

**Aus der Klinik für Pferde und der Klinik für Kleine Haustiere  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

**Ultrasonographische Biometrie des  
wachsenden Pferdeauges und Untersuchung  
der erkrankten Kornea mit hochfrequentem  
Ultraschall und Ultraschallbiomikroskopie**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von  
Lena Elizabeth Herbig, geb. Horn  
Tierärztin aus Freiburg im Breisgau**

**Berlin 2017  
Journal-Nr.: 3971**



Aus der Klinik für Pferde und der Klinik für Kleine Haustiere  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

**Ultrasonographische Biometrie des wachsenden Pferdeauges  
und Untersuchung der erkrankten Kornea  
mit hochfrequentem Ultraschall und Ultraschallbiomikroskopie**

**Inaugural Dissertation**  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Lena Elizabeth Herbig, geb. Horn  
Tierärztin  
aus Freiburg im Breisgau

Berlin 2017  
Journal-Nr.: 3971

**Gedruckt mit Genehmigung  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Corinna Eule  
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Gehlen  
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Heinz Lahrman

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):  
horses; eyes; cornea; ultrasonography; ultrasound; microscopy;  
developmental stages; biometry; keratitis

Tag der Promotion: 21.07.2017

# INHALTSVERZEICHNIS

## Abkürzungsverzeichnis

<b>I. EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>II. PUBLIKATIONEN</b>	<b>4</b>
<b>1. Publikation I</b>	<b>4</b>
1.1. Central corneal thickness measurements and ultrasonographic study of the growing equine eye	4
1.2. Abstract	5
<b>2. Publikation II</b>	<b>6</b>
2.1. High resolution imaging of the equine cornea with the DUB®-SkinScanner v3.9	6
2.2. Abstract	7
<b>III. ZUSAMMENFASSENDE DISKUSSION</b>	
<b>1. Diskussion der Studie: Dickenbestimmung der zentralen Kornea und ultrasonographische Untersuchung des wachsenden Pferdeauges</b>	<b>8</b>
1.1. Patienten und Voruntersuchung	8
1.2. Durchführung der CCT-Messungen	8
1.3. Durchführung der Messungen der axialen Distanzen	9
1.4. Diskussion der Ergebnisse der CCT Messungen	9
1.5. Diskussion der Ergebnisse der Messungen der axialen Distanzen	12
1.6. Schlussfolgerungen der Studie	15
<b>2. Diskussion der Studie: Hochauflösende Darstellung der Hornhaut des Pferdes mit dem DUB®-SkinScanner v3.9</b>	<b>16</b>
2.1. Patienten und Untersuchung	16
2.2. Darstellung der Hornhaut	16
2.3. Ergebnisse	17
2.4. Diskussion der Ergebnisse	17
2.5. Schlussfolgerungen und klinische Relevanz	22

<b>IV. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>24</b>
<b>V. SUMMARY</b>	<b>26</b>
<b>VI. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>28</b>
<b>VII. ANHANG</b>	<b>39</b>
<b>1. Publikationsliste</b>	<b>39</b>
1.1. Abstract zur Posterpräsentation	40
1.2. Abstract zum Vortrag	41
1.3. Publikation I	42
1.4. Publikation II	52
<b>2. Danksagung</b>	<b>59</b>
<b>3. Selbständigkeitserklärung</b>	<b>60</b>

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A-Mode	amplitude Mode / Amplituden Modus
ACD	anterior chamber depth / Tiefe der vorderen Augenkammer
AGL	axial globe length / axiale Bulbuslänge
B-Mode	brightness Mode / Helligkeits Modus
CCT	central corneal thickness / zentrale Hornhautdicke
CCT <sub>22</sub>	mean CCT measured with the 22 MHz probe / Durchschnittswert der mit dem 22 Mhz Schallkopf gemessenen zentralen Hornhautdicke
CCT <sub>50</sub>	mean CCT measured with the 50 MHz probe / Durchschnittswert der mit dem 50 Mhz Schallkopf gemessenen zentralen Hornhautdicke
CCT <sub>22+50</sub>	mean CCT $((CCT_{22} + CCT_{50})/2)$ / Durchschnitts CCT $((CCT_{22} + CCT_{50})/2)$
C.E.	Corinna Eule
CLT	crystalline lens thickness / Linsendicke
CV	coefficient of variation / Varianzkoeffizient
DE	Descemet's layer endothelium complex / Komplex der Descemetschen Membran und des Endotheliums
Fig.	figure / Abbildung
HF	high frequency ultrasound / Hochfrequenzultraschall
IOP	intraocular pressure / Augeninnendruck
L.H.	Lena Herbig
mg/kg	milligram per kilogram / Milligram pro Kilogram
MHz	megahertz / Megahertz
mm	millimeter / Millimeter
NaCl	sodium chloride / Natriumchlorid
SD-OCT	Spectral domain optical coherence tomography / hochauflösende optischer Kohärenztomographie

SLB	Slit-lamp biomicroscopy / Spaltlampen Biomikroskopie
UBM	ultrasound biomicroscopy / Ultraschall Biomikroskopie
VCD	vitreous chamber depth / Tiefe des Glaskörperaums
μm	micrometer / Mikrometer

## I. EINLEITUNG

Seit mehreren Jahren nimmt das Fachgebiet der Ophthalmologie in der Tiermedizin und dementsprechend auch beim Pferd einen immer größeren Stellenwert ein. Verschiedene Erkrankungen des Pferdeauges können zu einem Verlust der Transparenz des vorderen Augenabschnitts und der Linse führen. Entgegen den etablierten Untersuchungstechniken wie Spaltlampen-Biomikroskopie und Ophthalmoskopie ist die Anwendung von Ultraschall nicht abhängig von der Lichtdurchlässigkeit der darzustellenden Strukturen. Die Ultraschalluntersuchung des Pferdeauges mit Frequenzen zwischen 7,5 und 10 MHz ist eine etablierte, nicht-invasive, sichere und praktische Methode zur Erhebung biometrischer Daten, aber auch eine Ergänzung zur klinischen Untersuchung, Diagnosefindung und Therapieüberwachung (Townsend et al., 2013; McMullen Jr & Gilger, 2006; McMullen & Utter, 2010; Mettenleiter, 1995b; Mettenleiter, 1995a; Scotty et al., 2004; Scotty, 2005; Diaz, 2004; Valentini et al., 2010). In der Humanmedizin sind hochfrequenter Ultraschall (HF) und vor allem Ultraschallbiomikroskopie (UBM) etablierte Werkzeuge zur Darstellung des vorderen Augensegments mit axialen Auflösungen von bis zu 15  $\mu\text{m}$  (Pavlin et al., 1990; Pavlin & Foster, 1998; Pavlin & Foster, 1995; Foster et al., 2000). Durch Pavlin und Foster wurde der Frequenzbereich der HF-Geräte zwischen 10 bis 38 MHz und der Frequenzbereich der UBM-Geräte zwischen 40 bis 100 MHz festgelegt (Pavlin & Foster, 1995). Im Vergleich zu niederfrequenteren Ultraschallgeräten haben HF und UBM eine höhere Auflösung. Aus der stärkeren Absorption der hochfrequenten Ultraschallwellen resultiert eine geringere Gewebepenetrationstiefe, wodurch der Einsatzbereich von HF und UBM beschränkt wird (Ye et al., 1995). In der Humanmedizin werden verschiedene Anwendungsbereiche wie z.B. die Darstellung der Augen, der Haut und der Knorpelstrukturen, die intravaskuläre, die endoluminale Bildgebung und die Bildgebung in der Zahnheilkunde beschrieben (Cammarota et al., 1998; Turnbull et al., 1995b; Grégoire et al., 2006; Saied et al., 1997; von Birgelen et al., 1997; Fukukita et al., 1985; Foster et al., 2000). In der Forschung werden HF und UBM zur Bildgebung bei Kleintieren und in der Entwicklungsbiologie eingesetzt (Foster et al., 2000; Turnbull et al., 1995a; Srinivasan et al., 1998).

Beim Menschen sind HF und vor allem UBM etablierte In-Vivo-Bildgebungsverfahren zur Darstellung des vorderen Augenabschnitts auf nahezu mikroskopischer Ebene. Anwendungen wie die Biometrie des vorderen Augenabschnitts, die Bewertung von Tumoren des Vordersegments, die Kammerwinkeldiagnostik, die Messung der Hornhaut, die Irisdiagnostik sowie die intraokulare Beurteilung der Linse und die Untersuchung traumatisierter Augen werden beschrieben (Pavlin et al., 1990; Pavlin et al., 1994; Pavlin et al., 1992a; Pavlin et al., 1992b; Pavlin & Foster, 1995; Pavlin & Foster, 1998; Mandell et al., 2003; Pavlin et al., 1991; Trope et al., 1994; Avitabile et al., 1997). Bei Kaninchen, Meerschweinchen, Katzen, Hunden, Schweinen, Ziegen und Pferden wurde ebenfalls der Einsatz von HF und/oder UBM zur Darstellung und Kartographie des vorderen Augensegments sowie zur Augenuntersuchung unter klinischen Bedingungen beschrieben (Bentley et al., 2003; Bentley et al., 2005; Bartholomew et al., 1997; Crumley et al., 2009; Hoffmann et al., 2004; Hoffmann & Köstlin, 2004; Aubin et al., 2003; Cronau & Gerhards, 2004; Ribeiro et al., 2009; Rose et al., 2008; Kawata et al., 2010; Kawata & Hasegawa, 2013; Gibson et al., 1998; Moodie et al., 2001). Nach unserem Kenntnisstand gibt es nur einen Fallbericht über die Verwendung von HF zur Untersuchung einer erkrankten Kornea eines einzigen Pferdes mit einer Frequenz von 20 MHz (Bentley et al., 2003). Messungen der Kornea wurden bei Pferden bisher mit Ultraschall-Pachymetrie, mit optischer Kohärenztomographie (SD-OCT) und mit in-vivo konfokaler Mikroskopie durchgeführt und es gibt keine Berichte über den Einsatz von HF und UBM zur Biometrie der Hornhaut (Plummer et al., 2003; Ramsey et al., 1999; van der Woerd et al., 1995; Svaldenienė et al., 2004; Andrew et al., 2001; Ledbetter & Scarlett, 2009; Pirie et al., 2014). Ebenso gibt es keine Informationen zu der Untersuchung und Beurteilung des vorderen Augensegments des Pferdes mit UBM.

Ziel dieser Arbeit ist es, in einem ersten Schritt verschiedene biometrische Daten der Augen von 50 jungen, augengesunden Warmblutpferden zu ermitteln. Hierzu wurde die zentrale Hornhautdicke mit HF (22 MHz) und UBM (50 MHz) gemessen und die axialen Strukturen wurden mit B-Mode Ultraschall (10 MHz) dargestellt und vermessen. Es wurde zudem ermittelt, ob eine Abhängigkeit zwischen den ermittelten Werten und dem Alter besteht.

In einem zweiten Schritt wurden verschiedene Erkrankungen der Hornhaut mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 unter klinischen Bedingungen untersucht. Um die Vorteile und Nachteile im Vergleich zur Spaltlampen Untersuchung zu ermitteln, wurde die Kornea von einem Pony und 7 Pferden mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 dargestellt. Zudem wurden die Ergebnisse mit der vorangehenden Spaltlampen Untersuchung verglichen

## **II. PUBLIKATIONEN**

### **1. Publikation 1**

1.1. Central corneal thickness (CCT) measurements and ultrasonographic study of the growing equine eye

Accepted for publishing by Veterinary Ophthalmology in January 2015.

Lena E. Herbig, J. Corinna Eule

Small Animal Clinic, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany

Corresponding author:

J. Corinna Eule, Prof. Dr. med. vet. , DOK, DECVO

Klinik für kleine Haustiere

Freie Universität Berlin

Oertzenweg 19b

14163 Berlin

[Corinna.Eule@fu-berlin.de](mailto:Corinna.Eule@fu-berlin.de)

Die vollständige Originalpublikation müssen Sie online erwerben.

DOI: <https://doi.org/10.1111/vop.12252>

## 1.2. Abstract

### *Objective*

The aim of this study was to determine the central corneal thickness (CCT) of healthy equine eyes with high frequency ultrasound (HF) and ultrasound biomicroscopy (UBM) and to measure the axial dimensions with B-mode ultrasound. Additionally the influence of the age on the measured dimensions of the globe was analyzed.

### *Animals studied*

50 warm blood horses (mean age  $23.0 \pm 21.12$  months) were divided into 3 age groups (group 1: 0 to 6 months; group 2:  $\geq 7$  to 30 months; group 3:  $\geq 31$  to 78 months).

### *Procedure*

Corneal measurements were performed with a 22 MHz and a 50 MHz transducer. Crystalline lens thickness (CLT), vitreous chamber depth (VCD) and axial globe length (AGL) were measured at a frequency of 10 MHz. Anterior chamber depth (ACD) was calculated. The eyes were measured under general anesthesia non-related to this study.

### *Results*

The mean CCT of 50 eyes was  $818 \pm 41$   $\mu\text{m}$ . The mean values  $\pm$  SD in mm for axial dimensions were AGL  $34.7 \pm 2.7$ , ACD  $3.4 \pm 0.7$ , CLT  $10.0 \pm 0.9$  and VCD of  $20.4 \pm 1.5$ . A positive correlation with increasing age was found for all dimensions. No significant differences were found between the gender and the left or right eye.

### *Conclusion*

HF and UBM are valuable high-resolution imaging tools for CCT measurements in horses. The here obtained values support previous findings that a positive correlation with increasing age exists for CCT, ACD, CLT, VCD and AGL in horses.

Key words: horses, eye, high-frequency ultrasound, axial dimensions, corneal development, biometry

## 2. Publikation II

### 2.1. High resolution imaging of the equine cornea with the DUB®-SkinScanner v3.9

Accepted for publishing in Tierärztliche Praxis Großtier in Mai 2016

Lena E. Herbig<sup>1</sup>, Lothar Köhler<sup>2</sup>, J. Corinna Eule<sup>1</sup>

Small Animal Clinic, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany<sup>1</sup>

Faculty of Veterinary Medicine, Department for Large Animal Diseases with Clinic

Research Center for Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences (SGGW), Poland<sup>2</sup>

Corresponding author:

J. Corinna Eule, Prof. Dr. med. vet. , DOK, DECVO

Klink für kleine Haustiere

Freie Universität Berlin

Oertzenweg 19b

14163 Berlin

[Corinna.Eule@fu-berlin.de](mailto:Corinna.Eule@fu-berlin.de)

Die vollständige Originalpublikation können Sie online kostenlos

herunterladen. DOI: <https://doi.org/10.15653/TPG-160344>

## 2.2. Abstract

### *Objective:*

The aim was to describe the use of the DUB®-SkinScanner v3.9 (taberna pro medicum GmbH, Lueneburg, Germany) for the examination of the equine cornea.

### *Material and methods:*

With the DUB®-SkinScanner v3.9 various pathological corneal conditions in 9 eyes of 8 horses were pictured in the A- and B-Mode at a frequency of 22 and/or 50 MHz. Scans were obtained from standing horses or from horses under general anesthesia non-related to image acquisition.

### *Results:*

The examination allowed in-vivo real time imaging and measurement of the equine cornea. Compared to slit-lamp biomicroscopy additional information was obtained in 7 out of 9 eyes regarding the corneal thickness, in 4 of 9 eyes regarding the epithelium, in 5 of 9 eyes regarding the stroma and in 5 out of 9 eyes regarding the endothelium.

### *Conclusion and clinical relevance:*

The DUB®-SkinScanner v3.9 is a valuable high-resolution imaging tool for the evaluation of the equine cornea under practice conditions. The image acquisition is not dependent on corneal transparency and provides additional diagnostic information to the standard slit-lamp biomicroscopy.

Key words: ultrasound, eye, biometry, keratitis, equine

### **III. ZUSAMMENFASSENDE DISKUSSION**

#### **1. Diskussion der Studie: Dickenbestimmung der zentralen Kornea und ultrasonographische Untersuchung des wachsenden Pferdeauges**

Ziel dieser Studie war es, die zentrale Hornhautdicke (CCT) von 50 Pferden erstmals mit HF und UBM zu bestimmen und die axialen intraokularen Distanzen mit B-Mode Ultraschall zu messen. Zusätzlich wurde der Einfluss des Alters auf die ermittelten Abmessungen der Augen analysiert.

##### **1.1. Patienten und Voruntersuchung**

Für diese Studie wurden 50 augengesunde Pferde, bei denen elektive Operationen geplant waren, ausgewählt. Haupteinschlusskriterien waren ein junges Alter (unter 7 Jahren), keine Augenerkrankungen und ein guter Allgemeinzustand. Die Pferde wurden in drei Altersgruppen (Gruppe 1: 0 bis 6 Monate; Gruppe 2:  $\geq 7$  bis 30 Monate, Gruppe 3:  $\geq 31$  bis 78 Monate) unterteilt.

Eine ausführliche ophthalmologische Untersuchung einschließlich Spaltlampen-Biomikroskopie (SL-15, Kowa®, Tokio, Japan) und direkter Ophthalmoskopie (Heine Beta® 200 Ophthalmoskop, Heine, Herrsching Deutschland) wurde durch Lena Herbig (L.H.) durchgeführt. Nach erfolgter Lokalanästhesie der Hornhaut mit 0,6% Tetracainhydrochlorid-Augentropfen (Ophtocain® -N, Dr. Winzer Pharma GmbH, Berlin, Deutschland) wurden die Messungen unter Vollnarkose durch L.H. vorgenommen.

Das Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern wurde über die Durchführung der Untersuchungen im Voraus informiert. Nach Prüfung durch das Landesamt vertrat dieses Auffassung, dass es sich bei den vorgesehenen Behandlungen nicht um einen Tierversuch gem. §7 Abs. 1 Tierschutzgesetz handelte.

##### **1.2. Durchführung der CCT-Messungen**

Die Hornhaut wurde mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 t (Taberna pro medicum GmbH, Lüneburg, Deutschland) im A- und B-Mode dargestellt. Die Frequenz des HF-Schallkopfes betrug 22 MHz

(Gewebetiefe 4 mm, axiale Auflösung 74,6  $\mu\text{m}$ ) und die des UBM-Schallkopfes 50 MHz (Gewebetiefe 4,15 mm, axiale Auflösung 32,8  $\mu\text{m}$ ).

Für die Messung der Hornhaut wurde eine Schallgeschwindigkeit von 1,640 m/s gewählt (Ramsey et al., 1999; van der Woerdt et al., 1995; Andrew et al., 2001). Der Schallkopf wurde vorsichtig zentral auf der Hornhaut positioniert. Zur Ankopplung wurde warme Kochsalzlösung (NaCl 0,9% B. Braun®, B. Braun Melsungen AG OPM, Deutschland) in eine an die Krümmung des Pferdeauges angepasste Silikonkappe gespült. Mit Hilfe des Ultraschallprogramms wurden zur Berechnung des CCT Messlinien gesetzt. Die erste CCT-Messlinie wurde auf dem ansteigenden Teil des ersten Peaks im A-Mode positioniert. Im B-Mode entspricht dies der Vorderseite der Reflexion des Hornhautepithels. Die zweite Linie wurde auf dem abfallenden Bereich des Peaks, der die Descemetische Membran und das Endothel (DE) darstellt, positioniert. Dies entspricht im B-Mode der Rückseite des am meisten reflektierenden Bereichs der DE. Dieser Abstand wurde dreimal für jedes Auge mit je 22 MHz und 50 MHz gemessen und der Mittelwert wurde ausgerechnet.

### 1.3. Durchführung der Messungen der axialen Distanzen

Um die Linsendicke (CLT), die Tiefe des Glaskörperraums (VCD) und die axiale Bulbuslänge (AGL) auszumessen, wurden die Augen im B-Mode mit dem Echo Wave II 2.3.3® Ultraschallsystem (UAB "TELEMED", Vilnius, Litauen) mit einer Frequenz von 10 MHz dargestellt. Zur transkornealen Bildgebung wurde steriles Ultraschallgel auf den Linearschallkopf gegeben. Jedes Auge wurde mindestens 3 Mal in der Horizontalebene dargestellt und das beste Bild wurde ausgemessen. Die Messpunkte wurden auf der zentralen Sichtachse positioniert. Die CLT (Abstand zwischen der vorderen und hinteren Linsenkapsel), der VCD (Abstand zwischen der hinteren Linsenkapsel und der Sklera) und die AGL (Abstand zwischen Hornhaut-Epithel und der Lederhaut) wurden ausgemessen. Die Tiefe der vorderen Augenkammer (ACD) wurde anhand der gemessenen Werte berechnet.

### 1.4. Diskussion der Ergebnisse der CCT Messungen

Es wurden bisher verschiedene Techniken beschrieben, um die Hornhautdicke zu messen. Mit HF und vor allem UBM wurde das

menschliche Auge mit axialen Auflösungen von bis zu 15  $\mu\text{m}$  dargestellt und vermessen (Pavlin et al., 1990; Pavlin & Foster, 1998; Pavlin & Foster, 1995; Foster et al., 2000). Beim Pferd wurde die Hornhautdicke bisher vor allem mit Ultraschall-Pachymetrie bestimmt (Plummer et al., 2003; Ramsey et al., 1999; van der Woerd et al., 1995; Svaldenienė et al., 2004; Andrew et al., 2001). Hochauflösende bildgebende Verfahren wie die optischen Kohärenztomographie (SD-OCT) und die In-vivo konfokale Biomikroskopie wurden ebenfalls für die Biometrie der Pferdehornhaut beschrieben (Pirie et al., 2014; Ledbetter & Scarlett, 2009).

Unterschiedliche Vor- und Nachteile von HF und UBM müssen im Vergleich zu anderen Methoden zur Messung des CCT betrachtet werden. Mit UBM können nur intraokulare Strukturen bis zu einer Tiefe von 3 bis 6 mm untersucht werden (Foster et al., 2000; Pavlin et al., 1992a). Im Vergleich zur Pachymetrie haben HF und UBM eine höhere Auflösung, bieten die Möglichkeit Strukturen im B-Mode darzustellen und es ist möglich die Messpunkte an durch den Benutzer definierten Stellen zu platzieren (Pierro et al., 1998). Beim Menschen wurde eine hohe Korrelation zwischen CCT-Messungen, die sowohl mit UBM als auch mit Ultraschall-Pachymetrie durchgeführt wurden festgestellt (Pierro et al., 1998). Bei Katzen wurden CCT-Werte, die zuvor pachymetrisch ermittelt worden sind, mit Werten, die mit UBM gemessen worden sind, verglichen und es wurde festgestellt, dass UBM eine präzise Methode zur Biometrie des CCT sei (Moodie et al., 2001). Es wurde berichtet, dass die Reproduzierbarkeit der UBM-Messungen zwischen verschiedenen Untersuchern gering sei (Tello et al., 1994; Urbak et al., 1998; Bentley et al., 2005). Jedoch war die Reproduzierbarkeit der durch eine Person durchgeführten CCT-Messungen, vor allem wenn die Messpunkte zuvor klar definiert wurden, hoch (Tello et al., 1994; Urbak et al., 1998). Pavlin et al. definieren die Messpunkte zur Ermittlung der Dicke der menschlichen Hornhaut und diese wird von der äußeren Epitheloberfläche bis zur inneren Oberfläche des Hornhautendothels gemessen (Pavlin et al., 1992a). Urbak et al. setzen die Messpunkte im B-Scan im Bereich der stärksten Reflektion der äußeren und inneren Oberfläche der Hornhaut. Im A-Scan werden die Messpunkte auf die Spitzen der für das Epithel und Endothel stehenden Peaks oder auf die Hälfte der aufsteigenden Peaks gesetzt (Urbak et al., 1998). Ribeiro et al. misst den CCT von

Ziegen zwischen den Echosignalen der vorderen und hinteren Hornhautoberfläche (Ribeiro et al., 2009).

In dieser Studie wurden die CCT-Messungen durch einen Untersucher (L.H.) durchgeführt. Aufgrund der Größe und Form der HF- und UBM-Schallköpfe wurde nur die Mitte der Hornhaut vermessen. Je Auge wurden die Messungen mit dem 22 MHz- (axiale Auflösung 72  $\mu\text{m}$ ) und mit dem 50 MHz-Schallkopf (axiale Auflösung 31  $\mu\text{m}$ ) drei Mal durchgeführt. Die Messpunkte wurden auf die im A- und B-Mode zuvor genau definierte Strukturen gesetzt und der CCT mit Hilfe der integrierten Software gemessen. Die hier ermittelte intraobserver Reproduzierbarkeit der CCT-Messungen war hoch (CV 22 MHz transducer  $\leq 3.54\%$ , CV 50 MHz transducer  $\leq 2.75\%$ ).

In dieser Studie wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den mit dem HF- und dem UBM-Schallkopf ermittelten CCT-Werten festgestellt und ein Durchschnitts-CCT von  $818 \pm 41 \mu\text{m}$  wurde berechnet. Dieser Wert ist vergleichbar mit den Ergebnissen vorheriger in-vivo CCT-Messungen am Pferdeauge mit hochauflösenden bildgebenden Verfahren. In der Studie von Pirie et al. wurde der CCT mit SD-OCT ermittelt und Werte von  $812,0 \pm 44,1 \mu\text{m}$  (Beobachter A) und von  $812,9 \pm 42,9 \mu\text{m}$  (Beobachter B) wurden gemessen (Pirie et al., 2014). Mit in-vivo konfokaler Mikroskopie stellten Ledbetter & Scarlett einen CCT Wert von  $835 \mu\text{m}$  fest (Ledbetter & Scarlett, 2009). Die bisher mittels Ultraschall-Pachymetrie ermittelten CCT-Werte in in-vivo Studien bei Pferden waren tendenziell etwas kleiner als die in dieser Studie ermittelten Werte. Ramsey et al. maßen CCT Werte von  $770,0 \pm 7,5 \mu\text{m}$ , Plummer et al. Werte von  $785,6 \pm 2,98 \mu\text{m}$  und van der Woerdt et al. Werte von  $793 \pm 42,3 \mu\text{m}$  (Ramsey et al., 1999; Andrew et al., 2001; van der Woerdt et al., 1995).

Verschiedene Autoren haben zuvor den Zusammenhang zwischen dem CCT bei Pferden und deren Alter analysiert. Ramsey et al. fanden eine positive Korrelation zwischen dem Alter und der Hornhautdicke. Sie haben festgestellt, dass 95% des Wachstums bis zum Alter von 6 Monaten stattfindet und dass dieses mit dem Alter von 6 Jahren abgeschlossen ist (Ramsey et al., 1999). Bei Miniaturpferden fanden Plummer et al. zwar keinen Zusammenhang zwischen dem Alter und der Hornhautdicke. Allerdings stellten sie fest, dass bis zu einem Alter von 4 Monaten 95% der Entwicklung des CCT abgeschlossen war (Plummer et al., 2003). Andere Autoren beschrieben keinen

Zusammenhang zwischen Alter und CCT (van der Woerd et al., 1995; Andrew et al., 2001; Ledbetter & Scarlett, 2009; Pirie et al., 2013). In dieser Studie wurde eine moderat positive Korrelation mit dem Alter gefunden. Der Anstieg der CCT-Werte war jedoch nicht signifikant zwischen den einzelnen Gruppen.

Um die Entwicklung des CCT mit den anderen Augenstrukturen zu vergleichen, wurden die Zusammenhänge zwischen AGL, ACD, CLT, VCD und CCT analysiert. Für alle Pferde und für die einzelnen Gruppen wurde keine Korrelation des CCT mit diesen Strukturen gefunden. Dies zeigt, dass die Entwicklung des CCT unabhängig von den anderen gemessenen Augenstrukturen ist. Für alle männlichen und weiblichen Pferde wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den CCT-Werten gefunden.

#### 1.5. Diskussion der Ergebnisse der Messungen der axialen Distanzen

Die Biometrie des Pferdeauges wurde bereits im A-Mode, im B-Mode und parallel im A- und B-Mode untersucht (Townsend et al., 2013; McMullen & Utter, 2010; Plummer et al., 2003; Svaldenienė et al., 2004; Soroori et al., 2009; Rogers et al., 1986; Grinninger P. et al., 2010; Ramsey et al., 2000; Mouney et al., 2012). Die mit A- und B-Mode-Sonographie erhaltenen Messergebnisse von 90 Pferdeaugen korrelierten miteinander (Grinninger P. et al., 2010). Unterschiedliche Werte wurden bereits für die axialen Dimensionen des Pferdeauges ermittelt. Die Ergebnisse variieren zwischen 3,0 mm und 6,8 mm für ACD, für CLT zwischen 8,87 mm und 12,3 mm, für VCD zwischen 17,37 mm und 24,48 mm und der AGL variiert zwischen 32,9 mm und 43,1 mm (Svaldenienė et al., 2004; Soroori et al., 2009; Rogers et al., 1986; Grinninger P. et al., 2010; Mouney et al., 2012).

In dieser Studie wurden anhand der transkornealen Schalltechnik biometrische Werte der Augen von 50 jungen Pferden im B-Mode mit einer Frequenz von 10 MHz ermittelt. Die gemessenen Werte sind tendenziell kleiner als in Studien, in denen ausgewachsene Pferde untersucht wurden (McMullen Jr & Gilger, 2006; Grinninger P. et al., 2010; Mouney et al., 2012). Für junge Pferde wurden ähnliche Werte beschrieben, aber im Allgemeinen waren die ACD-Werte in dieser Studie niedriger (Townsend et al., 2013; Svaldenienė et al., 2004). Lediglich bei Miniaturpferden und enukleierten Augen wurden ähnliche

Distanzen gemessen (Soroori et al., 2009; Rogers et al., 1986). Verschiedene Gründe können die reduzierten ACD-Werte erklären. In den meisten Studien wurde die vordere Augenkammer als der Abstand zwischen dem Hornhautepithel und dem vorderen Pol der Linse definiert (Townsend et al., 2013; Plummer et al., 2003; Svaldenienė et al., 2004; Grinninger P. et al., 2010; Mouney et al., 2012). In dieser Studie wurde die ACD als der Abstand zwischen dem Hornhautendothel und dem vorderen Linsenpol definiert. Im Vergleich zu anderen Studien resultiert hieraus eine etwa  $0,818 \pm 0,041$  mm kleinere ACD. Während der Messungen wurde große Sorgfalt angewandt, eine Kompression der Hornhaut zu vermeiden. Es ist jedoch möglich, dass der geringe Druck durch den Schallkopf eine kleine Verringerung der ACD verursacht hat. Verschiedene Faktoren, wie die Gabe von Anästhetika, die Kopfposition sowie Tagesschwankungen, können zu einer Verringerung des IOP führen. Alle Pferde waren zum Zeitpunkt der Messungen in Vollnarkose. Nach der Verabreichung von alpha-2-Agonisten wurde bei Pferden eine Abnahme des IOP beobachtet (van der Woerd et al., 1995; Barnett et al., 1998; Holve, 2012). Nach Isoflurangabe wurde das Gleiche bei Mäusen und Ratten beschrieben (Jia et al., 2000; Ding et al., 2011). Mischungen verschiedener Anästhetika mit Ketamin führten ebenso zu einer Abnahme des IOP (Jia et al., 2000; Trim et al., 1985). Nach der Verabreichung von Ketamin wurde bei Pferden eine Erhöhung und bei Ratten eine Stabilisierung des IOP beobachtet (Jia et al., 2000; Autzen & Bjørnstrøm, 1989). Der IOP wurde im Rahmen dieser Studie nicht gemessen. Wir gehen aber davon aus, dass die Kombination der Anästhetika zu einer Abnahme des IOP führte.

Es wurde ebenfalls berichtet, dass auch die Kopfposition der Pferde einen Einfluss auf den IOP hat (Komaromy et al., 2006). Während der Narkose befand sich der Kopf der Pferde auf Herzhöhe und wir glauben, dass der IOP hierdurch nicht beeinflusst wurde.

Eine circadiane IOP-Rhythmik wurde bei dem Menschen und beispielsweise bei Primaten, Küken, Hasen und Pferden dokumentiert (Read et al., 2008; Frampton et al., 1987; Henkind et al., 1973; Liu & Farid, 1998; Nickla et al., 2001; Nickla et al., 2002; Papastergiou et al., 1998; Bertolucci et al., 2009). Es wurde ein möglicher Einfluss des IOP-Rhythmus auf die AGL festgestellt und beim Menschen korrelierten IOP Veränderungen mit Veränderungen in der AGL (Nickla et al., 2002; Usui et al., 2013; Leydolt et al., 2008). Wir haben keine Daten

über die Korrelationen zwischen IOP, AGL und anderen axialen Abmessung beim Pferd gefunden. Wahrscheinlich hat ein herabgesetzter IOP, resultierend aus der Arzneimittelgabe, zu kleineren ACD-Werten in dieser Studie geführt.

Zum besseren Verständnis des Wachstums des Pferdeauges wurden die Korrelationen zwischen dem Alter und den AGL-, ACD-, CLT- und VCD-Werten analysiert. Bei verschiedenen Tierarten wie Hunden, Ziegen, Büffeln und Kamelen wurde mit fortschreitendem Alter eine Vergrößerung der intraokulären Abmessungen dokumentiert (Soroori et al., 2009; Tuntivanich et al., 2007; Kassab, 2012; Ekestén & Torrang, 1995). Ähnliche Ergebnisse wurden auch für Pferde veröffentlicht (Plummer et al., 2003; Svaldenienė et al., 2004; Grinninger P. et al., 2010; Mouney et al., 2012). Wie zuvor berichtet, fanden wir in dieser Studie eine positive Korrelation zwischen AGL, ACD, CLT und VCD der 50 Augen und dem zunehmenden Alter (Plummer et al., 2003; Grinninger P. et al., 2010). AGL und CLT korrelierten am stärksten (jeweils  $r = 0,87$ ) mit dem Alter. Die gleiche Beobachtung wurde von Plummer et al. gemacht und der Rigidität der beiden Komponenten zugeschrieben (Plummer et al., 2003). In der vorliegenden Studie fanden wir eine deutliche Zunahme der ACD-, VCD-, CLT- und AGL-Werte bis zum Alter von  $48,71 \pm 11,95$  Monaten. Dies entspricht den Ergebnissen von Svaldenienė et al. die herausfanden, dass alle intraokulären Distanzen in 9 bis 10-jährigen Pferden größer waren als in 1 bis

4-Monate alten Fohlen (Svaldenienė et al., 2004). Plummer et al. stellten fest, dass 95% der maximalen Größe der ACD mit 3,5 Jahren erreicht wurde, CLT mit 20 Jahren, VCD nach 6 Monaten und AGL nach 2 Jahren (Plummer et al., 2003). Wie bei allen bisher veröffentlichten Studien handelt es sich bei unserer Studie um eine Einzelzeitaufnahme. Wir sind der Meinung, dass um das Wachstum des Pferdeauges zu analysieren, Messungen bei denselben Tieren über eine festgesetzte Zeit, wie es beispielsweise für die Hornhaut von Kühen, Katzen und Hunden beschrieben wurde, durchgeführt werden müssten (Moodie et al., 2001; Montiani-Ferreira et al., 2003; Montiani-Ferreira et al., 2004).

Um die Entwicklung der Augenstrukturen untereinander zu analysieren, wurden die Korrelationen zwischen den erhaltenen AGL-, ACD-, CLT- und VCD-Werten untersucht. Alle Werte der 50 Augen korrelierten

untereinander. In den einzelnen Gruppen waren nur AGL und VCD immer miteinander korreliert. Dies könnte ein Hinweis auf eine ähnliche Entwicklung dieser Parameter sein. Wir glauben, dass die gefundenen Abweichungen der Korrelationen zwischen den anderen axialen Distanzen aufgrund individueller Entwicklung und unterschiedlicher Wachstumsmuster, wie zuvor beispielsweise bei Hunden beobachtet, aufgetreten sind (Tuntivanich et al., 2007; Ekestén & Torrang, 1995). Zwischen den männlichen und weiblichen Pferden wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden. In Gruppe 3 wurde die Einzelbeobachtung gemacht, dass die AGL-Werte der weiblichen Pferde größer waren ( $p = 0,029$ ). Dieser Unterschied könnte auf das höhere Durchschnittsalter der weiblichen Pferde zurückzuführen sein. Jedoch war die Anzahl der Tiere klein ( $n = 4$ ).

#### 1.6. Schlussfolgerungen der Studie

Diese Studie zeigt erstmals, dass HF und UBM wertvolle Werkzeuge zur Darstellung und Messung der gesunden zentralen Pferdehornhaut sind. Beide Schallköpfe lieferten keine signifikant unterschiedlichen CCT-Werte, aber wegen der höheren Auflösung und präziserer Positionierung der Messpunkte empfehlen wir für die Biometrie der Hornhaut die Verwendung eines UBM-Schallkopfes. Für CCT-Messungen mit HF und UBM wurde eine hohe intraobserver Reproduzierbarkeit nachgewiesen.

Die in dieser Studie erhaltenen CCT-, ACD-, CLT-, VCD- und AGL-Werte bestätigen frühere Ergebnisse, die eine positive Korrelation dieser Werte mit dem Alter des Pferdes feststellten. Bis zum Alter von  $48,71 \pm 11,95$  Monaten (Durchschnittsalter der Gruppe 3, Höchstalter 75 Monate) wurde eine deutliche Steigerung für die ACD-, CLT-, VCD- und AGL-Werte gefunden. Für zukünftige Studien empfehlen wir bei denselben Pferden über einen festgelegten Zeitraum das Wachstum der Augen zu überwachen. Zusätzlich sollten zukünftig endogene und exogene Variationen des IOP und deren Einfluss auf die Biometrie des Pferdeauges untersucht werden.

## **2. Diskussion der Studie: Hochauflösende Darstellung der Hornhaut des Pferdes mit dem DUB®-SkinScanner v3.9**

Ziel dieser Studie war es, erstmals mittels HF und UBM (DUB®-SkinScanner v3.9, Taberna pro medicum GmbH, Lüneburg, Deutschland) Pathologien der Pferdehornhaut darzustellen und zu untersuchen.

### **2.1. Patienten und Voruntersuchung**

Die Ultraschalluntersuchungen wurden über einem Zeitraum von einem Jahr bei verschiedenen ophthalmologischen Patienten durchgeführt. 8 Tiere (7 Pferde und 1 Pony, insgesamt 9 Augen) wurden in die Studie aufgenommen. Sie befanden sich in privatem Besitz und wiesen verschiedene Veränderungen der Hornhaut auf (Bindehautlappen, generalisiertes Stromaödem, Keratitis punctata, Hornhauterosion, ulzerative Keratitis, Stromaler Abszess).

Vor der Ultraschalluntersuchung wurde durch Lena Herbig (L.H.) bei allen Tieren eine gründliche Augenuntersuchung, einschließlich Spaltlampen-Biomikroskopie (SL-15, Kowa®, Tokyo, Japan) und direkter Ophthalmoskopie (Heine Beta® 200 Ophthalmoskop, Heine, Herrsching Deutschland), durchgeführt. 5 Tiere wurden im Stehen untersucht. 1 Pferd wurde zusätzlich leicht sediert und 2 Pferde wurden prä operationem in Vollnarkose untersucht.

### **2.2 Darstellung der Hornhaut**

Die Hornhaut wurde mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 (Taberna pro medicum GmbH, Lüneburg, Deutschland) im A- und B-Mode mit einer Frequenz von einem 22 MHz- (axiale Auflösung 72 µm) und/oder mit einem 50 MHz-Schallkopf (axiale Auflösung 31 µm) untersucht. Beide Schallköpfe hatten eine Eindringtiefe von etwa 4 mm und somit konnte nur die Hornhaut abgebildet werden.

Für die Untersuchung der Hornhaut wurde eine Schallgeschwindigkeit von 1,640 m/s gewählt (Ramsey et al., 1999; van der Woerd et al., 1995; Andrew et al., 2001). Der Schallkopf wurde vorsichtig auf dem darzustellenden Bereich der Hornhaut positioniert. Zur Ankopplung wurde warme Kochsalzlösung (NaCl 0,9% B. Braun®, B. Braun Melsungen AG OPM, Deutschland) in eine an die Krümmung des Pferdeauges angepasste Silikonkappe gespült.

Um eine Objektivierung der Hornhautveränderungen zu erreichen, wurden Messungen mit Hilfe des Ultraschallprogramms durchgeführt. Um beispielweise die Hornhautdicke zu ermitteln, wurde die Messlinie auf dem ansteigenden Teil des ersten Peaks im A-Mode positioniert. Im B-Mode entspricht dies der Vorderseite der Reflexion des Hornhautepithels. Die zweite Linie wurde auf dem abfallenden Bereich des Peaks, der die Descemetische Membran und das Endothel (DE) darstellt, positioniert. Dies entspricht im B-Mode der Rückseite des am meisten reflektierenden Bereichs der DE.

Das Auftreten von Bewegungs- und Kompressionsartefakten wurde verringert, indem die Untersuchungen unter Lokalanästhesie der Hornhaut (0,6% Tetracainhydrochlorid Augentropfen) durchgeführt wurden und die Silikonaugenkappen der Krümmung der Pferdehornhaut zuvor angepasst wurden.

Die mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 gewonnenen Informationen wurden mit den Ergebnissen der zuvor durchgeführten SLB verglichen.

### 2.3. Ergebnisse

Es wurden Ergebnisse zur Biometrie und Morphologie der Hornhaut, des Epithels, des Stromas und des Endothels gesammelt.

Bei 7 von 9 Augen war die Ermittlung der Hornhautdicke durch präzise Messungen genauer als mit SLB. Im Vergleich zu SLB, wurden bei 4 von 9 Augen zusätzliche Information hinsichtlich der Struktur des Epithels erhalten. Bei 5 von 9 Augen wurden mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 in Bezug auf das Stroma, auch wenn dieses nicht transparent war, ergänzende Informationen gewonnen. Mit dem SkinScanner v3.9 wurden bei insgesamt 5 von 9 Augen zusätzliche Daten bezüglich der Struktur und der Kontinuität des Endothels gewonnen. Ebenso war es möglich, die Vaskularisation der Hornhaut darzustellen, und auftretende Artefakte wurden beschrieben.

### 2.4 Diskussion der Ergebnisse

Ziel dieser Studie war es, die Anwendung und die möglichen Vorteile des DUB®-SkinScanner v3.9 für die klinische Untersuchung der Pferdehornhaut zu beschreiben. Die erhaltenen A- und B-Mode Scans ermöglichten eine in-vivo hochauflösende Echtzeitbildgebung und Biometrie der Hornhaut. Die Untersuchung war unabhängig von der

Transparenz der Hornhaut und verschaffte zuverlässige und genaue Zusatzinformationen zu der vorangegangenen SLB.

In der Veterinärphthalmologie wurden die Bildgebung und die Diagnosestellung mit HF und UBM als wertvolle und von der Transparenz der Augenstrukturen unabhängige Techniken beschrieben. Mögliche Anwendungen umfassen die Biometrie des vorderen Segments, wie zum Beispiel die Hornhautdickenmessungen, die Beurteilung des Kammerwinkels sowie die Untersuchung verschiedener Veränderungen des vorderen Augensegments (Bentley et al., 2003; Cronau & Gerhards, 2004; Herbig & Eule, 2015; Hoffmann & Köstlin, 2004; Hoffmann et al., 2004; Kawata & Hasegawa, 2013; Moodie et al., 2001). Unseres Wissens liegt nur eine Studie über eine Augenuntersuchung mit HF beim Pferd vor. In dieser Studie wurde bei einem einzigen Patienten eine langsam wachsende Masse auf der Oberfläche der Hornhaut mit einer Frequenz von 20 MHz dargestellt (Bentley et al., 2003).

Mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 wurden verschiedene Beobachtungen während der Untersuchung der Hornhautveränderungen der neun Augen gemacht.

Die Hornhautdicke war in allen Augen, die eine Erosion, eine Ulzeration oder einen Abszess der Hornhaut aufwiesen, im Vergleich zu zuvor ermittelten Werten für die Dicke der Pferdehornhaut bemerkenswert erhöht (Herbig & Eule, 2015; Pirie et al., 2013; Ledbetter & Scarlett, 2009; Ramsey et al., 1999; Plummer et al., 2003; van der Woerd et al., 1995). In einer gesunden Hornhaut sorgen verschiedene Mechanismen des Epithels und des Endothels für einen Zustand der relativen Dehydrierung und garantieren somit die regelmäßige Anordnung der Hornhautlamellen. Eine In-vivo-Studie zeigte, dass der Verlust des Hornhautepithels bei lebenden Kaninchen zu einer doppelten Dickenzunahme der Hornhaut führte. Wegen der erheblichen Schwellung war es in dieser Studie nicht möglich, die Hornhaut direkt nach der Zerstörung der inneren Grenzschichten zu bestimmen. Drei Stunden später wurde eine Schwellung der Hornhaut von 300% gemessen (Maurice & Giardini, 1951). Mit Hilfe von ex-vivo-Studien an der menschlichen Hornhaut und am Hornhautgewebe von verschiedenen Tieren wurde, bedingt durch Strukturunterschiede des vorderen und hinteren Stromas, wie die Anordnung der Hornhautlamellen, die Keratozytenmorphologie und die

Glycosaminoglycankonzentration, ein ungleichmäßiges Anschwellen der Hornhaut nachgewiesen (Bron, 2001; Castoro et al., 1988; Bettelheim & Plessy, 1975; Meek et al., 2003). Bei Menschen, Kaninchen, Katzen und Rindern erreicht das hintere Stroma eine höhere Hydratation und Quellung als das vordere Stroma (Kikkawa & Kimiko, 1970; Cristol et al., 1992; Lee & Wilson, 1981).

Durch die in einigen Augen beobachtete Neovaskularisation der Hornhaut könnte es zu punktuellen Ödemen in der Hornhaut gekommen sein, welche ebenfalls eine Dickenzunahme verursacht haben könnte. Klinisch werden während der Angiogenese regelmäßig Ödeme und Trübungen des Stromas beobachtet. Es wird berichtet, dass Ödeme durch Flüssigkeit, die durch das undichte Endothel der noch unreifen und wachsenden Gefäße austritt, verursacht werden (Cursiefen et al., 2003). Nach unserem Kenntnisstand gibt es keine Daten bezüglich der Hornhautdicke beim Pferd nach dem Verlust des Epithels, des Endothels oder in Fällen von vorliegender Neovaskularisation. Es ist wahrscheinlich, dass bei den hier untersuchten Augen die Verdickung der Hornhaut durch eine höhere Hydratation des Stromas verursacht wurde. Diese wurde vermutlich durch eine Diskontinuität oder Zerstörung der Begrenzungsschichten (Epi- und Endothel) und einer Dys- oder/und Malfunktion der hornhauteigenen Dehydratationsmechanismen verursacht (Maurice & Giardini, 1951; Meek et al., 2003). Möglicherweise hat die stellenweise beobachtete Neovaskularisation der ulzerierten Hornhäute zu einem zusätzlichen, punktuellen Ödem geführt und somit ebenfalls eine Verdickung der Kornea bewirkt. Bei der vorangegangenen SLB wurde die Dickenzunahme der Hornhaut ebenfalls gesehen. Hier wurde die Dicke des Hornhautabschnitts, wenn dieser nicht durch ein Hornhautödem und/oder eine Opazität stark getrübt war, geschätzt. Mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 wurde die Dickenzunahme durch präzise Messungen objektiviert.

Mit diesem Gerät war es möglich, Veränderungen des Epithels, wie Ausdünnung, Verlust, Diskontinuität und Restrukturierung, bildlich darzustellen. In Augen mit einem epithelialen Defekt waren in dem Bereich der Vorderfläche der Kornea Echos unterschiedlicher Intensität zu sehen. Diese wurden höchstwahrscheinlich durch Nekrosen, zelluläre Infiltrate und Flüssigkeit erzeugt.

Mit dem DUB®-SkinScanner wurden, besonders wenn die äußere Oberfläche der Hornhaut stark beschädigt und undurchsichtig war, ergänzende Informationen beispielsweise hinsichtlich der Dicke und der Struktur des Epithels und des dahinter liegenden Stromas gewonnen. In diesen Fällen war die SLB-Untersuchung begrenzt. Es kam zu einem Intensitätsverlust des reflektierten Lichts und zu einem unregelmäßigen Bild im Bereich des Defekts wodurch eine genaue Untersuchung der sich hinter dem Defekt befindlichen Strukturen nicht möglich war.

Im Stroma aller Augen wurde eine größere Anzahl an Ausschlägen im A-Mode und im B-Mode eine Zunahme der Echogenität beobachtet. Beim Menschen wurde eine Erhöhung des Reflexionsvermögens des Stromas nachgewiesen, wenn strukturelle Veränderungen in der Mikroanatomie des Gewebes, beispielsweise durch Ödeme, durch die Anwesenheit von Blutgefäßen oder durch Vernarbungen verursacht, vorhanden waren (Avitabile et al., 1998; Pavlin & Foster, 1995; Pavlin et al., 1991; Zhou et al., 2013). Vorherige Untersuchungen der pathologisch veränderten Hornhaut eines Pferdes und einer Katze mit einem 20 MHz-Ultraschallgerät zeigten ebenfalls, dass strukturelle Veränderungen des kornealen Stromas zu einer Erhöhung seiner Echogenität führten (Bentley et al., 2003). Verschiedene entzündliche, aber auch Heilungsprozesse wurden mit dem v3.9 DUB®-SkinScanner dargestellt. Die hiermit verbundenen Veränderungen wie eine Leukozytenmigration, das Vorhandensein von Ödemflüssigkeit, von Zelltrümmern, von vernarbtem Gewebe und von kleinen Blutgefäßen könnten einen Einfluss auf die Mikroanatomie des Stromas gehabt haben und somit zu einem Anstieg und zu einer Variabilität der Reflektivität des Stromas geführt haben.

Mit SLB konnte das Stroma von Augen mit einer weitgehend klaren Hornhaut untersucht werden. Wenn jedoch ein Teil der Hornhaut durch einen Bindehautlappen bedeckt wurde oder wenn das Stroma undurchsichtig war, war die SLB des Stromas nur eingeschränkt möglich und Informationen über die dahinter befindlichen Strukturen der Hornhaut konnten nicht gewonnen werden. Mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 wurde eine Zunahme der Echogenität des Stromas in Bereichen mit Veränderungen der Mikroanatomie gesehen. Auch tiefer liegende Anteile der Hornhaut konnten im Detail dargestellt und alle Strukturen konnten untersucht werden.

Mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 wurden strukturelle Veränderungen der Descemet Membran und des Endothels (DE) dargestellt. In der vorderen Augenkammer, angrenzend an den DE, wurden schlecht definierte echogene Strukturen, die Aggregationen von zellulären und/oder organischen Material zu entsprechen schienen, dargestellt. Diese echogenen Strukturen waren mehr oder weniger mit dem DE verbunden und könnten als endotheliale Ausfällungen interpretiert werden. Während der vorherigen SLB der Augen mit einer undurchsichtigen Hornhaut war es nicht möglich, den DE im Detail zu untersuchen, und ebenso war es nicht möglich, die sich hinter dem DE befindlichen Strukturen darzustellen.

Die Scans des mit einem Bindehautlappen versorgten Auges und des vaskularisierten Bereichs einer ulzerierten Hornhaut zeigten kleine, runde und anechogene Muster im Stroma. Diese entsprechen vermutlich dem Lumen der kleinen Blutgefäße, welche in der vorangegangenen SLB gesehen wurden. Sicherheit würde eine Untersuchung mit einem Schallgerät mit Doppler-Funktion geben.

Einige Artefakte wurden beobachtet. Die kleinen, echogenen Strukturen, die vor der Hornhaut von zwei Augen gesehen wurden, entsprechen wahrscheinlich kleinen Luftblasen in dem Ankopplungsmedium. Eine echogene Struktur, die sich vor der Hornhaut dargestellt hat, entspricht dem dritten Augenlid und eine weitere echogene Struktur, die in der vorderen Augenkammer beobachtet wurde, entspricht den Corpora nigra dieses Auges. Die Artefakte haben weder die Bildqualität noch die Interpretation der Befunde beeinträchtigt.

Die Untersuchung mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 wurde vom stehenden Pferd gut toleriert. Nur ein Pferd wurde leicht sediert. Um das Auftreten von Bewegungs- und Kompressionsartefakten zu verhindern, wurden die Silikonaugenkappen an die Krümmung der Pferdehornhaut angepasst und eine Oberflächenanästhesie der Hornhaut durchgeführt. Für Augen mit einer zerbrechlichen, frisch reepithelialisierten oder stark beschädigten (Descementocoele) Hornhaut raten wir zur transpalpebralen Untersuchung des Auges mit einem niederfrequenten Ultraschallgerät oder, wenn die Hornhaut durchsichtig ist, zur SD-OCT Untersuchung. Im Vergleich zu dem HF-Gerät sind die mit dem UBM-Schallkopf dargestellten Strukturen der Kornea detaillierter. Trotzdem glauben wir, dass sich HF-Geräte aufgrund ihrer Eindringtiefe von bis

zu 10 mm, welche die Darstellung des vorderen Segments des Pferdeauges ermöglicht, im klinischen Alltag durchsetzen werden (Bentley et al., 2003; Cronau & Gerhards, 2004).

Im Vergleich zu anderen hochauflösenden bildgebenden Verfahren wie SD-OCT und in-vivo konfokaler Mikroskopie sind die niedrigeren Anschaffungs- und Untersuchungskosten Vorteile von HF und UBM. Aufgrund der begrenzten Eindringtiefe der HF- und UBM-Geräte empfehlen wir zusätzlich das betroffene Auge und seine Adnexe mit einem niedriger frequenten Ultraschallgerät zu untersuchen.

Abschließend kann man sagen, dass der DUB®-SkinScanner v3.9 die in-vivo hochauflösende Echtzeitbildgebung und Biometrie der Pferdehornhaut ermöglicht.

Ergänzende Informationen zur Standard-SLB können gewonnen werden. Veränderungen der Hornhautdicke werden durch präzise Messungen objektiviert. Die bildliche Darstellung der Kornea ist nicht abhängig von der optischen Transparenz, und auch wenn die Hornhaut trüb oder durch einen Bindehautlappen bedeckt ist, kann diese in ihrer Gesamtheit beurteilt werden. Hieraus ergibt sich die Möglichkeit, die Morphologie der Strukturen, welche hinter Trübungen liegen, wie beispielsweise den DE, zu untersuchen. Insgesamt sind HF und UBM präzise und wertvolle Untersuchungsmethoden für die Biometrie der Hornhaut und stellen eine Ergänzung zur Standard-SLB in der klinischen Diagnostik dar.

## 2.5. Schlussfolgerungen der Studie und klinische Relevanz

Der DUB®-SkinScanner v3.9 ist ein gutes und finanziell erschwingliches, diagnostisches Hilfsmittel, um die Pferdehornhaut bildlich darzustellen und zu vermessen. Vor allem, wenn ein starkes Ödem und/oder Entzündungsinfiltrate sowohl die klinische Untersuchung als auch die SLB erschweren, können mit diesem Gerät zusätzliche klinisch relevante Informationen gewonnen werden. Die Tiefe und das Ausmaß einer Läsion kann ermittelt werden und ein entsprechender therapeutischer und/oder chirurgischer Ansatz kann gewählt werden. Die Durchführung präziser Messungen macht es möglich, strukturelle Veränderungen zu objektivieren. Bei möglichen Folgeuntersuchungen können die Daten mit den zuvor erhaltenen Ergebnissen verglichen werden, wodurch eine präzise und objektive

Überwachung der Therapie und ihrer Auswirkungen möglich ist. Zusätzlich wurde durch die Möglichkeit, den Patientenbesitzern anhand der erhaltenen Scans die Hornhauterkrankungen zu erklären und optisch näher zu bringen, eine bessere Compliance hinsichtlich der Therapie beobachtet.

## **IV. ZUSAMMENFASSUNG**

### **Ultrasonographische Biometrie des wachsenden Pferdeauges und Untersuchung der erkrankten Kornea mit hochfrequentem Ultraschall und Ultraschallbiomikroskopie**

Die Darstellung und Vermessung des Pferdeauges mit Ultraschall stellt heutzutage, vor allem wenn die zu untersuchenden Strukturen lichtundurchlässig sind, einen wichtigen Bestandteil der ophthalmologischen Untersuchung dar.

Ziel dieser Arbeit ist es, in einem ersten Schritt verschiedene biometrische Daten der Augen von 50 jungen, augengesunden Warmblutpferden zu ermitteln. Hierzu wurden die axialen Distanzen des Auges mit B-Mode Ultraschall (10 MHz) dargestellt und vermessen und die zentrale Hornhautdicke (CCT) mit Hochfrequenzultraschall (HF) mit einer Frequenz von 22 MHz und mit Ultraschall-Biomikroskopie (UBM) mit einer Frequenz von 50 MHz gemessen. Zudem wurde untersucht, ob eine Abhängigkeit zwischen den ermittelten Werten und dem Alter besteht.

In einem zweiten Schritt wurden, um erstmals die Vorteile und Grenzen der HF- und/oder UBM-Untersuchung im klinischen Alltag festzustellen mit dem DUB®-SkinScanner v3.9 verschiedene Erkrankungen der Pferdehornhaut dargestellt und untersucht.

Die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Werte für die axialen Distanzen der Augen von jungen Pferden belegen auch frühere Studien, in denen eine positive Korrelation zwischen diesen Werten und dem Alter der Pferde beobachtet wurde. Bis zu einem Alter von  $48,71 \pm 11,95$  Monaten wurde eine deutliche Zunahme für die Werte der Tiefe der vorderen Augenkammer (ACD), der Linsendicke (CLT), der Tiefe des Glaskörperaums (VCD) und der axialen Bulbuslänge (AGL) beobachtet. Für zukünftige Untersuchungen zu der Korrelation zwischen dem Alter und den axialen Distanzen würden wir empfehlen, das Wachstum des Auges über einen festgelegten Zeitraum bei den gleichen Pferden zu überwachen. Zusätzlich sollten ebenfalls die endogenen und exogenen Schwankungen des Augeninnendrucks (IOP) sowie dessen Einfluss auf die Biometrie des Pferdeauges untersucht werden.

Zudem wurde in dieser Arbeit erstmals gezeigt, dass HF und UBM wertvolle, hochauflösende in-vivo Bildgebungsverfahren zur Darstellung, Vermessung und Untersuchung der gesunden sowie der erkrankten Hornhaut von Pferden sind.

Es wurden keine signifikanten Unterschiede ( $p$ -value = 0.76) zwischen den beiden Schallköpfen bei der Vermessung des CCT am gesunden Auge ermittelt und die Reproduzierbarkeit der Messungen war hoch für den Einzelbeobachter (Variationskoeffizient  $\leq 10\%$ ). Aufgrund der höheren Auflösung und präziseren Positionierung der Messpunkte empfehlen wir UBM zur Biometrie der Hornhaut.

Im Vergleich zu dem HF-Gerät sind die mit dem UBM-Schallkopf dargestellten Strukturen der Kornea detaillierter. Trotzdem glauben wir, dass sich HF-Geräte aufgrund ihrer Eindringtiefe von bis zu 10 mm, welche die Darstellung des vorderen Segments des Pferdeauges ermöglicht, im klinischen Alltag durchsetzen werden.

Zusätzlich zu jeder HF- und/oder UBM-Untersuchung empfehlen wir das betroffene Auge und die umliegenden Strukturen mit einem niederfrequenteren Ultraschallgerät darzustellen.

Im Vergleich zu anderen hochauflösenden bildgebenden Verfahren wie hochauflösende optische Kohärenztomographie und in-vivo konfokale Mikroskopie sind die niedrigeren Anschaffungs- und Untersuchungskosten Vorteile von HF und UBM. Sie stellen somit eine gute Ergänzung zur Spaltlampenuntersuchung in der klinischen Diagnostik und Behandlung verschiedener Hornhauterkrankungen beim Pferd dar.

Zusammenfassend wurden mit dieser Arbeit ergänzende Werte und Gedanken zu der Biometrie des Pferdeauges erstellt und es wurde gezeigt, dass HF und UBM wertvolle Werkzeuge sind um die gesunde, aber auch die erkrankte Hornhaut von Pferden darzustellen und zu vermessen.

## V. SUMMARY

### **Ultrasonographic biometry of the growing equine eye and examination of the diseased cornea with high-frequency ultrasound and ultrasound biomicroscopy**

Nowadays the imaging and biometry of the equine eye with ultrasound is, especially if the ocular structures are not transparent, an important part of the ophthalmic examination.

The aim of this study was to determine in a first step various biometric data of the eyes of 50 young, healthy warmblood horses. For this purpose, the axial distances of the eyes were pictured and measured with B-mode ultrasound (10 MHz) and the central corneal thickness (CCT) was evaluated with high frequency ultrasound (HF) at a frequency of 22 MHz and ultrasound biomicroscopy (UBM) at a frequency of 50 MHz. It was also investigated if there was a correlation between the values and the age.

In a second step, in order to determine the benefits and limitations of HF and / or UBM in clinical practice, various diseases of the equine cornea were examined with the DUB®-SkinScanner v3.9.

The data regarding the axial distances of the eyes of young horses obtained in this study underline the findings of previous studies where a positive correlation between these values and the age of the horses was observed. Up to the age of  $48.71 \pm 11.95$  months, a significant increase in anterior chamber depth (ACD), crystalline lens thickness (CLT), vitreous chamber depth (VCD) and anterior globe length (AGL) values was found. For future studies on the correlation between the age and the axial distances we would recommend to monitor the growth of the eye over a specified period of time in the same horses. In addition the endogenous and exogenous fluctuations of the IOP and its influence on the biometrics of the horses eye should be monitored.

It was also shown in this study that HF and UBM are valuable, high-resolution in-vivo methods for the imaging, measurement and diagnosis of the healthy and diseased equine cornea. No significant differences ( $p$ -value = 0.76) were found between the two transducers for CCT measurements of the healthy eye. For the values of the single observer measurements the reproducibility was found to be high (coefficient of variation  $\leq 10\%$ ). However due to the greater resolution and more

accurate positioning of the measuring points, we recommend UBM for the biometry of the cornea. In comparison to the HF device, the structures of the cornea pictured with the UBM transducer were more detailed. Nevertheless, we believe that HF devices will prevail because of their penetration depth of up to 10 mm, which allows displaying the anterior segment of the eye in clinical practice.

In addition to any HF and / or UBM examination we recommend to scan the affected eye and surrounding structures with a lower-frequency ultrasound device.

Compared to other high-resolution imaging techniques such as SD-OCT and in-vivo confocal microscopy, the lower acquisition and examination costs are advantages of HF and UBM. They therefore provide a good adjunct to the slit-lamp examination in clinical diagnosis and treatment of various corneal diseases in the horse.

In summary, complementary values and thoughts on biometrics of the equine eye were obtained with this work and it has been shown that HF and UBM are valuable tools for the imaging and measurement of the healthy but also of the diseased equine cornea.

## VI. LITERATURVERZEICHNIS

Andrew, S. E., Ramsey, D. T., Hauptman, J. G. & Brooks, D. E. 2001. Density of corneal endothelial cells and corneal thickness in eyes of euthanatized horses. *American Journal of Veterinary Research*, 62, 479-482.

Aubin, M. L., Powell, C. C., Gionfriddo, J. R. & Fails, A. D. 2003. Ultrasound biomicroscopy of the feline anterior segment. *Veterinary Ophthalmology*, 6, 15-7.

Autzen, T. & Bjørnstrøm, L. 1989. Central corneal thickness in full-term newborns. *Acta Ophthalmologica*, 67, 719-720.

Avitabile, T., Marano, F., Uva, M. G. & Reibaldi, A. 1997. Evaluation of central and peripheral corneal thickness with ultrasound biomicroscopy in normal and keratoconic eyes. *Cornea*, 16, 639-44.

Avitabile, T., Russo, V., Ghirlanda, R., Castiglione, F., Marino, A. & Reibaldi, A. 1998. Corneal Oedemas: Diagnosis and Surgical Planning with Ultrasound Biomicroscopy. *Ophthalmologica*, 212, 13-16.

Barnett, K. C., Crispin, S. M., Lavach, J. D. & Matthews, A. G. 1998. *Augenkrankheiten beim Pferd: Farbatlas für die Praxis*, Hannover, Schlütersche GmbH u Co. KG. .

Bartholomew, L. R., Pang, D. X., Sam, D. A. & Cavender, J. C. 1997. Ultrasound biomicroscopy of globes from young adult pigs. *American Journal of Veterinary Research*, 58, 942-8.

Bentley, E., Miller, P. E. & Diehl, K. A. 2003. Use of high-resolution ultrasound as a diagnostic tool in veterinary ophthalmology. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223, 1617-1622.

Bentley, E., Miller, P. E. & Diehl, K. A. 2005. Evaluation of intra- and interobserver reliability and image reproducibility to assess usefulness of high-resolution ultrasonography for measurement of anterior segment structures of canine eyes. *American Journal of Veterinary Research*, 66, 1775-9.

- Bertolucci, C., Giudice, E., Fazio, F. & Piccione, G. 2009. Circadian intraocular pressure rhythms in athletic horses under different lighting regime. *Chronobiology International*, 26, 348-58.
- Bettelheim, F. A. & Plessy, B. 1975. The hydration of proteoglycans of bovine cornea. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 381, 203-214.
- Bron, A. J. 2001. The architecture of the corneal stroma. *British Journal of Ophthalmology*, 85, 379-381.
- Cammarota, T., Pinto, F., Magliaro, A. & Sarno, A. 1998. Current uses of diagnostic high-frequency US in dermatology. *European Journal of Radiology*, 27 Suppl 2, S215-23.
- Castoro, J. A., Bettelheim, A. A. & Bettelheim, F. A. 1988. Water gradients across bovine cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 29, 963-8.
- Cristol, S. M., Edelhauser, H. F. & Lynn, M. J. 1992. A comparison of corneal stromal edema induced from the anterior or the posterior surface. *Refract Corneal Surg*, 8, 224-9.
- Cronau, M. & Gerhards, H. 2004. Hochauflösende Sonographie am Auge des Pferdes. *Pferdeheilkunde* 20 (2004), 321-326.
- Crumley, W., Gionfriddo, J. R. & Radecki, S. V. 2009. Relationship of the iridocorneal angle, as measured using ultrasound biomicroscopy, with post-operative increases in intraocular pressure post-phacoemulsification in dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 12, 22-7.
- Cursiefen, C., Seitz, B., Dana, M. R. & Streilein, J. W. 2003. Angiogenesis and lymphangiogenesis in the cornea. Pathogenesis, clinical implications and treatment options. *Ophthalmologe*, 100, 292-9.
- Diaz, O. S. 2004. Ultrasound of the Equine Eye and Adnexa and Clinical Applications. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 3, 317-325.

- Ding, C., Wang, P. & Tian, N. 2011. Effect of general anesthetics on IOP in elevated IOP mouse model. *Experimental Eye Research*, 92, 512-20.
- Ekesten, B. & Torrang, I. 1995. Age-related changes in ocular distances in normal eyes of Samoyeds. *American Journal of Veterinary Research*, 56, 127-33.
- Foster, F. S., Pavlin, C. J., Harasiewicz, K. A., Christopher, D. A. & Turnbull, D. H. 2000. Advances in ultrasound biomicroscopy. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 26, 1-27.
- Frampton, P., Da Rin, D. & Brown, B. 1987. Diurnal variation of intraocular pressure and the overriding effects of sleep. *American journal of optometry and physiological optics*, 64, 54-61.
- Fukukita, H., Yano, T., Fukumoto, A., Sawada, K., Fujimasa, T. & Sunada, I. 1985. Development and application of an ultrasonic imaging system for dental diagnosis. *Journal of Clinical Ultrasound*, 13, 597-600.
- Gibson, T. E., Roberts, S. M., Severin, G. A., Steyn, P. F. & Wrigley, R. H. 1998. Comparison of gonioscopy and ultrasound biomicroscopy for evaluating the iridocorneal angle in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 213, 635-8.
- Grégoire, J. M., Serrière, S., Georgesco, G., Jamet, F., Bleuzen, A., Ossant, F., Levassort, F., Tranquart, F. & Patat, F. 2006. Techniques et applications de l'échographie haute résolution non invasive. *Journal de Radiologie*, 87, 1920-1936.
- Grinninger P., Skalicky M. & Nell, B. 2010. Evaluation of healthy equine eyes by use of retinoscopy, keratometry, and ultrasonographic biometry. *American Journal of Veterinary Research*, 71, 677-681.
- Henkind, P., Leitman, M. & Weitzman, E. 1973. The diurnal curve in man: new observations. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 12, 705-7.

- Herbig, L. E. & Eule, J. C. 2015. Central corneal thickness measurements and ultrasonographic study of the growing equine eye. *Vet Ophthalmol*, 18, 462-71.
- Hoffmann, I. & Köstlin, R. 2004. Die sonographische Untersuchung des vorderen Augenabschnittes beim Kleintier Teil 1: Untersuchungstechnik und echographische Normalbefunde. *Tierärztliche Praxis Kleintiere*, 32, 175-179.
- Hoffmann, I., Schäffer, E., Reese, S. & Köstlin, R. 2004. Die sonographische Untersuchung des vorderen Augenabschnittes beim Kleintier Teil 2: Pathologische Befunde. *Tierärztliche Praxis Kleintiere*, 32, 238-246.
- Holve, D. L. 2012. Effect of sedation with detomidine on intraocular pressure with and without topical anesthesia in clinically normal horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240, 308-11.
- Jia, L., Cepurna, W. O., Johnson, E. C. & Morrison, J. C. 2000. Effect of general anesthetics on IOP in rats with experimental aqueous outflow obstruction. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41, 3415-9.
- Kassab, A. 2012. Ultrasonographic and macroscopic anatomy of the enucleated eyes of the buffalo (*Bos bubalis*) and the one-humped camel (*Camelus dromedarius*) of different ages. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 41, 7-11.
- Kawata, M. & Hasegawa, T. 2013. Evaluation of the distance between Schwalbe's line and the anterior lens capsule as a parameter for the correction of ultrasound biomicroscopic values of the canine iridocorneal angle. *Veterinary Ophthalmology* 16, 169-74.
- Kawata, M., Tsukizawa, H., Nakayama, M. & Hasegawa, T. 2010. Rectification of width and area of the ciliary cleft in dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 72, 533-7.
- Kikkawa, Y. & Kimiko, H. 1970. Uneven Swelling of the Corneal Stroma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 9, 735-741.

Komaromy, A. M., Garg, C. D., Ying, G. S. & Liu, C. 2006. Effect of head position on intraocular pressure in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 67, 1232-5.

Ledbetter, E. C. & Scarlett, J. M. 2009. In vivo confocal microscopy of the normal equine cornea and limbus. *Veterinary Ophthalmology*, 12, 57-64.

Lee, D. & Wilson, G. 1981. Non-uniform swelling properties of the corneal stroma. *Curr Eye Res*, 1, 457-61.

Leydolt, C., Findl, O. & Drexler, W. 2008. Effects of change in intraocular pressure on axial eye length and lens position. *Eye (Lond)*, 22, 657-61.

Liu, J. H. & Farid, H. 1998. Twenty-four-hour change in axial length in the rabbit eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 39, 2796-9.

Mandell, M. A., Pavlin, C. J., Weisbrod, D. J. & Simpson, E. R. 2003. Anterior chamber depth in plateau iris syndrome and pupillary block as measured by ultrasound biomicroscopy. *American Journal of Ophthalmology*, 136, 900-3.

Maurice, D. M. & Giardini, A. A. 1951. Swelling of the cornea in vivo after the destruction of its limiting layers. *Br J Ophthalmol*, 35, 791-7.

Mcmullen Jr, R. J. & Gilger, B. C. 2006. Keratometry, biometry and prediction of intraocular lens power in the equine eye. *Veterinary Ophthalmology*, 9, 357-360.

Mcmullen, R. J. & Utter, M. E. 2010. Current developments in equine cataract surgery. *Equine Veterinary Journal*, 42, 38-45.

Meek, K. M., Leonard, D. W., Connon, C. J., Dennis, S. & Khan, S. 2003. Transparency, swelling and scarring in the corneal stroma. *Eye*, 17, 927-936.

- Mettenleiter, E. M. 1995a. Sonographic diagnosis (B-mode technique) for the eyes in horses. 1. Methods and normal findings. *Tierärztliche Praxis*, 23, 481-8.
- Mettenleiter, E. M. 1995b. Sonographic diagnosis (B-mode techniques) for the eyes of horses. 2. Pathological cases. *Tierärztliche Praxis*, 23, 588-95.
- Montiani-Ferreira, F., Cardoso, F. & Petersen-Jones, S. 2004. Postnatal development of central corneal thickness in chicks of *Gallus gallus domesticus*. *Vet Ophthalmol*, 7, 37-9.
- Montiani-Ferreira, F., Petersen-Jones, S., Cassotis, N., Ramsey, D. T., Gearhart, P. & Cardoso, F. 2003. Early postnatal development of central corneal thickness in dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 6, 19-22.
- Moodie, K. L., Hashizume, N., Houston, D. L., Hoopes, P. J., Demidenko, E., Trembly, B. S. & Davidson, M. G. 2001. Postnatal development of corneal curvature and thickness in the cat. *Veterinary Ophthalmology*, 4, 267-272.
- Mouney, M. C., Townsend, W. M. & Moore, G. E. 2012. Association of height, body weight, age, and corneal diameter with calculated intraocular lens strength of adult horses. *American Journal of Veterinary Research*, 73, 1977-1982.
- Nickla, D. L., Wildsoet, C. F. & Troilo, D. 2001. Endogenous Rhythms in Axial Length and Choroidal Thickness in Chicks: Implications for Ocular Growth Regulation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 42, 584-588.
- Nickla, D. L., Wildsoet, C. F. & Troilo, D. 2002. Diurnal rhythms in intraocular pressure, axial length, and choroidal thickness in a primate model of eye growth, the common marmoset. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 43, 2519-28.
- Papastergiou, G. I., Schmid, G. F., Riva, C. E., Mendel, M. J., Stone, R. A. & Laties, A. M. 1998. Ocular axial length and choroidal thickness in

- newly hatched chicks and one-year-old chickens fluctuate in a diurnal pattern that is influenced by visual experience and intraocular pressure changes. *Experimental Eye Research*, 66, 195-205.
- Pavlin, C. J. & Foster, F. S. 1995. *Ultrasound Biomicroscopy of the Eye*, New York, Springer-Verlag
- Pavlin, C. J. & Foster, F. S. 1998. Ultrasound Biomicroscopy: High-Frequency Ultrasound Imaging of the Eye at Microscopic Resolution. *Radiologic Clinics of North America*, 36, 1047-1058.
- Pavlin, C. J., Harasiewicz, K. & Foster, F. S. 1992a. Ultrasound biomicroscopy of anterior segment structures in normal and glaucomatous eyes. *American Journal of Ophthalmology*, 113, 381-9.
- Pavlin, C. J., Harasiewicz, K. & Foster, F. S. 1994. Ultrasound biomicroscopic assessment of the cornea following excimer laser photokeratectomy. *Journal of Cataract & Refractive Surgery* 20 Suppl, 206-11.
- Pavlin, C. J., Harasiewicz, K., Sherar, M. D. & Foster, F. S. 1991. Clinical use of ultrasound biomicroscopy. *Ophthalmology*, 98, 287-95.
- Pavlin, C. J., Mcwhae, J. A., McGowan, H. D. & Foster, F. S. 1992b. Ultrasound Biomicroscopy of Anterior Segment Tumors. *Ophthalmology*, 99, 1220-1228.
- Pavlin, C. J., Sherar, M. D. & Foster, F. S. 1990. Subsurface ultrasound microscopic imaging of the intact eye. *Ophthalmology*, 97, 244-50.
- Pierro, L., Conforto, E., Resti, A. G. & Lattanzio, R. 1998. High-frequency ultrasound biomicroscopy versus ultrasound and optical pachymetry for the measurement of corneal thickness. *Ophthalmologica*, 212 Suppl 1, 1-3.
- Pirie, C. G., Alario, A. F., Barysaukas, C. M., Gradil, C. & Uricchio, C. K. 2014. Manual corneal thickness measurements of healthy equine eyes using a portable spectral-domain optical coherence tomography device. *Equine Vet J*, 46, 631-4.

Plummer, C. E., Ramsey, D. T. & Hauptman, J. G. 2003. Assessment of corneal thickness, intraocular pressure, optical corneal diameter, and axial globe dimensions in Miniature Horses. *American Journal of Veterinary Research*, 64, 661-665.

Ramsey, D., Mutti, D., Zadnik, C., Bullimore, M. A. & Murphy, C. 2000. Refractive error in Rocky Mountain horses with cornea globosa and with normal corneas. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41, S135.

Ramsey, D. T., Hauptman, J. G. & Petersen-Jones, S. M. 1999. Corneal thickness, intraocular pressure, and optical corneal diameter in Rocky Mountain Horses with cornea globosa or clinically normal corneas. *American Journal of Veterinary Research*, 60, 1317-21.

Read, S. A., Collins, M. J. & Iskander, D. R. 2008. Diurnal variation of axial length, intraocular pressure, and anterior eye biometrics. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49, 2911-8.

Ribeiro, A. P., Silva, M. L., Rosa, J. P., Souza, S. F., Teixeira, I. A. & Laus, J. L. 2009. Ultrasonographic and echobiometric findings in the eyes of Saanen goats of different ages. *Veterinary Ophthalmology* 12, 313-7.

Rogers, M., Cartee, R. E., Miller, W. & Ibrahim, A. K. 1986. Evaluation of the extirpated equine eye using B-mode ultrasonography. *Veterinary Radiology*, 27, 24-29.

Rose, M. D., Mattoon, J. S., Gemensky-Metzler, A. J., Wilkie, D. A. & Rajala-Schultz, P. J. 2008. Ultrasound biomicroscopy of the iridocorneal angle of the eye before and after phacoemulsification and intraocular lens implantation in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 69, 279-88.

Saied, A., Cherin, E., Gaucher, H., Laugier, P., Gillet, P., Floquet, J., Netter, P. & Berger, G. 1997. Assessment of articular cartilage and subchondral bone: subtle and progressive changes in experimental osteoarthritis using 50 MHz echography in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research*, 12, 1378-86.

- Scotty, N. C. 2005. Ocular Ultrasonography in Horses. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 4, 106-113.
- Scotty, N. C., Cutler, T. J., Brooks, D. E. & Ferrell, E. 2004. Diagnostic ultrasonography of equine lens and posterior segment abnormalities. *Veterinary Ophthalmology*, 7, 127-139.
- Soroori, S., Masoudifard, M., Raoofi, A. & Aghazadeh, M. 2009. Ultrasonographic findings of some ocular structures in Caspian miniature horse. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 10, No. 4, Ser. No. 29, 2009, 329-333.
- Srinivasan, S., Baldwin, H. S., Aristizabal, O., Kwee, L., Labow, M., Artman, M. & Turnbull, D. H. 1998. Noninvasive, in utero imaging of mouse embryonic heart development with 40-MHz echocardiography. *Circulation*, 98, 912-8.
- Svaldenienė, E., Paunksnienė, M. & Babrauskienė, V. 2004. Ultrasonographic study of equine eyes. *Ultragarsas*, Nr.4, 49-51.
- Tello, C., Liebmann, J., Potash, S. D., Cohen, H. & Ritch, R. 1994. Measurement of ultrasound biomicroscopy images: intraobserver and interobserver reliability. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 35, 3549-52.
- Townsend, W. M., Wasserman, N. & Jacobi, S. 2013. A pilot study on the corneal curvatures and ocular dimensions of horses less than one year of age. *Equine Veterinary Journal*, 45, 256-8.
- Trim, C. M., Colbern, G. T. & Martin, C. L. 1985. Effect of xylazine and ketamine on intraocular pressure in horses. *Veterinary Record*, 117, 442-3.
- Trope, G. E., Pavlin, C. J., Bau, A., Baumal, C. R. & Foster, F. S. 1994. Malignant glaucoma. Clinical and ultrasound biomicroscopic features. *Ophthalmology*, 101, 1030-5.

- Tuntivanich, N., Petersen-Jones, S. M., Steibel, J. P., Johnson, C. & Forcier, J. Q. 2007. Postnatal development of canine axial globe length measured by B-scan ultrasonography. *Veterinary Ophthalmology*, 10, 2-5.
- Turnbull, D. H., Bloomfield, T. S., Baldwin, H. S., Foster, F. S. & Joyner, A. L. 1995a. Ultrasound backscatter microscope analysis of early mouse embryonic brain development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 2239-43.
- Turnbull, D. H., Starkoski, B. G., Harasiewicz, K. A., Semple, J. L., From, L., Gupta, A. K., Sauder, D. N. & Foster, F. S. 1995b. A 40-100 MHz B-scan ultrasound backscatter microscope for skin imaging. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 21, 79-88.
- Urbak, S. F., Pedersen, J. K. & Thorsen, T. T. 1998. Ultrasound biomicroscopy. II. Intraobserver and interobserver reproducibility of measurements. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 76, 546-9.
- Usui, S., Ikuno, Y., Uematsu, S., Morimoto, Y., Yasuno, Y. & Otori, Y. 2013. Changes in axial length and choroidal thickness after intraocular pressure reduction resulting from trabeculectomy. *Journal of Clinical Ophthalmology*, 7, 1155-61.
- Valentini, S., Tamburro, R., Spadari, A., Vilar, J. M. & Spinella, G. 2010. Ultrasonographic Evaluation of Equine Ocular Diseases: A Retrospective Study of 38 Eyes. *Journal of Equine Veterinary Science*, 30, 150-154.
- Van Der Woerdt, A., Gilger, B. C., Wilkie, D. A. & Strauch, S. M. 1995. Effect of auriculopalpebral nerve block and intravenous administration of xylazine on intraocular pressure and corneal thickness in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 56, 153-158.
- Von Birgelen, C., Li, W., Bom, N. & Serruys, P. W. 1997. Quantitative three-dimensional intravascular ultrasound. *Seminars in interventional cardiology*, 2, 25-32.

Ye, S. G., Harasiewicz, K. A., Pavlin, C. J. & Foster, F. S. 1995. Ultrasound characterization of normal ocular tissue in the frequency range from 50 MHz to 100 MHz. *Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, IEEE Transactions on*, 42, 8-14.

Zhou, S. Y., Wang, C. X., Cai, X. Y., Huang, D. & Liu, Y. Z. 2013. Optical coherence tomography and ultrasound biomicroscopy imaging of opaque corneas. *Cornea*, 32, e25-30.

## VII. ANHANG

### 1. Publikationsliste

Teile dieser kumulativen Dissertation wurden wie folgt veröffentlicht:

*Posterpräsentation:*

Herbig LE, Eule JC. Central corneal thickness of healthy equine eyes measured with high frequency ultrasound (HF) and ultrasound biomicroscopy (UBM). Annual Scientific Meeting of the European College of Veterinary Ophthalmologists, London, UK May 15–18, 2014. *Vet Ophthalmol*, 17: E16–E30. doi:10.1111/vop.12191.

*Vortrag:*

Herbig LE, Eule JC. Sonographic documentation of selected equine corneal diseases by UBM, a case series. In conference proceedings des Dorothy Havemeyer Foundation Equine Ophthalmology Symposium des International Equine Ophthalmology Consortium (IEOC) vom 5 bis 7 July 2014 in Stresa, Italien.

*Publikationen in Fachzeitschriften:*

Publikation I

Herbig LE, Eule JC.

Central corneal thickness measurements and ultrasonographic study of the growing equine eye

*Veterinary Ophthalmology* 2015;18(6):462-71

DOI: <https://doi.org/10.1111/vop.12252>

Publikation II

Herbig LE, Köhler L, Eule JC.

High resolution imaging of the equine cornea with the DUB®-SkinScanner v3.9

*Tierärztliche Praxis Ausgabe G, Großtiere/Nutztiere* 2016; 44: 360-367.

DOI: <https://doi.org/10.15653/TPG-160344>

1.1. Abstract zur Posterpräsentation

CENTRAL CORNEAL THICKNESS OF HEALTHY EQUINE EYES  
MEASURED WITH HIGH FREQUENCY ULTRASOUND (HF) AND  
ULTRASOUND BIOMICROSCOPY (UBM)

L Herbig<sup>1</sup> & JC Eule<sup>1</sup>

Small Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universität  
Berlin, Germany<sup>1</sup>

**Purpose:** To establish central corneal thickness (CCT) measurements using HF and UBM in healthy equine eyes.

**Methods:** 50 horses free of ocular disease undergoing general anesthesia non-related to this study. 70 eyes of 50 horses (warmblood, 36 male, 14 female) with a mean age of  $23.0 \pm 21$  months (range 1 month - 6.25 years) were examined. All measurements were obtained by one investigator (LH) with the DUB®-SkinScanner v3.9 (taberna pro medicum GmbH, Lueneburg, Germany). All eyes were visualized in the center of the cornea in the A- and B-mode with the HF (22 MHz, tissue depth 4mm, axial resolution  $74.6\mu\text{m}$ ) and the UBM transducer (50 MHz, tissue depth 4.15mm, axial resolution  $32.8\mu\text{m}$ ). CCT was measured three times for each transducer and eye. For further analysis one eye per horse was chosen randomly. The values obtained with the 22 and 50 MHz probe were tested with the Mann-Whitney-U-Test.

**Results:** No differences were found between the left and right eye of the 20 horses with bilateral readings. The CCT value (mean  $\pm$  SD) obtained by the 22 MHz transducer was  $817 \pm 41 \mu\text{m}$  and for the 50 MHz transducer  $818 \pm 43 \mu\text{m}$ . For all eyes no significant differences were found between the two transducers ( $p = 0.937$ ).

**Conclusions:** HF and UBM provide values for CCT measurements in healthy horses that are comparable to values reported previously in literature.

1.2. Abstract zum Vortrag

SONOGRAPHIC DOCUMENTATION OF SELECTED EQUINE CORNEAL DISEASES BY UBM, A CASE SERIES

Author and address:

Lena Herbig, J. Corinna Eule

Freie Universität Berlin, Oertzenweg 19b, 14163 Berlin, Germany

**Topic area:**

Cornea, ultrasonography

**Case summary**

Three different corneal pathologies were pictured in the A- and B-mode of ultrasound biomicroscopy (UBM) at a frequency of 50 MHz.

Patient number 1: horse (3 year old Holsteiner mare) with chronic corneal edema due to glaucoma

Patient number 2: pony (10 year old Deutsches Reitpony stallion) with a superficial ulcerative keratitis

Patient number 3: horse (18 year old Hanoverian gelding) suffering from a deep ulcerative keratitis

For the examination all horses were manually restrained, one horse needed sedation. The UBM scans allowed in-vivo, real time imaging and measurement of pathological conditions of the cornea. Transparency of the cornea was not required. Supplement information in clinical diagnosis and treatment of equine corneal diseases was achieved.

**Key Words:**

Cornea, ultrasound biomicroscopy, keratitis

**Discussion points:**

- Advantages of UBM compared to other techniques (Slit-lamp, SD-OCT)
- Limitations (penetration depth, contact with the cornea for coupling)
- Artifacts

### 1.3. Publikation I

## 1.4. Publikation II

## 2. Danksagung

Für meine Doktorarbeit schulde ich sehr vielen Menschen einen herzlichen Dank.

Besonders möchte ich mich bei meiner Doktormutter bedanken. Sie brachte mir sehr viel Geduld entgegen und sorgte mit wertvollen Ratschlägen für das Gelingen der Arbeit. Ohne Ihr Wissen, ohne Ihre Ideen und Ihre Kritik wäre mein Projekt niemals soweit gekommen.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, ohne die ein Studium und eine Doktorarbeit niemals möglich geworden wären. Sie brachten mir stets Verständnis entgegen, ermutigten mich nicht aufzugeben und haben immer an mich geglaubt.

Ein großer Dank geht an meinen Mann, der mich stets während der Erstellung der Arbeit unterstützte, in meinen Vorhaben bestärkte und mich zu wichtigen Terminen begleitete.

Insbesondere möchte ich auch Lothar danken, der leider im letzten Jahr von uns gegangen ist. Er hat mich an dieses das Thema und an die Firma taberna pro medicum herangeführt. Es war eine Freude und eine Ehre mit ihm zusammen gearbeitet zu haben.

Mein Dank gilt auch den Inhabern und Mitarbeitern der Firma tpm. Ohne die Nutzung ihrer Ultraschallsysteme wäre es nicht möglich gewesen diese Fülle an Daten und Erkenntnissen zu ermitteln. Zudem standen sie mir stets bei fachlichen und technischen Fragen beiseite.

Auch Herrn Richter, der mir wertvolle Tipps für den statistischen Umgang mit Zahlen gab, gilt mein Dank.

Ebenfalls möchte ich den Mitarbeitern des Gestüts an der Lewitz danken. Ohne Ihren Einsatz wäre es mir nicht möglich gewesen die Daten, welche den Grundstein dieser Arbeit legten, zu sammeln.

### **3. Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen Anspruch genommen habe.

Berlin der 21.07.2017

LENA HERBIG



