

ФГАОУ ВО ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М.СЕЧЕНОВА  
МИНЗДРАВА РОССИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

*на правах рукописи*

Головченко Анастасия Владимировна

**ОПТИЧЕСКАЯ КОГЕРЕНТНАЯ ЦИФРОВАЯ ЭЛАСТОМЕТРИЯ В  
ОЦЕНКЕ БИОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РОГОВИЦЫ**

3.1.5. – Офтальмология

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
кандидат медицинских наук, доцент  
Сипливый Владимир Иванович

Москва – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ОСНОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ .....	4
ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	11
1.1. Значимость исследования биомеханики глаза.....	11
1.2. Динамометрические методики .....	12
1.3. Эластотонометрия.....	14
1.4. Офтальмомеханография .....	16
1.5. Фотоупругость.....	17
1.6. Ультразвуковая эластография .....	18
1.7. Ocular Response Analyzer (ORA).....	22
1.8. Corvis ST .....	27
1.9. Эффект Мандельштама — Бриллюэна .....	30
1.10. Голографическая интерферометрия.....	33
1.11. АСМ.....	34
1.12. ОСТ-эластометрия .....	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	43
2.1. Материалы .....	43
2.2. Последовательность проведения исследований .....	44
2.3. Фазово-чувствительная оптическая когерентная эластометрия (ФОКЭ) .....	45
2.3.1. Транспортировка и подготовка энуклеированных глаз .....	45
2.3.2. Устройство лабораторной установки.....	46
2.3.3. Методика проведения исследования.....	46
2.3.4. Методика оценки сканограмм .....	48
2.4. Оптическая когерентная эластометрия (ОКЭ).....	49
2.4.1. Транспортировка и подготовка энуклеированных глаз .....	49
2.4.2. Устройство лабораторной установки.....	50
2.4.3. Методика проведения исследования.....	50

2.4.4. Методика измерения сканограмм.....	54
2.4.5. Методика оценки модуля Юнга по ОКЭ .....	55
2.5. Динамометрическое измерения .....	56
2.5.1. Методика подготовки образцов роговичной ткани для динамометрического исследования .....	56
2.5.2. Лабораторная установка для динамометрических измерений. ....	59
2.5.3. Методика проведения исследования.....	61
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	63
3.1.Фазово-чувствительная оптическая когерентная эластометрия (ФОКЭ) .....	63
3.1.1. Возможности методики ФОКЭ.....	63
3.1.2. Зависимость микродеформаций роговицы по данным ФОКЭ от ВГД .....	65
3.2. Оптическая когерентная эластометрия (ОКЭ).....	72
3.3. Динамометрические измерения и их сравнение с результатами ОКЭ .....	77
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	82
ВЫВОДЫ .....	85
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	87
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	89

## ОСНОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ОКЭ – оптическая когерентная эластометрия

ФОКЭ – фазово-чувствительная оптическая когерентная эластометрия

ОКТ(ОСТ) – оптическая когерентная томография

ВГД – внутриглазное давление

ORA – ocular response analyzer (анализатор глазного ответа)

CRF – фактор резистентности роговицы (corneal resistance factor)

CH – роговичный гистерезис (corneal hysteresis)

ИОРсс – роговично-компенсированное внутриглазное давление (intraocular pressure corneal compensated)

ИОРg – Гольдман-коррелированное внутриглазное давление (Goldman correlated intraocular pressure)

DALK – глубокая послойная кератопластика (deep anterior lamellar keratoplasty)

SWE – поперечно-сдвиговая эластография (shear wave elastography)

CXL – кросслинкинг

UHR-ORT – оптическая когерентная томография сверхвысокого разрешения

АСМ – атомно-силовая микроскопия

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы и степень ее разработанности

Исследование биомеханики глаза является актуальным направлением развития офтальмологии, поскольку имеется целый ряд клинических ситуаций, в которых прижизненная оценка механических свойств может помочь как в диагностике, так и в лечении различных глазных патологий. Кроме того, более точное понимание механизмов формирования деформаций глазных структур поможет более точно определять тактику лечения (в том числе хирургического) различных патологий, а также с определенной долей вероятности предполагать вероятные осложнения, которые могут развиваться как в процессе оперативного вмешательства, так и в послеоперационном периоде. Например, одним из самых неприятных и одним из самых распространенных осложнений кераторефракционной хирургии является ятрогенный кератоконус, связанный с ослаблением прочностных свойств роговицы. Имеющиеся в настоящий момент методы своевременного выявления данной патологии несовершенны, поскольку позволяют поставить диагноз только по наличию поздних структурных деформаций роговицы. Своевременное выявление снижения прочности роговичной ткани, позволило бы выявлять данную патологию на более раннем этапе и значительно сократить риск ятрогенной патологии.

Полезность биомеханических исследований в офтальмологии носит не только теоретический интерес. Уже сейчас существует биомеханическая методика, позволившая значительно повысить точность измерения внутриглазного давления. Прибор ORA, позволяет оценивать влияние биомеханических свойств роговицы на измеряемое внутриглазное давление. Реализованный в этом приборе учет биомеханики роговицы позволил значительно поднять точность и повторяемость измерения внутриглазного давления, что важно в диагностике и контроле лечения глаукомы.

Исследования, которые являлись предшественниками современных методов оценки биомеханических свойств тканей глаза, были основаны на механическом воздействии на образец ткани. Чаще всего с помощью таких прямых измерений оценивались биомеханические свойства роговицы и склеры.

В ранних исследованиях определялись в основном прочностные свойства тканей глаза *in vitro*. В ряде работ измерялись модули Юнга и усилия на разрыв образцов различных тканей глаза. В других исследованиях измерялось усилие необходимое для получения разрывов роговицы при продавливании ее образца специальным индентором [11]. Данная методика применялась для оценки механической прочности роговицы в норме, после кераторефракционных вмешательств и при различной ее патологии. После механического воздействия образцы исследовались визуально, а также с помощью световой и электронной микроскопии. Однако полученные данные не позволяли оценивать локальные деформации ткани, возникающие в данный момент времени.

Одним из новейших способов оценки биомеханических свойств биологической ткани, который справлялся бы с поставленной задачей, можно считать оптическую когерентную эластометрию (эластографию). Данная методика позволяет получить объемную карту механических свойств разнородного тканевого массива с помощью точной регистрации карты деформации данного массива под воздействием дозированной механической нагрузки [89, 92].

Развитие биомеханических исследований ускоряет внедрение их результатов в клиническую практику. Информация об особенностях деформаций тканей в ходе проведенных разноплановых исследований может расширить наши представления о механизмах развития патологий в различных структурах органа зрения, и позволит разработать новые методы их диагностики и лечения. Таким образом, очевидна необходимость

дальнейшего углубленного исследования биомеханики тканей глаза, что сыграет ключевую роль не только в науке, но и в практической офтальмологии.

**Цель исследования:** изучение возможностей оптической когерентной эластометрии в оценке биомеханических свойств роговицы.

**Задачи:**

1. Экспериментальное изучение фазово-чувствительной оптической когерентной эластометрии с использованием лазерного излучения в качестве индуктора микродеформаций.

2. Экспериментальное изучение оптической когерентной эластометрии с использованием в качестве индуктора деформаций изменяемое внутриглазное давление

3. Динамометрическое измерения биомеханических свойств образцов роговичной ткани при их растяжении.

4. Сравнение результатов динамометрического исследования образцов с данными полученными методом оптической когерентной томографии.

5. Разработка практических рекомендаций по измерению биомеханических показателей роговичной ткани *ex vivo*.

**Научная новизна:**

1. Впервые проведено измерение зависимости характеристического размера лазериндуцированной микродеформации роговицы от уровня внутриглазного давления.

2. Впервые, на биологической модели глаз молодых кроликов, с помощью оптической когерентной томографии проведено измерение зависимости кривизны роговицы от уровня внутриглазного давления.

3. Доказана возможность оценки модуля Юнга роговицы для тангенциальных деформаций по изменению локальной ее кривизны.

#### **Теоретическая и практическая значимость:**

1. Исследованы возможности фазово-чувствительной оптической когерентной эластометрии для оценки локальных биомеханических свойств роговицы.

2. Разработана лабораторная установка предназначенная для измерения модуля Юнга образцов роговицы на растяжение.

3. Разработана методика оценки модуля Юнга роговицы для тангенциальных деформаций по ОСТ сканограммам роговицы при разном внутриглазном давлении.

4. Разработаны практические рекомендации по подготовке образцов роговицы к биомеханическим исследованиям.

#### **Методология и методы диссертационного исследования.**

Методологической основой диссертационной работы послужил комплекс методов и основных принципов научного исследования. Соблюдены схема и этапы последнего. В работе сочетаются методологии качественных и количественных исследований. Работа выполнена в дизайне экспериментального исследования с использованием инструментальных, аналитических и статистических методов.

#### **Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Фазово-контрастная оптическая когерентная эластометрия – перспективный метод, позволяющий оценить локальные биомеханические свойства роговицы.

2. Оптическая когерентная эластометрия с оценкой изменения кривизны роговицы под действием внутриглазного давления позволяет измерить модуль Юнга роговицы для тангенциальных деформаций.

3. Получена хорошая корреляция между модулем Юнга для тангенциальных деформаций роговицы, найденным с помощью оптической когерентной эластометрии, и модулем Юнга на растяжение, полученным прямыми динамометрическими измерениями.

### **Степень достоверности и апробация результатов.**

В работе использовано современное сертифицированное оборудование. Степень достоверности результатов проведенных исследований определяется достаточным количеством экспериментов с использованием современных методов исследования и подтверждается результатами статистической обработки материала на должном уровне. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, строго аргументированы и логически вытекают из системного анализа результатов экспериментальных исследований.

Основные положения диссертации были представлены на конференции «Актуальные вопросы офтальмологии» (24 ноября 2021 г., Москва) и на заседании кафедры глазных болезней ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

### **Личный вклад автора в проведенное исследование.**

Автором определены цели и задачи исследования. Разработаны планы экспериментов. Разработана и применена методика подготовки образцов. Проведены экспериментальные исследования. Проанализированы и обобщены результаты исследований, осуществлена статистическая обработка данных. Выполнена подготовка публикаций и докладов по теме диссертации.

### **Внедрение результатов работы.**

Полученные в ходе настоящего исследования результаты и разработанные методики успешно внедрены и активно применяются в клинической и научно-исследовательской работе ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова МЗРФ (Сеченовский Университет).

### **Публикации.**

По теме диссертационной работы опубликовано 8 научных работ, 3 из них в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для публикации основных результатов диссертации.

### **Структура и объем диссертационной работы**

Диссертация изложена на 101 странице машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 42 рисунками и 8 таблицами. Библиографический указатель содержит 100 источников (отечественных и зарубежных). Работа выполнена на базе кафедры глазных болезней института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Значимость исследования биомеханики глаза

Исследование биомеханики глаза представляет несомненный интерес, поскольку имеется целый ряд клинических ситуаций, когда прижизненная оценка механических свойств может помочь как в диагностике, так и в лечении. Имеющиеся в настоящий момент методы своевременного выявления различных патологий, связанных с определением изменений, возникающих в процессе развития наиболее распространенных патологических состояний, несовершенны, поскольку позволяют поставить диагноз только по наличию структурных деформаций роговицы – изменению профиля роговицы и ее толщины. Своевременное выявление снижения биомеханической стабильности роговичной ткани, до появления истончения и деформации, позволило бы выявлять данную патологию на более раннем этапе и значительно сократить риск ятрогенной патологии.

Для оценки и описания биомеханических свойств различных структур глаза применялись различные методы исследования, направленные на измерение возникающих деформаций органа зрения при некоторых патологиях. Были описаны эксперименты с использованием динамометрических методов, эластотонометрии, офтальмомеханографии, метода фотоупругости, ультразвуковых методов, анализа пневмоаппланации роговицы, атомно-силовой микроскопии, голографической интерферометрии, оптической когерентной эластометрии.

Информация об особенностях деформаций тканей в ходе проведенных разноплановых исследований может расширить наши представления о механизмах развития патологических изменений в различных структурах органа зрения, что позволит разработать новые методы их диагностики и лечения.

## 1.2. Динамометрические методики

Одним из первых методов исследования биомеханических свойств тканей глаза, являлся динамометрический метод, при котором оценивается реакция образцов материала на механическое воздействие с оценкой их деформации. Он аналогичен динамометрическим исследованиям, пришедшим из материаловедения. Чаще всего с помощью таких прямых измерений оценивались биомеханические свойства роговицы и склеры.

В ранних исследованиях определялись в основном прочностные свойства тканей глаза *in vitro*. В ряде работ измерялись модули Юнга и усилия на разрыв образцов различных тканей глаза. В других исследованиях измерялось усилие необходимое для получения разрывов роговицы при продавливании ее образца специальным индентором [6-7, 11, 33]. Данная методика применялась для оценки механической прочности роговицы в норме, после кераторефракционных вмешательств и при различной ее патологии. После механического воздействия образцы исследовались визуально, а также с помощью световой и электронной микроскопии. Выявлено, что в месте воздействия прибора на ткань оставались локальные сквозные разрывы. Кроме того, от основного дефекта в произвольном направлении отходили по 1–2 «дочерних» разрыва с неровными краями, в итоге весь дефект имел форму воронки. Данные изменения связаны в основном с изменениями толщины роговицы, например, при кератоконусе, что приводит к снижению механической прочности роговицы в целом. Подобные результаты описаны и в исследованиях, посвященных изучению деформаций и биомеханических свойств роговицы, возникающих после процедуры радиальной кератотомии. Было выявлено, что основная часть механической нагрузки в таких образцах приходится на среднюю

периферию, а также обнаружено локальное истончение роговицы и снижение её прочности в сочетании с увеличением напряжения в местах нанесения насечек. Применение данной методики позволило подтвердить взаимосвязь между развитием гиперметропии и наличием радиальной кератотомии в анамнезе [5].

Помимо изучения свойств фиброзной оболочки глаза предпринимались попытки исследования биомеханических свойств капсулы хрусталика. По мнению исследователей, изучение капсулы хрусталика при различных состояниях и в разных возрастных группах, могло бы позволить более детально описать механизмы патогенеза катаракты.

Следует отметить, что хрусталик можно рассматривать не только как объект, который постоянно подвергается деформациям при аккомодации, но и как часть оптической системы глаза, которая позволяет четко видеть разноудаленные предметы. Соответственно и исследование свойств хрусталика направлено на изучение двух основных типов его характеристик: оптических и механических. Механические свойства хрусталика весьма переменчивы. Был проведен ряд исследований, которые позволили продвинуться в изучении биомеханики хрусталика [1-3, 25, 37, 81-82].

При применении теста на вдавление для оценки возрастных уплотнений хрусталика выявлено, что кортикальные слои мягче ядра и подтверждено возрастное повышение модуля Юнга. При этом у молодых лиц плотность ядра оказалась ниже плотности кортикальных масс [82].

В других исследованиях [1, 37, 81-82] измеряли жесткость капсулы хрусталика, проводя различные механические испытания на разрывной машине. Результаты показали, что толщина капсулы не сказывается на аккомодации, при

этом механическая прочность задней капсулы, как и ее предельная (разрушающая) деформация, значительно снижается с возрастом, в отличие от параметров передней капсулы. Поскольку зависимости «нагрузка – деформация» и «напряжение – деформация» задней капсулы нелинейны, жесткость в пределах упругих деформаций и модуль упругости меняются в зависимости от диапазона нагрузки. Таким образом, возрастная потеря механической прочности в задней капсуле хрусталика происходит раньше, чем в передней.

В настоящее время достаточно велик интерес к изучению биомеханики трабекулярного аппарата. При исследовании механической прочности и биохимического состава образцов трабекулярной ткани отмечено усиление ригидности данной структуры при глаукоме. Кроме того, данные напрямую коррелируют с легкостью оттока внутриглазной жидкости, а, следовательно, с изменением уровня ВГД [24].

Основным недостатком динамометрических измерений является выраженная зависимость механических свойств тканей от большого количества плохо контролируемых факторов, таких как гидратация образца, тщательность его подготовки, возраст пациента, индивидуальная изменчивость, локализация исходного расположения образца в глазу. В результате этого данные имеют большой разброс и могут применяться при различных теоретических построениях лишь в ограниченном объеме. Их практически невозможно применить в клинической практике для предсказания поведения конкретного глаза.

### **1.3. Эластонометрия**

В дальнейшем для исследования биомеханических свойств глаза применялись более точные методы, например, эластометрия,

офтальмомеханография, а также различные вариации оценки деформаций с применением метода фотоупругости.

Метод эластотонометрии был разработан В. П. Филатовым в 1913 г. для диагностики глаукомы. Большой вклад во внедрение метода внес С.Ф. Кальфа. Кроме измерения ВГД, метод позволяет оценить биомеханические свойства фиброзной оболочки живого глаза. Суть метода заключается в последовательном измерении ВГД апланационными тонометрами Маклакова разной массы (5; 7,5; 10 и 15 г). На основании полученных измерений строится эластотонометрическая кривая (эластокривая), по форме которой можно судить о биомеханических свойствах глаза [21, 22].

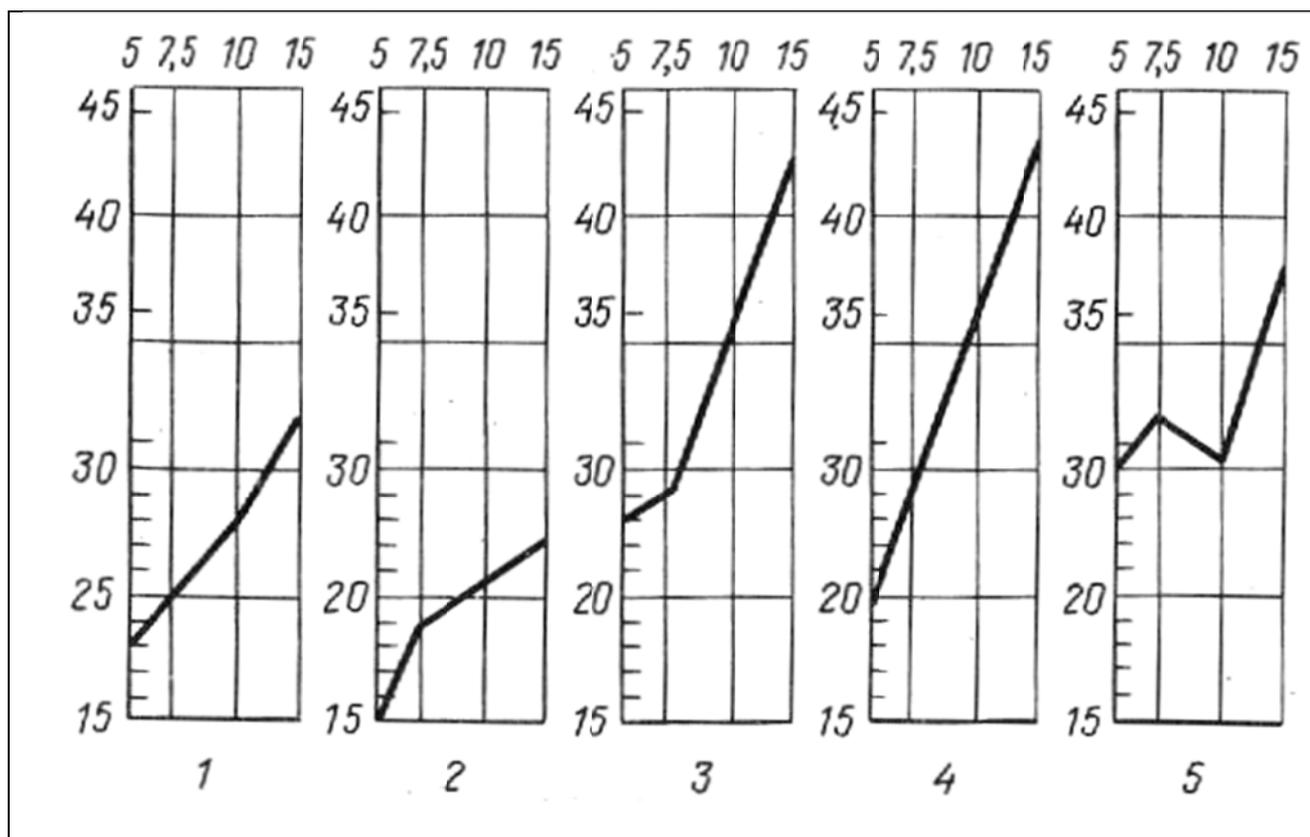


Рис. 1 Типы эластотонометрических кривых.

1 - нормальная кривая, 2 - кривая укороченного типа, 3- кривая с высоким началом, 4 - удлинённый тип кривой, 5 - кривая с изломом.

Изначально (по мнению С.Ф. Кальфа) различные формы эластокривой трактовались как характеристики конкретного состояния нервно-сосудистого рефлекса глаза, не имеющего отношения к биомеханике напрямую. Сегодня превалирует точка зрения, объясняющая форму эластокривой биомеханическими свойствами глаза. Если бы фиброзная оболочка обладала очень высокой жесткостью, то наблюдался бы линейный подъем эластокривой, поскольку результаты измерений напрямую зависели бы от массы тонометра. Отклонения от данной линейной зависимости объясняются нелинейным растяжением фиброзной оболочки под воздействием возрастающего давления.

В последние 10 лет наблюдается возрождение интереса к данному методу. Выявлено, что на конфигурацию эластокривой влияет изменение формы и размеров глаза, а на тонометрическое давление – патологические изменения фиброзной оболочки [4, 8-10, 13-14]. «Изломы» эластокривой могут быть связаны с увеличением жесткости склеры при глаукоме или с патологией роговицы (особенно такие изменения характерны для значительного истончения роговицы в лимбальной зоне, например при краевой пеллюцидной дегенерации).

#### **1.4. Офтальмомеханография**

Офтальмомеханография также показала высокую достоверность в оценке деформаций, сформированных путем оказания механического воздействия на исследуемый образец. Следует также отметить, что этот метод исследования является эффективным способом клинической оценки биомеханических свойств фиброзной оболочки глаза. Принцип работы офтальмомеханографа основан на возможности в циклическом режиме оказывать локальное механическое воздействие на участок склеры, измеряя при этом смещение (прогиб) в соседних участках. Данный способ позволил оценить зависимость «напряжение –

деформация» (модуль Юнга) склеры в живом глазу, а также установить соответствие между показателями упругости и вязкости склеры.

Исследование модуля Юнга в норме и при миопии показало неравномерность биомеханических свойств склеры в разных областях, а также изменения этих свойств в зависимости от степени миопии. Были выявлены сокращение упругих свойств склеры и накопление признаков пластической деформации при прогрессировании близорукости [9, 21, 23, 28, 97].

### **1.5. Фотоупругость**

Под действием механической нагрузки в прозрачных твердых телах возникает или изменяется оптическая анизотропия (двулучепреломление). В технике до появления современных компьютерных методов эффект фотоупругости использовали при исследовании напряжений в сложных конструкциях. В самом простом виде для реализации метода достаточно поместить прозрачный объект между двумя скрещенными поляризаторами. Наличие и выраженность двулучепреломления в таком случае будут заметны по появлению цветных разводов на изображении объекта исследования. Более сложные методики подразумевают интегральную оценку данных эффектов при разном наклоне поляризаторов.

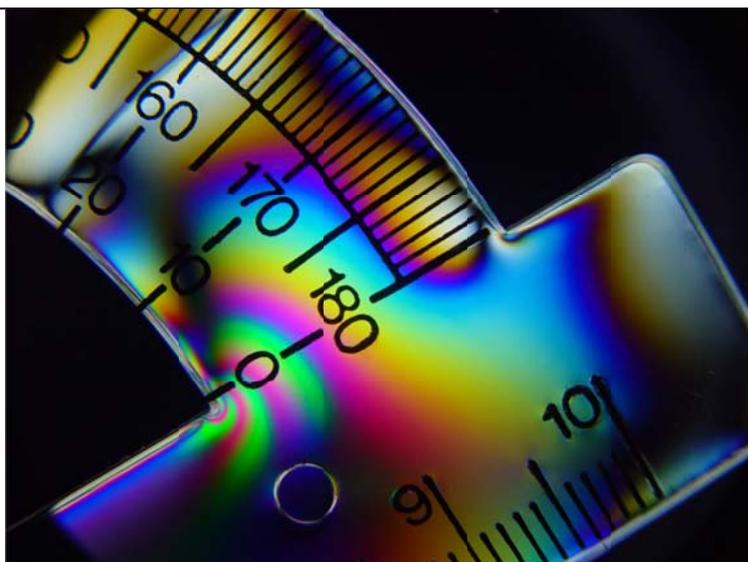


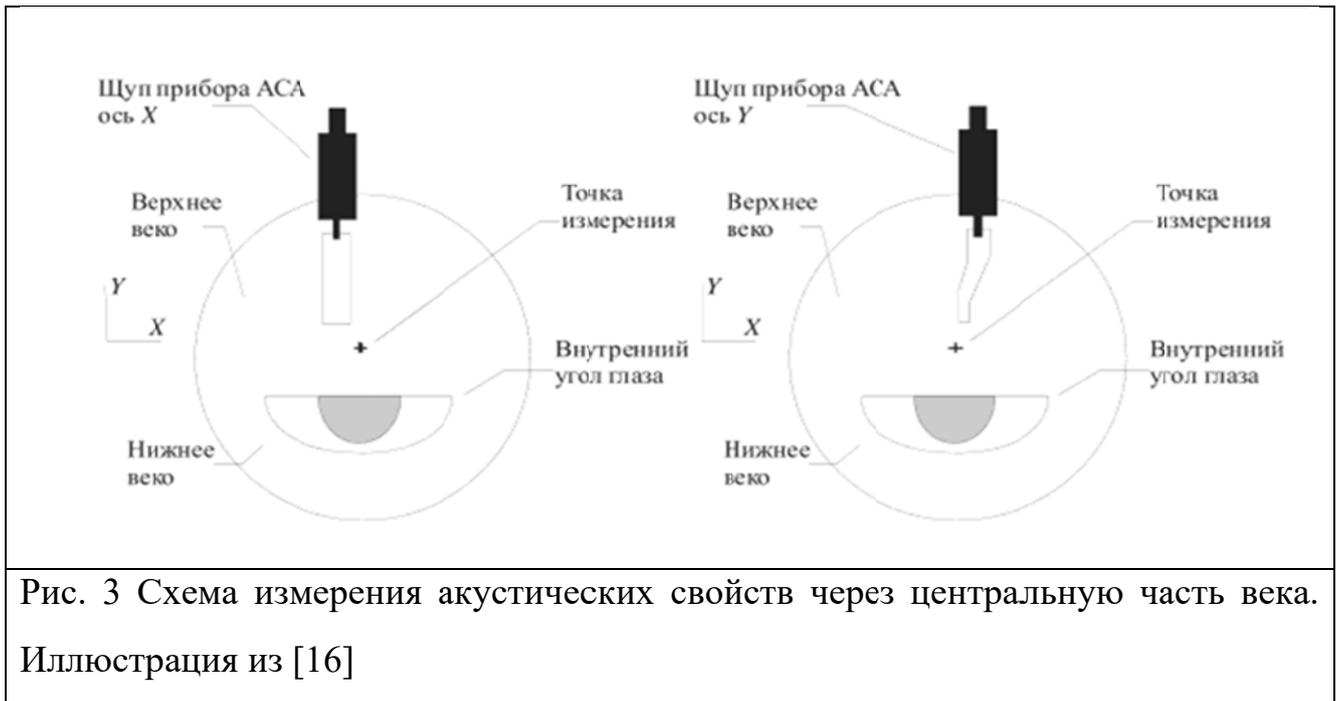
Рис. 2 Фотоупругость. Визуализация внутренних напряжений в пластиковом образце между скрещенными поляризаторами. Иллюстрация из [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Plastic\\_Protractor\\_Polarized\\_05375.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Plastic_Protractor_Polarized_05375.jpg)

Эффект фотоупругости позволил показать, что хирургическая коррекция рефракционных нарушений методом эксимерлазерной фотоабляции в парацентральной зоне не отражается на биомеханических свойствах роговицы. Кроме того, доказано, что роговица сохраняет свои свойства даже при утрате морфологически упорядоченной структуры [15, 24, 28, 34, 97-99].

### **1.6. Ультразвуковая эластография**

Еще одной областью исследования биомеханических параметров роговицы являются различные вариации акустических методик и методик с применением ультразвуковых волн [16, 25, 60, 85].

Ультразвуковая эластография – это относительно новый метод измерения биомеханики роговицы, который использует высокочастотный ультразвук для определения локальных свойств материала путем измерения смещения ткани в зависимости от приложенного напряжения.



Деформация может быть обеспечена такими средствами, как естественная пульсация внутриглазного давления, внешнее воздействие или воздействие самого ультразвука. Ультразвуковые эластографические системы оценивают один из двух различных типов реакций роговицы на это напряжение: продольная деформация ткани вдоль оси приложенной силы или сдвиговая деформация, создающая медленные поперечные (сдвиговые) волны. В первом случае измеряются относительные продольные перемещения участков ткани под действием напряжения, во втором измеряется скорость распространения поперечных деформаций [41]. Так в работе [68] проиллюстрированы современные возможности ультразвуковой эластографии для пространственного разрешения биомеханических свойств роговицы.

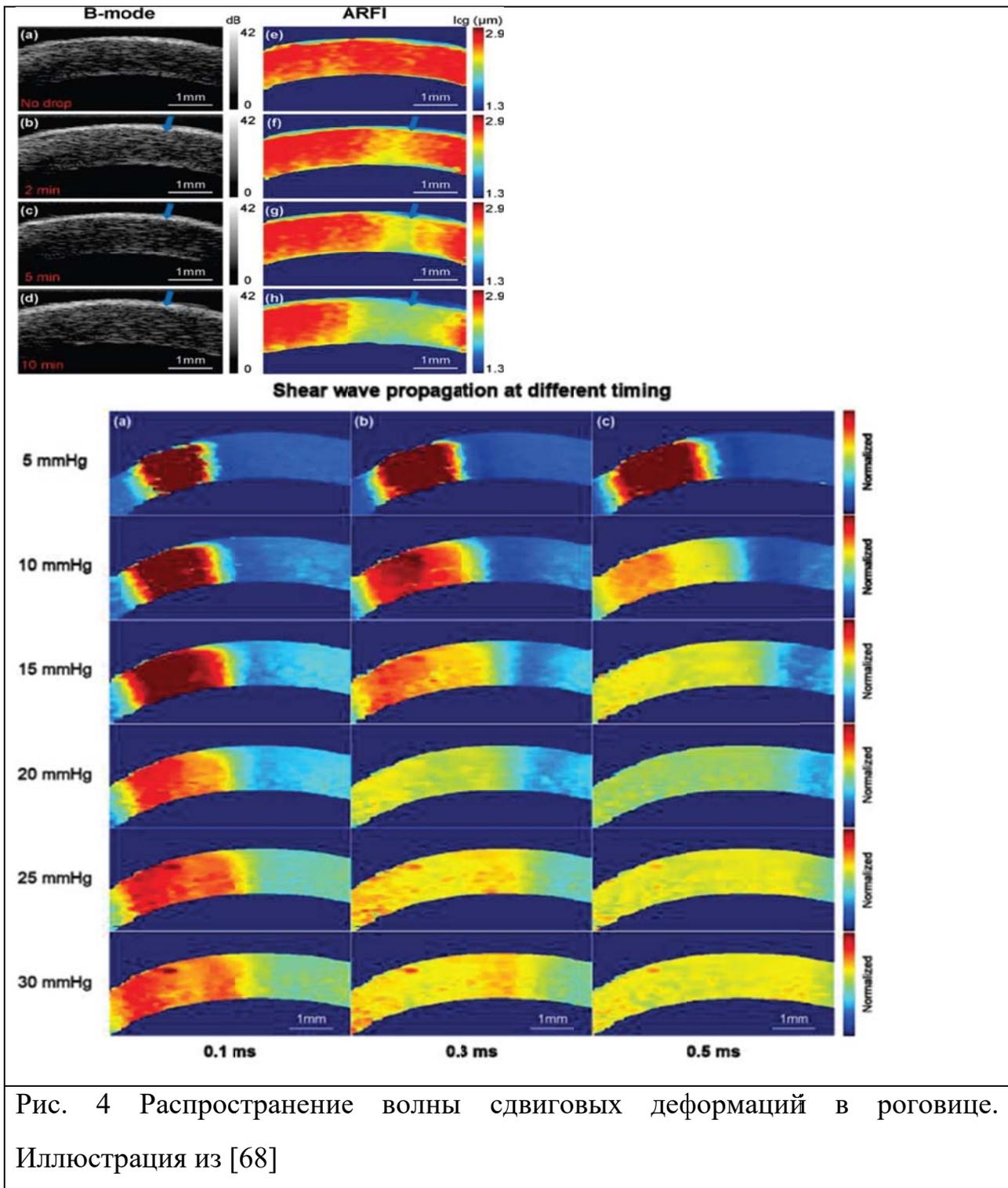


Рис. 4 Распространение волны сдвиговых деформаций в роговице. Иллюстрация из [68]

Результаты показали, что ультразвук может быть использован для создания трехмерных эластографических карт, способных различать изменения, вызванные внутриглазным давлением и индуцированными формалином сшивками.

В работе [66] показана возможность изучения биомеханики роговицы, регистрируя деформацию роговицы под действием изменения внутриглазного давления, вызванного пульсированием крови во внутриглазных сосудах. В работах [67, 86-87] изучаются биомеханические свойства задних отделов склеры и диска зрительного нерва. В качестве источника деформации используется поперечно-сдвиговая волна (shear wave elastography, SWE). Изучаются пациенты с повышенным внутричерепным давлением и без такового.

Первые предпосылки к применению клинических приборов для оценки деформационных свойств биологических тканей пришли с развитием инструментальных методов диагностики. В частности, рассматривались приборы, созданные на базе ультразвуковых аппаратов и установок, созданных на базе ОКТ. В более ранних исследованиях акцент был сделан на методы ультразвуковой визуализации, которые позволяют с некоторой степенью достоверности судить о биомеханических свойствах тканей. Оценка может осуществляться по акустическому ответу ткани, с помощью регистрации структурных изменений, а также путем регистрации деформаций в результате механической нагрузки.

При сравнительной оценке изменений склеры воспалительного генеза на основе ультразвуковой биомикроскопии были выявлены гиперрефлективные зоны истончения склеры и гипоехогенные неоднородно рефлектирующие участки с признаками фокального отека, что косвенно могло свидетельствовать об изменении ее биомеханических свойств [19, 21].

Выявлено, что показатели акустической плотности передней и задней капсул «катарактальных» и условно прозрачных хрусталиков практически идентичны. Однако при наличии помутнений происходило существенное статистически

значимое усиление 2D-акустической плотности передних кортикальных, ядерных и задних кортикальных слоев, а также 3D-акустической плотности ядра хрусталика по сравнению с аналогичными показателями условно прозрачных хрусталиков [1, 25, 81-82].

После получения неоднозначных результатов вышеописанных исследований, ученые решили сместить область интересов в сторону более достоверных методов диагностики. Поскольку методы оптической визуализации на тот момент не могли позволить с уверенностью судить о возможных изменениях свойств тканей, было высказано предположение о возможности применения методик, сочетающих в себе визуализацию и оказание воздействия на поверхность исследуемых тканей, в частности, фиброзной оболочки глаза.

### **1.7. Ocular Response Analyzer (ORA)**

Полезность биомеханических исследований в офтальмологии носит не только теоретический интерес. Уже сейчас существует биомеханическая методика, позволившая значительно повысить точность измерения внутриглазного давления. Прибор ORA, позволяет оценивать влияние биомеханических свойств роговицы на измеряемое внутриглазное давление. Реализованный в этом приборе учет биомеханики роговицы позволил значительно повысить точность и повторяемость измерения внутриглазного давления, что важно в диагностике и контроле лечения глаукомы [33, 97-98, 21-22].



Рис 5. Прибор ORA (Ocular Response Analyzer) позволяет оценивать влияние биомеханических свойств роговицы на измеряемое внутриглазное давление.

Основное преимущество данной методики заключается в том, что прибор позволяет оценить сразу несколько параметров роговицы: роговично-компенсированное внутриглазное давление (IOP<sub>cc</sub>), Гольдман-коррелированное внутриглазное давление (IOP<sub>g</sub>). Кроме того, ORA оценивает два интегративных показателя биомеханических свойств роговицы: роговичный гистерезис (CH) и коэффициент резистентности роговицы (CRF) [26]. Дополнительными плюсами данной методики можно назвать щадящее проведение исследования. Следует отметить, что состояние роговицы в данном случае оценивается *in vivo*, нет необходимости дополнительной подготовки роговицы (например, покраски, иссечения, нарушения целостности поверхностных слоев), относительно короткое время проведения данного исследования. Таким образом, все вышеописанные факторы позволяют широко применять данное исследование в клинической практике.

Следует также отметить, что принцип ORA основан на бесконтактном измерении внутриглазного давления, при котором анализируется давление воздушной струи, необходимой для достижения апланации (уплощения) роговицы. Полностью автоматизированная система выравнивания позиционирует воздушную пушку напротив вершины роговицы. После выравнивания 25-миллисекундный воздушный импульс оказывает давление на роговицу. Воздушный импульс заставляет роговицу двигаться внутрь, проходя этап уплощения (P1), небольшой вогнутости, уплощения во время возвратного движения (P2), прежде чем вернуться к нормальной кривизне. Деформация роговицы регистрируется с помощью электрооптической инфракрасной системы.

Само исследование имеет определенную методику проведения, а для каждого параметра есть своя схема определения тех или иных показателей. Так IOPg рассчитывается как среднее значение давления воздушной струи в положении P1 и P2. Этот показатель очень тесно коррелирует с данными, получаемыми с помощью контактной тонометрии по Гольдману. IOPss рассчитывается по внутреннему алгоритму прибора, учитывающему биомеханические свойства конкретной роговицы. Во время процесса измерения роговица поглощает некоторую энергию от начального воздушного импульса, что приводит к тому, что давление воздушной струи в точке P2 оказывается ниже, чем в точке P1. Разница между двумя давлениями (P1-P2) равна СН (роговичному гистерезису). Считается, что этот параметр ORA отражает вязкоупругую природу роговицы или ее вязкостно-демпфирующую способность. Фактор резистентности роговицы (CRF) выводится из формулы  $(P1-k*P2)$ , где k-константа, определенная на основе эмпирического анализа взаимосвязи между P1 и P2 и центральной

толщиной роговицы. CRF предлагается для интегративной оценки механической жесткости роговицы.

Кроме того, ORA применялся для оценки биомеханических свойств роговицы у нескольких групп пациентов с различной этиологией нарушения нормальной структуры роговицы. Так в одном исследовании участвовали пациенты, перенесшие глубокую переднюю послойную кератопластику (DALK), с успешным образованием большого интрароговичного воздушного пузыря и ручным расслоением роговицы, во время неудачного образования пузыря с целью сравнения биомеханических свойств роговицы и определения возможности проведения вышеупомянутых хирургических вмешательств у соответствующих категорий пациентов [29]. Также большой интерес вызывало исследование влияния длительного использования ортокератологических линз на биомеханику роговицы [57]. Исследование биомеханических свойств роговицы затронуло и изучение процесса роста глазного яблока в детском и раннем подростковом возрасте. Проводилось длительное (в течение 4-х лет) отслеживание изменений биомеханических параметров ORA у детей в возрасте от 7 до 11 лет с отслеживаем их корреляции с оптическими параметрами глаз [63]. В группы исследуемых также входили пациенты с детским ожирением [38]. Однако основной целью применения ORA в клинической практике являлась возможность определения уровня ВГД в зависимости от биомеханики роговицы при патологиях последней [61]. Например, исследовалась сравнительная точность измерения внутриглазного давления с помощью ORA, а также изменение биомеханических свойств роговицы на глазах, перенесших лазерные кераторефракционные вмешательства [11, 20, 88, 96]. Так целый ряд публикаций посвящен возможности диагностики кератоконуса с помощью биомеханических

данных ORA [33, 97-98]. Исследовали и изменения биомеханики глаза после склеропломбирующих операций по поводу отслойки сетчатки [22, 83].

Для формирования более глубокого понимания процессов возникновения деформаций оптических сред глаза проводились исследования биомеханических характеристик роговиц пациентов с псориазом [44], кроме того, были предприняты попытки изучения генетических факторов, влияющих на возможность формирования деформаций роговицы различной этиологии. Также осуществляли поиск генетических вариантов, связанных с биомеханическими свойствами роговицы и для поиска потенциально восприимчивых к кератоконусу геномных вариантов [54].

Однако у данной методики есть свои недостатки. Например, показатели, выдаваемые ORA, достаточно условны и интегративны и не могут быть напрямую соотнесены с классическими физическими свойствами роговицы, такими как модуль Юнга. Поэтому в работе Китайских исследователей из Пекина [69] была предпринята попытка перекинуть мостик между условными данными ORA и классическими биомеханическими свойствами роговичной ткани. Для этого роговицы кроликов в возрасте от 3 до 24 месяцев были измерены с помощью ORA *in vivo*, а также *in vitro* путем одноосного растяжения роговичных полосок для получения таких параметров как модуль упругости, время релаксации и предел релаксации. Проводились как прямые корреляционные сравнения параметров ORA с показателями, полученными в результате одноосного растяжения, так и цифровое моделирование поведения роговицы во время проведения ORA с помощью метода конечных элементов на основе этих показателей. Корреляционный анализ показал, что CRF имел значимую прямую корреляцию с модулем упругости роговицы и пределом релаксации. Значимых

корреляций между СН и каким-либо из измеренных механических параметров роговичных полосок найдено не было. В то же время результаты конечно-элементного моделирования показали, что и СН, и CRF достоверно коррелируют с модулем упругости роговицы, пределом релаксации и временем релаксации. Авторы пришли к выводу, что для всех параметров ORA, таких как СН, CRF, а также такие характеристики кривой деформации роговицы как крутизна переднего фронта подъёма кривой и ширина первого и второго пиков, являются параметрами, которые могут отражать эластические свойства роговицы. Тем не менее необходимы дальнейшие исследования, для подтверждения полученной авторами механической интерпретации результатов ORA.

### **1.8. Corvis ST**

На пологом с ORA принципе основана работа прибора Corvis-ST (OCULUS, Optikgerate GmbH, Wetzlar, Germany), где в отличие от ORA измерение деформации роговицы под действием воздушного потока производится с помощью высокоскоростной Шаймпфлюг камеры, что позволяет получить значительно больше информации о движениях роговицы, чем дает возможность инфракрасный датчик, используемый в ORA.



Рис. 6 Corvis-ST (OCULUS, Optikgerate GmbH, Wetzlar, Germany)

Основной задачей прибора также является получение независимых от состояния роговицы значений внутриглазного давления. В результате исследование с помощью Corvis можно получить большое количество параметров, характеризующих биомеханику роговицы - Corvis Biomechanical Index (CBI), таких как: отношение амплитуд деформации роговицы на расстоянии 1 и 2 мм. от центра, скорость первой аппланации, стандартное отклонение амплитуды деформации при наибольшей вогнутости, коэффициент Амброзио (отношение толщины к горизонтальному профилю), а также параметр жесткости роговицы. Особенностью прибора также является интеллектуальная обработка эволюций роговицы с выдачей значения вероятности наличия у пациента кератоконуса [56]. В связи с этим за последние 3 года большое количество научных публикаций с использованием этого прибора связаны именно с проблемой верификации кератоконуса, в том числе и для отсева этих пациентов перед проведением лазерных кераторефракционных процедур.

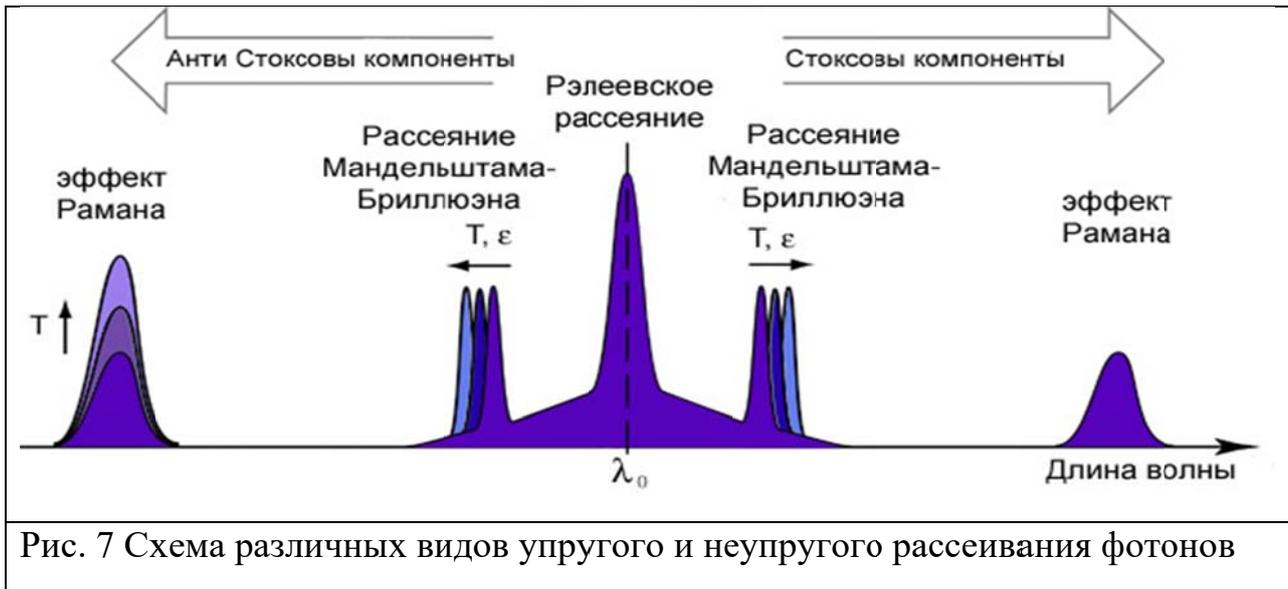
Оценивалась эффективность данного прибора в диагностике кератоконуса различной степени выраженности [58-59, 72, 78, 88, 95, 97]. Сравнивали

эффективность диагностики кератоконуса методами кератотопографии и с помощью оценки биомеханических характеристик СВИ [97]. Сравнивали корректность измерения роговично компенсированного внутриглазного давления, выдаваемого прибором, с результатами топографического исследования роговицы у пациентов с кератоконусом, субклиническим кератоконусом и нормальной роговицей [48]. Проверяли корректность выявления кератоконуса в Китайской популяции [72, 95]. Использовали биомеханические данные прибора для сравнения степени прогрессирования кератоконуса в группах с имплантированными роговичными сегментами, прошедшими и не прошедшими процедуру кросслинкинга (CXL) [62]. Изучали взаимосвязь биомеханических параметров роговицы и толщины различных слоев роговицы с использованием Шаймпфлюг-визуализации (Corvis ST) и оптической когерентной томографии сверхвысокого разрешения (UHR-OCT) в здоровых глазах, глазах с кератоконусом, и с подозрением на кератоконус [59, 78]. Оценивали корреляции между биомеханическими показателями роговицы и данными aberрометрии роговицы с помощью aberрометра Шака-Хартмана у пациентов с клинически выраженным кератоконусом [79]. Данные о биомеханике роговицы сравнивали с микроцитоархитектурой роговицы, анализировавшейся с помощью метода прижизненной конфокальной микроскопии роговицы (HRT III-RCM, Heidelberg Engineering) и зеркальной микроскопии заднего эпителия роговицы (Konan NSP-9900, Konan Medical) [30]. На основе биомеханических данных прибора оценивали сравнительную эффективность различных модификаций CXL, таких как кастомизированный и ускоренный кросслиндинг [51, 65]. Пытались найти биомеханические различия между нативным и ЛАСИК-индуцированным кератоконусом [88, 96]. На основе анализа записи эволюций роговицы,

полученных с помощью Corvis-ST с помощью метода конечных элементов строились цифровые модели роговицы. По мнению авторов, предложенные алгоритмы представляет собой не инвазивный метод, способный оценить вязкоупругие механические свойства роговицы, что может способствовать пониманию механизма развития кератоконуса, улучшению качества его диагностики и лечения [70]. Сравнение биомеханических параметров и точности измерения внутриглазного давления ORA и Corvis-ST [40, 55-56, 97]. С помощью методов машинного обучения авторы попытались, на основе биомеханических данных Corvis-ST и топографических данных Pentacam, разработать прогностический алгоритм предсказания развития кератоконуса. С помощью прибора оценивали вклад переднего эпителия роговицы в ее биомеханику, исследуя изменение ее биомеханических характеристик после деэпителизации у пациентов, запланированных на роговичный кросслинкинг [71, 98].

### **1.9. Эффект Мандельштама — Бриллюэна**

Несколько публикаций последних лет посвящены исследованию биомеханических свойств роговицы с помощью эффекта Мандельштама — Бриллюэна.



Эффект основывается на неупругом рассеивании светового излучения на собственных звуковых колебаниях оптических сред. Рассеивание сопровождается изменением спектрального состава излучения и может быть чувствительно к механическим свойствам среды. В твердых средах метод позволяет различить компоненты механических свойств для различных направлений деформации.

В работе [50] продемонстрирован потенциал данного метода в диагностике кератоконуса. Измеряли продольный компонент Бриллюэновского рассеивания в роговице. Исследование было проведено на 47 здоровых добровольцах и 38 пациентов с кератоконусом на различных стадиях заболевания (от I до IV стадии). Полученные данные свидетельствуют об увеличении биомеханической неоднородности роговицы с прогрессированием кератоконуса и биомеханической асимметрией между левым и правым глазами у пациентов с кератоконусом. Анализ рабочих характеристик приемника данных пациентов I стадии показывает, что среднее Бриллюэновское смещение дает более робастные данные чем анализ толщины роговицы и максимальной ее кривизны. Авторы считают, что в сочетании с топографическими данными, микроскопия Бриллюэна может

быть полезна для ранней диагностики кератоконуса и для скрининга пациентов перед кераторефракционными вмешательствами.

В работе [76] исследовали возрастную зависимость Бриллюэновской спектроскопии роговицы, а также и сравнивали данные нормальной и кератоконусной роговицы. Так же, как и в предыдущей статье исследователи измеряли продольный компонент Бриллюэновского рассеивания в роговице. Авторы выявили достоверную корреляцию между возрастом и центральным сдвигом частоты Бриллюэна ( $P = 0,011$ ) с увеличением сдвига частоты Бриллюэна на 4 МГц за 10 лет жизни в нормальной роговице. Сдвиг частоты Бриллюэна в точке максимального заднего подъема в кератоконусных роговицах показал наилучшую корреляцию с топографическими индексами кератоконуса. Однако авторы пришли к выводу, что метод в настоящее время недостаточно специфичен и чувствителен. Дальнейшее развитие, включая стандартизированное картирование и создание новых индексов, может существенно увеличить потенциал данного метода. Кроме исследования биомеханических свойств роговицы Бриллюэновское рассеивание позволяет исследовать и другие прозрачные ткани глаза, например хрусталик [31].

### 1.10. Голографическая интерферометрия

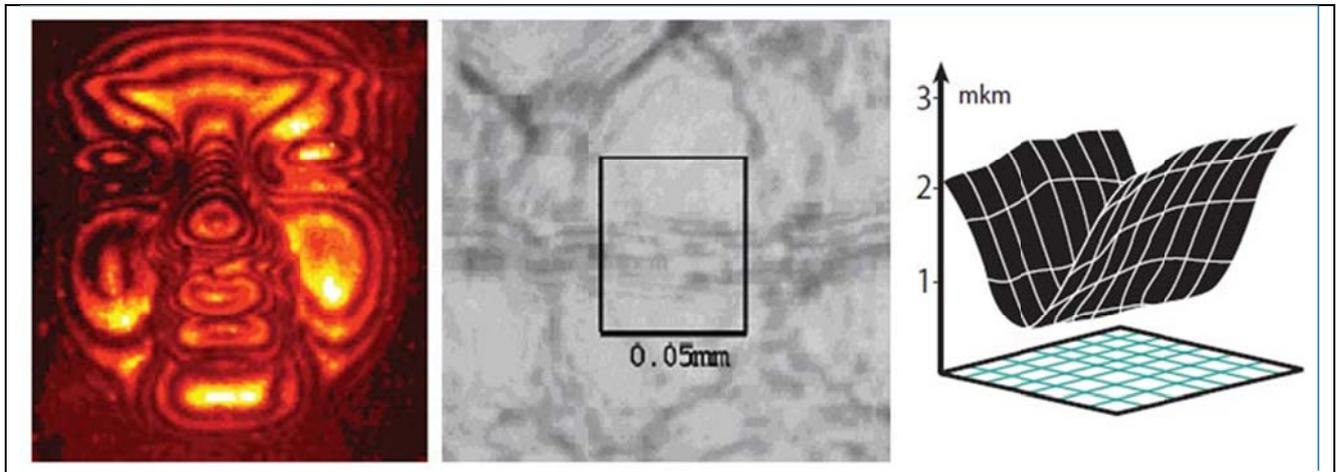


Рис. 8 Двухэкспозиционная голографическая интерферограмма фрагмента роговицы глаза кролика (в центре) и рассчитанный по ней профиль поверхности роговицы (справа). Левая часть – интерферограмма ритуальной маски, выполненная по той же технологии. Иллюстрация из [26]

Помимо методов, сочетающих в себе визуализацию и механическое воздействие на поверхность исследуемых структур или тканей, рассматривались методики, основанные на изображении изменений тканей, фиксируемых на различных вариантах сканограмм. К таким методикам относятся Голографическая интерферометрия и Оптическая когерентная цифровая эластометрия. Голографическая интерферометрия включает в себя методики, в которых различными способами осуществляется запись голограммы объекта на один и тот же носитель до и после какого-либо воздействия. В результате на получившейся голограмме хорошо визуализируются даже минимальные деформации поверхности исходного объекта. Преимуществом данного метода является наличие цветовой шкалы, которая облегчает автоматическую обработку результатов [42]. Метод позволяет достаточно точно определить порядок помех,

сопоставив две цветовые шкалы разных испытаний. В эксперименте изучены образцы бычьей роговичной ткани после механической абразии и лазерной абляции различной интенсивности [47]. Выявлено, что более интенсивное воздействие приводило к выраженному повреждению структуры роговицы; в частности, в области абляций были обнаружены разрывы, что могло указывать на изменение параметров жесткости роговицы в этом месте. Следует также отметить, что слабая абляция роговицы не приводила к значительным изменениям ее структуры; это позволило сделать вывод о влиянии толщины роговицы на ее биомеханические свойства.

Данная методика не получила широкого применения в клинической практике, что может быть связано с локальностью исследования (например, только в центре роговицы) и невозможностью получения объемной картины деформаций.

### **1.11. АСМ**

Одним из перспективных направлений исследования локальных биомеханических свойств тканей глазного яблока является атомно-силовая микроскопия [2-3, 75, 81]. В работе [3] с помощью этого метода проводилась оценка возрастных изменений «биомеханики» капсулы хрусталика. Были изучены 50 центральных фрагментов передней капсулы хрусталика человека, полученных интраоперационно в процессе ультразвуковой факоемульсификации с помощью кругового непрерывного капсулорексиса. Изучали жесткость как внутренней, так и наружной поверхности капсулярного фрагмента. Независимо от возраста жесткость внутренней поверхности передней капсулы хрусталика достоверно превышала аналогичный показатель наружной поверхности.

На основе атомно-силовой микроскопии была доказана возможность создания на склере с помощью лазерного излучения участка с повышенной гидропроницаемостью [2, 75]. С помощью этого метода изучалась модуляция ответа фибробластов как одного из возможных способов изменения биомеханических свойств склеры [75]. В проведенных опытах применялось неабляционное воздействие на склеру инфракрасным лазером (эксперимент *in vivo*). Клеточный ответ на воздействие заключался в активной пролиферации склеробластов и миофибробластов, приводящей к изменению толщины и биомеханических свойств склеры.

В другом исследовании благодаря применению атомно-силовой микроскопии удалось установить, что лазерно-индуцированное формирование пор повышает проницаемость склеры, при этом биомеханические свойства склеры остаются неизменными [75].

Атомно-силовую микроскопию применяли для оценки изменения биомеханических свойств роговицы после процедуры кросслинкинга [12]. В ходе эксперимента была выявлена экспоненциальная зависимость длительности ультрафиолетового облучения и характеристик жесткости стромы роговицы, подвергшейся данной процедуре. Это исследование позволило оценить эффективность применения различных модификаций кросслинкинга.

Большая разрешающая способность атомно-силовой микроскопии позволяет также оценивать структурные изменения, влияющие на механические свойства ткани, недоступные визуализации другими методами, например микроструктуры капсулы хрусталика [1, 81-82]. Были определены параметры шероховатости поверхности капсулы хрусталика и выявлена взаимосвязь между механическим напряжением и шероховатостью поверхности.

Также авторы изучали чувствительность атомно-силовой микроскопии и оптической когерентной томографии в оценке деформации (механических свойств) выделенных образцов роговицы и склеры [35, 90].

### 1.12. ОСТ-эластометрия

Одним из новейших способов оценки биомеханических свойств биологической ткани можно считать оптическую когерентную эластометрию (эластографию). Данная методика позволяет получить объемную карту механических свойств разнородного тканевого массива с помощью точной регистрации карты деформации данного массива под воздействием дозированной механической нагрузки [6, 36, 89]. В данном случае мы имеем в виду возможность получать снимки (сканограммы) измененной структуры ткани. Следует отметить, что любое нарушение морфологии образца ткани связано с механическим повреждением, что в свою очередь может являться причиной изменения биомеханических свойств ткани.

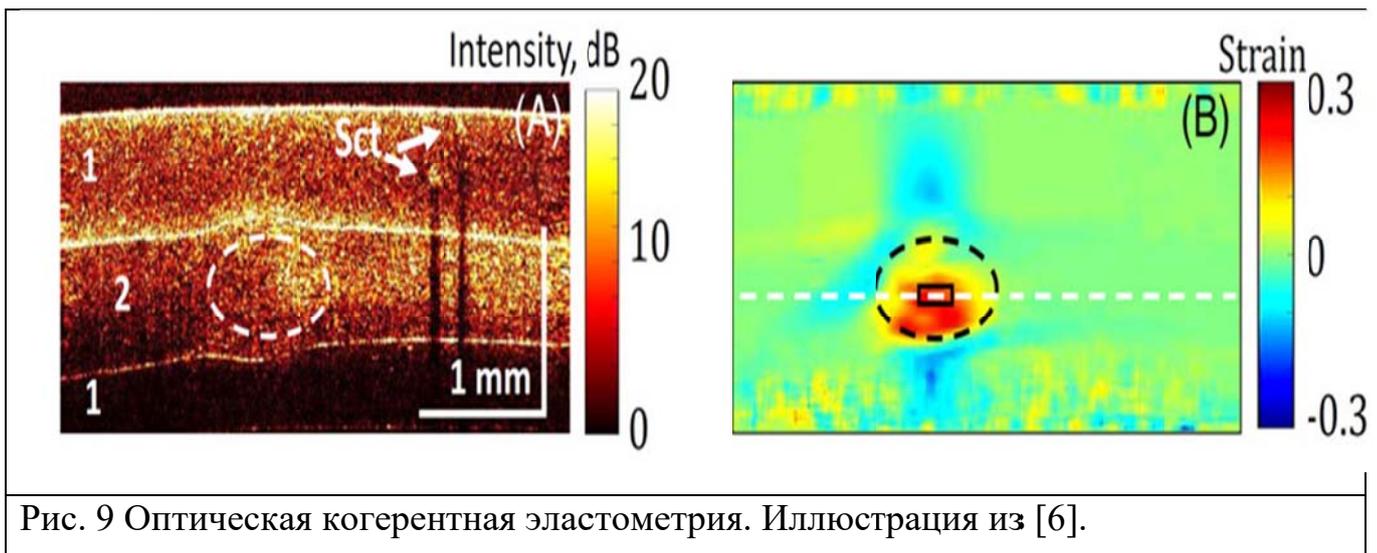
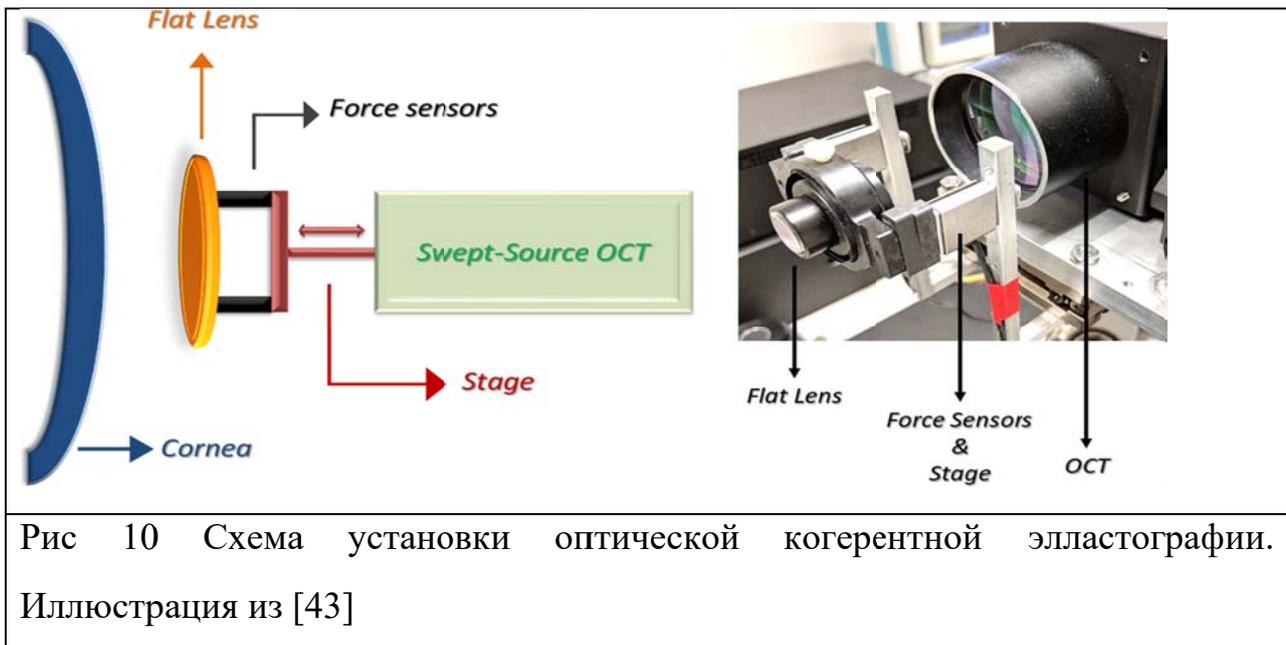


Рис. 9 Оптическая когерентная эластометрия. Иллюстрация из [6].

Следует отметить, что исследования, проводимые на базе ОКТ на данный момент, являются одним из перспективных направлений изучения биомеханических свойств оптических сред глаза.

Оптическая когерентная эластография (ОКЭ) использует для измерения локального смещения тканей в процессе деформации более принцип оптической когерентной томографии. Этот метод позволяет получать изображения с микрометрическим разрешением при высокой частоте смены кадров. Методы механического напряжения аналогичны используемым в ультразвуковой эластографии и включают в себя как статические, так и динамические подходы.



В исследовании [43] была проведена ОСТ эластография у живого человека, показаны различные биомеханические свойства различных слоев роговицы *in vivo*. В последующем эта же группа авторов показала различия в пространственном распределении жесткости роговицы в глазах с нормальной роговицей, с кератоконусом и после процедуры роговичного крослинкинга [46].

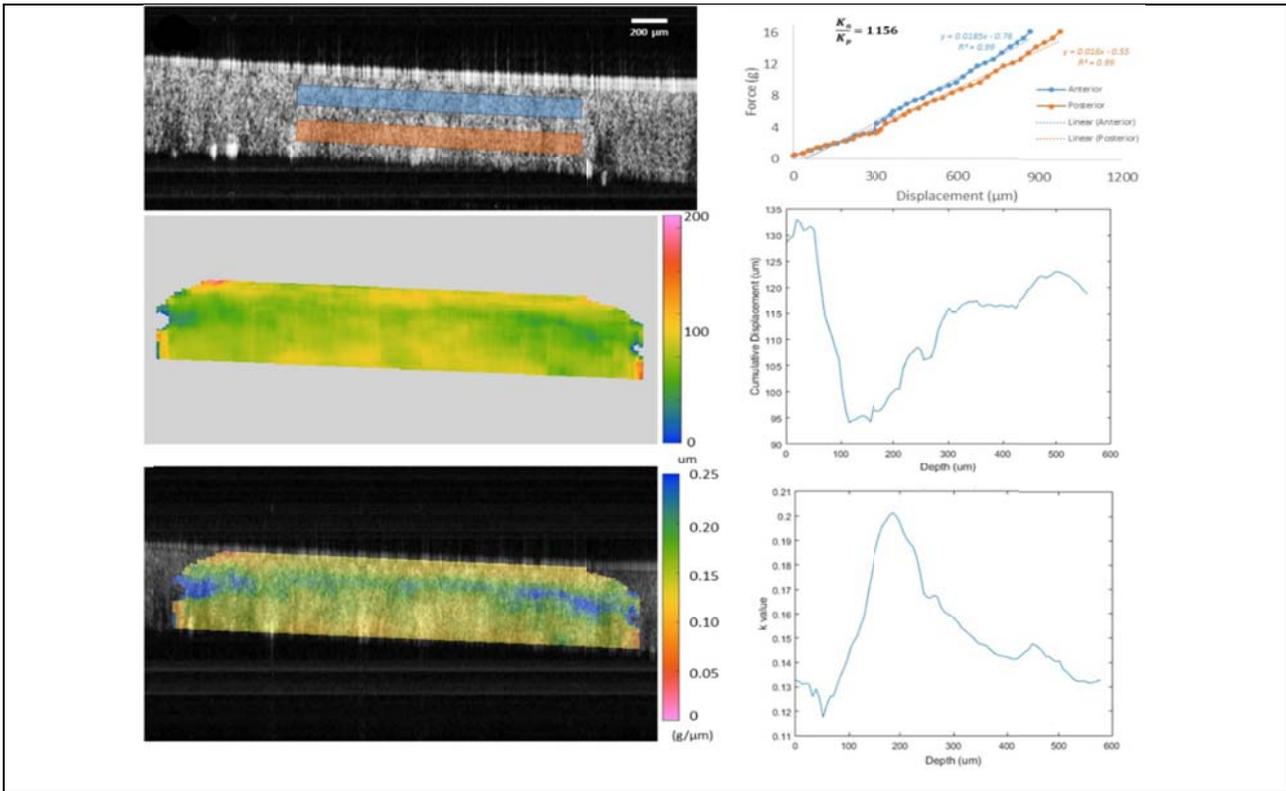


Рис 11 Результаты эластографического исследования правого глаза пациента [43]

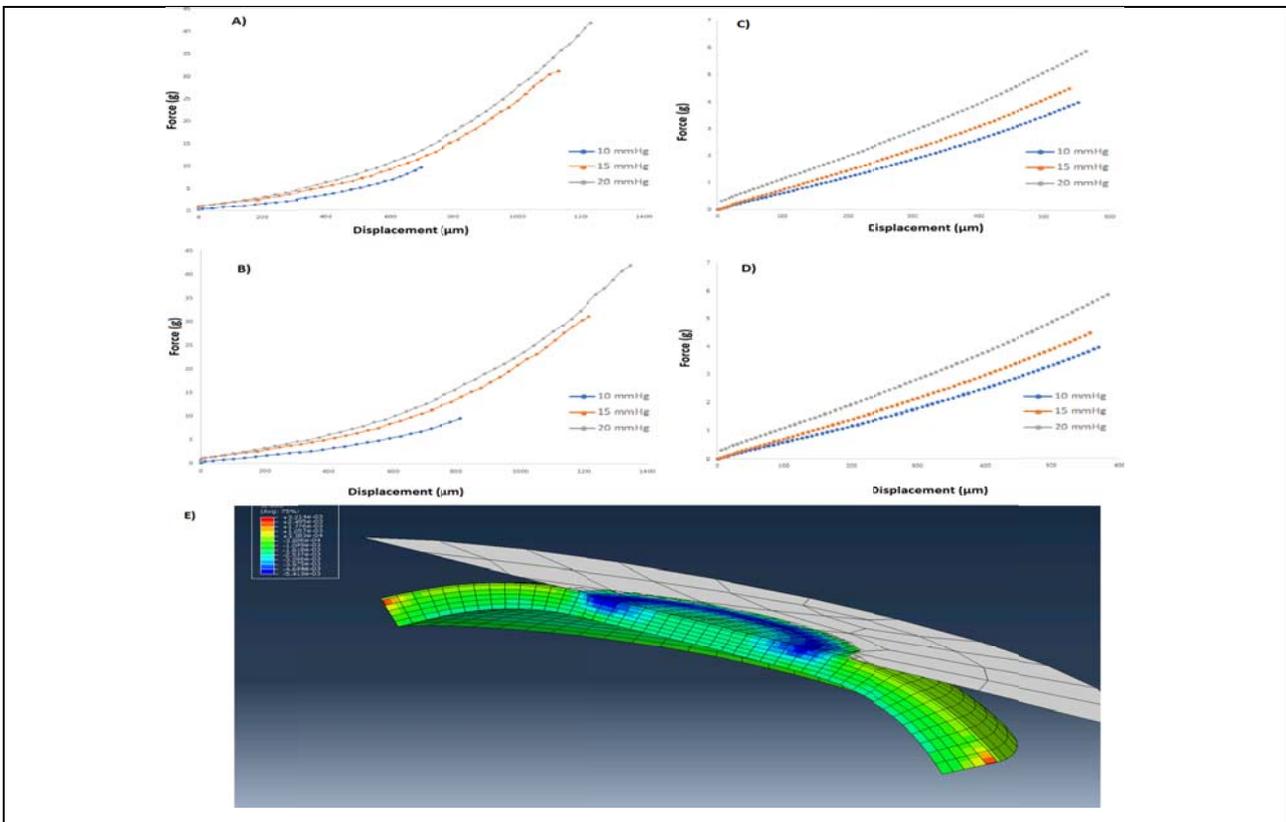
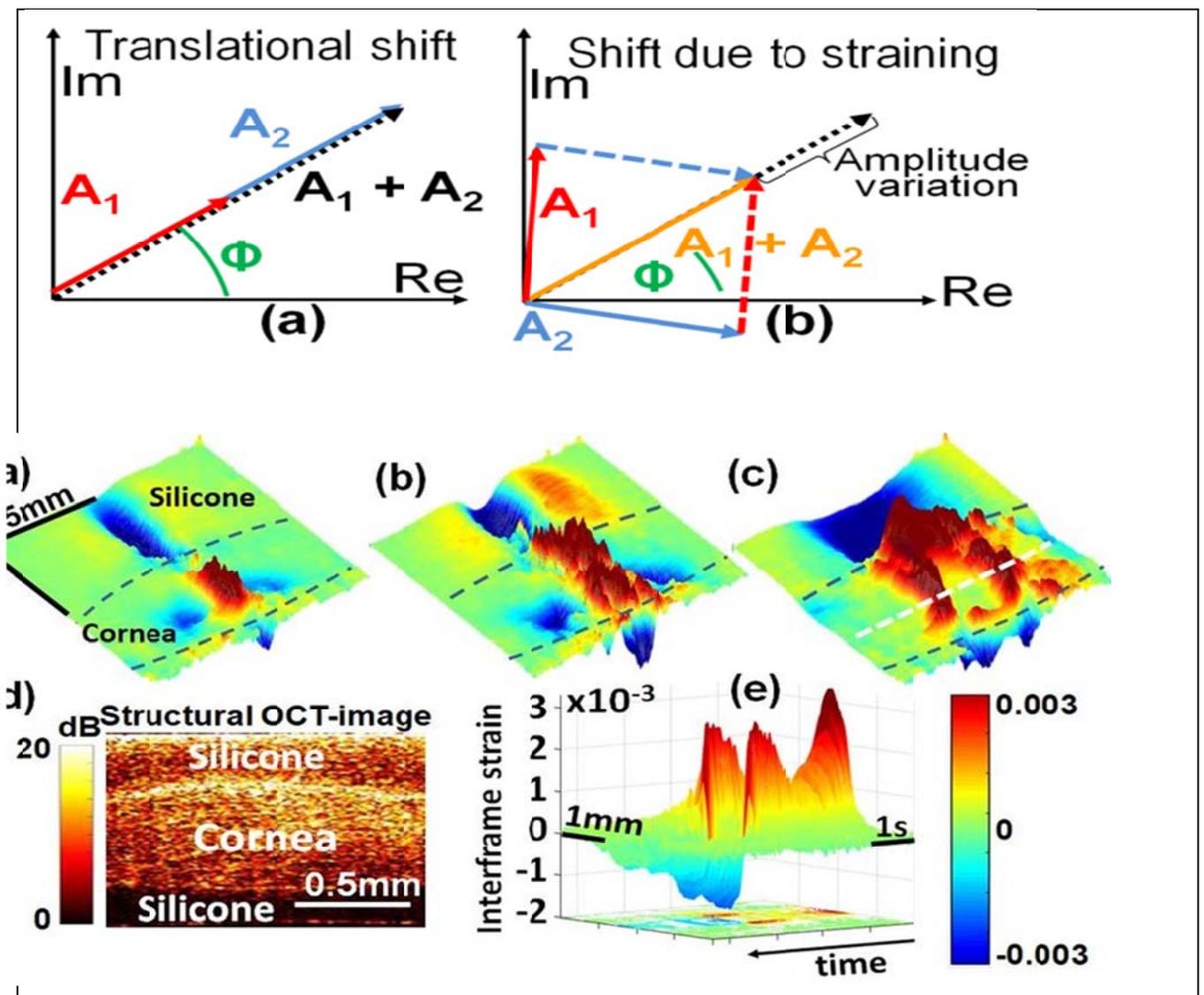


Рис. 12 Чувствительность прибора к колебаниям ВГД [43]

Исследованию возможностей оптической когерентной эластографии посвящен целый ряд работ последних лет [49, 80, 91, 99, 100]. Кроме изучения биомеханики роговицы и передних отделов склеры, данная группа методик позволяет также изучать биомеханику задних отделов глаза [67, 86], а также хрусталика [31, 60].

ОКЭ позволяет получать объемную карту механических свойств (деформации) разнородного тканевого массива с помощью точной регистрации карты деформации данного массива под воздействием дозированной механической нагрузки.



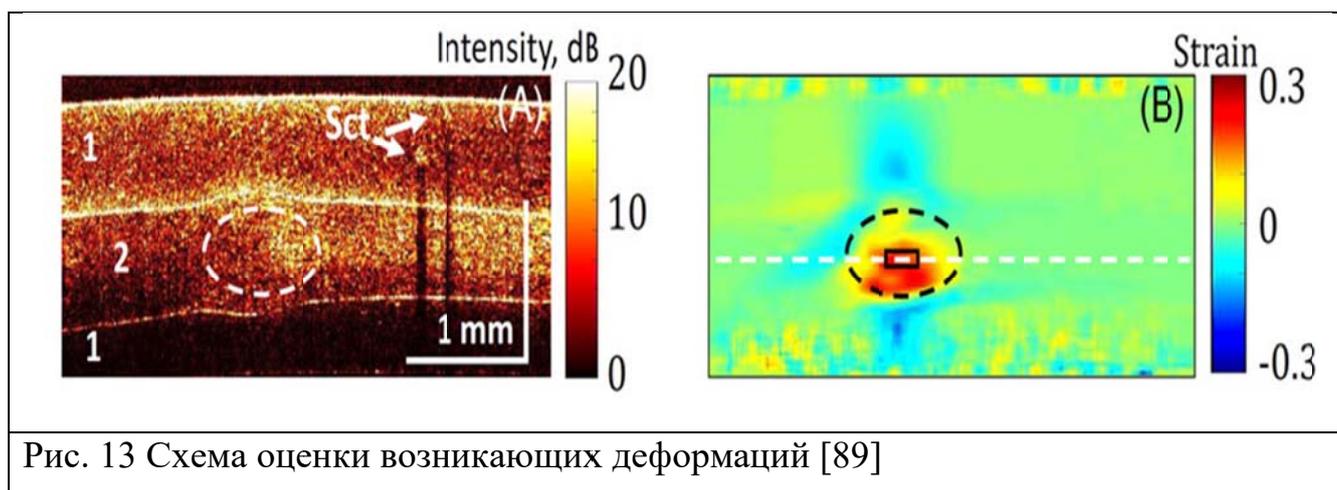


Рис. 13 Схема оценки возникающих деформаций [89]

В первых исследованиях, посвященных изучению данного метода, авторы рассматривали возможность проведения лазерной термокератоластики под контролем ОКЭ на экспериментальных образцах. Применение ОКЭ позволило исследовать динамику лазерно-индуцированных деформаций [35-36, 90-91].

Дальнейшая работа этой исследовательской группы была направлена на поиск корреляций между результатами измерений методом ОКЭ и микроструктурными изменениями тканей.

Следует также отметить, что оптическая когерентная эластография может охватить достаточно объемный пласт научных исследований. Благодаря данному методу исследований можно оценить как состояние оптических сред глаза [22, 89, 92], так и состояние сосудистой оболочки глаза. Если биомеханические свойства роговицы и хрусталика так или иначе рассматривались в различных научных работах, то оценка состояния радужной оболочки глаза является сравнительно новым направлением, изучаемым с помощью метода оптической когерентной эластографии (эластометрии). Например, в работе [93] рассмотрено изменение структуры радужной оболочки свиного глаза в зависимости от уровня ВГД и анатомических особенностей различных образцов ткани. Целью данного исследования являлось определение эластических свойств различных оболочек

глаза при вышеуказанных состояниях. В ходе проведения исследования авторы пришли к выводу, что разница в скорости волны при различном внутриглазном давлении была незначительная. Однако были получены данные о жесткости радужной оболочки. Было выявлено, что параметры жесткости радужной оболочки были значительно выше в полуазимутальной ориентации (средняя скорость волны 2,5 м/с), чем в радиальной ориентации (средняя скорость волны 1,5 м/с). Однако на данном этапе разработки вышеуказанного метода исследования биомеханических параметров имеются определённые ограничения, поскольку модель распространения волн, используемая для оценки модуля Юнга в радужной оболочке, предполагает большую толщину структуры по сравнению с той, что приведена в исследовании (средняя толщина радужной оболочки в этом исследовании составляла 0,527 мм). Еще одним минусом данного способа является эффект контакта между радужной оболочкой и хрусталиком, что также может влиять на получение достоверных результатов. [93]

Исследование биомеханики глаза представляет несомненный интерес, поскольку имеется целый ряд клинических ситуаций, в которых прижизненная оценка механических свойств может помочь как в диагностике, так и в лечении. Одним из самых неприятных осложнений кераторефракционной хирургии является ятрогенный кератоконус, связанный с ослаблением прочностных свойств роговицы. Имеющиеся в настоящий момент методы своевременного выявления данной патологии несовершенны, поскольку позволяют поставить диагноз только по наличию поздних структурных деформаций роговицы. Своевременное выявление снижения прочности роговичной ткани, позволило бы выявлять данную патологию на более раннем этапе и значительно сократить

риск ятрогенной патологии. Развитие биомеханических исследований ускоряет внедрение их результатов в клиническую практику.

Информация об особенностях деформаций тканей в ходе проведенных разноплановых исследований может расширить наши представления о механизмах развития патологий в различных структурах органа зрения, и позволит разработать новые методы их диагностики и лечения. Таким образом, очевидна необходимость дальнейшего углубленного исследования биомеханики тканей глаза, что сыграет ключевую роль не только в науке, но и в практической офтальмологии.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Материалы

План исследования получил одобрение локального этического комитета Сеченовского Университета. Все проводимые процедуры соответствовали принципам, изложенным в Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренного варианта 2000 г.

В работе использовалось 30 глаз (15 животных) лабораторных кроликов породы шиншилла серый и 10 свиных глаз. Все исследования *in vivo* проводились под общей анестезией (Золетил + Рометар), рассчитанной согласно весу животного. Исследование *ex vivo* и *in vitro* проводились на энуклеированных глазах. Энуклеация кроличьих глаз проводилась после выведения животного из эксперимента под общим обезболиванием. Свиные глаза, предназначенные для проведения отработки хирургических навыков (ВетЛаб), были предоставлены ФГБНУ «НИИГБ».

Свиные глаза исследовались в период 3-5 дней после энуклеации. Кроличьи глаза исследовались в день проведения энуклеации.

#### Процедура энуклеации

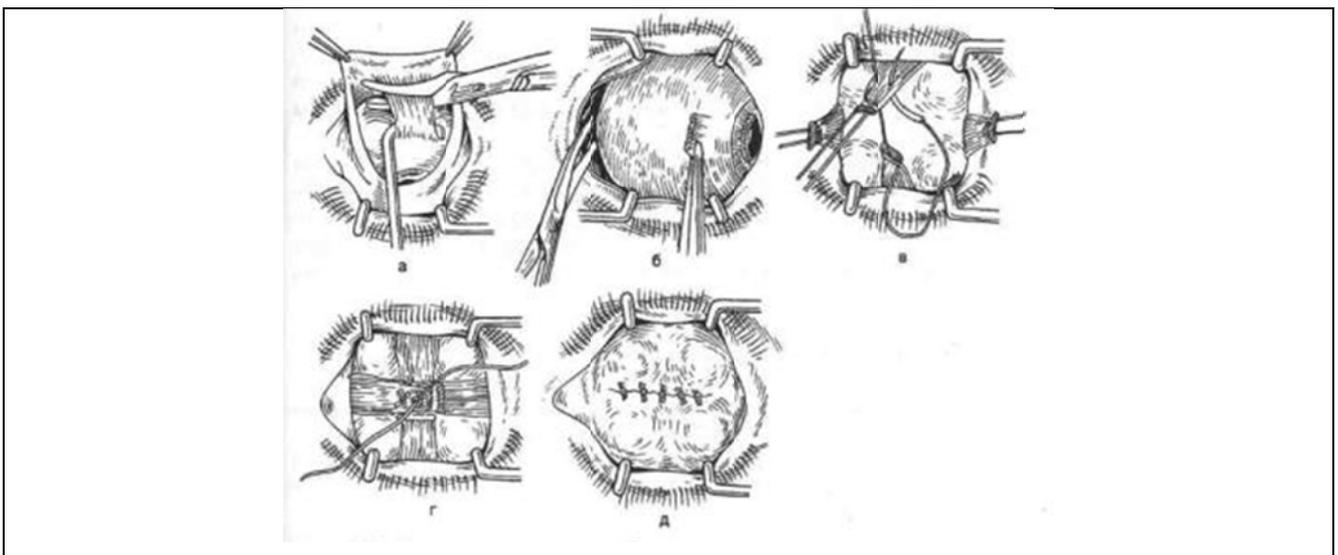


Рис. 14 Схема проведения энуклеации

А – Пересечение прямых мышц, Б – Перерезка зрительного нерва ножницами,

В, Г – Сшивание мышц для формирования подвижной культи, Д – Сшивание конъюнктивы.

Процедура энуклеации включает следующие этапы: отделение конъюнктивы от лимба, захват прямых мышц глаза крючком и прошивание захваченных мышц. Далее осуществляется отсечение прямых мышц и перерезка зрительного нерва ножницами. Кровотечение останавливается тампонами, смоченными в 3% растворе перекиси водорода. Мышцы и конъюнктура сшиваются. Формирование опорно-двигательной культи в данном случае не предусмотрено.

Предоперационные мероприятия предусматривают введение животного в рометаровый наркоз. Поскольку данный эксперимент проводится в условиях *ex vivo*, послеоперационных мероприятиях не предусмотрено.

Методом ФОКЭ исследовано 5 свиных и 10 кроличьих глаз *ex vivo*.

Динамометрическим методом (*in vitro*) и методом ОКЭ (*ex vivo*) исследовано 5 свиных и 20 кроличьих глаз.

## **2.2. Последовательность проведения исследований**

Отработка методики динамометрического исследования, методик ОКЭ и ФОКЭ проводили на свиных глазах. В последующем точные измерения проводили на свежих глазах лабораторных кроликов.

Глаза, исследованные с помощью ФОКЭ, не исследовались в последующем какими-либо другими методиками. Данное исследование проводилось с целью изучения методики и поиска корреляции ее результатов с ВГД.

Из глаз, подвергшихся исследованию *ex vivo* с помощью ОКЭ, в тот же день были вырезаны образцы роговичной ткани, которые были исследованы с помощью динамометрической методики.

## **2.3. Фазово-чувствительная оптическая когерентная эластометрия (ФОКЭ)**

### *2.3.1. Транспортировка и подготовка энуклеированных глаз*

После проведения процедуры энуклеации с целью получения материалов для проведения исследования все образцы были доставлены в лабораторию с соблюдением основных правил транспортировки биологических материалов, с учетом соблюдения условий, необходимых для сохранения целостности выделенных глаз. Подготовка образцов заключалась в следующем: после извлечения глазных яблок из полости орбиты путем проведения процедуры энуклеации, описанной выше, все полученные материалы помещались в специальные емкости, предназначенные для транспортировки биоматериалов (одноразовые, стерильные полимерные контейнеры для биологических проб емкостью 125 мл). Следует отметить, что, для предотвращения высыхания поверхности глазного яблока и роговицы, все контейнеры заполнялись физиологическим раствором натрия хлорида 0,9%. Рекомендуемое время транспортировки – не более 24–48 часов с момента получения образца. При нарушении сроков и/или условий хранения образцов были выявлены определенные изменения (в частности, формирование отека роговицы и чрезмерное её высыхание, видимых изменений других глазных структур обнаружено не было, однако стоит отметить, что уровень ВГД также зависел от изменения уровня гидратации роговицы.). В случае, когда не получалось транспортировать образцы должным образом и в вышеупомянутые сроки, соблюдались правила хранения биологических образцов. Основными факторами являлись: умеренное и постоянное увлажнение образцов, хранение их в солевом буферном растворе (0,9% раствор натрия хлорида) и соблюдение оптимального температурного режима при возникновении необходимости

хранения образцов в холодильных камерах. Однако следует иметь в виду, что при транспортировке образцов в сроки свыше 24 – 48 часов могут возникнуть изменения, которые, вероятно, повлияют на итоговый результат проведенного исследования.

### 2.3.2. Устройство лабораторной установки

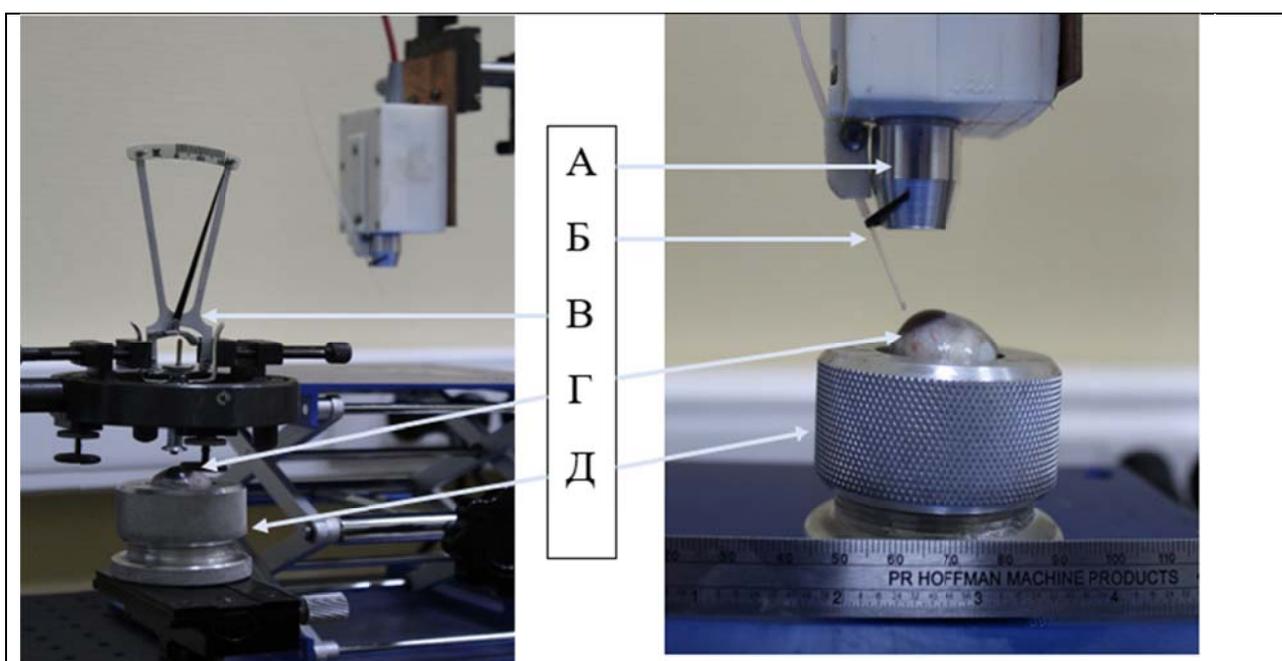


Рис. 15 Экспериментальная установка для проведения фазово-чувствительной оптической когерентной эластометрии.

А – Сканирующая головка

Б – Оптоволокно

В – Тонометр Шиотца

Г – Глаз ex vivo

Д – Держатель для образца

### 2.3.3. Методика проведения исследования

Через 4 часа после проведения процедуры энуклеации, выделенные глаза, транспортированные в лабораторию надлежащим образом, помещались в специальный держатель и плотно фиксировались. Сканирующая головка устанавливалась перпендикулярно исследуемому образцу, оптоволокно устанавливалось по направлению к сканируемой области.

Для создания микродеформаций роговицы использовали лазерное излучение длиной волны 1,56 мкм, источник излучения – лазер LS-1.56 (IPG Photonics Corp.), с максимальной мощностью до 5 Вт., доставляемое к поверхности глаза с помощью оптоволоконна.

Механическое напряжение роговицы регулировалось изменением внутриглазного давления путем экваториального сжатия глаза в подставке или инфузией физиологического раствора в переднюю камеру из контейнера с изменяемой высотой. Оценка внутриглазного давления осуществлялась импрессионным тонометром Шиотца. Запись значений осуществляли в мм рт.ст.

Поскольку частота сканирования не совпадала с частотой лазерных импульсов, из записанной серии сканов выбирались однотипные, записанные примерно в один и тот же момент от начала лазерного импульса. Критерием синхронности сканов служил характерный вид карты межкадровой разницы фаз, когда в месте нагрева в поверхностных слоях наблюдался положительный, а в глубоких – отрицательный фазовый сдвиг см. рис. 16

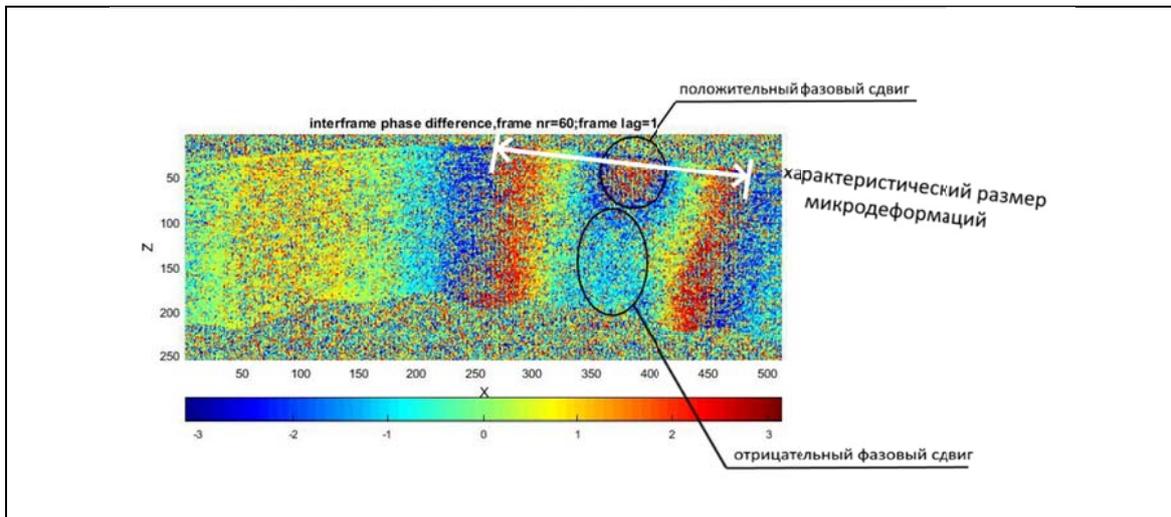


Рис. 16 Межкадровая разница фаз в момент синхронный с лазерным нагревом. В месте нагрева наблюдается градиент от положительного (у поверхности) к отрицательному (в глубине) фазового сдвига. Белой стрелкой показан измеряемый характеристический размер микродеформации.

Для оценки размера, регистрируемой в этот момент лазериндуцированной микродеформации, измеряли горизонтальный размер (в микрометрах) двойной смены фаз (от красного до красного), параллельно поверхности роговицы (белая стрелка на рис. 16).

Тесноту связи между внутриглазным давлением в момент исследования (а значит и механическим напряжением роговицы) и характеристическим размером лазериндуцированной микродеформации оценивали с помощью параметрического коэффициента корреляции Пирсона.

Статистический анализ проводился с помощью R версия 4.1.1 (R Foundation for Statistical Computing).

#### *2.3.4. Методика оценки сканограмм*

Все полученные сканограммы отбирались по следующим критериям: зарегистрированные импульсы должны были иметь схожую силу воздействия на ткань, видимая деформация, сформированная лазерным нагревом, должна иметь определенную структуру. Кроме того, учитывалась межкадровая разница фаз и градиент в месте нагрева (положительный фазовый сдвиг должен был проходить максимально близко к поверхности и иметь центральное положение, такой подход обеспечивал корректность оценки возникшей деформации). После того, как были выбраны наиболее подходящие сканограммы, все деформации оценивались определенным образом: расстояние между двумя положительными фазовыми сдвигами в начале и в конце волны (красные полосы на сканах) характеристический размер микродеформации в каждом кадре оценивался путем измерения от «красного» до «красного» по горизонтали. Необходимые кадры подбирались с помощью программы, разработанной на языке Pascal, предназначенной для обработки видеофайлов и выделения отдельных кадров. Следует отметить, что зарегистрированные деформации не всегда соответствовали требованиям

(например, фазовые сдвиги были зарегистрированы некорректно, таким образом, градиент либо не отображался, либо отображался как отрицательный), следовательно, итоговая карта деформаций имела некоторые отличия по сравнению с исходными данными.

## **2.4. Оптическая когерентная эластометрия (ОКЭ)**

### *2.4.1. Транспортировка и подготовка энуклеированных глаз*

После выделения исследуемых глаз из полости орбиты посредством энуклеации, все образцы транспортировались в лабораторию в течение 4–6 часов. Данное исследование проводилось в день получения экспериментальных образцов. В этом случае специальной подготовки образцов не требовалось, однако все полученные материалы перед транспортировкой помещались в специальные емкости, наполненные на 2/3 физиологическим солевым раствором натрия хлорида 0,9%. Такие условия хранения и транспортировки образцов позволили провести исследования на условно сохранных образцах ткани, поскольку буферный раствор обеспечивал необходимую гидратацию роговицы, тем самым предотвращая её чрезмерное высыхание, что в свою очередь обеспечивало более корректное проведение исследования и минимизировало риски возникновения погрешностей при сканировании образца и в процессе дальнейшей обработки полученных данных.

#### 2.4.2. Устройство лабораторной установки



Рис. 17 Установка для проведения оптической когерентной томографии Optovue RTVue-100

#### 2.4.3. Методика проведения исследования

После транспортировки образцов в место проведения исследования все глаза закреплялись специальным образом на предварительно подготовленной площадке, с целью максимального центрирования образцов в области воздействия сканирующего луча (длина волны  $840 \pm 10$  нм). Следующим этапом проведения исследования являлось введение капельной системы в переднюю камеру (инсулиновая игла помещалась между роговицей и радужной оболочкой, по силиконовой трубке поступал раствор, который моделировал изменение давления в передней камере экспериментального глаза). Сама емкость с раствором закреплялась на специальной конструкции, высоту которой можно было бы контролировать, таким образом появлялась возможность менять уровень водного столба. Вычисление внутриглазного

давления проводили из расчета соответствия 10 мм рт.ст – 13,6 см. водного столба.

Важным фактором, влияющим на проведение вышеупомянутого исследования, являлась корректная установка экспериментального образца на площадку. Опытным путем было установлено, что самым оптимальным способом фиксации глазного яблока является размещение его в синтетическом пористом остове, созданном из эластичного пенополиуретана. Плюсы данного способа фиксации заключаются в следующем: есть возможность подогнать размеры отверстия подставки под размеры глазного яблока (что обусловлено податливостью и эластичностью материала, из которого изготовлен остов), неоднородностью структуры используемого материала (что позволяет сильнее фиксировать исследуемые образцы), а также, достаточной абразивностью волокна, из которого состоит остов, что также способствует лучшей фиксации глаза.

После установки глазного яблока в фиксирующее устройство полученная конструкция прикреплялась специальным образом на деревянный брусок, а затем фиксировалась специальными креплениями к подставке ОКТ-прибора, что позволяло создать условия максимально приближенные к проведению исследования в клинической практике.

После сопоставления срединных осей роговицы и луча перед исследуемым образцом устанавливался объектив для проведения измерений в переднем отделе глаза.

После того, как все необходимые условия подготовки образца к исследованию были соблюдены, а сам образец закреплен надлежащим образом, начинался процесс сканирования поверхности роговицы.

Суть данного эксперимента заключалась в оценке состояния передней камеры и поверхности роговицы в условиях различного ВГД.

Были выбраны следующие значения: 0 (или точка отсчета), 10 мм рт. ст., 20 мм рт. ст., 30 мм рт. ст., 40 мм рт. ст. Уровень ВГД контролировался последовательным подъемом или снижением высоты емкости с раствором. Сканирование проводилось непрерывно (скорость сканирования составляла 26000 А-сканов/мин, или 1024 А-сканов за 0,04 сек; глубина сканирования – 2–2.3 мм; длина скана – 10 мм; основные параметры разрешения составляют 5 мкм в продольном направлении и до 15 мкм в поперечном). Следует также отметить, что все эксперименты по изменению уровня ВГД проводились неоднократно на одном образце (в среднем, до 5 циклов измерений на одном образце), таким образом, появлялась возможность оценивать компенсаторные реакции и изменение времени ответа в том числе.

Также на протяжении всего эксперимента контролировалась герметичность передней камеры и системы, по которой поступала жидкость. Кроме того, проверяли степень фиксации глазного яблока в экспериментальной установке, что также обеспечивало корректность проведения исследования, поскольку от положения глаза в фиксирующем устройстве зависели вышеописанные критерии правильности хода исследования.



Рис. 18 Этапы подготовки (А) и проведения эксперимента (Б).

- На данном рисунке представлен подготовительный этап (с целью отработки методики) данного эксперимента с использованием свиных глаз.

Уровень ВГД менялся последовательно: сначала в порядке возрастания значений  $\alpha$ , затем в порядке убывания. При отсутствии ответа на изменение уровня жидкости, образец выводился из эксперимента.



Рис. 19 Закрепление емкости с раствором на специальной конструкции с возможностью изменения уровня водного столба.

Говоря о корректности проведения данного эксперимента, следует отметить еще один важный момент: глаза, рассмотренные в данном разделе, были выделены у кроликов возрастом до четырех-пяти месяцев, оптимальный возраст – 3 месяца. Это было необходимо для создания лучших условий для регистрации изменений кривизны роговицы в зависимости от ВГД. Из литературных данных известно, что у молодых кроликов более тонкая и эластичная роговица. Все это позволяет лучше оценивать картину возникающих изменений, а также определить максимально допустимое количество скачков уровня ВГД до пиковых значений.

#### 2.4.4. Методика измерения сканограмм

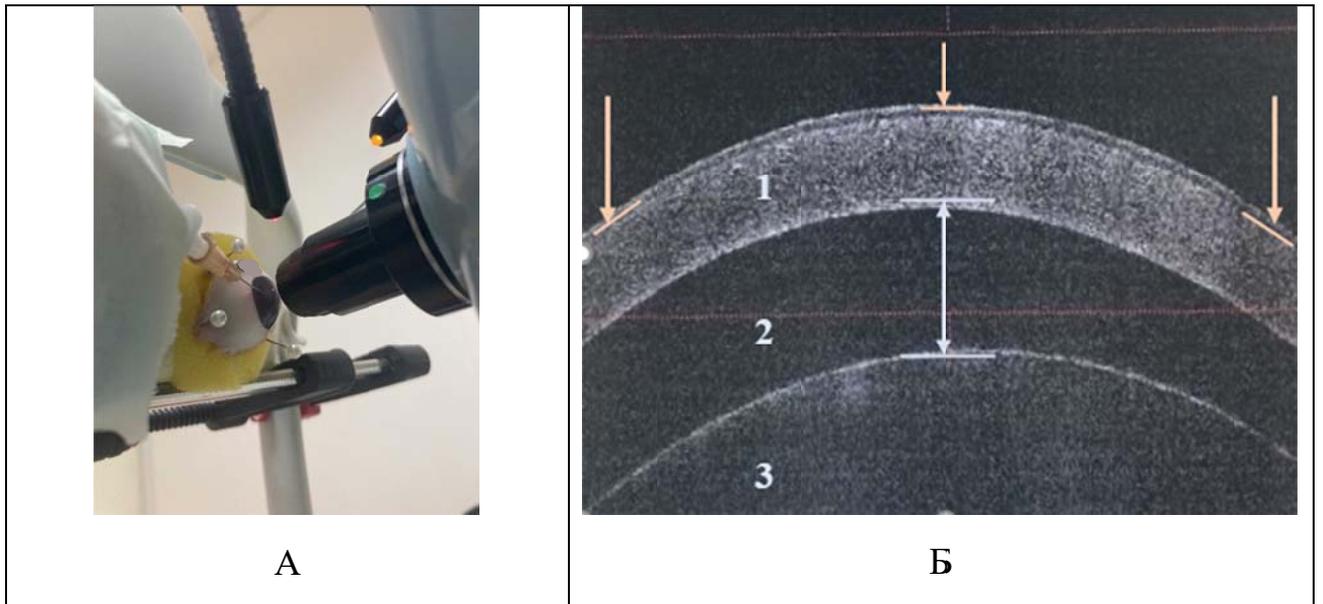


Рис. 20 Методика оценки сканограмм

А – Оптимальное положение исследуемого образца в экспериментальной установке и по отношению к сканирующему устройству

Б – Сканограмма, полученная в ходе эксперимента (стрелками обозначены глубина передней камеры и контрольные точки, по которым можно определить кривизну роговицы)

Б.1 – Роговица

Б.2 – Передняя камера

Б.3 - Хрусталик

После корректного отражения сканограммы, приступали к оценке возникающих деформаций. Оценивали изменение глубины передней камеры и кривизны роговицы в зависимости от уровня ВГД. При повышении ВГД глубина передней камеры становилась больше, кривизна роговицы при этом также менялась. Глубина передней камеры оценивалась по расстоянию между роговицей и хрусталиком. Кривизна роговицы вычислялась с

помощью разработанной нами программы для измерения радиуса кривизны поверхностей.

#### 2.4.5. Методика оценки модуля Юнга по ОКЭ

Согласно формуле Лапласа, напряжение в тонкостенной оболочке равно

$$\sigma = \frac{PR}{2t}$$

Где  $P$  – давление в сферической тонкостенной оболочке,  $R$  – радиус кривизны,  $t$  – ее толщина.

В то же самое время согласно закону Гука, напряжение связано с деформацией по формуле

$$\sigma = E\varepsilon$$

где  $\sigma$  – напряжение,  $\varepsilon$  – деформация,  $E$  – модуль Юнга, характеризующий удельную жесткость материала.

При изменении давления внутри глаза, под действием ВГД роговица деформируется. Можно предположить, что удельная линейная ее деформация при этом пропорциональна изменению радиуса кривизны к исходной кривизне:

$$\varepsilon \sim \frac{\Delta R}{R}$$

Отсюда

$$\begin{aligned} \sigma &\sim E \frac{\Delta R}{R} \\ E \frac{\Delta R}{R} &\sim \frac{PR}{2t} \\ E &\sim \frac{PR^2}{2t \Delta R} \end{aligned}$$

Таким образом измерив кривизну роговицы при ВГД близком к 0 и ее кривизну при некотором ином уровне ВГД, по этой формуле можно рассчитать величину, пропорциональную модулю Юнга роговицы и характеризующую ее удельную жесткость.

После проведения ОКЭ производили выделение роговицы из экспериментального глаза. Затем, на силиконовой подложке в вертикальном направлении высекали три линейных образца роговицы шириной 1,25 мм, проходящих через ее центр. В последующем образцы зажимались в держателях экспериментальной динамометрической установки, на которой проводили их растяжение с контролем прикладываемого усилия. По полученным данным строился график напряжение-деформация. Модуль Юнга рассчитывался при значении линейной деформации, равной 5%.

Для сравнения модуля Юнга, полученного прямыми динамометрическими измерениями, и величины, рассчитанной на основании ОКЭ, строили диаграмму рассеяния данных и рассчитывали коэффициент линейной корреляции по Пирсону.

## **2.5. Динамометрические измерения**

### *2.5.1. Методика подготовки образцов роговичной ткани для динамометрического исследования*

Для данного типа измерений также использовались выделенные глаза кроликов породы шиншилла. Это исследование проводилось после выполнения эксперимента с применением установки ОКЭ на том же экспериментальном материале.

Из образцов роговицы высекали полоски ткани шириной ~1,25 мм, толщиной ~0,4 мм и длиной ~8 мм. Для изъятия образца роговицы применялся инструмент, состоящий из двух лезвий и мерной пластины, которая определяла ширину исследуемого образца. Длина 8 мм являлась стандартной для всех образцов, а толщина (соответствовавшая толщине роговицы) определялась для каждого нового образца индивидуально. Для измерений параметров выделенных образцов ткани применялся электронный штангенциркуль. Такой подход связан с тем, что в процессе изучения

образца и помещении его в лабораторную установку, ткань могла оказаться под влиянием внешних факторов (например, чрезмерное высыхание роговицы могло привести к ухудшению её способности к растяжению, в то время, как возникший отек мог повлиять на отсутствие видимых изменений ткани при проведении первых измерений). Все полученные значения фиксировались в таблицах, на основании которых строились графики полученных деформаций, а также вычислялась корреляция между результатами ОКЭ и прямых динамометрических изменений.

Все образцы, использованные для проведения эксперимента с применением данного прибора, были выделены из ранее исследованного участка роговицы с применением модификации микрократома, разработанного специально для иссечения участка роговицы необходимой ширины.

Модификация микрократома создавалась следующим образом: использовалось два лезвия, лезвия для микрократома, между ними помещались мерные стальные пластинки, позволяющие регулировать ширину между лезвиями и, соответственно, ширину полученного иссеченного лоскута. Чтобы вся конструкция была плотно зафиксирована, а также для предотвращения смещения режущих поверхностей, все составляющие зажимались в тисках.

Перед иссечением определенного участка целостный образец помещали на поверхность, которая позволяла осуществлять контролируемое высекание. В качестве такой поверхности был использован паралелепипед среднеплотной гладкой невулканизированной резины. Такой материал позволял совершать лезвиям продольные режущие движения, что положительно влияло на качество иссекаемого образца роговицы. После иссечения каждая выделенная полоска ткани помещалась в чашку Петри и

постоянно увлажнялась, что позволяло избежать загрязнения и чрезмерного высыхания (а следовательно, снижения эластичности) роговицы.

После проведения всех подготовительных этапов данного эксперимента образцы роговицы с помощью хирургического пинцета фиксировались в зажимах, находящихся на конце штатива динамометрической установки. Давление зажимов на образец контролировалось ослаблением или затягиванием винтов, соединяющих две пластинки зажимов.

Толщина межлезвийной стальной пластины в данном эксперименте составила 1 мм, что, учитывая толщину лезвий и их двустороннюю заточку, позволяло получать образцы шириной 1,25 мм. Компановка элементов высекателя позволяет использовать пластину другой толщины для получения различных по ширине образцов (см. рис. 21).



Рис. 21 Установка для выделения экспериментальных образцов роговицы (с объяснением получения иссеченного образца необходимого размера)

А – Расстояние между микротомными лезвиями соответствует толщине стальной пластины = 1 мм

Б – Толщина лезвий = 0,25 мм

В – Расстояние от краев лезвия до режущей поверхности = 0,125 мм

Г – Итоговая ширина иссеченного образца = 1,25 мм

### 2.5.2. Лабораторная установка для динамометрических измерений.

Лабораторная установка для динамометрических измерений выполнена на механической базе микроскопа Биолам 70. Измерительная часть установки основана на рабочих узлах электронных весов LEBEN 268-055. Данный прибор был создан на кафедре глазных болезней ИКМ им. Н.В. Склифосовского на основе предыдущих установок для определения биомеханических параметров различных тканей. Подобная установка позволяет оценить параметры натяжения роговицы, а также факторы, влияющие на толщину и способность роговицы к растяжению.

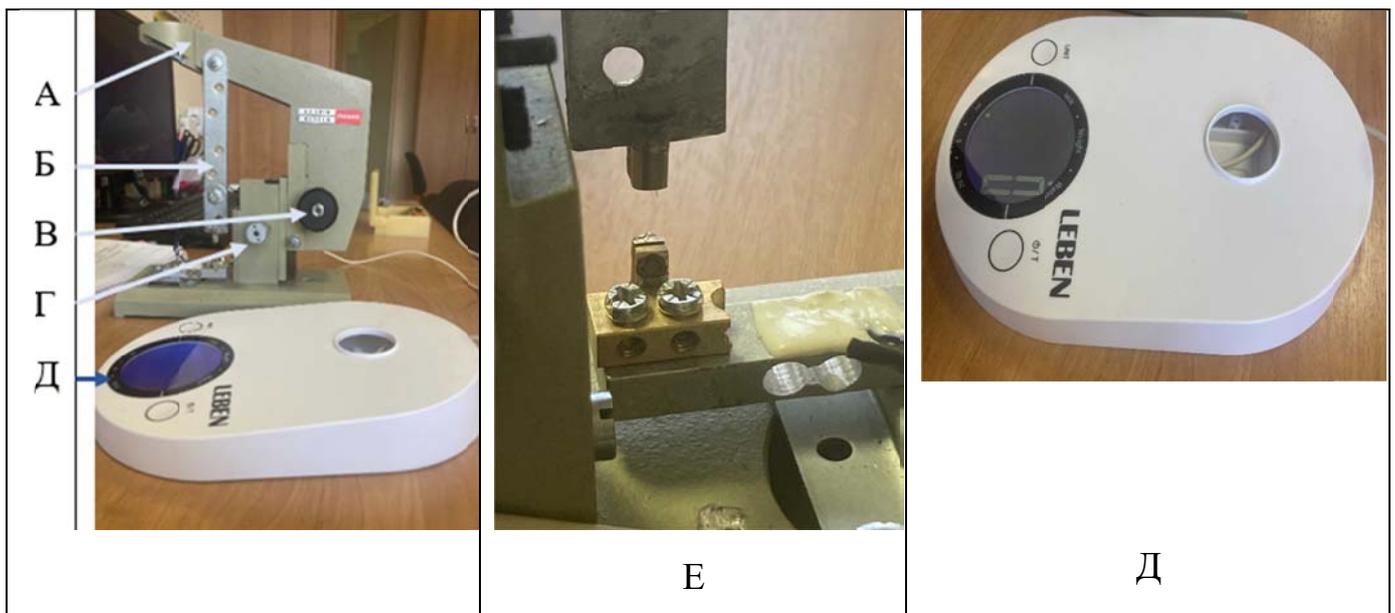
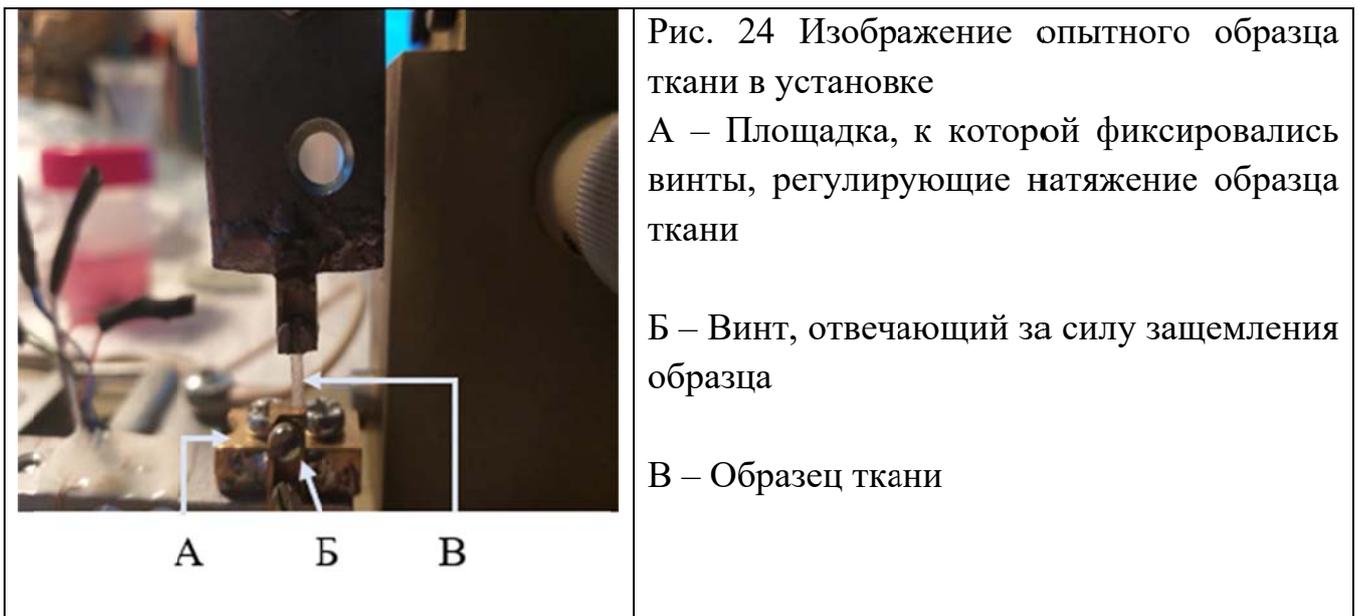
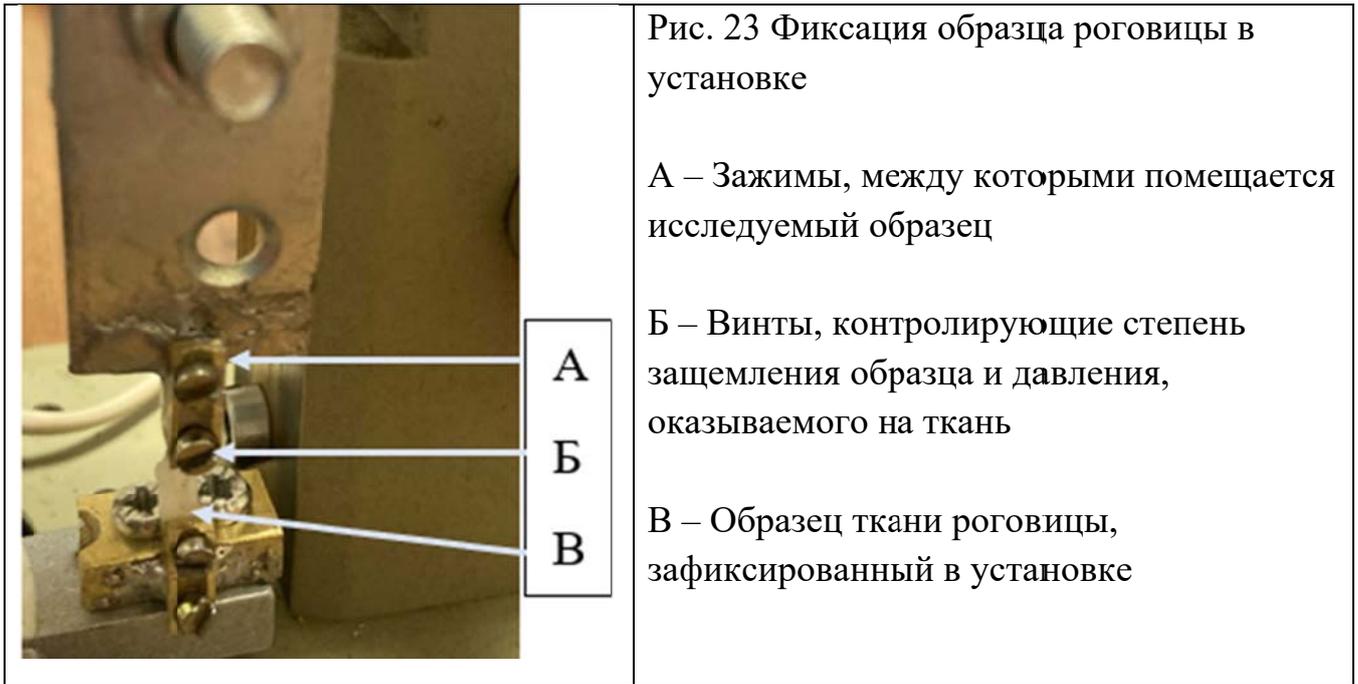


Рис. 22 Лабораторная установка для проведения динамометрических исследований.

- А – Подставка прибора
- Б – Штатив с креплениями для натяжения исследуемого образца ткани
- В – Макровинт (регулирует высоту подставки)
- Г – Микровинт (регулирует расстояние между креплениями, 1 шаг = 2 мкм)
- Д – Весы, показывающие приложенную силу, необходимую для растяжения образца
- Е – Крепления для установки исследуемого образца ткани





### 2.5.3. Методика проведения исследования

После подготовки и закрепления образца в экспериментальной установке, проводились испытания исследуемого образца. Суть процедуры заключалась в следующем: с помощью микрометрического винта растягивали образец роговицы с шагом 50-100 микрон, фиксируя изменения усилия, прикладываемого к измерительному узлу. С помощью макрометрического винта добивались расправления исследуемой полоски с нулевым натяжением, после чего фиксировали это положение фиксирующим зажимом. Далее, из этой позиции, производилось натяжение образца микрометрическим винтом по 50–100 микрон за шаг.



А



Б

Рис. 26 Принцип проведения исследования и фиксация образцов в установке

А – Макро-, и микрометрические винты, отвечающие за механическое натяжение образца (одно деление микрометрического винта = 2 мкм)

Б – Набор винтов, создающих опору для установки образца в зажимах, регулирующих степень давления, оказываемого на иссеченный образец ткани. Кроме того, данные винты позволяют фиксировать макрометрический винт и затягивать тиски, в которые помещаются образцы ткани.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Фазово-чувствительная оптическая когерентная эластометрия (ФОКЭ)

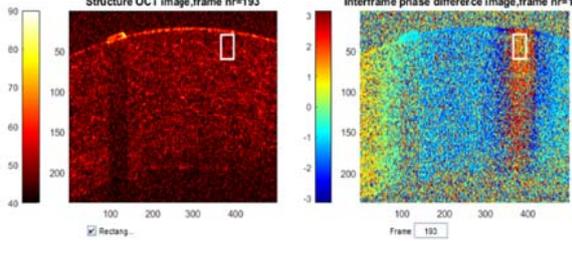
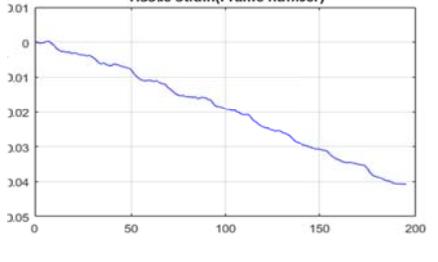
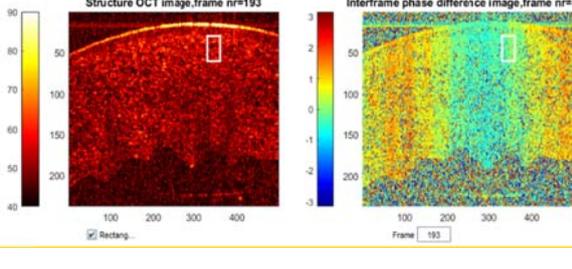
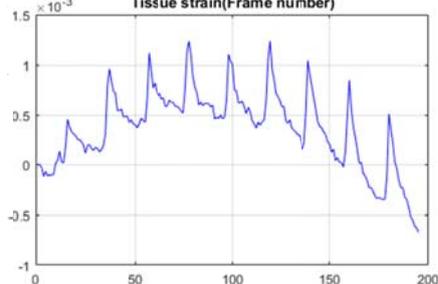
#### 3.1.1. Возможности методики ФОКЭ

Программное обеспечение лабораторной установки позволяет, отслеживать и суммировать деформации, возникающие в исследуемом участке образца.

Сканограммы приведенные ниже (см. Таб. 1 и 2) были получены в зоне, оптического центра роговицы.

График деформаций, рассчитанный в выделенном участке, показывает увеличение деформации в момент подачи лазерного импульса при снижении внутриглазного давления.

**Таблица 1. Сравнение области деформаций при различном уровне ВГД.**

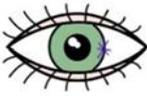
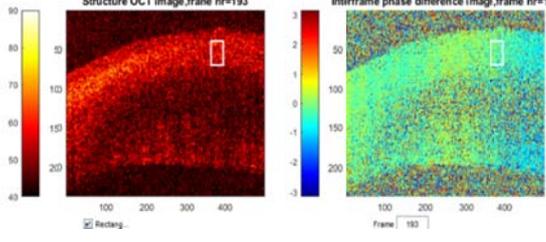
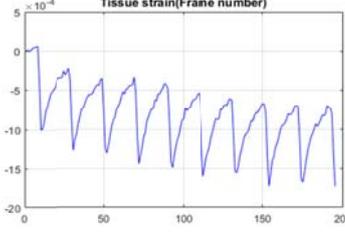
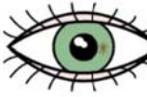
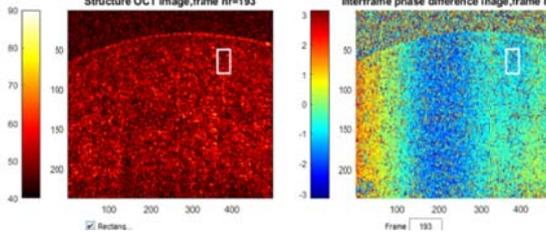
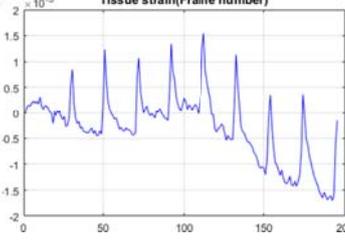
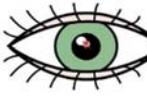
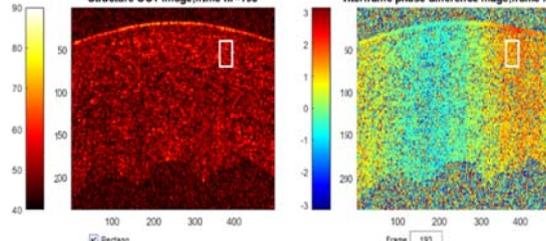
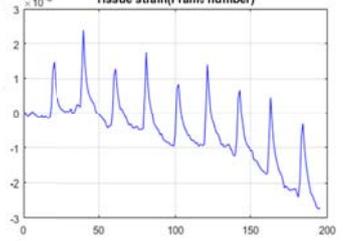
Уровень ВГД	ОСТ-сканограмма	Полученный график
19 мм рт.ст.		
11 мм рт.ст.		

Сверху – ВГД близкое к верхней границе нормы, отмечается слабое прохождение импульса.

Снизу – ВГД в нормальном диапазоне. Проводимость ткани сохранена, деформация более выраженная.

Таблица №2 демонстрирует изменение характеристик графика деформации в зависимости от выбранного участка на поверхности исследуемого глаза. При одинаковом ВГД изучали деформационный ответ ткани на лазерный импульс в центре роговицы, на середине расстояния между центром и лимбом и в непосредственной близости от лимба. Во всех трех случаях, несмотря на разную толщину роговичной ткани, отмечался деформационный ответ одинаковой амплитуды. Данный факт показывает что ФОКЭ может позволяет оценивать механическое напряжения роговицы (зависит в неповрежденной роговице только от ВГД) независимо от других параметров.

**Таблица 2 Лазерное воздействие на различные области исследуемого образца**

Уровень ВГД	Область исследования	ОСТ-сканограмма	Полученный график
11 мм рт.ст.			
11 мм рт.ст.			
11 мм рт.ст.			
<p>. Изучались области лимба, середины расстояния между лимбом и оптическим центром роговицы и область оптического центра роговицы. ВГД во всех случаях держалось на уровне 11 мм.рт.ст.</p>			

### 3.1.2. Зависимость микродеформаций роговицы по данным ФОКЭ от ВГД

По описанной в главе 2 методике (параграф 2.3.4), в качестве характеристики микродеформации в момент лазерного импульса, оценивали характеристический ее размер по карте межкадровой разницы фаз (от красного до красного, параллельно поверхности роговицы). Для оценки

выбирались только те изображения, на которых прослеживалось характерное для начала лазерного нагрева картина распределения фазовых сдвигов по глубине образца (положительный сдвиг у поверхности и отрицательный в глубине). Запись на одном образце проводилась многократно при разном ВГД (контроль ВГД осуществлялся импрессионным тонометром Шиоца).

Всего было отобрано 560 сканов, удовлетворяющих вышеописанному критерию, примеры сканов см. рис 26–30.

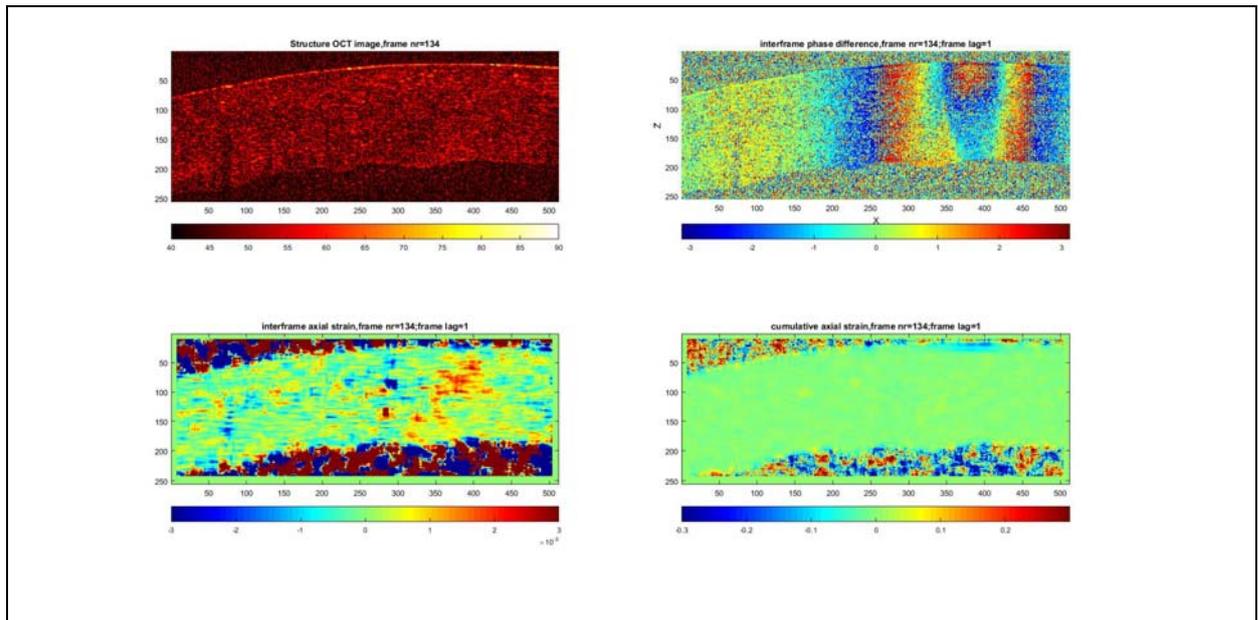


Рис. 26 Скан, удовлетворяющий критериям, необходимым для корректной оценки возникшей деформации (виден фазовый сдвиг и положительный градиент)

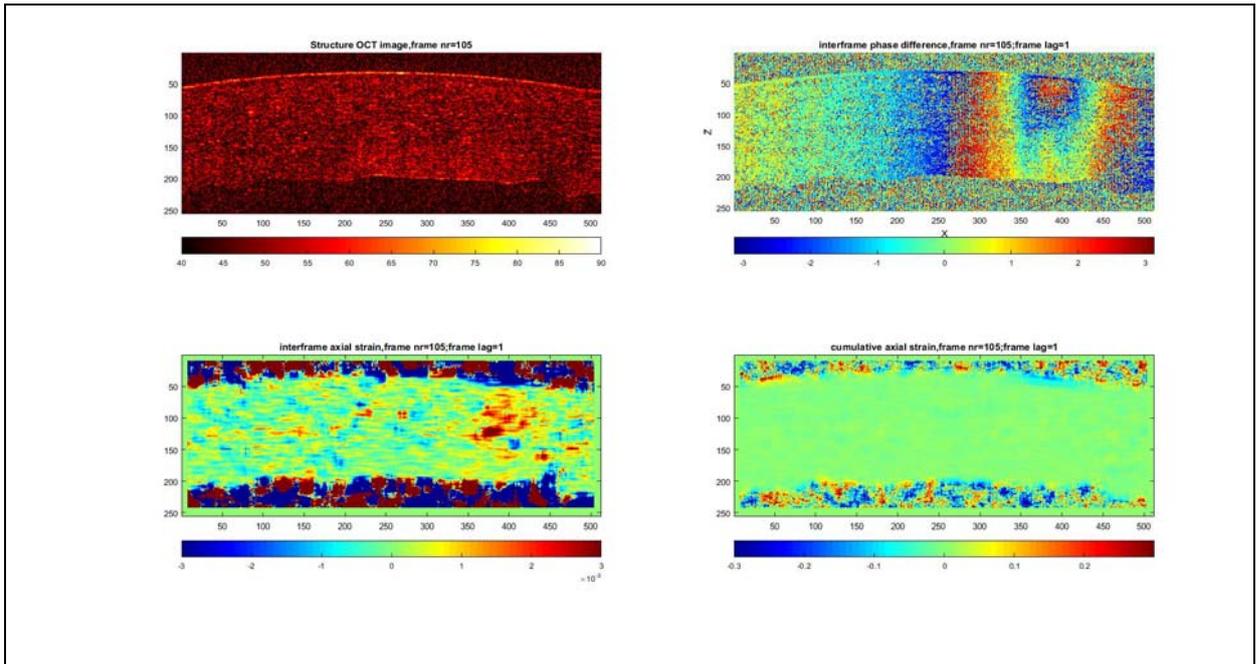


Рис. 27 Скан, удовлетворяющий критериям, необходимым для корректной оценки возникшей деформации (более выраженные деформации)

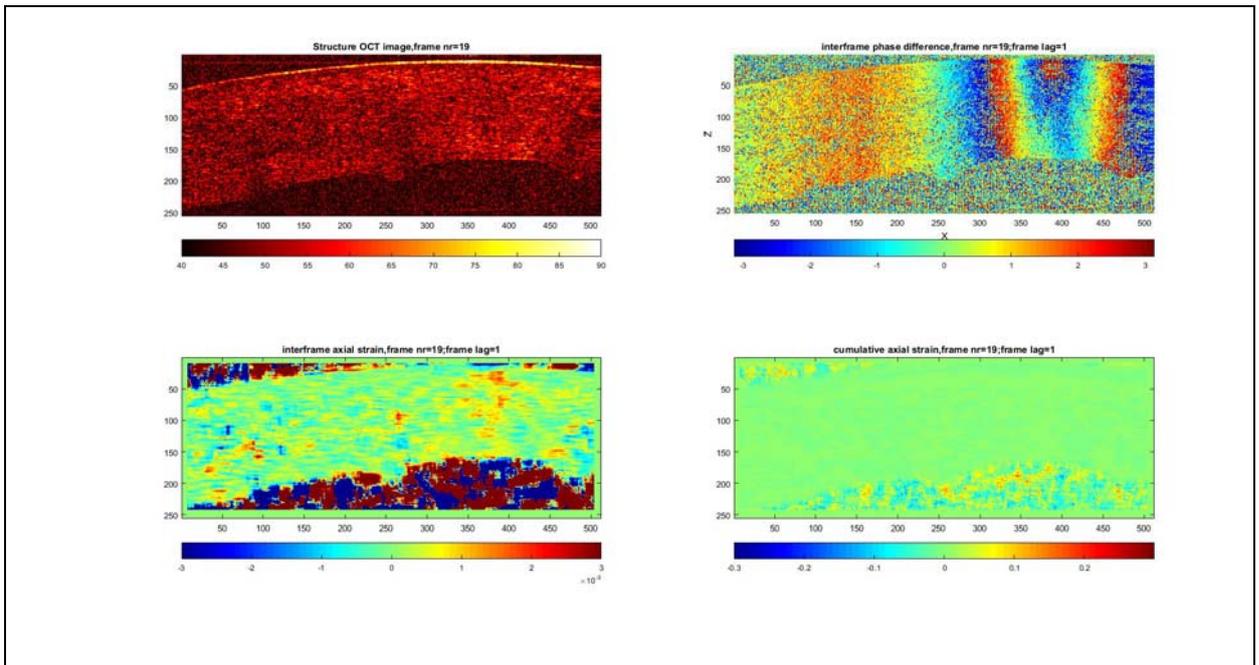


Рис. 28 Скан, удовлетворяющий критериям, необходимым для корректной оценки возникшей деформации

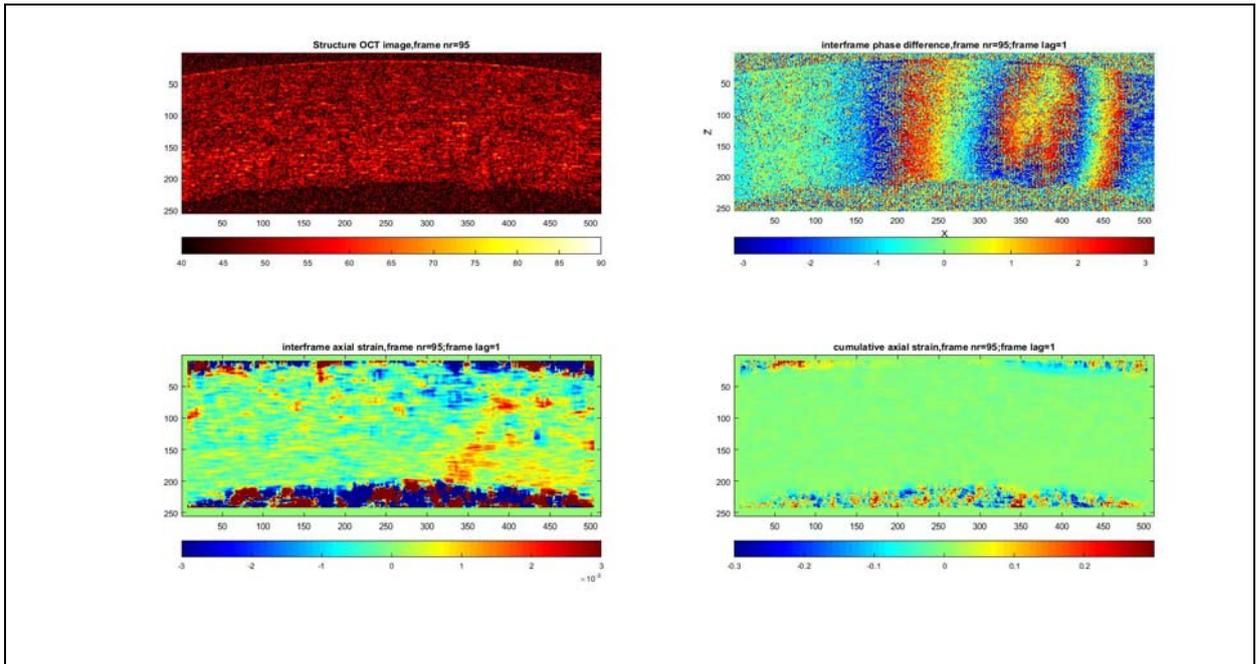


Рис. 29 Скан, удовлетворяющий критериям, необходимым для корректной оценки возникшей деформации

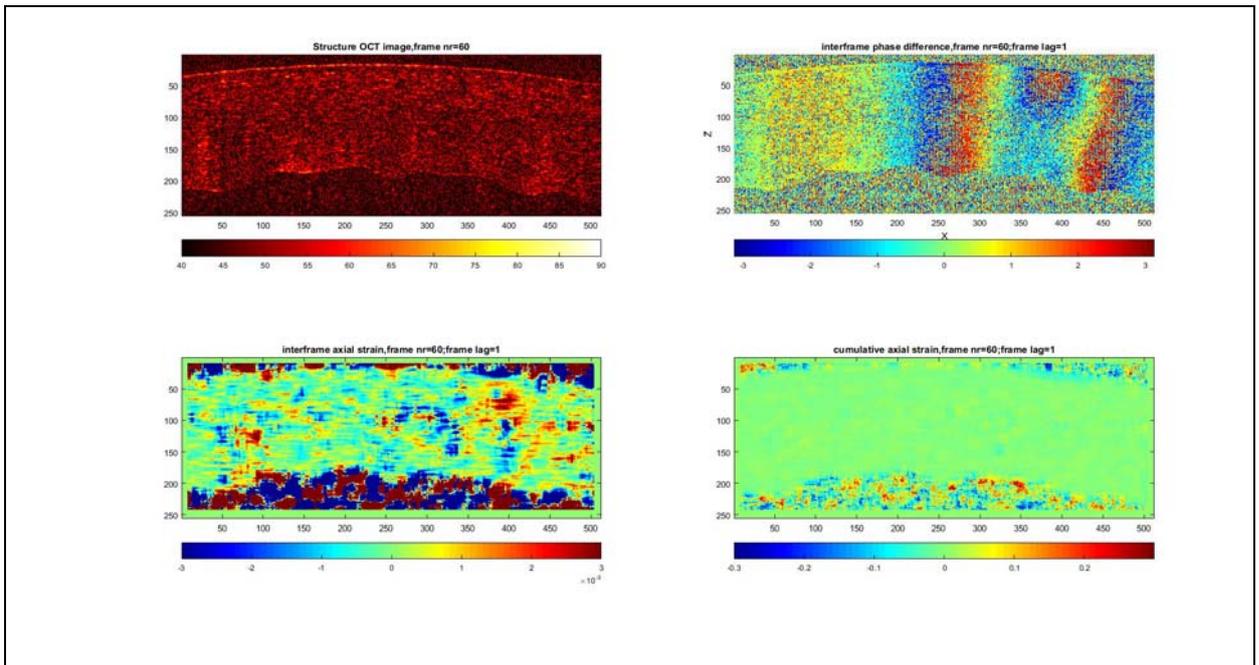


Рис. 30 Скан, удовлетворяющий критериям, необходимым для корректной оценки возникшей деформации

Диаграммы зависимости ширины характерной зоны микродеформации от ВГД для пяти опытных глаз показана показана на рис 31–35

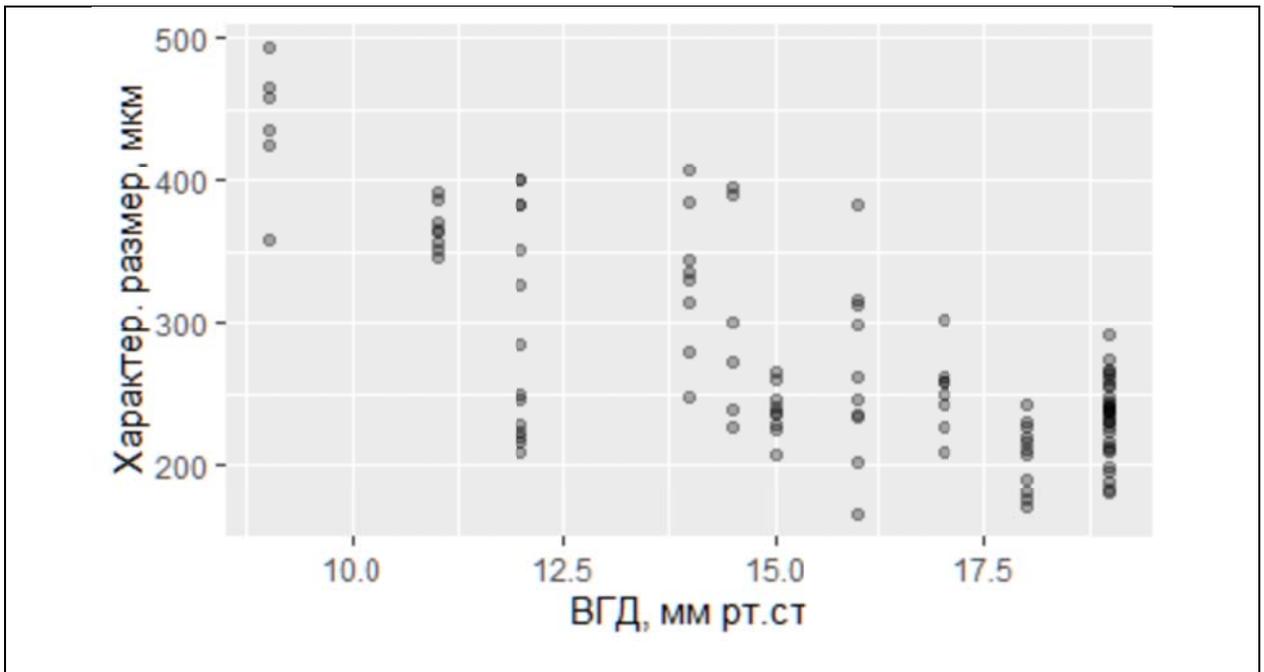


Рис. 31 График распределения деформаций в зависимости от уровня ВГД в глазу №1

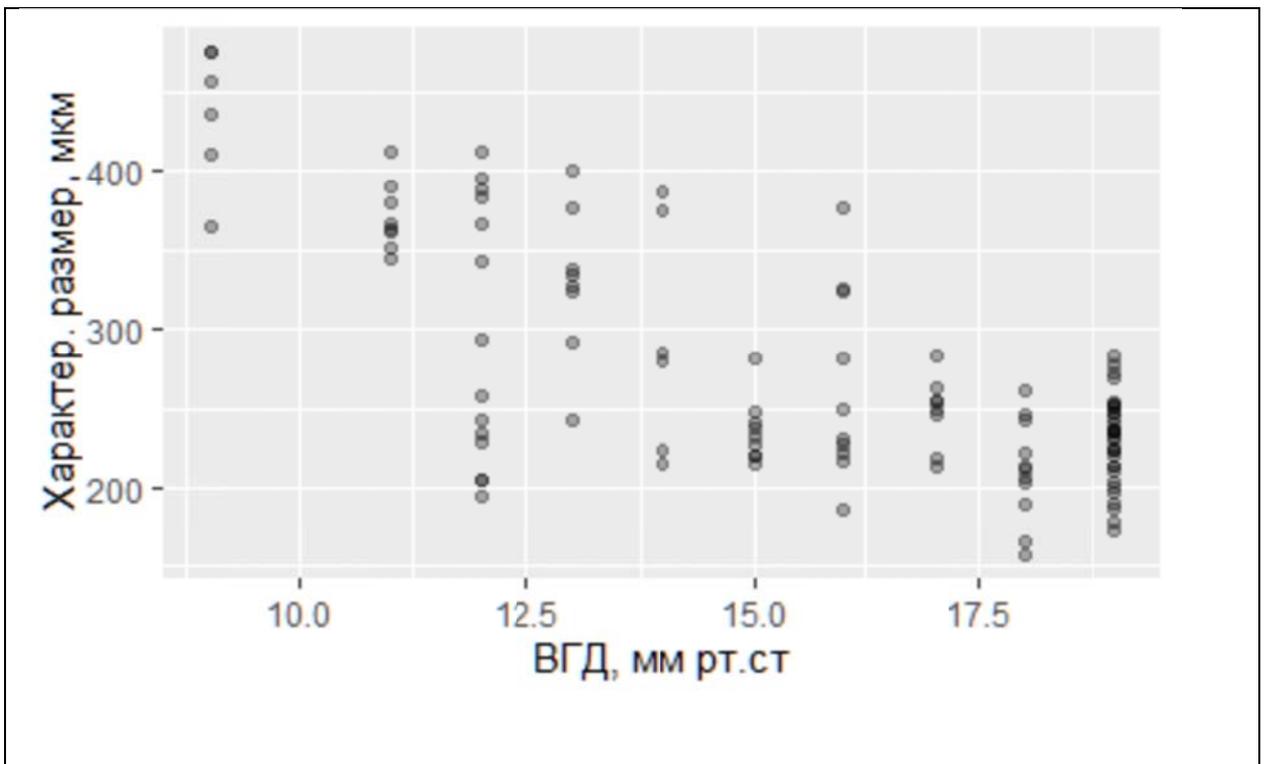


Рис. 31 График распределения деформаций в зависимости от уровня ВГД в глазу №2

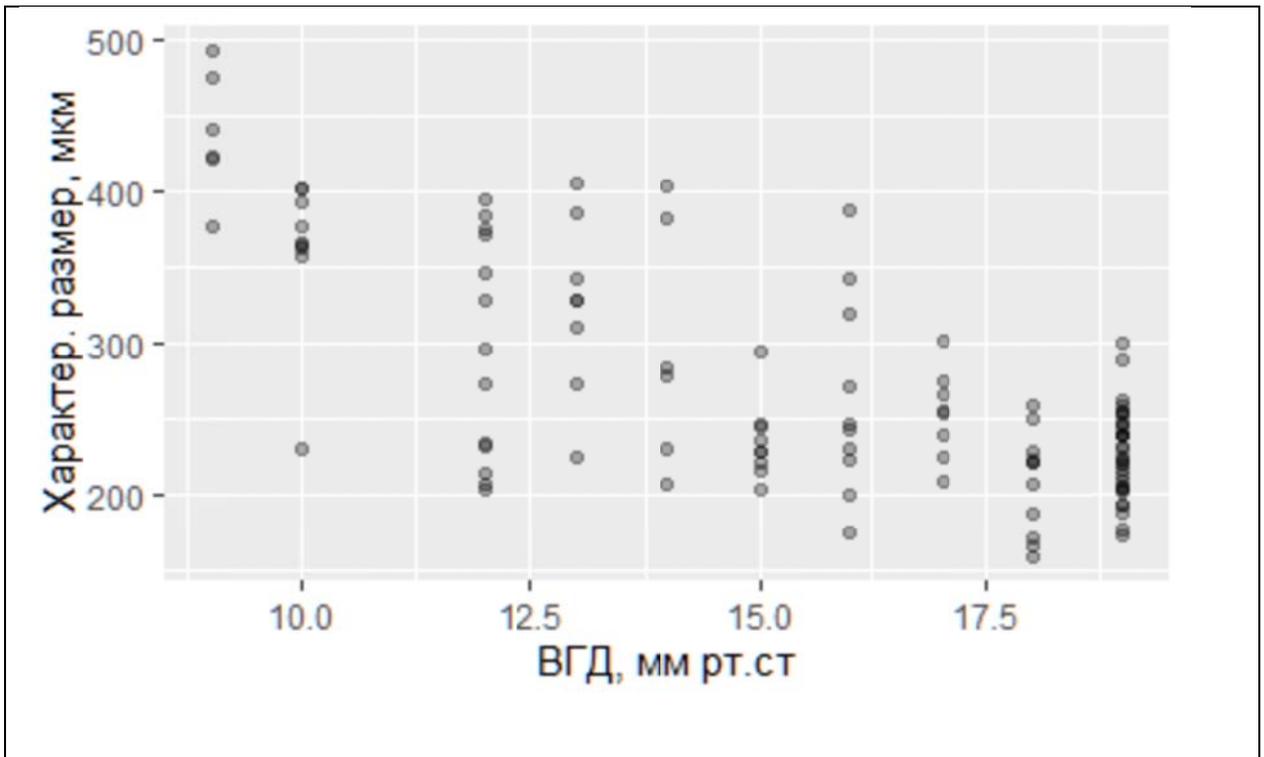


Рис. 31 График распределения деформаций в зависимости от уровня ВГД в глазу №3

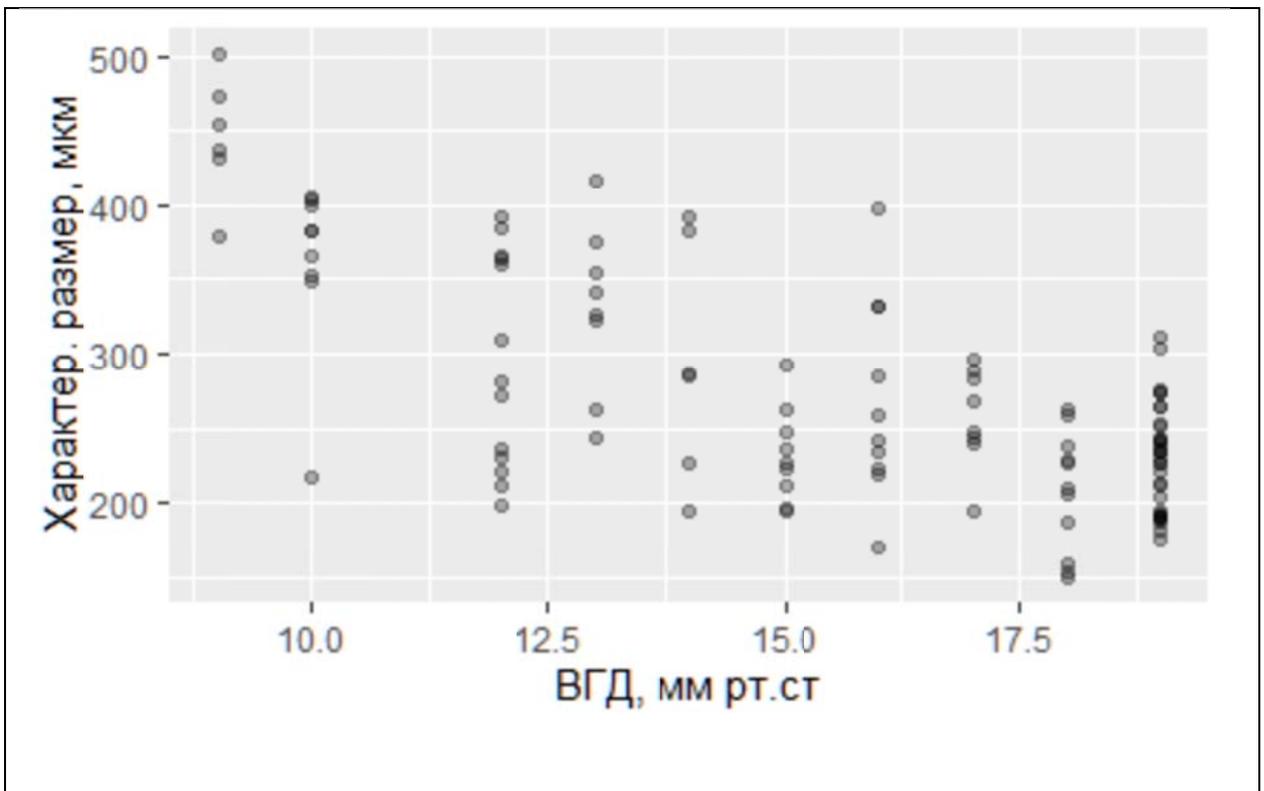


Рис. 31 График распределения деформаций в зависимости от уровня ВГД в глазу №4

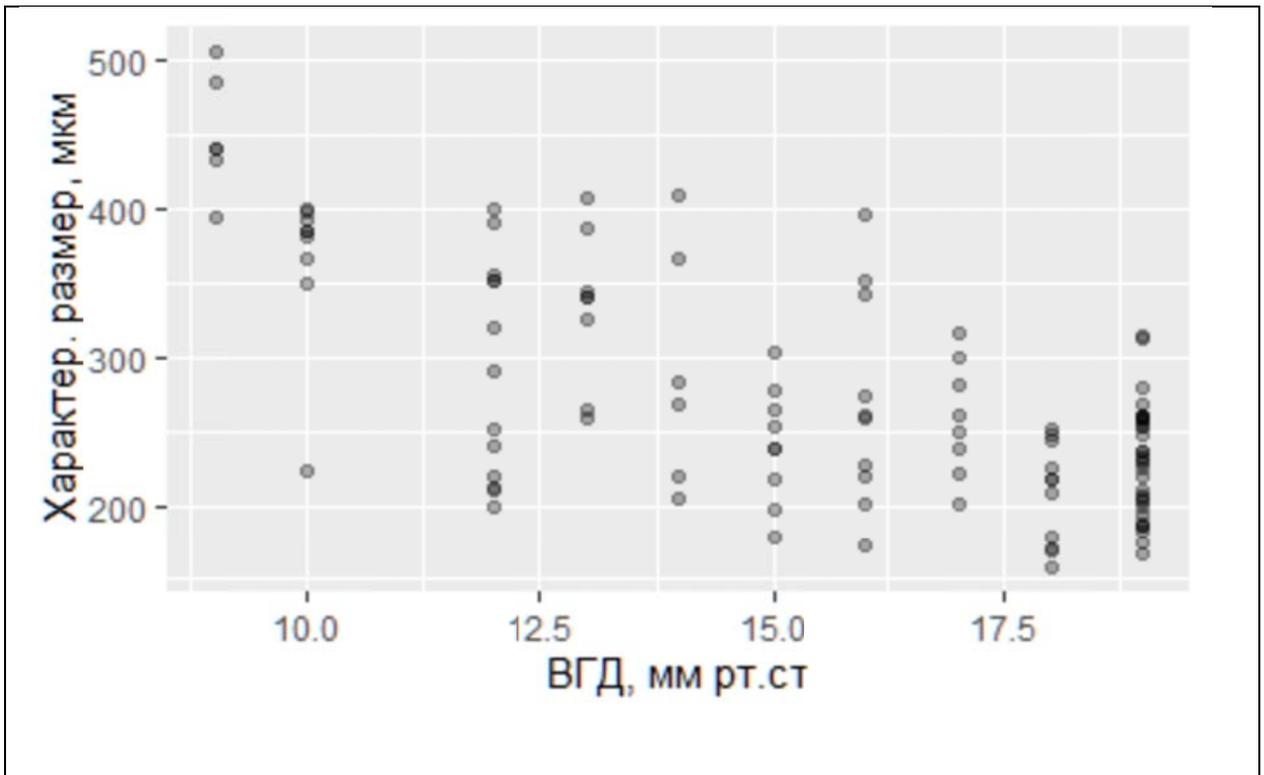


Рис. 31 График распределения деформаций в зависимости от уровня ВГД в глазу №5

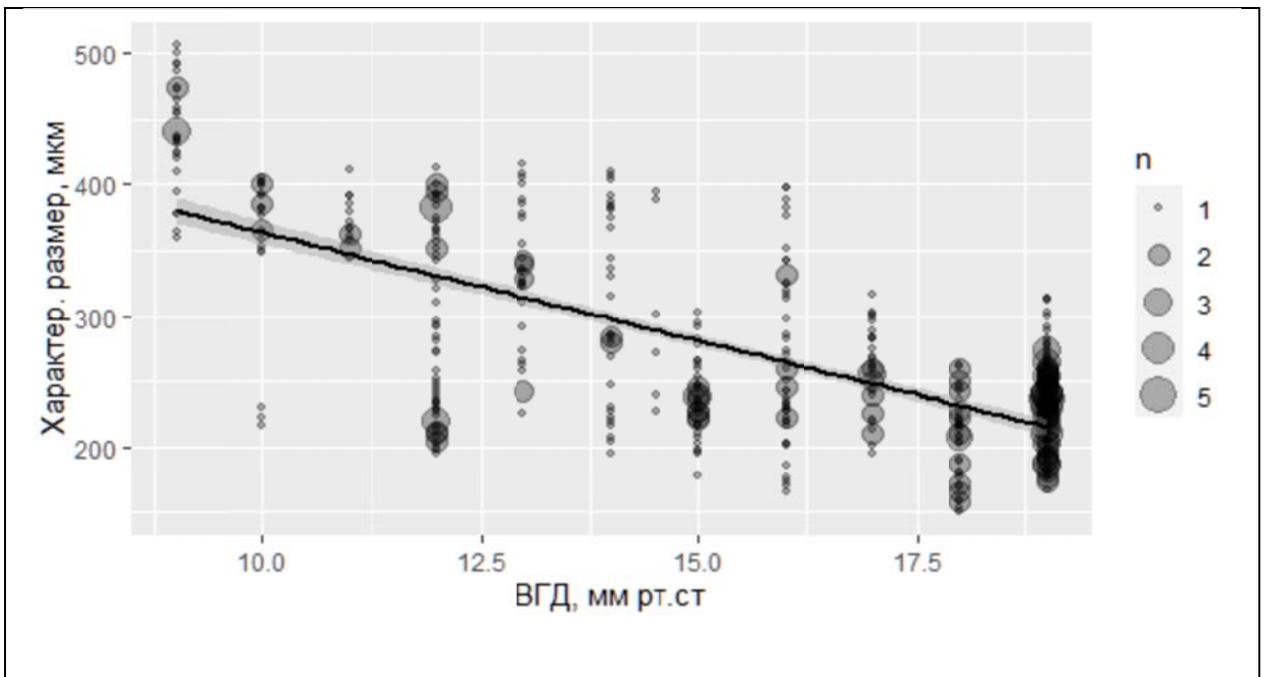


Рис. 36 Суммарная диаграмма по всем 5-ти глазам. Размер отметки отражает количество одинаковых точек с этими параметрами. Показана линия тренда, построенного по линейной модели.

Коэффициент корреляции между уровнем ВГД и характеристическим размером микродеформации, индуцированной лазерным импульсом составил  $-0,7096$  ( $p < 0,0001$ ). 95% доверительный интервал коэффициента корреляции от  $-0,748$  до  $-0,665$ .

Полученные данные показывают значительную отрицательную корреляционную связь между уровнем ВГД и характеристическим размером лазериндуцированной микродеформации (чем больше было ВГД, тем меньший наблюдался размер микродеформации).

Несмотря на то, что в эксперименте механическое напряжение роговицы не измерялось напрямую, и получить значение модуля Юнга ткани роговицы не представляется возможным, полученные результаты показывают, что ФОКЭ чувствительна к изменению ВГД, от которого оно напрямую зависит.

Возможности методики по оценке деформации в различных зонах роговицы и при различном ВГД показывают перспективность методики для оценки биомеханических параметров роговичной ткани. А выявленная сильная корреляционная связь между ВГД (меняющей напряжение роговичной ткани) и размером лазериндуцированных микродеформаций, показывает, что данные измерения достаточно повторяемы и надежны для возможного в будущем прикладного применения.

### **3.2. Оптическая когерентная эластометрия (ОКЭ)**

В исследовании по изучению возможностей ОКЭ исследовали 20 глаз (10 кроликов). В двух случаях провести исследование не удалось из-за проблем с подготовкой экспериментальных образцов. Были нарушены условия хранения образцов, что привело к помутнению и отеку роговицы. Эти глаза были исключены из исследования в связи с невозможностью адекватного их интубирования и проведения измерений.

Пример вычисления радиуса кривизны роговицы на оптическом срезе показан на рис. 37. В процессе измерения разработанная для этих целей программа по трем точкам передней поверхности роговицы строила окружность и вычисляла радиус ее кривизны. Достоверность вычислений проверялась визуально по совпадению нарисованной окружности с поверхностью роговицы. Кроме того на каждом срезе проводили измерение толщины роговицы и измеряли сдвиг передней поверхности роговицы при повышении давления внутри глаза.

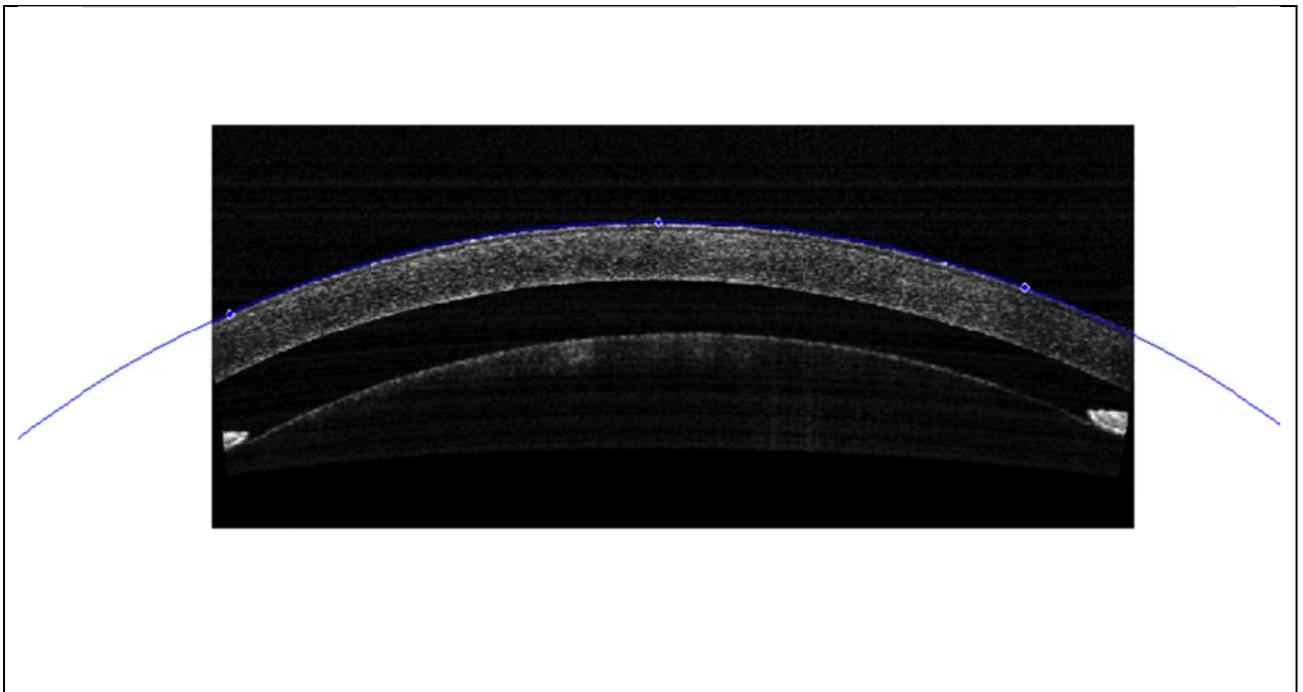


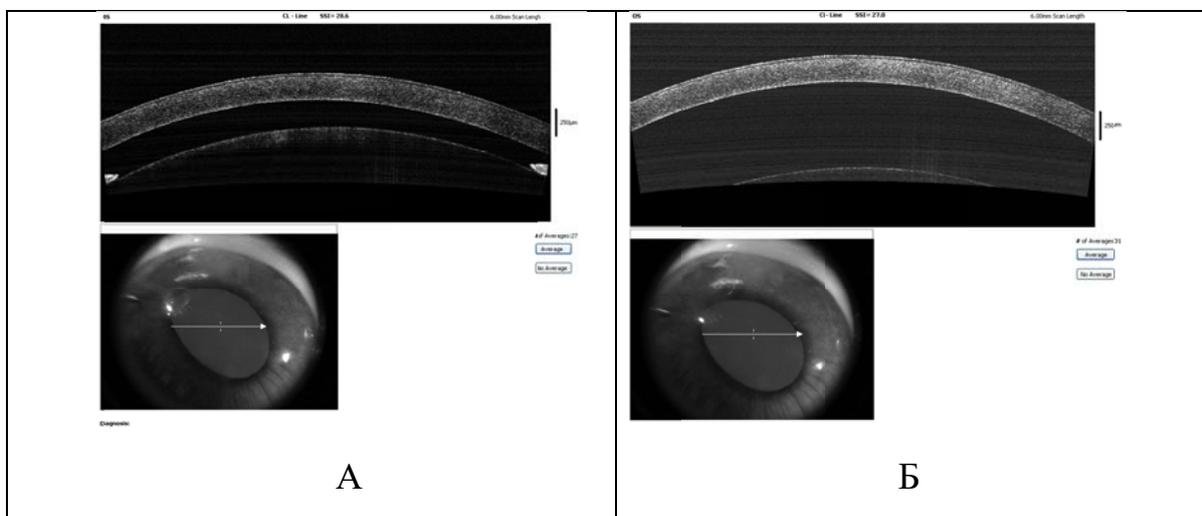
Рис. 37 Пример вычисления радиуса кривизны роговицы. На скане поставлены три точки, которые являлись ориентирами для построения кривой.

В таблице 3 представлены средние значения и среднеквадратичные отклонения полученных радиусов кривизны роговицы в зависимости от ВГД

Таблица 3 Средние значения кривизны роговицы опытных глаз при разном ВГД.

ВГД (мм рт.ст.)	Среднее значение радиуса кривизны (М) мкм.	Среднеквадратичное отклонение ( $\sigma$ ), мкм.
0	6338	184,19
10	6677,2	206,6
20	6811,12	194,63
30	6905,1	114,61
40	6877,7	196,1

При проведении исследования было зарегистрировано увеличение глубины передней камеры и видимого размера зрачка во время роста ВГД, контролируемого через иглу, введенную в переднюю камеру (см. рис 38). Также наблюдали изменение положения передней поверхности роговицы (сдвиг ее вперед при повышении ВГД). В таблице 4 представлены значения сдвига роговицы от начального положения (при нулевом давлении) в зависимости от ВГД.



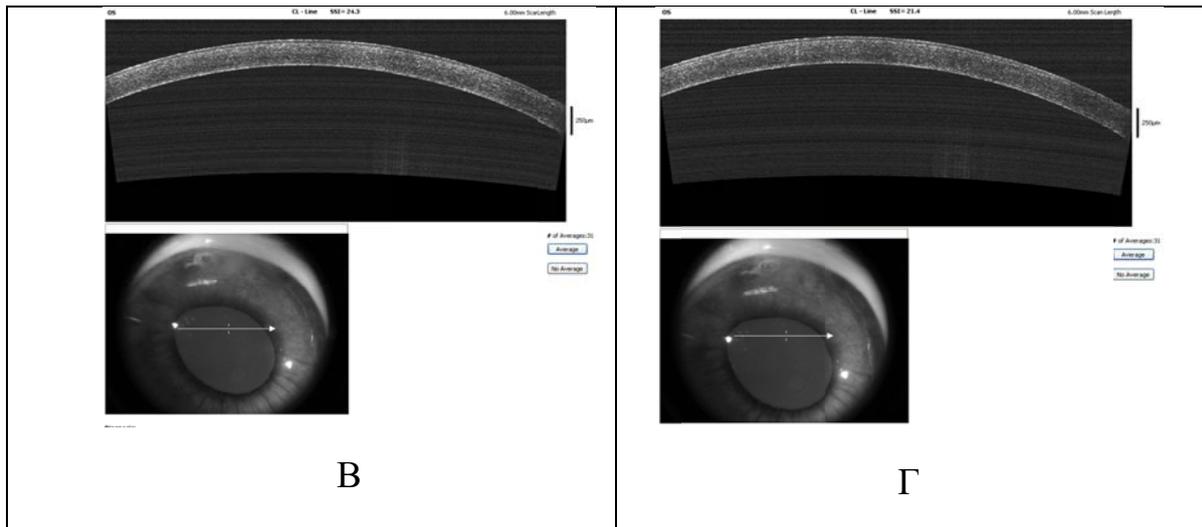


Рис. 38 Сканы, полученные в ходе выполнения ОКЭ. На изображениях визуализируется увеличение глубины передней камеры и зрачка.

А – ВГД = 10 мм рт.ст.

Б – ВГД = 20 мм рт.ст.

В – ВГД = 30 мм рт.ст.

Г – ВГД = 40 мм рт.ст.

Таблица 4 Средние значения сдвига передней поверхности роговицы вперед, в зависимости от ВГД

ВГД (мм рт.ст.)	Среднее значение	
	переднего смещения (М) мкм.	Среднеквадратичное отклонение ( $\sigma$ ), мкм.
10	274,2	71,2
20	483,1	133,6
30	643,6	82,7
40	745,9	55,6

На рис. 39 представлена диаграмма зависимости радиуса кривизны роговицы от ВГД.

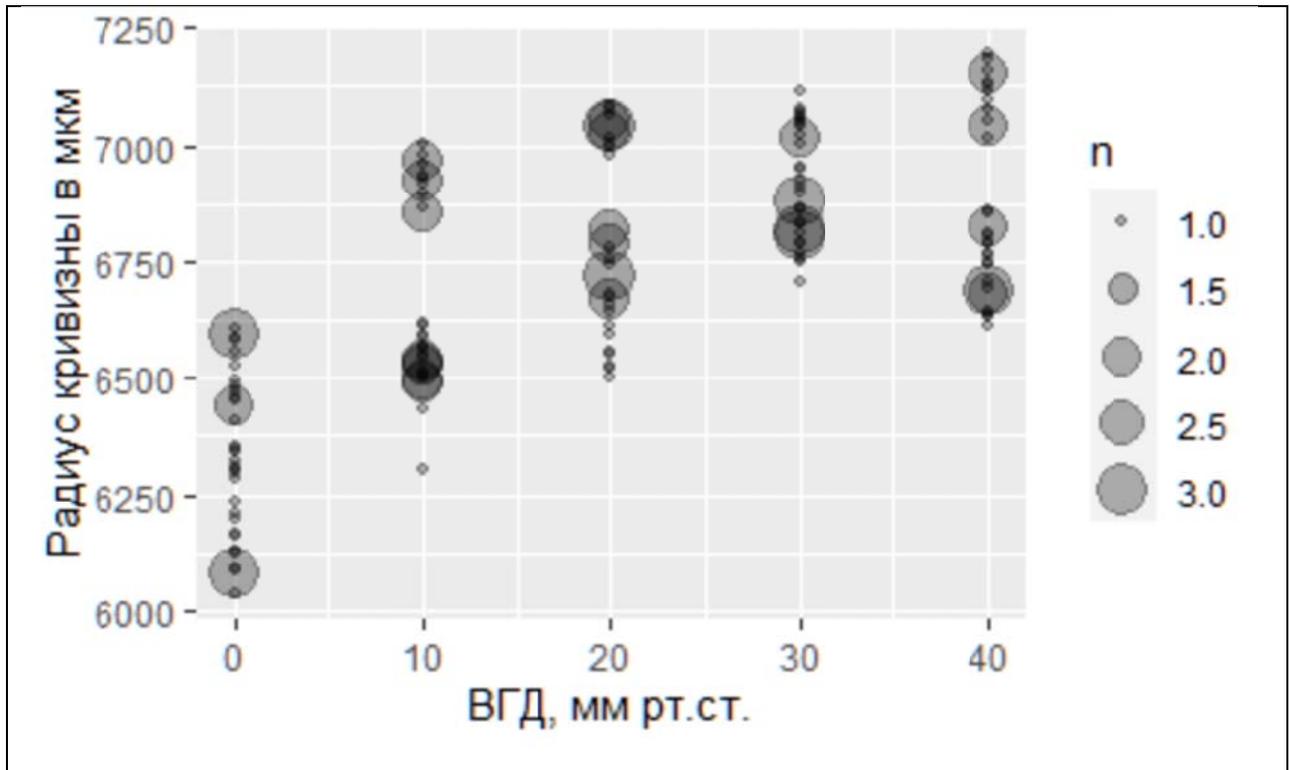


Рис. 39 Зависимость радиуса кривизны роговицы от уровня ВГД

На рис. 40 представлена диаграмма зависимости смещения передней поверхности роговицы от ВГД.

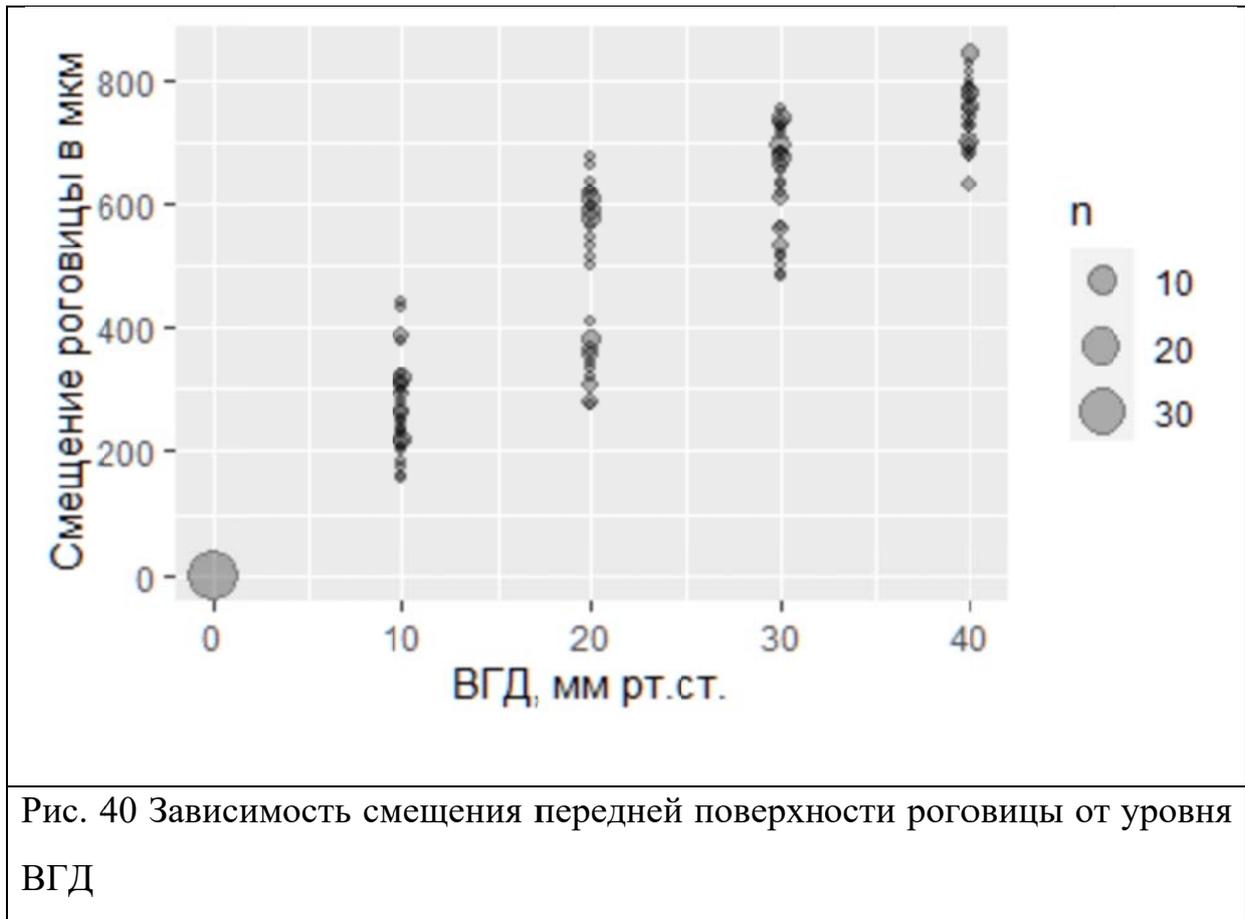


Рис. 40 Зависимость смещения передней поверхности роговицы от уровня ВГД

Коэффициент корреляции между уровнем ВГД и кривизной роговицы составил 0,673 ( $p < 0,0001$ ). 95% доверительный интервал коэффициента корреляции от 0,585 до 0,745.

Коэффициент корреляции между уровнем ВГД и изменением положения вершины роговицы составил 0,943 ( $p < 0,0001$ ). 95% доверительный интервал коэффициента корреляции от 0,924 до 0,957.

### 3.3. Динамометрические измерения и их сравнение с результатами ОКЭ

После проведения ОКЭ производили выделение роговицы из экспериментального глаза. Затем, на силиконовой подложке в вертикальном направлении высекали три линейных образца роговицы шириной 1,25 мм,

проходящих через ее центр. Образцы зажимались в держателях экспериментальной динамометрической установки, на которой проводили их контролируемое растяжение с контролем прикладываемого усилия. По полученным данным строился график напряжение-деформация. Модуль Юнга рассчитывался при значении линейной деформации, равной 5%.

Для сравнения модуля Юнга, полученного прямыми динамометрическими измерениями, и величины, рассчитанной на основании ОКЭ, строили диаграмму рассеяния данных и рассчитывали коэффициент линейной корреляции по Пирсону.

Пример графика напряжение – деформация, полученного на экспериментальной установке показан на рис. 41

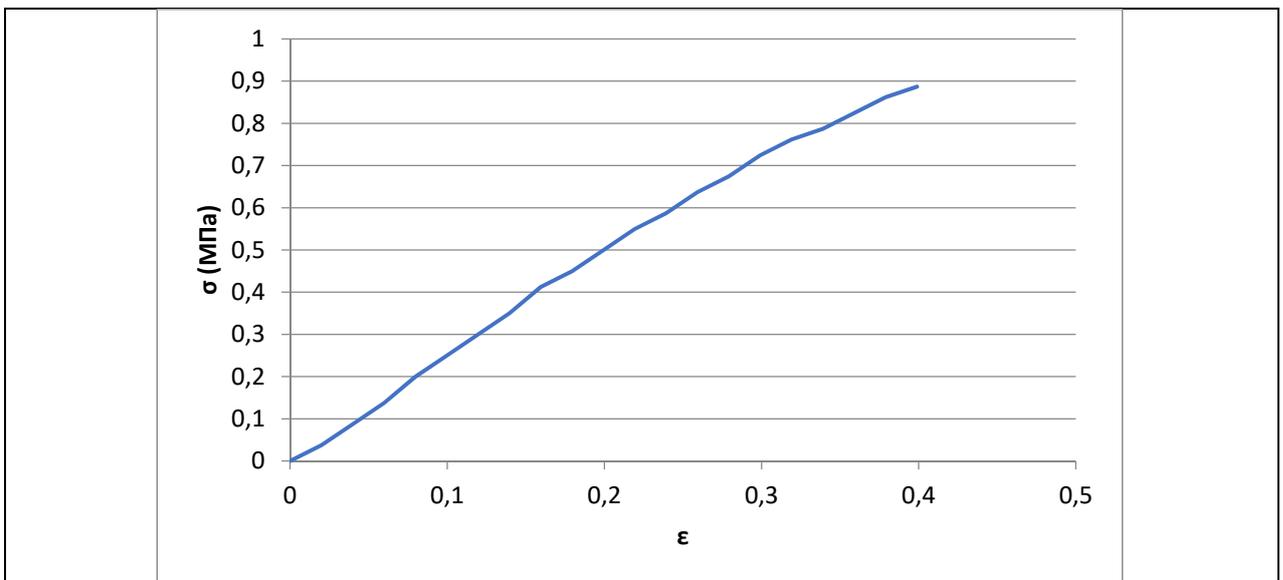


Рис. 41 Пример графика напряжение – деформация, полученного на экспериментальной установке

Пример таблицы полученных в результате единичного измерения данных и расчёт модуля Юнга показан в таблице 5

**Таблица 5. Пример результатов динамометрических измерений**

Сдвиг (мкм)	Усилие(гр)	$\sigma$ (МПа) Напряж.	$\epsilon$ (отн удл)	$E=\sigma/\epsilon$ (Мпа)
0	0	0	0	
100	3	0,03747144	0,019953846	1,877905618
200	7	0,08743336	0,039892308	2,191734813
300	11	0,137395279	0,059830769	2,296398342
400	16	0,199847679	0,079753846	2,50580616
500	20	0,249809599	0,099692308	2,50580616
600	24	0,299771518	0,119630769	2,50580616
700	28	0,349733438	0,139569231	2,50580616
800	33	0,412185838	0,159492308	2,584361865
900	36	0,449657278	0,179446154	2,50580616
1000	40	0,499619197	0,199384615	2,50580616
1100	44	0,549581117	0,219323077	2,50580616
1200	47	0,587052557	0,239276923	2,453444107
1300	51	0,637014477	0,259215385	2,457471718
1400	54	0,674485916	0,279169231	2,416046763
1500	58	0,724447836	0,299107692	2,422030108
1600	61	0,761919276	0,319061538	2,38800101
1700	63	0,786900236	0,339030769	2,321028966
1800	66	0,824371676	0,358984615	2,296398342
1900	69	0,861843115	0,378938462	2,274361679
2000	71	0,886824075	0,398907692	2,223131046

Поскольку зависимость напряжения от деформации образца менялась нелинейно, а при высоких деформациях наблюдались явления релаксации напряжения, для последующих измерений брали модуль Юнга, полученный при 5% ( $\epsilon=0,05$ ) линейной деформации образца (или среднее от двух ближайших значений). Так в приведенном примере модуль Юнга был определен как 2,244.

Из 18 роговиц успешно получилось выделить 37 линейных образцов роговицы для динамометрических измерений (в среднем по 2 удачных образца из одной роговицы).

Среднее значение модуля Юнга образцов составило 0,85 МПа., среднеквадратичное отклонение 0,367 МПа.

Оценка модуля Юнга по данным ОКЭ проводилась по формуле:

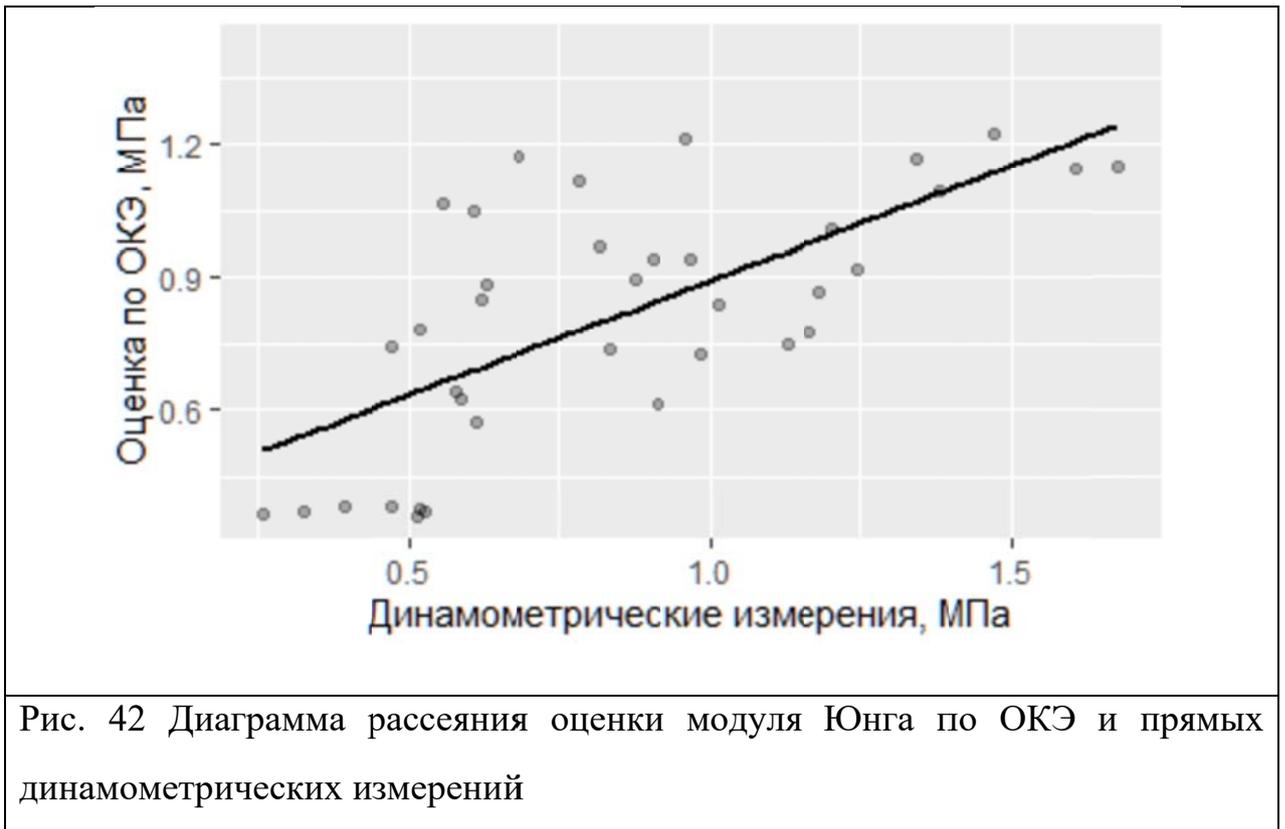
$$\frac{PR^2}{2t \Delta R}$$

где P – максимальное ВГД, применявшееся в эксперименте (40 мм рт.ст. = 5333,28 Па), R – радиус кривизны роговицы, измеренный при данном ВГД,  $\Delta R$  – изменение кривизны роговицы относительно исходного (нулевого) значения, t – толщина роговицы.

Средняя оценка модуля Юнга по данным ОКЭ составила 0,812 МПа., среднеквадратичное отклонение 0,277 МПа.

Исследование корреляции оценки модуля Юнга с помощью ОКЭ с прямыми динамометрическими измерениями показал наличие между ними положительной корреляции средней силы. Коэффициент корреляции по Пирсону составил 0,683 ( $p=3,179e-06$ ), доверительный 95% интервал от 0,461 до 0,824.

На рис. 42 представлена диаграмма рассеяния оценки модуля Юнга по ОКЭ и прямых динамометрических измерений.



На основании полученных данных методом наименьших квадратов построена одномерная регрессионная модель для определения модуля Юнга по данным ОКЭ.

$$E = 0,11 + 0,903 \frac{PR^2}{2t \Delta R}$$

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Несмотря на то, что в экспериментах с использованием установки ФОКЭ механическое напряжение роговицы не измерялось напрямую, оно зависело от контролируемого внутриглазного давления. Значительная достоверная отрицательная корреляция между внутриглазным давлением и регистрируемым характеристическим размером лазериндуцированной микродеформации роговицы показывает принципиальную возможность регистрации механического напряжения роговицы и других биомеханических ее характеристик в малой окрестности вокруг зоны лазерного нагрева. Методика ФОКЭ может быть потенциально использована для картирования биомеханических свойств роговицы.

В исследовании, основанном на применении установки ОКЭ, нам удалось выявить взаимосвязь между изменением внутриглазного давления, изменением положения передней поверхности роговицы и ее кривизной.

Важно отметить, что глубина передней камеры также изменялась при изменении ВГД. Данный факт можно объяснить притоком в переднюю камеру жидкости из инфузионной системы, контролирующей уровень давления. Это косвенным образом характеризует изменение объема экспериментального глаза при изменении давления в нем. Используемый в эксперименте метод, не позволили точно зарегистрировать величину этого показателя.

Следует также отметить, что все изменения, возникающие в исследуемом образце, изучались в режиме реального времени. Это позволило лучше контролировать процесс проведения эксперимента, а также оценивать состояние роговицы, что в данном случае является необходимым условием для корректности итоговой оценки результатов, поскольку, как удалось выявить по ходу проведения исследования, состояние роговицы также влияло на время ответа глаза на изменение ВГД. Именно этот фактор заставил вывести некоторые образцы из исследования.

В динамометрическом исследовании перед нами стояла другая задача. Целью проведения данного исследования являлось прямое измерение модуля Юнга образцов роговицы на растяжение. В ходе проведения данного исследования, образцы ткани подвергались постепенному равномерному растяжению на экспериментальной установке, предназначенной для проведения динамометрических измерений. В результате полученных значений напряжения роговицы был построен график «напряжение-деформация». В данном исследовании был рассчитан модуль Юнга для каждого конкретного образца роговицы при постепенном и равномерном растяжении.

Поскольку прямые динамометрические измерения и методика ОКЭ были проведены на одних и тех же экспериментальных образцах, нами была изучена корреляция между оценками модуля Юнга роговицы, полученными в обоих случаях. Экспериментально показана хорошая корреляция косвенных измерений методом ОКЭ и прямых динамометрических измерений.

Все существующие в настоящий момент методики оценки биомеханических свойств биологических тканей требуют наличия какого-либо механического на нее воздействия с последующей оценкой деформационного ответа. Так применяемые сегодня в клинике приборы Ocular Response Analyzer, Corvis-ST и их аналоги регистрируют ответ роговицы на калиброванную воздушную струю, воздействующую на достаточно большой участок, что не позволяет оценить локальные свойства ткани. Комбинация прецизионного механического действия лазерного нагрева ткани и чувствительной методики регистрации вызванной микродеформации с помощью фазочувствительной когерентной эластографии может позволить получать данные о биомеханических свойствах роговичной ткани в небольших ее участках. В то же время ОСТ регистрация ответа роговицы на изменение внутриглазного давления (как

альтернативного способа воздействия), показало себя хорошим методом измерения модуля Юнга (жесткости) роговицы.

Экспериментальное изучение двух различных методик оптической когерентной эластометрии показало возможность их применения для оценки биомеханических свойств роговицы.

## ВЫВОДЫ

1. Исследование фазово-чувствительной оптической когерентной эластометрии, с использованием лазерного излучения в качестве индуктора деформации, показало возможность использования данного метода для неразрушающей локальной оценки биомеханических свойств роговицы. Выявлена высокая обратная корреляционная связь (коэффициент корреляции  $-0,7$ ;  $p < 0,0001$ ) между регулируемым ВГД (механическим напряжением роговицы) и диаметром лазериндуцированной микродеформации.
2. Изучение оптической когерентной эластометрии, с использованием в качестве индуктора деформаций контролируемое в эксперименте внутриглазное давление, показало принципиальную возможность использования этого метода для оценки интегральных биомеханических показателей роговицы. Методика позволила зарегистрировать зависимость кривизны роговицы от внутриглазного давления (коэффициент корреляции в эксперименте составил  $0,673$ ,  $p < 0,0001$ ). Показана возможность пересчета изменения кривизны роговицы в тангенциальный модуль Юнга.
3. Разработана методика подготовки образцов роговицы к динамометрическому исследованию. Проведена серия динамометрических измерений роговиц, ранее исследованных с помощью оптической когерентной эластометрии. Получены графики напряжение-деформация для исследованных образцов. Получены модули Юнга на растяжение исследованных образцов. В среднем он составил  $0,85$  мПа.
4. Выявлена корреляционная связь средней силы между модулями Юнга, полученными с помощью оптической когерентной эластографии и прямым

измерением с помощью динамометрической установки. Коэффициент корреляции по Пирсону составил 0,683 ( $p < 0,0001$ ).

5. Разработаны практические рекомендации по подготовке роговичных образцов для проведения динамометрических исследований. Разработана методика подготовки образцов и проведения оптической когерентной эластометрии роговицы.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На всех этапах подготовки, хранения транспортировки и проведения динамометрических измерений необходимо соблюдать температурный режим и постоянное увлажнение роговицы, в противном случае высыхание и денатурация структурных белков роговицы может значительно изменить ее биомеханические характеристики.

2. Предварительно энуклеированные глаза, перед выделением лоскутов роговицы, могут храниться и транспортироваться в увлажненном состоянии в герметичном контейнере с физиологическим раствором не более 2-х суток при температуре от +4 до +10 градусов Цельсия. Более длительное хранение приводит к значительным изменениям биомеханических показателей роговицы.

3. . Для высечения стандартных образцов роговицы хорошо себя зарекомендовало устройство состоящее из двух микротомных лезвий, разделенных стальной пластинкой из прецизионного набора для измерения ширины зазоров. Данный пакет, после зажатия в микротисках, обеспечивает стандартную ширину высекаемого образца роговицы. При необходимости получения образца другой ширины, измерительная пластинка может быть заменена на аналогичную другой толщины. Выделенная роговица с отмеченным вертикальным меридианом помещается наружной поверхностью на подложку из силиконовой резины средней плотности. Высекание роговичного лоскута необходимой ориентации производится однократным вертикальным нажимом лезвий на внутреннюю поверхность роговицы. Процедура должна быть проведена по возможности оперативно, для предотвращения высыхания ткани. Высеченный лоскут может

храниться в чашке Петри в полностью погруженном в физиологический раствор состоянии не более часа.

4. Высеченный образец роговицы помещается в зажимы динамометрического устройства и выравнивается без натяжения с помощью винта грубой настройки. В этом состоянии производится уточнение геометрических параметров образца (ширина, толщина и длина) оптическими методами или прямым измерением с помощью штангенциркуля.

5. С помощью микрометрического винта с шагом 50-100 микрон изменяется расстояние между зажимами, при этом производится фиксация прилагаемого усилия.

6. После каждого движения микрометрического винта производится увлажнение лоскута физиологическим раствором для контроля его гидратации.

7. На основании полученных данных строится график напряжение-деформация. Модуль Юнга рассчитывается в точке 5% удлинения образца.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисов К.С., Бахчиева Н.А., Аветисов С.Э., Новиков И.А., Беликов Н.В., Хайдукова И.В. Биомеханические показатели передней капсулы хрусталика после мануальной и фемтолазерной капсулотомии. // Вестник офтальмологии – 2019 – 135 – №1. – С. 4-11.
2. Аветисов К.С., Бахчиева Н.А., Аветисов С.Э., Новиков И.А., Головченко А.В., Шитикова А.В. Атомно-силовая микроскопия в исследовании структур переднего сегмента глаза. // Вестник офтальмологии – 2020 – 136 – №1 – С. 103-110.
3. Аветисов К.С., Бахчиева Н.А., Фролова А.А., Югай Н.М. Возможности атомно-силовой микроскопии в изучении биомеханики капсулы хрусталика. // Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области – 2018 – 3 – №22 – С. 4-10
4. Аветисов С.Э. Возможности и перспективы изучения биомеханических свойств роговицы. // Российские медицинские вести – 2011 – 16 – №1 – С. 94-96.
5. Аветисов С.Э., Антонов А.А., Вострухин С.В. Прогрессирующая гиперметропия после радиальной кератотомии: возможные причины. // Вестник офтальмологии – 2015 – 131 – №2 – С. 13-18.
6. Аветисов С.Э., Большунов А.В., Хомчик О.В., Фёдоров А.А., Сипливый В.И., Баум О.И., Омельченко А.И., Щербаков Е.М., Панченко В.Я., Соболев Э.Н. Лазериндуцированное повышение гидропроницаемости склеры в лечении резистентных форм открытоугольной глаукомы. // Национальный журнал глаукома – 2015 – 14 – №2 – С. 5-13.
7. Аветисов С.Э., Бубнова И.А., Антонов А.А. Биомеханические свойства роговицы: клиническое значение, методы исследования, возможности

- систематизации подходов к изучению. // Вестник офтальмологии – 2010 – 126 – №6 – С. 3-7.
8. Аветисов С.Э., Бубнова И.А., Антонов А.А. Исследование влияния биомеханических свойств роговицы на показатели тонометрии. // Сибирский научный медицинский журнал – 2009 – №4 – С. 30-33.
9. Аветисов С.Э., Бубнова И.А., Антонов А.А. Клинико-экспериментальные аспекты изучения биомеханических свойств фиброзной оболочки глаза. // Вестник Офтальмологии. – 2013 – 129 – №5 – С. 83-91.
10. Аветисов С.Э., Бубнова И.А., Петров С.Ю., Антонов А.А. Значение фактора резистентности роговицы в трактовке результатов тонометрии. // Национальный журнал глаукома – 2012;(1):12-15.
11. Аветисов С.Э., Воронин Г.В. Экспериментальное исследование механических характеристик роговицы после эксимерлазерной фотоабляции. // Клиническая офтальмология – 2001 – 3 – С. 83.
12. Аветисов С.Э., Егорова Г.Б., Кобзова М.В., Митичкина Т.С., Рогова А.Я. Клиническое значение современных методов исследования роговицы. // Вестник офтальмологии. – 2013 – 129 – №5 – С. 22-31.
13. Антонов А.А. Значение биомеханических свойств фиброзной оболочки глаза в диагностике и мониторинге глаукомы: автореферат дис. ...канд. мед. наук 14.01.07/ Антонов А.А. – Москва, 2011 – 25 с.
14. Бубнова И. А. Асатрян С.В. Биомеханические свойства роговицы и показатели тонометрии // Вестник офтальмологии – 2019 – 135 – №4 – С. 27-32.
15. Волков В.В., Журавлев А.И., Малышев Л.К., Саулгозис Ю.Ж., Некрасов Ю.Д., Павилайнен В.Я. Современное состояние и перспективы применения метода фотоупругости в офтальмологии. // Офтальмологический журнал – 1990 – 8 – С. 479-482.

16. Волкова Л. П., Федорова В. Н., Волков А. В., Фаустова Е. Е., Андрианова Е. В. Акустическая биометрия в исследовании биомеханики зрительного анализатора // Российский журнал биомеханики – 2006 – 2 – С. 50-57
17. Волкова Н.В., Юрьева Т.Н., Швец Л.В., Михалевич И.М. Корреляции и поправочные коэффициенты при различных видах тонометрии. Сообщение 1 // Национальный журнал Глаукома – 2015 – 3 – С. 11-18.
18. Волкова Н.В., Юрьева Т.Н., Грищук А.С., Михалевич И.М. Корреляции и поправочные коэффициенты при различных видах тонометрии. Биомеханика и биогеометрия фиброзной оболочки глаза. Сообщение 2 // Национальный журнал Глаукома – 2016 – 1 – С. 37-45.
19. Воробьева О.К., Разумова И.Ю., Амбарцумян А.Р. Дифференциальная диагностика и лечение эписклеритов и склеритов. // Вестник офтальмологии – 2009 – 2 – С. 14-17.
20. Воронин Г. В., Бубнова И. А. Изменения биомеханических свойств роговицы после кераторефракционных вмешательств // Вестник офтальмологии – 2019 – 4 – С. 108-112.
21. Иомдина Е.Н., Бауэр С.М., Котляр К.Е. Биомеханика глаза: теоретические аспекты и клинические приложения // М.: Реал тайм – 2015.
22. Иомдина Е.Н., Петров С.Ю., Антонов А.А., Новиков И.А., Пахомова И.А., Арчаков А.Ю. Корнеосклеральная оболочка глаза: возможности оценки биомеханических свойств в норме и при патологии // Офтальмология – 2016 – 2 – С. 62-68.
23. Петров С.Ю., Асламазова А.Э., Рещикова В.С., Вострухин С.В., Агаджанян Т.М. Перспективы практического применения биомеханических исследований в офтальмологии // РМЖ. Клиническая офтальмология – 2016 – 1 – С. 43-47.

- 24.Петров С.Ю., Подгорная Н.Н., Асламазова А.Э., Сафонова Д.М. Биомеханические исследования радужной оболочки и трабекулярного аппарата // Офтальмологические ведомости – 2015 – 1 – С. 69-78
- 25.Полякова В.Р., Джаши Б.Г., Мелихова И.А. Исследование акустической плотности хрусталика по данным ультразвуковой биомикроскопии глаза // Практическая медицина. – 2016 – 6 – С. 134-136.
- 26.Попов А.Ю., Тюрин А.В., Гоцульский В.Я., Ткаченко В.Г., Чечко В.Е., Римашевский А.А., Фунск Т.А., Скринник А.В., Попова Н.А., Джуртубаева Г.Н. Перспективы применения голографических методов в медицине // Новости медицины и фармации – г. Одесса – 2006 – 1 – 363 – С. 99-106.
- 27.Розанова О.И., Селиверстова Н.Н., Щуко А.Г., Малышев В.В. Закономерности структурно-функциональных изменений зрительной системы у пациентов с миопической рефракцией при развитии пресбиопии // Вестник офтальмологии – 2013 – 2 – С. 50-53.
- 28.Семчишен А.В., Семчишен В.А. Измерения фотоупругости роговицы глаза. Астигматизм и аномалии внутренних напряжений роговицы // Альманах клинической медицины – 2008 – 17 – 2 – С. 128-132.
- 29.Akdemir M. O., Acar B.T., Acar S. Biomechanics in DALK: Big bubble vs manual lamellar dissection // Arquivos Brasileiros de Oftalmologia – 2020 – 83 – 2 – P.87-91.
- 30.Alvani A., Hashemi H., Pakravan M., Mahbod M., Amanzadeh K., Seyedian M.A., Yaseri M., Jafarzadehpur E., Fotouhi A. Dynamic corneal biomechanics in different cell layers: in keratoconus and normal eyes // Ophthalmic & Physiological Optics – 2021 – 41 – 2 – P.414-423.
- 31.Ambekar Y.S., Singh M., Zhang J., Nair A., Aglyamov S.R., Scarcelli G., Larin K.V. Multimodal quantitative optical elastography of the crystalline lens with optical coherence elastography and Brillouin microscopy // Biomedical Optics Express 2020 – 11 – 4 – P. 2041-2051.

32. Atalay E., Özalp O., Erol M.A., Bilgin M., Yıldırım N.A. Combined Biomechanical and Tomographic Model for Identifying Cases of Subclinical Keratoconus // *Cornea* 2019 – 39 – 4 – P.461–467.
33. Avetisov S.E., Novikov I.A., Bubnova I.A., Antonov A.A., Siplivyi V.I. Determination of corneal elasticity coefficient using the ORA database // *Journal of Refractive Surgery*. 2010 – 26 – 7 – P.:520-524.
34. Bamdad S., Sedaghat M.R., Yasemi M., Maalagh M. Intracorneal Stromal Ring Can Affect the Biomechanics of Ectatic Cornea // *Journal of Ophthalmology* – 2020 – 1 – 6 – P. 4274037
35. Baum O.I., Omelchenko A.I., Yuzhakov A.V., Zaitsev V.Y., Sovetsky A.A., Matveev L.A., Sobol E.N. Thermo-mechanical mechanism of laser-induced pore-formation in sclera for glaucoma treatment: AFM and OCT investigations // *Biophotonics: Photonic Solutions for Better Health Care VI Proceedings paper SPIE* – 2018 – 10685 – P.106851T
36. Baum O.I., Sobol E.N., Bolshunov A.V., Fedorov A.A., Khomchik O.V., Omelchenko A.I., Shcherbakov E.M. Microstructural changes in sclera under thermo-mechanical effect of 1.56  $\mu\text{m}$  laser radiation increasing transscleral humour outflow // *Lasers in Surgery and Medicine* – 2014 – 46 – 1 – P.46-53.
37. Belaidi A., Pierscionek B.K. Modeling internal stress distributions in the human lens: can opponent theories coexist? // *Journal of vision* – 2007 – 7 – 11 – P.1-12.
38. Can M.E., Kızıltoprak H., Buluş A.D., Özkoyuncu D., Koç M., Özdemir Yıldız Z. Corneal Biomechanical Properties in Childhood Obesity // *Journal of Pediatric Ophthalmology & Strabismus* 2020 – 57 – 2 – P.103–107.
39. Cavas F., Piñero D., Velázquez J.S., Mira J., Alió J.L. Relationship between Corneal Morphogeometrical Properties and Biomechanical Parameters Derived from Dynamic Bidirectional Air Applanation Measurement Procedure in Keratoconus // *Diagnostics* 2020 – 10 – 9 – P.640.

40. Chen Y., Rong H., Liu W., Liu G., Du B., Jin C., Wei R. Agreement of Corrected Intraocular Pressure Values Between Corvis ST and Pentacam in Patients With Keratoconus, Subclinical Keratoconus, and Normal Cornea // *Cornea* 2021 – 40 – 11 P.1426-1432.
41. Dackowski E.K., Lopath P.D., Chuck R.S. Preoperative, intraoperative, and postoperative assessment of corneal biomechanics in refractive surgery // *Current Opinion in Ophthalmology* 2020 – 31 – 4 – P.234-240.
42. Desse J.M, Albe F., Tribillon J.L. Real-time color holographic interferometry. // *Applied Optics* 2002 – 41 – 25 – P.5326-5333.
43. De Stefano V.S., Ford M.R., Seven I., Dupps W.J. Live human assessment of depth-dependent corneal displacements with swept-source optical coherence elastography // *PLoS One* 2018 – 13 – 12 – P.e0209480.
44. Edris N., Arfeen S., Mosaad R., Nassar G. Evaluation of Corneal Biomechanical Parameters in Psoriasis Patients: A Controlled Study // *Clinical Ophthalmology* 2020 – 14 – P. 1833–1837.
45. Flockerzi E., Häfner L., Xanthopoulou K., Daas L., Munteanu C., Langenbacher A., Seitz B. Reliability analysis of successive Corneal Visualization Scheimpflug Technology measurements in different keratoconus stages // *Acta Ophthalmologica* 2022 – 100 – 1 – P.e83 – e90.
46. Ford M.R., Seven I., Dupps W.J., DeStefano V.S. In vivo measurements of normal, keratoconic, and post crosslinked keratoconic human cornea with optical coherence elastography // *Optical Elastography and Tissue Biomechanics VI Conference Presentation* 2019 – 108800X
47. Förster W., Stupp T., Kasprzak H. Holographic interferometry of excimer-laser-ablated bovine eyes: first results // *Ophthalmologica* 2003 – 217 – 1 – P.62-67.
48. Guo L-L., Tian L., Cao K., Li Y-X., Li N., Yang W-Q., Jie Y. Comparison of the morphological and biomechanical characteristics of keratoconus, forme

- fruste keratoconus, and normal corneas // *Seminars in Ophthalmology* 2021 – 36 – 8 – P.671-678.
- 49.Hepburn M., Foo K., Wijesinghe P., Munro P., Chin L., Kennedy B. Speckle-dependent accuracy in phase-sensitive optical coherence tomography // *Optics Express* 2021 – 29 – 11 – P.16950-16968.
- 50.Hoeltzel D.A, Altman P., Buzard K., Choe K. Strip extensiometry for comparison of the mechanical response of bovine, rabbit and human corneas // *Journal of Biomechanical Engineering* 1992 – 114 – 2 – P.202-215.
- 51.Jabbarvand M., Moravvej Z., Shahraki K., Hashemian H., Ghasemi H., Berijani S., Amiri Z., Jamali A. Corneal biomechanical outcome of collagen cross-linking in keratoconic patients evaluated by Corvis ST // *European Journal of Ophthalmology* 2021 – 31 – 4 – P.1577-1583.
- 52.Jędzierowska M., Koprowski R. Novel dynamic corneal response parameters in a practice use: a critical review // *BioMedical Engineering OnLine* 2019 – 18 – 1 – P.17.
- 53.Kaushik S., Pandav S.S. Ocular Response Analyzer // *Journal of Current Glaucoma Practice* 2012 – 6 – 1 – P. 17–19.
- 54.Khawaja A.P., Rojas Lopez K.E., Hardcastle A.J., Hammond C.J., Liskova P., Davidson A.E., Gore D.M., Hafford Tear N.J., Pontikos N., Hayat S., Wareham N., Khaw K.T., Tuft S.J., Foster P.J., Hysi P.G. Genetic Variants Associated With Corneal Biomechanical Properties and Potentially Conferring Susceptibility to Keratoconus in a Genome-Wide Association Study // *JAMA Ophthalmology* 2019 – 137 – 9 – P.1005-1012.
- 55.Koc M., Aydemir E., Tekin K., Inanc M., Kosekahya P., Kiziltoprak H. Biomechanical Analysis of Subclinical Keratoconus With Normal Topographic, Topometric, and Tomographic Findings // *Journal of Refractive Surgery* 2019 – 35 – 4 – P.247–252.

- 56.Koh S, Inoue R, Ambrósio R Jr, Maeda N, Miki A, Nishida K. Correlation Between Corneal Biomechanical Indices and the Severity of Keratoconus // *Cornea* 2020 – 39 – 2 – P.215–221.
- 57.Lam A.K.C., Hon Y., Leung S.Y.Y., Shu-Ho L., Chong J., Lam D.C.C.. Association between long-term orthokeratology responses and corneal biomechanics // *Scientific Reports*. 2019 – 9 – 1 – P.12566.
- 58.Langenbacher A., Häfner L., Eppig T., Seitz B., Szentmáry N., Flockerzi E.. Keratokonusdetektion und Ableitung des Ausprägungsgrades aus den Parametern des Corvis®ST // *Der Ophthalmologe* 2021 – 118 – 7 – P.697-706.
- 59.Li Y., Xu Z., Liu Q., Wang Y., Lin K., Xia J., Chen S., Hu L. Relationship between corneal biomechanical parameters and corneal sublayer thickness measured by Corvis ST and UHR-OCT in keratoconus and normal eyes. *Eye and Vision* 2021 – 8 – 1 – P.2.
- 60.Li Y., Zhu J., Chen J.J., Yu J., Jin Z., Miao Y., Browne A.W., Zhou Q., Chen Z. Simultaneously imaging and quantifying *in vivo* mechanical properties of crystalline lens and cornea using optical coherence elastography with acoustic radiation force excitation // *APL Photonics* 2019 – 4 – 10 – P.106104.
- 61.Luebke J., Maier P.C.. Biomechanik und Augeninnendruck bei Hornhauterkrankungen // *Klinische Monatsblätter Für Augenheilkunde* 2019 – 236 – 06 – P.751–755.
- 62.Mohammadpour M., Khoshtinat N., Khorrami-Nejad M.. Comparison of Visual, Tomographic, and Biomechanical Outcomes of 360 Degrees Intracorneal Ring Implantation With and Without Corneal Crosslinking for Progressive Keratoconus: A 5-Year Follow-up // *Cornea* 2021 – 40 – 3 – P.303–310.
- 63.Momeni-Moghaddam H., Hashemi H., Zarei-Ghanavati S., Ostadimoghaddam H., Yekta A., Aghamirsalim M., Khabazkhoob M. Four-year changes in corneal biomechanical properties in children // *Clinical and Experimental Optometry* 2019 – 102 – 5 – P.489–495.

64. Nair A., Singh M., Aglyamov S., Larin K.V.. Heartbeat optical coherence elastography: corneal biomechanics in vivo // *Journal of Biomedical Optics* 2021 – 1 – 26 – 02 – P.020502.
65. Nishida T., Kojima T., Kataoka T., Isogai N., Yoshida Y., Nakamura T.. Comparison of Corneal Biomechanical Properties and Corneal Tomography Between Customized and Accelerated Corneal Crosslinking in Eyes with Keratoconus. // *Cornea* 2020 – 40 – 7 – P.851-858.
66. Pavlatos E., Chen H., Clayson K., Pan X., Liu J.. Imaging Corneal Biomechanical Responses to Ocular Pulse Using High-Frequency Ultrasound // *IEEE Transactions on Medical Imaging* 2020 – 37 – 2 – P. 663–670.
67. Qian X., Li R., Li Y., Lu G., He Y., Humayun M.S., Chen Z., Zhou Q.. *In vivo* evaluation of posterior eye elasticity using shaker-based optical coherence elastography // *Experimental Biology and Medicine* 2020 – 245 – 4 – P.282–288.
68. Qian X., Ma T., Shih C.C., Heur M., Zhang J., Shung K.K., Varma R., Humayun M.S., Zhou Q.. Ultrasonic Microelastography to Assess Biomechanical Properties of the Cornea // *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2019 – 66 – 3 – P.647–655.
69. Qin X, Yu M, Zhang H, Chen X, Li L. The Mechanical Interpretation of Ocular Response Analyzer Parameters // *BioMed Research International* 2019 – 2019 – P.5701236.
70. Rahmati S.M., Razaghi R., Karimi A.. Biomechanics of the keratoconic cornea: Theory, segmentation, pressure distribution, and coupled FE-optimization algorithm // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 2020 – 113 – P. 104155.
71. Reisdorf S. Künstliche Intelligenz zur Entwicklung von Screening-Parametern im Bereich der kornealen Biomechanik // *Klinische Monatsblätter Für Augenheilkunde* 2019 – 236 – 12 – P.1423–1427.

72. Ren S., Xu L., Fan Q., Gu Y., Yang K.. Accuracy of new Corvis ST parameters for detecting subclinical and clinical keratoconus eyes in a Chinese population // *Scientific Reports* 2021 – 11 – 1 – P.4962.
73. Safa B.N., Wong C.A., Ha J., Ethier C.R.. Glaucoma and biomechanics // *Current Opinion in Ophthalmology* 2022 – 33 – 2 – P.80-90.
74. Salouti R., Khalili M.R., Zamani M., Ghoreyshi M., Nowroozzadeh M.H.. Assessment of the changes in corneal biomechanical properties after collagen cross-linking in patients with keratoconus // *Journal of Current Ophthalmology* 2019 – 31 – 3 – P.262–267.
75. Seifert J., Hammer C.M., Rheinlaender J., Sel S., Scholz M., Paulsen F., Schäffer T.E.. Distribution of Young's Modulus in Porcine Corneas after Riboflavin/UVA-Induced Collagen Cross-Linking as Measured by Atomic Force Microscopy // *PLoS ONE* 2014 – 9 – 1 – P.e88186.
76. Seiler T.G., Shao P., Eltony A., Seiler T., Yun S.H.. Brillouin Spectroscopy of Normal and Keratoconus Corneas // *American Journal of Ophthalmology* 2019 – 202 – P.118–125.
77. Shao P., Eltony A.M., Seiler T.G., Tavakol B., Pineda R., Koller T., Seiler T., Yun S.H.. Spatially-resolved Brillouin spectroscopy reveals biomechanical abnormalities in mild to advanced keratoconus in vivo // *Scientific Reports* 2019 – 9 – 1 – P.7467.
78. Shiga S., Kojima T., Nishida T., Nakamura T., Ichikawa K.. Evaluation of CorvisST biomechanical parameters and anterior segment optical coherence tomography for diagnosing forme fruste keratoconus // *Acta Ophthalmologica* 2021 – 99 – 6 – P.644-651
79. Shugyo A., Koh S., Inoue R., Ambrósio R. Jr., Miki A., Maeda N., Nishida K. Optical Quality in Keratoconus Is Associated With Corneal Biomechanics // *Cornea* – 2021 – 40 – 10 – P.1276-1281.

80. Singh M., Nair A., Aglyamov S.R., Larin K.V.. Compressional Optical Coherence Elastography of the Cornea. *Photonics* // Photonics 2021 – 8 – 4 – P.111.
81. Sueiras V.M., Moy V.T., Ziebarth N.M.. Lens capsule structure assessed with atomic force microscopy // *Molecular Vision* 2015 – 21 – P.316-323.
82. Țălu Ș., Sueiras V.M., Moy V.T., Ziebarth N.M.. Lens capsule structure assessed with atomic force microscopy // *Molecular Vision* 2018 – 24 – P.902-912.
83. Taroni L., Bernabei F., Pellegrini M., Roda M., Toschi P.G., Mahmoud A.M., Schiavi C., Giannaccare G., Roberts C.J.. Corneal Biomechanical Response Alteration After Scleral Buckling Surgery for Rhegmatogenous Retinal Detachment // *American Journal of Ophthalmology* 2020 – 217 – P.49-54.
84. Vinciguerra R., Ambrósio R. Jr., Elsheikh A., Roberts C.J., Lopes B., Morenghi E., Azzolini C., Vinciguerra P. Detection of Keratoconus With a New Biomechanical Index // *Journal of Refractive Surgery* 2016 – 32 – 12 – P.803–810.
85. Wang Q., Zhu Y., Shao M., Lin H., Chen S., Chen X., Alizad A., Fatemi M., Zhang X.. In vivo assessment of the mechanical properties of crystalline lenses in a rabbit model using ultrasound elastography: Effects of ultrasound frequency and age // *Experimental Eye Research* 2019 – 184 – P.258–265.
86. Willemsse J., Gräfe M.G.O., Verbraak F.D., de Boer J.F.. In Vivo 3D Determination of Peripapillary Scleral and Retinal Layer Architecture Using Polarization-Sensitive Optical Coherence Tomography // *Translational Vision Science & Technology* 2020 – 9 – 11 – P.21.
87. Xiao C., Huang X., Li M., Wu J., Huang H.. Evaluation of the biomechanical properties of the posterior eye using Shear Wave Elastography in patients with increased intracranial pressure // *Medical Ultrasonography* 2021 – 23 – 3 – P.305-310

88. Yang K., Xu L., Fan Q., Gu Y., Song P., Zhang B., Zhao D., Pang C., Ren S.. Evaluation of new Corvis ST parameters in normal, Post-LASIK, Post-LASIK keratectasia and keratoconus eyes // *Scientific Reports* 2020 – 10 – 1 – P.5676.
89. Zaitsev V.Y., Matveyev A.L., Matveev L.A., Gelikonov G.V., Baum O.I., Omelchenko A.I., Shabanov D.V., Sovetsky A.A., Yuzhakov A.V., Fedorov A.A., Siplivy V.I., Bolshunov A.V., Sobol E.N.. Revealing structural modifications in thermomechanical reshaping of collagenous tissues using optical coherence elastography // *Journal of Biophotonics* 2019 – 12 – 3 – P.201800250.
90. Zaitsev V.Y., Matveyev A.L., Matveev L.A., Gelikonov G.V., Omelchenko A.I., Shabanov D.V., Baum O.I., Svistushkin V.M., Sobol E.N.. Optical coherence tomography for visualizing transient strains and measuring large deformations in laser-induced tissue reshaping // *Laser Physics Letters* 2016 – 13 – 11 – P.115603
91. Zaitsev V.Y., Matveyev A.L., Matveev L.A., Sovetsky A.A., Hepburn M.S., Mowla A., Kennedy B.F.. Strain and elasticity imaging in compression optical coherence elastography: The two-decade perspective and recent advances // *Journal of Biophotonics* 2021 – 14 – 2 – P.e202000257.
92. Zaitsev V.Y., Matveev L.A., Sovetsky A.A., Matveyev L.A.. Quantitative Mapping of Strains and Young Modulus Based on Phase-Sensitive OCT // *Optical Coherence Tomography and Its Non-Medical Applications – IntechOpen – 2020.*
93. Zevallos-Delgado C., Mekonnen T.T., Zvietcovich F., Singh M., Aglyamov S., Larin K.. Assessing Porcine Iris Elasticity and Mechanical Anisotropy with Optical Coherence Elastography // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering* 2021 – 7 – 4 – P.40304.
94. Zhang H., Tian L., Guo L., Qin X., Zhang D., Li L., Jie Y., Zhang H.. Comprehensive evaluation of corneas from normal, forme fruste keratoconus

- and clinical keratoconus patients using morphological and biomechanical properties // *International Ophthalmology* 2021 – 41 – 4 – P.1247–1259.
95. Zhang M., Zhang F., Li Y., Song Y., Wang Z.. Early Diagnosis of Keratoconus in Chinese Myopic Eyes by Combining Corvis ST with Pentacam // *Current Eye Research* 2019 – 45 – 2 – P.118–123.
96. Zhao W., Shen Y., Jian W., Shang J., Jhanji V., Aruma A., Zhou X.. Comparison of Corneal Biomechanical Properties between Post-LASIK Ectasia and Primary Keratoconus // *Journal of Ophthalmology* 2020 – 1 – 8 – P.5291485.
97. Zhao Y., Shen Y., Yan Z., Tian M., Zhao J., Zhou X.. Relationship Among Corneal Stiffness, Thickness, and Biomechanical Parameters Measured by Corvis ST, Pentacam and ORA in Keratoconus // *Frontiers in Physiology* 2019 – 10 – P.740.
98. Ziaei M., Gokul A., Vellara H., Lu L.M., Patel D.V., McGhee C.N.J.. Measurement of In Vivo Biomechanical Changes Attributable to Epithelial Removal in Keratoconus Using a Noncontact Tonometer // *Cornea* 2020 – 39 – 8 – P.946–951.
99. Zvietcovich F., Nair A., Singh M., Aglyamov S.R., Twa M.D., Larin K.V.. Dynamic Optical Coherence Elastography of the Anterior Eye: Understanding the Biomechanics of the Limbus // *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2020 – 61 – 13 – P.7.
100. Zvietcovich F., Nair A., Singh M., Aglyamov S.R., Twa M.D., Larin K.V.. *In vivo* assessment of corneal biomechanics under a localized cross-linking treatment using confocal air-coupled optical coherence elastography // *Biomedical Optics Express* 2022 – 13 – 5 – P.2644–2654