

На правах рукописи

Головченко Анастасия Владимировна

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

3.1.5. – Офтальмология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук, доцент

Сипливы́й Владимир Иванович

Официальные оппоненты:

Корниловский Игорь Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, профессор кафедры офтальмологии Института усовершенствования врачей

Володин Павел Львович, доктор медицинских наук, ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н.Федорова Министерства здравоохранения РФ, заведующий отделом лазерной хирургии сетчатки

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф.Владимирского».

Защита состоится 18 декабря в 14-00 на заседании диссертационного совета 24.1.174.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова» по адресу : 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, корп. А,Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте www.niigb.ru Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова»

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Иванов М.Н.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

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.

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.

Методика проведения исследования

Фазово-чувствительная оптическая когерентная эластометрия (ФОКЭ)

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, оптоволокну 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 оптоволокну.

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. 1

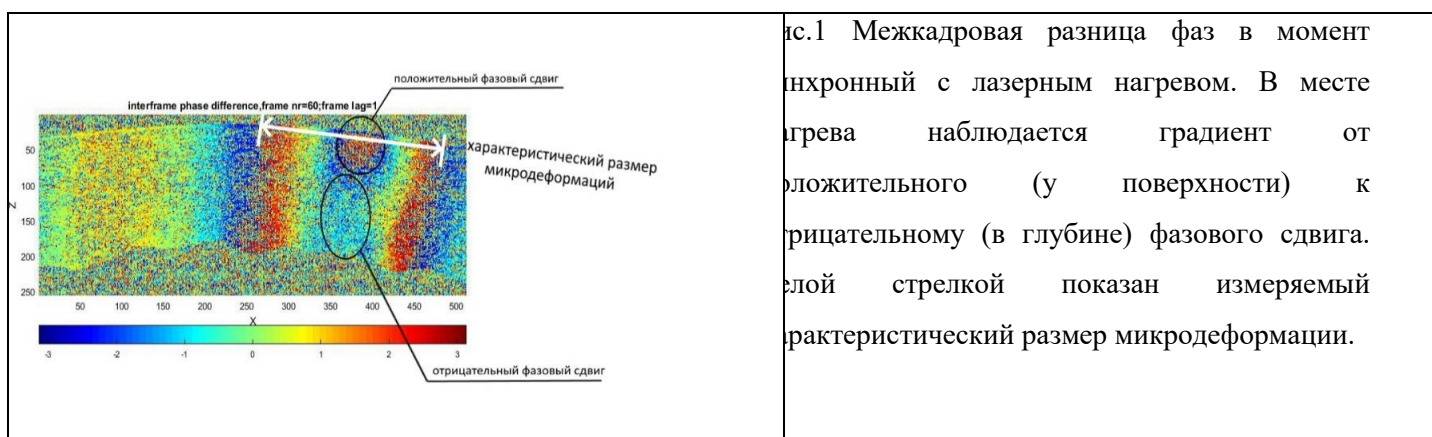


рис.1 Межкадровая разница фаз в момент синхронный с лазерным нагревом. В месте нагрева наблюдается градиент от положительного (у поверхности) к отрицательному (в глубине) фазового сдвига. Белой стрелкой показан измеряемый характеристический размер микродеформации.

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).

Оптическая когерентная эластометрия (ОКЭ)

Экспериментальные глаза, были получены от 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 более эластичная роговица.

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 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.

После транспортировки образцов на место проведения исследования все глаза закреплялись на предварительно подготовленной площадке, с целью максимального центрирования образцов в области воздействия сканирующего луча (длина волны 840 ± 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 остоле, созданном из эластичного пенополиуретана.

После установки глазного яблока в фиксирующее устройство полученная конструкция прикреплялась на деревянный брусок, а затем фиксировалась к подставке ОКТ-прибора Optovue RTVue-100, США.

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

Сканирование проводилось при следующих значениях давления внутри глаза: 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, 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, исследователи 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.

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

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.

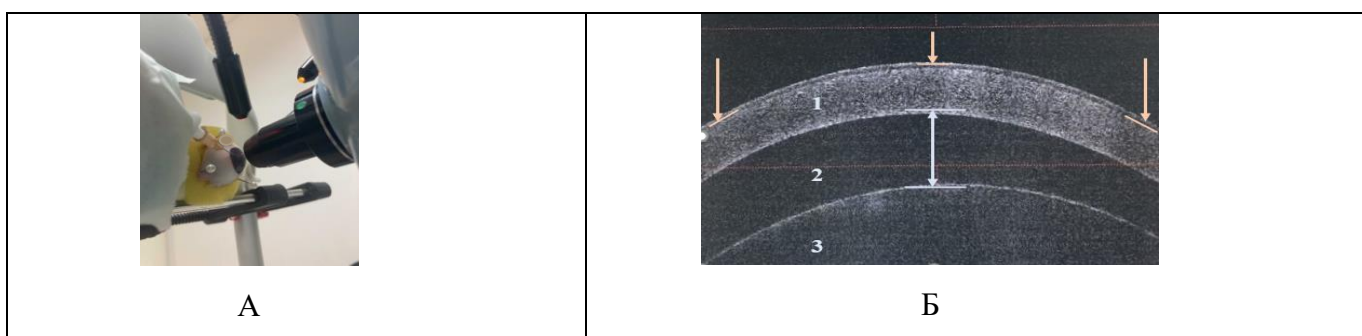


Рис. 2 Методика оценки сканограмм

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

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 – радиусе кривизны, t – ее толщина.

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

$$\sigma = E\varepsilon$$

где σ – напряжение, ε – 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

$$\sigma \sim E \frac{\Delta R}{R}$$

$$E \frac{\Delta R}{R} \sim \frac{PR}{2t}$$

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

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.

Динамометрические измерения

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 центральную область. В последующем 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%.

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.

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.

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

Результаты собственных исследований

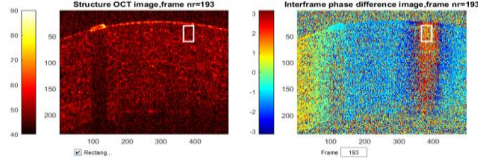
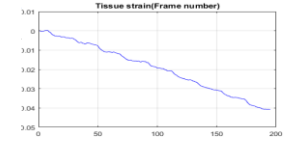
Возможности методики ФОКЭ

Методика фазово-чувствительной ОКЭ показала свою эффективность при оценке локальных биомеханических свойств роговицы в разных ее участках и при различных уровнях внутриглазного давления.

Программное обеспечение экспериментальной установки позволяет, отслеживать и суммировать деформации, возникающие в определенном участке исследуемого образца.

Приведенная в таб. №1 сканограмма была получена в зоне, являющейся оптическим центром роговицы. Данные полученные при разном ВГД качественно показывают, что при его повышении, наблюдается уменьшение вызванных лазерными импульсами скачков деформации ткани.

Таблица 1. Сравнение области деформаций при различном уровне ВГД.

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

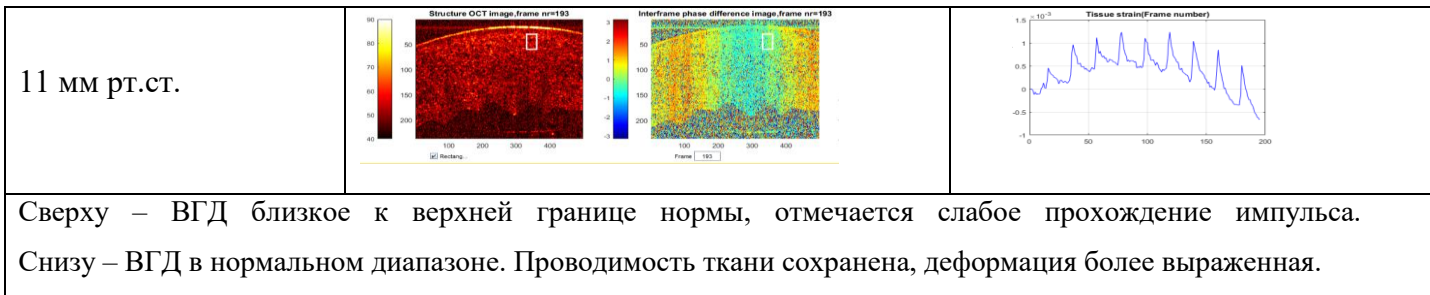


Таблица №2 демонстрирует изменение характеристик графика деформации в зависимости от выбранного участка на поверхности исследуемого глаза. При одинаковом ВГД изучали деформационный ответ ткани на лазерный импульс в центре роговицы, на середине расстояния между центром и лимбом и в непосредственной близости 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>			

Зависимость микродеформаций роговицы по данным ФОКЭ от ВГД

В качестве характеристики микродеформации в момент лазерного импульса, оценивали характеристический ее размер по карте межкадровой

разницы фаз (от красного до синего, 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 3

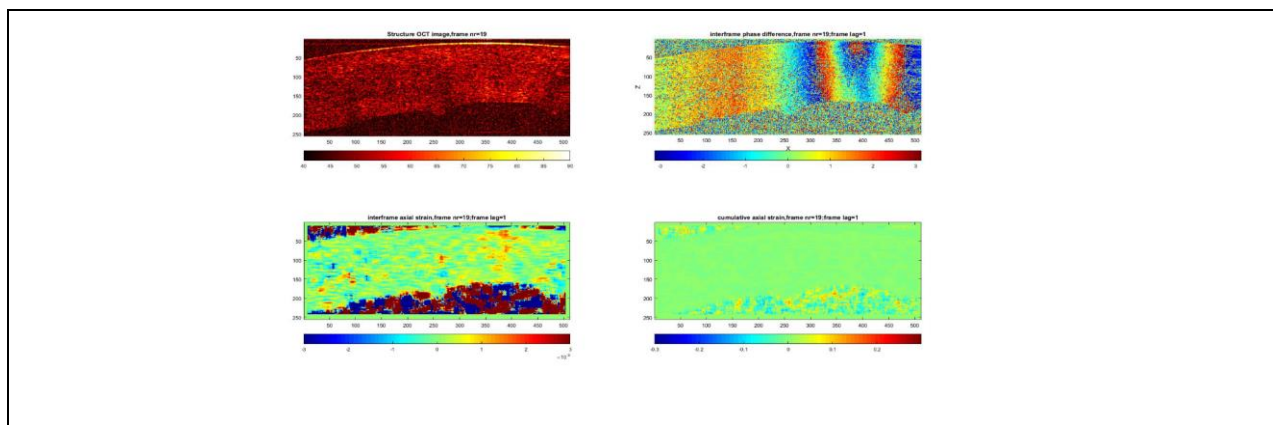


рис. 3 Скан, удовлетворяющий критериям, необходимым для корректной оценки возникшей деформации

Диаграммы зависимости ширины характерной зоны микродеформации от ВГД для пяти опытных глаз показана на рис 4

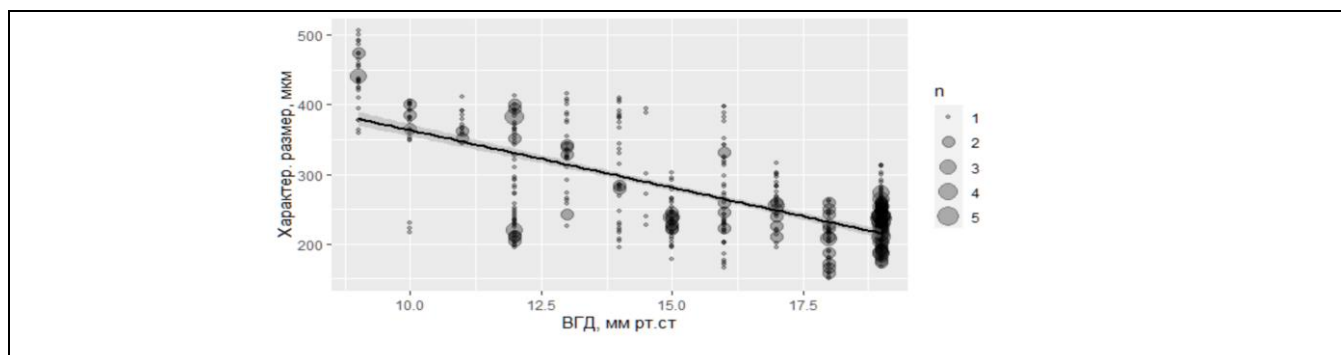


рис. 4 График распределения деформаций в зависимости от уровня ВГД в глазу

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.

Оптическая когерентная эластометрия (ОКЭ)

В исследовании по изучению возможностей ОКЭ с использованием применяемых в клинике ОСТ приборов (Optovue, RTvue 100) исследовалось 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. 5. 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.

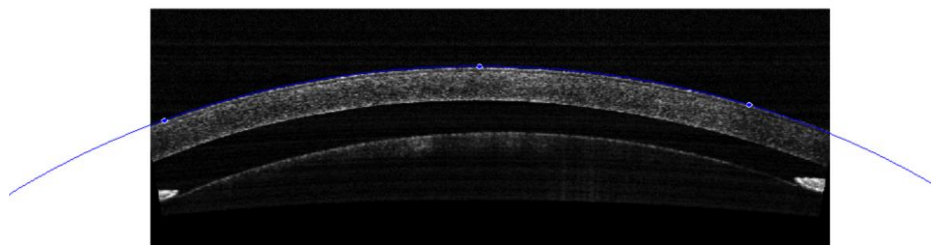


рис. 5 Пример вычисления радиуса кривизны роговицы. На скане поставлены три точки, которые являлись ориентирами для построения кривой.

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.

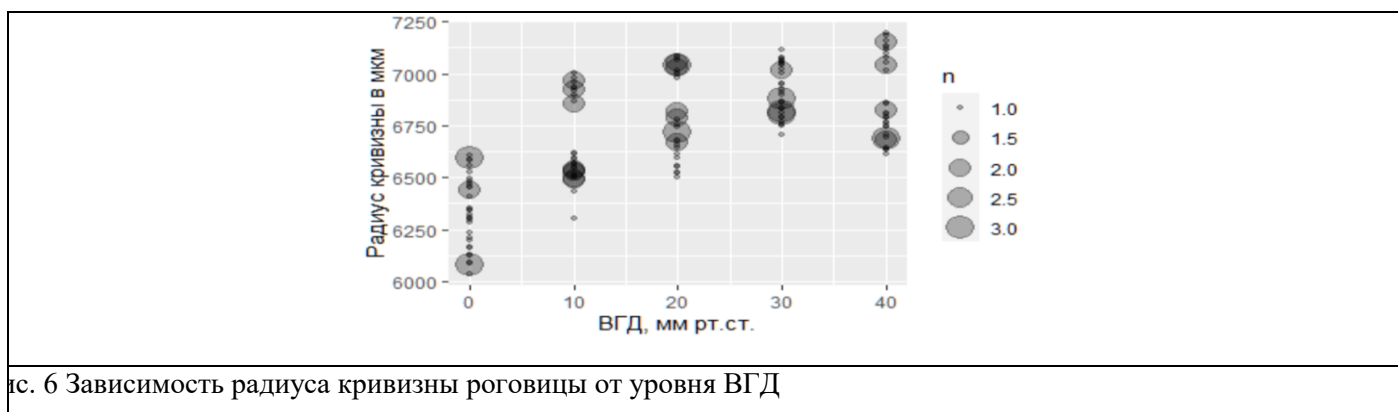
ВГД (мм рт.ст.)	Среднее значение радиуса кривизны (М) мкм.	Среднеквадратичное отклонение (σ), мкм.
0	6338	184,19
10	6677,2	206,6
20	6811,12	194,63
30	6905,1	114,61
40	6877,7	196,1

При проведении исследования было зарегистрировано увеличение глубины передней камеры и видимого размера зрачка во время роста ВГД. Также наблюдался сдвиг передней поверхности роговицы В таблице 4 представлены значения сдвига роговицы от начального положения (при нулевом давлении) в зависимости от ВГД.

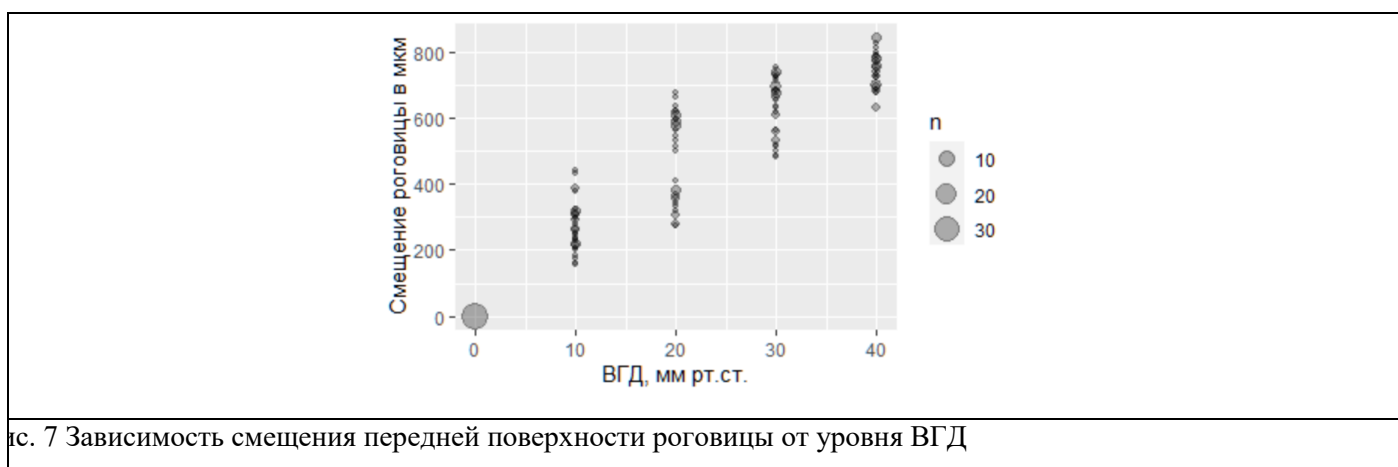
Таблица 4 Средние значения сдвига передней поверхности роговицы вперед, в зависимости от ВГД

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

На рис. 6 представлена диаграмма зависимости радиуса кривизны роговицы от ВГД.



На рис. 7 представлена диаграмма зависимости смещения передней поверхности роговицы от 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.

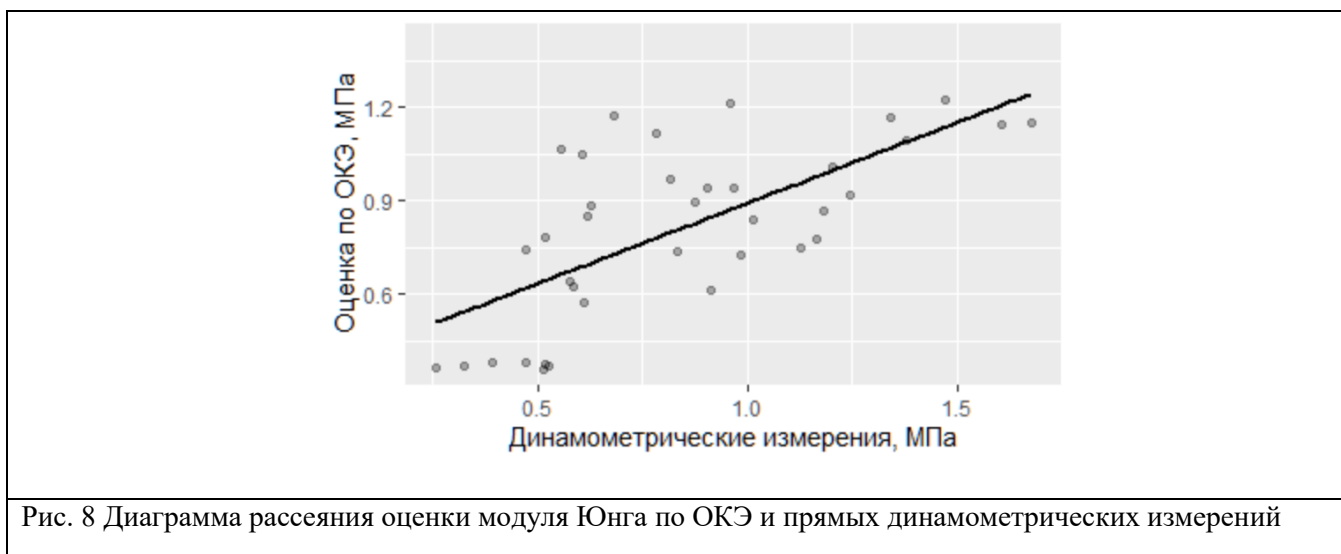
Коэффициент корреляции между уровнем ВГД и изменением положения вершины роговицы составил 0,943 ($p < 0,0001$). 95% доверительный интервал коэффициента корреляции от 0,924 до 0,957.

Динамометрические измерения и их сравнение с результатами ОКЭ

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 при прямых динамометрических измерениях составило 0,85 МПа., среднеквадратичное отклонение 0,367 МПа.

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 ($p < 0,0001$), доверительный 95% интервал от 0,461 до 0,824.

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 работ, опубликованных работ по теме диссертации:

- 1) 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 – Т. 136 – № 1 – С. 103-110.**
- 2) Головченко А.В., Баум О.И., Большунов А.В., Сипливый В.И. Методы исследования деформационных свойств глазных структур. // **Вестник офтальмологии – 2022 – Т. 138 – № 2 – С. 114-119.**
- 3) Kasianenko EM, Yuzhakov AV, Golovchenko AV, Siplivyi VI, Romanov OG, Baum OI. Laser-optical methods for monitoring the biomechanical properties of the anterior part of the eye // **Journal of Biomedical Photonics & Engineering – 2022 SFM101 - 16 V. 1**
- 4) Головченко А.В. Оптическая когерентная цифровая эластометрия в оценке биомеханических свойств роговицы // Сборник тезисов международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2020»
- 5) Головченко А.В. Оптическая когерентная цифровая эластометрия в оценке биомеханических свойств роговицы // Научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых «Актуальные вопросы офтальмологии» 12 мая 2020 г. Москва, Сборник тезисов .с. 12-14
- 6) Головченко А.В. Возможности оптической когерентной эластометрии в оценке биомеханических свойств роговицы // Научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых «Актуальные вопросы офтальмологии» 20 октября 2020 г. Москва, Сборник тезисов .с. 12-15
- 7) Головченко А.В. Оптическая когерентная цифровая эластометрия и её возможности в оценке биомеханических свойств роговицы // Научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых «Актуальные вопросы офтальмологии» 27 мая 2021 г. Москва, Сборник тезисов .с. 13-16
- 8) Головченко А.В. Оптическая когерентная томография в оценке биомеханических свойств роговицы // Научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых «Актуальные вопросы офтальмологии» 25 ноября 2021 г. Москва