Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. R. Korbel

# Okulare Sonographie am Fischauge -Das hintere Augensegment am Beispiel des Koi (*Cyprinus carpio*)



Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

> von Petra Brandstetter aus Wien

München 2014

# Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians Universität München

Dekan:	UnivProf. Dr. Joachim Braun
Berichterstattung:	UnivProf. Dr. Rüdiger T. Korbel
Korefferentin:	UnivProf. Dr.Cordula Poulsen Nautrup

Tag der Promotion: 08. Februar 2014

Meinem Vater gewidmet

## Inhaltsverzeichnis

1.	EINLEITUNG	5
2.	LITERATUR	6
2	2.1. Das Fischauge	6
	2.1.1. Anatomie und Physiologie	6
	2.1.2. Pathologische Augenveränderungen bei Fischen	18
2	2.2. Sonographie	25
	2.2.1. Grundlagen der Sonographie	25
	2.2.2. Okulare Sonographie	35
	2.2.3. Okulare Dopplersonographie	39
2	2.3. ANÄSTHESIE BEI FISCHEN	41
	2.3.1. Methoden	42
	2.3.2. Narkosestadien	44
2	2.4. OPHTHALMOLOGISCHE UNTERSUCHUNG VON FISCHEN	47
	2.4.1. Allgemeine ophthalmologische Untersuchung	47
	2.4.2. Spezielle ophthalmologische Untersuchung	48
2	2.5. PATHOLOGISCH-ANATOMISCHE UNTERSUCHUNG DES AUGES	49
	2.5.1. Enukleation	49
	2.5.2. Fixation und Präparation	50
3.	MATERIAL UND METHODEN	51
3	3.1. ZIELSETZUNG	51
3 3	3.1.       ZIELSETZUNG         3.2.       MATERIAL	51 51
3 3	3.1.       ZIELSETZUNG         3.2.       MATERIAL         3.2.1.       Probanden	51 51 <i>51</i>
3 3	<ul> <li>3.1. ZIELSETZUNG</li> <li>3.2. MATERIAL</li> <li>3.2.1. Probanden</li></ul>	51 51 51 52
3	<ul> <li>3.1. ZIELSETZUNG</li> <li>3.2. MATERIAL</li></ul>	51 51 51 52 53
3	<ul> <li>3.1. ZIELSETZUNG</li> <li>3.2. MATERIAL</li></ul>	51 51 51 52 53 53
3	<ul> <li>3.1. ZIELSETZUNG</li> <li>3.2. MATERIAL</li></ul>	51 51 51 52 53 53
3	<ul> <li>3.1. ZIELSETZUNG</li> <li>3.2. MATERIAL</li></ul>	51 51 51 52 53 53 55 56
3	<ul> <li>3.1. ZIELSETZUNG</li></ul>	51 51 51 52 53 53 55 56
3 3 3	<ul> <li>3.1. ZIELSETZUNG</li></ul>	51 51 52 53 53 55 56 56 58
3333	<ul> <li>3.1. ZIELSETZUNG</li></ul>	51 51 52 53 53 55 56 56 58 59
3333	<ul> <li>3.1. ZIELSETZUNG</li></ul>	51 51 51 52 53 53 55 56 56 58 59 64
3333	<ul> <li>3.1. ZIELSETZUNG</li></ul>	51 51 51 52 53 53 53 55 56 56 56 56 59 64 65
3 3 3 4.	3.1.       ZIELSETZUNG         3.2.       MATERIAL         3.2.1.       Probanden         3.2.2.       Material für die ophthalmologische Untersuchung         3.2.3.       Material für die Narkose         3.2.4.       Material für die sonographische Untersuchung         3.2.5.       Material für die postmortem Dokumentation         3.3.       METHODE         3.3.1.       Versuchsaufbau und Durchführung der Narkose         3.3.2.       Ophthalmologische Untersuchung         3.3.3.       Sonographische Untersuchung         3.3.4.       Postmortem Untersuchung und Fotographie         3.3.5.       Statistik	51 51 51 52 53 53 53 53 53 55 56 56 56 56 56 56 64 65 67
3 3 3 3 4.	3.1.       ZIELSETZUNG         3.2.       MATERIAL         3.2.1.       Probanden         3.2.2.       Material für die ophthalmologische Untersuchung         3.2.3.       Material für die Narkose         3.2.4.       Material für die sonographische Untersuchung         3.2.5.       Material für die postmortem Dokumentation         3.3.       METHODE         3.3.1.       Versuchsaufbau und Durchführung der Narkose         3.3.2.       Ophthalmologische Untersuchung         3.3.3.       Sonographische Untersuchung         3.3.4.       Postmortem Untersuchung und Fotographie         3.3.5.       Statistik	51 51 51 52 53 53 53 53 53 55 56 56 58 59 64 67 67

	4.2.1. Fundusfotographie	68
	4.3. DIE ULTRASCHALLUNTERSUCHUNG IM B-MODE	71
	4.3.1. Darstellung des Koiauges	71
	4.3.2. Nervus opticus	83
	4.3.3. Orbita	83
	4.4. BIOMETRISCHE MESSUNGEN	87
	4.4.1. Glaskörper transversal	89
	4.4.2. Bulbus transversal	90
	4.4.3. Bulbus axial	91
	4.4.4. Hintere Augenwand	
	4.5. DIE DOPPLERSONOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNG	
	4.5.1. CFM Modus	
	4.5.2. Duplex – Sonographie	
	4.6. STATISTISCHE AUSWERTUNG	
	4.6.1. Ergebnisse der biometrischen Messungen	99
	4.6.2. Wiederholbarkeit der Messungen	100
	4.6.3. Vergleich der Messbarkeit des rechten und des linken Auges	102
	4.6.4. Vergleich der Messungen axial vertikal und axial horizontal	103
	4.6.5. Korrelation zwischen Fischgröße und Bulbusgröße	104
	4.7. POSTMORTEM BULBUS UNTERSUCHUNGEN	107
5.	DISKUSSION	
		111
	5.1.1 Narkosedauer	
	5.1.2 Ophthalmologische Untersuchung	
	5.1.3 Ultraschallgerät und Sonde	
	5.1.4 Untersuchungsehenen	
	5.1.5 Handhabung der Eische	
	5.1.6 Bildhearbeitung	
	5.2.1 Darstellbarkeit des Kojauges	115
	5.2.2. Biometrie und Statistik	
	523 Die dopplersonographische Untersuchung	121
	5.3 DIE POSTKI INISCHE UNTERSUCHUNG	122
~		
б.	ZUSAMMENFASSUNG	
7.	SUMMARY	125
8.	LITERATURVERZEICHNIS	126
9.	ANHANG	
		-

## Abkürzungsverzeichnis

Aa	Arterien
Abb.	Abbildung
A-Mode	Amplituden - Modulation
B-Mode	Brightness - Modulation
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
C	Korrelationskoeffizient
СТ	Computertomographie
D	Dioptrien
н	horizontal
HR	Heartrate (Herzfrequenz)
kHz	Kilohertz
Μ	Musculus (Muskel)
mm	Millimeter
MS 222	Tricainmethansulfonat
MW	Mittelwert (Arithmetischer Mittelwert)
Ν	Nervus
n	Anzahl
OD	Oculus Sinister (linkes Auge)
OS	Oculus Dexter (rechtes Auge)
р	Signifikanz
PC	Personal Computer
RI	Resistance Index (Widerstandsindex)
SW	Standardabweichung
SF	Standardfehler
Tab.	Tabelle
u.a.	unter anderem
V	vertikal
Vmax	Maximale systolische Geschwindigkeit
Vmin	Minimale enddiastolische Geschwindigkeit
μm	Mikrometer
ρ	Korrelationskoeffizient nach Pearson

## 1. EINLEITUNG

Da die Haltung exotischer Tiere immer beliebter wird, gewinnt auch deren Relevanz für die Veterinärmedizin zunehmend an Bedeutung (WILLIAMS und WHITAKER, 1997, WILDGOOSE, 2006) und der Bedarf an leistungsfähigen diagnostischen Verfahren wächst. So ist die okulare Sonographie sowohl in der Human-, als auch in der Veterinärmedizin seit Längerem etabliert und stellt einen ophthalmologischen Standard dar. Augenkrankheiten kommen bei Fischen sehr oft vor (JURK, 2002). Die häufigsten Augenkrankheiten sind der Exophthalmus und die Katarakt (DUKES, 1975, HARGIS, 1991). Da die Hauptindikationen für eine ophthalmologische Ultraschalluntersuchung vor allem Trübungen der optischen Medien (GUTHOFF und GUTHOFF, 1987, POULSEN NAUTRUP, 1998, BYRNE und GREEN, 2002, CRONAU, 2004), retrobulbäre Veränderungen und die Abklärung von Exophthalmus sind (POULSEN NAUTRUP, 1998, BYRNE und GREEN, 2002), ist daher besonders bei Fischen die Erprobung der okularen Sonographie sinnvoll und notwendig. Zudem manifestieren sich gerade bei Fischen viele systemische Erkrankungen zuerst am Auge (JURK, 2002). Gerade durch falsche Haltungsbedingungen, zum Beispiel eine nicht adäquate Wasserqualität kann es zu Beeinträchtigung der Gesundheit, bzw. des Sehvermögens kommen (WILLIAMS, 2012). Die frühzeitige Diagnose und damit rasche Therapie von Augenkrankheiten ist daher von großer Bedeutung für die Gesundheit des Einzeltieres und des gesamten Tierbestandes.

Auf dem Gebiet der Ultraschalldiagnostik bei Fischen wurden jedoch bis auf wenige Ausnahmen (SHEN et al., 2005, WILLIAMS et al., 2007) bisher keine Studien durchgeführt. Ausführliche Beschreibungen zur physiologischen, sonographischen Darstellung des Fischauges, bzw. biometrische Referenzwerte sind also bisher noch nicht verfügbar. Im Rahmen der vorliegenden Studie werden deshalb das diagnostische Potential, sowie mögliche Limitierungen der okularen Ultraschalluntersuchung am Beispiel des Koi (*Cyprinus carpio*) aus der Familie der Cypriniden untersucht. Dazu werden okulare Parameter vermessen um Referenzwerte, als Grundlage für eine Implementierung dieser Methode in die Praxis, zu ermitteln.

Das Ziel dieser Arbeit ist es also, die Einsatzmöglichkeiten und den klinischen Nutzen der okularen Sonographie am Fischauge zu überprüfen. Besonderes Augenmerk wird dabei auf die Darstellung des hinteren Augensegmentes und die choroidale Drüse gelegt. Zudem werden retrobulbäre Gefäße mittels Dopplersonographie dargestellt. Durch postmortem Untersuchungen sollen die erhaltenen Ergebnisse validiert werden.

## 2. LITERATUR

### 2.1. Das Fischauge

In der vorliegenden Arbeit soll am Beispiel des Koikarpfens (*Cyprinus carpio*) im Wesentlichen auf die Anatomie, Funktion und Histologie der Augen von Knochenfischen (Teleostei), und hier vor allem auf das hintere Augensegment eingegangen werden.

### 2.1.1. Anatomie und Physiologie

Der Augenaufbau von Knochenfischen ist dem von anderen Vertebraten sehr ähnlich (DUKES, 1975, HUGHES et al., 1981, WALL, 1998), allerdings erfordern die natürlichen Gegebenheiten unter Wasser spezielle Anpassungen des Sehapparates. Die Anatomie, Struktur und funktionelle Adaption der Augen sind innerhalb der Fischarten unterschiedlich (NICOL, 1989, JURK 2002, WILLIAMS, 2012). Jede Fischart hat sich der eigenen jeweiligen Umgebung angepasst (DUKES, 1975). Laut DUKE-ELDER (1958) besitzen Teleostei das am höchsten entwickelte Auge aller Fische (siehe Abb. 1, 2). Das Sehen unter Wasser unterscheidet sich von dem an Luft durch die Abhängigkeit von verschiedenen Umweltfaktoren wie Wassertiefe, Wasserturbulenzen, Licht, Inhaltsstoffe und die durch diese Faktoren entstehende Wasserfarbe. Je tiefer man taucht, desto weniger Kontraste sind durch den abnehmenden Lichteinfall zu erkennen (LYTHGOE, 1980), zusätzlich wird die verfügbare spektrale Bandbreite geringer. So ist die Farbwahrnehmung bei Fischen, die nahe an der Wasseroberfläche leben gut ausgeprägt, während Tiefseefische - definiert als Fische, die tiefer als 200 Meter leben (DOUGLAS et al., 1998) - nur zwischen hell und dunkel differieren können (HOFFMANN, 2005). Je nach Fischspezies kann die Augengröße in Relation zur Körpergröße sehr stark variieren (KOPPANG und BJERKAS, 2006). So besitzen manche Tiefseefische, die naturgemäß mit nur wenig Licht auskommen müssen, sehr große Augen. Es existieren sogar Fischarten die blind sind, rudimentäre, bzw. gar keine Augen aufweisen, da das visuelle System, zum Beispiel bei Höhlenfischen an Bedeutung verliert (HARGIS, 1991, JURK, 2002, HOFFMANN, 2005).

Extraokulare Muskeln sind bei Fischen in der Regel rudimentär angelegt (MILLICHAMP, 1991), was zu Folge hat, dass die meisten Fischarten - im Gegensatz zu Säugetieren - keine oder nur schwache willkürlichen Augenbewegungen durchführen können. Laut DUKE-ELDER (1958) stellen die Augenbewegungen der Fische eine reflexartige und primitive Drehung des Auges als Anpassung an die Bewegung des Körpers dar. Die zwei schiefen und vier geraden

Augenmuskeln sind immer präsent, unabhängig von der Fischart und deren tatsächlich vorhandener Fähigkeit, die Augen zu bewegen. Retraktor- und Levatormuskeln sind bei Fischen nie vorhanden (WALLS, 1963, NICOL, 1989). Zur Vergrößerung ihres Blickfeldes und um optischen Reizen folgen zu können, müssen die Tiere also ihre Körperposition verändern und damit zielgerichtete Bewegungen ausführen (DUKE-ELDER, 1958, WILCOCK und DUKES, 1989, KERN, 1998, JURK, 2002, HOFFMANN, 2005, KOPPANG und BJERKAS, 2006). Laut HARGIS (1991) können einige Knochenfische ihre Augen unabhängig voneinander bewegen und fokussieren. Ob Fische über binokulares Sehen verfügen, wird kontrovers diskutiert. So geht WILLIAMS (2012) davon aus, dass Fische sehr wohl binokular sehen, während zum Beispiel KERN (1998) der gegenteiligen Auffassung ist. Das Sichtfeld jedes Auges beträgt ungefähr 180-190 Grad (TREVARTHEN, 1968). Da die Augen lateral am Körper positioniert sind, besteht ein gutes räumliches Sehvermögen, mit einem sehr schmalen, nicht einsehbaren, kaudalen Bereich von etwa 10-15 Grad (FERNALD, 1985).



**Abbildung 1**: Schematische Darstellung des Auges von Knochenfischen (HARGIS, 1991); (Mit freundlicher Genehmigung von: ELSEVIER Verlag)



**Abbildung 2**: Axialer-Horizontaler Schnitt durch das Auge und das periorbitale Gewebe eines Goldfisches (*Carassius auratus*) (modifiziert nach ROCHON-DUVIGNEAUD, 1943)

#### 2.1.1.1. Orbita

Das Auge befindet sich in einer knöchernen, geschlossenen und geräumigen Orbita (siehe Abb. 3, 4). In ihr befindet sich viel loses Bindegewebe, Fett und venöse Sinuse, die als Dämpfung für den Augapfel dienen (DUKE-ELDER, 1958, JURK, 2002). In der Orbita befinden sich außerdem die Augenmuskeln (NICOL, 1989), welche unter Punkt 2.1.1. beschrieben sind.



**Abbildung 3**: Transversaler Schnitt eines Koipräparates auf Augenhöhe. Darstellung der Augen und des orbitalen Fettgewebes (ZBORAY et al., 2010); (Mit freundlicher Genehmigung von: SPRINGER Science and Business Media)



**Abbildung 4:** Horizontaler Schnitt eines Koipräparates auf Augenhöhe. Darstellung der Augen und der orbitalen Strukturen (ZBORAY et al., 2010); (Mit freundlicher Genehmigung von: SPRINGER Science and Business Media)

#### 2.1.1.2. Bulbus

Fische haben eine abgeflachte und elliptische Bulbusform, bei dem die anterior - posterior gemessene Achse des Bulbus wesentlich kürzer als die dorso-ventrale ist. Zudem ist der vordere Teil des Bulbus meist abgeflachter als der hintere (DUKE-ELDER, 1958, NICOL, 1989, HARGIS, 1991, KERN, 1998, WALL, 1998, JURK, 2002, WILLIAMS, 2012). Der Grund für diese anatomische Gegebenheit erklärt sich durch die Stromlinienform des Sehapparates als Anpassung an das Wasser. Deswegen haben langsam schwimmende Fische einen sphärischeren Bulbus als schnellere (DUKE-ELDER, 1958).

#### 2.1.1.3. Augenlider

Die Augen der meisten Knochenfische besitzen keine sichtbaren Augenlider (KERN, 1998), rudimentäre bzw. modifizierte Lidfalten sind jedoch vorhanden (STOSKOPF, 1993, JURK, 2002). Der Augapfel ist von einem zirkulären Sulcus umgeben, der sich zwischen Korneaepithel und der Haut befindet. Der äußere Rand dieses Sulcus stellt zurückgebildete Lidfalten dar (DUKE-ELDER, 1958). Histologische Lidanteile sind laut WILLEKE (2008) im Limbus erkennbar. Eine der Funktionen der Augenlider, nämlich die Retina vor starker Lichteinwirkung zu schützen, wird bei Fischen durch die Retina selbst übernommen. Näheres dazu siehe unter Punkt 2.1.1.6. Im Gegensatz zu den Knochenfischen besitzen manche Knorpelfische Augenlider (KERN, 1998, WILLIAMS, 2012). Diese bestehen aus einer modifizierten äußeren Hautstruktur, eine Art Membran, die das Auge an der Kornea bedeckt (KERN, 1998, KOPPANG und BJERKAS, 2006).

#### 2.1.1.4. Tunica fibrosa bulbi

Da sich diese Arbeit hauptsächlich auf das hintere Augensegment bezieht, soll hier nur auf die hinteren Augenanteile der einzelnen Augenschichten eingegangen werden.

#### <u>Sklera</u>

Die Sklera der Knochenfische zeichnet sich durch eine äußerst feste Konsistenz aus, sie enthält in ihrem anterioren Teil, kaudal des Übergangs zwischen Kornea und Sklera (Limbus) ringförmiges Knorpelgewebe, welches variable Anteile skleraler Ossikel enthält (DUKE-ELDER, 1958, DUKES, 1975, KERN, 1998, KOPPANG und BJERKAS, 2006). Knochenfische besitzen maximal zwei Elemente der skleralen Ossikel. Diese befinden sich an den anterioren und posterioren Regionen des Augenäquators. Im Gegensatz zu Vögeln fehlt bei Fischen der Knorpel im hinteren Teil des Bulbus - die Sklera besteht dort aus bindegewebigen Anteilen (DUKE-ELDER, 1958, FRANZ-ODENDAAL und HALL, 2006). FRANZ-ODENDAAL und HALL (2006) vergleichen die knöchernen und knorpeligen Strukturen der Sklera bei Vertebraten. Bei Vögeln und manchen Reptilien existiert ein in die Sklera eingelagerter, knöcherner und geschlossener Skleralring, der den Augapfel vollständig umgibt (DUKE-ELDER, 1958). Im Gegensatz dazu existieren bei Knochenfischen die knorpeligen Anteile separat von den knöchernen. Ossäre Strukturen sind in der Sklera innerhalb der Fischarten sehr unterschiedlich verbreitet (FRANZ-ODENDAAL, 2008). Nach KOPPANG und BJERKAS (2006) besitzen andere Fischarten, wie zum Beispiel Thunfische oder Störe sogar echte Knochenplatten, Aale nur sehnige Anteile in den Skleren, wobei Haie extrem dicke Skleren aufweisen (WALLS, 1963).

#### 2.1.1.5. Tunica vasculosa bulbi

#### <u>Choroidea</u>

Die Tunica vasculosa bulbi ist eine stark vaskularisierte, dicke und pigmentierte Schicht, welche sehr ausgeprägte Unterschiede bei verschiedenen Fischarten zeigt (NICOL, 1989). Sie ist für die immunologische und vaskuläre Versorgung des Auges verantwortlich und weist bei Fischen einige besondere Strukturen auf, die hier näher erläutert werden sollen.

#### Argentaschicht

In vielen Fischspezies enthält die äußere Choroidea Guanin Kristalle, die teilweise bis zum vorderen Irisstroma reichen und das Auge silbern (argenta) erscheinen lassen (VIRCHOW, 1882, DUKE-ELDER, 1958, NICOL, 1989). Die Farbe der Iris ergibt sich also aus den Pigmenten der Iris, sowie aus der schillernden guaninhaltigen Schicht, die die anteriore Iris außen umgibt (KERN, 1998). Bei den meisten Karpfen ist diese Argenta-Schicht sehr dick und besteht aus vielen Lagen von Iridoyzten, die Kristalle enthalten und für das sogenannte "Augenleuchten" bei Lichteinfall verantwortlich sind (NICOL, 1989).

#### "Corpus choroidalis"

Die Choroidea kann bei Knochenfischen einen vaskulären Plexus namens "Corpus choroidalis" (siehe Abb. 2, 5) aufweisen, welcher sich aus einem Geflecht feinster arterieller und venöser Kapillarien ("Rete mirabile") zusammensetzt (BARNETT, 1951, WITTENBERG und HAEDRICH, 1974, DUKES, 1975, HARGIS, 1991, BELLHORN, 1997, KERN, 1998, KOPPANG und BJERKAS, 2006, WILLIAMS, 2012). Diese Struktur wird auch als "Choroid

Gland" (CUVIER, 1805, HARGIS, 1991), "Choroid Rete" (HARGIS, 1991), "Choroid Body" (STOSKOPF, 1993, KOPPANG und BJERKAS, 2006) oder auch "Ocular Rete Mirabile" (HARGIS, 1991) bezeichnet und ist einzigartig bei Teleostei (BELLHORN, 1997). Die "Choroid Gland" ist trotz ihres Namens keine Drüse (BELLHORN, 1997). Sie befindet sich im hinteren Teil der Choroidea, zwischen der Sklera und der Choroidea (DUKE-ELDER, 1958, WILLIAMS, 2012) und stellt ein durch die Arteria und Vena ophthalmica gebildetes Kapillarsystem dar. Sie umgibt den N. opticus hufeisenförmig (offener Teil ventral) (DUKE-ELDER, 1958, WALLS, 1963, HARGIS, 1991) und hat vermutlich eine Retina-ernährende (BELLHORN, 1997), temperaturregulierende, sauerstoffliefernde (HOFFERT et al., 1971, DUKES, 1975, BELLHORN, 1997, KERN, 1998, WILLIAMS und BRANCKER, 2004), druckregulierende (WILCOCK und DUKES, 1989) und Immunsystem-unterstützende (KOPPANG und BJERKAS, 2006) Funktion. Das "Rete mirabile" ist somit eine Struktur an der reger Austausch verschiedener Stoffe durch ein Gegenstromprinzip stattfindet (WITTENBERG und WITTENBERG, 1962, WITTENBERG und HAEDRICH, 1974). Laut WITTENBERG und WITTENBERG (1962) und KOPPANG und BJERKAS (2006) säuert der "Corpus choroidalis" mithilfe von Carboanhydrase das arterielle Blut an und erhöht dadurch die arterielle Sauerstoffkonzentration, um die Retina optimal zu versorgen.



**Abbildung 5**: Vertikaler Schnitt durch das Auge eines Knochenfisches (*Salmo*) (ROMER und PARSONS, 1991); (Mit freundlicher Genehmigung von: BLACKWELL Verlag GmbH, Paul Parey, Hamburg und Berlin)

Nur Fische, die eine Augenkiemendrüse haben (siehe Punkt 2.1.1.7.), besitzen einen "Corpus choroidalis" (HARGIS, 1991). Dieser wird von der Augenkiemendrüse mit arteriellem Blut versorgt (DUKE-ELDER, 1958, WALLS, 1963, WITTENBERG und HAEDRICH, 1974). Laut DUKE-ELDER (1958) fehlen Fischarten mit kleinen Augen, Aalen und Welsen sowohl die "Choroid Gland", als auch Augenkiemendrüse. Karpfenartige Fische, zu denen auch die in dieser Studie vorkommenden Koikarpfen gehören, besitzen beides (VIRCHOW, 1882).

#### "Corpus lentiforme"

Der sogenannte "Corpus lentiforme" ist ein linsenförmiger Körper, der sich bei einigen Cypriniden und anderen Fischarten in der ventralen Öffnung des Corpus choroidalis befindet und eine ähnliche Struktur und Funktion wie dieser aufweist (DEMOLL und MAIER, 1964). Es handelt sich also um eine in der Choroidea befindliche, schmale, ovale und vaskularisierte Struktur, die ebenfalls aus einem arteriellen und venösen Kapillarsystem, wie der Corpus choroidalis besteht, und mit diesem in Zusammenhang steht (COPELAND, 1974). BARNETT (1951) untersuchte den "Corpus lentiforme" bei der Regenbogenforelle und beschrieb, dass diese zusammen mit dem Corpus choroidalis die Lamina Choriocapillaris versorgt, um die Retina zu ernähren.

#### "Processus falciformis"

Manche Knochenfische besitzen eine zusätzliche Struktur namens "Processus falciformis" (siehe Abb. 1, 5), die nicht bei Säugetieren oder höheren Vertebraten vorkommt. Dieser pigmentierte und vaskularisierte "Processus" wölbt sich als ein Teil der Choroidea durch einen nicht geschlossenen ventralen embryonalen Augenspalt in den Glaskörper hervor und ist mit dem "Pecten oculi" der Vögel, und dem "Conus papillaris" der Reptilien vergleichbar (DUKES, 1975, BELLHORN, 1997, RECKEL und MELZER, 2004). Er hat meist eine Sichelform und entspringt in der Nähe der Papilla nervi optici an der ventralen Seite in den Glaskörperraum und reicht bis kranial zur Linse. In dieser Region stellt er den Ansatz für den Musculus retractor lentis dar (DUKES, 1975, NICOL, 1989, BELLHORN, 1997, KOPPANG und BJERKAS, 2006). Man nimmt an, dass diese Struktur unter anderem eine ernährende Funktion für Retina und Glaskörper hat (WALLS, 1963, DUKES, 1975, RECKEL und MELZER, 2004, KOPPANG und BJERKAS, 2006, WILLEKE, 2008). Während zum Beispiel Regenbogen- (NASISSE et al., 1989) und Bachforellen (SZILY, 1922) einen ausgeprägten "Processus falciformis" aufweisen, welcher sich bei der Funduskopie deutlich darstellen lässt, gibt es bei manchen Knochenfischen, bei denen der ventrale Augenspalt völlig verschmolzen ist, keinen "Processus falciformis". Zu dieser Gruppe gehören zum Beispiel Welse (WAGNER, 1970), Aale, Kugel-, und Kofferfische (WALLS, 1963), sowie auch der in dieser Arbeit untersuchte Koikarpfen (VIRCHOW, 1882, SCHULZE, 1892, DUKE-ELDER, 1958). Fischarten, bei denen

der "Processus falciformis" fehlt, besitzen stattdessen Glaskörpergefäße (siehe Punkt 2.1.1.7.), die für die Versorgung des inneren Auges verantwortlich sind (VIRCHOW, 1882).

#### Tapetum lucidum

Knorpelfische und wenige Knochenfischarten besitzen ein choroidales Tapetum lucidum. Die meisten Knochenfische besitzen ein retinales Tapetum lucidum (ARNOTT et al., 1970, OLLIVIER et al., 2004), welches sich im Pigmentepithel der Retina befindet, wie im nächsten Punkt (2.1.1.6.) näher erläutert.

#### 2.1.1.6. Tunica interna bulbi und Nervus opticus

#### <u>Retina</u>

Die Retina hat im Prinzip den gleichen Aufbau und dieselbe Hochdifferenzierung wie die Netzhaut der Säugetiere. Sie hat je nach Fischspezies zwischen 100 µm und 500 µm Dicke. Die empfindliche Retina der Fische besitzt Stäbchen, Zapfen und manchmal sogenannte "Doppelzapfen" (WALLS, 1963, DUKE-ELDER, 1958, DUKES, 1975, STOSKOPF, 1993, STENKAMP, 2011). Solche Doppelzapfen sind meist bei Fischen angelegt, die auch grellem Licht ausgesetzt sind. Tagaktive Fische besitzen insgesamt mehr Zapfen, während nachtaktive Fische und Tiefseefische mehr Stäbchen, manchmal sogar ausschließlich Stäbchen in ihrer Netzhaut aufweisen (DUKE-ELDER, 1958, KERN, 1998). Auch die Verteilung der Stäbchen und Zapfen ist zwischen den Fischarten sehr unterschiedlich (WALLS, 1963). Fischaugen wachsen mit steigendem Lebensalter, so entwickelt sich auch die Retina durch kontinuierliches Zellwachstum und Dehnung der Neuronen fortwährend (WALLS, 1963, KOCK, 1982, STOSKOPF, 1993).

#### "Retinomotor-Movement"

Bei den meisten Knochenfischen kann die Pupillenweite nicht reguliert werden, außerdem sind keine vollständigen Augenlider zum Öffnen und Schließen der Augen vorhanden. Somit ist auch kein Schutz der Retina vor Lichteinstrahlung gegeben. Diesen Schutz muss die Retina selbst durch das sogenannte "Retinomotor Movement" übernehmen. Dieser Begriff umschreibt einen Anpassungsmechanismus des Auges an veränderte Lichtintensität durch Eigenbewegungen der Photorezeptoren. Bei Dämmerung, bzw. im Dunklen, kontrahieren sich die Stäbchen, während sich die Zapfen verlängern und pigmentierte Granula des retinalen Pigmentepithelis an der Basis der Pigmentepithelzelle in der Nähe der Bruch-Membran der Retina aggregieren. Bei Lichteinfall verlängern sich die Stäbchen wieder, die Zapfen kontrahieren sich und die pigmentierte Granula wandert wieder zurück. Dieser Mechanismus

findet sich bei vielen Fischen, Amphibien, Reptilien und bei einigen Vögeln (WALLS, 1963, ARNOTT et al., 1970, HUGHES et al., 1981, BURNSIDE und BASINGER, 1983, STOSKOPF, 1993, WILLIAMS und WHITAKER, 1997, KERN, 1998, OLLIVIER et al., 2004).

#### N. opticus

Laut DUKE-ELDER (1958) ist der Nervus opticus bei Knochenfischen - obwohl diese ein hoch differenziertes Auge haben - eher primitiv ausgebildet. Er hat seine Eintrittsstelle an der Papilla nervi optici (KERN, 1998). Bei manchen Fischen, wie zum Beispiel bei Welsen (DEYL, 1895, WAGNER, 1970,) gibt es sogar multiple optische Papillen, wobei die einzelnen Stränge des N. opticus verschieden dick sein können (siehe Abb. 6).



**Abbildung 6**: Schematische Darstellung eines Augenquerschnittes mit mehreren Eintrittsstellen des Nervus opticus bei einem rückenschwimmenden Kongowels (*Synodontis nigriventris*) (WAGNER, 1970); (Mit freundlicher Genehmigung von: SPRINGER Science and Business Media)

#### **Retinales Tapetum lucidum**

Das Tapetum lucidum stellt eine biologische Reflektorschicht dar, die das Dämmerungssehen verbessert, indem es Licht, das die Retina bereits passiert hat, nochmals zurückspiegelt (NICOL, 1989, OLLIVIER et al., 2004). Je nach Lokalisation kann man diese Schicht als

choroidales oder retinales Tapetum lucidum bezeichnen (siehe Abb. 7) (SOMIYA, 1980, OLLIVIER et al., 2004). Außerdem kann beim retinalen Tapetum lucidum speziesabhängig zwischen einem "verschließbaren" und einem "nicht-verschließbaren" Tapetum unterschieden werden. Dies ist abhängig von der Existenz des oben beschriebenen Retinomotors, also der Fähigkeit, die Photorezeptoren zu schützen, das heisst, das Wandern von schwarzen Pigmenten (Melanin) des retinalen Pigmentepithels in Richtung Membrana limitans externa bei Lichteinfall und das Wandern Richtung Pigmentepithel zurück bei Dämmerung (ARNOTT et al., 1970, STOSKOPF, 1993, WILLIAMS und WHITAKER, 1997, OLLIVIER et al., 2004). Diese reflektorische Schicht kann aus verschiedenen Materialien bestehen. So kann das choroidale Tapetum zum Beispiel ein "Tapetum cellulosum" oder "Tapetum fibrosum" darstellen, während das retinale Tapetum lucidum unter anderem guanin- oder lipidhaltig sein kann (ARNOTT et al., 1970, SOMIYA, 1980). Karpfen besitzen ein retinales, verschließbares Tapetum lucidum, welches laut WALLS (1963) meist guanin-, und laut NICOL (1989) auch lipidhaltiges Reflektormaterial enthält. Ein choroidales Tapetum lucidum, welches keinen sogenannten Retinomotor besitzt, kommt bei Knorpelfischen (Elasmobranches), wie zum Beispiel dem Hai, als auch bei wenigen primitiven Knochenfischen (OLLIVIER et al., 2004) und einigen Tiefsee-Fischen vor, die in dunklen Habitaten leben (SOMIYA, 1980).



**Abbildung 7**: Schematische Zeichnung choroidaler und retinaler Tapeta lucida einer Katze (links), eines Pferdes (Mitte) und eines Fisches (rechts) (OLLIVIER et al., 2004); (Mit freundlicher Genehmigung von: John Wiley and Sons)

#### 2.1.1.7. Blutversorgung des Auges

Das Auge wird nach BARNETT (1951) hauptsächlich von der Arteria ophthalmica und Arteria retinalis versorgt. Kaudodorsal des Nervus opticus befindet sich die Eintrittsstelle der Arteria ophthalmica, die sich in die oben beschriebene "Choroidale Drüse" verzweigt. Die Arteria retinalis, die ventral des Nervus opticus eintritt, versorgt mit einem kleinen Teil den "Corpus choroidalis", zusätzlich den N. opticus, die Augenmuskeln, den "Processus Falciformis", den M. retractor lentis und den Lentiforme Body (falls vorhanden). Bei Fischen, die keinen Processus falciformis haben, sind Glaskörpergefäße angelegt, die unter anderem die inneren Schichten der Retina ernähren (WALLS, 1963). Die Anlage der Glaskörpergefäße ist bei den verschiedenen Fischarten sehr unterschiedlich. In Abbildung 8 sind exemplarisch die Glaskörpergefäße des Koikarpfens dargestellt. Bei Karpfen entspringt die Glaskörperarterie aus der ersten Kiemenarterie und tritt an der Papille des Sehnervens in das Auge ein (VIRCHOW, 1882, DUKE-ELDER, 1958, KOHBARA et al., 1987). Von dort teilt sie sich gleichmäßig dichotom auf (VIRCHOW, 1882), um dann oberflächlich auf der Retina zu liegen zu kommen, ohne in sie einzudringen (DUKE-ELDER, 1958). Von den zwei aufgeteilten stärkeren Arterien zweigen seitlich kleinere Gefäße im rechten Winkel ab. Diese bilden ein Kapillarnetz zwischen den großen Gefäßen und werden danach zu Venen, die wiederum zu einem ringförmigen Gefäß anastomieren KOHBARA et al. (1987).



**Abbildung 8**: Glaskörpergefäße eines Koikarpfens (*Cyprinus carpio*). OD: Nervus opticus, Pfeile: Aufteilung der Glaskörpergefäße, Stern: Kapillarnetz (KOHBARA et al., 1987); (Mit freundlicher Genehmigung von: Dr. Jun Kohbara)

#### Augenkiemendrüse (Pseudobranchie)

Die Augenkiemendrüse oder auch Pseudobranchie ist ein rudimentärer Zungenbeinkiemenbogen, der auf der Innenseite des Operkulums (Kiemendeckelknochens) bei vielen Knochenfischen vorkommt, vor allem bei den Fischen, die auch einen Corpus Choroidalis aufweisen (NICOL, 1989). Die Pseudobranchie ist eine rote, kiemenartige Struktur, welche einen direkten vaskulären Zusammenhang mit der Choroidea hat und eine ähnliche Anordnung der Kapillaren wie das "Rete mirabile" aufweist. Diese Augenkiemendrüse wird mit sauerstoffgesättigtem Blut aus der ersten Kiemenbogenarterie versorgt. Von dort mündet ein Gefäß in das Kapillarnetz der choroidalen Drüse. Die Pseudobranchie übernimmt somit besondere Aufgaben bei der Versorgung der Augen mit Sauerstoff und endokrinologischen Substanzen. Die komplette regulatorische Funktion ist jedoch noch weitgehend ungeklärt (WALLS, 1963, HARDER, 1975, GENTEN et al., 2009). Nicht alle Fische haben eine Augenkiemendrüse, Karpfen besitzen jedoch eine (MATTEY et al., 1980).

#### 2.1.2. Pathologische Augenveränderungen bei Fischen

Augenkrankheiten treten bei Fischen sehr häufig auf, können sowohl primär, als auch sekundär bedingt sein (JURK, 2002, WILLIAMS, 2012) und entwickeln sich sehr oft in Gefangenschaft (STOSKOPF, 1993). Insbesondere schlechte Haltungsbedingungen, wie zum Beispiel schlechte Wasserqualität, nicht artgerechte Temperaturen, Toxine oder auch osmotische Imbalancen im Wasser (HARGIS, 1991), können zu okularen Läsionen führen. Nach KERN (1998) spielen auch falsche Ernährung, Infektionskrankheiten, Traumata, Degenerationen, Neoplasien, Teratogene und spontane Malformationen eine wichtige Rolle im Zusammenhang mit Augenkrankheiten. Im Folgenden soll auf die wichtigsten Augenkrankheiten der Fische, nämlich Exophthalmus, Katarakt, Keratopathien, Retinopathien und Uveititiden (HARGIS, 1991, WILLIAMS, 2012) näher eingegangen werden.

#### 2.1.2.1. Orbita und Bulbus

#### **Exophthalmus**

Exophthalmus bedeutet das Hervortreten des Augapfels aus der Orbita (KOPPANG und BJERKAS, 2006). Dies kann ein- oder beidseitig auftreten und ist von allen bekannten Augenerkrankungen bei Zierfischen die häufigste (DUKES, 1975, HARGIS, 1991). Exophthalmus ist ein sehr unspezifisches Symptom - es entsteht durch raumfordernde retrobulbäre Prozesse oder Schwellungen des Auges und ist laut KOPPANG und BJERKAS

(2006) einer der häufigsten Krankheitsindikatoren bei Fischen. Exophthalmus kann unter anderem infektiös, umweltbedingt, hormonell oder traumatisch bedingt sein (ENGELMAN et al., 1984). Parasiten, wie zum Beispiel Trematoden, können durch ihre Persistenz im retrobulbären Gewebe Exophthalmus verursachen (SINDERMANN und ROSENFIELD, 1954, MILLEMANN und KNAPP, 1970, DUKES, 1975). Laut DUKES (1975) können viele Bakterienarten, wie zum Beispiel Aeromonaden, Pseudomonaden, Flavobakterien oder Mykobakterien für dieses Krankheitsbild verantwortlich sein. KLUGE untersuchte im Jahr 1965 eine mit Flavobakterien infizierte Gruppe von Süßwasserfischen, und konnte bei 80 % der Tiere Exophthalmus feststellen. Die pathologische Nachuntersuchung ergab, dass die Ursache dafür granulomatöse Veränderungen des Nervus opticus, der Orbita und der Retina waren. Exophthalmus kann auch auf Infektionen mit Proto- bzw. Metazoen (DUKES, 1975, HARGIS, 1991), Viren (DUKES und LAWLER, 1975) oder Pilzen (TODARO et al., 1983) zurückzuführen sein. KOPPANG und BJERKAS (2006) stellen außerdem fest, dass Exophthalmus Symptom einer Herzerkrankung bei Fischen sein kann.

Auch ein Vitamin A-Mangel (HUGHES, 1985) und ein Defizit an Nikotinsäure, Folsäure und Vitamin E (TACON, 1992) wurden im Zusammenhang mit Exophthalmus beschrieben. Neoplasien (SCHUBERT, 1969), choroidale Zysten (ENGELMAN et al., 1984), hormonelle Störungen (DUKES, 1975), Dysfunktionen der Choroidea und der Augenkiemendrüse können ebenfalls Exophthalmus verursachen (WILLIAMS und WHITAKER, 1997).

#### "Gas Bubble disease"

"Gas Bubble Disease" beschreibt – analog zur "Taucherkrankheit" beim Menschen - ein endogen oder exogen bedingtes Krankheitsbild, das auf unkompensiertes hyperbarisch gelöstes Gas (Stickstoff oder Sauerstoff), zurückzuführen ist. Dadurch können Embolien und Emphyseme in den betroffenen Tieren entstehen, abhängig vom Grad der Übersättigung, von der Expositionsdauer, von der jeweiligen Spezies und des Entwicklungsstadiums der Tiere (ENGELMAN et al., 1984). Mögliche endogene Ursachen der "Gas Bubble Disease" liegen in einer Fehlfunktion der choroidalen Drüse, durch die Gasblasen entstehen, die entweder im Auge oder im Retrobulbärraum akkumulieren (JURK, 2002). Da das choroidale Netz ein besonders ausgedehntes Kapillarbett aufweist, entstehen dort bevorzugt retrobulbäre Embolien, die zu Gasblasen und somit zu Exophthalmus führen können. Aber auch in der vorderen Augenkammer können Gasblasen entstehen (siehe Abb. 9) (WILLIAMS und BRANCKER, 2004). Eine Behandlung der "Gas Bubble disease" ist schwierig, deshalb sind präventive Maßnahmen, wie eine Entgasung des Wassers, bzw. ein sorgfältiger Transport und Handhabung der Tiere in diesem Zusammenhang besonders wichtig (JURK, 2002).

Gasblasen in der vorderen Augenkammer können ebenfalls infolge von Traumata, bzw. unsachgemäßem Umgang mit den Tieren entstehen (WILLIAMS und BRANCKER, 2004).



**Abbildung 9**: Gasblasen in der vorderen Augenkammer eines Heilbutts (*Hippoglossus hippoglossus*) (WILLIAMS und BRANCKER, 2004); (Mit freundlicher Genehmigung von: ELSEVIER Verlag)

#### 2.1.2.2. Kornea und Sklera

#### <u>Keratitis</u>

Die häufig im Zuge einer reaktiven Keratopathie einhergehenden Veränderungen, wie Ödematisierung (durch Beschädigung von Korneaendothel oder -epithel), Pigmentierung und Neovaskularisation, werden als Keratitiden bezeichnet (WILLIAMS und WHITAKER, 1997, JURK, 2002). Sehr häufig führen Infektionen zu Keratitiden bei Fischen. So wurden in der Literatur Bakterien, wie Aeromonaden, Staphylokokken oder Pseudomonaden (KOPPANG und BJERKAS, 2006, WILDGOOSE, 2006), virale Erreger, wie zum Beispiel ein Iridovirus namens Lymphocystis (DUKES und LAWLER, 1975) und mykotische Erkrankungen beschrieben (KERN, 1998). MAZEN (1994) beschreibt durch Parasiten namens *Myxosoma heterospora* verursachte Hornhautzysten. Ernährungsbedingte Faktoren (HUGHES, 1985),

falsches Handling der Fische (MCLAUGHLIN et al., 1997), sowie übermäßige Sonnenlicht-Exposition (Photokeratitis) (KOPPANG und BJERKAS, 2006) können ebenfalls zu einer Schädigung der Hornhaut führen. Jegliche Verletzung des Korneaepithels kann zu Verlust der natürlichen Schutzfunktion der Kornea, und zu Trübungen führen (UBELS und EDELHAUSER, 1983). Seltener werden Neoplasien der Kornea berichtet (WHITAKER, 1993).

#### <u>Hornhautulzera</u>

Ulzerative Keratitiden kommen bei Fischen häufig vor und sind meistens traumatisch bedingt (WILLIAMS und WHITAKER, 1997). Vor allem unsachgemäßer Transport und Handling der Fische verursachen kleine Schäden auf der Hornhaut (KOPPANG und BJERKAS, 2006). Solche minimalen Läsionen der Kornea können aufgrund von Infektionen mit Bakterien und Pilzen (zum Beispiel *Saprolegnia* spp.) zu Hornhautrupturen und in weiterer Folge zu Panophthalmitis führen (WILLIAMS und WHITAKER, 1997, KOPPANG und BJERKAS, 2006). Auch Parasiten wurden als Ursache für ulzerative Keratitiden beschrieben (SHARIFF, 1981, STOSKOPF, 1993).

#### <u>Skleritis</u>

Die Sklera weist selten Primärerkrankungen auf (WILLIAMS und WHITKER, 1997), Ausnahmen davon sind zum Beispiel Infektionen mit *Myxosoma hoffmani*, die von HOFFMAN und PUTZ (1965) bei Süßwasserfischen beobachtet wurden. Zudem wurden bei Regenbogenforellen und Lachsen nekrotische Sklerititiden, assoziiert mit *Flexibacter psychrophilus* festgestellt (OSTLAND et al., 1997). Skleritis konnte außerdem im Zusammenhang mit Panophthalmitis beobachtet werden (KOPPANG und BJERKAS, 2006).

#### 2.1.2.3. Linse

#### <u>Katarakt</u>

Jede Trübung der Linse, ihrer Kapsel, des Epithels, des Kortex, bzw. des Nukleus, wird als Katarakt bezeichnet. Die Katarakt kommt sowohl bei Wildfischen, als auch bei Zuchtfischen häufig vor und ist hier nach Exophthalmus die zweithäufigste Augenkrankheit (DUKES, 1975, HARGIS, 1991). HUGHES et al. beschrieben 1981 in ihrer Arbeit eine erhebliche Inzidenz von Katarakten bei Zuchtsalmoniden. Die Folge einer Katarakt ist ein beeinträchtigter Lichteinfall auf die Retina der betroffenen Tiere, der mit negativen Folgen für die Futteraufnahme, den Fortpflanzungszyklus und damit generell geringeren Überlebenschancen für die betroffenen Tiere einhergeht (HARGIS, 1991, KARVONEN und SEPPÄLÄ, 2008). Die Folge davon kann eine Reduktion der betroffenen Bestände sein (RAVNEET et al., 2009). Die Ursachen von

Linsentrübungen können in einer falschen Fütterung liegen, aber auch durch osmotische Imbalancen des Wassers, bzw. durch Umwelttoxine ausgelöst werden. Auch die Wassertemperatur, Salzgehalt, Parasiten oder Traumata können ursächlich sein. Weiterhin sind genetische Prädispositionen der Tiere (HARGIS, 1991), bzw. tumorbedingte Katarakte, wie etwa beim schwarzen Goldfisch (WILDGOOSE, 2006) und irreversible Alterskatarakte beschrieben (HARGIS, 1991). Im Folgenden soll näher auf die wesentlichen oben genannten Kataraktursachen eingegangen werden. Eine falsche Fütterung ist eine häufige und wichtige Ursache für Linsentrübungen. So kann ein Mangel an Thiamin, Riboflavin, Tryptophan, Methionin (COWEY et al., 1992), Magnesium, Kupfer, Selen, Vitamin A und Zink (KETOLA, 1978, HUGHES, 1985, TACON, 1992) zu Trübungen der Linse führen. POSTON et al. beschrieben 1977, dass ein Vitamin A-Mangel nur die Kornea und Retina, nicht aber die Linse von Regenbogenforellen beeinträchtigt. Bei Methioninmangel betreffen Linsentrübungen vor allem den vorderen Cortex (POSTON et al., 1977), und bei Zinkmangel eher die Region des Nucleus lentis (KETOLA, 1978, KETOLA, 1979). WILLEKE beschrieb in ihrer Dissertation 2008 detailliert eine Reihe von Kataraktursachen bei Farm- und Wildlachsen, darunter die fütterungsbedingte Störung der Glykolyse-Enzymaktivität in der Linse. Auch osmotische Imbalancen können eine Rolle bei der Entstehung von Katarakten spielen (HIKIDA und IWATA, 1987). Laut HARGIS (1991) sind Linsentrübungen bei rechtzeitiger Optimierung der Wasserqualität reversibel. Verschiedene Studien zeigen, dass auch Umwelttoxine ursächlich für Katarakte bei Fischen sein können. HARGIS und ZWERNER beschrieben 1988 eine Reihe von Augenveränderungen an Tieren aus stark kontaminierten Flussmündungen. Neben Ulzerationen, geschwollenen Retinae und vergrößerten "choroidalen Drüsen", wiesen viele Tiere auch Katarakte auf. Zusätzlich dazu belegten RAVNETT et al. (2009) durch elektronenmikroskopische Analysen die ursächliche Wirkung von Insektiziden (Organophosphaten) bei der Kataraktbildung an Koikarpfen. Auch eine Erhöhung der Umgebungstemperaturen kann zu Linsentrübungen führen. So beschrieben BJERKAS et al. (2001) bei atlantischen Lachsen (Salmo salar) eine Schwellung und Trübung der Linse durch Temperaturerhöhung des Wassers. Nicht zuletzt können auch Parasiten, wie zum Beispiel Diplostomum spp., die bevorzugt in die Linse von Fischen einwandern, dort zu Trübungen führen (DUKES, 1975, SHARIFF et al., 1980, KERN, 1998). Die klinischen Zeichen einer akuten Infektion durch diese häufig vorkommenden Trematoden sind subkapsuläre Katarakte mit veränderter Linsenstruktur. Fortgeschrittene, chronische Infektionen können hingegen zu einer Linsenluxation, Kapselruptur, Uveitis, Retinaablösung und damit letztendlich zur Blindheit führen. Auch eine Reduktion der Linsengröße konnte beobachtet werden (SHARIFF et al., 1980).

#### **Linsenluxation**

GARCIA DA SILVA et al. (2010) beschrieben eine Linsenluxation beim Kuhfisch (*Lactoria cornuta*), die durch ein seltenes iridoziliares Melanom hervorgerufen wurde.

#### 2.1.2.4. Uvea

#### <u>Uveitis</u>

Uveitis ist eine Entzündung der mittleren Augenhaut. Klinische Merkmale sind Rötungen der Uvea, vordere und hintere Synechien, trübes Kammerwasser, Hyphaema (Blut in der vorderen Augenkammer) oder Hypopyon (Eiter in der vorderen Augenkammer) (WILLIAMS und WHITAKER, 1997, JURK, 2002). Ebenso können eine Reihe systemischer Erkrankungen eine Entzündung der Uvea bedingen (KOPPANG und BJERKAS, 2006).

Faktoren, die zu einer Uveitis führen können, sind die oben beschriebenen Augenkrankheiten ("Gas Bubble Disease", Ulzerative Keratitiden) und Infektionen mit Viren, diversen Bakterien (KERN, 1998), Pilzen (JURK, 2002) und Parasiten (SHARIFF et al., 1980, MOLNÁR, 1993, JURK, 2002). Außerdem können Toxine (JURK, 2002, KOPPANG und BJERKAS, 2006), Septikämien, Traumata und eine schlechte Wasserqualität eine ursächliche Rolle spielen (JURK, 2002). Analog zu Säugetieren kann infolge einer Katarakt eine Uveitis durch ausgetretenes Linseneiweiß induziert werden (KOPPANG und BJERKAS, 2006). Aufgrund der verzweigten und ausgedehnten Gefäßstruktur, scheint das Rete Choroidalis eine bevorzugte Eintrittspforte für Infektionen des Auges zu sein. So findet man dort zum Beispiel häufig Myxosporidien vor (MOLNÁR, 1993, WILLIAMS und WHITAKER, 1997). In besonders schwerwiegenden Fällen kann eine Uveitis aufgrund der Nähe der Augenschichten zueinander, zu einer Endophthalmitis, d.h. einer Entzündung der Augeninnenräume und zu einer Panophthalmitis (eitrige Entzündung des gesamten Auges inklusive aller Augenhüllen) führen.

#### 2.1.2.5. Retina

#### Retinopathien und Ablatio retinae

Auch die Retina kann, wie die oben beschriebenen Augenschichten, von vielen systemischen Erkrankungen betroffen sein. Auch Infektionen spielen in dieser Augenregion eine wichtige Rolle. So beobachteten SHARIFF et al. (1980) eingekapselte Parasitenstadien in und unter der Netzhaut, die zu Netzhautablösungen und Pigmentproliferationen führten. Bei vielen Fischarten ist ein weltweit verbreitetes Nodavirus verantwortlich für Enzephalo- und Retinopathien (KOPPANG und BERKAS, 2006). Es befällt das ZNS und kann in akuten Fällen Kabeljau (Gadus morhua) sind Nodavirus-bedingte tödlich enden. Auch beim Retinochorioiditiden beschrieben (GJESSING et al., 2009). Wird eine akute Virusinfektion überlebt, können Fische aufgrund ihrer Fähigkeit, fortwährend neue Nervenzellen zu bilden, gut damit leben (KOPPANG und BJERKAS, 2006). Fehlernährung kann ebenfalls einen negativen Effekt auf die Retina haben (HARGIS und ZWERNER, 1988). Viele Fische können Vitamin C nicht selber synthetisieren und müssen es daher über die Nahrung aufnehmen. Bei einem Mangel kann es zu einer zentralen Retinadegeneration, die sich auf die gesamte Netzhaut ausbreiten kann, kommen (COLLINS et al., 1993). In der Literatur werden zahlreiche andere Ursachen für Retinopathien beschrieben. So fanden REIMSCHUESSEL et al. (1989) ein seltenes Retinoblastom in einem Schweins-Grunzer (Anisotremus virginicus) und einem Katzen-Wels (Ictalurus nebulosus) und YOKOTE (1974) stellte eine durch spontanen Diabetes mellitus ausgelöste Retinopathie mit dilatierten und rupturierten Gefäßen beim Koikarpfen (Cyprinus carpio) fest. Aufgrund der Artefakte, die oftmals bei der histologischen Untersuchung der Retina entstehen, sind pathologische postmortem Befunde immer mit Vorsicht zu interpretieren (JURK, 2002).

### 2.2. Sonographie

### 2.2.1. Grundlagen der Sonographie

Für jede Ultraschalluntersuchung ist es unerlässlich, sich mit den physikalischen Grundlagen von Ultraschallwellen auseinanderzusetzen. Nur durch vertieftes Wissen über die Entstehung und Wirkungsweise von Schallwellen ist es möglich, die resultierenden Bilder der Untersuchung richtig zu interpretieren und auszuwerten (HITTMAIR, 1997).

#### 2.2.1.1. Entstehung und Ausbreitung von Ultraschallwellen

Schallwellen kann man in folgende unterschiedliche Frequenzbereiche einteilen: Infraschall (bis 16 Hz), Hörschall (16 Hz bis 16 kHz) und Ultraschall (ab 16 kHz) (LORENZ und DELOME, 1999). Schall oberhalb der menschlichen Hörfrequenz, also über 20 kHz, wird als Ultraschall bezeichnet (HITTMAIR, 1997, BYRNE und GREEN, 2002). In der medizinischen Diagnostik werden Ultraschallfrequenzen von ca. 2 bis 25 MHz verwendet (HITTMAIR, 1997).

Ultraschallwellen sind Longitudinalwellen, deren Geschwindigkeit von dem Material abhängig ist, auf welches sie treffen. Sie verhalten sich laut BYRNE und GREEN (2002) ähnlich wie Lichtstrahlen. Wenn also eine Ultraschallwelle auf ein Objekt trifft, wird ein Teil davon als Echo reflektiert und kann am Ausgangsort empfangen und bewertet werden (GLADISCH, 1993).

#### 2.2.1.2. Beeinflussung der Ultraschallwellen durch Gewebe

Der Einfallswinkel des Schallimpulses hat einen großen Einfluss auf die Darstellung von Strukturen. Ein im rechten Winkel auf eine ebene Oberfläche senkrecht einfallender Strahl ergibt ein starkes Echo, da die reflektierenden Strahlen in dieselbe Richtung zurückreflektiert werden. Strahlen, die nicht senkrecht einfallen, werden nach dem Prinzip Einfallswinkel ist gleich Ausfallswinkel reflektiert und weniger Echo gelangt zum Transducer zurück (BYRNE und GREEN, 2002).

Schall breitet sich in unterschiedlichen Geweben mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten aus und ist abhängig von der Dichte und der Komprimierbarkeit des jeweiligen Materials. So breiten sich Ultraschallwellen in Medien mit hoher Dichte, wie zum Beispiel in Weichteilen und Knochen schneller aus, als in Medien mit geringerer Dichte, wie zum Beispiel Flüssigkeiten oder Gase (POULSEN NAUTRUP, 1998), da dort die Moleküle weiter auseinander liegen und der Schall länger braucht, um von Molekül zu Molekül weitergegeben zu werden (LORENZ und DELOME, 1999). Die Schallgeschwindigkeit ist also materialspezifisch und beträgt in der Luft etwa 345 m/s, in Weichteilen durchschnittlich 1540 m/s und in Knochen ca. 2200 m/s NAUTRUP, 1998). (POULSEN Das Phänomen des materialspezifischen Schallwellenwiderstandes wird als akustische Impedanz bezeichnet (POULSEN NAUTRUP, 1998, DIETRICH, 2006). In der Diagnostik durchläuft die Ultraschallwelle mehrere Medien mit verschieden starken Widerständen und damit unterschiedlichen akustischen Impedanzen. Der Übergang von einem Medium in ein anderes bedeutet für die Schallwelle eine plötzliche Änderung der akustischen Impedanz. Je größer dieser Impedanzsprung zwischen zwei Geweben ist, desto mehr Schallenergie wird an der Grenze reflektiert (HITTMAIR, 1997) und desto stärker ist das Echo (BYRNE und GREEN, 2002). Akustische Impedanz wird definiert als Produkt aus Materialdichte und Schallausbreitungsgeschwindigkeit (HITTMAIR, 1997, POULSEN NAUTRUP, 1998, BYRNE und GREEN, 2002). Die Impedanzdifferenz an Grenzflächen führt dazu, dass die Schallwellen reflektiert, transmittiert, gebeugt oder gestreut werden (HITTMAIR, 1997). Unter Reflexion versteht man, dass Schallwellen, die auf zwei Stoffe unterschiedlichen Schallwellenwiderstandes stoßen, teilweise nicht durch das zweite hindurchtreten (Transmission), sondern in ursprüngliche Medium das Medium zurückgeworfen, also reflektiert werden.

Treffen die Schallwellen auf unregelmäßige Oberflächen, so tritt Streuung auf. Die Impedanzsprünge der einzelnen Molekülkonglomerate bewirken diese sogenannten Streuungsphänomene, die charakteristisch für parenchymatöse Organe sind (LORENZ und DELOME, 1999). Dabei werden die auftreffenden Schallwellen in verschiedene Richtungen reflektiert (POULSEN NAUTRUP, 1998).

Unter Beugung versteht man die Abweichung einer Wellenausbreitung. Trifft eine Welle auf stark absorbierende Gewebe, zum Beispiel Knochen, so wird die Schallwelle in den Raum hinter dem Hindernis in den Schatten abgelenkt, also hineingebeugt (POULSEN NAUTRUP, 1998).

Als Absorption wird die Schwächung einer Welle, bzw. die Verringerung der Energie beim Durchgang durch eine Materie bezeichnet. Die absorbierte Energie wird dabei in Wärme umgewandelt (BYRNE und GREEN, 2002). Die Absorption ist u.a. abhängig von der Frequenz und der Dicke des Gewebes. Je höher die Frequenz des Ultraschalls, und je dicker das Gewebe, desto stärker ist die Absorption. Dadurch erklärt sich die niedrige Eindringtiefe bei hohen Frequenzen. Bei niedriger Frequenz verhalten sich Absorption und Eindringtiefe genau umgekehrt (POULSEN NAUTRUP, 1998).

#### 2.2.1.3. Erzeugung von Ultraschallwellen für die medizinische Diagnostik

Das piezoelektrische Element stellt die Grundlage der Ultraschalltechnik dar (GLADISCH, 1993, HITTMAIR, 1997, BYRNE und GREEN, 2002). Jaques Curie entdeckte zusammen mit seinem Bruder Pierre Curie 1880 die Piezoelektrizität (CURIE und CURIE, 1880). Der piezoelektrische Effekt beschreibt die Änderung der elektrischen Polarisation und somit das Auftreten einer elektrischen Spannung an Festkörpern, wenn diese durch Druck verformt werden. Umgekehrt verformen sich Materialien bei Anlegen einer elektrischen Spannung. Um Ultraschallwellen zu erzeugen, nützt man somit diesen Effekt, indem man durch hochfrequente Wechselspannungen piezoelektrische Kristalle in Schwingungen versetzt, welche in den Körper des Patienten als Schallwellen weitergegeben werden (BYRNE und GREEN, 2002). Umgekehrt werden aus dem Körper zurückkehrende Echos an ein und demselben Kristall in elektrische Signale umgewandelt (LORENZ und DELOME, 1999, DIETRICH, 2006), elektronisch prozessiert und auf einem Bildschirm dargestellt (BYRNE und GREEN, 2002). Somit stellt der Kristall Sender und Empfänger zugleich dar (POULSEN NAUTRUP, 1998). Die in der medizinischen Diagnostik verwendeten Schallköpfe, welche auch "Transducer", oder "Ultraschallwandler" genannt werden, beinhalten ein bis mehrere piezoelektrische Kristalle. Diese senden schnelle Impulse und nehmen die Echos wieder auf. Je nach Anordnung der piezoelektrischen Kristalle kann zwischen Linear-, Sektor- oder Konvex-Schallkopf POULSEN unterschieden werden (HITTMAIR, 1997, NAUTRUP, 1998). Beim Linearschallkopf sind zahlreiche piezoelektrische Wandler nebeneinander angeordnet. Der Vorteil von Linearschallköpfen ist eine hohe Auflösung im Nahbereich (HITTMAIR, 1997).

#### 2.2.1.4. Unterschiedliche Bildwiedergaben: A-MODE, B-MODE

A-MODE (Amplitude Mode, Amplitude Scan, A-Bild, Impulsechoverfahren) bezeichnet ein eindimensionales Verfahren. Die Echos der ausgesandten Ultraschallimpulse werden in Spannungssignale umgewandelt, deren Amplituden proportional der Echohöhe sind und deren Abstände voneinander den Abständen der Grenzflächen im jeweiligen Medium entsprechen (LORENZ und DELOME, 1999, BYRNE und GREEN, 2002). Laut HAMIDZADA und OSUOBENI (1999) erlaubt A-Mode genauere biometrische Messungen intraokularer Abstände als B-Mode. Einige Autoren vermuten genau das Gegenteil. So empfehlen EL-MAGHRABY et al. (1995) für die okulare Biometrie in der Veterinärmedizin die B-Mode Darstellung. Das B-Mode Verfahren (Brightness MODE, Brightness Scan, B-Scan, B-Bild) ist ein dynamisches, zweidimensionales Verfahren, bei dem in einer Ebene liegende Grenzflächen als Punkte auf einem Monitor, bzw. Foto dargestellt werden, wobei die erzeugten

Lichtpunkte umso heller sind, je stärker das Echo ist (GLADISCH, 1993, BYRNE und GREEN, 2002). Weitere gebräuchliche ein-, zwei- und dreidimensionale Bildverfahren sollen an dieser Stelle nicht näher erläutert werden, da sie für diese Studie nicht näher relevant sind.

#### 2.2.1.5. Schallfeldgeometrie

Die Geometrie des Schallfeldes lässt sich in Nahfeld, Fokuszone und Fernfeld einteilen. Die axiale Ausbreitung des Schallimpulses wird durch Dauer und Länge des Schallimpulses bestimmt und ist in jedem Abstand vom Schallkopf gleich (POULSEN NAUTRUP, 1998). Die laterale Ausdehnung des Ultraschallstrahls ändert sich jedoch mit zunehmender Entfernung. Das Wellenbündel breitet sich im Nahfeld zylindrisch, und im Fernfeld kegelförmig aus (MEIER, 1989). Der Nahfeldbereich, in dem man durch die relativ große Breite des Schallstrahls eine schlechte laterale Auflösung erhält, kann durch die Wahl einer höheren Frequenz und einer kleineren Ultraschallquelle minimiert werden. In der Fokuszone werden die Schallwellen gebündelt. Durch die gute laterale Auflösung erhält man hier die höchste Intensität. Der Fokussierungsbereich ist bei kleineren Frequenzen und größerer Ultraschallquelle größer. Im Fernfeld beginnt der Strahl zu divergieren und die laterale Auflösung wird wieder zunehmend schlechter (POULSEN NAUTRUP, 1998).

#### 2.2.1.6. Auflösungsvermögen

Auflösungsvermögen beschreibt eine deutliche Unterscheidung von zwei dicht hinter- oder nebeneinander liegenden Einheiten, die als unterschiedliche Echos dargestellt werden können (POULSEN NAUTRUP, 1998). Die getrennte Darstellbarkeit zweier Objekte in Schallausbreitungsrichtung wird als axiale Auflösung bezeichnet. Sie ist abhängig von der Wellenlänge, der Impulsbreite und von der Frequenz. Unter der lateralen Auflösung versteht man den Mindestabstand von zwei Strukturen, die nebeneinander liegen, um sie als getrennte Punkte voneinander am Monitor unterscheiden zu können. Die laterale Auflösung ist abhängig vom Durchmesser der Schallquelle, von der Breite des Schallbündels und der Entfernung des Objektes zum Schallkopf. Moderne Ultraschallgeräte bieten die Möglichkeit, durch Fokussierung der Schallwellen, das laterale Auflösungsvermögen zu verbessern (HITTMAIR, 1997).

#### 2.2.1.7. Einstellungsmöglichkeiten

Um eine optimale Darstellung des zu untersuchenden Gewebes zu erreichen, bedarf es einer optimal angepassten Einstellung des Gerätes. Neben der Wahl des Fokus kann durch die Einstellung der Intensität des ausgesandten Schallimpulses die Sendeleistung des Ultraschalls verändert werden. Die gleichmäßige Echoverstärkung aller Bereiche kann mit dem Gain (Gesamtverstärkung) eingestellt werden. Eine zu hohe Einstellung ist zu vermeiden, da durch Überstrahlung Details nicht mehr erkannt werden können. Die sogenannte TGC (Time Gain Compensation), die zeitabhängige Verstärkung, ermöglicht die Verstärkung der Echos von bestimmten Bereichen. Angestrebt wird eine optimale Texturzeichnung des zu untersuchenden Gewebes über die gesamte Bildtiefe. Die Funktion Echoenhancement stellt eine Art "Verstärker" da. Einzelne Strukturen können damit hervorgehoben werden. Je höher der Dynamikbereich gewählt wird, desto mehr Graustufenumfang ist gegeben und desto weicher wird das Bild. Mittels Bildintegration (Bildmittelung oder -glättung) können mehrere Bilder integriert werden, um dadurch bestimmte Strukturen mit geringerer Echogenität hervorzuheben (POULSEN NAUTRUP, 1998).

#### 2.2.1.8. Echogenität

Die Stärke der Reflexion eines Gewebes aufgrund unterschiedlicher Impedanz wird als Echogenität oder Homogenität bezeichnet (HITTMAIR, 1997). Die unterschiedliche Echostärke, -größe, und -dichte charakterisiert unterschiedliche Gewebearten. Grob vereinfacht kann zwischen "echofrei" (keine Reflexion), "echoarm" (schwache Reflexion) und "echoreich" (starke Reflexion der Schallwellen) unterschieden werden. Außerdem kann die Verteilung der Echos homogen oder inhomogen sein (POULSEN NAUTRUP, 1998). Wasser ist ein echofreies Medium und erscheint somit schwarz, Weichteile sind echoarm und werden als dunkles Grau angezeigt, während echoreiche Strukturen wie Knochen, Gas, dichtes Bindegewebe oder Fett als helle, bzw. weiße Punkte oder Flächen erscheinen (HITTMAIR, 1997).

#### 2.2.1.9. Artefakte

Artefakte, die in der Sonographie entstehen und durch physikalische und technische Ursachen bedingt sind, führen zur Darstellung von nicht vorhandenen oder vorgetäuschten

Informationen (GLADISCH, 1993). Deren Kenntnis hilft, falsche Bildinterpretationen zu vermeiden. Die wichtigsten Artefakte sind unten beschrieben.

#### **Wiederholungsechos**

Wenn stark reflektierende Grenzflächen aufeinander folgen, entstehen durch Mehrfachreflexionen sogenannte Wiederholungsechos. Schallimpulse laufen zwischen Schallkopf und Grenzfläche, oder zwischen zwei Grenzflächen mit hohem Impedanzunterschied hin und her (MEIER, 1989). Da der Laufzeitunterschied gleich ist, entstehen Wiederholungsechos, die in tieferen Regionen eine echogene Zone darstellen (GLADISCH, 1993, HITTMAIR, 1997). Diese Phänomene werden auch Revertebrationen genannt. Sie entstehen häufig bei schlechter Ankopplung des Schallkopfes an die Körperoberfläche (HITTMAIR, 1997. POULSEN NAUTRUP. 1998). Der Kometenschweifartefakt ist eine Sonderform des Wiederholungsechos und entsteht an nahe aneinander liegenden Grenzflächen mit deutlich unterschiedlicher akustischer Impedanz. Einzelne Echos können somit nicht mehr getrennt dargestellt werden und distal der Grenzfläche entsteht eine Echosäule, welche einem Kometenschweif ähnelt (HITTMAIR, 1997). Akustische Spiegelbilder sind ebenfalls eine Sonderform der Wiederholungsechos. Durch starke Reflexionen an Grenzflächen mit unterschiedlicher Dichte, wie zum Beispiel an der Leber-Zwerchfell-Lungengrenze, werden Strukturen doppelt abgebildet (GLADISCH, 1993, HITTMAIR, 1997, POULSEN NAUTRUP, 1998).

#### **Rauschen**

Ist die Gesamtverstärkung zu hoch eingestellt, bekommt das Bild auf dem Monitor ein milchiges Aussehen (GLADISCH, 1993). Dies ist besonders auffallend und störend in echofreien Geweben, und kann durch eine Verringerung der tiefenabhängigen Verstärkung reduziert werden (POULSEN NAUTRUP, 1998).

#### **Schichtdickenartefakt**

Am Rand von abgerundeten, flüssigkeitsgefüllten Strukturen können Schichtdickenartefakte zustande kommen. Dies passiert vor allem, wenn das Schallbündel schräg auf die Oberfläche trifft. Durch korrekte Positionierung des Schallkopfes und exakte Einstellung der Fokuszone, kann das Auftreten dieses Phänomens verhindert werden (HITTMAIR, 1997, POULSEN NAUTRUP, 1998).

#### **Distaler Schallschatten**

Distal von stark absorbierenden, reflektierenden Gewebestrukturen oder solchen mit großen Impedanzunterschieden, können komplett echofreie Zonen entstehen, welche auf einer Totalreflexion mit anschließender Schallauslöschung beruhen (HITTMAIR, 1997, POULSEN NAUTRUP, 1998). Schattenbildung und Schallauslöschung können auch durch Reflexion, Brechung, Streuung und Widerhall von Strahlen entstehen (MEIER, 1989).

#### **Tangentialschatten**

Treffen Schallwellen in spitzem Winkel auf runde, beispielsweise zystische Strukturen, werden distal der Ränder streifenförmige echofreie Schatten tangential abgelenkt (HITTMAIR, 1997).

#### Distale Schallverstärkung

Da durch flüssigkeitsgefüllte Hohlräume die Schallenergie nicht abgeschwächt wird, kommt es distal davon durch relativ geringe Absorptionsverluste zur echoreichen Darstellung der Strukturen (POULSEN NAUTRUP, 1998). Flüssigkeitsgefüllte Strukturen können daher eine Hilfestellung durch die verbesserte Darstellung von darunterliegendem Gewebe bedeuten (HITTMAIR, 1997).

#### <u>Verzeichnung</u>

Das Phänomen der Verzeichnung kann zum Beispiel bei Sektorschallköpfen durch die große seitliche Ausdehnung des Schallstrahls zustande kommen. Dabei werden konkave Strukturen, wie zum Beispiel die Netzhaut stärker konkav abgebildet, während konvexe Strukturen flacher abgebildet werden (THIJSSEN, 1988). Durch die starke Krümmung der Linsenperipherie kann auch bei Linearschallköpfen Verzeichnung auftreten. Durch die negative Brechung kommt es zu einer Vorwölbung der Bulbuswand (THIJSSEN, 1988). Auch starke Änderungen der Schallgeschwindigkeiten können diese scheinbare Verkürzung des Auges bedingen. Da Linseninhalt den Ultraschall schneller leitet (POULSEN NAUTRUP 1998), kommt es zu einer schattenhaften Vorwölbung im Bereich des Sehnervenkopfes (BAUM, 1965). Vor allem Kataraktlinsen treten deshalb sehr hohe Schallgeschwindigkeiten und somit scheinbare Makulapathologien auf (siehe Abb. 10) (THIJSSEN, 1988).



**Abbildung 10**: Schematische Darstellung einer Verzeichnung. Scheinbare Makulapathie durch die hohe Schallgeschwindigkeit und Verdickung einer Kataraktlinse (GUTHOFF, 1988); (Mit freundlicher Genehmigung von: Prof. Rudolf Guthoff)

#### 2.2.1.10. Dopplersonographie

#### **Grundlagen**

Mithilfe des Dopplereffekts kann man Aussagen über die relative Flussrichtung, die Geschwindigkeit des Blutes (POULSEN NAUTRUP, 1998), und damit über die Beschaffenheit einzelner Blutgefäße, die Blutperfusion verschiedener Organe oder auch die Ausbreitung von Tumorneovaskularisationen machen (LIEB, 2002). Die Grundlage dafür schaffte der Österreicher, Christian J. Doppler (1803-1853), der entdeckte, dass bei allen Wellen eine Änderung der Frequenz festzustellen ist, wenn sich Beobachter und "Wellenerreger" relativ zueinander bewegen. Treffen also Ultraschallwellen auf sich bewegende Objekte, so verändert sich die Frequenz der reflektierten Schallwellen. Diese Frequenzverschiebung wird auch "Dopplershift" genannt. Diese Gegebenheiten macht man sich in der Ultraschalldiagnostik zu nutze. Bewegt sich der Blutfluss auf die Schallsonde zu, ist die reflektierte Frequenz größer als die ausgesandte. Dies wird beim farbkodierten Dopplerverfahren üblicherweise rot, bzw. bei konventionell gepulsten Dopplerdarstellungen als Amplituden über der Nulllinie dargestellt. Erfolgt der Fluss von der Schallsonde weg, wird die Frequenz der reflektierten Wellen kleiner als die der Ausgesandten. Dies wird im farbkodierten Dopplerverfahren in blauer Farbe dargestellt, die dopplerechographischen Ausschläge erscheinen unter der Nulllinie (POULSEN NAUTRUP, 1998). Allgemein gilt, je größer die Geschwindigkeit des Blutflusses ist, desto größer ist der "Dopplershift" (GELATT-NICHOLSON et al., 1999, STALMANS et al., 2011).

#### **Untersuchungsverfahren**

In der Dopplersonographie haben sich verschiedene Untersuchungsverfahren etabliert. Zum einen wird das kontinuierliche Dopplerverfahren CW (Continous Wave) angewendet, das jedoch in der Veterinärmedizin aufgrund der erforderlichen absoluten Ruhigstellung des Patienten kaum eingesetzt wird. Mit dieser Methode, bei der zwei piezoelektrische Elemente verwendet werden, kann man sehr gut oberflächennahe Gefäße und solche mit sehr hohen Durchflussgeschwindigkeiten messen und bildlich darstellen. Das gepulste Dopplerverfahren PW (Pulsed Wave) erfolgt mit nur einem piezoelektrischen Kristall. Der große Vorteil dieser Methode ist, dass die Schallwellenausbreitung nicht exakt parallel zum Blutstrom sein muss, wie dies beim CW-Dopplerverfahren notwendig ist. Dies wird ermöglicht durch die sogenannte Winkelkorrektur. Allerdings muss dazu an verschiedenen Stellen gemessen werden, was die Untersuchung zeitaufwendig macht (POULSEN NAUTRUP, 1998). Die gleichzeitige Darstellung von Flussdiagramm und ein- oder zweidimensionalen Bildern wird als Duplex Sonographie oder auch farbkodiertes Dopplerverfahren, Farbdopplersonographie oder CFM (Colour Flow Mapping) bezeichnet. Wird also in das B-Bild eine Flussinformation eingeblendet, so spricht man von Duplexsonographie. Duplexsonographie bedeutet somit eine Kombination aus B-Bild und PW Doppler, also eine gleichzeitige Graustufendarstellung mit farbcodierter Erfassung des Blutflusses mittels gepulstem Doppler. Dieses Verfahren ermöglicht die flächige Blutflussmessung durch Erfassung zahlreicher Messvolumina und ist durch seine praktische Anwendbarkeit das gängigste Verfahren in der Veterinärmedizin. Durch bestimmte Farbcodierungen werden verschiedene Flussrichtungen (in Bezug auf die Sonde) dargestellt. Der Blutfluss in Richtung Sonde wird rot, und umgekehrt, der Blutfluss weg von der Sonde wird blau dargestellt. Turbulente Strömungen werden meist gelb oder grün angezeigt (POULSEN NAUTRUP, 1998).

#### Einstellungsmöglichkeiten

Zusätzlich zu den unter Punkt 2.2.1.7. beschriebenen Voreinstellungen sind folgende Einstellungen bei der dopplersonographischen Untersuchung durchführbar: Als Pulsrepititationsrate (PRF) wird die Häufigkeit des Aussendens der Schallimpulse bezeichnet. Eine hohe PRF ergibt eine hohe Beobachtungsfrequenz. Nur Dopplerfrequenzen, die der Hälfte der PRF entsprechen, können korrekt dargestellt werden. Liegt die Schallfrequenz oberhalb der halben PRF, kommt es zum sogenannten Aliasing Phänomen und damit zur umgekehrten Darstellung der Blutströmungsrichtung am Bildschirm. Zwischen PRF und Untersuchungstiefe besteht folgende Abhängigkeit: Je größer die Untersuchungstiefe, desto kleiner die maximale PRF, desto also die maximal kleiner detektierbare Strömungsgeschwindigkeit (SOHN und HOLZGREVE, 1995, POULSEN NAUTRUP, 1998). Die Signalgesamtverstärkung (Gain) verstärkt wie bei der zweidimensionalen B-Mode

Darstellung alle Echos. Ist die Gesamtverstärkung zu hoch eingestellt, werden kleinste Bewegungen als störende Farbpixel dargestellt. Durch Verschiebung der Nulllinie kann der Messbereich vergrößert werden. Rein rechnerisch könnte man diesen auch verdoppeln, wobei dann nur noch die Strömungsrichtungen in eine Richtung messbar sind (POULSEN NAUTRUP, 1998). Der Wandfilter filtert niederfrequente Rauschartefakte und Gefäßwandbewegungen aus dem Frequenzspektrum heraus (SOHN und HOLZGREVE, 1995). Ist der Wandfilter zu niedrig eingestellt, resultieren daraus Störungsartefakte. Der Signalfilter kann Hintergrundrauschen reduzieren, führt aber dabei zu einer Abschwächung von Signalen. Der Geschwindigkeitsbereich sollte so eingestellt werden, dass die ganze Skala ausgenutzt wird, ohne dass das Aliasing-Phänomen auftritt. Das Meßfenster sollte möglichst in der Mitte des zu messenden Gefäßes platziert werden, die Größe des Messvolumens sollte werden und nicht möglichst klein gewählt das Blut darf senkrecht zur Schallausbreitungsrichtung fließen (POULSEN NAUTRUP, 1998).

#### Artefakte bei der Dopplersonographie

Wie bei der B-Mode Untersuchung führen auch bei der Dopplersonographie verschiedene Phänomene zu fehlenden oder falschen Signalen. Die unter Punkt 2.2.1.9. beschriebenen Artefakte wie Schichtdickenartefakte, Spiegelartefakte und Schallschattenphänomene spielen auch bei der dopplersonographischen Untersuchung eine wichtige Rolle. So kommt es beispielsweise bei der farbkodierten Dopplersonographie durch Spiegelung von Gefäßen zur Abbildung von Phantomgefäßen (ARNING, 1997). Die meisten Fehlermöglichkeiten resultieren in der Dopplersonographie laut ARNING (1997) aus Beschallungswinkelartefakten. So kommt es bei einem Beschallungswinkel von 90 Grad zu keinem Strömungssignal, bei einem Winkel von annähernd 90 Grad zu einer fälschlichen Richtungsänderung des Blutflusses der Gefäße. Dies stellt sich beim PW-Dopplerverfahren durch eine Spiegelung des Signals an der Nulllinie dar (POULSEN NAUTRUP, 1998). Durch Einstellung des Beschallungswinkels durch Kippen des Farbfensters bei Linearschallköpfen kann dieses Artefakt vermieden werden. Weichteilpulsationen resultieren in Farbkodierungen, welche durch Bewegung des Gewebes, zum Beispiel an Herzklappen, verursacht werden, Durch Optimierung des Wandfilters und Lageveränderung des Messstrahls können diese Artefakte reduziert oder vermieden werden. Durch eine zu hohe oder zu niedrige Gesamtverstärkung kommt es zu einer fälschlichen Einfärbung bzw. Nicht-Einfärbung des Bildes (POULSEN NAUTRUP, 1998). Nicht zuletzt soll erwähnt werden, dass der Bildaufbau des Farbbildes, der aus dem B-Bild hervorgeht, technisch bedingt wesentlich länger dauert als der Aufbau des normalen B-Bildes. Dadurch entstehen Einschränkungen bei der Darstellung, wie zum Beispiel eine reduzierte Liniendichte im farbigen Strömungsbild gegenüber dem Gewebebild (ARNING, 1997).
### 2.2.2. Okulare Sonographie

### 2.2.2.1. Indikation, Anwendung und Biometrie

Okulare Sonographie ist sowohl in der Human-, als auch in der Veterinärmedizin eine seit Längerem etablierte Methode, die in der Ophthalmologie als Standard eingesetzt wird. Indikationen für eine ophthalmologische Ultraschalluntersuchung sind vor allem Trübungen der optischen Medien wie der Hornhaut, der vorderen und hinteren Augenkammer, der Linse oder des Glaskörpers (GUTHOFF und GUTHOFF, 1987, POULSEN NAUTRUP, 1998, BYRNE und GREEN, 2002). Auch retrobulbäre Veränderungen, wie beispielsweise Tumore, Entzündungen oder Zysten, die bei der ophthalmologischen, bzw. Abszesse, ophthalmoskopischen Untersuchung meist verborgen bleiben, können mittels okularer Sonographie detektiert werden. Weitere Indikationen sind biometrische Messungen, Ex-Enophthalmus, Abklärung von und Darstellung von Fremdkörpern, Netzhautveränderungen oder Linsenluxationen (POULSEN NAUTRUP, 1998, BYRNE und GREEN, 2002). Die Ophthalmosonographie kommt in der Humanmedizin bereits seit Anfang der fünfziger Jahre (MUNDT und HUGHES, 1956, BAUM und GREENWOOD, 1958), in der Veterinärmedizin seit Ende der sechziger Jahre zum Einsatz (RÜHLI und SPIESS, 1995). Erste biometrische Messungen bei Hunden wurden in den achtziger Jahren mittels A-Mode von SCHIFFER et al. (1982) und B-Mode von MILLER und CARTEE (1985) durchgeführt. Mittlerweile wurde eine große Anzahl an Studien über okulare Sonographie und Biometrie bei vielen Klein- und Großtierarten etabliert, unter anderem bei Hunden (COTTRILL et al., 1989, BOROFFKA et al., 2006), Schafen und Rindern (EL-MAGHRABY et al., 1995), Pferden (ROGERS et al., 1986, CRONAU, 2004), Frettchen (HERNÁNDEZ-GUERRA et al., 2007), Vögeln (GUMPENBERGER und KOLM, 2006, STROBEL, 2010) und Reptilien (HOLLINGSWORTH et al., 2007). Biometrische Messungen mittels Ultraschall bieten eine einfache und genaue Möglichkeit, okulare Distanzen und intraokulare Strukturen objektiv zu vermessen (COLEMAN, 1969). Obwohl viele Autoren das A-Mode Verfahren für die Durchführung okularer biometrischer Messungen als präziser im Vergleich zum B-Mode Verfahren einschätzen (COLEMAN, 1979, OLSEN, 1989, THIJSSEN, 1993), eignet sich auch die B-Mode Darstellung sehr gut dafür (BAUM und GREENWOOD, 1958, COTTRILL et al., 1989). EL-MAGHRABY et al. (1995) empfehlen das B-Mode Verfahren für okulare Biometrie, da dieses als Standardverfahren in der veterinärmedizinischen Praxis meist verfügbar und gebräuchlicher in der Anwendung ist. Zudem können mittels B-Mode pathologische Besonderheiten und intraokulare Strukturen genauer veranschaulicht werden.

Folgende Messungen werden in der okularen Sonographie am häufigsten vorgenommen. Die vordere Augenkammer wird vom vorderen Korneaepithel bis zur vorderen Linsenfläche, die

Linse von der vorderen zur hinteren Linsenfläche, der Glaskörper von der hinteren Linsenfläche zur Retina, und der gesamte Bulbus von der Kornea bis zur Retina gemessen (GONZALEZ et al., 2001). HERNÁNDEZ-GUERRA et al. (2007) messen zusätzlich die gesamte Kornea vom vorderen Korneaepithel bis zum inneren Korneaendothel. In einer anderen Studie (BOROFFKA et al., 2006) wird außerdem eine zweite Bulbusmessung, nämlich vom Korneaepithel bis zur hinteren Sklera vorgenommen. Sowohl das linke, als auch das rechte Auge wird dabei in axialer horizontaler und vertikaler Schnittebene vermessen. Pro Parameter werden insgesamt zwei Messungen durchgeführt und daraus ein Mittelwert berechnet. HERNÁNDEZ-GUERRA et al. (2007) errechnen den Mittelwert aus jeweils drei Messungen, so wie es auch in dieser Studie gehandhabt wurde.

M-Mode stellt die dritte Methode für biometrische Messungen dar. Damit können zusätzlich zu den okularen Dimensionen auch dynamische Veränderungen am Auge, zum Beispiel während der Akkommodation gemessen werden (COLEMAN, 1969). Ultrasonographische Untersuchungen am Fischauge wurden bis heute nur wenige durchgeführt. WILLIAMS und BRANCKER (2004) sonographierten Fische, um Gasblasen in der vorderen Augenkammer und retrobulbäre Zysten darzustellen. SHEN et al. (2005) maßen bei Buntbarschen mittels Ultraschall-Biomikroskopie die vordere Augenkammertiefe nach induzierter Kurzsichtigkeit. Bisher wurden von keiner Fischart biometrische Referenzwerte der Augen in der Literatur gefunden. Im Jahr 2007 bestimmten LYNCH et al. die Korneadicke von Koi mittels Ultraschallpachymetrie und WILLIAMS et al. (2007) stellten mithilfe einer 7,5 MHz Sonde Choroidzysten an Fischen sonographisch dar.

#### 2.2.2.2. Untersuchungsmethoden und Untersuchungsebenen

Bei der okularen Sonographie müssen die Schallwellen nur wenige Zentimeter tief ins Gewebe eindringen. Eine Sonde mit hoher Frequenz ist daher zur genauen Detaildarstellung besonders geeignet. Als Bildwiedergabemodus wird sowohl das A-Mode, als auch das B-Mode Verfahren angewendet (GONZALEZ et al., 2001). Die dreidimensionale Sonographie des Auges eignet sich vor allem für die genaue Evaluierung von intraokularen Tumoren (FINGER, 2002). Für die Untersuchung kann der Schallkopf entweder direkt oder mittels einer Vorlaufstrecke, wie zum Beispiel Ultraschallgel, auf die Hornhaut gehalten werden. Zusätzlich gibt es noch die Möglichkeit der transpalpebralen Untersuchungsmethode, bei der die Sonde auf die geschlossenen Augenlider gehalten wird (SMITH et al., 1986). Es gibt drei etablierte Methoden den Schallkopf zu positionieren: transversal, longitudinal und axial, wobei die die transversale und longitudinale Schallebene die Linse umgehen, und dadurch eine Schallabschwächung und -brechung durch diese verhindert wird (siehe Abb. 11) (BYRNE und GREEN, 2002). Bei

der transversalen Schallebene wird der Schallkopf am Übergang von der Kornea zur Sklera positioniert, die Markierung der Sonde, welche sich auf jedem Ultraschalltransducer befindet, zeigt nach nasal (auf einem Ziffernblatt entspricht dies 15 Uhr am rechten Auge und 9 Uhr am linken Auge), während bei der longitudinalen Schallebene die Markierung nach dorsal, also 12 Uhr, zeigt. In der Veterinärmedizin ist die Verwendung der axialen Schnittebene etabliert. Hierbei wird die Sonde in die Mitte der Kornea platziert, der Schallstrahl durchläuft somit die Linse. Beim axialen Schallen kann man zwischen vertikal (Markierung des Schallkopfes zeigt nach dorsal) und horizontal (Markierung der Sonde zeigt nach nasal) unterscheiden. Die Ergebnisse dieser Methode erlauben eine bessere Darstellung der hinteren Augenabschnitte und des Nervus opticus und sind zusätzlich leichter zu interpretieren (GONZALEZ et al., 2001).



**Abbildung 11**: Drei wichtige Schallausrichtungen einer B-Mode Ultraschallsonde. Transversale(A), longitudinale(B) und axiale(C) Schallebene (BYRNE und GREEN, 2006); (Mit freundlicher Genehmigung von: ELSEVIER Verlag)

### 2.2.2.3. Physiologische Darstellung okularer Strukturen im B-Mode

Das Auge besteht zu 80 % aus akustischem Leerraum und ist somit gut geeignet für die sonographische Darstellung der darin enthaltenen Strukturen (GUTHOFF und GUTHOFF, 1987). So sind die Hornhaut, die vordere Augenkammer, Iris, Linsenvorderfläche, Linsenhinterfläche, Glaskörper und die hintere Bulbuswand anhand ihres Echos gut voneinander differenzierbar (siehe Abb. 12) (POULSEN NAUTRUP, 1998). Die Hornhaut erzeugt ein starkes Echo und setzt sich deutlich von der echofreien vorderen Augenkammer ab (POULSEN NAUTRUP, 1998, GONZALEZ et al., 2001). Die Iris stellt sich mittelreflektiv und etwas inhomogen dar (HOFFMANN und KÖSTLIN, 2004), wobei die Linsenvorder- und Linsenhinterfläche als deutliche konvexe, bzw. konkave hyperechogene Linie angezeigt werden (POULSEN NAUTRUP, 1998, GONZALEZ et al., 2001, HOFFMANN und KÖSTLIN, 2004). Der physiologische Glaskörper stellt sich echofrei dar. Die Bulbuswand reflektiert stark, eine Unterscheidung von Netzhaut, Choroidea und Sklera ist jedoch nicht möglich (HAGER et al., 1987, GUTHOFF, 1988, POULSEN NAUTRUP, 1998, GONZALEZ et al., 2001). Im Retrobulbärraum dominiert Fettgewebe, welches sich echoreich darstellt. Darin sind der echofreie Sehnerv und die echoärmeren Augenmuskeln zu erkennen (POULSEN NAUTRUP, 1998).



**Abbildung 12**: Physiologische Sonographische Darstellung des rechten Auges eines Turmfalken im B-Mode (STROBEL, 2010); (Mit freundlicher Genehmigung von: Dr. Birte Strobel)

### 2.2.3. Okulare Dopplersonographie

### 2.2.3.1. Indikation und Anwendung

Die Farbdopplersonographie ermöglicht gleichzeitig eine zweidimensionale Graustufendarstellung im B-Bild und eine farbkodierte Erfassung des Blutflusses mit gepulstem Doppler (KIRCHER et al., 1997, GELATT-NICHOLSON et al., 1999, STALMANS et al., 2011). Hochentwickelte Ultraschallgeräte ermöglichen es, selbst kleinste Gefäße darzustellen. So ist es in der Humanophthalmologie Standard, Gefäße, wie zum Beispiel die Arteria ophthalmica, Arteria centralis retinae und die Arteria ciliaris posterior brevis darzustellen und Aussagen über deren Verlaufsrichtungen, Blutflussgeschwindigkeiten und Widerstandsindices zu treffen (KIRCHER et al., 1997, STALMANS et al., 2011). Somit können nicht-invasiv, schmerzfrei und schnell die veränderten Blutflussgeschwindigkeiten bei Augenund Orbitaerkrankungen, wie zum Beispiel Entzündungen, Neoplasien, Vaskulopathien oder Glaukom, bestimmt werden. Zusätzlich dazu kann die okulare Dopplersonographie auch für Kontrolluntersuchungen nach Augenoperationen eingesetzt werden (GELATT-NICHOLSON et al., 1999). Zahlreiche dopplersonographische Studien ermitteln Referenzwerte und typische Flussdiagramme der Augen- und Orbitagefäße in der Humanmedizin (GUTHOFF et al., 1991, LIEB et al., 1991, ABURN und SERGOTT, 1993, STALMANS et al., 2011). Auch in der Veterinärmedizin gibt es bereits einige Untersuchungen dazu. GELATT-NICHOLSON et al. (1999) führten eine Studie über okulare Dopplersonographie an Hunden durch, STROBEL (2010) untersuchte die Durchblutung des Augenfächers bei Vögeln. Bei der Regenbogenforelle wurde mittels Dopplerultraschall die Blutflussgeschwindigkeit der Augenkiemenarterie gemessen (WASER und HEISLER, 2004).

### 2.2.3.2. Untersuchungsmethoden

Die meisten Schallköpfe, die für retrobulbäre Farbdoppleruntersuchungen verwendet werden, sind Linearschallköpfe mit durchschnittlich 7,5 MHz (STALMANS et al., 2011). Während der Untersuchung darf kein Druck auf das Auge ausgeübt werden, da sonst der Augeninnendruck und der Perfusionsdruck erhöht bzw. verfälscht werden. Zunächst werden mittels B- Mode Verfahren der hintere Teil des Auges und die retrobulbären Strukturen identifiziert. Der Nervus opticus dient als Orientierungspunkt. Wenn das zu untersuchende Gefäß gefunden ist, wird der Farbdoppler eingeschaltet und das erscheinende Messfenster ins Zentrum des Gefäßes gelegt. Es ist zu beachten, dass die Schallwellen parallel zu den Gefäßen verlaufen müssen. Der Winkel, der mittels Winkelkorrektur eingestellt wird, sollte zwischen 30 und 60 Grad liegen

(KREMKAU, 1990). Ein Winkel über 60 Grad führt zu falschen Messergebnissen (WILLIAMSON und HARRIS, 1996). Bei schnell fließenden Gefäßen muss eine höhere Messtiefe als bei langsam fließenden eingestellt werden (STALMANS et al., 2011). In der humanmedizinischen okularen Dopplersonographie sind bei der praktischen Durchführung der Messungen folgende drei Gefäße relevant (STALMANS et al., 2011): Die A. centrals retinalis (CRA = "Central Retinal Artery") liegt mit der dazugehörigen Vene im Nervus opticus und kann aufgrund ihrer räumlichen Nähe nicht separat von dieser gemessen werden. Daher entsteht immer eine doppelte Kurve: Eine pulsatiler, arterieller und unter der Nulllinie ein sinusoider, venöser Ausschlag. Die beiden Aa. ciliares posteriores breves ("SPCAs = Short Posterior Ciliary Arteries") befinden sich jeweils nasal und temporal des N. opticus. Die A. ophthalmica ("OA = Ophthalmic Artery") findet man in tieferen Bereichen des Retrobulbärraumes, diese sollte temporal des N. opticus gemessen werden, sofort nachdem sie diesen kreuzt. Die Messung der Geschwindigkeiten dieser Gefäße ergeben ein typisches Flussprofil, nämlich steile systolische und viel flachere enddiastolische Spitzen (ABURN und SERGOTT, 1993) (siehe Abb. 13). In der Kurve einer Arterie sind mehrere Blutflussgeschwindigkeiten abgebildet. Mittels der maximalen systolischen Blutflussgeschwindigkeit (Vmax) und der langsamsten diastolischen Geschwindigkeit (Vmin) kann der Gefäßwiderstand (RI = Resistance Index) wie folgt ermittelt werden: RI = Vmax-Vmin/Vmax (POURCELOT, 1974). Für jedes Gefäß ergibt dies einen spezifischen Gefäßwiderstand, welcher Hinweise über die Beschaffenheit des zu untersuchenden Gefäßes geben kann (WILLIAMSON und HARRIS, 1996).



**Abbildung 13**: Graphische Darstellung der Spektralanalyse der Dopplerfrequenz der retrobulbären Gefäße eines Menschens. Die X-Achse entspricht der Zeitachse, die Y-Achse der Blutflussgeschwindigkeit des Gefäßes in cm/s. Flussprofile von (A): CRA: A. centralis retinalis, (B): SPCA: A. ciliaris posterior brevis. (C): OA: A. ophthalmica (STALMANS et al., 2011); (Mit freundlicher Genehmigung von: John Wiley and Sons)

### 2.3. Anästhesie bei Fischen

Bei verschiedenen Eingriffen an Fischen muss eine sichere Narkose durchgeführt werden (WILDGOOSE, 2006). Nicht nur operative Eingriffe, sondern auch genauere Untersuchungen sowohl im, als auch außerhalb des Wassers erfordern oft eine Ruhigstellung, bzw. Anästhesie der Tiere, um Abwehrbewegungen, Stress und gegebenenfalls auch Schmerzen der Fische zu vermeiden (STOSKOPF, 1993, NEIFFER und STAMPER, 2009). Der Bereich der Fisch-Analgesie bedarf zusätzlicher Forschungsarbeit, da nur wenige Studien dazu existieren, die teilweise große Widersprüche aufweisen (NEIFFER und STAMPER, 2009).

### 2.3.1. Methoden

Es gibt eine Reihe von Arten, Fische zu anästhesieren, wobei man grundsätzlich zwischen chemischen und nicht-chemischen Methoden unterscheiden kann. Nicht-chemische, bzw. physikalische Narkoseverfahren, wie zum Beispiel das Herabsenken der Wassertemperatur, elektrische Stimuli oder ein Schlag auf den Kopf sind nicht tiergerecht und somit nicht die Methoden der Wahl (FIDDES, 2008). Zusätzlich gibt es noch diverse orale und parenterale Applikationsmöglichkeiten von Anästhetika, welche jedoch bei Fischen eine untergeordnete Rolle spielen (KÖLLE und HENKE, 2004). Bei länger andauernden Eingriffen empfiehlt sich die Narkose mittels Rezirkulationssystem (STOSKOPF, 1993, WILDGOOSE, 2006, FIDDES, 2008). Da in dieser Arbeit ausschließlich die Immersionsanästhesie angewendet wurde, soll unten nur auf diese näher eingegangen werden.

#### 2.3.1.1. Immersionsanästhetika

Die Verwendung von Immersionsanästhetika ist eine gängige und elegante Methode, einen Fisch schonend in das gewünschte Narkosestadium zu bringen. Dabei handelt es sich um Substanzen, die topisch ins Wasser verabreicht und über die Kiemen aufgenommen werden (BROWN, 1993, NEIFFER und STAMPER, 2009). Die zu untersuchenden Fische müssen dazu in ein Behältnis mit Wasser gesetzt werden, das im Idealfall aus ihrem eigenen Herkunftswasser stammt. Das Narkosemittel muss exakt dosiert werden, um den Fisch kontrolliert in das gewünschte Narkosestadium zu überführen. Der Vorteil der "Wasserbad-Anästhesie" ist vor allem die gute Steuerbarkeit durch die Wahl der geeigneten Konzentration des Narkosemittels (FIDDES, 2008). Unabhängig von der Art des Narkosemittels sollten alle Utensilien, die für die Einleitung, Aufrechterhaltung und Nachbehandlung notwendig sind,

sorgfältig vorbereitet werden (NEIFFER und STAMPER, 2009). Jeglicher Stress, Lärm, Vibrationen, helles Licht und auch Fütterung sollten 24 Stunden vor der Anästhesie vermieden werden. Zudem sollte der vermehrte Verbrauch von Sauerstoff der Tiere unter Stress berücksichtigt werden. Die Kenntnis über den Gesundheitszustand der Tiere ist notwendig, denn nach KÖLLE und HENKE (2004) beeinflussen Krankheit und Stress die Wirksamkeit der Narkose. Viele Informationen über die gesundheitliche Verfassung der Fische lassen sich schon durch genaue Beobachtung herausfinden. Die Fische sind mit größter Vorsicht und Achtsamkeit, am besten mit feuchten Latex-Handschuhen handzuhaben, um die empfindliche Epidermis nicht zu verletzen. Das Epithel der Haut sezerniert eine Schleimschicht und hat unter anderem eine wichtige Abwehrfunktion gegen Bakterien, Viren und Pilze. Kleine Schleimhautläsionen können Eintrittspforten für diverse Pathogene bieten und stellen somit eine Gefahr für die Gesundheit der Fische dar (FIDDES, 2008).

#### <u>MS 222</u>

Das wohl am häufigsten in der Fischmedizin eingesetzte Narkosemittel ist das speziell für Fische zugelassene Anästhetikum MS 222 (Tricainmethansulfonat). MS 222 ist ein weißes, geruchloses Pulver, das sehr gut wasserlöslich ist (GEIGER, 2007). Aufgrund des säuernden Effekts von MS 222 muss zur Verhinderung einer metabolischen Azidose der Fische ein Puffer, zum Beispiel Natriumbikarbonat, in derselben Menge wie das Anästhetikum hinzugefügt werden (FERREIRA et al., 1984, FIDDES, 2008, NEIFFER und STAMPER, 2009). Die Dosierungsempfehlung für MS 222 für die Narkose von Koikarpfen beträgt 70 mg/L (GEIGER, 2007). Die Substanz muss sehr sorgfältig dosiert werden, da sie sich auch im Gehirn und im Muskel anreichert, selbst nachdem ein Gleichgewicht im Blut erreicht wurde (ROSS, 2001). Das Pulver ist bei dunkler und trockener Lagerung einige Wochen haltbar (FIDDES, 2008). Außerdem ist es nach KÖLLE und HENKE (2004) in den Konzentrationen, die für Fischnarkosen benötigt werden, als nicht toxisch für den Menschen einzustufen. Es gibt eine Reihe anderer Immersionsanästhetika, wie zum Beispiel Benzocain, Metomidat, Chloralhydrat oder einfaches Nelkenöl (GEIGER, 2007), auf die jedoch hier nicht näher eingegangen werden soll. An dieser Stelle soll auch erwähnt werden, dass die Euthanasie mittels einer Überdosierung von Immersionsanästhetika durchgeführt werden kann (NEIFFER und STAMPER, 2009).

### 2.3.2. Narkosestadien

Abhängig von der Dosierung des Narkosemittels und der Fischart, sind von zahlreichen Autoren verschiedene Anästhesiestadien beschrieben worden (MCFARLAND und KLONTZ, 1959, STOSKOPF, 1993, KÖLLE und HENKE, 2004, GEIGER, 2007). Die Überwachung der Anästhesie, bzw. Sedierung und der Erholungsphase verläuft ähnlich der von landlebenden Vertebraten (NEIFFER und STAMPER, 2009). Es gibt verschiedene Methoden zur Beurteilung der Narkosetiefe bei Fischen. Die Kriterien dafür beinhalten Aktivität, Reaktivität gegenüber Stimuli, Umkehrreflex (Reaktion des Gleichgewichtsorgans), Kiefertonus, Muskeltonus, sowie Atem- und Herzfrequenz (NEIFFER und STAMPER, 2009). Laut BONATH (1982) sind hingegen nur die Beurteilung der Atmung und des Gleichgewichtsorgans eindeutige und damit zuverlässige Parameter für die Einschätzung der Narkosestadien bei Fischen. Insgesamt gibt es fünf Narkosestadien, wobei Stadium I und II jeweils in eine leichte und eine tiefe Ebene unterteilt werden können (GEIGER, 2007), wie in der folgenden Übersicht (siehe Tab. 1) dargestellt.

Narkose- stadium	Ebene	Kategorie	Fischverhalten
0		normal	Aktives Schwimmen, Reaktion auf externe Stimuli,
			normales Gleichgewicht, normaler Muskeltonus
I	1	Leichte	Vorwärtsschwimmen, Leichter Verlust der Reaktion auf
		Sedierung	visuelle Reize und Berührungsreize, normale Atmung,
		•	normales Gleichgewicht, normaler Muskeltonus
	2		Kein Vorwärtsschwimmen mehr, Totalverlust der
		Tiefe	Reaktion auf visuelle Reize und Berührungsreize, leicht
		Sedierung	erniedrigte Atemfrequenz, normales Gleichgewicht,
			Muskeltonus leicht erniedrigt, erhaltener Umkehrreflex
	1		Exzitationsphase kann Anstieg der Atemfrequenz
		Leichte	verursachen, Verlust des Gleichgewichts, Anstrengungen
		Narkose	um die Körperposition aufrecht zu erhalten, Muskeltonus
			erniedrigt, schwacher Umkehrreflex
	2		Kein Umkehrreflex, Abnahme der Atemfrequenz,
			Totalverlust des Gleichgewichts, keine Anstrengungen
		Tiefe	um die Körperposition aufrecht zu erhalten, Muskeltonus
		Narkose	erniedrigt, schwache Reaktion auf starke Berührungs-
			und Vibrationsreize, Passend für Probenentnahmen,
			Feinnadelbiopsien, Kiemenabstriche
III	1	Leichte Anästhesie	Totalverlust des Muskeltonus, Reaktion nur auf starken
			Berührungsdruck, weitere Abnahme der Atemfrequenz,
			Passend für kleine chirurgische Eingriffe
	2	Chirurgische	Keine Reaktion mehr, sehr langsame Atemfrequenz,
		Anästhesie	langsame Herzfrequenz
IV		Medullärer Kollaps	Keine Kiemenbewegungen, gefolgt von Herzstillstand

**Tabelle 1**: Übersicht Narkosestadien (übersetzt aus STOSKOPF, 1993); (Mit freundlicher Genehmigung von: Prof. Michael Stoskopf)

Die Induktionsphase ist gekennzeichnet durch die Reduktion der Bewegungen und der Atemfrequenz. Darauf folgen der Verlust des Gleichgewichtssinns und der Antwort auf Stimuli (NEIFFER und STAMPER, 2009). Während des chirurgischen Toleranzstadiums kommt es zu einem vollständigen Verlust des Muskeltonus und einem weitgehenden Abfall der Atemfrequenz. Ein starker Druck mit zwei Fingern an der Basis der Schwanzspitze ist ein effektiver Weg, um das Vorhandensein einer Antwort auf Stimuli zu überprüfen. Reagiert das

Tier nicht darauf, so ist die chirurgische Anästhesietiefe erreicht (HARMS, 2003). Sobald man den Fisch in ein gut belüftetes Aufwachbecken mit Frischwasser setzt, beginnt er sich rasch zu erholen (ROSS, 2001). Während der Aufwachphase kann es zu kurzen Exzitationsphasen und damit zu Verletzungen der Fische kommen (HARMS, 2003). HARMS (1999) empfiehlt, die Fische während der Erholungsphase in einer abgedunkelten Umgebung in Ruhe aufwachen zu lassen. Beginnt der Fisch im Aufwachbecken nicht binnen 30 - 45 Sekunden mit Atembewegungen, so kann durch Vorwärtsbewegung des Fisches mit geöffnetem Maul im Wasser sauerstoffreiches Wasser an die Kiemen geleitet werden. Dies darf keinesfalls rückwärts passieren, da es sonst zu schwerwiegenden Kiemenschädigungen kommen kann (HARMS, 1999). Sobald die Untersuchung zu Ende ist und der Fisch in Wasser ohne Narkosemittel umgesetzt wird, sondert er das zuvor applizierte Anästhetikum über die Kiemen, die Haut und Nieren ab (ROSS, 2001). Es ist wichtig darauf hinzuweisen, dass sich die in das Frischwasser ausgeschiedenen Metaboliten anreichern und so wieder aufgenommen werden können (OIKAWA et al., 1994).

#### 2.3.2.1. Einflussfaktoren auf die Narkose

KÖLLE und HENKE (2004) berichten, dass gestresste und kranke Tiere eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber der Narkose zeigen. Zusätzlich haben biogene Faktoren, unter anderem die Fischart mit ihrer individuellen Stoffwechselrate, Körpergröße und Gewicht einen Einfluss auf die Narkosetiefe. Das sehr gut fettlösliche MS 222 führt bei einem adipösen Fisch schneller zur Anästhesie und braucht länger zur Verstoffwechslung als dies bei "schlanken" Fischen der Fall ist (SMIT und HATTINGH, 1979). Die meisten Fischarten sind ektotherm, daher ist auch die richtige Wassertemperatur relevant für die Narkosedauer. Für die Immersionsanästhesie bedeutet das, dass bei kaltem Wasser - hauptsächlich aufgrund der reduzierten Respirationsrate - sowohl Einleitungs-, als auch Erholungsphase länger dauern als in warmem Wasser (NEIFFER und STAMPER, 2009). Auch andere Eigenschaften des Wassers, wie der pH-Leitwert, die Leitfähigkeit, der Säure-, bzw. Ionengehalt beeinflussen die Wirksamkeit der Narkose (GEIGER, 2007). So verringert ein niedriger pH-Wert die Effizienz der Immersionsnarkose, da ein erhöhter Ionisierungsgrad negativ mit der Absorption des Narkotikums interferiert (ROSS und ROSS, 1984).

## 2.4. Ophthalmologische Untersuchung von Fischen

Die ophthalmologische Untersuchung von Fischen ist von großer Wichtigkeit, da Augenveränderungen ein erstes Anzeichen für systemische Erkrankungen sein können. Wie vor jeder anderen Untersuchung ist eine genaue Anamnese durch den Tierbesitzer erforderlich. Zudem sollten immer die Haltungsbedingungen, Fütterung, Besatzdichte und Wasserparameter der Hälterungsbecken evaluiert werden (JURK, 2002).

### 2.4.1. Allgemeine ophthalmologische Untersuchung

Die ophthalmologische Untersuchung von Fischen beginnt mit der Beobachtung des Allgemeinzustandes der Tiere, wenn möglich, in ihren gewohnten Wasserbecken. Dabei können eventuelle Verhaltensauffälligkeiten, Verletzungen, Asymmetrien der Bulbi oder Trübungen der Augen erkannt werden. Dabei ist zu beachten, dass Fische dazu neigen, erkrankte Augen vom Betrachter abzuwenden (WILLIAMS und WHITAKER, 1997, JURK, 2002, WILDGOOSE, 2006). Zur Einschätzung der Sehfähigkeit können Objekte vor das zu untersuchende Auge platziert werden und die Reaktion darauf zur Diagnose verwendet werden. Allerdings kann die Reaktion auch durch andere nicht-visuelle sensorische Systeme erfolgen und lässt deshalb nur eingeschränkte Aussagen zu (WILLIAMS und WHITAKER, 1997, JURK, 2002). Da durch die Beobachtung im Hälterungsbecken nur grobe Auffälligkeiten festgestellt werden können (KERN, 1998), muss der Fisch für eine genauere ophthalmologische Untersuchung durch Sedation oder Anästhesie ruhig gestellt werden (KERN, 1998, JURK, 2002). Dafür wird das Tier in ein Narkosebad gesetzt und sollte mit einer geeigneten Konzentration eines Anästhetikums, wie zum Beispiel MS 222, innerhalb von fünf Minuten immobilisiert sein (siehe Punkt 2.3.). Nach Erreichen der gewünschten Narkosetiefe sollte der Fisch mit befeuchteten Latexhandschuhen vorsichtig aus dem Wasser genommen werden. Die Untersuchung außerhalb des Wassers sollte auf eine minimale Dauer beschränkt werden (maximal 3 - 5 Minuten), deshalb setzt dieser Teil der Untersuchung eine genaue Planung und Vorbereitung voraus. Der Fisch sollte für die nähere Augenuntersuchung in Narkose auf eine flache, gepolsterte Plastikoberfläche gelegt werden. Die Augen sollten die Unterlage nicht berühren, dürfen keinesfalls austrocknen und sollten während der kompletten Untersuchung feucht gehalten werden (JURK, 2002). Mit einer starken, fokussierten Lichtquelle werden das Auge, adnexale Strukturen und das vordere Augensegment untersucht. Dabei wird auf mögliche Asymmetrien des Kopfes, periokulare Schwellungen, Exophthalmus oder Trübungen der Augen geachtet (NASISSE et al., 1989, WILLIAMS und WHITAKER, 1997, WILDGOOSE, 2006). Der Pupillarreflex stellt laut WILLIAMS und

WHITAKER (1997) und JURK (2002) keinen zuverlässige Parameter für die Augenuntersuchung dar, da die Pupillen sehr langsam und unzuverlässig reagieren.

### 2.4.2. Spezielle ophthalmologische Untersuchung

Eine Spaltlampe (KERN, 1998, JURK, 2002) eignet sich gut für die Untersuchung der Kornea, des vorderen Augensegmentes, der Iris und der Linse (NASISSE et al., 1989, WILLIAMS und WHITAKER, 1997, JURK, 2002, WILDGOOSE, 2006, MOHORIC und STENGARD, 2008). Zusätzlich können Hornhautdefekte mittels Fluoreszein-Test sichtbar gemacht werden (KERN, 1998, JURK, 2002, WILDGOOSE, 2006). Die Funduskopie mittels indirekter Ophthalmoskopie wird von mehreren Autoren bei Fischen beschrieben (GROVER und ZIGMAN, 1984, MURACHI et al., 1986, NASISSE et al., 1989, WILLIAMS und WHITAKER, 1997, JURK, 2002, MOHORIC und STENGARD, 2008). MURACHI et al. (1986) weisen dabei auf die Schwierigkeit dieser Untersuchung bei Fischen hin. Als Gründe nennen sie einerseits die an die Stromlinienform angepasste Kornea und zum anderen den hohen refraktären Index der Linse. So beträgt hat die Brechkraft der Linse bei Koikarpfen (*Cyprinus carpio*) etwa 145, bei Karauschen (*Carassius carassius*) sogar 523 Dioptrien.

Die Messung des Augeninnendrucks wurde bei Fischen mittels Applanations- (MOHORIC und STENGARD, 2008) und Rückstoßtonometer (LYNCH et al., 2007) durchgeführt, wobei LYNCH et al. (2007) zur Diskussion stellen, ob ihre Messergebnisse als korrekt angesehen werden können, da der verwendete Tonometer für die dickere Kornea von Katzen und Hunden kalibriert wurde. Okulare Ultraschalluntersuchungen intraokularer Zysten werden bei Heilbutten (Hippoglossus hippoglossus) von WILLIAMS et al. (2007) durchgeführt. In der Literatur werden außerdem Studien zur Messung der Hornhautdicke (Pachymetrie) bei Koikarpfen (Cyprinus carpio) (LYNCH et al., 2007) beschrieben. Die Untersuchung der Netzhaut mittels ERG (Elektroretinogramm) wurde von NASISSE et al. (1989) bei Fischen Zusätzliche spezielle Tests der Augenuntersuchung durchgeführt. beinhalten die und Durchführung Kiemenabstrichen und die Entnahme von Augenvon Kammerwasserproben für die Anfertigung bakterieller Kulturen und zytologischer Untersuchungen (JURK, 2002).

## 2.5. Pathologisch-anatomische Untersuchung des Auges

Die fachgerechte pathologisch-anatomische Untersuchung des Auges umfasst Enukleation, Fixierung und Präparation der Bulbi. Diese Vorgehensweise ist Standard, um physiologische bzw. pathologische Verhältnisse am Auge darzustellen und im Anschluss daran zu dokumentieren.

## 2.5.1. Enukleation

Die fachgerechte Entnahme der Bulbi wird in der Veterinärmedizin von zahlreichen Autoren thematisiert. So wird die Enukleation bei verschiedenen Tierarten beschrieben, unter anderem bei Vögeln (MURPHY et al. 1983, RAVELHOFER, 1996, DOROBEK, 2013, LIEPERT, 2013), Reptilien (BRETZINGER, 1998), Fischen (STOSKOPF, 1993) und Hunden (SAUNDERS und RUBIN, 1975). Ein rascher Ablauf ist unerlässlich um die komplexen, morphologischen Strukturen des Auges so gut wie möglich zu schonen und darzustellen (DUKES, 1975, RAVELHOFER, 1996). STOSKOPF (1993) beschreibt die Enukleation des Fischauges (Abb. 14). Das Auge wird mit einer Pinzette vorsichtig an der Konjunktiva gefasst. Gleichzeitig werden mit einer gebogenen, feinen Schere die extraokularen Muskeln, Gefäße und schließlich der Nervus opticus durchtrennt, um das Auge aus der Orbita herausnehmen zu können.



**Abbildung 14**: Enukleation eines Fischauges (STOSKOPF, 1993); (Mit freundlicher Genehmigung von: Prof. Michael Stoskopf)

### 2.5.2. Fixation und Präparation

Unmittelbar nach der Enukleation erfolgt die Fixierung der Augen mittels Formalin. Diese ist üblich, um Veränderungen im Gewebe, die direkt postmortem stattfinden, zu vermeiden (MARTINEZ et al., 2013). Formalin kann als 10%ige Standardfixierungslösung eingesetzt werden (SAUNDERS und RUBIN, 1975, ENGELMAN et al., 1984, KORBEL, 1994, RAVELHOFER, 1996, MANSOORI et al., 2012, DOROBEK, 2013, LIEPERT, 2013). Um ein Kollabieren der Kornea zu verhindern, kann mittels Parazentese Kochsalzlösung (BRETZINGER, 1998) oder Formalin (RAVELHOFER, 1996) in die vordere Augenkammer injiziert werden. Anschließend werden die Augen in einem mit Formalin gefüllten Behältnis aufbewahrt. Die Menge der Lösung im Gefäß sollte dem Zehnfachen des Augengewichts entsprechen (RAVELHOFER, 1996). Dabei ist darauf zu achten, dass die Aufbewahrung der Augen in Formalin nicht zu lange andauert. So wurden in einer Studie von WERTHER et al. (2011) an Vogelaugen nach sechs Monaten Fixation in Formalin Retinaablösungen bei 100 % der Bulbi beobachtet. Für die Kalottierung der Bulbi empfiehlt es sich, die Augen mittels Mikrotommesser nach 14 Tagen nach Fixierung zu schneiden (RAVELHOFER, 1996. BRETZINGER, 1998). Um Ergebnisse einer Ultraschalluntersuchung mit den jeweiligen Augenpräparaten zu vergleichen, sollte die Schnittführung durch den Bulbus der jeweiligen sonographischen Untersuchungsebene entsprechen (STROBEL, 2010).

# 3. MATERIAL UND METHODEN

## 3.1. Zielsetzung

Im Rahmen dieser Arbeit soll die Methode der zweidimensionalen okularen Sonographie auf ihre Eignung zur Darstellung der anatomischen Gegebenheiten und physiologischen Strukturen am Fischauge überprüft werden. Dazu wurde an augengesunden Koi unterschiedlicher Größe und unterschiedlichen Alters die Technik der okularen Sonographie etabliert und biometrische Referenzwerte okularer Strukturen als Grundlage für einen klinischen Einsatz ermittelt. Außerdem wurde die dopplersonographische Untersuchung der retrobulbären Gefäße durchgeführt.

Damit soll die okulare Sonographie als eine Technik zur reproduzierbaren Augenuntersuchung beim Zierfisch etabliert werden. Diese Arbeit befasst sich hauptsächlich mit der Darstellung des hinteren Augensegmentes.

## 3.2. Material

### 3.2.1. Probanden

Im Zeitraum zwischen August 2012 und Oktober 2012 wurden insgesamt 75 klinisch gesunde Koikarpfen (*Cyprinus carpio*) aus verschiedenen Größen- bzw. Altersgruppen ophthalmologisch untersucht. Dazu wurden drei Gruppen von Fischen mit jeweils 25 Koi mit definierten Körperlängen, im Alter von 2,5 bis 4 Jahren zusammengestellt (siehe Tab. 2), deren Geschlecht nicht berücksichtigt wurde.

	Länge in cm	Alter in Jahren	Gewicht in Gramm
Koi Gruppe I	15 - 19,5	ca. 2,5	31 - 97
Koi Gruppe II	20 - 24,5	ca. 3	98 - 247
Koi Gruppe III	25 - 29,5	ca. 3,5 - 4	208- 389 g

Tabelle 2: Gruppeneinteilung der Probanden

Bei den Koi handelte es sich um Tiere aus kommerzieller Zucht, die alle unter denselben Bedingungen gehalten wurden. Die Tiere waren nach Größe in mehreren geräumigen und überdachten Hälterungsbecken mit 8,5 m<sup>3</sup> bis 60 m<sup>3</sup> Wasservolumen untergebracht. Die Filterung des Hälterungswassers erfolgte für jedes Becken gesondert über eine Kreislaufanlage mit jeweils mechanischer, biologischer und physikalischer (UV-C) Filterung. Durch kontinuierlichen und vollautomatischen Teilwasserwechsel wurden wöchentlich 33 % des Altwassers gegen frisches Wasser ausgetauscht. Über einen automatischen Futterautomaten wurden die Tiere kontinuierlich mit Futterpellets versorgt. Neu hinzukommende Tiere wurden nach einer mehrwöchigen Quarantäne von einem Tierarzt untersucht und erst nach Feststellung eines einwandfreien Gesundheitszustandes in die Hälterungsbecken überführt, welche nach dem Rein-Raus-Prinzip nach gründlicher Desinfektion (Branntkalk) ausschließlich mit einer einheitlichen Charge besetzt wurden.

### 3.2.2. Material für die ophthalmologische Untersuchung

Für die ophthalmologische Untersuchung dieser Studie wurden Spaltlampe, Diaskleralkegel, Tonometer, Kopfbandophthalmoskop, Ophthalmoskopierlupen und eine Funduskamera verwendet. Bei der Spaltlampe handelte es sich um das Produkt SL 15 der Firma Kowa (Tokio, Japan). Dieses Gerät erlaubt die Einstellungen der Lichtintensität und Spaltenbreite. Zudem kann das Auge mittels punktförmiger Lichtquelle, mittels Blaufilter und bei 10- bzw. 16-facher Vergrößerung untersucht werden. Für die direkte monokulare Ophthalmoskopie im seitlich auffallenden und durchfallenden Licht kam ein Diaskleralkegel, welcher zusammen mit dem Otoskop der Firma Heine (Herrsching, Deutschland) montiert wurde, zum Einsatz. Bei einem Fisch wurde zusätzlich das Kopfbandophthalmoskop Heine Omega 100 (Herrsching, Deutschland) zur indirekten binokularen ophthalmoskopischen Untersuchung verwendet. Zusätzlich dazu kamen die Linsen "Double Aspheric" der Firma Volk Optical Inc. Mentor (USA) mit in einer Brechkraft von 40 und 78 Dioptrien und Clear View® - Linsenvergütung als Opthalmoskopierlupen zum Einsatz. Bei einem Fisch wurde für die Fotographie des Augenhintergrundes die Funduskamera Geneis, Kowa Handheld (Eickemeyer, Tuttlingen, Deutschland) verwendet. Bei Verdacht auf Hornhautverletzung, wurde die Kornea mittels Fluoreszeinfarbstoff "SE Thilo Augentropfen" der Firma Aalcon Pharma (Wien, Österreich) angefärbt und die Hornhaut mittels Blaufilter der Handspaltlampe untersucht.

### 3.2.3. Material für die Narkose

Als Narkosemittel wurde die Substanz MS 222 (Tricainmethansulfonat) der Firma Farmaq (England, UK) verwendet. Da diese nur in Großbritannien zugelassen ist, wurde sie erst nach Genehmigung der Regierung von Oberbayern aus England importiert. Die Dosierung von 70 mg/L wurde in Anlehnung an die Arbeit von GEIGER (2007) verwendet. Zur Pufferung des Narkosegemisches wurde Natriumbikarbonat der Firma Aqua (Bissendorf, Deutschland) hinzugefügt. Zum Abwiegen des Pulvers wurde die Digitalwaage "Sartorius analytic A200S" der Firma Sartorius (Göttingen, Deutschland) mit einer Messgenauigkeit von 0,0001 g verwendet. Als Narkose- und Aufwachbecken dienten zwei Glasbecken mit je 40 Liter Fassungsvermögen, die mit Wasserthermometer, Membranpumpe und elektronischem Messgerät zur Messung des Wasser-pH-Wertes und der elektrischen Leitfähigkeit, ausgestattet waren. Zum Umsetzen der Fische in die jeweiligen Becken wurde ein Umsetzschlauch der Firma Aqua (Bissendorf, Deutschland) verwendet.

### 3.2.4. Material für die sonographische Untersuchung

### 3.2.4.1. Das Ultraschallgerät

Für diese Studie wurde das Ultraschallgerät "MyLab Sat VET" der Firma Esaote Biomedica Deutschland GmbH (Köln, Deutschland) (siehe Abb. 15) verwendet. Das für die Veterinärmedizin entwickelte Gerät konnte aufgrund seiner Tragbarkeit und integrierten Akkus problemlos aus der Klinik in den Fischbetrieb transportiert und dort mit der zugehörigen Tischladestation eingesetzt werden.



Abbildung 15: Ultraschallgerät "MyLab Sat VET", Firma Esaote (Köln, Deutschland); (Aufnahme: R. Korbel)

Das Ultraschallgerät verfügt über insgesamt fünf USB Anschlüsse. Zwei davon befinden sich am Ultraschallgerät, die anderen drei sind an der Tischladestation angebracht, die ebenfalls über einen Wireless LAN-Anschluss verfügt. Mit Esaote "MyLab Sat VET" können Untersuchungen im B-Mode, PW (Pulsed Wave Doppler) und CFM (Colour Flow Motion, Farbdoppler) durchgeführt werden. Die Bilder werden auf einem hochauflösenden 12 Zoll "Touch Screen"- Monitor angezeigt. Zudem verfügt das Gerät über zahlreiche veterinärspezifische Voreinstellungen, Patientendatenbank und gängigen Funktionen des Preprocessings inklusive TEI (Tissue Enhancement Imaging) und X-View (Einstellung zur optimalen Detail- und Konturerkennung). Die aufgenommenen Bilder und Videos können direkt am Ultraschallgerät veranschaulicht, bearbeitet und gespeichert werden. Über die USB Schnittstelle und Wireless Funktion können die Daten auf externe Medien gespeichert werden. Für die Nachbearbeitung bietet die Software "MyLab Desk", ebenfalls von der Firma Easote (Köln, Deutschland) die Möglichkeit, die erhaltenen Daten auf dem eigenen PC zu editieren, nachzubearbeiten und auszudrucken.

### 3.2.4.2. Die Ultraschallsonde

Bei der Ultraschallsonde handelte es sich um den Linearschallkopf "SL 3116" der Firma Esaote Biomedica Deutschland GmbH (Köln, Deutschland) (siehe Abb. 16). Sie hat einen Frequenzbereich von 15-22 MHz und eine Auflagefläche von 16 x 4 mm. Zur Orientierung verfügt der Schallkopf über eine dorsale Markierung, wobei die Seite der Markierung auf dem Monitor immer links abgebildet ist. Der Schallkopf ist spritzwassergeschützt und kann bis zu 6 cm tief ins Wasser gehalten werden. Durch seine hohe Frequenz und die geringe Eindringtiefe eignete er sich besonders gut für die okulare sonographische Untersuchung und die dopplersonographische Untersuchung von sehr kleinen Gefäßen. Bei der maximalen, in dieser Studie gewählten Frequenz von 22 Mhz, hat der Schallkopf eine Eindringtiefe von bis zu 20 mm.



Abbildung 16: Ultraschallsonde "SL 3116", Firma Esaote (Köln, Deutschland); (Aufnahme: R. Korbel)

### 3.2.5. Material für die postmortem Dokumentation

Um je ein Augenpaar pro Fischgruppe postmortem zu dokumentieren, wurden drei Fische mit einer Überdosis MS 222 (350 mg/L) der Firma Farmaq (England, UK) euthanasiert. Für die Enukleation wurden Pinzette und Schere, für die Fixierung 10% iges Formalin verwendet. Nach

#### MATERIAL UND METHODEN

erfolgter Kalottierung wurden Fotos der Augenhälften mit einer Digitalkamera "Nikon 80 D" der Firma Nikon (Tokio, Japan) - ausgestattet mit einem Makroobjektiv "Nikon AF-S Micro NIKKOR" 60 mm 1:2:8 G ED der Firma Nikon (Tokio, Japan) - angefertigt. Die Kamera wurde zusammen mit zwei Blitzgeräten "Makroblitz Servo" der Firma Novoflex (Memmingen, Deutschland) auf einer beweglichen Halterung angebracht. Im Anschluss daran wurden die gewünschten Messparameter an den Augenhälften mit einem Messschieber der Firma Merten (Palingen, Deutschland) vermessen und die Ergebnisse mit den zugehörigen Abmessungen der B-Mode Bilder verglichen.

## 3.3. Methode

### 3.3.1. Versuchsaufbau und Durchführung der Narkose

Der Versuch wurde, unter Vermeidung eines Transportes der Tiere, direkt im Händlerbetrieb in einem komplett abdunkelbaren Raum durchgeführt. In diesem Raum befanden sich zwei Glasbecken mit jeweils 40 Liter Fassungsvermögen, die auf einem stabilen Tisch positioniert wurden. Ein Becken diente als Vorbereitungs- und Aufwachbecken, und war mit einem Thermometer, pH- und Leitwertmessgerät und Membranpumpe für die Sauerstoffversorgung ausgestattet. Direkt neben dem Narkosebecken, das ebenfalls mit Thermometer, pH- und Leitwertmessgerät ausgestattet war, befand sich das Ultraschallgerät mit der Ultraschallsonde. In diesem Becken wurde bewusst keine Membranpumpe eingesetzt, da diese zu Wasserverwirbelungen, Bläschen und damit zu Störungen der Ultraschalluntersuchung geführt hätten (siehe Abb. 17).



**Abbildung 17**: Versuchsaufbau: Ultraschallgerät "MyLab Sat VET" und Sonde "SL 3116" der Firma Esaote (Köln, Deutschland), daneben Narkosebad ausgestattet mit Thermometer, pH und Leitwertmessgerät; (Aufnahme: R. Korbel)

Beide Becken wurden mit jeweils 20 Liter Wasser aus dem Hälterungsbecken der Probanden befüllt. Das verwendete Narkotikum MS 222 (Tricainmethansulfonat) der Firma Farmaq (England, UK) wurde in einer Konzentration von 70 mg/L (GEIGER, 2007) beigemengt. Zusätzlich wurde Natriumbikarbonat der Firma Aqua (Bissendorf, Deutschland) als Puffer in gleicher Menge zugesetzt. Die beiden Substanzen wurden zuvor mit einer Digitalwaage "Sartorius analytic A200S" der Firma Sartorius (Göttingen, Deutschland) exakt gewogen.

Koi der gewünschten Größe (siehe Tab. 2) wurden mit einem Umsetzschlauch vom Hälterungsbecken in das Becken, in dem die Untersuchung stattfand, umgesetzt. Das gewünschte Narkosestadium war erreicht, sobald die Fische keinen Gleichgewichts- und Muskeltonus, sowie keine Positionskorrektur mehr zeigten (siehe Tab. 1, Narkosestadium II, Ebene 2).

Nach Abschluss der Untersuchungen wurden die Fische mittels einer Digitalwaage gewogen, die Körperlänge vermessen und jeder Fisch für die eigene Dokumentation nummeriert und fotographiert. Danach wurden die Koi in das Aufwachbecken überführt und die Köpfe in Richtung Sauerstoffströmer orientiert. Sobald die Tiere wieder komplett wach waren und eine gleichmäßige Kiemendeckelbewegung zeigten, wurden sie wieder in das Hälterungsbecken in eine separate Trennkiste gesetzt, um dort 24 Stunden zur Beobachtung zu bleiben. Erst danach wurden sie nach Feststellung eines einwandfreien Gesundheitszustandes wieder zu den anderen Tieren gesetzt. Das Wasser des Aufwachbeckens wurde nach der Untersuchung jedes Fisches gewechselt und das Narkosebecken, sobald Verunreinigungen zu sehen waren, spätestens jedoch nach jedem fünften untersuchten Fisch mit frischem Wasser und Narkosemittel befüllt. Begann der Fisch im Aufwachbecken nicht binnen 60 Sekunden mit Atembewegungen, so wurde durch Vorwärtsbewegung des Fisches mit geöffnetem Maul im Wasser, sauerstoffreiches Wasser an die Kiemen geleitet. Die Wasserparameter Temperatur, pH-Wert und Leitwert, die während der Untersuchung im Narkosebecken gemessen wurden, sind in der folgenden Tabelle (Tab. 3) aufgelistet.

	Minimum	Maximum	Durchschnitt
Wassertemperatur (Grad Celsius)	16	25	21,6
pH-Wert	7,16	8,36	7,83
Leitwert (ms/cm)	0,27	0,68	0,54

 Tabelle 3: Wasserparameter des Narkosebeckens

## 3.3.2. Ophthalmologische Untersuchung

Die erste genaue Beobachtung der Fische wurde bereits im Hälterungsbecken durchgeführt. Für die Studie geeignete, klinisch gesunde Fische wurden mit einem Umsetzschlauch in das Vorbereitungsbecken gesetzt. Dort konnten die Tiere makroskopisch in Bezug auf ihre Schwimmbewegungen, mögliche Asymmetrien des Kopfes, periokulare Schwellungen oder Trübungen der Augen untersucht werden. Wurden keine Hinweise auf mögliche Erkrankungen gefunden, wurde der Fisch in das Narkosebad gesetzt. Dort erfolgte während der Einleitungsphase die ophthalmologische Untersuchung mit dem Diaskleralkegel und der Spaltlampe "SL 15" der Firma Kowa (Tokio, Japan).

Die Untersuchung des Augenhintergrundes mit dem Kopfbandophthalmoskop wurde bei einem Fisch der dritten Gruppe, also der größten Tiere, durchgeführt. Dazu wurde das Kopfbandophthalmoskop ("Heine Omega 100", Deutschland) und zwei Ophthalmoskopierlupen ("Double Aspheric", Volk, USA) mit in einer Brechkraft von 40 und 78 Dioptrien verwendet. Anschließend daran, wurde der Fundus mit einer Funduskamera ("Geneis, Kowa Handheld", Eickemeyer, Deutschland) fotographiert (siehe Abb. 23, 24, 25). Während dieser Untersuchungen wurde der Kopf des Fisches vorsichtig aus dem Wasser gehoben.

### 3.3.3. Sonographische Untersuchung

Die Untersuchung wurde immer zu zweit durchgeführt. Eine Person bediente das Ultraschallgerät mittels Touchscreen, die andere fixierte den jeweiligen Fisch im Narkosebad und führte an diesem die sonographische Untersuchung mit dem Schallkopf durch.

### 3.3.3.1. Untersuchung im B-Mode

### <u>Untersuchungsvorgang</u>

Die sonographische Untersuchung mit der Ultraschallsonde erfolgte im Narkosebecken und wurde während der gesamten Studie von der Autorin der vorliegenden Arbeit durchgeführt. Dabei wurde der Fisch vorsichtig in die linke Hand genommen und darauf geachtet, die Kiemen nicht zu verschließen und somit die Atmung nicht zu behindern. Die Sonde wurde mit der rechten Hand geführt und ca. 0,5 - 1 Zentimeter in das Wasser des Narkosebeckens eingetaucht. Der Fisch wurde mit der linken Hand zur Sonde hingeführt. Dabei berührte die Sonde die Kornea des Tieres nicht und das Wasser konnte als Vorlaufstrecke dienen. Für die Untersuchung des rechten Auges wurde der Kopf des Fisches weg vom Untersucher gedreht (siehe Abb. 18, 19). Danach erfolgte die sonographische Untersuchung des linken Auges. Dafür wurde der Kopf des Fisches zum Untersucher gedreht (siehe Abb. 20). Es wurde stets zuerst das rechte und dann das linke Auge untersucht. Im Anschluss an die B-Mode Untersuchung, erfolgte die dopplersonographische Untersuchung.



**Abbildung 18**: Untersuchung des rechten Auges in axialer vertikaler Schnittebene. Die Markierung der Sonde zeigt nach dorsal. Der Kopf des Fisches ist vom Untersucher weg gewandt; (Aufnahme: R. Korbel)



**Abbildung 19**: Untersuchung des rechten Auges in axialer horizontaler Schnittebene. Die Markierung der Sonde zeigt nach nasal. Der Kopf des Fisches ist vom Untersucher weg gewandt; (Aufnahme: R. Korbel)



**Abbildung 20**: Untersuchung des linken Auges in axialer vertikaler Schnittebene. Die Markierung der Sonde zeigt nach dorsal. Der Kopf des Fisches ist zum Untersucher gerichtet; (Aufnahme: R. Korbel)

#### **Schnittebenen**

Die B-Mode Untersuchungen beider Augen erfolgten in der axial vertikalen, axial horizontalen, und transversalen Ebene. In der axialen vertikalen Ebene zeigte der Marker des Schallkopfes nach dorsal (Abb. 18), in der axialen horizontalen Ebene nach nasal (Abb. 19). Bei den axialen Schnittebenen wurde auf eine symmetrische Darstellung der Binnenstrukturen geachtet. In diesen Ebenen erfolgten mindestens drei Standbildaufnahmen des gesamten Bulbus, um nach der Untersuchung Abmessungen für biometrische Referenzwerte durchführen zu können. Um die hintere Augenwand ohne störende Artefakte durch die Linse im Schallfeld darzustellen, wurde in der transversalen Schnittebene geschallt. Dafür wurde der Schallkopf aus der axialen horizontalen Ebene nach dorsal gekippt (siehe Abb. 21). In dieser Ebene wurden keine biometrischen Messungen durchgeführt.



**Abbildung 21**: Untersuchung des rechten Auges in transversaler Schnittebene. Die Markierung der Sonde zeigt nach nasal; (Aufnahme: R. Korbel)

#### **Einstellungen**

Im B-Modus wurden die Fische mit einer Frequenz von 22 MHz geschallt. Der Gain lag zwischen 50 - 60 %. Die tiefenabhängige Verstärkung und die Platzierung des Fokus wurden je nach Größe des Fischauges und untersuchter Region angepasst. Die Eindringtiefe für die Untersuchung des Bulbus und des hinteren Augensegmentes wurde zwischen 15 – 20 mm gewählt. So wurde in der axialen Schallebene für die Distanz "Glaskörpers transversal" und den "Bulbus transveral" eine Eindringtiefe von 15 mm, für die Untersuchung des "Bulbus axial" und der "hinteren Augenwand" eine Eindringtiefe von 20 mm gewählt. In der transversalen Ebene wurde ebenfalls die Eindringtiefe von 20 mm gewählt. Die Wahl des Umgebungslichtes von eins, der Grauskala von zwei, der Schärfe von drei und der Dynamik von sechs ergab Bilder von maximaler Qualität.

#### **Messpunkte**

Um die Untersuchungsdauer und somit den Stress der Tiere zu minimieren, wurden die biometrischen Messungen nach der manuellen Untersuchung mit dem Esaote Bearbeitungsprogramm "MyLab Desk" am Arbeitsplatz durchgeführt. Folgende Referenzwerte wurden in der axialen Ebene erstellt:

- Glaskörper transversal
- Bulbus transversal
- Bulbus axial
- Hintere Augenwand "17 Uhr"
- Hintere Augenwand "19 Uhr"

Auf die Erläuterung der Wahl der genauen Messpunkte wird im Ergebnisteil (siehe Punkt 4.4.) eingegangen.

### 3.3.3.2. Dopplersonographie

#### **Schnittebene**

Um das retrobulbäre Gefäß darzustellen, wurde in einer transversalen obliquen Ebene geschallt. Dazu wurde wie folgt vorgegangen: Der Schallkopf wurde am rechten Auge aus der axialen horizontalen Schnittebene in eine transversale oblique Schnittebene auf ca. 13 Uhr, am linken Auge auf ca. 11 Uhr positioniert. Durch minimale Suchbewegungen des Schallkopfes Richtung kaudoventral konnte das Gefäß gut darstellt werden.

#### **Untersuchungsvorgang**

Der Farbdoppler (CFM) wurde eingeschaltet und das Messfenster zentral über die Stelle im retrobulbären Bereich gelegt, wo man die Lokalisation des Gefäßes vermutete. Sobald das Gefäß aufgefunden war, musste auf eine deutliche Flusskurve der Arterie ohne das Auftreten von Artefakten wie Aliasing durch die richtigen Einstellungen geachtet werden (siehe unten). Außerdem musste das Lumen des Gefäßes gut mit Farbe ausgefüllt, jedoch nicht überstrahlt sein. Sobald die zu untersuchende Arterie und Vene deutlich rot und blau dargestellt werden konnten, wurde der Pulsed Wave Doppler (PW) eingeschaltet und über die Arterie gelegt, die sich auf dem Monitor immer links von der Vene befand. Dabei musste auf die richtige Größe und die parallele Lage des Gates geachtet werden.

#### Einstellungen

Die dopplersonographischen Untersuchungen wurden mit einer Frequenz von 12,5 MHz und einem Gain zwischen 30 - 45 % durchgeführt. Die Eindringtiefe für die Untersuchung der retrobulbären Arterie betrug zwischen 9 bis 13 mm. Die Probengröße des Gates wurde zwischen 0,8 mm und 1 mm gewählt. Auf das Steuern der Messlinie konnte aufgrund der ohnehin schon parallelen Lage des Gefäßes zu den Schallwellen meistens verzichtet werden. Der Theka - Winkel wurde zwischen 0-13 Grad gewählt, um das Gate parallel und mittig in den

Blutstrom zu setzen. Um ein gutes Signal zu bekommen, wurde der Wandfilter niedrig gewählt. Die Pulsrepititionsrate (PRF) lag durchschnittlich bei 2,5 KHz und durch Setzen der Nulllinie im unteren Drittel der Skala wurde eine ausreichende Darstellung der positiven und negativen Ausschläge ermöglicht. Die Durchlaufzeit wurde so gewählt, dass zwischen zwei bis fünf Pulswellen in ein Bild passten. Die dopplersonographischen Untersuchungen erfolgten individuell einmalig oder mehrfach an einem oder beiden Augen pro Tier. Im Anschluss an die Untersuchungen wurde im Bearbeitungsprogramm "MyLab Desk" (Easote, Deutschland) durch Setzen der Messpunkte an der maximalen systolischen und minimalen enddiastolischen Geschwindigkeit des Flussprofils, der Widerstandsindex (RI) vom Computerprogramm automatisch berechnet.

### 3.3.4. Postmortem Untersuchung und Fotographie

Um die Ergebnisse der sonographischen Untersuchung zu verifizieren, wurden an jeweils einem Fisch der drei Gruppen postmortem-Untersuchungen durchgeführt. Die Euthanasie der Fische erfolgte mit einer Überdosis MS 222 (350 mg/L). Mittels Sonographie wurde der Herztod der Fische festgestellt und die Augen unverzüglich enukleiert. Dazu wurden die Augen mit einer Pinzette an der Konjunktiva gefasst und mit einer gebogenen Schere die extraokularen Muskeln, Gefäße und schließlich der Nervus opticus durchtrennt, um das Auge aus der Orbita herausnehmen zu können. An der dorsalen Seite der Bulbi wurden zur Orientierung Nadeln in das anliegende Bindegewebe angebracht. Jedes Auge wurde in einem beschrifteten Gefäß mit 10% iger Formalinlösung für 48 Stunden fixiert. Nach der Fixierung wurde das rechte Auge in axialer horizontaler Schnittebene, und das linke Auge in axialer vertikaler Schnittebene mit einem Mikrotommesser kalottiert. Dabei durfte nicht zu viel Druck auf das Auge ausgeübt werden, um die Augenstrukturen nicht zu zerstören. Die Kamera wurde höhenverstellbar zusammen mit zwei Blitzgeräten auf einer Halterung angebracht (siehe Abb. 22). Für die fotographische Dokumentation wurde die jeweilige Augenhälfte, in eine eigens entwickelte Halteeinrichtung aus Knetmasse für eine optimale Freistellung (=Befreiung des Motivs vom Hintergrund) etwa zehn Zentimeter unter dem Kameraobjektiv platziert und mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Die zwei - an beweglichen Armen befestigten Blitzgeräte wurden hintereinander geschaltet. Der erste Blitz wurde automatisch bei Auslösung an der Kamera, der zweite durch einen Lichtsensor, der auf den ersten Blitz reagierte, aktiviert. So konnten die Augenhälften sowohl innen, als auch außen beleuchtet werden. Die Fotographien wurden mit Blende 40 und einer Belichtungszeit von 1/250 bis 1/320 Sekunden aufgenommen.

Der Fokus wurde so gewählt, dass die anatomischen Strukturen so scharf wie möglich abgebildet werden konnten.



Abbildung 22: Aufbau für die Fotographie der Augenpräparate

## 3.3.5. Statistik

Insgesamt wurde 75 Fische, unterteilt in drei Gruppen, bezogen auf Körperlänge, Alter und Gewicht, untersucht. Alle statistischen Auswertungen wurden mit dem Statistikprogramm SPSS (Version 20) durchgeführt. Alle Messungen der okularen Strukturen wurden drei Mal wiederholt und anschließend der arithmetische Mittelwert, der im Folgenden als Mittelwert (MW), bzw. Durchschnitt bezeichnet wird, berechnet. Diese Mittelwerte wurden dann für die anschließenden Analysen verwendet. Alle Untersuchungen, bzw. alle statistischen Tests wurden bei einem Signifikanzniveau von 5 % durchgeführt. Zum Beschreiben der Datensätze wurden je nach Fragestellung Standardabweichung (SW), Standardfehler (SF), 95 % -

Konfidenzintervall (C) und Variationskoeffizient (CV) berechnet. Zudem wurde für die Überprüfung von Zusammenhang zwischen Körpergröße und Augengröße und Einfluss der Wassertemperatur auf die Narkose, eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Dabei wurden die Korrelationskoeffizienten nach Pearson (p) berechnet. Die Messungen für das rechte und linke Auge wurden mithilfe eines gepaarten t-Tests auf Unterschiede untersucht. Die axialen horizontalen und axialen vertikalen Messungen wurden ebenfalls auf Gleichheit mittels des gepaarten t-Tests verglichen. Um die Messgenauigkeit zu überprüfen wurde eine ANOVA-Analyse durchgeführt. Um zu unterscheiden, ob unterschiedliche Messergebnisse an der Messungenauigkeit oder tatsächlich an den zu messenden Objekten (in dem Fall Augen) liegen, wurde die folgende Formel angewendet.

$$|x_1 - x_2| > \Delta V \text{ mit } \Delta V = 1,96 \cdot \sqrt{2} \cdot \sigma = 2,77 \cdot \sigma$$
  
d.h.  $|x_1 - x_2| > 2,77 \cdot \text{Streuung (x)}$ 

x1 = erster Messwert

x2 = zweier Messwert

 $\Delta v$  = Mindestabstand zwischen zwei Messungen, um mit 95%iger Sicherheit unabhängig von der Messgenauigkeit zu sein

 $\sigma$  = Mittel der Quadrate

1,96 = Gaußsche Summenfunktion

# 4. ERGEBNISSE

## 4.1. Dauer und Verlauf der Untersuchung

Die Narkosedauer variierte stark und war abhängig davon, wie rasch die sonographische Untersuchung gute, auswertbare Standbilder ergab. Die Dauer der Einleitungsphase lag durchschnittlich bei 3,5 Minuten, die Dauer der Aufwachphase durchschnittlich bei 4,2 Minuten. Die Zeit, in der sich die Tiere in einer ausreichenden Narkosetiefe für die sonographische und dopplersonographische Untersuchung befanden, lag im Durchschnitt bei 24,4 Minuten. Es gab signifikante Unterschiede in Bezug auf die Untersuchungsdauer innerhalb der Gruppen (siehe Tab. 4). Die Narkosedauer war bei Gruppe I signifikant länger als bei Gruppe II (Mittlere Differenz 5,48; Minuten, p = 0,002) und Gruppe III (Mittlere Differenz: 7,52; Minuten, p = 0,000). Es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe II und Gruppe III (Mittlere Differenz = 2,04 Minuten; p = 0,244) in Bezug auf die Narkosedauer festgestellt werden.

	Narkosedauer (Minuten)	Standardabweichung (SW)	Variationskoeffizient (CV)
Gruppe I (n=25)	28,72	6,48	0,22
Gruppe II (n=25)	23,24	5,56	0,24
Gruppe III (n=25)	21,20	5,98	0,28
Gesamtheit (n=75)	24,4	6,8	0,28

Tabelle 4: Durchschnittliche Narkosedauer in Minuten mit Standardabweichung (SW) undVariationskoeffizienten (CV)

Nur Fische in ausreichend tiefer Narkose konnten sonographisch genau vermessen werden. Fische, die nicht ausreichend sediert waren, zeigten einen verbleibenden Augendrehreflex, der zu einer ungewünschten Rotation des Bulbus führte. Diese Rotation hatte einen negativen Einfluss auf die sonographische Untersuchung (siehe Abb. 31). Die Tiefe der Narkose ließ sich am besten an der Atemfrequenz der Fische feststellen. Wurden die Abstände zwischen den Atemzügen zu langsam (weniger als ein Atemzug innerhalb von 60 Sekunden), wurde der zu untersuchende Fisch zügig ins Aufwachbecken überführt und dort weitergeschallt. Durch das Eintauchen der Fische in Frischwasser, bzw. in das Narkosebad konnte somit die gewünschte Narkosetiefe kontrolliert werden. Die Dauer bis zum Eintritt in Narkose war nicht signifikant abhängig von der Temperatur (p = 0,128). Bei der Dauer der Aufwachphase gab es jedoch signifikante Unterschiede für die verschiedenen Temperaturen (p = 0,04). So zeigte eine Korrelationsanalyse einen signifikanten Korrelationskoeffizienten zwischen Wassertemperatur und Dauer der Aufwachphase (p = 0,047). Dies bedeutet, dass Fische im kälteren Wasser länger brauchten, um aus der Narkose wieder aufzuwachen. Während der Einleitungsphase konnten bei manchen Tieren geringfügige Exzitationen und Abwehrbewegungen beobachtet werden. Insgesamt wurde die Untersuchung von allen Tieren sehr gut vertragen. Keiner der Fische zeigte 24 Stunden nach der Untersuchung auffällige Verhaltensweisen oder gesundheitliche Beeinträchtigungen.

## 4.2. Die ophthalmologische Untersuchung

Alle Fische, die im Rahmen dieser Studie untersucht wurden, waren gesund und zeigten keine pathologischen Augenveränderungen. Die Hornhaut und die vordere Augenkammer waren bei 100 % der Tiere (n = 75) bei der Untersuchung mittels Diaskleralkegel und Spaltlampe klar und durchsichtig. Die sphärische, große Linse war stets aufgrund ihrer weit in die vordere Augenkammer reichenden Lage gut zu erkennen. Die Linsenvorderfläche berührte fast das Hornhautendothel. Die Linse wies eine radiäre Zeichnung auf und die Iris hatte stets eine ähnliche Farbe wie die Schuppenzeichnung der Tiere. Mittels Diaskleralkegel konnte der Fundus nur unzureichend beurteilt werden.

### 4.2.1. Fundusfotographie

Bei der Untersuchung des Fundus mittels Kopfbandophthalmoskop konnte man den mittig gelegenen, weißlichen, runden Sehnervenkopf erkennen. Die beim Koi aus der Eintrittsstelle des Nervus opticus entspringenden Glaskörpergefäße konnten ebenfalls dargestellt werden. Mithilfe einer Funduskamera und zweier Linsen wurde der Fundus fotographiert. Die Linsen mussten so positioniert werden, dass der zu fotographierende Abschnitt ohne störendes Blendlicht gut zu sehen war. Die 78 Dioptrien Linse eignete sich sehr gut für die Funduskopie des ganzen Koifundus, während man mit der 40 Dioptrien Linse die Sehnervenpapille sehr gut darstellen konnte. Mit der Funduskamera musste man die Schärfe der Bilder einstellen. Diese

### ERGEBNISSE

Technik erforderte Erfahrung in der Fundusfotographie und lieferte nach einiger Übung sehr schöne Bilder (Abb. 23, 24, 25).



**Abbildung 23**: Fundus eines Koikarpfens, OD, 29 cm, 3,5 Jahre. Die Glaskörpergefäße treten aus der Sehnervenpapille (Pfeil) in den Glaskörper ein und zweigen sich dichotom auf (Sterne); (Aufnahme: R. Korbel)



**Abbildung 24**: Fundus eines Koikarpfens, OD, 29 cm, 3,5 Jahre. Kleinere Gefäße zweigen sich von den zwei starken Arterien ab; (Aufnahme: R. Korbel)



**Abbildung 25**: Fundus eines Koikarpfens, OD, 29 cm, 3,5 Jahre. Feinmaschiges Kapillarnetz (Stern); (Aufnahme: R. Korbel)
# 4.3. Die Ultraschalluntersuchung im B-Mode

### 4.3.1. Darstellung des Koiauges

Die Abbildungen 26 und 27 zeigen den Bulbus eines gesunden Koikarpfens in der B-Mode Untersuchung im Überblick. Die Kornea stellte sich konvex und echogen dar, wobei zwischen Epi- und Endothel unterschieden werden konnte. Die schmale vordere Augenkammer stellte sich als echofreier Raum dar. Von der Linse, die fast das Hornhautendothel berührte, ließ sich die konvexe echoreiche Linsenvorderfläche darstellen. Die Linse warf einen starken Schallschatten und verhinderte somit die Darstellung dahinter gelegener Strukturen. Die Linsenhinterfläche war beim Koikarpfen nicht darstellbar. Die Iris stellte sich hyperechogen dar.

Der physiologische Glaskörper war anechogen und aufgrund des Schallschattens der Linse nicht in seiner Gesamtheit bis zur Netzhaut beurteilbar. Auch der Abschnitt der hinteren Augenwand hinter der Linse konnte aufgrund dieser Schallauslöschung nicht eingesehen werden. Bei allen Fischen war eine in den Glaskörper hineinragende echoreiche Struktur zu sehen, wobei es sich um ein Artefakt der Verzeichnung handelte. Der Schallschatten der Linse und die Verzeichnung der Bulbuswand konnte auch in der transversalen Schnittebene dargestellt werden (siehe Abb. 28). Zusätzlich zu dem Schallschatten der Linse war in der axialen Schallebene an der seitlichen Begrenzung des Bulbus ein Schallschatten zu erkennen (siehe Abb. 26).



**Abbildung 26**: Koi, 21 cm, 2,5 Jahre, OD, axial vertikal. 1) Kornea 2) Vordere Linsenfläche 3) Iris 4) Linsenschallschatten 5) Seitlicher Schallschatten



**Abbildung 27**: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD, axial horizontal. 1) Hintere Begrenzung des Glaskörpers 2) Hintere Augenwand (Retina, Choroidea, Sklera) 3) Begrenzung der hinteren Augenwand 4) Verzeichnung 5) Schallschatten der Linse



Abbildung 28: Koi, 25 cm, 3 Jahre, OD, transversal. Pfeil: Schallschatten der Linse, Kreis: Verzeichnung

#### Glaskörper transversal und Bulbus transversal

Der physiologische Glaskörper präsentierte sich anechogen. Im Bereich der der maximalen Breite wurden die Messpunkte für den Parameter Glaskörper transversal festgesetzt (siehe Abb. 29, 42).



Abbildung 29: Koi, 26,5 cm, 3,5 Jahre, OD, axial vertikal. Unteres Bild: Begrenzungspunkte Glaskörper transversal

Der Parameter Bulbus transversal wurde an der äußeren maximalen Begrenzung des Bulbus vermessen (siehe Abb. 30, 42).



Abbildung 30: Koi, 26,5 cm, 3,5 Jahre, OD, axial vertikal. Unteres Bild: Begrenzungspunkte Bulbus transversal

Die Beurteilung der maximalen transversalen Glaskörper- und Bulbusbegrenzung war nur bei Fischen in ausreichend tiefer Narkose möglich, da Fische in flacher Sedation eine unerwünschte Rotation der Augen zeigten und somit der ventrale Bereich des Bulbus durch eine ungenaue Abgrenzbarkeit durch Überlagerung und Schallauslöschung nicht mehr eingesehen werden konnte (siehe Abb. 31).



**Abbildung 31**: Koi, 23 cm, 3 Jahre, OD, axial vertikal. Durch die zu geringe Narkosetiefe erfolgte die Rotation des Bulbus Richtung ventral. Dadurch war im gekennzeichneten Bereich (Kreis) die Messung Glaskörper transversal und Bulbus transversal durch eine ungenaue Abgrenzbarkeit durch Überlagerung und Schallauslöschung nicht mehr möglich

#### **Hintere Augenwand**

Bei allen Ultraschallbildern der Fischaugen konnte eine dicke, sichelförmige hintere Augenwand dargestellt werden (siehe Abb. 27, 33). Die drei Anteile Retina, Choroidea und Sklera konnten nicht eindeutig voneinander unterschieden werden, jedoch konnte die hintere Begrenzung der Augenwand durch den angrenzenden Tenonschen Raum dargestellt werden (siehe Abb. 32).



**Abbildung 32**: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD, axial horizontal. Pfeile: Begrenzung der hinteren Augenwand durch den Tenonschen Raum



**Abbildung 33**: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD, axial horizontal. Unteres Bild: Schematische Einzeichnung; Grün: Retina, Gelb: Choroidea, Rot: Sklera

Die transversale Darstellung erlaubte eine nahezu uneingeschränkte Sicht auf die hintere Augenwand, die in der axialen Schallebene nicht einsehbar war. Abbildung 34 zeigt die zwei Millimeter dicke hintere Augenwand bei einem 2,5 Jahre alten Koi mit einer Körperlänge von 21 Zentimetern der zweiten Gruppe.



Abbildung 34: Koi, 21 cm, 2,5 Jahre, OD, transversal. Abmessung 1) Hintere Augenwand (2 mm)

Die hintere Augenwand stellte sich in den beiden axialen Schnittebenen unterschiedlich dick dar. In der axialen vertikalen Ebene war die hintere Augenwand im linken Bildabschnitt, welcher hier der Markierung dorsal entspricht bei 100 % der Tiere (n = 75) deutlich dicker als im rechten Bildabschnitt (siehe Abb. 35).



**Abbildung 35**: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OS, axial vertikal. Abmessung 1) Hintere Augenwand "19 Uhr" 2) Hintere Augenwand "17 Uhr"

Im Gegensatz dazu war die hintere Augenwand in der axialen horizontalen Ebene auf beiden Augen bei 96 % (n = 72) der Tiere im rechten Bildabschnitt dicker als im linken Bildabschnitt (siehe Abb. 36). Der Unterschied zwischen den beiden Seiten war in der axialen horizontalen Ebene kaum, bzw. nicht so stark wie bei der vertikalen Schnittebene. Bei den übrigen Tieren (n = 3) wies die hintere Augenwand in der axialen horizontalen Schnittebene auf beiden Seiten im Bild eine gleiche Dicke auf (siehe Abb. 37).



**Abbildung 36**: Koi, 28 cm, 3 Jahre, OS, axial horizontal. Abmessung 1) Hintere Augenwand "19 Uhr" 2) Hintere Augenwand "17 Uhr"



**Abbildung 37**: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD, axial horizontal. Abmessung 1) Hintere Augenwand "19 Uhr" 2) Hintere Augenwand "17 Uhr"

Bei 26,6 % der Fische (n = 20) verteilt auf alle drei Gruppen, konnte die hintere Begrenzung des Bulbus nicht eindeutig abgegrenzt werden, da in, bzw. hinter der Augenwand eine weitere echoarme Linie sichtbar war (siehe Abb. 38).



Abbildung 38: Koi, 23,5 cm, 3 Jahre, OD, axial vertikal. Pfeil: Echoarme Linie im Bereich der hinteren Augenwand

Aufgrund des Tenonschen Raumes konnte man die Sklera als echoarme dünne Begrenzung der sichelförmigen hinteren Augenwand vermuten (siehe Abb. 33). In manchen Bildern zeigte sich an der hinteren Begrenzung der Augenwand eine stark reflektierende echoreiche Linie (siehe Abb. 39).



Abbildung 39: Koi, 28 cm, 3,5 Jahre, OS, axial horizontal. Hyperreflektive Linie an der hinteren Begrenzung der Augenwand

### 4.3.2. Nervus opticus

Der Anteil der hinteren Augenwand, der sich direkt hinter der Linse befand und der Nervus opticus konnten aufgrund der Schallauslöschung der Linse in der axialen Schallebene nicht eingesehen werden. In der transversalen obliquen Schnittebene (siehe Punkt 3.3.3.2.), die für die dopplersonographische Untersuchung angewendet wurde, war der Nervus opticus in manchen Fällen als Struktur geringer Echogenität zu erkennen (siehe Abb. 44).

### 4.3.3. Orbita

Der echofreie Spalt zwischen Bulbus und Orbita, der als Tenonscher Raum angesprochen wird, war sehr gut darstellbar. Bei 4 % der Fische (n = 3) aus der zweiten und 8% (n = 6) aus der dritten Gruppe, war dieser Spaltraum auffallend breiter als bei den übrigen Tieren. Der

Tenonsche Raum war in solchen Fällen in der axialen vertikalen Ebene wesentlich breiter zu sehen als in der axialen horizontalen Ebene (siehe Abb. 40).



**Abbildung 40**: Koi, 23 cm, 3 Jahre, OD, Oberes Bild: axial vertikal, Unteres Bild: axial horizontal. Pfeile: Tenonscher Raum, der sich v.a. im axialen vertikalen Schnitt (oberes Bild) besonders breit darstellt

Hinter dem Tenonschen Raum war bei 96 % der Fische (n = 72) in allen Schallebenen eine stark reflektierende, hyperechogene und ebenfalls sichelförmige Fettschicht zu erkennen (siehe Abb. 41). Bei drei Fischen, bei denen dies nicht darstellbar war, handelte es sich um die kleinsten und leichtesten Fische dieser Studie mit einer Durchschnittslänge von 15 cm (n = 3) und einem Durchschnittsgewicht von 32 Gramm (n = 3). Hinter dieser hyperechogenen Struktur konnten keine weiteren Strukturen definiert werden.



**Abbildung 41**: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD, axial, horizontal. Unteres Bild: Schematische Einzeichnung der Fettschicht in der Orbita (grüne Linien)

## 4.4. Biometrische Messungen

Da die hintere Linsenfläche beim Koi mittels Ultraschall nicht dargestellt werden konnte, und zudem die Linse beim Fisch einen Schallschatten wirft, ist ein Teil des hinteren Augensegmentes in der axialen Ebene nicht einsehbar. So musste auf die Messung der Glaskörpertiefe in axialer Richtung und eine Abmessung der hinteren Augenwand hinter der Linse verzichtet werden. Um trotzdem eine Bulbusmessung in axialer Ausrichtung vorzunehmen, wurde am Ende der "sichelförmigen Struktur", die als Zusammensetzung von Retina, Choroidea und Sklera angesehen wurde, gemessen. Da diese Begrenzung jedoch teilweise vom Linsenschallschatten verdeckt wurde, musste durch eine gedachte Fortführung der hinteren Augenwand innerhalb dieses Schattens der Messpunkt interpoliert werden. Die Parameter, die für die biometrischen Messungen festgelegt wurden, sind in Tabelle 5 beschrieben und in Abbildung 42 veranschaulicht.

	Messpunkt 1	Messpunkt 2	
	Maximaler Bulbusdurchmesser	Maximaler Bulbusdurchmesser	
Bulbus transversal	(Sklera außen)	(Sklera außen)	
	in der linken Bildhälfte	in der rechten Bildhälfte	
	Maximaler transversaler	Maximaler transversaler	
Glaskörper transversal	Glaskörperdurchmesser	Glaskörperdurchmesser	
	in der linken Bildhälfte	in der rechten Bildhälfte	
	Vorderes Kornegenithel am	Äußere Begrenzung der	
Bulbus axial	hächston Punkt	hinteren Augenwand	
	HOCHSIEH F UNKL	(Interpolierung)	
Hintere Augenwand	Retina 17 Uhr		
17 Libr"	(auf der linken Seite der	Sklera 17 Uhr	
"17 OM	Verzeichnung)		
Hintoro Augonwand	Retina 19 Uhr		
10 Ilbr"	(auf der rechten Seite der	Sklera 19 Uhr	
"19 0111	Verzeichnung)		

Tabelle 5: Okulare Messparameter und deren Begrenzungspunkte



**Abbildung 42**: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD a) axial vertikal b) axial horizontal. Messpunkte: 1) Glaskörper transversal 2) Bulbus transversal 3) Bulbus axial 4) Hintere Augenwand 19 Uhr 5) Hintere Augenwand 17 Uhr

Im Folgenden werden zu allen in der B-Mode Untersuchung vorgenommenen Messungen die Mittelwerte der drei verschiedenen Gruppen, inklusive Standardabweichung und Standardfehler, jeweils vom rechten und vom linken Auge in axialer vertikaler und axialer horizontaler Schnittebene, angegeben. Außerdem werden die wichtigsten Unterschiede zwischen den Messungen des rechten und linken Auges, sowie der zwei verschiedenen Schnittebenen beschrieben. Nähere Erläuterungen zu den statistischen Auswertungen sind unter Punkt 4.6. angeführt.

### 4.4.1. Glaskörper transversal

In Gruppe I waren die Unterschiede der Länge des Parameters Glaskörper transversal zwischen dem rechten und linken Auge in der vertikalen Ebene knapp signifikant unterschiedlich (p = 0,046). Die Ergebnisse der Messungen in der axialen horizontalen Schnittebene waren hochsignifikant größer als in der axialen vertikalen Ebene (p = 0,000) (siehe Tab. 6).

		Glaskörper transversal							
		Vertikal OD	Horizontal OD	Vertikal OS	Horizontal OS				
Gruppe I	<b>MW</b> (mm)	8,28	8,52	8,33	8,56				
(n=25)	SW	0,808	0,859	0,840	0,866				
	SF	0,162	0,172	0,168	0,173				
Gruppe II	<b>MW</b> (mm)	8,45	8,80	8,38	8,77				
(n=25)	SW	0,661	0,627	0,684	0,635				
	SF	0,132	0,125	0,137	0,127				
Gruppe III	<b>MW</b> (mm)	10,24	10,69	10,28	10,75				
(n=25)	SW	0,694	0,769	0,652	0,776				
	SF	0,139	0,154	0,130	0,155				
Gesamtheit	<b>MW</b> (mm)	8,99	9,34	9	9,36				
(n=75)	SW	1,143	1,223	1,164	1,249				
	SF	0,132	0,141	0,134	0,144				

**Tabelle 6**: Durchschnittlicher Mittelwert (MW) des Parameters "Glaskörper transversal" des rechten (OD) und linken Auges (OS) in Millimetern (mm) im axialen vertikalen und axialen horizontalen Schnitt mit Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)

### 4.4.2. Bulbus transversal

In der Gruppe III waren die Unterschiede zwischen dem rechten und linken Auge in der vertikalen Ebene signifikant unterschiedlich (p = 0,047). Die Ergebnisse der Messungen in der axialen horizontalen Schnittebene waren hochsignifikant größer als in der axialen vertikalen Ebene (p = 0,000) (siehe Tab. 7).

			Bulbus tra	nsversal	
		Vertikal OD	Horizontal OD	Vertikal OS	Horizontal OS
Gruppe I	<b>MW</b> (mm)	9,54	9,80	9,51	9,82
(n=25)	SW	0,927	0,943	0,974	0,946
	SF	0,185	0,189	0,195	0,189
Gruppe II	<b>MW</b> (mm)	9,67	10,08	9,64	10,13
(n=25)	SW	0,792	0,790	0,796	0,763
	SF	0,158	0,158	0,159	0,153
Gruppe III	<b>MW</b> (mm)	11,76	12,30	11,85	12,34
(n=25)	SW	0,828	0,817	0,769	0,789
	SF	0,166	0,163	0,154	0,158
Gesamtheit	<b>MW</b> (mm)	10,32	10,73	10,33	10,76
(n=75)	SW	1,323	1,403	1,367	1,396
	SF	0,153	0,162	0,158	0,161

**Tabelle 7**: Durchschnittlicher Mittelwert (MW) des Parameters "Bulbus transversal" des rechten (OD) und linken Auges (OS) in Millimetern (mm) im axialen vertikalen und axialen horizontalen Schnitt mit Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)

### 4.4.3. Bulbus axial

Bei den Messungen des Parameters Bulbus axial ergaben sich mehrere signifikante Unterschiede zwischen den Messwerten des rechten und des linken Auges (siehe Punkt 4.6.3.). Zwischen den Messwerten in der axialen vertikalen und axialen horizontalen Ebene konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Der t-Test ergab einen p-Wert von 0,128 (siehe Tab. 16).

		Bulbus axial						
		Vertikal OD	Horizontal OS					
Gruppe I	<b>MW</b> (mm)	8,59	8,49	8,47	8,47			
(n=25)	SW	0,810	0,776	0,834	0,754			
	SF	0,162	0,155	0,167	0,151			
Gruppe II	MW (mm)	8,99	8,93	8,90	8,98			
(n=25)	SW	0,545	0,618	0,613	0,651			
	SF	0,109	0,124	0,123	0,130			
Gruppe III	<b>MW</b> (mm)	10,90	10,90	10,87	10,79			
(n=25)	SW	0,697	0,720	0,732	0,761			
	SF	0,139	0,144	0,146	0,152			
Gesamtheit	<b>MW</b> (mm)	9,49	9,44	9,41	9,41			
(n=75)	SW	1,225	1,264	1,274	1,228			
	SF	0,141	0,146	0,147	0,142			

**Tabelle 8**: Durchschnittlicher Mittelwert (MW) des Parameters "Bulbus axial" des rechten (OD) und linken Auges (OS) in Millimetern (mm) im axialen vertikalen und axialen horizontalen Schnitt mit Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)

### 4.4.4. Hintere Augenwand

#### Hintere Augenwand "17 Uhr"

Die Messwerte der hinteren Augenwand des rechten und linken Auges waren in der horizontalen Schnittebene in der dritten Gruppe signifikant unterschiedlich voneinander (p = 0,009). Auch hier waren die Ergebnisse der horizontalen Messungen signifikant größer als die der vertikalen Messungen (p = 0,000) (siehe Tab. 9).

		Hintere Augenwand 17 Uhr							
		Vertikal OD	Horizontal OD	Vertikal OS	Horizontal OS				
	MW	0.93	1.44	0.99	1.43				
Gruppe I	(mm)	-,	.,	-,	-,				
(n=25)	SW	0,165	0,221	0,189	0,176				
	SF	0,033	0,044	0,038	0,035				
	MW	1 17	1 79	1 21	1.83				
Gruppe II	(mm)	1,17	1,70	1,21	1,00				
(n=25)	SW	0,180	0,180	0,186	0,136				
	SF	0,036	0,036	0,037	0,027				
	MW	1 21	1 97	1 33	2 11				
Gruppe III	(mm)	1,21	1,57	1,00	2,11				
(n=25)	SW	0,201	0,285	0,287	0,293				
	SF	0,040	0,057	0,057	0,059				
	MW	1 11	1 73	1 18	1 79				
Gesamtheit	(mm)	1,11	1,70	1,10	1,75				
(n=75)	SW	0,220	0,318	0,264	0,349				
	SF	0,025	0,037	0,030	0,040				

**Tabelle 9**: Durchschnittlicher Mittelwert (MW) des Parameters "Hintere Augenwand 17 Uhr" des rechten (OD) und linken Auges (OS) in Millimetern (mm) im axialen vertikalen und axialen horizontalen Schnitt mit Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)

#### Hintere Augenwand "19 Uhr"

In der Gruppe I waren die Unterschiede zwischen den Messwerten des rechten und linken Auges in der vertikalen Ebene (p = 0,02) und in der Gruppe III in der horizontalen Ebene (p = 0,006) signifikant. Im Gegensatz zu allen vorherigen Messungen sind hier die vertikalen Messwerte signifikant größer als die horizontalen (p = 0,000) (siehe Tab. 10).

			Hintere Augen	wand 19 Uhr	
		Vertikal OD	Horizontal OS		
Gruppe I	<b>MW</b> (mm)	1,37	1,17	1,45	1,17
(n=25)	SW	0,149	0,181	0,161	0,179
	SF	0,030	0,036	0,032	0,036
	MW	1 84	1 51	1 85	1 51
Gruppe II	(mm)	1,04	1,01	1,00	1,01
(n=25)	SW	0,184	0,183	0,185	0,196
	SF	0,037	0,037	0,037	0,196
Gruppe III	<b>MW</b> (mm)	2,06	1,59	2,03	1,43
(n=25)	SW	0,352	0,307	0,279	0,287
	SF	0,070	0,061	0,056	0,057
Gesamtheit	<b>MW</b> (mm)	1,76	1,42	1,78	1,37
(n=75)	SW	0,376	0,293	0,322	0,266
	SF	0,043	0,034	0,037	0,031

**Tabelle 10**: Durchschnittlicher Mittelwert (MW) des Parameters "Hintere Augenwand 19 Uhr" des rechten (OD) und linken Auges (OS) in Millimetern (mm) im axialen vertikalen und axialen horizontalen Schnitt mit Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)

# 4.5. Die dopplersonographische Untersuchung

Ziel dieser Studie war es, durch Darstellung und Ermittlung des Gefäßwiderstandes (RI) einer retrobulbären Arterie, Hinweise über das okulare Endstromgebiet von Koikarpfen zu erhalten.

### 4.5.1. CFM Modus

#### 4.5.1.1. Darstellbarkeit einer retrobulbären Arterie und Vene

Nachdem das Messfenster in den retrobulbären Bereich positioniert wurde, zeigten sich bei jedem Fisch eine Arterie und eine Vene, die nebeneinander parallel zum Nervus opticus in leichten Kurven bis zur Choroidea verliefen (siehe Abb. 43, 44). Diese beiden Gefäße konnten bei 100 % (n = 75) der untersuchten Tiere mittels farbkodierten Dopplerverfahrens in der transversalen obliquen Ebene dargestellt werden. Der Schallkopf zeigte dabei nach kaudoventral.



Abbildung 43: Koi, 19 cm, 2,5 Jahre, OD, transversal oblique. Darstellung des kurvigen Gefäßverlaufes einer retrobulbären Arterie und Vene



**Abbildung 44**: Koi, 27 cm, 3,5 Jahre, OS, transversal oblique. Oberes Bild: Darstellung des Gefäßverlaufes der retrobulbären Arterie und Vene. Unteres Bild: Gelb: Schematischer Verlauf des Nervus opticus

### 4.5.2. Duplex – Sonographie

Aufgrund des durch die Narkose beschränkten Zeitrahmens konnten nicht von allen Fischen auswertbare Blutflussprofile erstellt werden. Nur bei tiefer Narkose und ohne jegliche Kiemendeckelbewegungen durch die Atmung der Fische und Eigenbewegungen des Untersuchers, gelang die Messung der Pulsgeschwindigkeit und der Blutflussgeschwindigkeit der untersuchten retrobulbären Arterie.

#### 4.5.2.1. Herzfrequenz

Mittels Dopplersonographie wurde bei 68 % (n = 51) der Tiere anhand des Flussprofils der Arterie die Pulsfrequenz der Tiere gemessen (siehe Abb. 45). Die mittlere Herzfrequenz aller untersuchten Fische ergab rund 44 Schläge pro Minute, die Mittelwerte der Herzfrequenzen der unterschiedlichen Gruppen sind in Tabelle 11 aufgeführt. Bei drei Fischen wurde die an der retrobulbären Arterie gemessene Pulsfrequenz anhand eines Herzdopplers (durch das Zählen der Herzschläge) verglichen und zeigte in allen drei Fällen Übereinstimmungen.



**Abbildung 45**: Koi, 19 cm, 2,5 Jahre, OS, transversal oblique. Bestimmung der Herzfrequenz durch Setzen der Messpunkte an den maximalen systolischen Geschwindigkeiten der retrobulbären Arterie

	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
Herzfrequenz	40,96	44,5	46,51
Anzahl der Augen	26	16	30
Standardabweichung	11,31	14,20	16,48
Standardfehler	2,22	3,55	3,01

**Tabelle 11**: Durchschnittliche Herzfrequenz der verschiedenen Gruppen (Mittelwert des rechten und linken Auges), mit Anzahl der untersuchten Augen (n), Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)

Durch die unterschiedliche Anzahl der Messungen pro Gruppe werden hier auch die Standardfehler angeführt, um die Genauigkeit der Messung zu veranschaulichen. Aufgrund der kleinen Anzahl der Messungen in der Gruppe II ist der Standardfehler in dieser Gruppe am höchsten.

#### 4.5.2.2. Flussprofil der retrobulbären Arterie

Das Flussprofil der untersuchten Arterie konnte aufgrund der anliegenden Vene nicht komplett separat dargestellt werden. Unter der Nulllinie konnte immer der schwache venöse Ausschlag der anliegenden Vene gemessen werden. Der Blutstrom der Arterie erwies sich als beinahe kontinuierlich (Abb. 45, 46).



Abbildung 46: Koi, 27 cm, 4 Jahre, OS, transversal oblique. Flussprofil der retrobulbären Arterie mit dem schwachen venösen Ausschlag der dazugehörigen Vene

Bei rund 74 % (n = 56) der Fische konnten auswertbare Flussdiagramme angefertigt werden. Bei 14 % (n = 11) der Tiere wurde nur das rechte Auge, bei 26,6 % (n = 20) nur das linke Auge vermessen. Bei einem Drittel der Tiere (n = 25) wurden beide Augen ausgewertet, allerdings konnten nur bei 6 % (n = 8) auf beiden Augen jeweils drei Messungen an drei verschiedenen Bildern durchgeführt werden. Tabelle 12 zeigt die Mittelwerte der Messungen innerhalb der Gruppen, wobei bei Mehrfachmessungen der Mittelwert beider Augen herangezogen wurde.

	Vmax	Vmax (cm/s)				Vmin (cm/s)			RI			
	MW	SW	SF	n	MW	SW	SF	n	MW	SW	SF	n
Gruppe I (n=25)	4,04	0,986	0,186	28	3,34	0,806	0,155	27	0,181	0,036	0,007	28
Gruppe II (n=25)	3,06	0,549	0,133	17	2,50	0,476	0,115	17	0,185	0,039	0,009	17
Gruppe III (n=25)	4,05	1,108	0,213	27	3,33	0,877	0,169	27	0,175	0,028	0,005	28
Gesamtheit (n=75)	3,81	1,031	0,121	72	3,13	0,842	0,010	71	0,179	0,034	0,004	73

 Tabelle 12: Mittelwerte (MW) der Blutflussparameter von OD und OS. Vmax: maximale systolische

 Blutflussgeschwindigkeit, Vmin: minimale enddiastolischen Geschwindigkeit, RI: Widerstandsindex mit

 Standardabweichung (SW), Standardfehler (SF), n: Anzahl der untersuchten Augen

Daraus ergibt sich bei allen untersuchten Koikarpfen dieser Studie eine mittlere maximale systolische Blutflussgeschwindigkeit von 4,1 cm/s, eine mittlere enddiastolische Geschwindigkeit von 3,1 cm/s und ein mittlerer Widerstandsindex (RI) der retrobulbären Arterie von 0,18.

## 4.6. Statistische Auswertung

### 4.6.1. Ergebnisse der biometrischen Messungen

In Tabelle 13 sind die Ergebnisse aller biometrischen Messungen angegeben. Es wurde zwischen drei Fischgruppen verschiedener Körperlänge unterschieden (siehe Tab. 2). Die Referenzwerte wurden "gepoolt", also wurde der Mittelwert des rechten und linken Auges ermittelt. Da sich fast alle Paramter in der axialen vertikalen und axialen horizontalen Schnittebene aufgrund der Anatomie in ihrer Größe unterscheiden, wurden die Messwerte für diese Untersuchungsebenen getrennt angegeben. Bei diesen Referenzwerten muss darauf hingewiesen werden, dass die Untersuchungen nur von einer Person durchgeführt wurden, die statistische Auswertung der Ergebnisse daher nur auf die Intra-observer Variabilität bezogen ist.

		Gru	ppe I	Gru	ppe II	Gru	pp III
		(n:	=25)	(n:	=25)	(n=	=25)
		vertikal	horizontal	vertikal	horizontal	vertikal	horizontal
sal	<b>MW</b> (mm)	9,52	9,81	9,66	10,11	11,80	12,32
bus vers	SW	0,941	0,935	0,786	0,769	0,792	0,795
Bul	SF	0,133	0,132	0,111	0,109	0,112	0,112
tr	С	9,26-9,79	9,55-10,08	9,43-9,88	9,89-10,33	11,58-12,03	12,09-12,54
er sal	<b>MW</b> (mm)	8,31	8,54	8,41	8,78	10,26	10,72
körp vers	SW	0,816	0,854	0,666	0,625	0,667	0,765
lasł ans	SF	0,115	0,121	0,094	0,088	0,094	0,108
ц С	С	8,08-8,54	8,30-8,78	8,23-8,60	8,61-8,96	10,07-10,45	10,50-10,94
kial	<b>MW</b> (mm)	8,53	8,48	8,95	8,96	10,88	10,84
s a)	SW	0,816	0,757	0,576	0,629	0,798	0,735
nqır	SF	0,115	0,107	0,081	0,089	0,100	0,104
BI	С	8,30-8,76	8,27-8,70	8,78-9,11	8,78-9,13	10,68-11,09	10,63-11,05
, pu	<b>MW</b> (mm)	0,96	1,44	1,19	1,81	1,27	2,04
tere nwa Uhr	SW	0,178	0,198	0,182	0,159	0,252	0,295
Hin Jgel 17	SF	0,025	0,028	0,026	0,023	0,036	0,042
Ϋ́ Αι	С	0,91-1,01	1,38-1,49	1,14-1,24	1,77-1,86	1,20-1,35	1,95-2,12
pu ,,	<b>MW</b> (mm)	1,41	1,17	1,84	1,51	2,05	1,51
iter nwa Uhr	SW	0,159	0,178	0,183	0,188	0,315	0,305
Hin uge "19	SF	0,022	0,025	0,026	0,027	0,045	0,043
Ϊ Υ	С	1,37-1,46	1,12-1,22	1,79-1,90	1,46-1,57	1,96-2,13	1,42-1,60

**Tabelle 13**: Referenzwerte für die okulare sonographische Untersuchung von Koi verschiedener Größe(MW: Mittelwert in Millimetern (mm), Standardabweichung (SW) , Standardfehler (SF),Konfidenzintervall (C)

### 4.6.2. Wiederholbarkeit der Messungen

Um die Messgenauigkeit zu überprüfen, wurde eine ANOVA - Analyse mit den Parametern, die jeweils drei Mal gemessen wurden, durchgeführt (siehe Tab. 14). Das R-Quadrat von 99,3 % (am Beispiel Glaskörper transversal) bedeutet, dass 99,3 % der Varianz der Messwerte durch unterschiedliche Messobjekte (Augen) bedingt ist und nur 0,7 % durch den Messfehler bei den Wiederholungsmessungen. Somit erzielten die Werte Bulbus transversal, Glaskörper transversal und Bulbus axial mit jeweils über 99 % eine sehr gute Wiederholbarkeit und damit

Messgenauigkeit. Die Messung der hinteren Augenwand waren vergleichsweise ungenau (höchster Wert: 98,9 %, niedrigster Wert 67,4 %). Mit der Varianz des Messfehlers wurde mit Hilfe einer Formel (siehe Punkt 3.3.5.) ein Mindestabstand berechnet, welcher zeigen kann, ob ungenau gemessen wurde. Im Falle von Glaskörper transversal lässt sich daher sagen: Wenn der Abstand der Messwerte von zwei Augen über 0,328 mm beträgt, kann man mit einer 95%igen Wahrscheinlichkeit feststellen, dass die Augen unterschiedlich groß sind, und die unterschiedlichen Messergebnisse nicht durch Messungenauigkeiten verursacht wurden.

Messparameter	Schnittebene (axial)	Auge	Varianz des Messfehlers (mm)	R- Quadrat	Mindestabstand (mm)
Glaskörper transversal	vertikal	OD	0,014	0,993	0,328
Bulbus transversal	vertikal	OD	0,026	0,990	0,447
Bulbus axial	vertikal	OD	0,021	0,991	0,401
Hintere Augenwand 19 Uhr	vertikal	OD	0,024	0,887	0,429
Hintere Augenwand 17 Uhr	vertikal	OD	0,035	0,674	0,518
Glaskörper transversal	horizontal	OD	0,015	0,993	0,339
Bulbus transversal	horizontal	OD	0,015	0,995	0,339
Bulbus axial	horizontal	OD	0,022	0,991	0,411
Hintere Augenwand 19 Uhr	horizontal	OD	0,019	0,877	0,382
Hintere Augenwand 17 Uhr	horizontal	OD	0,013	0,919	0,316
Glaskörper transversal	vertikal	OS	0,020	0,990	0,392
Bulbus transversal	vertikal	OS	0,020	0,993	0,392
Bulbus axial	vertikal	OS	0,017	0,993	0,361
Hintere Augenwand 19 Uhr	vertikal	OS	0,017	0,901	0,361
Hintere Augenwand 17 Uhr	vertikal	OS	0,020	0,839	0,392
Glaskörper transversal	horizontal	OS	0,016	0,993	0,350
Bulbus transversal	horizontal	OS	0,020	0,993	0,392
Bulbus axial	horizontal	OS	0,018	0,992	0,372
Hintere Augenwand 19 Uhr	horizontal	OS	0,018	0,856	0,372
Hintere Augenwand 17 Uhr	horizontal	OS	0,020	0,989	0,392

**Tabelle 14**: ANOVA - Analyse. Überprüfung der Messgenauigkeit der okularen Distanzen mit jeweils drei Messwiederholungen, OD: Rechtes Auge, OS: Linkes Auge

### 4.6.3. Vergleich der Messbarkeit des rechten und des linken Auges

Mittels t-Tests wurden die Messwerte der verschiedenen Parameter zwischen dem rechten und dem linken Auge verglichen. Dabei zeigten sich die meisten Messungen ohne signifikanten Unterschied zueinander. In Tabelle 15 wurden nur die signifikanten Unterschiede angegeben. Dabei fiel auf, dass die Parameter Glaskörper transversal, Bulbus transversal und hintere Augenwand 17 Uhr nur minimale signifikante Unterschiede aufwiesen, während die Parameter Bulbus axial und die Messung der hinteren Augenwand 19 Uhr die meisten signifikanten Unterschiede zeigten.

Messparameter	Gruppe	e I (n=25)	Gruppe	II (n=25)	Gruppe III (n=25)		
des jeweils rechten und	Schnittebene (axial)		Schni (a:	ttebene xial)	Schnittebene (axial)		
linken Auges	vertikal	horizontal	vertikal	horizontal	vertikal	horizontal	
Glaskörper transversal	0,046	-	-	-	-	-	
Bulbus transversal	-	-	-	-	0,047	-	
Bulbus axial	0,006	-	0,036	0,036	-	0,015	
Hintere Augenwand 17h	lintere Augenwand 17h		-	-	-	0,009	
Hintere Augenwand 19h	0,02	-	-	-	-	0,006	

 Tabelle 15: Signifikante Unterschiede zwischen der Messung des rechten und des linken Auges. In den leeren Bereichen (-) war kein signifikanter Unterschied feststellbar

### 4.6.4. Vergleich der Messungen axial vertikal und axial horizontal

Aufgrund der abgeflachten elliptischen Bulbusform der Fische waren die transversalen Distanzen "Glaskörper transversal" und "Bulbus transversal" in der axialen horizontalen Schnittebene bei allen Fischen größer als in der axialen vertikalen Schnittebene. Dieser Unterschied erwies sich als hochsignifikant (p = 0,000). Die Messung "Bulbus axial" war hingegen in allen Ebenen fast identisch, es war aufgrund der Anatomie kein signifikanter Unterschied zu erwarten und auch nicht feststellbar (p = 0,128).

Die Messungen der hinteren Augenwand zeigten sich aufgrund der Choroidea mit der nicht radiär-symmetrischen choroidalen Drüse sehr unterschiedlich. So waren die Messungen der hinteren Augenwand auf 17 Uhr in der axialen horizontalen Schnittebene signifikant größer (p = 0,000) als in der axialen vertikalen Schnittebene. Bei den Messungen der hinteren Augenwand 19 Uhr zeigte sich dies genau umgekehrt (siehe Abb. 42, Tab. 16). Näheres dazu siehe Punkt 4.7. (Abb. 50, 51) und Diskussion (Punkt 5.2.1 und 5.2.2.).

Vergleich zwischen axialer vertikaler und axialer horizontaler Schnittebene	n	Mittelwert der Differenzen (mm)	Signifikanz
Glaskörper transversal	75	-0,353	0,000
Bulbus transversal	75	-0,418	0,000
Bulbus axial	75	0,026	0,128
Hintere Augenwand 17 Uhr	75	-0,620	0,000
Hintere Augenwand 19 Uhr	75	0,368	0,000

 Tabelle 16:
 t-Test: Korrelationen zwischen vertikaler und horizontaler Schnittebene (Mittelwerte des rechten und linken Auge gepoolt), n = Anzahl der untersuchten Koi

### 4.6.5. Korrelation zwischen Fischgröße und Bulbusgröße

Um den Zusammenhang zwischen Körpergröße und Augengröße festzustellen, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Dabei wurden die Korrelationskoeffizienten nach Pearson berechnet (siehe Tab. 17). Diese Berechnung ergab bei allen okularen Distanzen einen hoch positiven Korrelationskoeffizienten. Alle Korrelationskoeffizienten waren signifikant bei einem Signifikanzniveau von 5 %. Die Blutflussparameter hingegen ergaben keine signifikanten Koeffizienten, korrelierten also nicht mit der Körperlänge.

Messparameter	Schnittebene	Korrelationskoeffizient	Signifikanz	n
		nach Pearson (ρ)	(p-Wert)	
Glaskörper	axial-vertikal	0,773	0,000	150
transversal	axial-horizontal	0,802	0,000	150
Bulbus transversal	axial-vertikal	0,776	0,000	150
	axial-horizontal	0,807	0,000	150
Bulbus axial	axial-vertikal	0,841	0,000	150
	axial-horizontal	0,856	0,000	150
Hintere Augenwand	axial-vertikal	0,549	0,000	150
17 Uhr	axial-horizontal	0,794	0,000	150
Hintere Augenwand	axial-vertikal	0,768	0,000	150
19 Uhr	axial-horizontal	0,604	0,000	150
HR	transversal- oblique	0,171	0,151	72
RI		-0,007	0,953	73
Vmax syst		0,046	0,700	72
Vmin diast		0,038	0,752	71

**Tabelle 17**: Korrelation Fischgröße mit Bulbusgröße und Herzfrequenz (HR), Widerstandsindex (RI), Maximale systolische Geschwindigkeit der retrobulbären Arterie (Vmax syst), Minimale enddiastolische Geschwindigkeit der retrobulbären Arterie (Vmin diast), n = Anzahl der untersuchten Koi

Aus den folgenden Punktdiagrammen ist ersichtlich, dass die Größe der Messwerte Bulbus transversal, Glaskörper transversal und Bulbus axial von der ersten zur zweiten Gruppe nur unwesentlich zunimmt, von der zweiten zur dritten Gruppe ist hingegen eine deutliche Erhöhung der biometrischen Messwerte ersichtlich (siehe Abb. 47). Die Messung der hinteren Augenwand ergab hingegen eine stetige Zunahme der Augenwanddicke in Bezug auf die Fischlänge (siehe Abb. 48).



**Abbildung 47**: Größenzunahme der Parameter Bulbus transversal (oben), Glaskörper transversal (Mitte) und Bulbus axial (unten) in Bezug auf die Körperlänge (V: Vertikal, H: Horizontal). Unwesentliche Zunahme der Augengröße von Gruppe I zu Gruppe II, starke Zunahme von Gruppe I und II zu Gruppe III



**Abbildung 48**: Größenzunahme der Parameter Hintere Augenwand 17 Uhr (oben) und Hintere Augenwand 19 Uhr (unten) in Bezug auf die Körperlänge (Axiale Schnittebene, V: Vertikal, H: Horizontal). Stetige Zunahme der Augenwanddicke von Gruppe I zu Gruppe II zu Gruppe III
## 4.7. Postmortem Bulbus Untersuchungen

Bei jeweils einem Fisch innerhalb einer Gruppe wurden die Augen postmortem enukleiert und mit den sonographischen Untersuchungen verglichen. Am enukleierten Bulbus war jeweils eine im dorsalen Bereich stärker pigmentierte Sklera auffallend, die gut zur Orientierung herangezogen werden konnte (siehe Abb. 49).





Um die B-Bilder und die daran durchgeführten biometrischen Messungen am Präparat zu vergleichen, wurde bei jedem Fisch das rechte Auge in axialer horizontaler und das linke Auge in axialer vertikaler Schnittebene kalottiert. Anhand dieser Präparate konnte man erkennen, dass sich aufgrund der Form und Lage des Corpus choroidalis (Lage: hufeisenförmig um den Nervus opticus, offener Teil ventral) in der vertikalen Schnittebene die hintere Augenwand an der Seite des Ultraschallbildes, welche der dorsalen Seite am Auge entspricht, wesentlich dicker darstellte, als in der horizontalen Schnittebene (siehe Abb. 50, 51). Zudem ließ sich eine Ausbuchtung der Sklera an der breitesten Stelle des Corpus choroidalis erkennen.

ERGEBNISSE





**Abbildung 50**: Oberes Bild: Schematische Darstellung eines Koi-Augenhintergrundes. Grün: Nervus opticus, Rot: Corpus choroidalis, Schwarze Linie: axiale vertikale Schnittführung. Unteres Bild: Koi, 22 cm, 3 Jahre, OS: Bulbus in axialer vertikaler Schnittebene. Roter Pfeil: Corpus choroidalis, Grüner Pfeil: N.opticus. V: Ventral, D: Dorsal





**Abbildung 51**: Oberes Bild: Schematische Darstellung eines Koi-Augenhintergrundes. Grün: Nervus opticus, Rot: Corpus choroidalis, Schwarze Linie: axiale horizontale Schnittführung. Unteres Bild: Koi, 29 cm, 4 Jahre, OD: Bulbus in axialer horizontaler Schnittebene. Rote Pfeile: Corpus choroidalis, Grüner Pfeil: N. opticus. V: Ventral, D: Dorsal

#### ERGEBNISSE

An den leichten Falten der Retina ließ sich eine geringgradige partielle Netzhautablösung und Abhebung von der Choroidea feststellen, der Verlauf des Nervus opticus innerhalb der gesamten hinteren Augenwand zeigte jedoch die Dicke der Choroidea entsprechend der Darstellung im B-Mode. In den folgenden Tabellen 18 und 19 sind die vergleichenden Abmessungen von Ultraschallbildern und deren zugehörigen Präparaten aufgeführt. Daraus ist eine gute Übereinstimmung der Messparameter Glaskörper transversal, Bulbus transversal und Bulbus axial ersichtlich. Die hintere Augenwand wies größere Messunterschiede auf. Bei den Präparatabmessungen handelt es sich nicht um Mittel-, sondern um Einzelwerte.

	Gruppe I (n=1)		Gruppe II (n=1)		Gruppe III	
					(n=1)	
	B-Bild	Präparat	B-Bild	Präparat	B-Bild	Präparat
Glaskörper transversal	9	9	10,1	10	11,6	11,8
Bulbus transversal	10,3	11	11,6	12	13,3	13,9
Bulbus axial	9,4	9,1	10,4	10,2	12,4	12,3
Hintere Augenwand 19 Uhr	1,8	2	2,3	2,1	2,3	2,6
Hintere Augenwand 17 Uhr	0,8	0,9	1,5	1,4	1,5	2

 Tabelle 18: Vergleichende biometrische Messungen (in mm) an den jeweils rechten Augen der drei
 Gruppen in der axialen horizontalen Schnittebene

	Gruppe I (n=1)		Gruppe II (n=1)		Gruppe III (n=1)	
	B-Bild	Präparat	B-Bild	Präparat	B-Bild	Präparat
Glaskörper transversal	9,2	9,2	10,5	10,2	11,8	12
Bulbus transversal	10,9	11,2	12,1	12,1	13,6	14,1
Bulbus axial	9,5	9	10,2	10	12,5	12,2
Hintere Augenwand 19 Uhr	1,5	1	1,8	2	2,1	2,8
Hintere Augenwand 17 Uhr	1,2	2	2,2	2,5	2	2,6

 Tabelle 19:
 Vergleichende biometrische Messungen (in mm) an den jeweils linken Augen der drei

 Gruppen in der axialen vertikalen Schnittebene

# 5. **DISKUSSION**

## 5.1. Untersuchungsmaterial und Methodik

### 5.1.1. Narkosedauer

Die Untersuchungsdauer betrug durchschnittlich 24 Minuten und war bei der ersten Gruppe signifikant länger als in Gruppe II und Gruppe III. Dies lag zum einen an der schwierigeren Handhabung der kleinen Fische der ersten Gruppe (15 - 19,5 cm Länge) und zum anderen daran, dass die erste Gruppe zu Beginn der Studie untersucht wurde, als die Untersucher noch wenig Übung und Routine hatten. Die Aufwachphasen zeigten signifikante Unterschiede bei unterschiedlichen Wassertemperaturen. So hatten Fische in kälterem Wasser längere Aufwachphasen als Fische in wärmerem Wasser. Dies lag daran, dass sich bei kälteren Temperaturen der gesamte Stoffwechsel der Tiere verlangsamt (FIDDES, 2008).

## 5.1.2. Ophthalmologische Untersuchung

Vor der sonographischen Untersuchung der Augen wurde eine Augenuntersuchung mittels Spaltlampe und Diaskleralkegel durchgeführt. Die Fischpupille zeigte sich nahezu starr und weit geöffnet (MILLICHAMP, 1991), da diese gar nicht (WILLIAMS, 2012), bzw. sehr langsam und unzuverlässig auf Lichteinfall reagiert (WILLIAMS und WHITAKER, 1997, JURK, 2002). Dadurch waren bei allen Fischen die große sphärische Linse und die schmale vordere Augenkammer gut zu beurteilen, wie auch bei MILLICHAMP (1991) und MOHORIC und STENGARD (2008) beschrieben. Somit war es möglich, ohne Verwendung eines Mydriatikums die Augen einzusehen. In diesem Zusammenhang soll darauf hingewiesen werden, dass GROVER und ZIGMAN (1984) vergeblich versuchten, die Pupillen von verschiedenen Meeresfischen mittels Mydriatika weit zu stellen. Zusätzlich dazu wies WILLIAMS (2012) darauf hin, dass man bei jeder Untersuchung mit einer Lichtquelle bedenken muss, dass Fische etwa ein bis zwei Stunden brauchen, um die Retina mittels "Retinomotor-Movement" (siehe Punkt 2.1.1.6.) vor starkem Lichteinfall zu schützen. Die Spaltlampe eignete sich, wie auch von zahlreichen anderen Autoren beschrieben, sehr gut für die Untersuchung des vorderen Augensegmentes (KETOLA, 1979, HUGHES et al., 1981, ENGELMAN et al., 1984, NASISSE et al., 1989, KERN, 1998, WALL, 1998, BJERKAS et al., 2001, JURK, 2002, MOHORIC und STENGARD, 2008). Auch mit der punktförmigen Lichtquelle des Diaskleralkegels konnte das vordere Augensegment gut dargestellt werden. Durch die direkte ophthalmoskopische Untersuchung mit dem Diaskleralkegel konnte der Fundus aufgrund der unzureichenden Vergrößerung nicht dargestellt werden. DUKE-ELDER (1958) und GROVER und ZIGMAN (1984) beschrieben ebenfalls diese Limitierungen der Funduskopie. Der Fundus konnte jedoch sehr gut mittels binokularer, indirekter Ophthalmoskopie mit einem Kopfbandophthalmoskop und zwei Linsen dargestellt werden. Die Funduskopie mit anschließender Fundusfotographie wurde jedoch aufgrund der langen Untersuchungsdauer nur bei einem Fisch durchgeführt. Der Einsatz von Funduskopierlinsen resultierte in einem umgekehrten und seitenverkehrten Bild. Die Größe des einsehbaren Fundusausschnittes hängt von der Dioptrienanzahl der Ophthalmoskopierlupe ab. In dieser Studie wurden bei dem untersuchten 29 cm großen Fisch mit einer Pupillenweite von 5,5 Millimetern eine 78 D Linse für die Untersuchung des gesamten Fundus und eine Linse mit 40 D für die Ausschnittsvergrößerung der Sehnervenpapille verwendet. Im Vergleich dazu verwendeten GROVER und ZIGMAN (1984) für die ophthalmoskopische Untersuchung von verschiedenen Meeresfischen eine Linse mit 20 D, NASISSE et al. (1989) bei Heringen 28 D und WALL (1998) bei atlantischen Lachsen 28, bzw. 90 D Linsen. Durch Veränderung des Abstandes zwischen Auge und Linse, bzw. zwischen Linse und Ophthalmoskop und durch scharfe Fokussierung gelang es nach ein wenig Übung, gute Fundusfotographien zu machen (siehe Abb. 23, 24, 25). Somit konnte die Existenz von Glaskörpergefäßen (KOHBARA et al., 1987) und das Fehlen eines Processus falciformis bei Koikarpfen (VIRCHOW, 1882) bestätigt werden. Bei Fischen ist die Funduskopie schwieriger durchführbar als bei vielen anderen Tierarten. Dies stellten auch DUKE-ELDER (1958), GROVER und ZIGMAN (1984) und WILLIAMS et al. (2007) fest. MURACHI et al. (1986) nannten als Grund dafür die stromlinienförmige Kornea und die hohe Brechkraft der Linse, die bei Koikarpfen (Cyprinus carpio) etwa 145 Dioptrien und bei Karauschen (Carassius carassius) sogar bis zu 523 Dioptrien beträgt.

## 5.1.3. Ultraschallgerät und Sonde

Das für diese Arbeit verwendete Ultraschallgerät "MyLab Sat VET" der Firma Esaote Biomedica Deutschland GmbH (Köln, Deutschland) mit dem dazugehörigen Linearschallkopf eignete sich hervorragend für die okulare Sonographie der Fische. Das Ultraschallgerät konnte dank seiner Tragbarkeit und des integrierten Akkus direkt im Fischbetrieb verwendet werden, so dass die Tiere nicht transportiert werden mussten. Am Touchscreen-Monitor konnte die Position des Bildschirms - ähnlich wie bei einem Laptop - eingestellt werden. Durch die

#### DISKUSSION

Möglichkeit die Preprocessings (Voreinstellungen) vorab zu speichern, konnten die Untersuchungen rasch begonnen und durchgeführt werden. Zudem konnten die Daten einfach auf externe Medien gespeichert werden, so dass das Gerät insgesamt einfach in der Handhabung war.

Der Linearschallkopf "SL 3116" der Firma Esaote Biomedica Deutschland GmbH (Köln, Deutschland) erwies sich als sehr gut geeignet für diese Studie. Diese Sonde konnte durch ihre Wasserdichtheit für die sonographische Untersuchung im Wasser verwendet werden und ermöglichte im Frequenzbereich von 22 MHz Bilder von höchster Auflösung. Das Wasser diente somit als Vorlaufstrecke ohne erkennbare Artefakte. Im Unterschied dazu können bei der Verwendung von Ultraschallgel störende Luftblasen entstehen. Die Tiere konnten untersucht werden, ohne dass die Kornea dabei berührt wurde, was andernfalls zu fehlerhaften Messwerten führen kann (COTTRILL et al., 1989). GUTHOFF (1988) beschrieb, dass sich gerade für biometrische Messverfahren die Verwendung einer Wasservorlaufstrecke besonders gut eignet, um Verformungen des Bulbus durch Ankopplungsdruck zu vermeiden. Ein weiterer Vorteil der Ultraschalluntersuchung im Wasser war die relativ frei wählbare Distanz der Sonde zum Auge, was zum Beispiel bei der Verwendung von Ultraschallgel nur bedingt möglich ist. Eine gewisse Einschränkung der hier verwendeten Linearsonde war ihre limitierte Schallkopfbreite, die in einer maximal darstellbaren Objektbreite von 13 mm resultierte. Dies erwies sich für die vorliegende Studie als unproblematisch, allerdings haben Koi ab ca. 30 cm Länge zu große transversale Bulbusdurchmesser für diesen Sondentyp, so dass für größere Tiere ein geeigneterer Sondentyp ermittelt werden sollte.

Insgesamt sind bis zum heutigen Zeitpunkt nur wenige Arbeiten über die Sonographie beim Fischauge veröffentlicht. WILLIAMS et al. (2007) verwendeten für die Untersuchung an Heilbutt-Fischen eine 7,5 Mhz Sonde mit Ultraschallgel und erreichten im Vergleich zur vorliegenden Studie eine wesentlich schlechtere Auflösung und eine geringere Detailerkennbarkeit. SHEN et al. (2005) untersuchten mittels Ultraschallbiomikroskop das vordere Augensegment bei Buntbarschen. Die Methode der Ultraschallbiomikroskopie (50 Mhz) ist bei der Darstellung des vorderen Augensegmentes die Methode der Wahl, wobei die Untersuchung des gesamten Bulbus aufgrund der geringen Eindringtiefe jedoch nicht möglich ist (CRONAU, 2004). An dieser Stelle soll auf die Arbeit von POHL (2014), die das vordere Augensegment im Rahmen derselben Studie sonographisch untersuchte, hingewiesen werden.

## 5.1.4. Untersuchungsebenen

In dieser Studie wurden okulare Strukturen vermessen und biometrische Daten ermittelt. Dazu wurden sonographische Messungen in der axialen vertikalen und axialen horizontalen Ebene vorgenommen. Diese Ebenen stellen für biometrische Messungen den Standard dar (GUTHOFF, 1988). Um die retrobulbären Gefäße dopplern zu können, musste die Linse umgangen werden. Dafür wurde die transversale oblique Ebene gewählt. Auf eine Darstellung in zwei obliquen Ebenen musste jedoch aufgrund der andernfalls zu langen Untersuchungsund Narkosedauer verzichtet werden.

## 5.1.5. Handhabung der Fische

Koikarpfen wurden von DUKE-ELDER (1958) als vergleichsweise robuste Tiere beschrieben, die es besonders lange an der Luft aushalten können. Um die Tiere möglichst zu schonen, wurde die Untersuchungsprozedur trotzdem möglichst kurz gehalten und das Herausfangen der Fische aus ihren Hälterungsbecken dem darin geübten Koihändler überlassen. Es ist wichtig, besonders vorsichtig und schonend mit den Fischen umzugehen, da deren Oberfläche von einer empfindlichen Schleimschicht überzogen ist, die unter anderem Antikörper enthält und antibakterielle, bzw. antimykotische Schutzfunktionen übernimmt (FIDDES, 2008). Daher wurden auch für jede Untersuchung frische und mit Wasser benetzte Latexhandschuhe verwendet. Die Untersuchung der Fische erforderte eine möglichst stabile Positionierung der Tiere für mehrere Minuten. Für die Untersuchung erwies sich das Abstützen einer Hand (zum Beispiel am Beckenrand) als unerlässlich. Bei der Duplex-Sonographie war es zur Minimierung von Artefakten (ARNING, 1997) hilfreich, während der Messungen möglichst die Luft anzuhalten. Die Untersuchung musste zu zweit durchgeführt werden, da nur so gleichzeitig der Fisch geschallt, und das Ultraschallgerät bedient werden konnte. Dabei musste sichergestellt werden, dass die Kiemendeckel nicht versehentlich durch die Hände des Untersuchers verschlossen wurden.

### 5.1.6. Bildbearbeitung

Im Anschluss an die sonographische Untersuchung erfolgte die Bildbearbeitung mit dem Programm "MyLab Desk" (Esaote, Deutschland) auf einem PC. Alle Auswertungen der gespeicherten Daten waren somit nachträglich möglich. Mithilfe dieses Programms konnten u.a. Messpunkte zur Distanzmessungen gesetzt werden und Beschriftungen erfolgen. Der einzige Nachteil des Programms war, dass die gespeicherten Bilder in ihrem unteren Abschnitt nicht zu ihrer Gänze auf dem Bildschirm des PCs angezeigt wurden, also am unteren Rand in geringem Maße abgeschnitten wurden. Dies störte die Auswertbarkeit nicht, da das komplette Auge und der Retrobulbärraum bei 20 mm Eindringtiefe trotzdem vollständig dargestellt wurde.

## 5.2. Die sonographische Untersuchung

### 5.2.1. Darstellbarkeit des Koiauges

Die Darstellbarkeit der okularen Strukturen und besonders des hinteren Augensegmentes mittels B-Mode unterscheidet sich nach heutigem Stand der Wissenschaft, wie unten näher erläutert, bei Fischen in einigen Aspekten von der B-Mode Darstellung bei Katzen und Hunden (COTTRILL et al., 1989, POULSEN NAUTRUP, 1998), Schafen und Rindern (EL-MAGHRABY et al., 1995), Pferden (CRONAU, 2004), Schlangen (HOLLINGSWORTH et al., 2007), Vögeln (STROBEL, 2010) oder Menschen (GUTHOFF, 1988). So war bei der ophthalmologischen Sonographie der Fische die hintere Linsenfläche nicht darstellbar. Die Ursache dafür ist die besondere Form und Struktur der Fischlinse, welche einen starken echofreien Schallschatten induziert. Im Gegensatz zur bikonvexen Form der Säugetierlinse (BLOEMENDAL, 1981) ist die Fischlinse nahezu rund und hat eine feste, unelastische Konsistenz. Zusätzlich weist sie die höchste Brechkraft innerhalb aller Vertebraten auf (WILLIAMS, 2012). Zwar ist in der Literatur beschrieben (OKSALA und JÄÄSLAHTI, 1971), dass die Linse Schallstrahlen absorbiert, jedoch ist ein vergleichbar starker Schallschatten, wie er in der vorliegenden Studie induziert wurde, nach Kenntnisstand der Autorin in der Literatur unter physiologischen Bedingungen bisher nicht beschrieben. Eine ähnlich starke Schallauslöschung hinter der Linse konnte aufgrund pathologischer Ursachen, zum Beispiel bei ausgeprägten Katarakten oder hinter Melanomen (SUSAL, 1987) beobachtet werden. Amphibien besitzen ebenfalls eine runde Linse (WALLS, 1963), sonographische Studien über deren Augen wurden jedoch bisher nicht veröffentlicht, wobei ein Vergleich zwischen Fischen und Amphibien aufgrund des ähnlichen Augenaufbaues in der Ophthalmosonographie sehr interessant erscheint. Der zweite beim Fischauge erkennbare Schallschatten (siehe Abb. 26), nämlich der jeweils seitliche Schallschatten am Bulbusrand, kann vermutlich als ein Tangentialschatten (HITTMAIR, 1997) angesehen werden. Ein weiteres Artefakt, das durch die runde Fischlinse am Koiauge besonders ausgeprägt war, war die scheinbare Vorwölbung der hinter der Linse gelegenen hinteren Augenwand in den Glaskörper hinein. Durch diese schattenhafte Vorwölbung im Bereich des Sehnervenaustrittes kam es zu einer scheinbaren Verkürzung des Bulbus, die als Verzeichnung (BAUM, 1965, GUTHOFF, 1988, THIJSSEN, 1988, BYRNE und GREEN, 2002) (siehe Abb. 10) bezeichnet wird, und beispielsweise nicht mit einem Tumor oder posteriorem Staphylom verwechselt werden darf (BYRNE und GREEN, 2002). Dieses Artefakt kommt durch die unterschiedlichen Laufzeitgeschwindigkeiten des Schallstrahls durch die Linse zustande und war in dieser Studie beim Koikarpfen sehr ausgeprägt zu sehen (siehe Abb. 27). Die beiden beschriebenen Artefakte führten dazu, dass der hinter der Linse befindliche Glaskörperraum nicht einsehbar war und dadurch Einschränkungen der Auswertbarkeit von biometrischen Messungen entstanden. Der restliche, einsehbare Glaskörperraum stellte sich analog zum Menschen (GUTHOFF, 1988), Säugetieren (COTTRILL et al., 1989), Vögeln (GUMPENBERGER und KOLM, 2006, STROBEL, 2010) und Reptilien (HOLLINGSWORTH et al., 2007) als signalfreie Zone dar.

Dass die einzelnen Schichten der hinteren Augenwand unter physiologischen Bedingungen in der okularen Sonographie nicht klar voneinander abgrenzbar sind, wird häufig in der Literatur beschrieben (GUTHOFF, 1988, EL-MAGHRABY et al., 1995, POULSEN NAUTRUP, 1998, BYRNE und GREEN, 2002, GUMPENBERGER und KOLM, 2006). Dieser Befund konnte im Rahmen dieser Arbeit bestätigt werden. Nur bei einigen pathologischen Zuständen im Auge, wie zum Beispiel Netzhautablösungen (TRIER, 1982, ROCHELS, 1984, BLAIVAS, 2000), lassen sich die einzelnen Augenschichten (Retina, Choroidea und Sklera) sonographisch voneinander abgrenzen. WILLIAMS et al. (2007) gelang die sonographische Abgrenzung der Choroidea durch das Vorhandensein von choroidalen Zysten bei Fischen.

Bei fast allen Probanden konnte der Tenonsche Raum und damit die äußere Begrenzung der hinteren Augenwand gut dargestellt werden, was laut GUTHOFF et al. (1999) beim Menschen nur bei pathologischen Zuständen möglich ist. Auch STROBEL beschrieb 2010, dass der Tenonsche Raum bei der sonographischen okularen Untersuchung von Vögeln gut zu sehen war. In der vorliegenden Studie wurde bei 12 % (n = 9) der Fische ein sehr breiter Tenonscher Raum dargestellt, jedoch konnten in diesem Zusammenhang bei der Augenuntersuchung keine pathologischen Veränderungen festgestellt werden. Diese Befunde belegen, dass sich die Methode unter anderem sehr gut für die Befundung des Retrobulbärraumes eignet und somit in Zukunft eine präzise und reproduzierbare Untersuchungsmethode für damit assoziierte pathologische Veränderungen darstellt. So ist Exophthalmus eines der häufigsten

#### DISKUSSION

Symptome und einer der häufigsten Krankheitsindikatoren bei Fischen (DUKES, 1975, HARGIS, 1991, KOPPANG und BJERKAS, 2006). Mittels Ultraschalluntersuchung können Ursachen, die zu Exophthalmus führen, wie okulare Tumore (SCHUBERT, 1969), choroidale Zysten (ENGELMAN et al., 1984, WILLIAMS et al., 2007) oder Parasiten (SINDERMANN und ROSENFIELD, 1954, MILLEMANN und KNAPP, 1970, DUKES, 1975) rasch und einfach evaluiert werden. In diesem Zusammenhang könnten gezielte sonographische Studien durchgeführt werden, die dazu beitragen könnten, einzelne Parameter wie falsche Haltungsbedingungen (HARGIS, 1991). Dysfunktionen der Choroidea, bzw. der Augenkiemendrüse (WILLIAMS und WHITAKER, 1997) oder hormonelle Störungen (DUKES, 1975), zu analysieren. Dabei ist insbesondere die Darstellung des Tenonschen Raumes und der Choroidea von primärem Interesse, da besonders in diesen Bereichen Abweichungen vom Normalbefund zu erwarten sind.

Eines der bemerkenswertesten Ergebnisse dieser Studie war die - vor allem dorsal des Nervus opticus - beachtliche Dicke der hinteren Augenwand beim Koikarpfen. Diese Beobachtung konnte bei allen untersuchten Fischen gemacht werden. Ursächlich dafür ist der Corpus choroidalis, eine beim Fisch beschriebene Besonderheit der Choroidea (DUKE-ELDER, 1958). Alte Schemazeichnungen des Bulbus von Knochenfischen von ROCHON-DUVIGNEAUD (1943) (siehe Abb. 2) und nicht zuletzt die in dieser Studie durchgeführten postmortem Untersuchungen bestätigen die Annahme, dass der Koikarpfen tatsächlich eine sehr dicke Choroidea und somit gesamte hintere Bulbuswand hat. Diese betrug im Durchschnitt 1,5 mm. Im Vergleich dazu ist die Choroidea beim Menschen durchschnittlich nur 0,5 mm dick (LEPPER, 1978). Die unterschiedliche Darstellung der hinteren Augenwand in der axialen vertikalen und axialen horizontalen Schnittebene kann durch die in der Literatur beschriebene hufeisenförmige choroidalen Drüse erklärt werden (siehe Abb. 50, 51), die sich um den Nervus opticus legt und am ventralen Teil offen ist (DUKE-ELDER, 1958, WALLS, 1963, HARGIS, 1991). Bei der Auswertung der biometrischen Messungen fiel auf, dass sich die in der axialen horizontalen Schnittebene gemessene hintere Augenwand an den verschiedenen Tieren unterschiedlich präsentierte. So zeigte sich die hintere Augenwand auf beiden Augen in 96 % (n = 72) der Fälle im rechten Bildabschnitt geringfügig dicker als im linken Bildabschnitt (siehe Abb. 36). Bei 2,25 % der Tiere (n = 3) wies die hintere Augenwand auf beiden Seiten im Bild die gleiche Dicke auf (siehe Abb. 37). Dies könnte an einer nicht exakt horizontalen, bzw. unterschiedlichen Positionierung des Schallkopfes liegen. Eine andere mögliche, bisher nicht verifizierbare Erklärung ist, dass die choroidale Drüse der Fische im kaudalen Bereich (entspricht im B-Bild in dieser Studie 17 Uhr in der axialen vertikalen Schnittebene) dicker als im kranialen Bereich ist. NICOL (1989) beschrieb, dass manche Knochenfische in der Choroidea flüssigkeitsgefüllte Räume aufweisen, die Alveolen und Bindegewebe beinhalten können. Auch ROCHON-DUVIGNEAUS (1943) beschrieb bei einem

Präparat eines Goldfisches (*Carassius auratus*), eine zwischen Choroidea und Sklera befindliche, mit Flüssigkeit gefüllte Tasche, welche ein Art Septum bildet (siehe Abb. 2). Dies könnte eine mögliche Erklärung für den in Abbildung 38 gezeigten Spaltraum sein. Daher konnte davon ausgegangen werden, dass es sich erst bei dem dahinter gelegenen echoarmen Bereich um den Tenonschen Raum handelt. Die Anfertigung einer Computertomographie - Untersuchung, oder von postmortalen Gefrier- bzw. Paraffinschnitten der Augen, könnten für die eindeutige Aufklärung dieser Strukturen hilfreich sein.

Bei den meisten Tieren konnte die Sklera als echoarme Linie zwischen der hinteren Augenwand und dem Tenonschen Raum vermutet werden, eine Differenzierung dieser äußeren Schicht war jedoch nicht möglich. GUTHOFF et al. (1999) umschrieben die Sklera als die am stärksten reflektierende Struktur der Bulbuswand. Wie aus Abbildung 39 ersichtlich, zeigte sich auch in der vorliegenden Studie bei manchen Bildern eine hyperreflektive Linie, welche als Sklera gedeutet wurde. Eine mögliche Erklärung für diese hyperreflektive Stelle ist, dass hier der Schallstrahl in einer exakt senkrechten Ausbreitungsrichtung auf die Sklera auftrifft und somit ein stärkeres Echo erzeugt (BYRNE und GREEN, 2002).

Der Nervus opticus konnte in der axialen Schnittebene durch die Schallauslöschung der Linse nicht dargestellt werden, jedoch war er bei einigen Fischen in der dopplersonographischen Untersuchung in der transversalen obliquen Schnittebene als Struktur mit geringer Echogenität zu erkennen.

Das echoreiche retrobulbäre Gewebe in der Orbita konnte ähnlich wie bei WILLIAMS et al. (2007) beschrieben werden. Die in Abbildung 41 im Ultraschall dargestellte Fettschicht ist analog zu der Fettschicht in den Schnittpräparaten von ZBORAY et al. (2010) (siehe Abb. 3, 4). Die Tatsache, dass diese Struktur bei den kleinsten und leichtesten Tieren dieser Gruppe nicht darstellbar war, ist ein weiterer Hinweis dafür, dass es sich hier um eine Fettschicht handelt. Zusammenfassend ergab die sonographische okulare Untersuchung der Fische interessante, neue Erkenntnisse auf dem Gebiet der okularen Sonographie in der Veterinärmedizin.

### 5.2.2. Biometrie und Statistik

#### **Durchführung und Ergebnisse**

Da nur die Untersuchungen in axialer Richtung auf der optischen Achse zu maximalen Echos der akustischen Grenzflächen und somit zu verlässlichen Messwerten führen (GUTHOFF, 1988), wurden die biometrischen Messungen in der vorliegenden Studie in axialer vertikaler und axialer horizontaler Ebene vorgenommen. Im Rahmen der biometrischen Messungen wurden pro Auge jeweils mindestens drei verschiedene Bilder in jeder Untersuchungsebene im B-Mode aufgenommen. Dieses Verfahren wurde verwendet, da in dieser Studie sowohl Referenzwerte erstellt werden sollten, als auch das hintere Augensegment erstmalig mit dieser Methode als Grundlage für weitere klinische Studien dargestellt werden sollte. Zudem stellt die B-Mode Untersuchung auf klinischem Gebiet das gängigste Verfahren dar. Die erstellten Referenzwerte (siehe Tab. 13) sollen als Grundlage für die klinische Diagnostik und vergleichende Pathologie dienen. Aufgrund der Morphologie des Fischauges unterliegen die biometrischen Referenzwerte gewissen Limitierungen. Aufgrund des starken Schallschattens der Linse und der Verzeichnung konnte beim Koikarpfen weder die Linsenhinterfläche dargestellt, noch der Glaskörper hinter der Linse abgegrenzt werden. An anderen Vertebraten hingegen konnten COTTRILL et al. (1989), BOROFFKA et al., (2006) und STROBEL (2010) den Parameter Glaskörper axial, welcher von der Hinterfläche der Linse bis zur Netzhaut reicht, darstellen. STROBEL (2010), sowie GUMPENBERGER und KOLM (2006) konnten hingegen bei Vögeln den transversalen Durchmesser des Bulbus durch Signalauslöschung infolge des Skleralrings nicht messen. Dies war in der vorliegenden Studie jedoch möglich, da die Sklera der Knochenfische nur zwei Elemente skleraler Ossikel enthält (FRANZ-ODENDAAL und HALL, 2006), die in diesem Bereich keinen störenden Schallschatten verursachen. Die Parameter Bulbus transversal und Glaskörper transversal erzielten eine gute Messgenauigkeit (siehe Tab. 14), waren jedoch nur bei tief sedierten Fischen messbar, da ansonsten infolge des erhaltenen Augendrehreflexes die ventrale Glaskörperbegrenzung und der ventrale maximale Bulbusdurchmesser nicht mehr darstellbar waren (siehe Abb. 31). Diese beiden Messwerte waren in der axialen horizontalen Schnittebene bei allen Fischen hochsignifikant größer (p = 0,000) als in der axialen vertikalen Schnittebene. Dies ist durch die abgeflachte und elliptische Bulbusform der Fische bedingt (DUKE-ELDER, 1958, NICOL, 1989, WILLIAMS, 2012).

Der Parameter Bulbus axial wurde durch Interpolierung, also eine gedachte Fortführung der hinteren Augenwand innerhalb des Schallschattens hinter der Linse, vermessen (siehe Abb. 42). Trotz guter Übereinstimmung der Messergebnisse mit den Direktmessungen an den postmortem Präparaten, müssen die erhaltenen Messwerte Bulbus axial mit Vorsicht interpretiert werden (siehe unten).

#### Vergleich der Messbarkeit des rechten und linken Auges

Es besteht kein Grund zur Annahme, dass sich rechtes und linkes Auge anatomisch voneinander unterscheiden. Trotzdem wurden zur Validierung der Methode die Messwerte des rechten und des linken Auges verglichen. Die Parameter Glaskörper transversal, Bulbus transversal und hintere Augenwand 17 Uhr zeigten diesbezüglich keine, bzw. nur minimal signifikante Unterschiede zwischen rechtem und linkem Auge. Die Parameter Bulbus axial und die Messung der hinteren Augenwand 19 Uhr wiesen jedoch mehrere signifikante Unterschiede auf (siehe Tab. 15). Diese Unterschiede deuten auf einen systematischen Fehler hin, der vermutlich durch die unterschiedliche Handhabung, bzw. Fixierung der Tiere während der Untersuchung des rechten und linken Auges und damit verbundener leichter Abweichung der Schallebene zustande kam. Bei den axialen Messungen des Bulbus lag die relativ große Varianz der Messwerte vermutlich an der notwendigen Interpolierung der Lage der hinteren Augenwand und der damit verbundenen Ungenauigkeit.

#### Wiederholbarkeit der Messungen

Die Auswertung über die Wiederholbarkeit der Messwerte lieferte für die transversalen Parameter und hier auch für den Bulbus axial mit über 99 % Messgenauigkeit sehr gute Ergebnisse. Dies lässt darauf schließen, dass sich die Methode der okularen Sonographie gut für diese drei Parameter anwenden lässt. Die hintere Augenwand lieferte im Gegensatz zu den anderen Parametern weniger gut reproduzierbare Werte. Die Messungen der hinteren Augenwand sind morphologisch und methodisch bedingt vermutlich sehr anfällig für minimale Abweichung von der axialen Schnittebene. Grund dafür ist vermutlich die choroidale Drüse, die im Gegensatz zu den restlichen okularen Strukturen nicht radiär symmetrisch wie die drei Augenschichten, sondern hufeisenförmig um den Nervus opticus verläuft. Zudem ist die Sklera an der Stelle des Corpus Choroidalis leicht ausgebuchtet (siehe Abb. 50), der Bulbus daher ebenfalls asymmetrisch. Aufgrund ihrer hohen Variabilität erscheinen die Messwerte der hinteren Augenwand also kaum geeignet für die Erstellung von Referenzwerten. Die Fixierung und Untersuchung der Tiere mit der Sonde wurde von einer Person durchgeführt, daher ist die statistische Auswertung der Ergebnisse auf die Intra-observer Variabilität bezogen. Weitere Studien zur Interobserver-Variabilität, also mit mehreren Untersuchern innerhalb derselben Studie, wie beispielsweise bei BOROFFKA et al. (2006) durchgeführt wurden, wären für eine weitere Validierung der erhaltenen Daten wünschenswert.

## 5.2.3. Die dopplersonographische Untersuchung

Es gibt erhebliche Unterschiede der okularen Blutversorgung zwischen den verschiedenen Tierarten (SAMUELSEN, 2007). Die okularen Gefäße der Fische unterscheiden sich vor allem durch das Vorhandensein der Augenkiemendrüse und der choroidalen Drüse (WASER und HEISLER, 2004) grundlegend von denen der Menschen (NETTER, 2003), Haussäugetieren (WALDE et al., 2008), Vögeln (HORST, 2002), Reptilien und Amphibien (WALLS, 1963). Die Arteria ophthalmica entspringt bei den meisten Fischen aus der Augenkiemenarterie, verläuft dorsal des Nervus opticus, dringt dorsal in den Bulbus ein, um sich danach artspezifisch in die choroidale Drüse aufzuzweigen und die Lamina Choriocapillaris und die Retina zu ernähren (BARNETT, 1951, WALLS, 1963, WITTENBERG und WITTENBERG, 1974, COPELAND, 1980, NICOL, 1989). Die Arteria retinalis entspringt aus der Arteria carotis interna und verläuft ventral des Nervus opticus bevor sie ventral in den Bulbus eindringt (KOPPANG und BJERKAS, 2006). Vorher versorgt sie den Nervus Opticus, Muskeln und Fettgewebe (BARNETT, 1951). Das okulare venöse Blut sammelt sich in einem venösen Sinus und verläuft in die Vena ophthalmica (BARNETT, 1951), die die Sklera dorsal in der Nähe des Nervus opticus separat von der A. opthalmica (WITTENBERG und WITTENBERG, 1974) verlässt (NICOL, 1989). Die Vena ophthalmica ist ein sehr großes Gefäß, das in diversen Schemazeichnungen (ALLEN, 1949, BARNETT, 1951, WITTENBERG und WITTENBERG, 1974) zwar immer in der Nähe, jedoch nie direkt anliegend an die Arteria ophthalmica verläuft. Die Arteria und Vena retinalis dringen hingegen direkt nebeneinander in die Sklera ein (BARNETT, 1951). Zusammenfassend begleiten die Arteria und Vena ophthalmica den Nervus opticus auf der dorsalen, und die Arteria und Vena retinalis den Nervus opticus gemeinsam auf der ventralen Seite (ALLEN, 1949). Aufgrund des gemeinsamen Verlaufes des in dieser Studie untersuchten Gefäßes könnte man annehmen, dass es sich hier um die Arteria und Vena retinalis handelt. Allerdings könnte die Tatsache, dass sich das hier untersuchte Gefäß sehr prominent und stark darstellte, dafür sprechen, dass es sich um die laut MÜLLER (1839) außerordentlich starke Arteria ophthalmica und ihre Vene handelt. Das retrobulbäre Gefäßsystem der Koikarpfen ist jedoch noch nicht ausreichend beschrieben, um das hier untersuchte Gefäß sicher zu identifizieren. Eine komplette Veranschaulichung und Aufführung der retrobulbären Gefäßversorgung beim Koikarpfen wäre wünschenswert.

Die durchschnittlich messbaren, sehr geringen maximalen systolischen Geschwindigkeiten von 4,1 cm/s, nahezu gleiche enddiastolische Geschwindigkeiten von 3,1 cm/s und sehr geringe Widerstandsindizes (RI) von durchschnittlich 0,18 ergaben ein nahezu flaches Flussprofil. Bei den dopplersonographischen Untersuchungen konnten aus Zeitgründen (Begrenzung der Narkosedauer) nicht immer alle drei Messungen wie bei der B-Mode Untersuchung durchgeführt werden, daher können diese Werte nicht als Referenzwerte

#### DISKUSSION

betrachtet werden. Flussprofile der retrobulbären Gefäße bei Fischen sind in der Literatur derzeit nicht beschrieben. Es gibt also keine vergleichbaren Referenzwerte für die Blutflussgeschwindigkeiten der retrobulbären Gefäße beim Fisch, jedoch ist anzunehmen, dass narkotisierte Fische langsamere Blutflussgeschwindigkeiten aufweisen als wache Fische (HUNN und ALLEN, 1974). WASER und HEISLER (2004) maßen die Sauerstoffkonzentration der Augenkiemendrüse, welche die Retina ernährt. Leider enthält auch ihre Arbeit keine passenden Vergleichswerte zu denen der hier durchgeführten Studie.

#### Durchführung

Um aussagekräftige und reproduzierbare Ergebnisse Rahmen im von dopplersonographischen Untersuchungen zu erzielen, bedarf es einiger Übung. Dies vertreten auch GELATT-NICHOLSON et al. (1999), die dopplersonographische Untersuchungen an Hundeaugen durchführten. Durch die günstige parallele Lage der untersuchten retrobulbären Arterie zu den Schallwellen der Ultraschallsonde war es mit den richtigen Grundeinstellungen nach etwas Übung möglich, das zu untersuchende Gefäß rasch und sicher mittels CFM aufzufinden. Am anspruchsvollsten stellte sich die Darstellung der Flusskurven heraus, da die Atembewegungen des Fisches, sowie die des Untersuchers einen großen Einfluss auf die Qualität der erhaltenen Flusskurven hatten. Damit lässt sich auch erklären, warum im Vergleich zur B-Mode Untersuchung, weniger Tiere dopplersonographisch untersucht werden konnten. Gelang nach zwei Minuten die Darstellung des Blutflusses nicht optimal, wurde die Untersuchung abgebrochen, bzw. am anderen Auge versucht. Eine optimale Blutflusskurve wurde als Kurve mit deutlich erkennbarer maximaler systolischer und minimaler enddiastolischer Geschwindigkeit definiert, wobei mindestens zwei Flusskurven in einem Bild abgebildet sein mussten. Weitere sonographische Studien an Fischen, wie zum Beispiel an Regenbogenforellen, die einen prominenten Processus falciformis haben, wären wünschenswert. Da der Processus falciformis ein Pendant zum Pecten oculi beim Vogel darstellt (DUKES, 1975, BELLHORN, 1997, RECKEL und MELZER, 2004) und der Pecten gut mittels Dopplersonographie darstellbar ist (STROBEL, 2010), wären dopplersonographische Untersuchungen eines Processus falciformis sehr interessant.

## 5.3. Die postklinische Untersuchung

Nach der Euthanasie der Fische durch eine Überdosis MS 222 wurden die Augen entnommen. Die Enukleation wurde wie von STOSKOPF (1993) beschrieben durchgeführt, und die Bulbi danach für 48 Stunden in Formalin gelegt. Wie auch bei RAVELHOFER (1996) und BRETZINGER (1998) wurde eine Parazentese in die beim Fisch sehr schmale vordere Augenkammer durchgeführt. Die Kalottierung der Bulbi musste vorsichtig mit einem sehr scharfen Mikrotommesser erfolgen. Dabei wurde besonders darauf geachtet, mit geringem Druck und zügig zu schneiden. Die Bulbi wurden in axialer vertikaler und axialer horizontaler Schnittebene kalottiert, um die erhaltenen Messungen mit den jeweiligen B-Mode Messungen vergleichen zu können. Durch die besondere Bulbusform der Fische resultierten daraus ellipsoide Bulbushälften (DUKE-ELDER, 1958). Die starre kugelförmige Linse konnte bei der Kalottierung der Augen nicht geteilt werden. Sie befand sich bei keinem der kalottierten Augen mehr an ihrer ursprünglichen Position oder wurde beim Auffüllen des Auges mit Kochsalzlösung aus dieser verdrängt. Abbildung 50 zeigt ein kalottiertes Auge, an dem die Linse wieder in ihre ursprüngliche Position gebracht wurde. Retina, Choroidea und Sklera konnte wie bei in vivo Untersuchungen ebenfalls kein Processus falciformis gesehen werden. Die beim Koi vorhandenen Glaskörpergefäße waren makroskopisch nicht erkennbar.

Der große Durchmesser der Choroidea, sowie des Corpus Choroidalis ließen sich auch am Präparat bestätigen, obwohl anzunehmen ist, dass sich die Choroidea postmortem infolge der Fixation durch die feste, eher starre Sklera minimal in Richtung Glaskörper vorwölbte. Der Verlauf des Nervus opticus in der Choroidea ließ jedoch den beachtlichen Durchmesser dieser Augenschicht sehr gut erkennen (siehe Abb. 51). Im Bereich der Sehnervenpapille konnten bei allen untersuchten Präparaten keine pathologischen in den Glaskörper ragenden Strukturen festgestellt werden. Dies zeigte, dass es sich im B-Bild bei der scheinbaren Vorwölbung der hinteren Augenwand tatsächlich um ein Artefakt der Verzeichnung handelte. Die in Tabelle 18 und 19 angeführten Vergleichsmessungen zwischen den okularen Distanzen der B-Bilder und der Augenpräparate zeigten eine sehr gute Übereinstimmung der Messwerte Glaskörper transversal, Bulbus transversal und Bulbus axial. Die Messwerte der hinteren Augenwand wiesen geringe Unterschiede im Vergleich zu den restlichen untersuchten Parametern auf. Die Ursachen dafür könnten zum einen an minimalen Abweichungen der axialen Schallebene in der Sonographie (siehe oben) oder, was weniger wahrscheinlich ist, an einer unterschiedlichen Schnittführung der Bulbuskalottierung liegen. Nicht zuletzt kann die Formveränderung der Bulbi auf die Formalinfixierung zurückzuführen sein. Dass Formalin einen Einfluss auf Form und Morphologie von Gewebe hat, beschrieben WERTHER et al. (2011) an Vogelaugen und MARTINEZ et al. (2013) an ganzen Fischkörpern. Die durch diese Fixationstechnik entstandenen Veränderungen der Bulbi könnten durch Anwendung anderer Schnittverfahren, wie zum Beispiel dem Kryoschnittverfahren (CRONAU, 2004, SHEN et al., 2005) minimiert werden. Durch solche Gewebeveränderungen zeigte sich, wie wichtig es ist, anatomische und morphologische Zusammenhänge in vivo darzustellen.

# 6. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, die Methode der okularen Sonographie beim Koikarpfen (*Cyprinus carpio*) mit dem Schwerpunkt der Untersuchung des hinteren Augenabschnittes zu etablieren. Im Zeitraum von August 2012 bis Oktober 2012 wurden insgesamt 75 gesunde Koi - unterteilt in drei verschiedene Alters-, bzw. Größengruppen - sonographisch untersucht. Mit den erhaltenen Daten konnten Referenzwerte der okularen Parameter "Glaskörper transversal", "Bulbus transversal", "Bulbus axial" und "hintere Augenwand" erstellt werden. Zudem wurden dopplersonographische Untersuchungen zum Flussprofil einer retrobulbären Arterie durchgeführt.

Durch die wasserdichte Ultraschallsonde von Esaote konnte die okulare Sonographie der narkotisierten Fische im Wasser durchgeführt werden. Bei einer hohen Ultraschallfrequenz von 22 MHz, einer geringen Eindringtiefe und mit dem Behälterwasser als Vorlaufstrecke, konnten sehr detailreiche Bilder mit hohem Informationsgehalt erstellt werden. Es gibt einige Unterschiede zur B-Mode Untersuchung der Menschen, Säugetiere, Vögel und Reptilien. Die kugelige Linse der Fische erzeugte einen starken Schallschatten, durch den Einschränkungen in Bezug auf die Darstellbarkeit des hinteren Augensegmentes entstanden. So konnte der Bereich hinter der Linse in der axialen Schnittebene inklusive der Linsenhinterfläche nicht visualisiert werden. Zusätzlich verursachte die Linse eine auffallend starke Verzeichnung an der hinteren Augenwand. Letztere wies einen unerwartet hohen Durchmesser auf, der auf das Vorhandensein der choroidalen Drüse, eine morphologische Besonderheit bei Fischen zurückzuführen ist. Dies ließ sich durch postmortem Untersuchungen bestätigen. Durch die nicht-radiär symmetrische Lage der choroidalen Drüse entstanden in der axialen vertikalen und axialen horizontalen Schallebene unterschiedliche Bilder in Bezug auf die Dicke der hinteren Augenwand. Die Messungen des Durchmessers der hinteren Augenwand waren morphologisch und methodisch bedingt also kaum geeignet für die Erstellung von verlässlichen Referenzwerten. Die erstellten Referenzwerte "Glaskörper transversal", "Bulbus transversal" und "Bulbus axial" erschienen jedoch aufgrund ihrer sehr hohen Messgenauigkeit und Wiederholbarkeit als Grundlage für die weitere Anwendung in der klinischophthalmologischen Diagnostik bei Fischen geeignet.

Die in dieser Arbeit am Koiauge etablierte okulare Sonographie birgt also für die ophthalmologische Untersuchung am Fisch erhebliches Potential für die klinische Anwendung. Darüber hinaus können mit dieser Methode im Rahmen einer sonographischen Untersuchung pathologische Veränderungen am Auge, insbesondere an wertvollen Zuchtfischen oder Zootieren präzise untersucht werden.

# 7. Summary

This study aimed at establishing the method of ocular sonography with regard to the posterior segment of the carp eye (*Cyprinus carpio*). Therefore, from August 2012 until October 2012, 75 healthy Koi were sonographically examined after subdivision into three groups according to their age, respectively size. The acquired data allowed establishment of reference values for the ocular parameters "vitreous body transversal", "bulbus transversal", bulbus axial" and posterior eyewall. Furthermore, the flow profile in a retrobular artery could be measured by colour Doppler Imaging.

The water resistant ultrasonic probe from the company Easote allowed ocular sonographic examination of anaesthetised fishes within water. Use of a high ultrasound frequency probe with a frequency of 22 MHz, a low penetration depth and container water as start-up length, resulted in pictures rich in detail and with high information density.

Several differences concerning B-mode examination for fishes exist, when compared to the situation in humans, mammalians, birds and reptiles. The spherical fish lense induces a strong acoustic shadow, leading to a limited visibility of the posterior eye compartment. Therefore, the area behind the lense, including the posterior lens surface, could not be visualized in the axial section plane. Additionally the lense causes a remarkably strong distortion (lenticular artefact) of the posterior eye segment. The latter sonographically exhibited an unexpectedly high diameter, which was due to the presence of a structure specific for fishes, namely the "choroidal gland". This observation could be confirmed in post mortem analyses. The non-actinomorphic situation of the "choroidal gland" resulted in images from the axial vertical and axial horizontal section, which were not correlative to each other. Hence, for morphological and methodological reasons, the measurements of the diameter of the posterior eye segment hardly appear to be suited for the generation of reference values. However the obtained reference values "vitreous body transversal", bulbus transversal" and "bulbus axial" were highly accurate and highly reproducible and thus can serve as suitable basis for related future applications in ophthalmologic diagnostic settings.

Conclusively, ocular sonography of Koi fishes bears enormous potential for clinical ophthalmologic examination of fish in general. Furthermore, within the frame of a thorough ophthalmologic examination, this method offers a precise tool for the examination of associated pathological conditions, especially for expensive breeding or zoo animals.

# 8. Literaturverzeichnis

ABURN, N.S., SERGOTT, R.C. (1993): Orbital colour doppler imaging. Eye, 7, 639-647.

ALLEN, W.F. (1949): Blood vascular system of the eye of a deep water fish (*Ophiodon elongatus*) considered as a pressure mechanism. Anat Rec, **103**(2), 205-212.

ARNING, C. (1997): Fehlermöglichkeiten durch Artefakte im Farb-Doppler-Bild. Ultraschall in Med., **18**, 105-110.

ARNOTT, H.J., MACIOLEK, N.J., NICOL, J.A. (1970): Retinal Tapetum Lucidum: A Novel Reflecting System in the Eye of Teleosts. Science, **169**, 478-480.

BARNETT, C.H. (1951): The structure and function of the Choroidal Gland of Teleostean fishes, **85**(2), 113-119.

BAUM, G. (1965): The effect of ultrasonic radiation upon the eye and ocular adnexa. Am J Ophthalmol, **42**, 696-706.

BAUM, G., GREENWOOD, I. (1958): The application of ultrasonic locating techniques to ophthalmology. Part I: Reflective properties. Am J Ophthalm, **46**, 319-329.

BELLHORN, R.W. (1997): Retinal Nutritive Systems in Vertebrates. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, **6**(3), 108-118.

BJERKAS, E., BJORNESTAD, E., BRECK, O., WAAGBO, R. (2001): Water temperature regimes affect cataract development in smolting Atlantic salmon, *Salmo salar* L.. Journal of Fish Diseases, **24**, 281-291.

BLAIVAS, M. (2000): Bedside emergency department ultrasonography in the evaluation of ocular pathology. Acad Emerg Med, **7**(8), 947-950.

BLOEMENDAL, H. (1981): Molecular and cellular biology of the eye lens. Wiley-Interscience, New York, 49-84.

BONATH, K. (1982): Tauchbadnarkose bei Fischen. Verhandlungsbericht Erkrankungen der Zootiere, Versprém, **24**, 157-171.

BOROFFKA, S.A., VOORHOUT, G., VERBRUGGEN, A.-M., TESKE, E. (2006): Intraobserver and interobserver repeatability of ocular biometric measurement obtained by means of B-mode ultrasonography in dogs. Am J Vet Res, **67**(10), 1743-1749.

BRETZINGER, S. (1998): Augenerkrankungen bei Reptilien. Ludwig-Maximilians-Universität München, München.

BROWN, L.A. (1993): Anesthesia and Restraint. Fish Medicine. STOSKOPF, M.K., Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A., 79-90.

BURNSIDE B., BASINGER S. (1983): Retinomotor Pigment Migration in the Teleost Retinal Pigment Epithelium. Investigative Ophthalmology and Visual Science, **24**(1), 16-23.

BYRNE, S.F., GREEN, R.L. (2002): Ultrasound of the Eye and Orbit, 2 Ed., Mosby, St. Louis.

BYRNE, S.F., GREEN, R.L. (2006): Diagnostic Ophthalmic Ultrasound. In: RYAN, S.J., Retina, 4 Ed., Elsevier Mosby, Chapter **14**, 272.

COLEMAN, D.J. (1969): Ophthalmic biometry using ultrasound. Int Ophthalmol Clin, **9**(3), 667-683.

COLEMAN, D.J. (1979): Ultrasonic Measurements of Eye Dimensions. Int Ophthalmol Clin, **19**(4), 225-236.

COLLINS, B.K., COLLIER, L.L., COLLINS, J.S. (1993): Retina and lenticular lesions in vitamin-C-deficient juvenile red drum, *Sciaenops-Ocellatus* (L.). Journal of Fish Diseases, **16**, 229-237.

COPELAND, D.E. (1974): The anatomy and fine structure of the eye in teleost. II. The vascular connections of the lentiform body in *Fundulus grandis*. Experimental Eye Research, **19**(6), 583-589.

COPELAND, D.E. (1980): Functional Vascularization of the Teleost Eye. In: ZADUNAISKY, J.A., DAVSON, H., Current Topics in Eye Research, Academic Press, New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco, **3**, 219-280.

COTTRILL, N.B., BANKS, W.J., PECHMAN, R.D. (1989): Ultrasonographic and biometric evaluation of the eye and orbit of dogs. Am J Vet Res, **50**, 898-903.

COWEY, C.B., CHO, C.Y., SIVAK, J.G., WEERHEIM, J.A., STUART, D.D. (1992): Methionine Intake in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Relationship to Cataract Formation and the Metabolism of Methionine. J Nutr, **122**(5), 1154-1163.

CRONAU, M.A. (2004): Sonographie mittels hochauflösendem Ultraschall am Auge des Pferdes. Ludwig-Maximilians-Universität München, München.

CURIE, J., CURIE, P. (1880): Développement, par pression, de l'électricité polaire dans le cristaux hémièdres à faces inclinées. Comptes Rendus Hebdomaires des Séances de l'Académie des Sciences, Paris, 294-295.

CUVIER, G. (1805): Leçons d'anatomie compareé, Band II, Paris, 404.

DEMOLL, R., MAIER, H.N. (1964): Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas. Band II A, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

DEYL, J. (1895): Über den Sehnerven bei Siluroiden und Acanthopsiden. Anat. Anz. 9, 8-16.

DIETRICH, U.M. (2006): Ophthalmic Examination and Diagnostics. Part 3: Diagnostic Ultrasonography. In: GELATT, K.N., Veterinary Ophthalmology, 4 Ed., Wiley-Blackwell, Oxford, 507-519.

DOROBEK, K. (2013): Dreidimensionale Sonographie am Vogelauge - Das vordere Augensegment. Ludwig-Maximilians-Universität München, München.

DOUGLAS, R.H., PARTRIDGE, J.C., MARSHALL, N.J. (1998): The eyes of deep-sea fish. I: Lens pigmentation, tapeta and visual pigments. Department Optometry and Visual Science, **17**(4), 597-636.

DUKE-ELDER, S. (1958): System of Ophthalmology. Vol.1: The Eye in Evolution. Chapter 11: The Eyes of Fishes, Kimpton, London, 274-331.

DUKES, T.W. (1975): Ophthalmic Pathology of Fishes. In: RIBELIN, W.E., MIGAKI, G., The pathology of fishes, Univ. of Wisconsin Press, Madison, 383-398.

DUKES, T.W., LAWLER, A.R. (1975): The ocular lesions of naturally occuring lymphocystis in fish. Canadian Journal of Comparative Medicine, **39**, 406-410.

EL-MAGHRABY, H.M., NYLAND, T.G., BELLHORN, R.W. (1995): Ultrasonographic and biometric evaluation of sheep and cattle eyes. Veterinary Radiology and Ultrasound, **36**(2), 148-151.

ENGELMAN, R.W., COLLIER, L.L., MARLIAVE, J.B. (1984): Unilateral exophthalmus in Sebastes spp.: histopathologic lesions. Journal of Fish Diseases, **7**, 467-476.

FERNALD, R.D. (1985): Eye movements in the african cichlid fish, *Haplochromis burtoni*. J Comp Physiol A, **156**, 199-208.

FERREIRA, J.T., SCHOONBEE, H.J., SMIT, G.L. (1984): The uptake of the anesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and the skin of three freshwater fish species. J Fish Biol, **25**, 35-41.

FIDDES, M. (2008): Fish anaesthesia. In: LONGLEY, L.A., Anaesthesia of Exotic Pets. Saunders, UK, 261-278.

FINGER, P.T. (2002): Three-Dimensional Ultrasound of the Eye. In: BYRNE, S.F., GREEN, R.L., Ultrasound of the Eye and Orbit, 2 Ed., Mosby, St. Louis, 236-243.

FRANZ-ODENDAAL, T.A. (2008): Scleral ossicle of teleostei: Evolutionary and developmental trends. Anat Rec, **291**, 161-168.

FRANZ-ODENDAAL, T.A., HALL, B.K. (2006): Skeletal Elements Within Teleost Eyes and a Discussion of their Homology. Journal of Morphology, **267**, 1326-1337.

GARCIA DA SILVA, E., GIONFRIDDO, J.R., POWELL, C.C., CAMPBELL, T.W., EHRHART, E.J. (2010): Iridociliary melanoma with secondary lens luxation: distinctive findings in a long-horned cowfish (*Lactoria cornuta*). Veterinary Ophthamology, **13**(1), 123-127.

GEIGER, C. (2007): Die Hellabrunner Mischung im Vergleich zu MS 222 als Tauchbadnarkose bei verschiedenen Fischen. Ludwig-Maximilians-Universität München, München.

GELATT-NICHOLSON, K.J., GELATT, K.N., MACKAY, E., BROOKS, D.E., NEWELL, S.M. (1999): Doppler imaging of the ophthalmic vasculature of the normal dog: blood velocity measurements and reproducibility. Veterinary Ophthalmology, **2**, 87-96.

GENTEN, F., TERWINGHE, E., DANGUY, A. (2009): Atlas of Fish Histology. Science Publishers, Enfield.

GJESSING, M.C., KVELLESTAD, A., OTTESEN, K., FALK, K. (2009): Nodavirus provokes subclinical encephalitis and retionochoroiditis in adult farmed Atlantic cod, *Gadus morhua*. Journal of Fish Diseases, **32**, 421-431.

GLADISCH, R. (1993): Einführung in die sonographische Diagnostik. Tierärztliche Praxis, Sonderheft, 2-8.

GONZALEZ, E.M., RODRIGUEZ, A., GARCIA, I. (2001): Review of ocular ultrasonography. Veterinary Radiology and Ultrasound, **42**(6), 485-495.

GROVER, D.A., ZIGMAN, S. (1984): Funduscopic morphology of selectes marine animals as photographed in vivo. Canadian Journal of Zoology, **62**(4), 563-566.

GUMPENBERGER, M., KOLM, G. (2006): Ultrasonographic and computed tomographic examinations of the avian eye: Physiologic appearance, pathologic findings, and comparative biometric measurement. Veterinary Radiology and Ultrasound, **47**(5), 492-502.

GUTHOFF, R. (1988): Ultraschall in der ophthalmologischen Diagnostik. Ein Leitfaden für die Praxis. Kapitel: Physikalische Grundlagen unter besonderer Berücksichtigung ophthalmologischer Fragestellungen (THIJSSEN, J.M.), Enke, Stuttgart, 3-26.

GUTHOFF, R.F., BERGER, R.W., WINKLER, P., HELMKE, K., CHUMBLEY, L.C. (1991): Doppler ultrasonography of the ophthalmic and central retinal vessels. Archives of Ophthalmology, **109**, 532-536.

GUTHOFF, R., GUTHOFF, K. (1987): Ultraschalldiagnostik in der Augenheilkunde. Teil 1: Methodik, Trübungen der brechenden Medien. Z prakt Augenheilkd, **8**, 311-316.

GUTHOFF, R., PAULEIKHOFF, D., HINGST, V. (1999): Bildgebende Diagnostik in der Augenheilkunde. Enke, Stuttgart.

HAGER, D.A., DZIEZYC, J., MILLICHAMP, N.J. (1987): Two-dimensional real-time ocular ultrasonograpy in the diagnosis of ocular lesions in dogs. Vet Radiol, **28**, 60-65.

HAMIDZADA, W.A., OSUOBENI, E.P. (1999): Agreement between A-Mode and B-mode ultrasonography in the measurement of ocular distances. Radiology and Ultrasound, **40**(4), 502-507.

HARDER, W. (1975): Anatomy of fishes, Part I, Text. E Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.

HARGIS, W.J. (1991): Disorders of the Eye in Finfish. Annual Rev. of Fish Diseases, 95-117.

HARGIS, W.J., ZWERNER, D.E. (1988): Effects of Certain Contaminants on Eyes of Several Estuarine Fishes. Marine Environmental Research, **24**, 265-270.

HARMS, C.A. (1999): Anesthesia in Fish. In: FOWLER, M.E., MILLER, R.E., Zoo and Wild Animal Medicine, Current Therapy 4, Saunders, Philadelphia, 158-163.

HARMS, C.A. (2003): Fish. In: FOWLER, M.E., MILLER, R.E., Zoo and Wild Animal Medicine, 5 Ed., Saunders, St.Louis, 2-20.

HERNÁNDEZ-GUERRA, A.M., RODILLA, V., LÓPEZ-MURCIA, M.M. (2007): Ocular biometry in the adult anesthetized ferret (*Mustea putorius furo*). Veterinary ophthalmology, **10**(1), 50-52.

HIKIDA, M., IWATA, S. (1987): In vitro subacute cataractogenic study in rainbow trout lens. J. Pharmacobiodyn, **10**(9), 443-8.

HITTMAIR, K. (1997): Ultraschall in der Kleintierpraxis. Enke, Stuttgart.

HOFFERT, J.R., FAIRBANKS, M.B., FROMM, P.O. (1971): Ocular oxygen concentrations accompanying severe chronic ophthalmic pathology in the lake trout (*Salvelinus namaycush*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, **39**(1), 137-140.

HOFFMANN, R.W. (2005): Fischkrankheiten. Eugen Ulmer, Stuttgart.

HOFFMANN, I., KÖSTLIN, R. (2004): Die sonographische Untersuchung des vorderen Augenabschnittes beim Kleintier. Teil 1: Untersuchungstechnik und echographische Normalbefunde. Tierärztl Prax, **32**,175-179.

HOFFMAN, G.L., PUTZ, R.E. (1965): The black-spot (*Uvulifer amboloplitis*: Trematoda: Strigeoidea) of centrarchid fishes. Trans Am Fish Soc, **94**, 143-151.

HOLLINGSWORTH, S.R., HOLMBERG, B.J., STRUNK, A., OAKLEY, A.D., SICKAFOOSE, L.M., KASS, P.H. (2007): Comparison of ophthalmic measurements obtained via high-frequency ultrasound imaging in four species of snakes. Am J Vet Res, **68**(10), 1111-1114.

HORST, C. (2002): Anatomische Untersuchungen zur Vaskularisation des aviären Bulbus oculi. Ludwig-Maximilians-Universität München, München.

HUGHES, S.G. (1985) Nutritional eye diseases in Salmonids: a review. The Progressive Fish-Culturist, **47**(2), 81-85.

HUGHES, S.G., RIIS, R.C, NICKUM, J.G., RUMSEY, G.L. (1981): Biomicroscopic and Histologic Pathology of the Eye in Riboflavin Deficient Rainbow Trout (Salmo Gairdneri). The Cornell Veterinarian, **71**(1), 269-279.

HUNN, J.B., ALLEN, J.L. (1974): Movement of drugs across the gills of fishes. Ann Rev Pharmac, **14**, 47-55.

JURK, I. 2002: Ophthalmic disease of fish. Vet Clin Exot Anim, 5, 243-260.

KARVONEN, A., SEPPÄLÄ, O. (2008): Eye fluke infection and lens size reduction in fish: a quantitative analysis. Diseases of Aquatic Organisms, **80**, 21-26.

#### Literaturverzeichnis

KERN, T.J. (1998): Exotic Animal Ophthalmology, In: GELATT, K.N., Veterinary Ophthalmology, 3 Ed., Lippincott, Williams und Wilkins, Philadelphia.

KETOLA, H.G (1978): Dietary zinc prevents cataract in trout. Fed. Proc., 37, 584.

KETOLA, H.G. (1979): Influence of dietary zinc on cataracts in rainbow trout (*Salmon gairdneri*). J.Nutr., **109**, 956-969.

KIRCHER, K., VÉCSEI, P.V., EGGER, S.F., TOMA-BSTAENDIG, S., BETTELHEIM, H.C. (1997): Farbdopplersonographie retrobulbärer Gefäße bei Amaurosis fugax. Spektrum Augenheilkd, **11**(4), 148-152.

KLUGE, J.P. (1965): A Granulomatous Disease of Fish Produced by Flavobacteria. Pathologia veterinaria, **2**, 545-552.

KOCK, J.H. (1982): Neuronal Addition and Retinal Expansion During Growth of the Crucian Carp Eye. The Journal of comparative neurology, **209**, 264-274.

KOHBARA, J., MURACHI, S., NANBA, K. (1987): Vascular Pattern of Hyaloid Vessels in Carp Eye. Nippon Suisan Gakkaishi, **53**(2), 219-222.

KOPPANG, E.O., BJERKAS, E. (2006): The Eye. In: FERGUSON, H.W., Systemic Pathology of Fish; 2. Ed., Scotian Press, London, 245-265.

KORBEL, R. (1994): Augenheilkunde bei Vögeln: Ätiologie und Klinik von Augenkrankheiten, Luftsack - Perfusionsanästhesie, ophthalmologische Photographie und Bildatlas der Augenkrankheiten bei Vögeln. Vet Habil, München.

KÖLLE, P., HENKE, J. (2004): Fische. In: ERHARDT, W., HENKE, J., HABERSTROH, J., Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier, sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen. Schattauer, Stuttgart.

KREMKAU, F. (1990): Doppler ultrasound: principles and instruments. Saunders, Philadelphia.

LEPPER, R.D. (1978): Ultraschallmessungen an der Rückwand des lebenden menschlichen Auges. Dissertation, Bonn.

LIEB (2002): Color Doppler Imaging of the Eye and Orbit. In: BYRNE S.F., GREEN, R.L. (2002): Ultrasound of the Eye and Orbit, 2 Ed., Mosby, St. Louis, 367-378.

LIEB, W.E., COHEN, S.M., MERTON, D.A., SHIELDS, J.A., MITCHELL, D.G., GOLDBERG, B.B. (1991): Color Doppler imaging of the eye and orbit: technique and normal vascular anatomy. Archives of Ophthalmology, **109**, 527-531.

LIEPERT, A. (2013): Dreidimensionale Sonographie am gesunden und erkrankten Vogelauge - Das hintere Augensegment. Ludwig-Maximilians-Universität München, München.

LORENZ, A., DELOME, S. (1999): Physikalische und technische Grundlagen der B-Bild-Sonographie. Der Radiologe, **39**(7), 624-642.

LYNCH, G.L., HOFFMAN, A., BLOCKER, T. (2007): Central corneal thickness in koi fish: effects of age, sex, body length, and corneal diameter. Veterinary Ophthalmology, **10**(4), 211-215.

LYTHGOE, J.N. (1980): Vision in fishes. In: ALI, M.A., Environmental physiology of fishes, Plenum Press, New York, London, 431-446.

MANSOORI, F., SATTARI, A., KHEIRANDISH, R., ASLI, M. (2012): A histological study of outer layer of rabbit fish (*Siganur javus*) eye. Comp Clin Pathol, Springer, London.

MARTINEZ, P.A., BERBEL-FILHO, W. M., JACOBINA, U.P. (2013): Is formalin fixation and ethanol preservation able to influence in geometric morphometric analysis? Fishes as a case study. Zoomorphology, **132**, 87-93.

MATTEY, D.L., MORGAN, M., WRIGHT, D.E. (1980): A scanning electron microscopic study of pseudobranchs of two marine teleosts. Journal of Fish Biology, **16**, 331-343.

MAZEN, N.A. (1994): Effect of the protozoan parasite *Myxosoma heterospora* on the eye of the fish *Tilapia nilotica*. Assiut Vet Med J, **31**,120-129.

MCFARLAND, W.N., KLONTZ, G.W. (1959): Anesthesia in fishes. Fed Proc, 28, 1535-1540.

MCLAUGHLIN, S.A., GRIZZLE, J.M., WHITELEY, H.E. (1997): Ocular lesions in largemouth bass, *Micropterus salmoides*, subjected to the stresses of handling and containment. Vet Comp Opthalm, **7**, 5-9.

MEIER, H. (1989): Artefakte in der Ultraschalldiagnostik. Tierärztl. Prax. Suppl., 4, 36-46.

MILLEMAN, R.E., KNAPP, S.E. (1970): Biology of Nanopheyus salmincola and salmon poisoning disease. Advanced Parasitology, **8**, 1-41.

MILLER, W.W., CARTEE, R.E. (1985): B-Scan ultrasonography for the detection of spaceoccupying ocular masses. J Am Vet Med Assoc, **187**(1), 66-68.

MILLICHAMP, N.J. (1991): Exotic animal ophthalmology, in GELATT, K.N., Veterinary Ophthalmology, 2 Ed., Lea und Febiger, Philadelphia, 680-685.

MOHORIC, P.J., STENGARD, M.E. (2008): Ophthalmic examination and findings in adult Red Drum Fish (*Sciaenops ocellatus*). Veterinary Ophthalmology, **11**, 413-249.

MOLNÁR, K. (1993): The occurrence of Sphaerospora renicola K-stages in the choroidal rete mirabile of the common carp. Folia parasitologica, **40**, 175-180.

MÜLLER, J. (1839): Vergleichende Anatomie der Myxinoiden. III. Vom Gefäßsysteme des Choroidal-körpers im Auge der Knochenfische. Abhandl d Wissenschaften zu Berlin, 254-261.

MUNDT, G.H., HUGHES, W.E. (1956): Ultrasonics in ocular diagnosis. Am J Ophthalm, **41**, 488-498.

MURACHI, S., KOHBARA, J., YAMADA, H., SAKURAI, S., NANBA, K. (1986): The Method for Ophthalmoscopic Observation on Ocular Fundus of Fishes. Anim Eye Res, **5**, 41-48.

MURPHY, C.J., BROOKS, D.E., KERN, T.J., QUESENBERRY, K.E., RIIS, R.C. (1983): Enucleation in birds of prey. J Am Vet Med Assoc, **183**(11), 1234-1237.

NASISSE, M.P., NOGA, E.J., DAVIDSON, M.G. (1989): Degenerative retinopathy in captive Atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus* (L.). Journal of Fish, **12**, 37-44.

NEIFFER, D.L., STAMPER, M.A. (2009): Fish Sedation, Anesthesia, Analgesia, and Euthanasia: Considerations, Methods, and Types of Drugs. Ilar J, **50**(4), 343-360.

NETTER, F.H. (2003): Atlas der Anatomie des Menschen. 3.Auflage, Thieme, Stuttgart, New York.

NICOL, J.A. (1989): The Eyes of Fishes. Clarendon Press, Oxford.

OIKAWA, S., TAKEDA, T., ITAZAWA, Y. (1994): Scale effects of MS-222 on a marine teleost, porgy *Pagrus major*. Aquacult, **121**, 369-379.

OKSALA, A., JÄÄSLAHTI, S. (1971): Experimental observations on the acoustic shadow in B-Scan Examination of the Eye. Acta Ophthalmologica, **49**(1), 151-158.

OLLIVIER, F.J., SAMUELSON, D.A., BROOKS, D.E., LEWIS, P.A., KALLBERG, M.E., KOMÁROMY, A.M. (2004): Comparative morphology of the tapetum lucidum (among selected species). Veterinary Ophthalmology, **7**(1), 11-22.

OLSEN, T. (1989): The accuracy of ultrasonic measurement of the axial length of the eye. Acta ophtalmol (Copenh), **67**, 141-144.

OSTLAND, V.E., MCGROGAN, D.G., FERGUSON, H.W. (1997): Cephalic osteochondritis and necrotic scleritis in intensively reared salmonids associated with *Flexibacter psychrophilus.* Journal of Fish Diseases, **20**, 443-451.

POHL (2014): Okulare Sonographie am Fischauge. Eine Studie zur Sonoanatomie des vorderen Augensegmentes am Beispiel des Koikarpfens (*Cyprinus carpio*). Ludwig-Maximilians-Universität München.

POSTON, H.A., RIIS, R.C., RUMSEY, G.L., KETOLA, H.G. (1977): The effect of supplemental dietary amino acids, minerals, and vitamins on salmonids fed cataractogenic diets. Cornell Vet., **67**, 473-509.

POULSEN NAUTRUP, C. (1998): Physikalische Grundlagen. In POULSEN NAUTRUP, C., TOBIAS, R., Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik von Hund und Katze, Schlütersche, Hannover. POURCELOT, L. (1974): Applications cliniques de l'examen Doppler transcutane. Inserm, **34**, 213-240.

RAVELHOFER, K. (1996): Pathologisch-anatomische Untersuchungen an Augen verschiedener Vogelspezies. Ludwig-Maximilians-Universität München, München.

RAVNEET, JOHAL, M.S., SHARMA, M.L. (2009): Three-dimensional study on the effect of organophosphate pesticide "monocrotophos" on lens of fish and its recovery. Veterinary ophthalmology, **12**(3), 152-157.

RECKEL, F., MELZER, R.R. (2004): Modifications of the Falciform Process in the Eye of Beloniformes (Teleostei: Atherinomorpha): Evolution of a Curtain-Like Septum in the Eye. Journal of Morphology, **260**, 13-20.

REIMSCHUESSEL, R., BENNET, R.O., MAY, E.B., LIPSKY, M.M. (1989): Retinoblastoma in a porkfish (*Anisotremus virginicus*, Linnaeus) and a brown bullhead (*Ictalurus nebulosus*, Lesuer). J Comp Path, **101**, 215-220.

ROCHELS, R. (1984): Ophthalmologische Sonographie - Augapfel. In BRAUN, B., GÜNTHER, R.W., SCHWERK, W.B., Ultraschalldiagnostik, Lehrbuch und Atlas, Ecomed, Landsberg, 1-33.

ROCHON-DUVIGNEAUD, A. (1943): Les yeux et la vision des vertébrés. Masson et Cie, Paris.

ROGERS, M., CARTEE, R.E., MILLER, W., IBRAHIM, A.K. (1986): Evaluation of the extirpated equine eye using B-Mode ultrasonography. Veterinary Radiology, **27**(1), 24-29.

ROMER, A.S., PARSONS, T.S. (1991): Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere. 5. Auflage, Paul Parey, Hamburg und Berlin.

ROSS, L.G. (2001): Restraint, anaesthesia, and euthanasia. In WILDGOOSE, W.H., BSAVA Manual of Ornamental Fish, 2 Ed., Gloucester, 75-83.

ROSS, L.G., ROSS, B. (1984): Anaesthetic and Sedative Techniques for Fish. Nautical Press, Glasgow.

RÜHLI, M.B., SPIESS, B.M. (1995): Zur Behandlung von orbitalen Abszessen und Phlegmonen bei Hund und Katze. Tierärztl Prax, **23**, 398-401.

SAMUELSEN, D.A. (2007): Ophthalmic Anatomy. In: GELATT, K.N., Veterinary Ophthalmology, 4 Ed., Wiley-Blackwell, 37-1448.

SAUNDERS, L.Z., RUBIN, L.F. (1975): Postmortem technique. In: SAUNDERS, L.Z., RUBIN, L.F., Ophthalmic pathology of animals, An Atlas and reference book, Saunders, Basel, München, Paris, London, New York, Sydney, 244-253.

SCHIFFER, S.P., RANTANEN, N.W., LEARY, G.A., BRYAN, G.M. (1982): Biometric study of the canine eye, using A-mode ultrasonography. Am J Vet Res, **43**(5), 826-830.

SCHUBERT, G. (1969): Exopthalmus caused by thyroid tissue in the choroid layer of the eye in *Coris gamard.* Bull Wdlife Dis, **5**, 113.

SCHULZE, O. (1892): Zur Entwicklungsgeschichte des Gefäßsystems im Säugetierauge. Festschrift für Kölliker, Leipzig.

SHARIFF, M. (1981): The histopathology of big head carp, *Aristichthys nobilis* (Richardson), infested with *Lernea piscinae* Harding, 1950. Journal of Fish Diseases, **4**, 161-168.

SHARIFF, M., RICHARDS, R.H., SOMMERVILLE, C. (1980): The histopathology of acute and chronic infections of rainbow trout *Salmo gairdner* Richardson with eye flukes, *Diplostomum* spp.. Journal of Fish Diseases, **3**, 455-465.

SHEN, W., VIJAYAN, M., SIVAK, J.G. (2005): Inducing Form-Deprivation Myopia in Fish. Investigative Ophthalmology and Visual Science, **46**(5), 1797-1803.

SINDERMANN, C.J., ROSENFIELD, A. (1954): Diseases of fishes of the western North Atlantic. III. Mortalities of sea herring (*Clupea harengus*) caused by larval trematode invasion. Maine Dep Sea Shore Fish, Res Bull, **21**, 1-16.

SMIT, G.L., HATTINGH, J. (1979): Anaesthetic potency of MS 222 and neutralized MS 222 as studied in three freshwater fish species. Comp Biochem Physiol C, **62**(2), 237-241.

SMITH, M.E., COLEMAN, D.J., HAIK, B.G. (1986): Ultrasonography of the Eye. International Ophthalmology Clinics, **26**(3), 25-50.

SOHN, C., HOLZGREVE, W. (1995): Ultraschall in Gynäkologie und Geburtshilfe. Thieme, Stuttgart.

SOMIYA, H. (1980): Fishes with Eye-Shine: Functional Morphology of Guanine Type Tapetum Lucidum. Mar. Ecol. Prog. Ser., **2**, 9-26.

STALMANS, I., VANDEWALLE, E., ANDERSON, D.R., COSTA, V.P., FRENKEL, R.E., GARHOFER, G., GRUNWALD, J., GUGLETA, K., HARRIS, A., HUDSON, C., JANULEVICIENE, I., KAGEMANN, L., KERGOAT, H., LOVASIK, J.V., LANZL, I., MARTINEZ, A., NGUYEN, Q.D., PLANGE, N., REITSAMER, H.A., SEHI, M., SIESKY, B., ZEITZ, O., ORGÜL, S., SCHMETTERER, L. (2011): Use of colour Doppler imaging in ocular blood flow research. Acta ophthalmol, **89**, 609-630.

STENKAMP, D.L. (2011): The rod photoreceptor lineage of teleost fish. Progress in Retinal and Eye Research, **30**, 395-404.

STOSKOPF, M.K. (1993): Fish Medicine. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania.

STROBEL, B.K. (2010): Okulare Sonographie des gesunden und erkrankten Auges bei Wildgreifvögeln. Ludwig-Maximilians-Universität München, München.

SUSAL, A.L. (1987): Clinical artifacts in real-time examinations. In: OSSOINIG, K.C. (1987): Ophthalmic Echography, Documenta Ophthalmologica Proceedings Series 48, Proceedings of the 10th SIDUO Congress, Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster.

SZILY, A. (1922): Vergleichende Entwicklungsgeschichte der Papilla nervi optici und der sog. axialen Gebilde. Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology, **109**(1-2), 3-105.

TACON, A.G. (1992): Nutritional fish pathology. Food and Agriculture Organizatiom of the United Nations, Rome, 42.

THIJSSEN, J.M. (1993): The history of ultrasound techniques in ophthalmology. Ultrasound Med Biol, **19**, 599-618.

TODARO, F., BERDAR, A., CAVALIERE, A., CRISEO, G., PERNICE, L. (1983): Gasophthalmus in black sea bream (*Spondyliosoma cantharus*) caused by *Sarcinomyces curstaceus* Lindner. Mycopathologia, **81**, 95-97.

TREVARTHEN, C. (1968): Vision in The fish: The origins of the visual frame for action in vertebrates. In: INGLE, D., The central nervous system and fish behavior, University of Chicago, 61-94.

TRIER, H.G. (1982): Zur Ultraschallanwendung in der Ophthalmologie. Ultraschall 3, Georg Thieme, Stuttgart, New York, 164-171.

UBELS, J.L., EDELHAUSER, H.F. (1983): Healing of corneal epithelial wounds in marine and freshwater fish. Curr Eye Res, **2**, 613-619.

VIRCHOW, H. (1882): Beiträge zur vergleichenden Anatomie des Auges. Von August Hirschwald, Berlin.

WAGNER, H.J. (1970): Der Bau der Retina und der multiplen optischen Papille bei zwei Synodontis-Arten (Teleostei, Siluroidea). Z. Morph. Tiere, Springer, **68**, 69-82.

WALDE, I., NELL, B., SCHÄFFER, E.H., KÖSTLIN, R.G. (2008): Augenheilkunde: Lehrbuch und Atlas, Hund, Katze, Kaninchen und Meerschweinchen. 3. Auflage, Schattauer, Stuttgart, New York.

WALL, A.E. (1998): Cataracts in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Ireland, Norway and Scotland from 1995 to 1997. Veterinary Record, **142**, 626-631.

WALLS, G.L. (1963): The Vertebrate Eye and its adaptive Radiation. Hafner Publishing Company, New York, London.

WASER, W.P., HEISLER, N. (2004): Oxygen delivery to the fish eye: blood flow in the pseudobranchial artery of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, **30**, 77-85.

WERTHER, K., HUFEN, H., STROBEL, B., STEIN, K., KORBEL, R. (2011): Effects of Formalin Fixation on Avian Eye. Proceedings EAAV Madrid, 440-442. WHITAKER, B.R. (1993): The Diagnosis and Treatment of Corneal Ulcers in Fish. Proc Am Assoc Zoo Vet, St. Louis, 10-15.

WILCOCK, B.P., DUKES, T.W. (1989): In: FERGUSON, H.W., The Eye. Systematic Pathology of Fish, Iowa State Press, Iowa, 168-194.

WILDGOOSE, W.H. (2006): Ornamental fish in veterinary practice. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., **26**(1), 21-25.

WILLEKE, K. (2008): Morphologische und physiologische Untersuchungen an transparenten und kataraktösen Linsen von Farm- und Wildlachsen. Freie Universität Berlin, Berlin.

WILLIAMS, D.L. (2012): Ophthalmology of Exotic Pets. Wiley-Blackwell, Oxford.

WILLIAMS, D.L., BRANCKER, W.M. (2004): Intraocular oxygen tensions in normal and diseased eyes of farmed halibut. The Veterinary Journal, **167**, 81-86.

WILLIAMS, D.L., GODDARD, P.J., BRANCKER, W.M. (2007): Ultrasonographic examination of ocular lesions in farmed halibut. The Veterinary Journal, **173**, 456-458.

WILLIAMS, C.R., WHITAKER, B.R. (1997): The Evaluation and Treatment of Common Ocular Disorders in Teleosts. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, **6**(3), 160-169.

WILLIAMSON, T.H., HARRIS, A. (1996): Color Doppler Ultrasound Imaging of the Eye and Orbit. Survey of Ophthalmology, **40**(4), 255-267.

WITTENBERG, J.B., HAEDRICH, R.L. (1974): The Choroid Rete Mirabile of the Fish Eye. II. Distribution and relation to the Pseudobranch and to the swimbladder Rete Mirabile. Biol Bull, **146**, 137-156.

WITTENBERG, J.B., WITTENBERG, B.A. (1962): Active secretion of oxygen into the eye of fish. Nature, **194**, 106-107.

WITTENBERG, J.B, WITTENBERG, B.A. (1974): The Choroid Rete Mirabile of the Fish Eye. I. Oxygen secretion and structure: Comparison with the swimbladder Rete Mirabile. Biol Bull, **146**, 116-136. YOKOTE, M. (1974): Spontaneous diabetes in carp (*Cyprinus carpio*). Spec Publ Jpn Sea Fish Lab, 67-74.

ZBORAY, G., MOLNÁR,K., PÁLFIA, Z., KOVÁCS, Z., KRISKA, G. (2010): The Carp. Atlas of Comparative Sectional Anatomy of 6 invertebrates and 5 vertebrates, Springer, Vienna, New York, 115-139.
# 9. Anhang

## 9.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Auges von Knochenfischen (HARGIS, 1991);. 7 Abbildung 2: Axialer-Horizontaler Schnitt durch das Auge und das periorbitale Gewebe eines Abbildung 3: Transversaler Schnitt eines Koipräparates auf Augenhöhe. Darstellung der Augen und des orbitalen Fettgewebes (ZBORAY et al., 2010); (Mit freundlicher Genehmigung Abbildung 4: Horizontaler Schnitt eines Koipräparates auf Augenhöhe. Darstellung der Augen und der orbitalen Strukturen (ZBORAY et al., 2010); (Mit freundlicher Genehmigung von: Abbildung 5: Vertikaler Schnitt durch das Auge eines Knochenfisches (Salmo) (ROMER und PARSONS, 1991); (Mit freundlicher Genehmigung von: BLACKWELL Verlag GmbH, Paul Parey, Hamburg und Berlin)......12 Abbildung 6: Schematische Darstellung eines Augenquerschnittes mit mehreren Eintrittsstellen des Nervus opticus bei einem rückenschwimmenden Kongowels (Synodontis nigriventris) (WAGNER, 1970); (Mit freundlicher Genehmigung von: SPRINGER Science and Business Media)......15 Abbildung 7: Schematische Zeichnung choroidaler und retinaler Tapeta lucida einer Katze (links), eines Pferdes (Mitte) und eines Fisches (rechts) (OLLIVIER et al., 2004); (Mit freundlicher Genehmigung von: John Wiley and Sons) ......16 Abbildung 8: Glaskörpergefäße eines Koikarpfens (Cyprinus carpio). OD: Nervus opticus, Pfeile: Aufteilung der Glaskörpergefäße, Stern: Kapillarnetz (KOHBARA et al., 1987); (Mit freundlicher Genehmigung von: Dr. Jun Kohbara)......17 Abbildung 9: Gasblasen in der vorderen Augenkammer eines Heilbutts (Hippoglossus hippoglossus) (WILLIAMS und BRANCKER, 2004); (Mit freundlicher Genehmigung von: Abbildung 10: Schematische Darstellung einer Verzeichnung. Scheinbare Makulapathie durch die hohe Schallgeschwindigkeit und Verdickung einer Kataraktlinse (GUTHOFF, 1988); Abbildung 11: Drei wichtige Schallausrichtungen einer B-Mode Ultraschallsonde. Transversale(A), longitudinale(B) und axiale(C) Schallebene (BYRNE und GREEN, 2006); (Mit 

Abbildung 12: Physiologische Sonographische Darstellung des rechten Auges eines Turmfalken im B-Mode (STROBEL, 2010); (Mit freundlicher Genehmigung von: Dr. Birte Abbildung 13: Graphische Darstellung der Spektralanalyse der Dopplerfrequenz der retrobulbären Gefäße eines Menschens. Die X-Achse entspricht der Zeitachse, die Y-Achse der Blutflussgeschwindigkeit des Gefäßes in cm/s. Flussprofile von (A): CRA: A. centralis retinalis, (B): SPCA: A. ciliaris posterior brevis. (C): OA: A. ophthalmica (STALMANS et al., 2011); (Mit freundlicher Genehmigung von: John Wiley and Sons)......41 Abbildung 14: Enukleation eines Fischauges (STOSKOPF, 1993); (Mit freundlicher Abbildung 15: Ultraschallgerät "MyLab Sat VET", Firma Esaote (Köln, Deutschland); Abbildung 16: Ultraschallsonde "SL 3116", Firma Esaote (Köln, Deutschland); (Aufnahme: R. Abbildung 17: Versuchsaufbau: Ultraschallgerät "MyLab Sat VET" und Sonde "SL 3116" der Firma Esaote (Köln, Deutschland), daneben Narkosebad ausgestattet mit Thermometer, pH Abbildung 18: Untersuchung des rechten Auges in axialer vertikaler Schnittebene. Die Markierung der Sonde zeigt nach dorsal. Der Kopf des Fisches ist vom Untersucher weg gewandt; (Aufnahme: R. Korbel) ......60 Abbildung 19: Untersuchung des rechten Auges in axialer horizontaler Schnittebene. Die Markierung der Sonde zeigt nach nasal. Der Kopf des Fisches ist vom Untersucher weg gewandt; (Aufnahme: R. Korbel) .....60 Abbildung 20: Untersuchung des linken Auges in axialer vertikaler Schnittebene. Die Markierung der Sonde zeigt nach dorsal. Der Kopf des Fisches ist zum Untersucher gerichtet: (Aufnahme: R. Korbel).....61 Abbildung 21: Untersuchung des rechten Auges in transversaler Schnittebene. Die Markierung der Sonde zeigt nach nasal; (Aufnahme: R. Korbel) ......62 Abbildung 23: Fundus eines Koikarpfens, OD, 29 cm, 3,5 Jahre. Die Glaskörpergefäße treten aus der Sehnervenpapille (Pfeil) in den Glaskörper ein und zweigen sich dichotom auf (Sterne); Abbildung 24: Fundus eines Koikarpfens, OD, 29 cm, 3,5 Jahre. Kleinere Gefäße zweigen sich von den zwei starken Arterien ab; (Aufnahme: R. Korbel)......70 Abbildung 25: Fundus eines Koikarpfens, OD, 29 cm, 3,5 Jahre. Feinmaschiges Kapillarnetz (Stern); (Aufnahme: R. Korbel)......70 Abbildung 26: Koi, 21 cm, 2,5 Jahre, OD, axial vertikal. 1) Kornea 2) Vordere Linsenfläche 3) Abbildung 27: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD, axial horizontal. 1) Hintere Begrenzung des Glaskörpers 2) Hintere Augenwand (Retina, Choroidea, Sklera) 3) Begrenzung der hinteren Abbildung 28: Koi, 25 cm, 3 Jahre, OD, transversal. Pfeil: Schallschatten der Linse, Kreis: Abbildung 29: Koi, 26,5 cm, 3,5 Jahre, OD, axial vertikal. Unteres Bild: Begrenzungspunkte Abbildung 30: Koi, 26,5 cm, 3,5 Jahre, OD, axial vertikal. Unteres Bild: Begrenzungspunkte Abbildung 31: Koi, 23 cm, 3 Jahre, OD, axial vertikal. Durch die zu geringe Narkosetiefe erfolgte die Rotation des Bulbus Richtung ventral. Dadurch war im gekennzeichneten Bereich (Kreis) die Messung Glaskörper transversal und Bulbus transversal durch eine ungenaue Abbildung 32: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD, axial horizontal. Pfeile: Begrenzung der hinteren Augenwand durch den Tenonschen Raum......77 Abbildung 33: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD, axial horizontal. Unteres Bild: Schematische Abbildung 34: Koi, 21 cm, 2,5 Jahre, OD, transversal. Abmessung 1) Hintere Augenwand (2) Abbildung 35: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OS, axial vertikal. Abmessung 1) Hintere Augenwand "19 Abbildung 36: Koi, 28 cm, 3 Jahre, OS, axial horizontal. Abmessung 1) Hintere Augenwand "19 Uhr" 2) Hintere Augenwand "17 Uhr"......81 Abbildung 37: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD, axial horizontal. Abmessung 1) Hintere Augenwand "19 Uhr" 2) Hintere Augenwand "17 Uhr"......81 Abbildung 38: Koi, 23,5 cm, 3 Jahre, OD, axial vertikal. Pfeil: Echoarme Linie im Bereich der Abbildung 39: Koi, 28 cm, 3,5 Jahre, OS, axial horizontal. Hyperreflektive Linie an der hinteren Abbildung 40: Koi, 23 cm, 3 Jahre, OD, Oberes Bild: axial vertikal, Unteres Bild: axial horizontal. Pfeile: Tenonscher Raum, der sich v.a. im axialen vertikalen Schnitt (oberes Bild) Abbildung 41: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD, axial, horizontal. Unteres Bild: Schematische 

Abbildung 42: Koi, 24 cm, 3 Jahre, OD a) axial vertikal b) axial horizontal. Messpunkte: 1) Glaskörper transversal 2) Bulbus transversal 3) Bulbus axial 4) Hintere Augenwand 19 Uhr 5) Abbildung 43: Koi, 19 cm, 2,5 Jahre, OD, transversal oblique. Darstellung des kurvigen Abbildung 44: Koi, 27 cm, 3,5 Jahre, OS, transversal oblique. Oberes Bild: Darstellung des Gefäßverlaufes der retrobulbären Arterie und Vene. Unteres Bild: Gelb: Schematischer Verlauf Abbildung 45: Koi, 19 cm, 2,5 Jahre, OS, transversal oblique. Bestimmung der Herzfrequenz durch Setzen der Messpunkte an den maximalen systolischen Geschwindigkeiten der Abbildung 46: Koi, 27 cm, 4 Jahre, OS, transversal oblique. Flussprofil der retrobulbären Abbildung 47: Größenzunahme der Parameter Bulbus transversal (oben), Glaskörper transversal (Mitte) und Bulbus axial (unten) in Bezug auf die Körperlänge (V: Vertikal, H: Horizontal). Unwesentliche Zunahme der Augengröße von Gruppe I zu Gruppe II, starke Abbildung 48: Größenzunahme der Parameter Hintere Augenwand 17 Uhr (oben) und Hintere Augenwand 19 Uhr (unten) in Bezug auf die Körperlänge (Axiale Schnittebene, V: Vertikal, H: Horizontal). Stetige Zunahme der Augenwanddicke von Gruppe I zu Gruppe II zu Abbildung 49: Enukleierter rechter Bulbus eines 29 cm großen Koikarpfens. Pfeil: Pigmentierte Stelle im dorsalen Bereich der Sklera ......107 Abbildung 50: Oberes Bild: Schematische Darstellung eines Koi-Augenhintergrundes. Grün: Nervus opticus, Rot: Corpus choroidalis, Schwarze Linie: axiale vertikale Schnittführung. Unteres Bild: Koi, 22 cm, 3 Jahre, OS: Bulbus in axialer vertikaler Schnittebene. Roter Pfeil: Abbildung 51: Oberes Bild: Schematische Darstellung eines Koi-Augenhintergrundes. Grün: Nervus opticus, Rot: Corpus choroidalis, Schwarze Linie: axiale horizontale Schnittführung. Unteres Bild: Koi, 29 cm, 4 Jahre, OD: Bulbus in axialer horizontaler Schnittebene. Rote Pfeile: 

## 9.2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht Narkosestadien (übersetzt aus STOSKOPF, 1993); (Mit freundlicher
Genehmigung von: Prof. Michael Stoskopf)45
Tabelle 2: Gruppeneinteilung der Probanden51
Tabelle 3: Wasserparameter des Narkosebeckens 58
Tabelle 4: Durchschnittliche Narkosedauer in Minuten mit Standardabweichung (SW) und
Variationskoeffizienten (CV)67
Tabelle 5: Okulare Messparameter und deren Begrenzungspunkte
Tabelle 6: Durchschnittlicher Mittelwert (MW) des Parameters "Glaskörper transversal" des
rechten (OD) und linken Auges (OS) in Millimetern (mm) im axialen vertikalen und axialen
horizontalen Schnitt mit Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)89
Tabelle 7: Durchschnittlicher Mittelwert (MW) des Parameters "Bulbus transversal" des
rechten (OD) und linken Auges (OS) in Millimetern (mm) im axialen vertikalen und axialen
horizontalen Schnitt mit Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)90
Tabelle 8: Durchschnittlicher Mittelwert (MW) des Parameters "Bulbus axial" des rechten (OD)
und linken Auges (OS) in Millimetern (mm) im axialen vertikalen und axialen horizontalen
Schnitt mit Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)91
Tabelle 9: Durchschnittlicher Mittelwert (MW) des Parameters "Hintere Augenwand 17 Uhr"
des rechten (OD) und linken Auges (OS) in Millimetern (mm) im axialen vertikalen und axialen
horizontalen Schnitt mit Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)92
Tabelle 10: Durchschnittlicher Mittelwert (MW) des Parameters "Hintere Augenwand 19 Uhr"
des rechten (OD) und linken Auges (OS) in Millimetern (mm) im axialen vertikalen und axialen
horizontalen Schnitt mit Standardabweichung (SW) und Standardfehler (SF)93
Tabelle 11: Durchschnittliche Herzfrequenz der verschiedenen Gruppen (Mittelwert des
rechten und linken Auges), mit Anzahl der untersuchten Augen (n), Standardabweichung (SW)
und Standardfehler (SF)97
Tabelle 12: Mittelwerte (MW) der Blutflussparameter von OD und OS. Vmax: maximale
systolische Blutflussgeschwindigkeit, Vmin: minimale enddiastolischen Geschwindigkeit, RI:
Widerstandsindex mit Standardabweichung (SW), Standardfehler (SF), n: Anzahl der
untersuchten Augen
Tabelle      13:      Referenzwerte      für      die      okulare      sonographische      Untersuchung      von      Koi
verschiedener Größe (MW: Mittelwert in Millimetern (mm), Standardabweichung (SW),
Standardfehler (SF), Konfidenzintervall (C)
Tabelle 14: ANOVA - Analyse. Überprüfung der Messgenauigkeit der okularen Distanzen mit
jeweils drei Messwiederholungen, OD: Rechtes Auge, OS: Linkes Auge101

#### Anhang

# 9.3. Versuchsprotokoll

Versuchsprotokoll	Datum:
Fisch Nr.: Gruppe:	
Wasser	
Temperatur:	
pH:	
Leitwert:	
Signalement	
Farbe:	
Länge:	
Gewicht:	
Alter:	
Geschlecht:	
Klinische Untersuchung	
Körperhaltung u. Position im Wasser:	
Verhalten:	
Habitus:	
Kondition:	
Atemfrequenz:	
Augen:	
Kiemen:	
Haut und Schleimhaut:	
Abdomen:	
Flossen:	
Maulhöhle und andere Körperöffnungen:	

#### Augenuntersuchung

Augenumgebung:	
Kornea:	Fluoreszeinprobe:
Linse:	
Pupille:	
Iris:	.Irisfarbe:
Vordere Augenkammer:	
Glaskörper:	
Fundus:	

#### <u>Narkose</u>

Zeit Überfuhr ins Narkosebecken:
Zeit des Eintritts in tiefe Sedationsphase:
Dauer und Verlauf der Aufwachphase:
Dauer der Narkose insgesamt:
Besonderheiten Verlauf Narkose:

### Sonographische Untersuchung

	Bild 1	Bild 2	Bild 3
Rechtes Auge (OD) – axial vertikal			
Fokus 15 mm			
Fokus 20 mm			
Rechtes Auge (OD) – axial horizontal			
Fokus 15 mm			
Fokus 20 mm			
Linkes Auge (OS) – axial vertikal			
Fokus 15 mm			
Fokus 20 mm			
Linkes Auge (OS) – axial horizontal			
Fokus 15 mm			
Fokus 20 mm			
Dopplersonographische Untersuchung			
Rechtes Auge (OD) - transversal oblique			
Fokus 20mm			
Linkes Auge (OS) - transversal oblique			
Fokus 20mm			

### 9.4. Danksagung

Ich möchte mich ganz besonders bei Herrn Professor Dr. **Korbel** für die Überlassung dieses interessanten Themas und vor allem für die gute Zusammenarbeit, das Interesse und die große Flexibilität bei der Durchführung dieser Arbeit bedanken.

Zudem möchte ich mich ganz herzlich bei Frau Dr. Heike **Hufen** für die Betreuung und Ratschläge und vor allem für die liebevolle Motivation bedanken.

Frau PD Dr. Monika **Rinder** danke ich für die Hilfe beim Tierversuchs- und Narkosemittelantrag, für die monatliche Abnahme des Progress-Reports, und den stetig netten Emailverkehr.

Herrn PD Dr. **Reese** möchte ich für die großartige fachliche Unterstützung, sein Interesse und seine mehr als hilfreichen Ratschläge bedanken. Zudem bedanke ich mich für die statistische Betreuung und die Flexibilität in Bezug auf die Bereitstellung des Ultraschallgerätes. Herzliches Dankeschön auch an Frau Prof. **Poulsen Nautrup** für die initiale Beratung des Konzeptes.

Meiner "Fisch-versierten" Doktorarbeitskollegin Frau Ranhild **Pohl** möchte ich ganz besonders für die emotionsreiche Zeit während dieser Doktorarbeit bedanken. Ich hätte mir keine bessere Kollegin und Freundin wünschen können, bei der es nie an Motivation, Information, hilfreichen Tipps und Humor gefehlt hat.

Lieber Dr. Torsten **Schottstedt**, danke dass du damals mit mir Dienst getauscht hast. Ohne deine unglaublich selbstlose Flexibilität wäre das hier niemals möglich gewesen. Und danke auch, dass du mich immer geärgert und damit motiviert hast.

Bei Herrn Andreas **Reimann** möchte ich mich ganz herzlich für die große Hilfe bei der Fotographie der Augen bedanken.

Danke an Herrn Herbert **Rafalzik** für die Bereitstellung seiner schönen und wertvollen Fische und die vielen Jausen in seiner schönen Welt in Unterbrunn.

Danke auch an Frau Dr. **Andrea** Liepert. und Dr. **Kristina** Dotterbeck für die lustige Zeit an der Vogelklinik, das gemeinsame Vogelsingen und deren stetige Hilfeleistungen.

Meinen drei Chefs Dr. **Annette** von Gleichenstein, Dr. **Carmen** Arndt und Dr. **Christian** Städele möchte ich ganz herzlich für die Flexibiltät und Unterstützung vor allem im schwierigen Jahr 2013 bedanken, ohne die die Fertigstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Danke an **Hanni** und **Raimund Binder**, dass es sie gibt und vor allem für den Laptop, den sie mir gleich zweimal geschenkt haben, auf dem diese Arbeit entstanden ist.

Zuletzt möchte ich ganz besonders meinem lieben **Andreas** für seine unvergleichliche und liebevolle Unterstützung und Geduld bedanken.