

**Politechnika Śląska
Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki**

Dorota Szczęsna

**Politechnika Wroclawska
Wydział Podstawowych Problemów Techniki
Instytut Fizyki**

**Badania i ocena kinetyki filmu łożowego
za pomocą interferometrii**

rozprawa doktorska

Promotor:

dr hab. inż. Henryk Kasprzak

**Politechnika Wroclawska
Wydział Podstawowych Problemów Techniki
Instytut Fizyki**

Gliwice, 2008

*Autorka wyraża wdzięczność wszystkim,
którzy przyczynili się do ułatwienia napisania niniejszej pracy, a w szczególności dziękuje:*

Promotorowi

Panu prof. dr hab. inż. Henrykowi Kasprzakowi

z Instytutu Fizyki Politechniki Wrocławskiej

za patronat nad pracą doktorską i udzielanie cennych uwag i wskazówek

Panu prof. dr hab. inż. Andrzejowi Świerniakowi

Dyrektorowi Instytutu Automatyki Politechniki Śląskiej w Gliwicach

za umożliwienie obrony rozprawy doktorskiej w dziedzinie - inżynieria biomedyczna

Panu prof. n. med. Ulfowi Steneviemu

z Sahlgren's University Hospital w Göteborgu

za umożliwienie przeprowadzenia badań na pacjentach oraz owocne dyskusje

Panu dr. inż. Henrykowi Juniewiczowi

z Instytutu Inżynierii Biomedycznej Politechniki Wrocławskiej

za okazaną życzliwość i cenne rady podczas pisania pracy

Pani dr inż. Elżbiecie Jankowskiej i Zespołowi Optyki Widzenia Politechniki Wrocławskiej

za wszechstronną i stałą pomoc oraz wsparcie podczas realizacji pracy

Panu Edwardowi Ciupidro

kierownikowi warsztatu mechanicznego Politechniki Wrocławskiej

za praktyczne pomysły przy wykonywaniu elementów mechanicznych do układu pomiarowego

Panom: mgr. inż. Zbigniewowi Kulasowi

z Instytutu Telekomunikacji, Teleinformatyki i Akustyki Politechniki Wrocławskiej

i mgr. inż. Andrzejowi Michnikowi

z Instytut Techniki i Aparatury Medycznej w Zabrze

za krótką, acz kreatywną, współpracę

Moim Rodzicom *za cierpliwość i duchowe wsparcie*

Spis treści

Spis treści	3
Wykaz oznaczeń	6
I. WSTĘP	8
1. Problematyka i zadania pracy	8
2. Film łzowy i rogówka oka ludzkiego	11
2.1. Budowa rogówki oka	11
2.2. Film łzowy i jego rola	12
2.3. Grubość filmu łzowego	12
2.4. Struktura filmu łzowego	14
2.4.1. Warstwa mucynowa (śluzowa)	14
2.4.2. Warstwa wodna	14
2.4.3. Warstwa lipidowa	15
2.5. Lepkość i napięcie powierzchniowe łez	16
2.6. Wydzielanie i rozprowadzanie łez	17
2.7. Modele filmu łzowego	19
2.8. Syndrom „suchego oka”	21
2.9. Chirurgia refrakcyjna rogówki	22
2.9.1. Keratotomia promieniowa (RK)	23
2.9.2. Laserowa chirurgia refrakcyjna (LASIK)	23
2.9.3. Powikłania pooperacyjne i wpływ chirurgii refrakcyjnej LASIK na film łzowy	24
2.10. Wpływ soczewki kontaktowej na film łzowy	25
3. Przegląd metod badania diagnostycznego filmu łzowego	28
3.1. Test Schirmera	28
3.2. Test fluoresceinowy	29
3.3. Test z różem bengalskim	29
3.4. Ocena menisku łzowego	30
3.5. Ocena fałd LIPCOF	30
3.6. Szybka wideokeratostopia	31
3.7. TearScope	32
3.8. Metody interferencyjne	32
3.9. Pomiary aberracji oka	33
3.10. Podsumowanie	34
II. METODA POMIARU I ANALIZY	36
4. Metoda pomiaru filmu łzowego	36
4.1. Spójność światła i zjawisko interferencji	36
4.2. Układ pomiarowy	38
4.3. Stabilizacja obiektu badanego	40
4.4. Rola obiektu	42

4.5.	Powstawanie prążków interferencyjnych w interferometrze z klinem optycznym	43
4.6.	Praca kamery	45
4.7.	Mierzona powierzchnia rogówki	45
4.8.	Przebieg pomiaru	46
4.9.	Bezpieczeństwo pracy z laserem	47
4.10.	Podsumowanie	48
5.	Metoda analizy ilościowej gładkości filmu łzowego	50
5.1.	Metoda ilościowej oceny gładkości filmu łzowego	50
5.1.1.	Podstawy transformaty Fouriera	50
5.1.2.	Zastosowanie FFT do analizy interferogramów	51
5.2.	Sposoby analizy interferogramów	54
5.3.	Porównanie parametrów M_s	56
5.4.	Wiarygodność wyniku parametru M_s	58
5.5.	Algorytm przeprowadzania analizy numerycznej	60
5.6.	Podsumowanie	61
III.	PRZEPROWADZONE POMIARY	63
6.	Grupa osób zdrowych	64
6.1.	Wyniki pomiaru filmu łzowego na zdrowym oku	64
6.2.	Wnioski	68
7.	Grupa pacjentów z soczewkami kontaktowymi	69
7.1.	Podział soczewek ze względu na okres noszenia	70
7.1.1.	Soczewki jednodniowe	70
7.1.2.	Soczewki dwutygodniowe	73
7.1.3.	Soczewki miesięczne	75
7.1.4.	Wnioski	77
7.2.	Dodatkowe analizy zachowania się filmu łzowego na soczewkach kontaktowych	79
7.2.1.	Niestabilny film łzowy na rogówce a soczewka kontaktowa	79
7.2.2.	Różne soczewki kontaktowe na tym samym oku	80
7.2.3.	Wpływ materiału soczewek kontaktowych na stabilność filmu łzowego	81
7.2.4.	Wnioski	83
8.	Oko z patologią warstwy łez	84
8.1.	Stabilność filmu łzowego na „suchym oku”	84
8.2.	Zachowanie się sztucznych łez na oku wykazującym zaburzenia stabilności warstwy łez	88
8.3.	Pomiar kinetyki filmu łzowego po chirurgii refrakcyjnej rogówki	91
8.4.	Wnioski	93
9.	Analiza zjawisk obserwowanych na interferogramach	94
9.1.	Stabilizowanie się filmu łzowego po mrugnieniu oka	94
9.1.1.	Zmiany wartości parametru M_2 bezpośrednio po mrugnieniu oka	95

9.1.2.	Analiza kierunkowości tła prążków interferencyjnych	96
9.1.2.1.	Metoda analizy	96
9.1.2.2.	Wyniki analizy i wnioski	98
9.1.3.	Analiza niejednorodności natężenia tła prążków interferencyjnych	101
9.1.3.1.	Metoda analizy	101
9.1.3.2.	Wyniki analizy i wnioski	103
9.2.	Powtarzalność kształtu jasnej struktury tła prążków interferencyjnych	104
9.2.1.	Metoda analizy	104
9.2.2.	Związek nieregularności filmu łzowego w krótkim czasie po mrugnięciu z topografią rogówki	106
9.2.3.	Struktura tła prążków interferencyjnych obserwowana na rogówkach po operacji LASIK	108
9.3.	„Czarne plamy” na interferogramach	113
9.4.	Podsumowanie	117
IV. PODSUMOWANIE		
10.	Podsumowanie i wnioski końcowe	119
	Dodatek	123
	Spis literatury	126
	Dorobek naukowy	133

Wykaz oznaczeń

α	– kąt nachylenia do osi OX głównej środkowej osi bezwładności, względem której moment bezwładności macierzy zerowego rzędu widma Fouriera jest maksymalny
β	– kąt wewnętrzny klina optycznego
δ_{Ms}	– niepewność względna wartości średniej parametru M_s dla danej klatki
θ	– kąt połówkowy apertury obiektywu
φ	– kąt nachylenie głównej środkowej osi bezwładności macierzy pikseli zerowego rzędu widma Fouriera do osi OY
B	– znormalizowana różnica wartości ekstremalnych momentów bezwładności
BUT	– Break-Up Time – czas, który upłynął od mrugnięcia do momentu pojawienia się przełomu w filmie łożowym
$corr$	– współczynnik korelacji dwóch obrazów
$h_{p,q}$	– waga każdego piksela w macierzy pierwszego rzędu widma Fouriera
I_0	– wartość modułu piksela leżącego po środku macierzy pierwszego rzędu widma Fouriera
$I_{p,q}$	– wartość modułu widma Fouriera dla danego piksela w macierzy pierwszego rzędu widma
J_x, J_y, J_{xy}	– wartości momentów bezwładności względem osi układu współrzędnych XY
J_{min}, J_{max}	– ekstremalny moment bezwładności względem jednej z osi głównych macierzy pierwszego rzędu widma Fouriera
k	– liczba fragmentów interferogramów, dla których I_0 znalezione zostało między r_0 a r_1 maski nakładanej na widmo Fouriera danego fragmentu interferogramu
K_I	– liczba fragmentów interferogramu spełniających warunek odpowiedniej intensywności
LS	– Lateral Shearing – interferometr z poprzecznym przesunięciem czoła fali
$M1, M2, M3, M4$	– parametry ilościowej oceny kinetyki filmu łożowego oparte na masce odpowiednio: kwadratowej, okrągłej, półokrągłej i kwadratowej
MDE	– Maksymalna Dopuszczalna Ekspozycja tu: światła laserowego na siatkówkę oka

n_I	– zadana minimalna liczba fragmentów interferogramu, które mają spełniać warunek odpowiedniej intensywności
OD	– Oculus Dexter (oko prawe)
OS	– Oculus Sinister (oko lewe)
r_0, r_1, r_2	– promienie maski nakładanej na widmo Fouriera
R_r	– centralny promień krzywizny zewnętrznej powierzchni rogówki
$R_{p,q}$	– odległość danego piksela od środka macierzy
R^2	– współczynnik dopasowania funkcji aproksymującej dane pomiarowe
T	– współczynnik wyznaczający niejednorodność oświetlenia tła
TG	– interferometr Twyman-Greana
t_{imp}	– czas impulsu laserowego
W	– wiarygodność wyniku wartości średniej parametru M_s dla każdej klatki

I. WSTĘP

*„Niemożliwe jest, aby ktoś, kto widzi otaczający go świat takim,
jakim on jest rzeczywiście, obywatel się w życiu bez łez”.*

Święty Grzegorz z Nissy (IV w.)

1. Problematyka i zadania pracy

W ostatnich latach obserwuje się duże zainteresowanie okulistów filmem łzowym. Pomiar i ocena jakości oraz stabilizacji filmu łzowego stały się ważnym badaniem diagnostycznym w okulistyce.

Współczesny tryb życia i pracy człowieka sprawia, iż problemy zwilżenia rogówki stają się coraz bardziej istotne. Patologia oczu oparta na zaburzeniach funkcji filmu łzowego prowadzi do niestabilności warstwy łez między mrugnięciami i określa się ją mianem *syndromu suchego oka*. Pojawiający się przełom w filmie łzowym nie tylko daje uczucie podrażnienia, ale również wpływa bezpośrednio na obraz siatkówkowy, czyli na jakość widzenia. „Suche oko” jest patologią związaną z wiekiem, reumatyzmem, dotyka również około 30% użytkowników komputerów [33] oraz pacjentów po refrakcyjnej operacji rogówki i operacji katarakty [2]. Badania stabilności filmu łzowego powinny być wykonywane u pacjentów, którym przypisuje się soczewki kontaktowe z tego względu, że utrzymują się one na rogówce oka tylko dzięki prawidłowemu filmowi łzowemu. Obecność soczewki kontaktowej na oku destabilizuje funkcję łez ze względu na niefizjologiczną wartość napięcia powierzchniowego łez na soczewce.

Film łzowy jest cienką, niejednorodną powłoką łez pokrywającą rogówkę. Spełnia ona funkcję odżywczą, ochronną oraz zapewnia optycznie gładką warstwę na nieregularnej powierzchni rogówki. Patologia filmu łzowego może prowadzić do uszkodzenia powierzchni

oka, pogorszenia ostrości widzenia i obniżenia tolerancji na soczewki kontaktowe [16] (zob. rozdział 2.).

W okulistyce współczesnej nie ma zadowalającej nieinwazyjnej metody oceny gładkości i stabilności powierzchni filmu łzowego. Pojawia się wciąż wiele pytań dotyczących zachowania się filmu łzowego i jego fizycznych własności. Ocena jakości filmu łzowego jest ważna i złożona. W rozdziale 3. przedstawiono wybrane techniki diagnostyczne, które zostały do tej pory zastosowane do oceny filmu łzowego i diagnozy „suchego oka”. Większość z nich jest inwazyjna i/lub jakościowa. Inwazyjność zmienia wartość parametrów stosowanych do opisu jakości łez, a jakościowy charakter metod nie pozwala na obiektywną, ilościową ocenę. Istnieje uzasadniona potrzeba ilościowej oceny filmu łzowego w diagnostyce oraz w doraźnym leczeniu.

W przedstawionej pracy do pomiarów stabilności filmu łzowego wykorzystano prototyp układu interferometru zaprojektowanego przez T. Licznarskiego [61]. Wykorzystywana metoda pomiaru jest nieinwazyjna, co pozwala na badanie własności łez *in vivo* nie zaburzając ich kinetyki i składu chemicznego, w przeciwieństwie do metod stosowanych w praktyce klinicznej. W rozdziałach 4. i 5. opisano metodę pomiaru oraz analizy numerycznej rejestrowanych sekwencji obrazów – interferogramów. Zarejestrowane interferogramy dzielono na mniejsze okna i każde z nich poddawano analizie za pomocą szybkiej transformaty Fouriera.

W rozdziałach 6., 7. i 8. zaprezentowano przykładowe wyniki pomiarów przeprowadzonych na grupie 118 pacjentów. Miary ilościowej oceny jakości powierzchni filmu łzowego przetestowano na pacjentach o zdrowych oczach, pacjentach noszących soczewki kontaktowe, pacjentach odczuwających suchość w oku oraz po operacjach na rogówce oka i po zastosowaniu sztucznych łez.

W przypadku, gdy oko jest dostatecznie długo otwarte, lub pacjent cierpi na syndrom suchego oka dochodzi do przerwania filmu łzowego. Przełom tworzy się zwykle losowo, jednak, na oczach po operacjach refrakcyjnych rogówki, zaobserwowano i opisano w pracy, powtarzalność kształtu pojawiających się zaburzeń gładkości filmu łzowego (zob. rozdział 9.).

Do tej pory w pomiarach stanu łez na rogówce intensywnie zajmowano się analizą czasu tworzenia się przełomu w filmie łzowym. Niewiele wciąż wiadomo o rozprowadzaniu i stabilizowaniu się filmu łzowego na oku bezpośrednio po mrugnięciu. Dzięki dużej dokładności metod interferencyjnych na rejestrowanych interferogramach obserwowano interesujące zmiany w tle prążków interferencyjnych, które mogą ilustrować i pomóc zrozumieć proces wygładzania się filmu łzowego na oku bezpośrednio po mrugnięciu.

Zadania pracy sformułowano następująco:

1. Modernizacja istniejącego układu interferometru z poprzecznym przesunięciem czoła fali (LS).
2. Zaproponowanie miar ilościowego opisu gładkości filmu łzowego, które umożliwią rozpoznanie zachowań patologicznych w filmie łzowym. Weryfikacja zaproponowanych miar.
3. Zautomatyzowanie przeprowadzania ilościowej analizy numerycznej kinetyki stabilności filmu łzowego w czasie. Przeprowadzenie badań stabilności filmu łzowego na rogówce oka i soczewce kontaktowej.
4. Klasyfikacja wyników na podstawie oceny ilościowej stabilności filmu łzowego, znalezienie relacji między stabilnością łez, a materiałem użytym do produkcji soczewki kontaktowej oraz zbadanie wpływu sztucznych łez na zwilżenie rogówki oraz ich efektywność.
5. Próba opisu fizycznych właściwości filmu łzowego i opracowanie metod wyjaśniających obserwowane zjawiska występujące w filmie łzowym, takich jak proces stabilizowania się filmu łzowego po mrugnięciu i występowanie ciemnych okrągłych obszarów w prążkach interferencyjnych.
6. Poznanie genezy powstawania przełomów w filmie łzowym oraz zbadanie wpływu topografii nabłonka rogówki na gładkość i stabilność filmu łzowego.

Realizacja powyżej przedstawionych zadań prowadzi do postawienia następujących tez rozprawy:

Otrzymane interferogramy powierzchni filmu łzowego mogą zostać poddane ocenie ilościowej.

Zaproponowane miary ilościowe wykazują zdecydowane różnice w gładkości powierzchni filmu łzowego na zdrowych oczach i oczach z patologią łez. Na podstawie tych miar można dokonać ilościowej oceny kinetyki filmu łzowego szczególnie na soczewkach kontaktowych i po zastosowaniu sztucznych łez.

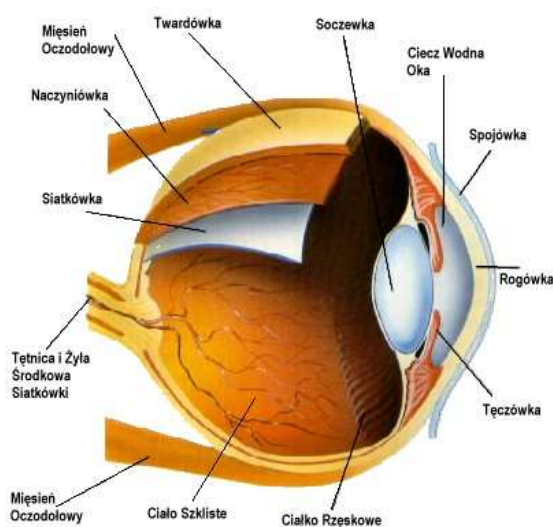
Proces stabilizowania filmu łzowego jest cechą indywidualną.

Przyczyna, powodująca zaburzenie gładkości filmu łzowego, jest inna dla oczu zdrowych i oczu po chirurgii refrakcyjnej rogówki.

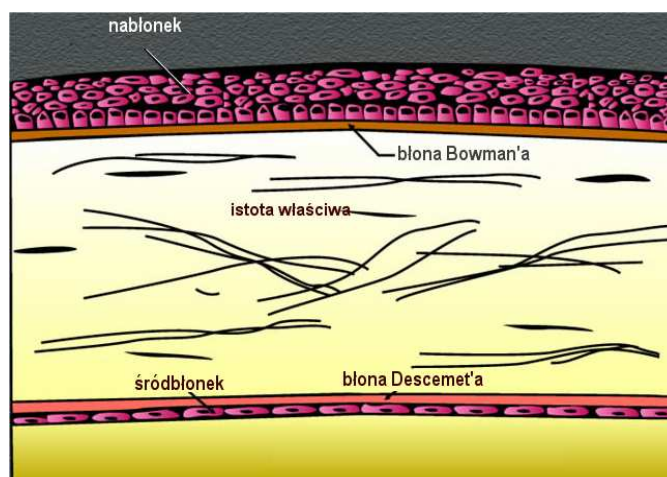
2. Film łzowy i rogówka oka ludzkiego

2.1. Budowa rogówki oka

Rogówka oka jest najbardziej zewnętrzną strukturą gałki ocznej (Rys. 2.1.). Średnica rogówki wynosi około 12 mm [4], a grubość waha się w granicach 500 μm w centrum i 700 μm w części peryferyjnej [57]. Jest ona przezroczysta dla światła białego i zbudowana z pięciu warstw [1].



Rys. 2.1. Schemat budowy gałki ocznej [121].



Rys. 2.2. Przekrój rogówki oka w centralnej części [122].

Najbardziej zewnętrzną warstwą jest nabłonek (*epithelium*) o grubości od 45 do 39 μm . Nabłonek jest stale pokryty cienką warstwą łez. Wykazuje duże zapotrzebowanie na tlen, w przypadku jego niedoboru, traci swoją przezroczystość [37]. Drugą warstwę komórek rogówki stanowi blaszka graniczna przednia (*błona Bowmana*). Kolejna warstwa – istota właściwa (*stroma*) – stanowi 90% grubości rogówki. Składa się z blaszek ułożonych warstwami, z których każda przebiega przez całą długość rogówki. Wyróżnia się około 200 warstw, z których każda ma grubość 2 μm i zbudowana jest z włókien kolagenowych. Wiązki te splatają się jedna z drugą, mimo to są równoległe do siebie i powierzchni rogówki. Blaszka graniczna tylna (*błona Descemeta*) budową przypomina błonę graniczną przednią. U dorosłych jej grubość waha się od 7 do 11 μm . Jest to najtwardsza warstwa rogówki. Ostatnią warstwą jest śródbłonek (*endothelium*) o grubości 6 μm [1].

2.2. Film łzowy i jego rola

Film łzowy jest cienką, niejednorodną powłoką łez pokrywającą rogówkę i spojówkę oka. Obecność zdrowego, stabilnego filmu łzowego na oku jest ważna w zapewnieniu prawidłowego funkcjonowania układu wzrokowego. Rogówka nie posiada naczyń krwionośnych, zatem **odżywianie** jej jest silnie zależne od filmu łzowego, który bierze czynny udział w metabolizmie rogówki. Film łzowy dostarcza niezbędne dla rogówki środki odżywcze, tlen i utrzymuje stały, obojętny odczyn pH [39,92]. Film łzowy **chroni** przedni odcinek oka **przed zakażeniem** dzięki zawartym w nim enzymom (lizozym) – substancjom dezynfekującym. Ponadto wypłukuje on z powierzchni rogówki i spojówki resztki przemiany materii i ciała obce [16,20,86,92]. Poprzez **zwilżanie nabłonka rogówki** i spojówki, zapobiega uszkodzeniom z powodu wyschnięcia i **umożliwia ruch powiek** podczas mrugania [20]. Z punktu widzenia optyki, film łzowy odgrywa bardzo ważną rolę w **wygładzaniu powierzchni rogówki** i tworzeniu ostrego obrazu na siatkówce oka. Wypełnia on przestrzeń między komórkami nabłonka tworząc gładką, regularną powierzchnię optyczną oka [16]. Ponadto film łzowy jest najbardziej zewnętrznym elementem układu optycznego oka. Ze względu na znaczną różnicę współczynników załamania między powietrzem (1,0000) a filmem łzowym ($1,3369 \pm 0,0011$) [18], granica faz powietrze – łzy stanowi dwie trzecie mocy optycznej całego oka [86,105].

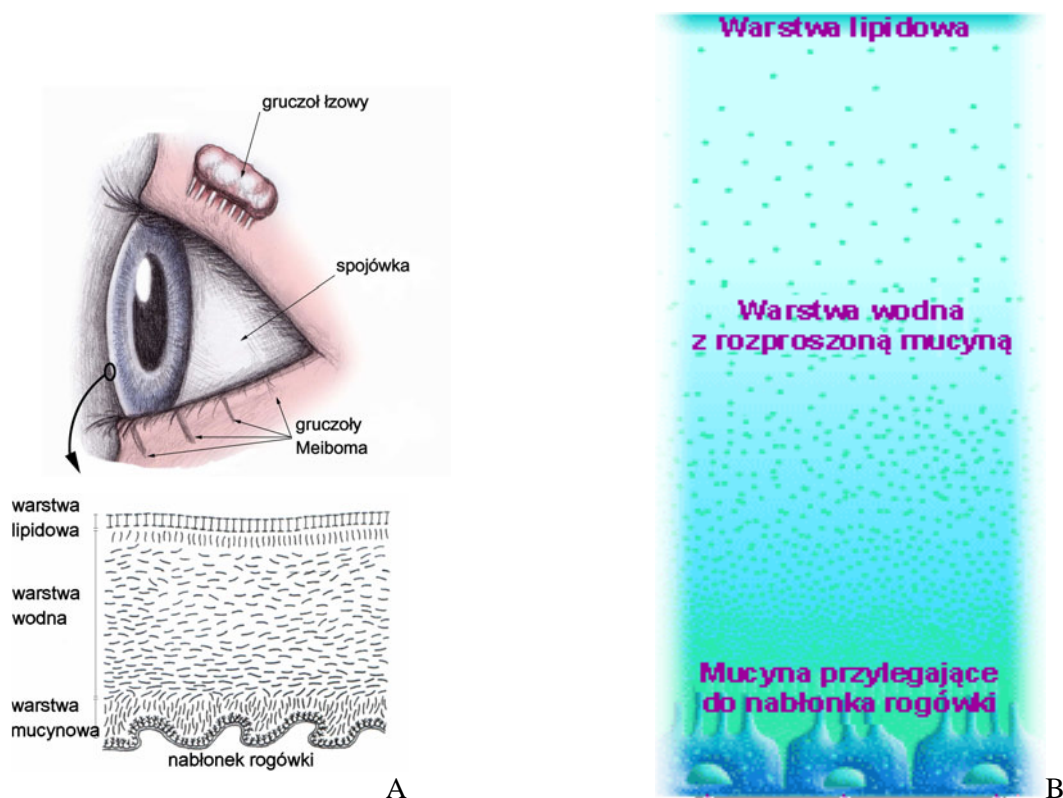
2.3. Grubość filmu łzowego

Mruganie pełni ważną funkcję w procesie widzenia, gdyż ruch powiek rozprowadza nową warstwę łez na oku. Film łzowy jest strukturą dynamiczną. Zaraz po otwarciu powieki warstwa łez na oku jest najgrubsza i od tego momentu zaczyna się jej parowanie i dyfuzja do rogówki. Wyniki pomiarów grubości filmu łzowego na oku podawane w literaturze różnią się znacznie (tabela 2.1.). Pomiar grubości łez możliwy jest jedynie na żywym, nieznieczulonym oku. Tylko wówczas film łzowy zachowuje swoją strukturę. Pomiar grubości filmu łzowego utrudnia parowanie łez od momentu otwarcia oka oraz ciągły ruch oka.

Obecnie uważa się, iż grubość warstwy łez waha się od około 9 μm zaraz po mrugnieniu oka do około 4 μm tuż przed kolejnym mrugnieniem [16]. Jednakże najnowsze wyniki pomiarów otrzymane za pomocą interferometrii [29,55] oraz koherentnej tomografii optycznej – OCT [113] wskazują na średnio 3 μm grubości filmu łzowego.

Tabela 2.1. Pomiary grubości filmu łzowego na podstawie Brona (2004) [8] i Johnsona (2004) [50].

Metoda pomiaru	Odniesienie	Grubość [μm]
Imersja włókien szklanych (szczury)	Mishima i Marurice (1961)	7
Imersja włókien szklanych	Marurice (1973)	6
Osuszanie bibułą powierzchni filmu łzowego (blotting)	Ehlers (1965)	7-9
Fluorymetria	Benedetto et al (1975)	4
Mikroskop konfokalny i interferometria	Prydal et al (1992), Prydal i Campbell (1992)	40
Interferometria	King-Smith (2000)	3 (1,5-4,7)
OCT	Wang (2003)	3



Rys. 2.3. Struktura filmu łzowego.

A) Klasyczny model trójwarstwowej struktury filmu łzowego wg. Wolffa (1946).

B) Nowszy schemat ze zmniejszającym się ku warstwie lipidowej stężeniem mucyn rozpuszczonych w wodzie [123].

Pomiar grubości filmu łzowego utrudnia również fakt, iż tworzy on warstwową strukturę. Klasyczny opis budowy filmu łzowego [44,115] wyróżniał trzy warstwy: zewnętrzną warstwę lipidową, fazę wodną i leżącą bezpośrednio na nabłonku rogówki warstwę mucynową (Rys. 2.3.A). Każda z tych warstw wydzielana jest przez inny gruczoły (Rys. 2.4.). Nowsze badania wykazują, iż budowa filmu łzowego jest bardziej złożona [103].

2.4. Struktura filmu łzowego

2.4.1. Warstwa mucynowa (śluzowa)

Najbardziej wewnętrzną mucynową (śluzową) warstwą filmu łzowego produkowaną jest przez komórki kubkowe spojówki (*goblet cells*) oraz przez komórki nabłonkowe spojówki i rogówki (Rys. 2.4.) [12,92]. Bezpośrednio na nabłonku rogówki mucyny tworzą żelową warstwę, której najważniejszą funkcją jest wypełnienie przestrzeni między komórkami i fałdami nabłonka rogówki. Ten gładki, śliski płaszcz minimalizuje tarcie podczas mrugnięcia i ruchu gałki ocznej [16].

Ponieważ nabłonek rogówki jest prawdopodobnie hydrofobowy, zadaniem mucyn jest stworzenie hydrofilowej warstwy, która ułatwi równomierne rozprowadzenie fazy wodnej po powierzchni oka oraz zapewni pełne zwilżenie nabłonka rogówki [88,30]. Ciągłe rozprowadzenie żelu mucynowego na powierzchni oka zapewnia ruch powieki [8].

Kolejną ważną funkcją warstwy mucynowej jest ochrona powierzchni nabłonka przed mechanicznymi uszkodzeniami. Mucyny są odpowiedzialne za pokrycie ciał obcych śliską warstwą śluzu, by chronić rogówkę i spojówkę przed ścieraniem [16] oraz za odprowadzenia ciał obcych z powierzchni oka [20,30]. Mucyny są również bardzo lepko-sprężyste i mogą dzięki temu szybko odtwarzać ciągłą warstwę pokrywającą rogówkę [16].

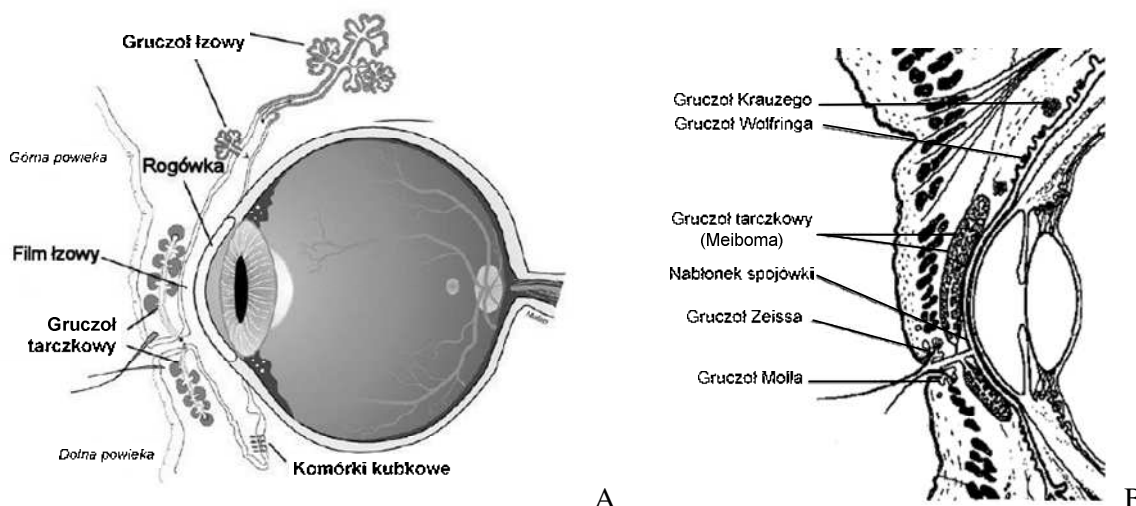
Obecnie uważa się, że istnieją dwa typy mucyn. Pierwszy przylega do nabłonka rogówki, drugi typ natomiast jest rozpuszczony w fazie wodnej [30]. Stężenie mucyn maleje od nabłonka rogówki ku warstwie lipidowej (Rys 2.3.B) [50,86].

2.4.2. Warstwa wodna

Faza wodno-mucynowa stanowi ponad 98% grubości filmu łzowego. Źródłem fazy wodnej jest głównie gruczoł łzowy, znajdujący się w części górno-skroniowej, jak również gruczoły Krauzego i Wolfringa (Rys. 2.4.) [16,92]. Zadaniem warstwy wodnej jest zwilżenie, odżywianie oraz ochrona immunologiczna rogówki. Ważnym zadaniem jest również dostarczenie do pozbawionej naczyń krwionośnych rogówki tlenu i niezbędnych środków odżywczych. Faza wodna zawiera rozpuszczone w niej białka, glukozę i jony [20,50]. Obecne w fazie wodnej białka i mucyny obniżają napięcie powierzchniowe pozwalając tym samym na bardziej efektywne rozprowadzenie na powierzchni rogówki i przez to efektywniejsze zwilżenie oraz zwilżenie spojówki [16,20]. Elektrolity pomagają zachować integralność z nabłonkiem [16].

Warstwa wodna umożliwia wypłukiwanie z powierzchni oka ciał obcych i bakterii, dodatkowo dzięki zawartym w niej enzymom, takim jak lizozym i immunoglobuliny uczestniczy w kontroli przed infekcją powierzchni oka [20].

Ze względu na różnorodność i dynamikę stężeń składników rozpuszczonych w warstwie wodnej, podawane właściwości tej warstwy są wielkościami średnimi. Osmotyczność nie przekracza 318 mmol/kg (mOsm/kg). Wartość ta jest inna w ciągu dnia i podczas snu, gdy oczy są zamknięte i parowanie się zmniejsza [3,16,18].



Rys. 2.4. Układ wydzielniczy aparatu łzowego.

A) Gałka oczna wraz z głównymi gruczołami produkującymi warstwę filmu łzowego [19].

B) Przekrój strzałkowy przez powiekę z dodatkowymi gruczołami produkującymi warstwę filmu łzowego.

2.4.3. Warstwa lipidowa

Zewnętrzną warstwą łez stanowi cienka, oleista, warstwa lipidowa o grubości około 100 nm. Produkowana jest przez gruczoły Meiboma (tarczkowe) oraz dodatkowo przez gruczoły Zeisa i Molla znajdujące się w powiece dolnej i górnej (Rys. 2.4.) [16]. Najważniejszą funkcją warstwy lipidowej jest hamowanie parowania warstwy wodnej i zapewnienie stabilności powierzchni filmu łzowego [85]. Przy braku lub nieciągłości warstwy lipidów zaobserwowano czterokrotne zwiększenie parowania łez [17]. Ważną funkcją warstwy lipidowej jest również stworzenie optycznie gładkiej powierzchni, czyli zapewnienie tworzenia ostrego obrazu optycznego na siatkówce oka [8,86].

Analiza składu chemicznego wydzielanych lipidów u zdrowych pacjentów wykazała, iż w warstwie lipidowej można wyróżnić fazę niepolarnych i polarnych lipidów [66]. Grubszą fazą jest warstwa niepolarna, w której skład wchodzi: woski, cholesterol i estry sterolu. Fazę polarną

tworzą głównie fosfolipidy oraz glikolipidy [76]. Obecne są również węglowodany i kwasy tłuszczowe [102]. Stężenie składników warstwy lipidowej różni się dla wielu pacjentów, czyli jest bardzo indywidualne [8].

Funkcją warstwy lipidowej jest również zapobieganie zanieczyszczeniu filmu łzowego przez lipidy skóry. Jest to ważne, gdyż lipidy produkowane przez gruczoły w skórze różnią się składem od lipidów filmu łzowego i destabilizują lipidy łez [8,41].

2.5. Lepkość i napięcie powierzchniowe łez

Łzy należą do cieczy nienewtonowskich. Oznacza to, że ich lepkość zależy od gradientu prędkości przepływu i od naprężenia ścinającego (stycznego) pojawiającego się, gdy cząsteczki cieczy przemieszczają się względem siebie. Lepkość łez rośnie wraz ze zmniejszaniem się siły ścinającej. Zmienna lepkość łez ma wielką zaletę. Ruch powiek wywołuje dużą siłę ścinającą, więc lepkość łez jest niższa podczas mrugania, co zmniejsza ryzyko uszkodzenia powierzchni oka przez siły tarcia. Gdy oko jest otwarte, to większa lepkość cieczy zapobiega grawitacyjnemu spływaniu łez [104,106]. Po ustabilizowaniu się łez po mrugnięciu średnia wartość lepkości łez wynosi 4,4 mPa·s [104].

Napięcie powierzchniowe filmu łzowego jest bardzo ważne do prawidłowego zwilżenia rogówki. Dla zdrowego filmu łzowego średnie napięcie powierzchniowe wynosi 43.6 ± 2.7 mN/m [107]. Jest ono niskie w porównaniu do napięcia powierzchniowego wody, 72 mN/m [106]. Rolą mucyn jest zmniejszenie napięcia powierzchniowego warstwy wodnej i zapewnienie dzięki temu lepszego zwilżenia i szybszego rozprowadzenia łez po powierzchni oka. Badania Tiffany et al. [107] wykazały wzrost napięcia powierzchniowego po usunięciu warstwy lipidowej do wartości zanotowanej u pacjentów z syndromem suchego oka: 53,6 mN/m. Wynika stąd, że lipidy również mają wpływ na obniżenie napięcia powierzchniowego cieczy łzowej. Pełnią one funkcję elastycznej błony, odpowiedzialnej za szybkie wyrównanie się powierzchni filmu łzowego po mrugnięciu.

2.6. Wydzielanie i rozprowadzanie łez

Aparat łzowy tworzy układ wydzielniczy, rozprowadzający i wydalniczy [44]. Gruczoły wydzielające poszczególne warstwy filmu łzowego są przedstawione na rysunku 2.4.

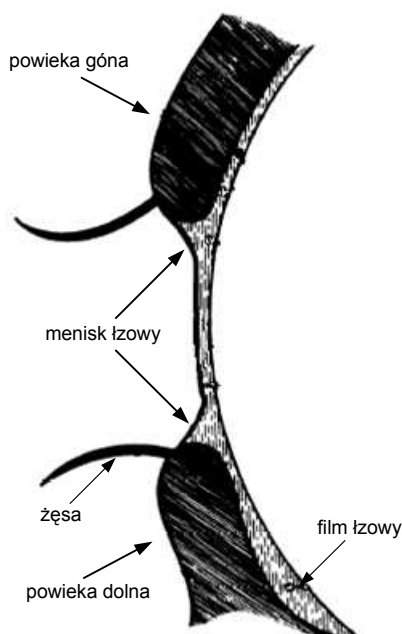
Wydzielanie łez pozostaje pod kontrolą autonomicznego układu nerwowego i niektórych hormonów [19,20,66,92]. Wyróżniane jest wydzielanie łez podstawowe, zależne od układu współczulnego, oraz odruchowe występujące na skutek podrażnienia układu przywspółczulnego, jako odpowiedź na bodźce zewnętrzne takie jak: dotyk, ciało obce, jasne oświetlenie, silne

emocje, podrażnienie nerwów węchowych [16,92]. Głównym źródłem łez odruchu jest gruczoł łzowy, a zatem są one bardziej wodniste. Łzy odruchu wydzielane są w większej ilości niż łzy bazowe i mają również za zadanie wypłukanie ciał obcych z powierzchni oka [112].

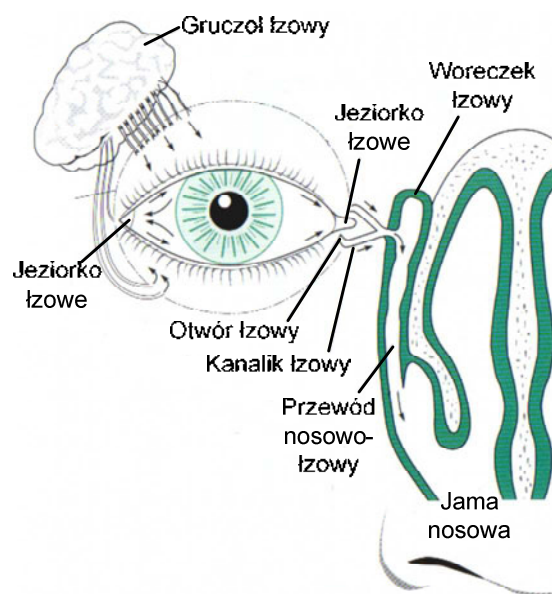
Wydzielanie łez podstawowych jest kontrolowane przez tzw. pętlę odruchu (*reflex loop*) [86]. Zakończenia nerwów na powierzchni oka wysyłają impulsy do mózgu poprzez piąty nerw czaszkowy, który generuje impuls przekazywany do gruczołów produkujących łzy. Dlatego ważna jest odpowiednia czułość rogówki do zapewnienia normalnego wydzielania łez [112].

Podstawowa produkcja łez szacowana jest na 1-2 $\mu\text{l}/\text{min}$ [16], co daje wydzielanie średnio 1,5-2,0 ml cieczy łzowej na dobę. Całkowita wymiana cieczy łzowej następuje co kilka minut. Układ rozprowadzający ciecz łzową tworzą powieki i menisk łzowy (grubsza warstwa łez wzdłuż krawędzi powiek – Rys. 2.5.) [44]. Łzy płyną z górno-skroniowej części spojówki wzdłuż powieki górnej tzw. górnym pasemkiem łzowym. W bocznym kącie oka łzy spływają na skutek siły ciężenia i tworzą wzdłuż dolnej powieki dolne pasemko łzowe. Samoistny przepływ cieczy łzowej na oku jest możliwy jedynie w menisku łzowym na skutek gradientu ciśnienia i odbywa się on ku nosowi (Rys. 2.6.). Ponieważ film łzowy jest bardzo cienki, siły napięcia powierzchniowego są większe niż siła grawitacji i film łzowy nie płynie po powierzchni oka. Zasadniczą rolę w regenerowaniu łez na powierzchni oka pełni zatem ruch powiek [92].

Film łzowy jest nieustannie wymieniany. Ruch powiek bierze udział zarówno w odprowadzaniu filmu łzowego, wypływającego z powierzchni oka produkty przemiany materii, złuszczonego nabłonek rogówki, jak i w rozprowadzaniu nowego filmu łzowego. Na Rys. 2.6. zilustrowano schemat odprowadzania cieczy łzowej do układu odprowadzającego. Strzałki zaznaczają kierunek przepływu. Poprzez ruch „nożycowy”, przypominający zamykanie zamka błyskawicznego, film łzowy jest spychany w kierunku kanalików łzowych. Podczas zamykania powieki kanaliki łzowe oraz worek łzowy zaciskają się spychając zawartą w nich ciecz łzową do przewodu nosowo-łzowego. Gdy powieka jest całkowicie zamknięta, kanaliki łzowe są ściśnięte. Podczas otwierania powieki zmniejsza się ciśnienie w kanalikach łzowych i w worku łzowym. Gdy powieka jest do połowy otwarta, to otwór łzowy jest wciąż zamknięty przez margines powiek. Po całkowitym otwarciu powieki, kanaliki i worek łzowy powracają do ich normalnej konfiguracji i płyn łzowy może swobodnie wpłynąć do kanalików łzowych [16].



Rys. 2.5. Przekrój strzałkowy przez powieki i film łzowy na oku [41].



Rys. 2.6. Schemat wydzielania i odprowadzania cieczy łzowej. Strzałkami zaznaczono kierunek przepływu filmu łzowego [16].

Każde samoistne mrugnięcie, co około 4-5 s [11,111] rozprowadza nową, świeżą warstwę filmu łzowego. Częstotliwość mrugania jest indywidualną cechą pacjenta. Zmienia się również dla tego samego pacjenta pod wpływem czynników zewnętrznych. Średni czas między mrugnięciami dla kobiet jest krótszy (3,9 s), niż dla mężczyzn (4,1 s) [111].

Film łzowy na oku jest rozprowadzany w dwóch etapach [44]. Przy zamykaniu powieki na powierzchni oka rozprowadzana jest, w wyniku aktywności powierzchniowej, warstwa mucynowa oraz warstwa wodna. Warstwa lipidowa natomiast jest ściskana między powiekami, górną i dolną [41,44].

W fazie podnoszenia powieki podczas mrugnięcia górna powieka ciągnie warstwę lipidową na początku z obszaru między powiekami. Warstwa lipidowa jest rozciągana po warstwie wodnej. Początkowo rozprowadzana jest część polarna warstwy lipidowej, po której podąża część niepolarna. Dzięki temu warstwa lipidowa od razu zapobiega parowaniu wody podczas otwierania powieki [8]. Mruganie odgrywa ważną rolę w rozprowadzaniu warstwy lipidowej. Silniejsze i częstsze mruganie powoduje zwiększenie grubości warstwy lipidowej [58].

Ehlers (1965) [8] zauważył, że film łzowy podąża za ruchem powiek odpowiednio w górę i w dół. Jednocześnie cząstki dalej od powieki poruszają się wolniej niż te bliżej powieki. Owens i Philips (2001, 2002) mierzyli kinetykę warstwy lipidowej obserwując ruch naturalnych cząstek jako namiastkę samej warstwy lipidowej. W fazie wznoszenia powieki podczas mrugnięcia warstwa lipidowa początkowo porusza się szybko w górę, a następnie zwalnia, by w końcu się

zatrzymać po około 1 s. Powieka jest w pełni otwarta po upływie około 300 msec, co wskazuje, iż rozprowadzanie łez wciąż trwa mimo, iż ruch powiek został ukończony [21].

Zachowanie się filmu łzowego zaraz po mrugnięciu jest związane z dwoma czynnikami. Pierwszym jest strumień łez podążających za ruchem powieki ku górze, drugim udział powierzchniowej warstwy lipidów biorących udział w ciągnięciu łez po rogówce ku górze [51]. *Efekt Maragoniego*, czyli przepływ w stronę obszarów o większym gradiencie napięcia powierzchniowego, daje prawdopodobne wytłumaczenie, dlaczego powierzchnia łez przepływa w stronę podnoszącej się powieki. Niejednorodne rozprowadzenie powierzchni lipidów prowadzi do powstania gradientu napięcia powierzchniowego.

2.7. Modele filmu łzowego

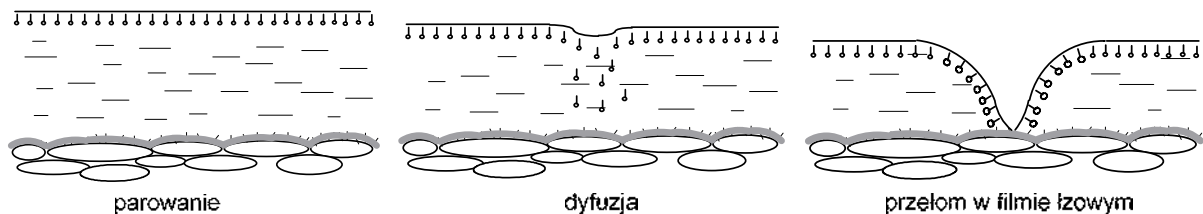
Dla zdrowych oczu film łzowy tworzy regularną warstwę cieczy zwilżającą powierzchnię oka do następnego mrugnięcia. Jeśli mruganie zostanie wstrzymane, bądź pacjent cierpi na *syndrom suchego oka*, film łzowy ostatecznie przerywa się i powstają lokalne suche miejsca na powierzchni oka. Mechanizm powstawania przełomu w filmie łzowym wciąż nie został jeszcze do końca poznany. Na przestrzeni lat powstało kilka teorii i modeli próbujących wyjaśnić ten proces.

Początkowo przełom w filmie łzowym był łączony z przerwaniem ciągłości warstwy mucynowej, pokrywającej bezpośrednio nabłonek rogówki. Przerwanie płaszcza mucynowego odkrywało niezwilżone miejsca i lokalnie zaburzało stabilność filmu łzowego. Na tym etapie nie wiele wiedziano jeszcze o grubościach poszczególnych warstw.

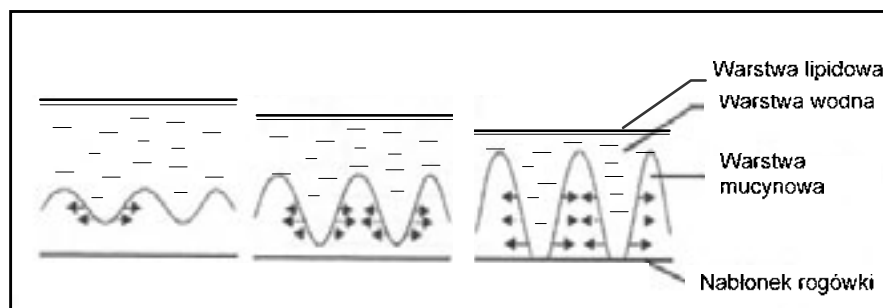
Holly (1973) rozwinął teorię opartą na niezwilżonej powierzchni nabłonka (Rys.2.7.) [41]. Wiedziano już, że lipidy zapobiegają parowaniu łez, jednak nie całkowicie, gdyż warstwa filmu łzowego staje się coraz cieńsza po otwarciu oka. Część lipidów dyfunduje do warstwy mucynowej i jest przez nią absorbowana. Gdy ilość zaabsorbowanych lipidów jest wystarczająco duża, następuje zmiana charakteru tej warstwy z hydrofilowego na hydrofobowy. Ostatecznie powierzchnia filmu łzowego zostaje przerwana.

Ten model został szeroko zaakceptowany, ponieważ wydawało się, iż wyjaśnia wiele procesów fizjologicznych stabilności i zwilżania normalnych oczu, jak również oczu wykazujących liczne problemy ze stabilnością, niewydolnością produkcji łez i innych patologii określanych mianem syndromu „suchego oka”. Zaproponowana przez Hollego teoria przemieszczania się lipidów przez warstwę wodną, które powoduje pojawianie się

niezwilżonych miejsc, silnie zależy od założenia, iż pojedyncze cząsteczki lipidów rozpuszczają się w wodzie oraz, że istnieje pewna stała dyfuzji. Pojawia się zatem wątpliwość, czy mógłby to być znaczący mechanizm w skali czasu obserwowany również przy formowaniu się przełomów na oczach normalnych.



Rys. 2.7. Schemat powstawania przełomu w filmie łzowym na podstawie Holly'ego [43].



Rys. 2.8. Schemat powstawania przełomu w filmie łzowym wg. Sharma i Ruckenstein'a.

Sharma i Ruckenstein (1985, 1986) zaproponowali inny model, który również opiera się na lokalnych niezwilżonych miejscach nabłonka odsłoniętych przez mucyny. Jednak, model oparty jest tym razem o oddziaływania Van der Waalsa w warstwie mucynowej, które prowadzą do powiększenia małych nieregularności między warstwami mucynową i wodną. Te oddziaływania prowadzą ostatecznie do powstania „dziury”, która odkrywa hydrofobowy nabłonek (Rys. 2.8). Dochodzi do bezpośredniego kontaktu warstwy wodnej z nabłonkiem rogówki. Etap ten zwany jest niestabilnością zwilżania. Powstały w ten sposób lokalny przełom pozwala lipidom przejście do powierzchni nabłonka i dodatkowo zaburza gładkość filmu łzowego [105].

Wiele powstałych później nowych teorii nie wносиło znaczących zmian w model filmu łzowego. Ostatnie badania oddziaływań między cząsteczkami w filmie łzowym zasugerowały, iż komórki nabłonka rogówki nie biorą udziału w stabilności łez, będąc całkowicie izolowane od filmu łzowego warstwą mucynową. Przyczyny destabilizacji filmu łzowego upatruje się w oddziaływaniu warstwy wodnej z mucynową i lipidową [105]. Watanabe i Gibson (1993) [114] wykazali, że lokalna destabilizacja zwilżania rogówki może być jednak związana ze

zmianami zachodzącym na nabłonku rogówki. Starsze komórki są usuwane odsłaniając nowe lub przemieszczane w nabłonku, co powoduje lokalne zmiany w przyleganiu mucyn do nabłonka.

2.8. Syndrom „suchego oka”

Termin „suche oko” obejmuje zespół objawów wywołujących uczucie podrażnienia w oku. Patologię „suchego oka” definiuje się jako zaburzenie filmu łzowego spowodowane niedoborem wydzielanych łez lub nadmiernym ich parowaniem, które prowadzą do uszkodzenia powierzchni oka [83]. W ostatnich latach problem „suchego oka” stał się bardzo aktualny. Ocenia się, że ponad 30% ogólnej liczby pacjentów zgłasza się do lekarza okulisty z problemem związanym ze łzami [67]. „Suche oko” objawia się wrażeniem ciała obcego pod powiekami, pieczeniem, swędzeniem, ciągłym uczuciem zmęczenia oczu, które wymusza częste mruganie. Jednym z objawów może być również nadmierne łzawienie spowodowane odruchowym wydzielaniem łez na podrażnienie. Choroba sprawia, że oczy są przekrwione i mruganie staje się bolesne. Towarzyszy jej często światłowstręt i zaburzenie widzenia [67,84,90,91].

Problem prawidłowego zwilżania rogówki dotyka bardzo często osoby pracujące w klimatyzowanych biurach przy komputerach, tzw. *Office eye syndrom*. Uczucie podrażnienia związane jest w tym przypadku, podobnie jak przy czytaniu i oglądaniu telewizji, z rzadszym mruganiem, co powoduje, iż warstwa lipidowa jest cieńsza i film łzowy szybciej paruje. W efekcie dochodzi do jego przerwania [86]. Na stabilność filmu łzowego wpływa suche i gorące powietrze, skażenie środowiska, dym papierosowy [27].

Cieńsza warstwa łez u kobiet niż u mężczyzn, sugeruje wpływ kontroli hormonów na wydzielanie gruczołu łzowego [8,16]. Suchość w oku wywołują często leki hormonalne.

„Suche oko” jest spowodowane zmniejszoną produkcją mucyn, fazy wodnej lub lipidów, co wiąże się z zapaleniem gruczołów produkujących każdą z poszczególnych warstw filmu łzowego [7,83] bądź też z uszkodzeniem unerwienia rogówki. Powodem suchego oka może być również zmienione stężenie substancji rozpuszczonych w filmie łzowym, zapalenie błony naczyniowej powieki (*Lid wiper epitheliopathy*) [58] oraz nieregularności lub zakażenie powierzchni oka [5,50]. „Suche oko” często związane jest z wiekiem i niektórymi chorobami tj. reumatyzm, choroba Parkinson, cukrzyca [45]. Na syndrom „suchego oka” skarżą się również często pacjenci po zabiegach laserowych, np. PRK, LASIK [72,82] oraz użytkownicy soczewek kontaktowych [67].

Najbardziej popularnym środkiem poprawiającym kondycję łez i samopoczucie pacjenta związane z problemem „suchego oka” są wciąż krople do oczu, tzw. sztuczne łzy. Sztuczne łzy podawane są do worka spojówkowego i rozprowadzane są po powierzchni oka z ruchem powiek. Stanowią substytut łez, zawierając polimery i makrocząsteczki, które wydłużają czas utrzymania dodatkowej cieczy na powierzchni oka. Niestety, dotychczas nie ma środka terapeutycznego, który mógłby zastąpić ciecz łzową i przejąć jej własności biologiczne. Nie zapobiegają one występowaniu syndromu „suchego oka”, poprawiają jedynie zwilżenie rogówki zmniejszając symptomy podrażnienia oka [10]. W ostrym przypadku „suchego oka” ich efektywność jest bardzo krótkotrwała. Wtedy często stosowane są dużo gęstsze maści i żele, które dłużej mogą pozostawać na powierzchni oka. Jednakże dają one wrażenie lepkich powiek i zamglony obraz.

2.9. Chirurgia refrakcyjna rogówki

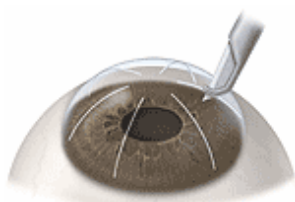
Film łzowy pełni ważną rolę w pokryciu rogówki po operacji chirurgicznej oka. Z tego względu omówiono w pracy wpływ chirurgii refrakcyjnej rogówki na film łzowy.

Wada wzroku związana z krótkowzrocznością (miopia) lub nadwzrocznością (hyperopia) jest najczęściej wynikiem zbyt dużych lub małych rozmiarów gałki ocznej albo zbyt dużą lub małą mocą optyczną układu optycznego oka. W wyniku tych wad ostry obraz powstaje przed (oko krótkowzroczne) lub za siatkówką oka (oko nadwzroczne). Dodatkowo brak symetrii obrotowej układu optycznego oka (najczęściej rogówki) wywołuje astygmatyzm.

Oprócz klasycznych metod korekcji wad wzroku, takich jak okulary czy soczewki kontaktowe, stosuje się również metody operacyjne. Do nich należą m.in.: PRK (Photorefraktive Keratektomie), LASEK (Laser in situ Epikeratomileusis), RK (Radial Keratotomie) oraz LASIK (Laser in situ Keratomileusis). Polegają one na permanentnej zmianie kształtu przedniej powierzchni rogówki w obrębie źrenicy, czyli zmianie jej zdolności skupiającej. Celem chirurgii refrakcyjnej jest zmiana mocy optycznej układu optycznego oka tak, aby w przypadku wady wzroku uzyskać normalnowzroczność. W dalszej części pracy zostaną przedstawione interferogramy zarejestrowane na oczach po operacji RK i LASIK, dlatego poniżej omówiono jedynie procedury tych dwóch operacji.

2.9.1. Keratotomia promieniowa (RK)

Zabieg został zapoczątkowany w latach 70-tych przez rosyjskiego okulistę V. Fiodorowa. Polega na spłaszczeniu kształtu rogówki poprzez wykonanie czterech lub ośmiu nacięć na jej powierzchni specjalnym diamentowym nożem (Rys. 2.9.). Nóż posiada specjalne zabezpieczenia, które ograniczając głębokość nacięć uniemożliwiają całkowite przecięcie rogówki. Liczba i położenie tych nacięć są uzależnione od indywidualnych parametrów oka



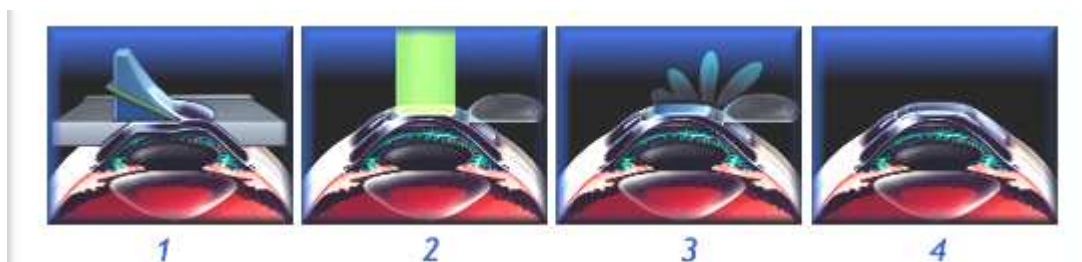
Rys. 2.9. Operacja RK [125].

pacjenta i ich dobór wynika z wcześniej przeprowadzonego badania. W wyniku wykonania tych nacięć kształt rogówki ulega zmianie wskutek ciśnienia wewnątrzgałkowego na tyle, na ile pozwalają owe nacięcia. Idea zabiegu polega więc na tym, by wykonać nacięcia w taki sposób, aby ciśnienie przedniej komory oka zmniejszyło krzywiznę rogówki umożliwiając pacjentowi ostre widzenie.

Metoda ta ze względu na liczne powikłania pooperacyjne i ryzyko infekcji nie jest obecnie stosowana [124].

2.9.2. Laserowa chirurgia refrakcyjna (LASIK)

Termin LASIK jest skrótem nazwy **LA**Ser **I**n situ **K**eratomileusis i został wprowadzony przez I. Pallikarisa. Pierwsza operacja została wykonana na ślepych oczach pod koniec lat 80-tych [31]. LASIK jest nowoczesną metodą chirurgii refrakcyjnej, w której zmiana właściwości refrakcyjnych oka wykonywana jest przy użyciu lasera excimerowego. Laser excimerowy emituje długość fali z zakresu ultrafioletu, który umożliwia usunięcie tkanki z dokładnością do 0,25 μm . Operacja składa się z kilku etapów (Rys. 2.10.). Na początku odcina się niecałkowicie płatek rogówki specjalnym nożem – mikrokeratomem. Po odchyleniu płataka rogówki dokonuje się usunięcia tkanek promieniem laserowym modelując w ten sposób kształt rogówki tak, aby nadać jej odpowiednią moc optyczną. W ostatnim etapie operacji przykrywa się miejsce zabiegu wcześniej odchylonym płatkami [79].



Rys. 2.10. Przebieg chirurgii refrakcyjnej LASIK [126].

LASIK stosowany jest do korekcji wysokich wad refrakcji. Zabieg nienaruszający powierzchni rogówki pozwala pacjentowi niemal natychmiast wrócić do codziennych zajęć. Jednak, aby płatek rogówki całkowicie zrósł się z rogówką, potrzeba wielu lat.

LASIK jest metodą dużo dokładniejszą niż RK, obserwuje się szybsze gojenie i mniej powikłań. Metoda ta może być stosowana do korekcji nadwzroczności, jednakże wyniki zabiegów nie są do końca zadawalające.

2.9.3. Powikłania pooperacyjne i wpływ chirurgii refrakcyjnej LASIK na film łzowy

Ryzyko powikłań pooperacyjnych występuje u około 1% pacjentów. W przypadku komplikacji może dojść do przymglenia rogówki (*haze*), objawu rozpraszania światła (*halo*), decentracji, pociągającej za sobą powstanie astygmatyzmu, nadkorekcji, niedokorekcji, wtórnej infekcji. Po chirurgii LASIK powikłania związane są najczęściej z płatkami rogówki. Zbyt płytkie lub nieciągłe cięcie keratomem powoduje, że cienki płatek rogówki jest nieregularny oraz zbyt krótki lub niekompletny. Może dojść również do oderwania lub przemieszczenia płatka rogówki, wrastania nabłonka oraz nieprawidłowości nabłonka [68,80].

Zdecydowana większość pacjentów po LASIKu skarży się na syndrom „suchego oka” [68]. Z powodu cięcia płatka rogówki dochodzi do uszkodzenia nerwów w istocie właściwej rogówki, co powoduje obniżenie czucia rogówkowego [54,72,82]. Utrata lub obniżenie wrażliwości rogówki prowadzi do obniżenia efektywności i częstotliwości naturalnej odpowiedzi mrugania i tym samym rekonstrukcji filmu łzowego na powierzchni oka [46]. Zmiany w jakości i produkcji łez prowadzą do zwiększenia parowania cieczy łzowej z powierzchni rogówki dając wrażenie suchego oka.

Patel et al [82] wykazał, że zmiany zachodzące w warstwie lipidowej po operacji są odpowiedzialne za zwiększenie parowania łez i tym samym występowanie syndromu „suchego oka”. Toda et al. [108] dopatruje się powodu obniżenia wydzielania łez z gruczołu łzowego oraz zmian w rozprawianiu mucyn na powierzchni rogówki w zaburzeniu czułości rogówki spowodowanego wycięciem płatka rogówki.

Brak stabilności filmu łzowego może być również skutkiem zmiany topografii rogówki, które zachodzą w jej centralnej części, na skutek spłaszczenia [72,82]. Wpływa to na gorszą integralność powieki z powierzchnią rogówki oraz na różnice w napięciu powierzchniowym cieczy łzowej [59]. Czasami tworzą się tzn. wyspy centralne, czyli lokalne wypukłości na powierzchni rogówki. Zdarza się również, iż dochodzi do tworzenia się tzw. fałd płatka rogówki

widzianych w lampie szczelinowej jako podłużne zmarszczki. W błonie Bowmana obserwowane są również mikrofałdy, które jednak nie zawsze powodują pogorszenie ostrości widzenia [81].

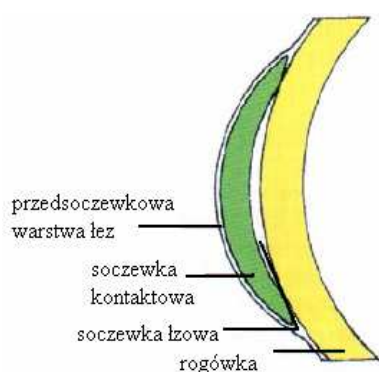
Najczęściej po 6 [63] – 12 [72] miesiącach po operacji czułość rogówki znacznie się poprawia. Po tym czasie większość pacjentów odczuwa mniejsze symptomy „suchego oka”.

2.10. Wpływ soczewki kontaktowej na film łzowy

W obecnych czasach soczewki kontaktowe są bardzo popularnym sposobem korekcji wad refrakcji. Soczewka zakładana bezpośrednio na rogówkę jest utrzymywana na oku dzięki filmowi łzowemu. Dlatego badania stabilności i wydzielania łez są niezbędnymi badaniami, które powinny być wykonywane przed przepisaniem pacjentowi soczewki kontaktowej. Syndrom „suchego oka” całkowicie wyklucza możliwość noszenia soczewek kontaktowych. W doborze soczewek kontaktowych uwzględnia się ponadto krzywiznę i średnicę rogówki. Skład łez ma wpływ na pojawiające się na soczewce osady, a ich ilość decyduje o przejrzystości soczewki i tolerowaniu soczewki przez pacjenta. Wszystko, co ma wpływ na film łzowy, czyli m.in. przyjmowane leki, alergie, warunki otoczenia, wpływa decydująco również na użytkowanie soczewek.

„Suche oko” często może być spowodowane przez złe dopasowanie soczewki. Dlatego bardzo ważne jest, aby zrozumieć wpływ soczewki kontaktowej na film łzowy, by dobrać odpowiedni materiał oraz parametry soczewki do oka pacjenta.

Soczewka kontaktowa jest „zanurzona” w filmie łzowym (Rys. 2.11.), znajduje się pomiędzy dwoma warstwami łez. Miedzy rogówką a soczewką kontaktową tworzy się tzw. soczewka łzowa, dzięki której do rogówki nadal dostarczany jest tlen i środki odżywcze oraz usuwane są



Rys. 2.11. Soczewka kontaktowa na rogówce oka zanurzona w filmie łzowym – schemat [100].

produkty przemiany materii. Jednakże obecność soczewki kontaktowej na oku ogranicza wymianę tej warstwy łez, a co się z tym bezpośrednio łączy, ogranicza metabolizm rogówki.

Materiał, z którego wykonana jest soczewka musi być biokompatybilny z filmem łzowym i rogówką. Obecność soczewki kontaktowej na oku zmienia strukturę, skład, fizykochemiczne własności i dynamikę normalnego filmu łzowego [109]. Wpływa również na proces rozprowadzania nowej warstwy filmu łzowego [101].

Obecność soczewki kontaktowej wpływa na każdą z warstw filmu łzowego. Założenie soczewki na oko powoduje krótkoterminowe zmiany w składzie produkowanych łez. Zaobserwowano zmiany w produkcji mucyn, co może być częściowo przyczyną w zaburzeniu stabilności łez [16].

Podczas adaptacji do soczewki następuje zmniejszenie stężenia elektrolitów i białek w warstwie wodnej. Zmienia się również poziom glukozy [16]. Jest to prawdopodobnie związane z podrażnieniem mechanicznym, które powoduje zwiększenie łzawienia odruchowego. Wpływ soczewek na pH filmu łzowego nie jest do końca wyjaśniony. Niektórzy badacze nie zaobserwowali żadnych zmian w pH, podczas gdy inni stwierdzili nieznaczny wzrost wartości pH [109].

Zasadnicze różnice w strukturze filmu łzowego przy obecności soczewki kontaktowej na oku zachodzą w zewnętrznej warstwie lipidowej. W przypadku normalnych oczu oleista warstwa rozprządza się po warstwie wodnej łez przez ruch powiek podczas mrugnięcia. Obecność soczewki na oku powoduje, iż warstwa wodna, na której mają się rozprządzić lipidy jest znacznie cieńsza oraz zaburzona jest również jej gładkość, co utrudnia lipidom ponowne tworzenie stabilnego filmu łzowego po każdym mrugnięciu [16,56].

Obecność soczewki na oku, po czasie adaptacji do soczewki, powoduje zmniejszenie osmolarności łez. Głównym powodem nie jest jednak zwiększenie łzawienia, ale zwiększenie parowania łez z powierzchni soczewki z powodu przzerwania warstwy lipidowej [110]. Zaburzenia w warstwie lipidowej prowadzą do zwiększenia parowania cieczy łzowej z powierzchni soczewki oraz skrócenia czasu wysychania filmu łzowego [74,101,110]. Soczewka wpływa również na naturę mrugania powodując, iż użytkownicy soczewek mrugają rzadziej i mrugnięcie często nie jest całkowite [42,44,67], co dodatkowo powoduje zaburzenie w stabilności filmu łzowego.

Obecność soczewki może również powodować zmniejszenie produkcji łez przez mniejszą wrażliwość rogówki, co dodatkowo przyczynia się do zmniejszenia osmolarności łez [32].

Materiały, z których wykonane są soczewki kontaktowe, nie są idealnie biokompatybilne z filmem łzowym oraz tkankami w bezpośrednim sąsiedztwie soczewki. Mają również hydrofobową naturę, co sprawia iż stabilność filmu łzowego na soczewkach jest zaburzona. Dodatkowo osad, pojawiający się na soczewce w trakcie noszenia, znacznie redukuje stabilność filmu łzowego [64].

Im grubsza jest warstwa lipidów, tym film łzowy jest bardziej stabilny, ponieważ tym mniejsze jest parowanie łez [16]. Jest bardziej prawdopodobne, że stabilny film łzowy na rogówce, gdy jego warstwa lipidowa była gruba przed założeniem soczewki, będzie tworzył

również ciągłą warstwę lipidową na powierzchni soczewki [40]. Soczewka, która nie powoduje nieciągłości w warstwie lipidowej, będzie chętniej noszona przez pacjenta.

Dlatego ważne jest zbadanie struktury oraz stabilności filmu łzowego przed dopasowaniem soczewki pacjentowi oraz kontrolowanie tych cech podczas doboru odpowiedniej soczewki.

3. Przegląd metod badania diagnostycznego filmu łzowego

Metody badania filmu łzowego możemy podzielić na inwazyjne i nieinwazyjne. Wyróżnia się wśród nich metody określające ilość wydzielanych łez, skład chemiczny oraz metody badające gładkość filmu łzowego na rogówce. W niniejszym rozdziale omówiono krótko metody najczęściej wykonywane w gabinetach okulistycznych oraz wybrane nieinwazyjne metody pomiaru filmu łzowego, które dają obiecujące wyniki.

3.1. Test Schirmera

Najczęściej wykonywanym badaniem filmu łzowego jest test Schirmera. Metoda umożliwia pośrednią ocenę ilości wydzielanych łez na podstawie długości zwilżonego paska bibuły. Pasek umieszcza się w dolnym worku spojówkowym na 5 min. (Rys. 3.1.). Test Schirmera I wykonuje się bez uprzedniego znieczulenia oka. Za wynik w granicach normy uważa się zwilżenie paska powyżej 13 mm/5 min. Natomiast wynik poniżej 5 mm/5 min świadczy o niedostatecznym wydzielaniu łez. Metoda ta jest prosta, ale odznacza się niską czułością i małą powtarzalnością. Wyniki mogą być fałszywie ujemne, jeśli występuje łzawienie odruchowe będące skutkiem podrażnienia oka lub fałszywie pozytywne, spowodowane np. zanieczyszczeniem paska bibuły tłuszczem z gruczołów powiekowych, co utrudnia zwilżanie. Powtarzalny wynik testu Schirmera I mniejszy niż 5 mm/5 min świadczy o obniżeniu wydzielania łez i może również świadczyć o istnieniu zespołu „suchego oka”. Niestety ujemny wynik tego testu nie wyklucza zaburzeń filmu łzowego.

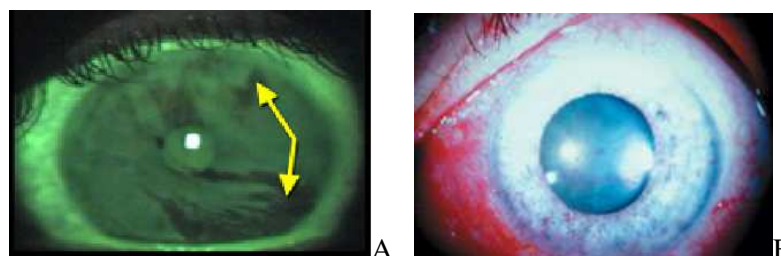


Rys. 3.1. Sposób przeprowadzania testu Schirmera [127].

Test Schirmera II przeprowadzany jest tak samo jak Test Schirmera I z taką tylko różnicą, że tym razem powierzchnia rogówki zostaje znieczulona. Nie można wykluczyć jednak wpływu środka znieczulającego na wydzielanie łez [15].

3.2. Test fluoresceinowy

Test fluoresceinowy jest najpowszechniej stosowaną metodą oceny stabilności filmu łzowego. Do worka spojówkowego podaje się niewielką ilość fluoresceiny, następnie oko oświetlone przez niebieski filtr kobaltowy obserwuje się w szerokiej szczelinie biomikroskopu. Fluoresceina wybarwia miejsca, w których nabłonek rogówki został odsłonięty na skutek powstałego przełomu. Suche obszary rogówki ukazują się w postaci ciemniejszych obszarów (Rys. 3.2.A). Mierzony jest czas od ostatniego mrugnięcia, do pojawienia się ciemnych plam. Czas ten określa się FTBUT (Fluorescein Tear Break-Up Time). Za wartość progową przyjęto FTBUT równy 10 s. Fluoresceina wnikając w przestrzenie międzykomórkowe wybarwia miejsca przerwania [13,23].



Rys. 3.2. Obserwacja rogówki zakropionej fluoresceiną [128] (A) i różem bengalskim [129] (B).

Metoda ta jest inwazyjna, cechuje się małą powtarzalnością wyników ze względu na występowanie łzawienia odruchowego. Podanie fluoresceiny wpływa na właściwości i parametry fizyczne filmu łzowego oraz zaburza stabilność warstwy wodnej filmu łzowego.

3.3. Test z różem bengalskim

W diagnostyce zaburzeń filmu łzowego stosuje się również róż bengalski. Substancja ta barwi zwyrodniałe lub martwe komórki nabłonka rogówki oraz pasma śluzu. Barwi również żywe komórki nabłonka pozbawione ochronnej warstwy śluzowej. Róż bengalski ma jednak drażniące działanie, które dodatkowo nasila się pod wpływem światła. Niewielką ilość roztworu różu bengalskiego zakrapia się do worka spojówkowego, a następnie obserwuje się oko w biomikroskopie przez zielony filtr. Do interpretacji wyników stosowana jest dziewięciopunktowa skala van Bijstevelda, uwzględniająca intensywność i lokalizację zabarwienia w trzech obszarach: nosowej i skroniowej części spojówki oraz w rogówce.

3.4. Ocena menisku łzowego

W biomikroskopie, przy szczelinowym oświetleniu oka dokonuje się oceny ilości łez poprzez obserwację wysokości menisku łzowego (Rys. 3.3.), czyli wklęsłej, regularnej powierzchni tworzonej przez film łzowy, w miejscu jego zetknięcia z brzegiem powiek. Jest to metoda nieskomplikowana i nieinwazyjna, jednak wykonywana jest jedynie jako wstępna obserwacja, pozwalająca na wykrycie pewnych patologii.

Dzięki meniskometrii uzyskuje się pośrednio informację na temat ilości łez poprzez pomiar promienia menisku łzowego. Wiadomo, bowiem, iż 75-90% całkowitej objętości łez mieści się w menisku [43,39]. Rozwinięciem tej metody stała się video-lub fotomeniskometria, polegająca na oświetlaniu dolnego odcinka oka poziomymi, równoległymi, białoczarnymi prążkami [116]. Metoda pozwala na obserwację wysokości i krzywizny menisku łzowego oraz ich zmian w czasie. Jednak wymaga dodatkowej aparatury. Wysokość menisku dla normalnych oczu szacuje się na 0,2-0,3 mm.

Obecnie video-meniskometr [6] pozwala na nieinwazyjny pomiar i ocenę zmian wysokości menisku łzowego, czyli ilości łez w czasie rzeczywistym na podstawie rejestrowanych obrazów.



Rys. 3.3. Ocena menisku łzowego [130].



Rys. 3.4. Fałdy LIPCOF [87].

3.5. Ocena fałd LIPCOF

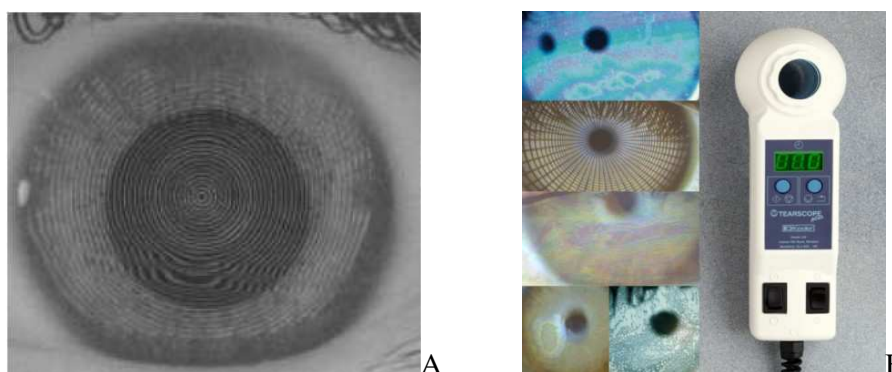
Fałdy spojówkowe Lipcof (**Lid-Parallel Conjunctival Folds**) są drobnymi zmarszczkami dostrzegalnymi w dolnym kwadrancie skroniowym gałki ocznej. Do badania potrzebna jest jedynie, podobnie jak w poprzedniej metodzie, lampa szczelinowa dostępna w każdym gabinecie okulistycznym. Metoda polega na obserwacji fałd spojówkowych, które następnie się klasyfikuje wg czterech grup. Występowanie fałd Lipcof powiązane jest z zaburzeniami struktury filmu łzowego oraz niedostatkami wydzielania łez. Ze wzrostem stopnia Lipcof, rośnie

prawdopodobieństwo wystąpienia zespołu „suchego oka” [89]. Jest to jednak metoda subiektywna i wymaga doświadczenia ze strony lekarza.

3.6. Szybka wideokeratostopia

Klasyczna keratometria służy do pomiaru krzywizny rogówki. Pomiar polega na oświetlaniu rogówki tarczą z koncentrycznymi czarnymi okręgami – dyski Placido. Wszelkie nierówności na powierzchni rogówki znajdują odzwierciedlenie w zniekształceniach odbitego obrazu.

Na rogówce znajduje się jednak film łzowy, którego topografia powierzchni ma wpływ na kształt odbitego obrazu dysków Placido. Szybka wideokeratometria daje możliwość rejestracji obrazów z dużą częstotliwością: 1 Hz [36], 4Hz [73], 50 Hz [47]. Dzięki temu znalazła zastosowanie w pomiarze zmian gładkości filmu łzowego na rogówce oka. Zarejestrowane obrazy poddawane są następnie komputerowej analizie. Na Rys. 3.5.A przedstawiono przykładowy obraz zarejestrowany przy użyciu szybkiego wideokeratometru. Zniekształcenie prążków w dolnej części obrazu wskazuje na brak gładkości filmu łzowego. Specjalny program komputerowy umożliwia stworzenie kolorowych map topograficznych rogówki wraz z pokrywającym ją filmem łzowym. Do ilościowej analizy otrzymywanych obrazów stosuje się parametry SRI (Surface Regularity Index) i SAI (Surface Asymetry Index). Metoda jest nieinwazyjna i pozwala na badanie dynamicznych zmian powierzchni filmu łzowego w czasie, czyli zarówno proces stabilizowania się filmu łzowego, jak i tworzenie się przełomów [28,47,48,73]. Jej dodatkową zaletą jest możliwość badania obszaru całej rogówki.



Rys. 3.5. A) Obserwacja rogówki w badaniu szybkim wideokeratometrem [47].
B) Badanie za pomocą TearScope'u [131].

3.7. TearScope

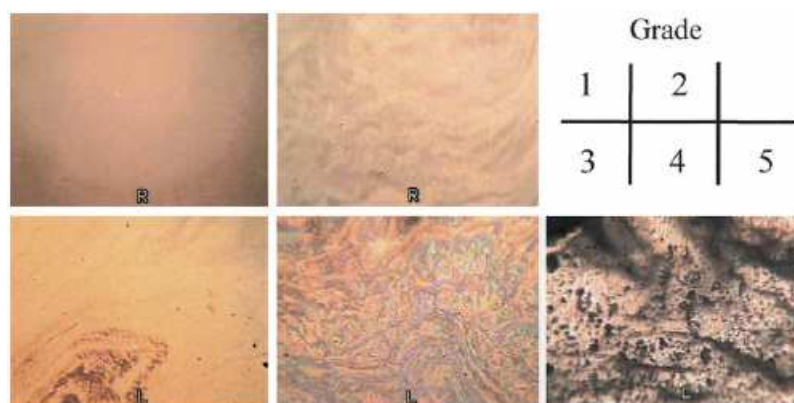
Coraz większą popularność zdobywa proste w obsłudze urządzenie zwane TearScope (Rys. 3.5.B). Podświetlony cylinder z wyłożonym wzorem, który jest nadrukowany na przezroczystej formie. Na powierzchnię rogówki projektowany jest obraz siatki. W miejscach, gdzie obraz ten przestaje być ostry, następuje przerwanie filmu łzowego. TearScope umożliwia również pomiar menisku łzowego.

Tearscope jest głównie używany do pomiaru czasu tworzenia się przełomu w filmie łzowym (NTBUT: Non-invasive Tear Film Break-up Time) dzięki wbudowanemu w rękojeści stoperze. Metoda ta, choć mniej inwazyjna, wymaga wprawy lekarza. Wciąż nie ma metody ilościowej do obiektywnego oceniania jakości filmu łzowego w czasie za pomocą tego tearscopeu.

3.8. Metody interferencyjne

Ze względu na warstwową strukturę filmu łzowego wykorzystano interferencję cienkich warstw do pomiaru grubości poszczególnych warstw łoż [55] (zjawisko interferencji wyjaśniono w rozdziale 4.). Obserwacja efektu interferencji generowanego przez odbicie światła od warstwy lipidowej i od granicy lipidy – warstwa wodna, daje informację o rozkładzie grubości cienkiej warstwy lipidów. Interferometria warstwy lipidowej została zaproponowana przez Guillaona [38]. System do dynamicznej obserwacji efektu odbicia światła od granicy powietrze-lipidy i lipidy-warstwa wodna zaproponował Doane [22]. Użył on monochromatycznego źródła oświetlenia (lampa halogenowa z filtrem interferencyjnym). Zarejestrowane prążki interferencyjne powstają na skutek różnic w grubości badanej warstwy filmu łzowego. Każdy prążek odpowiada obszarowi o stałej grubości warstwy. Wadą zaproponowanego przez niego układu jest występowanie ciemnego obszaru w centralnej części rejestrowanego przez kamerę obrazu. Jest to spowodowane konstrukcją systemu oświetlającego.

Na podstawie tych prac stworzono komercyjny układ do pomiaru rozkładu grubości warstwy lipidowej [117]. Umożliwia on pomiar w obszarze o średnicy 2 lub 8 mm. Do pomiaru zastosowano źródło światła białego. Efekt interferencji w cienkiej warstwie lipidów przypomina zjawisko obserwowane na bańkach mydlanych. Wskutek odbicia światła od granicy faz: powietrze – warstwa lipidowa i warstwa lipidowa – warstwa wodna otrzymuje się barwne obrazy interferencyjne. Obrazy te tworzą barwną mapę rozkładu grubości warstwy lipidowej. Nie są one jednak łatwe do interpretacji.



Rys. 3.6. Klasyfikacja obrazów interferencyjnych warstwy lipidowej zarejestrowana w interferometrze DR-1 [118].

Do oceny grubości oraz stopnia zaburzeń warstwy lipidowej filmu łzowego Yokoi [118] zaproponował subiektywną ocenę zarejestrowanych obrazów interferencyjnych w stopniach od 1 do 5 (Rys. 3.6). W przyporządkowaniu stopnia oceny, brane są pod uwagę kolory i jednorodność obrazów. Jednolite obrazy odpowiadają gładkiej warstwie lipidowej przypisuje się im niższy stopień. Stopnie od trzeciego do piątego traktowane są, jako objaw potencjalnego zagrożenia zespołem suchego oka. Pojawiła się również próba zastosowania kolorymetrii do ilościowej oceny zaburzenia w warstwie lipidowej [34].

Do oceny dynamiki topografii filmu łzowego zaproponowano również pomiary w układzie Twyman'a-Green'a [62]. Na skutek interferencji płaskiej fali odniesienia z falą odbitą od zewnętrznej powierzchni łez tworzone są prążki dające informacje o gładkości filmu łzowego. Metoda ta daje możliwość utworzenia topograficznych map powierzchni filmu łzowego.

Dubra zaproponował interferometr z podwójnym przesunięciem czoła fali (*double lateral shearing*) [25,26]. Jest to inne rozwiązanie interferometru LS prezentowanego w niniejszej pracy. Fala światła po odbiciu od warstwy łez dzielona jest na dwie fale przechodzące przez klin optyczny każda, dzięki czemu otrzymuje się parę interferogramów. Powierzchnia filmu łzowego może być mierzona w dwóch kierunkach. Analizowane są mapy fazowe otrzymanych obrazów dające możliwość odtworzenia topografii warstwy łez.

3.9. Pomiary aberracji oka

Jedną z metod pomiaru optycznych własności oka jest pomiar aberracji oka. Zaburzenia gładkości filmu łzowego na rogówce powodują lokalne zmiany mocy optycznej przedniego odcinka oka. Zaburzenia filmu łzowego można traktować jak filtr fazowy. Wpływają one na

aberracje wyższych rzędów i przez to na jakość widzenia. Dopiero w ostatnich latach, jednak, zaczęto poddawać uwadze ważny wpływ filmu łzowego na otrzymywany wynik aberracji oka [70,71,120]. Zwrócono uwagę na zmiany aberracji oka w czasie pomiaru. Większe aberracje zarejestrowano zaraz po mrugnięciu oka, które następnie osiągają minimum i znowu rosną. Zaobserwowano również wyższe aberracje u osób z syndromem suchego oka. Prowadzone są dalsze badania nad oceną gładkości filmu łzowego poprzez pomiar aberracji oka oraz podejmowane są próby ilościowego opisu zmian jakości obrazu siatkówkowego [60].

3.10. Podsumowanie

Stosowane metody opierają się na prostym pomiarze ilości wytwarzanych łez, bądź też subiektywnej ocenie stabilności / gładkości filmu łzowego między mrugnięciami. Najbardziej popularnymi metodami pomiaru stosowanymi w praktyce klinicznej jest: test Schirmera, który daje jedynie informację o ilości wydzielanych łez oraz obserwacja zachowania się łez przy użyciu biomikroskopu i środka poprawiającego kontrast podczas obserwacji, czyli test fluoresceinowy i test z różem bengalskim. Metody te są inwazyjne, charakteryzują się słabą powtarzalnością [39] i są nieprzyjemne dla pacjenta. Podanie pomocniczego środka, takiego jak fluoresceina dodatkowo zaburza stabilność łez, powodując podrażnienie, często łzawienie, a różnice w objętości podawanej kropli i pH roztworu mają znaczny wpływ na różnice w wynikach.

Istnieją również metody nieinwazyjne oceniające ilość filmu łzowego. Jest to metoda badająca menisk łzowy. Ocena wysokości menisku łzowego nie jest jednak dokładnym pomiarem ilości wydzielanych łez, lecz raczej wstępną obserwacją, pozwalającą na wykrycie pewnych patologii. Jedną z najnowszych nieinwazyjnych metod jest pomiar fałd spojówkowych – metoda LIPCOF. Jest to jednak metoda subiektywna i wymaga doświadczenia ze strony lekarza. Obie te metody nie pozwalają na ocenę gładkości filmu łzowego na rogówce. Są one jednak łatwo do wykonania, gdyż obserwacja fałd i menisku odbywa się w lampie szczelinowej dostępnej w każdym gabinecie okulistycznym.

Jednym z parametrów ilościowych określających jakość filmu łzowego jest czas, jaki upłynął między mrugnięciem a pojawieniem się przełomu w filmie łzowym (BUT – *Break-Up Time*). Ocena tego czasu jest jednak subiektywna. Według przeprowadzonych testów [14] nie istnieje korelacja między BUT mierzonym metodą inwazyjną, taką jak test fluoresceinowy i test z różem

bengalskim, a metodą nieinwazyjną NIBUT (*Noninvasive Break-Up Time*) przeprowadzony np. za pomocą TearScope'u.

Ze względu na funkcję warstwy lipidowej i wpływ grubości warstwy lipidowej na stabilność filmu łzowego [43], jako technikę diagnostyczną suchego oka stosuje się również metody oceniające grubość warstwy lipidowej. Meibometria jest metodą pozwalającą na ilościowe określenie objętości lipidów w filmie łzowym [117].

Grubość zewnętrznej warstwy lipidowej jest mierzona również za pomocą interferometrii [117]. Ocena jakości filmu łzowego odbywa się poprzez analizę prążków interferencyjnych, bądź barwnych obrazów otrzymanych przez odbicie światła od zewnętrznej i wewnętrznej powierzchni warstwy lipidowej. Interpretacja tego typu danych jest bardzo trudna. Metoda pomiaru oparta na interferencji cienkich warstw udowodniła korelację między syndromem „suchego oka” i grubością filmu łzowego [35,75,118].

Stosowane są również nowe nieinwazyjne metody pomiaru: widekeratostopia [47,73] i dynamiczna aberrometria [60], które mierzą topografię warstwy łez na rogówce. Są to metody określające zarówno czas powstawania przełomu w filmie łzowym (BUT), jak i szybkość rozprowadzania się filmu łzowego zaraz po mrugnięciu (*build-up time*). Badania geometrii filmu łzowego nie są wystarczająco czułe i dokładne, by być w stanie zarejestrować zjawiska, które obserwowane są w metodach interferencyjnych.

Alternatywą do interferencyjnej metody shearingu poprzecznego pomiaru gładkości filmu łzowego jest metoda zaproponowana przez Dubra [25,26], która wydaje się być bardziej skomplikowana w konstrukcji układu, a przez to trudniejsza do kalibracji.

Jak przedstawiono powyżej istnieje obecnie wiele technik diagnostycznych związanych z określeniem stabilności i jakości filmu łzowego. Jednakże większość metod stosowanych w praktyce klinicznej jest jakościowa i subiektywna, a prezentowane wyniki nie są powtarzalne i jednoznaczne [14]. Jedną z najdokładniejszych metod pozwalających na bezkontaktowy pomiar topografii powierzchni jest interferometria. W pracy wykorzystano czułość i nieinwazyjność interferometrii do pomiaru kinetyki warstwy łez na rogówce oka.

II. METODA POMIARU I ANALIZY

4. Metoda pomiaru filmu łzowego

4.1. Spójność światła i zjawisko interferencji

Równanie dwóch monochromatycznych fal płaskich można zapisać w postaci:

$$V_1(x,t) = U_{01} \exp[i(\omega t \pm \Phi_1)], \quad (4.1)$$

$$V_2(x,t) = U_{02} \exp[i(\omega t \pm \Phi_2)], \quad (4.2)$$

gdzie: U_0 – amplituda fali,

$\Phi = kx + \varphi_0$ – faza fali,

$k = 2\pi / \lambda$ – liczba falowa,

ω – częstotliwość kołowa,

φ_0 – faza początkowa.

Pojęcie interferencji odnosi się do zjawiska wzajemnego wzmacniania i osłabiania się nakładanych na siebie fal. Zdolność światła do interferencji charakteryzuje spójność (*koherencja*) promieniowania świetlnego. Spójność można zdefiniować jako stabilność różnicy faz fali, zarówno w przestrzeni, jak i w czasie. Przez stabilność w przestrzeni rozumiemy ustalony związek faz pomiędzy dwiema oddzielnymi falami. Przez stabilność w czasie rozumiemy niezmienną fazę w pojedynczej fali [69].

Natężenie światła obserwowane w punkcie nałożenia się dwóch fal zapisanych wzorem (4.1) i (4.2) jest średnią czasową z kwadratu amplitudy fali wypadkowej. Natężenie fali wypadkowej można zapisać:

$$I = V_1 V_2^* = I_1 + I_2 + 2\gamma_{1,2}(\tau) \sqrt{I_1 I_2} \cos \Delta\Phi_{1,2}, \quad (4.3)$$

gdzie $0 \leq \gamma_{1,2}(\tau) \leq 1$ – miara stopnia koherencji wzajemnej dwóch fal,

$\Delta\Phi_{1,2}$ – różnica faz,

τ – różnica czasu przejścia dwóch fal od punktu początkowego do punktu wzajemnego nałożenia się.

Wypadkowe natężenie światła nie jest równe sumie natężeń fal składowych, ale jest powiększone o człon interferencyjny zależny od różnicy faz $\Delta\Phi_{1,2}$ interferujących fal oraz od współczynnika koherencji wzajemnej fal $\gamma_{1,2}$. Zjawisko interferencji zachodzi wtedy, gdy w danym punkcie przestrzeni $\cos \Delta\Phi$ ma wartość stałą. W takim przypadku mówimy o falach spójnych (koherentnych).

Jeśli ośrodek jest jednorodny, czyli nie zmienia się współczynnik załamania ośrodka, to droga optyczna jest iloczynem współczynnika załamania n_o i drogi geometrycznej x przebytej przez nakładane fale. Różnica faz dwóch monochromatycznych fal wynosi wówczas:

$$\Delta\Phi_{1,2} = \frac{2\pi}{\lambda} \Delta(n_o x) = m2\pi, \quad m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots \quad (4.4)$$

Jeżeli fale są spójne, w przestrzeni obserwujemy powierzchnie jednakowego natężenia światła, czyli prążki interferencyjne. Gdy rząd interferencji m jest całkowity (wzór 4.4), powstają maksima interferencyjne, gdy rząd jest połówkowy powstają minima interferencyjne.

Kontrastowość prążków interferencyjnych zależy bezpośrednio od stopnia koherencji γ nakładających się fal. Przy jednakowych natężeniach I nakładanych wiązek światła maksymalne i minimalne natężenie w obrazie interferencyjnym mamy, gdy:

$$I_{\max} = 2I(1 + \gamma_{1,2}) \quad (4.5)$$

$$\text{i } I_{\min} = 2I(1 - \gamma_{1,2}). \quad (4.6)$$

Stąd można obliczyć kontrast prążków interferencyjnych:

$$C = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max} + I_{\min}}. \quad (4.7)$$

Zakładając nadal, że $I = I_1 = I_2$, przy wzajemnej koherencji dwóch fal $\gamma_{1,2}(\tau) = 1$ natężenie w polu nakładania się fal zmienia się od 0 do $4I$. Mierząc kontrastowość obserwowanych prążków interferencyjnych można oszacować stopień koherencji dwóch fal.

4.2. Układ pomiarowy

Do nieinwazyjnego badania stabilności filmu łzowego na rogówce oka wykorzystywany jest w pracy interferometr z poprzecznym przesunięciem czoła fali (*lateral shearing* – LS). Prototyp układu interferometru do pomiaru filmu łzowego został zaprojektowany i zbudowany w grupie badawczej Optyki Widzenia prof. Henryka Kasprzaka.

Interferometr LS należy do grupy interferometrów wspólnej drogi [24]. Oznacza to, że cała wiązka światła odbija się najpierw od badanego obiektu, a dopiero potem zostaje podzielona na dwie fale, z których każda niesie informacje o badanym obiekcie. Elementem *shearing*, czyli dzielącym padającą nań falę i dokonującym przesunięcia dwóch frontów falowych, jest w tym układzie klin optyczny.

W początkowym okresie badania, dotyczące zarówno stabilności filmu łzowego jak i rogówki oka, prowadzone były na wykonanym w zespole interferometrze Twymana-Greena (TG) [62,53]. Otrzymane w interferometrze TG sekwencje obrazów interferencyjnych można było stosunkowo łatwo interpretować ze względu na odniesienie do płaskiego frontu falowego. Niestety, z powodu dużej wrażliwości układu TG na nawet niewielki ruch mierzonego obiektu (w naszym przypadku powierzchni rogówki), w wielu przypadkach nie udawało się zarejestrować pełnych sekwencji interferogramów.

W odróżnieniu od układu interferometru Twymana-Greena w interferometrze LS nie ma wiązki odniesienia, lecz obie interferujące ze sobą wiązki świetlne odbite od poruszającej się powierzchni rogówki są przedmiotowe. Z tego względu układ LS jest bardziej stabilny, mniej wrażliwy na drgania mechaniczne i ruch mierzonego obiektu. Był to argument przemawiający za wyborem interferometru LS do przeprowadzenia serii pomiarów na pacjentach. Utrudnieniem jest natomiast interpretacja interferogramów i potrzeba zastosowania bardziej skomplikowanych technik obliczeniowych do analizy ilościowej otrzymywanych obrazów.

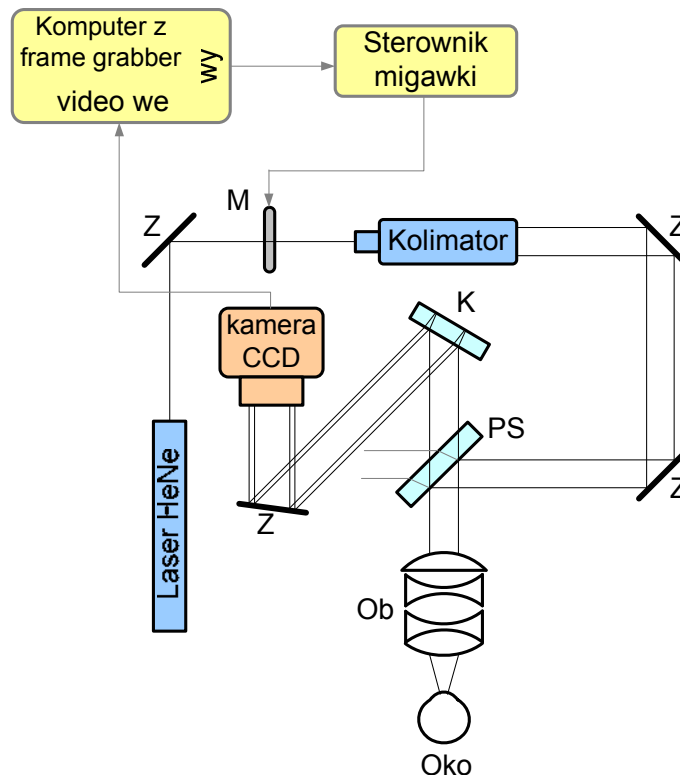
Na Rys. 4.1. przedstawiono schemat interferometru LS użytego do pomiarów. Źródłem monochromatycznej wiązki światła jest laser HeNe emitujący falę o długości $\lambda = 632,8$ nm i mocy 8 mW. Wiązka osłabiana jest przez elektromechaniczną migawkę M (Uni Blitz) synchronizowaną z pracą kamery CCD, która rejestruje obraz i połączona jest za pomocą karty wideo z komputerem. Czas ekspozycji migawki wynosi 1 ms i powtarzany jest co 20 ms.

Impulsy lasera generowane przez migawkę kierowane są do kolimatora. Na wyjściu z kolimatora fala świetlna rozszerzona jest do średnicy 35 mm. Następnie skolimowana fala kierowana jest przez zwierciadła na płytkę światłodzielną PS, od której ulega odbiciu 5% padającego światła i kierowane jest za pomocą peryskopowego układu zwierciadeł do obiektywu

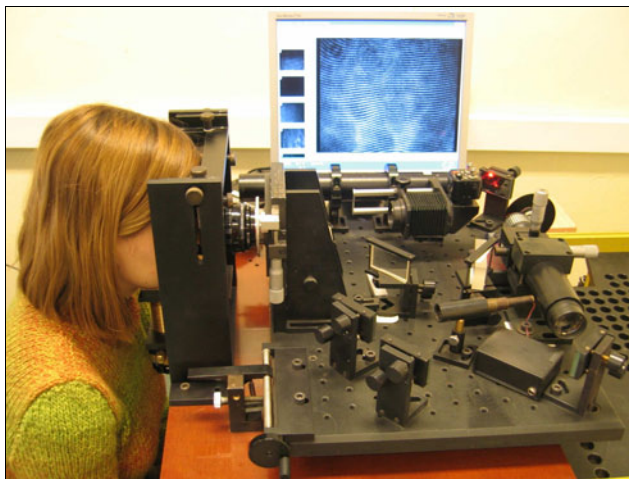
Ob. Układ peryskopowy dla uproszczenia nie został zaznaczony na schemacie. Pozostała część światła przechodzi przez płytkę i nie bierze udziału w pomiarze. Obiektów zamienia padający nań płaski front falowy na sferyczny, który następnie pada na warstwę łoż na oku. Wskutek odbicia kształt frontu falowego zawiera informację o gładkości rozproszonyj na rogówce zewnętrznej warstwy łoż.

Fala odbita od powierzchni łoż przechodzi ponownie przez płytkę światłodzielącą i pada na klin optyczny K. Na klinie zachodzi odchylenie kątowe w pionie i przesunięcie poprzeczne w poziomie padającego frontu falowego. Uzyskuje się dwa spójne fronty falowe, które ze sobą interferują. Powstały w ten sposób obraz interferencyjny jest rejestrowany przez kamerę CCD i przekazywany do komputera umożliwiającego obserwację obrazu podczas rejestracji.

Opisany układ pomiarowy został zmodyfikowany w pracy doktorskiej. Zastosowano klin optyczny o większym niż do tej pory stosowanym kącie wewnętrznym. Kąt wewnętrzny nowego klina wynosi $\beta = 1'20''$, co pozwoliło uzyskać większą liczbę prążków interferencyjnych w obrazie. Zmieniono w układzie również uchwyt na kolimator, dodano układ fiksujący oko oraz przystosowano układ do przeprowadzenia pomiarów na licznej grupie pacjentów w klinice okulistycznej (Rys. 4.2.).



Rys. 4.1. Schemat układu pomiarowego, interferometru z poprzecznym przesunięciem czoła fali (LS):
 Z – zwierciadło, M – migawka elektromechaniczna, K – klin optyczny,
 PS – płytkę światłodzielącą, Ob – obiektyw.



Rys. 4.2. Fotografia układu pomiarowego.

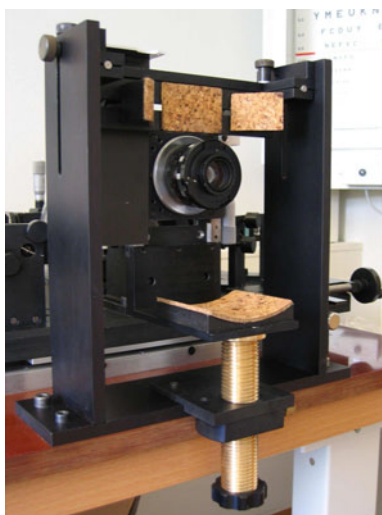
4.3. Stabilizacja obiektu badanego

Techniki interferencyjne należą do bardzo czułych pomiarów i wymagają, aby badane obiekty były stabilne. Gałka oczna wykonuje ciągłe, szybkie i złożone mikroruchy [49]. Ruchy obrotowe gałki ocznej powodują przemieszczenie w płaszczyźnie rogówki, a ruchy pulsacyjne powodują przemieszczenie rogówki wzdłuż osi widzenia. W pomiarach *in vivo* niemożliwe jest całkowite unieruchomienie oka. W celu ustabilizowania głowy pacjenta został zaprojektowany specjalny uchwyt – stabilizator głowy (Rys 4.3.). Każdy element stabilizatora ma możliwość przesuwu, aby móc dostosować stabilizator do indywidualnych rozmiarów głowy pacjenta. Czoło pacjenta stabilizowane jest przez dwa elementy z prawej i lewej strony. Uchwyt na czoło umożliwia płynny przesuw w poziomie, a podpórka na brodę w pionie. Pozwala to na wstępne, zgrubne dopasowanie położenia głowy względem układu pomiarowego.

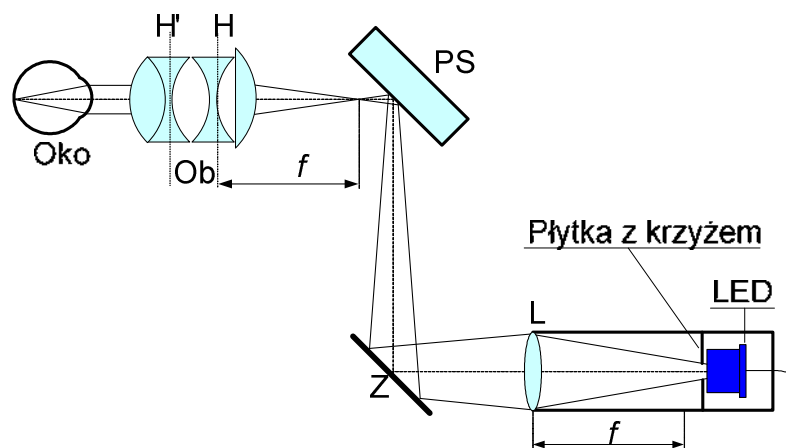
W celu stabilizacji oka zastosowano układ fiksujący oko (Rys. 4.4.), czyli układ pozwalający na chwilowe skupienie uwagi badanego. Pacjent obserwuje badany okiem środek pulsującego niebieskiego krzyża, który dobrze kontrastuje z czerwonym tłem pochodzącym od światła z lasera. Na Rys. 4.4. wyjaśniono, jak kierowane jest światło z fiksatora do oka. Niebieska dioda LED oświetla płytkę z wyciętym krzyżem, która jest umieszczona za ogniskiem soczewki L dodatkowego układu optycznego. Dzięki temu zbieżna wiązka światła skupia się w ognisku obiektywu Ob interferometru. W efekcie obraz siatkówkowy krzyża ma najmniejszy rozmiar [93].

Pomimo zastosowania stabilizatora głowy i fiksatora oka, istnieje potrzeba korygowania dopasowania osi optycznych oka i obiektywu podczas pomiaru. Obiektiw kierujący wiązkę

światła na oko zamocowany jest w układzie peryskopowym. Śruba mikrometryczna umożliwia przesuw w pionie górnego zwierciadła układu peryskopowego wraz z obiektywem. Pozwala to na precyzyjną korekcję położenia osi optycznej oka i obiektywu w pionie podczas badania. Precyzyjna korekcja położenia w poziomie dokonywana jest za pomocą przesuwu całej płyty układu pomiarowego, do której przymocowano specjalny uchwyt z gwintem.



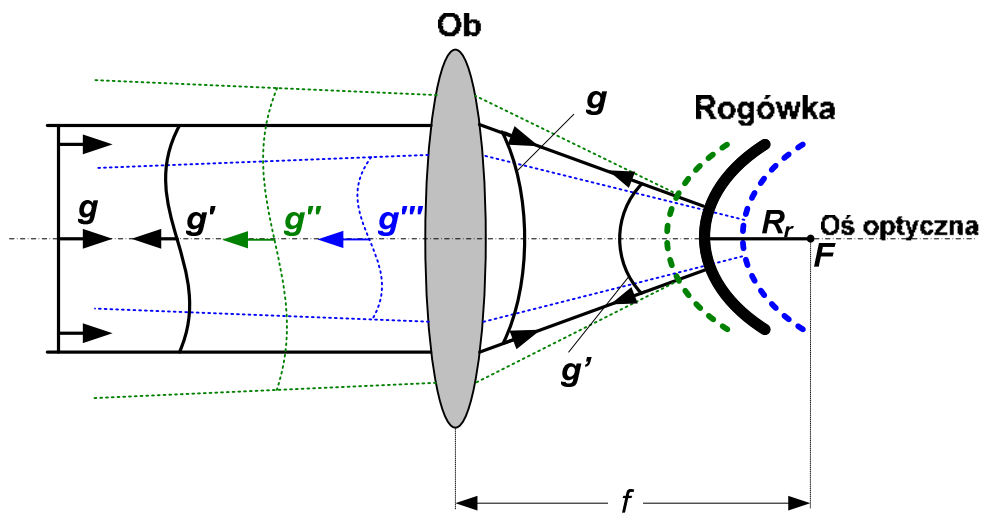
Rys. 4.3. Stabilizator głowy podczas pomiaru.



Rys. 4.4. Schemat układu optycznego do fiksacji badanego oka:
Ob – obiektyw, PS – płytki światłodzielająca, f – ogniskowa, L – soczewka,
Z – zwierciadło, LED – dioda elektroluminescencyjna,
H i H' – płaszczyzny główne obiektywu, odpowiednio przedmiotowa i obrazowa.

4.4. Rola obiektywu

W obiektywie układu pomiarowego dokonywana jest zamiana padającego nań płaskiego frontu falowego na sferyczny, który następnie pada na rogówkę oka. Na Rys. 4.5. przedstawiono bieg promieni w układzie obiektyw – oko. Oko powinno być ustawione w taki sposób, aby ognisko obiektywu (Ob) pokrywało się w miarę możliwości ze środkiem centralnej krzywizny rogówki (F). Dzięki takiemu ustawieniu oka fala światła po odbiciu od zewnętrznej warstwy łoż, lipidowej, wraca po tej samej drodze do obiektywu i zamieniana jest na falę quasiplanarną (prawie płaską). Ze względu na aberracje obiektywu, odstępstwo rogówki od sfery, rozogniskowanie układu optycznego oko – obiektyw oraz lokalne zaburzenia w gładkości filmu łzowego, odbita fala po przejściu przez obiektyw nie jest idealnie płaska.



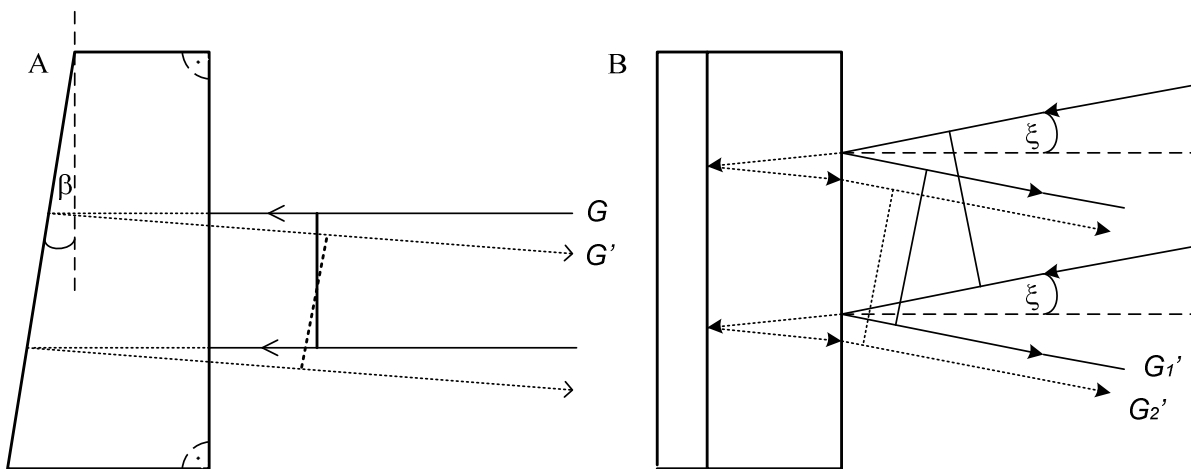
Rys. 4.5. Bieg promieni przez obiektyw przed i po odbiciu od rogówki oraz wpływ położenia oka podczas pomiaru na bieg odbitego frontu falowego: Ob – obiektyw interferometru, g – front falowy padający na rogówkę, g' – front falowy odbity, g'' , g''' – front falowy odbity, gdy nastąpiła zmiana odległości rogówka – obiektyw, f – ogniskowa obiektywu, R_r – centralny promień krzywizny zewnętrznej powierzchni rogówki.

Na Rys. 4.5. czarnym kolorem zaznaczono idealny bieg promieni świetlnych. Zmiana położenia oka wzdłuż osi optycznej układu powoduje zmianę odległości rogówka – obiektyw. Środek centralnej krzywizny rogówki leży wtedy przed lub za ogniskiem obiektywu. Odbity wówczas front falowy po ponownym przejściu przez obiektyw tworzy front zbieżny (niebieski) lub rozbieżny (zielony). W konsekwencji ulega zmianie rozkład kształtu frontu falowego po powtórny przejściu przez obiektyw.

4.5. Powstawanie prążków interferencyjnych w interferometrze z klinem optycznym

Część frontu falowego padającego na klin optyczny ulega odbiciu od przedniej powierzchni klina (front falowy G), część załamuje się i dochodzi do tylnej powierzchni klina, tutaj ulega ponownemu odbiciu (front falowy G') i załamaniu, co pokazano na Rys. 4.6. Wewnętrzny kąt klina w przekroju pionowym β zapewnia pochylenie obu frontów falowych względem siebie wzdłuż osi poziomej, dzięki czemu dla płaskiego frontu możliwe jest otrzymanie regularnych i równoległych, poziomych prążków. Poprzez ustawienie klina pod kątem około $\xi = 15^\circ$ między styczną do powierzchni klina, a kierunkiem propagacji fali uzyskuje się poziome przesunięcie poprzeczne frontu odbitego od przedniej powierzchni G względem frontu odbitego od tylnej powierzchni G' .

Jeśli dwa interferujące ze sobą fronty falowe są prawie płaskie, to rejestrowane prążki interferencyjne są poziome i równoodległe. Zmiana odległości rogówka – obiektyw powoduje rozogniskowanie układu optycznego i zmianę częstości i nachylenia obserwowanych prążków interferencyjnych. Położenie oka musi być zatem korygowane podczas pomiaru.

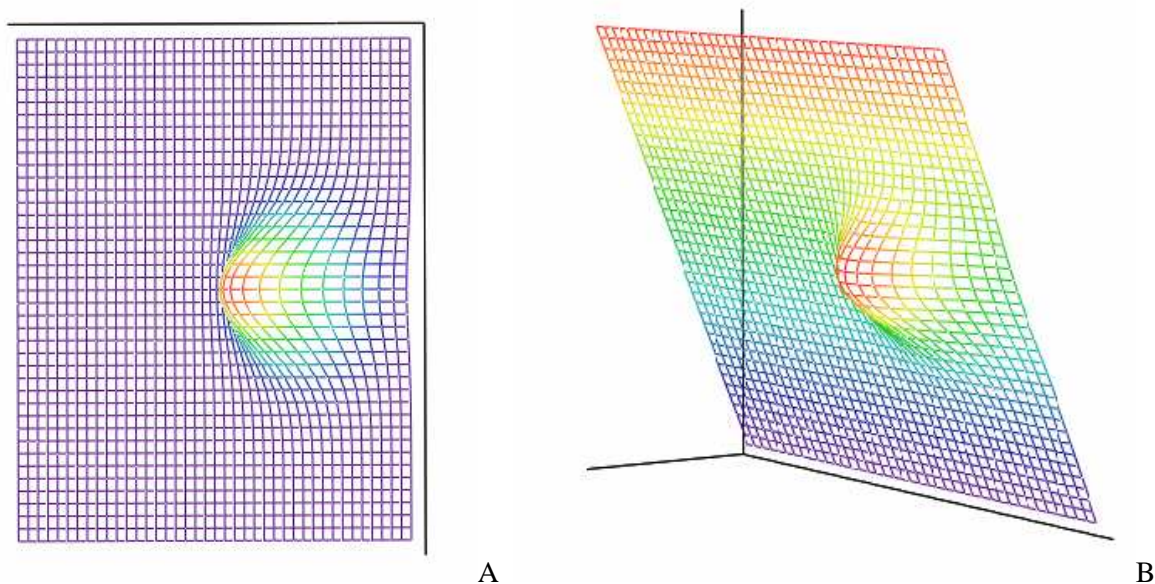


Rys. 4.6. Bieg promieni przez klin optyczny, widok z boku (A) i z góry (B).

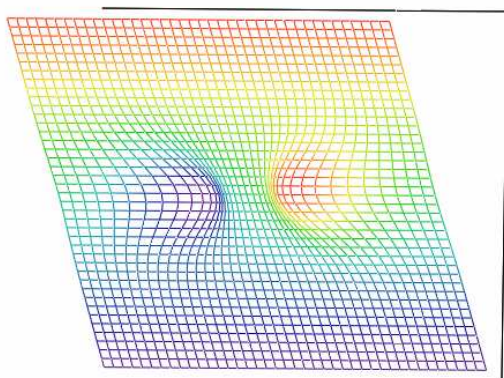
Różnica dróg optycznych między frontami falowymi G i G' wynosi około 30 mm. Przy długości koherencji lasera zastosowanego do pomiaru – kilka metrów – obserwuje się wysoko kontrastowe prążki interferencyjne.

Na Rys. 4.7.-4.9. wyjaśniono przykładowo powstawanie obrazów prążkowych w układzie interferometru z opisanym klinem optycznym. Niech na klin optyczny pada czoło fali opisane funkcją Gaussa. Na rysunku 4.7.A przedstawiano czoło fali odbitej od pierwszej powierzchni klina, a na rysunku 4.7.B prezentowane jest czoło fali odbitej od drugiej powierzchni klina, które

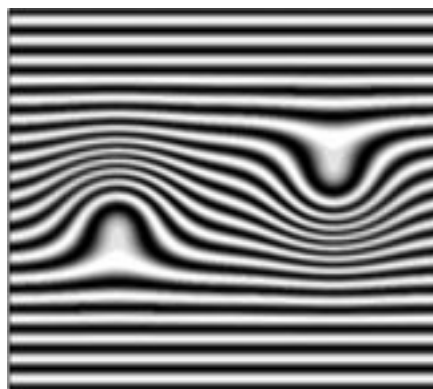
jest przesunięte i nachylone w stosunku do pierwszego czoła fali. Różnica między dwoma czołami fal odbitych przedstawiona została na Rys. 4.8. Powstałe prążki interferencyjne są warstwicami różnicy czoł fal (Rys. 4.8.). Jak widać, jedno zaburzenie czoła fali skutkuje podwójnym zaburzeniem w prążkach interferencyjnych.



Rys. 4.7. Modelowe czoła fali o lokalnym gaussowskim rozkładzie zaburzenia.
A) Pierwsze czoło fali G_1' , B) Drugie czoło fali G_2' .



Rys. 4.8. Modelowe przedstawienie różnicy czoł falowych.



Rys. 4.9. Interferogram typu shearing będący warstwicami różnicy czoł falowych.

4.6. Praca kamery

W układzie zastosowano kamerę WAT 535 EX. Kamera w czasie trwania jednej ramki, czyli 40 ms, rejestruje dwa półobrazy (każdy po 20 ms). W standardzie CCIR, w którym pracuje kamera, pełna klatka obrazu ma 768×576 pikseli. W normalnym trybie pracy kamery rejestrowanych jest 25 klatek/s z tzw. wybieraniem międzyliniowym. Oznacza to, że wyświetlana jest w jednym półobrazie co druga linia, np. nieparzysta. W drugim półobrazie wyświetlane są linie parzyste. W programie komputerowym, stworzonym do rejestracji i analizy rejestrowanych obrazów, zastosowano wybieranie co drugiego półobrazu. Zatem rozdzielczość pionowa jest mniejsza, ale unika się dzięki temu przesunięcia między półobrazami. W konsekwencji uzyskuje się obrazy o rozdzielczości 356×288 pikseli.

4.7. Mierzona powierzchnia rogówki

W układzie pomiarowym zastosowano obiektyw fotograficzny Pentacon $f = 50/1.8$. Badany obszar rogówki zależy od liczby aperturowej obiektywu określanej w skali F [52]. Wielkość średnicy obserwowanego obszaru na rogówce jest odwrotnie proporcjonalna do liczby aperturowej obiektywu.

Kąt połówkowy apertury użytego do pomiaru obiektywu wynosi $\theta \cong 15,5^\circ$, a jego średnica $d = 25$ mm. Zewnętrzną powierzchnię rogówki można w przybliżeniu opisać wycinkiem sfery o promieniu R_r , wysokości h i szerokości $2a$ (Rys. 4.10.). Powierzchnia oświetlona S_r tego wycinka wynosi wtedy:

$$S_r = \pi(h^2 + 2a^2) \quad (4.8)$$

Z trójkąta prostokątnego o bokach a , b , R_r otrzymujemy następujące zależności:

$$a = R_r \sin \theta, \quad (4.9)$$

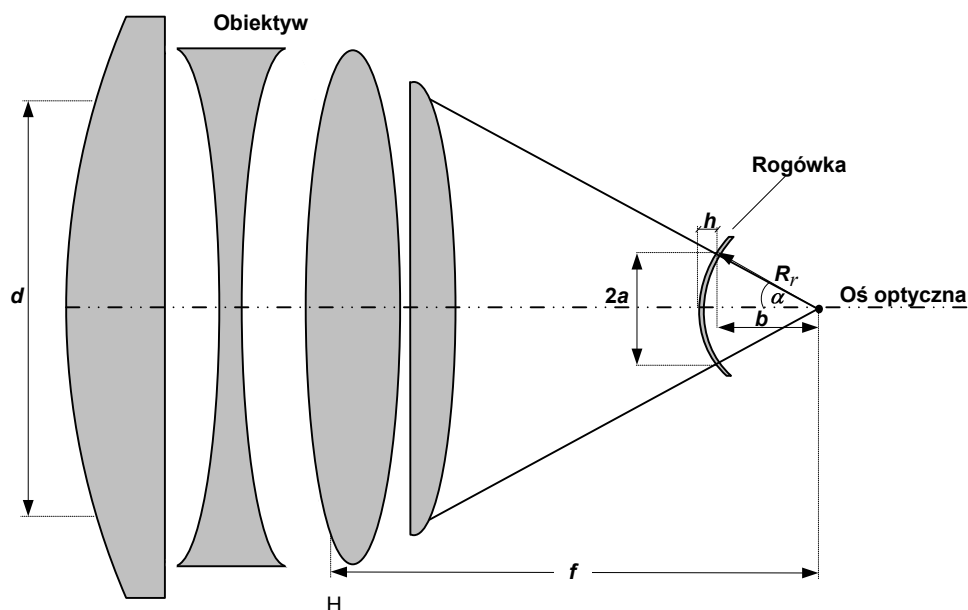
$$b = R_r \cos \theta, \quad (4.10)$$

$$h = R_r - b. \quad (4.11)$$

Po podstawieniu równania (4.9) i (4.10) do (4.11) otrzymuje się:

$$h = R_r (1 - \cos \theta). \quad (4.12)$$

Wstawiając dane liczbowe: $\theta = 15,5^\circ$ oraz $R_r = 7,8$ mm [94] do (4.9) i (4.12) uzyskujemy informacje o średnicy $2a = 4,2$ mm, oraz o powierzchni oświetlanego wycinka rogówki $S_r \cong 2,8 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2$.



Rys. 4.10. Wyznaczenie oświetlanego obszaru rogówki,

θ – kąt połówkowy apertury użytego do pomiaru obiektywu, d – średnica czynna obiektywu,
 b – odległość od środka krzywizny rogówki do podstawy wycinka sfery rogówki,
 h – wysokość wycinka sfery rogówki, na który pada fala światła, H – płaszczyzna główna obrazowa
 obiektywu, $2a$ – szerokość wycinka sfery rogówki, na który pada fala światła

4.8. Przebieg pomiaru

W celu przeprowadzenia serii pomiarów na grupie pacjentów, zaistniała potrzeba dynamicznej akwizycji obrazów i możliwości automatycznej obróbki całej sekwencji interferogramów obrazujących zmianę stabilności łez. Analiza polega na rejestrowaniu dwudziestosekundowych filmów wideo. Na początku każdego pomiaru pacjent proszony był o pełne mrugnięcie i następnie o powstrzymanie mrugania i skupienie wzroku na punkcie fiksacji do końca nagrania. Komputer rejestruje 25 klatek / s. Każda z zarejestrowanych klatek przedstawia obraz prążków interferencyjnych, odzwierciedlający chwilowy stan powierzchni filmu łzowego z obszaru centralnej części rogówki.

Do dalszej analizy numerycznej wyselekcjonowane są sekwencje klatek z wybranym przedziałem czasowym. W celu ilościowej oceny kinetyki filmu łzowego podczas całego dwudziestosekundowego nagrania, analizowana była co piąta klatka, czyli klatki zarejestrowane co 200 ms. Do analiz krótkich przedziałów czasowych sekwencji wideo, analizowano każdą klatkę, czyli co 40 ms.

W dalszej części pracy zostaną przedstawione wyniki eksperymentalne. Przedstawiane zostaną przykładowe sekwencje wybranych klatek wraz z podaniem przy nich czasu po mrugnięciu oka. Należy zatem zdefiniować moment początkowy, od którego rozpoczęto liczenie

czasu. Ponieważ trudno jest określić dokładnie moment, w którym oko jest już w pełni otwarte, za czas początkowy przyjęto ostatnią ciemną klatkę sugerującą, iż powieka jest jeszcze zamknięta.

4.9. Bezpieczeństwo pracy z laserem

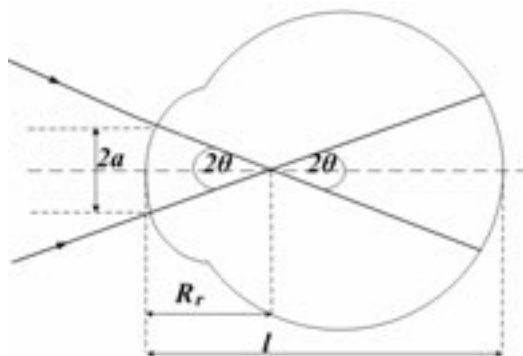
Przy prowadzeniu badań *in vivo* na oku z wykorzystaniem światła laserowego istotnym zagadnieniem jest zachowanie wszelkich możliwych środków ostrożności. Niezbędne jest przestrzeganie norm określających maksymalne natężenia wiązki na rogówce i siatkówce oka oraz związanych z tym maksymalnych czasów ekspozycji.

Oko jest narządem najbardziej podatnym na szkodliwe skutki promieniowania laserowego. Tkanki oka zawierają duże ilości barwników silnie pochłaniających promieniowanie z zakresu widzialnego i bliskiej podczerwieni. W zakresie długości fal od 400 do 1400 nm największym zagrożeniem dla oka jest uszkodzenie siatkówki. W przypadku, gdy na oko pada fala płaska promieniowanie wnikające do oka jest ogniskowane na siatkówce. Następuje wzrost natężenia promieniowania pomiędzy $2 - 5 \cdot 10^5$ przy maksymalnym rozszerzeniu źrenicy oka. [77]. Fala padająca na oko w układzie LS jest falą sferyczną zbieżną (Rys. 4.11.), nie jest zatem skupiana na siatkówce oka po przejściu przez rogówkę. Oświetlana powierzchnia siatkówki wynosi około 119 mm^2 .

Ze względu na oddziaływanie z tkanką biologiczną, lasery podzielono na klasy. Zasady bezpiecznej pracy z urządzeniami laserowymi podano w Polskiej Normie PN-EN 60825-1:2005 (Bezpieczeństwo urządzeń laserowych – Część 1: Klasyfikacja sprzętu, wymagania i przewodnik użytkownika). Laser emitujący promieniowanie widzialne w przedziale długości fal od 400 do 700 nm zaklasyfikowano jako laser klasy 2.

Najwyższy poziom promieniowania laserowego nie powodujący obrażeń oczu lub skóry jest określony jako Maksymalna Dopuszczalna Ekspozycja – MDE. MDE zależy od długości fali promieniowania laserowego, czasu trwania impulsu laserowego, czasu ekspozycji, rodzaju tkanki narażonej na promieniowanie oraz wymiarów obrazu na siatkówce oka.

W przypadku patrzenia na laserowe źródło rozciągle, MDE jest określana w jednostkach luminancji energetycznej $\text{W/m}^2\text{sr}$.



Rys. 4.11. Schemat padania światła laserowego na siatkówkę oka.
Długość gałki ocznej w przybliżeniu wynosi $l = 24$ mm.

Moc wiązki oświetlającej rogówkę w układzie z migawką elektromechaniczną została zmierzona miernikiem mocy i wynosi $P = 1,6 \mu\text{W}$. Przy założeniu, że czas oświetlania oka podczas całej procedury pomiaru wynosi około 200 s, na siatkówkę pada promieniowanie o energii w przybliżeniu równej $12 \text{ J/m}^2\text{sr}$.

Przy założeniu ciągłej pracy lasera o długości fali z przedziału 400 do 700 nm i czasu naświetlania rogówki podczas pomiaru z przedziału 10 do 10^3 s, odpowiednia MDE odczytana z tablic z ww. normy wynosi:

$$\text{MDE} = 18 \cdot t^{0,75} \text{ W/m}^2\text{sr}. \quad (4.13)$$

Moc światła laserowego padająca na jednostkę powierzchni siatkówki wynosi $0,06 \text{ W/m}^2\text{sr}$. Maksymalny bezpieczny czas ekspozycji światła laserowego na siatkówkę można wyznaczyć podstawiając tę wartość do MDE (4.13). Obliczony bezpieczny czas ekspozycji dla rozpatrywanego przypadku wynosi $t = 8,1 \cdot 10^9$ s. Jest on na tyle długi, że warunki pomiaru możemy uznać za bezpieczne.

4.10. Podsumowanie

1. Metoda interferencyjna jest bardzo czuła i umożliwia pomiary z submikronową dokładnością. Ze względu na mniejszą wrażliwość na drgania mechaniczne i ruch mierzonego obiektu w stosunku do innych interferometrów, w przedłożonej pracy zdecydowano się na wykorzystanie interferometru LS do pomiaru stabilności filmu łożowego na rogówce oka.
2. W celu zmniejszenia nieuniknionych, skokowych ruchów oka, zaprojektowano i zastosowano stabilizator głowy oraz fiksator oka z pulsującym krzyżem. Celem ułatwienia korygowania ruchów oka podczas pomiaru, do układu dodano elementy mechaniczne

umożliwiający precyzyjny przesuw układu pomiarowego względem oka podczas wykonywania pomiaru.

3. Informacja o topografii warstwy łez na rogówce jest zawarta w kształcie odbitego od niej frontu falowego. Na klinie optycznym zachodzi odchylenie kątowe w pionie i przesunięcie poprzeczne w poziomie padającego frontu falowego. Oba interferujące fronty falowe są przedmiotowe, więc jedno zaburzenie czoła fali skutkuje podwójnym zaburzeniem w prążkach interferencyjnych.
4. Interferogramy obrazują zmianę stabilności łez na rogówce w czasie rzeczywistym z częstotliwością 25 Hz. Dzięki zastosowanej dynamicznej akwizycji obrazów możliwa jest automatyczna obróbka całej sekwencji interferogramów.

5. Metoda analizy ilościowej gładkości filmu łzowego

5.1. Metoda ilościowej oceny gładkości filmu łzowego

5.1.1. Podstawy transformaty Fouriera

Transformacja Fouriera umożliwia przedstawienie sygnału zmiennego w czasie w funkcji częstotliwości. W optyce zamiast czasu stosuje się zmienne określające położenie w przestrzeni. Transformata Fouriera jest częstym narzędziem stosowanym do analizy obrazu (funkcji dwuwymiarowej), zapisuje punkty obrazu w zmiennych częstości przestrzennych. Transformata Fouriera dwuwymiarowej funkcji $g(x, y)$ – obrazu – zmiennych przestrzennych będzie reprezentowana następująco:

$$G(f_x, f_y) = \int \int_{-\infty}^{\infty} g(x, y) \exp[-2\pi i(f_x x + f_y y)] dx dy. \quad (5.1)$$

Moduł transformaty Fouriera $|G(f)|$ jest nazywany widmem Fouriera funkcji $g(x, y)$, a podniesiony do kwadratu daje informację o rozkładzie mocy widma, nazywanym również gęstością przestrzenną.

Odwrotna transformata Fouriera jest zdefiniowana jako:

$$g(x, y) = \int \int_{-\infty}^{\infty} G(f_x, f_y) \exp[2\pi i(f_x x + f_y y)] df_x df_y. \quad (5.2)$$

Sygnały otaczającego świata rejestrowane są w pewnych odstępach czasu przez skończoną liczbę próbek. Dyskretyzacja sygnału polega na pomiarze wartości funkcji w określonych odstępach czasu (tzw. próbkowanie). Podobnie jest z cyfrowymi obrazami. Operacje dyskretyzacji sygnału wprowadzają błąd przedstawienia przebiegu funkcji w czasie. Błąd ten jest tym mniejszy, im większa jest częstotliwość próbkowania $f_s = 1/\Delta x$. Częstotliwość próbkowania powinna być co najmniej dwukrotnie wyższa od największej składowej częstotliwości sygnału f_{max} . Ta częstotliwość nazywa się granicą Nyquista: $f_s > 2 f_{max}$. W przeciwnym przypadku może dojść do nakładania się sygnału, czyli tzw. efektu aliasingu.

Przyjmując, że obraz cyfrowy stanowi dwuwymiarowy ciąg liczb. Transformata Fouriera wyznaczoną dla ciągu próbek jest dyskretna transformata Fouriera (DFT). Zdefiniowana jest jako ciąg dyskretny $G(f_x, f_y)$ w dziedzinie częstości:

$$G(f_m, f_n) = \frac{1}{MN} \sum_{m=0}^{M-1} \sum_{n=0}^{N-1} g(m, n) \exp \left[-2\pi i \left(\frac{f_m m}{M} + \frac{f_n n}{N} \right) \right] \quad (5.3)$$

i transformata odwrotna:

$$g(m, n) = \frac{1}{MN} \sum_{f_m=0}^{M-1} \sum_{f_n=0}^{N-1} G(f_m, f_n) \exp \left[-2\pi i \left(\frac{f_m m}{M} + \frac{f_n n}{N} \right) \right], \quad (5.4)$$

gdzie: $g(m, n)$ – obraz w dziedzinie zmiennych przestrzennych,

$m = 0, 1, 2, \dots, M-1$ – ciąg próbek wyjściowych – pikseli w obrazie – DFT w dziedzinie częstotliwości w pionie,

$n = 0, 1, 2, \dots, N-1$ – ciąg wartości próbek w obrazie – DFT w dziedzinie częstotliwości w poziomie,

M, N – liczba próbek ciągu wejściowego oraz liczba punktów częstotliwości w ciągu wyjściowym DFT – rozmiar obrazu.

Aby operacje (5.3) i (5.4) były wzajemnie odwracalne dwuwymiarowy ciąg $G(f_m, f_n)$ przyjmujący wartości ze zbioru liczb zespolonych, posiada dokładnie tyle samo elementów, co dwuwymiarowy ciąg $g(m, n)$ będący reprezentacją obrazu cyfrowego. Indeksy obu ciągów zmieniają się w tych samych zakresach.

Transformata Fouriera jest matematyczną operacją, która określa widmową gęstość obrazu i daje informacje o rozkładzie częstości. Szybka transformata Fouriera (FFT) jest algorytmem obliczenia dyskretnej transformaty Fouriera (DFT), której złożoność obliczeniowa jest o wiele mniejsza, co sprawia, że jest bardzo szybka. Próbkowany sygnał musi mieć jednak długość rzędu $N = 2^k$, gdzie k jest liczbą naturalną. Złożoność obliczeniowa szybkiej transformaty Fouriera (FFT) wynosi $O(M \log_2 N)$, zamiast $O(N^2)$, jak w przypadku DFT.

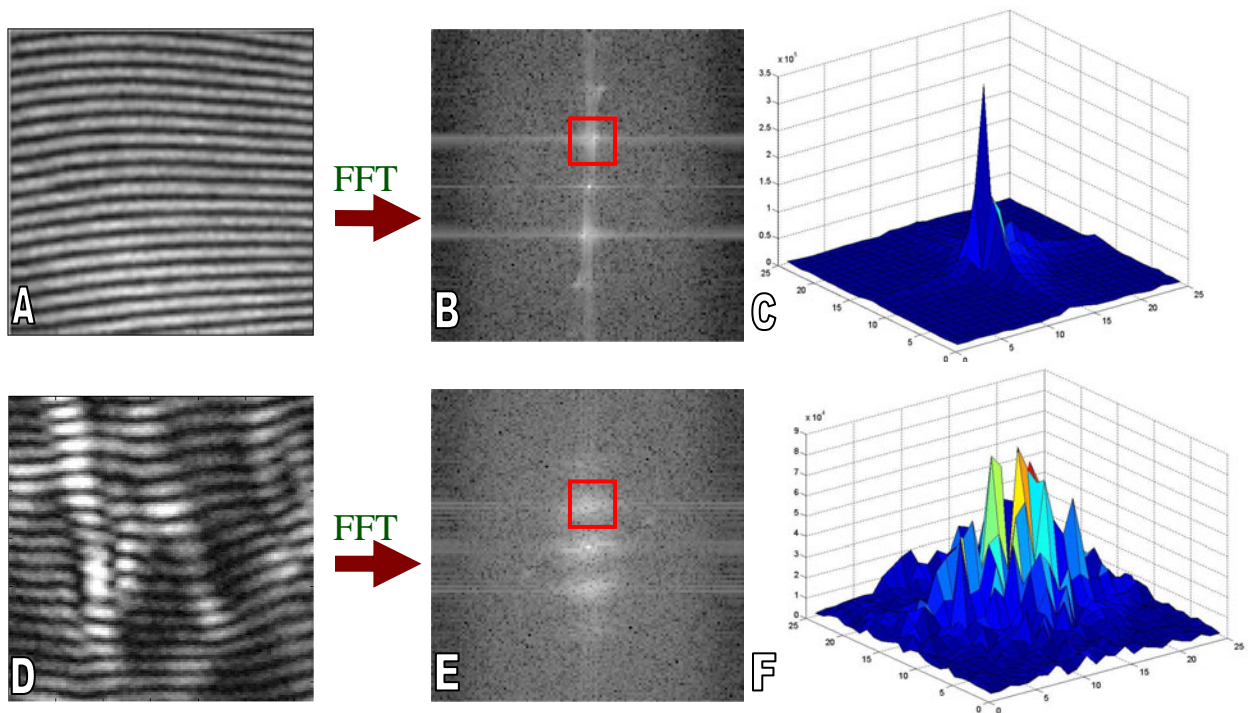
5.1.2. Zastosowanie FFT do analizy interferogramów

Jeśli film łzowy jest równo i gładko rozłożony na powierzchni rogówki, rejestrowane prążki interferencyjne są regularne i równoodległe. Zaburzenie gładkości filmu łzowego powoduje zniekształcenie frontu falowego odbitego od niego i przez to lokalną deformację prążków.

Transformata Fouriera jest narzędziem czułym na zmiany periodyczności analizowanego obrazu. W przypadku równoległych prążków w widmie Fouriera takiego obrazu obserwuje się wyraźny „pik”. Jeżeli prążki interferencyjne są zaburzone i zdeformowane, pierwszy rząd transformaty Fouriera jest rozmyty. W celu ilościowego określenia stopnia nieregularności rejestrowanych prążków interferencyjnych zastosowano szybką transformatę Fouriera (FFT).

Na Rys. 5.1. przedstawiono wpływ kształtu prążków interferencyjnych na analizowanym interferogramie na obraz widma Fouriera. Dla interferogramów (Rys. 5.1.A i D) obliczono szybką transformatę Fouriera – FFT i przedstawiono ją w skali logarytmicznej (Rys. 5.1.B i E).

Czerwonym kwadratem zaznaczono pierwszy rząd widma, którego trójwymiarową reprezentację przedstawiono na Rys. 5.1.C i F. Dla gładkiej, regularnej struktury prążków interferencyjnych pierwszy rząd transformaty Fouriera jest wysoki i ostry, dla prążków o zaburzonej regularności, kształt pierwszego rzędu jest rozmyty.



Rys. 5.1. Ilustracja związku zaburzenia prążków interferencyjnych z rozmyciem pierwszego rzędu widma Fouriera:
 A) i D) fragment interferogramu 128×128 pikseli,
 B) i E) jego widmo Fouriera w skali logarytmicznej,
 C) i F) trójwymiarowa reprezentacja pierwszego rzędu widma Fouriera.

Do oceny stopnia rozmycia pierwszego rzędu widma Fouriera wykorzystano wartość jego momentu drugiego rzędu. Moment drugiego rzędu, nazywany często momentem bezwładności, jest miarą koncentracji energii świetlnej wokół środków plus i minus pierwszego rzędu widma Fouriera. Z widma Fouriera interferogramu wycinany jest fragment o stałym rozmiarze zawierający pierwszy rząd transformaty w taki sposób, aby środek pierwszej harmonicznej znajdował się w środku wycinanego fragmentu. W tym celu na widmo Fouriera nakładana jest maska schematycznie pokazana na Rys. 5.2. o tym samym rozmiarze, co macierz widma Fouriera. Następnie szukany jest numerycznie piksel w macierzy o największej intensywności leżący w odległości większej niż r_0 i mniejszej niż r_2 od środka widma. Wokół wskazanego piksela wycinany jest fragment o boku $2R = 7$ pikseli (Rys. 5.3.).

Indeksacja poszczególnych pikseli w obrębie otrzymanej macierzy przedstawiona jest na Rys. 5.4. Zaproponowano trzy możliwości analizowania rozmycia pierwszego rzędu widma – trzy kształty wycinanej maski z macierzy: kwadrat (Rys. 5.4A), okrąg (Rys. 5.4B) i półokrąg (Rys. 5.4C) [93,98]. Maskę o kształcie półokręgu leży po przeciwnej stronie zerowego rzędu widma. Moment drugiego rzędu liczony jest wg wzoru (5.7) jako suma wartości jasności $I_{p,q}$ wszystkich pikseli w macierzy pomnożonych przez kwadrat odległości $R_{p,q}^2$ danego piksela od środka macierzy. Wartość jasności piksela jest tu liczona jako moduł zespolonej wartości widma Fouriera (wzór 5.8). Wartości te dla każdego piksela są normalizowane (dzielone przez wartość piksela o maksymalnej intensywności I_0) w celu zmniejszenia wpływu kontrastu prążków interferencyjnych na wartość parametru M_s . W przypadku maski okrągłej i półokrągłej, piksele brzegowe brane są pod uwagę z odpowiednim współczynnikiem wagowym $h_{p,q}$ liczonym jako stosunek pola zawartego w masce do pola całego piksela. W zależności od kształtu zastosowanej maski obliczany drugi moment ze wzoru (5.7). nazwano parametrem $M1$ (kwadrat), $M2$ (okrąg) i $M3$ (półokrąg):

$$M_s = \sum_{p=-R}^{p=R} \sum_{q=-R}^{q=R} h_{p,q} \cdot \left(\frac{I_{p,q}}{I_0} \cdot R_{p,q}^2 \right), \quad (5.7)$$

gdzie:

$s = 1, 2, 3$ dla odpowiedniej maski,

h – waga każdego piksela,

$I_{p,q}$ – wartość modułu transformaty Fouriera dla danego piksela,

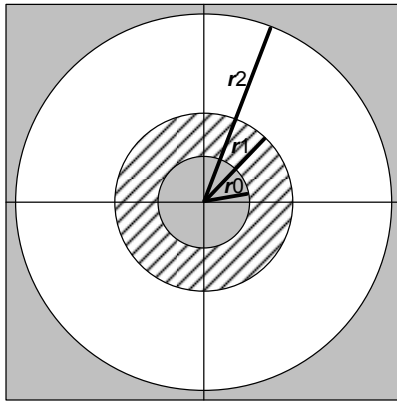
I_0 – wartość modułu środkowego piksela macierzy,

$R_{p,q}$ – odległość danego piksela od centrum maski: $R_{p,q}^2 = (p^2 + q^2)$.

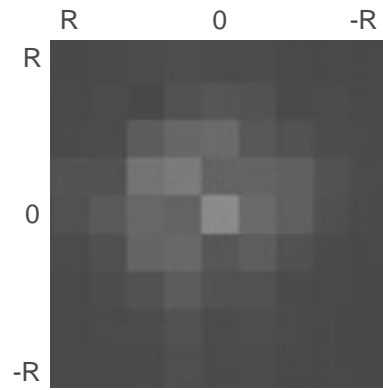
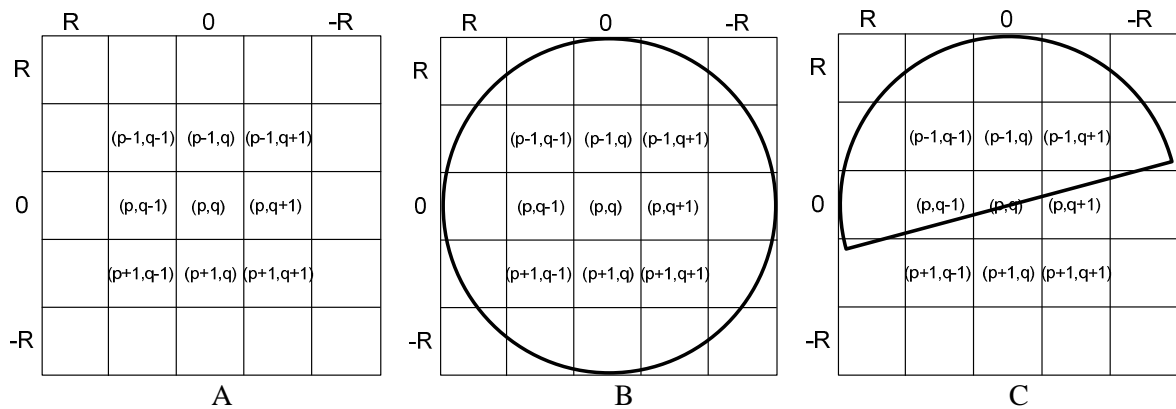
Rozmycie pierwszego rzędu widma wykazuje niekiedy duży stopień lokalnej zmienności, co świadczy o szybkozmiennych zaburzeniach regularności prążków na interferogramie. Zaproponowano również parametr $M4$ oparty na liczeniu różnicy intensywności między sąsiednimi pikselami macierzy:

$$M4 = \sum_{p=-R}^{p=R} \sum_{q=-R}^{q=R} \left(I_{p-1,q} - I_{p,q} \right)^2 + \left(I_{p+1,q} - I_{p,q} \right)^2 + \left(I_{p,q-1} - I_{p,q} \right)^2 + \left(I_{p,q+1} - I_{p,q} \right)^2. \quad (5.8)$$

Parametr ten jest próbą opisaną stopnia zmienności wartości transformaty Fouriera w sąsiednich pikselach macierzy.



Rys. 5.2. Schemat maski nakładanej na widmo Fouriera.

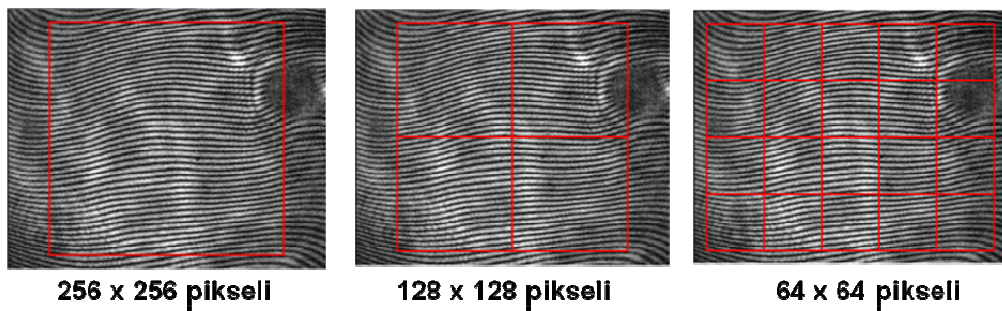
Rys. 5.3. Wycięty pierwszy rząd widma Fouriera wokół piksela o maksymalnej wartości modułu $I_{p,q} = I_0$.Rys. 5.4. Maski nakładane na pierwszy rząd widma Fouriera – trzy proponowane sposoby oceny zaburzenia regularności prążków interferencyjnych: parametr $M1$ (A), $M2$ (B) i $M3$ (C).

Dla regularnych prążków interferencyjnych wartość intensywności środkowego piksela jest wysoka, ale wpływ pikseli w jego otoczeniu jest dużo mniejszy niż w przypadku rozmytego pierwszego rzędu Fouriera na skutek zaburzeń w obrazie interferencyjnym. Wartość parametrów M jest najniższa dla gładkich prążków i rośnie wraz ze stopniem rozmycia pierwszego rzędu widma Fouriera.

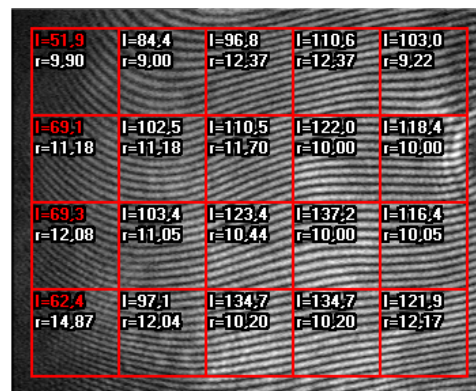
5.2. Sposoby analizy interferogramów

Rejestrowany interferogram ma rozmiar 352×288 pikseli. Pierwszym krokiem analizy jest wybranie fragmentu interferogramu poddawanego analizie. Możliwe są trzy rodzaje analizowania interferogramu – trzy typy okien przedstawione na Rys. 5.5. [93]. Pierwsze okno wycina z obrazu fragment 256×256 pikseli, drugie podzielone jest na cztery części:

128 × 128 pikseli każda, trzecie okno dzieli interferogram na dwadzieścia małych kwadratów, każdy o rozmiarze 64 × 64 pikseli (Rys. 5.5.). Okno może być przesuwane po interferogramie. Umożliwia to wybór najlepszego fragmentu obrazu do analizy. W przypadku drugiego i trzeciego okna, każdy kwadrat – podklatka traktowany jest jako osobny interferogram, dla którego dokonywana jest procedura liczenia szybkiej transformaty Fouriera i parametrów M_s . Dla każdego całego obrazu program wylicza maksymalną i minimalną wartość parametru M_s oraz wartość średnią wraz z odchyleniem standardowym.



Rys. 5.5. Trzy rodzaje okien nakładanych na analizowany obraz.



Rys. 5.6. Przykład zarejestrowanego obrazu, gdy nastąpiło przesunięcie osi widzenia względem osi układu optycznego. Czerwonym kolorem zaznaczono obszary, których średnia wartość jasności jest poniżej wartości progowej.

Przetestowano trzy typy okien. Ruch oka podczas pomiaru zaburza warunki odbicia, co powoduje znaczne obniżenie kontrastowości prążków. Dlatego niektóre zarejestrowane obrazy nie są w pełni pokryte prążkami. Podział obrazu na fragmenty daje możliwość wyboru obszaru klatki zawierającego informację o powierzchni filmu łzowego. W przypadku okna dzielącego obraz na dwadzieścia kwadratowych podklatek, obszar analizy interferogramu wybierany jest na podstawie średniej wartości jasności I w pojedynczym kwadracie. Jeżeli średnia jasność danego obszaru interferogramu jest niższa od ustalonej wartości progowej, obszar ten nie jest brany pod uwagę w analizie. W ten sposób wyeliminowane zostają pozbawione prążków, ciemne obszary

związane z przesunięciem oka względem osi układu optycznego. Jeżeli liczba odrzuconych kwadratów przekroczy wartość n_l (przyjęto analizę minimum połowy klatki: $n_l = 10$), odrzucona zostaje cała klatka. Na Rys. 5.6. zaznaczono czerwonym kolorem średnią intensywność fragmentów klatki poniżej przyjętego progu intensywności.

Ze względu na możliwość automatycznego analizowania jedynie obszarów obrazu pokrytych prążkami interferencyjnymi, zdecydowano się na wybór trzeciego typu okna do analizy klatek.

5.3. Porównanie parametrów M_s

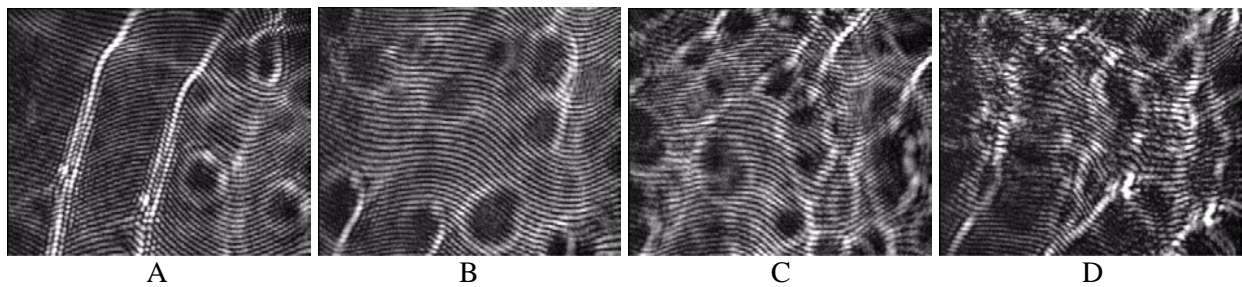
W przypadku drugiego i trzeciego okna, każdy kwadrat – podkładka traktowany jest jako osobny interferogram, dla którego dokonywana jest procedura liczenia szybkiej transformaty Fouriera oraz parametrów M . Dla każdego całego obrazu podawana jest wartość maksymalna i minimalna parametru M oraz wartość średnia wraz z odchyleniem standardowym [93].

Przykładowa sekwencja interferogramów na Rys. 5.7. (P74) przedstawia początkowe wygładzanie się, a następnie zwiększające się w czasie zaburzenie prążków interferencyjnych zarejestrowanych na filmie łzowym na soczewce kontaktowej. Na Rys. 5.8. przedstawiono wykresy zmian wartości parametrów M_1 , M_2 , M_3 i M_4 dla tej sekwencji. Wartości parametrów zostały znormalizowane, aby można je było przedstawić na jednym wykresie. Do aproksymacji zmian parametrów zastosowano funkcję wielomianową. W wyborze stopnia wielomianu kierowano się zmianami wartości współczynnika dopasowania wielomianem do danych pomiarowych R^2 . Jeżeli różnica między współczynnikami dopasowania kolejnymi stopniami wielomianu była mniejsza niż 1 %, to przebieg wartości parametru M_s opisywano najbliższym niższym stopniem wielomianu.

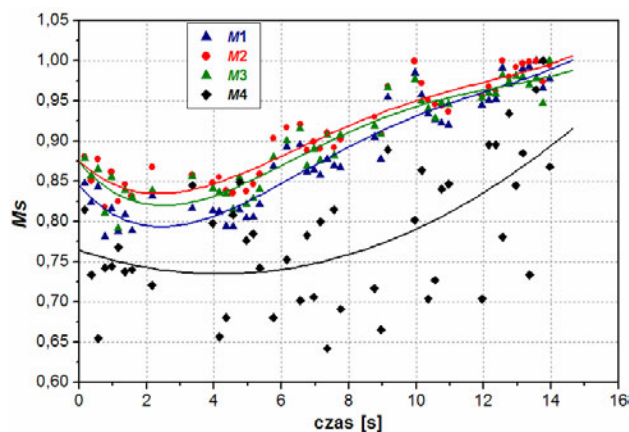
Trzy pierwsze parametry różnią się między sobą jedynie wartościami liczbowymi. Na Rys. 5.8. przedstawiono zmiany w czasie wszystkich czterech parametrów znormalizowanych do jedności. Charakterystyka zmian wartości parametrów M_1 , M_2 i M_3 jest bardzo podobna (Rys. 5.8.). Wszystkie parametry ilustrują zwiększające się w czasie zaburzenie regularności prążków interferencyjnych. Inną charakterystykę zmian obserwuje się natomiast w przypadku parametru M_4 . Zmienność wartości parametru M_4 jest znacznie większa od pozostałych parametrów. Z powodu wysokiej zmienności wartości M_4 , parametr ten nie wskazywał tak wyraźnie różnic stabilności filmu łzowego w przeprowadzanych analizach, jak pozostałe parametry. Niepewność względna δ_{M_s} wyniku parametrów M_s dla każdej analizowanej klatki została przedstawiona na wykresie (Rys. 5.9.). W większości analizowanych sekwencji

niepewność względna wartości parametrów $M1$, $M2$ i $M3$ nie przekraczała 10 % dla pojedynczej klatki. Niepewność względna parametru $M4$ była zawsze wyższa, rzędu $20 \div 30$ %.

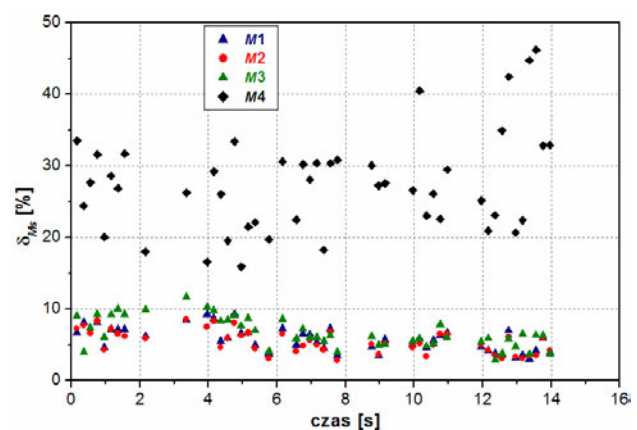
Z dotychczasowych wyników otrzymanych dla parametru $M4$ wynika, iż wymaga on przeprowadzenia dalszych analiz. Na tym etapie w pracy postanowiono na razie zrezygnować ze stosowania tego parametru do ilościowej oceny gładkości warstwy łoż na oku.



Rys. 5.7. Przykładowa sekwencja interferogramów ilustrująca destabilizację warstwy filmu łożowego na soczewce kontaktowej, klatki zarejestrowano 0,56 (A), 4,16 (B), 6,76 (C), 10,76 (D) sekund po mrugnieniu oka.



Rys. 5.8. Wartości parametrów M_s znormalizowane do jedności.



Rys. 5.9. Niepewność względna wartości parametrów M_s dla każdej klatki w sekwencji.

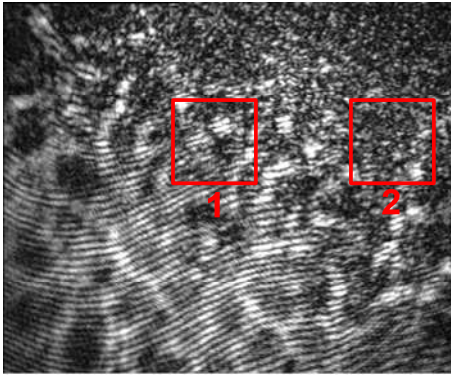
Zdecydowano się analizować pierwszy rząd widma fourierowskiego wycinając z widma fragment o stałej odległości od środka macierzy, czyli od piksela o maksymalnej wartości modułu transformaty. Z tego względu parametr $M1$ został odrzucony. Charakterystyki dynamiki łoż liczone dla parametrów $M2$ i $M3$ są bardzo podobne. W pracy przedstawiono zatem ilościowo kinetykę filmu łożowego za pomocą jednego parametru. Aby można było porównać oba parametry zostały one znormalizowane i estymowane za pomocą funkcji wielomianowej. Następnie porównane zostały współczynniki dopasowania R^2 . Wartości współczynnika R^2 liczone dla stopnia wielomianu od 2 do 6 są wyższe dla parametru $M2$. Porównując niepewności

względne dla pojedynczych klatek obu parametrów, dla prawie wszystkich analizowanych klatek, niepewność względna parametru $M2$ była niższa, niż parametru $M3$. Oznacza to, że parametr $M2$ charakteryzuje się mniejszą zmiennością wyniku. Na tej podstawie, do ilościowej analizy kinetyki filmu łzowego w dalszej części pracy, został wybrany parametr $M2$.

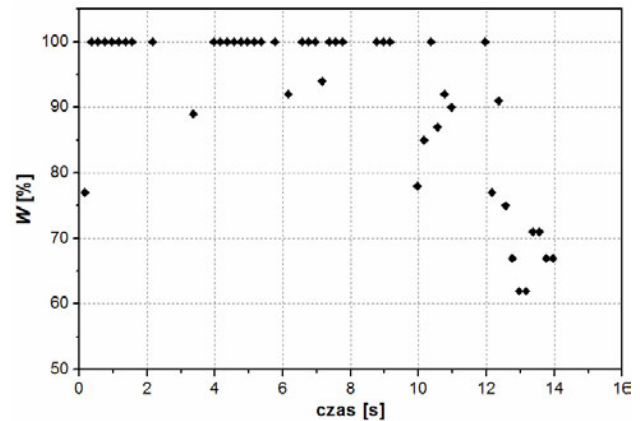
5.4. Wiarygodność wyniku parametru M_s

Jeżeli film łzowy jest niestabilny na mierzonym oku, to może wystąpić częściowe wysuszenie powierzchni rogówki lub soczewki kontaktowej. Zniekształcenie odbitego frontu falowego powoduje na tyle duże zaburzenie regularności prążków interferencyjnych, że stają się one prawie niewidoczne. Na interferogramie obserwowana jest wówczas ziarnista struktura. W widmie Fouriera obrazu, który nie posiada periodycznie zmieniającej się struktury, na skutek rozmycia zerowego i pierwszego rzędu transformaty, nie da się wyróżnić pierwszej harmonicznej widma.

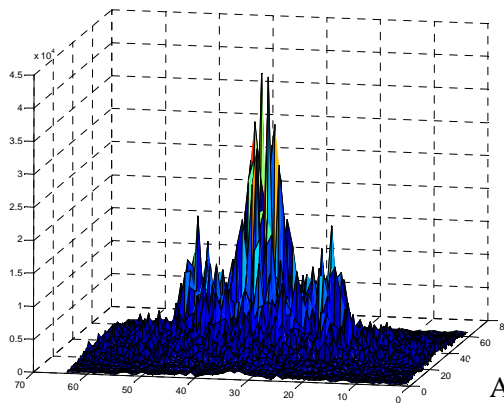
Na Rys. 5.10. przedstawiono przykładowy interferogram, na którym w prawym górnym rogu prążki interferencyjne przestały być widoczne. Poniżej przedstawiono trójwymiarową reprezentację modułu widma fourierowskiego wybranych fragmentów klatki – 64×64 pikseli (Rys. 5.12.). Po nałożeniu na macierz widma Fouriera maski z Rys. 5.2., zasłaniany jest środek macierzy o promieniu r_0 , czyli zerowy rząd widma. Szukany następnie piksel o najwyższej wartości modułu I_0 powinien się znajdować pomiędzy promieniami r_1 i r_2 . W przypadku, gdy prążki interferencyjne są bardzo zaburzone, promień r_0 jest zbyt mały, by zakryć rozmyte zerowy rząd widma i piksel należący jeszcze do otoczenia zerowego rzędu, może być zinterpretowany przez program jako środek macierzy pierwszego rzędu widma Fouriera. Aby tego uniknąć, w masce zdefiniowano obszar większy niż r_0 , ale mniejszy niż r_1 . Jeżeli szukany piksel najwyższej wartości modułu I_0 , zostanie wskazany w tym przedziale, oznacza to, że struktura prążków jest zbyt zaburzona, by analizować rozmycie pierwszego rzędu widma.



Rys. 5.10. Przykładowy interferogram ilustrujący zanikanie prążków interferencyjnych na skutek wysychania powierzchni soczewki.



Rys. 5.11. Wiarygodność wyniku parametru M_s , wyliczona dla sekwencji interferogramów z Rys. 5.8.



Rys. 5.12. Trójwymiarowe reprezentacje widma Fouriera fragmentów klatki przedstawionej na Rys. 5.10. A) Fragment 1, B) Fragment 2.

Dla fragmentu klatki, dla której położenie piksela o najwyższej wartości modułu zostało znalezione w przedziale $r_1 \div r_2$, nie jest liczony składowy parametr M_s . Średnia wartość parametru M_s każdej klatki liczona jest dla K_I liczby fragmentów spełniających warunek intensywności (fragment pokryty prążkami) pomniejszonej o k fragmentów, dla których maksimum pierwszego rzędu szybkiej transformaty Fouriera leży między r_1 a r_2 . Dla każdej analizowanej klatki liczona jest zatem dodatkowo wiarygodności W parametru M_s ze wzoru:

$$W = \frac{K_I - k}{K_I} \cdot 100\% \quad (5.9)$$

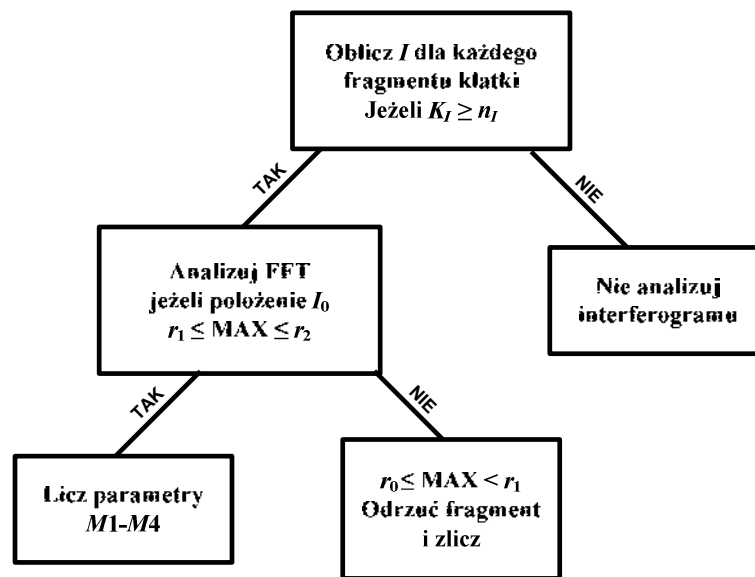
Przykładowy wykres wiarygodności parametrów M pokazanych na Rys. 5.8. przedstawiono na Rys. 5.11. Gdy powierzchnia filmu łzowego staje się coraz bardziej nieregularna na skutek parowania, rosną wartości parametrów M_s i dla końcowych interferogramów maleje wiarygodność wyniku.

Promienie r_0 , r_1 i r_2 maski zostały wyznaczone empirycznie. Przy ich doborze brano pod uwagę widma fourierowskie otrzymane zarówno dla fragmentów klatek z regularnymi, jak i nieregularnymi prążkami. Fragmenty interferogramu różnią się częstością prążków. Od częstości prążków zależy odległość pierwszego rzędu transformaty Fouriera od środka widma. Jeżeli częstość prążków danego fragmentu interferogramu jest zbyt mała, promień r_0 przykładanej do widma maski może okazać się zbyt duży i wygaszać nie tylko zerowy rząd transformaty, nie biorący udziału w analizie, ale również pierwszy rząd transformaty bądź znaczny jego fragment. Wartość promienia r_0 powinna być zatem na tyle duża, aby zakryć rozmyty zerowy rząd widma w przypadku zaburzonych prążków, ale na tyle mała, aby nie nachodzić na pierwszy rząd widma w przypadku prążków o małej częstości. Przy przyjętym założeniu o ujednoczeniu wartości promieni dla wszystkich typów zaburzeń obserwowanych prążków, musieliśmy dopuścić możliwość występowania niewłaściwego dobrania promieni dla pojedynczych fragmentów klatek.

5.5. Algorytm przeprowadzania analizy numerycznej

Na rysunku 5.13. przedstawiono algorytm analizy numerycznej pojedynczego interferogramu w zarejestrowanej sekwencji. Celem przeprowadzenia analizy numerycznej każda klatka, rejestrowanej sekwencji interferogramów, dzielona jest oknem na fragmenty 64×64 piksele. Wartość progowa średniej intensywności I w danym fragmencie dobierana jest dla każdej sekwencji osobno, gdyż zależy od warunków oświetlenia w pomieszczeniu, w którym wykonywane było badanie.

Jeżeli liczba fragmentów interferogramu, spełniająca warunek intensywności, jest większa bądź równa ustalonej liczbie n_f , dana klatka jest brana do dalszej analizy numerycznej. Dla każdego fragmentu takiej klatki jest liczona szybka transformata Fouriera. Następnie na widmo nakładana jest maska dzieląca je na 3 strefy i szukane jest położenie piksela o maksymalnej wartości modułu w odległości większej niż r_0 od środka widma. Jeżeli położenie piksela zostanie znalezione w obszarze pomiędzy r_1 i r_2 , dla danego fragmentu obliczane są 4 parametry M_s . Jeżeli piksel położony jest w obszarze między r_0 i r_1 , dla danego fragmentu interferogramu nie są obliczane parametry składowe, jednak liczba takich fragmentów jest zliczana. Ostatecznie obliczana jest średnia wartość parametrów M_s dla analizowanego interferogramu oraz wiarygodność średniej, która zależy od liczby fragmentów klatki odrzuconych w ostatnim etapie analizy.



Rys. 5.13. Schemat algorytmu analizy numerycznej interferogramów.

Z sekwencji wideo wybierano do analizy numerycznej średnio 90 klatek (wybieranych w dostęпах co piąta klatka dla sekwencji 20 s lub każda klatka dla sekwencji 3-5 s). Poprzez dzielenie każdej klatki oknem na 20 fragmentów 64×64 piksele, procedura FFT była liczona około 1800 razy dla każdej sekwencji pomiaru. Przy zastosowaniu komputera PC z pamięcią RAM 2 x 512Gb i procesorem Intel P4 3,0 GHz, czas trwania obliczeń był rzędu 40 sekund dla pojedynczej sekwencji.

5.6. Podsumowanie

1. Jako miarę zaburzenia regularności prążków interferencyjnych zastosowano zmodyfikowany drugi moment analizujący rozmycie pierwszego rzędu widma Fouriera.
2. Do dalszych analiz numerycznych interferogramów wybrano parametr $M2$. Pierwszy rząd widma wycinany jest w stałej odległości wokół piksela o maksymalnym natężeniu okrągłą maską. Parametr $M2$ charakteryzuje się najmniejszą zmiennością wartości w porównaniu z pozostałymi proponowanymi parametrami.
3. Wybrano dzielenie każdej klatki rejestrowanej sekwencji interferogramów oknem na fragmenty 64×64 piksele. Maskę kładzioną na widmo Fouriera obliczone dla każdego

fragmentu klatki dzieli je na 3 strefy. Daje to możliwość dodatkowej oceny stopnia zaburzenia prążków w całej klatce – wiarygodność wyniku uśrednionego.

4. Niewątpliwą zaletą wyboru okna dzielącego klatkę na 20 małych interferogramów jest możliwość zmniejszenia wpływu ruchu oka przy analizie i analizowania tylko fragmentów interferogramu pokrytych prążkami interferencyjnymi. Wadą natomiast, jest problem doboru promieni maski kładzonej na macierz widma Fouriera z jednoczesnym uwzględnieniem różnego rodzaju zaburzenia prążków interferencyjnych.

III. PRZEPROWADZONE POMIARY

Opisywany pomiar filmu łzowego na rogówce oka metodą interferencyjną przeprowadzono na ponad stu pacjentach. Wielu z nich przebadano wielokrotnie. Większość pomiarów dokonano w Sahlgrenska University Hospital w Mölndal, Szwecja. Pacjenci zostali podzieleni na grupy. Przeprowadzono pomiar gładkości powierzchni filmu łzowego na oczach zdrowych – normalnych, czyli niewykazujących patologii filmu łzowego. Najlicniejszą grupę tworzą pacjenci z soczewkami kontaktowymi, którzy zostali podzieleni dodatkowo ze względu na rodzaj noszonej soczewki kontaktowej. Do kolejnej grupy należą osoby, które skarżyły się na problemy z filmem łzowym oraz zostały one zdiagnozowane przez okulistę jako osoby z syndromem „suchego oka”. Na oczach z syndromem „suchego oka” oraz na soczewkach kontaktowych przetestowano działanie niektórych sztucznych łez. Ostatnia grupa to osoby po chirurgii refrakcyjnej rogówki, czyli po laserowej operacji korygującej wzrok.

W rozdziałach 7., 8. i 9. przedstawiono i omówiono wyniki pomiaru kinetyki filmu łzowego podczas dwudziestosekundowych sekwencji zarejestrowanych zaraz po mrugnięciu oka. Wyniki numeryczne aproksymowano w pracy funkcją wielomianową. W dodatku zamieszczono krótki opis zastosowania innego dopasowania otrzymanych danych, przedstawiających kinetykę filmu łzowego. Wybrana w dodatku funkcja dobrze opisuje dynamiczne zmiany w filmie łzowym na początku pomiaru, jednak nas bardziej interesuje opis całego czasu zachowania się warstwy łez między mrugnięciami oka.

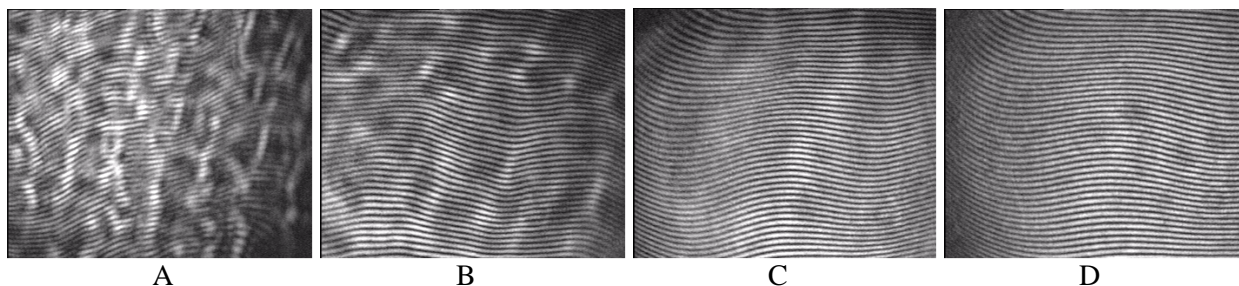
6. Grupa osób zdrowych

Do grupy pacjentów z okiem normalnym zostały zakwalifikowane osoby nieodczuwające problemów z filmem łzowym ani podrażnień w oku. Ta grupa pacjentów nie przechodziła w przeszłości operacji na oku, jednak nie brano pod uwagę, czy badany nosi okazjonalnie soczewki kontaktowe.

6.1. Wyniki pomiaru filmu łzowego na zdrowym oku

Na Rys. 6.1. przedstawiono typową sekwencję interferogramów zarejestrowaną na normalnym oku. Nieregularność powierzchni łez powoduje zniekształcenie frontu falowego, czego konsekwencją jest zaburzenie gładkości obserwowanych prążków. Na początkowych klatkach każdej sekwencji obserwowane są jasne i ciemne obszary w tle prążków interferencyjnych, których regularność jest zaburzona. Dają się tutaj wyraźnie zauważyć jaśniejsze pasy o pionowej orientacji, które zmieniają swój kształt oraz położenie w krótkim czasie po mrugnięciu (Rys. 6.1.A, B). Na kolejnych klatkach z sekwencji jasne i ciemne obszary stają się coraz bardziej rozmyte i ostatecznie zanikają po upływie około 1-3 s [95] (Rys. 6.1C.). Szybki proces zmian zachodzący na filmie łzowym zaraz po mrugnięciu został również zaobserwowany przez Nemetha i nazwany terminem „build-up time” [28,73], czyli czasem, w którym film łzowy stabilizuje się po każdym mrugnięciu i tworzy optycznie gładką powierzchnię na nieregularnym nabłonku rogówki. Czas, jaki upłynął od mrugnięcia do zarejestrowania klatek A – 0,08 s i B – 0,60 s, jest bardzo krótki i nie wystarczający, by film łzowy zdołał równo rozprowadzić się na rogówce. Analiza procesu odbudowy i stabilizowania się filmu łzowego omówiono w rozdziale 9.

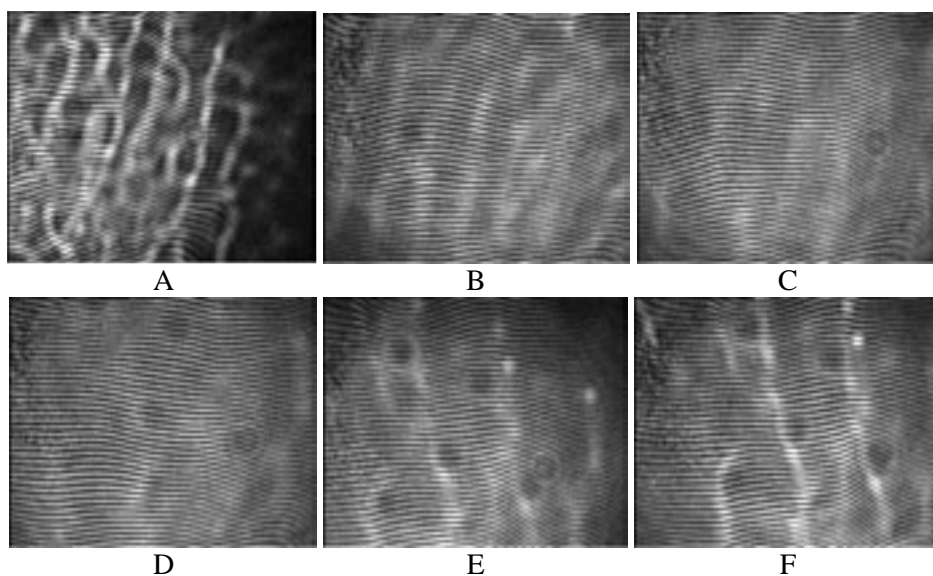
Po ustabilizowaniu się filmu łzowego gładkie prążki interferencyjne na równomiernym tle obserwowane są następnie do końca rejestrowanego filmu wideo. Mimo, iż średni czas między mrugnięciami wynosi około 5 s, to pacjenci ze zdrowymi oczami nie mają z reguły problemów z utrzymaniem otwartego oka podczas 20 sekundowego badania.



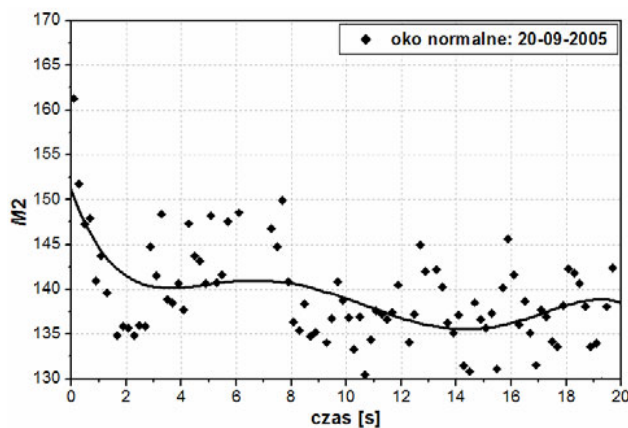
Rys. 6.1. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na normalnym oku:
0,08 s (A), 0,60 s (B), 2,88 s (C) i 19,60 s (D) po mrugnięciu oka.
Film łzowy stabilizuje się na powierzchni rogówki w pierwszych 1-2 s po mrugnięciu,
po czym jest gładki do końca rejestracji.

Regularne i gładkie prążki utrzymane do ostatniej zarejestrowanej klatki w sekwencji oznaczają, iż film łzowy jest stabilny i pozostaje równo rozłożony na powierzchni rogówki do końca pomiaru. Prezentowana na Rys. 6.1. sekwencja pomiaru jest typowym wynikiem dla normalnych, zdrowych oczu.

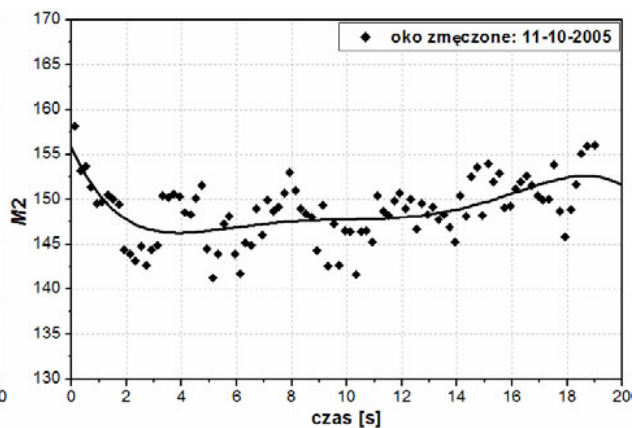
Na Rys. 6.3. przedstawiono dynamikę procesu stabilizowania się i ilościową ocenę stabilności filmu łzowego na rogówce oka za pomocą parametru $M2$. W pierwszych sekundach, kiedy film łzowy nie jest jeszcze równomiernie rozłożony na nabłonku rogówki, wartości parametru $M2$ są wyższe w porównaniu z wartościami dla klatek zarejestrowanych kilka sekund później. Gdy film łzowy jest gładki i stabilny, wartości parametru przyjmują najniższe wartości.



Rys. 6.2. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na normalnym oku (oko zmęczone):
0,12 s (A), 1,52 s (B), 3,72 s (C), 10,52 s (D), 16,12 s (E) i 18,52 s (F).



Rys. 6.3. Wartości parametru $M2$ dla sekwencji z Rys. 6.1.

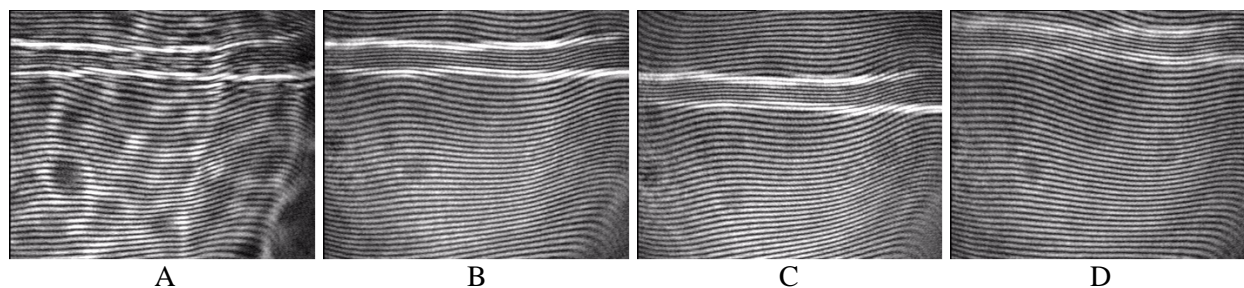


Rys. 6.4. Wartości parametru $M2$ dla sekwencji z Rys. 6.2.

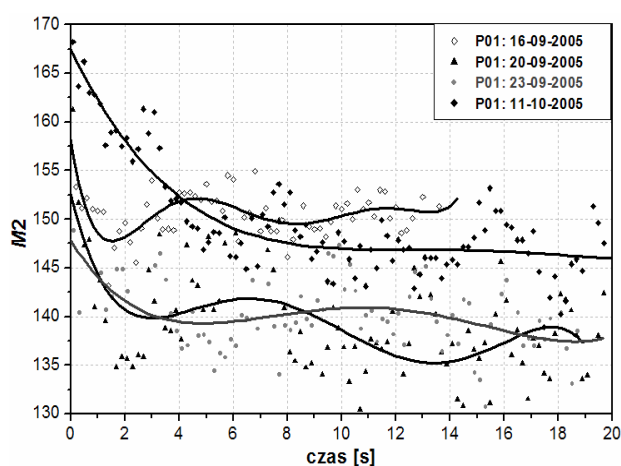
Badania na licznej grupie pacjentów pozwoliły wnioskować, że film łzowy i czynniki charakteryzujące jego morfologię są cechą indywidualną danego pacjenta [93]. Mogą się one zmieniać podczas dnia, co sugeruje wpływ „zmęczenia oczu” na jakość filmu łzowego. Na Rys. 6.2. zilustrowano kinetykę filmu łzowego zarejestrowaną na oku pacjenta odczuwającego zmęczenie i przez to podrażnienie oczu. W sekwencji wideo można wyróżnić trzy etapy kinetyki filmu łzowego [95]. Pierwszym etapem jest czas rozprowadzania łez po rogówce i tworzenia gładkiej warstwy filmu łzowego (build-up time) (Rys. 6.2.A, B). W kolejnym etapie film łzowy się ustabilizował i obserwowane są regularne prążki na równomiernym tle (Rys. 6.2.C, D). Jeśli film łzowy nie jest stabilny, między mrugnięciami oka dochodzi do przerwania filmu łzowego i wystąpienia przełomu (trzeci etap). Wówczas na interferogramie pojawiają się jaśniejsze pasy o losowej orientacji i położeniu, na których prążki interferencyjne zmieniają swój kierunek (Rys. 6.2.E, F).

Trzy etapy kinetyki filmu łzowego pokazano również na Rys. 6.4. Początkowe wartości parametru $M2$ są wysokie. Wraz ze stabilizowaniem się warstwy łez na rogówce parametr $M2$ gwałtownie maleje, po czym jego wartości stabilizują się dla klitek z gładkimi prążkami. Gdy prążki interferencyjne zaczynają być zaburzone z powodu powolnego powstawania przełomu w filmie łzowym, wartości parametru $M2$ rosną.

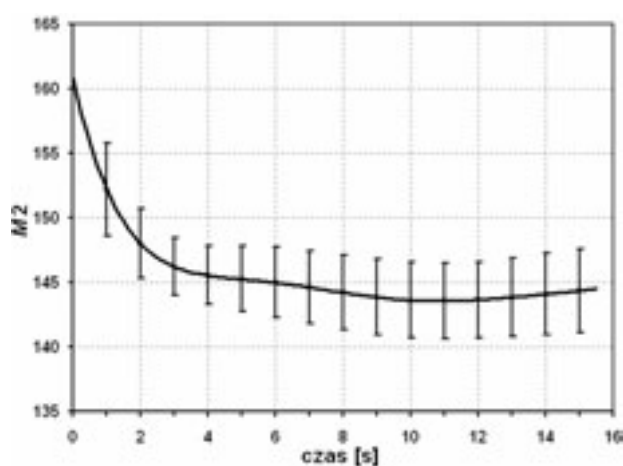
Nie zawsze powieki rozprowadzają film łzowy po rogówce oka w sposób równomierny. Na Rys. 6.5. przedstawiono przypadek, gdy ściśnięta między powiekami warstwa łez rozprowadza się znacznie wolniej na oku. Jasny, poziomy pas w poprzek interferogramu sugeruje, iż w tym miejscu warstwa łez jest grubsza. Pas ten rozmywa się z czasem, ale trwa to dłużej niż w przypadku opisywanej wyżej jasnej struktury obserwowanej zaraz po mrugnięciu oka.



Rys. 6.5. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na normalnym oku, gdy warstwa lipidowa została ściśnięta przez powieki i nie rozprowadzona równomiernie po pojedynczym mrugnięciu oka.
Klatki zarejestrowane: 0,04 s (A), 3,00 s (B), 5,80 s (C) i 11,40 s (D) po mrugnięciu.



Rys. 6.6. Wartości parametru $M2$ dla tego samego oka podczas czterech pomiarów.



Rys. 6.7. Uśrednione wartości parametru $M2$ z odchyleniem standardowym dla 20-tu normalnych oczu.

Na stabilność filmu łzowego ma wpływ wiele czynników zewnętrznych. Na Rys. 6.6. przedstawiono zmiany parametru $M2$ dla kilku sekwencji zarejestrowanych na tym samym oku, ale pomiary zostały dokonane w różnych dniach. Każdy z wykresów wyraźnie obrazuje czas stabilizowania się filmu łzowego na rogówce po mrugnięciu, jednak kinetyka łez cechuje się niepowtarzalnością przebiegu wykresów. Na Rys. 6.7. przedstawiono uśrednione zmiany wartości parametru $M2$ w czasie wraz z odchyleniem standardowym dla grupy dwudziestu pacjentów z normalnym filmem łzowym. Dane aproksymowano funkcją wielomianową szóstego stopnia, ponieważ jest ona na tym etapie najłatwiej dostępną funkcją matematyczną i jednocześnie w sposób zadowalający opisującą charakter zmian parametru w czasie. Dla każdej kolejnej sekundy obliczono wartość średnią parametru $M2$ dla danej grupy soczewek wraz z odchyleniem standardowym.

6.2. Wnioski

1. Na interferogramach zarejestrowanych na rogówkach oczu zdrowych film łzowy w pierwszej sekundzie po mrugnięciu oka wykazuje zaburzenie prążków. Prążki jednak szybko się wygładzają i ich regularny kształt obserwowany jest w większości przypadków do końca rejestrowanej sekwencji.
2. Zastosowany do analizy ilościowej parametr $M2$ wykazuje wyższe wartości dla początkowych klatek z sekwencji. Wartości te szybko maleją, po czym stabilizują się.
3. Wykresy zmian parametru $M2$ w czasie aproksymowane funkcją wielomianową różnią się między sobą kształtem charakterystyki, nawet dla tego samego oka. Jednak wartości parametru są w większości przypadków niskie po ustabilizowaniu się filmu łzowego na rogówce i mieszczą się w zakresie od 125 do 150.

7. Grupa pacjentów z soczewkami kontaktowymi

W pierwszej części rozdziału przedstawione zostaną wyniki otrzymane w grupie 18 użytkowników soczewek kontaktowych. Niektórzy pacjenci byli badani kilkakrotnie z różnymi soczewkami kontaktowymi, zatem łącznie dokonano 32 eksperymenty. W eksperymencie badano film łzowy na rogówce oka przed założeniem soczewki kontaktowej rano, 5 min. po założeniu nowej soczewki oraz po południu po kilku godzinach noszenia. Następnie, w przypadku odpowiednich soczewek, pomiar wykonywano 2 tygodnie i miesiąc później. Pacjent proszony był o prawidłowe użytkowanie soczewki w tym czasie, czyli zachowanie higieny i zdejmowanie soczewki na noc. Ze względu na okres użytkowania soczewek, podzielono je na 3 grupy: soczewki jednodniowe, dwutygodniowe i miesięczne.

Popularne do tej pory soczewki hydrożelowe są zastępowane przez soczewki silikonowo-hydrożelowe. Soczewki silikonowe charakteryzują się lepszą przepuszczalnością tlenu, co pozwala na dłuższy okres ich noszenia. Są one jednak hydrofobowe, co powoduje gorsze zwilżenie powierzchni soczewki. Dlatego dodaje się do tego materiały hydrożelu, by stworzyć lepiej zwilżaną soczewkę [101].

Tabela 7.1. Soczewki kontaktowe użyte do pomiaru gładkości filmu łzowego i ich podział wg FDA*.

Soczewka	Grupa wg FDA*	Polimery	H ₂ O (%)
Focus Night&Day (Ciba Vision)	1	Lotrafilcon A	24
O2Optix (Ciba Vision)	1	Lotrafilcon B	33
Acuvue Oasys (Johnson&Johnson)	1	Senofilcon A	38
Proclear (Cooper Vision)	2	Omafilcon A	62
Focus Dailies (Ciba Vision)	2	Nelfilcon A	69
Soflens 1-day (Johnson&Johnson)	2	Hilafilcon A	70
PureVision (Bausch&Lomb)	3	Balafilcon A	36
Acuvue 1-day (Johnson&Johnson)	4	Etafilcon A	58

* Podział soczewek kontaktowych wg FDA (Food and Drug Administration):

Grupa 1: Niska zawartość wody, niejonowa

Grupa 2: Wysoka zawartość wody, niejonowa

Grupa 3: Niska zawartość wody, jonowa

Grupa 4: Wysoka zawartość wody, jonowa

Ze względu na materiał stosowany do produkcji soczewek kontaktowych zostały one podzielone na 4 podstawowe grupy (wg FDA*) pod względem ich uwodnienia i jonizacji. Badania na grupie pacjentów nie wykazały znacznych różnic między wybranymi soczewkami reprezentującymi każdą z grup materiałów [101]. Jednakże, często mimo odpowiedniego dopasowania soczewki do rogówki względem krzywizny, pacjent odczuwa większy komfort przy noszeniu jednej soczewki, niż drugiej. W drugiej części tego podrozdziału porównano testowane soczewki ze względu na podział wg FDA. Badania zostały wykonane na soczewkach zamieszczonych w Tabeli 7.1. Jeden pacjent z osiemnastoosobowej grupy pacjentów został przebadany ze wszystkimi soczewkami, pozostałym była przypisana tylko 1 bądź 2 z wymienionych w Tabeli 7.1. soczewek kontaktowych.

7.1. Podział soczewek ze względu na okres noszenia

7.1.1. Soczewki jednodniowe

Do pomiaru stabilności filmu łzowego wybrano 4 różne soczewki kontaktowe, dla niektórych pacjentów wykonano serię pomiarów kilkakrotnie (Tabela 7.2). Na Rys. 7.1. zamieszczono przykładową sekwencję interferogramów zarejestrowanych na soczewce kontaktowej Focus Dailies All Day Comfort 5 min. po założeniu jej na oko. W przypadku prezentowanego pacjenta z soczewką Fokus Dailies gładki i stabilny film łzowy był również obserwowany 3 godziny później (Rys. 7.2.).

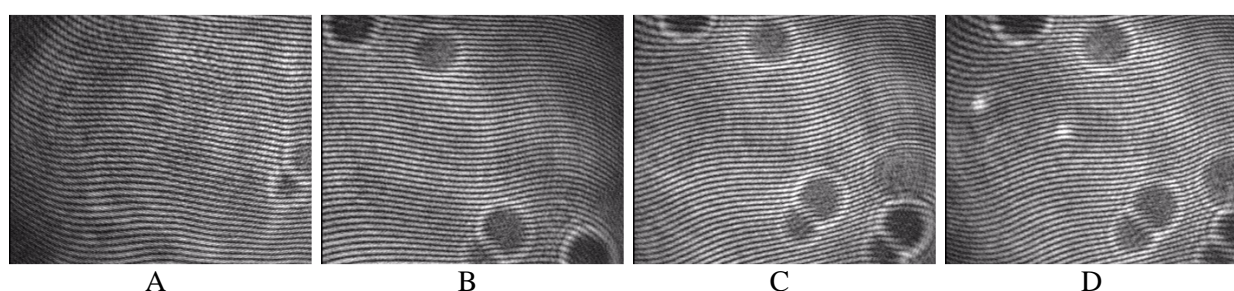
Dla prawie wszystkich zmierzonych jednodniowych soczewek kontaktowych gładkość filmu łzowego na soczewce po jej założeniu była nieznacznie zaburzona w porównaniu z filmem łzowym na rogówce przed założeniem soczewki. Na rejestrowanych interferogramach zaraz po założeniu soczewki kontaktowej na oko prążki interferencyjne często były regularne i równoodległe i jedyne zaburzenie stanowiły ciemne, okrągłe obszary, na których prążki były słabo widoczne lub niewidoczne. Jednakże pomiar filmu łzowego dokonany po południu wykazywał u wszystkich pacjentów zaburzoną gładkość filmu łzowego na soczewce. Na przykładowej sekwencji na Rys. 7.3. widoczne są liczne czarne plamy i jaśniejsze linie zaburzające regularność prążków interferencyjnych.

Wykresy na Rys. 7.4. reprezentują najczęściej występujący wynik liczbowy parametru $M2$ dla jednodniowych soczewek kontaktowych. Czarnym kolorem zaznaczono zmiany parametru w czasie dla filmu łzowego na rogówce oka. Wartości parametru $M2$ są wyższe na soczewce niż na rogówce, ale nie obserwuje się zwiększonej destabilizacji łez na nowej soczewce zaraz po

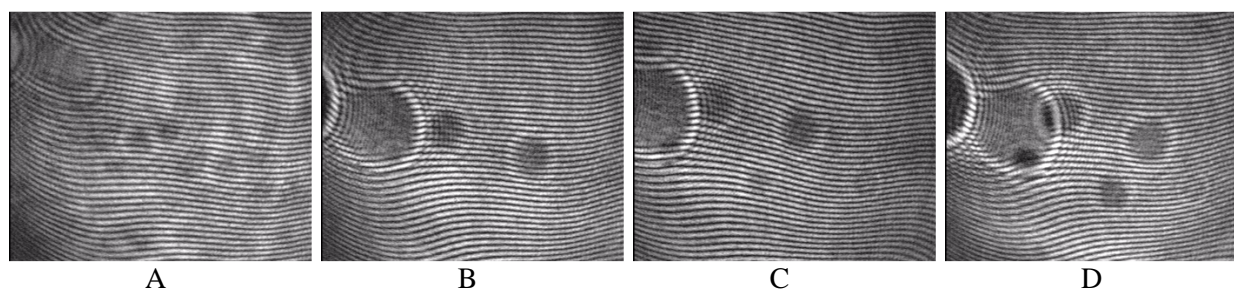
założeniu (wykres czerwony). Film łzowy jest stabilny między mrugnięciami na soczewkach jednodniowych. Jednak w ciągu dnia pogarsza się jego stabilność. Dla wszystkich pacjentów w tej grupie wartości parametru $M2$ po południu są wyższe niż rano.

Tabela 7.2. Przebadane soczewki kontaktowe.

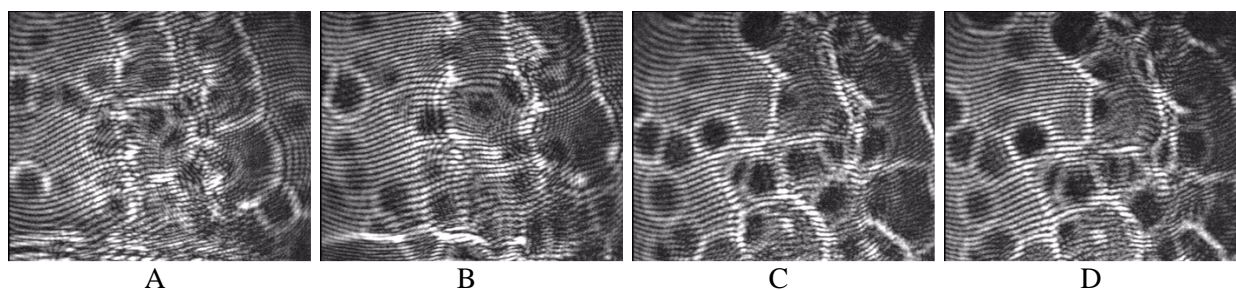
Soczewka	Liczba pacjentów/pomiarów
Focus Dailies	1/2
Focus Dailies Comfort	4/5
Soft Lens 1day	4/4
Acuvue 1day	2/3



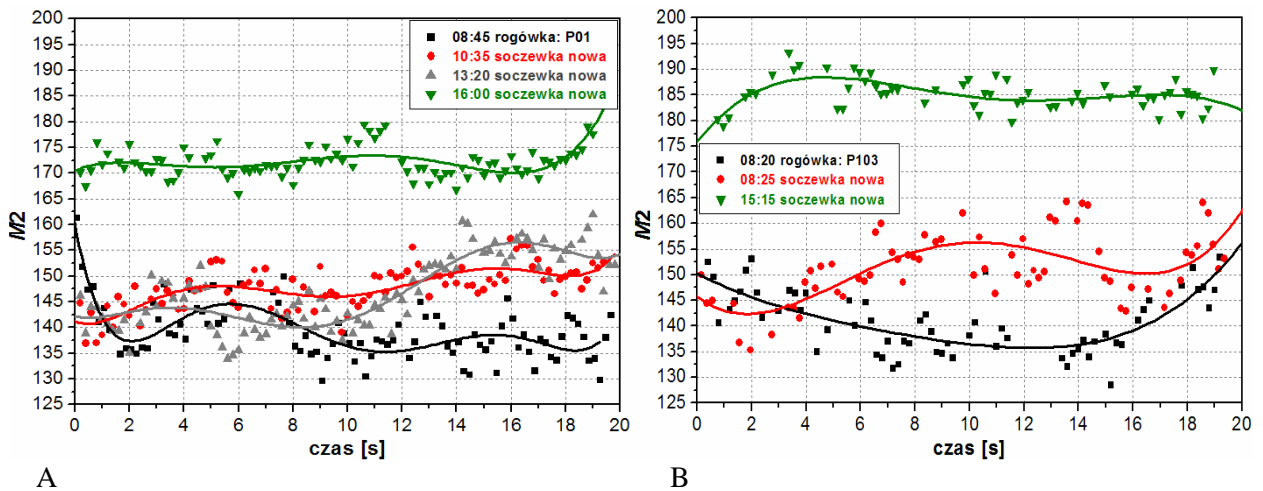
Rys. 7.1. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na nowej soczewce kontaktowej Focus Dailies Comfort rano (P01): 0,12 s (A), 2,20 s (B), 7,00 s (C) i 12,80 s (D) po mrugnięciu oka.



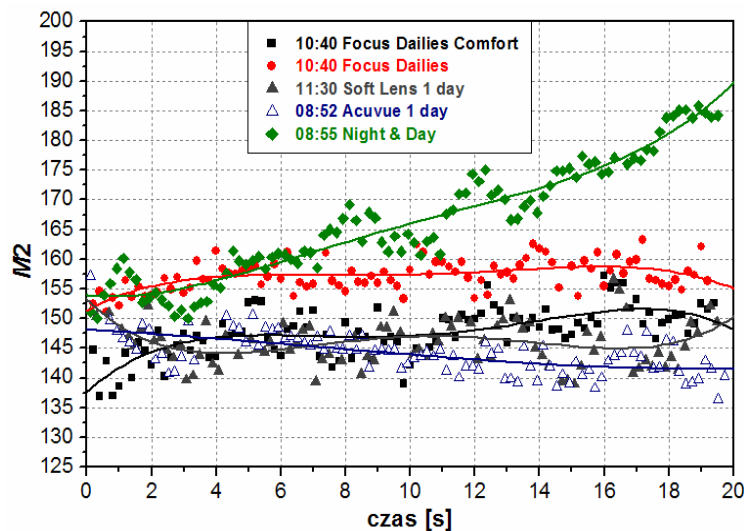
Rys. 7.2. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na soczewce kontaktowej Focus Dailies Comfort w południe (P01): 0,20 s (A), 2,80 s (B), 7,60 s (C) i 12,80 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys. 7.3. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na soczewce kontaktowej Focus Dailies Comfort po południu (P01): 0,20 s (A), 2,20 s (B), 7,20 s (C) i 12,80 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys. 7.4. Wartości parametru $M2$ dla jednodniowej soczewki Focus Dailies (A – pacjent z Rys. 7.1-3.) i Soft Lens 1 Day (B). Kolorem czarnym przedstawiono zmiany na samej rogówce, czerwonym na nowej soczewce kontaktowej 5 minut po założeniu, szarym na soczewce po 3 godzinach, zielonym na soczewce po południu.



Rys. 7.5. Wartości parametru $M2$ dla jednodniowych soczewek noszonych przez tego samego pacjenta (P01) w porównaniu z silikonową soczewką miesięczną. Pomiaru dokonano 5 minut po założeniu nowej soczewki.

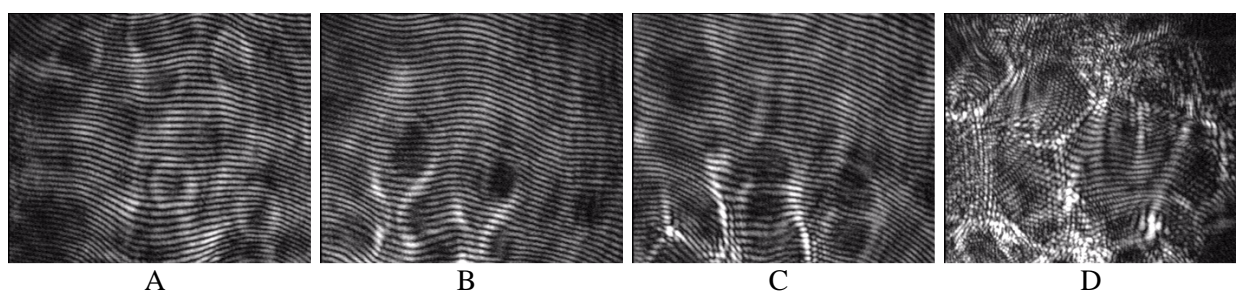
Jeden z pacjentów w tej grupie został przebadany z 4 różnymi soczewkami jednodniowymi oraz 1 miesięczną (Focus Night&Day). Wartości parametru $M2$ (Rys. 7.5.) nie wykazały znaczących różnic w stabilności i gładkości filmu łzowego na soczewkach jednodniowych. Leżący wyżej wykres czerwony reprezentuje wynik dla soczewki firmy Ciba Vision, która została wycofana i zastąpiona obecnie soczewką, której wyniki reprezentowany jest przez czarne kwadraty. Wykres zielony, który ukazuje wyraźną destabilizację filmu łzowego, reprezentuje soczewkę miesięczną. Soczewka ta jest wykonana z materiału o dużej zawartości hydrofobowego silikonu, co może być głównym powodem braku stabilności cieczy łzowej w porównaniu z soczewkami jednodniowymi, które zawierają więcej hydrożelu.

7.1.2. Soczewki dwutygodniowe

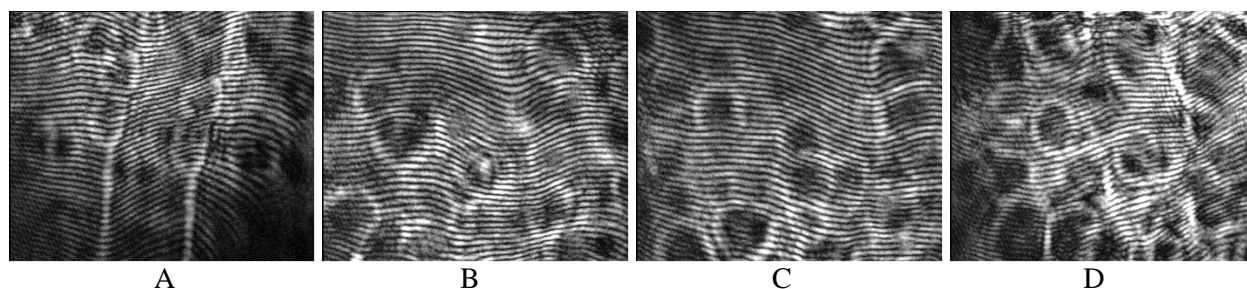
W pracy przeprowadzono pomiary stabilności filmu łzowego u pięciu pacjentów noszących dwutygodniową soczewkę kontaktową Acuvue Oasys. Na rysunkach 7.6.-7.8. przedstawiono sekwencje zarejestrowane na nowej soczewce odpowiednio 5 minut po założeniu, po południu, po kilku godzinach i po dwóch tygodniach noszenia. Im dłużej soczewka była noszona, tym bardziej zaburzone są prążki interferencyjne i film łzowy jest niestabilny. W pierwszej sekwencji klatek początkowo regularne prążki zaczynają być coraz bardziej zaburzone w dolnej części interferogramów i 13 s od mrugnięcia film łzowy nie tworzy już gładkiej powierzchni na soczewce. W przypadku, gdy oko jest zmęczone (Rys. 7.7.) i gdy soczewka jest noszona przez dwa tygodnie (Rys. 7.8.), regularność prążków interferencyjnych zaburzają liczne ciemniejsze i jaśniejsze obszary. Wzmoczone parowanie cieczy łzowej sprawia, iż na końcowych klatkach prążki interferencyjne są miejscami niewidoczne.

Tabela. 7.3. Przebadane soczewki kontaktowe

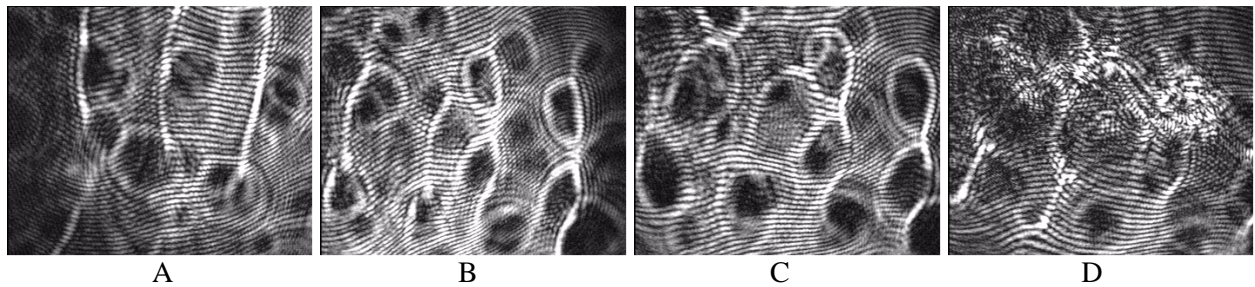
Soczewka	Liczba pacjentów/pomiarów
Acuvue Oasys	5/5



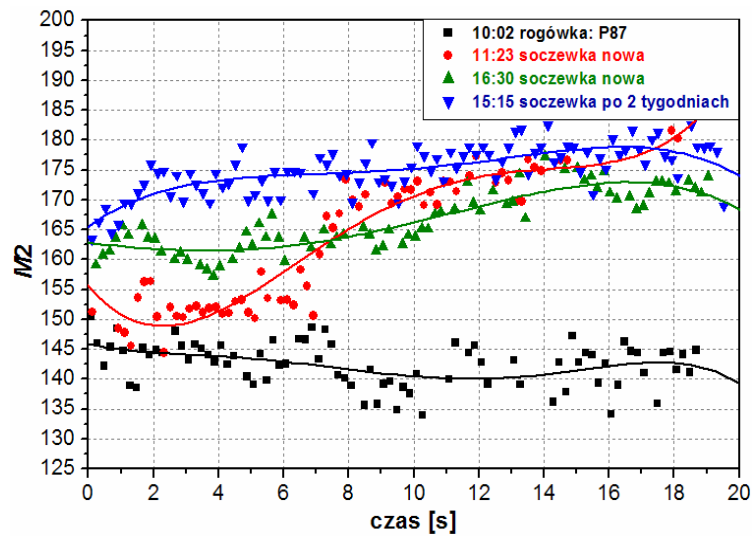
Rys. 7.6. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na nowej soczewce kontaktowej Acuvue Oasys rano (P87): 0,12 s (A), 1,52 s (B), 3,72 s (C) i 12,92 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys.7.7. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na soczewce kontaktowej Acuvue Oasys po południu (P87): 0,24 s (A), 1,64 s (B), 3,64 s (C) i 13,44 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys.7.8. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na soczewce kontaktowej Acuvue Oasys po dwóch tygodniach noszenia (P87): 0,12 s (A), 1,52 s (B), 3,92 s (C) i 12,92 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys. 7.9. Wartości parametru $M2$ dla dwutygodniowej soczewki Acuvue Oasys. Kolorem czarnym przedstawiono zmiany na samej rogówce, czerwonym na nowej soczewce kontaktowej po 5 min. od założenia, zielonym na soczewce po południu, niebieskim na soczewce po 2 tygodniach noszenia.

Na Rys. 7.9. przedstawiono wynik analizy numerycznej dla prezentowanej sekwencji. Dla czterech, spośród pięciu, badanych pacjentów film łzowy na soczewce zaraz po założeniu (czerwony) bardzo szybko się destabilizuje i wartości parametru $M2$ po kilku sekundach gwałtownie rosną w porównaniu z wartościami dla rogówki (czarny). Na dwutygodniowych soczewkach film łzowy jest niestabilny między mrugnięciami zaraz po nałożeniu soczewki. Większa jest również różnica w gładkości prążków między wynikiem na rogówce, a nową soczewką po założeniu, niż w przypadku soczewek jednodniowych. Po całym dniu noszenia soczewki oraz dla soczewki pod koniec okresu ważności (po dwóch tygodniach) wartości liczonego parametru są najwyższe dla wszystkich badanych osób i rosną w czasie.

7.1.3. Soczewki miesięczne

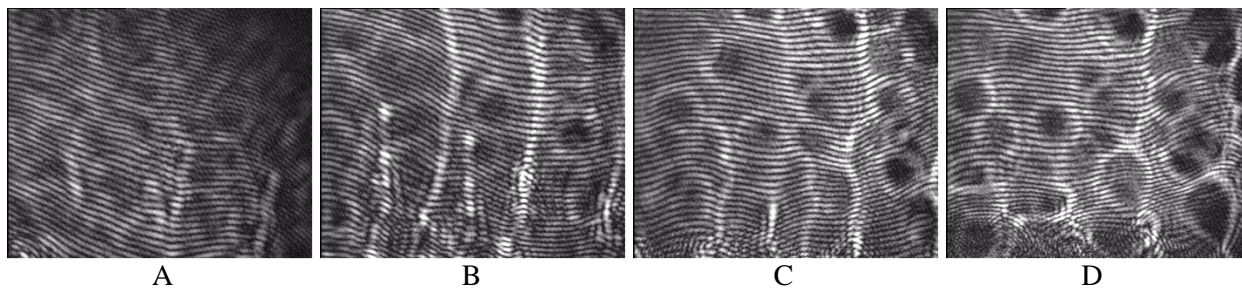
Stabilność filmu łzowego została zmierzona również na oczach dziewięciu pacjentów noszących miesięczne soczewki kontaktowe. Do pomiaru wybrano trzy różne soczewki kontaktowe (Tabela 7.4.). Na rysunkach 7.10.-7.13. zamieszczono sekwencje interferogramów dla jedyne go pacjenta, któremu udało się dokonać pomiaru filmu łzowego na soczewce noszonej przez cały miesiąc. Zaraz po założeniu soczewki regularność prążków interferencyjnych jest zaburzona już po kilku sekundach po mrugnięciu oka (Rys. 7.10.). Na sekwencji interferogramów zarejestrowanych po południu (Rys. 7.11.) i po dwóch tygodniach (Rys. 7.12.) film łzowy tworzy bardziej gładką i stabilną powierzchnię, jednak regularność prążków zaburzona jest poprzez obecność ciemnych i jasnych obszarów. Znaczna różnica w gładkości prążków obserwowana jest na soczewce po miesiącu noszenia (Rys. 7.13.). Prążki interferencyjne są „poszarpane” i przez to słabo widoczne. Ciecz łzowa już zaraz po mrugnięciu oka nie tworzy gładkiej powierzchni na soczewce. Prawdopodobnie spowodowane jest to dużą ilością osadu, który odkłada się na soczewce kontaktowej mimo jej regularnego czyszczenia.

Na rysunkach 7.14. przedstawiono wykresy dla opisanej wyżej soczewki Proclear. Wyższe wartości parametru $M2$ ilustrują zaburzoną gładkość filmu łzowego zaraz po założeniu soczewki (czerwony) w porównaniu z wynikiem dla rogówki (czarny). Bardziej stabilne wartości parametru otrzymano dokonując pomiaru na tej samej soczewce po południu (zielony) i po dwóch tygodniach (niebieski). Dużo wyższe wartości otrzymane zostały dla soczewki po miesiącu noszenia (fioletowy).

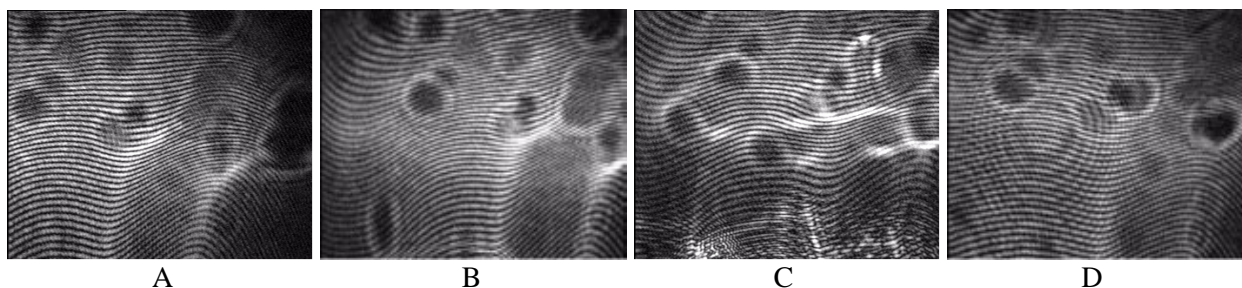
Wykres na Rys. 7.15. otrzymany na soczewce O2Optix stanowi reprezentatywny wynik liczbowy dla całej grupy miesięcznych soczewek. Dla większości pacjentów gładkość filmu łzowego na soczewce miesięcznej jest dużo bardziej zaburzona w porównaniu z filmem łzowym na rogówce przed założeniem soczewki. Porównując wyniki otrzymane dla soczewek Proclear i O2Optix obserwowane były wyższe wartości parametru $M2$ dla soczewki O2Optix.

Tabela. 7.4. Przebadane soczewki kontaktowe.

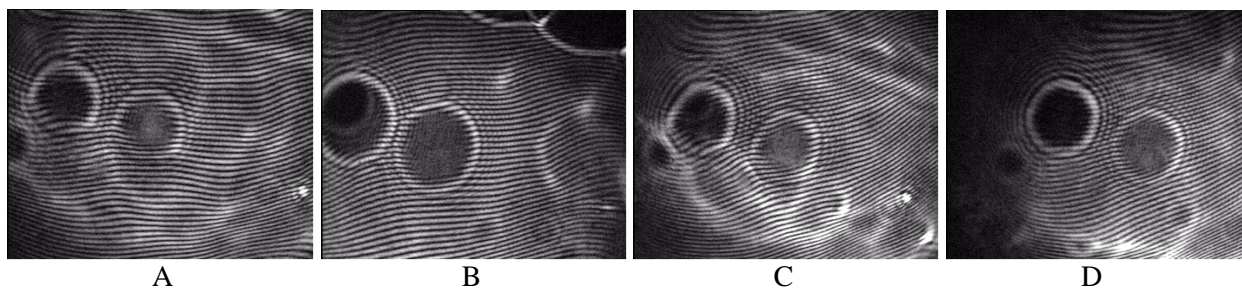
Soczewka	Liczba pacjentów/pomiarów
Proclear	4/4
O2Optix	3/3
Soft Lens Comfort	1/1
Focus Night&Day	2/5



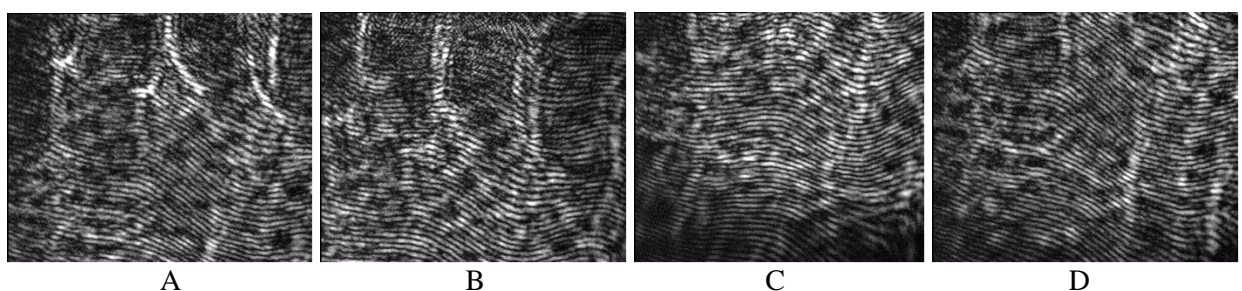
Rys. 7.10. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na nowej soczewce kontaktowej ProcLEAR rano (P78): 0,40 s (A), 2,00 s (B), 4,60 s (C) i 10,00 s (D) po mrugnięciu oka.



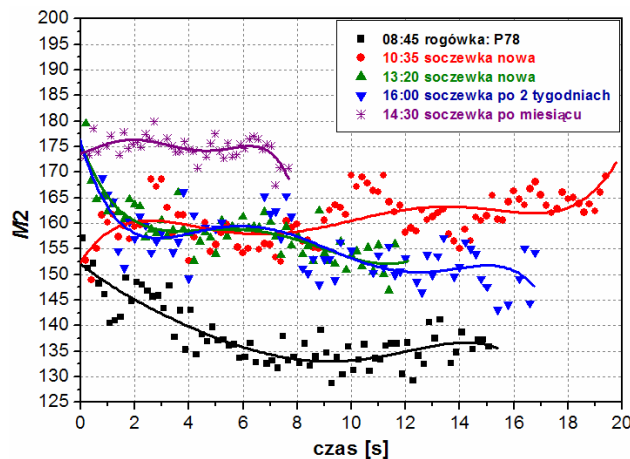
Rys. 7.11. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na soczewce kontaktowej ProcLEAR po południu (P78): 0,40 s (A), 2,00 s (B), 5,00 s (C) i 10,00 s (D) po mrugnięciu oka.



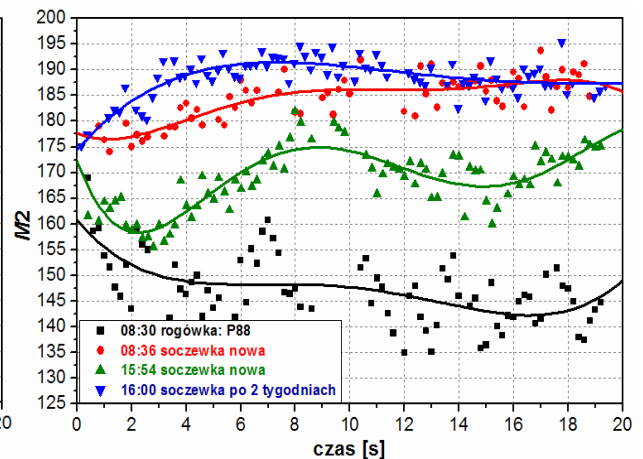
Rys. 7.12. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na soczewce kontaktowej ProcLEAR po dwóch tygodniach noszenia (P78): 1,40 s (A), 2,20 s (B), 5,00 s (C) i 11,00 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys. 7.13. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na soczewce kontaktowej ProcLEAR po miesiącu noszenia (P78): 0,48 s (A), 1,60 s (B), 4,80 s (C) i 7,40 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys. 7.14. Wartości parametru $M2$ dla interferogramów zarejestrowanych na rogówce oka oraz po założeniu soczewki miesięcznej Proclear w różnych etapach jej noszenia.

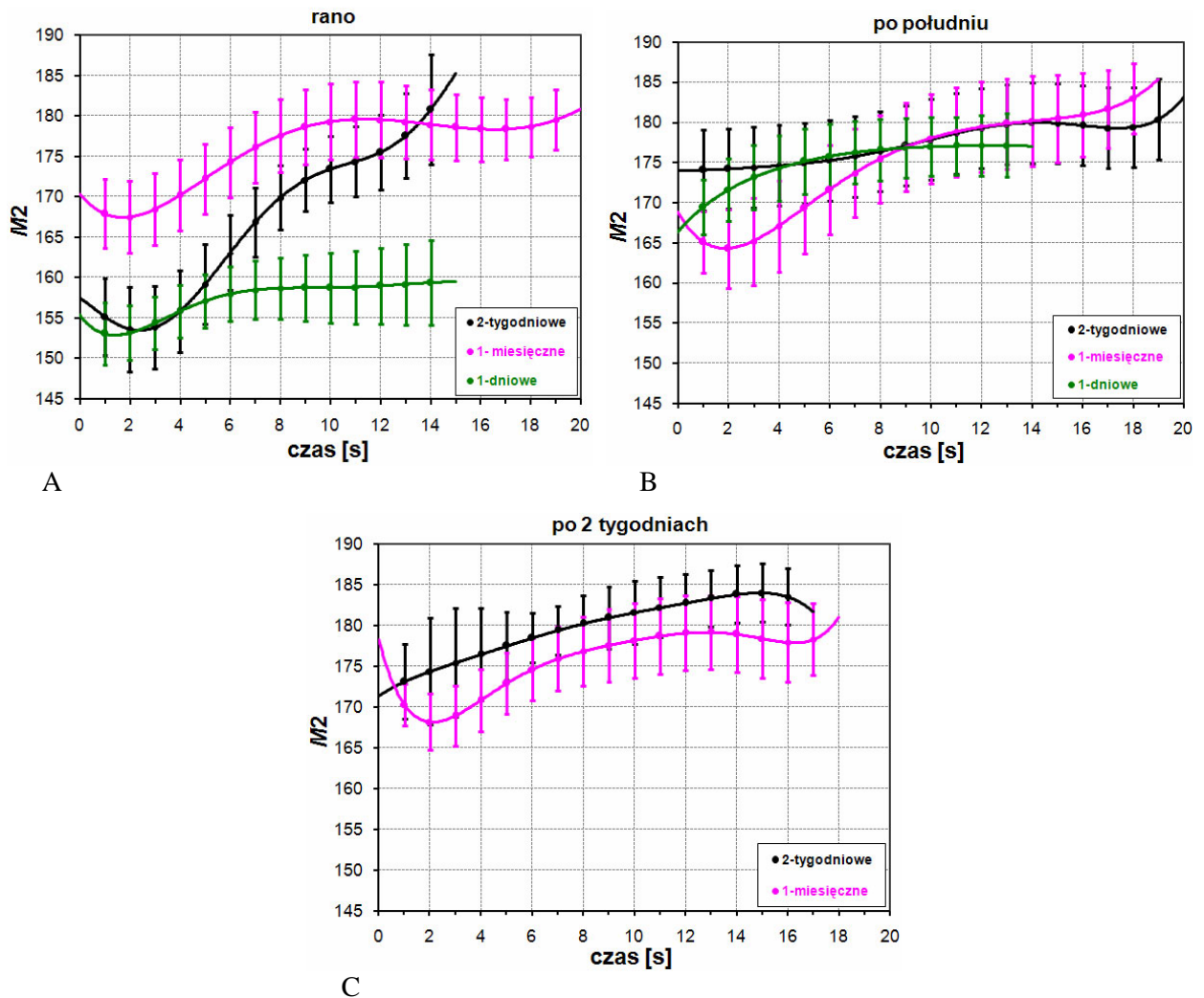


Rys. 7.15. Wartości parametru $M2$ dla interferogramów zarejestrowanych na rogówce oka oraz po założeniu soczewki miesięcznej O2Optix w różnych etapach jej noszenia.

7.1.4. Wnioski

Dla przebadanych trzech grup pacjentów wykonano wykresy zmian średnich wartości parametru $M2$ w czasie (Rys. 7.16.). Wykresy opisano wielomianem szóstego stopnia. Analizując wykresy średnich wartości liczonego parametru dla grupy 18 pacjentów można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Różnica w stabilności łez między soczewkami kontaktowymi podzielonymi ze względu na okres noszenia jest przede wszystkim widoczna na nowych soczewkach pięć minut po ich założeniu na oko. Na jednodniowych soczewkach (zielony) film łzowy jest najbardziej stabilny i gładki w porównaniu do soczewek dwutygodniowych (czarny) i miesięcznych (różowy) (Rys. 7.16.A).
2. Dwutygodniowe soczewki charakteryzują się brakiem stabilności łez między mrugnięciami – wartości parametru $M2$ szybko narastają w czasie. Podobnie jest z filmem łzowym na miesięcznych soczewkach, jednak w ich przypadku gładkość filmu łzowego już od samego początku rejestracji jest wyraźnie zaburzona.
3. W ciągu dnia stabilność filmu łzowego pogarsza się głównie na soczewkach jednodniowych. Po południu, gdy oko jest zmęczone, gładkość filmu łzowego charakteryzują wysokie wartości dla wszystkich trzech rodzajów soczewek (Rys. 7.16.B).



Rys. 7.16. Uśrednione wartości parametru $M2$ dla grup soczewek jednodniowych (zielony), dwutygodniowych (czarny) i miesięcznych (różowy) w trzech etapach noszenia.

4. Po dwóch tygodniach użytkowania soczewki film łzowy jest mniej stabilny na soczewkach dwutygodniowych niż na miesięcznych (Rys. 7.16C.). Przyczyną może być fakt, iż soczewkę dwutygodniową po tym okresie noszenia powinno się już wymienić na nową, natomiast soczewka miesięczna może być noszona przez kolejne dwa tygodnie.

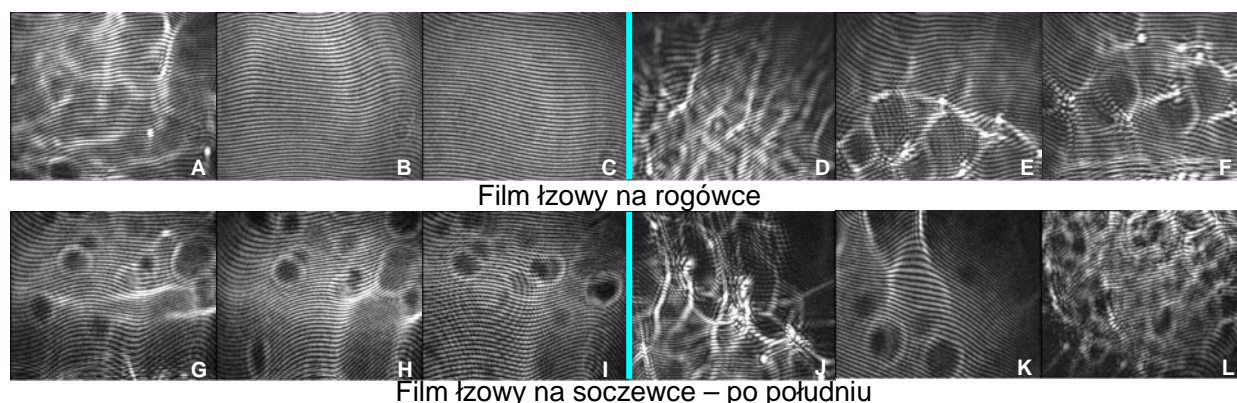
7.2. Dodatkowe analizy zachowania się filmu łzowego na soczewkach kontaktowych

W tym rozdziale opisano inne analizy numeryczne stabilności filmu łzowego na soczewkach kontaktowych, niż w rozdziale poprzednim.

7.2.1. Niestabilny film łzowy na rogówce a soczewka kontaktowa

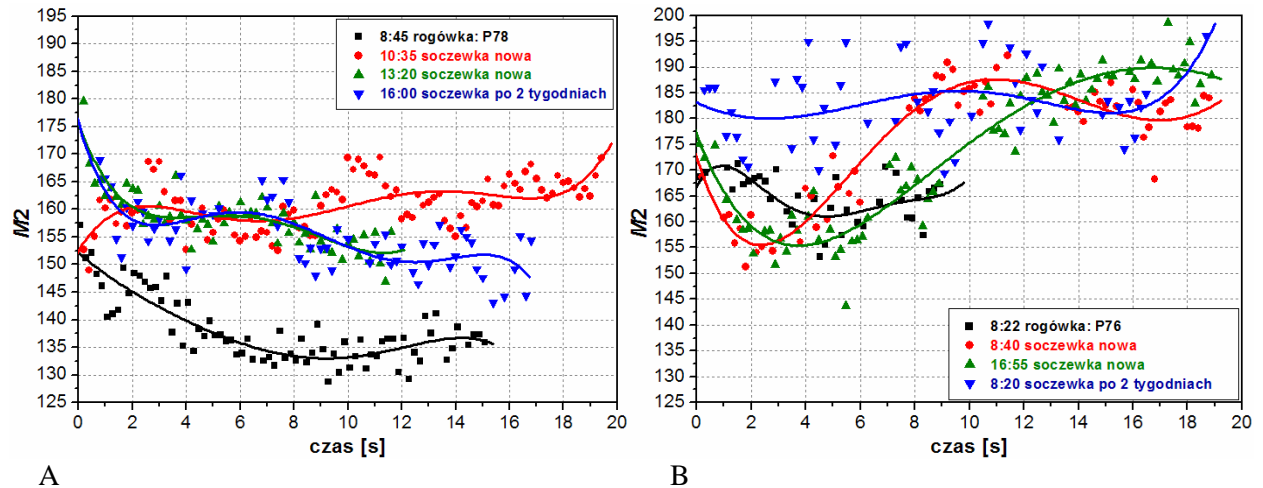
W badanej grupie pacjentów noszących soczewki kontaktowe, 4 pacjentów miało wyraźnie niestabilny film łzowy na rogówce przed założeniem soczewki kontaktowej. Po założeniu soczewki, film łzowy, w przypadku tych pacjentów, był również mniej stabilny w porównaniu z pozostałymi pacjentami badanymi z tymi samymi soczewkami.

Na Rys. 7.17. przedstawiono przykładowe interferogramy zarejestrowane na oczach dwóch pacjentów. Pierwszy z nich (A, B, C) miał stabilny film łzowy na rogówce, gładkość filmu łzowego drugiego pacjenta (D, E, F) była wyraźnie zaburzona. Dolne interferogramy prezentują wynik rejestracji filmu łzowego na miesięcznej soczewce kontaktowej Proclear kilka godzin po jej założeniu. W przypadku drugiego pacjenta film łzowy znacznie szybciej się destabilizuje na soczewce (J, K, L) w porównaniu z wynikiem dla pacjenta o stabilnym filmie łzowym przed założeniem soczewki kontaktowej. Wartości parametru $M2$ (Rys. 7.18.) są również wyższe dla drugiego pacjenta dla wszystkich trzech pomiarów dokonanych na soczewce. Czarnymi kwadratami zaznaczono wynik liczbowy dla filmu łzowego na rogówce oka, kolorem czerwonym, zielonym i niebieskim zaznaczono odpowiednio wynik na soczewce w kolejnych etapach jej noszenia. Wykresy aproksymowano funkcją wielomianową czwartego rzędu.



Rys.7.17. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na rogówce ze stabilnym filmem łzowym (P78) (A-C) oraz po założeniu soczewki kontaktowej (G-I) i na rogówce z niestabilnym filmem łzowym (P76) (D-F) oraz po założeniu soczewki kontaktowej (J-L).

Interferogramy zarejestrowano: 0,08 s (A), 1,88 s (B), 10,48 s (C), 0,12 s (D), 4,8 s (E), 8,8 s (F), 0,6 s (G), 2,28 s (H), 10,00 s (I), 0,28 s (J), 2,80 s (K) i 8,8 s (L) po mrugnięciu oka.

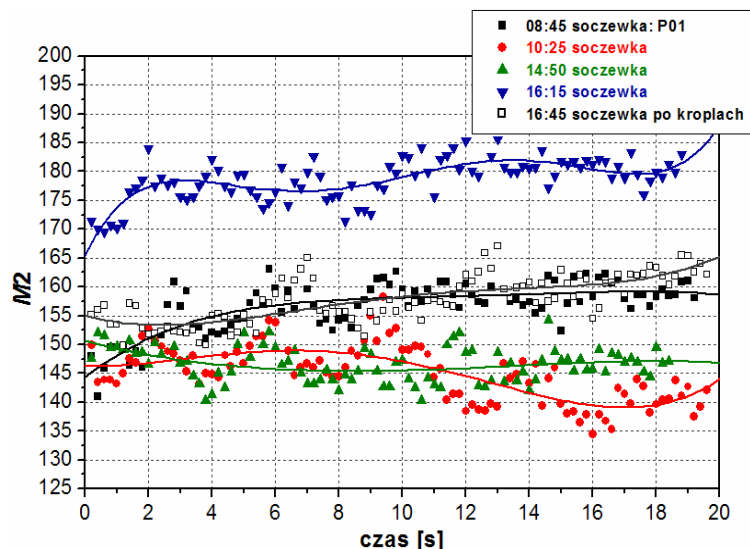


Rys. 7.18. Wartości parametru $M2$ dla interferogramów zarejestrowanych przed i po założeniu miesięcznej soczewki kontaktowej Proclear, gdy film łzowy był stabilny (A), gdy film łzowy był niestabilny (B).

Porównując wszystkie otrzymane wykresy zarejestrowane na soczewkach kontaktowych i nie biorąc pod uwagę rodzaju soczewki, w znacznej większości przypadków (69%) wartości parametru $M2$ są wyższe dla soczewek na oczach o mniej stabilnym filmie łzowym przed założeniem soczewki. Stanowi to potwierdzenie przypuszczenia, iż stabilność filmu łzowego na soczewkach kontaktowych jest skorelowana z jakością filmu łzowego na rogówce pacjenta.

7.2.2. Różne soczewki kontaktowe na tym samym oku

Film łzowy na soczewkach kontaktowych wymienionych w Tabeli 7.1 został przebadany na oczach tego samego pacjenta o różnych porach dnia. Niektóre z tych soczewek badano kilkakrotnie. W większości pomiarów film łzowy mierzony 2-4 godzin po założeniu soczewki jest bardziej stabilny i parametr $M2$ przyjmuje niższe wartości, niż w przypadku pomiaru dokonanego po kilkunastu minutach po założeniu soczewki. Na Rys. 7.19. przedstawiono przykładowy wykres otrzymany podczas badania filmu łzowego na soczewce Focus o różnych godzinach. Pod koniec dnia (niebieski), parametr $M2$ przyjmuje najwyższe wartości i pacjent również odczuwał podrażnienie oczu. Po zastosowaniu kropli do oczu typu sztuczne łzy (biały) gładkość filmu łzowego na soczewce poprawiła się.



Rys. 7.19. Wartości parametru $M2$ dla interferogramów zarejestrowanych na soczewce kontaktowej o różnych porach w ciągu dnia.

Zmiany zachodzące w filmie łzowym podczas adaptacji do soczewki są prawdopodobnie przyczyną mniej stabilnego filmu łzowego zaraz po założeniu soczewki na oko. Po jakimś czasie wydzielanie łez wraca do normy i film łzowy jest bardziej stabilny na soczewce. Pod koniec dnia uczucie zmęczenia w oczach objawia się zwiększoną destabilizacją filmu łzowego.

7.2.3. Wpływ materiału soczewek kontaktowych na stabilność filmu łzowego

W ramach pracy przeprowadzono porównanie zachowania się filmu łzowego na soczewkach kontaktowych podzielonych na grupy ze względu na rodzaj materiału, z jakiego zostały wykonane wg FDA (Tabela 7.1.). Wyniki numeryczne – parametr $M2$, dla soczewek należących do każdej z grup, zostały uśrednione. Przebieg uśrednionego wykresu opisano funkcją wielomianową 6-go stopnia i dla każdego $t = 1$ s obliczono odchylenie standardowe. Dla soczewek z grupy trzeciej i czwartej przeprowadzono tylko po 2 pomiary. Z tego względu nie brano ich do analizy porównawczej.

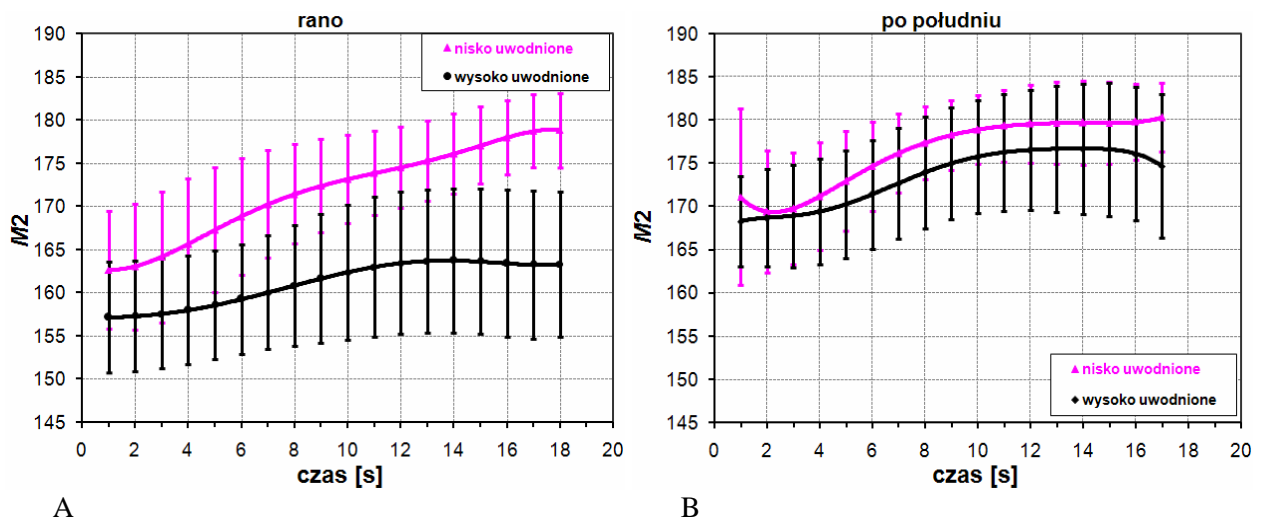
W Tabeli 7.5 zawarto informację o ilości pomiarów wykonanych na soczewkach pierwszej i drugiej grupy. Osobno analizowano wyniki numeryczne wykonane rano i po południu na nowych soczewkach kontaktowych.

Wykresy na Rys. 7.20. ilustrują zmiany w czasie uśrednionego parametru $M2$ wraz z odchyleniem standardowym dla pomiarów dokonanych rano. Dają się zauważyć wyraźne różnice w stabilności filmu łzowego na tych dwóch rodzajach soczewek. Parametr $M2$ dla grupy 1 (różowy) stale rośnie w czasie, co oznacza, że film łzowy jest niestabilny. Dla grupy 2 (czarny) parametr $M2$ przybiera niższe wartości niż dla grupy 1 oraz jest bardziej stabilny

w czasie. W przypadku popołudniowych pomiarów nie zauważa się znaczących różnic w uśrednionych przebiegach zmian liczonego parametru. Oba wykresy leżą wyżej niż w porannym pomiarze. Wartości parametru dla soczewek grupy 1 rosną wolniej, natomiast dla grupy 2 szybciej niż rano.

Tabela. 7.5 Liczba pomiarów wykonanych na soczewkach 1-szej i 2-giej grupy

Soczewka	Liczba pomiarów rano	Liczba pomiarów po południu
Grupa 1: Niska zawartość wody, niejonowa	12	7
Grupa 2: Wysoka zawartość wody, niejonowa	13	11



Rys. 7.20. Uśrednione wartości parametru $M2$ dla grup soczewek nisko (różowy) i wysoko (czarny) uwodnionych, pomiary rano (A) i po południu (B).

Soczewki w grupie 1 są to soczewki z niską zawartością wody. Pomiary wykonane przez Younga i Efrona [119] oraz Thai [101] wykazały lepszą stabilność filmu łzowego i dłuższy czas tworzenia się przełomu w filmie łzowym dla soczewek hydrożelowych wysoko uwodnionych. Na tych soczewkach zanotowano również grubszą warstwę wodną. Wniosek płynący z powyższej analizy parametru $M2$ na soczewkach wysoko (grupa 2) i nisko (grupa 1) uwodnionych pokrywa się z obserwacjami Younga i Efrona. Dla soczewek wysoko uwodnionych średnie wartości parametru $M2$ są niższe, czyli film łzowy na tej grupie soczewek tworzy bardziej gładką powierzchnię, niż na soczewkach wykonanych z nisko uwodnionego materiału.

Zbadane w pracy soczewki jednodniowe były wykonane z materiału wysoko uwodnionego, podczas gdy większość dwutygodniowych i miesięcznych soczewek wytworzona została

z materiałów nisko uwodnionych. W grupie 1, pomiar dokonany rano, analizowano m.in. soczewkę Focus Night & Day, która zawiera dużo silikonu. Film łzowy na tej soczewce nie jest stabilny między innymi ze względu na hydrofobową naturę silikonu. Na niewielką różnicę w uśrednionych wynikach stabilności filmu łzowego na soczewkach 1 i 2 grupy po południu może mieć wpływ fakt, iż liczba mierzonych wówczas soczewek silikonowych Focus Night & Day jest mniejsza.

7.2.4. Wnioski

1. Stabilność i gładkość warstwy łez na soczewkach kontaktowych jest skorelowana z jakością łez na rogówce oka. Dla większości zbadanych pacjentów, dla których zanotowano wyższe wartości parametru $M2$ na oku w porównaniu z resztą grupy, wartości te były również wyższe na soczewce kontaktowej i/lub rosły w czasie szybciej, niż dla pacjentów ze stabilnym filmem łzowym na oku.
2. Po założeniu soczewki na oko w pierwszych kilkunastu minutach film łzowy jest, w większości przypadków, mniej stabilny, niż po 1-4 godz. noszenia. Powodem są prawdopodobnie zmiany w produkcji łez zachodzące podczas procesu adaptacji do soczewki. W przypadku, gdy oko jest zmęczone, wzmożone parowanie łez z powierzchni soczewki znaczenie destabilizuje film łzowy. Wartości parametru $M2$ są wówczas wysokie i rosną w czasie. Komfort widzenia i zwilżenia powierzchni soczewki może wówczas poprawić zastosowanie sztucznych łez.
3. Wyższe i rosnące w czasie wartości parametru $M2$ zanotowano na soczewkach wykonanych z nisko uwodnionego materiału, podczas gdy na soczewkach wysoko uwodnionych film łzowy oceniono jako bardziej stabilny między mrugnięciami. W pomiarach dokonanych po południu, gdy oko jest już zmęczone, nie zanotowano różnicy w stabilności łez między wysoko i nisko uwodnionymi soczewkami.

8. Oko z patologią warstwy łez

W rozdziale zamieszczono wyniki pomiarów przeprowadzonych na pacjentach zdiagnozowanych uprzednio przez lekarza okulistę jako pacjenci z syndromem „suchego oka”. Zamieszczono tu również wyniki otrzymane na oczach pacjentów po chirurgii refrakcyjnej rogówki.

W ramach pracy wykonano pomiar na 18-tu pacjentach (15 kobiet i 3 mężczyzn) z syndromem suchego oka oraz 5 pacjentach po LASIK i jednego po RK. W pierwszej części rozdziału przedstawione zostaną przykładowe wyniki zarejestrowane na pacjentach z „suchym okiem”, w drugiej omówione zostaną wyniki pomiarów pacjentów po chirurgii refrakcyjnej.

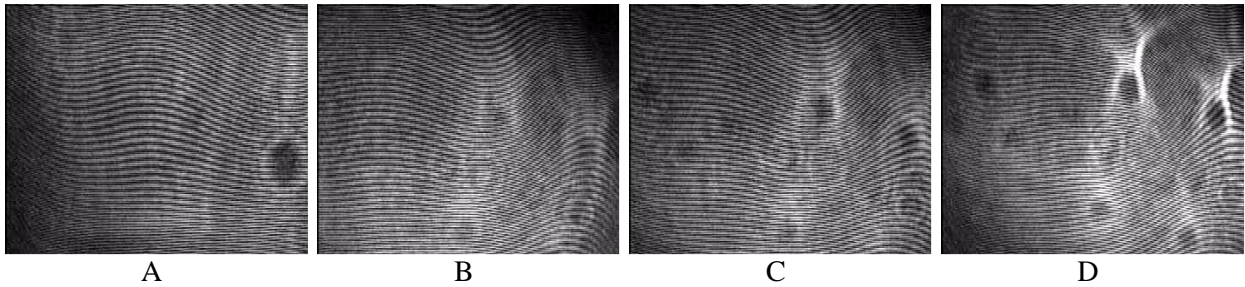
8.1 Stabilność filmu łzowego na „suchym oku”

Średni wiek pacjentów z syndromem „suchego oka” wynosi 57 ± 14 lat. Na Rys. 8.1. przedstawiona jest sekwencja interferogramów zarejestrowana dla pacjenta odczuwającego dyskomfort związany z syndromem „suchego oka”. Na początku pomiaru obserwowane są gładkie, regularne prążki (Rys. 8.1.A). Po kilku sekundach od mrugnięcia oka w prawym górnym rogu obrazu zaczyna wyróżniać się obszar, gdzie prążki zmieniają kierunkowość (Rys. 8.1.B). Wraz z upływem czasu zmiana ta staje się coraz wyraźniej widoczna. Ostatecznie pojawiają się na interferogramie białe pionowe linie (Rys. 8.1.D), na których prążki interferencyjne zmieniają swoje nachylenie. Takie obszary interpretowane są jako miejsca wystąpienia przełomu w filmie łzowym. Na Rys. 8.1. zilustrowano powolne przerywanie filmu łzowego w czasie rejestracji .

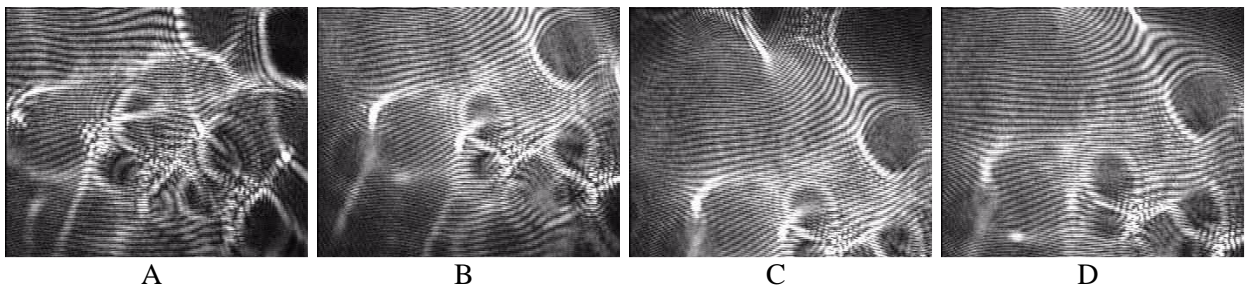
Ten sam pacjent został następnie zbadany po podaniu do oka fluoresceiny, czyli substancji używanej w popularnym teście fluoresceinowym. Fluoresceina wyraźnie zmieniła obserwowany wzór prążkowy (Rys. 8.2.). Regularność prążków na interferogramie stała się bardzo zaburzona i pojawiły się również liczne czarne plamy [97].

Na Rys. 8.3. przedstawiono zmiany parametry $M2$ w czasie dla tego samego suchego oka przed i po podaniu fluoresceiny oraz po sztucznych łzach podanych godzinę później. W pierwszym przypadku wartości parametru rosną w czasie. Film łzowy jest niestabilny, pojawia się powoli przełom, więc parametr $M2$ narasta w czasie. W przypadku zaburzenia

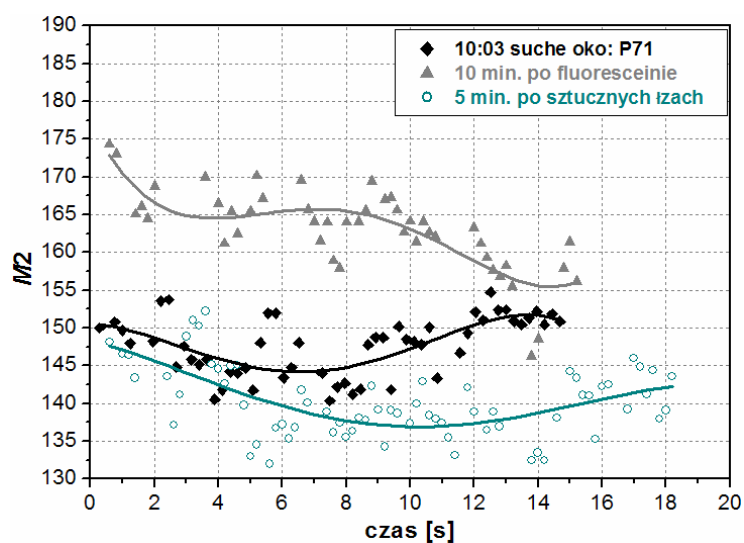
fizjologii filmu łzowego przez podanie fluoresceiny wartości parametru $M2$ są znacznie wyższe od pozostałych wykresów. Mieszanka filmu łzowego i fluoresceiny powoli stabilizuje się na oku, dlatego parametr $M2$ maleje. Po podaniu sztucznych łez film łzowy jest dużo bardziej stabilny i stabilny jest też parametr $M2$. Na początku wykresu wartości parametru maleją, co oznacza, że film łzowy się stabilizuje. To zjawisko nie było tak wyraźnie obserwowane przed podaniem kropeł.



Rys. 8.1. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na suchym oku (P71): 1,00 s (A), 6,50 s (B), 8,90 s (C) i 12,30 s (D) po mrugnięciu oka.

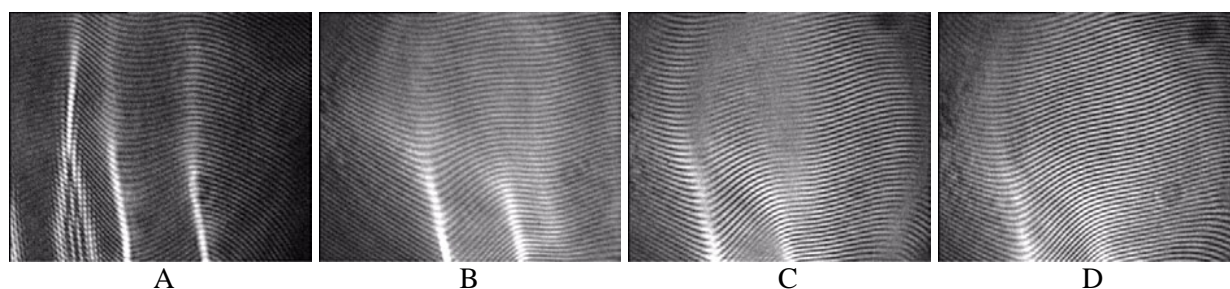


Rys. 8.2. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na suchym oku po podaniu fluoresceiny (P71): 1,40 s (A), 6,60 s (B), 8,40 s (C) i 12,20 s (D) po mrugnięciu oka.

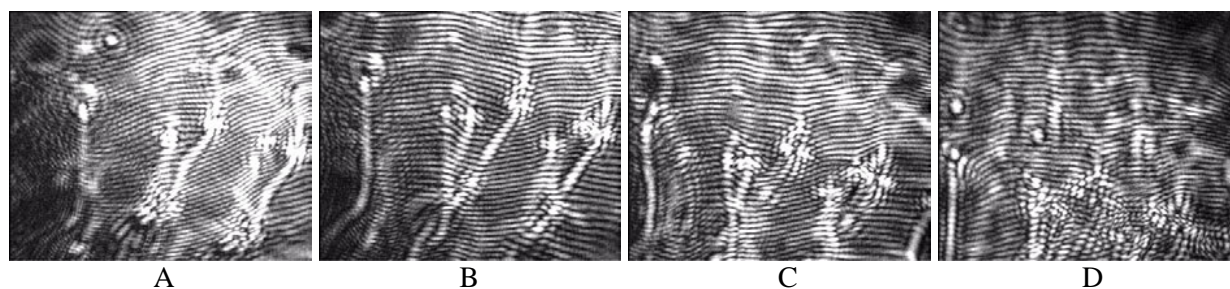


Rys. 8.3. Wartości parametru $M2$ dla suchego oka (P71) (czarne), suchego oka po podaniu fluoresceiny (szary) i po sztucznych łzach (niebieski).

Analizując zarejestrowane serie pomiarów na pacjentach skarżących się na problem ze łzami, można dojść od wniosku, że w syndromie „suchego oka” zaburzenia gładkości łez są różnej natury. Rejestrowane prążki interferencyjne, niosące informacje o powierzchni filmu łzowego na rogówce, mogą być regularne, ale szybciej, niż u zdrowych pacjentów, dochodzi do przerwania filmu łzowego i prążki lokalnie załamują się na pojawiającej się pojedynczej jasnej linii. Jednak częściej obserwuje się liczne zaburzenia regularności prążków na interferogramie, które stają się z czasem coraz większe. Na Rys. 8.4. i 8.5. przedstawiono sekwencje interferogramów stanowiących przykład różnego rodzaju zaburzenia filmu łzowego. Obie sekwencje pochodzą z badania tego samego pacjenta, ale pierwsza została zarejestrowana na prawym oku, druga na lewym. Pomiar został przeprowadzony również innego dnia i podobny wynik powtórzył się, co widać na wykresie (Rys. 8.6.). W przypadku gładkich prążków i pojedynczego, lokalnego załamania kierunku prążków, wartości parametru $M2$ są niższe niż w przypadku zaburzenia regularności prążków w całym obrazie.



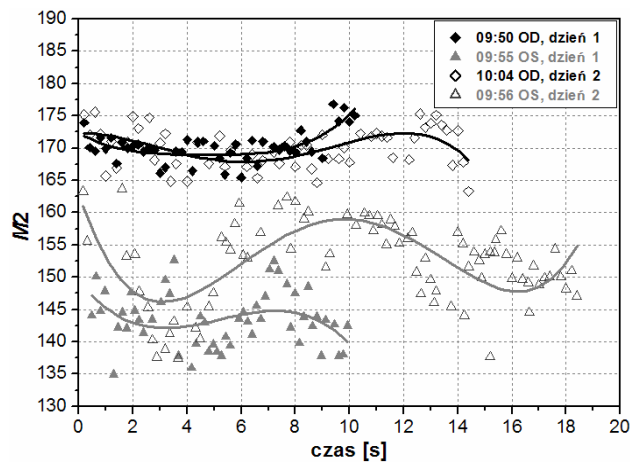
Rys. 8.4. Sekwencja interferogramów zarejestrowanych na filmie łzowym pacjenta z syndromem suchego oka (P93), oko lewe: 0,96 s (A), 4,16 s (B), 6,08 s (C) i 8,48 s (D) po mrugnięciu oka.



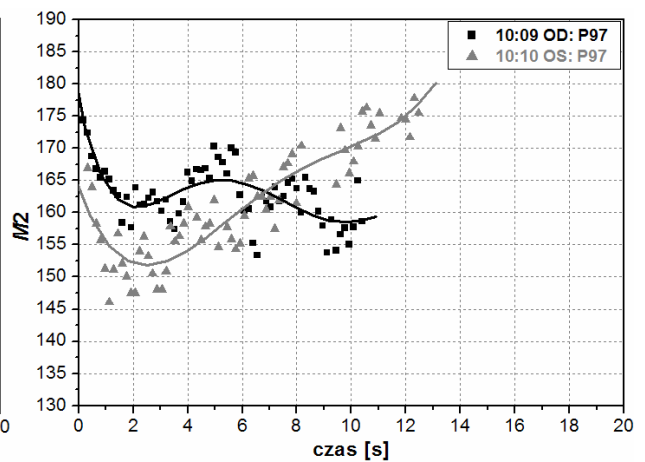
Rys. 8.5. Sekwencja interferogramów zarejestrowanych na filmie łzowym pacjenta z syndromem suchego oka (P93), oko prawe: 0,96 s (A), 4,16 s (B), 6,08 s (C) i 8,48 s (D) po mrugnięciu oka.

W przypadku innego pacjenta (Rys. 8.8. i 8.10.) zaburzenie gładkości filmu łzowego jest podobne dla obu oczu. Na początkowych interferogramach zaburzenie jest związane ze stabilizowaniem się filmu łzowego po podniesieniu powieki, jednak nie dochodzi do całkowitego wygładzenia powierzchni łez. Z upływem czasu prążki stają się coraz bardziej zaburzone. Wartości parametru $M2$ w pierwszych 2 s od mrugnięcia gwałtownie maleją

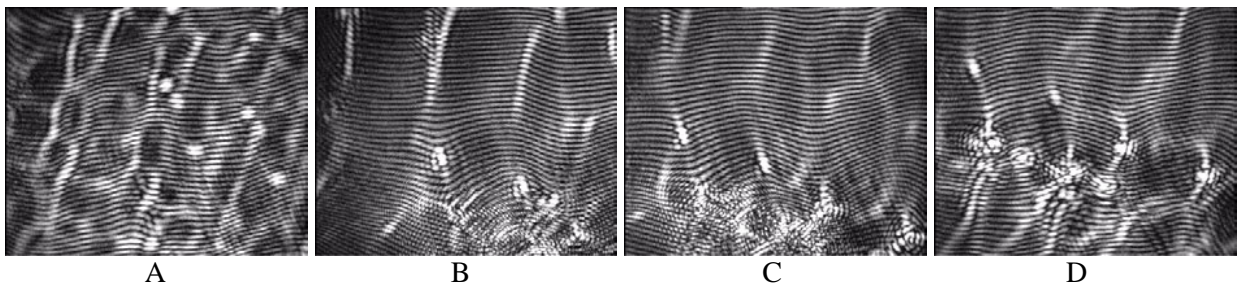
(Rys. 8.7.) sugerując stabilizowanie się filmu łzowego na rogówce, po czym narastają, gdyż film łzowy jest niestabilny. Zmienność wyniku liczbowego jest spowodowana ruchem oka, ponieważ pacjentom z „suchym okiem” trudniej jest skupić uwagę na punkcie fiksacji, a tym samym zmniejszyć ruch oka podczas pomiaru.



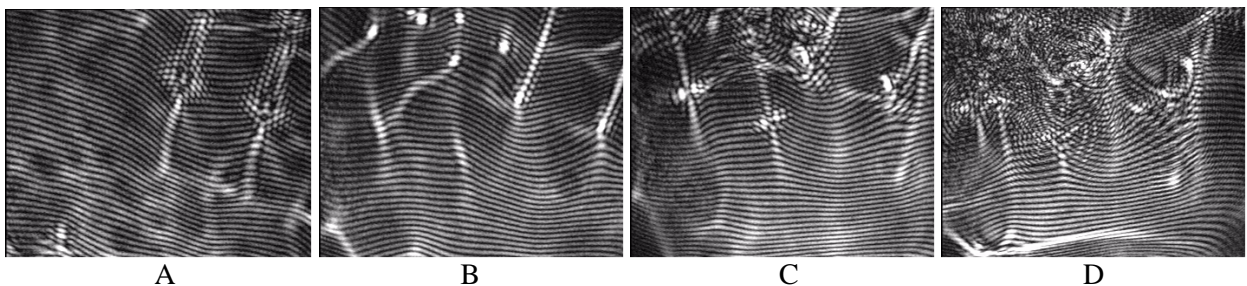
Rys. 8.6. Wartości parametru $M2$ dla suchego oka prawego (czarny) i lewego (szary) tego samego pacjenta (P93). Pomiaru dokonano w różne dni.



Rys. 8.7. Wartości parametru $M2$ dla suchego oka prawego (czarny) i lewego (szary) tego samego pacjenta (P97).



Rys. 8.8. Przykładowa sekwencja interferogramów zarejestrowanych na filmie łzowym pacjenta z syndromem suchego oka (P97), oko prawe: 0,40 s (A), 3,40 s (B), 6,20 s (C) i 10,40 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys. 8.9. Przykładowa sekwencja interferogramów zarejestrowanych na filmie łzowym pacjenta z syndromem suchego oka (P97), oko lewe: 0,96 s (A), 3,52 s (B), 6,40 s (C) i 11,04 s (D) po mrugnięciu oka.

8.2. Zachowanie się sztucznych łez na oku wykazującym zaburzenia warstwy łez

Na grupie pacjentów z syndromem „suchego oka” przetestowano działania kropli do oczu typu sztuczne łzy. W ramach pracy przeprowadzono 14 eksperymentów na oczach 7 pacjentów. Badano film łzowy na oku przed i po 5 min. po zastosowaniu sztucznych łez, następnie pomiar powtarzano 2 godz. później.

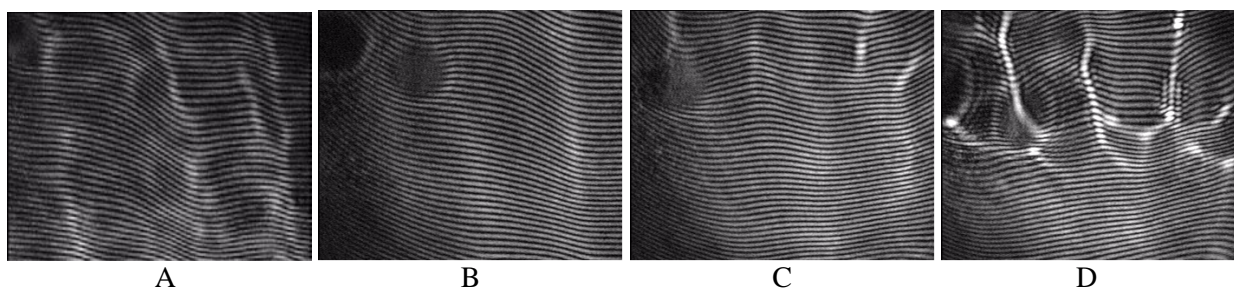
Na Rys. 8.10. i 8.11. przedstawiono przykładowy wynik pomiaru przeprowadzonego na suchym oku z Rys. 8.9. Zaburzenia w prostoliniowości prążków na początkowych interferogramach (Rys. 8.10.A i 8.11.A) spowodowane są procesem stabilizowania się filmu łzowego po mrugnięciu. Zaraz po zastosowaniu kropli powierzchnia cieczy łzowej na kolejnych interferogramach wygładza się (Rys. 8.10.B), jednak nie jest stabilna i po 5 s w górnej części interferogramu (Rys. 8.10.C) zaczynają pojawiać się jasne linie, na których prążki zmieniają swój kierunek. Zaburzenie to staje się coraz bardziej ewidentne z czasem. Po dwóch godzinach od zaaplikowania sztucznych łez obserwowane są niewielkie zaburzenia w regularności prążków podczas całej rejestrowanej sekwencji. Film łzowy jest stabilny na oku między mrugnięciami.

Na Rys. 8.12. przedstawiono wynik analizy ilościowej tego eksperymentu. Początkowo wartości parametru $M2$ maleją dla wszystkich trzech wykresów ze względu na proces stabilizowania się filmu łzowego, po czym, w przypadku pomiaru przed podaniem kropli (czarny), parametr $M2$ rośnie. Po podaniu kropli (szary) wzrost wartości parametru jest wolniejszy. Dwie godziny później (zielony) parametr $M2$ opisuje stabilny film łzowy na rogówce suchego oka.

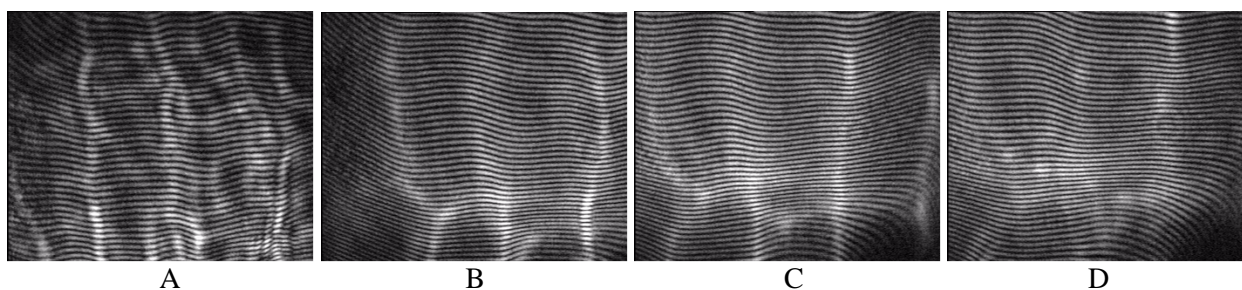
Nie zawsze jednak krople dały efekt polepszenia komfortu widzenia i wygładzenia filmu łzowego, a przez to niższe wartości parametru $M2$ zaraz po zastosowaniu. W 6 na 13 zbadanych przypadków zastosowanie sztucznych łez spowodowało większe zaburzenie w regularności prążków (jak na przykładowym wykresie na Rys. 8.13.). Taki efekt jest związany prawdopodobnie z faktem, iż tuż po zakropieniu oczu jest zbyt dużo cieczy łzowej, która nie tworzy przez to gładkiej powierzchni na oku, bądź też jest to reakcja oka na dodatkową substancję. Nie znaczy to jednak (w prawie wszystkich przypadkach), że zastosowane krople zostały niewłaściwie dobrane dla pacjenta, gdyż 2 godz. później rejestrowane interferogramy wykazują polepszenie gładkości i stabilności filmu łzowego (Rys. 8.13.).

Gładsze prążki i niższe wartości parametru $M2$ dla pomiarów dokonanych 2 godz. po zastosowaniu kropli świadczą o tym, że wybrane krople wciąż działają i lepiej zwilżają

powierzchnię oka. Dla pacjentów, dla których dokonano kilku pomiarów z różnymi kroplami, porównano ze sobą wyniki analizy ilościowej 2 godz. po kroplach.



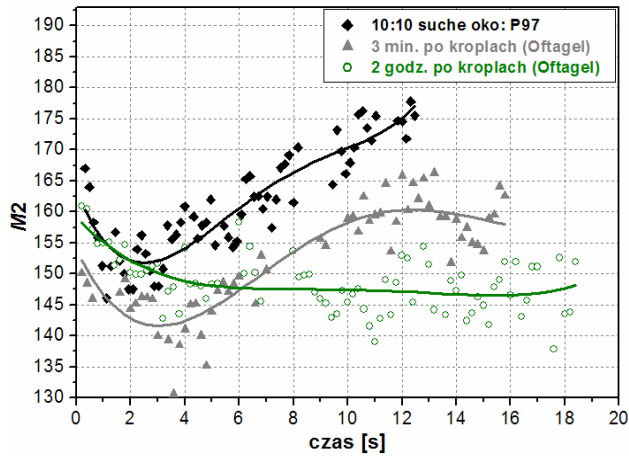
Rys. 8.10. Przykładowa sekwencja interferogramów zarejestrowanych na filmie łzowym pacjenta z syndromem suchego oka (P97) pięć minut po zastosowaniu sztucznych łez: 0,6 s (A), 2,60 s (B), 5,40 s (C) i 11,00 s (D) po mrugnięciu oka.



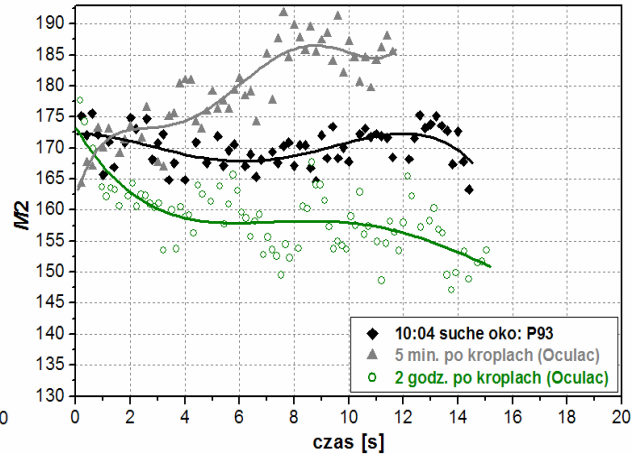
Rys. 8.11. Przykładowa sekwencja interferogramów zarejestrowanych na filmie łzowym pacjenta z syndromem suchego oka (P97) dwie godziny po zastosowaniu sztucznych łez: 1,00 s (A), 3,40 s (B), 6,40 s (C), 12,00 s (D) po mrugnięciu oka.

Dla pacjenta P93 (Rys. 8.14.) pomiaru dokonano w 3 różnych dniach, w których wyniki dla oka przed kroplami nie różniły się znacznie. Wszystkie 3 rodzaje kropli poprawiły stan łez i, jak pokazują wykresy, nie zauważono znaczących różnic w działaniu kropli. Subiektywna ocena pacjenta wskazywała na lepsze samopoczucie po kroplach Oculac (czarny).

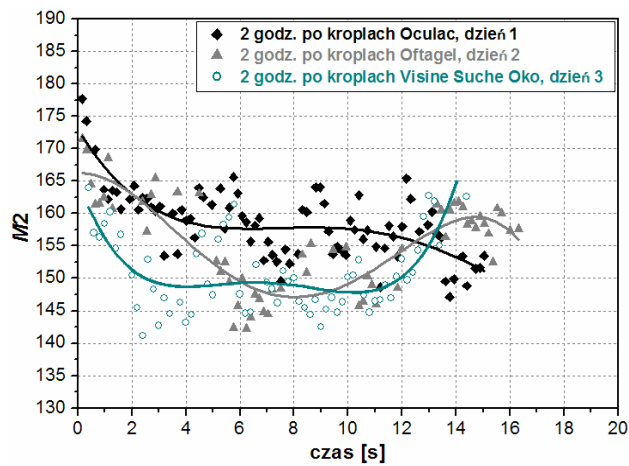
Pacjent P97 został przebadany czterokrotnie z różnymi kroplami, po 2 eksperymenty na prawym i lewym oku (Rys. 8.15.). Stabilność filmu łzowego była podobna dla obu oczu (Rys. 8.7.) przed zastosowaniem kropli, dlatego na Rys. 8.15. porównano działanie zastosowanych kropli na obu oczach razem. Najniższe wartości parametru $M2$ otrzymano dla kropli Oftagel na lewym oku w pierwszy dzień pomiaru (szary) oraz dla kropli Visine Suche Oko na prawym oku w drugi dzień pomiaru (zielony). Co więcej, wartości parametru $M2$ dla tych kropli są z przedziału typowego dla oczu normalnych. Subiektywna ocena pacjenta wskazała na najlepszy komfort w oku po kroplach Visine Suche Oko (zielony).



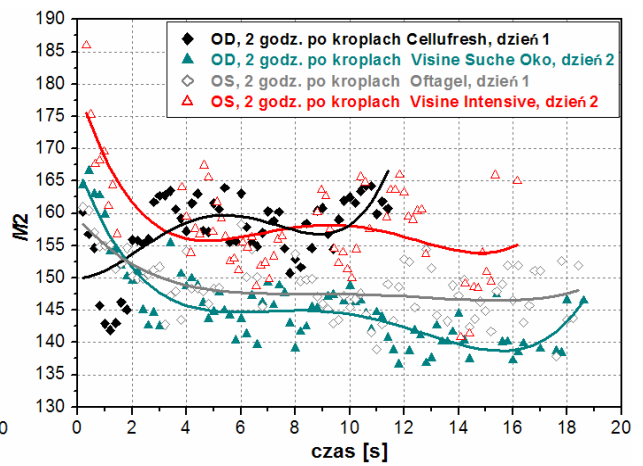
Rys. 8.12. Wartości parametru $M2$ dla suchego oka (czarny), 5 minut (szary) i 2 godz. (zielony) po zastosowaniu sztucznych łez (P97).



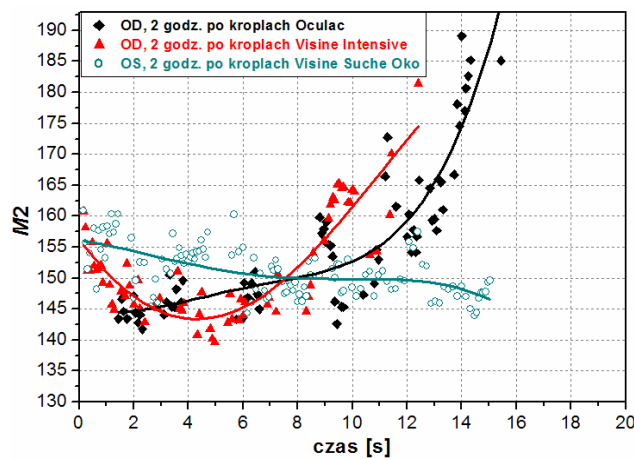
Rys. 8.13. Wartości parametru $M2$ dla suchego oka (czarny), 5 minut (szary) i 2 godz. (zielony) po zastosowaniu sztucznych łez (P93).



Rys. 8.14. Wartości parametru $M2$ dla suchego oka (P93) po 2 godz. od zastosowania sztucznych łez (oko prawe).



Rys. 8.15. Wartości parametru $M2$ dla suchego oka (P97) po 2 godz. od zastosowania sztucznych łez.



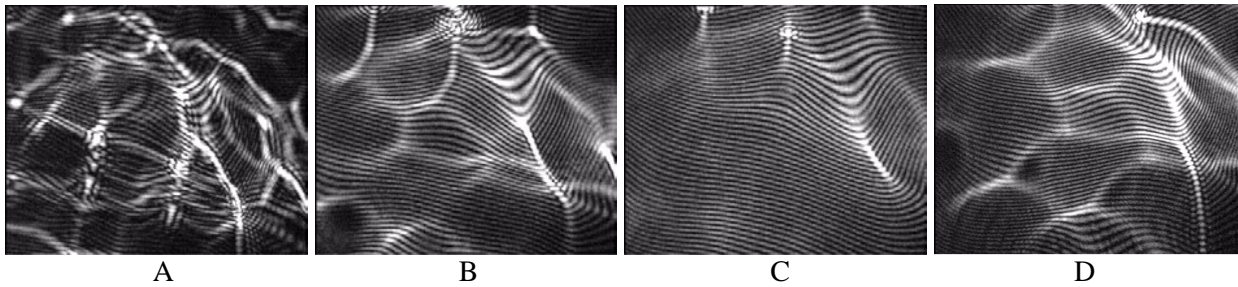
Rys. 8.16. Wartości parametru $M2$ dla suchego oka (P102) po 2 godz. od zastosowania sztucznych łez.

Ten rodzaj kropli również najwyraźniej pomógł pacjentowi P102 (Rys. 8.16.). Tylko po nich film łzowy był stabilny i wartości parametru $M2$ wyraźnie niższe w porównaniu z pozostałymi dwoma kroplami, po których po upływie 7 s (czerwony) i 12 s (czarny) wartości parametru $M2$ gwałtownie rosły. Wynik ten pokrył się również z subiektywną oceną pacjenta.

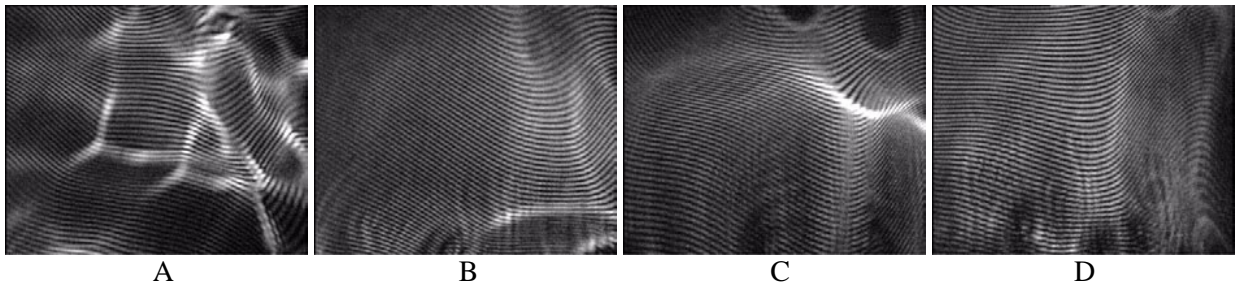
8.3. Pomiar kinetyki filmu łzowego po chirurgii refrakcyjnej rogówki

Poniższe sekwencje interferogramów ilustrują gładkość powierzchni łez między mrugnięciami oka na rogówkach po laserowej chirurgii refrakcyjnej. Pacjent w chwili przeprowadzania pomiaru był około trzech miesięcy po operacji LASIK i cierpiał na syndrom „suchego oka”. Film łzowy po mrugnięciu powoli się wygładza. Najbardziej regularne prążki i najniższe wartości parametru $M2$ (Rys. 8.20. – czarny) zostają osiągnięte dopiero po 4 s. Czas stabilizowania się łez trwa dłużej niż w przypadku normalnych oczu. Wyniki pomiarów wykonanych na oczach po operacji laserowej, gdy pacjenci odczuwali suchość w oku, charakteryzują się wyższymi wartościami parametru $M2$ w porównaniu z normalnymi oczami. Mimo, że film łzowy wygładza się na rogówce (Rys. 8.17.C), na rejestrowanych interferogramach pojawia się periodycznie w tle prążków interferencyjnych jasna struktura, która w większym lub mniejszym stopniu zaburza regularność prążków interferencyjnych. Jej pojawianie się i zanikanie jest charakterystyczne dla oczu po operacji laserowej LASIK. Dyskusja i analiza dotycząca jej genezy i natury omówiono w rozdziale 9. Po podaniu kropli do oczu (Rys. 8.18.) prążki na interferogramach są bardziej regularne i wartości $M2$ niższe (szary). Zmienność wyniku jest spowodowana ruchem oka podczas pomiaru.

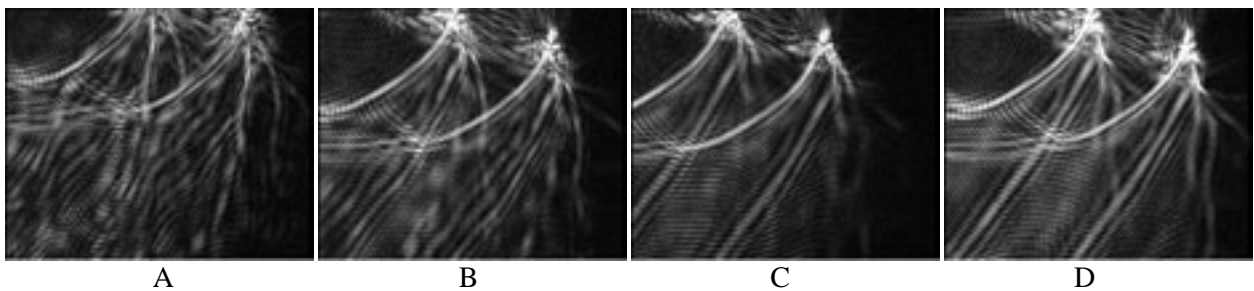
Na Rys. 8.19. przedstawiono interferogramy zarejestrowane na oku po operacji RK. Mimo, iż operacja została przeprowadzona kilkanaście lat temu, film łzowy nie tworzy gładkiej powierzchni na rogówce. Od pierwszych obrazów zarejestrowanych po mrugnięciu (Rys. 8.19A.) widoczne są linie odchodzące promieniście od jasnego punktu. Na jasnych liniach prążki interferencyjne zmieniają swój kierunek, zatem ilustrują lokalny brak gładkości powierzchni łez. Podobny wynik obserwowano po każdym mrugnięciu oka oraz na drugim oku, na którym też została przeprowadzona operacja.



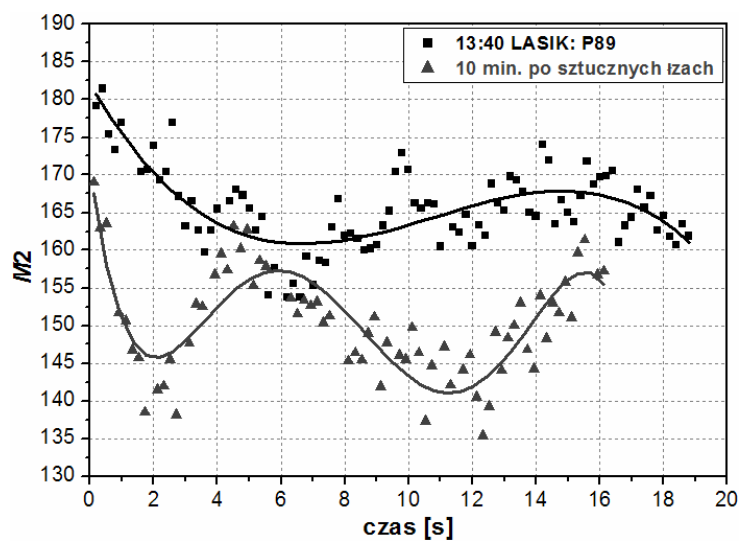
Rys. 8.17. Sekwencja interferogramów zarejestrowanych na rogówce po operacji LASIK (P89): 0,40 s (A), 3,0 s (B), 7,20 s (C), 14,08 s (D) po mrugnieniu oka.



Rys. 8.18. Sekwencja interferogramów zarejestrowanych na rogówce po operacji LASIK po zastosowaniu sztucznych łez (P89): 0,52 s (A), 2,12 s (B), 6,52 s (C), 14,12 s (D) po mrugnieniu oka.



Rys. 8.19. Sekwencja interferogramów zarejestrowanych na rogówce po operacji RK (P109): 0,32 s (A), 2,88 s (B), 6,60 s (C), 10,00 s (D) po mrugnieniu oka.



Rys. 8.20. Wartości parametru $M2$ dla rogówki po operacji LASIK (P89): przed (czarny) i po (szary) zastosowaniu sztucznych łez.

W przypadku oczu po chirurgii refrakcyjnej powierzchnia rogówki jest bardzo nierówna i film łzowy zbyt cienki, by utworzyć gładką warstwę na oku. Dlatego podczas całej rejestrowanej sekwencji widoczne są jaśniejsze linie zaburzające regularność prążków interferencyjnych oraz lokalne zaburzenia pojawiają się w podobnych miejscach.

8.4. Wnioski

1. Stabilność filmu łzowego na „suchym oku” jest znacząco zaburzona w porównaniu z okiem zdrowym. W większości przypadków obserwowany jest czas stabilizowania się filmu łzowego bezpośrednio po mrugnięciu jako wygładzanie się prążków na kolejnych interferogramach. Jednakże wartości parametru $M2$ są często wysokie od początku analizowanego pomiaru lub rosną w czasie. Jasne obszary zaburzające lokalnie regularność prążków interferencyjnych świadczą o braku gładkości powierzchni łez na rogówce.
2. Inwazyjna metoda pomiaru stabilności filmu łzowego, taka jak test fluoresceinowy, znacznie zaburza gładkość i kinetykę filmu łzowego.
3. Stopień zaburzenia gładkości łez na „suchym oku”, w mierzonych przypadkach, był powtarzalny dla danego oka, jednak przełomy w filmie łzowym tworzą się losowo.
4. Inna natomiast wydaje się być natura nierównomierności filmu łzowego na rogówkach po chirurgii refrakcyjnej rogówki. Jasne, nieregularne linie zaburzające prążki interferencyjne, są obserwowane przez cały czas między mrugnięciami nie zmieniając kształtu (rogówka po RK) bądź pojawiają się periodycznie podczas pomiaru (rogówka po LASIK).
5. Zastosowanie sztucznych łez poprawiało stabilność filmu łzowego. W przypadku niektórych kropli efekt wygładzenia powierzchni łez był natychmiastowy. W przypadku innych regularne prążki były obserwowane dopiero przy późniejszym pomiarze.
6. Zbadano zbyt małą grupę pacjentów, by móc wyciągnąć dokładniejsze wnioski dotyczące czasu działania sztucznych łez. Jednakże, u niektórych zbadanych pacjentów, wynik analizy numerycznej dla sztucznych łez na oku po dwóch godzinach od zakropienia, wykazuje różnice w ich działaniu na danym oku.

9. Dodatkowa analiza zjawisk obserwowanych na interferogramach

W tym rozdziale podjęto próbę zrozumienia obserwowanych zjawisk interferencyjnych występujących na filmie łzowym. W celu wyjaśnienia lub lepszego zrozumienia genezy występujących zjawisk na interferogramach posłużono się aparatem matematycznym analizującym zarejestrowane wcześniej obrazy.

9.1. Stabilizowanie się filmu łzowego po mrugnięciu oka

W rozdziale 6. wspomniano o procesie rozprowadzania nowej warstwy łez na rogówce z każdym mrugnięciem oka poprzez ruch powiek. Bezpośrednio po otwarciu powieki, upływa pewien czas zanim film łzowy utworzy gładką powierzchnię na nieregularnym nabłonku rogówki. Jako pierwszy opisał to zjawisko Nemeth i czas, w którym film łzowy stabilizuje się zaraz po mrugnięciu na oku nazwał czasem odbudowy filmu łzowego (*build-up time*) [73]. Do badania gładkości powierzchni łez na rogówce użył szybkiego wideokeratometru analizującego zmieniającą się topografię gładkości warstwy łez. Czas stabilizowania się filmu łzowego oszacował na 5-7 s. Podobne badania o większej rozdzielczości zostały wykonane przez grupę w Australii [47]. Czas stabilizowania się filmu łzowego analizowano również poprzez obserwacje ruchu cząsteczek w cieczy podążających za podnoszącą się powieką [78]. Prędkość poruszania się cząstek w cieczy łzowej dla normalnych oczu maleje do zera po upływie $1,05 \pm 0,30$ s. Goto i Tseng [35] analizowali zmiany w barwnych obrazach interferencyjnych rejestrowanych na podstawie interferencji w cienkiej warstwie lipidów. Czas rozprowadzenia warstwy lipidowej zdefiniowano jako przedział czasowy, po którym obserwowano jednolity, stabilny obraz interferencyjny po mrugnięciu oka. Dla normalnych oczu uzyskano czas równy $0,36 \pm 0,22$ s. Zauważono również, iż aberracje oka osiągają minimum po około 6 s po mrugnięciu [70].

Podczas interferencyjnego badania filmu łzowego obserwowano wyraźne zmiany nieregularności powierzchni łez w czasie bezpośrednio po mrugnięciu. W rozdziale tym opisano kinetykę procesu stabilizowania się filmu łzowego w czasie pierwszych 3 s po mrugnięciu na podstawie analizy zarejestrowanych interferogramów na oczach niewykazujących patologii łez.

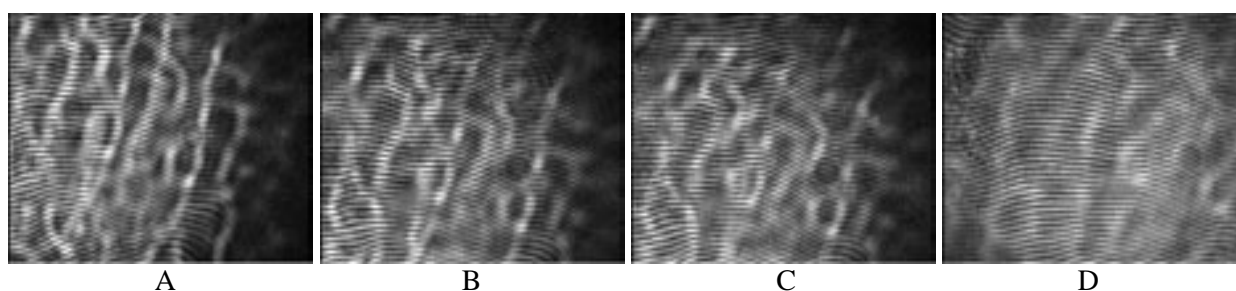
Do opisu procesu wygładzania filmu łzowego na rogówce, wprowadzone zostały również nowe ilościowe miary.

9.1.1. Zmiany wartości parametru $M2$ bezpośrednio po mrugnięciu

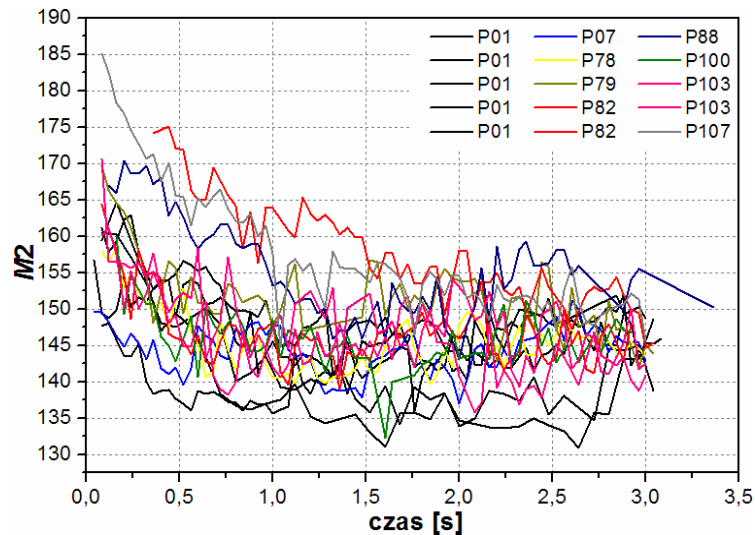
W rozdziale 6.1. przedstawiono sekwencje interferogramów zarejestrowanych na normalnym oku. W przypadku, gdy film łzowy jest stabilny, na większości interferogramów obserwowane są regularne prążki, co świadczy o tym, iż warstwa łez na rogówce jest gładka. Wartości parametru $M2$ są wówczas najniższe. Jednak, w pierwszej sekundzie po mrugnięciu oka regularność prążków interferencyjnych jest wyraźnie zaburzona (Rys. 9.1.). Tło interferogramu jest nierównomierne, widoczne są jaśniejsze i ciemniejsze obszary, które wpływają na lokalne zmiany kontrastowości prążków. Nieregularność prążków interferencyjnych skutkuje wyższymi wartościami parametru $M2$. Charakterystycznym przebiegiem zmian parametru $M2$ są na początku wyższe wartości na wykresie, które gwałtownie opadają w czasie pierwszych 1-3 s, po czym stabilizują się.

Na Rys. 9.2. zilustrowano zmiany parametru $M2$ w pierwszych trzech sekundach po mrugnięciu oka dla klatek zarejestrowanych z interwałem czasu 40 ms pochodzących z 15-tu różnych sekwencji wideo. Wykres dla każdego pacjenta został przedstawiony za pomocą innego koloru.

Największy spadek wartości parametru $M2$ obserwuje się w pierwszej sekundzie po mrugnięciu. Analizując zmianę wartości parametru $M2$, można oszacować czas stabilizowania się filmu łzowego na około 0,5–1,5 s.



Rys. 9.1. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na normalnym oku, P01: 0,12 s (A), 0,24 s (B), 0,40 s (C) 1,04 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys. 9.2. Wartości parametru $M2$ w czasie trzech pierwszych sekund po mrugnieniu dla 15 normalnych oczu.

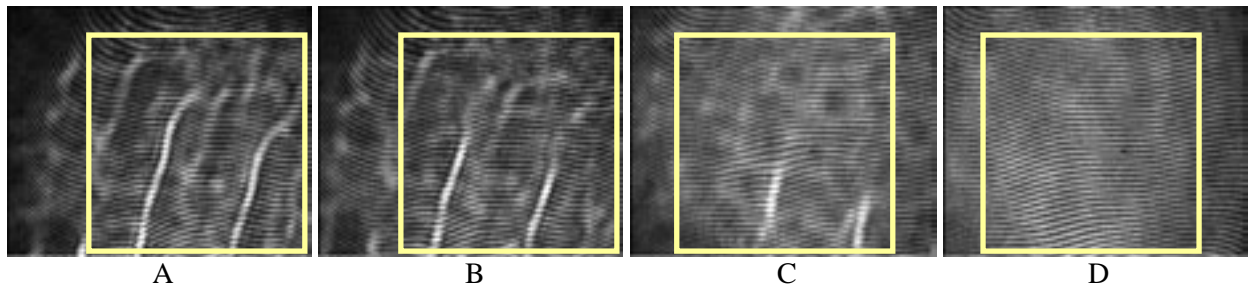
9.1.2. Analiza kierunkowości tła prążków interferencyjnych

Jasna struktura obserwowana w tle prążków interferencyjnych zaraz po mrugnieniu oka ma najczęściej prawie pionową orientację. W celu zrozumienia dynamiki procesu stabilizowania się filmu łowego, poddano analizie kierunkowość jasnej, nieregularnej struktury i porównano wyniki dla oczu prawych i lewych. Wyniki analizy są przedmiotem publikacji autora [96].

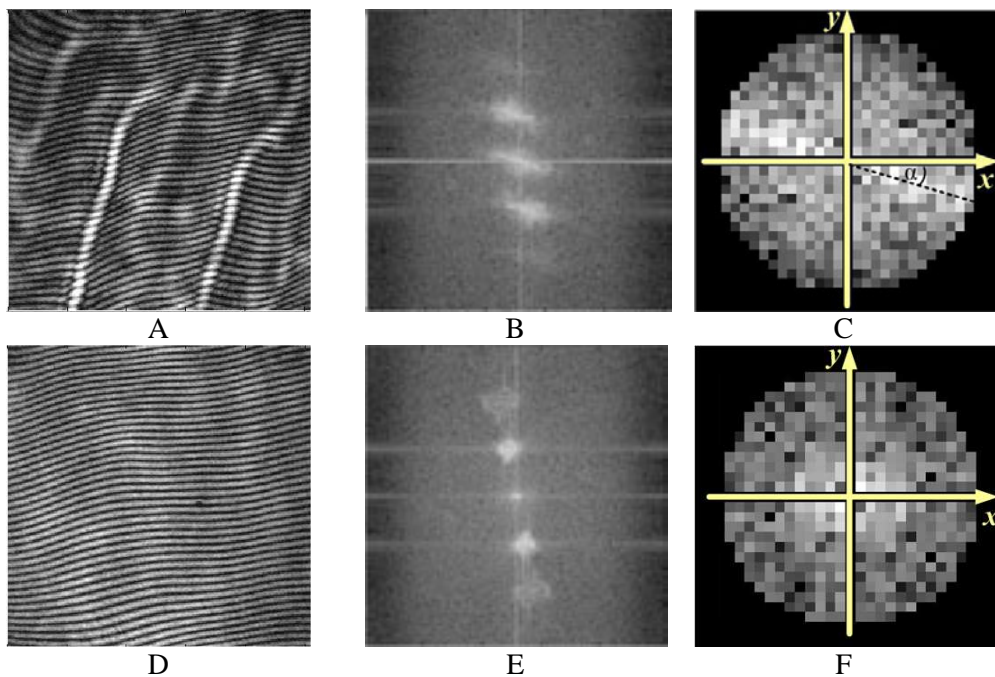
9.1.2.1. Metoda analizy

Do analizy wybierany jest fragment interferogramu, który zawiera prążki interferencyjne o najwyższym kontraście. Każdy obraz jest początkowo skanowany oknem o rozmiarze 256×256 pikseli i dla każdego położenia okna na interferogramie liczona jest sumaryczna intensywność pikseli. Wyboru dokonuje się poprzez znajdowanie fragmentu o najwyższej średniej intensywności pikseli. W celu otrzymania informacji o kierunkowości jasnej struktury w tle prążków, analizowane jest rozmycie zerowego rzędu widma Fouriera wybranego fragmentu danego interferogramu (Rys. 9.3.).

Dla klatek zarejestrowanych w bardzo krótkim czasie po mrugnieniu (Rys. 9.3.A-C) gładkość prążków interferencyjnych jest zaburzona i wyraźnie widać jaśniejsze prawie pionowe pasy w tle interferogramu. W zerowym rzędzie widma Fouriera takich klatek daje się wówczas wyróżnić kierunek rozmycia.



Rys. 9.3. Przykładowa sekwencja interferogramów zarejestrowanych na filmie łożowym na prawym oku (P116): 0,28 s (A), 0,36 s (B), 0,68 s (C), 3,00 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys. 9.4. Procedura analizy kierunkowości jasnej struktury w tle prążków interferencyjnych.
 A i D: Analizowany fragment klatki zarejestrowanej odpowiednio 0,12 i 3,00 s po mrugnięciu,
 B i E: Widmo Fouriera analizowanego fragmentu klatki,
 C i F: Zerowy rząd widma Fouriera wybranego fragmentu klatki A i D, odpowiednio.

Na Rys. 9.4.A i D przedstawione są wybrane fragmenty interferogramów z analizowanej sekwencji. Rys 9.4.B ilustruje widmo Fouriera wyliczone dla klatki zarejestrowanej 0,12 s po mrugnięciu (Rys. 9.4.A), na której struktura tła jest wyraźna. Dla klatek, na których jasna struktura w tle prążków interferencyjnych jest rozmyta i tło prążków stało się już prawie jednorodne (Rys. 9.4.D), nie można wyróżnić wyraźnego kierunku rozmycia zerowego rzędu widma fourierowskiego (Rys. 9.4.E).

Po wyliczeniu szybkiej transformaty Fouriera dla wybranego fragmentu każdej klatki, wycinany jest z widma zerowy rząd (Rys. 9.4.C i F) i analizowany kierunek jego rozmycia. Promień macierzy zerowego rzędu jest równy jednej trzeciej odległości między pikselem o maksymalnej intensywności zerowego rzędu, a pikselem o maksymalnej intensywności

pierwszego rzędu widma. W celu analizowania kierunku rozmycia zerowego rzędu, wyznaczany jest kierunek głównych środkowych osi bezwładności otrzymanej matrycy pikseli ze wzoru:

$$\varphi = \frac{\arctan\left(\frac{2J_{xy}}{J_x - J_y}\right)}{2}, \quad (9.1)$$

gdzie: J_x – moment bezwładności względem osi OX

J_y – moment bezwładności względem osi OY ,

J_{xy} – moment odśrodkowy względem układu osi OX i OY (układ współrzędnych położony jak na Rys. 9.4.C i F).

Korzystając ze wzoru (9.1) wartość kąta φ wyznacza kierunek i wartość kąta nachylenia jednej z osi głównych matrycy zerowego rzędu widma odchylanej od osi OY . Kierunkowość jasnej struktury określona jest jako kąt nachylenia α głównej osi środkowej, względem której moment bezwładności jest maksymalny J_{max} do osi OX układu współrzędnych. Zatem otrzymana ze wzoru (9.1) wartość kąta φ musi być odpowiednio przeliczona. Należy zaznaczyć, iż dodatnie kąty α odkładane są od osi OX przeciwie do ruchu wskazówek zegara. Na prezentowanym przykładzie (Rys. 9.4.C) kąt α odchylenia środkowej osi głównej jest ujemny.

Oprócz kąta nachylenia osi głównej matrycy, obliczona jest również znormalizowana różnica wartości pomiędzy ekstremalnymi momentami bezwładności:

$$B = \frac{J_{max} - J_{min}}{J_{max}}. \quad (9.2)$$

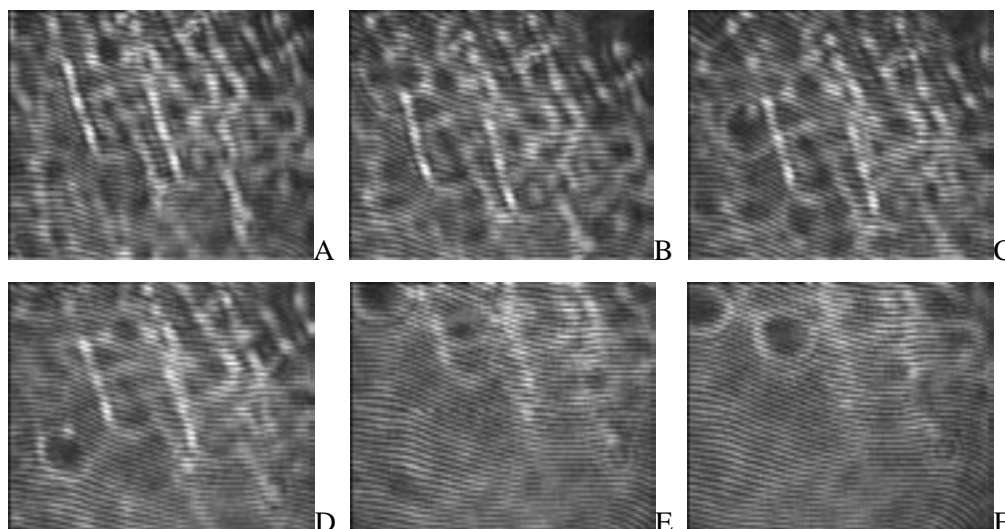
Różnica ta jest dalej traktowana jako miara stopnia rozmycia jasnej struktury w tle. Im mniej wyraźny jest kierunek rozmycia zerowego rzędu widma fourierowskiego, tym mniejsza jest różnica wartości ekstremalnych momentów bezwładności względem osi głównych matrycy zerowego rzędu.

9.1.2.2. Wyniki analizy i wnioski

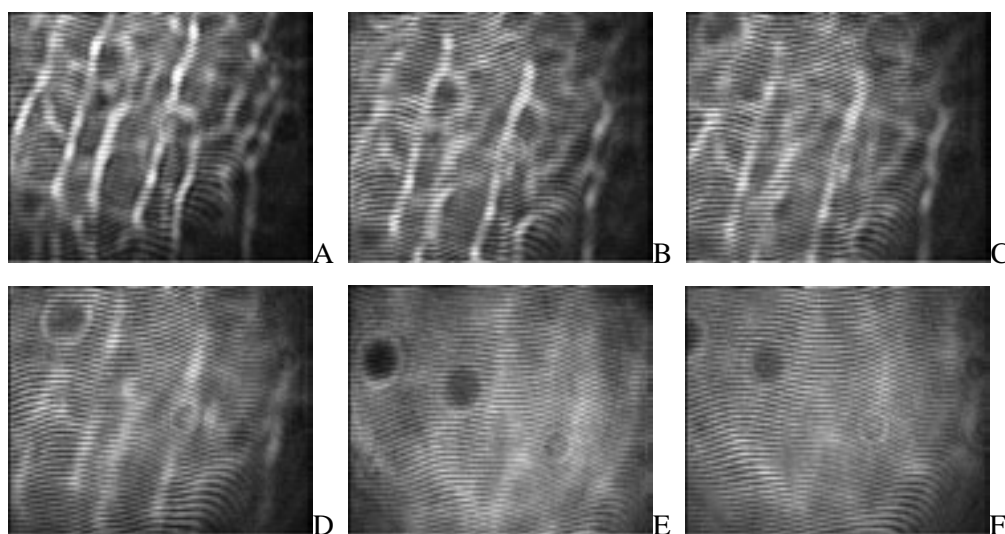
Kierunkowość jasnej struktury tła została policzona dla sekwencji zarejestrowanych na kilkunastu oczach prawych i lewych. Na Rys. 9.5. i 9.6. przedstawiono przykładowe sekwencje interferogramów zarejestrowanych na oku lewym i prawym tego samego pacjenta w pierwszych dwóch sekundach po mrugnięciu.

Na Rys. 9.7. przedstawiono wyniki numeryczne analizy otrzymane dla prezentowanych sekwencji. Na Rys. 9.7.A, C i E zaprezentowano zmieniającą się w czasie znormalizowaną różnicę wartości ekstremalnych momentów bezwładności liczonych względem osi głównych

danej matrycy dla każdej klatki z sekwencji. Różnica ta maleje z czasem, co oznacza, że kierunkowość struktury jest coraz mniej rozróżnialna, co tym samym ilustruje proces stabilizowania się filmu łzowego na rogówce w pierwszych pięciu sekundach po mrugnięciu.

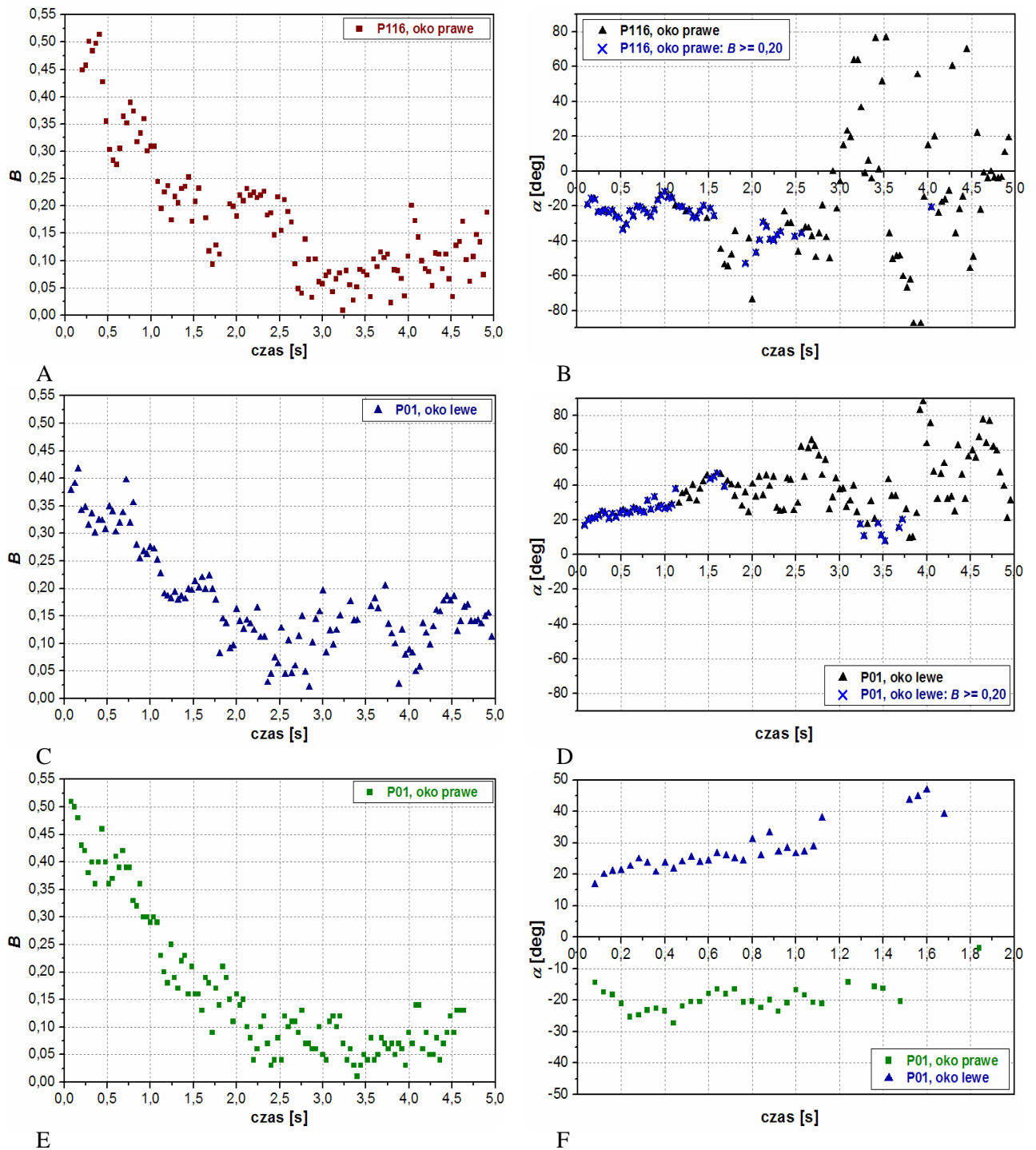


Rys. 9.5. Przykładowa sekwencja interferogramów zarejestrowana na filmie łzowym na lewym oku (P01): 0,12 s (A), 0,24 s (B), 0,36 s (C), 0,68 s (D), 1,52 s (E) i 2,00 s (F) po mrugnięciu oka.



Rys. 9.6. Przykładowa sekwencja interferogramów zarejestrowanych na filmie łzowym na prawym oku (P01): 0,12 s (A), 0,24 s (B), 0,36 s (C), 0,68 s (D), 1,52 s (E) i 2,00 s (F) po mrugnięciu oka.

Program zwraca oś główną matrycy i wylicza jej kąt nachylenia do osi OX dla każdej klatki poddanej analizie. Jak pokazują Rys. 9.7.B i D, dla małej różnicy głównych momentów bezwładności wyliczany kąt α charakteryzuje się dużym rozrzutem. Dlatego wartość współczynnika $B = 0,20$ przyjęto za wartość progową. Kierunkowość struktury w tle została przeanalizowana tylko dla wartości różnic momentów bezwładności powyżej $B = 0,20$.



Rys. 9.7. Wyniki numeryczne otrzymane dla sekwencji z Rys 9.3.(A, B), 9.5.(C, D) i 9.6.(E, F).
 Wartości współczynnika B jako miara stabilizowania się filmu łzowego po mrugnieniu oka (A, C i E).
 Kąt α jako miara orientacji jasnej struktury dla klatek z całej analizowanej sekwencji (B, D).
 Kąt α w przypadku, gdy wartość współczynnika B jest nie mniejsza niż 0,20 (F).

Dla zbadanej grupy pacjentów otrzymano następujące wyniki. Dla oczu prawych wartość kąta α w pierwszych 2 s po mrugnieniu przyjmuje wartości ujemne, natomiast dla oczu lewych dodatnie. W Tabeli 9.1 zamieszczono wartości współczynnika B i kąta α dla przykładowych klatek z sekwencji wraz ze średnią wartością kąta nachylenia jasnej struktury tła i odchyleniem

standardowym policzonego tylko dla klatek z wyraźną strukturą. Kolorem niebieskim na wykresach 9.7.B i D zaznaczono wartości kąta α , które podlegają analizie ze względu na warunek współczynnika B . Na Rys. 9.7.F przedstawiono przykładowy wynik kąta α dla obu oczu tego samego pacjenta.

Tabela 9.1. Wartości współczynnika B i kąta α dla klatek przedstawionych odpowiednio na Rys. 9.3, 9.5 i 9.6.

Oko prawe / pacjent 116			Oko prawe / pacjent 01			Oko lewe / pacjent 01		
czas [s]	B	α [°]	czas [s]	B	α [°]	czas [s]	B	α [°]
0,12	0,40	-19,36	0,12	0,50	-17,52	0,12	0,39	19,93
0,28	0,50	-23,12	0,24	0,42	-25,35	0,24	0,35	22,49
0,36	0,50	-23,99	0,36	0,36	-22,69	0,36	0,30	20,63
0,68	0,36	-20,37	0,68	0,42	-18,07	0,68	0,34	25,92
1,00	0,23	-20,29	1,52	0,16	-25,34	1,52	0,21	43,55
3,00	0,06	-6,31	2,00	0,16	-0,25	2,00	0,16	40,59
Średnia gdy $B \geq 0,20$		-(25,89 ±8,78)	Średnia gdy $B \geq 0,20$		-(19,57 ±4,32)	Średnia gdy $B \geq 0,20$		25,16 ±8,70

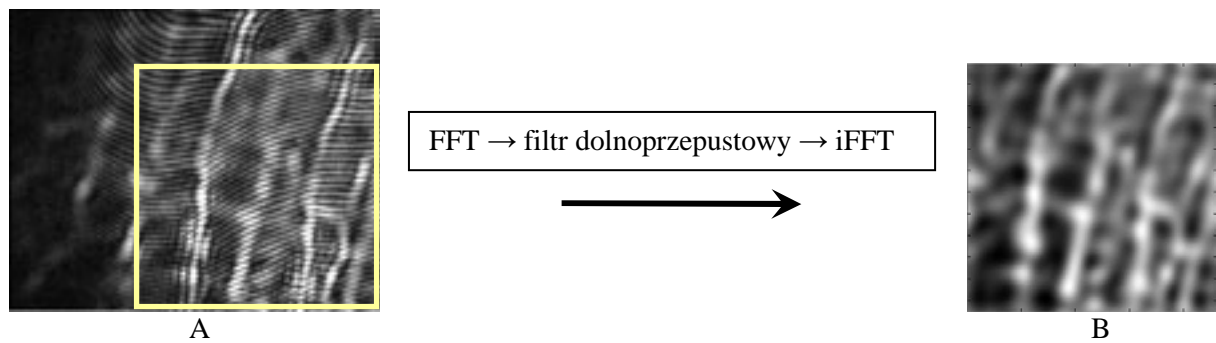
Przeciwnie znaki kąta α dla oczu prawych i lewych sugerują, iż widoczne jaśniejsze linie w tle prążków interferencyjnych mają prawdopodobnie związek z ruchem powiek, których ruch odbywa się w kierunku od skroni do nosa. Powieki ciągną za sobą warstwę łez podczas mrugania tworząc smugi, które następnie się rozmywają.

9.1.3. Analiza niejednorodności natężenia tła prążków interferencyjnych

Wraz z wygładzaniem filmu łzowego na rogówce po mrugnięciu oka oświetlenie tła interferogramów staje się coraz bardziej równomierne. Innym zaproponowanym opisem dynamiki wygładzania (stabilizowania) się powierzchni filmu łzowego po mrugnięciu jest miara oparta na określeniu nierównomierności jasności tła prążków interferencyjnych.

9.1.3.1. Metoda analizy

Aby zminimalizować wpływ ruchu oka na wyniki numeryczne, podobnie jak w poprzedniej metodzie analizowany jest fragment klatki pokryty wysoko kontrastowymi prążkami. Analizie podlega tutaj fragment interferogramu o rozmiarze 230×230 pikseli. W celu otrzymania informacji o tle interferogramu, liczona jest szybka transformata Fouriera dla wybranego fragmentu każdej klatki, następnie stosowany filtr dolnoprzepustowy. Zakrywając wyższe częstotliwości i pozostawiając jedynie otoczenie wokół zerowej harmonicznej widma liczona jest następnie odwrotna transformata Fouriera (iFFT). Po zastosowaniu tej procedury z interferogramu na Rys. 9.8.A otrzymano obraz prezentowany na Rys. 9.8.B.



Rys. 9.8. Procedura analizy niejednorodności oświetlenia tła interferogramu

Niech $I(x,y)$ jest dwuwymiarową funkcją opisującą natężenie oświetlenia w obrazie po odfiltrowaniu prążków interferencyjnych (Rys. 9.8.B). Wyznaczana jest wartość średnia natężenia w tym obrazie przyjmowana następnie jako poziom odniesienia i liczona jest nowa funkcja $F(x,y)$:

$$F(x, y) = \left| I(x, y) - \frac{\sum_{x=1}^N \sum_{y=1}^N I(x, y)}{N \cdot N} \right|, \quad (9.3)$$

gdzie: $N \times N$ jest rozmiarem analizowanej klatki,

x i y są współrzędnymi kolejnych pikseli w macierzy.

Nowa dwuwymiarowa funkcja $F(x,y)$ opisuje wygładzony - uśredniony rozkład natężenia w tle analizowanego interferogramu. Jako współczynnik wyznaczający niejednorodność oświetlenia tła zaproponowano średnią bezwzględną wartość różnicy funkcji natężenia i jej wartości uśrednionej:

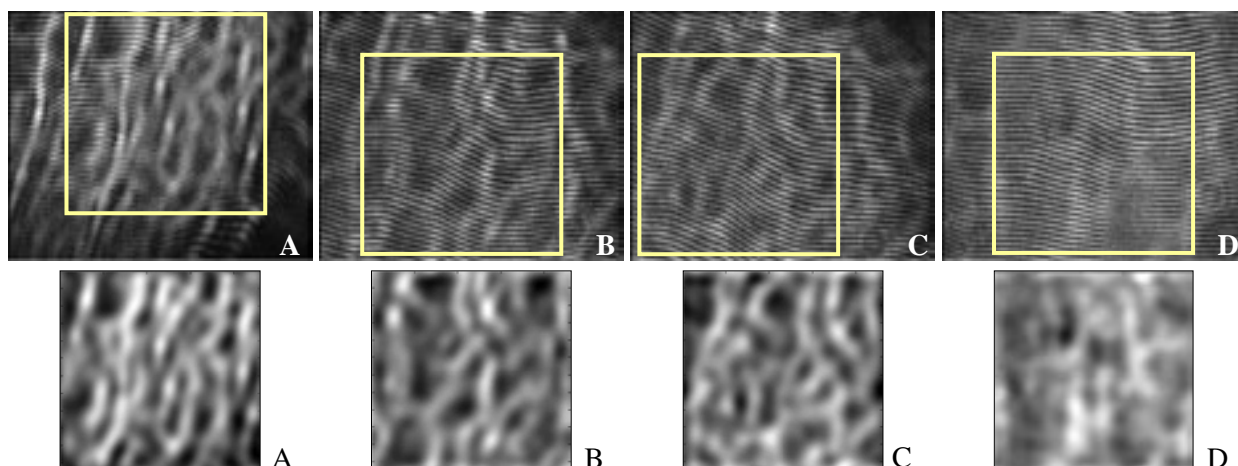
$$T = 1 - \frac{\left| \sum_{x=1}^N \sum_{y=1}^N I(x, y) - \sum_{x=1}^N \sum_{y=1}^N F(x, y) \right|}{\sum_{x=1}^N \sum_{y=1}^N I(x, y)}. \quad (9.4)$$

Współczynnik T zmienia się od 0 do 1, dla jednolitego tła przybierając wartość 0. Takiej analizie poddano klatki zarejestrowane z interwałem czasu 40 ms w pierwszych pięciu sekundach po mrugnieniu oka.

9.1.3.2 Wyniki analizy i wnioski

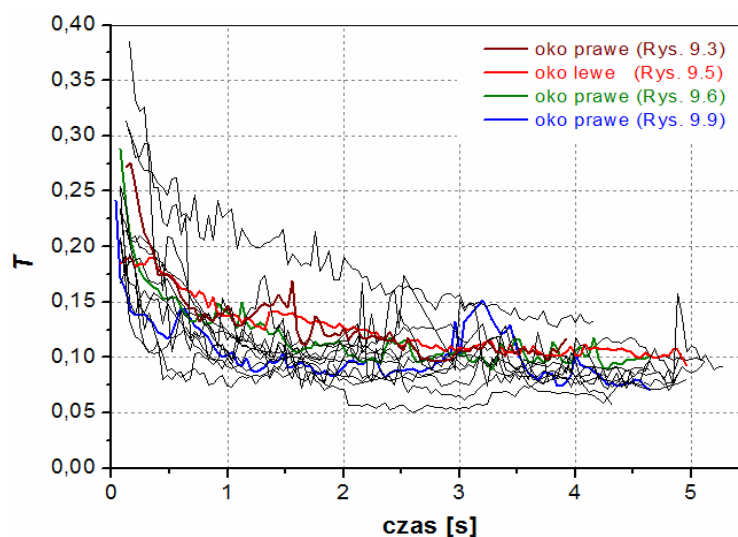
Analiza wygładzania się filmu łzowego zaraz po mrugnieniu została przeprowadzona na sekwencjach obrazów zarejestrowanych na kilkunastu zdrowych oczach. Rys. 9.9. przedstawia

przykładową sekwencję interferogramów w pierwszej sekundzie po mrugnięciu oka wraz z zaznaczonymi fragmentami klatki poddanych procedurze. Poniżej zamieszczono wybrane fragmenty obrazów ilustrujące zmieniający się w czasie rozkład natężenia w tle prążków interferencyjnych.



Rys. 9.9. Przykładowa sekwencja zarejestrowana na prawym oku (P07). Góra: Interferogramy z zaznaczonym fragmentem poddanych analizie. Dół: obrazy otrzymane po zastosowaniu filtra dolnoprzepustowego, ilustrują zmieniające się natężenie tła interferogramów.

Klatki zarejestrowane 0,04 s (A), 0,12 s (B), 0,28 s (C) i 1,08 s (D) po mrugnięciu oka.



Rys. 9.10. Zmiana niejednorodności oświetlenia tła interferogramów jako miara stabilizowania się filmu łzowego po mrugnięciu oka. Kolorem zaznaczono wykresy dla klatek z rysunków odpowiednio: bordowy (Rys. 9.3.), czerwony (Rys. 9.5.), zielony (Rys. 9.6.), niebieski (Rys. 9.9).

Na Rys. 9.10. zilustrowano zależność niejednorodności oświetlenia tła interferogramów zmieniającą się z upływem czasu po mrugnięciu oka w pierwszych pięciu sekundach dla kilkunastu pacjentów. Kolorem wyszczególniono dodatkowo wyniki dla sekwencji prezentowanych w podrozdziale 9.1.2 i 9.1.3. Wartość współczynnika T maleje monotonicznie

w czasie, niezależnie od kierunkowości struktury. W większości dziesięciu zmierzonych przypadków zmiana współczynnika jest gwałtowna w pierwszej sekundzie po mrugnieniu. Następnie maleje znacznie wolniej. Po dwóch sekundach, można uznać, iż współczynnik się stabilizuje. Stabilna i niska wartość współczynnika T określa bardziej jednorodne oświetlenie tła interferogramu. Powierzchnia łez jest wówczas równomiernie rozłożona na rogówce oka.

9.2. Powtarzalność kształtu jasnej struktury tła prążków interferencyjnych

Na rejestrowanych interferogramach widoczne są często jasne bądź ciemne struktury, które zaburzają gładkość prążków interferencyjnych. Na oczach zdrowych bezpośrednio po mrugnieniu, podczas stabilizacji filmu łzowego, te ciemniejsze i jaśniejsze obszary zanikają z czasem. Na oczach po chirurgii refrakcyjnej rogówki typu LASIK, kształt pojawiającej się jasnej struktury w tle prążków interferencyjnych wydaje się być stały w czasie. Do analizy kształtu jasnej struktury obserwowanej w tle prążków interferencyjnych zainspirowała nas publikacja Brona i Tripathiego [9], którzy obserwowali na osuszonej rogówce nierówności nazywając je mozaiką rogówki. Bron zasugerował ponadto, iż wzór mozaiki rogówki może mieć wpływ na zaburzenie gładkości łez na rogówce.

9.2.1. Metoda analizy

Na Rys. 9.11. zilustrowano kolejne kroki stosowanej procedury: dla interferogramu (Rys. 9.11.A) obliczono szybką transformatę Fouriera (FFT) (Rys. 9.11.B) i po zastosowaniu filtra dolnoprzepustowego otrzymano obraz (Rys. 9.11.C) z informacją niesioną tylko przez niższe częstotliwości. W celu podniesienia kontrastu otrzymanego obrazu i uwydatnienia kształtu jasnego wzoru, wartość każdego elementu obrazu traktowanego jako macierz została podniesiona do kwadratu. Ta procedura prowadzi do zróżnicowania pikseli o większej intensywności. Po znormalizowaniu nowego obrazu do skali szarości otrzymujemy obraz na Rys. 9.11.D

W następnym etapie algorytmu analizowany jest kształt jasnych i ciemnych obszarów w obrazie. Analiza przeprowadzana jest pod kątem sprawdzenia czy wzór jasnej i ciemnej struktury można uznać za stały w czasie rejestracji oraz czy przybiera podobną formę po kolejnych mrugnieniach powieki. Ze względu na nieunikniony ruch oka podczas pomiaru, który

wiąże się z przesuwaniem całej jasnej struktury w obrazie, nie można porównywać między sobą bezpośrednio całych rejestrowanych obrazów.

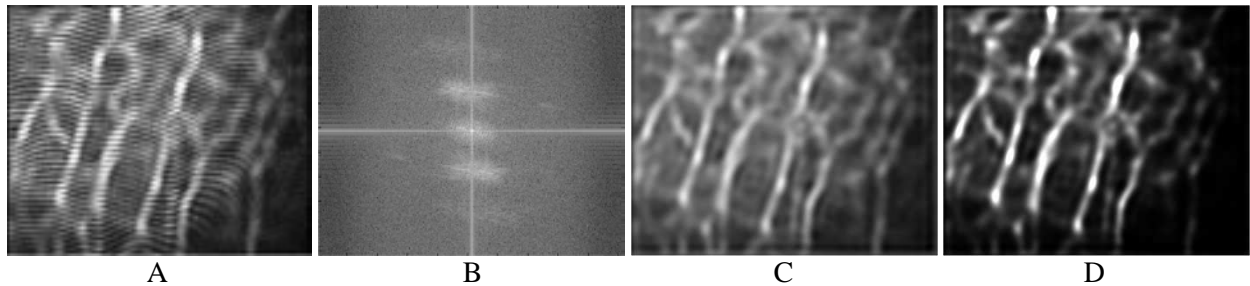


Fig. 9.11. Procedura otrzymywania z interferogramów informacji o tle prążków:

- A) Przykładowy interferogram zarejestrowany 0,16 s po mrugnieniu na normalnym oku,
 B) widmo Fouriera interferogramu, C) obraz po odfiltrowaniu pierwszego i wyższych rzędów
 widma Fouriera, D) obraz z poprawionym kontrastem.

Procedurę porównywania klatek między sobą prezentuje Rys. 9.12. Każda rejestrowana klatka ma rozmiar 352×288 piksele. Jedna klatka z sekwencji wybierana jest jako wzorcowa. Następnie wycięty zostaje fragment $A(m, n)$ wzorcowej klatki z charakterystycznym wzorem struktury, którego kształt chcemy porównać na kolejnych obrazach. Zmienne $m \times n$ symbolizują rozmiar wybranego fragmentu. W celu określenia, czy kolejna klatka B zawiera strukturę o podobnym kształcie jak w wybranym fragmencie $A(m, n)$, wzorcowy fragment A jest przesuwany po obrazie B i dla każdej jego pozycji liczony jest współczynnik korelacji wg wzoru:

$$corr(i, j) = \frac{\sum_m \sum_n [A(m, n) - \bar{A}][B_{i,j}(m, n) - \bar{B}_{i,j}]}{\sqrt{\left(\sum_m \sum_n [A(m, n) - \bar{A}]^2 \right) \left(\sum_m \sum_n [B_{i,j}(m, n) - \bar{B}_{i,j}]^2 \right)}}, \quad (9.5)$$

gdzie:

$A(m, n)$ – wybrany fragment o rozmiarach $m \times n$ wzorcowego obrazu A ,

(i, j) – współrzędne piksela przyłożenia wzorcowego fragmentu $A(m, n)$ do obrazu B :

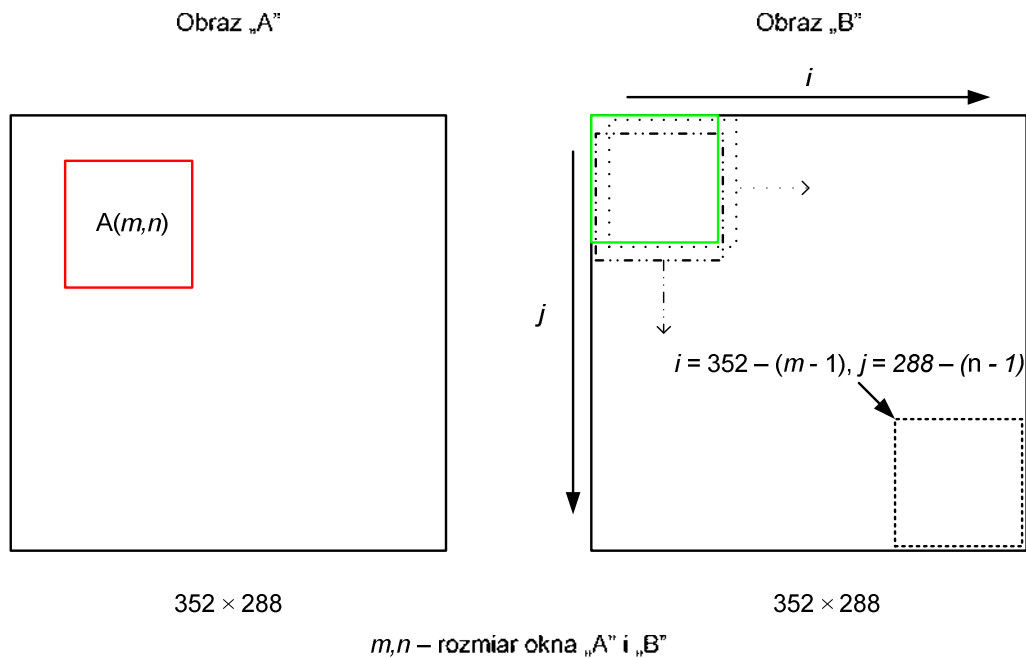
$1 \leq i \leq 352 - (m - 1)$ i $1 \leq j \leq 288 - (n - 1)$,

\bar{A} – średnia wartość intensywności pikseli w fragmencie obrazu A ,

\bar{B} – średnia wartość intensywności pikseli w kolejnym porównywanym fragmencie obrazu B .

Obliczony wg wzoru (9.4) współczynnik korelacji $corr$ przybiera wartości od -1 do 1. Jest on liczony pomiędzy wybranym fragmentem $A(m, n)$ obrazu A (Rys. 9.12. – czerwona ramka) i każdym fragmentem obrazu B o rozmiarze $m \times n$ (Rys. 9.12. – zielona ramka). Wzorcowy fragment jest przesuwany po klatce B co 2 piksele. Najwyższa wartość współczynnika korelacji

$\max(\text{corr})$ wskazuje na część obrazu B z najbardziej podobnym kształtem struktury do struktury wzorcowej, $A(m, n)$.

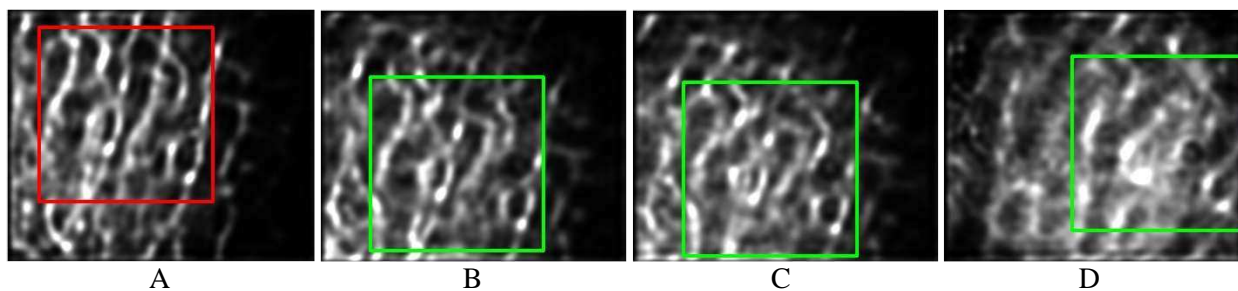


Rys. 9.12. Procedura obliczania współczynnika korelacji i znajdowania najlepszego dopasowania wybranego fragmentu obrazu A w obrazie B.

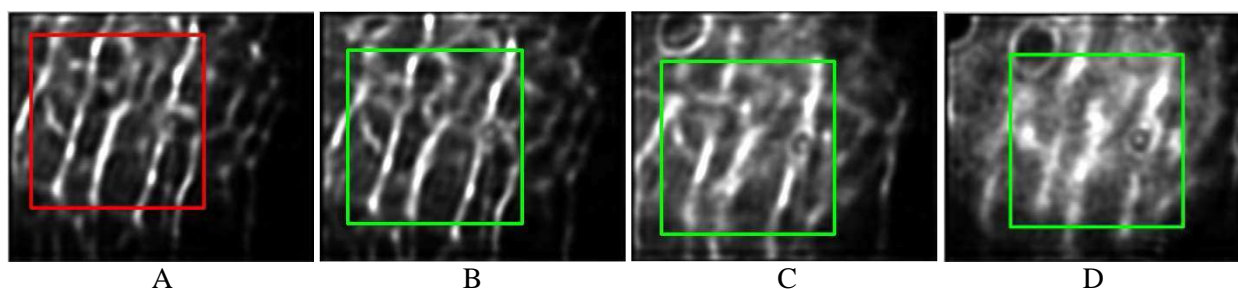
Jedną z początkowych klatek z sekwencji, na której jasna struktura jest wyraźnie widoczna, wybierana jest jako wzorcowa oraz wycinany charakterystyczny jej fragment. Następnie fragment ten porównywany jest z kolejnymi klatkami z danej sekwencji i/lub klatkami z kolejnych sekwencji zarejestrowanych na tym samym oku. Maksymalna wartość współczynnika corr dla każdej pary klatek opisuje zmiany podobieństwa jasnej struktury w czasie.

9.2.2. Związek nieregularności filmu łzowego w krótkim czasie po mrugnięciu z topografią rogówki

Opisaną wyżej metodę szukania podobieństwa między klatkami zastosowano do analizy jasnej struktury tła obserwowanej na normalnym oku bezpośrednio po mrugnięciu. Sprawdzone, czy wraz ze zmianą intensywności jasnej struktury zmienia się również jej kształt na kolejnych klatkach. Sprawdzone również, jak bardzo jasna struktura zaraz po mrugnięciu zmienia się na tym samym oku po kolejnych mrugnięciach oka.



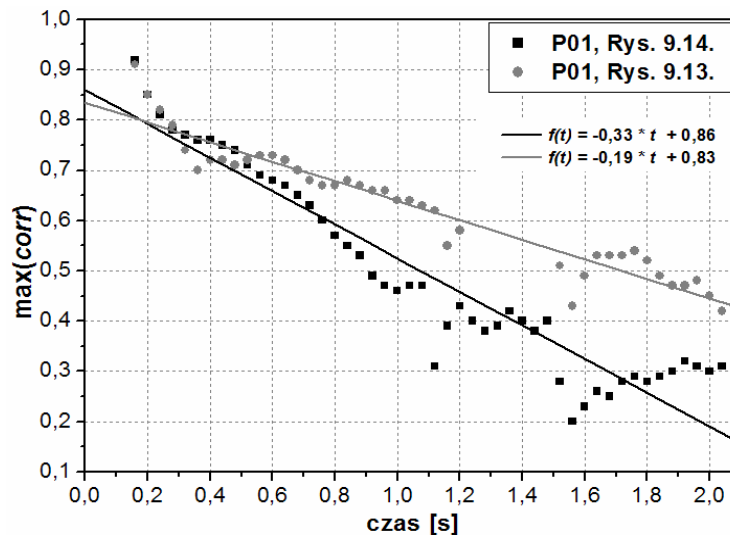
Rys. 9.13. Sekwencja obrazów po filtracji z zaznaczonym obszarem najlepszego dopasowania. Pierwszy obraz z wzorcowym fragmentem zarejestrowany 0,12 s (A), po mrugnięciu; obrazy porównywane: 0,24 s (B), 0,40 s (C) 1,04 s (D) po mrugnięciu. Obrazy pochodzą z klatek z Rys. 9.1.



Rys. 9.14. Sekwencja obrazów po filtracji z zaznaczonym obszarem najlepszego dopasowania. Pierwszy obraz z wzorcowym fragmentem zarejestrowany 0,12 s (A) po mrugnięciu; obrazy porównywane: 0,28 s (B), 0,44 s (C) i 0,88 s (D) po mrugnięciu

Na Rys. 9.13. przedstawione zostały klatki z Rys. 9.1. po zastosowaniu filtru dolnoprzepustowego. Z klatki zarejestrowanej 0,12 s po mrugnięciu wybrano fragment wzorcowy o wymiarach 200×200 pikseli. Podobnie postąpiono z sekwencją klatek zarejestrowanych na tym samym oku, ale w inny dzień (Rys. 9.14.). Wszystkie kolejne klatki w każdej z sekwencji zostały porównane z wzorcowym kwadratem. Zieloną ramką zaznaczono fragment najlepszego dopasowania wyznaczony przez najwyższą wartość współczynnika *corr*.

Po odfiltrowaniu prążków interferencyjnych na otrzymanych obrazach obu przykładowych sekwencji widać, iż jasny wzór staje się coraz bardziej rozmyty na kolejnych klatkach. Wykres (Rys. 9.15.) prezentuje zmiany współczynnika korelacji w czasie dwóch pierwszych sekund od mrugnięcia dla kolejnych klatek w sekwencji.



Rys. 9.15. Wynik numeryczny porównania kolejnych klatek sekwencji dwu-sekundowej z wzorcowym fragmentem klatki zarejestrowanej 0,12 s po mrugnieniu oka. Szare okręgi: sekwencja z Rys. 9.13., czarne kwadraty: sekwencja z Rys. 9.14.

Obserwując strukturę tła na obrazach po filtracji oraz analizując wykres zmian współczynnika korelacji można wyciągnąć wniosek, iż podobieństwo struktury maleje w czasie wraz ze stabilizowaniem się warstwy filmu łzowego na powierzchni oka. Porównano również obrazy zarejestrowane na tym samym oku, ale po dwóch osobnych mrugnieniach oka. Jedyną wspólną cechą jasnej struktury na obrazach pochodzących z dwóch różnych sekwencji zarejestrowanych na tym samym oku jest prawie pionowa orientacja białych linii w tle. Sugeruje to, iż jasna struktura związana jest z przepływem i stabilizowaniem się warstw filmu łzowego po otwarciu oka, nie zaś z topografią rogówki.

9.2.3. Struktura tła prążków interferencyjnych obserwowana na rogówkach po operacji LASIK

Na interferogramach zarejestrowanych na rogówkach po operacji LASIK obecne są w tle prążków dodatkowe jasne i ciemne struktury nie tylko podczas fazy stabilizowania się filmu łzowego, ale również kilka sekund później. Charakterystyczne dla badanych oczu po operacji laserowej jest cykliczne pojawianie się i znikanie jasnej struktury pomiędzy mrugnieniami oka. Jasny wzór obserwowany jest często tuż przed kolejnym mrugnieniem. Fakt działania lasera excimerowego i ablacja tkanki rogówki oraz ilość pooperacyjnych komplikacji towarzyszących temu zabiegowi pozwalają przypuszczać, iż obserwowana jasna struktura może mieć związek z nierównościami na rogówce. Przeanalizowano zatem numerycznie kształt pojawiającej się struktury tła na obrazach oraz przetestowano powtarzalność kształtu struktury celem

zweryfikowania genezy występowania dodatkowego jasnego wzoru w tle prążków interferencyjnych [99].

Podobnie jak na rogówce oka normalnego, w przypadku oczu po operacji laserowej LASIK również możemy wyróżnić czas stabilizowania się filmu łzowego zaraz po mrugnięciu oka. Na Rys. 9.15. prezentowana jest sekwencja klatek ilustrująca tworzenie się gładkiej warstwy łez na powierzchni oka. Regularność prążków interferencyjnych jest zaburzona na pierwszych klatkach po mrugnięciu (Rys. 9.15.A i B). Na widocznych w obrazie jasnych liniach prążki interferencyjne zmieniają swój kierunek. Na kolejnych klatkach jasne linie w tle stają się mniej widoczne, a prążki bardziej regularne (Rys. 9.15.C) i po upływie 1 s od mrugnięcia jasna struktura w tle nie jest już rozróżnialna (Rys. 9.15.D). Jednakże po upływie kolejnych 4 s w tle prążków interferencyjnych zaczyna znów pojawiać się jasna struktura zaburzająca regularność prążków. Struktura ta wydaje się być podobna kształtem do tej obserwowanej zaraz po mrugnięciu. Interesujący jest również fakt, iż jasne linie znikają i pojawiają się podczas rejestracji co jakiś czas. Dla prezentowanego pomiaru dały się wyróżnić trzy momenty, kiedy w tle prążków rysowały się jasne linie o kształcie półokręgów.

Na Rys. 9.16. pokazane są wybrane klatki, na których pojawiła się jasna struktura w tle podczas rejestracji. Ich obrazy po zastosowaniu filtracji zamieszczono na Rys. 9.17. Do przeprowadzenia analizy korelacji między kolejnymi klatkami wybrano fragment o rozmiarach 240×90 pikseli z klatki zarejestrowanej 0,44 s po mrugnięciu oka (Rys. 9.17.A). Zielonym prostokątem na kolejnych obrazach zaznaczone zostały fragmenty najlepszego dopasowania. Poniżej (Rys. 9.17.E-G) zamieszczono ilustrację nałożenia się dopasowanych fragmentów obrazów, gdzie czerwonym kolorem reprezentowana jest struktura wzorcowa, a zielonym struktura porównywanej klatki. Dla przykładowych klatek wartości współczynnika wynoszą odpowiednio 0,70; 0,73 i 0,81. Na Rys. 9.21.A zaprezentowano wynik liczbowy przeprowadzonej analizy korelacji dla współczynnika korelacji *corr* większego niż wartość 0,6.

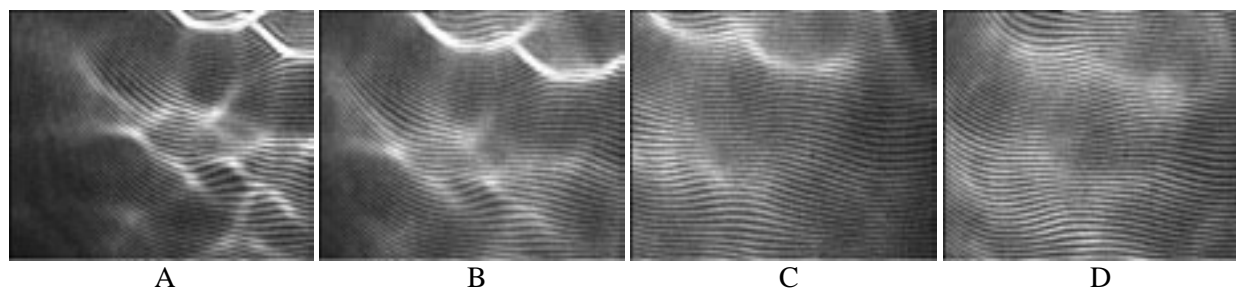


Fig. 9.15. Stabilizowanie się filmu łzowego na rogówce oka po operacji LASIK (P111), sekwencja klatek zarejestrowana 0,32 s (A), 0,44 s (B), 0,64 s (C) i 1,08 s (D) po mrugnięciu oka.

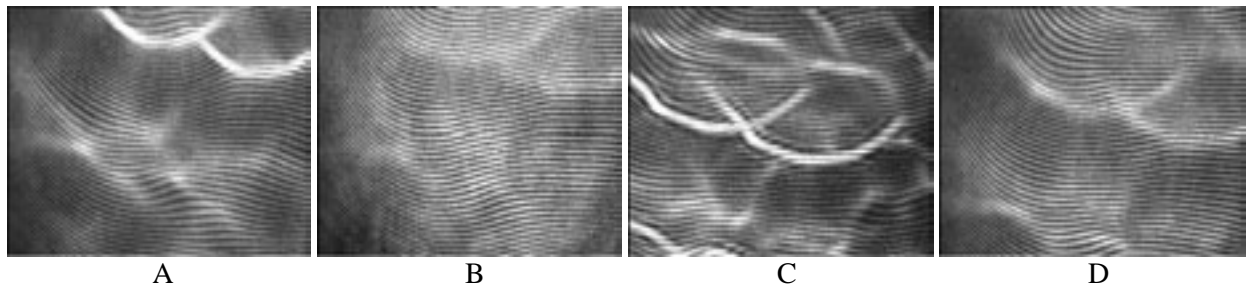


Fig. 9.16. Zmiany gładkości filmu łzowego na rogówce po operacji LASIK (P111), sekwencja klatek zarejestrowana 0,44 s (A), 5,12 s (B), 6,48 s (C) i 8,04 s (D) po mrugnieniu oka.

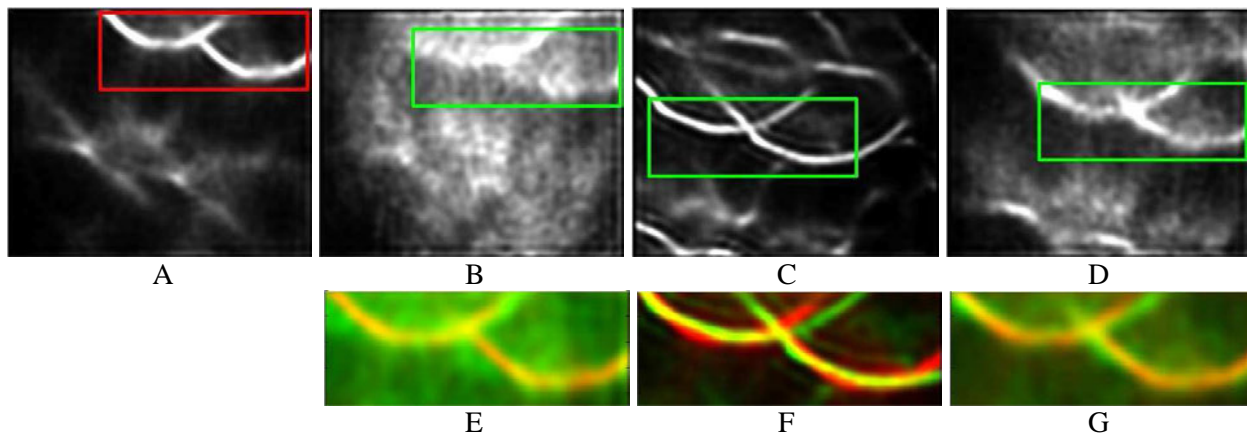


Fig. 9.17. Obrazy z Rys. 9.16. po zastosowaniu filtru dolnoprzepustowego i procedury poprawiania kontrastu,

A) czerwoną ramką zaznaczono fragment wybrany jako wzorcowy,

B-D) zieloną ramką zaznaczono na kolejnych klatkach fragment, dla którego wartość współczynnika *corr* jest najwyższa,

E-G) graficzne przedstawienie nałożenia się najbardziej podobnych fragmentów obrazów.

Opisywane wyżej interferogramy zostały zarejestrowane na oku, na którym wykonano operacje LASIK 3 lata wcześniej, jednak pacjent wciąż skarży się na problemy zwilżenia rogówki. Na Rys. 9.18. umieszczono wybrane klatki z sekwencji zarejestrowanej na oku innego pacjenta, który był operowany 3 miesiące wcześniej. Gładkość filmu łzowego jest zaburzona przez cały czas rejestracji, jednak, podobnie jak w poprzednim przypadku, dają się wyróżnić momenty, kiedy wzór tła częściowo zanika i ponownie się pojawia. W przypadku drugiego pacjenta wybrano do porównania większy obszar obrazu. Z klatki zarejestrowanej 2 s po mrugnieniu wycięto prostokąt o rozmiarze 240×170 pikseli zawierający charakterystyczny wzór struktury tła (Rys. 9.19.A). Na przykładowych klatkach (Rys. 9.19.B-D) zaznaczono zielonym kolorem obszar najlepszego dopasowanie ze wzorcowym fragmentem. Współczynnik *corr* wyniósł dla nich odpowiednio 0,66; 0,68 i 0,64.

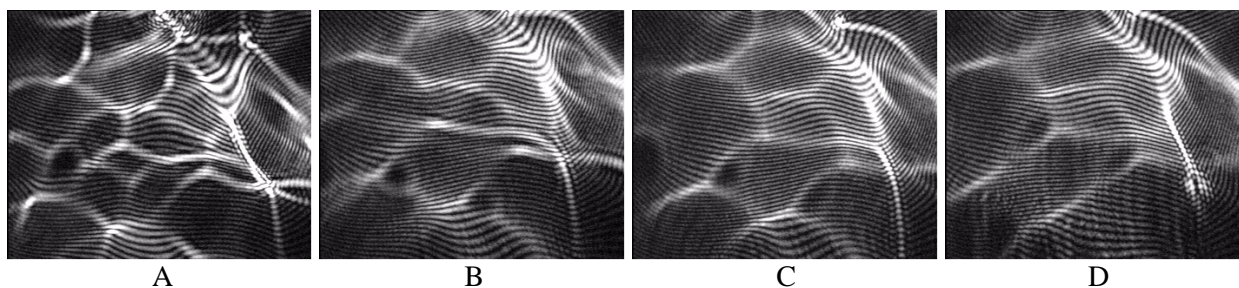


Fig. 9.18. Zmiany gładkości filmu łzowego na rogówce po operacji LASIK (P89), sekwencja klatek zarejestrowana 2,00 s (A), 13,00 s (B), 14,08 s (C) i 17,80 s (D) po mrugnięciu oka.

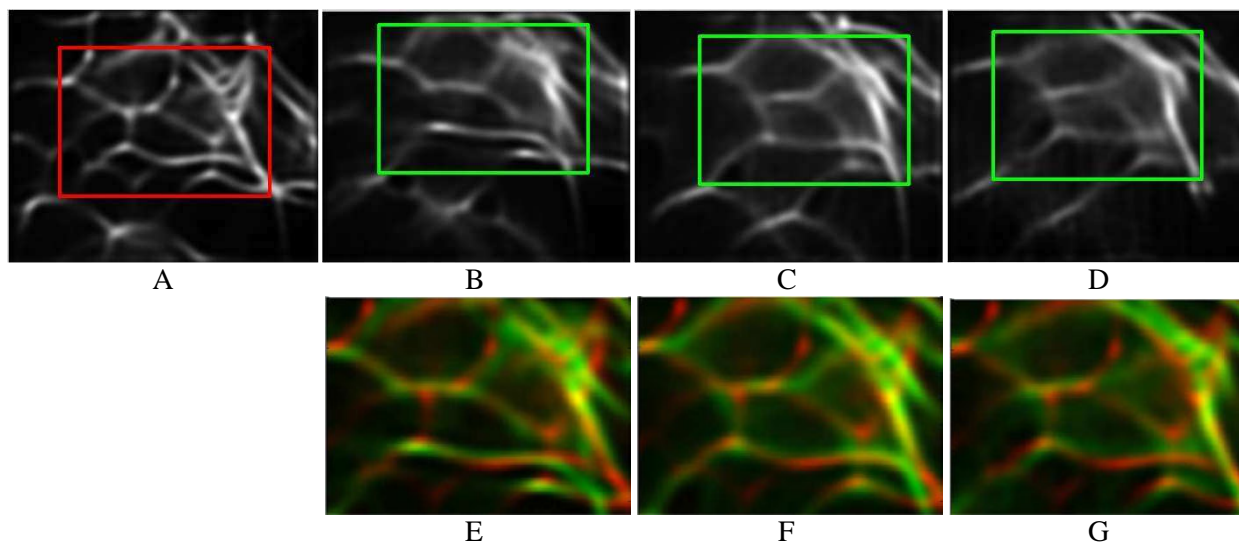


Fig. 9.19. Obrazy z Rys. 9.18. po zastosowaniu filtra dolnoprzepustowego i procedury poprawiania kontrastu,
 A) czerwoną ramką zaznaczono fragment wybrany jako wzorcowy,
 B-D) zieloną ramką zaznaczono na kolejnych klatkach fragment, dla którego wartość współczynnika *corr* jest najwyższa,
 E-G) graficzne przedstawienie nałożenia się najbardziej podobnych fragmentów obrazów.

Wybrany wzorcowy fragment klatki z pierwszej sekwencji porównano również ze strukturą tła klatek pochodzących z kolejnego pomiaru tego samego oka. Dla najlepiej dopasowanego fragmentu przykładowej klatki zamieszczonej na Rys. 9.19. współczynnik korelacji jest równy 0,76. Wyniki porównania wzoru struktury tła interferogramów dla dwóch osobnych sekwencji z wzorcowym fragmentem z Rys. 9.19.A przedstawiono na wykresie 9.21.B. Czarnymi kwadratami zaznaczono maksymalne wartości współczynnika dla klatek z tej samej sekwencji, szarymi trójkątami zaznaczone są wyniki porównania wzoru występującego na klatkach w osobnej sekwencji.

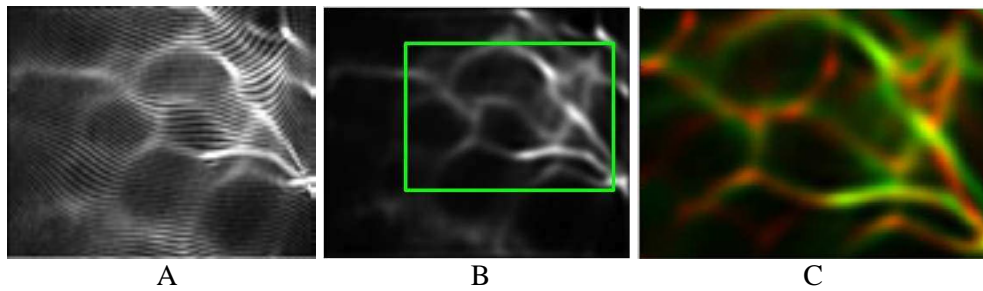
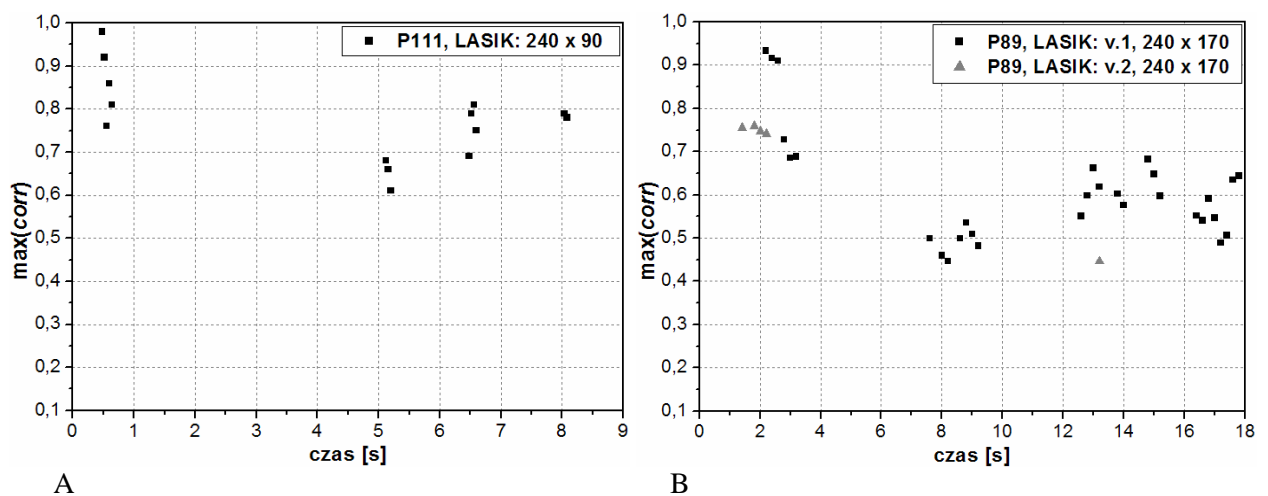


Fig. 9.20. Wynik porównania wzorcowego fragmentu z Rys. 9.19.A z klatką z innej sekwencji zarejestrowanej na tym samym oku po kolejnym mrugnięciu

- A) interferogram z innej sekwencji zarejestrowany 1,40 s po mrugnięciu,
 B) obraz po zastosowaniu filtra dolnoprzepustowego i procedury poprawiania kontrastu wraz z zaznaczonym najbardziej podobnym fragmentem,
 C) graficzne przedstawienie nałożenia się najbardziej podobnych fragmentów obrazów.



Rys. 9.21. Wynik numeryczny porównania kolejnych klatek zarejestrowanych na oku po operacji LASIK.

- A) z klatką z wzorcowym fragmentem zarejestrowanym 0,44 s po mrugnięciu oka porównywane są kolejne klatki z tej samej sekwencji.
 B) z klatką z wzorcowym fragmentem zarejestrowanym 2,00 s po mrugnięciu oka porównywane są kolejne klatki z tej samej sekwencji (czarne kwadraty) i z sekwencji po kolejnym mrugnięciu (szare trójkąty).

Pacjenci po operacji laserowego korygowania wzroku, LASIK, szczególnie w pierwszym półroczu [72] cierpią na syndrom suchego oka. Wiele badań wskazuje na obniżoną wrażliwość rogówki i przez to mniejszą produkcję łez. Bardzo prawdopodobny jest też inny powód szybkiego wysuszenia powierzchni oka między mrugnięciami. Laser excimerowy podczas operacji LASIK działa na rogówkę w jej centralnej części. Dokładnie ten obszar jest obserwowany podczas pomiaru. Ablacja tkanki laserem pozostawia mikro- i makrofałdy na gojącej się po operacji rogówce (Rozdz. 2.9.3.). Jest bardzo możliwe, że film łzowy jest zbyt cienki, by wypełnić nierówności rogówki i stworzyć gładką warstwę na jej powierzchni. Powstałe po operacji fałdy na rogówce są zbyt duże – wysokie – i szybko dochodzi do ich odkrycia podczas parowania łez. Wysokie wartości współczynnika korelacji potwierdzają

przypuszczenie, że wzór jasnej struktury w tle prążków interferencyjnych ma podobny kształt do wzoru na klatce wzorcowej. Zarówno w przypadku pierwszego, jak i drugiego pacjenta porównywane klatki wykazały podobieństwo do wzorcowej nawet kilka i kilkanaście sekund po mrugnięciu. Co więcej, klatki zarejestrowane po kolejnych mrugnięciach oka również wykazały wysokie podobieństwo kształtu struktury do wzorcowej klatki z pierwszej sekwencji (Rys. 9.21.B). Podobieństwo kształtu jasnej struktury po tak długim czasie od mrugnięcia oraz po następnych mrugnięciach sugeruje, że jest ona związana z topografią rogówki. Na wstępujących w tle interferogramów jasnych liniach prążki interferencyjne się załamują, zmieniają kierunek i są nieregularne. Jest bardzo prawdopodobne, że nierówności nabłonka rogówki po operacji wpływają na powstawanie przełomów w filmie łzowym między mrugnięciami.

9.3. „Czarne plamy” na interferogramach

Na interferogramach zarejestrowanych na soczewkach kontaktowych oraz rzadziej na rogówce oka występują ciemniejsze kołowe obszary, w których prążki są niewidoczne albo są słabo widoczne. Plamy te są zawsze okrągłe i powodują nieznaczne zmiany kierunku prążków interferencyjnych, głównie w pobliżu krawędzi. Ze względu na brak w tych obszarach prążków interferencyjnych nazwano je „czarnymi plamami”. Są one zjawiskiem intrygującym, które wielokrotnie było przedmiotem dyskusji autora ze specjalistami, zarówno lekarzami jak i fizykami.

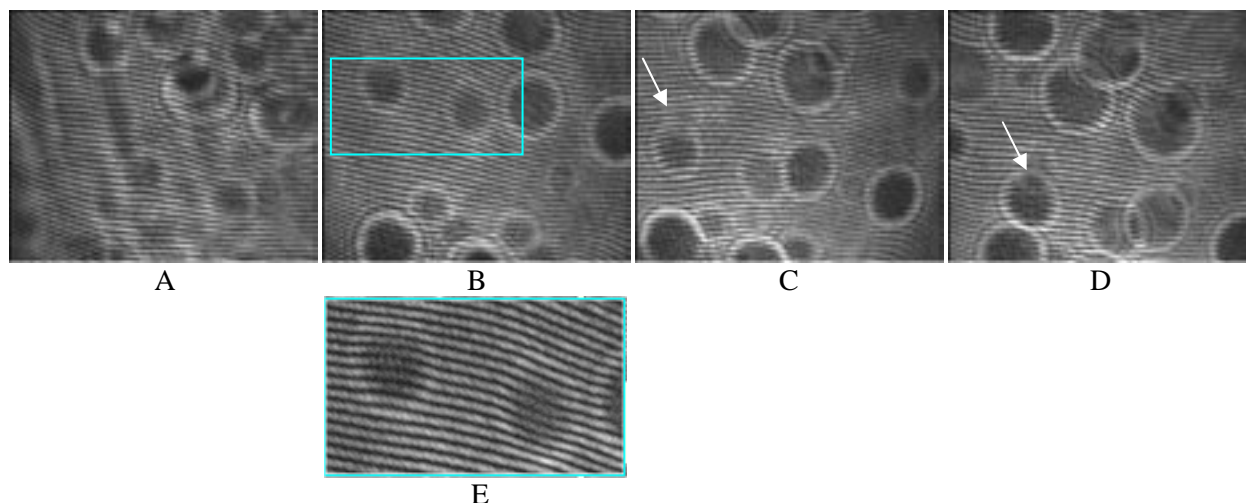
Już w 1946 roku Wolff zaobserwował w normalnym filmie łzowym cząstki, które mogły być pęcherzykami [115]. Cząstki te mogą mieć rozmiar od $1\mu\text{m}$ wg Owens (2001) [78] do $10\text{-}20\mu\text{m}$ wg Mathers&Daly (1994) [65] i pojawiają się w warstwie lipidowej. Mały rozmiar cząstek, sugerowany przez tych autorów, wyklucza możliwość, iż to one powodują występowanie na interferogramie czarnej plamy. Średnica interferogramu wynosi 4 mm , więc rozmiar plamy jest rzędu $0,5\text{-}1,0\text{ mm}$, a zatem znacznie większy niż rozmiar pęcherzyków.

Okrągłe plamy powodują nieznaczne zmiany kierunku prążków interferencyjnych w pobliżu krawędzi plamy i są to często jedyne zaburzenia gładkości prążków występujące na interferogramie (Rys. 9.22.).

Ze względu na metodę rejestracji plamy na obrazach są zdublowane. Często są widoczne zaraz po mrugnięciu oka i nie pojawiają się ponownie po następnym pełnym mrugnięciu. Na początkowych obrazach są mniejsze i podczas pomiaru powiększają się. Należy zwrócić również

uwagę na fakt, iż na mniejszych plamach dają się zauważyć prążki interferencyjne, ale mają one niższy kontrast (Rys. 9.22.E). Podczas pomiaru czarne plamy stają się bardziej wyraźne i większe. Prążki interferencyjne przestają być widoczne w takiej plamie prawdopodobnie ze względu na zbyt niski ich kontrast. Kształt ciemnych obszarów świadczy o wpływie efektu napięcia powierzchniowego na krawędzi plamy.

Ciemne okrągłe obszary najczęściej występują na interferogramach rejestrowanych na soczewkach kontaktowych. Prawdopodobnie związane są one z zaburzoną stabilizacją filmu łzowego. Pod koniec nagrywanej sekwencji w obszarze interferogramu, gdzie występują plamy, dochodzi do coraz większego zaburzenia prążków interferencyjnych, co świadczy o destabilizowaniu łez. Przykładową sekwencję przedstawia Rys. 9.22.



Rys. 9.22. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na soczewce kontaktowej pod koniec dnia: 0,12 s (A), 1,12 s (B), 3,52 s (C) i 16,92 s (D) po mrugnięciu oka.

Czarne plamy podczas rejestracji stają się większe i prawdopodobnie przemieszczają się, białą strzałką zaznaczono tę samą czarną plamę,

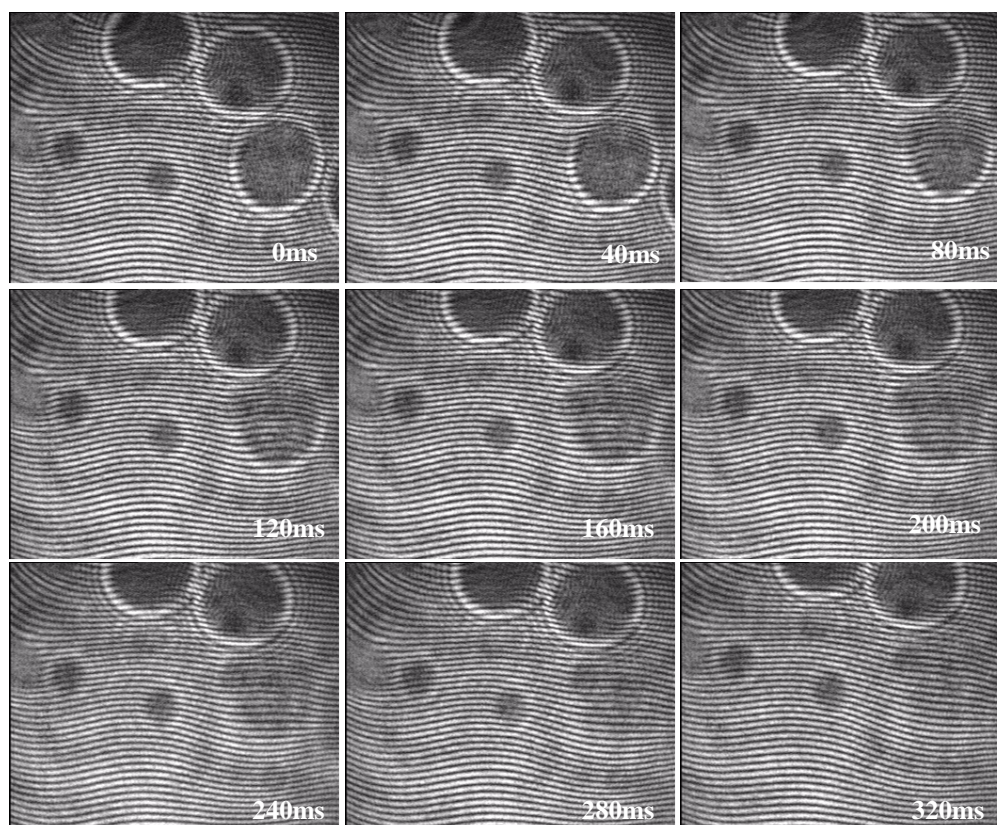
E) fragment interferogramu przedstawiający obniżony kontrast prążków w czarnej plamie.

Pośród kilkuset dokonanych pomiarów filmu łzowego udało się zarejestrować dwa filmy wideo, na których czarne plamy zanikają podczas pomiaru. Na Rys. 9.23. zilustrowano moment pojawiania się prążków interferencyjnych na miejscu czarnej plamy klatka po klatce. Interferogram A został zarejestrowany 5,08 s po mrugnięciu oka. Na kolejnym obrazie widać pojawiające się powoli prążki na miejscu czarnej plamy. Prążki interferencyjne jakby nachodzą na czarną plamę i po 0,32 s to miejsce jest w pełni pokryte gładkimi, regularnymi prążkami.

Ze względu na zastosowaną metodę rejestracji interferometrem shearing, z interferogramu nie można uzyskać informacji o topografii badanego obszaru rogówki. Nie możliwe jest, zatem,

analizując fragment interferogramu, na którym pojawiają się prążki zakrywające czarną plamę, określenie, czy fragment ten jest wypukły, czy wklęsły.

Nasze hipotezy wiążą występowanie ciemnych plam na interferogramach z trzema zagadnieniami: lokalnym rozpraszaniem padającej na oko wiązki światła na skutek lokalnych mikronierówności na powierzchni łez, efektem wygaszania światła związanym z lokalną zmianą grubości warstwy lipidowej oraz z szybkim ruchem gałki ocznej.



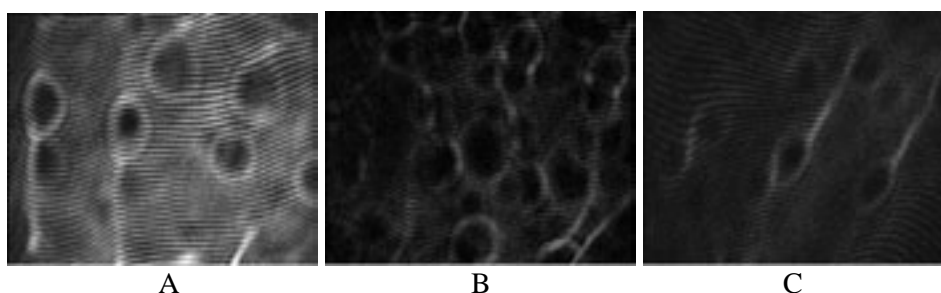
Rys. 9.23. Sekwencja interferogramów zarejestrowana na jednodniowej soczewce kontaktowej. Jedna z występujących na interferogramie „czarnych plam” po około 5 s od mrugnięcia zanika i zaczynają pojawiać się w tym miejscu prążki.

W rozdziale poświęconym wstępnym wiadomościom o fizjologii i budowie filmu łzowego, wspomniano o jednej z ról łez. Mianowicie, warstwa lipidów zapobiega również zanieczyszczeniu filmu łzowego przez lipidy skóry. Jest to ważne, gdyż lipidy produkowane przez gruczoły w skórze różnią się składem od lipidów filmu łzowego i destabilizują lipidy łez. Możliwe jest, że obserwowane czarne plamy są konsekwencją występowania na powierzchni filmu łzowego substancji niemieszających się z warstwą lipidową łez, przez co powierzchnia łez nie jest gładka i wiązka światła padająca na oko jest w niektórych miejscach rozpraszana.

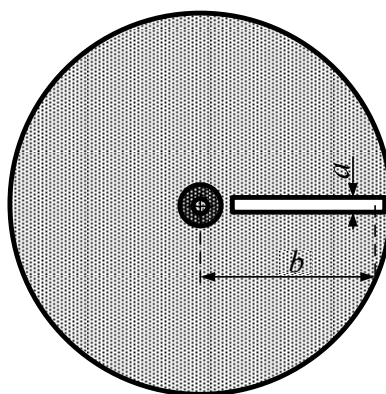
Sprawdzono, czy zmiana długości fali, zastosowana do pomiaru, oraz koherencja źródła światła, będą miały wpływ na obserwowanie czarnych plam na interferogramach. Do pomiaru

zastosowano zielony laser, emitujący długość fali o długości $\lambda = 532$ nm. Oko ludzkie jest bardziej czułe na tę długość fali, dlatego zmniejszono moc nominalną lasera do $P = 5$ mW, stąd zarejestrowane interferogramy są ciemne. Jako źródło światła o niższej koherencji zastosowano diodę laserową. Ze względu na drogę koherencji diody laserowej - zaledwie kilku milimetrów - różnica dróg optycznych między interferującymi frontami falowymi jest zbyt duża i prążki na interferogramie są niższej kontrastowości.

Znacznie częściej czarne plamy są obserwowane na soczewkach niż na rogówkach, więc pomiary wykonano na tej samej soczewce kontaktowej przy użyciu trzech różnych źródeł oświetlenia. Na Rys. 9.24. prezentowane są interferogramy zarejestrowane na tym samym oku jako źródło światła stosując odpowiednio laser HeNe, $\lambda = 632,8$ nm (A), laser Nd:YAG, $\lambda = 532$ nm (B) i diodę laserową, $\lambda = 630$ nm (C). Czarne plamy dały się zauważyć przy użyciu każdego z wymienionych źródeł światła.



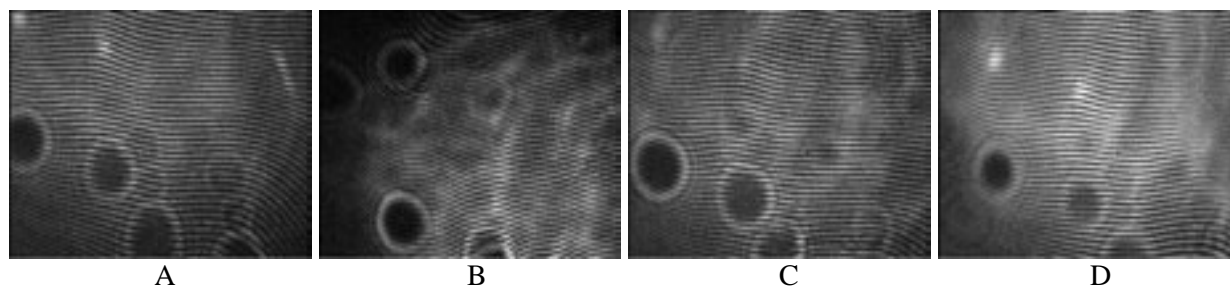
Rys. 9.24. Interferogramy zarejestrowane na tym samym oku z soczewką kontaktową około 2,50 s po mrugnieniu przy użyciu lasera HeNe 8mW (A), lasera Nd:YAG 5mW (B) i diody laserowej (C).



Rys. 9.25. Projekt tarczy ze szczeliną o szerokości a obracającą się z częstotliwością 50 Hz.

Gałka oczna wykonuje nieustanne ruchy mikrosakadyczne. Jedną z hipotez próbującą wyjaśnić genezę występowania czarnych plam jest związana szybkim ruchem gałki ocznej oraz z lokalnymi mniejszymi grubościami warstwy lipidowej. Jeżeli oko wykonuje szybkie ruchy podczas pomiaru, warstwa wodna na rogówce podąża za tym ruchem. Gęstsza warstwa

łuszczowa jest bardziej stabilna. Czas ekspozycji lasera w stosowanej metodzie pomiaru wynosi 1 ms. Być może jest to zbyt długi czas, podczas którego obraz pochodzący z obszarów na rogówce, gdzie warstwa lipidowa jest węższa, bądź warstwa wodna jest lokalnie odsłonięta, uśrednia się i niemożliwe jest zarejestrowanie kontrastowych prążków interferencyjnych.



Rys. 9.26. Sekwencja interferogramów zarejestrowanych na rogówce oka, gdy czas ekspozycji lasera wynosił 0,2 ms.

W celu skrócenia czasu ekspozycji lasera, zaprojektowano i wykonano chopper, czyli obracającą się czarną tarczę ze szczeliną (Rys. 9.25.) i wstawiono ją do układu pomiarowego w miejsce migawki. Czas ekspozycji lasera obliczono ze wzoru:

$$t_{imp} = \frac{a \cdot t_s}{2\pi \cdot b}, \quad (9.6)$$

gdzie: a – szerokość szczeliny równa 2 mm,

t_s – czas jednego pełnego obrotu równy 20 ms,

b – odległość od środka tarczy do miejsca, na które pada wiązka lasera (około 35 mm).

Interferogramy zamieszczone na Rys. 9.26. zostały zarejestrowane przy czasie ekspozycji lasera HeNe $t_{imp} \approx 0,2$ ms. Jak widać, skrócenie czasu impulsów lasera oświetlającego rogówkę nie wpłynęło znacznie na lepszą kontrastowość interferogramu w obszarze występowania „czarnych plam”.

9.4. Podsumowanie

1. Jasna, nieregularna struktura widoczna zaraz po mrugnieniu w tle prążków interferencyjnych z czasem staje się coraz bardziej rozmyta i zanika po upływie kilku sekund. Prawie pionowa orientacja jasnej struktury tła oraz jej nachylenie różne dla oczu prawych i lewych sugerują, iż jest ona związana prawdopodobnie z podnoszącym ruchem powiek podczas mrugania. Po ustaniu ruchu powieki, film łzowy się stabilizuje i równo rozprowadza na rogówce oka.

2. Zastosowana analiza numeryczna czasu zanikania jasnej struktury może być dodatkową miarą czasu stabilizowania się filmu łzowego na rogówce oka. Ponieważ w licznych przypadkach kierunkowość jasnej struktury nie wykazuje bardzo wyraźnej orientacji, miara oparta na analizie niejednorodności tła interferogramów wydaje się być bardziej jednoznaczna do opisu szybkości stabilizowania się filmu łzowego.
3. Analizowano również stopień podobieństwa jasnej struktury obserwowanej w tle interferogramów. Celem było sprawdzenie hipotezy, czy nierówności zaburzające regularność prążków mogą być związane z topografią rogówki. Kinetyka i gładkość filmu łzowego na oczach po operacji LASIK i na zdrowej rogówce różnią się między sobą. Geneza jasnej struktury tła również jest inna w tych dwóch przypadkach.
 - A. Na rogówce po operacji laserowej wysokie podobieństwo kształtu jasnego wzoru dla kolejnych klatek wskazuje na wpływ topografii rogówki na zaburzoną stabilność filmu łzowego.
 - B. W przypadku normalnych oczu jasna, nieregularna struktura widoczna zaraz po mrugnięciu w tle prążków interferencyjnych z czasem staje się coraz bardziej rozmyta i zanika po upływie kilku sekund. Brak powtarzalności kształtu jasnej struktury świadczy o tym, iż nie jest ona związana z topografią nabłonka rogówki, lecz z przepływem cieczy na rogówce bezpośrednio po mrugnięciu.
4. „Czarne plamy”, występujące na interferogramach, zaburzają gładkość prążków interferencyjnych w obszarze krawędzi plamy. Najczęściej stają się one bardziej wyraźne podczas pomiaru. Jednak zdarza się, że ciemne obszary zaczynają być pokrywane prążkami interferencyjnymi i zanikają. Proces ten jest bardzo szybki i trwa około 0,3 s. Czarne plamy dały się zauważyć przy użyciu 3 różnych źródeł światła oraz przy zastosowaniu 2 różnych czasów ekspozycji źródła światła.

10. Podsumowanie i wnioski końcowe

1. W rozprawie doktorskiej przedstawiono nieinwazyjną interferencyjną, ilościową metodę oceny jakości i stabilności w czasie powierzchni filmu łzowego na rogówce oka, różnych materiałach soczewek kontaktowych i po zastosowaniu sztucznych łez. Do pomiaru wykorzystano interferometr LS z poprzecznym przesunięciem czoła fali, za pomocą którego zarejestrowano 20 sekundowe sekwencje wideo z częstotnością 25 Hz.

Metody interferencyjne należą do bardzo dokładnych i czułych, jednak ruch oka powoduje przesunięcie prążków interferencyjnych poza kadr obrazu i wpływa tym samym na wynik analizy. W celu zmniejszenia wpływu poprzecznego ruchu oka, zmodernizowano elementy w układzie pomiarowym stabilizujące obiekt badany (stabilizator głowy, fiksator) oraz dodano elementy mechaniczne ułatwiające korygowanie padania fali świetlnej na oko podczas pomiaru.

2. Do analizy ilościowej interferogramów wykorzystano szybką transformatę Fouriera. Przetestowano 4 zaproponowane parametry oparte na analizie rozmycia pierwszego rzędu widma fourierowskiego. Jako ilościową miarę gładkości powierzchni łez pełnych sekwencji zaproponowano parametr $M2$ oparty na momencie drugiego rzędu liczonym ze stałą odległością wokół środka pierwszego rzędu widma Fouriera.

3. Dynamiczna akwizycja obrazów oraz zautomatyzowana obróbka rejestrowanej sekwencji interferogramów pozwalają na dynamiczną analizę zmian gładkości powierzchni filmu łzowego na rogówce w sposób nieinwazyjny oraz otrzymanie ilościowego i obiektywnego wyniku stanu filmu łzowego w krótkim czasie po dokonaniu pomiaru.

Zaproponowano i przetestowano 3 sposoby analizy interferogramów – 3 okna. W analizie numerycznej sekwencji interferogramów zastosowano ostatecznie okno dzielące analizowane interferogramy na 20 fragmentów. Daje ono możliwość zmniejszenia wpływu ruchu oka na wynik analizy. Otrzymane wyniki numeryczne parametru są uśrednione tylko dla tej części obrazu, która jest pokryta prążkami o odpowiednim kontraście. Obliczana jest również wiarygodność wyniku uśrednionego dla danego interferogramu.

Przeprowadzone pomiary i analizy filmu łzowego na grupie ponad 100 pacjentów wykazały różnice w stabilności i gładkości łez na rogówkach zdrowych oczu, rogówkach po operacjach i chirurgii refrakcyjnej, oczach z syndromem „suchego oka” oraz na różnych

soczewkach kontaktowych. Zbadano również wpływ i efektywność działania sztucznych łez na film łzowy.

4. Stosując zaproponowany sposób analizy otrzymano różnice w wartości oraz przebiegu czasowego zmian parametru $M2$ dla poszczególnych grup pacjentów.
 - A) Parametr $M2$ przybierał najniższe i stabilne wartości na oczach normalnych, od momentu ustabilizowania się filmu łzowego na rogówce, często do końca analizowanej sekwencji.
 - B) W przypadku soczewek kontaktowych parametr $M2$ charakteryzował się wyższymi wartościami w porównaniu z wynikami otrzymanymi na rogówce oka zdrowego.
 - Wartości są najwyższe w fazie adaptowania oka do obecności soczewki oraz, gdy oko jest zmęczone.
 - W większości zmierzonych przypadków nie obserwowano czasu stabilizowania się filmu łzowego na soczewce, tak wyraźnie, jak na rogówce oka.
 - Szczególnie duże różnice w stabilności filmu łzowego na różnych soczewkach zaobserwowano w krótkim czasie po ich założeniu na oko: przyczyną różnic w stabilności łez na soczewkach jest m.in. materiał stosowany do ich produkcji.
 - Ze względu na niewystarczającą ilość przeprowadzonych pomiarów na danych soczewkach kontaktowych, można jedynie wyciągnąć wstępne i bardzo ogólne wnioski dotyczące przebadanych soczewek kontaktowych. Jednakże różnice w stabilności łez na wysoko i nisko uwodnionych materiałach soczewek kontaktowych pokrywają się z wynikami innych autorów prac badawczych wskazując na lepszą stabilność łez na soczewkach wysoko uwodnionych.
 - C) Film łzowy na oczach pacjentów cierpiących na syndrom suchego oka charakteryzował się wysokimi wartościami parametru $M2$ począwszy od mrugnięcia oka, bądź też wartości rosły w czasie między mrugnięciami.
 - Zastosowanie kropli do oczu typu sztuczne łzy znacznie poprawiało zwilżenie rogówki, jednakże zanotowano różnice w efektywności działania kropeł dla różnych oczu.
5. W początkowym etapie pomiaru filmu łzowego na oczach normalnych zanotowano, szybkie zmiany gładkości łez oraz zaproponowanego parametru $M2$. Proces stabilizowania się filmu łzowego na rogówce oka zaraz po mrugnięciu jest stosunkowo mało poznany. W pracy zaproponowano metody analizy numerycznej czasu stabilizacji filmu łzowego bezpośrednio po mrugnięciu oka na oczach normalnych. W metodach tych analizowano kierunkowość

jasnej struktury tła prążków, niejednorodność tła interferogramu oraz rozmywania kształtu jasnej struktury.

Orientacja jasnej struktury zaburzającej regularność prążków interferencyjnych oraz jej stopniowe rozmywanie się sugerują, iż początkowe zaburzenie gładkości łoż na rogówce jest spowodowane ruchem powiek rozprowadzających warstwę łoż na oku. Zaproponowane analizy numeryczne czasu wygładzania się łoż wykazały, iż czas odbudowy filmu łożowego (build-up time) trwa około 1-2 s.

6. W przypadku oczu, na których powstaje przełom w filmie łożowym, w tle interferogramów obserwowano jasne linie. Prążki interferencyjne załamują się na nich, zmieniają kierunek i są nieregularne. Na oczach pacjentów z syndromem suchego oka jasne linie powstają losowo. Zastosowana analiza numeryczna, na podstawie współczynnika korelacji, jasnej struktury w tle interferogramów zarejestrowanych na oczach po chirurgii refrakcyjnej wykazała brak losowości powstawania przełomów w filmie łożowym dla tych pacjentów. Wysokie podobieństwo kształtu jasnej struktury pojawiającej się w jednej sekwencji interferogramów oraz w kolejnym pomiarze, po następnych mrugnięciach sugeruje, że może być ona związana z nieregularnościami topografii rogówki.

Syndrom suchego oka ma swoje źródło w zaburzeniach struktury lub ilości wydzielania cieczy łożowej. Wykorzystana w pracy metoda analizy struktury tła interferogramów wykazała, iż w przypadku oczu po operacjach refrakcyjnych rogówki jest bardzo prawdopodobne, że na powstawanie przełomów w filmie łożowym między mrugnięciami wpływają nierówności nabłonka rogówki powstałe po operacji.

7. Na rejestrowanych prążkach interferencyjnych obserwowano często okrągłe, ciemne obszary – „czarne plamy”. Związane są one prawdopodobnie z lokalnym rozpraszaniem padającej fali światła. Do pomiarów tych obszarów zastosowano w pracy dwie długości fali, jak i krótszy czas ekspozycji lasera (0,2 ms). „Czarne plamy” były nadal obserwowane. Wyjaśnienie zjawiska powstawania plam wymaga dalszych analiz.

8. Prezentowana metoda interferencyjna jest obiecującą metodę ilościowej, obiektywnej oceny jakości filmu łożowego.

Analiza jakości filmu łożowego może być wykorzystywana zarówno przez okulistów jak i producentów soczewek kontaktowych i kropli do oczu. Krople do oczu różnią się składem chemicznym i gęstością. Na razie ich dopasowanie dla pacjenta jest subiektywne

i intuicyjne. Opracowywana metoda może umożliwić zobjektywizowanie doboru kropli do określonego typu zaburzeń. Pozwoli ona również na zobjektywizowanie doboru określonego typu soczewek poprzez numeryczną ocenę stabilności filmu łzowego na różnych materiałach stosowanych do produkcji soczewek kontaktowych.

9. Przeprowadzone pomiary i analizy numeryczne oraz uzyskane wyniki potwierdzają zasadność tez postawionych w rozprawie doktorskiej.

Dodatek

D.1. Dopasowanie równania funkcji aproksymującej zmiany parametru $M2$.

W przedstawionej pracy do aproksymacji przebiegu wykresów parametru $M2$ stosowano funkcję wielomianową, ze względu na powszechną dostępność tego rodzaju aproksymacji w wielu pakietach matematycznych i w miarę dobre dopasowanie funkcji do danych pomiarowych.

Ze względu na dużą liczbę współczynników funkcji wielomianowej przeanalizowano możliwość dopasowania danych inną funkcją, która w możliwie dokładny sposób opisywałoby zmiany parametru $M2$ w czasie. Dotyczy to w szczególności początkowej części wykresów, dotyczącej stabilizowania się filmu łożowego po mrugnięciu. Przy szukaniu nowej funkcji brano pod uwagę, aby:

- zawierała możliwie mało współczynników równania, przy jednocześnie relatywnie wysokiej wartości współczynnika dopasowania R^2 ,
- aproksymowała monotonicznie zmniejszające się wartości parametru $M2$ w pierwszej sekundzie po mrugnięciu.

Do szukania nowej funkcji matematycznej opisującej zmiany parametru $M2$ użyto programu *CurveExper* wersja 1.3 oraz *Origin* wersja 6.0. Wybrano 17 zbiorów wyników numerycznych otrzymanych dla normalnych oczu.

W pierwszym podejściu skorzystano z możliwości automatycznego dopasowywania zdefiniowanych w programie funkcji do wczytanych wyników numerycznych (zbiorów danych). Kryterium wyboru stosowanym przez program *CurveExpert* jest odchylenie standardowe (SE) i współczynnik dopasowania (R). Na tej podstawie wybrano rodziny funkcji matematycznych, które brano następnie pod uwagę w drugim podejściu poszukiwań.

W drugim podejściu założono, że funkcji najlepszego dopasowania należy szukać wśród rodziny funkcji wykładniczych, potęgowych, sigmoidalnych. Celowo odrzucono rodzinę funkcji wielomianowych. Obserwowano przebieg funkcji $M2 = f(t)$ aproksymującej punkty pomiarowe i stosując się do wyżej wymienionych kryteriów wybrano 6 funkcji matematycznych do przeprowadzenia ilościowej oceny dopasowania 17-tu zbiorów danych.

W trzecim podejściu współczynnik dopasowania R^2 został użyty jako parametr ilościowej oceny dopasowania przebiegu punktów pomiarowych wybranymi funkcjami matematycznymi. Funkcjami tymi opisywano całe zbiory danych parametru $M2$ ($t_{\max} = 20$ s) oraz pierwszą część zbioru, w której zachodzą największe zmiany wartości parametru $M2$ ($t_{\max} = 3$ s).

D.2 Zaproponowane równania funkcji matematycznych do opisu zmian parametru $M2$.

Dla wszystkich zbiorów danych obliczono średnią wartość współczynnika dopasowania każdą testowaną funkcją. Najwyższa wartość średnia R^2 otrzymano dla funkcji wykładniczo – potęgowej w literaturze spotykanej pod nazwą *funkcja Hoerla*. Jest ona często stosowana do opisywania przebiegów z zakresu zjawisk jądrowych czy biologicznych [132].

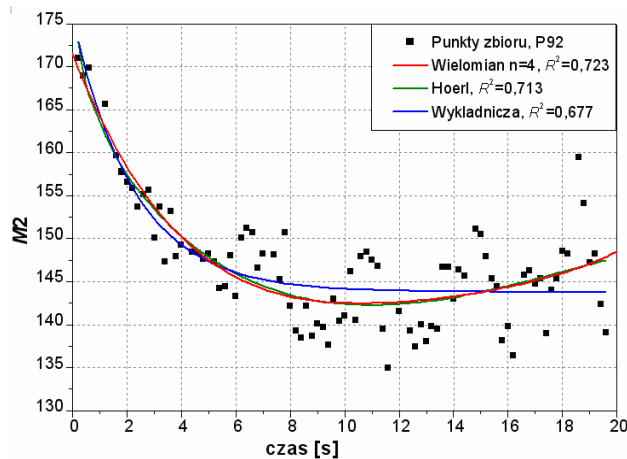
W tabeli D.2.1. zamieszczono równania funkcji najlepiej opisujących zmiany parametru $M2$ w czasie oraz równanie funkcji wielomianowej 6-go stopnia. Podano dla tych funkcji średnie wartości współczynnika dopasowania R^2 obliczonego dla 17-tu zbiorów danych w dwóch przedziałach czasowych: $t_{\max} = 20$ s i 3 s. W tabeli zamieszczono również, dla porównania, równania funkcji zastosowanych przez Iskandera [48] i Owens [78] do matematycznego opisu stabilizowania się filmu łzowego po mrugnięciu oka.

Tabela D.2.1. Wzory matematyczne funkcji przedstawione na wykresach (Rys. D.2.1. i D.2.2.).

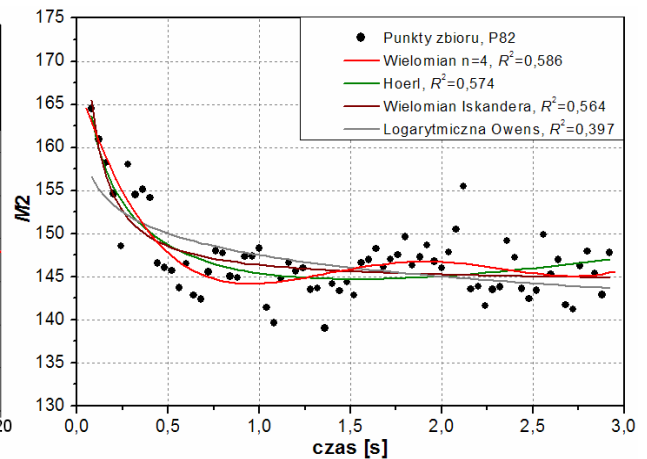
Nazwa funkcji	Średnia R^2		Równanie funkcji
	$t_{\max} = 20$ s	$t_{\max} = 3$ s	
Wielomian 6-go stopnia	0,56	0,56	$f(t) = a \cdot t^6 + b \cdot t^5 + c \cdot t^4 + d \cdot t^3 + e \cdot t^2 + f \cdot t + g$
Hoerla	0,39	0,65	$f(t) = a \cdot b^t \cdot t^c$
Wykładnicza	0,37	0,60	$f(t) = a + b \cdot r^t$
Zmodyfikowany wielomian typu $1/t$ stosowany przez Iskandera et al. [48]			$f(t) = \frac{at^2 + bt + c}{t^2}, a, c > 0, b < 0$
Logarytmiczna stosowana przez Owens [78]			$f(t) = a \cdot \ln(c \cdot t) + b, a < 0$

Na Rys. D.2.1. i D.2.2. zamieszczono przykładowe zbiory danych i ich dopasowanie wybranymi funkcjami z tabeli D.2.1. Przy każdej funkcji zaznaczono wartość współczynnika dopasowania.

Wykres na Rys. D.2.1. przedstawiono przykładowy zbiór danych ($t_{\max} = 20$ s) parametru $M2$. Dane aproksymowano funkcją Hoerla (zielony), funkcją wielomianową 4 stopnia (czerwony) oraz funkcją z rodziny funkcji wykładniczych (niebieski). Dla dwóch pierwszych funkcji wartość współczynnika dopasowania jest podobna, obie również (w tym przypadku) opisują zadowalająco zmiany parametru $M2$ w początkowej części zbioru. Należy jednak podkreślić, że równanie funkcji Hoerla ma mniej współczynników i jest tym samym prostsze od równania funkcji wielomianowej 4 stopnia. Ze względu na wykładniczy charakter zmian wartości $M2$ w pierwszych sekundach, przedstawiono również aproksymacje przykładowego zbioru danych najlepiej dopasowaną funkcją z rodziny funkcji wykładniczych (wzór Tabela D.2.1.).



Rys. D.2.1. Zbiór zmian parametru $M2$ aproksymowany funkcją wielomianową 4-go stopnia (czerwony), Hoerla (zielony) oraz funkcją z rodziny funkcji wykładniczych (niebieski).



Rys. D.2.2. Zbiór zmian parametru $M2$ aproksymowany funkcją wielomianową 4-go stopnia (czerwony), Hoerla (zielony) oraz funkcją stosowaną przez Iskandera (bordowy) i Owens (szary).

Na Rys. D.2.2. przedstawiono zbiór danych dla $t_{\max} = 3$ s. Parametr $M2$ opisano funkcją Hoerla (zielony). Dla porównania dodano aproksymację wielomianem 4-go stopnia (czerwony), oraz funkcjami stosowanymi przez Iskandera (bordowy) i Owens (szary) do aproksymacji wykresów przedstawiających proces stabilizowania się filmu łzowego po mrugnięciu. Współczynnik dopasowania funkcją Hoerla jest niższy niż wielomianem 4 stopnia, jednak opisuje ona zarówno zmiany parametru $M2$ w pierwszej sekundzie, jak i stabilizację parametru w kolejnych sekundach.

Zaletą funkcji Hoerla jest fakt, iż parametry tej funkcji mogą mieć sens fizyczny. Do oceny kinetyki filmu łzowego można by zastosować dodatkowo stałą zaniku zmian parametru w czasie jako parametr opisujący czas stabilizowania się filmu łzowego na rogówce po mrugnięciu oka.

Dorobek naukowy

Publikacje w recenzowanych czasopiśmie międzynarodowych:

- D.H. Szczęsna, J. Jaroński, H.T. Kasprzak, U. Stenevi, Interferometric measurements of dynamic changes of the tear film, *Journal of Biomedical Optics*, Vol. 11, No. 3, 034028, 2006.
- D.H. Szczęsna, H.T. Kasprzak, J. Jaroński, A. Rydz, U. Stenevi, Interferometric method of dynamic evaluation of the tear film, *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, Vol. 85, No. 2, 202-208, 2007.
- D. Szczęsna, H.T. Kasprzak, The modelling of the influence of a corneal geometry on the pupil image of the human eye, *Optik. International Journal for Light and Electron Optics*, Vol. 117, No. 7, 341-347, 2006.

Publikacje w materiałach konferencji międzynarodowych:

- D.H. Szczęsna, H.T. Kasprzak, J. Jaroński, U. Stenevi, Interferometric measurements of the tear film irregularities on the human cornea, *SPIE International Congress on Optics and Optoelectronics*, (w:) *Medical Imaging*, Ed.: A. Kowalczyk, A.F. Fercher, V.V. Tuchin, ISBN 0-8194-5966-6, Proc. SPIE, Vol. 5959, 47-56, 2005.
- D.H. Szczęsna, Z. Kulas, H.T. Kasprzak, U. Stenevi, Examination of in vivo tear film stability after eye blink and eye drying, *Biophotonics 2007: Optics in Life Science*, Ed.: J. Popp, G. von Bally, ISBN 9780819467775, Proc. SPIE-OSA Biomedical Optics, Vol. 6633, 663314-1-8, 2007.
- D.H. Szczęsna, H.T. Kasprzak, Analysis of the tear film kinetics by numerical filtering of interferograms, *XI International Conference, Medical Informatics and Technologies (MIT)*, Ed.: E. Piętka, J. Łęski, S. Franiel, ISBN 83-89105-89-6, 218-221, 2006.
- D. Szczęsna, H. Kasprzak, Numerical modelling of imaging of the eye pupil through the cornea. *Polsko-niemiecka konferencja Niemieckiego Towarzystwa Optyki Stosowanej DGaO oraz Sekcji Optyki Polskiego Towarzystwa Fizycznego PTF, Proceedings 2005* – <http://www.dgao-proceedings.de> – ISSN: 1614-8436, 2005.
- D.H. Szczęsna, M. Kowalska, The tear film stability on the contact lens during the day – interferometric measurements, *2nd Students' Scientific Conference of Biomechanics*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, ISSN 1732-0240, Vol. 1, No. 8, 35-36, 2006.
- D. Szczęsna, H. Kasprzak, The influence of the corneal topography on the pupil image of the human eye, *1st Students' Scientific Conference of Biomechanics*. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, ISSN 1732-02401, Vol. 1, No. 4, 16-17, 2004.

Publikacje w materiałach konferencji krajowych:

- D.H. Szczęsna, H. Kasprzak, Numeryczna analiza stabilizowania się filmu łzowego, XV Krajowa Konferencja Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej, Ed.: M. Naęcz, R. Będziński, R. Maniewski, ISBN 978-83-87982-52-2, 2007.

Udział w konferencjach i ważniejszych seminariach:

- 1st Student Scientific Conference of Biomechanics, Bio-Mech-Young, 28-30. maja 2004, Szklarska Poręba, Polska.
- Polish-German Joint Conference of DGaO and Section of Optics of the PTF, 17-21. maja 2005, Wrocław, Polska.
- SPIE International Congress on Optics and Optoelectronics, 28. sierpnia-2. września 2005, Warszawa, Polska.
- The weekly meeting of the Gothenburg Medical Society, 12. października 2005, Göteborg, Szwecja.
- International Workshop on Dynamics of The Eye Deformations, Instytut Fizyki, Politechnika Wrocławska, 12. grudnia 2005, Wrocław, Polska.
- 2nd Students' Scientific Conference of Biomedical Engineering, Bio-Eng-Young, 20-23. kwietnia 2006, Szklarska Poręba, Polska.
- XI Konferencja Medical Informatics and Technologies (MIT), 25-27. września, 2006, Wisła-Malinka, Polska.
- EVER (European Association of Vision and Eye Research), 4-8. października 2006, Vilamoura, Portugalia.
- V Ogólnopolska Sesja Kół Naukowych Fizyków, 17-19. listopada 2006, Wrocław, Polska.
- II International Student Chapters Meeting, 21-23. maja 2007, Wrocław, Polska.
- Biophotonics 2007: Optics in Life Science, 17-21. czerwca 2007, Monachium, Niemcy.
- 6th Summer School in Visual Optics, 26. czerwca-1. lipca 2007, Heraklion, Grecja.
- 5th International Conference on the Tear Film & Ocular Surface: Basic Science and Clinical Relevance, 5-8. września 2007, Taormina, Włochy.
- XV Krajowa Konferencja Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej, 12-15. września 2007, Wrocław, Polska.
- ARVO (The Association for Research in Vision and Ophthalmology) Annual Meeting, 27. kwietnia-1. maja 2008, Fort Lauderdale, USA.

Wyróżnienia i nagrody:

- Laureatka Konkursu 2007 Polsko-Kanadyjskiej Fundacji C.M. Rodkiewicza. Przyznane jednorazowe stypendium za dotychczasowe osiągnięcia w pracy doktorskiej.
- Pierwsza nagroda za poster w sesji “Cornea/Ocular Surface” na Konferencji Towarzystwa EVER, Vilamoura, Portugalia, 2006.
- Praca wyróżniona w sesji „Techniczne Spojrzenie Na Człowieka” IV Konferencja Naukowa Studentów Politechniki Wrocławskiej (KNS), (współautor pracy), Wrocław, Polska, 2006.
- Praca wyróżniona w sesji “Biomedical Engineering” na 2nd Students Scientific Conference of Biomedical Engineering, Bio-Eng-Young, Szklarska Poręba, Polska, 2006.
- Praca wyróżniona w sesji “Biomedical Engineering (Biophysics/Medical/Physics /Rehabilitation)” na 1st Student Scientific Conference of Biomechanics, Bio-Mech-Young, Szklarska Poręba, Polska, 2004.

Udział w grantach:

- The Göteborg Medical Foundation, 2005: DBV 244243915
- Grant badawczy Prorektora d/s Badań Naukowych i Współpracy z Gospodarką Politechniki Wrocławskiej, 2007: nr zlec. 332093
- Grant badawczy (projekt promotorski) Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego, 2007: N518 032 32/2114

Staż Naukowy:

- 15. kwietnia – 17. maja 2005, staż naukowy w Sahlgrenska University Hospital, Mölndal k. Göteborga, Szwecja przy współpracy z prof. Ulfem Stenevím.
- 8. września – 15. października 2005, staż naukowy w Sahlgrenska University Hospital, Mölndal k. Göteborga, Szwecja przy współpracy z prof. Ulfem Stenevím.