

Kombination der Verfahren Pupillographie, Elektroretinographie sowie Visuell evozierte Potentiale in einem Handgerät für die erweiterte ophthalmologische Diagnose am Großtier

Thomas Reuter¹, Andreas Grundmann¹, Sebastian Walther¹, Dirk Barnewitz²

¹ICM - Institut Chemnitzer Maschinen- und Anlagenbau e.V., Otto-Schmerbach-Straße 19, 09117 Chemnitz, Deutschland

²fzmb GmbH - Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie, Geranienweg 7, 99947 Bad Langensalza, Deutschland

Zusammenfassung

Augenerkrankungen am Großtier werden je nach Krankheitsbild mit verschiedenen Diagnosegeräten bestimmt, wobei unterschiedliche Untersuchungsmethoden zum Einsatz kommen. Derzeit existiert kein Gerät, welches eine objektive Diagnose des gesamten Sehapparates zulässt. Insbesondere bei Ankaufuntersuchungen stehen dem Tierarzt kaum Messwerte zur Verfügung. Vor diesem Hintergrund wurde ein Konzept entwickelt, welches die ophthalmologischen Verfahren Pupillographie, Elektroretinographie (ERG) sowie Visuell evozierte Potentiale (VEP) in einem Gerät kombiniert und auswertet. Der Versuchsaufbau wurde in einem kompakten 3D-gedruckten Gehäuse untergebracht und kann mit einer Hand bedient werden. Die homogene Ausleuchtung des Auges wurde mit radial angeordneten Weißlicht- und RGB-Quellen (Lichtstärke 500 cd) in einer Streulichtscheibe ermöglicht. Erste Systemtests im Labor zeigten eine hinreichende Genauigkeit ($\pm 5\%$) bei der Erfassung von Pupillendaten mit einer Messrate von 30 Hz. Die elektrischen Ableitungen können in Anlehnung an die ISCEV-Standards der Humanmedizin aufgenommen werden. Auch die zeitliche Synchronisation der Messwerte der ophthalmologischen Verfahren wurde als Voraussetzung für die Ermittlung von Korrelationen erfolgreich umgesetzt. Erste Vorversuche am Pferd zeigten, dass die erhobenen ERG- und VEP-Parameter innerhalb bzw. oberhalb der Streubreite der Literaturwerte liegen. Die ermittelten Pupillographie-Parameter konnten aufgrund fehlender Literaturwerte hingegen nicht verglichen werden, gleichwohl die Kurvenverläufe die typischen Charakteristiken eines Pupillensystems aufwiesen. Das entwickelte Augendiagnosegerät soll zukünftig durch ausführliche Studien am Pferd erprobt und eine umfangreiche Datenbasis aufgebaut werden. Ziel ist es, Zusammenhänge zwischen den einzelnen Messergebnissen der jeweiligen ophthalmologischen Diagnoseverfahren in Abhängigkeit von Krankheitszuständen zu untersuchen und statistisch auszuwerten, um einen Mehrwert bei der Diagnosestellung, insbesondere in der Früherkennung, zu generieren.

Keywords: Ophthalmologie, Elektroretinographie, Pupillographie, Visuell evozierte Potentiale, Pferdeauge.

Einleitung

Pferde sind im Freizeit- und Wettkampfsport stark verbreitet. Insbesondere im Freizeitbereich konnte in den letzten Jahren eine stetige Zunahme der gehaltenen Pferde beobachtet werden [1]. Im Rahmen dieser Entwicklungen kam es bei Pferden auch zu einem signifikanten Anstieg von Augenerkrankungen und deren Komplikationen. Diese haben einen erheblichen Einfluss auf die Lebensqualität, was den Wert des Tieres und ihren Einsatz im Sportbetrieb beeinflusst. Insbesondere Augenerkrankungen, die rasch progressiv verlaufen und schlimmstenfalls zur

Erblindung führen, müssen frühzeitig erkannt und behandelt werden. Zur Diagnose von Augenerkrankungen am Pferd ist es üblich, dass für spezifische Krankheitsbilder unterschiedliche Untersuchungsmethoden und somit verschiedene Diagnosegeräte zum Einsatz kommen. Je nach Gerät stützen sich die Untersuchungsergebnisse auf Messwerte, aber auch subjektive Empfindungen des Arztes. Um künftig genauere Aussagen über den Gesundheitszustand des Auges treffen zu können, wurde ein Konzept entwickelt, welches die ophthalmologischen Verfahren Pupillographie, Elektroretinographie (ERG),

sowie Visuell evozierte Potentiale (VEP) in einem Gerät kombiniert und entsprechend ausgewertet [2,3,4]. Somit ist eine Untersuchung des kompletten Sehapparates möglich: von der Übersichtsaufnahme des Auges, über die Bewertung von Pupillenreaktion und Augenhintergrund bis hin zur spezifischen Beurteilung der Reizleitung von Netzhaut und Sehnerv. In diesem Beitrag werden erste Ergebnisse zur Geräteentwicklung und Datenauswertung aus Vorversuchen zu ERG, VEP und Pupillographie sowie deren Vergleich mit Literaturwerten vorgestellt.

Theoretische Grundlagen

In den folgenden Abschnitten wird auf die theoretischen Grundlagen des ERG, VEP und der Pupillographie eingegangen. Zusätzlich soll die Funktion und der Aufbau des Pferdeauges kurz beschrieben werden.

Aufbau und Funktion des Pferdeauges

Der anatomische Aufbau des Pferdeauges ist dem des menschlichen Auges ähnlich. Die Form des Augapfels ähnelt einer zusammengedrückten Kugel. Die Hülle des Augapfels wird durch drei ineinander liegende Schichten (äußere, mittlere und innere Augenhaut) gebildet und hält den gelatinösen, teils flüssigen Inhalt zusammen. Das Auge besteht zum einen aus transparenten Geweben (Hornhaut, Kammerwasser, Linse und Glaskörper), durch die das Licht ungehindert passieren kann, zum anderen aus einer lichtempfindlichen Schicht (Netzhaut), deren Fotorezeptoren bei Lichteinfall chemische in elektrische Signale umwandeln und über den Sehnerv an das Gehirn weiterleiten. Zum Schutz der Netzhaut vor zu intensiver Lichteinstrahlung ist das Auge mit einer Blende (Regenbogenhaut) ausgestattet. Die Regenbogenhaut, auch Iris genannt, kann sich je nach Lichteinfall zur Mitte oder zum Rand hin zusammenziehen, sodass sich die Öffnung (Pupille) verkleinert oder vergrößert. Die Größe der Pupille bestimmt somit den Lichteinfall auf der Netzhaut [6,7]. Hinsichtlich Physiologie und Funktionalität unterscheidet sich hingegen das Auge des Pferdes vom menschlichen Auge [8,9]. Während der ersten beiden Lebensjahre weist das Pferdeauge eine Pupille in runder Form auf, die sich in diesem Zeitraum zu einer elliptischen (querovalen) Pupille wandelt. Am oberen mittleren Rand der Pupille befinden sich die sogenannten Traubenkörner, die für eine zusätzliche Reduzierung des einfallenden Lichts sorgen können, wenn sich die Pupille bereits maximal zusammengezogen hat [7,8]. Eine weitere Besonderheit stellt die Nickhaut dar. Sie

übernimmt die Funktion eines dritten Augenlids [7,8,9]. Während das menschliche Auge drei Zapfentypen aufweist, die für das Sehen bei Tageslicht zuständig sind (Blau-, Grün- und Rotrezeptoren), ist das Auge des Pferdes aufgrund der nicht vorhandenen Rotrezeptoren nur zu dichromatischem Sehen (Blau und Grün) in der Lage [7,8,9]. Hinsichtlich des Sichtwinkels sind die Augen des Pferdes aufgrund einer geringen Überlappung der Sehbereiche gegenüber dem menschlichen Auge im Vorteil: eine annähernde Rundumsicht von nahezu 360° ohne Kopfbewegung ist dadurch möglich. Allerdings führt dies auch zu geringerem räumlichen Sehen und zu weniger Tiefenschärfe im Vergleich zum Menschen. Zudem ist die Linse des Pferdeauges nicht im gleichen Maße flexibel in der Einstellung der Sehschärfe [7,9,10].

Elektroretinographie

Das Elektroretinogramm dient der Aufzeichnung und Bewertung der von der Retina gebildeten elektrischen Potentiale [6,11]. Bei der Elektroretinographie wird generell zwischen Ganzfeld-ERG, Muster-ERG (PERG) und multifokalem ERG (mfERG) unterschieden [11], wobei nachfolgend ausschließlich das Ganzfeld-ERG näher betrachtet wird, da diese Untersuchungsmethode bevorzugt für die erweiterte ophthalmologische Diagnose am Pferd genutzt werden soll. Das Ganzfeld-ERG zeichnet sich vor allem durch die Stimulation mit Hilfe von Lichtreizen sowie die Messung des Summenaktionspotentials der äußeren Retinaschichten aus. Somit spiegeln die gemessenen Potentiale die Aktivität der Photorezeptoren, Ganglienzellen und des Pigmentepithels wider [12]. Die Ableitung des ERG erfolgt mit Hilfe von drei Elektroden: die aktive, positiv gepolte Elektrode wird direkt auf der Hornhaut oder mittig auf dem unteren Augenlid aufgesetzt, die negative Referenzelektrode auf der Stirn oder Schläfe und die Erdungselektrode beispielsweise am Ohrfläppchen [11,13]. Für alle ERG-Arten sind die Platzierung der Elektroden, die Rahmenbedingungen sowie die zulässigen Untersuchungsmodi durch die International Society for Clinical Electrophysiology and Vision (ISCEV) definiert und vereinheitlicht. Dadurch ist die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gewährleistet. Dennoch wird empfohlen, dass für jede Einrichtung eigene Referenzwerte aufgenommen werden, um die Einflüsse des Gerätes und der verwendeten Elektroden berücksichtigen zu können [6,14]. Die mit Hilfe von Elektroden aufgezeichnete

Potentialveränderung als Reaktion auf einen Lichtreiz weist bei gesunden Probanden einen definierten Verlauf auf. Es bilden sich Wellen aus, deren Amplituden und Gipfelzeiten zur Diagnostik genutzt werden. Die wichtigsten Auswerteparameter bilden a- und b-Welle mit den entsprechenden Gipfelzeiten. Die a-Welle entspricht der Amplitude des ersten negativen Peaks, der durch die Hyperpolarisation der Photorezeptoren entsteht. Der darauffolgende erste positive Peak der Potentialkurve entsteht durch die Depolarisation von nicht-neuronalen Gliazellen und wird als b-Welle bezeichnet. Im weiteren Verlauf der Potentialantwort können zusätzliche Peaks ausgemacht werden. Diese sind bei Messungen im klinischen Alltag aber zumeist nicht auswertbar oder werden nicht zur Diagnostik benötigt. Die typische Form eines ERG mit entsprechender Beschriftung der Wellen und Gipfelzeiten kann aus Abbildung 1 entnommen werden [6,11].

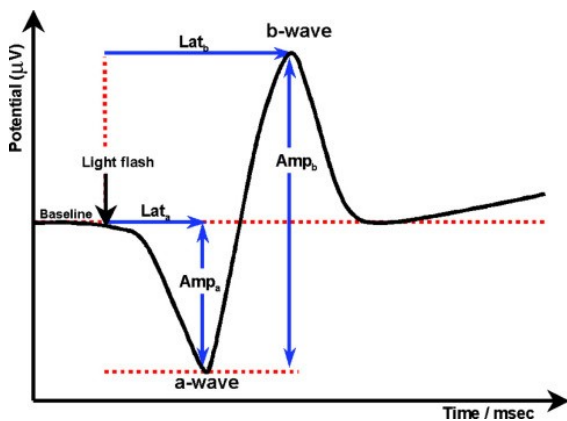


Abb. 1: Zeitlicher Verlauf des ERG [15]. (Amp_a - Amplitude a-Welle, Amp_b - Amplitude b-Welle, Lat_a - Gipfelzeit a-Welle, Lat_b - Gipfelzeit b-Welle)

Die Messung der Amplituden der a-Welle wird immer beginnend von der Basislinie vorgenommen, die der b-Welle von der maximalen Amplitude der a-Welle bis zum Maximum der b-Welle. Die Gipfelzeiten werden vom Auslösen des Stimulus bis zur maximalen Amplitude des Peaks gemessen [3,15].

Visuell evozierte Potentiale

Durch Weiterleitung der Nervensignale vom Auge über den Sehnerv ins Gehirn kommt es zu einer Reihe von Nervenzellaktivitäten, die sich wie beim ERG als typische Änderungen von elektrischen Potentialen äußern. Eine Methode zur Beurteilung der Funktionsfähigkeit des Sehnervs, sowohl in Bezug auf die Anzahl der funktionierenden Nervenfasern als auch in Bezug auf die Geschwindigkeit, mit der die Nervensignale vom Auge zum Gehirn weitergeleitet werden, sind Visuell evozierte

Potentiale [11]. Im Gegensatz zum ERG werden die Potentialschwankungen nicht im Auge, sondern am Kopf abgegriffen [11,16]. Primär wird zwischen dem Muster-VEP und dem Blitz-VEP unterschieden. Beim Muster-VEP wird dem Auge auf einem Bildschirm ein Schachbrettmuster dargeboten, dessen Felder in regelmäßigem Takt ihre Farbe zwischen Schwarz und Weiß ändern. Diese Methode wird vor allem im Humanbereich angewandt. Das Blitz-VEP hingegen ist sowohl im Human- als auch im Veterinärbereich stark verbreitet. Bei dieser Methode wird das Auge durch Lichtblitze stimuliert, um festzustellen, ob Lichtreize vom Gehirn wahrgenommen werden können [11,16]. Bei den VEP-Messungen werden die Augen einzeln überprüft. Das jeweils andere Auge wird mit einer Augenklappe abgedeckt. Für die VEP-Arten sind die Platzierung der Elektroden, die Rahmenbedingungen sowie die zulässigen Untersuchungsmodi ebenfalls durch die ISCEV standardisiert [14]. Die erfasste Potentialveränderung als Reaktion auf einen Lichtreiz weist auch für das VEP bei gesunden Probanden einen definierten Verlauf auf. Es bilden sich Wellen aus, deren Amplituden und Gipfelzeiten zur Diagnostik genutzt werden können, die jedoch in Form und Anzahl vom ERG-Verlauf deutlich abweichen (siehe Abbildung 2) [16].

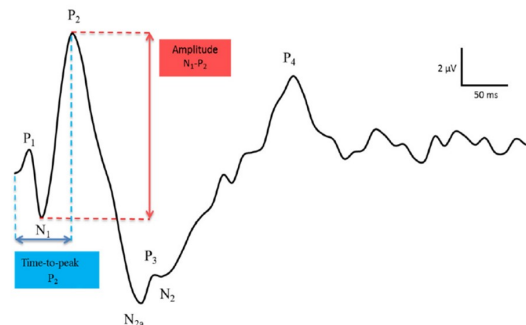


Abb. 2: Zeitlicher Verlauf des VEP [16]. (P - positiver Peak, N - negativer Peak, rot - Amplitude, blau - Gipfelzeit)

Pupillographie

Die Pupillometrie verfolgt zwei zentrale Untersuchungsziele: die Erfassung des Pupillendurchmessers von Mensch und Tier sowie die Beobachtung der Veränderungen des Pupillendurchmessers in einem festgelegten Zeitintervall. Letzteres wird auch als Pupillographie bezeichnet. Weiterhin ist es möglich, die beiden Pupillen eines Individuums vergleichend zu betrachten, um beispielsweise Störungen der afferenten Pupillenbahnen zu identifizieren [3,17]. Erfolgt die Erfassung des

Pupillendurchmessers in Form einer kontinuierlichen Aufzeichnung der Pupillenweite bei konstanter Beleuchtungsstärke über ein längeres Zeitintervall, kann die Pupillenoszillation beurteilt werden [3,17]. Diese Untersuchungsmethode wird vor allem beim pupillographischen Schläfrigkeitstest (PST) genutzt [18]. Pupillographische Verfahren sind nicht-invasiv und häufig mit mobilen Geräten durchführbar. In der Regel werden Kamerasysteme mit Infrarotlicht in Verbindung mit einem Bildverarbeitungsprogramm eingesetzt [3,17]. Mit Hilfe der Pupillometrie können die afferenten und efferenten Pupillenbahnen untersucht und Rückschlüsse auf den Zustand des vegetativen Nervensystems geschlossen werden [3,17]. Bei der Pupillometrie kann die Messung des maximalen und minimalen Pupillendurchmessers sowie die Messung der Pupillenreaktion auf einen definierten Lichtreiz unterschieden werden. Dementsprechend variieren die zu analysierenden Parameter. Bei der Messung der Extremwerte des Pupillendurchmessers wird die Pupille über einen definierten Zeitraum analysiert und aus den erfassten Durchmesserdaten jeweils ein Durchschnittswert für den minimalen und maximalen Pupillendurchmesser gebildet. Wird die Reaktionskurve nach einem Lichtreiz analysiert, spielen neben der maximalen Amplitude vor allem die verschiedenen Zeitabschnitte der Reaktion (Latenzzeit, Kontraktionszeit und Dilatationszeit) eine Rolle [3]. Weiterhin ist es möglich, die Kontraktionsgeschwindigkeit und die Dilatationsgeschwindigkeit anhand des maximalen Anstiegs des Kontraktions- und Dilatationsabschnittes der Kurve zu ermitteln [17]. Der zeitliche Ablauf der Pupillenreaktion kann aus Abbildung 3 entnommen werden.

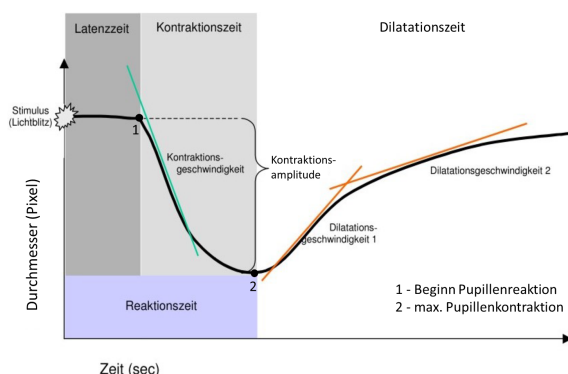


Abb. 3: Zeitverlauf der Pupillenreaktion auf einen definierten Lichtreiz [17].

Die Dilatationsgeschwindigkeit 1 stellt innerhalb der Dilatationszeit den Anstieg im Bereich mit großer Steigung dar, die

Dilatationsgeschwindigkeit 2 den Bereich kleiner Steigung und damit auch kleinerer Dilatationsgeschwindigkeit. Zur Einteilung beider Bereiche existieren bisher keine festgelegten Punkte [17]. Die Dilatationsphase der Pupillenreaktion wird selten zur Diagnostik genutzt. Von Bedeutung sind vor allem Kontraktionszeit, -amplitude und -geschwindigkeit [19].

Material und Methoden

In den nachfolgenden Abschnitten werden der experimentelle Versuchsaufbau sowie die Methodik der Versuchsdurchführung und der Datenauswertung näher erläutert.

Experimentelles Setup

Für die Umsetzung einer multimodalen Gerätekombination aus Pupillographie, ERG und VEP wurde eine prototypische Versuchsumgebung, bestehend aus einem grafikkartengestützten Einplatinenrechner, einer Beleuchtungseinheit, einem 8MP-Kamerasystem sowie einer abnehmbaren Augenmuschel aufgebaut (siehe Abbildung 4).

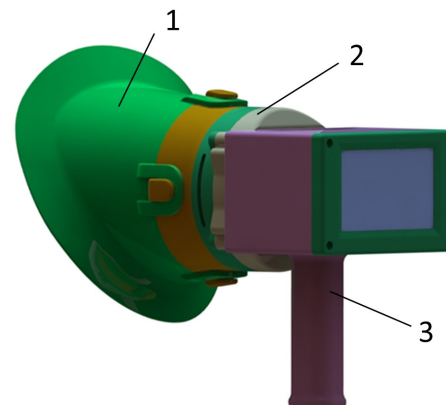


Abb. 4: CAD-Modell des Multifunktionsdiagnosegeräts für die Anwendung am Pferd. (1 - Augenmuschel mit Schnellverschluss, 2 - Beleuchtungseinheit, 3 - 3D-gedrucktes Gehäuse mit integriertem Display, Kamerasystem und Einplatinenrechner)

Die Optik der Kamera wurde mit einer elektrisch verstellbaren Fokussierung ausgestattet. Die Ausleuchtung zur Bilderfassung ist wahlweise als direkte oder indirekte Infrarotquelle ausgeführt. Um die optimale Anordnung der Infrarotquelle und optischen Bauelemente zu finden, wurde dies simulativ untersucht (siehe Abbildung 5). In Kombination mit einem Biosignalverstärker ($f = 500 \text{ Hz}$) und zeitsynchroner Datenverarbeitung können jeweils den Pupillendaten die entsprechenden elektrischen

Ableitungen (ERG und VEP) zugeordnet werden. Der Versuchsaufbau wurde in einem kompakten 3D-gedruckten Gehäuse untergebracht und kann mit einer Hand gehalten sowie gesteuert werden. Über ein Display (4.3") kann der Tierarzt das Auge betrachten. Die homogene Ausleuchtung des Auges wurde mit radial angeordneten Weißlicht- und RGB-Quellen (Lichtstärke 500 cd) in einer Streulichtscheibe ermöglicht.

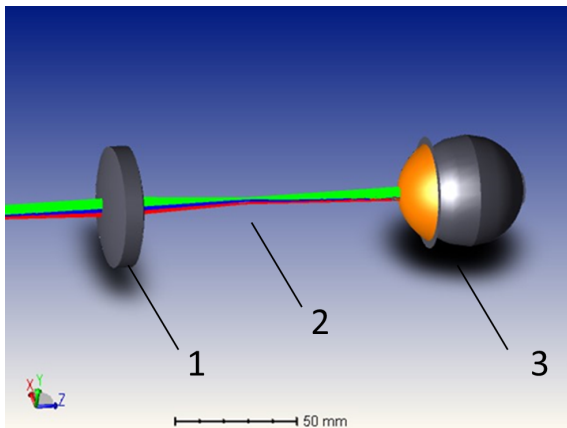


Abb. 5: Simulationen des Strahlengangs bei homogener Beleuchtung des Auges durch Variation der optischen Bauelemente. (1 - optische Bauelemente, 2 - Strahlengang, 3 - Augenmodell)

Versuchsdurchführung

Die ophthalmologischen Untersuchungen wurden an der tierärztlichen Klinik für Pferde in Bad Langensalza durchgeführt und erfolgten ausschließlich an Patientenpferden ($n = 2$) mit Einwilligung der Besitzer. Die Patientenpferde hatten keine ophthalmologischen Vorerkrankungen bzw. Einschränkungen. Die Tiere wurden vom Tierarzt routinemäßig untersucht. Dabei wurde die Elektrophysiologie (ERG bzw. VEP) mittels Nadelelektroden (Edelstahl, Länge 20 mm) abgeleitet. Die Positionierung der Elektroden erfolgte für das ERG nach Eckenweiler et al. und für das VEP nach Ström et al. Dabei wurden die Erdungselektroden an der Stirn (Verbindungsline beider Augen) und die Referenzelektroden etwa 3 cm kaudal des lateralen Canthus gesetzt. Die aktiven Elektroden wurden in das Unterlid des zu untersuchenden Auges (ERG) und an der Stirn 2 cm über der Erdungselektrode (VEP) positioniert [6,16]. Die Blitzstärke betrug für beide Untersuchungsmethoden 1 cds/m^2 . Für das ERG wurden jeweils drei Messungen pro Auge und für das VEP 90 Messungen pro Versuch durchgeführt. Die Daten wurden mit einer Abtastfrequenz

von 500 Hz erfasst. Für die Versuche wurde der Untersuchungsraum abgedunkelt. Das nicht zu untersuchende Auge wurde mit einer Pferdemaske abgedeckt und die Ohren des Pferdes mit Watte verschlossen, um Störsignale zu vermeiden bzw. zu reduzieren [6,16]. Für die ersten Untersuchungen sind dunkeladaptierte Versuche durchgeführt worden. Die Dunkeladaptation betrug für beide Untersuchungsmethoden jeweils 5 min. Gleichzeitig zur Elektrophysiologie konnte die Pupillographie ebenfalls mit einer Blitzstärke von 1 cds/m^2 erfasst werden. Die Pupillendaten wurden dabei mit einer Abtastrate von 30 Hz aufgezeichnet.

Datenauswertung

Die Auswertung der aufgenommenen ERG- und VEP-Signale erfolgte in Anlehnung an Ström et al. [16]. Dabei wurden die ERG-Signale mit einem Hochpassfilter ($f = 0,1 \text{ Hz}$; 2. Ordnung Butterworth) und die VEP-Signale mit einem Bandpassfilter ($f = 1-100 \text{ Hz}$; 3. Ordnung Butterworth) vorverarbeitet, um auftretende Störsignale herauszufiltern. Zusätzlich wurde eine Bandsperre ($f = 49-50 \text{ Hz}$; Notch-Filter) durchgeführt, um Netzrauschen zu unterdrücken. Nach der Datenvorverarbeitung wurden die resultierenden ERG- und VEP-Kurven je Auge und Proband als Mittelwertkurve aller Einzelkurven bestimmt. Anschließend erfolgte die Berechnung der Extremwerte mit den dazugehörigen Zeiten (siehe Abbildungen 1 und 2) [2,6] sowie der statistische Vergleich mit den Literaturwerten [6,16]. Die Ermittlung des Zeitverlaufs der Pupillenreaktion nach einem Lichtreiz erfolgte durch die Analyse der Pupillenfläche aus den aufgezeichneten Videodaten. Hierzu wurden unterschiedliche Filteralgorithmen (CLAHE+Watershed und EqualizeHist+Watershed) getestet, um die Pupillenfläche (in Pixel) abgrenzen zu können [20,21]. Es erfolgte die Mittelung des Zeitverlaufs der Pupillenreaktion je Auge und Proband. Abschließend konnten die Parameter Latenz-, Dilatations- und Kontraktionszeit sowie Kontraktionsamplitude und -geschwindigkeit berechnet und statistisch ausgewertet werden (siehe Abbildung 3) [3].

Ergebnisse und Diskussion

In Abbildung 6 ist sowohl das Konzept als auch das Funktionsmuster des ophthalmologischen Multifunktionsdiagnosegerätes bei der Untersuchung am Pferd dargestellt. Die Systemtests im Labor zeigten eine ausreichende Genauigkeit ($\pm 5 \%$) bei der Erfassung von Pupillendaten mit einer Abtastrate von $f = 30 \text{ Hz}$. Die elektrischen

Ableitungen können mit einer Abtastrate von $f = 500 \text{ Hz}$ nach den ISCEV-Standards aufgenommen werden. Durch eine zeitsynchrone Datenverarbeitung können den Pupillendaten die entsprechenden elektrischen Ableitungen (ERG und VEP) zugeordnet werden.

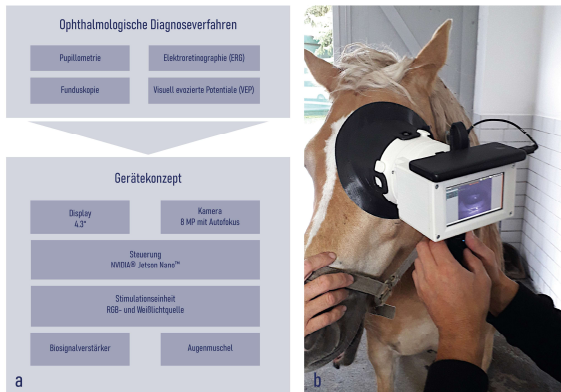


Abb. 6: Multifunktionsdiagnosegerät: a - Gerätekonzept zur Kombination der Diagnoseverfahren und b - Funktionsmuster (Anwendung am Pferd).

Die Ergebnisse der Untersuchung zur Elektrophysiologie sind in den Abbildungen 7 und 8 hinterlegt. Die ermittelten ERG- und VEP-Signalverläufe zeigten den typischen in der Literatur beschriebenen Signalverlauf für gesunde Pferde [6,16]. Die berechneten Parameter sind in den Abbildungen 9 bis 12 dargestellt. Sie lagen im bzw. oberhalb des Streubereichs der gemittelten Literaturwerte und lieferten keine signifikanten Unterschiede [6,16]. Im ERG-Signal wurden weitere Extremwerte ausgewertet. Die Extremwerte N_1 , P_2 und N_{2a} können laut Literatur zusätzliche Aussagen zur Beurteilung der elektrischen Signalleitung liefern [16]. Eine Kombination von ERG und VEP mittels einer Messung in Abhängigkeit der Elektrodenposition wird bereits in der Literatur diskutiert [16,22]. Dies könnte Aufschluss über die Weiterleitung der Nervensignale vom Auge über den Sehnerv ins Gehirn liefern [16,22]. Ab den Extremwerten N_1 (ERG-Signal) und N_{2a} sowie P_{2p} (VEP-Signal) nimmt die Streuung signifikant zu, da eine Zuordnung aus den Einzelsignalen nicht mehr eindeutig möglich ist. Eine Verbesserung der Resultate könnte mit einer Erhöhung der Abtastrate des Biosignalverstärkers auf $f = 1 \text{ kHz}$ erreicht werden [6]. Zur Analyse und Abgrenzung der Pupillenfläche wurden verschiedene Filteralgorithmen evaluiert (siehe Abbildung 13), wobei der Histogram-Equalization-Filter

die besten Ergebnisse erzielt und für die Auswertung des Zeitverlaufs verwendet wurde.

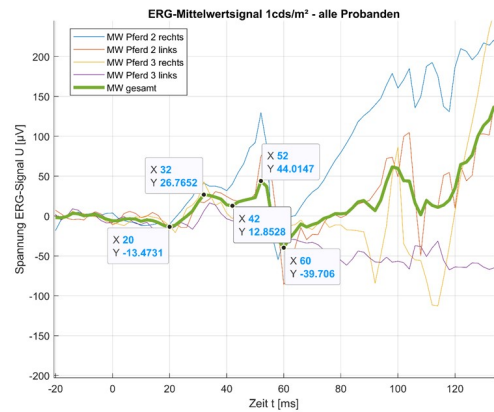


Abb. 7: ERG-Signalverlauf mit Darstellung der Extremwerte (X - Zeit, Y - Spannung, grün - Mittelwert (MW) über alle Probanden).

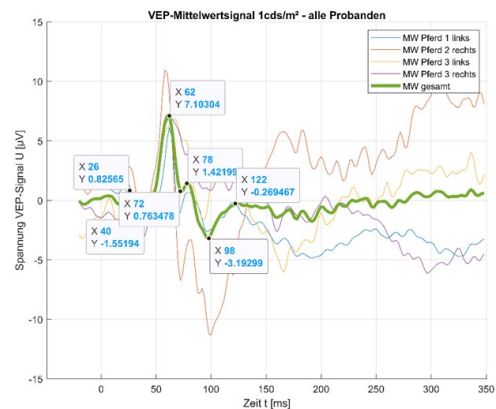


Abb. 8: VEP-Signalverlauf mit Darstellung der Extremwerte (X - Zeit, Y - Spannung, grün - Mittelwert (MW) über alle Probanden).

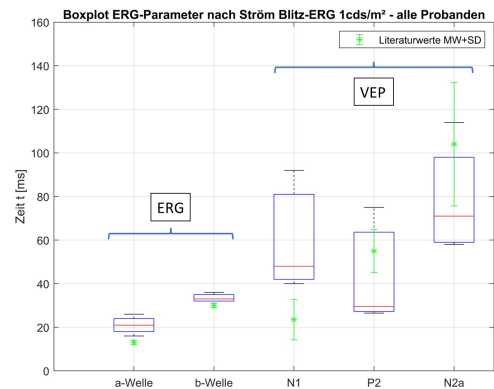


Abb. 9: Ermittelte Gipfelzeiten aus den ERG-Signalen im Vergleich zu Literaturwerten (grün - MW und SD).

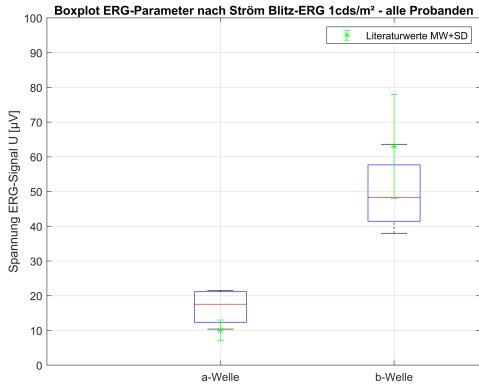


Abb. 10: Ermittelte Spannungsamplituden (a- und b-Welle) aus den ERG-Signalen im Vergleich zu Literaturwerten (grün - MW und SD).

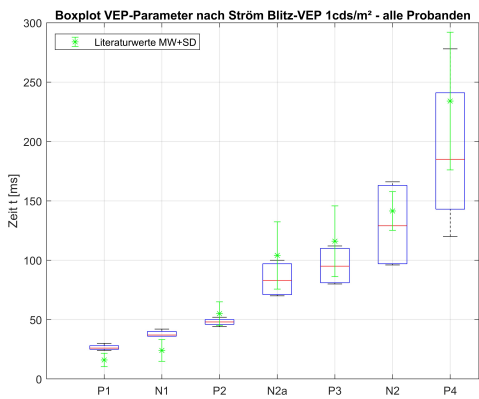


Abb. 11: Ermittelte Gipfelzeiten aus den VEP-Signalen im Vergleich zu Literaturwerten (grün - MW und SD).

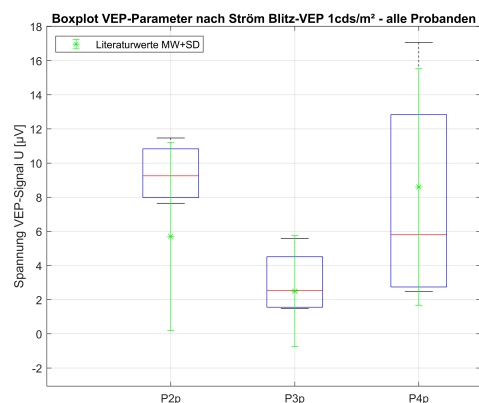


Abb. 12: Ermittelte Spannungsamplituden (P_{2p}, P_{3p} und P_{4p}) aus den VEP-Signalen im Vergleich zu Literaturwerten (grün - MW und SD).

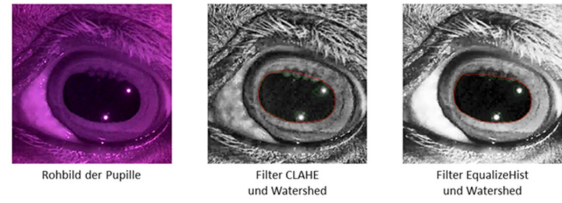


Abb. 13: Analyse der Pupillenfläche mittels verschiedener Filteralgorithmen.

Der ermittelte Kurvenverlauf aus den Pupillographie-Untersuchungen zeigte die typische in der Literatur beschriebene Kurvenform der Pupillenreaktion bei gesunden Probanden (siehe Abbildung 14) [23]. In Tabelle 1 sind die berechneten Parameter zusammenfassend dargestellt. Aufgrund von fehlender Datenlage konnten keine Vergleiche mit Literaturwerten durchgeführt werden.

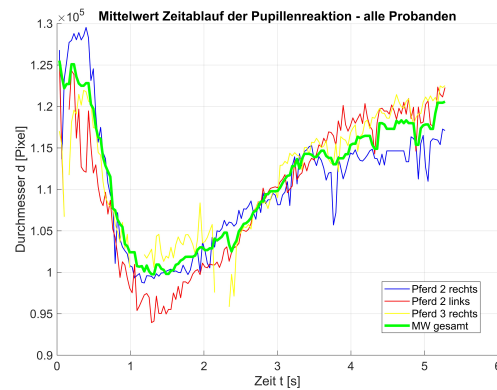


Abb. 14: Gemittelter Zeitverlauf der Pupillenreaktion über alle Probanden.

Tab. 1: Parameter ermittelt aus dem Zeitverlauf der Pupillenreaktion.

Parameter	MW ± SD
Latenzzeit	400 ± 15 ms
Kontraktionszeit	924 ± 15 ms
Reaktionszeit	1,32 ± 0,10 s
Dilatationszeit	3,96 ± 0,10 s
Kontraktionsamplitude	79,5 ± 8,5 %
Kontraktionsgeschwindigkeit	28 ± 3 %/s

Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Beitrag konnte gezeigt werden, dass das entwickelte ophthalmologische Multifunktionsdiagnosegerät für ERG, VEP sowie Pupillographie plausible Ergebnisse liefert, die mit der Literatur vergleichbar sind. Die ermittelten Parameter und Auswertalgorithmen bilden die Grundlage für weitere Untersuchungen, mit dem Ziel, Richtwerte für die objektive Beurteilung der Tiergesundheit zu definieren. Das System soll

zudem durch umfangreiche Studien am Pferd erprobt und iterativ verbessert werden. Ziel ist es, Zusammenhänge zwischen den einzelnen Messergebnissen der jeweiligen ophthalmologischen Diagnoseverfahren zu ermitteln, um Krankheitszustände frühzeitig diagnostizieren zu können. Perspektivisch lässt sich das entwickelte System auch auf andere Großtierarten im Bereich der Luxustiere, Nutztiere und Zootiere adaptieren. Als zusätzliche Untersuchungsmethode soll die Funduskopie in die Gerätekombination integriert werden.

Danksagung

Dieses Projekt wird gefördert durch das Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages (49VF190030).

Literaturnachweis

- [1] W. Brade, O. Distl, H. Sieme, A. Zeyner, Pferdeezucht, -haltung und -fütterung - Empfehlungen für die Praxis, *Landbauforschung - vTI Agriculture and Forestry Research*, Sonderheft 353 / Special Issue 353 (2011);
- [2] N. Schieding, T. Reuter, A. Grundmann, S. Walther, S. Klee, Full-field electroretinography examinations of the human eye with the eye diagnostic device PEP-2000 – First results, *Current Directions in Biomedical Engineering* 8(2), 636-639 (2022); <https://doi.org/10.1515/cdbme-2022-1162>
- [3] N. Schieding, T. Reuter, A. Grundmann, S. Walther, S. Klee, Pupillometry examinations of the human eye with the eye diagnostic device PEP-2000 – First results, *Current Directions in Biomedical Engineering* 8(2), 648-651 (2022); <https://doi.org/10.1515/cdbme-2022-1165>
- [4] T. Reuter, A. Grundmann, S. Walther, D. Barnewitz, Development of a multimodal device combination for advanced ophthalmologic diagnosis in large animals, *Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik* 67(s1), 477 (2022); <https://doi.org/10.1515/bmt-2022-2001>
- [6] J. Eckenweiler, Die Elektroretinographie bei equinen Uveitis- und Glaukompatienten, *Dissertation*, LMU München: Tierärztliche Fakultät (2008); doi:10.5282/edoc.8806
- [7] K. N. Gelatt, B. C. Gilger, T. J. Kern, Basic Vision Sciences, in *Veterinary Ophthalmology*, 5th Ed. (2013); Wiley-Blackwell, ISBN: 978-0-470-96040-0
- [8] J. Murphy, C. Hall, S. Arkins, What Horses and Humans See: A Comparative Review, *International Journal of Zoology*, 2009, Article ID 721798, 14 pages (2009); <https://doi.org/10.1155/2009/721798>
- [9] S. M. Roberts, Equine vision and optics, *The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 8(3) 451-457 (1992); doi:10.1016/s0749-0739(17)30435-2
- [10] R. K. Jones, D. N. Lee, Why two eyes are better than one: the two views of binocular vision, *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance* 7(1) 30-40 (1981); doi:10.1037//0096-1523.7.1.30
- [11] H. Buchner, *Praxisbuch Evozierte Potenziale*, 2. unveränderte Auflage, Thieme Verlag (2021); ISBN: 978-3-13-244364-8
- [12] F. Grehn, *Augenheilkunde*, 30. Auflage, Springer-Verlag (2008); ISBN 978-3-540-75264-6
- [13] A. Augustin, *Augenheilkunde*, 4. komplett überarbeitet und erweiterte Auflage, Kaden Verlag (2019); ISBN 978-3-942825-77-1
- [14] D. L. McCulloch, M. F. Marmor, M. G. Brigell, R. Hamilton, G. E. Holder, R. Tzekov, M. Bach, ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update), *Doc Ophthalmol* 130(1), 1-12 (2015); doi 10.1007/s10633-014-9473-7
- [15] A. L. Bergström, H. Cordes, N. Zsurger, P. M. Heegaard, H. Laursen, J. Chabry, Amidation and structure relaxation abolish the neurotoxicity of the prion peptide PrP106-126 in vivo and in vitro. *J Biol Chem.* 280(24), 23114-23121 2005; doi:10.1074/jbc.M500210200
- [16] L. Ström, B. Ekesten, Visual evoked potentials in the horse. *BMC Vet Res.* 12(1), 120 (2016); doi:10.1186/s12917-016-0743-3
- [17] S. V. Kallähn, Untersuchungen zur chromatischen Pupillometrie am Vogelauge, *Dissertation*, LMU München: Tierärztliche Fakultät (2014); doi:10.5282/edoc.16764
- [18] H. Wilhelm, H. Lüdtkke, B. Wilhelm, Pupillographic sleepiness testing in hypersomniacs and normal, *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 236(10), 725-729 (1998); doi:10.1007/s004170050149
- [19] O. Bergamin, M. B. Zimmerman, R. H. Kardon, Pupil light reflex in normal and diseased eyes: diagnosis of visual dysfunction using waveform partitioning, *Ophthalmology* 110(1), 106-114 (2003); doi:10.1016/s0161-6420(02)01445-8
- [20] S. M. Pizer, R. E. Johnston, J. P. Ericksen, B. C. Yankaskas, K. E. Muller, Contrast-limited adaptive histogram equalization: speed and effectiveness, *Proceedings of the First Conference on Visualization in Biomedical Computing*, Atlanta, GA, USA, 337-345 (1990); doi:10.1109/VBC.1990.109340.
- [21] O. Patel, Y. P. S. Maravi, S. Sharma, A comparative study of histogram equalization based image enhancement techniques for brightness preservation and contrast enhancement, *Signal & Image Processing: An International Journal* 4(5), 11-25 (2013); doi:10.5121/sipij.2013.4502
- [22] L. Ström, J. Bröjer, B. Ekesten, Variability, repeatability and test-retest reliability of equine flash visual evoked potentials (FVEPs). *BMC Vet Res.* 16(1), 261 (2020); doi:10.1186/s12917-020-02463-8
- [23] R.H. Douglas, The pupillary light responses of animals; a review of their distribution, dynamics, mechanisms and functions, *Prog Retin Eye Res.* 66, 17-48 (2018); doi:10.1016/j.preteyeres.2018.04.005