur Musterprojektion und -detektion;

Fig. 3 ein auf einer Augenhornhaut mit einer CCD-Kamera beobachtetes Fluoreszenzmuster, das durch Bestrahlung der Hornhaut mit einem entsprechenden Bestrahlungsmuster gemäß **Fig. 1** erzeugt wurde; und

Fig. 4 eine vereinfachte Darstellung der Strahlverläufe (zur Erläuterung der im Anhang wiedergegebenen mathematischen Ableitungen)

In **Fig. 1** ist eine erste Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung dargestellt. Eine Strahlungsquelle **1** erzeugt eine Anregungsstrahlung **2**, vorzugsweise eine UV-Strahlung. Da diese nicht notwendigerweise kollimiert ist, sorgt ein optionales erstes Linsensystem **3** (angedeutet durch eine schematisch dargestellte Sammellinse) für einen parallelen und homogenen Strahl. Dieser Strahl durchläuft Mittel **4** zum Erzeugen eines Bestrahlungsmusters **26**, welche in der dargestellten Ausführungsform von einer senkrecht zum Strahlengang aufgestellten Schlitzblende bzw. Maske **4** mit beispielsweise parallelen streifenförmigen Öffnungen mit einer Breite und einem jeweiligen Abstand von 100 μm (nicht dargestellt) gebildet sind. Die Anregungsstrahlung **2**, von der in **Fig. 1** lediglich der Mittelpunktstrahl als durchgezogene Linie mit Andeutung der Strahlungsrichtung sowie die Einhüllenden bzw. die Randstrahlen als gestrichelte Linien dargestellt sind, wird an dieser Maske **4** teilweise zurückgehalten und teilweise – durch die Öffnungen – durchgelassen. Auf diese Weise wird die Anregungsstrahlung **2** quer zur Strahlungsrichtung in Form eines Bestrahlungsmusters **26** strukturiert, welches im weiteren Strahlverlauf an einem Spiegel **5** umgelenkt und mittels eines zweiten Linsensystems **6** (angedeutet durch eine schematisch dargestellte Sammellinse) nach Durchlaufen einer ersten Aperturblende **7** auf die Oberfläche eines biologischen Gewebes **8a** abgebildet wird. Das Gewebe **8a** in dem gewählten Ausführungsbeispiel ist beispielsweise die Augenhornhaut **8a** eines menschlichen Patienten, der auf der Patientenliege **13** plaziert ist (der Einfachheit halber ist nur das Auge **8b** des Patienten dargestellt).

Die die Maske **4** passierende Anregungsstrahlung **2** ist hinsichtlich Intensität und Wellenlänge so gewählt, daß sie nur wenige Mikrometer in die Hornhaut **8a** eindringt. Dies ist z. B. der Fall, wenn ihre Wellenlänge im UV-Bereich liegt. Die Anregungsstrahlung **2** regt die Hornhaut **8a** zur Emission von Fluoreszenzstrahlung **14** in den bestrahlten Bereichen an, während die nicht bestrahlten Bereiche der Hornhaut **8a** keine Fluoreszenzstrahlung **14** emittieren können. Auf diese Weise emittiert die Hornhaut **8a** ein dem Bestrahlungsmuster **26** entsprechendes, durch die Hornhautkrümmung verzerrtes Fluoreszenzmuster **27**, welches unter einem Winkel α mit Hilfe eines dritten Linsensystems **9** nach Durchlaufen einer zweiten Aperturblende **10** auf den Sensor **11** einer Detektionsvorrichtung **12** abgebildet wird. Die Detektionsvorrichtung **12** ist beispielsweise eine ggf. durch einen Bildverstärker (nicht dargestellt) intensivierte CCD-Kamera **12**. Es genügt eine Aufnahme mittels der Detektionsvorrichtung **12**, um die gesamte benötigte Information über die Oberflächenform der Hornhaut zu erhalten. Hierzu ist die Detektionsvorrichtung **12** mit einer vorzugsweise von einem Computer gebildeten Auswerteeinheit (nicht dargestellt) verbunden, die mit Hilfe von Auswerteprogrammen die Form der Hornhaut **8a** berechnet.

Die Wellenlänge der Anregungsstrahlung **2** liegt z. B. bei Verwendung eines ArF-Lasers als Strahlungsquelle **1** bei 193 nm. Ein ebenfalls bevorzugt eingesetzter frequenzverfünffacher Nd:YAG-Laser emittiert Anregungsstrahlung **2** der Wellenlänge 213 nm. Die Hauptmaxima der von den bestrahlten Gewebebereichen der Hornhaut **8a** ausgehenden Fluoreszenzstrahlung **14** liegen in diesen Fällen ungefähr bei 300 nm und 450 nm, die einer Detektion ohne größeren Aufwand – wie beispielsweise mittels der CCD-Kamera **12** – zugänglich sind.

Auf der Hornhaut **8a** sollte möglichst kein Tränenfilm vorhanden sein, um eine Absorption der Anregungsstrahlung **2** durch den Tränenfilm zu verhindern. Diese Notwendigkeit fügt sich sehr gut mit den erforderlichen Bedingungen während einer Operation an der Hornhaut **8a**, die in der

Regel am tränenfilmfreien Auge **8b** durchgeführt wird. Das vorgestellte Verfahren bzw. die vorgestellte Vorrichtung eignet sich daher insbesondere zur Kombination einer wechselseitigen Vermessung der Form der Hornhaut **8a** sowie ihrer operativen Bearbeitung, welche vorteilhafterweise mit derselben Strahlungsquelle **1**, üblicherweise einem UV-Laser, vorgenommen wird. Die Ergebnisse der Bestimmung der Hornhautform können dann sofort im anschließenden Operationsschritt verwendet werden, um die Hornhautabtragung mittels des Lasers zu steuern bzw. zu regeln. Während einer anschließenden Vermessungsphase kann sofort das Resultat des vorhergehenden operativen Schritts kontrolliert und der nächste Operationsschritt darauf abgestimmt werden. Vorzugsweise wird dieser wechselseitige Vorgang automatisch mit Hilfe eines Computers gesteuert.

Bei der Verwendung eines Laserstrahls, der die Hornhaut **8a** großflächig abzutragen vermag, wird während der Vermessung der Hornhautoberfläche zur Schonung der Hornhaut **8a** mindestens ein Intensitätsabschwächer **15** (in **Fig. 1** strichpunktiert dargestellt) in den Strahlengang der Anregungsstrahlung **2** – also zwischen der Strahlungsquelle **1** und der Hornhaut **8a** – eingefügt, der während der Operationsphasen wieder aus dem Strahlengang entfernt wird. Das Einfügen und das Entfernen des Intensitätsabschwächers **15** in den Strahlengang wird vorzugsweise computergesteuert durchgeführt.

Bei einer weiteren, nicht dargestellten Ausführungsform wird ein Laserstrahl mit einem Durchmesser von beispielsweise 2 mm verwendet, um die Hornhaut **8a** in jeweils nur kleinen Bereichen abzutragen. Hierbei wird der Laserstrahl scannend über die Hornhaut **8a** geführt. Während der Vermessung der Hornhautoberfläche muß daher der Laserstrahl zur Erzeugung des großflächigeren Bestrahlungsmusters **26** mit mindestens einem Strahlaufweiter (nicht dargestellt) aufgeweitet werden, welcher zwischen die Strahlungsquelle **1** und die Hornhaut **8a** in den Strahlengang eingebracht wird. Während der Operationsphasen wird der mindestens eine Strahlaufweiter aus dem Strahlengang der Anregungsstrahlung **2** wieder entfernt.

In dem in **Fig. 2** dargestellten zweiten Ausführungsbeispiel der Vorrichtung sind zwei Detektionsvorrichtungen **12**, **22** sich gegenüberliegend vor der Hornhaut **8a** angeordnet, wobei die Beobachtungsrichtungen – verdeutlicht durch die jeweiligen zentralen Verbindungslinien zwischen der Hornhaut **8a** und den Detektionsvorrichtungen **12**, **22** – im dargestellten Fall die gleich großen Winkel α , β mit der Bestrahlungsrichtung einschließen, die mit dem Mittelpunktstrahl der Anregungsstrahlung **2** zusammenfällt. Bei diesem Ausführungsbeispiel liegt die Strahlungsquelle **1** der Hornhaut **8a** direkt gegenüber. Ähnlich dem ersten Ausführungsbeispiel gemäß der **Fig. 1** fällt das Bestrahlungsmuster **26** nach Passieren einer dritten Aperturblende **17**, des ersten Linsensystems **3**, der Mittel **4** zum Erzeugen des Bestrahlungsmusters **26** sowie des zweiten Linsensystems **6** auf die Hornhaut **8a** eines menschlichen Auges **8b**. Die Fluoreszenzstrahlung **14** des Fluoreszenzmusters **27** wird in diesem Ausführungsbeispiel nach Durchlaufen von jeweils dritten Linsensystemen **9** und zweiten Aperturblenden **10** von zwei Seiten detektiert, um eine höhere Auflösung zu erhalten. Auf diese Weise ist – bei einer gekrümmten Gewebeoberfläche – auch die der jeweiligen Detektionsvorrichtung **12**, **22** abgewandte Gewebeseite mit der jeweils anderen Detektionsvorrichtung **22**, **12** präzise topographisch bestimmbar. Falls beispielsweise das Bestrahlungsmuster **26** von regelmäßig angeordneten, beabstandeten Kreisen gebildet ist, die auf den Kreuzungspunkten eines imaginären Quadratgitters liegen, rücken die Kreise aufgrund der perspektischen Verzerrung auf der der Detektionsvorrichtung **12** abgewandten

Seite zusammen, bis sie sogar eventuell nicht mehr aufzulösen sind. Diesen Gewebereich kann dann die ihm gegenüberliegende Detektionsvorrichtung **22** präzise erfassen. Entsprechendes gilt – mit vertauschten Rollen – für den der Detektionsvorrichtung **22** abgewandten Gewebereich.

Bei einer weiteren, nicht dargestellten Ausführungsform wird das Gewebe **8a** aus zwei Richtungen bestrahlt. Beispielsweise spaltet ein Strahlteiler die Anregungsstrahlung **2** von einer Strahlungsquelle **1** auf und lenkt sie mit Hilfe einer oder mehrerer Lichtumlenkeinrichtungen – wie beispielsweise Spiegel – auf das Gewebe **8a**. Alternativ werden mehrere Strahlungsquellen **1** verwendet. Ein solcher Aufbau könnte z. B. wie derjenige in **Fig. 2** aussehen, nur daß die beiden Detektionsvorrichtungen **12, 22** in **Fig. 2** gegen zwei Strahlungsquellen **1** und die Strahlungsquelle **1** in **Fig. 2** gegen eine Detektionsvorrichtung **12** auszutauschen wäre; selbstverständlich wären auch die Mittel **4** zum Erzeugen des Bestrahlungsmusters **26** sowie die Linsensysteme **3, 6, 9** und die Aperturblenden **7, 10, 17** entsprechend umzupositionieren.

In **Fig. 3** ist ein von einer CCD-Kamera **12** aufgenommenes, invertiertes streifenförmiges Fluoreszenzmuster **27** dargestellt, das während der Bestrahlung der Hornhaut **8a** mit einem streifenförmigen Bestrahlungsmuster **26** gemäß dem Versuchsaufbau der **Fig. 1** detektiert wurde. Das Bestrahlungsmuster **26** wurde hierbei mit Hilfe eines ArF-Excimerlasers ($\lambda = 193 \text{ nm}$) und einer Maske **4** mit parallelen Öffnungen erzeugt und nur auf denjenigen zentralen Bereich der Hornhaut **8a** projiziert, der dem üblicherweise bei einer Laseroperation zu bearbeitenden, d. h. unterschiedlich stark abzutragenden Bereich entspricht. Die auf die Hornhaut **8a** auftreffende Energie betrug hierbei ungefähr 2 mJ , während der Laserstrahl einen Durchmesser von 8 mm aufwies. Die sich unmittelbar an diesen Bereich anschließenden unbelichteten Nachbarbereiche **18** sind ebenfalls noch Teil der Hornhaut **8a**. Gegebenfalls kann eine digitale Subtraktion der vor und während der Einstrahlung des Bestrahlungsmusters **26** aufgenommenen Bilder den Kontrast und damit die Präzision des Verfahrens noch steigern.

Auf der Hornhaut **8a** befand sich während der Aufnahme des in **Fig. 3** gezeigten Fluoreszenzmusters **27** kein extern aufgebracht Flüssigkeitsfilm bzw. Tränenfilm; die obersten Schichten der Hornhaut **8a** wurden in den mit dem Bestrahlungsmuster **26** bestrahlten Bereichen direkt zur Emission von Fluoreszenzstrahlung **14** mit Hilfe der Anregungsstrahlung **2** angeregt. Zudem war vorher die Epithelschicht auf der Hornhaut **8a** entfernt worden. Alternativ wird die Epithelschicht nach entsprechendem Einritzen mit einem Teil des darunter liegenden Stromas aus dem Strahlengang der Anregungsstrahlung weggeklappt und nach der Operation wieder in die ursprüngliche Position gebracht.

Die in der **Fig. 3** nach oben enger zusammenrückenden Streifen sind eine Folge der perspektivischen Verzerrung aufgrund der gegenüber der Bestrahlungsrichtung geneigten Beobachtungsrichtung bzgl. des Auges **8b** (s. **Fig. 1**; dort entspricht die der Detektionsvorrichtung **12** zugewandte Gewebeseite dem unteren Bereich des Fluoreszenzmusters **27** in **Fig. 3**, während die der Detektionsvorrichtung **12** abgewandte Gewebeseite dem oberen Bereich des Fluoreszenzmusters **27** entspricht).

Während die oben aufgeführten Ausführungsbeispiele jeweils hinsichtlich der Vermessung der Oberflächenform einer Augenhornhaut erläutert wurden, sind das erfindungsgemäße Verfahren bzw. die erfindungsgemäße Vorrichtung ohne Einschränkung ebenfalls geeignet, in entsprechender Weise an anderen biologischen Geweben eingesetzt zu werden.

Im folgenden werden unter Bezugnahme auf die **Fig. 4** die wesentlichen mathematischen Zusammenhänge erläutert, die für die Auswertung der emittierten Fluoreszenzstrahlung bei einem auf ein biologisches Gewebe **8a** projizierten Streifenmuster (das Bestrahlungsmuster) ausgenutzt werden. Die Pfeile x bzw. y in **Fig. 4** deuten jeweils die Bestrahlungs- bzw. Beobachtungsrichtung an. Mit p ist der auf dem Objekt bzw. dem Gewebe **8a** erzeugte Streifenabstand bezeichnet. Die Größe d ist der Abstand der Streifen, wie er vom Beobachter unter dem Winkel α wahrgenommen wird. Die effektive Wellenlänge, die eine der wesentlichen Größen bei der Auswertung des Streifenmusters darstellt, ist mit λ_{eff} bezeichnet.

Eine wesentliche Größe ist der Abstand der Streifen senkrecht zur Beobachtungsrichtung, der auch als die effektive Wellenlänge λ_{eff} bezeichnet wird und sich in Anlehnung an **Fig. 4** nach der folgenden Formel berechnen läßt:

$$\lambda_{\text{eff}} = p/\sin\alpha = d/\tan\alpha = \beta L/\sin\alpha \quad (1)$$

In Gleichung 1 ist α der Winkel zwischen Bestrahlungs- und Beobachtungsrichtung. L ist der Streifenabstand auf dem Bestrahlungsmuster, das über das Linsensystem **6** mit dem Vergrößerungsfaktor β auf der Oberfläche des Objekts bzw. dem Gewebe **8a** abgebildet wird. Die Größe d ist der Streifenabstand aus der Perspektive des Beobachters.

Die effektive Wellenlänge λ_{eff} ist analog zur Interferometrie eine wichtige Größe, nach der sich die Empfindlichkeit des Systems bestimmt. Aus Gleichung 1 ist ersichtlich, daß sich λ_{eff} durch die Variation des Winkels α und den Streifenabstand L verändern läßt. Je nach verwendetem Projektionsverfahren beträgt die Höhenauflösung bis zu $\lambda/100$.

Wird ein Projektionsgitter mit einem \cos^2 -förmigen Intensitätsverlauf verwendet, so entsteht durch dessen Projektion auf der Oberfläche des Meßobjekts bzw. dem Gewebe **8a** eine Intensitätsstruktur $I(x, y)$, die durch Gleichung 2 beschrieben werden kann:

$$I(x, y) = I_0(x, y) + V(x, y)\cos\phi(x, y) \quad (2)$$

Dabei ist $I_0(x, y)$ die Hintergrundintensität, $V(x, y)$ der Streifenkontrast und $\phi(x, y)$ die Interferenzphasenlage. Der Phasenterm $\phi(x, y)$ stellt den Zusammenhang zwischen den parallelen Streifenlinien und dem Konturverlauf der Oberfläche des Objekts bzw. des Gewebes **8a** dar. Der Konturverlauf ergibt sich quantitativ aus den Gleichungen 1 und 2 zu

$$z(x, y) = [\phi(x, y) \lambda_{\text{eff}}]/4\pi \quad (3)$$

Nach Gleichung 3 ist die schnelle und präzise Messung der Phase zur Bestimmung des Konturverlaufs unabdingbar. Aus der Echtzeitinterferometrie stehen hierfür eine Reihe sehr effektiver Phasenmeßverfahren zur Verfügung, die diese Aufgabe auf der Grundlage von Gleichung 2 erfüllen.

Als Phasenschiebungsverfahren bezeichnete Auswertemethoden bauen darauf auf, daß im Streifenmuster durch die Veränderung von optischen Parametern über dem gesamten Bild eine schrittweise, definierte Veränderung der Phasenlage um genau eine Periode vorgenommen wird. Dies geschieht beispielsweise durch das Verschieben des Referenzspiegels eines Interferometers oder das Verschieben des Projektionsgitters. Dieses Meßverfahren liefert eine Genauigkeit von bis zu $1/100$ der verwendeten Wellenlänge. Es zeichnet sich allerdings durch einen oft nur schwer zu realisierbaren technischen Aufwand und durch einen längeren Meß- und Auswertevorgang im Vergleich zur Einzelbildpro-

jektion und -auswertung aus.

Daher ist es von Vorteil, wenn die Phasenermittlung nur eine Aufnahme erfordert. In der Echtzeitinterferometrie werden hierfür räumliche Heterodyn- oder Trägerfrequenzverfahren verwendet. Dabei wird dem Signal eine Ortsträgerfrequenz f_0 aufgeprägt, so daß sich Gleichung 2 ändert in:

$$I(x, y) = I_0(x, y) + V(x, y)\cos\{2\pi f_0 x + \phi(x, y)\} \quad (4)$$

Mit der Gleichung

$$c(x, y) = \frac{1}{2}V(x, y) \exp\{i\phi(x, y)\} \quad (5)$$

ergibt sich Gleichung 4 zu

$$I(x, y) = I_0(x, y) + c(x, y) \exp\{2\pi i f_0 x\} + c^*(x, y) \exp\{-2\pi i f_0 x\} \quad (6)$$

Dabei bedeutet * komplex konjugiert.

Die Funktion $c(x, y)$ erhält man daraus über eine Fouriertransformation und eine Rücktransformation nach Filterung. Die Phase ergibt sich sodann zu

$$\phi(x, y) = \tan^{-1}\{\text{Im}[c(x, y)]/\text{Re}[c(x, y)]\} \quad (7)$$

Hier sind Im der Imaginär- und Re der Realteil der komplexen Funktion $c(x, y)$.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Bestimmung der Oberflächenform von biologischem Gewebe, bei dem das Gewebe (8a) direkt mit einem mit Hilfe einer Anregungsstrahlung (2) erzeugten Bestrahlungsmuster (26) bestrahlt wird, so daß die bestrahlten Gewebebereiche zur Emission eines aus Fluoreszenzstrahlung (14) bestehenden Fluoreszenzmusters (27) angeregt werden, welches detektiert und zur Berechnung der Oberflächenform des Gewebes (8a) ausgewertet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das zu vermessende Gewebe (8a) die Hornhaut (8a) eines Auges (8b) ist.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß vor der Bestimmung der Oberflächenform der Hornhaut (8a) der Tränenfilm auf der Hornhaut (8a) entfernt wird.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß vor der Bestimmung der Oberflächenform der Hornhaut (8a) die Epithelschicht der Hornhaut (8a) zumindest vorübergehend derart aus dem Strahlengang der Anregungsstrahlung (2) entfernt wird, daß das unter der Epithelschicht liegende stromale Gewebe direkt mit dem Bestrahlungsmuster bestrahlt wird.
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Fluoreszenzstrahlung (14) emittierenden Gewebebereiche im wesentlichen mit einer im ultravioletten (UV) Wellenlängenbereich liegenden Anregungsstrahlung (2) angeregt werden.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das biologische Gewebe (8a) aus mindestens zwei Richtungen mit der Anregungsstrahlung (2) bestrahlt wird.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Fluoreszenzstrahlung (14) mit mindestens einer Detektionsvorrichtung (12, 22), vorzugsweise einer CCD-Kamera (12,

22), detektiert wird.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Fluoreszenzstrahlung (14) ortsaufgelöst detektiert wird.

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Fluoreszenzstrahlung (14) unter einem von der Bestrahlungsrichtung verschiedenen Winkel (θ) detektiert wird.

10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Fluoreszenzstrahlung (14) zumindest teilweise von einer Lichtumlenkvorrichtung zu einer Detektionsvorrichtung (12, 22) umgeleitet und dort detektiert wird.

11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Anregungsstrahlung (2) im Wellenlängenbereich von 150 nm bis 370 nm gewählt wird.

12. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Emissionsdauer der Anregungsstrahlung (2) zwischen 1 fs und mehreren Sekunden gewählt wird.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß ein Eye-Tracker Informationen über typische Bewegungsabläufe des Auges aufzeichnet, mit deren Hilfe die Anregungsstrahlung (2) dem Auge (8b) nachgeführt wird, um lange Bestrahlungszeiten zu realisieren.

14. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Bestrahlungsmuster (26) auf das Gewebe (8a) mit einer Wiederholrate zwischen 1 Hz und 1 MHz projiziert wird.

15. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Energie der Anregungsstrahlung (2) zwischen 1 μ J und 1 J gewählt wird.

16. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Anregungsstrahlung (2) mit einer als Laser (1) oder Blitzlampe ausgebildeten Strahlungsquelle (1) erzeugt wird.

17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß als Laser (1) ein frequenzvervielfachter Festkörperlaser, ein Excimerlaser, ein anderer Gaslaser oder ein frequenzvervielfachter Farbstofflaser verwendet wird.

18. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß als Blitzlampe eine ein Xenon-Gasgemisch oder ein Deuterium-Gasgemisch enthaltende Blitzlampe verwendet wird.

19. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Bestrahlungsmuster (26) ein Muster aus parallelen Streifen, ein rechtwinkliges Gitter, ein Lochmuster, ein Muster aus mehreren konzentrischen Kreislinien mit radial vom Zentrum ausgehenden und mit gleichem Winkelabstand angeordneten Linien oder ein aus zwei Linienmustern bestehendes Moiré-Muster gewählt wird.

20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß das Bestrahlungsmuster (26) zumindest teilweise durch die optische Abbildung einer Maske (4) mit Öffnungen in Form von parallelen Schlitzen oder regelmäßig angeordneten Löchern erzeugt wird.

21. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Bestrahlungsmuster (26) zumindest teilweise durch die optische Abbildung eines strukturierten Glases mit die Anregungsstrahlung (2) absorbierenden und/oder streuenden sowie für die Anregungsstrahlung (2) transparenten Bereichen erzeugt wird.

22. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Bestrahlungsmuster (26) zumindest teilweise durch Interferenz der Anregungsstrahlung (2) erzeugt wird, insbesondere durch Teilen und anschließendes Rekombinieren der von einer Strahlungsquelle (1) erzeugten Anregungsstrahlung (2) oder durch Bestrahlen des Gewebes (8a) mit einer Anregungsstrahlung (2), die von zwei aufeinander abgestimmte Strahlungsquellen (1) erzeugt wird.
23. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Bestrahlungsmuster (26) zumindest teilweise durch diffraktive optische Elemente, vorzugsweise Mikrolinsen, erzeugt wird.
24. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Bestrahlungsmuster (26) zumindest teilweise durch eine regelmäßige Anordnung von Mikrospiegeln erzeugt wird.
25. Verfahren nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Oberflächenform des Gewebes (8a) von einer Auswerteeinheit berechnet wird, die mittels der berechneten Oberflächenform einen Laser steuert.
26. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß der von der Auswerteeinheit gesteuerte Laser und die zur Fluoreszenzanregung des biologischen Gewebes (8a) verwendete Strahlungsquelle (1), vorzugsweise ein UV-Laser (1), übereinstimmen.
27. Vorrichtung zur Ermittlung der Oberflächenform von biologischem Gewebe, insbesondere zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 26, mit mindestens einer Strahlungsquelle (1) zum Erzeugen einer Anregungsstrahlung (2), Mitteln (4) zum Erzeugen eines Bestrahlungsmusters (26) aus der Anregungsstrahlung (2) direkt auf dem Gewebe (8a), so daß die bestrahlten Gewebebereiche zur Emission eines aus Fluoreszenzstrahlung (14) bestehenden Fluoreszenzmusters (27) angeregt werden, mindestens einer Detektionsvorrichtung (12) zum Detektieren der vom Gewebe (8a) emittierten Fluoreszenzstrahlung (14) und einer Auswerteeinheit zur Berechnung der Oberflächenform des Gewebes (8a) aus der detektierten Fluoreszenzstrahlung (14).
28. Vorrichtung nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, daß die Strahlungsquelle (1) eine Anregungsstrahlung (2) mit im wesentlichen im ultravioletten (UV) Wellenlängenbereich liegender Wellenlänge erzeugt.
29. Vorrichtung nach Anspruch 27 oder 28, dadurch gekennzeichnet, daß die Strahlungsquelle (1) als Laser (1), vorzugsweise als frequenzvervielfachter Festkörperlaser, Excimerlaser, Gaslaser oder frequenzvervielfachter Farbstofflaser, oder als Blitzlampe, vorzugsweise mit einem Xenon- oder einem Deuterium-Gasgemisch gefüllt, ausgebildet ist.
30. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 29, gekennzeichnet durch mindestens eine weitere Strahlungsquelle (1) und/oder mindestens eine Einrichtung zur Aufteilung der Anregungsstrahlung (2), um das biologische Gewebe (8a) aus mindestens zwei Richtungen mit der Anregungsstrahlung (2) zu bestrahlen.
31. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 30, gekennzeichnet durch mindestens eine zusätzliche Detektionsvorrichtung (22) zum Detektieren der das Fluoreszenzmuster (27) bildenden Fluoreszenzstrahlung (14).
32. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 31, gekennzeichnet durch mindestens eine Lichtumlenk-

- einrichtung zur Umlenkung von Fluoreszenzstrahlung (14) zu einer Detektionsvorrichtung (12, 22).
33. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 32, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel (4) zum Erzeugen des Bestrahlungsmusters (26) eine Maske (4) mit Öffnungen in Form von parallelen Schlitzten oder regelmäßig angeordneten Löchern umfassen.
34. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 33, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel (4) zum Erzeugen des Bestrahlungsmusters (26) ein strukturiertes Glas mit die Anregungsstrahlung (2) absorbierenden und/oder streuenden sowie für die Anregungsstrahlung (2) transparenten Bereichen umfassen.
35. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 34, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel (4) zum Erzeugen des Bestrahlungsmusters (26) eine vorzugsweise regelmäßige Anordnung von quer zum Strahlengang der Anregungsstrahlung (2) angeordneten diffraktiven optischen Elementen, vorzugsweise Mikrolinsen, umfassen.
36. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 35, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel (4) zum Erzeugen des Bestrahlungsmusters (26) Mittel zum Erzeugen eines Interferenzmusters auf dem biologischen Gewebe (8a) umfassen.
37. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 36, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel (4) zum Erzeugen des Bestrahlungsmusters (26) mindestens ein Feld aus Mikrospiegeln umfassen.
38. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 37, dadurch gekennzeichnet, daß die Detektionsvorrichtung (12) eine CCD-Kamera (12) umfaßt.
39. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 38, dadurch gekennzeichnet, daß die Strahlungsquelle (1) hinsichtlich Intensität, Pulsdauer, Wiederholrate und Wellenlänge der Anregungsstrahlung (2) zur operativen Behandlung des biologischen Gewebes (8a), wie beispielsweise der bereichsweisen Abtragung einer Hornhaut (8a), ausgebildet ist.
40. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 39, gekennzeichnet durch einen Intensitätsabschwächer (15) oder einen Strahlauflerter zwischen der mindestens einer Strahlungsquelle (1) und dem biologischen Gewebe (8a) zum Einführen und Herausnehmen aus dem Strahlengang der Anregungsstrahlung (2).
41. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 40, gekennzeichnet durch einen Eye-Tracker zum Ermitteln von Informationen über typische Augenbewegungen, mit deren Hilfe Anregungsstrahlung (2) dem Auge (8b) nachgeführt wird, um die Bestrahlungszeiten des Bestrahlungsmusters (26) auf die Hornhaut (8a) zu verlängern.
42. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 41, dadurch gekennzeichnet, daß ein Computer vorgesehen ist, der die Oberflächenform des Gewebes (8a) ermittelt, die zur Steuerung eines Lasers herangezogen wird.
43. Vorrichtung nach Anspruch 42, dadurch gekennzeichnet, daß der von dem Computer gesteuerte Laser und die zur Fluoreszenzanregung des biologischen Gewebes (8a) verwendete Strahlungsquelle (1), vorzugsweise ein UV-Laser (1), übereinstimmen.

Hierzu 4 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

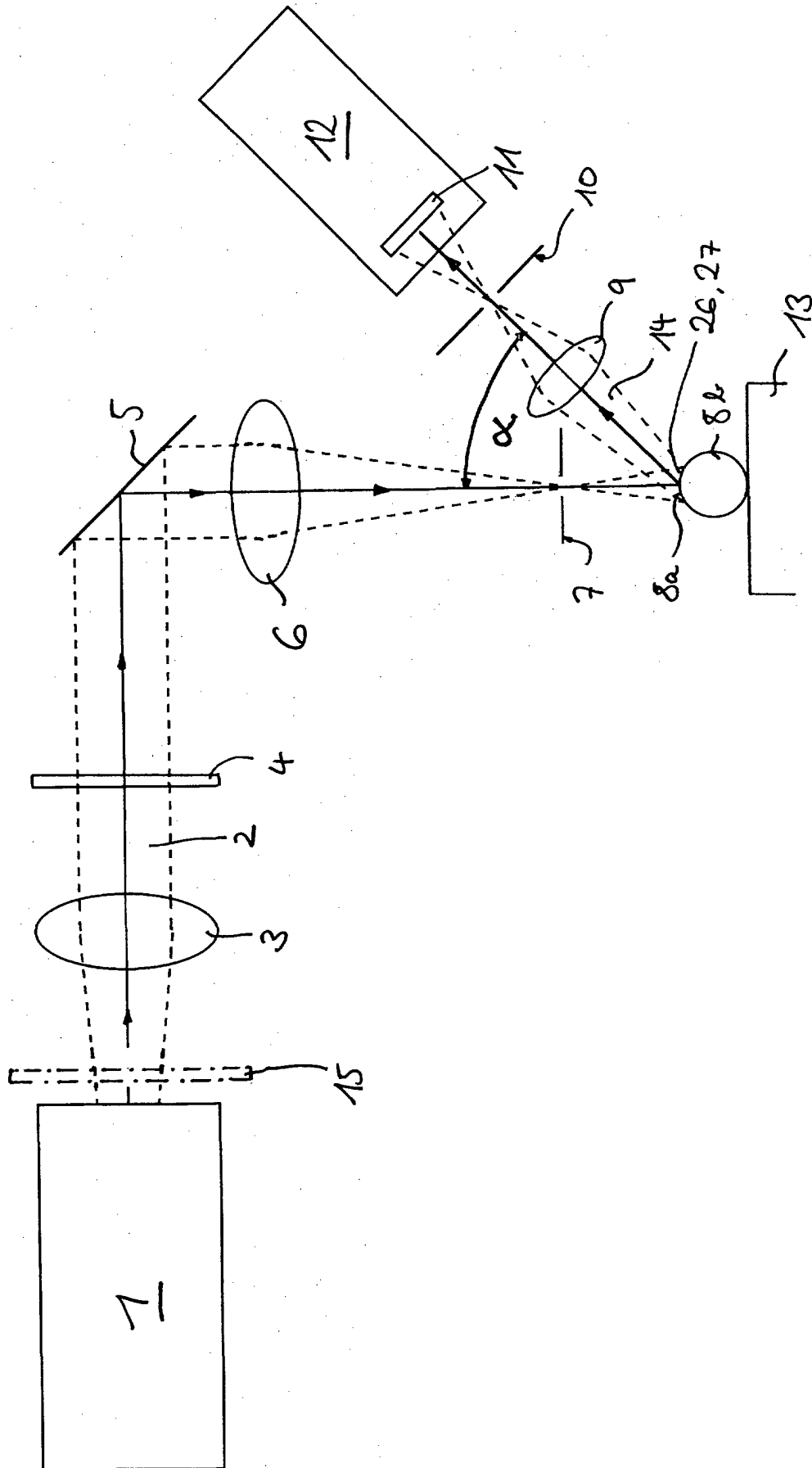


Fig. 1

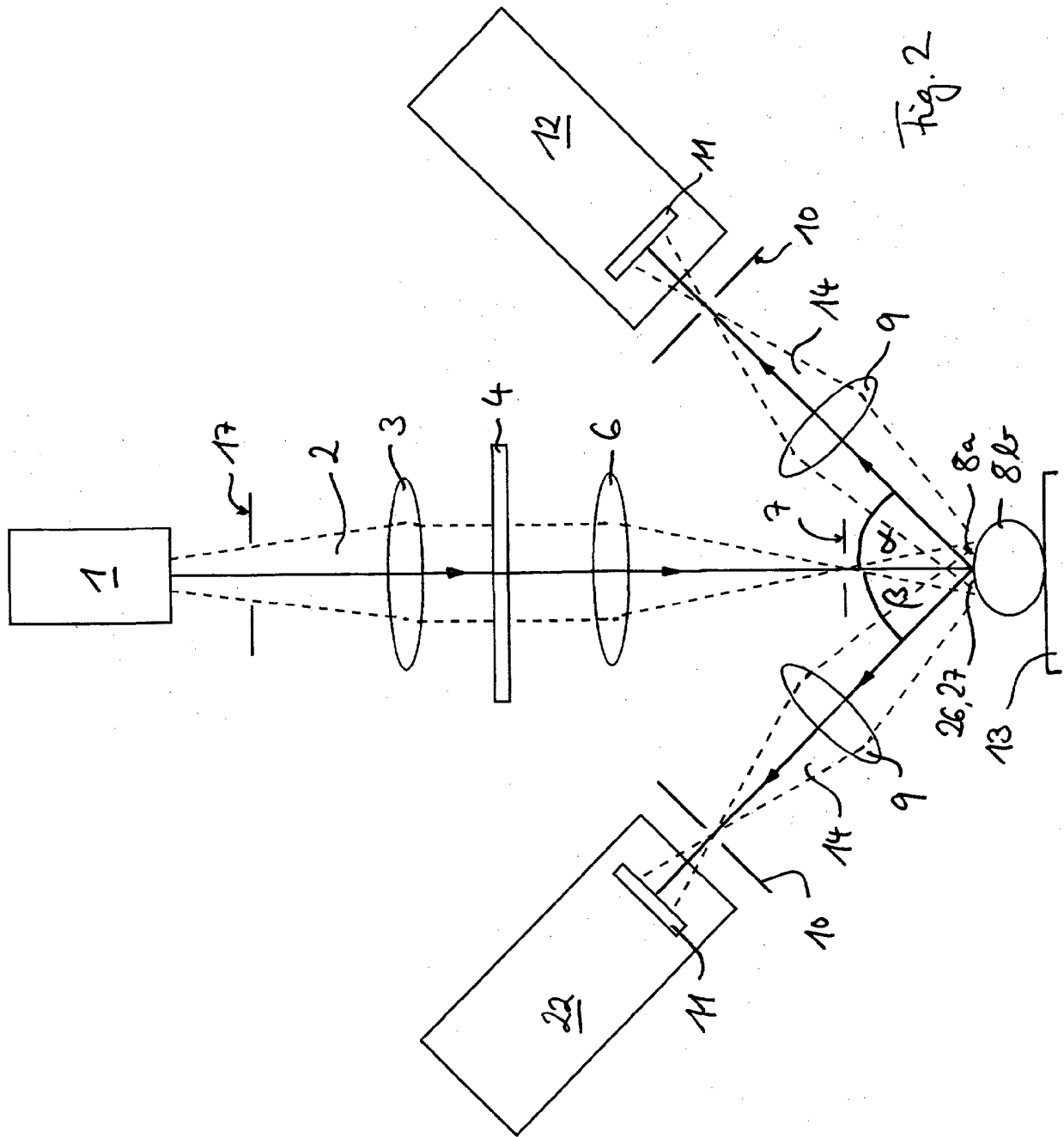


Fig. 2

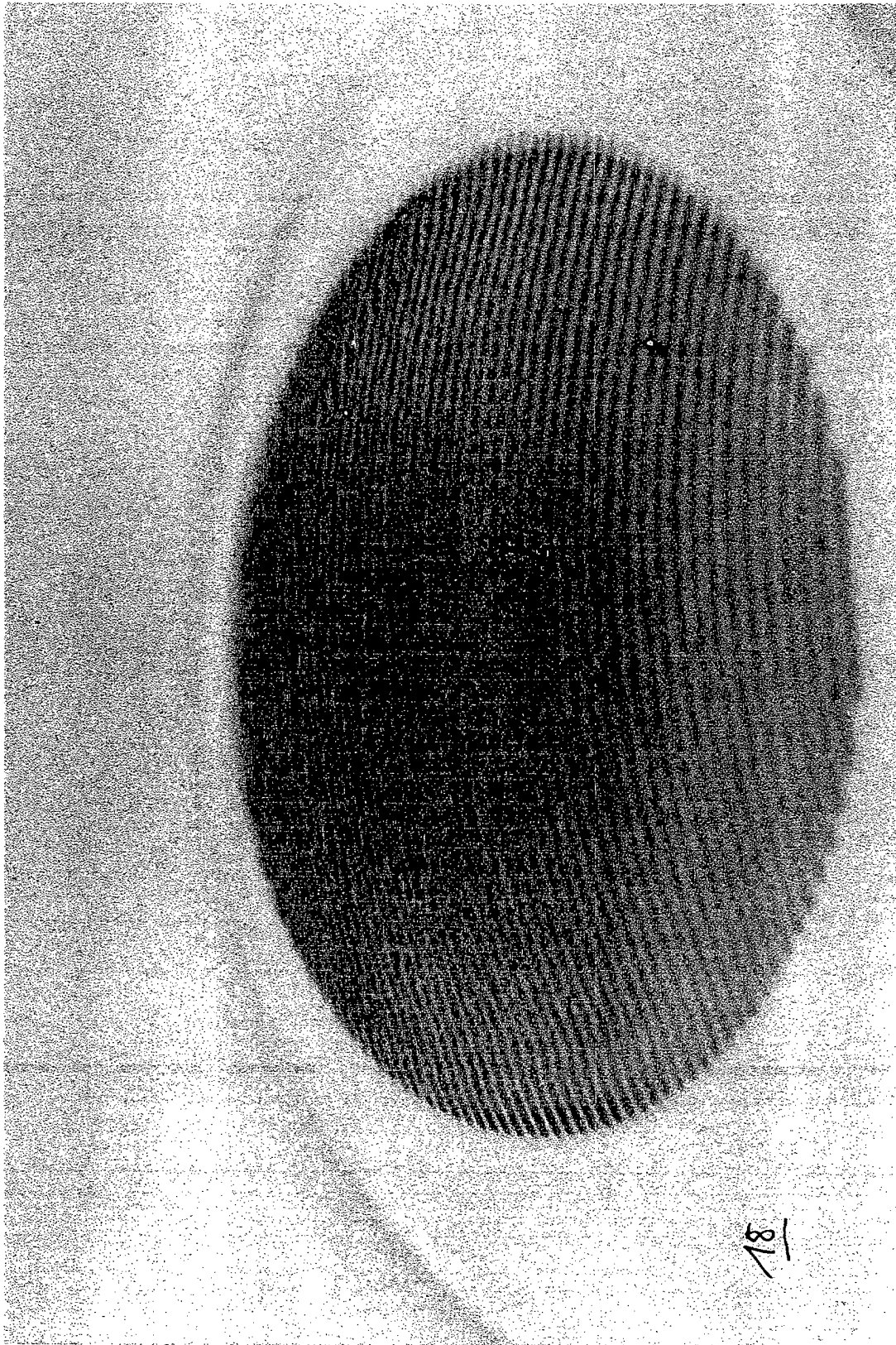


Fig. 3

18

