

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY w LUBLINIE

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Dyscyplina naukowa : Weterynaria

lek. wet. Jowita Zwolska

Rozprawa doktorska

Badania nad obrazowaniem naczyńówki u psów przy użyciu optycznej koherentnej tomografii (SD-OCT)

Research on choroidal imaging in dogs using optical coherence tomography (SD-OCT)

Rozprawa doktorska wykonana w Katedrze i Klinice Chirurgii Zwierząt

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Promotor: prof. dr hab. Ireneusz Balicki

Lublin 2024

Dziękuję moim Rodzicom,
którym zawdzięczam moją edukację,
wartości które wyznaję.
Dziękuję za wsparcie i wspólny czas.

Dziękuję mojemu Mężowi
za wsparcie i wyrozumiałość,
za przestrzeń do rozwoju.

Składam serdeczne podziękowania
dla Promotora pracy,
Szanownego prof. dr hab. Ireneusza Balickiego,
za poświęcony czas i energię w naszą pracę,
za chęć ciągłego doskonalenia
oraz za wskazanie mi ścieżki kariery zawodowej.

Oświadczenie promotora pracy doktorskiej

Oświadczam, że niniejsza praca została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

Data 30/09/2024.....

Podpis promotora pracy Stevenon Belicki.....

Oświadczenie autora pracy

Świadom odpowiedzialności prawnej oświadczam, że niniejsza praca doktorska została napisana przez mnie samodzielnie pod kierunkiem Promotora i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami.

Oświadczam również, że przedstawiona praca nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja pracy jest identyczna z załączoną na płycie CD wersją elektroniczną.

Data 30/09/2024.....

Podpis autora pracy Jowita Zwolska.....

SPIS TREŚCI:

1. Streszczenie i słowa kluczowe.....	6
2. Streszczenie i słowa kluczowe (wersja w języku angielskim).....	8
3. Wykaz skrótów.....	10
4. Wykaz prac naukowych wchodzących w skład cyklu.....	11
5. Wstęp.....	13
6. Hipotezy i cele badawcze.....	19
7. Materiały i Metody.....	20
7.1 Zwierzęta.....	20
7.1.1 Grupy badawcze.....	20
7.2 Badanie kliniczne.....	21
7.3 Badanie okulistyczne.....	21
7.4 Badanie elektroretinograficzne (ERG).....	22
7.4.1 Przygotowanie do badania ERG.....	22
7.4.2 Wykonanie badania ERG.....	22
7.5 Badanie metodą optycznej tomografii koherentnej (SD-OCT).....	23
7.5.1 Wykonanie badania SD-OCT.....	23
7.5.2 Analiza skanów i wykonanie pomiarów.....	23
7.6 Analiza statystyczna.....	27
8. Omówienie wyników badań.....	28
8.1 Ocena wpływu wieku i płci na grubość naczyńówki w poszczególnych okolicach dna oka.....	28
8.2 Ustalenie grubości poszczególnych warstw naczyńówki w różnych okolicach dna oka u psów.....	29

8.3 Ocena sprawności wzroku w przypadku zaniku siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki.....	34
8.3.1 Badanie neurookulistyczne i badanie sprawności wzroku.....	34
8.3.2 Badanie elektretinograficzne.....	36
8.3.3 Badanie SD-OCT.....	37
9. Dyskusja.....	40
10. Wnioski.....	48
11. Bibliografia.....	49
12. Korespondencja z czasopismem International Journal of Environmental Research and Public Health (Załącznik 1).....	59
13. Komunikat Ministra Edukacji i Nauki z dnia 21 grudnia 2021 r. o zmianie i sprostowaniu komunikatu w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych (Załącznik 2).....	62
14. Komunikat Ministra Edukacji i Nauki z dnia 17 lipca 2023 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych (Załącznik 3).....	63
15. Oświadczenia współautorów (Załącznik 4).....	64
16. Publikacje wchodzące w skład pracy doktorskiej (Załącznik 5).....	69

1. Streszczenie

Naczyniówka jest strukturą anatomiczną, której główną funkcją jest zapewnienie dystrybucji tlenu i składników odżywczych w siatkówce. W medycynie ludzkiej wykazano korelację pomiędzy wymiarem naczyniówki a ludzkim wiekiem, płcią, wadami refrakcji, długością osiową gałki ocznej, jak i mocą refrakcji rogówki. Choroby zwyrodnieniowe siatkówki psów dzieli się na dziedziczny, postępujący zanik siatkówki (ang. progressive retinal atrophy - PRA) i niedziedziczne, pozapalne zwyrodnienia siatkówki. Do charakterystycznych objawów PRA obserwowanych podczas badania oftalmoskopowego należy nadmierna refleksyjność – obserwowana we wczesnych stadiach choroby, następnie zanik naczyń krwionośnych, nieprawidłowa pigmentacja i zanik siatkówki, a także atrofia krążka nerwu wzrokowego. Spektralna optyczna koherentna tomografia (SD-OCT) to nieinwazyjna, bezkontaktowa metoda zapewniająca przekrojowe obrazy siatkówki i naczyniówki *in vivo* w czasie rzeczywistym. W literaturze naukowej z zakresu medycyny weterynaryjnej brak było doniesień o wpływie parametrów fizjologicznych, jak i chorób narządu wzroku na parametry morfometryczne naczyniówki.

Celem badań była ocena wpływu wieku i płci na grubość naczyniówki w poszczególnych okolicach dna oka, określenie grubości warstw naczyniówki w różnych okolicach dna oka u psów oraz ocena morfologiczna i morfometryczna naczyniówki w poszczególnych okolicach dna oka u psów chorujących na zanik siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki przy użyciu SD-OCT. Do badań zakwalifikowano psy mezocefaliczne, rasy mieszanej, które zostały podzielone z uwzględnieniem poszczególnych celów badawczych. Pierwsza grupa służyła ocenie wpływu wieku i płci na grubość naczyniówki w poszczególnych okolicach dna oka. Grupa obejmowała 41 klinicznie zdrowych psów podzielonych na kolejne dwie podgrupy, 17 psów w wieku średnim (MA), 4–7 lat oraz 24 psy w wieku starszym (SN), 8–13 lat (artykuł 1). W drugiej grupie przy użyciu SD-OCT przeprowadzono badania grubości poszczególnych warstw naczyniówki w różnych okolicach dna oka. Grupa składała się z 45 klinicznie zdrowych psów, które podzielono na dwie podgrupy ze względu na wiek: 21 psów w wieku średnim, 4–7 lat oraz 24 psy w wieku starszym, 8–13 lat (artykuł 2). W trzeciej grupie przeprowadzono badanie morfologiczne i morfometryczne naczyniówki w poszczególnych okolicach dna oka przy użyciu SD-OCT u psów chorujących na zanik siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki. Wykonano także elektroretinografię (ERG). Do badań zakwalifikowano 50 psów

podzielonych na dwie podgrupy: 25 psów ze zdiagnozowanym zanikiem siatkówki - z objawami typowymi dla PRA (grupa RA) w wieku 2-12 lat, oraz 25 zdrowych psów w wieku 2-12 lat jako grupa kontrolna (Kontrola) (artykuł 3).

Badania wykazały, że grubość naczyniówki w obszarze dogrzebietowym była największa zarówno u psów starszych (SN), jak i w średnim wieku (MA). Kolejno naczyniówka osiągała największą grubość w okolicy skroniowej a najmniejszą w okolicy dobrzusznej. Nie zaobserwowano istotnych zmian grubości poszczególnych obszarów naczyniówki w odniesieniu do wieku. Grubość naczyniówki była istotnie większa u samców niż u samic w okolicy dobrzusznej. W okolicy nosowej była ona istotnie mniejsza u samców niż u samic (artykuł 1). U wszystkich badanych psów kompleks nabłonka barwnikowego siatkówki – błony Brucha – choriocapillaris i błony odblaskowej (RPE-BmCc) w regionie dogrzebietowym i warstwa naczyń naczyniówki o średniej średnicy (MSVL) w regionie nosowym z błoną odblaskową były istotnie najgrubsze w porównaniu z pozostałymi regionami. Ponadto warstwa RPE-BmCc była znacznie grubsza w obszarze skroniowym z błoną odblaskową niż w obszarze dobrzuszny. Co więcej, warstwa MSVL była cieńsza w regionie dobrzuszny niż w obszarze dogrzebietowym, skroniowym z i bez błony odblaskowej, a także nosowym z błoną odblaskową. Warstwa MSVL była istotnie cieńsza w regionie nosowym bez błony niż w obszarze dogrzebietowym. Grubości warstwy naczyń naczyniówki o większej średnicy (LVLS) i całkowita grubość naczyniówki (WCT) były istotnie większe w regionach dogrzebietowym i skroniowym z błoną odblaskową niż w pozostałych regionach i mniejsze w regionie dobrzuszny niż w pozostałych regionach (artykuł 2). U psów rasy mieszanej chorujących na zanik siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki dochodzi do zmniejszenia grubości warstwy naczyń większej średnicy i całkowitej grubości naczyniówki w regionach błony ciemnej dna oka, a także warstwy naczyń o średniej średnicy we wszystkich obszarach dna oka, co może łączyć się z zaburzeniami ukrwienia warstw zewnętrznych siatkówki (artykuł 3).

Słowa kluczowe: naczyniówka, okulistyka psów, optyczna tomografia koherentna, zanik siatkówki

2. Summary

The choroid is an anatomical structure with the primary function of supplying oxygen and nutrients to the retina. In human medicine, a correlation has been observed between the choroid dimensions and patient characteristics such as age, sex, refractive error, axial length of the eye, and corneal refractive power. Canine retinal degenerative diseases are differentiated between the hereditary, progressive retinal atrophy (PRA) and the non-hereditary, postinflammatory retinal degenerations. The telltale symptoms of PRA observed during ophthalmoscopic examinations of the fundus include hyperreflectivity – observed in the early stages of the disease – followed by initially localized, and later general, reduction in thickness and atrophy of blood vessels, abnormal retinal pigmentation, and atrophy of the optic disc. Spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) is a non-invasive, non-contact method that provides real-time *in vivo* imagery of the retina and the choroid. In the scientific literature in the field of veterinary medicine, there were no reports on the influence of physiological parameters or eye diseases on the morphometric parameters of the choroid.

The aim of the study was to assess the influence of age and gender on the thickness of the canine choroid, to determine the thickness of the choroidal layers in different regions of the fundus in dogs, and to assess the morphology and morphometry of the choroid in individual regions of the fundus in dogs suffering from retinal atrophy in the type of progressive retinal atrophy using SD-OCT. Mesocephalic, mixed breed dogs were qualified for the study and divided according to individual research objectives. The first group was used to assess the influence of age and gender on the thickness of the choroid in individual regions of the fundus. The group included 41 clinically healthy dogs divided into two subgroups: 17 middle-aged dogs (MA), 4–7 years old, and 24 senior dogs (SN), 8–13 years old (article 1). In the second group, SD-OCT was used to examine the thickness of individual choroid layers in different regions of the fundus. The group consisted of 45 clinically healthy dogs, divided into two subgroups based on age: 21 middle-aged dogs, 4–7 years old, and 24 senior dogs, 8–13 years old (article 2). In the third group, morphological and morphometric examination of the choroid in individual regions of the fundus was performed using SD-OCT in dogs suffering from retinal atrophy in the progressive retinal atrophy type. Electroretinography (ERG) was also performed. 50 dogs were qualified for the study, divided into two subgroups: 25 dogs diagnosed with retinal atrophy - with symptoms

typical of PRA (RA group) aged 2–12 years, and 25 healthy dogs aged 2–12 years as a control group (Control) (article 3).

Studies have shown that the thickness of the choroid in the dorsal region was the greatest in both older (SN) and middle-aged (MA) dogs. The choroid was subsequently the thickest in the temporal region and the thinnest in the ventral region. No significant changes in the thickness of individual choroid regions were observed in relation to age. The thickness of the choroid was significantly greater in males than in females in the ventral region. In the nasal region, it was significantly lower in males than in females (article 1). In all dogs studied, the retinal pigment epithelium–Bruch’s membrane–choriocapillaris complex (RPE-BmCc) in the dorsal region and the medium-sized vessel layer (MSVL) in the nasal tapetal region were significantly thicker than in the other regions. Furthermore, the RPE-BmCc layer was significantly thicker in the temporal tapetal region than in the ventral region. Moreover, the MSVL layer was thinner in the ventral region than in the dorsal, temporal tapetal and nontapetal, and nasal tapetal regions. The MSVL layer was significantly thinner in the nasal nontapetal than in the dorsal region. The thicknesses of the large vessel layer with lamina suprachoroidea (LVLS) and whole choroidal thickness (WCT) were significantly greater in the dorsal and temporal tapetal than in the other regions and smaller in the ventral region than in the other regions (article 2). In mixed-breed dogs diagnosed with retinal atrophy with symptoms of progressive retinal atrophy, there was a decrease in the large vessel layer with lamina suprachoroidea and whole choroidal thickness in the nontapetal fundus, as well as in the medium-sized vessel layer in all fundus regions, which may be associated with impaired blood supply to the outer retinal layers (article 3).

Keywords: choroid, canine ophthalmology, optical coherence tomography, retinal atrophy

3. Wykaz skrótów

Błona ciemna – pojęcie kliniczne nieujęte w terminologii anatomicznej określające obszar dna oka w którym nie występuje błona odblaskowa

Błona jasna –pojęcie kliniczne nieujęte w terminologii anatomicznej określające obszar dna oka w którym występuje błona odblaskowa

D (ang. dorsal) – region dogbrzietowy dna oka

LVLS (ang. large vessel layer with lamina suprachoroidea) - warstwa naczyń naczyniówki o większej średnicy wraz z blaszką nadnaczyniówkową

MA (ang. middle-aged) - grupa psów rasy mieszanej w średnim wieku

MSVL (ang. medium-sized vessel layer) – warstwa naczyń naczyniówki o średniej średnicy

NasNT (ang. nasal nontapetal) - region nosowy bez błony odblaskowej dna oka

NasT (ang. nasal tapetal) - region nosowy z błoną odblaskową dna oka

PRA (ang. progressive retinal atrophy) - postępujący zanik siatkówki

RA (ang. retinal atrophy) – zanik siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki

RP (ang. retinitis pigmentosa) – pigmentowe zapalenie siatkówki

RPE (ang. retinal pigment epithelium) - nabłonek barwnikowy siatkówki

RPE-BmCC (ang. retinal pigment epithelium- Bruch's membrane - choriocapillaris) – kompleks nabłonka barwnikowego siatkówki – błony Brucha – choriocapillaris i błony odblaskowej

SD-OCT (ang. spectral domain optical coherence tomography) – spektralna optyczna tomografia koherentna

SN (ang. senior) – grupa psów rasy mieszanej w starszym wieku

TempNT (ang. temporal nontapetal) - region skroniowy bez błony odblaskowej dna oka

TempT (ang. temporal tapetal) - region skroniowy z błoną odblaskową dna oka

V (ang. ventral) - region dobrzuszny dna oka

WCT (ang. whole choroidal thickness) – całkowita grubość naczyniówki

VEGF (ang. vascular endothelial growth factor) - czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego

4. WYKAZ PRAC NAUKOWYCH WCHODZĄCYCH W SKŁAD CYKLU

(1) **Jowita Zwolska**, Mateusz Szadkowski, Agnieszka Balicka, Ireneusz Balicki; Morphometrical analysis of the canine choroid in relation to age and sex using spectral domain optical coherence tomography; 2021; Acta Veterinaria Hungarica; 2021 T.69, Nr 3, s. 266 -273, DOI: 10.1556/004.2021.00040;

Liczba punktów MEiN: 70, IF: 0,959

Wkład polegał na: inicjatywa badań, twórca hipotezy badawczej, opracowanie metodyki; realizacja badań (założenie badań, wykonanie poszczególnych etapów badań); analiza i opracowanie wyników, sformułowanie wniosków; napisanie pierwszej wersji manuskryptu; redakcja publikacji. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

(2) **Jowita Zwolska**, Ireneusz Balicki, Agnieszka Balicka; Morphological and Morphometric Analysis of Canine Choroidal Layers Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography; 2023; International Journal of Environmental Research and Public Health; 2023 T.20, Nr 4, s. 3121, DOI: 10.3390/ijerph20043121;

Liczba punktów MEiN: 140(załącznik: od 21.12.2021 do 17.07.2023), IF: 0 (załączniki 1, 2, 3)

Wkład polegał na: inicjatywa badań, twórca hipotezy badawczej, opracowanie metodyki; realizacja badań (założenie badań, wykonanie poszczególnych etapów badań); analiza i opracowanie wyników, sformułowanie wniosków; napisanie pierwszej wersji manuskryptu; redakcja publikacji. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

(3) **Jowita Zwolska**, Agnieszka Balicka, Barbara Kuduk, Ireneusz Balicki; Morphological and morphometric assessment of the choroid in dogs diagnosed with retinal atrophy (RA) with symptoms of progressive retinal atrophy, using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT); 2024; Polish Journal of Veterinary Sciences; 2024 T. Nr, s., DOI: 10.24425/pjvs.2024.149356;

Liczba punktów MEiN: 100, IF: 0,8

Wkład polegał na: inicjatywa badań, twórca hipotezy badawczej, opracowanie metodyki; realizacja badań (założenie badań, wykonanie poszczególnych etapów badań); analiza i

opracowanie wyników, sformułowanie wniosków; napisanie pierwszej wersji manuskryptu; redakcja publikacji. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

Summaryczna liczba punktów według komunikatu MEiN obowiązującego w roku wydania pracy: 310 punktów

IF (zgodnie z rokiem opublikowania): 1,759

5. Wstęp

Naczyniówka jest strukturą anatomiczną, której główną funkcją jest zapewnienie dystrybucji tlenu i składników odżywczych w siatkówce (Samuelson, 2013, McLellan i Narfstrom, 2014). Swoim zasięgiem obejmuje prawie całą tylną półkulę gałki ocznej. Znajduje się pomiędzy twardówką a nabłonkiem barwnikowym siatkówki (RPE). Do elementów ją budujących należą naczynia krwionośne, nerwy oraz liczne komórki barwnikowe (Dubielzig i in., 2010).

Granicząca z RPE błona Brucha przylega do leżącej zewnętrznie od niej blaszki naczyń włosowatych, czyli choriokapilar. U większości zwierząt domowych, zewnętrznie w stosunku do choriokapilar znajduje się błona odbłaskowa. W przypadku zwierząt mięsożernych, składają się na nią wieloboczne komórki zawierające refleksyjny materiał, odpowiadające za odbijanie światła (Ollivier i in., 2004). Następną warstwą jest blaszka naczyniowa, tj. warstwa naczyń krwionośnych o średniej średnicy, odpowiadająca warstwie Sattlera i warstwa naczyń o większej średnicy, odpowiadająca warstwie Hallera u człowieka. Elementem oddzielającym naczyniówkę od twardówki jest natomiast blaszka nadnaczyniówkowa (Esmaelpour i in., 2014). Naczyniówka zaopatruje przylegające do niej warstwy zewnętrzne siatkówki - fotoreceptory, w których brak jest naczyń krwionośnych (Dubielzig i in., 2010). W pozostałych warstwach siatkówki prawidłową perfuzję krwi gwarantują naczynia wewnętrzne zwane tętnicami siatkówkowymi, biorąc swój początek od tętnic rzęskowych tylnych krótkich (Fick i in., 2015). Naczynia te widoczne są zwykle na powierzchni dna oka w trakcie wykonywania badania oftalmoskopowego (Ofri, 2018). Oprócz funkcji odżywczej, rolą naczyniówki jest również zapewnienia odpowiedniej termoregulacji, co konieczne jest do zachowania prawidłowego funkcjonowania siatkówki - jednej z najaktywniejszych metabolicznie tkanek organizmu.

W medycynie ludzkiej wykazano korelację pomiędzy wymiarem naczyniówki a wiekiem, płcią, długością osiową gałki ocznej, mocą refrakcji rogówki, jak również pochodzeniem etnicznym (Kim i in., 2011, Li i in., 2014, Shao i in., 2015, Zhu i in., 2017). Przeprowadzone badania wykazały, że większa grubość naczyniówki związana była z większą nadwzrocznością, młodszym wiekiem, płcią męską jak również zwiększoną mocą refrakcji rogówki (Ruiz-Moreno i in., 2013, Zhu i in., 2017). Odnosząc się do parametrów fizjologicznych, zaobserwowano również różnicę stosunku poszczególnych warstw naczyniówki a wiekiem pacjenta. Badania przeprowadzone przez Xu i in. wykazały, że

stosunek grubości warstwy Sattlera do warstwy Hallera był większy u ludzi w starszym wieku, co sugeruje związane z wiekiem ścięczenie warstwy Hallera. W badaniu wykazano, że stosunek grubości warstwy Sattlera do Hallera jest istotnie najwyższy w okolicy skroniowej, a najniższy w okolicy dogrzbietowo-nosowej i nosowej (Xu i in., 2017).

Nieobojętny dla badań nad grubością naczyńki jest stan ogólny pacjenta. Istotne znaczenie miały choroby skutkujące spadkiem poziomu białek osocza, tym samym spadkiem ciśnienia onkotycznego. Świadczą o tym badania przeprowadzone na pacjentach pediatrycznych ze zdiagnozowanym zespołem nerczycowym, u których grubość naczyńki była większa w stosunku do grupy kontrolnej (Zhang i in., 2019). Spadek ciśnienia onkotycznego ma ścisły związek nie tylko z retencją wody w siatkówce oraz w naczyńce, skutkującą wzrostem jej grubości, ale również z poważniejszymi zjawiskami, takimi jak obustronne odwarstwienie siatkówki, czy obrzęk plamki (De Benedetto i in., 2012). Siatkówka jest fizjologicznie chroniona przed nadmierną akumulacją w niej zbędnych substancji dzięki zabezpieczającą przed tym zjawiskiem barierą anatomiczną. Pierwszą z nich tworzy nabłonek barwnikowy, który oddziela naczyńkę od zewnętrznych warstw siatkówki. Drugą barierę stanowią komórki nabłonka naczyń wewnętrznych siatkówki wraz z przylegającymi do nich błonami podstawnymi. Różnica ciśnienia osmotycznego pomiędzy siatkówką a naczyńką przyczynia się do odpływu płynu z siatkówki. Gwarantuje również wzajemne przyleganie RPE do zewnętrznych warstw siatkówki. W momencie spadku różnicy powyższych ciśnień dochodzi do braku odpływu wody oraz do jej akumulacji zarówno w siatkówce, jak i w przestrzeni podsiatkówkowej (Dubielzig i in., 2010).

Wykazano zmiany grubości naczyńki u ludzi w ciągu doby. Najmniejszym zmianom grubości naczyńki ulegała w godzinach pomiędzy 9:00 rano a 13:00 popołudniu, a wahania w tym okresie mieściły się w granicy 3 mikrometrów. Natomiast średnia rozbieżność pomiarów grubości naczyńki u tych samych osób o różnych godzinach oscylowała pomiędzy 0,016 a 0,029 mm (Chakraborty i in., 2011). Badania przeprowadzone na kurach oraz na ludziach wykazały, że grubość naczyńki zwiększa się w ciągu nocy i zmniejsza w trakcie dnia, kiedy to długość osiowa gałki ocznej jest największa (Nickla i in., 1998). Zauważono stałą korelację pomiędzy wartościami długości osiowej gałki ocznej a grubością naczyńki, które zmieniały się w sposób przeciwny. Wzrost jednej wielkości powiązany był z równoczesnym spadkiem drugiej. Biorąc pod

uwagę dotychczasowe badania, które określiły długość osiową gałki ocznej jako odległość pomiędzy przednią powierzchnią rogówki a nabłonkiem barwnikowym siatkówki, oraz fakt przylegania naczyńki do siatkówki, przypuszcza się, że rozszerzenie i kurczenie się naczyńki może prowadzić do zmian położenia RPE i bezpośrednio przyczynia się do dobowych zmian długości osiowej gałki ocznej (Chakraborty i in., 2011). Dowodem na wpływ powyższych zależności na dostosowywanie osi długiej gałki ocznej celem optymalizacji funkcjonowania układu optycznego są badania przeprowadzone na kurczętach. Świadczą one o istotnym znaczeniu naczyńki oraz zmian jej grubości w procesie rozwoju narządu wzroku, który nabywa umiejętności widzenia normowzrocznego pod wpływem doświadczeń wizualnych (Nickla i in., 1998). W badaniach tych oceniano ciśnienie wewnątrzgałkowe w cyklu dobowym u 2-3 tygodniowych kurcząt utrzymywanych w naturalnych warunkach dnia i nocy oraz w warunkach ciągłej ciemności. Wykazano, że oczy kurcząt wykazują dobowy rytm zmiany ciśnienia wewnątrzgałkowego, który utrzymuje się w ciągłej ciemności, chociaż ze zmniejszoną amplitudą. Naczyniówka wykazuje rytmiczne zmiany grubości wywołanej działaniem ciśnienia wewnątrzgałkowego, a im grubsza naczyniówka, tym więcej proteoglikanów twardówki syntetyzuje, wpływając w ten sposób na wydłużenie gałki ocznej (Wallman i in., 1995).

Optyczna koherentna tomografia (OCT) to nieinwazyjna, bezkontaktowa metoda zapewniająca przekrojowe obrazy siatkówki i naczyńki *in vivo* w czasie rzeczywistym (Murthy i in., 2016). Jest to również obiektywna metoda pomiaru i analizy każdej warstwy siatkówki (Gabriele i in., 2011, Whitmore i in. 2015, Singh i in., 2021, Hassanpoor i in., 2021, Birtel i in., 2021). Budowa naczyńki jest przedmiotem zainteresowania wielu naukowców. Do czasu wynalezienia OCT badania naczyńki ograniczały się do badań histologicznych. Najnowsze technologie pozwoliły na nieinwazyjne obrazowanie oraz jakościową i ilościową ocenę *in vivo* ludzkiej naczyńki (Sohrab i in. 2012). W niektórych badaniach wykorzystywano metody automatycznego pomiaru poszczególnych warstw naczyńki (Chen i in., 2017, Masood i in. , 2019, Eghtedar i in., 2022). W kilku badaniach udokumentowano zastosowanie OCT do pomiaru naczyńki kawii domowych (Chen i in., 2020, Jnawali i in., 2018, Li i in., 2016, Yu i in. 2021, Zhang i in., 2019). Li i in. (2016) zastosowali OCT do oceny grubości siatkówki i naczyńki u kawii domowych w celu

porównania z przekrojami histologicznymi. Autorzy odnotowali znaczną zgodność pomiędzy pomiarami *in vivo* i pomiarami histologicznymi.

Postępujący zanik siatkówki (ang. progressive retinal atrophy - PRA) jest zespołem niejednorodnych genotypowo chorób dziedzicznych opisanym u ponad stu ras psów. Objawy zaniku siatkówki identyczne jak w przypadkach PRA stwierdzono także u mieszańców (Balicki i in. 2024). Związek choroby z mutacją w poszczególnych genach jest odmienny i zależy od rasy. Każda z odmian PRA zdarza się u jednej lub kilku ras. Wyjątkiem jest diagnozowana u ponad 20 ras psów PRA- PRCD (Progressive Rod-Cone Degeneration) (André i in., 2008). Do objawów PRA obserwowanych podczas badania oftalmoskopowego dna oka zaliczają się hiperrefleksyjność - widoczna na wczesnym etapie choroby, po której następuje ścięczenie i zanik naczyń krwionośnych, nieprawidłowa pigmentacja siatkówki i zanik krążka nerwu wzrokowego. Zmiany te dotyczą obydwu gałek ocznych i są symetryczne. Zespół chorób zaliczany do postępującego zaniku siatkówki, łączy ten sam obraz kliniczny, jednak wyraża swoją odmienność pod względem etiologii, czasu wystąpienia pierwszych objawów chorobowych oraz tempa postępu zaniku (André i in. 2008, Downs i in., 2014). Powszechnie przyjmuje się, że PRA zaczyna się obwodowo i postępuje w kierunku środka dna oka. Jak jednak wynika z najnowszych badań, zanik siatkówki u psów chorych na PRA rozpoczyna się w okolicy dobrzusznej dna oka, gdzie znajduje się błona ciemna, i rozprzestrzenia się powyżej nerwu wzrokowego w okolicę błony jasnej (Balicki i in. 2024).

Zmiany w obrębie siatkówki charakteryzujące się asymetrycznym, niekiedy niepostępującym, lokalnym lub rozległym charakterem, mogą wiązać się ze stanem zapalnym, infekcją lub intoksykacją (Barnett i in. 1983, Maggs i in. 2017). W pozapalnym zwyrodnieniu siatkówki obszary retinopatii mogą być ograniczone do jednego oka lub mogą dotyczyć obu oczu, ale nie w tym samym stopniu. Do znanych przyczyn pozapalnego zwyrodnienia siatkówki należą choroby zakaźne, takie jak nosówka psów, toksoplazmoza, kryptokokoza, blastomykoza, leiszmanioza, histoplazmoza. Zwyrodnienie siatkówki może również wystąpić w chorobach ogólnoustrojowych, takich jak cukrzyca i zapalenie nerek. Może mieć także związek z takimi chorobami, jak zwichnięcie soczewki czy nowotwory wewnątrzgałkowe (Barnett i in., 1983, Maggs i in. 2017).

Diagnostowane wśród ludzi pigmentowe zapalenie siatkówki (RP), ze względu na zbieżność fenotypową, jest uznawane za odpowiednik PRA u psów. Nazwa choroby wprowadza w błąd ze względu na brak zapalnego charakteru tej choroby. Natomiast nazwanie jej „pigmentowym” występuje w odniesieniu do gromadzenia się melaniny w siatkówce gałki ocznej. Grupę chorób - zaliczanych do ogólnego terminu, jakim jest pigmentowe zapalenie siatkówki - charakteryzuje dziedziczny i progresywny charakter zmian, ograniczenie pola widzenia, obniżenie funkcji wzroku przy słabym świetle oraz zredukowana odpowiedź fotoreceptorów podczas badania za pomocą elektretinografii (Poornachandra i in. 2019). Ślepotą zmierzchowa związana jest z utratą pręcików we wstępnej fazie choroby, która w późniejszym etapie kończy się zanikiem całej warstwy fotoreceptorów rozpoczynającym się od obszarów peryferyjnych siatkówki, a kończącym na utracie receptorów plamki żółtej (Liu i in. 2016, Milam i in. 1998). Najwcześniej widoczną zmianą wychwytywalną podczas przeprowadzania badania histopatologicznego jest skrócenie zewnętrznej warstwy fotoreceptorów (Deretic i Papermaster, 1995). Natomiast obrazowanie z zastosowaniem autofluorescencji dna oka wskazuje - na tym samym etapie - również zaburzenia dotyczące lipofuscyny nabłonka barwnikowego siatkówki. Badania wykonane z wykorzystaniem metod immunofluorescencji wskazują natomiast na nieprawidłowości siatkówki poprzedzające jej zmiany morfologiczne. Immunoreaktywność pewnych białek cytoplazmatycznych zostaje utracona jeszcze przed pojawieniem się zmian na poziomie komórkowym w odniesieniu do degeneracji populacji pręcików (Milam i in. 1998). Analizy skanów uzyskanych przy pomocy optycznej tomografii koherentnej wskazują na liniową redukcję pola widzenia występującą wraz z obniżaniem grubości zewnętrznej warstwy fotoreceptorów. Natomiast spadek długości strefy elipsoidalnej fotoreceptorów (EZ) łączy się z obniżoną wrażliwością pola widzenia (Liu i in. 2016). Następstwem degeneracji fotoreceptorów jest odłączenie RPE od błony Brucha i migracja jego komórek do siatkówki wewnętrznej. Na zaawansowanym etapie choroby obserwuje się zmianę morfologii krążka nerwu wzrokowego, ścieńczenie naczyń krwionośnych siatkówki oraz dysfunkcję siatkówki wewnętrznej (Milam i in., 1998). W następstwie apoptozy fotoreceptorów dochodzi do migracji komórek RPE do siatkówki wewnętrznej i hipertrofii komórek Müllera na zewnątrz, do obszaru błony Brucha. (Blair i in., 1991, Schuschereba i Silverman, 1992, Gouras i in., 1994). W przebiegu barwnikowego zapalenia siatkówki w przypadkach zaawansowanych obserwowane są ogniska hiperrefleksji – będące wyrazem kumulacji makrofagów, migrujących komórek nabłonka

barwnikowego oraz wynaczynionych lipoprotein - na obszarze warstwy jądrowej wewnętrznej, warstwy jądrowej zewnętrznej oraz przestrzeni podsiatkówkowej. Kolejnym ważnym elementem ulegającym degeneracji na przebiegu pigmentowego zapalenia siatkówki jest naczyńówka (Adhi i in., 2013, Finzi i in., 2014; Poornachandrai in., 2019; Korte i in., 1984). Cechami charakterystycznymi jest zanik choriokapilar, zmiany morfologiczne naczyń krwionośnych, nieregularna budowa warstw naczyńówki, brak regularnych granic pomiędzy naczyńówką a twardówką, zmiana grubości naczyńówki w poszczególnych kwadrantach. W przypadku pacjentów ze zdiagnozowanym RP, naczyńówka wykazywała największą grubość w kwadrantach skroniowych, a najmniejszą w kwadrantach nosowych (Shintani et al. 2009; Oh et al. 2020).

Siatkówka psa posiada wiele cech odróżniających ją od ludzkiej, co należy mieć na uwadze w trakcie analizy patogenezы poszczególnych chorób, w tym postępującego zaniku siatkówki. Najwyraźniej dostrzegalną różnicą morfologiczną na przebiegu siatkówki jest występowanie błony odblaskowej w kwadrantach górnych. Całą błonę odblaskową przenikają gałęzie fenestrowanych naczyń włosowatych. Spełniają one funkcję łącznika pomiędzy blaszką naczyń włosowatych - choriokapilar, a warstwą naczyń krwionośnych o średniej średnicy. Warstwa choriokapilar tworzy rozległą anastomozującą sieć naczyń krwionośnych, położonych w sąsiedztwie nabłonka barwnikowego siatkówki. Odmienny jest przebieg tych naczyń w pobliżu RPE w przypadku regionów naczyńówki zawierających błonę odblaskową oraz obszarów jej niezawierających. W przypadku okolic, w których znajduje się błona odblaskowa, choriokapilary mają łączność z nabłonkiem barwnikowym siatkówki. Nie występuje to na obszarach pozbawionych błony odblaskowej (Lesiuk i in., 1983). W tych samych badaniach Lesiuk i wsp. (1983) wykazali również odmienną grubość błony Brucha w poszczególnych rejonach naczyńówki. Nad obszarami zawierającymi błonę odblaskową, błona Brucha była osłabiona i cieńsza w stosunku do swojej grubości nad obszarami naczyńówki jej niezawierającymi. Położony w sąsiedztwie błony odblaskowej nabłonek barwnikowy siatkówki pozbawiony był melanosomów, podczas gdy na obszarach obwodowych był pigmentowany.

6. Hipotezy i cele badawcze

Na podstawie analizy danych literaturowych oraz badań wstępnych postawiono następujące hipotezy badawcze:

1. Grubość naczyniówki i jej poszczególnych warstw u psów może zmieniać się wraz z wiekiem oraz ze względu na płeć;
2. Grubość naczyniówki i jej poszczególnych warstw u psów są zależne od okolicy dna oka;
3. U psów chorujących na zanik siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki może dochodzić do zmian morfologicznych i morfometrycznych naczyniówki.

Aby zweryfikować hipotezy sformułowano następujące cele:

1. Ocena wpływu wieku i płci na grubość naczyniówki w poszczególnych okolicach dna oka. (Artykuł nr 1)
2. Określenie grubości poszczególnych warstw naczyniówki w różnych okolicach dna oka u psów. (Artykuł nr 2)
3. Ocena morfologiczna i morfometryczna naczyniówki w poszczególnych okolicach dna oka u psów chorujących na zanik siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki. (Artykuł nr 3)

7. Materiały i Metody

7.1. Zwierzęta

Wszystkie psy były pacjentami Katedry i Kliniki Chirurgii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Właściciele zostali poinformowani o szczegółach przeprowadzonych badań klinicznych i wyrazili zgodę. Badanie zostało wykonane zgodnie z prawem polskim oraz Dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych, Rozdział I, art. 1, pkt 5 (b). Badanie uzyskało także akceptację Komitetu Badań Naukowych Katedry i Kliniki Chirurgii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (nr 3/2018 oraz nr 6/2018) w odniesieniu do pacjentów klinicznych nieeksperymentalnych.

7.1.1 Grupy badawcze

Do badań zakwalifikowano psy mezocefaliczne, rasy mieszanej, które zostały podzielone z uwzględnieniem poszczególnych celów badawczych.

Pierwsza grupa służyła ocenie wpływu wieku i płci na grubość naczyniówki w poszczególnych okolicach dna oka. Grubość naczyniówki badano przy użyciu spektralnej koherentnej tomografii optycznej (SD-OCT). Grupa obejmowała 41 klinicznie zdrowych psów podzielonych na kolejne dwie podgrupy. Klasyfikacji dokonano na podstawie tabeli wieku psa z uwzględnieniem zależności wieku od masy ciała (Fortney, 2012). 17 psów w grupie MA (ang. middle aged) – w wieku średnim (6 samców i 11 samic) 4–7 lat oraz 24 psy w grupie SN (ang. senior) – w wieku starszym (12 samców i 12 samic) 8–13 lat.

W drugiej grupie przy użyciu SD-OCT przeprowadzono badania grubości poszczególnych warstw naczyniówki w różnych okolicach dna oka. Grupa składała się z 45 klinicznie zdrowych psów, które podzielono na dwie podgrupy ze względu na wiek: 21 psów w wieku średnim – grupa MA (9 samców i 12 samic) w wieku 4–7 lat oraz 24 psy w wieku starszym - grupa SN (12 samców i 12 samic) w wieku 8–13 lat.

W trzeciej grupie przeprowadzono badanie morfologiczne i morfometryczne naczyniówki w poszczególnych okolicach dna oka przy użyciu SD-OCT u psów chorujących na zanik siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki. Wykonano także elektretinografię (ERG). Do badań zakwalifikowano 50 psów podzielonych na dwie podgrupy: 25 psów ze zdiagnozowanym zanikiem siatkówki - z objawami typowymi dla PRA (grupa RA)

w wieku 2-12 lat, 18 samców i 7suk oraz 25 zdrowych psów w wieku 2-12 lat, 15 samców i 10 samic, jako grupa kontrolna (Kontrola).

7.2 Badanie kliniczne

Wszystkie psy zostały sklasyfikowane jako zdrowe na podstawie badania klinicznego, szczegółowego badania okulistycznego i badania krwi. Badania krwi obejmowały morfologię krwi oraz badanie biochemiczne z oznaczeniem poziomu glukozy, mocznika, bilirubiny całkowitej, kreatyniny, transaminazy asparaginianowej, transaminazy alaninowej, fosfatazy alkalicznej i amylazy. Psy były odrobaczane minimum dwa razy w roku.

7.3 Badanie okulistyczne

Badanie przedniego odcinka narządu wzroku przeprowadzono przy użyciu lampy szczelinowej (Shin-Nippon, Japonia). Badania dna oka wykonano za pomocą oftalmoskopu pośredniego obuocznego (Keeler, Wielka Brytania), oftalmoskopu bezpośredniego (Welch Allyn, USA) i oftalmoskopu panoptycznego (Welch Allyn, USA). Zdjęcia dna oka wykonano przy użyciu kamery Handy NM 200D Fundus Camera (Nidek, Japonia) podłączonej do komputera z zainstalowanym oprogramowaniem IrfanView (Wiener Neustadt, Austria). U wszystkich psów wykonano badanie neurookulistyczne oceniając odruchy źreniczny, chromatyczny odruch źreniczny, odruch oślepienia. Przeprowadzono badanie sprawności wzroku za pomocą oceny odruchu na zagrożenie, odruchu śledzenia wzrokiem poruszających się przedmiotów, reakcję umieszczania oraz test labiryntowy w warunkach skotopowych i fotopowych. Pomiary ciśnienia wewnątrzgałkowego (IOP) wykonano przy użyciu tonometru TonoVet (iCare, Finlandia). IOP u wszystkich badanych zwierząt wynosiło od 15 do 20 mmHg. U wszystkich pacjentów wykonano obustronnie test łzowy Schirmera (Eickemeyer, Niemcy). U żadnego psa z grupy pierwszej i drugiej oraz z grupy kontrolnej grupy trzeciej nie stwierdzono żadnych chorób okulistycznych oraz zaburzeń sprawności wzroku.

7.4 Badanie elektretinograficzne (ERG)

7.4.1 Przygotowanie do badania ERG

Wszystkie psy z zanikiem siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki (grupa RA) z trzeciej grupy badawczej zostały poddane badaniu ERG aparatem RETIportERG (Acrivet; Hennigsdorf, Niemcy). Przed badaniem ERG u zwierząt przeprowadzono co najmniej 12 godzinną głodówkę. Przez co najmniej 2 godziny przed zabiegiem unikano jasnego światła. Maksymalne rozszerzenie źrenic uzyskano stosując krople do oczu zawierające 1% tropikamid (Tropicamidum 1%, WZF Polfa S.A., Polska). Do premedykacji użyto medetomidyny podanej domięśniowo w dawce 0,03 mg/kg (Cepetor 1 mg/ml, CP Pharma, Niemcy). Wykonywano znieczulenie dysocjacyjne przy użyciu ketaminy (Vetaketam 100 mg/ml, Vet-Agro Sp. z o.o., Polska) podawanej domięśniowo w dawce 5 mg/kg. W przypadkach wymagających przedłużenia znieczulenia kontynuowano podając dożylnie ketaminę według efektów działania. Po intubacji psy ułożono w pozycji mostkowej. Częstość akcji serca, zapis elektrokardiograficzny i pomiar saturacji krwi mierzono za pomocą wieloparametrowego monitora pacjenta (iMec 12, Mindray).

7.4.2. Wykonanie badania ERG

W przypadku zwierząt zastosowano protokół dotyczący psów, zatwierdzony przez European College of Veterinary Ophthalmologists - ECVO (Ekesten i in. 2013). Do rejestracji zapisu ERG zastosowano podskórne elektrody igłowe (BIONEN S.a.s., Włochy). Elektrode odniesienia umieszczono w odległości około 2 cm ogonowo od bocznego kąta powiek, elektrodę uziemienia umieszczono nad zewnętrznym guzem potylicznym. Rogówkę znieczulono miejscowo z wykorzystaniem 0,5% chlorowodoru proksymetakainy (Alcaine®, Alcon Inc, USA.). Kroplę 2,5% roztworu hypromelozy (GONIOVISC, HUB Pharmaceuticals, LLC, Rancho Cucamonga, CA, USA) umieszczono na rogówce, aby utrzymać jej wilgotność i ułatwić przewodzenie prądu za pomocą elektrody Kooijmana. Jako elektrodę aktywną zastosowano soczewkę kontaktową z wbudowanymi diodami elektroluminescencyjnymi (LED, Kooijman/Damhof ERG Lens®, Medical Workshop BV, Groningen, Holandia). Wartości referencyjne amplitudy i latencji fali ERG

uzyskano z grupy kontrolnej składającej się z 10 zdrowych psów rasy mieszanej (5 samców i 5 samic) w wieku od 2 do 11 lat.

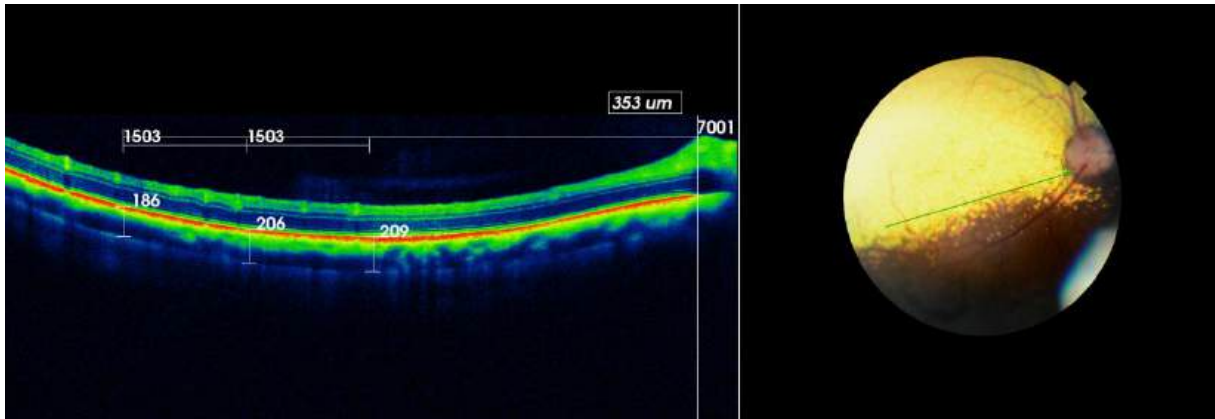
7.5 Badanie metodą optycznej tomografii koherentnej (SD-OCT)

7.5.1. Wykonanie badania SD-OCT

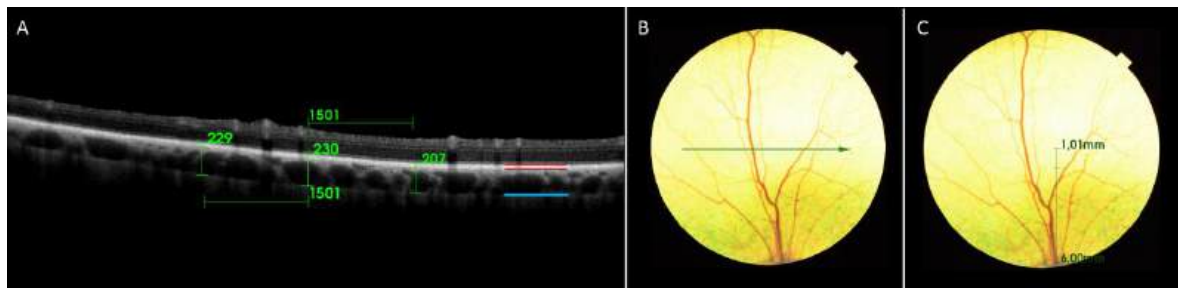
Badania SD-OCT i ERG wykonywano w odstępie co najmniej 7 dni. U wszystkich psów badanie SD-OCT przeprowadzono w godzinach od 9:00 do 13:00. Źrenice rozszerzano kroplami do oczu z tropikamidem (Tropicamidum WZF 1%, Polfa Warszawa S.A., Polska). Do sedacji użyto medetomidyny w dawce 0,03 mg/kg (Cepetor 1 mg/ml, CP Pharma, Niemcy) podawanej domięśniowo. Znieczulenie miejscowe powierzchni rogówki i spojówki uzyskano stosując 0,5% chlorowodorek proksymetakainy (Alcaine 5 mg/ml, Alcon, USA). Podczas badania SD-OCT rogówkę nawilżano co 30 sekund roztworem soli fizjologicznej a gałkę oczną stabilizowano poprzez uchwycenie spojówki gałkowej pęsetą.

7.5.2 Analiza skanów i wykonanie pomiarów

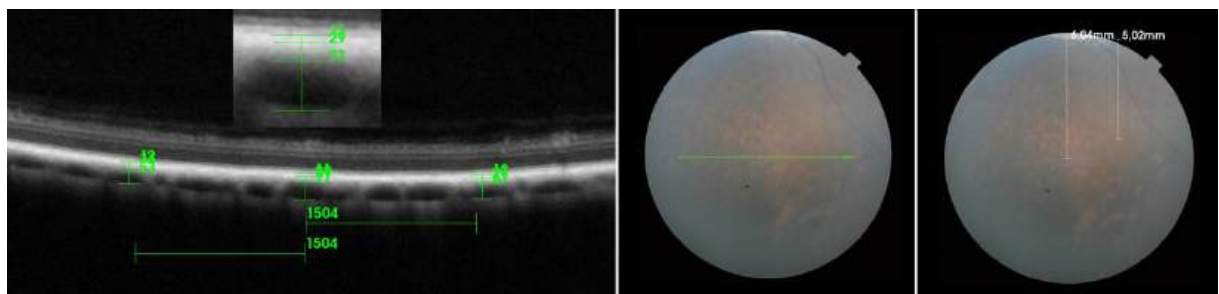
Obrazowanie SD-OCT przeprowadzono dla obydwu gałek ocznych każdego pacjenta aparatem Topcon 3D OCT-2000 (Topcon, Japonia) przy długość fali 840 nm z wykorzystaniem skanów liniowymi, promienistych, krzyżowych i wizualizacji 3D. Oprogramowanie urządzenia umożliwiło precyzyjną lokalizację pomiarów naczyńki na uzyskanych skanach. Do manualnego wykonywania pomiarów naczyńki wykorzystano funkcję pomiarową aparatu zintegrowaną z jego oprogramowaniem. W przypadku pierwszego celu badawczego wykonano pomiar całkowitej grubości naczyńki (WCT). W drugim i trzecim celu badawczym oprócz WCT dokonano pomiaru poszczególnych warstw naczyńki, tj. kompleksu RPE błona Brucha – choriokapilary z błoną odblaskową w regionie błony jasnej (RPE-BmCc), warstwy naczyń średniej średnicy (MSVL) i warstwy naczyń o większej średnicy z blaszką nadnaczyniówkową (LVLS). W celu oceny wpływu wieku na naczyńkę, w przypadku drugiego celu badawczego, określono również stosunek grubości MSVL do LVLS.



Rycina 1. Pomiary całkowitej grubości naczyniówki na skanie SD-OCT okolicy skroniowej (zielona strzałka na zdjęciu dna oka odpowiada miejscu wykonania skanu). Pierwszy pomiar widoczny w centrum skanu oraz dwa pozostałe po prawej i lewej stronie w odległości 1500 μm od centrum (artykuł 1, rycina 2).



Rycina 2. A. Pomiary całkowitej grubości naczyniówki w okolicy dogrzbietowej na skanie SD-OCT (zielona strzałka na zdjęciu dna oka odpowiada miejscu wykonania skanu). Czerwona linia przedstawia granice kompleksu nabłonka barwnikowego siatkówki – błony Brucha – choriocapillaris i błony odblaskowej. Niebieska linia przedstawia wewnętrzną powierzchnię twardówki. B. Lokalizacja skanu pokazana na ryc. 1A. C. Wyznaczenie miejsca pomiaru w odległości od 5000 do 6000 μm (odległość od krążka nerwu wzrokowego). Skanowanie wykonano na odcinku o długości 1000 μm widocznym jako krótki odcinek w górnej części oznaczenia (artykuł 1, rycina

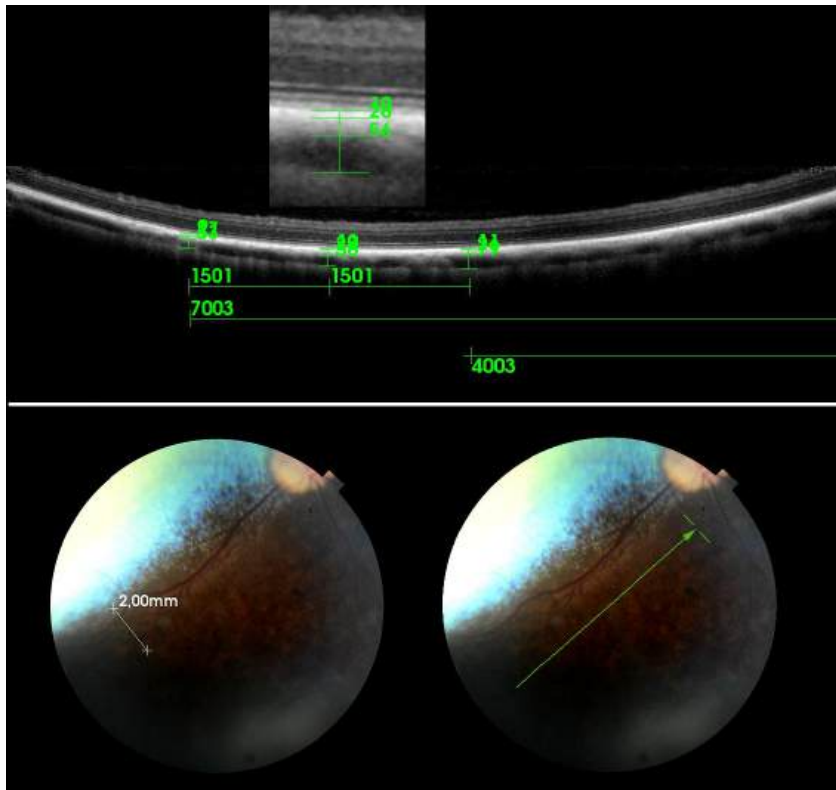


1).

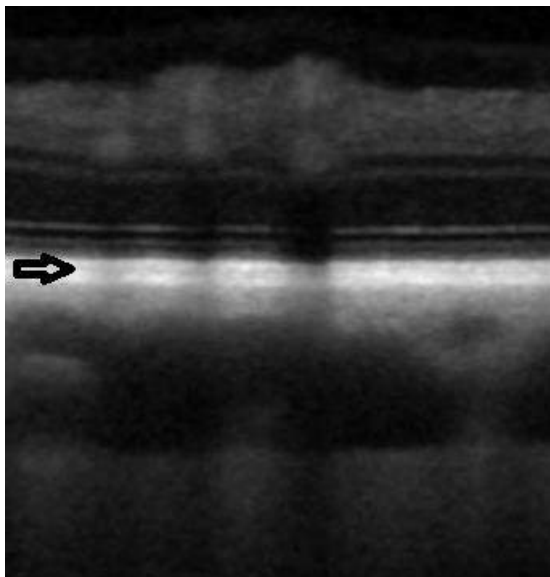
Rycina 3. Pomiary grubości naczyniówki w okolicy dobrzuszej w badaniu SD-OCT (zielona strzałka na zdjęciu dna oka odpowiada miejscu wykonania skanu). Pomiary wykonywano w odległości 5000–6000 μm od krążka nerwu wzrokowego (białe strzałki na zdjęciu fundus) (artykuł 2, rycina 3).

Grubość naczyniówki zdefiniowano jako pionową odległość od granicy hiperrefleksyjnego kompleksu RPE – błony Brucha do hiperrefleksyjnej powierzchni wewnętrznej twardówki (Branchini i in., 2013). W przypadku drugiego i trzeciego celu badawczego, pomiarów skroniowych i nosowych dokonano zarówno w okolicy dna oka zawierającej błonę odblaskową (skroniowym: TempT, nosowym: NasT), jak i w okolicy dna oka jej niezawierającej (skroniowym: TempNT, nosowym: NasNT). Pomiarów w obszarach TempT i NasT wykonano w odległości 500–2000 μm dogrzebietowo od granicy między obszarami błony jasnej i ciemnej. Pomiarów w obszarach skroniowych i nosowych w okolicy błony ciemnej (TempNT i NasNT) wykonano w odległości 500–2000 μm w kierunku do przodu od granicy między obszarami błony jasnej i ciemnej (Ryc.4). W każdym regionie wykonano trzy pomiary: w centrum skanu i w odległości 1500 μm od centrum po lewej i prawej stronie. Wyniki trzech pomiarów następnie uśredniono dla każdego segmentu. Aby uniknąć rozbieżności metodyki pomiarowej, wszystkie pomiary zostały zweryfikowane przez tych samych dwóch autorów.

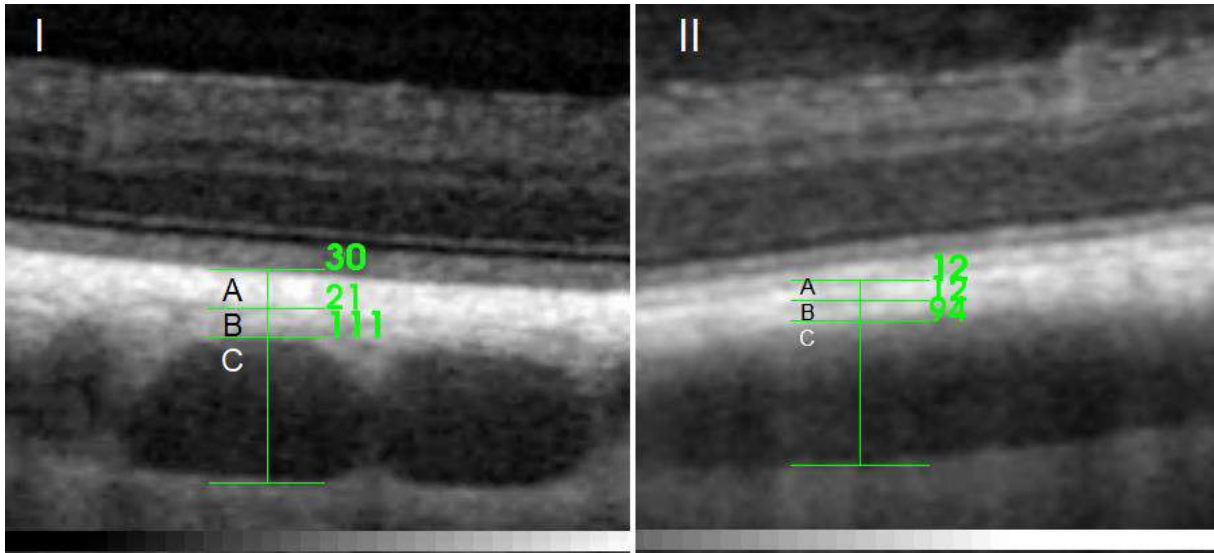
RPE-BmCc zdefiniowano jako warstwę o plamistym wyglądzie (Povazay i in., 2009) i silnie refleksyjnych granicach w obszarach błony odblaskowej. Na niektórych skanach możliwa była identyfikacja warstwy choriokapilar naczyniówki (Ryc. 5), ale w wielu przypadkach oddzielenie choriokapilar od RPE, błony Brucha i błony odblaskowej było trudne lub niemożliwe. Dlatego struktury te oceniano jako warstwę – RPE-BmCc. Obraz RPE-BmCc był silniej refleksyjny niż MSVL. MSVL definiowano jako warstwę zawierającą naczynia o średnicy $\leq 100 \mu\text{m}$, które były widoczne jako hiporefleksyjne przestrzenie otoczone hiperrefleksyjnym zrębem. Warstwa MSVL znajdowała się bezpośrednio pod warstwą RPE-BmCc. LVLS klasyfikowano jako zewnętrzną warstwę naczyniówki zawierającą duże naczynia o średnicy $\geq 100 \mu\text{m}$ (Branchini i in., 2013). Zewnętrzną granicę LVLS definiowano jako granicę naczyniówkowo-twardówkową. Głównymi kryteriami różnicującymi warstwy MSVL i LVLS było światło naczyń i gęstość tkanki międzynaczyniowej (Roy i in., 2018) (Ryc.6).



Rycina 4. Pomiary grubości warstwy naczyniówki w okolicy nosowej niezawierającej błony odblaskowej na skanie SD-OCT (zielona strzałka na zdjęciu dna oka). Pomiary w obszarze niezawierającym błony odblaskowej wykonano w odległości 500–2000 μm w kierunku brzuszonym od granicy błony odblaskowej (biała linia na fotografii dna oka) (artykuł 2, rycina 4).



Rycina 5. Obraz choriokapilar - czarna strzałka - hiporefleksyjna linia znajdująca się pomiędzy kompleksem błonowym RPE – Brucha a błoną odblaskową (artykuł 2, rycina 2).



Rycina 6. Pomiar warstw naczyniówki w okolicy błony odblaskowej błony (I) i błony ciemnej (II): (A) RPE – błona Brucha – choriokapilary (RPE-BmCc) z błoną odblaskową, (B) warstwa naczyń o średniej średnicy (MSVL) i (C) warstwa naczyń o większej średnicy z blaszką nadnaczyniówkową (LVLS) (artykuł 2, rycina 1).

7.6 Analiza statystyczna

W zależności od poszczególnych celów i zadań badawczych przeprowadzono następujące analizy statystyczne.

1) Test normalności danych sprawdzono za pomocą testu Shapiro-Wilka. Istotność różnic zidentyfikowano za pomocą testu U Manna–Whitneya. Analizy przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 12 (TIBCO Software Inc., USA). Istotność statystyczną przyjęto na poziomie $p < 0.05$.

2) Sprawdzenie normalności rozkładu zmiennych w badanych grupach wykonano za pomocą testu normalności Shapiro-Wilka. Do zbadania różnic pomiędzy dwiema grupami zastosowano test t-Studenta. Ocenę różnic pomiędzy warstwami naczyniówki wykonano przy pomocy analizy wariancji ANOVA (wraz z testem post-hoc RIR Tukeya). Bazę danych i badania statystyczne przeprowadzono w oparciu o oprogramowanie komputerowe Statistica 9.1 (StatSoft, Polska). Istotność statystyczną przyjęto na poziomie $p < 0.05$.

3) Normalność danych sprawdzono metodą Lillieforce'a i zweryfikowano testem Shapiro Wilka. Istotnie różne porównania zidentyfikowano za pomocą testu U Manna-Whitneya. Analizy przeprowadzono przy użyciu oprogramowania Statistica 10 (TIBCO Software Inc.). Istotność statystyczną przyjęto na poziomie $p < 0.05$.

8. Omówienie wyników badań

8.1 Ocena wpływu wieku i płci na grubość naczyńówki w poszczególnych okolicach dna oka.

Grubość naczyńówki w okolicy dogrzbietowej, dobrzuszej, skroniowej i nosowej u psów mieszanych w starszym i średnim wieku przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1.

Średnia grubość naczyńówki [μm] \pm odchylenie standardowe (SD) dla obszarów dogrzbietowego (D), dobrzusznego (V), skroniowego (T) i nosowego (N) u psów w średnim (MA) oraz starszym (SN) wieku.

	D	V	T	N
MA	188 \pm 28	116 \pm 23	152 \pm 30	135 \pm 27
SN	184 \pm 33	111 \pm 16	151 \pm 26	132 \pm 18

Grubość naczyńówki w obszarze dogrzbietowym była największa zarówno u psów starszych (SN), jak i w średnim wieku (MA). Naczyńówka osiągała największą grubość w okolicy skroniowej, najmniejszą w okolicy dobrzuszej. Nie zaobserwowano istotnych zmian grubości poszczególnych obszarów naczyńówki w odniesieniu do wieku. Jednakże zaobserwowano statystycznie istotne różnice grubości pomiędzy poszczególnymi obszarami naczyńówki zarówno w grupie MA, jak i SN. W obu grupach grubość naczyńówki była statystycznie istotnie większa w okolicy dogrzbietowej niż w okolicy skroniowej, nosowej i dobrzuszej, natomiast naczyńówka w okolicy skroniowej była istotnie grubsza niż w okolicy nosowej i dobrzuszej. Naczyńówka w okolicy dobrzuszej była istotnie cieńsza

niż w okolicy nosowej zarówno w grupie MA, jak i SN. Grubość okolicy dogrzbietowej, dobrzuszej, skroniowej i nosowej naczyniówki u samic i samców przedstawiono w tabeli 2. Zarówno u samców jak i u samic naczyniówka była najgrubsza w okolicy dogrzbietowej, następnie w okolicy skroniowej, a najcieńsza w okolicy dobrzuszej. Chociaż nie zaobserwowano statystycznie istotnej różnicy pomiędzy psami w różnych grupach wiekowych, różnice statystyczne zaobserwowano pomiędzy samcami i samicami. Grubość naczyniówki była istotnie większa u samców niż u samic w okolicy dobrzuszej. W okolicy nosowej była ona istotnie mniejsza u samców niż u samic.

Tabela 2

Średnia grubość naczyniówki [μm] \pm odchylenie standardowe (SD) podawana dla obszarów dogrzbietowego (D), dobrzusznego (V), skroniowego (T) i nosowego (N) u samców (M) i samic (F).

	D	V	T	N
M	181 \pm 32	117 \pm 16 *	150 \pm 26	128 \pm 20*
F	190 \pm 30	111 \pm 21	153 \pm 30	138 \pm 23

* wynik istotny statystycznie ($p < 0,005$)

8.2 Ustalenie grubości poszczególnych warstw naczyniówki w różnych okolicach dna oka u psów.

Średnie grubości warstw naczyniówki w obszarach D, V, TempT, TempNT, NasT i NasNT przedstawiono w tabeli 3.

Nie zaobserwowano różnic grubości warstw naczyniówki związanych z wiekiem. Z tego względu, różnice w grubości poszczególnych warstwy i całej naczyniówki oceniano pomiędzy regionami bez podziału psów na grupy wiekowe, a pomiary przeprowadzono na 90 oczach 45 psów (Tabela 3).

Tabela 3

Średnia grubość warstw naczyń (kompleks RPE - błona Brucha – choriokapilary : RPE-BmCc, warstwa naczyń o średniej średnicy: MSVL, warstwa naczyń o większej średnicy z blaszką nadnaczyniówkową: LVLS) i całkowita grubość naczyń (WCT) [μm] \pm SD w okolicach dogrzebietowej (D), dojrzałej (V), skroniowej z błoną (TempT) i bez błony odbłaskowej (TempNT), a także nosowej z błoną (NasT) i bez błony odbłaskowej (NasNT) u psów w średnim (MA) i starszym (SN) wieku.

	RPE-BmCc	MSVL	LVLS	WCT
D				
MA	28.7 \pm 7.49	32.59 \pm 7.83	121.72 \pm 24.58	183.02 \pm 30.15
SN	26.44 \pm 5.04	31.62 \pm 7.62	124.87 \pm 28.32	182.93 \pm 32.01
V				
MA	7.71 \pm 0.96	24.43 \pm 8.07	78.21 \pm 19.22	110.24 \pm 23.50
SN	8.13 \pm 0.50	24.33 \pm 6.21	75.39 \pm 14.28	107.84 \pm 17.68
TempT				
MA	10.76 \pm 2.17	38.15 \pm 7.64	126.78 \pm 35.78	175.69 \pm 38.58
SN	10.90 \pm 2.38	45.43 \pm 10.29	125.67 \pm 19.96	182.00 \pm 23.54
TempNT				
MA	8.12 \pm 0.91	27.11 \pm 9.87	84.45 \pm 17.24	119.68 \pm 24.81
SN	8.25 \pm 0.68	30.86 \pm 6.94	99.59 \pm 22.98	138.62 \pm 26.81
NasT				
MA	9.83 \pm 1.43	32.90 \pm 10.02	96.78 \pm 12.56	139.52 \pm 15.67
SN	9.33 \pm 1.47	33.03 \pm 5.40	102.33 \pm 24.48	144.69 \pm 24.06
NasNT				
MA	8.05 \pm 0.86	26.34 \pm 8.90	89.72 \pm 14.19	124.12 \pm 19.40
SN	8.44 \pm 0.69	29.74 \pm 7.50	90.59 \pm 12.43	128.77 \pm 16.89

U wszystkich badanych psów warstwa RPE-BmCc w regionie dogrzbietowym i MSVL w regionie nosowym z błoną odblaskową były istotnie najgrubsze w porównaniu z pozostałymi regionami. Ponadto warstwa RPE-BmCc była znacznie grubsza w obszarze skroniowym z błoną odblaskową niż w obszarze dobrzuszny. Co więcej, warstwa MSVL była cieńsza w regionie dobrzuszny niż w obszarze dogrzbietowym, skroniowym z i bez błony odblaskowej, a także nosowym z błoną odblaskową. Warstwa MSVL była istotnie cieńsza w regionie nosowym bez błony niż w obszarze dogrzbietowym. Grubości LVLS i WCT były znacząco większe w regionach dogrzbietowym i skroniowym z błoną odblaskową niż w pozostałych regionach i istotnie mniejsze w regionie dobrzuszny niż w pozostałych regionach (Tabela 4)

Tabela 4

Różnice w średnich grubościach [średnia ± odchylenie standardowe] RPE-BmCc, MSVL, LVLS i WCT u wszystkich badanych psów pomiędzy okolicą dogrzbietową (D), dobrzuszną (V), skroniową z błoną (TempT), i bez błony odblaskowej (TempNT), nosową z błoną (NasT) i bez błony odblaskowej (NasNT).

Warstwa	Region	Średnia ± SD	Istotność statystyczna	Warstwa	Region	Średnia ± SD	Istotność statystyczna
RPE-BmCc	D vs V	27.42 ± 6.28 vs 7.99 ± 0.70	<i>P</i> < 0.001	MSVL	D vs V	27.42 ± 6.28 vs 7.99 ± 0.70	<i>P</i> < 0.001
	D vs TempT	27.42 ± 6.28 vs 10.84 ± 2.24	<i>P</i> < 0.001		D vs TempT	27.42 ± 6.28 vs 10.84 ± 2.24	<i>P</i> < 0.001
	D vs TempNT	27.42 ± 6.28 vs 8.21 ± 0.75	<i>P</i> < 0.001		D vs TempNT	27.42 ± 6.28 vs 8.21 ± 0.75	<i>P</i> = 0,67
	D vs NasT	27.42 ± 6.28 vs 9.56 ± 1.44	<i>P</i> < 0.001		D vs NasT	27.42 ± 6.28 vs 9.56 ± 1.44	<i>P</i> = 1.00
	D vs NasNT	27.42 ± 6.28 vs 8.24 ± 0.79	<i>P</i> < 0.001		D vs NasNT	27.42 ± 6.28 vs 8.24 ± 0.79	<i>P</i> < 0.05
	V vs TempT	7.99 ± 0.70 vs 10.84 ± 2.24	<i>P</i> < 0.05		V vs TempT	7.99 ± 0.70 vs 10.84 ± 2.24	<i>P</i> < 0.001

Warstwa	Region	Średnia ± SD	Istotność statystyczna	Warstwa	Region	Średnia ± SD	Istotność statystyczna
RPE-BmCc	V vs TempNT	7.99 ± 0.70 vs 8.21 ± 0.75	P = 1.00	MSVL	V vs TempNT	7.99 ± 0.70 vs 8.21 ± 0.75	P < 0.05
	V vs NasT	7.99 ± 0.70 vs 9.56 ± 1.44	P = 0.47		V vs NasT	7.99 ± 0.70 vs 9.56 ± 1.44	P < 0.001
	V vs NasNT	7.99 ± 0.70 vs 8.24 ± 0.79	P = 1.00		V vs NasNT	7.99 ± 0.70 vs 8.24 ± 0.79	P = 0.11
	TempT vs TempNT	10.84 ± 2.24 vs 8.21 ± 0.75	P = 0.08		TempT vs TempNT	10.84 ± 2.24 vs 8.21 ± 0.75	P < 0.001
	TempT vs NasT	10.84 ± 2.24 vs 9.56 ± 1.44	P = 0.85		TempT vs NasT	10.84 ± 2.24 vs 9.56 ± 1.44	P < 0.005
	TempT+ vs NasNT	10.84 ± 2.24 vs 8.24 ± 0.79	P = 0.05		TempT vs NasNT	10.84 ± 2.24 vs 8.24 ± 0.79	P < 0.001
	TempNT vs NasT	8.21 ± 0.75 vs 9.56 ± 1.44	P = 0.73		TempNT vs NasT	8.21 ± 0.75 vs 9.56 ± 1.44	P = 0.64
	TempNT vs NasNT	8.21 ± 0.75 vs 8.24 ± 0.79	P = 1.00		TempNT vs NasNT	8.21 ± 0.75 vs 8.24 ± 0.79	P = 0,92
	NasT vs NasNT	9.56 ± 1.44 vs 8.24 ± 0.79	P = 0.69		NasT vs NasNT	9.56 ± 1.44 vs 8.24 ± 0.79	P = 0,13
LVLS	D vs V	27.42 ± 6.28 vs 7.99 ± 0.70	P < 0.001	WCT	D vs V	27.42 ± 6.28 vs 7.99 ± 0.70	P < 0.001
	D vs TempT	27.42 ± 6.28 vs 10.84 ± 2.24	P = 1,00		D vs TempT	27.42 ± 6.28 vs 10.84 ± 2.24	P = 0.99
	D vs TempNT	27.42 ± 6.28 vs 8.21 ± 0.75	P < 0.001		D vs TempNT	27.42 ± 6.28 vs 8.21 ± 0.75	P < 0.001
	D vs NasT	27.42 ± 6.28 vs 9.56 ± 1.44	P < 0.001		D vs NasT	27.42 ± 6.28 vs 9.56 ± 1.44	P < 0.001
	D vs NasNT	27.42 ± 6.28 vs 8.24 ± 0.79	P < 0.001		D vs NasNT	27.42 ± 6.28 vs 8.24 ± 0.79	P < 0.001
	V vs TempT	7.99 ± 0.70 vs 10.84 ± 2.24	P < 0.001		V vs TempT	7.99 ± 0.70 vs 10.84 ± 2.24	P < 0.001

Warstwa	Region	Średnia ± SD	Istotność statystyczna	Warstwa	Region	Średnia ± SD	Istotność statystyczna
LVLS	V vs TempNT	7.99 ± 0.70 vs 8.21 ± 0.75	$P < 0.001$	WCT	V vs TempNT	7.99 ± 0.70 vs 8.21 ± 0.75	$P < 0.001$
	V vs NasT	7.99 ± 0.70 vs 9.56 ± 1.44	$P < 0.001$		V vs NasT	7.99 ± 0.70 vs 9.56 ± 1.44	$P < 0.001$
	V vs NasNT	7.99 ± 0.70 vs 8.24 ± 0.79	$P < 0.05$		V vs NasNT	7.99 ± 0.70 vs 8.24 ± 0.79	$P < 0.005$
	TempT vs TempNT	10.84 ± 2.24 vs 8.21 ± 0.75	$P < 0.001$		TempT vs TempNT	10.84 ± 2.24 vs 8.21 ± 0.75	$P < 0.001$
	TempT vs NasT	10.84 ± 2.24 vs 9.56 ± 1.44	$P < 0.001$		TempT vs NasT	10.84 ± 2.24 vs 9.56 ± 1.44	$P < 0.001$
	TempT vs NasNT	10.84 ± 2.24 vs 8.24 ± 0.79	$P < 0.001$		TempT vs NasNT	10.84 ± 2.24 vs 8.24 ± 0.79	$P < 0.001$
	TempNT vs NasT	8.21 ± 0.75 vs 9.56 ± 1.44	$P = 0,96$		TempNT vs NasT	8.21 ± 0.75 vs 9.56 ± 1.44	$P = 0,73$
	TempNT vs NasNT	8.21 ± 0.75 vs 8.24 ± 0.79	$P = 0,90$		TempNT vs NasNT	8.21 ± 0.75 vs 8.24 ± 0.79	$P = 0,85$
	NasT vs NasNT	9.56 ± 1.44 vs 8.24 ± 0.79	$P = 0,47$		NasT vs NasNT	9.56 ± 1.44 vs 8.24 ± 0.79	$P = 0,13$

Stosunek grubości MSVL do LVLS nie był powiązany z wiekiem w żadnym z badanych obszarów naczyńówki psów (Tabela 5). Stosunek ten był podobny dla każdego obszaru naczyńówki i wynosił odpowiednio w grupach MA i SN: $0,28 \pm 0,26$ dla regionu D, $0,32 \pm 0,33$ dla regionu V, $0,32 \pm 0,37$ w obszarze TempT, $0,32 \pm 0,32$ dla regionu TempNT, $0,35 \pm 0,34$ dla regionu NasT i $0,29 \pm 0,33$ dla regionu NasNT.

Tabela 5. Stosunek grubości warstwy naczyń o średniej średnicy (2) do grubości warstwy naczyń o większej średnicy z blaszką nadnaczyniówkową (3) u psów w średnim (MA) i starszym wieku (SN) u psów w okolicy dogrzebietowej (D), do brzusznej (V) skroniowej z błoną (TempT) i bez błony odbaskowej (TempNT), nosowej z błoną (NasT) i bez błony odbaskowej (NasNT).

	MA	Średnia ± SD	SN	Średnia ± SD
D2:D3	0.28	32.59 ± 7.83 : 121.72 ± 24.58	0.26	31.62 ± 7.62 : 124.87 ± 28.32
V2:V3	0.32	24.43 ± 8.07 : 78.21 ± 19.22	0.33	24.33 ± 6.21 : 75.39 ± 14.28
TempT2:TempT3	0.32	38.15 ± 7.64 : 126.78 ± 35.78	0.37	45.43 ± 10.29 : 125.67 ± 19.96
TempNT2:TempNT3	0.32	27.11 ± 9.87 : 84.45 ± 17.24	0.32	30.86 ± 6.94 : 99.59 ± 22.98
NasT2:NasNT3	0.35	32.90 ± 10.02 : 96.78 ± 12.56	0.34	33.03 ± 5.40 : 102.33 ± 24.48
NasNT2:NasNT3	0.29	26.34 ± 8.90 : 89.72 ± 14.19	0.33	29.74 ± 7.50 : 90.59 ± 12.43

8.3 Ocena sprawności wzroku w przypadku zaniku siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki.

8.3.1 Badanie neurookulistyczne i badanie sprawności wzroku.

Wyniki badań neurookulistycznego i sprawności wzroku u psów z grupy kontrolnej były prawidłowe. W tabelach 6 i 7 przedstawiono wyniki badań neurookulistycznych i sprawności wzroku u poszczególnych pacjentów w grupie RA. Na podstawie badania sprawności wzroku i badania neurookulistycznego u większości psów w grupie RA stwierdzono znaczne ograniczenie sprawności wzroku, co świadczy o zaawansowanym etapie zmian siatkówki.

Podczas badania dna oka u wszystkich psów w grupie RA stwierdzono typowe objawy PRA. Obserwowano nadmierną refleksyjność w okolicy błony jasnej, ścięczenie i zanik naczyń krwionośnych, nieprawidłową pigmentację w okolicy błony jasnej, błądź krążka nerwu wzrokowego, zaniki pigmentacji w okolicy błony ciemnej - tzw. „mottling” oraz występowanie pozostałości po naczyniach - naczynia widmowe - „ghost vessels”. Objawy były symetryczne i obustronne. Chorobę potwierdzono dodatkowo w badaniach ERG i SD-OCT. Z informacji uzyskanych od właścicieli wynikało, że obserwowali u nich postępujące pogorszenie sprawności wzroku, początkowo w warunkach przyciemnionego oświetlenia.

Tabela 6. Wyniki badania sprawności wzroku i badania neurookulistycznego w grupie RA.

Nr psa	Odruch na zagrożenie		Odruch śledzenia wzrokiem	Reakcja umieszczania	Test labiryntowy		Odruch oślepienia	
	P	L			Warunki skotopowe	Warunki fotopowe	P	L
1	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+
2	+/-	+/-	+/-	-	-	-	+/-	+/-
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-
7	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	+	+	+	+	+	+	+	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-
16	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+
17	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-
18	+	+	+	+	+	+	+	+
19	-	-	-	-	-	-	-	-
20	+/-	+/-	-	+/-	-	+	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-
22	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+
23	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-
24	-	-	-	-	-	-	-	-
25	+	+	+	+	+	+	+	+

P – prawa gałka oczna

L – lewa gałka oczna

Tabela 7 Wyniki badania neurookulistycznego u psów w grupie RA.

Nr psa	Odruch źreniczny		Chromatyczny odruch źreniczny			
	P	L	P		L	
			Czerwone	Niebieskie	Czerwone	Niebieskie
1	+	+	+	+	+	+
2	+/-	+/-	-	+/-	-	+/-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	+/-	+/-	-	+/-	-	+/-
7	+	+	+	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-
11	+	+	+	+	+	+
12	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-
16	+	+	+	+	+	+
17	+/-	+/-	-	+/-	-	+/-
18	+	+	+	+	+	+
19	-	-	-	-	-	-
20	+/-	+/-	-	+/-	-	+/-
21	-	-	-	-	-	-
22	+	+	+	+	+	+
23	+/-	+/-	-	+/-	-	+/-
24	-	-	-	-	-	-
25	+	+	+	+	+	+

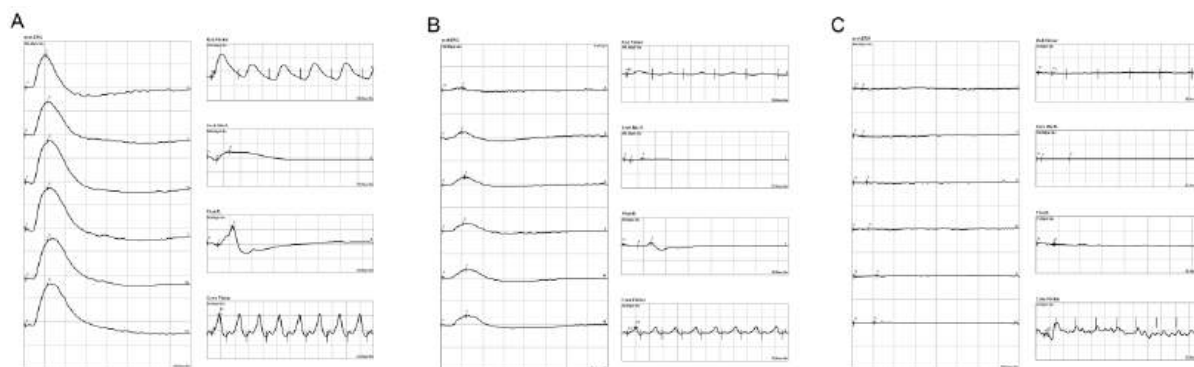
P – prawa gałka oczna

L – lewa gałka oczna

8.3.2 Badanie elektretinograficzne.

Amplituda fali b była znacząco niższa przy wszystkich intensywnościach światła w 11 przypadkach w grupie RA (psy nr 1, 2, 6, 7, 11, 16, 18, 20, 22, 23, 25). Amplituda fali a była również znacząco niższa przy wszystkich intensywnościach światła u 11 psów dotkniętych RA. W zaawansowanym stadium choroby u 14 psów (psy o numerach 3, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 21, 24) stwierdzono nierejestrowane wygaszenie (płaska linia wykresu) skotopowych i fotopowych odpowiedzi ERG.

Przykłady reakcji skotopowych i fotopowych: prawidłowe, osłabione i wygaszone odpowiedzi ERG zarejestrowane odpowiednio u trzech psów – prawidłowy wynik badania u psa z grupy kontrolnej (A) i wynik dwóch chorujących na RA – odpowiednio we wczesnym (B) i zaawansowanym (C) stadium choroby, przedstawiono na rycinie 7.

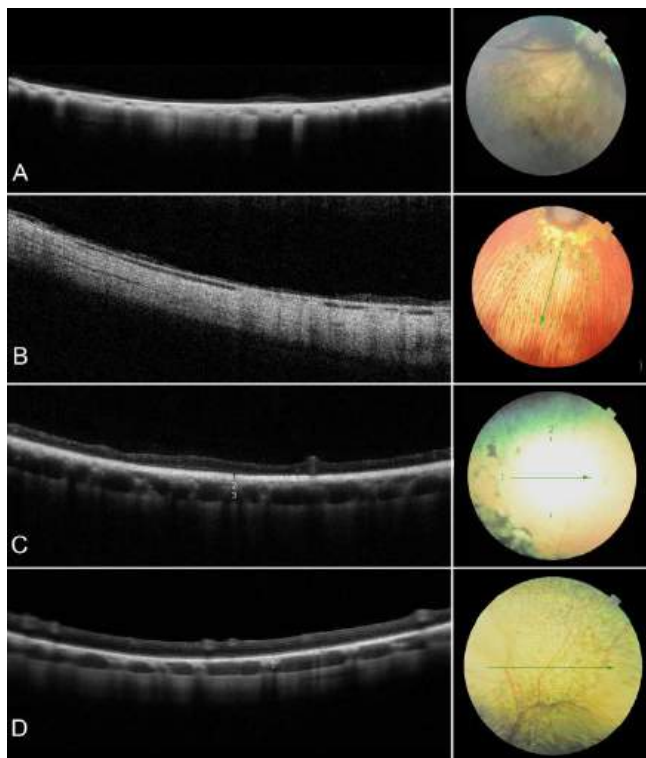


Ryc. 7 Przykłady reakcji skotopowych i fotopowych: prawidłowe, osłabione i wygaszone odpowiedzi ERG zarejestrowane u trzech psów – odpowiednio u zdrowego pacjenta z grupy kontrolnej (A) i dwóch zwierząt chorych na RA – odpowiednio we wczesnym (B) i zaawansowanym (C) stadium choroby. (artykuł 3, rycina 2)

8.3.3 Badanie SD-OCT

Pomiar warstw naczyniówki na skanach SD-OCT był możliwy u 22 z 25 psów chorych na RA. Wyniki tych pomiarów uwzględniono w analizie statystycznej. Wykluczono z badań 3 psy (nr 5, 9 i 14), gdyż w zaawansowanym stadium choroby doszło u nich do zaniku naczyniówki i w konsekwencji braku możliwości wyodrębnienia naczyniówki lub zróżnicowania jej warstw, aż do całkowitego zaniku naczyniówki (Ryc. 8.).

Wyniki grubości poszczególnych warstw oraz całkowitej grubości naczyniówkowej dla każdego obszaru dna oka przedstawiono w Tabeli 8. U wszystkich psów dotkniętych RA zaobserwowano statystycznie istotne zmniejszenie grubości MSVL w porównaniu z grupą kontrolną we wszystkich badanych obszarach. Statystycznie istotne zmniejszenie grubości LVLS i WCT stwierdzono we wszystkich obszarach niezawierających błony odblaskowej w porównaniu z kontrolą.



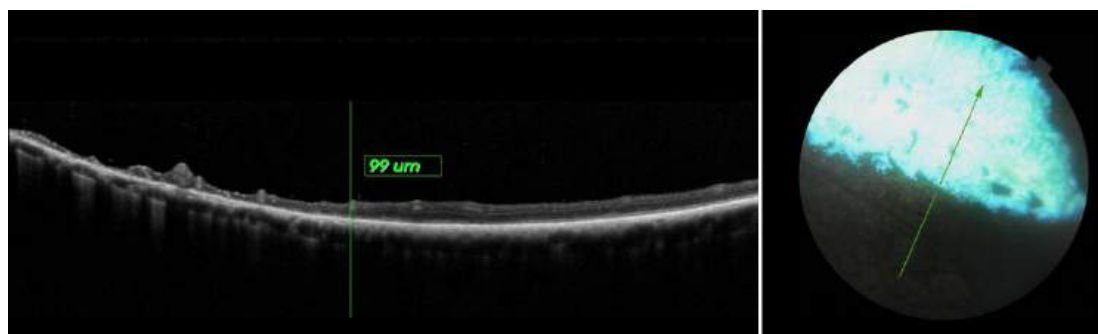
Ryc. 8 Skany siatkówki i naczyniówki w różnych stadiach choroby. Pomiar naczyniówki i jej warstw nie był możliwy w najbardziej zaawansowanym stadium – A (pies nr 9), B (pies nr 14). Na skanach C - pies nr. 2 i D – pies nr. 25 widoczne są odpowiednie warstwy naczyniówkowe: 1 – RPE-BmCc, 2 – MSVL, 3- LVLS. (artykuł 3, rycina 3)

W badaniu obrazowym SD-OCT stwierdzono zaawansowanie procesu chorobowego w obszarach niezawierających błony odblaskowej (ryc. 8). Grubość warstwy LVLS i WCT w okolicach niezawierających błony odblaskowej była mniejsza w porównaniu do skanów uzyskanych w grupie kontrolnej, co potwierdziła analiza statystyczna (Tabela 8). Brak możliwości różnicowania poszczególnych warstw naczyniówki i jej zanik były bardziej nasilone w obszarach niezawierających błony odblaskowej (Ryc. 8).

Tabela 8. Grubość poszczególnych warstw i całkowita grubość naczyniówki (mediana (μm) [minimum (Min) - maksimum (Max)]) w badanych okolicach dna oka w grupie kontrolnej i RA.

Okolica dna oka				
Warstwa	D		V	
	Kontrola	RA	Kontrola	RA
RPE-BmCc	29.17 [19.00; 39.33]	22.33 [10; 37.50]*	7.67 [6.33; 9.33]	8.18 [7.00; 9.17]*
MSVL	32.25 [22.00; 44.60]	24.75 [8.83; 38.0]*	24.20 [15.67; 36.17]	15.00 [12.50; 25.00]*
LVLS	120.80 [89.50; 170.67]	118.17 [58.83; 174.83]	71.00 [57.00; 113.50]	51.00 [19.00; 88.67]*
WCT	190.50 [134.83; 222.83]	163.00 [79.67; 237.17]	104.00 [80.67; 153.00]	75.83 [26.33; 116.33]*
Warstwa	TempT		TempNT	
	Kontrola	RA	Kontrola	RA
RPE-BmCc	10.00 [7.33; 15.67]	10.00 [8.33; 15.17]	7.67 [7.00; 9.40]	8.33 [7.00; 12.00]
MSVL	49.00 [36.50; 69.33]	34.20 [11.33; 51.67]*	30.00 [15.00; 39.50]	15.92 [9.33; 24.42]*
LVLS	138.67 [80.50; 171.33]	125.00 [62.00; 171.33]	87.00 [63.00; 110.33]	62.00 [38.00; 113.00]*
WCT	202.50 [125.50; 223.67]	164 [83.33; 219.00]	119.50± [85.00; 147.67]	86.00 [55.00; 146.00]*
Warstwa	NasT		NasNT	
	Kontrola	RA	Kontrola	RA
RPE-BmCc	10.33 [7.50; 12.00]	10.50 [8.50; 11.50]	7.67 [7.00; 9.75]	8.17 [7.00; 10.67]
MSVL	35.00 [27.33; 40.50]	22.67 [19.00; 30.33]*	30.00 [16.67; 43.00]	18.52 [12.67; 23.67]*
LVLS	92.00 [76.00; 110.00]	94.67 [74.67; 113.00]	89.67 [71.67; 110.00]	70.67 [44.50; 106.00]*
WCT	139.50 [123.60; 151.33]	130.33 [104.17; 148.50]	123.00 [95.33; 162.00]	97.42 [54.50; 140.00]*

* $p < 0.005$



Ryc. 8 Zaawansowanie zaniku siatkówki i naczyniówki w zależności od obecności błony odłaskowej (pies nr 20). Zaawansowany zanik siatkówki, ścięczenie i dezorganizacja naczyniówki są widoczne w okolicy bez błony odłaskowej. Zielona strzałka na zdjęciu dna oka wskazuje lokalizację skanu. Krótka zielona linia na granicy obszaru błony jasnej i ciemnej, prostopadła do zielonej strzałki na zdjęciu dna oka, odpowiada zielonej pionowej linii widocznej na skanie odpowiadającej lokalizacji zaznaczonego miejsca.

9. Dyskusja

Celem badań było określenie grubości naczyniówki oraz jej poszczególnych warstw *in vivo* za pomocą SD-OCT u psów mezocefalicznych rasy mieszanej, zarówno zdrowych jak i chorujących na zanik siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki. Położenie kompleksu błonowego RPE–Brucha oraz wewnętrznej powierzchni twardówki określono metodą pomiaru grubości naczyniówki ludzkiej (Jin i in., 2016, Abadia i in., 2018, Sahinoglu-Keskek i Canan, 2018, Steiner i in., 2019, Uyar i in., 2019, Pinheiro-Costa i in., 2020, Zhao i in., 2020), a także na podstawie wcześniejszych badań z zakresu histologii naczyniówki psów (Kotb i in. 2019) oraz obrazowania siatkówki psów metodą SD-OCT (Staurenghi i in., 2014, Carpenter i in., 2018, Grozdanic i in., 2019, Osinchuk i in., 2019, Graham i in., 2020, Occelli i in., 2020). Uprzednie badania z wykorzystaniem metody SD-OCT, przedstawiły pewne metody pomiarów warstw naczyniówki człowieka. Uzyskane w trakcie badań własnych skany pozwoliły na dokładne określenie poszczególnych warstw naczyniówki. Metoda zaproponowana przez Branchini i in. (2013) do analizy średnicy światła naczyń była często stosowana w uprzednich badaniach (Xu i in., 2017, Hanumunthadu i in., 2019, Baek i in., 2019). Choriokapilary to sieć naczyń włosowatych zlokalizowana na zewnątrz od błony Brucha. Pochodzą one z tętniczek obecnych w warstwie naczyń średniej średnicy, zwanej również warstwą Sattlera (Nickla i in., 2010). U ludzi warstwa choriokapilar ma grubość około 10 μm w obrębie dołka środkowego, gdzie gęstość naczyń włosowatych jest największa, a na obszarach peryferyjnych dna oka warstwa choriokapilar jest cieńsza wynosząc około 7 μm (Nickla i in., 2010). W badaniu przeprowadzonym przez Soukup i in. (2019) zidentyfikowano choriokapilary u czterech gatunków zwierząt, u których nie występuje błona odblaskowa. Choriokapilary uwidoczniono jako hiporefleksyjną warstwę zlokalizowaną pomiędzy kompleksem RPE – błona Brucha a naczyniówką zewnętrzną. Misch i in. (2022) ocenili widoczność choriokapilar zobrazowanych za pomocą SD-OCT u psów i kotów. Warstwa choriokapilar u psów była widoczna w ponad 80% i ponad 90% linii skanowania, w zależności od oceniającego. Badania własne pokazują, że refleksyjny charakter błony odblaskowej zakłóca widoczność naczyniówki. Choriokapilary są możliwe do rozróżnienia na niektórych skanach SD-OCT, jednakże często było trudne lub niemożliwe oddzielenie sieci choriokapilar od kompleksu RPE – błona Brucha w celu prawidłowego pomiaru. Z tych względów te warstwy naczyniówki przedstawiono jako kompleks RPE-BmCc-błona

odblaskowa, który był najcieńszy w obszarach niezawierających błony odblaskowej i zawierał 7,99 μm .

Zgodnie z badaniami Povazay i in. (2009), w badaniach własnych warstwę MSVL zdefiniowano jako warstwę zawierającą naczynia krwionośne o średnicy $\leq 100 \mu\text{m}$, natomiast LVLS zdefiniowano jako zewnętrzną warstwę naczyniówki zawierającą naczynia o średnicy $\geq 100 \mu\text{m}$. W badaniach własnych zewnętrzną granicę naczyniówki (tj. wewnętrzną powierzchnię twardówki) określono na podstawie weterynaryjnej literatury okulistycznej opisującej budowę histologiczną naczyniówki psa (Kotb i in., 2019) oraz literatury okulistycznej człowieka opisującej metodę pomiaru grubości naczyniówki (Abadia i in., 2018, Steiner i in., 2019, Jin i in., 2016, Sahinoglu-Keskek i in., 2018, Zhao i in., 2020, Uyar i in., 2019, Pinheiro-Costa i in., 2020). Granica naczyniówki była widoczna jako hiperrefleksyjna linia znajdująca się zewnętrznie od warstwy LVLS.

Błona odblaskowa jest opisywana jako zaokrąglona, trójkątna struktura o niewyraźnej granicy. Jej podstawa zwykle styka się z krążkiem nerwu wzrokowego (Yamaue i in., 2014). Centralna część błony odblaskowej psa zawiera strukturę odbijającą światło i składającą się z 15–20 warstw wielokątnych, bogatych w cynk komórek o średniej grubości 3–28 μm (Lesiuk i Breakevelt, 1983). Liczba warstw komórek maleje wraz ze wzrostem odległości od centrum błony odblaskowej. Błona Brucha również ma różną grubość i jest najcieńsza w obszarach zawierających błonę odblaskową (Lesiuk i Breakevelt, 1983). Yamaue i in. (2014) dzięki badaniu histopatologicznemu odkryli, że najgrubsza część błony odblaskowej znajdowała się dogrzebietowo-skroniowo w stosunku do krążka nerwu wzrokowego i miała zróżnicowaną grubość od 20 do 70 μm . Takie warunki anatomiczne mają bezpośredni wpływ na grubość naczyniówki mierzoną metodą SD-OCT. W badaniach własnych, warstwa naczyniówki złożona z nabłonka barwnikowego siatkówki, warstwy choriokapilar, błony Brucha i błony odblaskowej, była najgrubsza w okolicy błony jasnej w regionie dogrzebietowym u psów zdrowych i wynosiła 27,42 μm ulegając ścięczeniu do 10,81 μm w obszarze skroniowym z błoną odblaskową i 9,56 μm w obszarze nosowym z błoną odblaskową (artykuł nr 2). Przyczyną znacznej różnicy w grubości naczyniówki w obszarach nosowym i skroniowym pomiędzy regionami zawierającymi i nie zawierającymi błony odblaskowej, była różnica w grubości warstwy LVLS. Yamaue i in. (2014) zbadali błonę odblaskową psa pod kątem jej makroskopowych zmian i przedstawili histologiczny opis wyników. Z badań tych wynika, że wraz z wiekiem błona stawała się

atypowa. Błonę atypową opisywano jako strukturę o mniejszej powierzchni i bardziej zróżnicowaną pod względem kształtu, konturu i koloru. Atypowa błona odblaskowa miała tendencję do zanikania na obwodzie, zwłaszcza w części nosowej i dobrzuszej. Jednak nasze badanie nie wykazało istotnych różnic związanych z wiekiem grubości RPE-BmCc.

W trakcie badań nad grubością naczyniówki bez różnicowania regionów skroniowego i nosowego na zawierające i niezawierające błony odblaskowej, stwierdzono, że grubość naczyniówki w okolicy skroniowej (T) wynosiła 152 i 151 μm oraz 135 i 132 μm w okolicy nosowej (N) odpowiednio w grupach MA i SN (artykuł nr 1). W trakcie dalszych badań okolicę skroniową i nosową różnicowano na region zawierający i nie zawierający błony odblaskowej (artykuł nr 2). Wykazano, że grubość naczyniówki była istotnie grubsza w okolicy błony jasnej, niż w okolicy błony ciemnej, zarówno w regionie skroniowym, jak i nosowym w grupach MA i SN. Interesujące jest, że, nie było to związane z obecnością błony odblaskowej ze względu na jej nieznaczną grubość w regionie skroniowym z błoną odblaskową oraz nosowym z błoną odblaskową. Badania własne wykazały że warstwy naczyniowe naczyniówki, tj. MSVL i LVLS, były najgrubsze w obszarze skroniowym z błoną odblaskową. Badanie przeprowadzone przez Mowat i in. (2008) u 9 psów rasy beagle wykazało, że *area centralis*, tzw. obszar środkowy znajduje się w punkcie położonym $1,5 \pm 0,2$ mm skroniowo i $0,6 \pm 0,1$ mm dogrzbietowo w stosunku do krążka nerwu wzrokowego, w błonie jasnej. Można przypuszczać, że obszar *area centralis* może być powiązany z większym ukrwieniem poprzez naczynia naczyniówki, co należy poddać dalszym badaniom. W badaniach własnych nie stwierdzono, aby warstwa RPE-BmCc z błoną odblaskową była najgrubsza w okolicy TempT, gdzie znajduje się *area centralis* co jest zgodne z wcześniejszymi badaniami przeprowadzonymi przez Yamaue i in. (2015). W przekrojach histologicznych siatkówki i naczyniówki wykonanych przez Yamaue i in. (2015) obszar siatkówki o największej ostrości widzenia, w tym wypadku pasmo wzrokowe (ang. visual streak), znajdował się w obszarze błony jasnej, ale nie w najgrubszej części błony odblaskowej.

W badaniach własnych wykazano statystycznie istotne różnice między samcami i samicami w okolicy dogrzbietowej i nosowej naczyniówki. U samców grubość naczyniówki była istotnie większa w okolicy dobrzuszej oraz istotnie mniejsza w okolicy nosowej w porównaniu do samic (artykuł nr 1). Dobrze udokumentowano różnice między płciami w grubości naczyniówki mierzonej metodą OCT u ludzi Wang i in. (2018). Autorzy

odkryli, że mężczyźni mieli grubszą naczyniówkę niż kobiety. Sanchez-Cano i in. (2014) stwierdzili podobną grubość naczyniówki zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Związane z płcią różnice w grubości naczyniówki można częściowo wyjaśnić różnicą w statusie hormonów płciowych. Estrogen może wpływać na przepływ krwi w gałce ocznej u kobiet (Centofanti i in., 2000, Deschenes i in., 2010). Może to mieć wpływ na grubość naczyniówki. Ograniczeniem naszych badań był brak danych na temat cyklu rujowego, czy leczenia hormonalnego oraz brak informacji na temat sterylizacji/kastracji przeprowadzanych u psów.

W badaniach Kotb i in. (2019) wykorzystano analizy histomorfometryczne do pomiaru grubości naczyniówki pięciu gałek ocznych uzyskanych od dorosłych, klinicznie zdrowych psów. Jednakże pomiary te przeprowadzono pośmiertnie. Natomiast dzięki pomiarowi grubości naczyniówki *in vivo* przy wykorzystaniu SD-OCT, w badaniach własnych udokumentowano, że grubość naczyniówki *in vivo* jest znacznie większa niż pośmiertna. Średnia grubość pośmiertna naczyniówki u psów wynosiła 49,81 μm (Kotb i in., 2019), natomiast w badaniach własnych stwierdzono, że naczyniówka była najcieńsza w regionie dobrzuszny u psów starszych – średnia 111 μm , a najgrubsza w regionie dogrzbietowym u psów w średnim wieku, osiągając średnio 188 μm .

Jednym z celów badań własnych nad warstwami naczyniówki u psów była ocena ewentualnych, związanych z wiekiem różnic morfometrycznych. Ruiz-Medrano i in. (2017) badali profile naczyniówki w różnych grupach wiekowych w zdrowej populacji ludzkiej. Średnia grubość naczyniówki w okolicy dołka środkowego i średnia grubość warstwy Hallera w różnych grupach wiekowych zmniejszała się stopniowo wraz z wiekiem. Średnia grubość choriokapilar i warstwy Sattlera w okolicy dołka środkowego nie wykazywały u ludzi tej tendencji do postępującego ścięczenia wraz z wiekiem. Kamal Abdellatif i in. (2019) przebadali 125 zdrowych Egipcjan w wieku od 20 do 79 lat. Nabłonek barwnikowy siatkówki o grubości zewnętrznego segmentu fotoreceptorów wykazywał znaczne ścięczenie wraz z wiekiem i zmniejszającą się grubością naczyniówki. Zarówno nabłonek barwnikowy siatkówki z zewnętrznym segmentem fotoreceptorów, jak i całkowita grubość naczyniówki wykazywały istotną statystycznie ujemną korelację z wiekiem. Badania własne nie wykazały różnic grubości naczyniówki związanej z wiekiem. Udokumentowały one statystycznie istotne różnice pomiędzy odpowiednimi obszarami naczyniówki zarówno w grupie psów w średnim wieku (MA), jak i w wieku starszym (SN) (artykuł nr 1).

Naczyniówka psa była najgrubsza w okolicy dogrzebietowej, następnie odpowiednio w okolicy skroniowej i nosowej, a najcieńsza w okolicy dobrzusznej, Nasze wyniki nie wykazały także żadnych różnic w grubości poszczególnych warstw naczyniówki u psów związanych z wiekiem. Nie zaobserwowano istotnych różnic w grubościach RPE-BmCc, MSVL, LVLS i WCT w każdym rejonie naczyniówki pomiędzy grupami psów młodych i psów w średnim wieku (artykuł nr 2).

Badania przeprowadzone przez Xu i in. (2017) wykazały u ludzi wyższy stosunek grubości warstwy małych i średnich naczyń okolicy brodawki nerwu wzrokowego (SMVL) do grubości warstwy dużych naczyń (LVLS) okolicy brodawki nerwu wzrokowego był powiązany ze starszym wiekiem, co sugeruje związane z wiekiem ścieńczenie LVLS u ludzi. Stwierdzono, że stosunek grubości SMVL do LVLS jest istotnie najwyższy w okolicy skroniowej, a najniższy w okolicy nadnosowej, górnej i nosowej (Zhao i in., 2018). Badania własne wykazały, że stosunek grubości MSVL do LVLS u psów nie był powiązany z wiekiem. Porównując wyniki grup MA i SN, stosunek warstw był podobny dla każdego regionu naczyniówkowi (artykuł nr 2).

Grubość naczyniówki zmienia się cyklicznie w ciągu dnia u kurcząt i ludzi (Nickla i in., 1998; Chakraborty i in., 2011). U kurcząt grubość naczyniówki jest największa o północy, a później w nocy zaczyna się zmniejszać (Nickla i in., 1998). Podobnie jak u kur, grubość naczyniówki zwiększa się również u ludzi w ciągu dnia, jak wynika z pomiarów wykonanych między godzinami 9:00 a 21:00. Aby zminimalizować ryzyko dobowych wahań grubości naczyniówki, podczas prowadzenia badań własnych wszystkie pomiary wykonywano w godzinach od 9:00 do 13:00. Ramy czasowe te określono na podstawie doniesień, z których wynikało, że zmiany grubości naczyniówki w tych godzinach były minimalne i wahały się nie więcej niż 3 μm . Natomiast średnia dzienna amplituda zmiany grubości naczyniówki u ludzi wyniosła $0,029 \pm 0,016$ mm (Chakraborty i in., 2011).

W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych dotyczących wpływu medetomidyny na grubość naczyniówki, dlatego też nie jesteśmy w stanie ocenić, w jakim stopniu środek ten mógł wpłynąć na wyniki naszych badań. Wiadomo jednak, że środki znieczulające mogą wpływać na ciśnienie wewnątrzgałkowe (Webb i in., 2018). Badania wykazały, że nie zaobserwowano znaczących zmian ciśnienia wewnątrzgałkowego u psów po 5, 10, 20 i 40 minutach po podaniu medetomidyny (Verbruggen i in, 2000, Kanda i in 2015). Istnieje

korelacja pomiędzy ciśnieniem wewnątrzgałkowym a grubością naczyniówki (Saedi i in., 2014; Wang i in., 2016). Aby zminimalizować wpływ ciśnienia wewnątrzgałkowego na nasze pomiary grubości naczyniówki, badania prowadzono jedynie u psów z ciśnieniem wewnątrzgałkowym wynoszącym 15–20 mmHg. Do badań własnych zastosowano sedację przy użyciu medetomidyny w celu działania uspokajającego co pozwoliło na wykonanie wysokiej jakości skanów w dokładnie określonej odległości od krążka nerwu wzrokowego u wszystkich zwierząt wykorzystanych w badaniach. W praktyce klinicznej badanie SD-OCT jest możliwe do wykonania u spokojnych psów w znieczuleniu miejscowym.

W badaniach dotyczących wpływu medetomidyny w podaniu domięśniowym na układ krążenia oraz układ oddechowy wykazano, że medetomidyna powoduje wzrost średniego ciśnienia tętniczego krwi u psów w porównaniu z wartościami wyjściowymi, aż do 40 minut od momentu podania. Największy wzrost następował bezpośrednio po podaniu w okresie pierwszych 10 minut (Ko i in., 2000). W badaniach własnych u wszystkich psów zastosowano ten sam protokół sedacji, aby wyeliminować możliwość zmian wywołanych znieczuleniem, które mogłyby zaburzyć porównania grubości naczyniówki. Badanie przeprowadzono w okresie od 15 do 30 minut po podaniu medetomidyny.

W przebiegu barwnikowego zwyrodnienia siatkówki (RP), będącego ludzkim odpowiednikiem PRA u psów, dochodzi do zmian grubości naczyniówki w poszczególnych regionach dna oka. W grupie kontrolnej ludzi stwierdzono, że naczyniówka jest najgrubsza w okolicy dołka środkowego, a najcieńsza w okolicy nosowej. Natomiast u pacjentów chorych na RP naczyniówka była najgrubsza w okolicy skroniowej, a najcieńsza w okolicy nosowej (Adhi i in., 2013). W badaniach własnych wykazano, że w przypadku psów chorych na RA podobnie jak u psów zdrowych, całkowita grubość naczyniówki była najgrubsza w regionie skroniowym z błoną odbłaskową, następnie w rejonie dogrzbietowym, a najcieńsza w rejonie dołkowym. Jednocześnie zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie całkowitej grubości naczyniówki we wszystkich obszarach błony ciemnej dna oka. W przypadku oceny skanów siatkówki osób chorujących na RP zgłaszano trudności w rozróżnieniu poszczególnych warstw naczyniówki (Adhi i in. 2013). W grupie kontrolnej osób zdrowych w badaniu obrazowym wyraźnie uwidoczono choriokapilary, naczynia krwionośne średniej i większej średnicy. Tymczasem u pacjentów chorych na RP odróżnienie na skanach choriokapilar od naczyń o średniej średnicy okazało się trudne. Niemniej jednak do oszacowania średnich zmian grubości wykorzystano połączoną grubość obu warstw. Analizy grubości wykazały zmniejszenie grubości warstwy naczyń o większej

średnicy, natomiast grubość choriokapilar w połączeniu z warstwą naczyń średniej średnicy pozostała niezmienną (Adhi i in. 2013). W badaniach własnych poszczególne warstwy naczyńki były nie do odróżnienia w najbardziej zaawansowanych przypadkach RA. Z pomiarów trzeba było wykluczyć psy w zaawansowanym stadium zaniku siatkówki i naczyńki ze względu na brak możliwości pomiaru poszczególnych warstw. Natomiast u pozostałych psów wyniki wykazały zmniejszenie grubości warstwy MSVL we wszystkich analizowanych obszarach. Zmniejszenie grubości warstw LVLS i WCT zarejestrowano jedynie w obszarach błony ciemnej, gdzie również zaobserwowano bardziej zaawansowany zanik siatkówki w porównaniu z obszarami błony jasnej.

Przedstawione badanie nie wyjaśnia, czy zmniejszenie grubości warstw naczyńki było pierwotne czy wtórne w związku z zanikiem siatkówki. Badania wykazały, że w przypadku zaawansowanego zaniku siatkówki obie struktury uległy całkowitemu zanikowi. Zarówno siatkówka, jak i naczyńka są tkankami, których funkcja jest od siebie zależna. Naczyńka syntetyzuje wiele czynników wzrostu zaangażowanych w angiogenezę, takich jak czynnik wzrostu śródbłona naczyniowego (VEGF) i cząsteczki sygnałowe. Stwierdzono, że czynniki troficzne naczyńki są niezbędne do rozwoju i przeżycia neuronów zwoju rzęskowego (Nickla i Wallman 2010). Wykazanie, która struktura uległa zanikowi jako pierwsza i doprowadziła do zaniku drugiej w przypadku RA u psów, wymaga dalszych szczegółowych badań.

Badania przeprowadzone na myszach wykazały szczególne znaczenie czynnika VEGF wytwarzanego w nabłonku barwnikowym siatkówki – zdolnego do dyfuzji przez błonę Brucha – w utrzymaniu naczyńki. U zwierząt wytwarzających jedynie izoformy VEGF o niskiej zdolności przenikania przez błonę Brucha, a nie wytwarzające izoformy zdolne do dyfuzji w kierunku naczyńki, zaobserwowano prawidłowy początkowy rozwój naczyńki. Jednak z biegiem czasu – począwszy od 7. miesiąca życia myszy – notowano zanik choriokapilar, zaburzenia związane z błoną Brucha i nabłonkiem barwnikowym, zwyrodnienie naczyńki i zwiększoną liczbę nieunaczynionych obszarów siatkówki. Doprowadziło to do ostatecznej apoptozy fotoreceptorów, co wykazano w obrazowaniu elektretinograficznym. Ograniczenie cytowanych badań wynikało z faktu, że analizowano w nich jedynie grubość całej naczyńki, bez uwzględnienia jej poszczególnych warstw (Saint-Geniez i in. 2009, Liu i in. 2016). Interesującą obserwacją badań własnych był fakt, że istotne zmniejszenie grubości WCT zarejestrowano jedynie

w obszarach błony ciemnej, gdzie nie występowała błona odblaskowa. W badaniach Lesiuka i Braekevelta (1983) wykazano różnice w grubości błony Brucha pomiędzy poszczególnymi rejonami naczyniówki. W obszarach zawierających błonę odblaskową, błona Brucha była cieńsza w porównaniu do obszarów błony ciemnej. Można przypuszczać, że częstsze występowanie zmian morfometrycznych i morfologicznych naczyniówki w obszarach błony ciemnej może być związane z większą grubością błony Brucha w tej okolicy, a co za tym idzie, jej zmniejszoną przepuszczalnością dla czynników wzrostu wytwarzanych przez nabłonek barwnikowy siatkówki (RPE). Może to być jeden z czynników wpływających na patomechanizm PRA, chociaż potwierdzenie tego wymaga dalszych badań.

Gałęzie fenestrowanych naczyń włosowatych przechodzą przez całą błonę odblaskową. Służą jako łącznik między choriokapilarami a warstwą naczyń średniej średnicy (warstwa Sattlera). Choriokapilary to rozległa sieć naczyń krwionośnych zlokalizowana w pobliżu nabłonka barwnikowego siatkówki. W pobliżu RPE układ tych naczyń różni się pomiędzy obszarami naczyniówki zawierającymi błonę odblaskową, a obszarami, w których jest ona nieobecna. W przypadku obecności błony odblaskowej, choriokapilary zazębiają się o RPE siatkówki, co nie występuje w obszarach błony ciemnej (Lesiuk i Braekevelt, 1983). Jest to kolejny element anatomiczny oka psa, który może potencjalnie odpowiadać za większe nasilenie objawów choroby w obszarach niezawierających błony odblaskowej, co może być powiązane ze znacznym zanikiem naczyniówki zewnętrznej w tych obszarach wykazanim w badaniach własnych (artykuł 3).

10. Wnioski

1. Grubość naczyniówki u psów różni się względem badanego obszaru dna oka niezależnie od wieku.
2. Grubość poszczególnych warstw naczyniówki nie zależy od wieku.
3. Naczyniówka psów samców i samic różni się pod względem grubości w okolicy dobrzuszej i nosowej.
4. U psów rasy mieszanej chorujących na zanik siatkówki w typie postępującego zaniku siatkówki dochodzi do zmniejszenia grubości warstwy naczyń większej średnicy i całkowitej grubości naczyniówki w regionach błony ciemnej dna oka, a także warstwy naczyń o średniej średnicy we wszystkich obszarach dna oka, co może łączyć się z zaburzeniami ukrwienia warstw zewnętrznych siatkówki.

11. Bibliografía

- Abadia B, Suñen I, Calvo P, Bartol F, Verdes G, Ferreras A. Choroidal Thickness Measured Using Swept-Source Optical Coherence Tomography Is Reduced in Patients with Type 2 Diabetes. *PLoS ONE* 2018, 13, e0191977.
- Adhi M, Regatieri CV, Branchini LA, Zhang JY, Alwassia AA, Duker JS. Analysis of the Morphology and Vascular Layers of the Choroid in Retinitis Pigmentosa Using Spectral-Domain OCT. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 2013, 44: 252-259.
- Alizadeh Eghtedar R, Esmaeili M, Peyman A, Akhlaghi, M, Rasta SH. An Update on Choroidal Layer Segmentation Methods in Optical Coherence Tomography Images: A Review. *J Biomed Phys Eng* 2022, 12: 1–20.
- André C, Chaudieu G, Thomas A, Jongh O, Jegou JP, Chahory S, Clerc B, Pilorge P, Brenac O. Hereditary retinopathies in the dog: Genetic fundamentals and genetic tests. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 2008, 43: 75-84.
- Baek J, Cheung CMG, Jeon S, Lee JH, Lee WK. Polypoidal Choroidal Vasculopathy: Outer Retinal and Choroidal Changes and Neovascularization Development in the Fellow Eye. *Investig Ophthalmol Vis. Sci* 2019, 60: 590–598.
- Balicki I, Szadkowski M, Balicka A, Lew M, Trbolova A. Assessment of retinal atrophy in mixed breed dogs using spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) and electroretinography. *Acta Vet Hung* 2024,72:80-98.
- Barnett KC, Curtis R, Millichamp NJ. The differential diagnosis of retinal degeneration in the dog and cat. *J Small Anim Pract* 1983, 24: 663-673.
- Birtel TH, Birtel J, Hess K, Clemens AC, Lindner M, Herrmann P, Holz FG, Gliem M. Analysis of Imaging Biomarkers and Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in RPGR-Associated Retinitis Pigmentosa. *Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 2021, 259: 3597–3604.
- Blair JR, Gaur V, Laedtke TW, Li L, Liu Y, Sheedlo H, Yamaguchi K, Yamaguchi K, Turner JE. In oculo transplantation studies involving the neural retina and its

- pigment epithelium. In: *Progress in Retinal Research*, ed. Osborne NN and Chader GJ, 1991, 10: 69–88. Pergamon Press, Oxford.
- Branchini LA, Adhi M, Regatieri CV, Nandakumar N, Liu JJ, Laver N, Fujimoto JG, Duker JS. Analysis of Choroidal Morphologic Features and Vasculature in Healthy Eyes Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology* 2013, 120: 1901–1908.
- Carpenter CL, Kim AY, Kashani AH. Normative Retinal Thicknesses in Common Animal Models of Eye Disease Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Adv Exp Med Biol* 2018, 1074: 157–166.
- Centofanti M, Bonini S, Manni G, Guinetti-Neuschuler C, Bucci MG, Harris A. Do sex and hormonal status influence choroidal circulation? *Br J Ophthalmol* 2000, 84: 786–787.
- Chakraborty R, Read SA, Collins MJ. Diurnal variations in axial length, choroidal thickness, intraocular pressure, and ocular biometrics. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011, 52: 5121–5129.
- Chen Q, Niu S, Fang W, Shuai Y, Fan W, Yuan S, Liu Q. Automated Choroid Segmentation of Three-Dimensional SD-OCT Images by Incorporating EDI-OCT Images. *Comput. Methods Programs Biomed* 2018, 158: 161–171.
- Chen W, Li Z, Wang Q, Wang Y, Zhang Y. The Role of C-Jun N-Terminal Kinase-1 in Controlling Aquaporin-1 and Choroidal Thickness during Recovery from Form-Deprivation Myopia in Guinea Pigs. *Curr Eye Res* 2021, 46: 885–894.
- De Benedetto U, Pastore MR, Battaglia Parodi M, Bandello F, Pierro L. Retinal involvement in nephrotic syndrome secondary to minimal change disease. *Eur J Ophthalmol* 2012, 5: 843–845.
- Deretic D i Papermaster DS. (1995) The role of small G-proteins in the transport of newly synthesized rhodopsin. *Prog Retin Eye Res* 1995,14: 249–265.
- Deschenes MC, Descovich D, Moreau M, Granger L, Kuchel GA, Mikkola TS, Fick GH, Chemtob S, Vaucher E, Lesk MR. Postmenopausal hormone therapy increases

- retinal blood flow and protects the retinal nerve fiber layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010, 51: 2587–2600.
- Downs LM, Hitti R, Pregolato S, Mellersh CS. Genetic screening for PRA - associated mutations in multiple dog breeds shows that PRA is heterogeneous within and between breeds. *Vet Ophthalmol* 2014, 17: 126-130.
- Dubielzig RR, Ketring KL, McLellan GJ, Albert DM, Davis FA. (2010): The retina. W: *Veterinary Ocular Pathology: A Comparative Review*. Elsevier Saunders, Edinburgh. str. 351–353.
- Ekesten B, Komáromy AM, Ofri R, Petersen-Jones SM, Narfström K. Guidelines for clinical electroretinography in the dog: 2012 update. *Doc Ophthalmol* 2013, 127: 79-87.
- Esmaelpour M, Kajic V, Zabihian B, Othara R, Ansari-Shahrezaei S, Kellner L, Krebs I, Nemetz S, Kraus MF, Hornegger J, Fujimoto JG, Drexler W, Binder S. Choroidal Haller's and Sattler's layer thickness measurement using 3-dimensional 1060-nm optical coherence tomography. *PLoS One* 2014, 9:e99690.
- Fick CM, Dubielzig RR. Short posterior ciliary artery anatomy in normal and acutely glaucomatous dogs. *Vet Ophthalmol* 2016, 19: 43-49.
- Finzi A, Cellini M, Strobbe E, Campos EC. ET-1 plasma levels, choroidal thickness and multifocal electroretinogram in retinitis pigmentosa. *Life Sci* 2014, 118: 386-390.
- Fortney WD. Implementing a successful senior/geriatric health care program for veterinarians, veterinary technicians, and office managers. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2012, 42: 823–834.
- Gabriele ML, Wollstein G, Ishikawa H, Kagemann L, Xu J, Folio LS, Schuman JS. Optical coherence tomography: history, current status and laboratory work. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011, 52: 2425–2436.
- Gouras P, Du J, Kjeldbye H, Yamamoto S, Zack DJ. Long-term photoreceptor transplants in dystrophic and normal mouse retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994, 35: 3145–3153

- Graham KL, McCowan CI, Caruso K, Billson FM, Whittaker CJG, White A. Optical Coherence Tomography of the Retina, Nerve Fiber Layer, and Optic Nerve Head in Dogs with Glaucoma. *Vet Ophthalmol* 2020, 23: 97–112.
- Grozdanic SD, Lazic T, Kecova H, Mohan K, Kuehn MH. Optical Coherence Tomography and Molecular Analysis of Sudden Acquired Retinal Degeneration Syndrome (SARDS) Eyes Suggests the Immune-Mediated Nature of Retinal Damage. *Vet Ophthalmol* 2019, 22: 305–327.
- Hanumunthadu D, van Dijk EHC, Dumpala S, Rajesh B, Jabeen A, Jabeen A, Ansari M, Mehta P, Shah S, Sarvaiya C, Meyerle C, Wu L, Banker A, Boon CJ, Chhablani J. Evaluation of Choroidal Layer Thickness in Central Serous Chorioretinopathy. *J Ophthalmic Vis Res* 2019, 14: 164–170.
- Hassanpoor N, Milani AE, Kordestani A, Niyousha MR. Analysis of Retinal Layers' Thickness and Vascular Density after Successful Scleral Buckle Surgery. *J Curr Ophthalmol* 2021, 33: 304–309.
- Jin P, Zou H, Zhu J, Xu X, Jin J, Chang TC, Lu L, Yuan H, Sun S, Yan B, He J, Wang M, He X. Choroidal and Retinal Thickness in Children With Different Refractive Status Measured by Swept-Source Optical Coherence Tomography. *Am J Ophthalmol* 2016, 168: 164–176.
- Jnawali A, Beach KM, Ostrin LA. In Vivo Imaging of the Retina, Choroid, and Optic Nerve Head in Guinea Pigs. *Curr Eye Res* 2018, 43: 1006–1018.
- Kamal Abdellatif M, Abdelmaguid Mohamed Elzankalony Y, Abdelmonsef Abdelhamid Ebeid A, Mohamed Ebeid W. Outer Retinal Layers' Thickness Changes in Relation to Age and Choroidal Thickness in Normal Eyes. *J Ophthalmol* 2019, 2019: 1698967.
- Kanda T, Iguchi A, Yoshioka C, Nomura H, Higashi K, Kaya M, Yamamoto R, Kuramoto T, Furukawa T. Effects of medetomidine and xylazine on intraocular pressure and pupil size in healthy Beagle dogs. *Vet Anaesth Analg* 2015, 42: 623–628.
- Kim SW, Oh J, Kwon SS, Yoo J, Huh K. Comparison of choroidal thickness among patients with healthy eyes, early age-related maculopathy, neovascular age-related

- macular degeneration, central serous chorioretinopathy, and polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina* 2011,9: 1904–1911.
- Ko JC, Fox SM, Mandsager RE. Sedative and cardiorespiratory effects of medetomidine, medetomidinebutorphanol, and medetomidine-ketamine in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2000, 216: 1578–1583.
- Korte GE, Reppucci V, Henkind P. RPE Destruction Causes Choriocapillary Atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1984, 25: 1135-1145.
- Kotb AM, Ibrahim IA, Aly KH, Zayed AE. Histomorphometric Analysis of the Choroid of Donkeys, Buffalos, Camels and Dogs. *Int Ophthalmol* 2019, 39: 1239–1247.
- Lesiuk TP, Braekevelt CR. Fine structure of the canine tapetum lucidum. *J Anat* 1983, 136: 157-164.
- Li T, Zhou XD, Luo X, Jiang B. Optical Coherence Tomography and Histologic Measurements of Retinal and Choroidal Thicknesses in Guinea Pig Eyes. *Int J Clin Exp Med* 2016, 9: 7080–7087.
- Li XQ, Jeppesen P, Larsen M, Munch IC. Subfoveal choroidal thickness in 1323 children aged 11 to 12 years and association with puberty: the Copenhagen Child Cohort 2000 Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014, 55: 550–555.
- Liu G, Liu X, Li H, Du Q, Wang F. Optical Coherence Tomographic Analysis of Retina in Retinitis Pigmentosa Patients. *Ophthalmic Res* 2016,56: 111-122.
- Maggs D, Miller P, Ofri R (2017). W: Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology (wydanie 6). Elsevier Health Sciences, St. Louis, str. 362-372.
- Masood S, Fang R, Li P, Li H, Sheng B, Mathavan A, Wang X, Yang P, Wu Q, Qin J, Jia W. Publisher Correction: Automatic Choroid Layer Segmentation from Optical Coherence Tomography Images Using Deep Learning. *Sci Rep* 2019, 9: 19381.
- McLellan, G. J. and Narfstrom, K. (2014): The fundus. W: Gould, D. and McLellan, G. (red.) *Manual of Canine and Feline Ophthalmology*. BSAVA, Quedgeley. str. 322–356.

- Milam AH, Li ZY, Fariss RN. Histopathology of the Human Retina in Retinitis Pigmentosa. *Prog Retin Eye Res* 1998, 17: 175-205.
- Mischi E, Soukup P, Harman CD, Oikawa K, Kowalska ME, Hartnack S, McLellan GJ, Komáromy AM, Pot SA. Outer retinal thickness and visibility of the choriocapillaris in four distinct retinal regions imaged with spectral domain optical coherence tomography in dogs and cats. *Vet. Ophthalmol* 2022, 25: 122–135.
- Mowat FM, Petersen-Jones SM, Williamson H, Williams DL, Luthert PJ, Ali RR, Bainbridge JW. Topographical characterization of cone photoreceptors and the area centralis of the canine retina. *Mol Vis* 2008, 14: 2518–2527.
- Murthy RK, Haji S, Sambhav K, Grover S, Chalam KV. Clinical applications of spectral domain optical coherence tomography in retinal diseases. *Biomed J* 2016, 39: 107–120.
- Nickla DL, Wildsoet C, Wallman J. Visual influences on diurnal rhythms in ocular length and choroidal thickness in chick eyes. *Exp Eye Res* 1998, 66: 163–181.
- Nickla DL, Wallman J. The Multifunctional Choroid. *Prog Retin Eye Res* 2010, 29: 144–168.
- Occelli LM, Pasmanter N, Ayoub EE, Petersen-Jones SM. Changes in retinal layer thickness with maturation in the dog: an in vivo spectral domain–optical coherence tomography imaging study. *BMC Vet Res* 2020, 16: 225.
- Ofri, R. (2018): Diseases of the retina. W: Maggs, D., Miller, P. and Ofri, R. (red.) *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. Elsevier Saunders, Philadelphia. str. 347–389.
- Oh JK, Nuzbrokh Y, Lima de Carvalho JR Jr, Ryu J, Tsang SH. Optical coherence tomography in the evaluation of retinitis pigmentosa. *Ophthalmic Genet* 2020, 41: 413-419.
- Ollivier FJ, Samuelson DA, Brooks DE, Lewis PA, Kallberg ME, Komáromy AM. Comparative morphology of the tapetum lucidum (among selected species). *Vet Ophthalmol* 2004, 7:11-22.

- Osinchuk SC, Leis ML, Salpeter EM, Sandmeyer LS, Grahn BH. Evaluation of Retinal Morphology of Canine Sudden Acquired Retinal Degeneration Syndrome Using Optical Coherence Tomography and Fluorescein Angiography. *Vet Ophthalmol* 2019, 22: 398–406.
- Pinheiro-Costa J, Correia PJ, Pinto JV, Alves H, Torrão L, Moreira R, Falcão M, Carneiro Â, Madeira MD, Falcão-Reis F. Increased choroidal thickness is not a disease progression marker in keratoconus. *Sci Rep* 2020, 10: 19938.
- Poornachandra B, Khurana AK, Sridharan P, Chatterjee P, Jayadev C, Yadav NK, Shetty R. Quantifying microstructural changes in retinitis pigmentosa using spectral domain - optical coherence tomography. *Eye Vis (Lond)* 2019, 6: 13.
- Povazay B, Hermann B, Hofer B, Kajić V, Simpson E, Bridgford T, Drexler W. Wide-Field Optical Coherence Tomography of the Choroid in Vivo. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2009, 50: 1856–1863.
- Roy R, Saurabh K, Vyas C, Deshmukh K, Sharma P, Chandrasekharan DP, Bansal A. Choroidal Haller’s and Sattler’s Layers Thickness in Normal Indian Eyes. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2018, 25: 19–24.
- Ruiz-Medrano J, Flores-Moreno I, Peña-García P, Montero JA, García-Feijóo J, Duker JS, Ruiz-Moreno JM. Analysis of age-related choroidal layers thinning in healthy eyes using swept-source optical coherence tomography. *Retina* 2017, 37: 1305–1313.
- Ruiz-Moreno JM, Flores-Moreno I, Lugo F, Ruiz-Medrano J, Montero JA, Akiba M. Macular choroidal thickness in normal pediatric population measured by sweptsource optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013, 54: 353–359.
- Saeedi O, Pillar A, Jefferys J, Arora K, Friedman D, Quigley H. Change in choroidal thickness and axial length with change in intraocular pressure after trabeculectomy. *Br J Ophthalmol* 2014, 98: 976–979.
- Sahinoglu-Keskek N, Canan H. Effect of Latanoprost on Choroidal Thickness. *J Glaucoma* 2018, 27: 635–637.

- Saint-Geniez M, Kurihara T, Sekiyama E, Maldonado AE, D'Amore PA. An essential role for RPE-derived soluble VEGF in the maintenance of the choriocapillaris. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009, 106: 18751-18756
- Samuelson, D. A. (2013): *Ophthalmic anatomy*. W: Gelatt, K. N., Gilger, B. B. and Kern T. J. (red.) *Veterinary Ophthalmology*. John Wiley & Sons, New York City. Str. 106–114.
- Sanchez-Cano A, Orduna E, Segura F, Lopez C, Cuenca N, Abecia E, Pinilla I. Choroidal thickness and volume in healthy young white adults and the relationships between them and axial length, ametropia and sex. *Am J Ophthalmol* 2014, 158: 574–583.
- Schuschereba ST i Silverman MS. Retinal cell and photoreceptor transplantation between adult New Zealand red rabbit retinas. *Exp Neurol* 199, 115: 95–99.
- Shao L, Xu L, Zhang JS, You QS, Chen CX, Wang YX, Jonas JB, Wei WB. Subfoveal choroidal thickness and cataract: The Beijing Eye Study 2011. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015, 56: 810–815.
- Shintani K, Shechtman DL, Gurwood AS. Review and update: Current treatment trends for patients with retinitis pigmentosa. *Optometry* 2009, 80: 384-401.
- Singh SR, Invernizzi A, Rasheed MA, Cagini C, Goud A, Gujar R, Pandey P, Vupparaboina KK, Cozzi M, Lupidi M, Chhablani J. Wide-Field Individual Retinal Layer Thickness in Healthy Eyes. *Eur J Ophthalmol* 2021, 31: 1970–1977.
- Sohrab M, Wu K, Fawzi AA. A Pilot Study of Morphometric Analysis of Choroidal Vasculature in Vivo, Using En Face Optical Coherence Tomography. *PLoS ONE* 2012, 7: e48631.
- Soukup P, Maloca P, Altmann B, Festag M, Atzpodien EA, Pot S. Interspecies Variation of Outer Retina and Choriocapillaris Imaged With Optical Coherence Tomography. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2019, 60: 3332–3342.
- Staurengi G, Sadda S, Chakravarthy U, Spaide RF. International Nomenclature for Optical Coherence Tomography (IN•OCT) Panel. Proposed Lexicon for Anatomic Landmarks in Normal Posterior Segment Spectral-Domain Optical Coherence Tomography: The IN•OCT Consensus. *Ophthalmology* 2014, 121: 1572–1578.

- Steiner M, Esteban-Ortega MDM, Muñoz-Fernández S. Choroidal and retinal thickness in systemic autoimmune and inflammatory diseases: A review. *Surv. Ophthalmol* 2019, 64: 757–769.
- Uyar E, Dogan U, Ulas F, Celebi S. Effect of fasting on choroidal thickness and its diurnal variation. *Curr Eye Res* 2019, 44: 695–700.
- Verbruggen AM, Akkerdaas LC, Hellebrekers LJ, Stades FC. The effect of intravenous medetomidine on pupil size and intraocular pressure in normotensive dogs. *Vet Q* 2000, 22: 179–180.
- Wallman J, Wildsoet C, Xu A, Gottlieb M, Nickla D, Marran L, Krebs W, Christensen A. Moving the retina: Choroidal modulation of refractive state. *Vision Res* 1995, 35: 37–50.
- Wang W, He M, Zhong X. Sex-dependent choroidal thickness differences in healthy adults: A study based on original and synthesized data. *Curr Eye Res* 2018, 43: 796–803.
- Wang YX, Jiang R, Ren XL, Chen JD, Shi HL, Xu L, Wei WB, Jonas JB. Intraocular pressure elevation and choroidal thinning. *Br J Ophthalmol*. 2016, 100: 1676–1681.
- Webb TR, Wyman M, Smith JA, Ueyama Y, Muir WW. Effects of propofol on intraocular pressure in premedicated and nonpremedicated dogs with and without glaucoma. *J Am Vet Med Assoc* 2018, 257: 823–829.
- Whitmore SS, Sohn EH, Chirco KR, Drack AV, Stone EM, Tucker BA, Mullins RF. Complement Activation and Choriocapillaris Loss in Early AMD: Implications for Pathophysiology and Therapy. *Prog Retin Eye Res* 2015, 45: 1–29.
- Xu J, Wang YX, Jiang R, Wei WB, Xu L, Jonas JB. Peripapillary Choroidal Vascular Layers: The Beijing Eye Study. *Acta Ophthalmol* 2017, 95: 619–628.
- Yamaue Y, Hosaka YZ, Uehara M. Macroscopic and Histological Variations in the Cellular Tapetum in Dogs. *J Vet Med Sci* 2014, 76: 1099–1103.
- Yamaue Y, Hosaka YZ, Uehara M. Spatial relationships among the cellular tapetum, visual streak and rod density in dogs. *J Vet Med Sci* 2015, 77: 175–179.

- Yu T, Xie X, Wei H, Shen H, Wu Q, Zhang X, Ji H, Tian Q, Song J, Bi H. Choroidal Changes in Lens-Induced Myopia in Guinea Pigs. *Microvasc Res* 2021, 138: 104213.
- Zhang S, Zhang G, Zhou X, Xu R, Wang S, Guan Z, Lu J, Srinivasalu N, Shen M, Jin Z, Qu J, Zhou X. Changes in Choroidal Thickness and Choroidal Blood Perfusion in Guinea Pig Myopia. *Investig. Ophthalmol. Vis Sci* 2019, 60: 3074–3083.
- Zhao M, Alonso-Caneiro D, Lee R, Cheong AMY, Yu WY, Wong HY, Lam AKC. Comparison of Choroidal Thickness Measurements Using Semiautomated and Manual Segmentation Methods. *Optom Vis Sci Off Publ Am Acad Optom* 2020, 97; 121–127.
- Zhu D, Wang Y, Zheng YF, Yang DY, Guo K, Yang XR, Jing XX, Wong IY, You QS, Tao Y, Jonas JB. Choroidal thickness in school children: The Gobi Desert Children Eye Study. *PLoS One* 2017, 12: e0179579.



Jowita Zwolska <jowita.zwolska@gmail.com>

[IJERPH] Manuscript ID: ijerph-2068340 - Final Check

Minerva Apetean <apetean@mdpi.com>

13 lutego 2023 10:56

Do: jowita.zwolska@gmail.com, balicki.ireneusz@gmail.com, agnieszka.a.balicka@gmail.com

CC: ijerph@mdpi.com

Dear Authors,

Congratulations on the publication of your article.

Please check the online version to make sure it is correct, especially Author Names, Affiliations, Figures, Equations, Funding Information, etc. If you would like to correct any information, please contact us within 24 hours. Once the paper is released, changes will be impossible.

Have a nice day.

Kind regards,

Miss Minerva Apetean
Section Managing Editor
E-Mail: apetean@mdpi.com
MDPI Open Access Publishing Romania
Avram Iancu 454, 407280 Floresti, Cluj, Romania
Website: <https://www.mdpi.com/>
Tel.: +40 0364 150134

We are pleased to announce that IJERPH has been ranked with an improved Impact Factor of 4.614.

Please follow us on LinkedIn, Twitter and Facebook for more information:

<https://lnkd.in/gdNY7i6s>

https://twitter.com/IJERPH_MDPI

<https://www.facebook.com/IJERPH>

IJERPH (IF: 4.614, ISSN 1660-4601) is recruiting:

- Volunteer Reviewers

<https://susy.mdpi.com/volunteer/journals/review>

- Topical Advisory Panel

https://www.mdpi.com/journal/ijerph/topical_advisory_panel_application

Disclaimer: The information contained in this message is confidential and intended solely for the use of the individual or entity to whom they are addressed. If you have received this message in error, please inform us by an email reply and then delete the message. You may not copy this message in its entirety or in part, or disclose its contents to anyone.



Jowita Zwolska <jowita.zwolska@gmail.com>

[IJERPH] Manuscript ID: ijerph-2068340 - Journal Indexing Status Update

IJERPH Editorial Office <ijerph@mdpi.com>

21 marca 2023 15:08

Odpowiedź do: apetean@mdpi.com

Do: Ireneusz Balicki <balicki.ireneusz@gmail.com>

CC: Jowita Zwolska <jowita.zwolska@gmail.com>, Agnieszka Balicka <agnieszka.a.balicka@gmail.com>, IJERPH Editorial Office <ijerph@mdpi.com>

Dear Author,

We regret to inform you that Clarivate has provided us with the decision on 15th March 2023 that they have discontinued their coverage of IJERPH in Web of Science. The Web of Science Core collection is a dynamic collection and Clarivate periodically re-evaluates journals indexed within their collections. Any journal that no longer meets their criteria is removed from coverage. MDPI is currently in the appeals process with Clarivate.

As per Clarivate's policy, any content that has not been indexed at the time the re-evaluation started won't be backfilled. Should the appeal have a negative outcome, we are sorry to inform you that Web of Science database will not index your paper (10.3390/ijerph20043121) published.

We are currently engaging in discussions with Clarivate on this matter and are hopeful that this outcome can be avoided.

We will keep you updated on the final decision of the appeals.

Kind regards,

Miss Minerva Apetean
Section Managing Editor
Email: apetean@mdpi.com
MDPI Open Access Publishing Romania
Avram Iancu 454, 407280 Floresti, Cluj, Romania
Website: <https://www.mdpi.com/>
Tel.: +40 0364 150134

Disclaimer: MDPI recognizes the importance of data privacy and protection. We treat personal data in line with the General Data Protection Regulation (GDPR) and with what the community expects of us. The information contained in this message is confidential and intended solely for the use of the individual or entity to whom they are addressed. If you have received this message in error, please notify me and delete this message from your system. You may not copy this message in its entirety or in part, or disclose its contents to anyone.



Jowita Zwolska <jowita.zwolska@gmail.com>

[IJERPH] Manuscript ID: ijerph-2068340 - Final Evaluation Result from Clarivate

ijerph <ijerph@mdpi.com>

20 czerwca 2023 11:33

Do: agnieszka.a.balicka@gmail.com, balicki.ireneusz@gmail.com, jowita.zwolska@gmail.com

Dear Author,

On Thursday 15th June, we received the final evaluation result from Clarivate regarding our appeal. Unfortunately, our appeal was unsuccessful, and their decision remains unchanged:

"We have reviewed the documentation, including the explanation regarding the content relevance of the example papers, and are upholding the original decision to discontinue coverage of International Journal of Environmental Research and Public Health in Web of Science."

As per Clarivate's policy, any content that has not been indexed at the time when re-evaluation begins will not be backfilled. We are sorry to inform you that the Web of Science database will not index your paper (DOI number: 10.3390/ijerph20043121).

Please note that, we are planning an EIC Meeting in July, during which we will review the journal, clarify its aim and scope, and determine the direction of our work for the next two years. Our ultimate goal is to refocus our efforts and ensure that the journal is in prime condition for resubmission to the Web of Science database.

Should you have any further questions, please feel free to contact us.

--

Kind regards,

Ms. Mandy Li
Managing Editor
MDPI (Beijing)
Floor 9-14, Poly Metropolitan Building 2,
Courtyard 4, Guanyinan North Street,
Tongzhou District
101101 Beijing, China
Tel. +86 10 69543724
www.mdpi.com

The information and files contained in this message are confidential and intended solely for the use of the individual or entity to whom they are addressed. If you have received this message in error, please notify me and delete this message from your system. You may not copy this message in its entirety or in part, or disclose its contents to anyone.

KOMUNIKAT
MINISTRA EDUKACJI I NAUKI¹⁾

z dnia 21 grudnia 2021 r.

**o zmianie i sprostowaniu komunikatu w sprawie wykazu czasopism naukowych
i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych**

Na podstawie art. 267 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478, 619, 1630, 2141 i 2232) ogłasza się, co następuje:

W komunikacie Ministra Edukacji i Nauki z dnia 1 grudnia 2021 r. w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych w załączniku do komunikatu wprowadza się następujące zmiany:

1) niżej wymienione pozycje otrzymują brzmienie:

8890	8892	International Journal of Environmental Research and Public Health 1660-4601 (International Journal of Environmental Research and Public Health 1661-7827 1660-4601)	140	architektura i urbanistyka; inżynieria lądowa i transport; inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka; nauki farmaceutyczne; nauki medyczne; nauki o kulturze fizycznej; nauki o zdrowiu; nauki leśne; rolnictwo i ogrodnictwo; technologia żywności i żywienia; weterynaria; geografia społeczno-ekonomiczna i gospodarka przestrzenna; nauki o zarządzaniu i jakości; nauki prawne; nauki biologiczne; nauki chemiczne;
------	------	--	-----	---

KOMUNIKAT
MINISTRA EDUKACJI I NAUKI¹⁾

z dnia 17 lipca 2023 r.

w sprawie wykazu czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych

Na podstawie art. 267 ust. 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 r. poz. 742, 1088 i 1234) ogłasza się wykaz czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych, stanowiący załącznik do komunikatu.

MINISTER EDUKACJI I NAUKI

8889	8892	International Journal of Environmental Research and Public Health 1660-4601 1660-4601 (1661-7827)	20	architektura i urbanistyka; inżynieria lądowa, geodezja i transport; inżynieria środowiska, górnictwo i energetyka; biologia medyczna; nauki farmaceutyczne; nauki medyczne; nauki o kulturze fizycznej; nauki o zdrowiu; nauki leśne; rolnictwo i ogrodnictwo; technologia żywności i żywienia; geografia społeczno-ekonomiczna i gospodarka przestrzenna; nauki o zarządzaniu i jakości; nauki prawne; biotechnologia; nauki biologiczne; nauki chemiczne; weterynaria;
------	------	---	----	--

lek. wet. Jowita Zwolska

Lublin, 12.09.2024

jowita.zwolska@up.lublin.pl

**Rada Dyscypliny Weterynaria
Uniwersytetu Przyrodniczego
w Lublinie**

Oświadczenie o współautorstwie

1. Zwolska Jowita, Szadkowski Mateusz, Balicka Agnieszka, Balicki Ireneusz, 2021, Morphometrical analysis of the canine choroid in relation to age and sex using spectral domain optical coherence tomography, Acta Veterinaria Hungarica, Tom 69 Numer 3, s. 266-273.

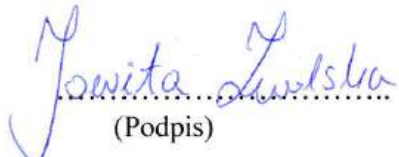
Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na: inicjatywa badań, twórca hipotezy badawczej, opracowanie metodyki; realizacja badań (założenie badań, wykonanie poszczególnych etapów badań); analiza i opracowanie wyników, sformułowanie wniosków; napisanie pierwszej wersji manuskryptu; redakcja publikacji. Mój procentowy udział w powstaniu artykułu wynosi 70 %.

2. Zwolska Jowita, Balicki Ireneusz, Balicka Agnieszka, 2023, Morphological and morphometric analysis of canine choroidal layers using spectral domain optical coherence tomography, International Journal of Environmental Research and Public Health, Tom 20 Numer 4, s. 3121.

Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na: inicjatywa badań, twórca hipotezy badawczej, opracowanie metodyki; realizacja badań (założenie badań, wykonanie poszczególnych etapów badań); analiza i opracowanie wyników, sformułowanie wniosków; napisanie pierwszej wersji manuskryptu; redakcja publikacji. Mój procentowy udział w powstaniu artykułu wynosi 75 %.

3. Zwolska Jowita, Balicki Ireneusz, Balicka Agnieszka, Kuduk Barbara, 2024, Morphometric assessment of the choroid in dogs diagnosed with retinal atrophy (RA) with symptoms of progressive retinal atrophy, using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT), Polish Journal of Veterinary Sciences, Tom 27 Numer 2, s. 261-270.

Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na: inicjatywa badań, twórca hipotezy badawczej, opracowanie metodyki; realizacja badań (założenie badań, wykonanie poszczególnych etapów badań); analiza i opracowanie wyników, sformułowanie wniosków; napisanie pierwszej wersji manuskryptu; redakcja publikacji. Mój procentowy udział w powstaniu artykułu wynosi 80 %.


(Podpis)

prof. dr hab. Ireneusz Balicki

balicki.ireneusz@gmail.com

Lublin, 12.09.2024

**Rada Dyscypliny Weterynaria
Uniwersytetu Przyrodniczego
w Lublinie**

Oświadczenie o współautorstwie

1. Zwolska Jowita, Szadkowski Mateusz, Balicka Agnieszka, Balicki Ireneusz, 2021, Morphometrical analysis of the canine choroid in relation to age and sex using spectral domain optical coherence tomography, Acta Veterinaria Hungarica, Tom 69 Numer 3, s. 266-273.

Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na: współtworzeniu koncepcji badań, nadzorze badań, pomocy w interpretacji wyników, redagowaniu manuskryptu, zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji. Mój procentowy udział w powstaniu artykułu wynosi 15 %.

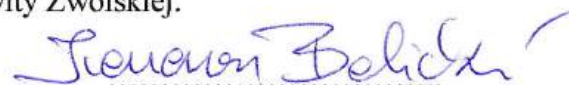
2. Zwolska Jowita, Balicki Ireneusz, Balicka Agnieszka, 2023, Morphological and morphometric analysis of canine choroidal layers using spectral domain optical coherence tomography, International Journal of Environmental Research and Public Health, Tom 20 Numer 4, s. 3121.

Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na: współtworzeniu koncepcji badań, nadzorze badań, pomocy w interpretacji wyników, redagowaniu manuskryptu, zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji. Mój procentowy udział w powstaniu artykułu wynosi 15 %.

3. Zwolska Jowita, Balicki Ireneusz, Balicka Agnieszka, Kuduk Barbara, 2024, Morphometric assessment of the choroid in dogs diagnosed with retinal atrophy (RA) with symptoms of progressive retinal atrophy, using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT), Polish Journal of Veterinary Sciences, Tom 27 Numer 2, s. 261-270.

Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na: współtworzeniu koncepcji badań, nadzorze badań, pomocy w interpretacji wyników, redagowaniu manuskryptu, zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji. Mój procentowy udział w powstaniu artykułu wynosi 15 %.

Wyrażam zgodę na wykorzystanie niniejszej publikacji w opracowaniu pt. „Badania nad obrazowaniem naczyńówki u psów przy użyciu optycznej koherentnej tomografii (SD-OCT)” stanowiącym rozprawę doktorską Pani lek. wet. Jowity Zwolskiej.



(Podpis)

dr. n. wet. Agnieszka Balicka
agnieszka.a.balicka@gmail.com

Lublin, 12.09.2024

Rada Dyscypliny Weterynaria
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Oświadczenie o współautorstwie

1. Zwolska Jowita, Szadkowski Mateusz, Balicka Agnieszka, Balicki Ireneusz, 2021, Morphometrical analysis of the canine choroid in relation to age and sex using spectral domain optical coherence tomography, Acta Veterinaria Hungarica, Tom 69 Numer 3, s. 266-273.

Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na: współtworzeniu koncepcji badań, pomocy w prowadzeniu badań, zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji. Mój procentowy udział w powstaniu artykułu wynosi 5 %.

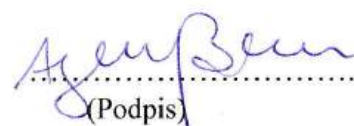
2. Zwolska Jowita, Balicki Ireneusz, Balicka Agnieszka, 2023, Morphological and morphometric analysis of canine choroidal layers using spectral domain optical coherence tomography, International Journal of Environmental Research and Public Health, Tom 20 Numer 4, s. 3121

Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na: współtworzeniu koncepcji badań, pomocy w prowadzeniu badań, zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji. Mój procentowy udział w powstaniu artykułu wynosi 10 %.

3. Zwolska Jowita, Balicki Ireneusz, Balicka Agnieszka, Kuduk Barbara, 2024, Morphometric assessment of the choroid in dogs diagnosed with retinal atrophy (RA) with symptoms of progressive retinal atrophy, using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT), Polish Journal of Veterinary Sciences, Tom 27 Numer 2, s. 261-270.

Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na: współtworzeniu koncepcji badań, pomocy w prowadzeniu badań, zatwierdzeniu ostatecznej wersji publikacji. Mój procentowy udział w powstaniu artykułu wynosi 5 %.

Wyrażam zgodę na wykorzystanie niniejszych publikacji w opracowaniu pt. „Badania nad obrazowaniem naczyńówki u psów przy użyciu optycznej koherentnej tomografii (SD-OCT)” stanowiącym rozprawę doktorską Pani lek. wet. Jowity Zwolskiej.


(Podpis)

Lublin, 12.09.2024

lek. wet. Mateusz Szadkowski
matszadkowski@gmail.com

**Rada Dyscypliny Weterynaria
Uniwersytetu Przyrodniczego
w Lublinie**

Oświadczenie o współautorstwie

Zwolska Jowita, Szadkowski Mateusz, Balicka Agnieszka, Balicki Ireneusz, 2021,
Morphometrical analysis of the canine choroid in relation to age and sex using spectral
domain optical coherence tomography, Acta Veterinaria Hungarica, Tom 69 Numer 3, s. 266-
273.

Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na:
uczestnictwie w prowadzeniu badań, pomocy w interpretacji niektórych wyników,
zatwierdzeniu ostatecznej wersji manuskryptu, korespondencji z redakcją. Mój procentowy
udział w powstaniu artykułu wynosi 10 %.

Wyrażam zgodę na wykorzystanie niniejszej publikacji w opracowaniu pt. „Badania nad
obrazowaniem naczyńówki u psów przy użyciu optycznej koherentnej tomografii (SD-
OCT)” stanowiącym rozprawę doktorską Pani lek. wet. Jowity Zwolskiej.

Mateusz Szadkowski

(Podpis)

Lublin, 12.09.2024

lek. wet. Barbara Kuduk
kuduk.basia@gmail.com

**Rada Dyscypliny Weterynaria
Uniwersytetu Przyrodniczego
w Lublinie**

Oświadczenie o współautorstwie

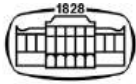
Zwolska Jowita, Balicki Ireneusz, Balicka Agnieszka, Kuduk Barbara, 2024, Morphometric assessment of the choroid in dogs diagnosed with retinal atrophy (RA) with symptoms of progressive retinal atrophy, using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT), Polish Journal of Veterinary Sciences, Tom 27 Numer 2, s. 261-270.

Niniejszym oświadczam, że mój indywidualny udział w powstaniu pracy polegał na: pomocy w interpretacji wyników oraz redagowaniu manuskryptu. Mój procentowy udział w powstaniu artykułu wynosi 5 %.

Wyrażam zgodę na wykorzystanie niniejszej publikacji w opracowaniu pt. „Badania nad obrazowaniem naczyniówki u psów przy użyciu optycznej koherentnej tomografii (SD-OCT)” stanowiącym rozprawę doktorską Pani lek. wet. Jowity Zwolskiej.



(Podpis)




AKADÉMIAI KIADÓ

Morphometrical analysis of the canine choroid in relation to age and sex using spectral domain optical coherence tomography

Acta Veterinaria
Hungarica

69 (2021) 3, 266–273

DOI:
10.1556/004.2021.00040
© 2021 Akadémiai Kiadó, Budapest

JOWITA ZWOLSKA¹, MATEUSZ SZADKOWSKI^{1*} ,
AGNIESZKA BALICKA² and IRENEUSZ BALICKI¹

¹ Department and Clinic of Animal Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 13, 20-950 Lublin, Poland

² Small Animal Clinic, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Košice, Slovakia

Received: 29 January 2021 • Accepted: 12 September 2021

Published online: 24 September 2021

RESEARCH ARTICLE



ABSTRACT

This study determined the choroidal thickness of senior (SN, $n = 24$) and middle-aged (MA, $n = 17$) healthy, mixed-breed mesocephalic dogs, both males (M) and females (F), using spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT). The dogs were divided into two groups for examination: MA dogs (4–7 years old; 6 M, 11 F) and SN dogs (8–13 years old; 12 M, 12 F). Choroidal thickness of the dogs was investigated using SD-OCT radial and linear scans. The software of the device allowed determination of the exact measurement location on the choroid. Measurements of the choroid were taken manually using the SD-OCT calliper function at distances of 5,000–6,000 μm (dorsal and ventral) and 4,000–7,000 μm (nasal and temporal) from the optic disc. Mean ($\mu\text{m} \pm \text{SD}$) (MA, SN) dorsal (188 ± 28 , 184 ± 33), ventral (116 ± 23 , 111 ± 16), temporal (152 ± 31 , 151 ± 26), and nasal (135 ± 27 , 132 ± 18) choroidal thicknesses demonstrated significant differences ($P < 0.02$ – 0.001) between all areas within each group. The choroid was thickest in the dorsal region and thinnest in the ventral region. There were no significant differences based on age. Mean ($\mu\text{m} \pm \text{SD}$) (M, F) dorsal (181 ± 32 , 190 ± 30), ventral (117 ± 16 , 11 ± 21), temporal (150 ± 26 , 153 ± 30), and nasal (128 ± 20 , 138 ± 23) choroidal thicknesses demonstrated significant differences ($P < 0.05$) between dorsal and nasal regions. The choroidal thickness in dogs depends on the area assessed independently of their age and sex.

KEYWORDS

uvea, choroid, morphometry, canine, optical coherence tomography

INTRODUCTION

The structure, functional capacity, and biochemical reactions of the retina are sufficiently complex that a dual vascular supply is present in most species. The choroid is an anatomical structure located between the sclera and the retinal pigment epithelium (RPE) with the primary function of supplying oxygen and nutrients to the retina (Samuelson, 2013; McLellan and Narfstrom, 2014). Its coverage extends to almost the entire posterior half of the bulb of the eye. The choroid is primarily composed of blood vessels, nerves, and pigment cells.

The choroid supplies the adjacent retina layers that lack blood vessels. Oxygen and nutrients for the outer retina are transported through the RPE from the choriocapillaris of the choroid (Dubielzig et al., 2010). In other layers of the retina, blood perfusion is maintained by internal vessels originating from the short posterior ciliary arteries (therefore referred to as cilioretinal arteries). These vessels are usually visible on the surface of the fundus of the eye during an ophthalmoscopic examination (Ofri, 2018). Specifically, retinal blood vessels are found within the nerve fibre, ganglion cell, and inner plexiform layers of the inner retina. Capillaries are also present in the inner nuclear layer (Dubielzig et al., 2010). In addition to its

*Corresponding author. Tel.: +48 504 873 735.
E-mail: matszadkowski@gmail.com

nutritive function, the choroid also facilitates thermoregulation for maintaining the high metabolic activity of the retina.

In human medicine, a correlation has been observed between the choroid dimensions and patient characteristics such as age, sex, refractive error, axial length of the eye, corneal refractive power (Kim et al., 2011; Li et al., 2014; Shao et al., 2015; Zhu et al., 2017), and ethnic origin (Zhu et al., 2017). Higher hyperopic refractive error, lower age, being male, and higher corneal refractive power are examples of patient characteristics correlated with a greater choroidal thickness (Zhu et al., 2017). In a comparison of healthy children and adults, the greatest choroidal thickness was observed in the temporal region relative to the retinal macula of children, and the lowest in the nasal region. Adult choroidal thickness was the greatest in the fovea, followed by the temporal and the nasal regions (Ruiz-Moreno et al., 2013). The thickness of the choroid is also affected by the general clinical condition of the patient. Diseases that decrease plasma protein can result in reductions in oncotic pressure that cause increased choroidal thickness as a consequence of increased retina and choroid water retention. For instance, choroidal thickness was greater in paediatric patients with nephrotic syndrome than in controls (Zhang et al., 2019). Oncotic pressure reductions can also result in more serious conditions such as bilateral retinoschisis or macular oedema (De Benedetto et al., 2012).

Spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) is a non-invasive, non-contact method that provides real-time *in vivo* imagery of the retina (Murthy et al., 2016). This imagery of the posterior eye segment can document the emergence and development of various diseases. This method is also an objective method of measuring and analysing each retinal layer (Gabriele et al., 2011; McLellan and Rasmussen, 2012).

SD-OCT imaging of the canine choroid is a new research area. The choroid, being a multifunctional structure of the eye, can undergo pathological processes that may have a direct effect on visual function. The SD-OCT method is an ideal device for the *in vivo*, non-invasive imaging of choroidal morphology and morphometry. Recognition of the physiological image of the choroid in the SD-OCT scans will allow for further recognition of pathology. It may become an important diagnostic element.

The aim of this study was to determine choroidal thickness in senior (SN) and middle-aged (MA) mixed-breed mesocephalic dogs, both males (M) and females (F), using SD-OCT.

MATERIALS AND METHODS

Animals and procedures

Forty-one mixed-breed, mesocephalic, clinically healthy dogs were studied. The animals were patients of the Department and Clinic of Animal Surgery at the University

of Life Sciences in Lublin. The owners were informed about the details of the clinical trials conducted and they gave their consent. The study was performed in accordance with the Polish law and with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, Chapter I, Article 1, point 5 (b). The research was also approved by the Scientific Research Committee of the Department and Clinic of Animal Surgery at the University of Life Sciences in Lublin (#3/2018) concerning non-experimental clinical patients.

The dogs were divided into two groups based on age. The classification was based on a dog age chart with regard to the relationship between age and weight (Fortney, 2012). Dogs in the MA group ($n = 17$; 6 M and 11 F) were 4–7 years old and weighed 12–34 kg. Dogs in the SN group ($n = 24$; 12 M and 12 F) were 8–13 years old and weighed 13–32 kg. All of the studied males were unneutered. The spay status of 4 females was unknown, while the remaining 19 females were non-spayed.

All dogs were classified as healthy based on physical examinations, complete ophthalmologic examinations, and blood test analyses. The blood tests included complete blood cell counts as well as the determination of urea, complete bilirubin, creatinine, aspartate transaminase, alanine transaminase, alkaline phosphatase, and amylase. The dogs had been dewormed twice a year.

Ocular examinations were performed using a slit lamp biomicroscope (Shin-Nippon, Japan). Fundus examinations were performed using a binocular indirect ophthalmoscope (Keeler, UK), a direct ophthalmoscope (Welch Allyn, USA), and a panoptic ophthalmoscope (Welch Allyn, USA). Photographs of the ocular fundus were taken using Handy NM-200D Fundus Camera (Nidek, Japan) connected to a computer operating IrfanView software (Wiener Neustadt, Austria). In all dogs, the pupillary light reflex, both direct and consensual, the dazzle reflex, the menace response, the palpebral reflex, and the corneal reflex were estimated. Behavioural ophthalmic tests that were conducted included tracking and placing or obstacle tests under scotopic and photopic conditions. Intraocular pressure (IOP) measurements were obtained using a rebound tonometer, TonoVet (iCare, Finland). The IOP in the study animals was 15–20 mmHg. Schirmer's Tear Test (Eickemeyer, Germany) was performed bilaterally over 60 s in all patients. No vision impairment or ocular abnormalities were identified in any dogs.

Sedation was provided with a use of medetomidine (0.03 mg kg^{-1} ; Cepetor 1 mg mL^{-1} , CP Pharma, Germany) administered i.m. Local anaesthesia of the corneal and conjunctival surface was achieved using 0.5% proxymetacaine (Alcaine 5 mg mL^{-1} , Alcon, Poland). Pupils were dilated with tropicamide eye drops (Tropicamidum WZF 1%, Polfa Warszawa S.A., Poland). A timeframe was set for the OCT examination from 9 a.m. to 1 p.m. The examination was performed within 15–30 min after medetomidine administration. A thumb forceps was used to grasp the bulbar conjunctiva and to stabilise the eye.



OCT scan and data analysis

The examination was performed using SD-OCT (wave-length: 840 nm; scan pattern: enhanced depth imaging; Topcon 3D OCT-2000, Topcon, Japan) linear and 6-line radial scans. The device's software allowed determination of the precise location of choroidal measurements on the resulting scans. A calliper function integrated into the OCT software was used to collect manual measurements of the choroid. Choroidal thickness was defined as the vertical distance from the hyper-reflective line of the RPE–Bruch's membrane complex to the hyper-reflective line of the inner surface of the sclera. Measurements on linear scans were performed at distances of 5,000–6,000 μm (dorsal and ventral) and 4,000–7,000 μm (nasal and temporal) from the optic disc and were parallel to the horizontal diameter of the optic disc. Temporal and nasal scans were performed at the middle 1/3 height of the vertical diameter of the optic disc. Three measurements were conducted for each analysed segment: the first one in the centre of the scan and the other

two on the right and left at a distance of 1,500 μm from the centre (Figs 1 and 2). The central measurement on the scans of dorsal and ventral regions was taken on the width of the optic disc. The average of three measurements for each segment was calculated. The measurements were performed on 82 eyes of 41 dogs. During the SD-OCT examination, the cornea was moistened every 30 s with saline.

Statistical methods

Data normality was tested using the Shapiro–Wilk test. The results reported for the MA group followed a non-normal distribution, while results reported for the SN group followed a normal distribution. Data obtained from the ventral and nasal regions in females, and data from the nasal region in males followed a non-normal distribution. Significantly different comparisons were identified using the Mann–Whitney *U* test. Analyses were performed using Statistica 12 (TIBCO Software Inc., USA). A *P* value of <0.05 was considered statistically significant.

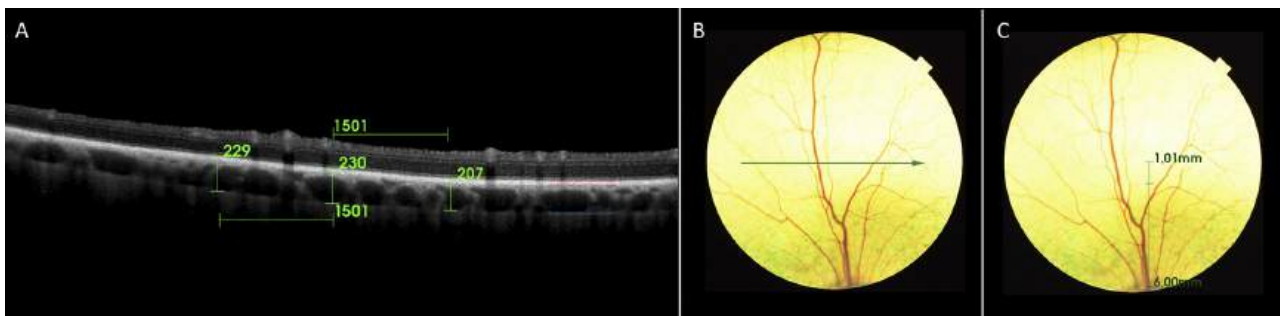


Fig. 1. A. Measurements of choroidal thickness in the dorsal region on a spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) scan. Three measurements were conducted for each analysed segment: the first one in the centre of the scan and the other two on the right and left at a distance of 1,500 μm from the centre. The red lines represent the borders of the retinal pigment epithelium (RPE)–Bruch's membrane–choriocapillaris and tapetum lucidum complex. The blue line represents the inner surface of the sclera. B. The location of the scan shown in Fig. 1A. C. Determination of the measurement site between 5,000 and 6,000 μm (distance from the optic disc). The scan was performed on a 1,000- μm segment visible as a short segment in the upper part of the determination

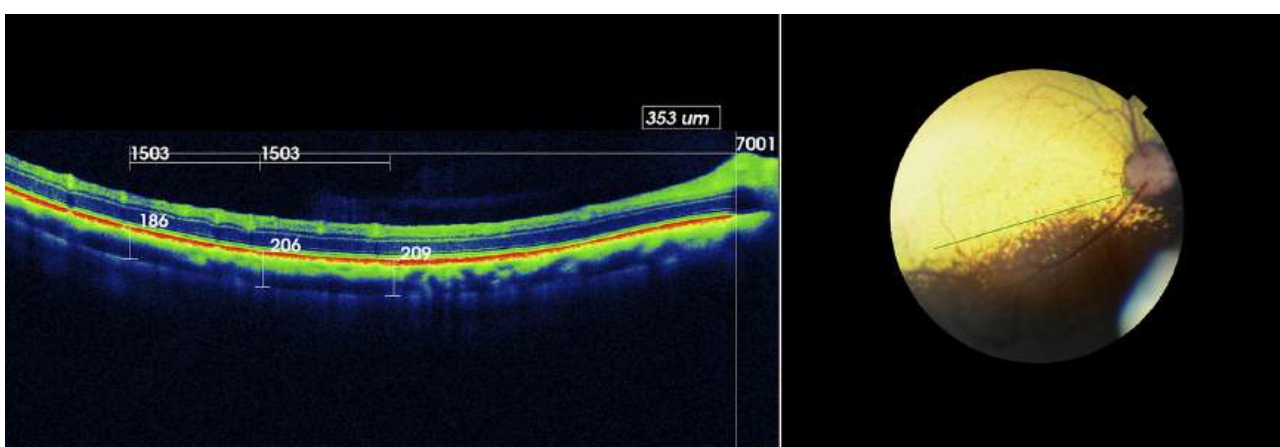


Fig. 2. Choroidal thickness measurements on an SD-OCT scan of the temporal region of the choroid. Three measurements were conducted for each analysed segment: the first one in the centre of the scan and the other two on the right and left at a distance of 1,500 μm from the centre. Measurements on linear scans were performed at distances of 4,000–7,000 μm (temporal and nasal). Temporal and nasal scans were performed at the middle 1/3 height of the vertical diameter of the optic disc

RESULTS

Thicknesses of the dorsal, ventral, temporal, and nasal regions of the choroid in the senior and middle-aged mixed-breed dogs are presented in Table 1. The dorsal choroid region was the thickest in both senior and middle-aged mixed breed mesocephalic dogs, the next thickest in the temporal region, and the thinnest in the ventral region. There was no statistically significant difference in the choroidal thickness of any of the four regions between the groups ($P > 0.05$) (Figs 3 and 4).

No significant, age-related discrepancies were observed in the thickness of the respective choroidal regions. However, statistically significant differences were observed between the respective choroidal regions within both the MA and the SN groups (Figs 3 and 4).

In the MA and SN group, choroidal thickness was significantly higher in the dorsal region than in the temporal ($P < 0.001$), nasal ($P < 0.001$) and ventral ($P < 0.001$) regions. The choroid in the temporal region was significantly thicker than in the nasal (MA, $P = 0.02$; SN, $P < 0.001$) and ventral

(MA, $P < 0.005$; SN, $P < 0.001$) regions. The choroid in the ventral region was significantly thinner than in the nasal region ($P < 0.001$) in both MA and SN groups.

Thicknesses of the dorsal, ventral, temporal, and nasal regions of the choroid in males and females are presented in Fig. 5 and Table 2. The dorsal choroid region was the thickest in both males and females, the next thickest in the temporal region, and the thinnest in the ventral region. Although no statistically significant difference was observed between dogs of different age groups, statistical differences were noted between males and females. The choroidal thickness was significantly greater in males than in females in the ventral region ($P < 0.005$). It was significantly thinner in males than in females in the nasal region ($P < 0.005$).

DISCUSSION

The aim of the study was to determine *in vivo* choroidal thickness in mixed-breed mesocephalic dogs by the use of SD-OCT. The location of the RPE-Bruch's membrane

Table 1. Mean choroidal thickness [μm] \pm standard deviation (SD) reported for dorsal (D), ventral (V), temporal (T) and nasal (N) regions in the middle-aged (MA) and senior (SN) groups

	D	V	T	N
MA	188 \pm 28	116 \pm 23	152 \pm 30	135 \pm 27
SN	184 \pm 33	111 \pm 16	151 \pm 26	132 \pm 18

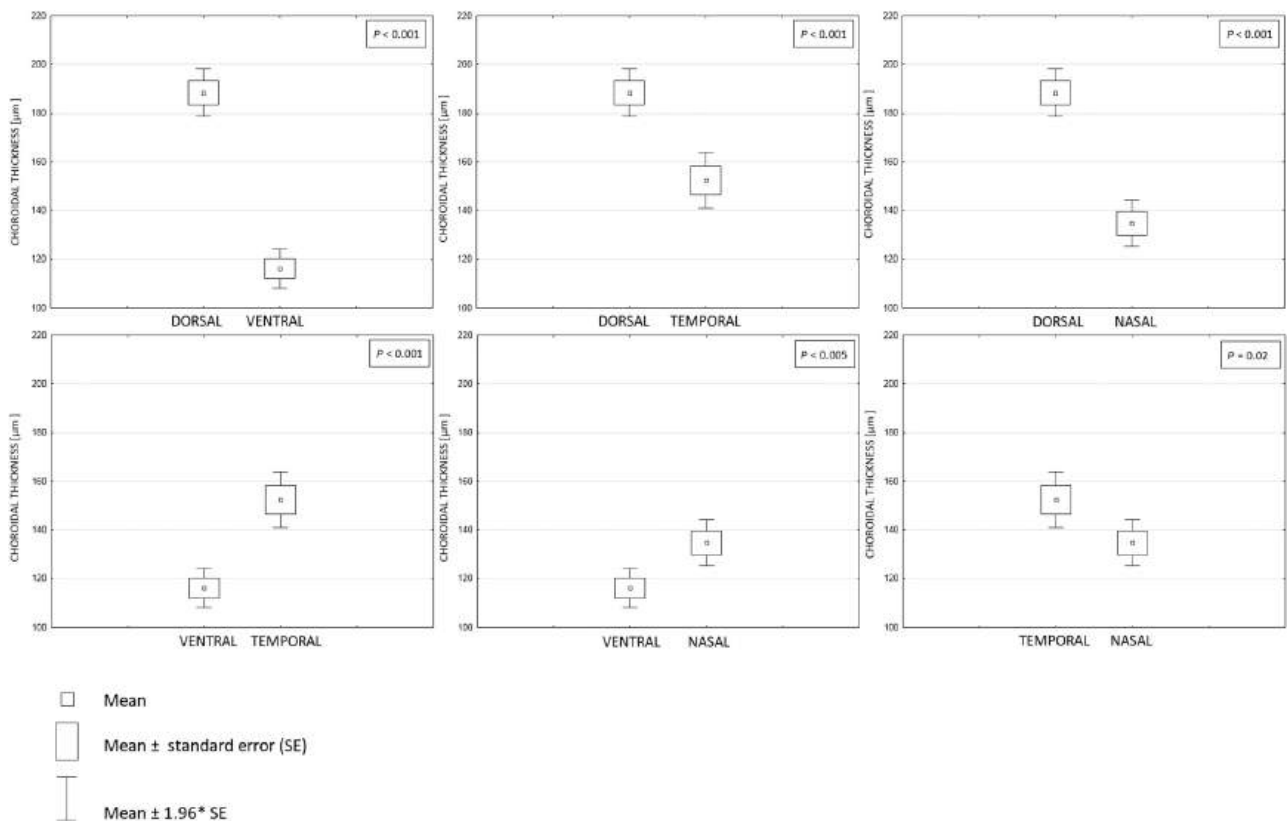


Fig. 3. Comparison of the mean thickness and SE for each choroidal region in the middle-aged (MA) group

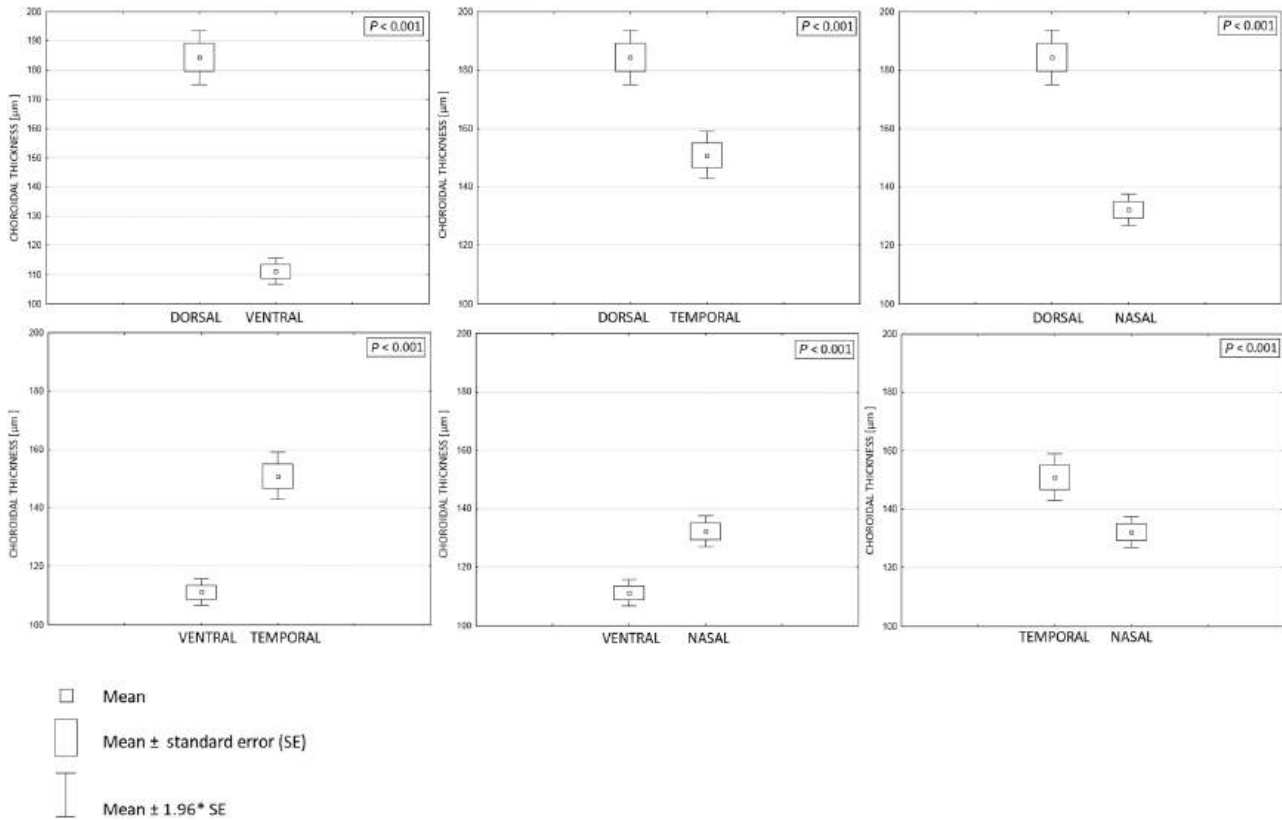


Fig. 4. Comparison of the mean thickness and SE for each choroidal region in the senior (SN) group

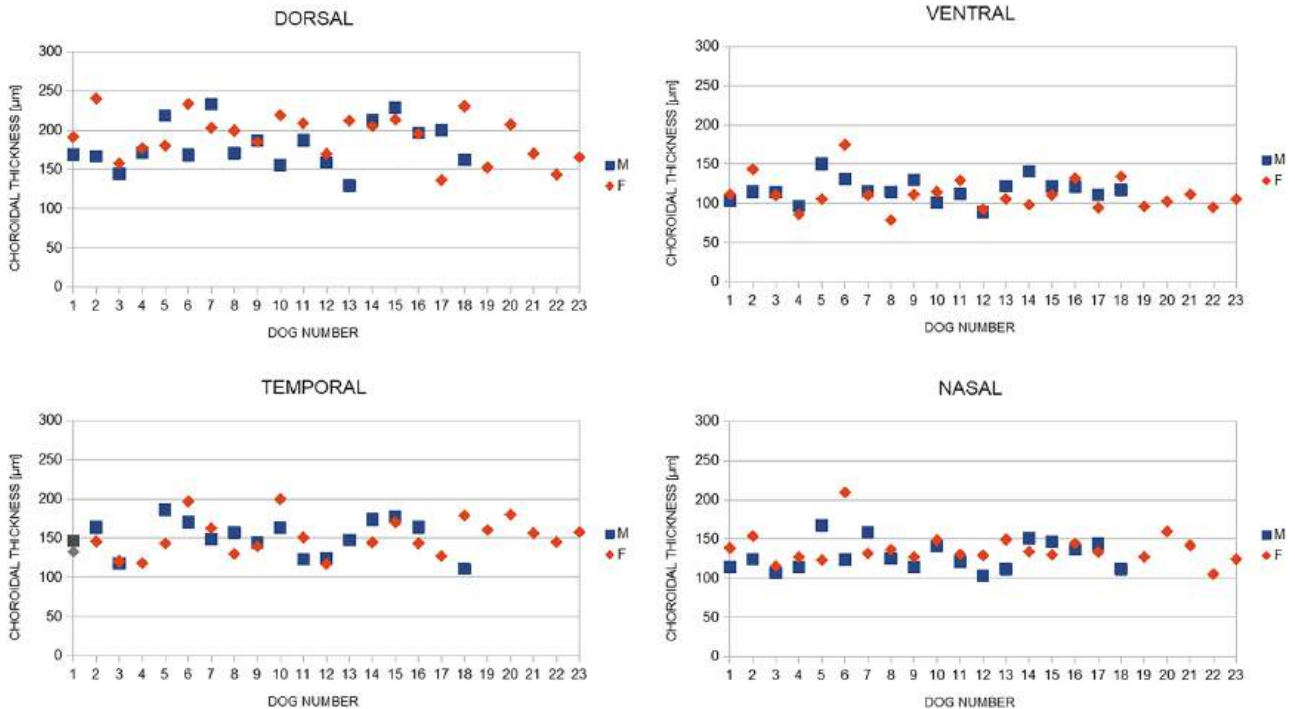


Fig. 5. Choroidal thicknesses reported for dorsal, ventral, temporal and nasal regions in males (M) and females (F)

complex and the inner scleral surface was determined by the human choroidal thickness measurement method (Jin et al., 2016; Abadia et al., 2018; Sahinoglu-Keskek and Canan,

2018; Steiner et al., 2019; Uyar et al., 2019; Pinheiro-Costa et al., 2020; Zhao et al., 2020), as well as on the basis of previous research on canine choroidal histology (Kotb et al.,



Table 2. Mean choroidal thickness [μm] \pm standard deviation (SD) reported for dorsal (D), ventral (V), temporal (T) and nasal (N) regions in males (M) and females (F)

	D	V	T	N
M	181 \pm 32	117 \pm 16 *	150 \pm 26	128 \pm 20*
F	190 \pm 30	111 \pm 21	153 \pm 30	138 \pm 23

*Statistically significant difference between males and females ($P < 0.005$).

2019) and SD-OCT retinal imaging (Staurenghi et al., 2014; Carpenter et al., 2018; Grozdanic et al., 2019; Osinchuk et al., 2019; Graham et al., 2020; Occelli et al., 2020).

This study documented statistically significant differences between the respective choroidal regions within both the MA and the SN groups. The canine choroid is the thickest in the dorsal region, followed by the temporal and nasal regions, respectively, and it is the thinnest in the ventral region. Differences in choroidal thickness in the respective regions are related to the presence of the tapetum lucidum in the dorsal part of the choroid. The tapetum is described as rounded triangular with a smooth contour. Its base usually has contact with the optic nerve disc (Yamaue et al., 2014). The central part of the canine tapetum lucidum contains a light-reflecting material and consists of 15–20 layers of polygonal, zinc-rich cells with a mean thickness of 3–28 μm (Lesiuk and Breakevelt, 1983). The number of cell layers decreases with increasing distance from the centre of the tapetum. Bruch's membrane also varies in thickness and is thinnest in areas containing the tapetum lucidum (Lesiuk and Breakevelt, 1983). Yamaue et al. (2014) found that the thickest part of the tapetum was located dorso-temporally to the optic disk, varying in thickness from 20 to 70 μm . Such anatomical conditions have a direct impact on choroidal thickness when measured by SD-OCT. Yamaue et al. (2014) studied the canine tapetum in terms of its macroscopic variations and provided a histologic description of the macroscopic results. According to the study, the tapetum tended to be atypical with increasing age. The atypical tapetum was described to be smaller and more variable in shape, contour and colour than the typical one. The atypical tapetum had a tendency to disappear from the periphery, especially from the nasal and ventral parts. However, our study documented no significant age-related differences of the whole choroidal thickness when comparing the different regions. Therefore, individual layers of the canine choroid should be assessed in further studies.

This study reported statistically significant differences between males and females in dorsal and nasal choroidal regions. Sex discrepancies have been well documented in choroidal thickness measured by OCT in humans. Wang et al. (2018) found that men had a thicker choroid than women. Sanchez-Cano et al. (2014) found similar choroidal thickness for both males and females. Sex-related differences in choroidal thickness may be partially explained by the dissimilarity in sex hormone status. Oestrogen could affect ocular blood flow in females (Centofanti et al., 2000; Deschenes et al., 2010). This may influence choroidal thickness. The limitation of our study was the lack of data on

the pregnancy status, oestrous cycle and hormonal treatment, and the absence of information about spaying/neutering performed on the dogs. If a study is restricted to humans, lifestyle practices inaccessible to most animals, such as smoking, alcohol consumption, caffeine intake, and exercise, may be unbalanced between the sexes. Such differences between individual women and men might be improperly attributed to sex. Nutritional status, medication intake, occupational factors, and even educational levels may also contribute to sex discrepancies in choroidal thickness (Wang et al., 2018).

A previous report used histomorphometric analyses to measure the choroidal thickness of five eyeballs acquired from adult, clinically healthy dogs (Kotb et al., 2019). However, these measurements were conducted post mortem. In contrast, we used SD-OCT to measure choroidal thickness *in vivo*. We documented that *in vivo* choroidal thickness is substantially greater than the 49.81 μm mean postmortem choroidal thickness previously reported for dogs.

Due to the possible impact of systemic diseases on our results, only data from clinically healthy animals were used in our study. We established the health status of dogs by clinical examinations that included complete blood count and biochemical blood test results that were within the reference ranges. We also conducted comprehensive ophthalmological examinations that documented the absence of ocular diseases that could affect our results.

Choroidal thickness cyclically varies throughout the day in chickens and humans (Nickla et al., 1998; Chakraborty et al., 2011). In chickens, choroidal thickness is the greatest at midnight, then it starts to decrease later during the night (Nickla et al., 1998). As in chickens, choroidal thickness increases also in humans over the course of the day, based on measurements taken between 9 a.m. and 9 p.m. To minimise the potential for diurnal variations in choroidal thickness, all measurements were taken between 9 a.m. and 1 p.m. This timeframe was determined based on reports which demonstrated that changes in choroidal thickness were minimal during those hours and varied no more than 3 μm . In contrast, the mean daily amplitude of change in choroidal thickness in humans was 0.029 ± 0.016 mm (Chakraborty et al., 2011).

Study conditions can potentially affect choroidal thickness. We are unaware of documentation of the impact of anaesthetics on choroidal thickness and cannot assess the degree to which these agents affected our results. However, it is known that anaesthetics can affect intraocular pressure (Webb et al., 2018) and there is a correlation between IOP



and choroidal thickness (Saeedi et al., 2014; Wang et al., 2016). To minimise the potential for IOP to affect our measurements of choroidal thickness, we only report data from dogs with IOPs of 15–20 mmHg. Previous research indicated that there were no significant changes of IOP in dogs at 5, 10, 20 and 40 min after medetomidine administration (Verbruggen et al., 2000; Kanda et al., 2015). We used sedation as this was the only means to perform high-quality scans positioned at the exact pre-determined distance from the optic nerve disc in all animals used in this study. In clinical practice, the authors normally perform OCT examinations of placid dogs under local anaesthesia or rarely after sedation.

In research on the sedative and cardiorespiratory effects of intramuscularly administered sedatives, medetomidine administration led to increased mean arterial blood pressure in dogs, compared with baseline values, up to 40 min from the time of administration. The highest increase occurred right after administration up to 10 min. Afterwards, arterial blood pressure remained increased following atipamezole administration (Ko et al., 2000). Therefore, we employed the same sedation protocol in all dogs to eliminate the possibility of anaesthesia-induced variation that could confound the choroidal thickness comparisons. The examination was conducted in the period between 15 and 30 min after medetomidine administration.

The aim of this research was to determine choroidal thickness in senior and middle-aged mixed-breed mesocephalic dogs, both males and females. The authors did not narrow the research to a particular dog breed. There are many ocular diseases that are diagnosed in mixed-breed dogs, e.g. Sudden Required Retinal Degeneration Syndrome (SARDS) is a disease often diagnosed in mixed-breed dogs (Heller et al., 2017). The authors chose this group of dogs due to the fact that many of the corresponding cases of mixed-breed dogs are being observed with various retinal and choroidal diseases. This group of patients might be a reference point for further studies regarding purebred dogs.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by the Doctoral School of the University of Life Sciences in Lublin and the project VEGA No. 1/0479/18. Preliminary results were presented as an Abstract at The European Society of Veterinary Ophthalmology Meeting, Dublin, 3–6 October 2019.

REFERENCES

Abadia, B., Suñen, I., Calvo, P., Bartol, F., Verdes, G. and Ferreras, A. (2018): Choroidal thickness measured using swept-source optical coherence tomography is reduced in patients with type 2 diabetes. *PLoS One* **13**, e0191977.

Carpenter, C. L., Kim, A. Y. and Kashani, A. H. (2018): Normative retinal thicknesses in common animal models of eye disease

using spectral domain optical coherence tomography. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1074**, 157–166.

Centofanti, M., Bonini, S., Manni, G., Guinetti-Neuschüler, C., Bucci, M. G. and Harris, A. (2000): Do sex and hormonal status influence choroidal circulation? *Br. J. Ophthalmol.* **84**, 786–787.

Chakraborty, R., Read, S. A. and Collins, M. J. (2011): Diurnal variations in axial length, choroidal thickness, intraocular pressure, and ocular biometrics. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **52**, 5121–5129.

De Benedetto, U., Pastore, M. R., Battaglia Parodi, M., Bandello, F. and Pierro, L. (2012): Retinal involvement in nephrotic syndrome secondary to minimal change disease. *Eur. J. Ophthalmol.* **5**, 843–845.

Deschenes, M. C., Descovich, D., Moreau, M., Granger, L., Kuchel, G. A., Mikkola, T. S., Fick, G. H., Chemtob, S., Vaucher, E. and Lesk, M. R. (2010): Postmenopausal hormone therapy increases retinal blood flow and protects the retinal nerve fiber layer. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **51**, 2587–2600.

Dubielzig, R. R., Ketring, K. L., McLellan, G. J., Albert, D. M. and Davis, F. A. (2010): The retina. In: *Veterinary Ocular Pathology: A Comparative Review*. Elsevier Saunders, Edinburgh. pp. 351–353.

Fortney, W. D. (2012): Implementing a successful senior/geriatric health care program for veterinarians, veterinary technicians, and office managers. *Vet. Clin. North Am. Small. Anim. Pract.* **42**, 823–834.

Gabriele, M. L., Wollstein, G., Ishikawa, H., Kagemann, L., Xu, J., Folio, L. S. and Schuman, J. S. (2011): Optical coherence tomography: history, current status and laboratory work. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **52**, 2425–2436.

Graham, K. L., McCowan, C. I., Caruso, K., Billson, F. M., Whitaker, C. J. G. and White, A. (2020): Optical coherence tomography of the retina, nerve fiber layer, and optic nerve head in dogs with glaucoma. *Vet. Ophthalmol.* **23**, 97–112.

Grozdanic, S. D., Lazić, T., Kecova, H., Mohan, K. and Kuehn, M. H. (2019): Optical coherence tomography and molecular analysis of sudden acquired retinal degeneration syndrome (SARDS) eyes suggests the immune-mediated nature of retinal damage. *Vet. Ophthalmol.* **22**, 305–327.

Heller, A. R., van der Woerd, A., Gaarder, J. E., Sapienza, J. S., Hernandez-Merino, E., Abrams, K., Church, M. L. and La Croix, N. (2017): Sudden acquired retinal degeneration in dogs: breed distribution of 495 canines. *Vet. Ophthalmol.* **20**, 103–106.

Jin, P., Zou, H., Zhu, J., Xu, X., Jin, J., Chang, T. C., Lu, L., Yuan, H., Sun, S., Yan, B., He, J., Wang, M. and He, X. (2016): Choroidal and retinal thickness in children with different refractive status measured by swept-source optical coherence tomography. *Am. J. Ophthalmol.* **168**, 164–176.

Kanda, T., Iguchi, A., Yoshioka, C., Nomura, H., Higashi, K., Kaya, M., Yamamoto, R., Kuramoto, T. and Furukawa, T. (2015): Effects of medetomidine and xylazine on intraocular pressure and pupil size in healthy Beagle dogs. *Vet. Anaesth. Analg.* **42**, 623–628.

Kim, S.-W., Oh, J., Kwon, S.-S., Yoo, J. and Huh, K. (2011): Comparison of choroidal thickness among patients with healthy eyes, early age-related maculopathy, neovascular age-related



- macular degeneration, central serous chorioretinopathy, and polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina* **9**, 1904–1911.
- Ko, J. C., Fox, S. M. and Mandsager, R. E. (2000): Sedative and cardiorespiratory effects of medetomidine, medetomidine-butorphanol, and medetomidine-ketamine in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **216**, 1578–1583.
- Kotb, A. M., Ibrahim, I. A. A., Aly, K. H. and Zayed, A. E. (2019): Histomorphometric analysis of the choroid of donkeys, buffalos, camels and dogs. *Int. Ophthalmol.* **39**, 1239–1247.
- Lesiuk, T. P. and Breakevelt, C. R. (1983): Fine structure of the canine tapetum lucidum. *J. Anat.* **136**, 157–164.
- Li, X. Q., Jeppesen, P., Larsen, M. and Munch, I. C. (2014): Subfoveal choroidal thickness in 1323 children aged 11 to 12 years and association with puberty: the Copenhagen Child Cohort 2000 Eye Study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **55**, 550–555.
- McLellan, G. J. and Narfstrom, K. (2014): The fundus. In: Gould, D. and McLellan, G. (eds) *Manual of Canine and Feline Ophthalmology*. BSAVA, Quedgeley. pp. 322–356.
- McLellan, G. J. and Rasmussen, C. A. (2012): Optical coherence tomography for the evaluation of retinal and optic nerve morphology in animal subjects: practical considerations. *Vet. Ophthalmol.* **15**, 13–28.
- Murthy, R. K., Haji, S., Sambhav, K., Grover, S. and Chalam, K. V. (2016): Clinical applications of spectral domain optical coherence tomography in retinal diseases. *Biomed. J.* **39**, 107–120.
- Nickla, D. L., Wildsoet, C. and Wallman, J. (1998): Visual influences on diurnal rhythms in ocular length and choroidal thickness in chick eyes. *Exp. Eye Res.* **66**, 163–181.
- Occelli, L. M., Pasmanter, N., Ayoub, E. E. and Petersen-Jones, S. M. (2020): Changes in retinal layer thickness with maturation in the dog: an *in vivo* spectral domain–optical coherence tomography imaging study. *BMC Vet. Res.* **16**, 225.
- Ofri, R. (2018): Diseases of the retina. In: Maggs, D., Miller, P. and Ofri, R. (eds) *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. Elsevier Saunders, Philadelphia. pp. 347–389.
- Osinchuk, S. C., Leis, M. L., Salpeter, E. M., Sandmeyer, L. S. and Grahn, B. H. (2019): Evaluation of retinal morphology of canine sudden acquired retinal degeneration syndrome using optical coherence tomography and fluorescein angiography. *Vet. Ophthalmol.* **22**, 398–406.
- Pinheiro-Costa, J., Correia, P. J., Pinto, J. V., Alves, H., Torrão, L., Moreira, R., Falcão, M., Carneiro, A., Madeira, M. D. and Falcão-Reis, F. (2020): Increased choroidal thickness is not a disease progression marker in keratoconus. *Sci. Rep.* **10**, 19938.
- Ruiz-Moreno, J. M., Flores-Moreno, I., Lugo, F., Ruiz-Medrano, J., Montero, J. A. and Akiba, M. (2013): Macular choroidal thickness in normal pediatric population measured by swept-source optical coherence tomography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **54**, 353–359.
- Saeedi, O., Pillar, A., Jefferys, J., Arora, K., Friedman, D. and Quigley, H. (2014): Change in choroidal thickness and axial length with change in intraocular pressure after trabeculectomy. *Br. J. Ophthalmol.* **98**, 976–979.
- Sahinoglu-Keskek, N. and Canan, H. (2018): Effect of latanoprost on choroidal thickness. *J. Glaucoma* **27**, 635–637.
- Samuelson, D. A. (2013): Ophthalmic anatomy. In: Gelatt, K. N., Gilger, B. B. and Kern, T. J. (eds) *Veterinary Ophthalmology*. John Wiley & Sons, New York City. pp. 106–114.
- Sanchez-Cano, A., Orduna, E., Segura, F., Lopez, C., Cuenca, N., Abecia, E. and Pinilla, I. (2014): Choroidal thickness and volume in healthy young white adults and the relationships between them and axial length, ametropia and sex. *Am. J. Ophthalmol.* **158**, 574–583.
- Shao, L., Xu, L., Zhang, J. S., You, Q. S., Chen, C. X., Wang, Y. X., Jonas, J. B. and Wei, W. B. (2015): Subfoveal choroidal thickness and cataract: The Beijing Eye Study 2011. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **56**, 810–815.
- Staurengi, G., Sada, S., Chakravarthy, U. and Spaide, R. F. (2014): International Nomenclature for Optical Coherence Tomography (IN•OCT) Panel. Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: the IN•OCT consensus. *Ophthalmology* **121**, 1572–1578.
- Steiner, M., Esteban-Ortega, M. D. M. and Muñoz-Fernández, S. (2019): Choroidal and retinal thickness in systemic autoimmune and inflammatory diseases: A review. *Surv. Ophthalmol.* **64**, 757–769.
- Uyar, E., Dogan, U., Ulas, F. and Celebi, S. (2019): Effect of fasting on choroidal thickness and its diurnal variation. *Curr. Eye Res.* **44**, 695–700.
- Verbruggen, A. M., Akkerdaas, L. C., Hellebrekers, L. J. and Stades, F. C. (2000): The effect of intravenous medetomidine on pupil size and intraocular pressure in normotensive dogs. *Vet. Q.* **22**, 179–180.
- Wang, W., He, M. and Zhong, X. (2018): Sex-dependent choroidal thickness differences in healthy adults: A study based on original and synthesized data. *Curr. Eye Res.* **43**, 796–803.
- Wang, Y. X., Jiang, R., Ren, X. L., Chen, J. D., Shi, H. L., Xu, L., Wei, W. B. and Jonas, J. B. (2016): Intraocular pressure elevation and choroidal thinning. *Br. J. Ophthalmol.* **100**, 1676–1681.
- Webb, T. R., Wyman, M., Smith, J. A., Ueyama, Y. and Muir, W. W. (2018): Effects of propofol on intraocular pressure in premedicated and nonpremedicated dogs with and without glaucoma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **257**, 823–829.
- Yamaue, Y., Hosaka, Y. Z. and Uehara, M. (2014): Macroscopic and histological variations in the cellular tapetum in dogs. *J. Vet. Med. Sci.* **76**, 1099–1103.
- Zhang, W., Zhang, Y., Kang, L., Gu, X., Wu, H. and Yang, L. (2019): Retinal and choroidal thickness in paediatric patients with hypoalbuminaemia caused by nephrotic syndrome. *BMC Ophthalmol.* **19**, 44.
- Zhao, M., Alonso-Caneiro, D., Lee, R., Cheong, A. M. Y., Yu, W.-Y., Wong, H.-Y. and Lam, A. K. C. (2020): Comparison of choroidal thickness measurements using semiautomated and manual segmentation methods. *Optometry Vis. Sci.* **97**, 121–127.
- Zhu, D., Wang, Y., Zheng, Y. F., Yang, D. Y., Guo, K., Yang, X. R., Jing, X. X., Wong, I. Y., You, Q. S., Tao, Y. and Jonas, J. B. (2017): Choroidal thickness in school children: The Gobi Desert Children Eye Study. *PLoS One* **12**, e0179579.





Article

Morphological and Morphometric Analysis of Canine Choroidal Layers Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography

Jowita Zwolska ¹, Ireneusz Balicki ^{1,*} and Agnieszka Balicka ²

¹ Department and Clinic of Animal Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin, 20-950 Lublin, Poland

² Small Animals Clinic, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Kosice, 041 81 Kosice, Slovakia

* Correspondence: balicki.ireneusz@gmail.com; Tel.: +48-603-066-376

Abstract: The choroid, a multifunctional tissue, has been the focus of research interest for many scientists. Its morphology and morphometry facilitate an understanding of pathological processes within both the choroid and retina. This study aimed to determine the choroidal layer thicknesses in healthy, mixed-breed mesocephalic dogs, both male (M) and female (F), using spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) with radial, cross-sectional, and linear scans. The dogs were divided into two groups based on age: middle-aged (MA) and senior (SN). Thicknesses of choroidal layers, namely RPE–Bruch’s membrane–choriocapillaris complex (RPE–BmCc) with tapetum lucidum in the tapetal fundus, the medium-sized vessel layer (MSVL), and the large vessel layer with lamina suprachoroidea (LVLS), as well as whole choroidal thickness (WCT), were measured manually using the caliper function integrated into the OCT software. Measurement was performed dorsally and ventrally at a distance of 5000–6000 μm temporally and nasally at a distance of 4000–7000 μm to the optic disc on enhanced depth scans. The measurements were conducted temporally and nasally in both the tapetal (temporal tapetal: TempT, nasal tapetal: NasT) and nontapetal (temporal nontapetal: TempNT, nasal nontapetal: NasNT) fundus. The ratio of the MSVL thickness to the LVLS thickness for each region was calculated. In all examined dogs, the RPE–BmCc in the dorsal (D) region and MSVL in the Tt region were significantly thicker than those in the other regions. The MSVL was thinner in the ventral (V) region than in the D, TempT, TempNT and NasT regions. The MSVL was significantly thinner in the NasNT region than in the D region. LVLS thickness and WCT were significantly greater in the D and TempT regions than those in the other regions and significantly lesser in the V region than those in the other regions. The MSVL-to-LVLS thickness ratio did not differ between the age groups. Our results reveal that the choroidal thickness profile does not depend on age. Our findings can be used to document the emergence and development of various choroidal diseases in dogs in the future.

Keywords: canine; choroidal layers; morphometry; optical coherence tomography; uvea



Citation: Zwolska, J.; Balicki, I.; Balicka, A. Morphological and Morphometric Analysis of Canine Choroidal Layers Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2023**, *20*, 3121. <https://doi.org/10.3390/ijerph20043121>

Academic Editors: S. Ejaz Ahmed, Abdulkadir Hussein and Abbas Khalili

Received: 15 November 2022

Revised: 26 January 2023

Accepted: 7 February 2023

Published: 10 February 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The choroid, a multifunctional tissue, is responsible for maintaining retinal temperature, supplying its outer layers with nutrients and oxygen, and playing a role in intraocular pressure (IOP) modulation [1]. Studies also point to its role in ocular focus normalization, including emmetropization, and thereby the regulation of eye growth [2,3].

Additionally, the choroid expresses and synthesizes a variety of signal molecules, several matrix metalloproteases and their tissue inhibitors [4], as well as growth factors that are involved in angiogenesis [5]. One of the first studies to provide evidence of the impact of choroidal cell growth factor on other tissues demonstrated that explants of the choroid target tissues are essential for the development and survival of ciliary ganglion neurons in culture systems [6]. Profound knowledge of normal choroidal morphology and

morphometry provides the ability to understand pathological processes within both the choroid and retina.

The choroid is an anatomical structure located between the retinal pigment epithelium and the sclera. It is primarily composed of blood vessels, nerves, and pigment cells. Bruch's membrane, which is adjacent to the retina, adheres to the external layer of capillaries, which constitute the choriocapillaris. Histologically, the choroid has been divided into four or six layers, depending on whether the vascular region is considered to be one- or two-layered and whether the lamina fusca is considered to be of scleral or choroidal origin. In most domestic mammals, starting from the retinal (inner) side, the choroid consists of the Bruch's membrane, choriocapillaris, tapetum lucidum, intermediate-vessel layer, large-vessel layer, and suprachoroidea [7].

Spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) is a non-invasive and non-contact method that provides rapid, cross-sectional, and real-time *in vivo* imaging of the retina and choroid [8]. This technique is also used as an objective method for measuring and analyzing each retinal layer [9–12].

The choroidal vascular system has been the focus of research interest for many scientists. Until the invention of optical coherence tomography, studies of the choroid were limited to post-mortem examinations. The latest technologies allow non-invasive imaging, along with the qualitative and quantitative *in vivo* assessment of the human choroid [13]. At present, most ophthalmologists manually define the boundaries of the choroid to measure its thickness; however, some studies have introduced different automatic choroidal segmentation methods [14–16]. The choroidal vasculature has been broadly investigated in humans. A correlation between choroidal dimensions and patient characteristics, such as age, refractive error, corneal refractive power, ethnicity, body height, and sexual maturation, has been observed in numerous studies involving healthy human subjects [17–20]. Many studies have investigated choroidal profiles in humans [21–23]. The morphological features of the choroid in both physiological and pathological conditions indicate that this vascular structure plays a crucial role in many chorioretinal disorders [24]. OCT has become increasingly essential for the diagnosis of many ocular and systemic diseases. According to Mano et al., in the case of ocular amyloidosis, the evaluation of choroidal characteristics may serve as a biomarker for systemic involvement [25].

Few studies have documented the use of OCT to measure the choroid in guinea pigs [26–30]. Li et al. used OCT to assess the retinal and choroidal thickness in guinea pigs for comparison with the histological sections. The authors reported good agreement between the *in vivo* and histological measurements [29]. Nonetheless, there has been no research concerning the *in vivo* analysis of canine choroidal layers.

In our previous study, we analyzed whole choroidal thickness in dogs in the dorsal (D), ventral (V), temporal (T), and nasal (N) regions [31]. Choroidal thickness in dogs depends on the area being assessed and not on the age of the dogs. No statistically significant difference was observed in the whole choroidal thickness in each choroidal region between dogs of different age groups. In both senior (SN) and middle-aged (MA) mixed-breed dogs, the D region was the thickest, followed by the T region, and the V region was the thinnest [31]; however, in the previous study, division into choroidal layers was not considered.

The purpose of this study was to perform morphological and morphometric *in vivo* analyses of the choroidal profiles in MA and SN dogs.

2. Materials and Methods

2.1. Animals and Procedures

Forty-five clinically healthy mixed-breed mesocephalic dogs, both male (M) and female (F), were examined in this study. The dogs were divided into two groups based on their age: MA and SN. The classification was based on a dog age chart indicating the relationship between age and weight [32]. Dogs in the MA group ($n = 21$; 9 M and 12 F) were 4–7 years old and weighed 12–34 kg. The dogs in the SN group ($n = 24$; 12 M and

12 F) were 8–13 years old and weighed 13–32 kg. All the males involved in the study were unneutered. The spay status of 5 females was unknown, while the remaining 19 females were non-spayed.

The animals were patients at the Department and Clinic of Animal Surgery at the University of Life Sciences in Lublin. The dog owners were informed about the details of the clinical trials, and their consent was obtained. The study was performed in accordance with the National Research Council's Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Polish law and with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September, 2010, on the protection of animals used for scientific purposes, Chapter I, Article 1, point 5(b). The study was also approved by the Scientific Research Committee of the Department and Clinic of Animal Surgery at the University of Life Sciences in Lublin (#3/2018) concerning non-experimental clinical patients. Some of the patients in whom measurements of individual choroidal layers were performed were patients included in the authors' most recent studies on the total thickness of the choroid [31].

All dogs were classified as healthy based on the physical examination, including the cardiological examination (echocardiographic, arterial blood pressure), blood tests, and comprehensive ophthalmological examinations. Blood tests included complete blood cell count and measurement of urea, complete bilirubin, creatinine, aspartate transaminase, alanine transaminase, alkaline phosphatase, and amylase levels. The dogs were dewormed twice a year. Patients with a history of any retinal disease in either eye were excluded.

Ocular examinations were performed using a slit-lamp biomicroscope (Shin-Nippon, Tokyo, Japan). Fundus examinations were performed using a binocular indirect ophthalmoscope (Keeler, Windsor, UK), direct ophthalmoscope (Welch Allyn, Chicago, IL, USA), and panoptic ophthalmoscope (Welch Allyn, Chicago, IL, USA). Photographs of the ocular fundus were taken using a Handy NM-200D fundus camera (Nidek, Gamagori, Japan) connected to a computer operating the IrfanView software (Wiener Neustadt, Austria). In all dogs, the pupillary light reflex (both direct and consensual), dazzle reflex, menace response, and palpebral reflex were estimated. Behavioral ophthalmic tests, including tracking and placing, were conducted along with obstacle tests under scotopic and photopic conditions. The IOP was measured using a rebound tonometer (TonoVet, iCare, Vantaa, Finland) and was found to be 15–20 mmHg. The Schirmer's tear test I (Eickemeyer, Tuttlingen, Germany) was performed bilaterally in all patients. No vision impairment or ocular abnormalities were identified in any dog. Animals with any ocular abnormalities were excluded from the study, e.g., retinal degeneration, retinal dysplasia, sudden acquired retinal degeneration syndrome (SARDS), retinal detachment, and retinal hemorrhage.

Pupils were dilated with tropicamide eye drops (Tropicamidum WZF 1%; Polfa Warszawa S.A., Warsaw, Poland). Sedation was carried out using the intramuscular administration of medetomidine (0.03 mg/kg; Cepetor 1 mg/mL, CP Pharma, Burgdorf, Germany), and local anesthesia of the corneal and conjunctival surface was achieved using 0.5% proxymetacaine (Alcaine 5 mg/mL, Alcon, Warsaw, Poland). A timeframe was set for the OCT examination from 9:00 a.m. to 1:00 p.m. The examination was performed 15–30 min after medetomidine administration. Thumb forceps were used to grasp the bulbar conjunctiva and stabilize the eyes. During the SD-OCT examination, the cornea was moistened every 30 s with saline.

2.2. OCT Scan and Data Analysis

Imaging was performed for both eyes of each animal using SD-OCT (wavelength: 840 nm; scan pattern: enhanced depth imaging, EDI; Topcon 3D OCT-2000, Topcon, Japan) with linear, cross-sectional, and 6-line radial scans. The device software allowed the determination of the precise location of choroidal measurements on the resulting scans. The caliper function integrated into the OCT software was used to collect manual measurements of the choroid.

The thickness of the choroidal layers, namely RPE–Bruch's membrane–choriocapillaris complex (RPE-BmCc) with tapetum lucidum in the tapetal fundus, the medium-sized

vessel layer (MSVL), the large vessel layer with lamina suprachoroidea (LVLS), and the whole choroidal thickness (WCT; Figure 1) were measured manually using the caliper function integrated into the OCT software. RPE-BmCc was defined as a layer with a spotted appearance [33] and a highly reflective border in the tapetal regions.

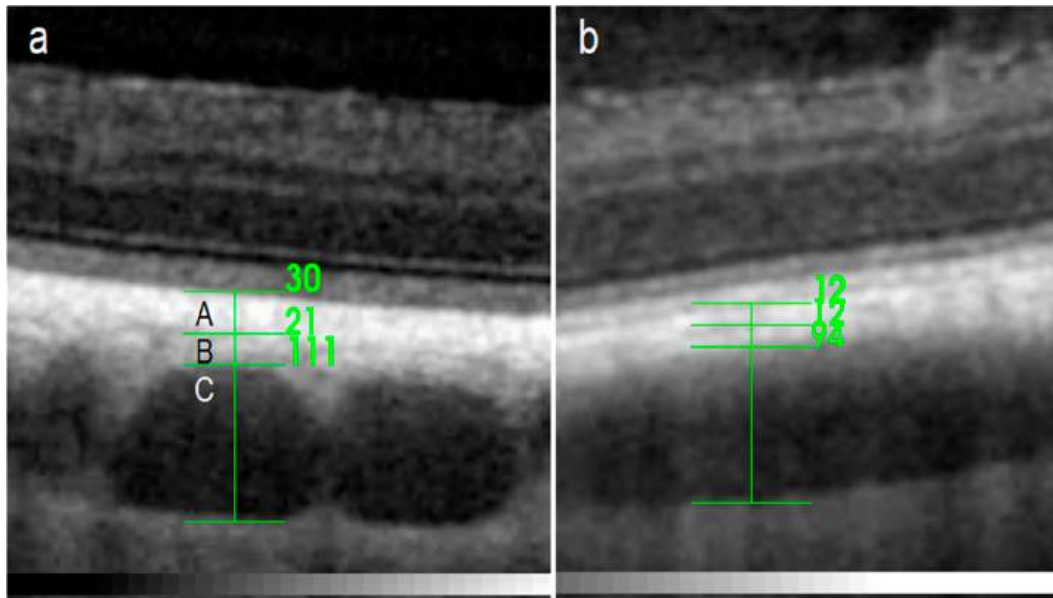


Figure 1. Spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) scan with the choroidal layer measurements in the tapetal (a) and nontapetal (b) fundus: (A) RPE–Bruch’s membrane–choriocapillaris complex (RPE–BmCc) with tapetum lucidum, (B) medium-sized vessel layer (MSVL), and (C) large vessel layer with lamina suprachoroidea (LVLS).

During certain scans, the choriocapillaris was identifiable (Figure 2), but in many cases, it was difficult or impossible to separate the capillary from the retinal pigment epithelium, Bruch’s membrane, and tapetum lucidum. Therefore, these structures were assessed as a single layer—RPE–BmCc. The appearance of the RPE–BmCc was more reflective than MSVL.

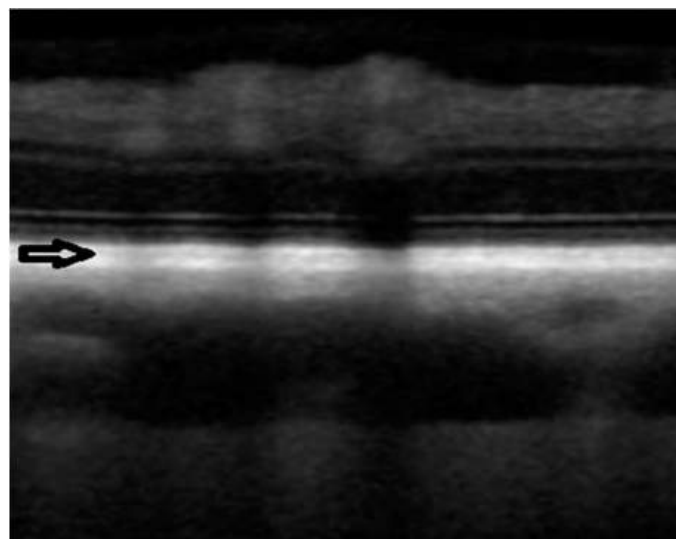


Figure 2. SD-OCT scan taken in the dorsal tapetal fundus. The black arrow indicates choriocapillaris (hyporeflective line). The choriocapillaris is located between the RPE–Bruch’s membrane complex and the tapetum lucidum.

The MSVL is defined as a layer containing medium-sized choroidal vessels measuring $\leq 100 \mu\text{m}$, which are visualized as medium-sized, hypo-intensive spaces surrounded by a hyper-intensive stroma. The MSVL was located immediately beneath the RPE-BmCc. The LVLS is classified as an outer choroidal layer containing large choroidal vessels measuring $\geq 100 \mu\text{m}$ [34]. The outer boundary of the LVLS is defined as the choroidal scleral interface on the SD-OCT images. The major criteria to differentiate between the MSVL and LVLS layers are the choroidal vessel lumen and the density of the inter-vascular tissue [21]. We used the method suggested by Branchini et al. to establish the outer borders of the choroid and choroid-sclera junction, which was described as a hyperreflective line and was localised externally to the large choroidal vessels [34]. The choroidal thickness was defined as the vertical distance from the hyperreflective line of the RPE-Bruch's membrane complex to the hyperreflective line of the inner surface of the sclera [34,35]. The measurements were performed dorsally and ventrally at a distance of 5000–6000 μm to the optic disc. Temporal (T) and nasal (N) scans were taken at a distance of 4000–7000 μm to the optic disc (Figures 3 and 4). The measurements were obtained on enhanced depth scans. The measurements were conducted temporally and nasally in both the tapetal (temporal tapetal: TempT, nasal tapetal: NasT) and nontapetal (temporal nontapetal: TempNT, nasal nontapetal: NasNT) fundus. Measurements in the TempT and NasT regions were taken at a distance of 500–2000 μm dorsally from the border between the tapetal and nontapetal regions. Measurements in the temporal and nasal nontapetal regions were taken at a distance of 500–2000 μm ventrally from the border between the tapetal and nontapetal regions. Three measurements were performed for each region: the first one was in the center of the scan, and the other two were on the right and left at a distance of 1500 μm from the center. The average of the three measurements for each segment was calculated. In order to avoid variability, all measurements were made at one time and approved by the same two authors.

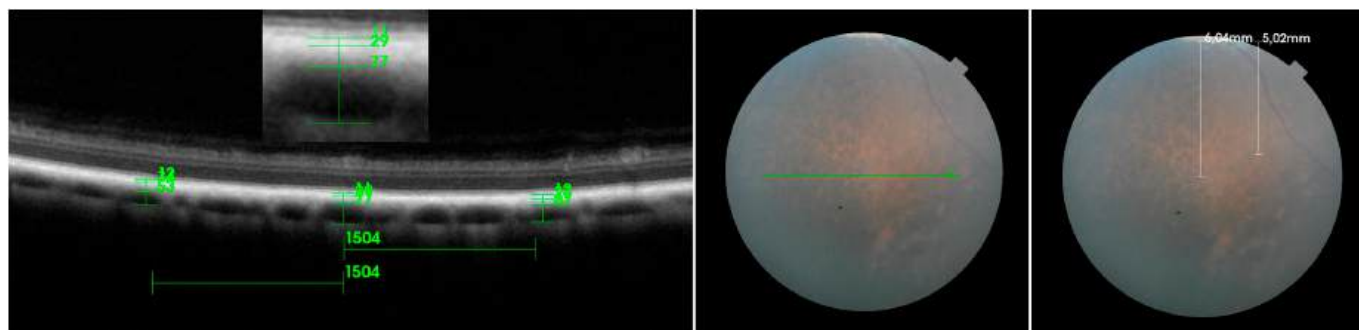


Figure 3. Measurements of choroidal thickness in the ventral region on SD-OCT scan (green arrow in the fundus photograph). Three measurements were conducted for each analyzed segment: the first one in the center of the scan and the other two on the right and left at a distance of 1500 μm from the center. The measurements were performed at a distance of 5000–6000 μm to the optic disc (white arrows in the fundus photograph).

2.3. Statistical Methods

The database and statistical analyses were carried out using Statistica 9.1 software (StatSoft, Cracow, Poland). Quantitative data are presented as mean \pm standard deviation (SD). The normality of the distribution of variables in the studied groups was checked using the Shapiro–Wilk normality test. Student's *t*-test was used to test the differences between the MA and SN groups. The differences in layer thickness and whole choroidal thickness between regions were assessed using analysis of variance (ANOVA). Tukey's honestly significant difference post hoc test was performed if an overall significance was observed. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

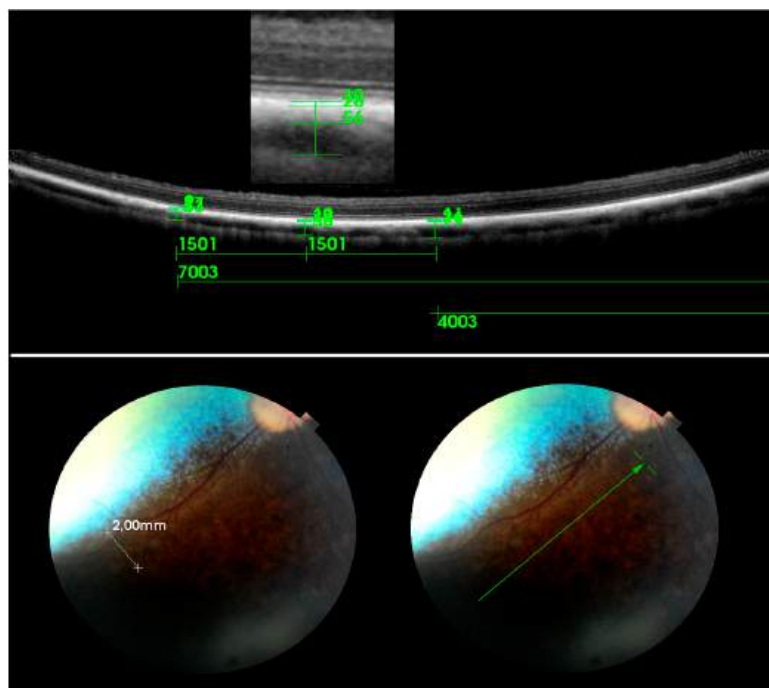


Figure 4. Measurements of choroidal layer thickness in the nasal nontapetal region on SD-OCT scan (green arrow in the fundus photograph). Measurements on linear scans were performed at distances of 4000–7000 μm . Measurements in the temporal and nasal nontapetal regions were taken at a distance of 500–2000 μm ventrally from the border between the tapetal and nontapetal regions (white arrows in the fundus photograph).

3. Results

The mean thicknesses of the choroidal layers in the D, V, TempT, TempNT, NasT, and NasNT regions are presented in Table 1.

Table 1. Mean choroidal layer thickness (RPE–Bruch’s membrane–choriocapillaris complex: RPE–BmCc, medium-sized vessel layer: MSVL, large vessel layer with lamina suprachoroidea: LVLS) and whole choroidal thickness (WCT) (μm) \pm SD in dorsal (D), ventral (V), temporal tapetal (TempT) and nontapetal (TempNT), as well as nasal tapetal (NasT) and nontapetal (NasNT), regions in middle-aged (MA) and senior (SN) dogs.

	RPE-BmCc	MSVL	LVLS	WCT
D				
MA	28.7 \pm 7.49	32.59 \pm 7.83	121.72 \pm 24.58	183.02 \pm 30.15
SN	26.44 \pm 5.04	31.62 \pm 7.62	124.87 \pm 28.32	182.93 \pm 32.01
V				
MA	7.71 \pm 0.96	24.43 \pm 8.07	78.21 \pm 19.22	110.24 \pm 23.50
SN	8.13 \pm 0.50	24.33 \pm 6.21	75.39 \pm 14.28	107.84 \pm 17.68
TempT				
MA	10.76 \pm 2.17	38.15 \pm 7.64	126.78 \pm 35.78	175.69 \pm 38.58
SN	10.90 \pm 2.38	45.43 \pm 10.29	125.67 \pm 19.96	182.00 \pm 23.54
TempNT				
MA	8.12 \pm 0.91	27.11 \pm 9.87	84.45 \pm 17.24	119.68 \pm 24.81
SN	8.25 \pm 0.68	30.86 \pm 6.94	99.59 \pm 22.98	138.62 \pm 26.81

Table 1. Cont.

	RPE-BmCc	MSVL	LVLS	WCT
NasT				
MA	9.83 ± 1.43	32.90 ± 10.02	96.78 ± 12.56	139.52 ± 15.67
SN	9.33 ± 1.47	33.03 ± 5.40	102.33 ± 24.48	144.69 ± 24.06
NasNT				
MA	8.05 ± 0.86	26.34 ± 8.90	89.72 ± 14.19	124.12 ± 19.40
SN	8.44 ± 0.69	29.74 ± 7.50	90.59 ± 12.43	128.77 ± 16.89

No significant age-related differences were observed in the thicknesses of the respective choroidal regions. Owing to the absence of age-related dissimilarities, the differences in layer and whole choroidal thickness between regions were assessed without dividing the dogs into different age groups, and the measurements were performed on 90 eyes of 45 dogs (Table 2). In all the examined dogs ($n = 45$; 21 M and 24 F), the RPE-BmCc in the D region ($p < 0.001$) and MSVL in the TempT region ($p < 0.005$) were significantly thickest compared to those in the other regions. In addition, RPE-BmCc was significantly thicker in the TempT region than in the V region ($p < 0.05$). Moreover, MSVL was thinner in the V region than that in the D ($p < 0.001$), TempT ($p < 0.001$), TempNT ($p < 0.05$), and NasT ($p < 0.001$) regions. The MSVL was significantly thinner in the nasal nontapetal region than in the D region ($p < 0.05$). LVLS thickness and WCT were significantly greater in the D and TempT regions than in the other regions ($p < 0.001$) and significantly lesser in the V region than in the other regions ($p < 0.005$) (Table 2).

Table 2. Differences in mean thicknesses (M ± SD) of RPE-BmCc, MSVL, LVLS and WCT in all examined dogs between dorsal (D), ventral (V), temporal tapetal (TempT), temporal nontapetal (TempNT), nasal tapetal (NasT), and nasal nontapetal (NasNT) regions.

Layer	Region	Mean ± SD	Statistical Significance	Layer	Region	Mean ± SD	Statistical Significance
RPE-BmCc	D vs. V	27.42 ± 6.28 vs. 7.99 ± 0.70	$p < 0.001$	MSVL	D vs. V	27.42 ± 6.28 vs. 7.99 ± 0.70	$p < 0.001$
	D vs. TempT	27.42 ± 6.28 vs. 10.84 ± 2.24	$p < 0.001$		D vs. TempT	27.42 ± 6.28 vs. 10.84 ± 2.24	$p < 0.001$
	D vs. TempNT	27.42 ± 6.28 vs. 8.21 ± 0.75	$p < 0.001$		D vs. TempNT	27.42 ± 6.28 vs. 8.21 ± 0.75	$p = 0.67$
	D vs. NasT	27.42 ± 6.28 vs. 9.56 ± 1.44	$p < 0.001$		D vs. NasT	27.42 ± 6.28 vs. 9.56 ± 1.44	$p = 1.00$
	D vs. NasNT	27.42 ± 6.28 vs. 8.24 ± 0.79	$p < 0.001$		D vs. NasNT	27.42 ± 6.28 vs. 8.24 ± 0.79	$p < 0.05$
	V vs. TempT	7.99 ± 0.70 vs. 10.84 ± 2.24	$p < 0.05$		V vs. TempT	7.99 ± 0.70 vs. 10.84 ± 2.24	$p < 0.001$
	V vs. TempNT	7.99 ± 0.70 vs. 8.21 ± 0.75	$p = 1.00$		V vs. TempNT	7.99 ± 0.70 vs. 8.21 ± 0.75	$p < 0.05$
	V vs. NasT	7.99 ± 0.70 vs. 9.56 ± 1.44	$p = 0.47$		V vs. NasT	7.99 ± 0.70 vs. 9.56 ± 1.44	$p < 0.001$
	V vs. NasNT	7.99 ± 0.70 vs. 8.24 ± 0.79	$p = 1.00$		V vs. NasNT	7.99 ± 0.70 vs. 8.24 ± 0.79	$p = 0.11$
	TempT vs. TempNT	10.84 ± 2.24 vs. 8.21 ± 0.75	$p = 0.08$		TempT vs. TempNT	10.84 ± 2.24 vs. 8.21 ± 0.75	$p < 0.001$
TempT vs. NasT	10.84 ± 2.24 vs. 9.56 ± 1.44	$p = 0.85$	TempT vs. NasT	10.84 ± 2.24 vs. 9.56 ± 1.44	$p < 0.005$		
TempT+ vs. NasNT	10.84 ± 2.24 vs. 8.24 ± 0.79	$p = 0.05$	TempT vs. NasNT	10.84 ± 2.24 vs. 8.24 ± 0.79	$p < 0.001$		

Table 2. Cont.

Layer	Region	Mean ± SD	Statistical Significance	Layer	Region	Mean ± SD	Statistical Significance
LVLS	D vs. V	27.42 ± 6.28 vs. 7.99 ± 0.70	$p < 0.001$	WCT	D vs. V	27.42 ± 6.28 vs. 7.99 ± 0.70	$p < 0.001$
	D vs. TempT	27.42 ± 6.28 vs. 10.84 ± 2.24	$p = 1.00$		D vs. TempT	27.42 ± 6.28 vs. 10.84 ± 2.24	$p = 0.99$
	D vs. TempNT	27.42 ± 6.28 vs. 8.21 ± 0.75	$p < 0.001$		D vs. TempNT	27.42 ± 6.28 vs. 8.21 ± 0.75	$p < 0.001$
	D vs. NasT	27.42 ± 6.28 vs. 9.56 ± 1.44	$p < 0.001$		D vs. NasT	27.42 ± 6.28 vs. 9.56 ± 1.44	$p < 0.001$
	D vs. NasNT	27.42 ± 6.28 vs. 8.24 ± 0.79	$p < 0.001$		D vs. NasNT	27.42 ± 6.28 vs. 8.24 ± 0.79	$p < 0.001$
	V vs. TempT	7.99 ± 0.70 vs. 10.84 ± 2.24	$p < 0.001$		V vs. TempT	7.99 ± 0.70 vs. 10.84 ± 2.24	$p < 0.001$
	V vs. TempNT	7.99 ± 0.70 vs. 8.21 ± 0.75	$p < 0.001$		V vs. TempNT	7.99 ± 0.70 vs. 8.21 ± 0.75	$p < 0.001$
	V vs. NasT	7.99 ± 0.70 vs. 9.56 ± 1.44	$p < 0.001$		V vs. NasT	7.99 ± 0.70 vs. 9.56 ± 1.44	$p < 0.001$
	V vs. NasNT	7.99 ± 0.70 vs. 8.24 ± 0.79	$p < 0.05$		V vs. NasNT	7.99 ± 0.70 vs. 8.24 ± 0.79	$p < 0.005$
	TempT vs. TempNT	10.84 ± 2.24 vs. 8.21 ± 0.75	$p < 0.001$		TempT vs. TempNT	10.84 ± 2.24 vs. 8.21 ± 0.75	$p < 0.001$
	TempT vs. NasT	10.84 ± 2.24 vs. 9.56 ± 1.44	$p < 0.001$		TempT vs. NasT	10.84 ± 2.24 vs. 9.56 ± 1.44	$p < 0.001$
	TempT vs. NasNT	10.84 ± 2.24 vs. 8.24 ± 0.79	$p < 0.001$		TempT vs. NasNT	10.84 ± 2.24 vs. 8.24 ± 0.79	$p < 0.001$
	TempNT vs. NasT	8.21 ± 0.75 vs. 9.56 ± 1.44	$p = 0.96$		TempNT vs. NasT	8.21 ± 0.75 vs. 9.56 ± 1.44	$p = 0.73$
	TempNT vs. NasNT	8.21 ± 0.75 vs. 8.24 ± 0.79	$p = 0.90$		TempNT vs. NasNT	8.21 ± 0.75 vs. 8.24 ± 0.79	$p = 0.85$
NasT vs. NasNT	9.56 ± 1.44 vs. 8.24 ± 0.79	$p = 0.47$	NasT vs. NasNT	9.56 ± 1.44 vs. 8.24 ± 0.79	$p = 0.13$		

The MSVL-to-LVLS thickness ratio was not age-related in any of the canine choroidal regions (Table 3). This ratio was similar for each choroidal region, amounting to 0.28 ± 0.26 D, 0.32 ± 0.33 V, 0.32 ± 0.37 in the TempT region, 0.32 ± 0.32 in the TempNT region, 0.35 ± 0.34 in the NasT region, and 0.29 ± 0.33 in the NasNT region in the MA and SN groups, respectively.

Table 3. Ratio of the medium-sized vessel layer (2) thickness to the large vessel layer with lamina suprachoroidea (3) thickness in middle-aged (MA) and senior (SN) dogs in dorsal (D), ventral (V), temporal tapetal (TempT), temporal nontapetal (TempNT), nasal tapetal (NasT), and nasal nontapetal (NasNT) regions.

	MA	Mean ± SD	SN	Mean ± SD
D2:D3	0.28	32.59 ± 7.83:121.72 ± 24.58	0.26	31.62 ± 7.62:124.87 ± 28.32
V2:V3	0.32	24.43 ± 8.07:78.21 ± 19.22	0.33	24.33 ± 6.21:75.39 ± 14.28
TempT2:TempT3	0.32	38.15 ± 7.64:126.78 ± 35.78	0.37	45.43 ± 10.29:125.67 ± 19.96
TempNT2:TempNT3	0.32	27.11 ± 9.87:84.45 ± 17.24	0.32	30.86 ± 6.94:99.59 ± 22.98
NasT2:NasNT3	0.35	32.90 ± 10.02:96.78 ± 12.56	0.34	33.03 ± 5.40:102.33 ± 24.48
NasNT2:NasNT3	0.29	26.34 ± 8.90:89.72 ± 14.19	0.33	29.74 ± 7.50:90.59 ± 12.43

4. Discussion

Studies in which EDI with SD-OCT has been used have presented certain methods of performing manual measurements of human choroidal vascular layers. The scans obtained during our research allowed the precise determination of the individual layers of the choroid. The method suggested by Branchini et al. [34] for analyzing vessel lumen diameter has been frequently applied in various studies [22,36,37]. According to previous studies, MSVL is defined as the layer containing medium-sized choroidal vessels measuring $\leq 100 \mu\text{m}$, and LVLS is defined as the outer choroidal layer containing large choroidal vessels measuring $\geq 100 \mu\text{m}$ [33]. In our study, the location of the RPE–Bruch’s membrane complex and the inner scleral surface was determined using a commonly used human ophthalmological method [37]. Moreover, previous work employing SD-OCT in the field of veterinary ophthalmology for retinal imaging was referred to [38–43]. We determined the outer border of the choroid (i.e., the inner surface of the sclera) based on the veterinary ophthalmology literature describing the histological structure of the dog choroid [44] and human ophthalmology literature describing the method of measuring the thickness of choroid [45–51].

Choriocapillaris is a highly anastomosed capillary network located externally from Bruch’s membrane. The choriocapillaris arises from the arterioles in the medium-sized vessel layer, also known as Sattler’s layer [1]. In humans, the choriocapillaris layer is approximately $10 \mu\text{m}$ thick at the fovea, where the density of capillaries is the highest, thinning up to approximately $7 \mu\text{m}$ at the fundus periphery [1]. In our study, the innermost choroidal layer, which consisted of the RPE–BmCc and tapetum lucidum in the tapetal fundus, was thickest in the D region ($27.42 \mu\text{m}$). In the other choroidal regions, it was considerably thinner and thinnest in the nontapetal regions, ventrally declining up to $7.99 \mu\text{m}$.

Yamaue et al. (2014) conducted a histological examination of the canine choroid. The tapetum is described as a rounded triangle with a smooth contour. The base is usually in contact with the optic nerve disc. The study reported that the thickest part of the tapetum is located dorso-temporally to the optic disk, varying in thickness from 20 to $70 \mu\text{m}$, decreasing with increasing distance from the center of the tapetum [52]. According to Lesiuk and Breakevelt, the central part of the canine tapetum lucidum contains light-reflecting material and consists of 15–20 layers of polygonal, zinc-rich cells with a mean thickness of 3– $28 \mu\text{m}$. The number of cell layers decreases with increasing distance from the center of the tapetum. Bruch’s membrane also varies in thickness and is thinnest in the areas containing the tapetum lucidum [53]. In our study, the first choroidal layer, which consisted of the RPE–BmCc and tapetum lucidum, was the thickest in the tapetal fundus, dorsally amounting to $27.42 \mu\text{m}$, decreasing up to $10.81 \mu\text{m}$ in the Tt and $9.56 \mu\text{m}$ in the Nt regions. However, these values correspond to the thickness of the whole RPE–Bruch’s membrane–choriocapillaris–tapetum lucidum complex.

A previous study identified the choriocapillaris in four animal species that lack a tapetum lucidum. The choriocapillaris was visualized as a hyporeflective layer between the RPE–Bruch’s membrane complex and the outer choroid [54]. Mischi et al. evaluated choriocapillaris visibility imaged with SD-OCT in dogs and cats. According to the study, the choriocapillaris in dogs was visible in over 80% and over 90% of scanlines, depending on the grader [55]. The present study shows that the reflective nature of the tapetum lucidum interferes with the visibility of the choriocapillaris and connecting vasculature. The choriocapillaris could be differentiated on certain SD-OCT scans; however, it was often difficult or impossible to separate the capillary network from the RPE–Bruch’s membrane complex and tapetum lucidum for proper measurement (Figure 2). Therefore, we presented it as an RPE-BmCc-tapetum lucidum complex.

One of the aims of this study was to assess possible age-related variations in the thickness of different choroidal layers in MA and SN dogs. Ruiz-Medrano et al. studied the choroidal profiles of different age groups in a healthy human population. The mean subfoveal choroidal and mean horizontal Haller’s layer thickness in the different age groups decreased progressively with increasing age. The mean subfoveal choriocapillaris and Sattler’s thickness did not exhibit this trend toward progressive thinning with increasing age in humans [56]. Kamal Abdellatif et al. studied 125 healthy Egyptians aged between 20 and 79 years. The retinal pigment epithelium with photoreceptor outer segment thickness showed significant thinning with increasing age and decreasing choroidal thickness. Both the retinal pigment epithelium with an outer photoreceptor segment and choroidal thickness showed a statistically significant negative correlation with age [57]. Our results did not reveal any age-related differences in the choroidal profiles of the dogs. No significant differences were observed in the thicknesses of the RPE-BmCc, MSVL, LVLS and WCT in each choroidal region between the MA and SN groups.

Research conducted by Xu et al. showed that in humans, a higher peripapillary small-to-medium vessel layer (SMVL)-to-peripapillary large vessel layer (LVLS) thickness ratio was related to older age, suggesting a preferential age-related thinning of the LVLS in humans. The study revealed that the SMVL-to-LVLS thickness ratio is significantly the highest in the temporal region and the lowest in the superonasal, superior and nasal regions [23]. Our study showed that the MSVL-to-LVLS thickness ratio was not age-related in dogs. Comparing the results of the MA and SN groups, the ratio values were similar for each choroidal region.

In our previous study, we analyzed whole choroidal thickness in dogs in the D, V, T, and N regions. However, the T and N regions were not differentiated into tapetal and nontapetal regions [31]. Choroidal thickness in the D and V regions was comparable to the values reported in the present study. The choroidal thickness in the temporal region was found to be 152 and 151 μm in the MA and SN groups, respectively. Moreover, the choroidal thickness in the N region was found to be 135 and 132 μm in the MA and SN groups, respectively [31]. In the present study, the choroidal thickness was 175 and 182 μm in the TempT region in the MA and SN groups, respectively. Furthermore, the choroidal thickness was 139 and 144 μm in the NasT regions in the MA and SN groups, respectively. The mean TempNT choroidal thickness was 119 and 138 μm in the MA and SN groups, respectively. Furthermore, the mean NasNT choroidal thickness was 124 and 128 μm in the MA and SN groups, respectively. The present study indicates that the choroidal thickness varies in the N and T regions, depending on whether the fundus is tapetal or nontapetal. The choroidal thickness in both T and N regions in the tapetal fundus was much greater than in the nontapetal fundus. Interestingly, this was not related to the presence of the tapetum lucidum. The thickness of the tapetum lucidum decreases in the peripheral areas [52]. This phenomenon is consistent with our findings, where the mean thickness of RPE-BmCc was 27.42 μm in the D, 10.81 μm in the TempT, and 9.56 μm in the Nt regions. The reason for this considerable difference in the thickness of the choroid in the N and T regions between the tapetal and nontapetal groups was the difference in the thickness of the LVLS layer. The average thickness of the LVLS layer was 126.14 μm in

the TempT, 94.96 μm in the TempNT, 99.81 μm in the NasT, and 90.15 μm in the NasNT regions. Our study showed that the choroidal vascular layers, MSVL and LVLS, were the thickest in the TempT region. A study performed by Mowat et al. in 9 beagle dogs showed that the area centralis is likely to be centered at a point 1.5 ± 0.2 mm temporal and 0.6 ± 0.1 mm superior to the optic disc, within the tapetal fundus [58]. We conclude that the area centralis might be associated with a higher choroidal blood supply. This needs to be further studied. However, the TempT region was not found to be associated with the thickest RPE-BmCc–tapetum lucidum layer, which is consistent with the previous studies. In histological sections of the retina and choroid, performed by Yamaue et al., the visual streak was located within the tapetal region but not on the thickest part of the tapetum. The tapetum is well suited for night vision. Therefore, it would impair visual resolution in daylight vision by scattered light [59].

Choroidal thickness demonstrates diurnal variation in antiphase with axial elongation in animal models and humans [2,60,61]. In chickens, choroidal thickness is the highest at midnight and starts to decrease later during the night [2]. Similarly, the choroidal thickness increases in humans over the course of the day. In this study, all measurements were obtained between 9 a.m. and 1 p.m. to minimize the potential for diurnal variations in choroidal thickness. This timeframe was determined based on the reports demonstrating that changes in choroidal thickness were minimal during those hours and varied by no more than 3 μm [61].

We employed the same sedation protocol in all dogs to eliminate the possibility of anesthesia-induced variation in choroidal thickness. Research on the sedative and cardiorespiratory effects of intramuscular administration of medetomidine revealed that the increase in the mean arterial blood pressure in dogs occurs up to 10 min after the administration and then remains at a constant level until atipamezole administration [62]. Therefore, SD-OCT was performed between 15 and 30 min after medetomidine administration.

The present study provides the first Spectralis SD-OCT-based data on the vascular layers of the choroid in dogs. The aim of this study was to determine the choroidal thickness profile in SN and MA mixed-breed mesocephalic dogs, both M and F. Our aim was not to narrow our research to a particular dog breed. Many ocular diseases are diagnosed in mixed breeds; for example, SARDS is a disease often diagnosed in mixed-breed dogs [63]. This group of patients could serve as a reference while studying other dog species in the future. Our findings can also be used as an indicator for purebred dogs and to study and compare the choroidal vascular layer measurements under different disease conditions in certain dog breeds, such as SARDS, progressive retinal atrophy, and local retinopathy.

Knowledge of the characteristics of individual choroidal vascular layers and their responses to certain disease conditions is limited in veterinary medicine. The assessment of the choroid in clinically healthy animals is required for further research to elucidate the correlation between the occurrence of each disease and vascular alterations. Additionally, the limitation of our research is the possible influence of choroidal blood perfusion on the choroidal thickness. This will require further research. Other limitations are the manual caliper. In order to avoid inter-observer variability, all measurements were made at one time and accepted by the same two authors. Measurements made with the manual calipers are not as accurate as with the automated analysis of the OCT scans.

5. Conclusions

The present study provides the first Spectralis SD-OCT-based data on choroidal vascular layer thickness in dogs. Moreover, our results revealed that the choroidal thickness profile does not depend on age. Furthermore, the MSVL-to-LVLS thickness ratio in dogs was not found to be age-related. Our findings can be used to study and compare whole choroidal and vascular layer thickness measurements in different disease conditions in different populations. SD-OCT imagery of the posterior eye segment can be used to document the emergence and development of various choroidal diseases in dogs in the future.

The findings and present group of patients may be a reference point for further studies on purebred dogs.

Author Contributions: Conceptualization, I.B. and J.Z.; Methodology, I.B., J.Z. and A.B.; Software, J.Z.; Validation, J.Z., I.B. and A.B.; Formal Analysis, I.B. and J.Z.; Investigation, J.Z. and I.B.; Resources, A.B.; Data Curation, J.Z.; Writing—Original Draft Preparation, J.Z.; Writing—Review & Editing, I.B.; Visualization, A.B.; Supervision, I.B.; Project Administration, J.Z. and I.B.; Funding Acquisition, J.Z. and A.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was supported by the Doctoral School of the University of Life Sciences in Lublin SD/23/WET/2021 and Project VEGA No. 1/0479/18.

Institutional Review Board Statement: This study was performed in accordance with the National Research Council's Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Polish law and with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, Chapter I, Article 1, point 5(b). The study was also approved by the Scientific Research Committee of the Department and Clinic of Animal Surgery at the University of Life Sciences in Lublin on 6 February 2018 (#3/2018) with regard to non-experimental clinical patients.

Informed Consent Statement: All patients' owners signed consents were obtained.

Data Availability Statement: Data are available upon reasonable request.

Acknowledgments: The authors thank Mateusz Szadkowski, who contributed to the research. Preliminary results were presented as an abstract at the European Society of Veterinary Ophthalmology Conference, 2–3 October 2021.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

- Nickla, D.L.; Wallman, J. The Multifunctional Choroid. *Prog. Retin. Eye Res.* **2010**, *29*, 144–168. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- van Alphen, G.W. Choroidal Stress and Emmetropization. *Vis. Res.* **1986**, *26*, 723–734. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Nickla, D.L.; Wildsoet, C.; Wallman, J. Visual Influences on Diurnal Rhythms in Ocular Length and Choroidal Thickness in Chick Eyes. *Exp. Eye Res.* **1998**, *66*, 163–181. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Janssen, A.; Hoellenriegel, J.; Fogarasi, M.; Schrewe, H.; Seeliger, M.; Tamm, E.; Ohlmann, A.; May, C.A.; Weber, B.H.F.; Stöhr, H. Abnormal Vessel Formation in the Choroid of Mice Lacking Tissue Inhibitor of Metalloprotease-3. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2008**, *49*, 2812–2822. [[CrossRef](#)]
- Hu, W.; Criswell, M.H.; Fong, S.-L.; Temm, C.J.; Rajashekhar, G.; Cornell, T.L.; Clauss, M.A. Differences in the Temporal Expression of Regulatory Growth Factors during Choroidal Neovascular Development. *Exp. Eye Res.* **2009**, *88*, 79–91. [[CrossRef](#)]
- Wentzek, L.A.; Bowers, C.W.; Khairallah, L.; Pilar, G. Choroid Tissue Supports the Survival of Ciliary Ganglion Neurons in Vitro. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **1993**, *13*, 3143–3154. [[CrossRef](#)]
- Miller, P.E. Uvea. In *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*; Elsevier Health Sciences: Saint Louis, MO, USA, 2008; pp. 203–229.
- Murthy, R.K.; Haji, S.; Sambhav, K.; Grover, S.; Chalam, K.V. Clinical Applications of Spectral Domain Optical Coherence Tomography in Retinal Diseases. *Biomed. J.* **2016**, *39*, 107–120. [[CrossRef](#)]
- Whitmore, S.S.; Sohn, E.H.; Chirco, K.R.; Drack, A.V.; Stone, E.M.; Tucker, B.A.; Mullins, R.F. Complement Activation and Choriocapillaris Loss in Early AMD: Implications for Pathophysiology and Therapy. *Prog. Retin. Eye Res.* **2015**, *45*, 1–29. [[CrossRef](#)]
- Singh, S.R.; Invernizzi, A.; Rasheed, M.A.; Cagini, C.; Goud, A.; Gujar, R.; Pandey, P.; Vupparaboina, K.K.; Cozzi, M.; Lupidi, M.; et al. Wide-Field Individual Retinal Layer Thickness in Healthy Eyes. *Eur. J. Ophthalmol.* **2021**, *31*, 1970–1977. [[CrossRef](#)]
- Hassanpoor, N.; Milani, A.E.; Kordestani, A.; Niyousha, M.R. Analysis of Retinal Layers' Thickness and Vascular Density after Successful Scleral Buckle Surgery. *J. Curr. Ophthalmol.* **2021**, *33*, 304–309. [[CrossRef](#)]
- Birtel, T.H.; Birtel, J.; Hess, K.; Clemens, A.C.; Lindner, M.; Herrmann, P.; Holz, F.G.; Gliem, M. Analysis of Imaging Biomarkers and Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in RPGR-Associated Retinitis Pigmentosa. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* **2021**, *259*, 3597–3604. [[CrossRef](#)]
- Sohrab, M.; Wu, K.; Fawzi, A.A. A Pilot Study of Morphometric Analysis of Choroidal Vasculature in Vivo, Using En Face Optical Coherence Tomography. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e48631. [[CrossRef](#)]
- Chen, Q.; Niu, S.; Fang, W.; Shuai, Y.; Fan, W.; Yuan, S.; Liu, Q. Automated Choroid Segmentation of Three-Dimensional SD-OCT Images by Incorporating EDI-OCT Images. *Comput. Methods Programs Biomed.* **2018**, *158*, 161–171. [[CrossRef](#)]

15. Alizadeh Eghtedar, R.; Esmaili, M.; Peyman, A.; Akhlaghi, M.; Rasta, S.H. An Update on Choroidal Layer Segmentation Methods in Optical Coherence Tomography Images: A Review. *J. Biomed. Phys. Eng.* **2022**, *12*, 1–20. [[CrossRef](#)]
16. Masood, S.; Fang, R.; Li, P.; Li, H.; Sheng, B.; Mathavan, A.; Wang, X.; Yang, P.; Wu, Q.; Qin, J.; et al. Publisher Correction: Automatic Choroid Layer Segmentation from Optical Coherence Tomography Images Using Deep Learning. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 19381. [[CrossRef](#)]
17. Kim, S.-W.; Oh, J.; Kwon, S.-S.; Yoo, J.; Huh, K. Comparison of Choroidal Thickness among Patients with Healthy Eyes, Early Age-Related Maculopathy, Neovascular Age-Related Macular Degeneration, Central Serous Chorioretinopathy, and Polypoidal Choroidal Vasculopathy. *Retina* **2011**, *31*, 1904–1911. [[CrossRef](#)]
18. Shao, L.; Xu, L.; Zhang, J.S.; You, Q.S.; Chen, C.X.; Wang, Y.X.; Jonas, J.B.; Wei, W.B. Subfoveal Choroidal Thickness and Cataract: The Beijing Eye Study 2011. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2015**, *56*, 810–815. [[CrossRef](#)]
19. Li, X.Q.; Jeppesen, P.; Larsen, M.; Munch, I.C. Subfoveal Choroidal Thickness in 1323 Children Aged 11 to 12 Years and Association with Puberty: The Copenhagen Child Cohort 2000 Eye Study. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2014**, *55*, 550–555. [[CrossRef](#)]
20. Zhu, D.; Wang, Y.; Zheng, Y.F.; Yang, D.Y.; Guo, K.; Yang, X.R.; Jing, X.X.; Wong, I.Y.; You, Q.S.; Tao, Y.; et al. Choroidal Thickness in School Children: The Gobi Desert Children Eye Study. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0179579. [[CrossRef](#)]
21. Roy, R.; Saurabh, K.; Vyas, C.; Deshmukh, K.; Sharma, P.; Chandrasekharan, D.P.; Bansal, A. Choroidal Haller’s and Sattler’s Layers Thickness in Normal Indian Eyes. *Middle East Afr. J. Ophthalmol.* **2018**, *25*, 19–24. [[CrossRef](#)]
22. Xu, J.; Wang, Y.X.; Jiang, R.; Wei, W.B.; Xu, L.; Jonas, J.B. Peripapillary Choroidal Vascular Layers: The Beijing Eye Study. *Acta Ophthalmol.* **2017**, *95*, 619–628. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Zhao, J.; Wang, Y.X.; Zhang, Q.; Wei, W.B.; Xu, L.; Jonas, J.B. Macular Choroidal Small-Vessel Layer, Sattler’s Layer and Haller’s Layer Thicknesses: The Beijing Eye Study. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 4411. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Borrelli, E.; Sarraf, D.; Freund, K.B.; Sadda, S.R. OCT Angiography and Evaluation of the Choroid and Choroidal Vascular Disorders. *Prog. Retin. Eye Res.* **2018**, *67*, 30–55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Mano, F.; Dispenzieri, A.; Kusaka, S.; Pavesio, C.; Khalid, H.; Keane, P.A.; Pulido, J.S. Association between choroidal characteristics and systemic severity in amyloidosis. *Retina* **2021**, *41*, 1037–1046. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Chen, W.; Li, Z.; Wang, Q.; Wang, Y.; Zhang, Y. The Role of C-Jun N-Terminal Kinase-1 in Controlling Aquaporin-1 and Choroidal Thickness during Recovery from Form-Deprivation Myopia in Guinea Pigs. *Curr. Eye Res.* **2021**, *46*, 885–894. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Jnawali, A.; Beach, K.M.; Ostrin, L.A. In Vivo Imaging of the Retina, Choroid, and Optic Nerve Head in Guinea Pigs. *Curr. Eye Res.* **2018**, *43*, 1006–1018. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Li, T.; Zhou, X.D.; Luo, X.; Jiang, B. Optical Coherence Tomography and Histologic Measurements of Retinal and Choroidal Thicknesses in Guinea Pig Eyes. *Int. J. Clin. Exp. Med.* **2016**, *9*, 7080–7087.
29. Yu, T.; Xie, X.; Wei, H.; Shen, H.; Wu, Q.; Zhang, X.; Ji, H.; Tian, Q.; Song, J.; Bi, H. Choroidal Changes in Lens-Induced Myopia in Guinea Pigs. *Microvasc. Res.* **2021**, *138*, 104213. [[CrossRef](#)]
30. Zhang, S.; Zhang, G.; Zhou, X.; Xu, R.; Wang, S.; Guan, Z.; Lu, J.; Srinivasalu, N.; Shen, M.; Jin, Z.; et al. Changes in Choroidal Thickness and Choroidal Blood Perfusion in Guinea Pig Myopia. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2019**, *60*, 3074–3083. [[CrossRef](#)]
31. Zwolska, J.; Szadkowski, M.; Balicka, A.; Balicki, I. Morphometrical Analysis of the Canine Choroid in Relation to Age and Sex Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Acta Vet. Hung.* **2021**, *69*, 266–273. [[CrossRef](#)]
32. Fortney, W.D. Implementing a Successful Senior/Geriatric Health Care Program for Veterinarians, Veterinary Technicians, and Office Managers. *Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract.* **2012**, *42*, 823–834. [[CrossRef](#)]
33. Povazay, B.; Hermann, B.; Hofer, B.; Kajić, V.; Simpson, E.; Bridgford, T.; Drexler, W. Wide-Field Optical Coherence Tomography of the Choroid in Vivo. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2009**, *50*, 1856–1863. [[CrossRef](#)]
34. Branchini, L.A.; Adhi, M.; Regatieri, C.V.; Nandakumar, N.; Liu, J.J.; Laver, N.; Fujimoto, J.G.; Duker, J.S. Analysis of Choroidal Morphologic Features and Vasculature in Healthy Eyes Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology* **2013**, *120*, 1901–1908. [[CrossRef](#)]
35. Wei, W.B.; Xu, L.; Jonas, J.B.; Shao, L.; Du, K.F.; Wang, S.; Chen, C.X.; Xu, J.; Wang, Y.X.; Zhou, J.Q.; et al. Subfoveal Choroidal Thickness: The Beijing Eye Study. *Ophthalmology* **2013**, *120*, 175–180. [[CrossRef](#)]
36. Hanumunthadu, D.; van Dijk, E.H.C.; Dumpala, S.; Rajesh, B.; Jabeen, A.; Jabeen, A.; Ansari, M.; Mehta, P.; Shah, S.; Sarvaiya, C.; et al. Evaluation of Choroidal Layer Thickness in Central Serous Chorioretinopathy. *J. Ophthalmic Vis. Res.* **2019**, *14*, 164–170. [[CrossRef](#)]
37. Baek, J.; Cheung, C.M.G.; Jeon, S.; Lee, J.H.; Lee, W.K. Polypoidal Choroidal Vasculopathy: Outer Retinal and Choroidal Changes and Neovascularization Development in the Fellow Eye. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2019**, *60*, 590–598. [[CrossRef](#)]
38. Staurengi, G.; Sadda, S.; Chakravarthy, U.; Spaide, R.F.; International Nomenclature for Optical Coherence Tomography (IN•OCT) Panel. Proposed Lexicon for Anatomic Landmarks in Normal Posterior Segment Spectral-Domain Optical Coherence Tomography: The IN•OCT Consensus. *Ophthalmology* **2014**, *121*, 1572–1578. [[CrossRef](#)]
39. Carpenter, C.L.; Kim, A.Y.; Kashani, A.H. Normative Retinal Thicknesses in Common Animal Models of Eye Disease Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2018**, *1074*, 157–166. [[CrossRef](#)]
40. Occelli, L.M.; Pasmarter, N.; Ayoub, E.E.; Petersen-Jones, S.M. Changes in Retinal Layer Thickness with Maturation in the Dog: An in Vivo Spectral Domain—Optical Coherence Tomography Imaging Study. *BMC Vet. Res.* **2020**, *16*, 225. [[CrossRef](#)]

41. Grozdanic, S.D.; Lazic, T.; Kecova, H.; Mohan, K.; Kuehn, M.H. Optical Coherence Tomography and Molecular Analysis of Sudden Acquired Retinal Degeneration Syndrome (SARDS) Eyes Suggests the Immune-Mediated Nature of Retinal Damage. *Vet. Ophthalmol.* **2019**, *22*, 305–327. [[CrossRef](#)]
42. Graham, K.L.; McCowan, C.I.; Caruso, K.; Billson, F.M.; Whittaker, C.J.G.; White, A. Optical Coherence Tomography of the Retina, Nerve Fiber Layer, and Optic Nerve Head in Dogs with Glaucoma. *Vet. Ophthalmol.* **2020**, *23*, 97–112. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Osinchuk, S.C.; Leis, M.L.; Salpeter, E.M.; Sandmeyer, L.S.; Grahn, B.H. Evaluation of Retinal Morphology of Canine Sudden Acquired Retinal Degeneration Syndrome Using Optical Coherence Tomography and Fluorescein Angiography. *Vet. Ophthalmol.* **2019**, *22*, 398–406. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Kotb, A.M.; Ibrahim, I.A.-A.; Aly, K.H.; Zayed, A.E. Histomorphometric Analysis of the Choroid of Donkeys, Buffalos, Camels and Dogs. *Int. Ophthalmol.* **2019**, *39*, 1239–1247. [[CrossRef](#)]
45. Abadia, B.; Suñen, I.; Calvo, P.; Bartol, F.; Verdes, G.; Ferreras, A. Choroidal Thickness Measured Using Swept-Source Optical Coherence Tomography Is Reduced in Patients with Type 2 Diabetes. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0191977. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Steiner, M.; Esteban-Ortega, M.D.M.; Muñoz-Fernández, S. Choroidal and Retinal Thickness in Systemic Autoimmune and Inflammatory Diseases: A Review. *Surv. Ophthalmol.* **2019**, *64*, 757–769. [[CrossRef](#)]
47. Jin, P.; Zou, H.; Zhu, J.; Xu, X.; Jin, J.; Chang, T.C.; Lu, L.; Yuan, H.; Sun, S.; Yan, B.; et al. Choroidal and Retinal Thickness in Children With Different Refractive Status Measured by Swept-Source Optical Coherence Tomography. *Am. J. Ophthalmol.* **2016**, *168*, 164–176. [[CrossRef](#)]
48. Sahinoglu-Keskek, N.; Canan, H. Effect of Latanoprost on Choroidal Thickness. *J. Glaucoma* **2018**, *27*, 635–637. [[CrossRef](#)]
49. Zhao, M.; Alonso-Caneiro, D.; Lee, R.; Cheong, A.M.Y.; Yu, W.-Y.; Wong, H.-Y.; Lam, A.K.C. Comparison of Choroidal Thickness Measurements Using Semiautomated and Manual Segmentation Methods. *Optom. Vis. Sci. Off. Publ. Am. Acad. Optom.* **2020**, *97*, 121–127. [[CrossRef](#)]
50. Uyar, E.; Dogan, U.; Ulas, F.; Celebi, S. Effect of Fasting on Choroidal Thickness and Its Diurnal Variation. *Curr. Eye Res.* **2019**, *44*, 695–700. [[CrossRef](#)]
51. Pinheiro-Costa, J.; Correia, P.J.; Pinto, J.V.; Alves, H.; Torráo, L.; Moreira, R.; Falcão, M.; Carneiro, Â.; Madeira, M.D.; Falcão-Reis, F. Increased Choroidal Thickness Is Not a Disease Progression Marker in Keratoconus. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 19938. [[CrossRef](#)]
52. Yamaue, Y.; Hosaka, Y.Z.; Uehara, M. Macroscopic and Histological Variations in the Cellular Tapetum in Dogs. *J. Vet. Med. Sci.* **2014**, *76*, 1099–1103. [[CrossRef](#)]
53. Lesiuk, T.P.; Braekevelt, C.R. Fine Structure of the Canine Tapetum Lucidum. *J. Anat.* **1983**, *136*, 157–164.
54. Soukup, P.; Maloca, P.; Altmann, B.; Festag, M.; Atzpodien, E.-A.; Pot, S. Interspecies Variation of Outer Retina and Choriocapillaris Imaged With Optical Coherence Tomography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2019**, *60*, 3332–3342. [[CrossRef](#)]
55. Mischi, E.; Soukup, P.; Harman, C.D.; Oikawa, K.; Kowalska, M.E.; Hartnack, S.; McLellan, G.J.; Komáromy, A.M.; Pot, S.A. Outer retinal thickness and visibility of the choriocapillaris in four distinct retinal regions imaged with spectral domain optical coherence tomography in dogs and cats. *Vet. Ophthalmol.* **2022**, *25*, 122–135. [[CrossRef](#)]
56. Ruiz-Medrano, J.; Flores-Moreno, I.; Peña-García, P.; Montero, J.A.; García-Feijóo, J.; Duker, J.S.; Ruiz-Moreno, J.M. Analysis of age-related choroidal layers thinning in healthy eyes using swept-source optical coherence tomography. *Retina* **2017**, *37*, 1305–1313. [[CrossRef](#)]
57. Kamal Abdellatif, M.; Abdelmaguid Mohamed Elzankalony, Y.; Abdelmonsef Abdelhamid Ebeid, A.; Mohamed Ebeid, W. Outer Retinal Layers' Thickness Changes in Relation to Age and Choroidal Thickness in Normal Eyes. *J. Ophthalmol.* **2019**, *2019*, 1698967. [[CrossRef](#)]
58. Mowat, F.M.; Petersen-Jones, S.M.; Williamson, H.; Williams, D.L.; Luthert, P.J.; Ali, R.R.; Bainbridge, J.W. Topographical characterization of cone photoreceptors and the area centralis of the canine retina. *Mol. Vis.* **2008**, *14*, 2518–2527.
59. Yamaue, Y.; Hosaka, Y.Z.; Uehara, M. Spatial relationships among the cellular tapetum, visual streak and rod density in dogs. *J. Vet. Med. Sci.* **2015**, *77*, 175–179. [[CrossRef](#)]
60. Papastergiou, G.I.; Schmid, G.F.; Riva, C.E.; Mendel, M.J.; Stone, R.A.; Laties, A.M. Ocular Axial Length and Choroidal Thickness in Newly Hatched Chicks and One-Year-Old Chickens Fluctuate in a Diurnal Pattern That Is Influenced by Visual Experience and Intraocular Pressure Changes. *Exp. Eye Res.* **1998**, *66*, 195–205. [[CrossRef](#)]
61. Chakraborty, R.; Read, S.A.; Collins, M.J. Diurnal Variations in Axial Length, Choroidal Thickness, Intraocular Pressure, and Ocular Biometrics. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2011**, *52*, 5121–5129. [[CrossRef](#)]
62. Ko, J.C.; Fox, S.M.; Mandsager, R.E. Sedative and Cardiorespiratory Effects of Medetomidine, Medetomidine-Butorphanol, and Medetomidine-Ketamine in Dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2000**, *216*, 1578–1583. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Heller, A.R.; van der Woerd, A.; Gaarder, J.E.; Sapienza, J.S.; Hernandez-Merino, E.; Abrams, K.; Church, M.L.; La Croix, N. Sudden Acquired Retinal Degeneration in Dogs: Breed Distribution of 495 Canines. *Vet. Ophthalmol.* **2017**, *20*, 103–106. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Morphometric assessment of the choroid in dogs diagnosed with retinal atrophy (RA) with symptoms of progressive retinal atrophy, using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT)

J. Zwolska¹, I. Balicki¹, A. Balicka², B. Kuduk¹

¹ Department and Clinic of Animal Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin, Głęboka 30, 20-612 Lublin, Poland

² Small Animals Clinic,

University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 040 01 Košice, Slovakia

Correspondence to: I. Balicki, e-mail: balicki.ireneusz@gmail.com, tel +48 603 066 376

Abstract

The aim of the study was to determine the thickness of choroidal layers in mixed breed dogs suffering from retinal atrophy (RA) and showing symptoms of progressive retinal atrophy (PRA), with the use of SD-OCT. The study was performed on 50 dogs divided into two groups: 25 dogs diagnosed with retinal atrophy (RA) with PRA symptoms aged 1.5-14 years and 25 healthy dogs aged 2-12 years. The dogs were examined using slit-lamp biomicroscopy, tonometry, ophthalmoscopy, fundus camera and SD-OCT (Topcon 3D OCT 2000). Measurements of the choroidal layers: RPE-Bruch membrane-choriocapillaris complex (RPE-BmCc) with tapetum lucidum in tapetal fundus, medium-sized vessel layer, (MSVL), large vessel layer with lamina suprachoroidea and (LVLS) whole choroidal thickness (WCT) were taken manually with the use of the caliper function integrated with the SD-OCT software. The measurements were performed dorsally (D) and ventrally (V) at a distance of 5000-6000 μm , and temporally (T) and nasally (N) at a distance of 4000-7000 μm from the optic disc with enhanced depth scans. The measurements were conducted temporally and nasally both in the tapetal (TempT, NasT) and nontapetal (TempNT, NasNT) fundus. Statistical analysis was performed using Statistica 10 software (Mann Whitney U Test). In all dogs affected by retinal atrophy (RA) with PRA symptoms, a statistically significant ($p \leq 0,05$) reduction in thickness of MSVL was observed in all the measured regions. A statistically significant reduction in thickness of LVLS and WCT was found in all nontapetal areas ($p \leq 0,05$). RA in mixed breed dogs with PRA symptoms was accompanied by choroid disorders such as reduction in thickness of the large vessel layer and decreased whole choroidal thickness in the nontapetal fundus as well as the medium vessel layer in all fundus regions.

Keywords: canine, choroid, choroidal thickness, optical coherence tomography, retinal atrophy



Introduction

Canine retinal degenerative diseases are differentiated between the hereditary, progressive retinal atrophy (PRA) and the non-hereditary, postinflammatory retinal degenerations. Ophthalmoscopic features of PRA are bilateral symmetry and progressivity. Asymmetrical, sometimes non-progressive, local or widespread nature is characteristic for the other lesions that can be associated with inflammation, infection or toxicity (Barnett et al. 1983, Maggs et al. 2017). In the post-inflammatory retinal degeneration the areas of retinopathy may be limited to one eye, or both eyes might be affected but not to the same degree. Known causes of post-inflammatory retinal degeneration include infectious diseases, such as canine distemper, toxoplasmosis, cryptococcosis, blastomycosis, leishmaniasis and histoplasmosis. Retinal degeneration may also occur in systemic diseases such as diabetes mellitus and nephritis. It may be also associated with such conditions as lens luxation or intraocular tumours (Barnett et al. 1983, Maggs et al. 2017). The telltale symptoms of PRA observed during ophthalmoscopic examinations of the fundus include hyperreflectivity – observed in the early stages of the disease – followed by initially localized, and later general, reduction in thickness and atrophy of blood vessels, abnormal retinal pigmentation, and atrophy of the optic disc. The changes occur symmetrically and bilaterally (André et al. 2008, Downs et al. 2014). It is commonly accepted that PRA begins peripherally and progresses toward the center of the fundus. As follows from our previous research, retinal atrophy in dogs suffering from PRA starts in the ventral region, in the nontapetal region, and spreads above the optic nerve into the region of the tapetum lucidum (Balicki et al. 2018).

Due to its phenotypic similarity, retinitis pigmentosa (RP) diagnosed in people is considered the human counterpart of canine progressive retinal atrophy. The group of diseases generally classified under the category of retinitis pigmentosa are characterized by the hereditary and progressive character of the lesions, presence of “bone spicule pigmentation”, reduced field of vision, deterioration of low light vision quality, and reduced photoreceptor response during an electroretinography exam (Poornachandra et al. 2019). Twilight blindness is related to the loss of rod cells in the early stage of the disease which, ultimately leads to atrophy of the entire photoreceptor layer, starting from the peripheral areas of the retina and ending with the macular receptors (Liu et al. 2016, Milam et al. 1998). Upon closer analysis, scans taken with the use of spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) reveal decreasing thickness of the external

photoreceptor layer. As follows from the studies conducted to date, RP can also be associated with degeneration of the choroid (Adhi et al. 2013, Finzi et al. 2014, Poornachandra et al. 2019, Korte et al. 1984). Previous results in patients diagnosed with RP showed a preferential reduction in thickness of the large choroidal vessel layer. RP was characterized by variable choriocapillaris atrophy. The shape of the choroid was irregular (Shintani et al. 2009, Oh et al. 2020)

Recent advances in choroid imaging techniques, including enhanced depth imaging optical coherence tomography, have facilitated a more thorough analysis of this structure (Singh et al. 2019). Histologically, the choroid can be divided into between four and six layers, depending on whether the vascular region is treated as a single or double layer, and whether it is assumed that the lamina fusca is a part of the sclera or the choroid. In most household mammals, dogs included, starting from the retina (the inner section) the choroid is composed of Bruch's membrane, the choriocapillaris, tapetum lucidum, intermediate-vessel layer, large-vessel layer and the suprachoroidea (Nickla and Wallman 2010, McLellan and Rasmussen 2012, Rosolen et al. 2012).

SD-OCT is a contactless and non-invasive method that facilitates fast, cross-sectional, real-time, in vivo imaging of the retina and the choroid (Gabriele et al. 2011, Xu et al. 2017). SD-OCT choroidal imaging in dogs, however, is a new area of study. As a multi-purpose structural element of the eyeball, the choroid can be affected by pathological processes that may have a direct bearing on the visual function (Bruè et al. 2013, Murthy et al. 2016, Brusini 2018). In a previous study conducted on clinically healthy dogs, it was demonstrated that the SD-OCT method is the perfect tool for non-invasive, in vivo imaging of the choroid as well as morphological and morphometric assessment of its condition. Moreover, SD-OCT allows one to discern the respective layers of the canine choroid. It has also been demonstrated that the total thickness of the choroid, as well as its respective layers does not change with the age (Zwolska et al. 2021, 2023).

The aim of the present study was to analyze the thickness of respective choroidal layers in particular regions of the eye in dogs suffering from retinal atrophy (RA) with PRA symptoms and compare the results to those obtained from healthy dogs. As it was impossible to establish PRA heredity in particular mixed breed dogs included in the study, the authors chose to describe the diagnosed condition as retinal atrophy (RA) with PRA symptoms.

Materials and Methods

Animals

The study was performed on 50 mixed breed dogs divided into two groups: 25 dogs diagnosed with retinal atrophy (RA) with PRA symptoms aged 2-12 years, 18 males and 7 females (RA) and 25 healthy dogs aged 2-12 years, 15 males and 10 females, as the control group (Control). The animals were patients of the Department and Clinic of Animal Surgery at the University of Life Sciences in Lublin. The owners were informed of the nature of the examinations and gave their consent. The research was approved by the Scientific Research Committee of the Department and Clinic of Animal Surgery at the University of Life Sciences in Lublin on February 1, 2018 (#6/2018) in a decision concerning non-experimental clinical patients. The study was performed in accordance with Polish law and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, Chapter I, Article 1, point 5(b).

Clinical examination

All the dogs were classified as healthy based on physical examinations and blood test results. The blood tests included complete blood cell counts, urea, complete bilirubin, creatinine, aspartate transaminase, alanine transaminase, alkaline phosphatase, and amylase. Only animals whose results were within the reference ranges were qualified for the study. The dogs had been dewormed twice a year. The examinations did not indicate that the dogs had previously suffered from any systemic or ophthalmic disorders.

Ophthalmological examination

Ocular examination was performed using a slit lamp biomicroscope (Shin-Nippon, Japan). Intraocular pressure (IOP) measurements were obtained using a rebound tonometer TonoVet (iCare, Finland). Only animals with an intraocular pressure (IOP) within the range of 15-20 mmHg were qualified. The pupillary light reflex, both direct and consensual, chromatic pupillary light reflex, menace response and dazzle reflex were estimated in all the dogs. Behavioral ophthalmic tests included tracking and placing or obstacle tests under scotopic and photopic conditions. Fundus examination was performed using a binocular indirect ophthalmoscope (Keeler, UK), direct ophthalmoscope (Welch Allyn, USA), and a panoptic ophthalmoscope (Welch Allyn, USA). Photographs of the ocular fundus were taken using a Handy NM-200D Fundus

Camera (Nidek, Japan) connected to a computer operating IrfanView software (Wiener Neustadt, Austria). No vision impairment or ocular abnormalities were identified in any dogs from the Control group.

Preparation of animals for electroretinography

All dogs from the RA group underwent an electroretinography (ERG) exam (RETIportERG: Acrivet; Hennigsdorf, Germany). The animals fasted for at least 12 hours prior to the ERG recording. Bright sunlight was avoided for a minimum of 2 hours prior to the procedure. Maximal pupillary dilation was obtained by applying eyedrops containing 1% tropicamide (Tropicamidum 1%, WZF Polfa S.A., Poland). The dogs were sedated with an intramuscular injection of medetomidine at a dose of 0.03 mg/kg (Cepetor 1 mg/mL, CP Pharma, Germany). General anesthesia was induced with an intramuscular injection of ketamine (Vetaketam 100 mg/ml, Vet-Agro Sp. z o.o., Poland) at a dose of 5 mg/kg. When prolonged general anesthesia was required, ketamine was administered intravenously as needed. After intubation, the dogs were placed in sternal recumbency. Heart and respiratory rates, electrocardiographic trace and pulse oximetry were measured using a multiparameter monitor.

ERG procedures

The canine protocol endorsed by the European College of Veterinary Ophthalmologists was used (Ekesten et al. 2013). Steel subdermal needle electrodes (BIONEN S.a.s., Italy) were used to record the ERG. A reference electrode was placed approximately 2 cm caudally to the lateral canthus of the tested eye and a ground electrode was placed over the external occipital protuberance. The cornea was anesthetized with a local administration of 0.5% proparacaine hydrochloride (Alcaine®, Alcon Inc.). A drop of 2.5% hypromellose solution (GONIOVISC, HUB Pharmaceuticals, LLC, Rancho Cucamonga, CA) was placed on the cornea to keep it moist and facilitate electrical conduction with the ERG electrode. A contact lens with built-in electroluminescent diodes served as the active electrode (LED, Kooijman/Damhof ERG lens®, Medical Workshop BV, Groningen, The Netherlands). All the lights in the room were switched off before the ERG exam started.

Each ERG session included scotopic and photopic ERG. The rod response was evaluated under scotopic adaptation during a 20-minute adaptation period. Response to the stimulation using a light impulse with an intensity of 0.03 cd*s*m⁻² was measured 5 times, every 4 minutes. A 10 Hz rod flicker was observed at the same level of stimulation. The mixed rod and cup

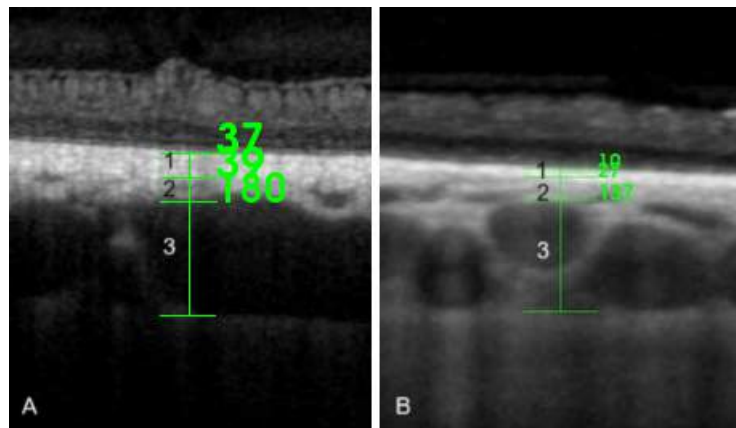


Fig. 1. Measurement of the respective choroidal layers (1 – RPE-BmCc, 2 – MSVL, 3 – LVLS) in dogs suffering from retinal atrophy (RA) in the tapetal (A) and nontapetal region (B).

response was recorded under scotopic adaptation using light flash stimulation with an intensity of $3 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$. Photopic response was recorded with background illumination at a level of $30 \text{ cd} \cdot \text{m}^{-2}$, using a standard $3 \text{ cd} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-2}$ impulse. To obtain the transient response result, 3 individual flashes were averaged, while the flicker response was measured using 31 Hz light-flash stimulation.

The reference values for the ERG wave amplitude and latency were obtained from the control group composed of 10 healthy mixed breed dogs (5 males and 5 females) aged between 2 and 11 years old.

Preparation of animals for the SD-OCT

The SD-OCT and ERG examinations were performed at least 7 days apart. In all dogs, SD-OCT was performed between 9 a.m. and 1 p.m. Pupils were dilated using tropicamide eye drops (Tropicamidum WZF 1%, Polfa Warszawa S.A., Poland). The dogs were sedated with medetomidine 0.03 mg/kg (Cepetor 1 mg/mL , CP Pharma, Germany) administered intramuscularly. Local anesthesia of the corneal and conjunctival surface was achieved using 0.5% proxymetacaine hydrochloride (Alcaine 5 mg/mL , Alcon, Warsaw, Poland). A thumb forceps was used to grasp the bulbar conjunctiva and stabilize the eye. During the SD-OCT examination, the cornea was moistened every 30 s with saline.

OCT scan and data analysis

The imaging was performed for both eyes of each animal using SD-OCT (wavelength: 840 nm ; scan pattern: enhanced depth imaging, EDI; Topcon 3D OCT-2000, Topcon, Japan) with linear and cross-sectional radial scans. The device's software allowed precise location of the choroidal measurements in the scans obtained. The caliper function integrated with the OCT software was used to manually perform choroid

measurements. The measurements were performed as described previously (Zwolska et al., 2023) and applied to the respective layers of the choroid. The measurement sequence included, starting from the innermost layer, the RPE-Bruch's membrane – choriocapillaris complex (RPE-BmCc) with tapetum lucidum in the tapetal fundus, the medium-sized vessel layer (MSVL), the large vessel layer with lamina suprachoroidea (LVLS), and whole choroidal thickness (WCT) – Fig. 1.

Choroidal thickness was defined as the vertical distance from the hyperreflective line of the RPE-Bruch's membrane complex to the hyperreflective line of the inner sclera surface. Measurements were taken in the dorsal and ventral regions at $5000\text{--}6000 \mu\text{m}$ from the optic disc. Temporal (T) and nasal (N) scans were taken at $4000\text{--}7000 \mu\text{m}$ from the optic disc. Temporal and nasal measurements were taken both in the tapetal (temporal: TempT, nasal: NasT) and nontapetal fundus (temporal: TempNT, nasal: NasNT). Measurements in the TempT and NasT regions were taken at $500\text{--}2000 \mu\text{m}$ dorsally from the border between the tapetal and nontapetal regions. Measurements in the temporal and nasal nontapetal regions were taken at $500\text{--}2000 \mu\text{m}$ ventrally from the border between the tapetal and nontapetal regions. In each region, three measurements were taken: at the center of the scan and at $1500 \mu\text{m}$ from the center to both left and right. The results of the three measurements were then averaged for each segment. To avoid variability, all the measurements were taken at the same time of day and verified by the same two authors.

Statistical methods

Data normality was tested using Lillieforce's method and verified with the Shapiro-Wilk test. Significantly different comparisons were identified using the Mann-Whitney U test. Analyses were performed using

Table 1. Results of vision examinations and neuro-ophthalmic tests in the RA dog group.

Dog no.	Menace response		Tracking reflex	Visual placing reflex	Obstacle course test		Pupillary light reflex		Dazzle reflex		Chromatic pupillary light reflex					
	R	L			Scotopic conditions	Photopic conditions	R	L	R	L	R	L	RED	BLUE	RED	BLUE
	1	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+/-	+/-	+/-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-	-	+/-	-	+/-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-	-	+/-	-	+/-
7	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-	-	+/-	-	+/-
18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	+/-	+/-	-	+/-	-	+	+/-	+/-	-	-	-	+/-	-	+/-	-	+/-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-	-	+/-	-	+/-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Menace response, tracking reflex, visual placing reflex, dazzle reflex: (+) = present, (-) = absent, (+/-) = unclear (uncertain). Obstacle course test: (-) = dog had difficulty navigating the course, (+) = dog did not have difficulty navigating the course.

Pupillary light reflex, chromatic pupillary light reflex: (-) = mydriasis with absent pupillary light response (PLR), (+/-) = delayed PLR, (+) = normal PLR. Dazzle reflex: (+) = present, (-) = absent. Chromatic pupillary light reflex (cPLR): (+) = cPLR present, (-) = cPLR absent, (+/-) = delayed cPLR.

Statistica 10 software (TIBCO Software Inc.). Statistical significance was set at $p \leq 0.05$.

Results

Clinical examinations

Clinical examinations revealed no irregularities in any of the dogs included in the study. Complete blood counts and biochemistry results for all dogs were within reference ranges.

Vision and neuro-ophthalmic tests

Only dogs that did not have any ophthalmological diseases or vision impairments were selected for the Control group. Vision and neuro-ophthalmic tests were normal in the Control group dogs. Incipient cortical cataracts were found bilaterally in one 8-year-old male and one 13-year-old male from the RA group. An 8-year-old male also had asteroid hyalosis. The results of vision examinations and neuro-ophthalmic tests in the RA group are presented in Table 1.

All the dogs in the RA group showed typical PRA symptoms which included tapetal hyperreflectivity,

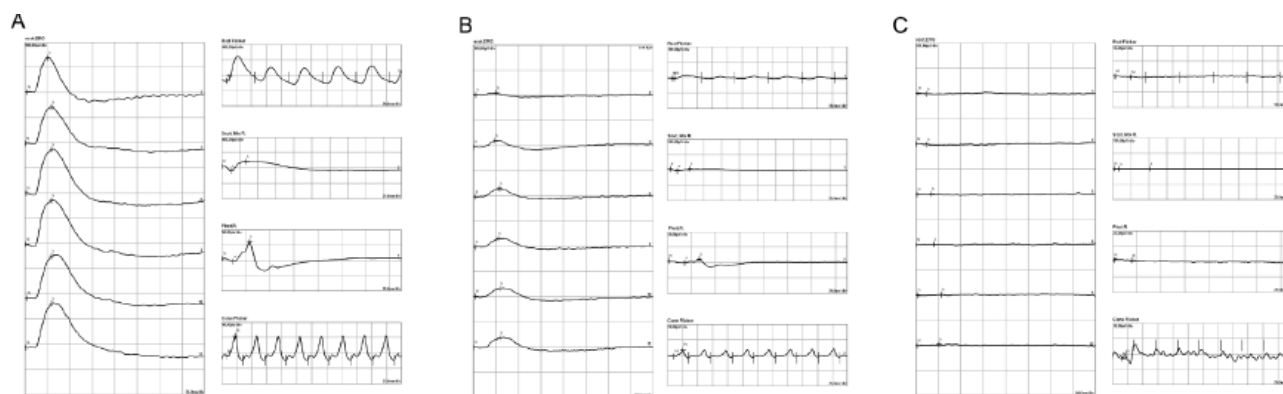


Fig. 2. Representative electroretinogram (ERG) waveforms recorded using the dog protocol for an animal from the control group (A), a dog in an early stage of RA (dog no. 11) (B), and a dog in an advanced stage of RA (dog no. 24) (C). The results in each column were obtained for the same dogs. The graphs present scotopic and photopic ERG.

vascular attenuation, abnormal pigmentation of the tapetal fundus, peripapillary halo, mottling, beading of retinal vessels, and ghost vessels. The changes were symmetrical and bilateral. In addition, the disease was confirmed by the ERG and SD-OCT examinations. Information obtained from the owners indicated that they had observed progressive vision impairment, initially in the scotopic condition.

Electroretinographic examinations

The amplitude of the b-wave was significantly decreased at all light intensities in 11 RA cases (dog numbers 1,2,6,7,11,16,18,20,22,23,25). The a-wave amplitude was also significantly lower at all light intensities for the 11 RA-affected dogs. At the advanced stage of disease, in 14 dogs (dog numbers 3,4,5,8,9,10,12,13,14,15,17,19,21,24), there were non-recordable extinguished (flatline) ERG responses for the scotopic and photopic ERGs.

Examples of scotopic and photopic responses: correct, decreased, and non-recordable ERG responses recorded for three dogs – one control group animal and two animals suffering from RA – respectively, in an early and advanced stage of the disease, are presented in Fig. 2.

SD-OCT examinations

Measurement of choroidal layers in SD-OCT scans was possible in 22 of the 25 dogs suffering from RA. The results of these measurements were included in the statistical analysis. The scans of 3 dogs (no. 5, 9, and 14) were excluded as the advanced stage of the disease led to atrophy of the choroid and, consequently, it was impossible to distinguish the choroid or its respective layers (Fig. 3 – example scans).

Choroidal layer and whole choroidal thicknesses results for each respective region of the fundus are provided in Table 2. In all dogs affected by RA, there

was a statistically significant reduction in thickness of MSVL compared to Control in all the regions measured. Statistically significant reduction in thickness of LVLS and WCT was found in all nontapetal areas in comparison to Control.

The advancement of the disease process in the nontapetal regions is visible in the scan (Fig. 4). The thickness of the LVLS and WCT layer in the nontapetal region was lower as compared to the scans obtained in the control group, as confirmed by the statistical analysis. The blurring of choroidal layers and choroidal atrophy was more severe in the nontapetal regions.

Discussion

The morphometric choroid analysis conducted in dogs suffering from RA revealed more advanced atrophy, i.e. more significant reduction in thickness of both LVLS and WCT layers, in all regions where the tapetum lucidum was not present, as compared to tapetal regions. As follows from our earlier research, retinal atrophy in dogs suffering from RA also begins in the ventral region, i.e. the region of the nontapetal fundus, from where it progresses above the optic nerve into the region of the tapetum lucidum (Balicki et al. 2018). This may suggest a direct connection between the advancement of the disease and changes developing in the large vessel layer with the lamina suprachoroidea, as well as reduction of overall choroidal thickness.

In the course of retinitis pigmentosa (RP), which is the human counterpart to canine PRA, choroid thickness changes in particular quadrants of the fundus. It was reported that in the human control group, the choroid was found to be thickest beneath the fovea and thinnest in the nasal quadrants. Whereas in the case of patients suffering from RP, the choroid was the thickest in the temporal quadrants, and the thinnest in the nasal quadrants (Adhi et al. 2013). In our study, it was

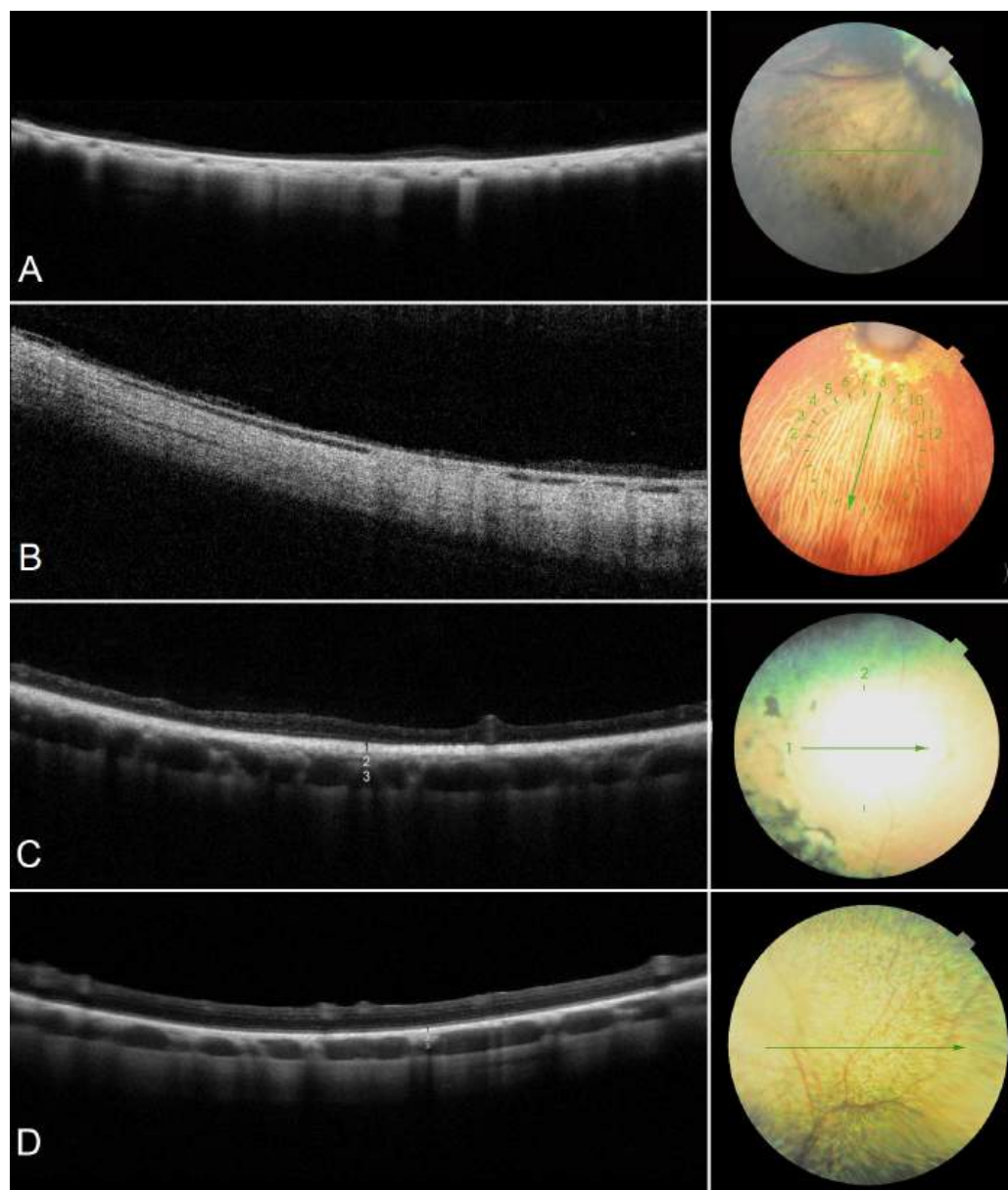


Fig. 3. Images of the retina and the choroid in various stages of the disease. Measurement of the choroid and its respective layers was impossible in the most advanced stage – A (dog no. 9), B (dog no. 14). In scans C – dog no. 2 and D – dog no. 25 the respective choroidal layers are visible: 1 – RPE-BmCc, 2 – MSVL, 3- LVLS.

demonstrated that in the case of dogs suffering from RA, the WCT was, similarly to the control group, thickest in the TempT region followed by the D region, and thinnest in the V region. At the same time, a statistically significant reduction in thickness of the WCT was observed in all nontapetal regions of the fundus. In the context of RP, difficulties were reported in terms of distinguishing the respective layers of the choroid (Adhi et al. 2013). In the control group, the imaging clearly showed the choriocapillary vessels, medium-sized and large blood vessels. Meanwhile, in patients suffering from RP, it proved difficult to distinguish the choriocapillaris from the medium-sized vessel layer in the scans. Nonetheless, the joint thickness of the two layers was used to

estimate mean thickness changes. The thickness analyses evidenced reduction in thickness of the large vessel layer, while the joint thickness of the choriocapillaris and medium-sized vessel layers remained unaffected (Adhi et al. 2013). In our study conducted on dogs, the particular choroidal layers were indistinguishable in the most advanced cases of RA due to the simultaneous atrophy of the retina. Dogs in the advanced stage of retinal and choroidal atrophy had to be excluded from the measurements due to the impossibility of measuring the respective layers. In the remaining dogs, however, the results revealed reduction in thickness of the MSVL layer in all the analyzed regions. Reduction in thickness of the LVLS and WCT layers was registered only in the

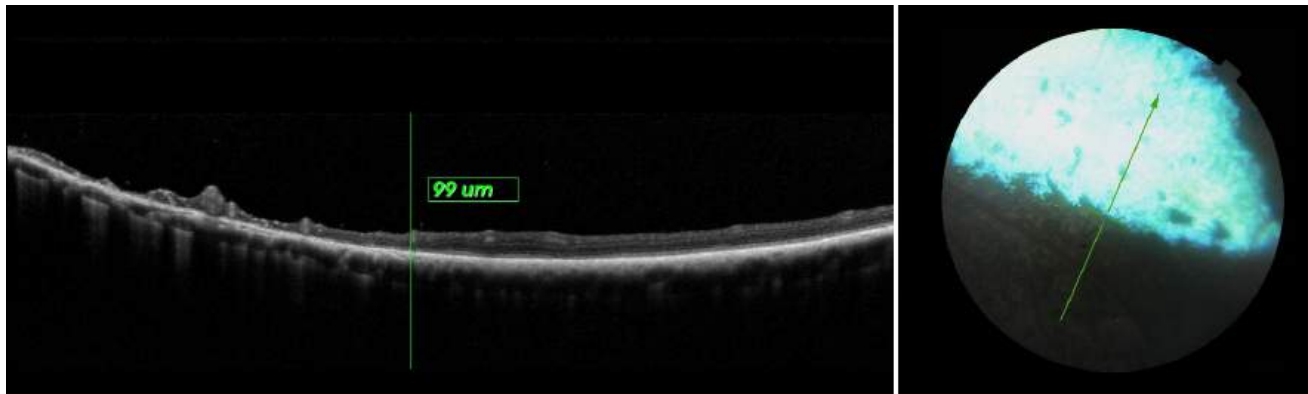


Fig. 4. Scan presenting the different stages of retinal and choroidal atrophy advancement relative to the presence of the tapetum lucidum (dog no. 20). Significant advancement of retinal and choroidal atrophy in the nontapetal region. The green arrow in the fundus photograph indicates the location of the scan. The short green line on the border of the tapetal and nontapetal region, perpendicular to the green arrow in the fundus photograph corresponds to the green vertical line visible in the scan.

Table 2. Choroidal layers and whole choroidal thicknesses (median (μm) [minimum (Min) - maximum (Max)]) in certain fundus regions in the Control and RA dog groups.

Layer	Fundus region			
	D		V	
	Control	RA	Control	RA
RPE-BmCc	29.17 [19.00-39.33]	22.33 [10-37.50]*	7.67 [6.33-9.33]	8.18 [7.00-9.17]*
MSVL	32.25 [22.00-44.60]	24.75 [8.83-38.0]*	24.20 [15.67-36.17]	15.00 [12.50-25.00]*
LVLS	120.80 [89.50-170.67]	118.17 [58.83-174.83]	71.00 [57.00-113.50]	51.00 [19.00-88.67]*
WCT	190.50 [134.83-222.83]	163.00 [79.67-237.17]	104.00 [80.67-153.00]	75.83 [26.33-116.33]*
Layer	TempT		TempNT	
	Control	RA	Control	RA
	RPE-BmCc	10.00 [7.33-15.67]	10.00 [8.33-15.17]	7.67 [7.00-9.40]
MSVL	49.00 [36.50-69.33]	34.20 [11.33-51.67]*	30.00 [15.00-39.50]	15.92 [9.33- 24.42]*
LVLS	138.67 [80.50-171.33]	125.00 [62.00-171.33]	87.00 [63.00-110.33]	62.00 [38.00-113.00]*
WCT	202.50 [125.50-223.67]	164 [83.33-219.00]	119.50± [85.00-147.67]	86.00 [55.00-146.00]*
Layer	NasT		NasNT	
	Control	RA	Control	RA
	RPE-BmCc	10.33 [7.50-12.00]	10.50 [8.50-11.50]	7.67 [7.00-9.75]
MSVL	35.00 [27.33-40.50]	22.67[19.00-30.33]*	30.00 [16.67-43.00]	18.52 [12.67-23.67]*
LVLS	92.00 [76.00-110.00]	94.67 [74.67-113.00]	89.67 [71.67-110.00]	70.67 [44.50-106.00]*
WCT	139.50 [123.60-151.33]	130.33 [104.17-148.50]	123.00 [95.33-162.00]	97.42 [54.50-140.00]*

D – dorsal, V – ventral, TempT – temporal tapetal, TempNT – temporal nontapetal, NasT – nasal tapetal, NasNT – nasal nontapetal.

nontapetal regions where more advanced retinal atrophy was also observed, as compared to the tapetal regions.

The present study does not explain whether the reduction of thickness of choroidal layers was primary or secondary to retinal atrophy. The research indicated that in the case of advanced retinal atrophy, both structures were completely atrophied (Fig. 3). Both the retina and the choroid are tissues that complement each other. The choroid synthesizes a number of growth

factors involved in angiogenesis, such as vascular endothelial growth factor (VEGF), and signal molecules. It was found that trophic factors from the choroid were necessary for the development and survival of the ciliary ganglion neurons (Nickla and Wallman 2010). Demonstrating which structure atrophied first and led to the atrophy of the other structure in case of RA needs further detailed research.

Studies conducted on mice evidenced the particular importance of the VEGF factor produced in the retinal

pigmental epithelium - capable of diffusion across Bruch's membrane – in maintaining the choriocapillaris. In animals that produce only VEGF isoforms with low ability to permeate Bruch's membrane, and not the isoforms capable of diffusion towards the choriocapillaris, correct initial development of the choroid was observed. However, over time – starting from the 7th month of a mouse's life – atrophy of the choriocapillaris was reported, as well as disorders related to Bruch's membrane and the pigmental epithelium, degeneration of the choroid, and an increased number of non-vascularized areas in the region. This led to eventual photoreceptor apoptosis, as evidenced in electroretinographic imaging. The limitation of the cited studies stemmed from the fact that they only analyzed whole choroid thickness without considering its respective layers (Saint-Geniez et al. 2009, Liu et al. 2016). An interesting observation in the present study was that a significant decrease in the WCT thickness was registered only in the nontapetal regions where tapetum lucidum was not present. In a study conducted by Lesiuk and Braekevelt (1983), differences in the thickness of Bruch's membrane were evidenced between respective regions of the choroid. Over the areas with tapetum lucidum, Bruch's membrane was thinner compared to its thickness over the areas where it was not present. It could be posited that the higher rate of morphometric and morphological choroidal lesions in the nontapetal regions may be related to the greater thickness of Bruch's membrane in the area, and consequently its reduced permeability for growth factors produced by the retinal pigment epithelium (RPE). This may be one of the factors contributing to the pathomechanism of PRA, although further research is required to corroborate this.

Branches of fenestrated capillaries pass through the entire tapetum lucidum. They serve as the link between the choriocapillaris and the layer of medium-sized blood vessels (Sattler's layer). The choriocapillaris is a vast anastomosing network of blood vessels located in the vicinity of the retinal pigmental epithelium. Near the RPE, the layout of these vessels differs between the choroidal regions containing the tapetum lucidum (tapetal and peritapetal areas) and the regions where it is absent (peripheral nontapetal areas). In the case of locations where the reflective membrane is present, the choriocapillaris indents the retinal epithelium, which does not occur in areas where the tapetum lucidum is not present (Lesiuk and Braekevelt. 1983). This is yet another anatomical element of the canine eye that may potentially account for the greater severity of the symptoms of the disease in areas not containing the tapetum lucidum. The previously demonstrated lack of direct contact between the choriocapillaris and

the external layers of the choroid in the nontapetal region may be related to the greater progression of outer choroidal atrophy in those areas.

The limitations of the study reported here were typical of retrospective studies. The study does not allow which structure, retina or choroid, atrophied first, to be determined, which requires further detailed research. Despite these limitations, this study aimed to analyze the morphometrics of the choroid without considering the retina. Subsequent work may include research on the relationship between retinal atrophy and the choroid, which would include a larger research group allowing for the identification of quantitatively homogeneous subgroups with a similar degree of retinal atrophy.

Conclusion

This study is the first to consider morphological and morphometric choroidal changes observed in dogs suffering from RA. RA in mixed breed dogs was accompanied by reduction of the thickness of the large vessel layer and overall choroidal thickness in the nontapetal fundus as well as the medium vessel layer in all fundus regions. Our research showed a change in choroidal layer thicknesses in dogs diagnosed with RA, which can affect the outer retinal blood supply. SD-OCT analyses of choroidal thickness profiles may shed a new light on the pathomechanism of RA and form the basis for further research to be continued in purebred dogs.

Acknowledgements

The authors thank Mateusz Szadkowski, who contributed to the research. Preliminary results were presented as an abstract at the Annual Scientific Meeting of the European College of Veterinary Ophthalmologists 2021, May 20-23, 2021.

This study was supported by the Doctoral School of the University of Life Sciences in Lublin SD/23/WET/2021 and Project VEGA No. 1/0479/18.

References

- Adhi M, Regatieri CV, Branchini LA, Zhang JY, Alwassia AA, Duker JS (2013) Analysis of the Morphology and Vascular Layers of the Choroid in Retinitis Pigmentosa Using Spectral-Domain OCT. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 44: 252-259.
- André C, Chaudieu G, Thomas A, Jongh O, Jegou JP, Chahory S, Clerc B, Pilorge P, Brenac O (2008) Hereditary retinopathies in the dog: Genetic fundamentals and genetic tests. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie* 43: 75-84.

- Balicki I, Szadkowski M, Balicka A, Lew M, Trbolova A (2018) Assessment of generalized progressive retinal atrophy (GPRA) in mixed breed dogs using spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT) and electroretinography. Abstracts: Annual Scientific Meeting of the European College of Veterinary Ophthalmologists, Florence, Italy May 10-13, 2018. *Veterinary Ophthalmology* Vol. 21 Issue 5.
- Barnett K C, Curtis R, Millichamp N J (1983): The differential diagnosis of retinal degeneration in the dog and cat. *J Small Anim Pract* 24: 663-673.
- Bruè C, Mariotti C, De Franco E, Fisher Y, Guidotti JM, Giovannini A (2013) Solar Retinopathy: A Multimodal Analysis. *Case Rep Ophthalmol Med* 2013: 906920.
- Brusini P (2018) OCT Glaucoma Staging System: a new method for retinal nerve fiber layer damage classification using spectral-domain OCT. *Eye (Lond)* 32: 113-119.
- Downs LM, Hitti R, Pregolato S, Mellersh CS (2014) Genetic screening for PRA -associated mutations in multiple dog breeds shows that PRA is heterogeneous within and between breeds. *Vet Ophthalmol* 17: 126-130.
- Ekesten B, Komáromy AM, Ofri R, Petersen-Jones SM, Narfström K (2013) Guidelines for clinical electroretinography in the dog: 2012 update. *Doc Ophthalmol* 127: 79-87.
- Finzi A, Cellini M, Strobbe E, Campos EC (2014) ET-1 plasma levels, choroidal thickness and multifocal electroretinogram in retinitis pigmentosa. *Life Sci* 118: 386-390.
- Gabriele ML, Wollstein G, Ishikawa H, Kagemann L, Xu J, Folio LS, Schuman JS (2011) Optical Coherence Tomography: History, Current Status, and Laboratory Work. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52: 2425-2436.
- Korte GE, Reppucci V, Henkind P (1984) RPE Destruction Causes Choriocapillary Atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25: 1135-1145.
- Lesiuk TP, Braekevelt CR (1983) Fine structure of the canine tapetum lucidum. *J Anat* 136: 157-164.
- Liu G, Liu X, Li H, Du Q, Wang F (2016) Optical Coherence Tomographic Analysis of Retina in Retinitis Pigmentosa Patients. *Ophthalmic Res* 56: 111-122.
- Maggs D, Miller P, Ofri R (2017). In: *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology* (6th ed.). Elsevier Health Sciences, St. Louis, pp 362-372.
- McLellan GJ, Rasmussen CA (2012) Optical coherence tomography for the evaluation of retinal and optic nerve morphology in animal subjects: practical considerations. *Vet Ophthalmol* 15 (Suppl 2): 13-28.
- Milam AH, Li ZY, Fariss RN (1998) Histopathology of the Human Retina in Retinitis Pigmentosa. *Prog Retin Eye Res* 17: 175-205.
- Murthy RK, Haji S, Sambhav K, Grover S, Chalam KV (2016) Clinical applications of spectral domain optical coherence tomography in retinal diseases. *Biomed J* 39: 107-120.
- Nickla DL, Wallman J (2010) The multifunctional choroid. *Prog Retin Eye Res* 29: 144-168.
- Oh JK, Nuzbrokh Y, Lima de Carvalho JR Jr, Ryu J, Tsang SH (2020) Optical coherence tomography in the evaluation of retinitis pigmentosa. *Ophthalmic Genet* 41: 413-419.
- Poornachandra B, Khurana AK, Sridharan P, Chatterjee P, Jayadev C, Yadav NK, Shetty R (2019) Quantifying microstructural changes in retinitis pigmentosa using spectral domain - optical coherence tomography. *Eye Vis (Lond)* 6: 13.
- Rosolen SG, Rivière ML, Lavillegrand S, Gautier B, Picaud S, LeGargasson JF (2012) Use of a combined slit-lamp SD-OCT to obtain anterior and posterior segment images in selected animal species. *Vet Ophthalmol* 15 (Suppl 2): 105-115.
- Saint-Geniez M, Kurihara T, Sekiyama E, Maldonado AE, D'Amore PA (2009) An essential role for RPE-derived soluble VEGF in the maintenance of the choriocapillaris. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 18751-18756.
- Shintani K, Shechtman DL, Gurwood AS (2009) Review and update: Current treatment trends for patients with retinitis pigmentosa. *Optometry* 80: 384-401.
- Singh SR, Vupparaboina KK, Goud A, Dansingani KK, Chhablani J (2019) Choroidal imaging biomarkers. *Surv Ophthalmol* 64: 312-333.
- Xu J, Wang YX, Jiang R, Wei WB, Xu L, Jonas JB (2017) Peripapillary choroidal vascular layers: the Beijing Eye Study. *Acta Ophthalmol* 95: 619-628.
- Zwolska J, Balicki I, Balicka A (2023) Morphological and Morphometric Analysis of Canine Choroidal Layers Using Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Int J Environ Res Public Health* 20: 3121.
- Zwolska J, Szadkowski M, Balicka A, Balicki I (2021) Morphometrical analysis of the canine choroid in relation to age and sex using spectral domain optical coherence tomography. *Acta Vet Hung* 69: 266-273.