



Автореферат на дисертацията

Изследвания на овлажняването на контактни лещи *in vitro* и *in vivo*
с помощта на видеокератоскопия, базирана на пръстена Placido

от

Себастиан Маркс

M.Sc. Optometry/ Vision Science, Dipl.-Ing. (FH) AO, FICLÉ

Дата на раждане и място: 29.09.1978, Хале, Германия

Супервайзор: Проф. д-р Станислав Балушев

Дата: 02.09.2022

Подпис: _____

Автор: Себастиан Маркс

Подадена на 02. септември 2022 г.

Страница 1 на 16

Докторската дисертация се състои от 135 страници, 67 фигури, 15 таблици и 270 литературни източника и се занимава с прилагането на видеокератоскопия с плачидо шайба за оценка на повърхността на контактните лещи. Първоначално Антонио Плачидо да Коста е разработил концентричен пръстеновиден модел, състоящ се от черни и бели кръгове, които се отразяват върху роговицата и рефлектиращото изображение служи за скрининг на аномалии по повърхността на роговицата.¹ Съвременните приложения на т.нар. плачидо диск позволяват да се разглеждат отразените пръстени и промяната им във времето, което дава възможност на изследователя да наблюдава и оцени настъпващи промени по повърхността. Оценката на повърхността на контактните лещи е клинично важна, тъй като това влияе върху зрението и комфорта.²⁻⁵ Тези фактори, наред с други, са от решаващо значение за потребителя на контактни лещи и могат да доведат до прекъсване използването на контактни лещи.⁶⁻⁹

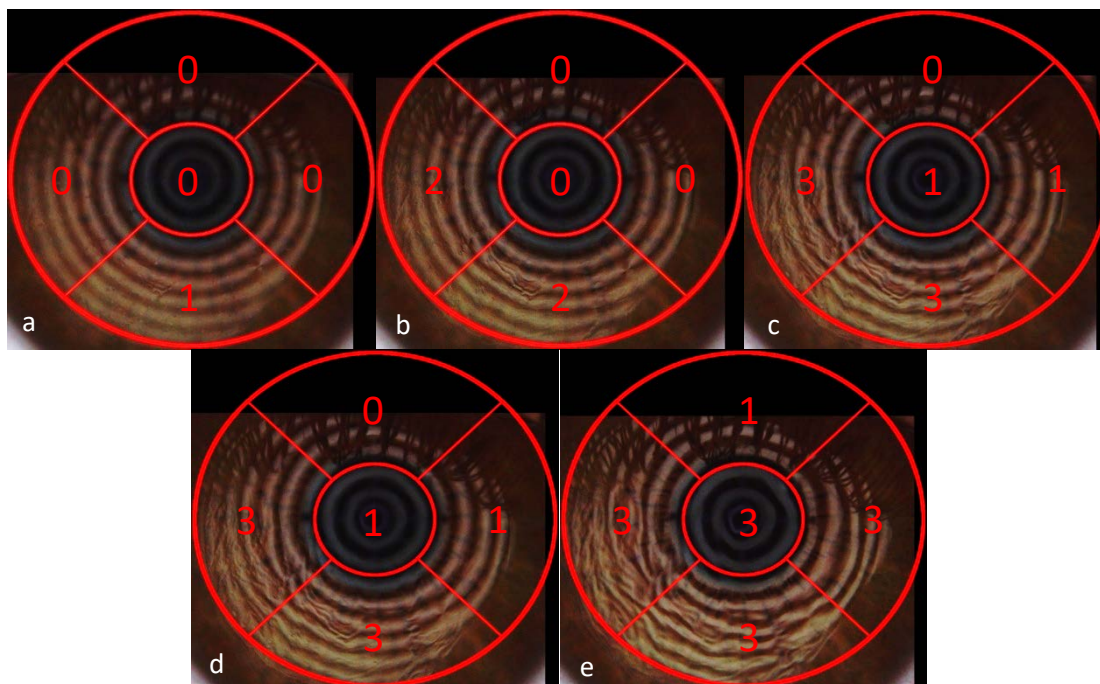
Влажната повърхност на контактните лещи е от съществено значение за клиничното приложение. Способността на повърхността на лещата да поддържа влажно състояние или да се навлажнява отново при премигване се влияе не само от въздуха, но и от механичните взаимодействия на клепача, както и от възможните натрупани отлагания като протеини или липиди.^{7; 10-12}



Фиг. 1 Разкъсване на слъзния филм по повърхността на контактна леща, с отразена плачидо шайба видима при видеокератоскопия

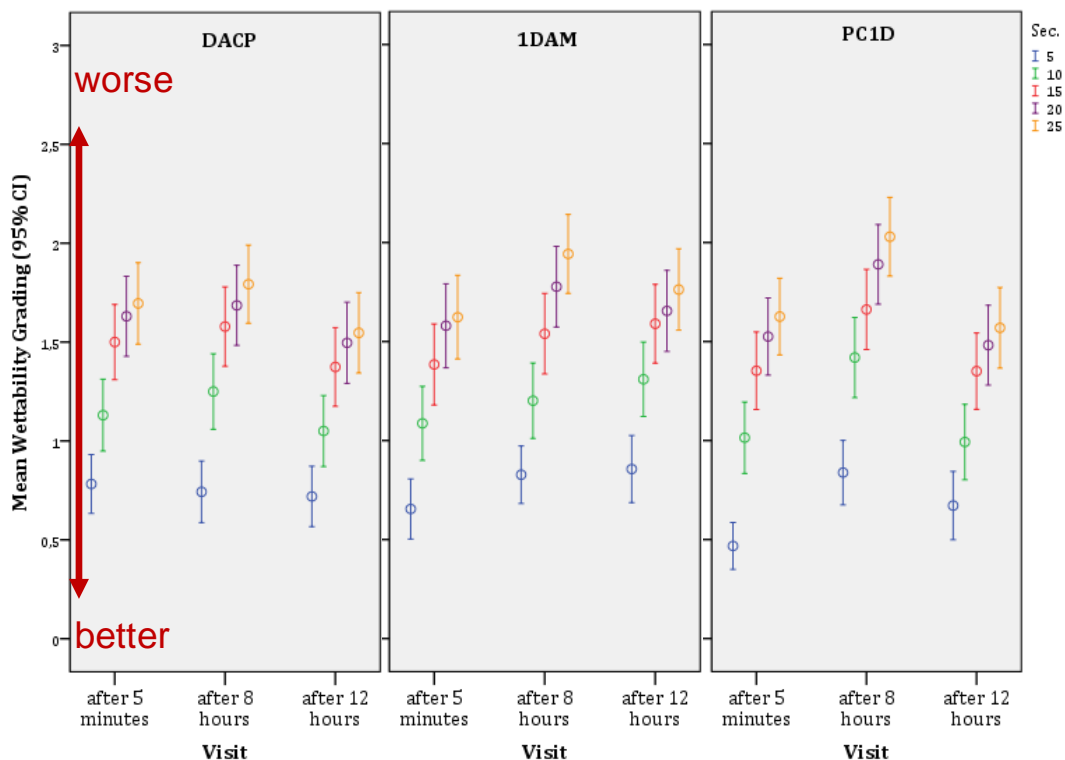
За да се направи оценка, колко дълго може да се задържи (цялостен) тънък, влажен филм върху полимерна повърхност, беше проведено изследване посредством метода на видеокератоскопия, базиран на плачидо кръгове, за да се проучи приложимостта му в *in vitro* и *in vivo* среда. Докторската работа е съсредоточена върху тези две ключови области. В нея се описва как видеокератоскопията, базирана на плачидо кръговете, може да се прилага *in vitro* и *in vivo* чрез експериментални лабораторни изследвания, от една страна, и чрез клинични изследвания, от друга. Тези научни проекти са публикувани^{13; 14; 4; 15; 16} и са изброени хронологично, което показва определен процес на развитие за създаване на допълнителни цели на измерване.

Трите представени *in vivo* проучвания, които са съобразени с етичните принципи, показват напредъка от чисто субективната оценка на отразените плачидо пръстени от повърхността на контактната леща, към по-комплексен начин на оценяване, с помощта на софтуерен анализ. В първото *in vivo* проучване, от една страна е оценено времето до първата промяна в пръстените. За оценка на процеса на разкъсване на слъзния филм е комбинирана решетка от пет сегмента върху снимки, които са извлечени от видеоклипове, в периода между премигванията за моментите от 5, 10, 15, 20 и 25 секунди след премигване. Отразената плачидо структура е оценена по експериментална скала за класифициране, варираща от нула (напълно овлажнена повърхност) до 3 (силно деформирани плачидо пръстени, повече от 33 % от оценената област).



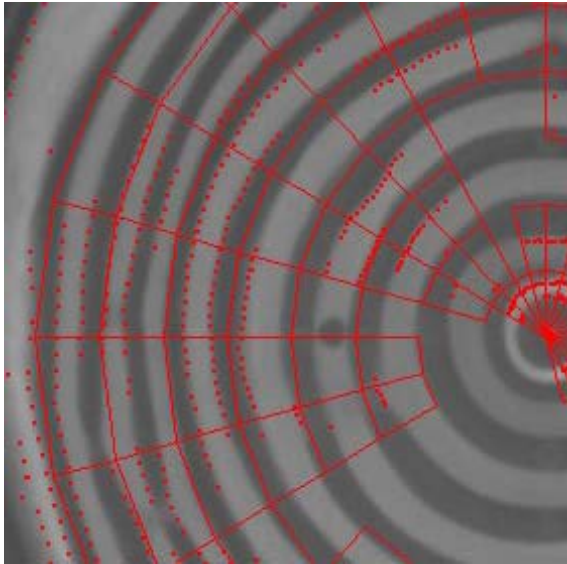
Фиг. 2 Пример за субективна оценка на фиксираните изображения в петте момента след мигане (а: след 5 секунди, б: след 10 секунди, в: след 15 секунди, г: след 20 секунди и д: след 25 секунди)

Този процес изисква ръчна подготовка на снимките, обучение на изследователите и отнемаща време класификация. Въпреки това метода е в състояние да опише процеса на изсъхване на меките контактни лещи в рамките на периода между премигванията. Данните показват повишени степени на промяна в плачидо изображенията, през времевите точки 5, 10, 15, 20 и 25 секунди след премигване, което показва намаляване на качеството на слъзния филм върху лещата. Въпреки че нямаше статистически значима разлика като цяло, оценките в мета-анализа установиха такава сравнявайки групите. Това показва, че субективният метод за оценка позволява да се разграничават степени на разкъсване/изсъхване на слъзния филм върху повърхността на лещата, като се използва видеокератоскопия, базирана на плачидо метода.



Фиг. 3 Средна степен на омокряемост на Dailies Aqua Comfort Plus (DACP9), 1 Day Acuvue Moist (1DAM) и Proclear 1 Day (PC1D) по време на всички контроли по отношение на времевите точки [s]

При второто проучване *in vivo* е използван по-ефективен от гледна точка на времето подход за анализ. Този подход е базиран на софтуер. Това означава, че решетката за оценяване, която е по-фина в сравнение с първото проучване, беше проектирана дигитално върху отразената плачидо шайба, от софтуера за заснемане на видео, наречен NIK-BUT метод, който се предоставя със софтуера за сканиране на слъзния филм при Keratograph 5M's.



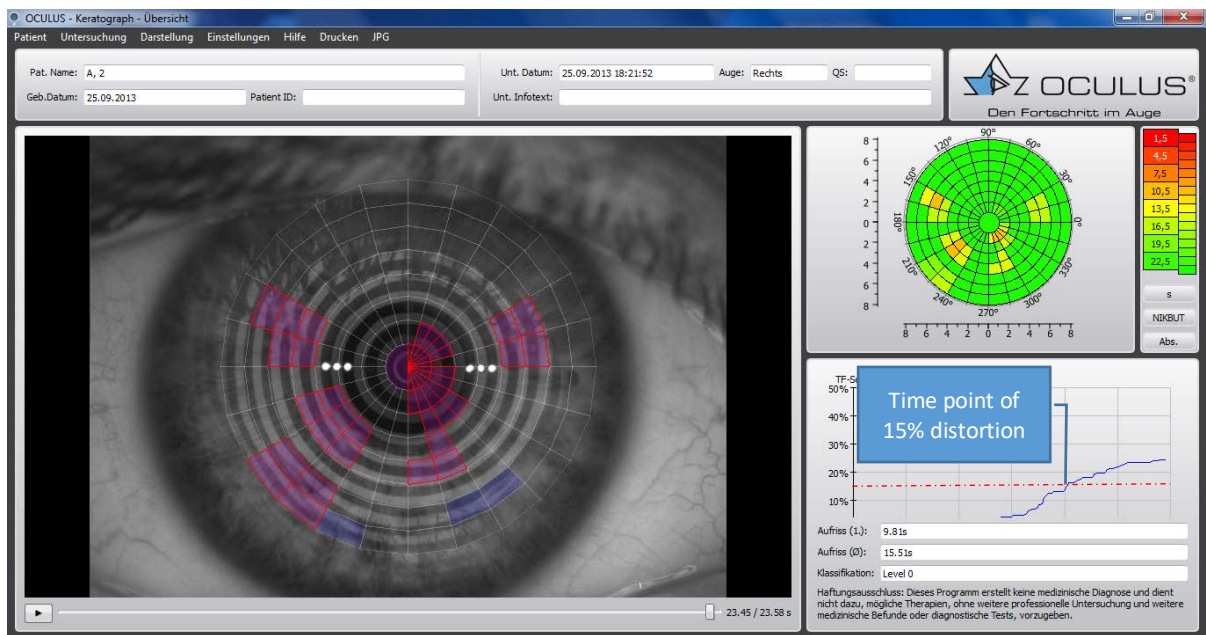
Фиг. 4 Обективно анализирани отражения върху плачидо кръговете

Този софтуер сам открива промените в отразеното изображение на плачидо пръстените, като търси промени в контурите на пръстените и промени в нивото на сиво. Предизвикателствата пред този обективен подход са промяната на зеницата по време на измерването, плаващите муцинови структури в слъзния филм след отварянето на клепача и сенките върху отразените пръстени, причинени от миглите. За да се избегнат множество артефакти, в областа на клепачите се десенсибилизира оценката, тъй като там се образуват сенки, които могат негативно да повлияят върху резултата. Това компрометира напълно обективната оценка затова обучен изследовател имаше ръчната възможност да редактира обективно засегнатите зони. Това беше необходимо при по-голямата част от измерванията, но отнемаше далеч по-малко време в сравнение с първото изследване. Използването на софтуера за анализ позволи разработването на нови цели на изследване. Така беше възможно да се определи времето на различните степени на изсъхване на сегменти от мрежата за анализ. Понижаването на влажността по повърхността с времето, представлява скоростта на изсъхване, която също може да бъде цел на анализа. Използването на специално програмиран интерфейс за прехвърляне на данните от базата данни на производителя към софтуера за анализ предлага бърз подход за изчисляване на крайната цел.

Автор: Себастиан Маркс

Подадена на 02. септември 2022 г.

Страница 6 на 16



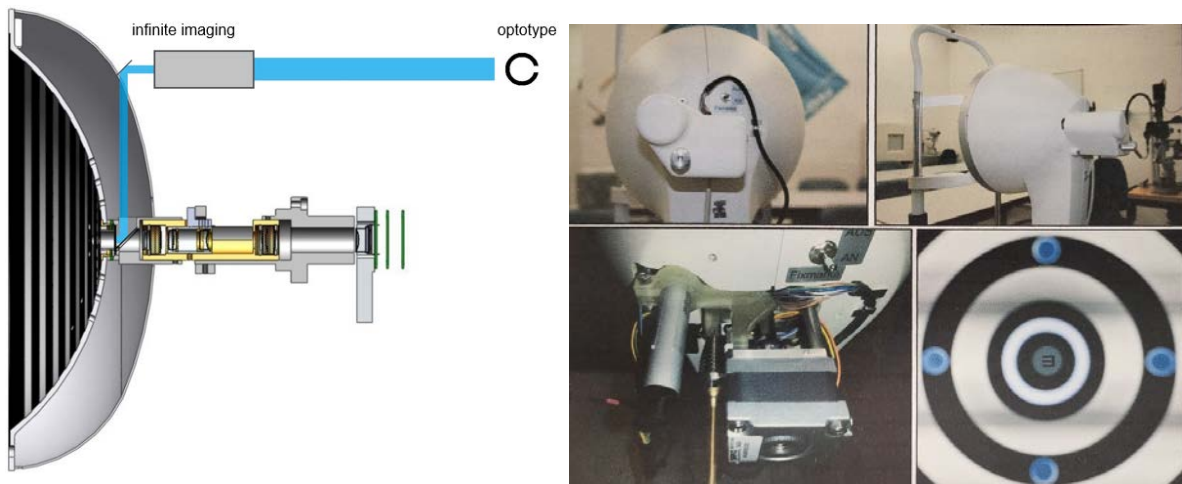
Фиг. 5 Визуализиране на резултати от измерванията на стабилността на слъзния филм върху лещата, показващи автоматично откритите сегменти в червено и добавените от изследователя, подчертани като сини сегменти

Третото разгледано проучване *in vivo* изисква предварителна подготовка на специално разработен хардуер и софтуер, тъй като целта е да се измери едновременно изсъхването на контактните лещи и зрителната острота. Предишни работи и публикации показват връзка между разкъсване на слъзния филм и качеството на зрението. Това трето проучване е първото публикувано изследване, в което е използвана техника, която позволява тези две констатации да бъдат оценени едновременно. Беше необходима хардуерна модификация, която включваше добавяне на микроекран с висока резолюция и регулируема оптична система за промяна на разстоянието до обекта. Модифицираният експериментален кератограф K5M позволи да се съчетае едновременно, презентирание на Ландолт знаци с различен размер в различни посоки, с оценка на изсъхването на повърхността и свързаната с това зрителна острота.

Автор: Себастиан Маркс

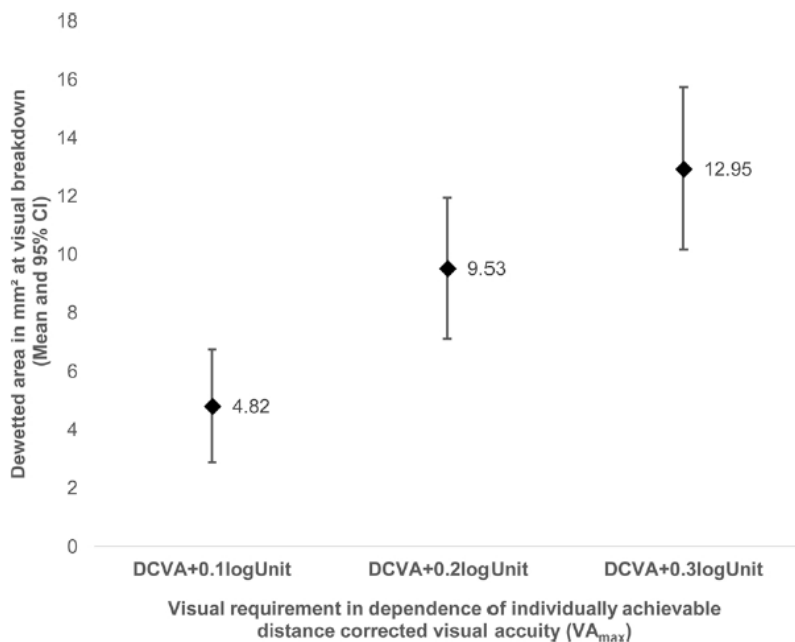
Подадена на 02. септември 2022 г.

Страница 7 на 16



Фиг. 6 Концепция на реализираната модификация на Keratograph 5M (вляво), експериментален прототип (вдясно)

Размера на показаните Ландолт оптопти, които все още биват разпознати, се увеличава с изтичането на време. Може да се потвърди, че съществува връзка между лоша умокряемост на лещите и зрителната острота на потребителя на контактни лещи. Освен това може да се докаже, че при високо качество на зрение са необходими минимални изсъхнали , появили се в кратко време, за да настъпи спад в остротата на зрение. Също така може да се покаже, че между групите пробанти със стабилен и нестабилен слъзен филм има тенденция, но няма съществени разлики, по отношение на промяната на предната повърхност на контактните лещи, която води до намалена зрителната острота и свързаното с това време на изсъхване.



Фиг. 7 Визуализирана корелация на овлажнената повърхност на контактната леща с относителното ниво на зрителна острота

Анализирано е и до каква степен локализацията на изсъхналите зони влияе върху визуса. Данните показват, че и периферно разкъсан слъзен филм върху контактната леща оказва влияние върху зрителните характеристики на потребителя. Това заключение е възможно, тъй като имаше някои измервания с периферно, без централно изсъхване, което също доведе до спад на зрителната острота. Освен това въз основа на триизмерното изчисление на площта в mm^2 на отделните сегменти стана възможно да се сравняват сегменти с различни размери едни с други. Това може също така да позволи по-добро сравнение между изсъхналите зони, заснети с различни техники.

Методът на видеокератоскопия, който беше представен в глава 5, базиран на плачидо пръстените, може да се прилага и *in vitro*. Освен изследването на омокряемостта *in vitro*¹⁷⁻¹⁹ изследователите проучиха устойчивостта на навлажнената повърхност на лещата във времето. Тази тема е от особен интерес, тъй като влажен филм върху твърда основа не се задържа за дълго време.²⁰ Феноменът е причинен от термодинамиката на минимизирането на повърхностната свободна енергия и кинетично предадената от хидродинамиката на течността.²¹ Така нареченото повърхностно дехидратиране/изсушаване отчита съществуващия кинетичен ефект във

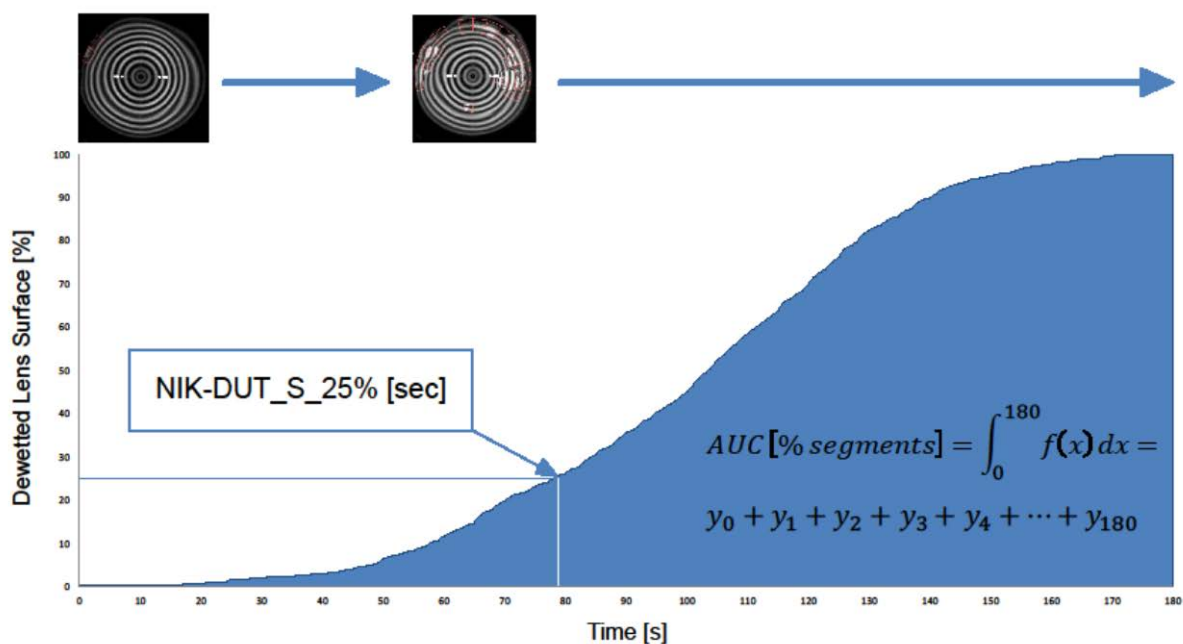
Автор: Себастиан Маркс

времето, които традиционно използваните методи- sessile drop или captive bubble не отчитат.



Фиг. 8 Измервателно устройство без корпус (вляво) и мека контактна леща на платформата под диска плачидо (вдясно): 1 = хоризонтално монтиран Кератограф 5M (климатичният корпус не е показан); 2 = регулируема x-y-z-платформа; 3 = измервателен пулт; 4 = контактна леща; 5 = бял осветен пръстен

Контактните лещи могат да взаимодействат с различни разтвори, вариращи от естествения слъзен филм през физиологичен разтвор, чешмяна вода, капки за овлажняване, разтвора в блистера или разтвори за грижа за лещите. В първото *in vitro* проучване група различни меки контактни лещи бяха предварително потопени в блистерен разтвор, физиологичен разтвор или изкуствени сълзи. Данните показват, че всички материали за меки контактни лещи изсъхват по-бързо, когато предварително са били във физиологичен разтвор. Това показва, че агентите, подобряващи омекването, които се съдържат в повечето блистерни разтвори и в изкуствени сълзи, са полезни по отношение на забавянето на процеса на изсъхване. Това може да се установи от по-ниските стойности на AUC, постигнати с блистерния разтвор и изкуствените сълзи в сравнение с физиологичния разтвор. Други крайни цели, като времето за изсъхване до достигане на 25 % и 50 % сухи сегменти, също показва това, особено при сравняване на резултатите от АТЦ с резултатите от физиологичния разтвор.



Фиг. 9 Визуализация на резултата по отношение на процеса на изсъхване *in vitro*

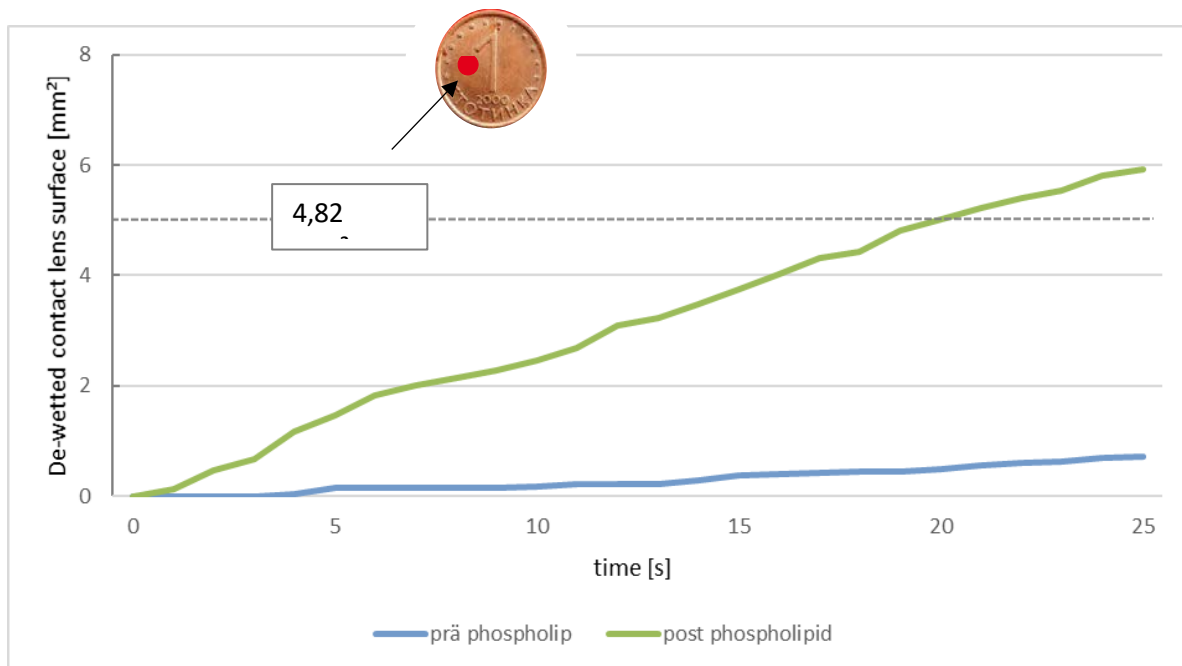
Въпреки това не може да се направи пряко заключение в рамките на метода *in vivo*. Причината е, че при *in vivo* слъзният филм върху лещата е много по-тънък от филма при *in vitro* методът. Това води до дълго време на измерване от 180 секунди, за да се наблюдава пълно изсъхване в повечето случаи. За да се направи опит да се съчетаят аспектите от *in vivo* с измерванията от *in vitro*, във второ *in vitro* проучване беше въведен критерият за изсъхнала площ от 4,82 mm², която води до спад на зрителната острота, както е показано в третото *in vivo* проучване.

Изсъхването се влияе от няколко фактора, включително изпарение, структура на повърхността, температура, атмосферна влажност и гравитация. Три основни фактора- адхезионните сили, кохезионните сили и повърхностното напрежение, оказват решаващо влияние върху изсушаването. Беше възможно да се покаже, че съставките на разтвора използван при тестовете, съдържащ фосфолипиди, взаимодействат по време на периода на съхранение в резултат на движението им по повърхността на лещата. Това се потвърждава от факта, че въпреки подновеното равновесие във физиологичен разтвор, след съхранение в разтвор, съдържащ фосфолипиди, може да се измери значително по-бързо изсушаване на КЛ. Това се наблюдава при всички изследвани

материали на контактни лещи, сравнявайки съотношенията на основните параметри. Стойността на AUC се е увеличила с повече от 50 % в групата на хидрогелните материали и силиконово-хидрогелните материали. Средно аритметично от всички измервания, времето за достигане на изсъхване от 4,82 mm² е 68 s - за хидрогелните материали и 69 s - за силикон-хидрогелните материали, което е намалено съответно до 15 s и 31 s след съхранение в разтвора, съдържащ фосфолипид. Може да се предположи, че други компоненти на разтвора, съдържащ фосфолипиди, са се натрупали на повърхността. Тъй като в тази насока не са проведени следващи изследвания в това отношение, това не може да бъде доказано.

Тъй като капките за очи, съдържащи фосфолипид, се разреждат в слъзната течност след апликирането им, количеството фосфолипид, което взаимодейства директно с повърхността на контактната леща, вероятно ще бъде значително по-ниско в *in vivo* среда. Тъй като релевантни за зрението повърхностни промени на контактната леща, настъпват тепърва след повече от 10 секунди след премигване.

Беше доказано, че фосфолипидите водят до по-бързо изсъхване, когато взаимодействат с материала на контактната леща за по-продължителен период от време. Тъй като площта на омокряне от 4,82 mm² се достига от носещите контактни лещи след типичния период на мигане по време на зрителни задачи, изискващи определено ниво на внимание, е малко вероятно да се очаква спад на зрителната острота с едно логаритмично ниво.



Фиг. 1 Средно изсушаване през първите 25 s при *in vitro*

Докторската дисертация обобщава и ограниченията в зависимост от метода. Тези ограничения са свързани с употребените инструменти, с използвания софтуер за анализ и са свързани с условията на околната среда по време на измерването, както и с визуални задачи, проведени преди измерването.

Днес видеокератоскопите на базата на плачидо пръстените се предлагат в цял свят, в различни версии, включително по-големи и по-малки плачидо мустери. Устройствата се използват широко за измерване на кривината на роговицата, а съвременните версии позволяват оценка на роговичната повърхност или повърхността на лещата. Докторантската работа се ограничава до едно устройство - Keratograph 5M, което позволява безконтактно измерване. Няколко проведени проучвания показват успешното му прилагане в областта *in vitro* и *in vivo*. От това може да се заключи, че могат да се провеждат и *ex vivo* изследвания.

Бъдещото по-нататъшно развитие на опцията за измерване Oculus NIK-BUT, като част от софтуера Keratograph 5M, ще бъде необходимо, за да се даде възможност на очните специалисти в практиката да извършват обективна оценка на овлажняването. Това може да позволи най-подходящия избор на материал за меки контактни лещи за клиента.

Автор: Себастиан Маркс

Подадена на 02. септември 2022 г.

Страница 13 на 16

Приноси

В дисертацията “Изследвания на овлажняването на контактни лещи *in vitro* и *in vivo* с помощта на видеокератоскопия, базирана на пръстена Placido“ са направени следните приноси към развитието в областта на изследване на меките контакти лещи:

C1. Типичното приложение на пръстена *Placido* обхваща оценката на кривината на корнеята и считано от 2009 г., започва определянето по не-инвазивен начин на времето за разкъсване на слъзният филм. В тази дисертация са разширява областта на приложения на пръстена *Placido* в оценката на степента на нарушаване на омокрянето на контактните лещи както *in vivo* , така и *in vitro*. Като следствие, в дисертацията е обобщено познанието в областта на оценката на степента на нарушаване на омокрянето на контактните лещи и са докладвани оригинални експериментални резултати.

C2. С цел клиничното използване на видеокератоскопията базирана на пръстена *Placido* беше необходимо създаването и експерименталната верификация на нова стратегия за анализ на резултатите. В първата фаза на тази дисертация беше въведен оригинален субективен анализ на резултатите, получени както *in vivo* , така и *in vitro*. В последващото развитие, анализът на резултатите беше напълно обективизиран, с цел повишаване на достоверността на оценката на състоянието на слъзният филм.

C3. Поредица от многопараметрични изследвания бяха проведени с цел да се диференцира степента на нарушаване на омокрянето в специфични моменти от време. Използвани бяха както субективна оценка на състоянието на слъзният филм – от 1 до 3, така и напълно обективна квалификация, базираща се на анализа на двумерен грид от 192 сегмента. Приложението на този грид позволи описанието на процеса нарушаване на омокрянето чрез натрупването на време – зависима статистика за сегментите с нарушено омокряне. Динамичните характеристики на кривата на нарушеното омокряне включват в себе си, параметри такива като, площ под кривата на на нарушеното омокряне (локално, в рамките на 1 сегмент изсъхване), скорост на изсъхване до

Автор: Себастиан Маркс

предварително определена стойност. Определят се също, както точката в пространството в която стартира процеса на изсъхване, така и времевият момент в който започва изсъхването.

C4. В тази дисертацията беше разработена оригинална хардуерна технология за едновременната оценка и съпоставяне на визуалната острота и степента на нарушаване на омокрянето на контактната леща. Тази оригинална иновация позволи определянето на клинично релевантната площ на нарушено омокряне, която е пряко свързана с намаляването на визуалната острота с 1, 2 или 3 логаритмични нива.

C5. Много от демонстрираните до сега студии, оценяващи омокрянето на контактните лещи, не успяват да получат сравними изводи, при съпоставянето на изследванията на процеса *in vitro* и *in vivo*. В тази дисертация е демонстрирана поредица от експериментални стъпки, позволяваща сравняването на лабораторните изводи с клиничните изследвания, позволяваща добро и възпроизводимо предвиждане на поведението на омокрянето на контактните лещи *in vivo*, използвайки данните получени *in vitro*.

REFERENCES

1. Plácido A. Novo Instrumento De Exploração Da Córnea - Periódico De Oftalmologia Prática. Lisboa: d'Oftalmológica Practica; 1880.
2. Vidal-Rohr M, Wolffsohn JS, Davies LN, Cerviño A. Effect of Contact Lens Surface Properties on Comfort, Tear Stability and Ocular Physiology. *Cont Lens Anterior Eye* 2018;41:117–21.
3. Fernández-Jimenez E, Diz-Arias E, Peral A. Improving Ocular Surface Comfort in Contact Lens Wearers. *Cont Lens Anterior Eye* 2022;45:101544.
4. Kolbe O, Zimmermann F, Marx S, Sickenberger W. Introducing a Novel in Vivo Method to Access Visual Performance During Dewetting Process of Contact Lens Surface. *Cont Lens Anterior Eye* 2020;43:359–65.
5. Nichols JJ, Sinnott LT. Tear Film, Contact Lens, and Patient-Related Factors Associated with Contact Lens-Related Dry Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:1319–28.
6. Sulley A, Young G, Hunt C. Factors in the Success of New Contact Lens Wearers. *Cont Lens Anterior Eye* 2017;40:15–24.
7. Willcox M, Keir N, Maseedupally V, et al. CLEAR - Contact Lens Wettability, Cleaning, Disinfection and Interactions with Tears. *Cont Lens Anterior Eye* 2021;44:157–91.
8. Pucker AD, Jones-Jordan LA, Marx S, et al. Clinical Factors Associated with Contact Lens Dropout. *Cont Lens Anterior Eye* 2019;42:318–24.
9. Efron N, Morgan PB. Rethinking Contact Lens Aftercare. *Clin Exp Optom* 2017;100:411–31.
10. Guillon M, Patel T, Patel K, et al. Quantification of Contact Lens Wettability After Prolonged Visual Device Use Under Low Humidity Conditions. *Cont Lens Anterior Eye* 2019;42:386–91.
11. Panaser A, Tighe BJ. Function of Lipids – Their Fate in Contact Lens Wear: An Interpretive Review. *Cont Lens Anterior Eye* 2012;35:100–11.
12. Rabiah NI, Scales CW, Fuller GG. The Influence of Protein Deposition on Contact Lens Tear Film Stability. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2019;180:229–36.
13. Müller C, Marx S, Wittekind J, Sickenberger W. Subjective Comparison of Pre-Lens Tear Film Stability of Daily Disposable Contact Lenses Using Ring Mire Projection. *Clin Optom (Auckl)* 2020;12:17–26.
14. Marx S, Eckstein J, Sickenberger W. Objective Analysis of Pre-Lens Tear Film Stability of Daily Disposable Contact Lenses Using Ring Mire Projection. *Clin Optom (Auckl)* 2020;12:203–11.
15. Marx S, Balushev S, Sickenberger W. Einfluss Phospholipidhaltiger Augentropfen Auf Das Abtrocknungsverhalten Weicher Kontaktlinsen. *Optom Contact Lenses* 2022;2:171–7.
16. Marx S, Balushev S, Sickenberger W. Solution-Related in Vitro De-Wetting Behavior of Various Daily Disposable Contact Lenses. *Optometry and Vision Science* 2022;in press - accepted on 23rd July 2022.
17. Bhamla MS, Chai C, Rabiah NI, et al. Instability and Breakup of Model Tear Films. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2016;57:949–58.
18. Fagehi R, Tomlinson A, Manahilov V, Haddad M. Contact Lens in Vitro Wettability by Interferometry Measures of Drying Dynamics. *Eye Contact Lens* 2013;39:365–75.
19. Havuz E, Gokmen O. In-Vitro Dewetting Properties of Planned Replacement and Daily Disposable Silicone Hydrogel Contact Lenses. *Cont Lens Anterior Eye* 2021;44:101377.
20. Oron A, Davis SH, Bankoff SG. Long-Scale Evolution of Thin Liquid Films. *Reviews of Modern Physics* 1997;67:931–80.
21. Leroy F, Borowik Ł, Cheynis F, et al. How to Control Solid State Dewetting: A Short Review. *Surface Science Reports* 2016;71:391–409.