



Wydział Fizyki

Badanie interakcji lipidów z powierzchnią i matrycą silikonowo-hydrożelowych soczewek kontaktowych

mgr Tomasz Suliński

Rozprawa doktorska napisana pod kierunkiem
dra hab. prof. ucz. Jacka Pniewskiego

Warszawa, 2026

Oświadczenia

1. Badania przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej zostały przeprowadzone w ramach doktoratu wdrożeniowego „Badanie interakcji lipidów z powierzchnią i matrycą silikonowo-hydrożelowych soczewek kontaktowych”, realizowanego na podstawie umowy trójstronnej nr DWD/5/0424/2021 zawartej pomiędzy Tomaszem Sulińskim, firmą Alcon Polska oraz Uniwersytetem Warszawskim. W związku z realizacją przedmiotowej umowy, badania te zostały wsparte finansowaniem infrastruktury badawczej ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.
2. W całym okresie prowadzenia badań oraz kształcenia w Szkole Doktorskiej Nauk Ścisłych i Przyrodniczych Uniwersytetu Warszawskiego Tomasz Suliński pozostawał etatowym pracownikiem firmy Alcon Polska i otrzymywał od niej regularne wynagrodzenie. Firma Alcon jest producentem soczewek kontaktowych, z których niektóre zostały wykorzystane w badaniach opisanych w niniejszej rozprawie doktorskiej.
3. Badania opisane w rozdziale II niniejszej rozprawy doktorskiej, w których wykorzystywano fluorescencyjne mikroskopy konfokalne, zostały przeprowadzone w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN i były dofinansowane przez Ministerstwo Edukacji i Nauki na podstawie umowy nr 2022/WK/05 (Polish Euro-BioImaging Node “Advanced Light Microscopy Node Poland”).

Podziękowania

Na początku chciałbym podziękować mojej żonie Agacie. Po pierwsze – za wsparcie jeszcze przed rozpoczęciem studiów doktorskich i za zmotywowanie mnie do ich podjęcia, a przede wszystkim za cierpliwość, zrozumienie i wybaczenie tak częstych nieobecności oraz braku czasu dla rodziny.

Za to samo chcę również przeprosić nasze dzieci, dla których nie miałem tyle czasu, ile powinienem. Choć wiem, że tego czasu nie da się odzyskać, mam nadzieję, że przykład wytrwałości i dążenia do celu będzie dla Was inspiracją w przyszłości.

Szczególne podziękowania kieruję do mojego promotora, prof. Jacka Pniewskiego, który swoimi wskazówkami i ogromną wiedzą dzielił się ze mną o każdej porze dnia (a czasami także nocy). Bez jego wsparcia i zaangażowania nie byłoby możliwe przeprowadzenie badań ani napisanie tej rozprawy.

Dziękuję również kolegom i koleżankom z pracy – w tym Wojtkowi, który zmotywował mnie do wejścia na ścieżkę doktoratu, oraz Michałowi za codzienne motywowanie do stawiania kolejnych kroków i doprowadzenia dzieła do końca. Mojej opiekunce pomocniczej, Inmie, dziękuję za wsparcie i cenne uwagi w trakcie przygotowywania poszczególnych publikacji.

Nie mniej serdeczne podziękowania kieruję do Juty, Magdy, Marty, Pauliny, Izy, Karoliny i Tomka za wyrozumiałość i wsparcie w codziennej pracy, gdy obowiązki doktora wymagały mojej nieobecności.

Na koniec chciałbym podziękować wszystkim, którzy pomagali mi w poszczególnych etapach badań – Marii Sobol, Marcinowi Warmińskiemu, Natalii Nowak, Jędrzejowi Szymańskiemu i Markowi Grzelcowi.

Dziękuję wszystkim, którzy wierzyli, że dam radę, nawet w chwilach, gdy sam w to wątpiłem. Ta praca jest efektem nie tylko moich wysiłków, ale i Waszej wiary, cierpliwości oraz dobrego słowa – a to są rzeczy, których wartość jest nie do przecenienia.

Streszczenie

Celem rozprawy było pogłębienie wiedzy o wzajemnych interakcjach pomiędzy lipidami filmu łzowego a materiałami silikonowo-hydrożelowymi (Si-Hy), z których wytwarza się miękkie soczewki kontaktowe, oraz opracowanie narzędzi umożliwiających śledzenie tych zjawisk od pierwszych chwil kontaktu aż po ich konsekwencje funkcjonalne. Praca integruje trzy wątki: rozwój metod wizualizacji adhezji i transportu lipidów (konfokalna mikroskopia fluorescencyjna, w tym układ z wirującym dyskiem Yokogawy), ocenę wpływu aplikacji soczewki na grubość warstwy lipidowej filmu łzowego (LLT) *in vivo*, oraz ocenę wpływu osadów lipidowych na równowagową zawartość wody (EWC) w materiale soczewki w warunkach zbliżonych do fizjologicznych. Badania prowadzono w ramach doktoratu wdrożeniowego, z myślą o bezpośrednim wykorzystaniu wyników i narzędzi w praktyce badawczo-rozwojowej (R&D) producenta soczewek kontaktowych.

W części metodycznej najpierw skalibrowano obrazowanie konfokalne w trybie odbiciowym do szybkiej, nieinwazyjnej charakterystyki i pozycjonowania powierzchni soczewki, a następnie zastosowano znakowany fluorescencyjnie cholesterol do mapowania osadzania i dyfuzji w materiałach Si-Hy. Finalnie opracowano metodę obrazowania w systemie wirującego dysku, z poszerzonym polem widzenia i wysoką rozdzielczością czasową, który pozwolił zarejestrować inicjację adhezji w skali minut oraz śledzić dyfuzję w głąb matrycy soczewek. Przeprowadzono również badanie kliniczne LLT (interferometria, za pomocą urządzenia IDRA) u dorosłych uczestników, porównując wartości przed aplikacją oraz po 1, 3 i 5 minutach noszenia czterech popularnych soczewek Si-Hy. Oddzielne badania *in vitro* zrealizowano w autorskim inkubatorze CLI, który symuluje mruganie i warunki powierzchni oka (35 °C, sztuczny płyn łzowy (ATS) z/bez lipidów), co umożliwiło wielopróbkową, powtarzalną ocenę zmian EWC metodą termogravimetryczną.

Uzyskane wyniki potwierdziły częściowo Hipotezę I: nowa metodyka konfokalna rejestruje moment inicjacji adsorpcji lipidów oraz pozwala różnicować mechanizmy osadzania/transportu między materiałami. W badaniu klinicznym potwierdzono Hipotezę II: aplikacja soczewki wywołuje istotne zmiany LLT względem wartości wyjściowych, przy czym zależność od materiału ujawnia się przede wszystkim w kinetyce wczesnych zmian (1–5 min), a pięciominutowe okno bywa niewystarczające do oceny stanu ustalonego. W module *in vitro* potwierdzono Hipotezę III: ekspozycja na lipidy w ATS prowadzi do istotnego spadku EWC (rzędu kilku punktów procentowych), obserwowanego konsekwentnie dla testowanych materiałów, co wskazuje na lipidowo indukowane

„odwodnienie” matrycy i potencjalne wtórne pogorszenie zwilżalności i stabilności przed-soczewkowego filmu łzowego. Łącznie wyniki dostarczają ram interpretacyjnych i zestawu narzędzi (w tym CLI) przydatnych do screeningu materiałów/powłok o zwiększonej odporności na depozycję lipidów oraz do projektowania strategii pielęgnacyjnych ukierunkowanych na kontrolę obciążenia lipidowego.

Abstract

The aim of this dissertation was to advance understanding of the reciprocal interactions between tear-film lipids and silicone hydrogel (Si-Hy) materials used in soft contact lenses, and to develop tools that enable tracking these phenomena from the very first moments of contact through to their functional consequences. The work integrates three strands: the development of methods for visualizing lipid adhesion and transport (fluorescence confocal microscopy, including a Yokogawa spinning-disk unit), an *in vivo* assessment of how lens application affects the lipid layer thickness (LLT) of the tear film, and an evaluation—under near-physiological conditions—of how lipid deposits influence the equilibrium water content (EWC) of lens materials. The research was conducted within an industrial doctorate framework with a view to direct transfer of results and tools into the R&D practice of a contact lens manufacturer.

Methodologically, confocal imaging in reflective mode was first calibrated to provide a rapid, non-invasive characterization and positioning of lens surfaces. Fluorescently labeled cholesterol was then used to map deposition and diffusion within Si-Hy matrices. Finally, a spinning-disk confocal protocol with an expanded field of view and high temporal resolution was established, allowing registration of adhesion initiation on the time-scale of minutes and tracking of diffusion fronts into the lens bulk. In parallel, a clinical LLT study (interferometric measurements using the IDRA device) was performed in adult participants, comparing pre-application values with measurements taken at 1, 3, and 5 minutes after application of four popular Si-Hy lenses. A separate *in vitro* module employed a purpose-built Contact Lens Incubator (CLI) that simulates blinking and ocular surface conditions (35 °C; artificial tear solution, ATS, with and without lipids), enabling multi-sample, reproducible assessment of EWC changes by gravimetric (thermogravimetric) measurement.

The findings corroborated partially Hypothesis I: the new confocal methodology captures the moment of lipid-adsorption initiation and differentiates deposition/transport mechanisms between materials. The clinical study confirmed Hypothesis II: lens application induces statistically significant changes in LLT relative to baseline, with material dependence manifesting primarily in the kinetics of early changes (1–5 min); a five-minute window is often insufficient to assume a steady state. The *in vitro* module confirmed Hypothesis III: exposure to lipids in ATS leads to a significant reduction in EWC—on the order of several percentage points—consistently observed across tested materials,

indicating lipid-induced dehydration of the polymer matrix and a potential secondary deterioration of wettability and pre-lens tear film stability. Collectively, the results provide an interpretative framework and a toolkit (including the CLI) for screening materials/coatings with enhanced resistance to lipid deposition and for designing care strategies aimed at controlling lipid load.

Spis treści

SPIS NAJWAŻNIEJSZYCH SKRÓTÓW I SYMBOLI	10
LISTA PUBLIKACJI NAUKOWYCH	11
WPROWADZENIE	12
ROZDZIAŁ I. WSTĘP	14
1. MIĘKKIE SOCZEWKI KONTAKTOWE	14
1.1. <i>Zarys historyczny – od soczewek szklanych do Si-Hy</i>	14
1.2. <i>Materiały i parametry soczewek Si-Hy</i>	15
2. FIZJOLOGIA PRZEDNIEGO ODCINKA OKA	18
2.1. <i>Rogówka</i>	18
2.2. <i>Spojówka</i>	20
2.3. <i>Powieki i gruczoły Meiboma</i>	21
2.4. <i>Film łzowy</i>	23
3. INTERAKCJE SOCZEWKA – POWIERZCHNIA OKA	29
3.1. <i>Wpływ soczewek na powierzchnię oka oraz film łzowy</i>	29
3.2. <i>Wpływ użytkowania soczewek na ich właściwości:</i>	36
4. OSADY LIPIDOWE NA I WEWNĄTRZ SOCZEWEK KONTAKTOWYCH SI-HY:	39
4.1. <i>Podsumowanie</i>	70
ROZDZIAŁ II. FLUORESCENCYJNA MIKROSKOPIA KONFOKALNA JAKO NARZĘDZIE BADANIA INTERAKCJI LIPIDÓW Z SOCZEWKAMI SI-HY	75
1. FIZYCZNE PODSTAWY DZIAŁANIA SKANINGOWEGO LASEROWEGO MIKROSKOPU KONFOKALNEGO (CLSM) ORAZ KONFOKALNEJ MIKROSKOPII Z WIRUJĄCYM DYSKIEM YOKOGAWY (SPINNING-DISK), Z UWZGLĘDNIENIEM OBRAZOWANIA W ODBICIU I FLUORESCENCJI	77
1.1. <i>Idea mikroskopii konfokalnej</i>	77
1.2. <i>Tor optyczny skaningowego laserowego mikroskopu konfokalnego (CLSM)</i>	79
1.3. <i>Podstawowe tryby obrazowania konfokalnego: fluorescencja i odbicie</i>	81
1.4. <i>Rozdzielczość sekcjonowania optycznego</i>	82
1.5. <i>Mikroskopia konfokalna z wirującym dyskiem</i>	83
1.6. <i>CLSM vs. Wirujący dysk</i>	84
1.7. <i>Błędy i artefakty</i>	85
2. CHARAKTERYSTYKA ODBICIA ŚWIATŁA NA POWIERZCHNI SOCZEWEK SI-HY W MIKROSKOPII KONFOKALNEJ	86
2.1. <i>Materiały i metody</i>	86
2.2. <i>Wyniki i dyskusja</i>	89
2.3. <i>Wnioski</i>	93
3. ANALIZA OSADÓW I DYFUZJI CHOLESTEROLU W SOCZEWKACH KONTAKTOWYCH SI-HY Z WYKORZYSTANIEM FLUORESCENCYJNEJ MIKROSKOPII KONFOKALNEJ	96
3.1. <i>Materiały i metody</i>	96
3.2. <i>Wyniki</i>	99
3.3. <i>Ograniczenia</i>	101
3.4. <i>Dyskusja</i>	102
3.5. <i>Wnioski</i>	105
4. NOWA METODA OBRAZOWANIA PROCESÓW OSADZANIA NA POWIERZCHNI ORAZ TRANSPORTU LIPIDÓW W MATRYCY SOCZEWEK SI-HY <i>IN VITRO</i>	107
4.1. <i>Materiały i metody</i>	107
4.2. <i>Wyniki i dyskusja</i>	110
4.3. <i>Ograniczenia badania i propozycja udoskonaleń</i>	115
4.4. <i>Wnioski</i>	116
ROZDZIAŁ III. WPŁYW SOCZEWEK KONTAKTOWYCH SI-HY NA GRUBOŚĆ WARSTWY LIPIDOWEJ FILMU ŁZOWEGO, PO ICH APLIKACJI	118
1. <i>Materiały i metody</i>	118
2. <i>Wyniki</i>	124
3. <i>Dyskusja</i>	129
4. <i>Wnioski</i>	131

ROZDZIAŁ IV. WPŁYW OSADÓW LIPIDOWYCH NA RÓWNOWAGOWĄ ZAWARTOŚĆ WODY W SOCZEWKACH SI-HY.....	132
1. MATERIAŁY I METODY	132
2. WYNIKI	137
3. DYSKUSJA	139
4. WNIOSKI	141
ROZDZIAŁ V. PODSUMOWANIE.....	143
SPIS RYSUNKÓW	148
SPIS TABEL	151
BIBLIOGRAFIA	153

Spis najważniejszych skrótów i symboli

AFM – Mikroskopia sił atomowych / Atomic Force Microscopy
ATS – Sztuczny roztwór łzowy / Artificial Tear Solution
CALT – Tkanka limfatyczna związana ze spojówką / Conjunctiva-Associated Lymphoid Tissue
CLI – Inkubator do soczewek kontaktowych / Contact Lens Incubator
DED/ZSO – Zespół suchego oka (ZSO) / Dry Eye Disease
Dk – Przepuszczalność tlenu / Oxygen Permeability
DMPC – Fosfatydylocholina dimirystylowa / Dimyristoylphosphatidylcholine
DMSO – Dimetylosulfotlenek / Dimethyl Sulfoxide
DPPC – Fosfatydylocholina dipalmitoilowa / Dipalmitoylphosphatidylcholine
ECPs – Specjaliści ochrony wzroku / Eye Care Professionals
EWC – Równowagowa zawartość wody / Equilibrium Water Content
FDA – Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków / Food and Drug Administration
HEMA – Hydroksyetylometakrylan / Hydroxyethyl Methacrylate
HPLC – Wysokosprawna chromatografia cieczowa / High-Performance Liquid Chromatography
Hy – Hydrożel / Hydrogel
IBI – Odstęp między mrugnięciami / Interblink Interval
IOP – Ciśnienie wewnątrzgałkowe / Intraocular Pressure
ISO – Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna / International Organization for Standardization
LIPCOF – Fałd spojówki równoległy do brzegu powieki / Lid-Parallel Conjunctival Fold
LLT – Grubość warstwy lipidowej / Lipid Layer Thickness
LWE – Epitelopatia wycieraczkowa brzegu powieki / Lid Wiper Epitheliopathy
MGD – Dysfunkcja gruczołów Meiboma / Meibomian Gland Dysfunction
MPS – Wielofunkcyjny płyn do soczewek / Multipurpose Solution
NBD-CHL – Cholesterol znakowany NBD / 7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazolyl-cholesterol
OCT – Optyczna tomografia koherencyjna / Optical Coherence Tomography
PBS – Bufor fosforanowy / Phosphate Buffered Saline
PDMS – Polidimetylosiloksan / Polydimethylsiloxane
PLTF – Przed-soczewkowy film łzowy / Pre-Lens Tear Film
PMMA – Poli(metakrylan metylu) / Polymethyl Methacrylate
PoLTF – Pod-soczewkowy film łzowy / Post-Lens Tear Film
PVP – Poliwinylpirolidon / Polyvinylpyrrolidone
Si-Hy – Silikonowo-hydrożelowy materiał soczewek kontaktowych / Silicone Hydrogel
TFLL – Warstwa lipidowa filmu łzowego / Tear Film Lipid Layer
TBUT – Czas przzerwania filmu łzowego / Tear Break-Up Time
TFSQ – Jakość powierzchni filmu łzowego / Tear Film Surface Quality
TMH – Wysokość menisku łzowego / Tear Meniscus Height
TRIS – Tris-(trimetylosiloksy)sililopropylometakrylan / Tris(trimethylsiloxy)silylpropyl methacrylate

Lista publikacji naukowych

1. Suliński T., Sobol M., Pniewski J. Influence of silicone hydrogel contact lenses on lipid layer thickness in the tear film after lens application. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* – złożone.
2. Suliński T., Nowak N., Szymański J., Pniewski J. A novel method for visualization lipid accumulation on silicone hydrogel contact lenses' surface and transport into the lens matrix. *Opto-Electronics Review* – złożone.
3. Suliński T., Pniewski J. Silicone Hydrogel Contact Lenses in Simulated Tear Film Conditions: Influence of Lipids on Hydration. *Scientific Review* – złożone.
4. Suliński, T., Nowak, N., Szymański, J., & Pniewski, J. (2024). Analysis of Deposition and Diffusion of Cholesterol in Silicone Hydrogel Contact Lenses Using Confocal Microscopy. *Vision*, **8**(3), 55.
5. Suliński, T., Nowak, N., Szymański, J., & Pniewski, J. (2023). Study of silicone hydrogel contact lenses' surface reflection characteristics using confocal microscopy. *Journal of Biomaterials science, Polymer edition*, **34**(17), 2400-2410.
6. Suliński, T., & Pniewski, J. (2021). Analysis of Polish eye care professionals' opinions about deposits on contact lenses. *Ophthatherapy*, **8**(4), 255-262.
7. Suliński, T., & Pniewski, J. (2020). Interaction of silicone hydrogel contact lenses with lipids—a chronological review. *OphthaTherapy. Therapies in Ophthalmology*, **7**(4), 306-325.
8. Suliński, T. (2019). Zespół suchego oka a soczewki kontaktowe. *OphthaTherapy. Therapies in Ophthalmology*, **6**(4), 259-263.
9. Suliński, T. (2017). Wskazówki dotyczące skutecznego dobierania miękkich soczewek kontaktowych do korekcji astygmatyzmu. *OphthaTherapy. Therapies in Ophthalmology*, **4**(3), 173-176.
10. Suliński, T., & Gapiński, J. (2013). Badanie barier dyfuzyjnych w polimerowo-hydrożelowych matrycach na przykładzie dyfuzji wybranego leku znieczulającego w silikonowo-hydrożelowych soczewkach kontaktowych. *Optyka*.

Wprowadzenie

Głównym celem niniejszej rozprawy doktorskiej było pogłębienie wiedzy na temat interakcji lipidów z materiałami silikonowo-hydrożelowymi (Si-Hy) stosowanymi do produkcji miękkich soczewek kontaktowych. W szczególności celem było opracowanie metod umożliwiających ocenę, w jaki sposób osady lipidowe tworzą się na powierzchni i wewnątrz materiałów Si-Hy, jaki wpływ mają soczewki Si-Hy na warstwę lipidową filmu łzowego oraz jak osady lipidowe zmieniają właściwości fizykochemiczne samych soczewek, w tym zawartość wody. Zagadnienie to ma istotne znaczenie zarówno z punktu widzenia komfortu i bezpieczeństwa użytkowania soczewek, jak i z perspektywy rozwoju nowych materiałów oraz skuteczniejszych strategii ich pielęgnacji.

Potrzeba zajęcia się tym zagadnieniem wynikała nie tylko z luk w literaturze naukowej, ale także z oczekiwań klinicznych. W badaniu ankietowym przeprowadzonym wśród polskich specjalistów ochrony wzroku (z ang. Eye Care Professionals, ECPs), 65% respondentów ($n = 74$) wskazało, że odporność materiału soczewki na powstawanie osadów lipidowych stanowi dla nich istotne kryterium przy doborze soczewki dla pacjenta. Co więcej, aż 89% respondentów ($n = 78$) uznało, że producenci powinni informować o tej właściwości w charakterystyce produktu. Specjaliści postrzegają osady lipidowe jako potencjalne źródło dyskomfortu podczas noszenia soczewek kontaktowych, choć większość z nich ocenia, że zjawisko to występuje jedynie sporadycznie. Zaledwie 8% respondentów uznało, że obecność osadów lipidowych nie ma żadnego wpływu na komfort użytkowania soczewek. Dodatkowo, większość uczestników badania zwróciła uwagę, że złogi lipidowe mogą również negatywnie wpływać na jakość widzenia [1]. Dane te wyraźnie pokazują, że zagadnienie osadów lipidowych na soczewkach Si-Hy ma bezpośrednie przełożenie na decyzje kliniczne oraz praktykę kontaktologiczną.

W celu realizacji założonego celu głównego, praca została podzielona na trzy części badawcze, odpowiadające trzem hipotezom i trzem celom szczegółowym:

1. Hipoteza I (rozdział II): Fluorescencyjna mikroskopia konfokalna, wraz z zastosowaniem metody wirującego dysku Yokogawy, przy zastosowaniu odpowiednio dobranych znaczników lipidowych, pozwala na rejestrację momentu inicjacji adsorpcji lipidów na powierzchni soczewki Si-Hy oraz śledzenie ich penetracji do wnętrza materiału w czasie rzeczywistym, co umożliwia identyfikację różnic w mechanizmie osadzania się lipidów pomiędzy różnymi rodzajami materiałów Si-Hy.

Cel I: Stworzenie nowej metody umożliwiającej obserwację procesu osadzania się lipidów na powierzchni i ich transportu do wnętrza materiału soczewki Si-Hy z wykorzystaniem fluorescencyjnej mikroskopii konfokalnej. Szczególny nacisk położono na rejestrację pierwszego momentu kontaktu lipidów z powierzchnią soczewki, co może dostarczyć nowych informacji na temat mechanizmu inicjacji adsorpcji lipidów.

2. Hipoteza II (rozdział III): Założenie soczewek Si-Hy powoduje statystycznie istotne zmiany grubości warstwy lipidowej filmu łzowego (z ang. *Lipid Layer Thickness*, LLT), w porównaniu do wartości wyjściowych, a skala tego efektu zależy od właściwości materiałowych soczewek.

Cel II: Zbadanie, jak założenie soczewek Si-Hy wpływa na grubość lipidowej warstwy filmu łzowego – kluczowego komponentu dla stabilności i ochrony powierzchni oka. Badanie to miało na celu określenie potencjalnego wpływu interakcji materiał-film łzowy na fizjologiczne właściwości powierzchni oka.

3. Hipoteza III (rozdział IV): Obecność osadów lipidowych na soczewkach Si-Hy prowadzi do istotnego zmniejszenia równowagowej zawartości wody (z ang. *Equilibrium Water Content*) EWC w materiale.

Cel III: Zbadanie, w jaki sposób obecność osadów lipidowych wpływa na równowagową zawartość wody w soczewkach Si-Hy. W tym celu zaprojektowano i skonstruowano innowacyjny inkubator, umożliwiający inkubację wielu soczewek w kontrolowanych warunkach (35°C, sztuczny płyn łzowy (z ang. *Artificial Tear Solution*, ATS), symulacja ekspozycji na powietrze przypominająca mruganie). Pozwoliło to na lepsze odtworzenie warunków fizjologicznych i ocenę zmian w czasie.

Uzyskane w ramach pracy wyniki mogą znaleźć zastosowanie zarówno w dalszych badaniach nad interakcjami lipidów z biomateriałami, jak i w praktyce klinicznej oraz przemysłowej. Metoda wizualizacji osadów może stanowić nowe narzędzie badawcze dla producentów soczewek i płynów pielęgnacyjnych. Z kolei dane dotyczące wpływu osadów na parametry fizykochemiczne materiału soczewek mogą być pomocne w opracowywaniu nowych formułacji materiałowych odpornych na gromadzenie lipidów. Wreszcie, konstrukcja inkubatora umożliwiającego symulację warunków fizjologicznych może znaleźć zastosowanie w testach jakości soczewek kontaktowych w warunkach zbliżonych do realnych.

Rozdział I. Wstęp

1. Miękkie soczewki kontaktowe

Soczewki kontaktowe stanowią jedną z najczęściej stosowanych metod korekcji wad refrakcji na świecie. W 2013 roku szacowano, że na całym świecie używało ich około 140 mln osób [2]. Rozwój rynku w ostatnich latach obejmował wprowadzanie nowych materiałów, modalności wymiany, typów soczewek czy zwiększania zakresów mocy itp. Można więc zakładać, że obecnie jeszcze więcej osób używa tej formy korekcji. Soczewki kontaktowe to wyroby medyczne, które – ze względu na ciągły kontakt z powierzchnią oka i otoczenie filmu łzowego – muszą spełniać rygorystyczne wymagania w zakresie biokompatybilności, określane przez FDA (Food and Drug Administration) oraz ISO (International Organization for Standardization) [3]. Aby uniknąć potencjalnych komplikacji, powinny one być nie tylko zawsze dopasowywane przez ECPs, ale każdy pacjent je użytkujący powinien stawiać się na rutynowe badania kontrolne. Współczesny rynek nowych aplikacji zdominowany jest przez soczewki miękkie, których udział szacowany jest na około 89% według danych z 2024 roku. W tej grupie soczewek największy udział mają soczewki Si-Hy, które odpowiadają za 70% dopasowań i są obecnie najczęściej rekomendowane przez ECPs [4].

1.1. Zarys historyczny – od soczewek szklanych do Si-Hy

W 1888 roku Adolf Gaston Eugen Fick jako pierwszy opisał proces produkcji i dopasowania szklanych soczewek twardówkowych u ludzi [5]. W tym samym okresie podobne prace prowadzili Eugène Kalt [6] i August Müller – ten ostatni jako pierwszy skorygował krótkowzroczność za pomocą soczewek kontaktowych [7].

Przełom technologiczny nastąpił w latach 30. XX wieku, gdy rozpoczęto próby stosowania tworzyw sztucznych (PMMA – poli(metakrylan metylu)) do produkcji soczewek. W 1948 roku Kevin Tuohy przypadkowo stworzył soczewkę rogówkową z PMMA, co zapoczątkowało erę nowoczesnych soczewek sztywnych [8]. Z kolei lata 60. przyniosły próby z soczewkami silikonowymi (elastomer silikonowy), jednak ograniczona zwilżalność materiału i trudności w produkcji ograniczyły ich zastosowanie [9].

Rewolucyjne znaczenie miało odkrycie hydrożelu (hydroksyetylometakrylan, HEMA) przez Otto Wichterlego [10], co pozwoliło na wprowadzenie w 1972 roku pierwszych miękkich soczewek kontaktowych na rynek [9]. Dzięki swoim właściwościom –

elastyczności, wysokiej zawartości wody i komfortowi – soczewki miękkie szybko zyskały popularność na całym świecie.

W 1998 roku wprowadzono na rynek pierwsze soczewki Si-Hy, które miały łączyć wysoką przepuszczalność tlenu właściwą materiałom silikonowym z komfortem i zwilżalnością hydrożeli (Hy). Uważa się je za najważniejsze osiągnięcie w dziedzinie materiałoznawstwa soczewek od czasów wynalezienia HEMA [9].

W kolejnych latach rozwój soczewek skupiał się na poprawie ich biokompatybilności, ograniczeniu powstawania osadów oraz tworzeniu specjalistycznych rozwiązań, takich jak materiały z gradientem uwodnienia, soczewki do kontroli progresji krótkowzroczności, soczewki jednodniowe, czy soczewki terapeutyczne.

1.2. Materiały i parametry soczewek Si-Hy

1.2.1. Wymogi tlenowe i znaczenie materiałów Si-Hy

W latach 80. XX wieku Holden i Mertz zdefiniowali minimalną wartość przepuszczalności tlenu (Dk), niezbędną do uniknięcia hipoksji rogówki: 24,1 barrer/cm dla noszenia dziennego i 87 barrer/cm dla trybu przedłużonego [11]. Badania Harvitta i Bonanno (1999) skorygowały te wartości odpowiednio do 35 i 125 barrer/cm dla otwartego i zamkniętego oka [12]. Materiały Hy osiągały wartości Dk do około 60, co nie wystarczało dla bezpiecznego przedłużonego noszenia. Rozwiązaniem okazało się zastosowanie elastomerów silikonowych, które cechują się znacznie wyższą przepuszczalnością tlenu.

1.2.2. Budowa chemiczna i ewolucja materiałów Si-Hy

Pierwsze soczewki silikonowe (lata 60. XX wieku, niewodnione soczewki) oparto na elastomerach (polidimetylosiloksan, PDMS), jednak ich hydrofobowy charakter, niska zwilżalność i tendencja do osadów lipidowych wykluczały je z szerokiego zastosowania klinicznego. Przełomem było opracowanie monomerów TRIS (3-[Tris(trimetylosiloksy)sililo]propyl metakrylan), które umożliwiły tworzenie kopolimerów Si-Hy, łączących silikon z hydrofilnymi komponentami.

Późniejsze generacje soczewek oparto na bardziej zaawansowanych makromerach oraz technologiach umożliwiających zwiększenie zwilżalności. Przykładem są soczewki z wewnętrznymi środkami nawilżającymi (np. PVP – poliwinylpiperolidon) [13] lub innowacyjną strukturą gradientu uwodnienia [14].

1.2.3. Klasyfikacja FDA i podgrupy materiałów Si-Hy [15]

W 2009 roku materiały Si-Hy zostały zaklasyfikowane przez FDA do nowej grupy V, obejmującej materiały o podwyższonej przepuszczalności tlenu. W 2017 roku dokonano dalszego podziału na trzy podgrupy:

- V-A: materiały jonowe,
- V-B: niejonowe, o wysokiej zawartości wody (>50%),
- V-C: niejonowe, o niskiej zawartości wody (<50%).

Wprowadzono również oznaczenia dotyczące modyfikacji powierzchni:

- c – modyfikacja chemiczna (np. plazmowa),
- w – zastosowanie wewnętrznych lub uwalnianych środków nawilżających.

1.2.4. Właściwości fizykochemiczne soczewek Si-Hy

Soczewki Si-Hy różnią się istotnie między sobą pod względem właściwości materiałowych, co wpływa na ich interakcję z filmem łzowym i powierzchnią oka, co zostanie omówione w dalszych podrozdziałach. Główne właściwości zostały wymienione w Tabeli 1.

Tabela 1 Wykaz wybranych właściwości fizykochemicznych soczewek Si-Hy.

Parametr	Opis
Zawartość wody	Określa stosunek zawartości wody w masie soczewki (dla Si-Hy od 24 do 56%), często określana jako EWC (równowagowa zawartość wody)
Przepuszczalność tlenu (Dk)	Miara przepuszczalności tlenu dla danego materiału, mierzona w barrerach, norma ISO18369-4 określa dwie metody pomiaru – w zależności od typu materiału: poligraficzną oraz kulometryczną
Transmisja tlenu (Dk/t)	Uwzględnia grubość soczewki, co oznacza, że geometria soczewki i współczynnik załamania światła mają znaczenie dla tego parametru, mierzony w barrer/cm
Zwilżalność	Określa zdolność powierzchni soczewki do utrzymania nawilżenia, zazwyczaj określana poprzez mierzenie kąta zwilżania
Moduł sprężystości	Wyższy moduł oznacza większą sztywność – łatwiejszą manipulację, ale też potencjalnie większe podrażnienie mechaniczne oka, określany również jako moduł Younga
Stabilność wymiarowa	Określa wpływ czynników zewnętrznych na zachowanie kształtu i wymiarów soczewki, np. poprzez sprawdzanie zmiany grubości, średnicy czy krzywizny soczewki
Współczynnik załamania (n)	Zależy od gęstości materiału – wpływa na parametry optyczne soczewki. (dla soczewek miękkich w zakresie ~1,37–1,44 [16])
Transmitancja światła	Odnosi się do zdolności soczewek kontaktowych do przepuszczania poszczególnych długości fali światła. Ma znaczenie dla zapewnienia wyraźnego widzenia i ochrony oczu przed szkodliwym światłem, jak np. UV

1.2.5. Modyfikacje powierzchni, strategie poprawy zwilżalności i jej mierzenie

Zwilżalność powierzchni jest kluczowa dla zapewnienia komfortu [17] oraz czystości soczewek [18]. Wczesne generacje soczewek Si-Hy (np. balafilcon A, lotrafilcon A) wymagały obróbki plazmowej, aby poprawić zwilżalność hydrofobowej powierzchni [17]. Techniki te opierały się na utlenianiu (np. tworzeniu warstw krzemianowych) lub nanoszeniu powłok hydrofilowych. W nowszych soczewkach (np. z materiałów delefilcon A, sera-filcon A) zastosowano innowacyjne rozwiązania bez konieczności obróbki plazmowej –

np. gradient uwodnienia [14], makromery z wewnętrznymi czynnikami nawilżającymi czy nowe formuły wykorzystywane do utrzymania nawilżenia powierzchni soczewki [19].

W ocenie właściwości zwilżających soczewek kontaktowych stosuje się szereg metod pomiarowych, które różnią się zasadą działania, zastosowaniem oraz przydatnością do badania różnych typów materiałów soczewek. Najczęściej wykorzystywaną techniką jest analiza kąta zwilżania, w tym metoda kropli osiadłej (inaczej leżącej), polegająca na umieszczeniu kropli cieczy na powierzchni soczewki i pomiarze kąta pomiędzy kroplą a powierzchnią. Chociaż jest powszechnie stosowana, jej zastosowanie w przypadku miękkich soczewek kontaktowych może być ograniczone ze względu na ich podatność na odkształcenia [20], [21], [22]. Alternatywą jest metoda pęcherzyka powietrza (ang. *captive bubble*), w której pęcherzyk powietrza umieszczany jest przy powierzchni soczewki w środowisku wodnym, a następnie mierzony jest kąt kontaktu. Metoda ta odzwierciedla bardziej rzeczywisty stan zwilżania soczewki w warunkach *in vivo*, szczególnie podczas noszenia [21], [22], [23]. Techniką umożliwiającą badanie gotowych soczewek w całości jest modyfikacja metody płytki Wilhelmy’ego, polegająca na pomiarze siły adhezji podczas zanurzania i wyciągania próbki z cieczy [20], [22].

Do bardziej zaawansowanych metod optycznych należy wykorzystanie wideokeratologii, np. urządzenia Medmont E300, które pozwala na ocenę jakości filmu łzowego na powierzchni soczewki poprzez analizę takich parametrów jak Jakość Powierzchni Filmu Łzowego (z ang. *Tear Film Surface Quality*, TFSQ) [24]. Inną techniką optyczną jest cieniowarstwowa interferometria, która umożliwia analizę procesu wysychania soczewek na podstawie obserwacji przedsoczewkowego filmu łzowego. Parametry takie jak czas przetrwania, czas trwania, maksymalna prędkość i opóźnienie szczytowe pozwalają na rozróżnienie właściwości materiałowych różnych soczewek, zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* [25], [26].

Dynamiczna metoda fotograficzna analizuje kąty zwilżania przy postępowaniu i cofaniu się cieczy na powierzchni próbki soczewki, co dostarcza informacji o dynamicznym zachowaniu zwilżalności [20]. Pomiar napięcia powierzchniowego i kąta zwilżania może być również prowadzony przy użyciu zmodyfikowanego tensjometru-goniometru z pęcherzykiem powietrza, co umożliwia ocenę wpływu surfaktantów na właściwości zwilżające soczewek [27]. Ostatnią z wyróżnionych technik jest reflektometria optyczna, która poprzez pomiar zależności widmowej odbicia światła pozwala na szybką i dokładną ocenę grubości filmu wodnego na soczewce, co ma istotne znaczenie dla określenia jej właściwości hydrofilowych [28].

2. Fizjologia przedniego odcinka oka

Aby zrozumieć funkcjonowanie soczewki kontaktowej w warunkach klinicznych, konieczne jest dokładne poznanie struktur, z którymi soczewka wchodzi w bezpośredni kontakt podczas noszenia. Soczewka kontaktowa jako wyrób medyczny aplikowany bezpośrednio na powierzchnię oka, oddziałuje przede wszystkim z rogówką, spojówką i powiekami oraz pozostaje otoczona filmem łzowym. Struktury te stanowią dynamiczne środowisko biologiczne, które warunkuje komfort, skuteczność optyczną oraz bezpieczeństwo stosowania soczewek. Ich właściwości fizjologiczne, mechaniczne i biochemiczne mają zasadniczy wpływ na przebieg interakcji z materiałem soczewkowym, w tym na przyleganie, stabilność filmu łzowego, podatność na osady i reakcje immunologiczne. W niniejszym podrozdziale przedstawiono kluczowe cechy anatomiczne i fizjologiczne rogówki, spojówki, powiek oraz filmu łzowego – elementów krytycznych dla prawidłowego funkcjonowania soczewki kontaktowej na oku.

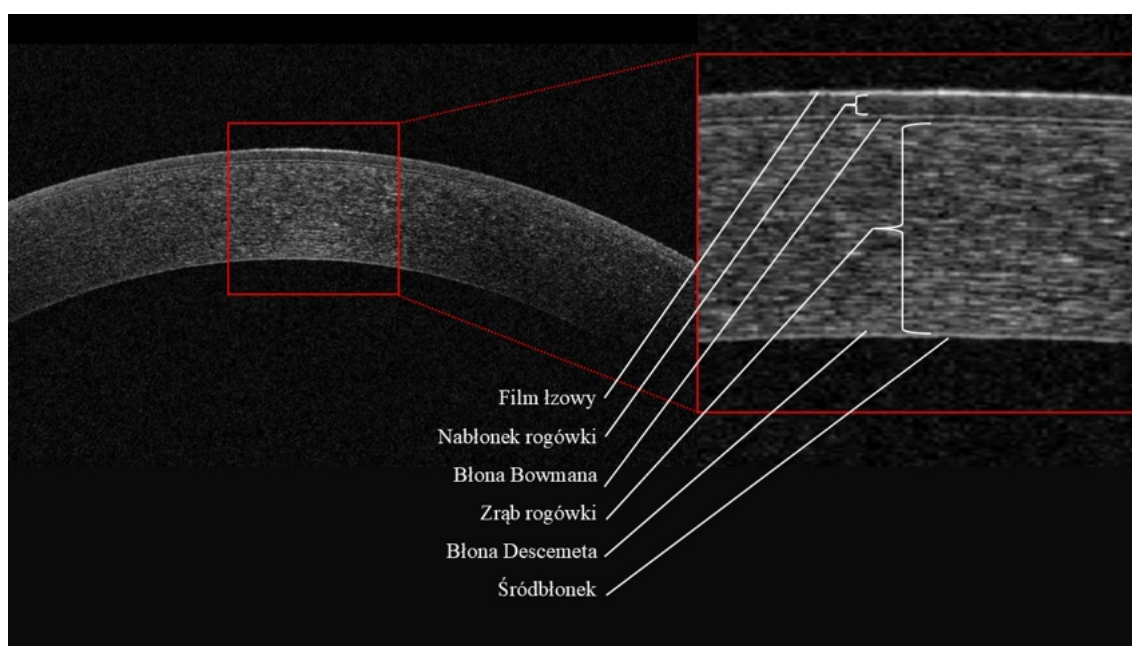
2.1. Rogówka

Rogówka jest przezroczystą, awaskularną strukturą, stanowiącą przednią część błony włóknistej oka. Jej unikalna organizacja tkankowa umożliwia jednocześnie pełnienie funkcji ochronnych i optycznych. Rogówka składa się z pięciu wyraźnie odgraniczonych warstw:

- Nabłonek (*epithelium*) – to najbardziej zewnętrzna warstwa rogówki, która stanowi barierę przed czynnikami środowiskowymi oraz zapewnia gładką powierzchnię niezbędną do prawidłowego przylegania filmu łzowego [29].
- Warstwa Bowmana (blaszka graniczna przednia rogówki) – znajduje się bezpośrednio pod nabłonkiem. Jest to wytrzymała, kolagenowa warstwa zapewniająca dodatkowe wsparcie strukturalne rogówki [18].
- Zrąb (stroma, istota właściwa) – stanowi około 90% całkowitej grubości rogówki. Składa się z regularnie ułożonych włókien kolagenowych osadzonych w uwodnionej macierzy proteoglikanowej. To uporządkowanie strukturalne odpowiada za przezroczystość i wytrzymałość mechaniczną rogówki [29], [30], [31], [32].
- Błona Descemeta (blaszka graniczna tylna rogówki) – cienka, ale wytrzymała warstwa, stanowiąca podporę dla śródbłonka [29].

- Śródbłonek (*endothelium*) – wewnętrzna warstwa rogówki, odpowiedzialna za aktywne usuwanie nadmiaru płynu z zrębu w celu utrzymania odpowiedniego uwodnienia i przezroczystości [29], [33].

Strukturę rogówki można badać i wizualizować między innymi za pomocą optycznej tomografii koherencyjnej (ang. *optical coherence tomography*, OCT), przykład zaprezentowano na Rysunku 1.



Rysunek 1 Przekrój rogówki wykonany za pomocą Optycznej Koherencyjnej Tomografii (OCT). Źródło: repozytorium własne autora

2.1.1. Funkcje

- Zdolność refrakcyjna – rogówka (wraz z pokrywającym ją filmem łzowym) odpowiada za około 70% całkowitej mocy optycznej oka, co wynika z jej krzywizn, specyficznej architektury kolagenowej zrębu, oraz tego, że poza cienkim filmem łzowym jest pierwszą powierzchnią załamującą światło i na granicy z powietrzem występuje największa różnica współczynnika załamania światła [30], [32].
- Ochrona – jako pierwsza bariera mechaniczna rogówka chroni wewnętrzne struktury oka przed urazami, patogenami i ciałami obcymi [29].
- Przezroczystość – utrzymanie przejrzystości rogówki jest kluczowe dla transmisji światła do siatkówki. Zależy ono od regularnego układu kolagenu w zrębie oraz aktywnej regulacji uwodnienia przez śródbłonek [29], [30].

2.1.2. Właściwości biomechaniczne

- Architektura kolagenowa – włókna kolagenowe w zrębie ułożone są w uporządkowany sposób, co zapewnia jednocześnie wytrzymałość mechaniczną i przej-

rzystość. Dzięki temu rogówka skutecznie opiera się siłom rozciągającym i ściskającym [31], [32], [34].

- Regulacja uwodnienia – śródbłonek reguluje nawodnienie zrębu poprzez działanie pomp jonowych (m.in. Na^+/K^+ -ATPazy), zapobiegając obrzękowi i utracie przezroczystości [33].

2.1.3. Unerwienie

- Nerwy czuciowe – rogówka jest najgęściej unerwioną tkanką w organizmie człowieka. Unerwienie pochodzi ze zwoju trójdzielnego i odpowiada za odruchy obronne (np. mruganie), pobudzanie wydzielania łez oraz funkcje troficzne dla komórek nabłonka i zrębu [35], [36].

2.2. Spojówka

Spojówka to cienka, przezroczysta błona śluzowa o kluczowym znaczeniu dla zdrowia oka. Pokrywa tylną powierzchnię powiek oraz przednią powierzchnię gałki ocznej (z wyjątkiem rogówki), tworząc zamknięty worek spojówkowy [37]. Anatomicznie dzieli się na dwie główne części:

- Spojówkę gałkową (*bulbar conjunctiva*) – pokrywającą twardówkę,
- Spojówkę powiekową (*palpebral conjunctiva*) – wyściełającą wewnętrzną powierzchnię powiek [38].

2.2.1. Funkcje spojówki

- Ochrona – spojówka działa jako bariera mechaniczna chroniąca przed drobnoustrojami, toksynami oraz zanieczyszczeniami środowiskowymi. Istotną rolę odgrywa tu również tkanka chłonna związana ze spojówką (z ang. CALT – *conjunctiva-associated lymphoid tissue*), zapewniająca ochronę immunologiczną oka [37], [38]. Chroni także przed pyłkami i ciałami obcymi [38].
- Stabilizacja filmu łzowego – komórki kubkowe spojówki wydzielają mucynę, która jest niezbędna do utrzymania stabilności filmu łzowego. Zapobiega to wysychaniu powierzchni oka i wspiera komfort widzenia [37], [38].
- Wsparcie odżywcze – unaczynienie spojówki dostarcza składników odżywczych do pozbawionej naczyń krwionośnych rogówki, wspierając jej funkcje i zdrowie [38].

- Nadzór immunologiczny – spojówka odgrywa kluczową rolę w nadzorze immunologicznym i odpowiedziach odpornościowych, co jest istotne dla zachowania integralności powierzchni oka [38].

2.2.2. *Charakterystyka anatomiczna i fizjologiczna*

- Unaczynienie – spojówka jest bogato unaczyniona, co umożliwia szybką regenerację oraz skuteczne dostarczanie składników odżywczych i komórek odpornościowych w miejscu uszkodzenia [38].
- Procesy transportowe – zawiera liczne mechanizmy transportu jonów, substancji rozpuszczalnych i wody, które wspierają homeostazę filmu łzowego i powierzchni spojówki [39].

2.3. Powieki i gruczoły Meiboma

W prawidłowym funkcjonowaniu przedniego odcinka oka kluczową rolę odgrywają powieki oraz zlokalizowane w nich gruczoły Meiboma. Struktury te nie tylko chronią powierzchnię oka przed czynnikami zewnętrznymi, ale są również niezbędne dla stabilności filmu łzowego i komfortu widzenia.

2.3.1. *Anatomia powiek*

Powieki to ruchome struktury chroniące przedni odcinek oka. Ich budowa warstwowa obejmuje:

- Zewnętrzną warstwę skórną, która zapewnia fizyczną ochronę gałki ocznej.
- Środkową płytkę tarczową (*tarsal plate*), która stanowi podporę strukturalną powieki.
- Tylną spojówkę powiekową (*posterior palpebral conjunctiva*), w której znajdują się gruczoły Meiboma oraz rzęsy [40], [41].

Anatomicznie powiekę można podzielić na:

- Część przednią, zawierającą skórę, mięśnie oraz gruczoły łojowe.
- Część tylną, która obejmuje płytkę tarczową, spojówkę, gruczoły Meiboma oraz gruczoły Zeissa i Molla [41].

2.3.2. *Fizjologia powiek*

- Mruganie – pełni kluczową funkcję w nawilżaniu rogówki i spojówki, chroni rogówkę przed urazami mechanicznymi i wspiera odpływ łez przez przewód nosowo-łzowy [41].

- Rozprowadzanie filmu łzowego – ruchy powiek równomiernie rozprowadzają łzy po powierzchni oka, co jest niezbędne dla prawidłowego widzenia i ochrony nabłonka [41].

2.3.3. *Funkcje powiek*

- Ochrona oka – przed urazami mechanicznymi i czynnikami środowiskowymi.
- Utrzymanie filmu łzowego – poprzez produkcję składników łez oraz ich rozprowadzanie i odpływ [41].

2.3.4. *Anatomia gruczołów Meiboma*

Gruczoły Meiboma to zmodyfikowane gruczoły łojowe, zlokalizowane w płytkach tarczowych górnej i dolnej powieki. Ułożone są równolegle i biegną pionowo przez długość powieki [41], [42].

- Budowa – gruczoły składają się z gronek wydzielniczych (*acini*), które produkują meibum – mieszaninę lipidów. Meibum przemieszcza się przez przewodniki do przewodu głównego i wydzielane jest przez ujście przy brzegu powieki [42], [43].
- Rozwój embrionalny – gruczoły formują się w fazie zrośnięcia powiek podczas różnicowania zarodkowego [42].

2.3.5. *Fizjologia gruczołów Meiboma*

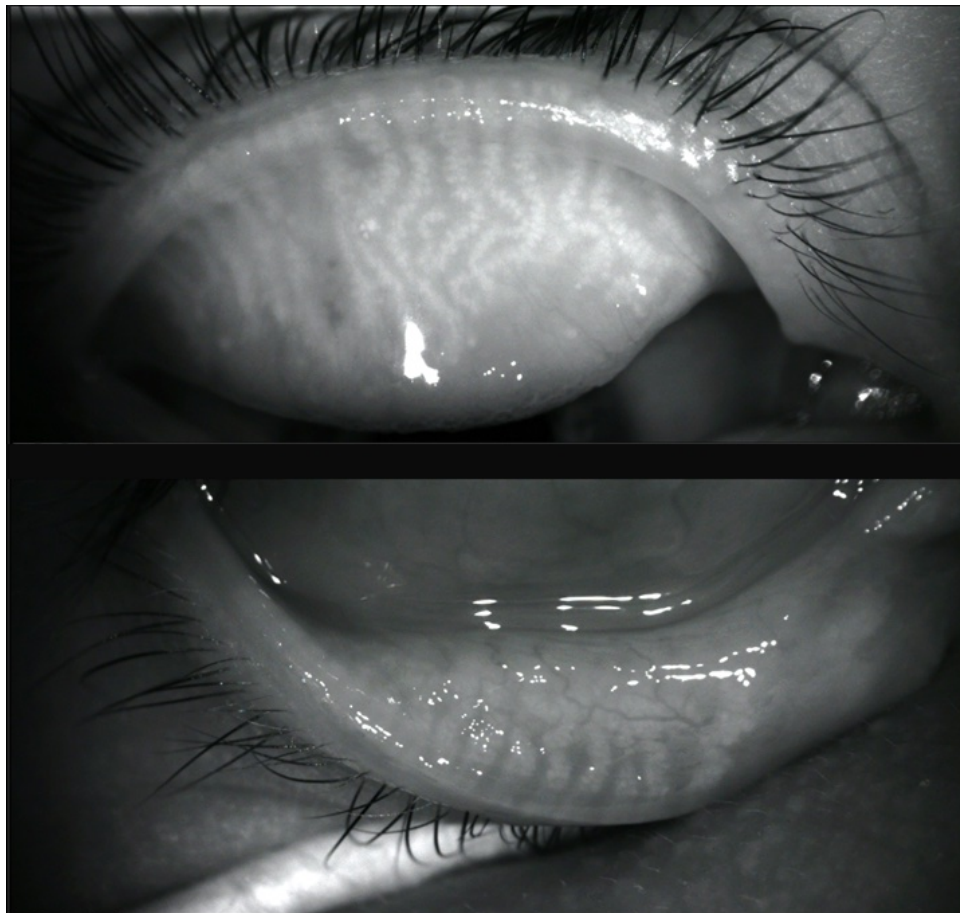
- Mechanizm wydzielniczy – wydzielanie meibum zachodzi w sposób holokrynowy, co oznacza, że produktem końcowym gruczołu jest masa powstała z całkowitego rozpadu meibocytów. Komórki te, po zsyntetyzowaniu i zgromadzeniu wewnątrzcytoplazmatycznych kropeł lipidowych, ulegają lizie, uwalniając do przewodów wyprowadzających zarówno zmagazynowane lipidy, jak i resztki białek oraz błon komórkowych [42], [44].
- Regulacja czynności – aktywność gruczołów zależy od hormonów płciowych. Androgeny wspierają ich funkcję, natomiast estrogeny działają antagonistycznie. Gruczoły są unerwione włóknami przywspółczulnymi, podobnie jak gruczoły łzowe [42].

2.3.6. *Funkcje gruczołów Meiboma*

- Tworzenie warstwy lipidowej – gruczoły Meiboma wytwarzają lipidy, które tworzą najbardziej powierzchną warstwę filmu łzowego. Warstwa ta ogranicza parowanie łez i stabilizuje cały film łzowy [45], [46], [47].

- Ochrona powierzchni oka – warstwa lipidowa zwiększa napięcie powierzchniowe filmu łzowego i zmniejsza tarcie pomiędzy powieką a gałką oczną [46].

Jedną z metod badania i wizualizacji gruczołów jest meibografia, czyli zdjęcie w podczerwieni odwiniętych powiek górnej i dolnej. Przykład zaprezentowano na Rysunku 2.



Rysunek 2 Meibografia górnej i dolnej powieki. Źródło: repozytorium własne autora

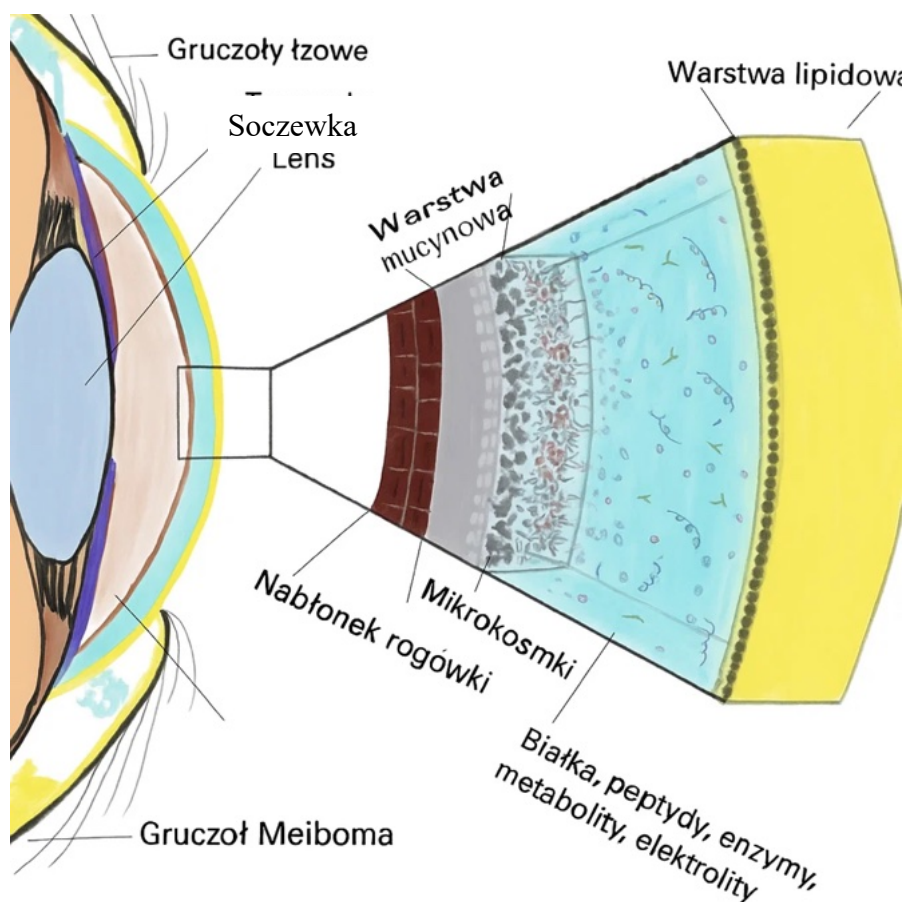
2.4. Film łzowy

Prawidłowy film łzowy jest niezbędny w utrzymaniu zdrowia i integralności powierzchni oka. Działa jako bariera chroniąca i nawilżająca rogówkę, a jednocześnie stanowi pierwsze środowisko refrakcyjne dla światła wpadającego do oka [48]. Klasycznie opisywany był jako struktura trójwarstwowa, obejmująca zewnętrzną warstwę lipidową, środkową warstwę wodną oraz wewnętrzną, najbliższą powierzchni oka, warstwę mucynową. Warstwy te współpracując ze sobą, zapewniają stabilność i funkcjonalność filmu łzowego [49], [50].

Warstwa mucynowa, złożona zarówno z mucyn rozpuszczalnych, jak i związanych z błoną, umożliwia równomierne rozprowadzenie filmu łzowego na powierzchni oka i pełni funkcję obronną przed patogenami. Warstwa wodna zawiera mieszaninę składników odżywczych, substancji przeciwdrobnoustrojowych i elektrolitów, które odżywiają i chronią

nabłonek oka, a także zapewniają odpowiednie nawilżenie [48]. Trzecia warstwa, lipidowa, została szczegółowo opisana poniżej.

Nowsze doniesienia podważają prostotę klasycznego modelu trójwarstwowego, podkreślając dynamiczne i wzajemnie powiązane interakcje między składnikami filmu łzowego [51], [52] (Rysunek 3). Dzięki zaawansowanym metodom obrazowania, takim jak OCT oraz interferometria, lepiej poznano strukturę filmu łzowego, wykazując, że jego grubość jest wyjątkowo niewielka – od 2 do 5,5 mikrometrów w zależności od analizowanego obszaru [53], [54], [55].



Rysunek 3 Struktura filmu łzowego. Źródło: S. Masoudi, „Biochemistry of human tear film...” [56]

2.4.1. Warstwa lipidowa filmu łzowego

Zewnętrzna warstwa filmu łzowego, czyli warstwa lipidowa, odgrywa kluczową rolę w stabilizacji filmu łzowego, ograniczaniu parowania i umożliwianiu równomiernego rozprowadzania łez na powierzchni oka [54], [57], [58], [59]. Pochodzi głównie z gruczołów Meiboma, które wydzielają meibum złożone zarówno z lipidów niepolarnych, jak i polarnych [60], [61]. Masa meibum jest zdominowana przez lipidy niepolarne,

zwłaszcza estry wosków (WE) oraz estry cholesterolu (CE), z mniejszym udziałem triacylogliceroli (TAG), wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) oraz śladowego cholesterolu wolnego [62], [63], [64]. Jednocześnie liczne opracowania podkreślają, że o właściwościach interfejsowych TFLL (warstwa lipidowa filmu łzowego, z ang. Tear Film Lipid Lauer) (rozpływność, obniżanie napięcia powierzchniowego, „sprężenie” z fazą wodno-mucynową) mogą w sposób nieproporcjonalnie duży decydować mniejszościowe frakcje amfifilowe oraz białka wiążące lipidy, zwłaszcza lipokalina łzowa [48], [65], [66]. Dokładniejszy opis poszczególnych lipidów w ludzkim filmie łzowym przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2 Wyszczególnienie lipidów występujących w ludzkim filmie łzowym, z uwzględnieniem ich źródeł oraz proponowanych funkcji

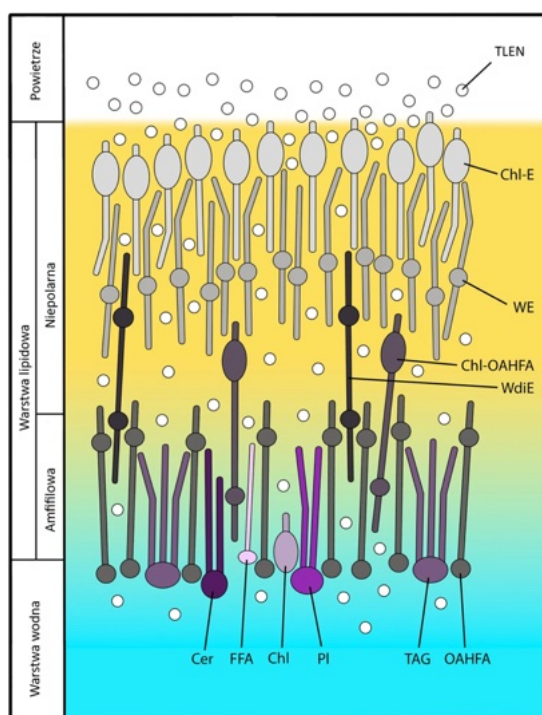
Klasa lipidów	Prawdopodobnie dominujące źródło(a)	Proponowane funkcje istotne dla TFLL
Estry wosków	Gruczoły Meiboma	Główny „masowy” składnik strukturalny TFLL; zapewniają barierę hydrofobową; wpływają na lepko-sprężystość i reorganizację po mrugnieniu; mogą uczestniczyć w tworzeniu domen skondensowanych/stałych, które wpływają na powstawanie defektów i drogi parowania [62], [64].
Estry cholesterolu	Gruczoły Meiboma	Składnik strukturalny „rdzenia”; mogą tworzyć wielowarstwy/lamelle w modelowych filmach; oddziałują z lipidami polarnymi (OAHFA/fosfolipidy) i mogą modulować stabilność mechaniczną podczas mrugania [63], [67].
Triacyloglicerole (TAGs) / diacyloglicerole	Gruczoły Meiboma (zmiennie)	Potencjalna rola „plastifikatora” wpływającego na topnienie i płynięcie (właściwości reologiczne); w niektórych kohortach mogą wzrastać w chorobie; ilościowe oznaczenia są zależne od metody [62], [63].
Wolny cholesterol	Niewielki udział w meibum	Potencjalnie moduluje upakowanie i zachowanie fazowe; w nowoczesnych analizach zwykle raportowany jako niski w porównaniu do estrów cholesterolu (CEs) [63].
Wolne kwasy tłuszczowe	Gruczoły Meiboma + produkty hydroлізу/utleniania	Mogą wpływać na aktywność powierzchniową oraz przesuwac parametry topnienia i upakowania lipidów [62].
(O-acyl)-ω-hydrok-sykwasy tłuszczowe (OAHFAs) i pokrewne	Gruczoły Meiboma; regulowane enzymatycznie	Potencjalnie amfifilowe „łączniki” między niepolarną TFLL a fazą wodno-mucynową; mogą ustanawiać gradient polarności i stabilizować architekturę TFLL; zaburzenia genetyczne produkcji OAHFA u myszy wywołują fenotypy podobne do zespołu suchego oka [65], [68].
Fosfolipidy	Kontrowersyjne: w niektórych badaniach stężenie niskie w meibum; mogą pochodzić z gruczołu łzowego/powierzchni oka lub być związane z białkami w łzach	Proponowana rola surfaktantu (rozpływność/obniżanie napięcia powierzchniowego) i stabilizacja interfejsu; mogą występować głównie jako frakcja związana z lipokaliną łzową, co utrudnia oznaczenia ilościowe oparte o ekstrakcję [48], [63], [66].
Sfingolipidy	Łzy/gruczoł łzowy/powierzchnia oka; w meibum zmiennie/nisko w części badań	Potencjalny wkład w mechanikę interfejsu, funkcję barierową i sygnalizację zapalną; zwykle niska obfitość i trudności analityczne [48], [63].

Mruganie narzuca cykliczną kompresję, rozciąganie i ścinanie TFLL, co wymusza szybkie przemieszczanie lipidów, „gojenie” ubytków (obszarów o mniejszym pokryciu lipidowym) oraz odtwarzanie jednorodnej warstwy po każdym mrugnieniu [48]. Z tego powodu stabilność filmu łzowego zależy nie tylko od zdolności ograniczania parowania, ale także od właściwości reologicznych TFLL (lepkość, elastyczność, napięcie powierzchniowe) i zdolności do szybkiej reorganizacji [48], [69]. Co istotne, część autorów podkreśla, że bezpośredni efekt „anty-parowaniowy” izolowanego meibum mierzony *in vitro*

bywa umiarkowany i silnie zależny od warunków doświadczenia, natomiast w warunkach *in vivo* TFLM może przede wszystkim zapobiegać przerwaniu filmu i ułatwiać jego rozprzeczanie [48], [69].

Przyjmuje się, że warstwa lipidowa składa się z dwóch części (Rysunek 4) [70], [71], [72], [73]:

- **warstwa lipidów niepolarnych:** najbardziej zewnętrzna, zawiera głównie estry wosków i estry cholesterolu; działa jako bariera hydrofobowa ograniczająca parowanie;
- **warstwa lipidów polarnych (amfifilowych):** przylegająca do warstwy wodnej, zawiera fosfolipidy, które oddziałują z białkami warstwy mucynowo-wodnej, wspomagając adhezję i rozprzeczanie się filmu łzowego.



Rysunek 4 Struktura prawidłowej warstwy lipidowej filmu łzowego wraz z wyróżnioną częścią polarną oraz niepolarną. filmu łzowego wraz z wyszczególnieniem zewnętrznej warstwy lipidowej. Chl-E (estry cholesterolu), WE (estry wosków), WdiE (diestrowe woski), Chl-OAHFA (estry cholesterolu (O-acyl)- ω -hydroksykwasów tłuszczowych), TAG (triacyloglicerole), PI (fosfolipidy), Chl (cholesterol), FFA (wolne kwasy tłuszczowe), Cer (ceramidy). Źródło: M. Yazdani, „Tear film lipid layer...” [74]

Grubość warstwy lipidowej filmu łzowego jest zmienna i wynosi od 15 do 157 nm, ze średnią wartością w zakresie 40–65 nm [75], [76], [77], [78], [79]. Na grubość warstwy lipidowej (LLT) wpływa wiele czynników, które zestawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Czynniki wpływające na grubość warstwy lipidowej (LLT)

Czynnik	Wpływ
zmniejszona częstość mrugania (np. przy pracy z ekranami)	zmniejsza LLT z powodu niepełnego rozprowadzenia meibum [80]
temperatura	wzrost temperatury zwiększa LLT [81]
wilgotność	niska wilgotność zwiększa parowanie łez, obniża LLT [81]
dysfunkcja gruczołów Meiboma (MGD)	obniżona produkcja lipidów, obniżenie LLT [48], [82]
wiek	zmniejsza LLT przez zanik gruczołów Meiboma [83]
leki (np. retinoidy)	upośledzają funkcję gruczołów Meiboma, zmniejszając LLT [82]
styl życia (np. palenie)	negatywnie wpływa na wydzielanie lipidów, redukując LLT [83]

2.4.2. Pomiar grubości warstwy lipidowej

Interferometria to powszechnie stosowana metoda optyczna służąca do pomiaru LLT. Technika ta wykorzystuje zjawisko interferencji w cienkiej warstwie (*thin-film interference*) – na granicach powietrze–lipidy oraz lipidy–faza wodna dochodzi do częściowego odbicia światła, a odbite składowe fale, które przebyły różne drogi optyczne, nakładają się na siebie, tworząc wzmocnienia i wygaszenia zależne od długości fali, grubości warstwy i geometrii obserwacji [84]. Ponieważ w urządzeniach klinicznych stosuje się zwykle oświetlenie białe (wielospektralne), różne długości fal interferują w różnym stopniu, a wynik obserwuje się jako charakterystyczną kolorystykę i wzory interferencyjne (np. siateczki, fale, obszary amorficzne, prążki barwne), które stanowią podstawę dalszej oceny LLT [84].

W obrazie interferencyjnym zmiany barw korelują z „optyczną grubością” warstwy: cienkie warstwy dają blade kolory (np. szary/niebieskawy), a grubsze – barwy bardziej nasycone (np. żółty, czerwony). Należy jednak podkreślić, że interferometria LLT, standardowo stosowana w badaniach klinicznych, nie mierzy bezpośrednio fizycznej, metrologicznej grubości warstwy lipidowej jako parametru geometrycznego. Jest to estymacja pośrednia: zarejestrowany sygnał barwny (oraz jego cechy) jest mapowany na przybliżone zakresy grubości w nanometrach lub na klasy wzorców interferencyjnych (np. według skali Guillon) [85]. Na relację „kolor → grubość” wpływają m.in.: (i) przyjęte współczynniki załamania dla lipidów i fazy wodnej, (ii) założenia co do jednorodności warstwy, (iii) kąt padania/obserwacji i polaryzacja światła, (iv) obecność dodatkowych cienkich warstw (zanieczyszczenia, kosmetyki, resztki preparatów) oraz (v) dynamika rozplywu i reorganizacji lipidów po mrugnieniu. W konsekwencji raportowany parametr LLT należy interpretować jako optycznie wyznaczaną „ekwiwalentną” grubość w danym układzie pomiarowym, a nie bezwzględną miarę masy lipidów lub ich składu biochemicznego.

Jedną z głównych zalet interferometrii jest jej nieinwazyjność, co pozwala na wielokrotne pomiary bez dyskomfortu dla pacjenta. Urządzenia takie jak IDRA® (SBM SYSTEMI, Włochy) i LipiView® (TearScience Inc., USA) wykorzystują zaawansowaną

interferometrię wysokiej rozdzielczości do automatycznego przeliczenia wzorów interferencyjnych na wartości grubości – zazwyczaj od 15 nm (cienka) do ponad 100 nm (gruba) [85]. Kluczowe jest przy tym to, że „wynik liczbowy” powstaje jako efekt algorytmu: system rejestruje sekwencję obrazów (często wideo), wyznacza obszar analizy (ROI), normalizuje parametry obrazu (np. ekspozycję/balans bieli), a następnie mapuje cechy barwno-teksturalne na klasę lub wartość LLT [85]. Podejścia oparte o automatyczną analizę cech barwy i tekstury były też opisywane w badaniach naukowych jako sposób ograniczenia subiektywności oceny klinicznej (np. automatyczna klasyfikacja wzorców według Guillon na podstawie analizy kolorystyczno-teksturalnej) [84], [86]. IDRA® łączy interferometrię z dodatkowymi funkcjami diagnostycznymi, takimi jak czas przzerwania filmu łzowego (z ang. *Tear Break-Up Time*, TBUT) i meibografia. Oprócz pomiarów LLT analizuje także jednolitość i wzory interferencyjne filmu łzowego [87]. W praktyce klinicznej istotne jest również, że LLT nie jest parametrem stałym w czasie: bezpośrednio po mrugnięciu dochodzi do rozplywu i reorganizacji warstwy lipidowej, a niejednorodności mogą przemieszczać się w trakcie interwału międzymrugowego, dlatego protokoły badania powinny standardyzować instrukcję mrugania i/lub okno czasowe analizy po mrugnięciu.

Interferometria może zapewniać powtarzalne i wiarygodne pomiary LLT. W badaniu z użyciem interferometru LipiView® uzyskano średnią LLT równą $53,53 \pm 14,59$ nm, z wysoką powtarzalnością (współczynnik powtarzalności: 16 nm dla tego samego obserwatora i 13 nm dla różnych) [88].

Cienkie warstwy lipidowe (<15 nm) wiążą się ze zwiększonym parowaniem łez, obniżoną stabilnością filmu łzowego i objawami zespołu suchego oka [89], podczas gdy grubsze warstwy (>80 nm) poprawiają stabilność filmu łzowego, ograniczają parowanie i zwiększają komfort widzenia [89], [90].

2.4.3. *Stabilność filmu łzowego i zaburzenia warstwy lipidowej*

Stabilność filmu łzowego, mierzona za pomocą TBUT, ulega pogorszeniu np. w wyniku noszenia soczewek kontaktowych. Cieńsze warstwy lipidowe wiążą się z krótszym TBUT, natomiast grubsze – ze zwiększoną stabilnością filmu łzowego [75], [77], [91], [92], [93]. Co więcej, soczewki twarde powodują silniejsze zakłócenia warstwy lipidowej niż miękkie [94].

Chociaż soczewki miękkie lepiej wspierają utworzenie przedsoczewkowej warstwy lipidowej, to jednak warstwa ta jest cieńsza i szybciej się rozpada niż przy naturalnym filmie

łzowym [94], [95], [96]. Dodatkowo, ogólne przerwanie filmu łzowego następuje szybciej na powierzchni soczewki niż na rogówce, co jeszcze bardziej podkreśla niestabilność wywołowaną przez soczewki [96], [97], [98].

3. Interakcje soczewka – powierzchnia oka

Podczas noszenia soczewki kontaktowe znajdują się w bezpośrednim i ciągłym kontakcie z przednim odcinkiem oka, co sprawia, że funkcjonują one w złożonym środowisku biologiczno-mechanicznym. Dochodzi wówczas do dynamicznych interakcji między powierzchnią oka a samą soczewką kontaktową. Z jednej strony, obecność soczewki wpływa na strukturę i stabilność filmu łzowego, powieki, gruczoły Meiboma oraz stan spojówki i rogówki. Z drugiej strony, właściwości fizykochemiczne i fizjologiczne powierzchni oka – takie jak skład łez, częstość mrugania, aktywność gruczołowa czy stan zdrowotny tkanek – wpływają na parametry i zachowanie soczewki w czasie noszenia, w tym na jej zwilżalność, ilość oraz typ osadów czy komfort użytkowania.

Zrozumienie wzajemnych oddziaływań między soczewką a strukturami powierzchni oka jest kluczowe dla zapewnienia komfortu, bezpieczeństwa i skuteczności korekcji wzroku. W kolejnych podrozdziałach omówione zostaną szczegółowo mechanizmy tych interakcji, ze szczególnym uwzględnieniem filmu łzowego oraz osadów, zwłaszcza lipidowych na soczewkach Si-Hy.

3.1. Wpływ soczewek na powierzchnię oka oraz film łzowy

Poniżej omówiony zostanie wpływ użytkowania soczewek kontaktowych na przedni odcinek oka. Nie będą tu omawiane zmiany patologiczne, tylko mechanizmy dotyczące interakcji z poszczególnymi strukturami, z ewentualnym wskazaniem do jakich patologii mogą one prowadzić.

3.1.1. Wpływ na rogówkę

Noszenie miękkich soczewek kontaktowych, w tym wykonanych z materiałów Si-Hy wiąże się z licznymi adaptacyjnymi zmianami fizjologicznymi w obrębie rogówki. Zmiany te, choć zazwyczaj nie są patologiczne, odzwierciedlają zdolność rogówki do przystosowania się do obecności ciała obcego na jej powierzchni. Poniżej zestawiono najważniejsze obserwowane efekty:

- Zmiany grubości rogówki
 - Ścieńczenie rogówki centralnej: Stałe noszenie soczewek o wysokim Dk prowadzi do istotnego zmniejszenia grubości centralnej części rogówki, co z kolei może powodować zmiany aberracji wyższego rzędu. Zjawisko to może utrzymywać się nawet po zaprzestaniu noszenia soczewek [99], [100].
 - Zmiany obwodowe: W obszarze obwodowym rogówki obserwuje się niewielkie pogrubienie lub brak istotnych zmian [99], [100], [101].
- Przebudowa nabłonka
 - Wielkość komórek nabłonkowych: W odpowiedzi na noszenie soczewek zwiększa się wielkość komórek nabłonkowych, przy czym soczewki o wyższej przepuszczalności dla tlenu w mniejszym stopniu zaburzają naturalny proces złuszczenia [102].
- Zmiany w unerwieniu rogówki
 - Gęstość nerwów podnabłonkowych: Długoterminowe stosowanie soczewek Si-Hy nie wpływa istotnie na gęstość nerwów podnabłonkowych ani na wrażliwość dotykową rogówki u osób rozpoczynających ich użytkowanie [103].
 - Czułość rogówki: Może dojść do niewielkiego spadku czułości po noszeniu soczewek o niskim współczynniku Dk/t, natomiast przy wysokim Dk/t czułość pozostaje stabilna [104].
- Wymiana gazowa i adaptacja metaboliczna
 - Dystrybucja tlenu: Przepuszczalność tlenu przez soczewkę istotnie wpływa na jego stężenie w rogówce, zwłaszcza w nabłonku. W warunkach otwartego oka procesy metaboliczne są zwykle utrzymywane, jednak w warunkach zamkniętego oka może dochodzić do przejścia na metabolizm beztlenowy [105].
 - Zmiany metaboliczne: Rogówka dostosowuje się do warunków względnej hipoksji związanej z noszeniem soczewek, modyfikując zużycie tlenu i szlaki metaboliczne, co ma kluczowe znaczenie dla utrzymania przezroczystości i zapobiegania obrzękowi [105], [106].

- Właściwości biomechaniczne
 - Wiskoelastyczność : Krótkoterminowe noszenie soczewek Si-Hy może prowadzić do wzrostu wiskoelastyczności rogówki, po czym – przy dłuższym użytkowaniu – obserwuje się ich stopniowy spadek. Zmiany te mogą występować z obniżeniem ciśnienia wewnątrzgałkowego (z ang. *Intraocular Pressure*, IOP) [107], [108].
 - Histereza rogówki: Parametr ten, opisujący właściwości lepko-sprężyste rogówki, zwiększa się w trakcie noszenia soczewek, co sugeruje adaptacyjną odpowiedź biomechaniczną [108].
- Przezroczystość i jednorodność optyczna
 - Przezroczystość rogówki: Krótkoterminowe użytkowanie soczewek Si-Hy może prowadzić do niewielkich zmian w przezroczystości i jednorodności optycznej rogówki, jednak zmiany te są klinicznie nieistotne [101].
- Morfologia komórek śródbłónka
 - Gęstość i morfologia komórek: Długotrwałe noszenie soczewek Si-Hy może powodować nieznaczne zmiany w gęstości komórek śródbłónka oraz w zakresie polimegatyizmu (zróżnicowania wielkości komórek). W niektórych badaniach odnotowano marginalne obniżenie gęstości komórkowej [109], [110], [111].

3.1.2. Wpływ na spojówkę

Podczas noszenia miękkich soczewek kontaktowych z materiałów Si-Hy, spojówka wykazuje dwie główne fizjologiczne reakcje adaptacyjne. Choć nie są one patologiczne, odzwierciedlają dynamiczną odpowiedź tkanki na obecność soczewki jako ciała obcego.

- Wrażliwość spojówki

Badania wykazały, że długotrwałe noszenie soczewek o niskim współczynniku Dk/t, a następnie przejście na soczewki Si-Hy o wysokim Dk/t, nie prowadzi do istotnych zmian w drażliwości spojówki [104]. Oznacza to, że spojówka zachowuje swoje funkcje sensoryczne, co świadczy o jej wysokiej zdolności adaptacyjnej.

- Przekrwienie spojówki

W grupie użytkowników długo stosujących tradycyjne Hy soczewki kontaktowe, dopasowanie nowych soczewek Si-Hy (przeznaczonych do noszenia dziennego) istotnie zmniejszyło zarówno przekrwienie spojówki gałkowej, jak i rąbkowej, zwłaszcza u osób z wyjściowo wyższym stopniem przekrwienia [112]. Wskazuje to na poprawę

fizjologicznego stanu spojówki po zastosowaniu nowoczesnych materiałów o lepszej przepuszczalności tlenu.

3.1.3. Wpływ na powiekę i mruganie

Można wyróżnić kilka kluczowych fizjologicznych zmian zachodzących w powiekach i mechanice mrugania człowieka podczas noszenia miękkich soczewek kontaktowych:

- Interakcje powieka – soczewka
 - Epitelopatia wycieraczkowa powieki (z ang. *lid wiper epitheliopathy*, LWE) to stan, w którym obszar tzw. „wycieraczki powiekowej” wykazuje barwienie (lizaminą) wskutek zwiększonego tarcia np. pomiędzy powieką a powierzchnią soczewki kontaktowej. Tarcie to nasila się w warunkach niewystarczającego nawilżenia, które może być spowodowane zespołem suchego oka lub niską zwilżalnością powierzchni soczewki [113], [114], [115]. LWE wiąże się z subklinicznym stanem zapalnym i częściej występuje u użytkowników soczewek zgłaszających objawy dyskomfortu [115].
 - Mechaniczna interakcja między powieką a soczewką może prowadzić do zmian w fizjologii powiek. Badania sugerują, że soczewki o niskim współczynniku tarcia mogą zmniejszać siły mechaniczne i poprawiać komfort noszenia [114], [116].
- Mikrourazy powierzchni oka
 - Siły mechaniczne działające podczas mrugania mogą powodować mikrourazy powierzchni oka, szczególnie w warunkach niestabilnego filmu łzowego lub zwiększonego tarcia między powieką a soczewką. Może to prowadzić do takich stanów jak LWE oraz fałdy spojówki równoległe do brzegu powieki (z ang. *Lid-Parallel Conjunctival Fold*, LIPCOF), które są wskaźnikiem zwiększonego stresu mechanicznego [114], [116].
- Cechy mrugania
 - W badaniach wykazano, że użytkowanie miękkich soczewek kontaktowych — zarówno Hy, jak i Si-Hy — może prowadzić do zwiększenia częstości mrugania. Dotyczy to zarówno osób dopiero rozpoczynających noszenie soczewek, jak i użytkowników z dłuższym stażem [117], [118], [119], [120], [121]. Zwiększona częstość mrugania może być odpowiedzią kompensacyjną na destabilizację filmu łzowego, zaburzenia widzenia lub subiektywne objawy suchości oka [117], [122], [123]. W jednym z badań

wykazano zależność między nasilonym subiektywnym uczuciem suchości a wyższą częstością mrugania [123].

- Wpływ rodzaju materiału soczewki kontaktowej na cechy mrugania pozostaje kwestią otwartą. Krótszy odstęp między mrugnięciami (z ang. *Inter-Blink Interval*, IBI) odnotowano po 10 minutach noszenia miękkich soczewek torycznych, przy czym różnice te nie były istotne statystycznie [124]. Inne badania wykazały, że podczas ekspozycji na niekorzystne warunki środowiskowe, użytkownicy soczewek Hy (etafilcon A) wykazywali wzrost częstości mrugania, natomiast u osób noszących soczewki Si-Hy (narafilecon A) nie zaobserwowano istotnych zmian [125]. Odmienne wyniki uzyskano w badaniu porównującym soczewki Si-Hy (comfilecon A) i Hy (omafilcon A), gdzie to użytkownicy soczewek Si-Hy mrugali częściej zarówno w warunkach standardowych, jak i niekorzystnych [126]. Autorzy sugerują, że wyższa częstość mrugania mogła wynikać z większego odwodnienia powierzchni soczewek Si-Hy i potrzeby częstszego „odświeżania” filmu łzowego, choć inne badania sugerują, że odwodnienie może być silniejsze w przypadku tradycyjnych Hy [127], [128]. Z kolei w badaniu porównującym soczewki hilafilecon B (Hy) i lotrafilecon B (Si-Hy) nie stwierdzono istotnych różnic w zmianie częstości mrugania po dwumiesięcznym noszeniu [119].
- Niepełne mruganie, czyli sytuacja, w której górna i dolna powieka nie stykają się całkowicie, ma istotne znaczenie kliniczne, ponieważ zwiększa ryzyko rozwoju zespołu suchego oka (z ang. *Dry Eye Disease*, DED), atrofii gruczołów Meiboma i pogorszenia stabilności filmu łzowego [129]. Problem ten może być szczególnie nasilony u pacjentów o niskiej częstości mrugania, np. intensywnie korzystających z urządzeń cyfrowych, co należy uwzględnić w procesie dopasowywania soczewek i ich późniejszej kontroli [80], [130].
- Noszenie miękkich soczewek kontaktowych, w tym Si-Hy, może także wpływać na dynamikę mrugania. Zaobserwowano, że soczewki tego typu mogą zwiększać prędkość fazy zamykania powieki oraz wydłużać całkowity czas trwania mrugnięcia w porównaniu do oka bez soczewki [131].

3.1.4. Wpływ na gruczoły Meiboma

Noszenie miękkich soczewek kontaktowych, również Si-Hy, wiąże się z wieloma adaptacyjnymi zmianami fizjologicznymi w obrębie tych gruczołów. Zmiany te dotyczą zarówno morfologii gruczołów, jak i jakości oraz ilości wydzielanego meibum, co może mieć bezpośredni wpływ na komfort noszenia soczewek oraz stabilność filmu łzowego.

- Morfologia gruczołów Meiboma
 - Utrata i zanik gruczołów: Noszenie miękkich soczewek wiąże się z istotnymi zmianami morfologicznymi w gruczołach Meiboma, w tym zwiększoną utratą gruczołów (tzw. „dropout”) oraz ich zanikiem. Badania wykazały, że osoby noszące soczewki mają większy procent utraty gruczołów Meiboma w porównaniu do osób nienoszących soczewek kontaktowych [132], [133], [134], [135]. Kluczowym czynnikiem jest czas noszenia soczewek – im dłuższy, tym większa utrata gruczołów [133], [134].
 - Długość i szerokość gruczołów: Zaobserwowano zmiany w długości i szerokości gruczołów. Osoby z dłuższym doświadczeniem w noszeniu soczewek wykazują bardziej wyraźne zmiany niż nowi użytkownicy [132].
- Jakość i ilość wydzieliny (meibum)
 - Jakość meibum: Jakość wydzieliny z gruczołów Meiboma jest często obniżona u użytkowników soczewek kontaktowych. Szczególnie soczewki o wyższym module sztywności są związane z gorszą jakością meibum [136]. Ponadto, osoby noszące soczewki mają zwykle nieprawidłowe wyniki oceny jakości wydzieliny, a zmiany te korelują z długością noszenia soczewek [137].
 - Ekspresja meibum: Wydolność gruczołów Meiboma (czyli zdolność do wydzielania meibum) jest zazwyczaj niższa u użytkowników soczewek, co świadczy o obniżonej funkcji gruczołów [134], [137].

3.1.5. Wpływ na film łzowy

Noszenie miękkich soczewek kontaktowych wiąże się z wieloma fizjologicznymi zmianami w obrębie filmu łzowego. Przede wszystkim soczewki dzielą film łzowy na przed- i pod-soczewkowy (z ang. *pre-lens tear film*, PLTF; *post-lens tear film*, PoLTF). Zmiany dotyczą zarówno struktury, jak i funkcji jego trzech warstw – lipidowej, wodnej i mucynowej – a także parametrów takich jak czas TBUT, jego stabilność, wysokość

menisku łzowego (TMH), LLT oraz jego dynamiki. W literaturze naukowej opisano zarówno skutki krótkotrwałego, jak i długotrwałego noszenia soczewek.

PLTF to warstwa filmu łzowego znajdująca się pomiędzy przednią powierzchnią soczewki kontaktowej a środowiskiem zewnętrznym. Odgrywa ona kluczową rolę w utrzymaniu jakości widzenia oraz komfortu użytkowania soczewek kontaktowych [138], [139], [140].

Stabilność PLTF jest niezbędna do zapobiegania objawom suchego oka i zapewnienia komfortu noszenia soczewek. Na stabilność wpływają takie czynniki jak parowanie łez, ich ścięczenie oraz zmiany w warstwie lipidowej. Materiał, z którego wykonana jest soczewka, ma istotne znaczenie – niektóre z nich umożliwiają stabilniejszy PLTF niż inne [138], [140], [141].

PoLTF to warstwa filmu łzowego pomiędzy tylną powierzchnią soczewki kontaktowej a rogówką. Ma ona zasadnicze znaczenie dla zdrowia rogówki i zapobiegania suchości oraz dyskomfortowi [53], [142].

PoLTF może stawać się hiperosmotyczny, szczególnie w przypadku soczewek o wysokiej dyfuzyjności soli, co może prowadzić do dyskomfortu. Zastosowanie soczewek o niskiej dyfuzyjności soli pozwala temu zapobiegać [143]. Grubość PoLTF pozostaje względnie stabilna podczas noszenia soczewek, choć może ulegać zmianom pod wpływem zamknięcia powiek lub stosowania kropli nawilżających [144], [145].

3.1.5.1. Wpływ na poszczególne warstwy filmu łzowego:

- Warstwa mucynowa
 - Interakcja z mucynami: Soczewki mogą wpływać na stężenie mucyn w filmie łzowym, co oddziałuje na jego stabilność i komfort noszenia. Mucyny mogą adsorbować się na powierzchni soczewki lub ulegać degradacji, zaburzając prawidłowe zwilżanie powierzchni oka [146], [147].
- Warstwa wodna
 - TMH: Soczewki mogą zmniejszać TMH, co wskazuje na obniżenie objętości warstwy wodnej i nasilenie objawów suchości [148], [149].
 - Osmolarność łez: Długoterminowe noszenie soczewek może prowadzić do wzrostu osmolarności filmu łzowego, choć zmiany te nie zawsze osiągają istotność statystyczną [150], [151]. Zwiększona osmolarność koreluje z występowaniem DED.

- Warstwa lipidowa
 - LLT: Noszenie soczewek prowadzi zazwyczaj do zmniejszenia grubości przedsoczewkowej warstwy lipidowej, co zwiększa parowanie łez i skraca TBUT, przyczyniając się do dyskomfortu i większej degradacji lipidów [94], [148].
 - Skład lipidowy: Zmienia się również skład biochemiczny warstwy lipidowej – obserwuje się różnice w zawartości estrów cholesterolu, wosków i fosfolipidów, co pogarsza stabilność filmu łzowego i może wywoływać objawy suchości oczu [94], [152].
 - TBUT: Noszenie soczewek zazwyczaj skraca TBUT, co świadczy o osłabionej stabilności filmu łzowego [94], [139], [151]. U osób z objawami dyskomfortu TBUT jest zazwyczaj krótszy niż u bezobjawowych użytkowników [139].
- Mediatory zapalne:
 - Stężenie mediatorów zapalnych w łzach może ulegać zmianom podczas noszenia soczewek, pod wpływem warunków środowiskowych i rodzaju soczewek. Na przykład niekorzystne warunki mogą powodować wzrost poziomu interleukiny (IL-6) i cytokin prozapalnych (TNF- α), przyczyniając się do dyskomfortu i stanu zapalnego [153], [154].

3.1.5.2. Skutki krótkoterminowe i długoterminowe

- Krótkoterminowe: Już po krótkim czasie noszenia soczewek obserwuje się redukcję LLT i TBUT, co może powodować subiektywny dyskomfort [94], [138].
- Długoterminowe: Dłuższe użytkowanie soczewek wiąże się z chronicznymi zmianami w osmolarności łez, składzie lipidowym i ogólnej stabilności filmu łzowego [148], [150], [151].

3.2. Wpływ użytkowania soczewek na ich właściwości:

Podczas noszenia soczewek kontaktowych zachodzą liczne zmiany wynikające z ich interakcji ze środowiskiem oka. Zmiany te można podzielić na fizyczne oraz biochemiczne. Ich charakter i zakres zależą od rodzaju materiału soczewki, warunków otoczenia oraz indywidualnych cech użytkownika. W tabeli 4 zebrano najważniejsze zmiany, które omówiono szerzej w dalszej części rozprawy.

Do najczęstszych zmian fizycznych należą odwodnienie soczewek, zmiana ich średnicy, krzywizny oraz chropowatości powierzchni, co może wpływać na dopasowanie i komfort noszenia. Biochemiczne interakcje to przede wszystkim występowanie osadów białkowych i lipidowych. Zmiany te mogą prowadzić do reakcji immunologicznych i stanu zapalnego powierzchni oka.

Ze względu na istotne znaczenie zawartości wody w soczewkach oraz osadów lipidowych, zagadnienia te zostaną szczegółowo omówione w kolejnych podrozdziałach niniejszej pracy.

Tabela 4 Zmiany zachodzące w soczewkach kontaktowych podczas noszenia

Parametr	Zmiana podczas noszenia	Wpływ
Zawartość wody	Zmniejsza się	Obniżona transmisja tlenu (soczewki Hy), problemy z dopasowaniem soczewki (zmiana krzywizny) [155]
Średnica	Zmniejsza się	Wpływa na dopasowanie i komfort [155]
Krzywizna	Zmniejsza się, dopasowuje się do rogówki	Zmiany zależne od materiału, wpływa na dopasowanie [156]
Chropowatość powierzchni	Wzrasta, zwłaszcza w soczewkach bez powłok powierzchniowych	Wpływa na interakcję z filmem łzowym [157]
Odkładanie lipidów/białek	Zależne od materiału	Możliwa reakcja immunologiczna, dyskomfort [147], [158]

3.2.1. Zmiana zawartości wody:

Jedną z istotnych zmian wpływających na komfort użytkowania i jakość widzenia w miękkich soczewkach kontaktowych jest dehydratacja, czyli utrata wody z materiału soczewki, potocznie nazywana wysychaniem soczewek. Można wyróżnić dwa typy dehydratacji: dzienną – krótkoterminową i odwracalną, oraz trwałą – związaną z trwałym pogorszeniem zdolności materiału do utrzymania oryginalnego EWC.

- Dzienna dehydratacja soczewek polega na odparowaniu wody z materiału soczewki podczas noszenia. Główne czynniki to czas noszenia, warunki środowiskowe oraz materiał. Badania wskazują, że konwencjonalne soczewki Hy, takie jak hioxifilcon A, szybko ulegają odwodnieniu, co prowadzi do znacznych zmian ich właściwości optycznych. Natomiast soczewki Si-Hy, takie jak asmofilcon A, charakteryzują się wolniejszym tempem odwodnienia, choć nie są wolne od tego zjawiska [159]. Inne badanie wykazało, że używane soczewki Si-Hy wykazują szybsze tempo początkowego odwodnienia w porównaniu z nowymi soczewkami, co wskazuje na utratę ich zdolności do zatrzymywania wody w miarę upływu czasu [160]. Dzienna dehydratacja zachodzi głównie poprzez odparowanie z przedniej powierzchni soczewki, co jest zależne m.in. od częstotliwości mrugania i jakości filmu łzowego [161].

- Długoterminowa dehydratacja to trwała, postępująca utrata zdolności soczewki do ponownego nawodnienia, nawet po przechowywaniu w optymalnych warunkach. Badania wykazały, że soczewki Hy po 28 dniach noszenia wykazują istotny spadek zawartości wody, mierzonej przed zakładaniem, co określono jako efekt „starzenia się soczewki” [162]. Ten proces przypisuje się „zmęczeniu” materiału, odkładaniu się składników filmu łzowego oraz chemicznym zmianom w strukturze soczewki ograniczającym jej zdolność do wiązania wody z każdym kolejnym cyklem użytkowania. Badania dotyczące soczewek Si-Hy wykazały, że noszone soczewki charakteryzują się spadkiem zawartości wody i zmiany w strukturze uwodnienia po długotrwałym noszeniu, prawdopodobnie z powodu osadów z filmu łzowego i zmian w zwilżalności powierzchni [163].
 - Czynniki wpływające na dehydratację
 - Materiał soczewki ma kluczowe znaczenie. Soczewki Si-Hy wykazują mniejszą podatność na odwodnienie niż konwencjonalne Hy z uwagi na niższą EWC [127], [163], [164], [165]. Niemniej jednak, nawet soczewki Si-Hy nie są całkowicie odporne na odwodnienie. W grupie materiałów Si-Hy lepsze parametry pod tym względem wykazują soczewki o wysokiej powierzchniowej zawartości wody (np. delefilcon A) [160], [166], [167].
 - Warunki środowiskowe, takie jak niska wilgotność i wysoka temperatura, również wpływają na tempo odwodnienia [168], [169].
 - Wpływ dehydratacji na dopasowanie i komfort
 - Dehydratacja prowadzi do zmian w geometrii i elastyczności soczewek, co może wpłynąć na dopasowanie do oka oraz wywoływać uczucie dyskomfortu. Soczewki szybciej wysychające mogą być mniej stabilne i bardziej ruchome na oku [161], [165]. Jednocześnie sucha soczewka staje się mniej komfortowa, co jest główną przyczyną rezygnacji z ich noszenia. Soczewki z obróbką powierzchni zwiększającą zwilżalność zapewniają zwykle lepszy komfort [170], [171], [172].
 - Metody oceny
- Do badania zmiany uwodnienia soczewek stosuje się różne techniki:
- Analiza grawimetryczna – pomiar zmian masy soczewki (masa soczewek uwodnionych vs. soczewek wysuszonych) [160], [173]

- Refraktometria – zmiany współczynnika załamania światła wskazujące na utratę wody [168], [174]
- Rezonans magnetyczny (NMR) – ocena rozmieszczenia wody w strukturze materiału [163]
- OCT – obrazowanie filmu łzowego i dopasowania soczewki [156]

4. Osady lipidowe na i wewnątrz soczewek kontaktowych Si-Hy:

Poniższy podrozdział stanowi rozwinięcie oraz aktualizację publikacji własnej: „Interaction of silicone hydrogel contact lenses with lipids – a chronological review” [175]. Obejmuje on zestawienie badań naukowych dotyczących oddziaływań pomiędzy lipidami filmu łzowego a powierzchnią soczewek Si-Hy, poszerzone o nowe doniesienia opublikowane w latach 2021–2025. Problem osadów lipidowych na i wewnątrz soczewek Si-Hy pozostaje jednym z kluczowych zagadnień wpływających na komfort użytkowania, jakość widzenia oraz bezpieczeństwo długotrwałego noszenia soczewek. Pomimo znaczących postępów w technologii materiałów Si-Hy oraz modyfikacjach powierzchniowych mających ograniczać ab- i adsorpcję lipidów, interakcje pomiędzy składnikami filmu łzowego a tymi materiałami oraz implikacje kliniczne nadal stanowią przedmiot dyskusji.

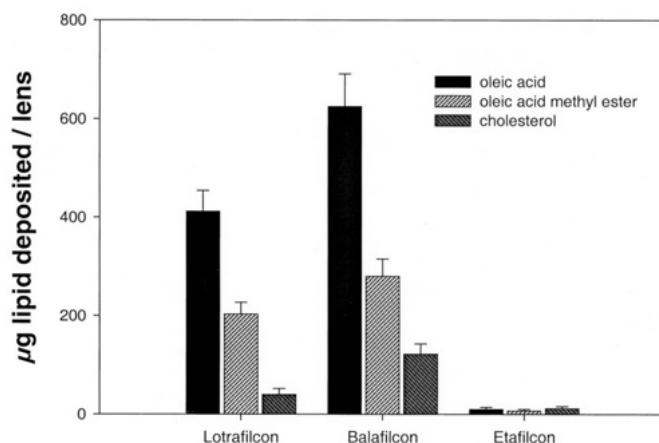
Wielokrotnie wykazano, że soczewki Si-Hy akumulują więcej lipidów niż soczewki Hy [158], [176]. Najczęściej identyfikowanymi lipidami są estry cholesterolu, cholesterol oraz trójglicerydy. Obecność tych złogów może prowadzić do zjawiska wysychania powierzchni soczewek i destabilizacji filmu łzowego [177], [178], [179], co w konsekwencji może powodować dyskomfort podczas noszenia soczewek, a nawet ich przedwczesne porzucanie[2]. W ramach poniższego przeglądu badania zostały uporządkowane chronologicznie i omówione z uwzględnieniem ich najważniejszych wniosków.

Najwcześniejsze dostępne badania dotyczące złogów lipidowych na soczewkach kontaktowych pochodzą z lat 70. XX wieku [180], [181], [182], [183] i 80. [184], [185], [186], [187], [188], [189], [190], [191], a następnie były kontynuowane i rozwijane w latach 90 [192], [193], [194], [195], [196], [197], [198], [199], [200], [201], [202], [203]. Dotyczyły one jednak wyłącznie soczewek Hy i prowadzono je zarówno *in vitro*, jak i *ex vivo*. Dopiero wraz z pojawieniem się soczewek Si-Hy na początku XXI wieku rozpoczęto systematyczne badania nad ich interakcją z lipidami, które stanowią główny temat tego podrozdziału.

• 2003

Pierwsza praca naukowa dotycząca osadów lipidowych na soczewkach Si-Hy została opublikowana przez Jonesa *i wsp.* Autorzy badali osady lizozymu i lipidów na używanych

przez pacjentów soczewkach Si-Hy (balafilcon A i lotrafilcon A) oraz na klasycznych soczewkach Hy (etafilcon A) [179]. Wyniki wykazały, że ilość i typ osadów zależą od materiału soczewki – na soczewkach Si-Hy stwierdzono istotnie większą ilość osadów lipidowych w porównaniu do jonowych soczewek Hy. Zaobserwowano również różnice między dwiema badanymi soczewkami Si-Hy, co przedstawia Rysunek 5. Autorzy sugerują, że te różnice mogą wynikać zarówno z właściwości materiału soczewek, jak i z modyfikacji ich powierzchni.



Rysunek 5 Ilość osadzonych lipidów (w µg/soczewkę) na Focus Night & Day (lotrafilcon), PureVision (balafilcon) oraz Acuvue (etafilcon). Ilość osadów lipidowych była istotnie zależna zarówno od materiału soczewek ($P < 0,001$), jak i klasy lipidów ($P < 0,001$). Źródło: L. Jones et al., "Lysozyme and Lipid Deposition..." [179]

- 2004

Kolejne badanie zespołu Jonesa koncentrowało się na optymalizacji procedury ekstrakcji osadów lipidowych z soczewek Si-Hy. Celem było znalezienie najlepszego roztworu ekstrakcyjnego do usuwania lipidów z materiałów soczewek balafilcon A i lotrafilcon A [204].

Po wcześniejszym zanurzeniu obu typów soczewek w specjalnym roztworze zawierającym lipidy (Lipid Doping Solution, zawierającym triolein, cholesterol oraz pochodne kwasu oleinowego) w 37°C, poddano je działaniu czterech różnych roztworów ekstrakcyjnych. Najskuteczniejszym okazał się roztwór chloroform:metanol w stosunku 2:1, który usuwał ponad 90% osadzonych lipidów z obu typów soczewek. Dodatkowo wykazano, że soczewki balafilcon A gromadzą istotnie więcej lipidów niż lotrafilcon A.

- 2006

Badanie Maziarz i wsp. wykorzystujące wysokowydajną chromatografię cieczową (HPLC) analizowało sorpcję lipidów — kwasu oleinowego, estru metylowego kwasu oleinowego i cholesterolu — przez dostępne wówczas soczewki Si-Hy [205]. Autorzy zastosowali dwie metody chromatografii cieczowej: HPLC-1 opracowaną przez Bausch&Lomb

oraz HPLC-2 stosowaną przez Jonesa *i wsp.* w poprzednim badaniu [179]. Główna różnica pomiędzy metodami dotyczyła składu fazy ruchomej i techniki przygotowania próbek.

Badaniem objęto soczewki noszone w trybie ciągłym i dziennym przez bezobjawowych użytkowników. Wyniki wskazały, że cholesterol jest najczęściej sorbowanym lipidem w analizowanych soczewkach. Autorzy zasugerowali, że sorbowany cholesterol może nie być usuwany przez płyny czyszczące. Co więcej, ilości lipidów sorbowanych przez soczewki balafilcon A noszone w trybie ciągłym znacząco różniły się od wyników wcześniejszych badań, co doprowadziło do wniosku, że hipotezy dotyczące Si-Hy oparte na wcześniejszych danych lipidowych należy ponownie rozważyć.

W kolejnym artykule Jones *i wsp.* opisali wpływ modyfikacji powierzchni, zwilżalności i modułu soczewek Si-Hy [206]. Podkreślili, że stopień odkładania się lipidów na materiałach Si-Hy jest silnie zależny od indywidualnych cech pacjenta. Zarekomendowali fizyczne pocieranie soczewek podczas czyszczenia, aby skutecznie usunąć trwale związane lipidy i zdenaturowane białka, które mogą się osadzać na niektórych materiałach Si-Hy w przypadku niektórych pacjentów.

- 2007

Badanie Cheung *i wsp.* opublikowano jako porównanie kliniczne soczewek Si-Hy (Acuvue Advance) oraz Hy (Acuvue). Jednym z ocenianych parametrów była ilość osadów, oceniana za pomocą skali punktowej [176]. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w ogólnej ilości osadów pomiędzy tymi dwoma typami soczewek. Zauważono jednak, że w przypadku Acuvue Advance częściej występowały cięższe osady lipidowe (3. i 4. stopień w skali oceny): 13,8% podczas pierwszej wizyty kontrolnej oraz 23,4% podczas drugiej. Autorzy podkreślili, że osady te można łatwo usunąć poprzez pocieranie soczewki podczas procesu czyszczenia.

W tym samym roku Lorentz *i wsp.* opublikowali pracę, w której opisano wpływ lipidów na kąt zwilżania powierzchni soczewek [207]. Badanie obejmowało zarówno soczewki Si-Hy (5 materiałów) jak i Hy (4 materiały). Soczewki inkubowano w dwóch różnych roztworach ATS zawierających: cholesterol, cholesteryl oleinian, kwas oleinowy, ester metylowy kwasu oleinowego i trioleinę, w niskim i wysokim stężeniu lipidów. Wyniki porównano z soczewkami zanurzonymi w roztworze buforowanej soli fizjologicznej (z ang. *Phosphate-Buffered Saline* PBS).

Pomiar kąta zwilżania metodą kropli osiadającej wykazał, że ekspozycja na lipidy może poprawiać zwilżalność niektórych materiałów Si-Hy i Hy, szczególnie w przypadku materiałów Si-Hy z obróbką powierzchniową. Autorzy zasugerowali, że może to tłumaczyć

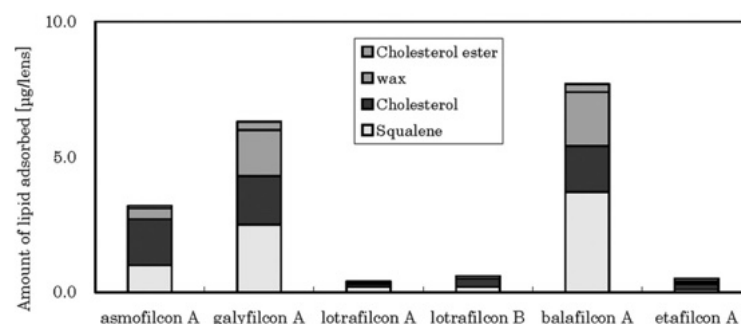
poprawę komfortu użytkowania soczewek u niektórych osób po kilku godzinach lub dniach od ich założenia.

- 2008

Badanie Lira *i wsp.* wykorzystało mikroskopię sił atomowych (z ang. *Atomic Force Microscope*, AFM) do porównania powierzchni soczewek Si-Hy: balafilcon A, lotrafilcon B (z modyfikacją powierzchni) oraz galyfilcon A (bez modyfikacji powierzchni), przed i po noszeniu przez pacjentów [157]. Celem było określenie, jak i gdzie białka, lipidy i inne zanieczyszczenia wpływają na powierzchnię soczewek. Balafilcon A i galyfilcon A wykazały znaczny wzrost chropowatości powierzchni po noszeniu, natomiast w przypadku lotrafilcon B nie zaobserwowano istotnych zmian. Autorzy zasugerowali, że modyfikacje powierzchni mogą odgrywać kluczową rolę w ochronie przed zmianami chropowatości i poprawiać tolerancję kliniczną soczewek.

Iwata *i wsp.* opublikowali badanie nad nową metodą oznaczania lipidów adsorbowanych na soczewkach Si-Hy – chromatografią gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (GC/MS) i [208]. Badanie przeprowadzono w modelu *in vitro*, w którym soczewki inkubowano w ATS zawierającym lipidy meibomianowe (cholesterol, estry cholesterolu, woski, skwalen) oraz białka. Nowa metoda wykazała wysoką powtarzalność, specyficzność, liniowość, niski próg wykrywalności oraz dobrą skuteczność oznaczeń. Badano adsorpcję lipidów *in vitro* na pięciu soczewkach Si-Hy oraz jednej Hy. Ilość lipidów adsorbowanych na soczewkach wynosiła od 0,4 do 7,6 µg/soczewkę, a kolejność pod względem ilości osadów była następująca: lotrafilcon A $\approx$ lotrafilcon B $\approx$ etafilcon A < asmoofilcon A < galyfilcon A $\approx$ balafilcon A (Rysunek 6).

Autorzy zauważyli, że różnice w ilości adsorbowanych lipidów mogą wynikać ze składu lipidowego oraz właściwości powierzchniowych soczewek. W badaniu po raz pierwszy uwzględniono także lipidy inne niż te pochodzące z filmu łzowego, np. skwalen, który jest wydzielany przez gruczoły łojowe na dłoniach i może osiadać na soczewkach po kontakcie z palcami. Skwalen wykazał dużą łatwość osadzania się na soczewkach, natomiast cholesterol łatwo wnikał do wnętrza materiału soczewek.



Rysunek 6 Ilość lipidów zaadsorbowanych *in vitro* na powierzchni soczewek kontaktowych oznaczona metodą GC/MS. Badaniu poddano: asmoofilcon A, galyfilcon A, lotrafilcon A, lotrafilcon B, balafilcon A oraz etafilcon A. Uwzględnione lipidy to: estry cholesterolu, woski, cholesterol i skwalen. Źródło: M. Iwata i wsp. "In vitro evaluation of lipids..." [208]

Carney i wsp. przeprowadzili badanie *in vitro* dotyczące adsorpcji głównych lipidów filmu łzowego na różnych materiałach Si-Hy w czasie [209]. Badano 5 materiałów Si-Hy i 1 materiał Hy, używając fluorescencyjnie znakowanego cholesterolu – lipid niepolarny oraz fosfatydyloetanoloaminy – lipid polarny, zawartych w PBS. Po inkubacji w roztworze lipidowym, analizowano fluorescencję i przeliczano stężenie lipidów.

Wyniki wykazały, że adsorpcja cholesterolu była większa niż fosfatydyloetanoloaminy dla wszystkich typów soczewek. Po 20 dniach inkubacji w fosfatydyloetanoloaminie, lotrafilcon A i B wykazały najniższą adsorpcję fosfatydyloetanoloaminy (0,4–1,5 µg/soczewkę), natomiast galyfilcon A i senofilcon A miały znacznie wyższą adsorpcję (odpowiednio 5,1 i 4,9 µg/soczewkę). W odniesieniu do cholesterolu, senofilcon A i balafilcon A miały najwyższe powinowactwo (odpowiednio 23,2 i 24,1 µg/soczewkę), natomiast lotrafilcon B wykazał najniższą adsorpcję (3 µg/soczewkę).

Interesującym wnioskiem było to, że ilość osadów w tym badaniu była 10-krotnie mniejsza niż w badaniu Jonesa i wsp. [179]. Autorzy zasugerowali, że różnice między badaniami *in vitro* i *ex vivo* mogą wynikać z interakcji białek i lipidów oraz z cykli wysychania i nawilżania soczewek w czasie noszenia. Co ciekawe, zachowanie soczewek Si-Hy nie zawsze odpowiadało ich klasyfikacji wg FDA, co sugeruje złożoność mechanizmów osadzania lipidów [209].

- 2009

W kolejnym roku opublikowano dwa badania dotyczące osadów na soczewkach oraz produktów do ich pielęgnacji. Ngo i wsp. badali wpływ białek, lipidów oraz materiałów soczewek na kinetykę neutralizacji w systemie jednofazowej dezynfekcji nadtlutlenkiem wodoru [210]. Po dodaniu białek (albuminy surowicy bydlęcej i lizozymu) oraz różnych lipidów (triolein, sterol (cholesterol), kwas oleinowy, ester metylowy kwasu oleinowego, oleinian cholesterolu) do pojemników na soczewki w fazie neutralizacji, sprawdzono, jak te

czynniki wpływają na szybkość neutralizacji. Okazało się, że ani obecność białek, ani lipidów, ani rodzaj materiału soczewki nie mają wpływu na szybkość neutralizacji w systemach opartych na nadtlenu wodoru.

Drugie badanie, autorstwa Zhao *i wsp.*, koncentrowało się na ilościowym oznaczaniu białek i cholesterolu ekstrahowanych z użytkowanych przez pacjentów soczewek Si-Hy [211]. Badacze chcieli również określić wpływ różnych płynów do pielęgnacji soczewek na gromadzenie się osadów. W tym celu zastosowano cztery typy soczewek (lotrafilcon B, balafilcon A, galyfilcon A i senofilcon A) oraz cztery roztwory do pielęgnacji (ClearCare, Opti-Free Express, Opti-Free RepleniSH i AQuify), a do oznaczania lipidów użyto chromatografii cienkowarstwowej, natomiast do oznaczania białek – standardowych metod ilościowych. Autorzy stwierdzili, że:

- Soczewki balafilcon A zawierały największą ilość cholesterolu i całkowitego białka.
- AQuify był najskuteczniejszym płynem w redukowaniu ilości ekstrahowanych osadów, zwłaszcza białek z soczewek balafilcon A.
- Płyny AQuify i Opti-Free RepleniSH najskuteczniej redukowały ilość ekstrahowanego cholesterolu odpowiednio z soczewek senofilcon A i galyfilcon A.
- Zastosowanie roztworu Opti-Free Express skutkowało największą ilością ekstrahowanych białek z soczewek lotrafilcon B w porównaniu z innymi roztworami.
- Soczewki lotrafilcon B, senofilcon A i galyfilcon A gromadziły stosunkowo niewielkie ilości białek.
- Soczewki lotrafilcon B wykazywały najmniejsze nagromadzenie cholesterolu spośród wszystkich badanych materiałów, niezależnie od zastosowanego płynu.

Autorzy zasugerowali, że polimer (materiał) soczewki oraz jej właściwości powierzchniowe mogą mieć istotny wpływ na ilość gromadzonych osadów, a także że skuteczność płynów do pielęgnacji soczewek w redukcji nagromadzenia białek i lipidów może się znacznie różnić w zależności od rodzaju soczewek.

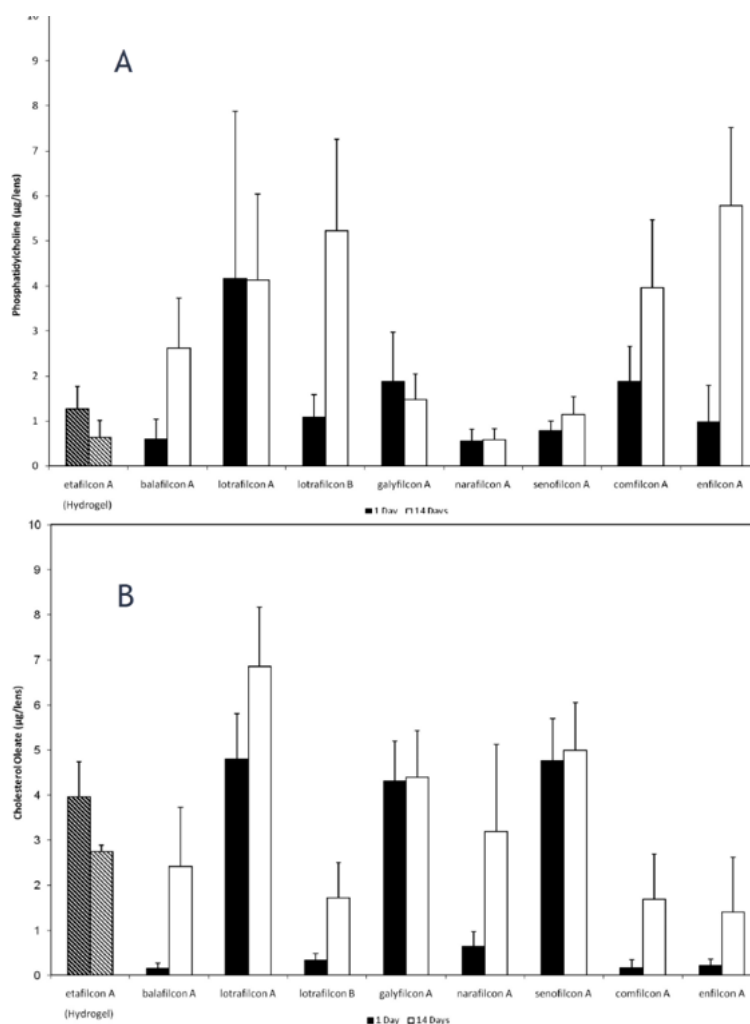
• 2010

Svitova *i wsp.* badali wpływ lizozymu oraz wielofunkcyjnych płynów do pielęgnacji soczewek zawierających surfaktanty (z ang. *Multi-Purpose Solution*, MPS) na reologię międzyfazową lipidów i mieszanin filmów lipidowo-białkowych [212]. Chociaż badanie to nie dotyczyło bezpośrednio osadów na soczewkach, wyniki wykazały, że grube warstwy lipidów łożowych pobranych *ex vivo* (z użytkowanych soczewek lotrafilcon A)

charakteryzowały się niższym napięciem powierzchniowym niż wcześniej opisywane w literaturze lipidy pochodzące z gruczołów Meiboma. Ponadto, interakcja lipidów z lizozymem zmieniała właściwości reologiczne tych filmów. Co więcej, płyny do pielęgnacji, takie jak Opti-Free Express oraz Opti-Free RepleniSH, w różnym stopniu wpływały na właściwości reologiczne mieszanin lipidowo-białkowych.

W tym samym roku Pucker *i wsp.* opublikowali wyniki badania, którego celem było opracowanie enzymatycznej metody ilościowego oznaczania cholesterolu i jego estrów pozyskanych z soczewek kontaktowych – zarówno w warunkach *in vitro* (inkubacja soczewek w roztworach cholesterolu oleinianu), jak i *ex vivo*. Badano dwa materiały soczewek: lotrafilcon B oraz galyfilcon A. Soczewki były dwukrotnie ekstrahowane za pomocą roztworu chloroformu i metanolu w stosunku 2:1, po czym ilość osadów lipidowych oznaczano przy użyciu reakcji enzymatycznej z udziałem esterazy cholesterolu. Zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *ex vivo*, wykazano, że materiał galyfilcon A gromadził więcej lipidów niż lotrafilcon B. W podsumowaniu autorzy zasugerowali, że nowa metoda stanowi wydajne i proste narzędzie do oznaczania całkowitej ilości cholesterolu wyekstrahowanego z soczewek Si-Hy, a potencjalnie również z filmu łzowego lub wydzieliny gruczołów Meiboma. Podkreślono również, że niektóre materiały Si-Hy mają większe powinowactwo do cholesterolu i jego estrów niż inne [213].

Ci sami autorzy opublikowali w tym samym roku drugą pracę, której celem było poznanie zdolności różnych materiałów miękkich soczewek kontaktowych do adsorpcji typowych lipidów występujących w filmie łzowym. Badano 9 nienoszonych typów soczewek z różnych polimerów, które moczone przez 1 lub 14 dni w roztworach cholesterolu oleinianu lub fosfatydylocholiny. Wyniki tego badania (Rysunek 7) znacząco różniły się od wyników uzyskanych przez Iwatę [208] i Carney’a [209]. Autorzy zasugerowali, że przyczyną mogą być różnice w metodach badawczych, rodzajach zastosowanych lipidów niepolarnych (cholesterol vs. cholesterol oleinian), polarnych oraz metodach analizy. W podsumowaniu autorzy poinformowali, że zarówno Hy, jak i większość soczewek Si-Hy adsorbują lipidy stosunkowo szybko (tj. w ciągu pierwszej doby). Choć odnotowano różnice w ilości odzyskanych lipidów między poszczególnymi materiałami, nie było jasne, czy mają one jakiegokolwiek kliniczne znaczenie [18].



Rysunek 7 Średnia ilość fosfolipidów (A) oraz cholesterolu oleinianu (B) (mikrogramy na soczewkę) odzyskana z różnych próbek soczewek kontaktowych przypisanych do grup inkubowanych przez 1 i 14 dni. Słupki kreskowane: materiały Hy. Źródło: A.D. Pucker i wsp. "In vitro Lipid Deposition..."[18]

Inne badanie opublikowane w 2010 roku przez Nash *i wsp.* dotyczyło charakterystyki osadów białkowych i lipidowych na różnych soczewkach Si-Hy. Badanie przeprowadzono w modelu *ex vivo*, analizując soczewki noszone przez pacjentów w trybie dziennym. W odniesieniu do osadów lipidowych wykazano, że ilość sorbowanych lipidów była znacznie mniejsza w przypadku soczewek lotrafilcon A i B w porównaniu do innych materiałów Si-Hy. Autorzy zasugerowali, że nie wszystkie soczewki Si-Hy mają podobne powinowactwo do sorpcji białek i niepolarnych lipidów (całkowity cholesterol). Właściwości powierzchniowe, takie jak jonowość, mogą odgrywać istotną rolę w odporności tych materiałów na osady w trakcie użytkowania [214].

Kolejna publikacja z 2010 roku, autorstwa Saville *i wsp.*, opisywała badanie nad osadzaniem się fosfolipidów i cholesterolu z łez na użytkowanych soczewkach oraz wpływ materiału soczewki i płynu do pielęgnacji [215]. W badaniu wykorzystano dwa materiały soczewek Si-Hy (senofilcon A i balafilcon A) oraz trzy rodzaje płynów pielęgnacyjnych.

Po ekstrakcji lipidów roztworem chloroformu i metanolu (2:1) oraz przepłukaniu ekstraktu octanem amonu, analizę lipidów przeprowadzono metodą spektrometrii mas z jonizacją elektrosprejową (ESI-MS/MS). Wykazano, że profil molekularny fosfolipidów osadzonych na użytkowanych soczewkach jest zbliżony do tego występującego we łzach. Co więcej, skład materiału soczewki znacząco wpływał na ilość zdeponowanych lipidów polarnych i niepolarnych. Wykazano również różnice w skuteczności usuwania fosfatydylocholiny i sfingomieliny przez różne płyny pielęgnacyjne.

Ostatnie badanie z tego roku, autorstwa Zhao *i wsp.*, opisywało zależności między objawami klinicznymi podczas noszenia soczewek a ilością białek i cholesterolu odzyskanych z soczewek po ich noszeniu. Badanie to stanowi kontynuację publikacji tych samych autorów z 2009 roku [211] i opiera się na tej samej metodzie analizy osadów białkowych i cholesterolowych na użytkowanych soczewkach. Badacze analizowali zależność między ilością osadów a takimi parametrami, jak: barwienie rogówki/spojówki, zwilżalność przedniej powierzchni soczewki oraz ciasność dopasowania soczewek. Zbadano *ex vivo* cztery rodzaje soczewek Si-Hy (senofilcon A, balafilcon A, galyfilcon A, lotrafilcon B), które były codziennie noszone przez pacjentów w trybie dwutygodniowym lub miesięcznym, przy użyciu czterech płynów do pielęgnacji (ClearCare, Aquify, Opti-Free Express, Opti-Free RepleniSH). Wyniki sugerują, że osady cholesterolowe nie mają prawdopodobnie istotnego znaczenia fizjologicznego. Natomiast osady białkowe mogą mieć większy wpływ na zachowanie się soczewek na oku. Ogólnie rzecz biorąc, korelacje były słabe i mogą nie wskazywać na istotną przyczynową odpowiedź fizjologiczną [216].

- 2011

Walther *i wsp.* zaprezentowali podczas konferencji British Contact Lens Association (BCLA) poster przedstawiający wyniki badania dotyczącego wpływu stężenia lipidów *in vitro* na ich osadzanie się na materiałach soczewek kontaktowych Si-Hy i konwencjonalnych Hy. Po inkubacji 4 rodzajów soczewek Si-Hy i 2 soczewek Hy w ATS zawierającym główne białka występujące we łzach, sole oraz 0,5×, 1× lub 2× typowego ludzkiego stężenie wybranych lipidów, przy czym każdy roztwór zawierał jeden radioznakowany lipid: ¹⁴C-cholesterol, ¹⁴C-trioleinę lub ¹⁴C-fosfatydylocholinę, wykazano, że zwiększające się stężenie lipidów prowadziło do wzrostu ilości osadów cholesterolu i fosfatydylocholiny. Reguła ta nie dotyczyła jednak trioleiny. Na podstawie tych wyników autorzy zasugerowali, że pacjenci z podwyższonym poziomem niektórych lipidów w filmie łzowym, np. występującym w przebiegu dysfunkcji gruczołów Meiboma, mogą wykazywać zwiększone

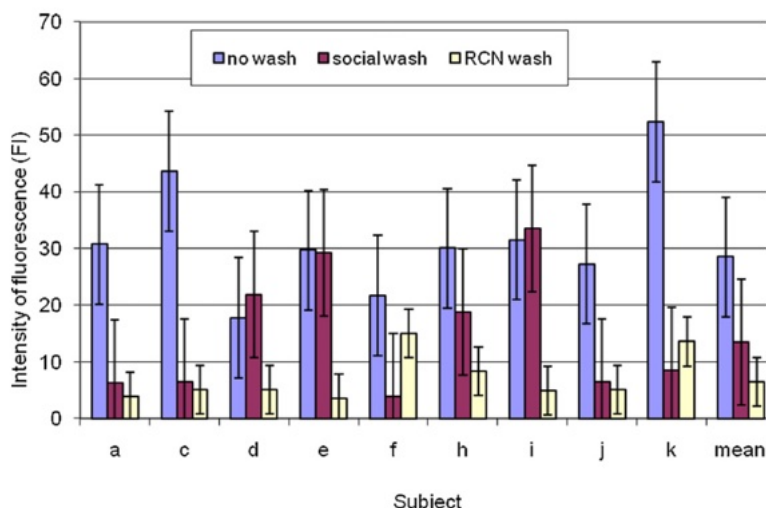
osadzanie się lipidów na soczewkach, co może prowadzić do pogorszenia widzenia lub spadku komfortu pod koniec dnia [217].

Inne badanie, opublikowane w tym samym czasie przez Lorentz *i wsp.*, koncentrowało się na opracowaniu fizjologicznie relewantnego ATS, zawierającego pełen zakres składników filmu łzowego w złożonym roztworze soli, odpowiedniego do oceny parametrów soczewek kontaktowych i osadzania się lipidów po inkubacji soczewek w takim roztworze [218]. W badaniu zastosowano ATS zawierający lipidy filmu łzowego (triolein, cholesterol, kwas oleinowy, ester metylowy kwasu oleinowego, oleinian cholesterolu oraz fosfatydylocholinę), białka (lizozym, albuminę surowicy bydlęcej, laktoferynę, immunoglobulinę G), mucynę, a także złożony bufor solny obejmujący NaCl, KCl, $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, Na_2HPO_4 , KHCO_3 , Na_2CO_3 , CaCl_2 , glukozę i mocznik, o pH $\sim 7,4$ i osmolalności ~ 305 mOsm/kg. Ostateczna wersja ATS została przetestowana pod kątem zdolności do powodowania osadów lipidowych na materiałach soczewek Hy i Si-Hy. Testowano osady cholesterolu i fosfatydylocholiny na soczewkach z materiałów omafilcon A (Hy) oraz balafilcon A (Si-Hy). Wyniki wykazały, że po inkubacji w ATS soczewki balafilcon A gromadziły istotnie więcej cholesterolu i fosfatydylocholiny niż soczewki omafilcon A ($p < 0,05$). Ponadto usunięcie laktoferyny i immunoglobuliny G z roztworu ATS znacząco zmniejszało ilość zdeponowanych lipidów. W podsumowaniu autorzy stwierdzili, że opracowany roztwór ATS był stabilny, nie wpływał negatywnie na parametry fizyczne miękkich soczewek kontaktowych inkubowanych w nim, a ilość osadów lipidowych była wrażliwa na zmiany w jego składzie.

W badaniu opublikowanym przez Heynen *i wsp.* badano ilość niepolarnych lipidów osadzających się na soczewkach Si-Hy senofilcon A dezynfekowanych przy użyciu systemu jednofazowego bez pocierania opartego na nadtlenu wodoru (ClearCare) oraz systemu pielęgnacyjnego konserwowanego za pomocą podwójnego systemu dezynfekującego Polyquad i Aldox (OPTI-FREE RepleniSH) [219]. W badaniu *ex vivo* wykazano, że wśród użytkowników soczewek kontaktowych z DED, system pielęgnacyjny z konserwantami Polyquad i Aldox usuwał więcej cholesterol oleinianu z soczewek senofilcon A stosowanych przez 2 tygodnie niż system nadtlenkowy.

Kolejne badanie z 2011 roku, opublikowane przez Campbella, analizowało wpływ schematów mycia rąk na przenoszenie lipidów na soczewki kontaktowe [220]. Autorzy porównali tzw. „mycie społeczne”, standard Royal College of Nursing (RCN) oraz brak mycia rąk (jako grupa kontrolna, tylko transfer lipidów z rąk – bez użycia soczewek), analizując transfer lipidów z rąk metodą chromatografii cienkowarstwowej oraz transfer lipidów na soczewkę metodą spektroskopii fluorescencyjnej. Badanie wykazało, że metoda

RCN skutkowała najmniejszym przeniesieniem lipidów w obu przypadkach (Rysunek 8). W związku z tym autorzy zasugerowali, że schemat mycia rąk dla użytkowników soczewek kontaktowych powinien zostać ustandaryzowany, by ograniczyć potencjalny transfer lipidów z rąk.



Rysunek 8 Intensywność fluorescencji (FI) lipidów skórnych na soczewkach kontaktowych po braku mycia rąk, myciu społecznym i myciu według RCN. Źródło: D. Campbell i wsp. "The significance of hand wash..." [220]

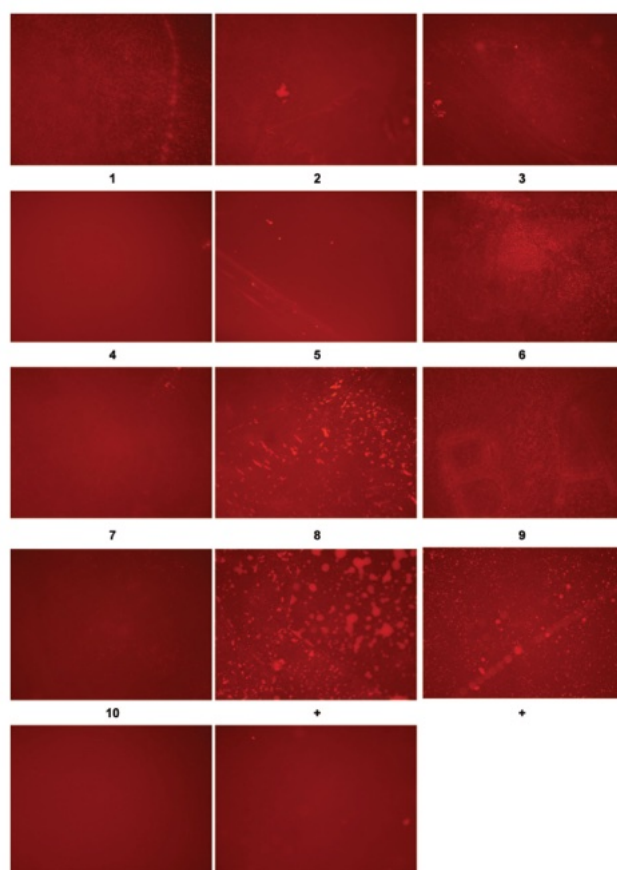
Omali i wsp. badali wpływ osadów cholesterolowych na adhezję bakterii do soczewek kontaktowych Si-Hy [221]. W pierwszej części badania analizowano osady lipidowe z użytkowanych soczewek (balafilcon A i senofilcon A) metodą chromatografii cienkowarstwowej i wykazano, że soczewki te absorbują cholesterol. Następnie moczo nową soczewkę w roztworze cholesterolu w PBS i mierzono liczbę szczepów *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Staphylococcus aureus* przylegających do ich powierzchni. Dodatkowo, badano wpływ cholesterolu na wzrost bakterii przez ich inkubację w roztworze zawierającym ten lipid. Wyniki sugerują, że cholesterol nie wpływa na adhezję bakterii do powierzchni soczewek.

Celem badania opublikowanego przez Pitt i wsp. było sprawdzenie możliwości załadowania fosfolipidu do soczewek kontaktowych w celu jego kontrolowanego uwalniania do oka [222]. Soczewki ładowano roztworem 0,15% (w/v) 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DMPC) w n-propanolu, a elucję prowadzono w sztucznym płynie łzowym ATF zawierającym białka (lizozym, laktoferynę, albuminę, mucynę, lipokalinę/β-laktoglobulinę), lipidy (cholesterol skompleksowany z β-cyklodekstryną, oleinian cholesterolu, fosfatydyloetanoloaminę i fosfatydylocholinę) oraz bufor fosforanowy z NaCl (pH ~7,5). Do soczewek wprowadzono 33 μg DMPC (1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-fosfocholiny). Średnio niemal 1 μg DMPC zostało uwolnione do ATS w ciągu pierwszych 10 godzin. Co więcej, tempo uwalniania w ATS było około pięciokrotnie wyższe niż w wodzie. Autorzy

zasugerowali, że tego typu technologia soczewek może mieć potencjał do dostarczania fosfolipidów w celu wspomagania leczenia suchości oczu związanej z noszeniem soczewek poprzez stabilizację warstwy lipidowej.

- 2012

Pucker *i wsp.* opublikowali badanie dotyczące obrazowania osadów lipidowych na soczewkach Si-Hy [223]. Zbadali zdolność barwników Nile Red i Oil Red O do wykrywania lipidów filmu łzowego zdeponowanych na soczewkach Si-Hy. Analizowali zarówno soczewki *ex vivo* jak i *in vitro* – inkubowane w roztworach zawierających oleinian cholesterolu przygotowanych w 0,10 M buforze fosforanowym (pH 7,0) z dodatkiem monoeteru monododecyłowego nonaetylenoglikolu jako solubilizatora, przy czym stosowano zakres stężeń 0–5,6 mg/mL, oliwę z oliwek (0,10 g/mL) jako kontrolę dodatnią. Stwierdzili, że oba barwniki są skuteczne w wykrywaniu lipidów na miękkich soczewkach kontaktowych. Przykład barwienia pokazano na Rysunku 9. Oil Red O został opisany jako lepszy barwnik do soczewek Si-Hy, ponieważ zapewnia wyższy stosunek sygnału do szumu.



Rysunek 9 Użytkowane przez ludzi soczewki lotrafilcon A zabarwione barwnikiem Oil Red O. Liczby oznaczają badanych uczestników. Znaki plus (+) oznaczają soczewki inkubowane w 0,10 g/ml oliwy z oliwek. Znaki minus (–) oznaczają soczewki inkubowane w 0,10 mg/ml roztworze oleinianu cholesterolu. Źródło: A.D. Pucker i J.J. Nichols, “A method of imaging lipids...” [223]

Vishnubhatla *i wsp.* opublikowali badanie dotyczące wpływu noszenia soczewek, skwalenu i wosku na szybkość parowania przez soczewki kontaktowe [224]. W badaniu stosowano buforowaną sól fizjologiczną (pH 7,2; bez Ca^{2+} i Mg^{2+}), emulsję woskową przygotowaną z oleinianu oleilu (10 mg/mL) w buforze, czysty skwaleń do infuzji soczewek oraz preparat DuraSite® zawierający polikarbofil, wersenian sodu (EDTA), chlorek sodu, mannitol, kwas cytrynowy, cytrynian sodu, poloxamer 407, z lub bez chlorku benzalkoniowego (BAK, 0,003%). Wykazano, iż użytkowane soczewki z materiału balafilcon A zwiększały tempo parowania o około 20% względem samej soli fizjologicznej, podczas gdy skwaleń redukował je o ponad 60%.

W ramach kontynuacji badań z 2011 roku [221], Omali *i wsp.* opublikowali badanie na temat wpływu fosfolipidowych osadów na adhezję bakterii do soczewek kontaktowych [225]. Najpierw autorzy zbadali użytkowane soczewki pod kątem ilości zdeponowanych fosfolipidów. Następnie nowe soczewki inkubowano w fosfolipidach i wystawiano na działanie *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Staphylococcus aureus*. W badaniu stosowano roztwory fosfolipidów zawierające sfingomielinę (SM 16:0) lub fosfatydylocholinę (PC 16:0/18:2) w stężeniach 0,05–0,5 $\mu\text{g/mL}$ przygotowane w buforze fosforanowym PBS, a lipidy ekstrahowano z soczewek przy użyciu mieszaniny chloroform:metanol (2:1, v/v) z dodatkiem 0,01% BHT. Po 18 godzinach inkubacji zmierzono liczbę bakterii przylegających do soczewek. Wyniki pokazały, że fosfolipidy są adsorbowane/absorbowane przez soczewki kontaktowe podczas noszenia, jednak główne typy fosfolipidów nie wpływają na adhezję lub wzrost bakterii.

W innym badaniu opublikowanym w 2012 roku opisano wpływ laktoferyny i lipidów na kinetykę osadzania lizozymu na soczewkach Si-Hy i konwencjonalnych Hy, z użyciem złożonego ATS [226]. Zbadano dwa materiały Si-Hy (Iotafilcon B i senofilcon A) oraz dwa Hy (etafilcon A i omafilcon A) w czterech różnych roztworach:

- złożony ATS zawierający sole, lipidy, białka i mucyny,
- ATS bez laktoferyny,
- ATS bez lipidów,
- ATS bez laktoferyny i lipidów.

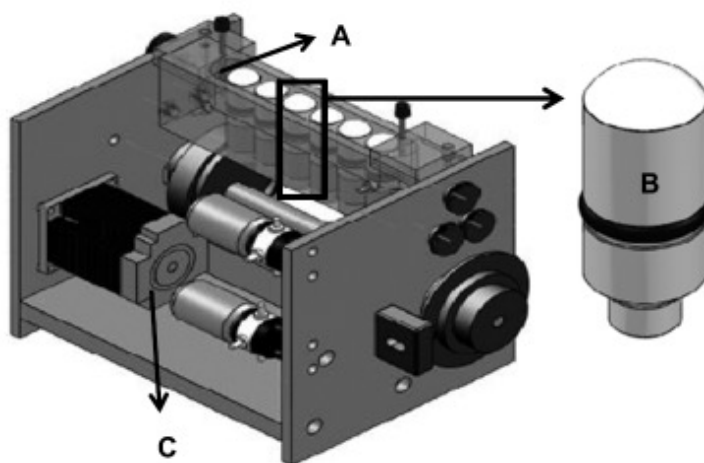
Wyniki wykazały, że obecność laktoferyny i lipidów w ATS wpływa na osadzanie lizozymu zarówno na soczewkach Si-Hy, jak i Hy.

Rozwój eksperymentów *in vitro* koncentrował się na osiągnięciu warunków możliwie jak najbardziej zbliżonych do *in vivo*. Jeden z kroków w tym kierunku został podjęty przez

Lorentz *i wsp.*, którzy wprowadzili model urządzenia do symulacji mrugania (Rysunek 10) do badania osadów lipidowych [227]. Celem badania było określenie wpływu przerywanej ekspozycji na powietrze na osadzanie dwóch oznakowanych radioizotopów lipidów na różnych materiałach soczewek kontaktowych. Badanie obejmowało dwa etapy:

- krótkoterminowy (1 dzień $\times$ 10 godz. ciągłych cykli zanurzeń i wynurzeń w ATS),
- długoterminowy (6 dni $\times$ 14 godz. cykli zanurzeń i wynurzeń oraz 10 godz. zanurzenia w ATS).

W pierwszym etapie zbadano sześć materiałów (balafilcon A, lotrafilcon B, comfilcon A, senofilcon A, etafilcon A, omafilcon A), które były zamontowane na tłokach urządzenia, wykonujących cykliczne ruchy w i z roztworu ATS zawierającego sole i bufor (NaCl, KCl, cytrynian sodu, Na_2CO_3 , KHCO_3 , Na_2HPO_4 , HCl, CaCl_2), metabolity (glukozę, mocznik), lipidy (fosfatydylocholine, cholesterol, kwas oleinowy, ester metylowy kwasu oleinowego, trioleinę, oleinian cholesterolu), białka (albuminę bydlęcą, lizozym jaja kurzego), mucynę bydlęcą oraz konserwant ProClin 300, z dodatkiem radioznakowanego ^{14}C -cholesterolu lub ^{14}C -fosfatydylocholiny. Ekspozycja na powietrze zwiększała ilość zdeponowanego cholesterolu 1,6–4,3 razy (omafilcon A, balafilcon A, comfilcon A, senofilcon A), natomiast nie wykazano różnic w przypadku etafilcon A i lotrafilcon B. Dla fosfatydylocholiny wszystkie soczewki wystawione na działanie powietrza wykazywały większą ilość osadów – wzrost był istotny statystycznie dla omafilcon A, comfilcon A, lotrafilcon B i senofilcon A, ale nie dla etafilcon A i balafilcon A. Długoterminowa inkubacja wykazała statystycznie istotny wzrost osadów cholesterolu na lotrafilcon B i balafilcon A – odpowiednio $1,8\times$ i $2,8\times$. Autorzy stwierdzili, że profil osadzania lipidów zależy od materiału soczewki, a ekspozycja na powietrze wpływa na ich ilość.



Rysunek 10 Rysunek CAD urządzenia modelującego mruganie – poza komorą atmosferyczną – z dopasowanym tłokiem do utrzymania soczewki kontaktowej. (A) Korytko z ATS, (B) tłok z teflonu, (C) silnik napędzający ruch tłoka. Źródło H. Lorentz *i wsp.* "The impact of intermittent..." [227]

W kolejnym badaniu z 2012 roku, Lorentz *i wsp.* analizowali wpływ różnych składników filmu łzowego na osadzanie dwóch lipidów (cholesterolu i fosfatydylocholiny) na soczewkach kontaktowych *in vitro* [228]. Przebadano dwa materiały Si-Hy (balafilcon A i senofilcon A) oraz jeden Hy (etafilcon A) w czterech typach roztworów, których składu zostały przedstawione w tabeli 5.

Tabela 5 Składy 4 roztworów używanych w badaniu wpływu składników filmu łzowego na osadzanie się lipidów na soczewkach kontaktowych

Roztwór	Sole i bufony	Meta-bolity	Lipidy	Białka / mucyna	Znacznik
ATS (Artificial Tear Solution)	NaCl, KCl, Na ₂ CO ₃ , Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ (cytrynian sodu), CaCl ₂ , HCl	glukoza, mocz-nik	cholesterol, oleinian cholesterolu, kwas oleinowy, ester metylowy kwasu oleinowego, trioleina, fosfatydylocholina	albumina bydlęca, lizozym (jaja kurzego), laktoferyna (rekombinowana), immunoglobulina G, mucyna	¹⁴ C-cholesterol lub ¹⁴ C-fosfatydylocholina
LTS (Lipid Tear Solution)	NaCl, KCl, Na ₂ CO ₃ , KHCO ₃ , Na ₂ HPO ₄ , Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ , CaCl ₂ , HCl	glukoza, mocz-nik	cholesterol, oleinian cholesterolu, kwas oleinowy, ester metylowy kwasu oleinowego, trioleina, fosfatydylocholina	—	¹⁴ C-cholesterol lub ¹⁴ C-fosfatydylocholina
PrTS (Protein Tear Solution)	NaCl, KCl, Na ₂ CO ₃ , KHCO ₃ , Na ₂ HPO ₄ , Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ , CaCl ₂ , HCl	glukoza, mocz-nik	—	albumina bydlęca, lizozym, laktoferyna, immunoglobulina G, mucyna	¹⁴ C-cholesterol lub ¹⁴ C-fosfatydylocholina
SLTS (Simple Lipid Tear Solution)	NaCl, KCl, Na ₂ CO ₃ , KHCO ₃ , Na ₂ HPO ₄ , Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ , CaCl ₂ , HCl	glukoza, mocz-nik	pojedynczy lipid: cholesterol lub fosfatydylocholina	—	¹⁴ C-cholesterol lub ¹⁴ C-fosfatydylocholina

Soczewki były inkubowane przez 3 i 14 dni. Wyniki pokazały, że osady cholesterolu i fosfatydylocholiny narastają z czasem i że materiały Si-Hy akumulują więcej lipidów niż Hy z grupy IV FDA. Ważniejszym wnioskiem było jednak to, że skład roztworu inkubacyjnego znacząco wpływa na ilość osadów i że modele *in vitro* powinny używać bardziej fizjologicznych roztworów, jeśli wyniki mają być ekstrapolowane na warunki *in vivo*.

W kontynuacji badania z 2011 roku [222], Pitt *i wsp.* opublikowali pracę na temat transportu i uwalniania fosfolipidów z soczewek Si-Hy [229]. Wyniki pokazały, że ilość DMPC załadowanego do soczewki rośnie liniowo wraz z czasem ekspozycji na roztwór DMPC/propanol. Początkowa szybkość uwalniania do ATS była kontrolowana dyfuzją i proporcjonalna do załadowanej ilości DMPC. Szybkość ta malała, gdy wzrastało stężenie DMPC w ATS. Autorzy stwierdzili, że łatwość załadunku i kontrolowane uwalnianie DMPC z soczewek Si-Hy daje potencjał do stosowania takiej technologii w celu redukcji dyskomfortu wynikającego z niskiego poziomu fosfolipidów w filmie łzowym.

Ostatnie omówione badanie z 2012 roku miało na celu ocenę skuteczności roztworów nadtlenu wodoru w usuwaniu lipidów z różnych materiałów soczewek [230]. Autorzy przebadali 2 materiały Si-Hy (balafilcon A i senofilcon A) oraz 1 Hy (etafilcon A), które były inkubowane przez 8 godzin w ATS zawierającym mieszaninę lipidów, białek, mucyny

i znakowanego ^{14}C -cholesterolu lub ^{14}C -fosfatydylocholine. Po inkubacji soczewki płukano, a następnie umieszczano na 16 godzin w jednym z trzech warunków: roztworze nadtlenu z surfaktantem (ClearCare®), roztworze bez surfaktanta (AOSept®) lub bez płynu (kontrola). Po tygodniu codziennego powtarzania procesu określono ilość zdeponowanych lipidów na podstawie krzywych kalibracyjnych. Wyniki pokazały, że ClearCare (zawierający surfaktant Pluronic 17R4) usuwał najwięcej lipidów spośród wszystkich warunków. Różnice te były jednak stosunkowo niewielkie, a ich kliniczne znaczenie pozostaje do ustalenia.

- 2013

Brown *i wsp.* opublikowali badanie, w którym opisali metodę charakteryzowania osadów lipidowych bezpośrednio z użytkowanych soczewek kontaktowych przy użyciu analizy powierzchniowej z ekstrakcją w cieczy sprężonej z spektrometrią mas (LESA-MS/MS) [231]. Zaprezentowana technika umożliwia łatwą i powtarzalną ekstrakcję lipidów z powierzchni soczewek i identyfikację cząsteczek lipidowych reprezentujących wszystkie główne klasy obecne w ludzkim filmie łzowym. Autorzy stwierdzili, że LESA-MS/MS to szybka i kompleksowa technika służąca do charakteryzowania zanieczyszczeń biologicznych związanych z lipidami na powierzchniach polimerowych.

W ramach kontynuacji badania z 2012 roku [226], Ng *i wsp.* opublikowali w 2013 roku artykuł dotyczący wpływu składników filmu łzowego na konformacyjny stan lizozymu osadzonego na soczewkach kontaktowych [232]. Zbadali 2 soczewki Si-Hy (Iotafilcon B i senofilcon A) oraz 2 Hy (etafilcon A i omafilcon A), które inkubowano w czterech różnych roztworach: zawierających sole i bufor, glukozę, mocznik, lipidy (kwas oleinowy, ester metylowy kwasu oleinowego, trioleinę, cholesterol, oleinian cholesterolu, fosfatydylocholine), białka (lizozym, albuminę, immunoglobulinę G, laktoferynę) oraz mucynę, przy czym przygotowano wersje pełne ATS oraz ATS pozbawione odpowiednio laktoferyny, lipidów lub obu tych składników. W różnych punktach czasowych w ciągu 28 dni określano procent aktywnego lizozymu na soczewce za pomocą fluorescencyjnego testu aktywności enzymatycznej i testu ELISA (a ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*). Wyniki wykazały, że laktoferyna i lipidy mają wpływ na denaturację lizozymu osadzającego się na soczewkach Si-Hy, natomiast konwencjonalne soczewki Hy nie były tym dotknięte.

W innym badaniu Pitt *i wsp.* poszukiwali najlepszej metody ilościowego oznaczania sorpcji fosfolipidów i cholesterolu na soczewkach Si-Hy przy użyciu znakowanego radioaktywnie cholesterolu i fosfatydylocholine, które sorbowano z ATS, przygotowanego na bazie borate-buffered saline (kwas borowy, boran sodu, NaCl) i zawierającym białka

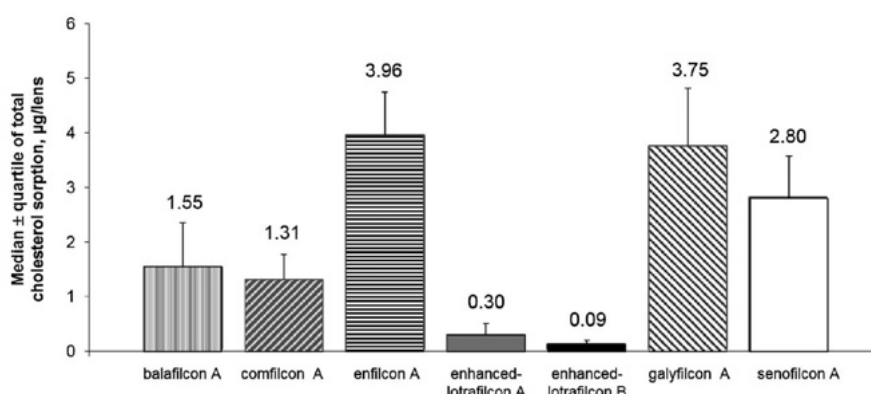
(lizozym jaja kurzego, laktoferynę bydlęcą, albuminę bydlęcą, mucynę wieprzową) oraz lipidy (DPPC, cholesterol, ester cholesterylowy, kwas oleinowy, ester metylowy kwasu oleinowego, trioleinę) z dodatkiem methyl- β -cyklodekstryny oraz radioznaczników ^3H -DPPC i ^{14}C -cholesterolu [233]. Wyniki wykazały, że najdokładniejsze rezultaty daje potrójna ekstrakcja z użyciem n-propanolu. Co więcej, porównanie sorpcji na soczewkach Si-Hy wykazało, że balafilcon A i senofilcon A sorbują podobne ilości lipidów, natomiast lotrafilcon B sorbuje ich istotnie mniej.

Svitova *i wsp.* opublikowali badanie badające różnice rasowe w zachowaniu międzyfazowym lipidów wykstrahowanych z użytkowanych miękkich soczewek kontaktowych. Bezobjawowi azjatyccy i kaukascy uczestnicy nosili soczewki Si-Hy (lotrafilcon A) przez miesiąc w trybie ciągłym [234]. Następnie lipidy wykstrahowano z soczewek i zdeponowano na pęcherzyku powietrza zanurzonym w modelowym roztworze elektrolitów lżowych (MTE), tworząc warstwy o grubości 100 ± 20 nm. Ciśnienie powierzchniowe rejestrowano podczas cykli powolnego rozszerzania i kurczenia w celu oceny ściśliwości i histerezy warstw lipidowych. Warstwy poddano również szybkim naprężeniom w temperaturze $22\text{--}45^\circ\text{C}$, by ocenić ich właściwości lepko-sprężyste. Badacze stwierdzili, że wyższy moduł sprężystości lipidów pochodzących z grupy kaukaskiej i próg elastyczności przy określonych odkształceniach wskazują na silniejsze oddziaływania międzycząsteczkowe i bardziej uporządkowaną strukturę w porównaniu z bardziej lepкими lipidami pochodzącymi z grupy azjatyckiej. Zasugerowali także, że różnice w zachowaniu międzyfazowym mogą wynikać z różnic w składzie chemicznym lipidów.

W kompleksowym badaniu czynników wpływających na odkładanie cholesterolu na soczewkach kontaktowych *in vitro*, opublikowanym przez Walther *i wsp.* w 2013 roku, opisano wpływ czasu inkubacji, stężenia lipidów i wymiany roztworu na osadzanie cholesterolu na soczewkach Si-Hy i Hy [235]. Przebadano 4 soczewki Si-Hy (senofilcon A, lotrafilcon B, comfilcon A, balafilcon A) i 2 Hy (etafilcon A i omafilcon A), inkubowane w ATS zawierającym sole, glukozę i mocznik, białka (lizozym i albuminę jaja kurzego), mucynę oraz lipidy: ester metylowy kwasu oleinowego, cholesterol (z dodatkiem 30% ^{14}C -cholesterolu), trioleinę, fosfatydylocholinę, oleinian cholesterolu i kwas oleinowy, przy czym stosowano trzy stężenia lipidów ($0,5\times$, $1\times$ i $2\times$ fizjologiczne). Inkubacja trwała 1, 3, 7, 14 lub 28 dni; zastosowano także warianty z i bez wymiany roztworu. Wyniki wykazały, że wszystkie trzy czynniki wpływają na ilość odkładanego cholesterolu. Soczewki Si-Hy akumulowały istotnie więcej cholesterolu niż Hy, a jego ilość zależała od materiału soczewki, czasu inkubacji, stężenia lipidów w ATS oraz wymiany roztworu.

- 2014

Nasjh *i wsp.* opublikowali badanie porównujące odkładanie się cholesterolu *ex vivo* na dostępnych komercyjnie Si-Hy soczewkach kontaktowych [236]. Zbadano 7 materiałów soczewek Si-Hy (balafilcon A, comfilcon A, enfilcon A, lotrafilcon A, lotrafilcon B, galyfilcon A i senofilcon A). Sorpcja cholesterolu została oceniona w 140 wcześniej noszonych soczewkach Si-Hy pochodzących z 8 badań klinicznych przeprowadzonych w Stanach Zjednoczonych i Australii w latach 2006–2008. Pacjenci nosili soczewki przez 2 do 4 tygodni. Wyniki wykazały, że soczewki z modyfikacjami powierzchni: lotrafilcon A i lotrafilcon B wykazywały istotnie niższą medianę całkowitej sorpcji cholesterolu niż wszystkie inne testowane typy soczewek (Rysunek 11). Autorzy zasugerowali, że odkładanie się cholesterolu na soczewkach Si-Hy zależy od materiału soczewki.



Rysunek 11 Sorpcja cholesterolu w noszonych soczewkach kontaktowych wykonanych z różnych materiałów. Źródło: W. L. Nash i M.M. Gabriel, “Ex vivo Analysis of Cholesterol...” [236]

Panaser *i wsp.* opublikowali badanie dotyczące degradacji lipidów podczas noszenia soczewek kontaktowych w trybie ciągłym [237]. Z wykorzystaniem chromatografii gazowej i spektrometrii mas zbadano *ex vivo* dwa materiały soczewek (balafilcon A i lotrafilcon A), które były noszone w trybie dziennym lub ciągłym przez odpowiednio 30 i 7 dni. Wyniki pokazały, że:

- nienasycone kwasy tłuszczowe ulegają degradacji podczas snu w soczewkach kontaktowych,
- degradacja zachodzi niezależnie od materiału soczewki i indywidualnych różnic w depozycji lipidów,
- konsekwencją degradacji lipidów jest powstawanie produktów utleniania, które mogą być związane z dyskomfortem podczas noszenia soczewek kontaktowych.

Dodatkowo stwierdzono różnice pomiędzy soczewkami balafilcon A i lotrafilcon A — głównie w postaci wyższego poziomu całkowitych lipidów na soczewkach balafilcon A.

W tym samym roku Maissa *i wsp.* opublikowali badanie porównujące odkładanie się lipidów na soczewkach Si-Hy (balafilcon A) i Hy (etafilcon A) [238]. Zbadano soczewki zebrane od pacjentów, którzy nosili je przez 10 godzin (tryb dzienny) lub przez 7 dni w trybie przedłużonym. Dwa laboratoria analizowały lipidy: Alcon Laboratories (prawa soczewka – całkowita absorpcja) i OTG Research & Consultancy (lewa soczewka – całkowita absorpcja i podział na klasy lipidów). Wyniki pokazały, że całkowita absorpcja lipidów była silnie zależna od materiału. Si-Hy absorbowały więcej lipidów niż Hy. Absorpcja lipidów była większa po 7 dniach użytkowania niż po 10 godzinach. Rodzaje lipidów odzyskanych z soczewek również różniły się między materiałami: więcej lipidów niepolarnych wykryto w balafilcon A, natomiast w etafilcon A rozkład lipidów był bardziej zrównoważony (między polarne i niepolarne). Lepsze różnicowanie między materiałami było możliwe po 7 dniach użytkowania, a profil absorpcji lipidów był podobny niezależnie od trybu noszenia, co sugeruje, że materiał ma większe znaczenie niż czas noszenia.

Cheung *i wsp.* opublikowali w 2014 roku badanie porównujące skuteczność roztworów do pielęgnacji soczewek w usuwaniu składników filmu łzowego [239]. Zbadano trzy materiały Si-Hy (balafilcon A, lotrafilcon B i senofilcon A), które inkubowano przez tydzień w ATS zawierającym zawierającym sole (NaCl, KCl, $\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, Na_2HPO_4 , Na_2CO_3 , KHCO_3 , CaCl_2 , HCl), glukozę, mocznik, konserwant ProClin 300, białka (albuminę bydlęcą, lizozym jaja kurzego, mucynę podżuchwową bydlęcą) oraz lipidy (trioleinę, cholesterol, kwas oleinowy, ester metylowy kwasu oleinowego, oleinian cholesterolu, fosfatydylocholinę). Do oceny zmian na powierzchni soczewek przed i po czyszczeniu w systemie z nadtlakiem wodoru lub systemie zawierającym PHMB (Poliheksanid) użyto AFM. Wnioski autorów były następujące: chociaż oba systemy usuwały większość widocznych osadów, różnice w depozycji lipidów dla balafilcon A i senofilcon A były niezgodne z wcześniejszymi badaniami. Możliwym wyjaśnieniem jest to, że lipidy i — w mniejszym stopniu — białka są absorbowane do matrycy balafilcon A, podczas gdy w senofilcon A są jedynie adsorbowane na powierzchni i widoczne w mikroskopii.

Tam *i wsp.* opublikowali dwa badania w 2014 roku dotyczące odkładania lipidów i roztworów do pielęgnacji soczewek.

W pierwszym badaniu oceniono sorpcję i desorpcję radioaktywnie znakowanych DPPC (dipalmitoylphosphatidylcholina) i cholesterolu na 5 typach soczewek kontaktowych [240]. Soczewki były najpierw moczone przez 16 godzin w ATS, przygotowanym na bazie borate buffered saline (kwas borowy, boran sodu, NaCl; pH 7,3) i zawierający lipidy (DPPC, ^3H -DPPC, cholesterol, ^{14}C -cholesterol, trioleinę, oleinian cholesterolu, kwas

oleinowy, ester metylowy kwasu oleinowego, metyl- β -cyklodekstrynę) oraz białka (lizozym jaja kurzego, laktoferynę bydlęcą, albuminę bydlęcą, mucynę wieprzową), a następnie oceniano wpływ buforu boranowego oraz dwóch komercyjnych MPS na redukcję sorpcji i usuwanie lipidów. Wyniki wykazały, że soczewki Si-Hy akumulowały więcej lipidów niż Hy (polymacon). Moczenie soczewek w MPS przez 16h zredukowało sorpcję DPPC o 13%, a cholesterolu o 11%, ale te różnice nie były statystycznie istotne. Roztwory do wypłukiwania lipidów miały tylko niewielki wpływ na usuwanie lipidów z soczewek Si-Hy.

W drugim badaniu z tego samego roku Tam *i wsp.* ocenili skuteczność roztworów pielęgnacyjnych w zapobieganiu i usuwaniu osadów lipidowych z soczewek, tym razem uwzględniając proces pocierania [241]. Soczewki inkubowano w tym samym roztworze co w poprzednim badaniu. MPS ponownie nie wykazały istotnej skuteczności w zapobieganiu lub usuwaniu lipidów. Wnioski: dane wskazują, że MPS nie zmieniają znacząco sorpcji lipidów. Pocieranie usuwa niewielką ilość lipidów, ale MPS nadal warto stosować, ponieważ mogą dezynfekować soczewki i usuwać większe cząstki z ich powierzchni.

- 2015

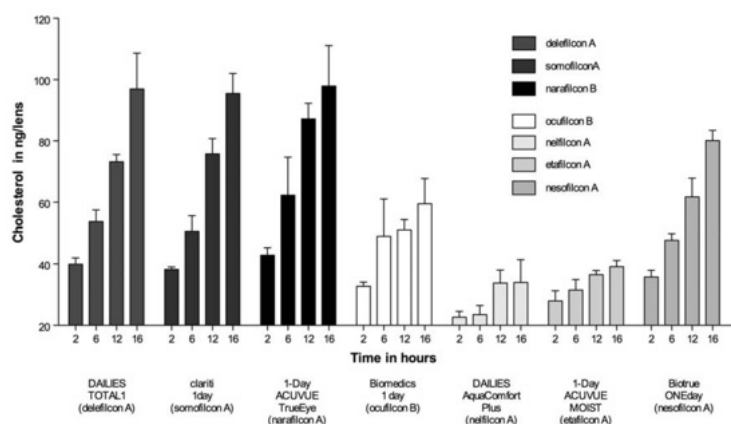
W badaniu opublikowanym przez Bahmla *i wsp.* wykazano, że modyfikacja powierzchni soczewek Si-Hy prostymi lipidami, takimi jak DPPC i cholesterol, zwiększa ich hydrofilowość, co w konsekwencji hamuje proces wysychania filmu łzowego; odwrotnie zachowuje się w przypadku meibum. Dodatkowo zaobserwowano, że DPPC i meibum pozostają bliżej powierzchni Si-Hy, natomiast cholesterol przenika głębiej do porowatej struktury soczewki Si-Hy [242].

Hagedorn *i wsp.* opublikowali badanie dotyczące oceny osadów na soczewkach kontaktowych oraz ekstraktów ludzkiego meibum, z wykorzystaniem AFM i warstw Langmuira-Blodgett [243]. W części dotyczącej osadów zbadano *ex vivo* dwa materiały Si-Hy (etafilcon A i balafilcon A) noszone w dwóch fazach przez tych samych pacjentów. Wyniki AFM pokazały, że u osób bez MGD, na powierzchni soczewek obecne były bardziej równomiernie rozłożone, mniejsze osady lipidowe o większej chropowatości, niż w przypadku soczewek noszonych przez osoby z MGD. Naukowcy spekulują, że może to wynikać z bardziej stabilnej i uporządkowanej struktury filmu łzowego u osób bez MGD, co ogranicza interakcje lipidów i białek z soczewką. Stwierdzono również, że lipidy mogą gromadzić się w porach materiału balafilcon A, a zjawisko to jest bardziej widoczne u pacjentów z MGD – ich soczewki miały płytsze pory niż u osób bez MGD, których soczewki wykazywały głębsze pory. W podsumowaniu autorzy stwierdzili, że depozycja lipidów na

soczewkach różni się pod względem ilości i wzoru pomiędzy osobami z MGD a bez MGD, a także pod względem rodzaju lipidów w zależności od materiału (etafilcon A vs. balafilcon A).

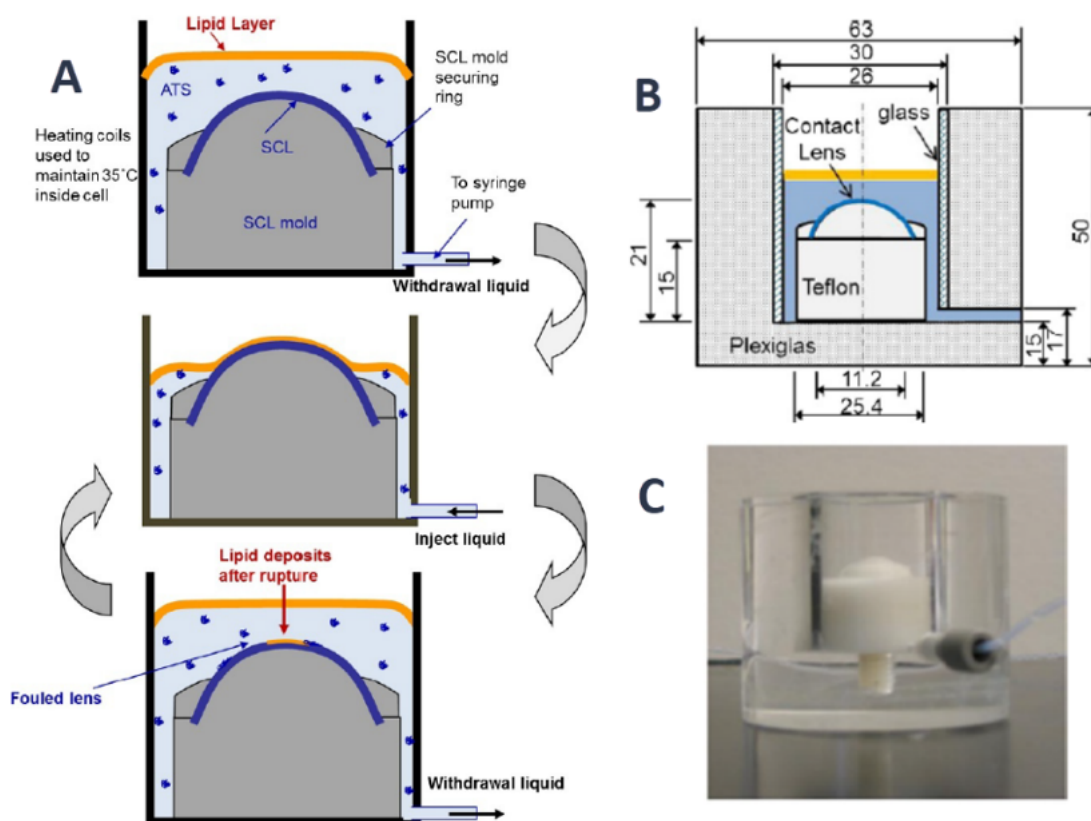
Jako kontynuacja badań z 2011 i 2012 roku [229], [241], Pitt *i wsp.* opublikowali badanie dotyczące wydłużenia czasu uwalniania fosfolipidów z soczewek Si-Hy [244]. Zbadano eksperymentalną soczewkę symulującą 30 dni noszenia dziennego z nocnym czyszczeniem. Zmierzono ilość uwolnionego znakowanego radioaktywnie DMPC. Soczewki ładowano 0,9% (w/v) roztworem 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-fosfatydylocholine (DMPC, ^{14}C -DMPC) w n-propanolu, a następnie eluowano w sztucznym płynie łzowym (ATF) zawierającym NaCl (8,0 mg/mL), fosforan sodu (2,128 mg/mL), diwodorofosforan sodu (0,285 mg/mL; pH 7,5), laktoferynę (2,3 mg/mL), lizozym (2,2 mg/mL), lipokalinę/ β -laktoglobulinę (1,5 mg/mL), mucynę (0,1 mg/mL), albuminę (0,0286 mg/mL), oleinian cholesterolu (0,0186 mg/mL), cholesterol (0,00175 mg/mL; kompleksowany z β -cyklodekstryną) oraz fosfatydylocholinę (0,0011 mg/mL) i fosfatydyloetanolaminę (0,0005 mg/mL). Wyniki wykazały, że najwięcej DMPC było uwalniane pierwszego dnia, po czym tempo uwalniania utrzymywało się na stałym poziomie każdego kolejnego dnia. Dodatkowo wykazano, że rodzaj systemu czyszczącego wpływa istotnie na tempo uwalniania w czasie codziennej ekspozycji na ATS. Natomiast tempo uwalniania do roztworów czyszczących nie wykazywało zwiększonego uwalniania pierwszego dnia – pozostawało na dość stałym poziomie.

W wymienionych wcześniej badaniach dotyczących osadów lipidowych skupiono się na soczewkach wielokrotnego użytku, jednak inne badanie z 2015 roku, opublikowane przez Walther *i wsp.*, dotyczyło *in vitro* osadzania cholesterolu na soczewkach jednodniowych [245]. Przeanalizowano 3 materiały Si-Hy (somofilcon A, delefilcon A, narafilcon A) oraz 4 Hy (etafilcon A, nesofilcon A, ocufilcon A, nelfilcon A). Po inkubacji w ATS zawierającym sześć lipidów występujących w filmie łzowym, w tym znakowany radioaktywnie ^{14}C -cholesterol (stanowiącym 3% całkowitego stężenia), ekstrakty analizowano licznikiem promieniowania beta. Cholesterol osadzał się statystycznie istotnie więcej na soczewkach Si-Hy niż na Hy (z kilkoma wyjątkami). Również między samymi soczewkami Si-Hy obserwowano różnice. Zaobserwowano, że akumulacja cholesterolu była ciągła przez 16 godzin inkubacji, bez osiągnięcia plateau (Rysunek 12). Autorzy zasugerowali, że ma to znaczenie dla pacjentów z podwyższonym poziomem lipidów w łzach, u których stosowane są soczewki Si-Hy jednodniowe.



Rysunek 12 Średnie ($\pm$ SD) całkowite pobranie cholesterolu przez różne materiały soczewek kontaktowych jednodniowych po 16 godzinach. Ilości lipidów zostały zmierzone za pomocą metody znakowania radioaktywnego, w której cholesterol był znakowany w sztucznym roztworze łzowym zawierającym różne białka, lipidy i mucyny. Źródło: H. Walther i wsp. "In vitro cholesterol deposition..." [245]

Dalsze prace badawcze koncentrowały się na uzyskaniu środowiska *in vitro* możliwie najbardziej zbliżonego do warunków *in vivo*. Peng i wsp. opublikowali badanie dotyczące modelu mrugającej komory *in vitro*, który odtwarza mechanizm „biozanieczyszczenia” soczewek w warunkach noszenia (Rysunek 13) [246]. Zbadano 1 materiał Hy (etafilcon A) i 5 materiałów Si-Hy (galyfilcon A, lotrafilcon A, lotrafilcon B, balafilcon A, comfilcon A). W badaniu stosowano ATS w PBS (pH 7,4) zawierający lizozym (3,28 mg/mL), β -laktoglobulinę (1,25 mg/mL), mucynę bydlęcą (0,035 mg/mL) i albuminę bydlęcą (0,175 mg/mL) oraz oddzielny roztwór lipidowy (ATLS) w toluenie zawierający cholesterol (0,068 mg/mL), stearynian cholesterolu (0,024 mg/mL), sfingomielinę (0,004 mg/mL), galkatocerebrozydy (0,004 mg/mL) i L- α -fosfatydylocholinę (0,004 mg/mL). Osady analizowano za pomocą mikroskopii optycznej, spektrometrii masowej (LAESI-MS), oraz dwufotonowej mikroskopii konfokalnej z fluorescencją. Stwierdzono, że lipidy (cholesterol) i białka (albumina bydlęca) występują jednocześnie w osadach powierzchniowych, nakładając się z białymi plamami widocznymi pod mikroskopem optycznym. Mikroskopia konfokalna pokazała, że lipidy i białka penetrują w głąb soczewek Si-Hy, co tłumaczono ich mikrostrukturą – obecnością zarówno fazy oleofilowej (silikonowej), jak i hydrofilowej.



Rysunek 13 (A) Schematyczne przedstawienie odkładania się lipidów *in vitro* na miękkiej soczewce kontaktowej (SCL) w komórce modelującej mruganie. (B) Schemat oraz (C) zdjęcie komórki modelującej mruganie stosowanej w warunkach *in vitro*. Wymiary konstrukcji podano w milimetrach. Rysunek nie jest wykonany w skali. Źródło: C.-C. Peng i wsp. "In vitro spoilation..." [246]

W ostatnim przeglądowym badaniu z 2015 roku, Silva *i wsp.* oceniali wpływ albuminy i cholesterolu na właściwości biotribologiczne materiałów soczewek [247]. Soczewki inkubowano w wodzie destylowanej/dejonizowanej (DD water) oraz w roztworach zawierających albuminę (4 mg/mL, Serva) i cholesterol (1,8 mg/L, Sigma–Aldrich), a także w roztworze zawierającym jednocześnie albuminę (4 mg/mL) i cholesterol (1,8 mg/L). Zbadano dwa materiały: Hy HEMA/PVP i Si-Hy TRIS/NVP/HEMA. Badania tribologiczne wykazały znaczny wzrost współczynnika tarcia (μ) dla HEMA/PVP w obecności cholesterolu oraz dla TRIS/NVP/HEMA w obecności albuminy. Autorzy stwierdzili, że wyniki te pomagają lepiej zrozumieć wpływ składu łez na właściwości tribologiczne soczewek i mogą przyczynić się do optymalizacji doboru materiału soczewki.

- 2016

Bassyouni *i wsp.* opublikowali badanie dotyczące możliwości wykorzystania olejku cytrynowego do dezynfekcji soczewek kontaktowych [248]. Na podstawie korzystnych wyników dotyczących minimalnych stężeń hamujących (MIC) tobramycyny i olejku cytrynowego wobec 19 szczepów bakteryjnych, autorzy stwierdzili, że olejek cytrynowy wykazuje obiecujące działanie przeciwdrobnoustrojowe i może być potencjalnym

kandydatem do dezynfekcji soczewek kontaktowych. W badaniu nie zawarto jednak informacji na temat ewentualnych osadów olejowych na soczewkach ani potencjalnego wpływu na zmniejszenie zwilżalności powierzchni soczewek, co wskazuje na bardzo ograniczone zastosowanie tej metody dezynfekcji.

W innym badaniu z 2016 roku oceniano wpływ dwutygodniowego, regularnego stosowania fosfolipidowego sprayu liposomalnego na ocenę warstwy lipidowej, stabilność filmu łzowego, subiektywny komfort, ostrość widzenia oraz odkładanie się lipidów u użytkowników soczewek kontaktowych Si-Hy [249]. Suplementacja fosfolipidami w kontekście soczewek kontaktowych budzi kontrowersje ze względu na możliwość odkładania się lipidów w materiale soczewek (szczególnie Si-Hy). Jednak uzyskane wyniki wykazały, że stosowanie fosfolipidowego sprayu liposomalnego zwiększa stabilność filmu łzowego, LLT oraz subiektywny komfort u użytkowników soczewek Si-Hy, nie wpływając negatywnie ani na ostrość widzenia, ani na ilość lipidów odkładających się na powierzchni soczewek.

- 2017

Schuett *i wsp.* opublikowali pracę dotyczącą eksperymentalnego modelu umożliwiającego badanie wpływu utleniania lipidów na ich odkładanie się na soczewkach kontaktowych *in vitro* [250]. Autorzy zbadali dwa materiały Si-Hy (balafilcon A i senofilcon A), które inkubowano z kwasami tłuszczowymi zawierającymi radioaktywny znacznik i utlenionymi w różnym stopniu, a następnie zmierzono ilość zdeponowanych lipidów, wykorzystując jako kontrolę próbki nieutlenionych lipidów. Wyniki wykazały, że nasycone kwasy tłuszczowe nie ulegają utlenieniu, jednonienasycony kwas oleinowy wytwarzał nadtlenki, natomiast wielonienasycone lipidy początkowo tworzyły nadtlenki, a następnie rozpadały się na reaktywne aldehydy. Autorzy stwierdzili, że przedstawili metodę wywoływania i kontrolowania utleniania lipidów, co umożliwia porównanie wpływu utlenionych lipidów na ich wiązanie z powierzchnią soczewek kontaktowych.

Drugie badanie z 2017 roku, opublikowane przez Omali *i wsp.* miało na celu określenie wpływu różnych systemów pielęgnacji soczewek na całkowity poziom lipidów, cholesterolu i estrów cholesterolu wyekstrahowanych z soczewek kontaktowych [251]. Autorzy zbadali *ex vivo* 791 soczewek wykonanych z trzech różnych materiałów: dwóch Si-Hy (galofilcon A, senofilcon A) oraz jednego Hy (etafilcon A), które były noszone przez uczestników badania przez 10–14 dni i czyszczone jednym z czterech płynów pielęgnacyjnych (Biotrue, ClearCare, OPTI-FREE PureMoist i RevitaLens Ocuteq). Następnie analizowano ilości cholesterolu, estrów cholesterolu oraz całkowitych lipidów. Wyniki nie wykazały jednoznacznie, aby którykolwiek z badanych płynów do pielęgnacji soczewek

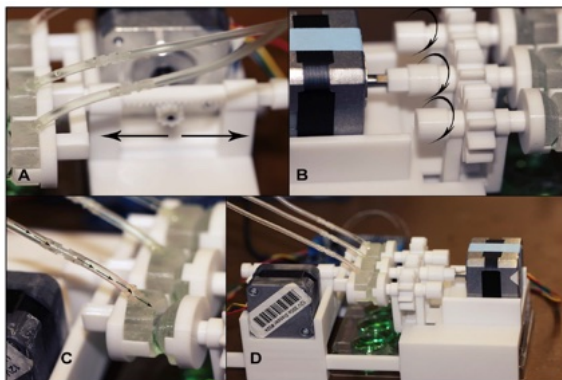
w połączeniu z konkretnym materiałem soczewki był istotnie skuteczniejszy od pozostałych w ograniczaniu odkładania się lipidów.

- 2018

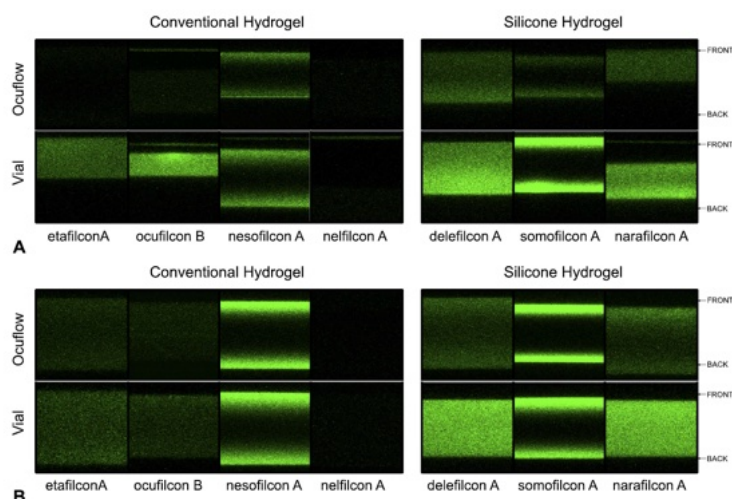
Walther *i wsp.* przeprowadzili badanie dotyczące wychwytu i penetracji cholesterolu znakowanego fluorescencyjnie (NBD-CHL) w jednodniowych soczewkach kontaktowych [252]. Autorzy zbadali 3 materiały Si-Hy (delefilcon A, somofilcon A, narafilecon A) oraz 4 materiały Hy (etafilecon A, ocufilecon B, nesofilcon A, nelfilcon A). Inkubacja soczewek w ATS, zawierającym mucyny, mocznik, sole, glukozę, białka (lizozym, albuminę) oraz lipidy (ester metylowy kwasu oleinowego, cholesterol, trioleinę, fosfatydylocholinę, oleinian cholesterolu i kwas oleinowy) (przy czym do wizualizacji zastosowano fluorescencyjnie znakowany NBD-CHL (1,9 µg/mL) rozpuszczony w cholesterol-free ATS), przeprowadzona została na platformie symulującej mruganie *in vitro*, która została zaprojektowana w celu odtworzenia fizjologicznego przepływu łez (2 mL/24 godziny), objętości filmu łzowego oraz „symulowanego” mrugania (Rysunek 14). Następnie soczewki analizowano za pomocą konfokalnej mikroskopii laserowej.

Wyniki wykazały, że w porównaniu z tradycyjną inkubacją w ATS (gdzie wychwyt NBD-CHL następował równomiernie po obu stronach wszystkich materiałów), w modelu mrugania cholesterol penetrował głównie przednią powierzchnię soczewek (Rysunek 15).

W podsumowaniu autorzy zasugerowali, że tradycyjna metoda „*in-vial*” naraża soczewki na nadmierne ilości ATS, co prowadzi do przeszacowania poziomu odkładania się cholesterolu. Z kolei nowy model, który uwzględnia dodatkowe czynniki, takie jak przerywana ekspozycja na powietrze, mała objętość łez i fizjologiczny przepływ łez między mrugnięciami, zapewnia bardziej naturalne warunki do inkubacji soczewek kontaktowych *in vitro*.



Rysunek 14 Ruch boczny powoduje przerywaną ekspozycję na powietrze (A). Ruch okrężny symuluje tarcie występujące podczas mrugania (B). Podanie filmu łzowego do powieki (C). Platforma OcuFlow (D) Źródło: H. Walther i wsp. “Differential deposition of fluorescently...” [252]



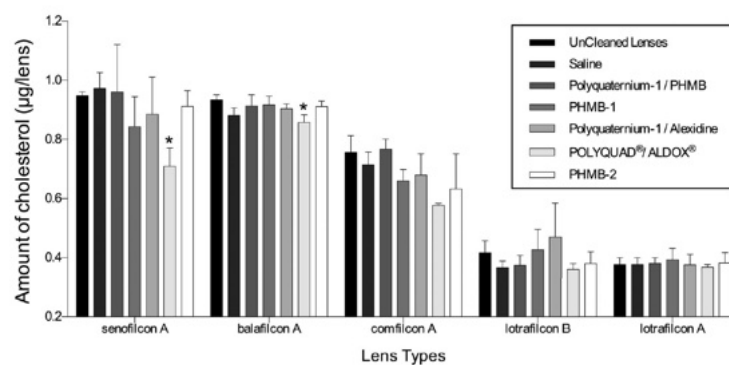
Rysunek 15 Obrazy konfokalne przedstawiające przekroje poprzeczne soczewek etafilcon A, nelfilcon A, nesofilcon A, ocufilcon, delefilcon A, somofilcon A oraz naraafilcon A po inkubacji z NBD-CHL w fiolce oraz w modelu OcuFlow po 4 (A) i 12 (B) godzinach. Źródło: H. Walther i wsp. "Differential deposition of fluorescently..." [252]

- 2019

Walther i in. opublikowali badanie dotyczące skuteczności płynów do pielęgnacji soczewek kontaktowych w usuwaniu złogów cholesterolu z soczewek Si-Hy [253]. Analizie poddano 5 materiałów soczewek Si-Hy: senofilcon A, comfilcon A, balafilcon A, lotrafilcon A oraz lotrafilcon B, które wcześniej inkubowano w ATS zawierającym cholesterol znakowany radioaktywnie (^{14}C), a następnie oczyszczano solą fizjologiczną i 5 płynami MPS (Biotrue MPS, renu fresh, Blink RevitaLens MPS, OPTI-FREE PUREMOIST MPDS, SoloCare Aqua). Wyniki (Rysunek 16) wykazały, że:

- balafilcon A i senofilcon A akumulowały największe ilości cholesterolu,
- lotrafilcon A i lotrafilcon B – najmniejsze,
- dla wszystkich materiałów soczewek MPS z konserwantami POLYQUAD/ALDOX (OPTI-FREE PUREMOIST MPDS) usuwał więcej cholesterolu niż jakikolwiek inny testowany roztwór.

Wnioskiem autorów było, że skuteczność usuwania cholesterolu zależy od kombinacji materiału soczewki i roztworu pielęgnacyjnego, a tylko jeden płyn MPS (OPTI-FREE PUREMOIST) wykazał statystycznie istotną redukcję złogów cholesterolu dla 2 z 5 testowanych materiałów.



Rysunek 16 Średni ($\pm$ SD) całkowity wychwyt cholesterolu dla różnych materiałów soczewek po moczeniu i czyszczeniu w soli fizjologicznej oraz 5 różnych płynach MPS po 7 dniach inkubacji w złożonym roztworze łzowym zawierającym znakowany radioaktywnie cholesterol ^{14}C (* $P < 0,05$ dla soczewek czyszczonych vs. nieczyszczonych). MPS – płyny wielofunkcyjne. Źródło: H. Walther i wsp. "Efficacy of Contact Lens..." [253]

• 2020

Luensmann i wsp. opublikowali badanie dotyczące kinetyki odkładania lipidów na soczewkach Si-Hy [254]. Autorzy, symulując miesięczne użytkowanie, zbadali 4 materiały soczewek Si-Hy: lotrafilcon B, senofilcon C, comfilcon A oraz samfilcon A, inkubując je w trzech różnych roztworach, których skład przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6 Skład roztworów wykorzystanych w badaniu kinetyki odkładania się lipidów na soczewkach.

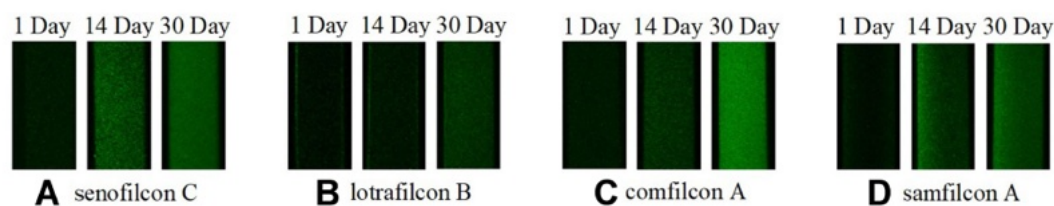
Roztwór	Baza (ATS – stałe składniki)	Lipidy dodane (radioznakowane)	Dodatkowe informacje
ATS-PC	Sól buforowa (NaCl , KCl , Na_2CO_3 , KHCO_3 , Na_2HPO_4 , cytrynian sodu, CaCl_2), glukoza, mocznik, białka (albumina, lizozym, laktoferyna), mucyna	^{14}C -fosfatydylocholina (PC)	Lipid polarny
ATS-CO	Jak wyżej	^{14}C -oleinian cholesterolu (CO)	Lipid niepolarny
ATS-Mix	Jak wyżej	^{14}C -fosfatydylocholina (PC), ^{14}C -fosfatydyloetanolamina (PE), ^{14}C -oleinian cholesterolu (CO), ^{14}C -cholesterol (CH)**	Mieszanina lipidów polarnych i niepolarnych

Wyniki wykazały, że dla wszystkich badanych typów soczewek ilość zdeponowanych lipidów rosła wraz z czasem inkubacji. Najwięcej lipidów ogółem zaobserwowano na senofilcon C, najwięcej Oleinianu cholesterolu na lotrafilcon B, a fosfatydyloetanolaminy na senofilcon C. Autorzy podkreślili, że ilość zarówno polarnych, jak i niepolarnych lipidów zdeponowanych na miesięcznych soczewkach Si-Hy zwiększa się w ciągu 4 tygodni, a różnice między materiałami są istotne statystycznie.

Qiao i wsp. oceniali lokalizację złogów estrów cholesterylowych w miesięcznych soczewkach Si-Hy w warunkach naśladujących noszenie dzienne przez 1, 14 i 30 dni [255]. Zbadano 4 soczewki: senofilcon C, lotrafilcon B, comfilcon A i samfilcon A, inkubowane w ATS sole (NaCl , KCl , Na_2CO_3 , KHCO_3 , cytrynian trisodowy dwuwodny, CaCl_2 , Na_2HPO_4 , HCl), metabolity (mocznik, glukoza), białka (albuminę bydlęcą, lizozym jaja kurzego, mucynę bydlęcą, rekombinowaną laktoferynę), lipidy (cholesteryl oleate, cholesterol, fosfatydylocholinę, fosfatydyloetanolaminę) oraz fluorescencyjnie znakowany

cholesteryl ester CE-NBD (0,1%), z dodatkiem ProClin 300 (0,02% v/v) jako środka bakteriostatycznego, przez 16h dziennie, a następnie czyszczone przez 8h w MPS (OPTI-FREE® PureMoist®). Analizowano je za pomocą konfokalnej mikroskopii laserowej.

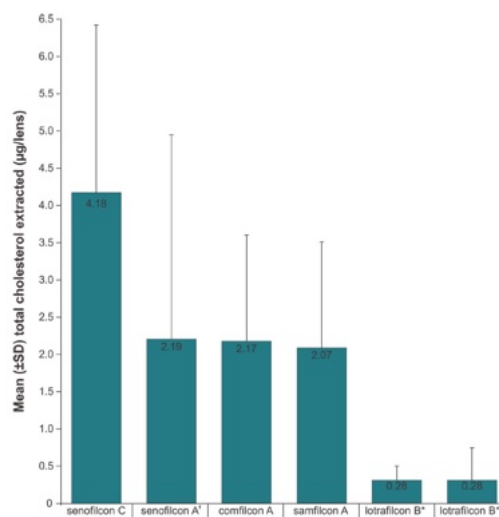
Wyniki pokazały, że rozmieszczenie CE-NBD zależało od materiału soczewki. Niektóre (lotrafilcon B i samfilcon A) akumulowały lipidy głównie na powierzchni w dniach 1 i 14, jednak po 30 dniach wszystkie materiały wykazywały równomierne rozmieszczenie lipidów w przekroju (Rysunek 17).



Rysunek 17 Przykładowe obrazy profili fluorescencji CE-NBD w przekroju przez soczewki: senofilcon C (A), lotrafilcon B (B), comfilcon A (C) i samfilcon A (D) w okresie 30 dni. Źródło: H. Qiao i wsp. "In vitro evaluation of the location..." [255]

Shows i wsp. przeprowadzili badanie porównujące ilość ekstrahowanego cholesterolu z soczewek lotrafilcon B pielęgnowanych roztworami zawierającymi EOBO (tlenek etylenu-butyleny) do cholesterolu z dotychczas noszonych soczewek Si-Hy pielęgnowanych MPS bez EOBO [256].

Najpierw zbadano cholesterol ekstrahowany z noszonych soczewek senofilcon C, senofilcon A, comfilcon A i samfilcon A używanych z MPS bez EOBO. Następnie zbadano cholesterol ekstrahowany z soczewek lotrafilcon B używanych z EOBO-zawierającymi roztworami OPTI-FREE PUREMOIST i CLEAR CARE PLUS z HydraGlyde. Wyniki pokazały, że soczewki lotrafilcon B pielęgnowane roztworami z EOBO wykazywały istotnie niższy wychwyt cholesterolu niż soczewki zwyczajowo noszone pielęgnowane roztworami bez EOBO (Rysunek 18).



Rysunek 18 Całkowita ilość cholesterolu wyekstrahowana z każdej indywidualnej kombinacji soczewek Si-Hy stosowanych rutynowo oraz soczewek lotrafilcon B w połączeniu z różnymi roztworami pielęgnacyjnymi. *Soczewki lotrafilcon B zapakowane w blister zawierający środek nawilżający EOBO. **Roztwory pielęgnacyjne CLEAR CARE PLUS z HydraGlyde i OPTI-FREE PUREMOIST zawierające EOBO. †Soczewki senofilcon A noszone przez 2 tygodnie. CCP = CLEAR CARE PLUS z HydraGlyde; HMPs = stosowany rutynowo wielofunkcyjny roztwór pielęgnacyjny; OFPM = OPTI-FREE PUREMOIST. Źródło: A. Shows i wsp. "Lipid analysis on block..." [256]

Omali i wsp. zmierzili ilość zdeponowanych lipidów na soczewkach kontaktowych u grupy objawowej i bezobjawowej użytkowników soczewek kontaktowych [257]. Do badania włączono 50 uczestników (25 na grupę). Wszystkim dopasowano 2-tygodniowe soczewki Si-Hy senofilcon A i otrzymali oni roztwór pielęgnacyjny zawierający polikwaternium (OPTI-FREE® Replenish®). Po dwóch tygodniach noszenia nowych soczewek wykazano, że:

- grupa bezobjawowa miała istotnie większe zdeponowane ilości lipidów na soczewkach,
- choć poziomy lipidów były niskie i niewystarczające do widocznych złogów klinicznych, mogły one wpływać na inne parametry kliniczne, np. komfort noszenia.

W kolejnym badaniu, opublikowanym w 2020 roku przez Chang i wsp. oceniono wpływ dodatku 2-metakryloiloksyetylofosforylocholiny (MPC) na zdolność soczewek kontaktowych do adsorpcji lipidów [258]. Wyniki wykazały, że zwiększenie zawartości MPC w kopolimerze z HEMA prowadzi do wyraźnego zmniejszenia adsorpcji lipidów – od 1,57 µg/soczewkę (0% MPC) do 0,33 µg/soczewkę (40% MPC). Po przeliczeniu na jednostkę powierzchni soczewki (uwzględniającą jej rozszerzalność po uwodnieniu), redukcja była jeszcze bardziej znacząca – do poziomu około 11% w porównaniu z soczewkami bez MPC. Mechanizm ten wynika z silnej hydrofilowości MPC oraz tworzenia na powierzchni soczewki warstwy „wolnej wody”, która skutecznie ogranicza kontakt hydrofobowych cząsteczek lipidowych z materiałem soczewki.

- 2021

W badaniu Walther *i wsp.* oceniono wpływ warunków inkubacji na odkładanie się fosfatydylocholiny (PC), na materiałach soczewek kontaktowych [259]. Analizowano zarówno soczewki Hy konwencjonalne, jak i Si-Hy pod kątem intensywności adsorpcji PC w zależności od czasu inkubacji, stężenia lipidów w ATS oraz częstotliwości jego wymiany. Do śledzenia ilości adsorbowanego lipidu użyto radioaktywnego ^{14}C -PC, a jego kumulację mierzono w odstępach czasowych do 28 dni.

Wyniki wykazały, że ilość PC odkładająca się na wszystkich badanych materiałach wzrastała z czasem. Soczewki Si-Hy wiązały znacząco więcej PC niż konwencjonalne Hy ($P < 0,001$). Zwiększenie stężenia lipidów w ATS skutkowało proporcjonalnym wzrostem adsorpcji PC ($P < 0,001$). Co więcej, regularna wymiana medium inkubacyjnego (co drugi dzień) miała różny wpływ w zależności od materiału: zwiększała adsorpcję PC w CH, a zmniejszała ją w SH (również $P < 0,001$). Autorzy podkreślają, że parametry warunków *in vitro* (czas, stężenie lipidów, wymiana medium) istotnie wpływają na osadzanie się polarnego lipidu na soczewkach i powinny być starannie kontrolowane w przyszłych badaniach dotyczących tego rodzaju osadów.

W innym badaniu z 2021 roku oceniono, między innymi, zdolność nowo opracowanego materiału soczewek kontaktowych, pokrytego warstwą polimeru z 2-metakryloiloksyetylofosforylcholiną (MPC), do ograniczania adsorpcji lipidów [260]. Zastosowana warstwa MPC, inspirowana strukturą biologicznej błony komórkowej, miała na celu poprawę właściwości przeciwzanieczyszczeniowych Si-Hy bazy soczewki. Soczewki inkubowano przez 3 dni w sztucznych łzach zawierających fluorescencyjnie znakowany lipid niepolarny (Rh-TAG), a następnie poddano standardowemu procesowi czyszczenia. Fluorescencyjne obrazowanie konfokalne 3D całych soczewek wykazało, że nowa soczewka z warstwą MPC nie charakteryzowała się wykrywalnymi złoгами lipidowymi, w przeciwieństwie do komercyjnych materiałów, takich jak senofilcon C, comfilcon A czy samfilcon A, na których zaobserwowano istotne ogniska adsorpcji Rh-TAG, szczególnie w centralnej i brzożnej części soczewek.

Dodatkowe analizy ilościowe przeprowadzone po 30 dniach noszenia soczewek na ludzkim oku (z użyciem LC-MS) potwierdziły, że materiał zmodyfikowany MPC charakteryzuje się najniższym poziomem adsorpcji lipidów niepolarnych – jedynie około 3 nmol/lens. Dla porównania, senofilcon C wykazywał adsorpcję rzędu 40 nmol/lens, samfilcon A – 20 nmol/lens, a comfilcon A – 6 nmol/lens. Wyniki jednoznacznie wskazują, że

bioinspirowana powierzchnia MPC znacząco ogranicza odkładanie się lipidów na powierzchni soczewki w porównaniu do standardowych materiałów Si-Hy.

W pracy Simin Masoudi i Marka Willcoxa przedstawiono wieloaspektową strategię analizy adsorpcji lipidów na Si-Hy soczewkach kontaktowych [261]. Autorzy zintegrowali cztery komplementarne techniki: (1) wysoce czuły fluorometryczny test enzymatyczny do oznaczania cholesterolu *ex vivo*, zastosowany na siedmiu typach soczewek (balafilcon A, comfilcon A, enfilcon A, lotrafilcon A i B (z modyfikacją powierzchni), galyfilcon A oraz senofilcon A); (2) mikroskopię konfokalną, która ujawniła, jak wzorce dyfuzji cholesterolu zmieniają się w zależności od składu i modyfikacji powierzchni soczewki; (3) oznaczanie radioizotopowe, gdzie potrójna ekstrakcja n-propanolem okazała się najdokładniejsza w pomiarach sorpcji cholesterolu i fosfatydylocholiny; oraz (4) nowo opracowaną metodę GC/MS umożliwiającą ilościową i jakościową ocenę szerszego spektrum lipidów (cholesterol, estry cholesterolu, woski, skwalen) z wysoką powtarzalnością i czułością. Zestawienie tych narzędzi stworzyło kompleksowy, wzajemnie weryfikujący się protokół badania interakcji lipid-soczewka.

Zastosowanie opisanych metod ujawniło, że wielkość i rozmieszczenie złogów lipidowych istotnie zależą zarówno od typu lipidu, jak i właściwości powierzchni materiału. Adsorpcja cholesterolu na testowanych soczewkach mieściła się w zakresie 0,4–7,6 µg/soczewkę, przy czym comfilcon A pozwalał na swobodniejsze przenikanie lipidów w głąb matrycy, podczas gdy samfilcon A tworzył wyraźniejszą barierę. Badanie wpływu wielofunkcyjnych płynów pielęgnacyjnych wykazało, że wstępne moczenie soczewek w MPS może ograniczać sorpcję lipidów, choć nie zawsze osiągnęto istotność statystyczną. Łącznie publikacja dostarcza zweryfikowanego zestawu technik do pomiaru osadów lipidowych na Si-Hy.

- 2022

Jedyne badanie z 2022 roku autorstwa Gronerta i wsp. wykazało, że Si-Hy soczewki kontaktowe nie tylko silnie wiążą, ale też mogą służyć jako nośnik informacji o profilu lipidowym powierzchni oka [262]. W badaniach *in vitro*, na modelach zwierzęcych i u ludzi stwierdzono, że już po 15 minutach inkubacji soczewki te zatrzymują znaczną ilość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) oraz mediatorów lipidowych, takich jak eikozanoidy pochodzące ze szlaków lipooksygenazy i cyklooksygenazy. Po 12 godzinach soczewki zawierały 90% PUFA i 83–89% monohydroksykwasów tłuszczowych obecnych w roztworze. Analiza soczewek noszonych przez ludzi przez dwa tygodnie wykazała, że gromadzą one specyficzne profile lipidowe, zależne zarówno od typu soczewki, jak

i indywidualnych cech pacjenta (np. różnice w poziomie lipoksyny A4 i leukotrienu B4). Wyniki sugerują, że Si-Hy soczewki mogą być użytecznym narzędziem do monitorowania fizjologicznych i patologicznych zmian na powierzchni oka, w tym potencjalnych biomarkerów dyskomfortu i reakcji zapalnych związanych z noszeniem soczewek.

- 2023–2025

W ramach przeglądu literatury obejmującego lata 2021–2025 stwierdzono, że poza opublikowaną przez autora pracą [263] w latach 2023–2025 nie ukazały się żadne inne recenzowane publikacje naukowe poświęcone bezpośrednio interakcjom pomiędzy lipidami filmu łzowego a soczewkami Si-Hy. W związku z tym niniejszy podrozdział, obejmujący badania do 2022 roku, stanowi najbardziej aktualne dostępne zestawienie wiedzy na temat tego zagadnienia.

4.1. Podsumowanie

W ciągu ostatnich dwóch dekad podjęto wiele wysiłków, aby lepiej zrozumieć interakcje między lipidami a soczewkami Si-Hy. Większość badań koncentrowała się na ocenie złogów lipidowych znajdujących się na powierzchni oraz w matrycy soczewek. Choć soczewki kontaktowe były badane w tym zakresie już od lat 70. XX wieku, wprowadzenie nowych materiałów Si-Hy o zmienionej charakterystyce chemicznej wymagało przeprowadzenia kolejnych testów.

W przeglądzie literatury można wyróżnić trzy typy badań:

1. *In vivo* – najrzadszy typ, z zastosowaniem biomikroskopu i skali oceny złogów. W ramach tego przeglądu odnaleziono tylko jedno takie badanie [149].
2. *Ex vivo* – w których analizowano soczewki używane przez pacjentów, ale badania prowadzono poza środowiskiem oka. Ten typ badań ma pewne ograniczenia przy porównywaniu właściwości soczewek i ich interakcji z lipidami, ze względu na różnice w składzie lipidowym filmu łzowego pomiędzy osobami i grupami etnicznymi [206], [235], [264].
3. *In vitro* – w których analizowano nowe, nienoszone soczewki poddane inkubacji w roztworach lipidowych. Wraz z rozwojem tych badań dążono do możliwie jak najwierniejszego odzwierciedlenia warunków *in situ*, m.in. poprzez tworzenie wieloskładnikowych ATS [218], [226], [228], [265] lub mechanizmów symulujących mruganie i przepływ łez [227], [246], [252]. W ujęciu chronologicznym widać wyraźną ewolucję roztworów stosowanych do badania *in-vitro* interakcji lipid–soczewka Si-Hy: od prostych układów jednoskładnikowych do wieloskładnikowych,

fizjologicznie „relewantnych” mieszanin. W początkowych pracach dominowały roztwory zawierające pojedyncze lipidy lub wąskie ich zestawy (np. cholesterol, cholesterol oleinian, fosfolipidy) przygotowane w prostych buforach, najczęściej PBS [197], [199] lub buforze fosforanowym [213], co pozwalało kontrolować kinetykę sorpcji, ale nie odtwarzało złożoności filmu łzowego. Kolejnym etapem było przechodzenie do mieszanin lipidowych o rozszerzonym składzie (np. lipidowe „LTS”) oraz modeli, w których do fazy wodnej wprowadzano także białka i mucyny, aby uwzględnić konkurencję i współdziałanie składników łez [198], [216], [218]. Kulminacją tej ścieżki stało się opracowanie i powszechne wykorzystanie złożonego ATS (sole/bufory, metabolity, lipidy, białka, mucyna) jako standardu inkubacji, a następnie jego dalsze modyfikowanie w celu oceny wpływu poszczególnych komponentów na poziom i charakter depozycji [208], [218], [225], [236]. W nowszych modelach ATS był dodatkowo integrowany z cyklami „noszenia” (ekspozycja na powietrze, symulacja mrugania, przepływ łez) lub z etapami pielęgnacji soczewek, co jeszcze bardziej przybliżało warunki eksperymentalne do *in vivo* [217], [220], [242], [245].

Zastosowane w badaniach metody zestawiono w Tabeli 7. Część prac koncentrowała się na ilościowym oznaczaniu lipidów zdeponowanych na soczewkach, inne miały na celu ich zobrazowanie – zarówno na powierzchni, jak i w ich wnętrzu.

Tabela 7 Metody stosowane do oceny lipidów na soczewkach kontaktowych według przeglądanych badań

Metody	Publikacje
Ilościowe oznaczanie osadów / obrazowanie osadów	
Wysokowydajna chromatografia cieczowa (HPLC)	[179], [205], [238]
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)	[204], [211], [220], [221], [250]
Chromatografia gazowa ze spektrometrią mas (GC/MS)	[208]
Spektroskopia fluorescencyjna	[209], [220]
Reakcja enzymatyczna z esterazą cholesterolu	[18]
Fluorometryczny test enzymatyczny	[214], [232], [236], [256]
Tandemowa spektrometria mas z jonizacją elektrosprejową (ESI-MS/MS)	[215], [225], [246]
Licznik beta / pomiar promieniowania	[217], [222], [226], [227], [228], [230], [233], [241], [244], [253], [254], [265]
Chromatografia cieczowa w fazie normalnej	[219]
Analiza powierzchni po ekstrakcji cieczowej ze spektrometrią mas (LESA-MS/MS)	[231]
Chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrią mas	[257]
Obrazowanie osadów	
Mikroskopia sił atomowych (AFM)	[157], [239]
Mikroskopia fluorescencyjna	[223], [243]
Konfokalna laserowa mikroskopia fluorescencyjna	[246], [252], [255]
Mikroskopia optyczna	[246]

Większość badań (zarówno *ex vivo*, jak i *in vitro*), których celem była ocena ilości lipidów zdeponowanych na soczewkach Si-Hy, wymagała ekstrakcji lipidów.

Najskuteczniejszym roztworem ekstrakcyjnym okazała się mieszanina chloroformu i metanolu w stosunku 2:1 [204].

Wiele badań potwierdziło, że zmodyfikowany skład chemiczny materiałów Si-Hy w porównaniu do Hy wpływa na rodzaj i ilość zdeponowanych lipidów – zazwyczaj skutkując ich większą ilością. Ponadto ilość złogów zależy od materiału soczewki i sposobu modyfikacji powierzchni [176], [179], [205], [214], [216], [236], [254]. Zaobserwowano również różnice pomiędzy lipidami polarnymi a niepolarnymi w kontekście ich odkładania się [215].

W literaturze istnieją znaczące rozbieżności co do ilości lipidów odkładających się na soczewkach, co może wynikać z dużych różnic w materiałach oraz stosowanych metodach badawczych. W odniesieniu do mechanizmów tworzenia złogów, wykazano, że mogą one powstawać już po 2 godzinach inkubacji w roztworze lipidowym [245] lub po kilku dniach noszenia soczewek [18].

Badania obrazowe wykazały, że barwnik Nile Red O jest skutecznym środkiem do wizualizacji złogów lipidowych. Inne prace, wykorzystujące konfokalną mikroskopię laserową, wykazały, że z czasem złogi lipidowe w matrycy soczewki ulegają równomiernemu rozmieszczeniu [223].

Większość badań analizowała lipidy pochodzące z filmu łzowego, jednak niektóre prace wskazują również na możliwość przenoszenia lipidów z dłoni podczas manipulacji soczewką, co podkreśla znaczenie higieny rąk [208], [220].

Jedno z badań wykazało, że złogi lipidowe ulegają degradacji podczas snu, a ich utlenione produkty mogą być związane z dyskomfortem noszenia soczewek [237].

Pomimo powszechnie uznawanego wpływu złogów lipidowych na dyskomfort, w literaturze trudno znaleźć jednoznaczne dowody potwierdzające tę zależność. Co więcej, niektóre badania sugerują nawet przeciwny efekt – np. że obecność lipidów może poprawiać zwilżalność i komfort noszenia soczewek Si-Hy [207]. Inne badania wykazały słabą korelację między ilością złogów a reakcją kliniczną pacjenta [216], a jedno nowsze badanie wskazało, że osoby bez objawów mają więcej złogów niż osoby z objawami [257].

Znany jest pozytywny wpływ fosfatydylocholiny na stabilność filmu łzowego. W związku z tym, przeprowadzono badania mające na celu załadowanie tego lipidu do soczewki Si-Hy i ocenę jego uwalniania do filmu łzowego w czasie. Wyniki pokazały łatwość wprowadzenia go do materiału i kontrolowane uwalnianie DMPC z soczewek Si-Hy, co wskazuje na potencjał ich wykorzystania w łagodzeniu dyskomfortu związanego z niskim poziomem fosfolipidów w łzach [222], [229]. Mechanizm ten został wykorzystany

przez firmę Alcon, w soczewkach z materiału delefilcon A. W trakcie noszenia tych soczewek jednodniowych z soczewki uwalniania jest fosfatydylocholina w celu stabilizacji przedsoczewkowego filmu łzowego i ograniczenia suchości oczu związanej z noszeniem soczewek kontaktowych [222].

Inny kierunek badań dotyczył wpływu złogów lipidowych na adhezję bakterii do powierzchni soczewek. Wykazano, że ani cholesterol, ani fosfolipidy nie wpływają istotnie na przyleganie bakterii [221], [225].

Wiele badań dotyczyło także interakcji między lipidami, soczewkami Si-Hy a roztworami do pielęgnacji. Udowodniono, że ilość złogów lipidowych nie wpływa na tempo neutralizacji roztworów nadtlenkowych. Kolejne badania analizowały, czy płyny pielęgnacyjne skutecznie usuwają lipidy z powierzchni soczewek, ponieważ wcześniejsze dane nie potwierdzały takiej skuteczności [219], [240]. Dopiero najnowsze badania wykazały, że stosowanie płynów zawierających EOBO znacząco redukuje wychwyt cholesterolu [256].

Dotychczasowe badania wykazały, że soczewki Si-Hy wykazują większą tendencję do przyciągania i gromadzenia lipidów niż tradycyjne soczewki Hy. Jednocześnie wiadomo, że skłonność do osadzania lipidów jest silnie zależna od rodzaju materiału soczewki, w tym zastosowanego polimeru oraz technologii modyfikacji powierzchni. Mimo licznych doniesień nadal nie wyjaśniono w pełni mechanizmów odpowiedzialnych za interakcje lipidów z materiałami Si-Hy, a dostępne dane pozostają fragmentaryczne.

Na podstawie analizy dotychczasowego piśmiennictwa można wskazać następujące luki badawcze:

1. Brak ustandaryzowanej metody ilościowej oceny osadów lipidowych na soczewkach kontaktowych, co utrudnia porównywanie wyników uzyskiwanych przez różne zespoły badawcze oraz ich odniesienie do obserwacji klinicznych, w tym do dyskomfortu zgłaszanego przez pacjentów.
2. Niewystarczające poznanie relacji między lipidami osadzonymi na powierzchni a lipidami penetrującymi do matrycy soczewki, co ogranicza zrozumienie rzeczywistego charakteru depozytów lipidowych.
3. Brak możliwości obserwacji wczesnych etapów wiązania lipidów z powierzchnią soczewek w czasie rzeczywistym. Dotychczasowe podejścia umożliwiały jedynie wizualizację depozytów po dłuższej inkubacji, zwykle nie krótszej niż 2 godziny, co nie pozwalało analizować początkowej dynamiki tego procesu.

4. Niepełne poznanie mechanizmów fizykochemicznych odpowiedzialnych za wiązanie lipidów z materiałami Si-Hy, w tym wpływu właściwości powierzchniowych i składu chemicznego materiału soczewki na przebieg sorpcji.
5. Niedostateczne dane dotyczące wpływu czynników zewnętrznych na depozycję lipidów, takich jak roztwory pielęgnacyjne, skład roztworu blisterowego czy stosowanie kropli nawilżających.
6. Wciąż ograniczona wiedza na temat znaczenia poszczególnych klas lipidów filmu łzowego w interakcjach z soczewkami Si-Hy, mimo że rozwój badań nad lipidami polarnymi stworzył podstawy do nowych strategii terapeutycznych, takich jak uwalnianie fosfatydylocholiny z soczewek w celu poprawy stabilności filmu łzowego.

Zidentyfikowane luki badawcze stanowiły podstawę do sformułowania celów eksperymentalnych niniejszej rozprawy oraz zaplanowania badań własnych.

Rozdział II. Fluorescencyjna mikroskopia konfokalna jako narzędzie badania interakcji lipidów z soczewkami Si-Hy

Celem niniejszego rozdziału jest przedstawienie ewolucyjnego, trzyetapowego procesu badawczego, który doprowadził do opracowania autorskiej metody rejestracji inicjacji adsorpcji lipidów na powierzchni soczewek Si-Hy oraz ich transportu do wnętrza materiału w czasie rzeczywistym. Weryfikacji tych założeń służy Hipoteza I, zakładająca, że zastosowanie zaawansowanych technik mikroskopii konfokalnej pozwoli na precyzyjną rejestrację momentu inicjacji adsorpcji oraz różnicowanie procesów transportu lipidów w zależności od struktury badanych materiałów.

Realizacja tak sformułowanego celu wymagała sekwencyjnego podejścia, w którym każdy kolejny eksperyment stanowił bezpośrednią odpowiedź na wnioski i ograniczenia zidentyfikowane w kroku poprzednim. Etap pierwszy (Badanie 1) miał charakter fundamentalny; służył kalibracji układu optycznego oraz zdefiniowaniu fizycznych parametrów interfejsu soczewka-płyn, co było niezbędne do eliminacji artefaktów w dalszych fazach. Etap drugi (Badanie 2) wykorzystał te parametry do stworzenia statycznych map przestrzennego rozkładu lipidów, co pozwoliło zrozumieć geometrię osadzania się depozytów. Zidentyfikowane w tym kroku ograniczenia – przede wszystkim brak informacji o dynamice procesu w krótkich odstępach czasu – stały się bezpośrednim bodźcem do przejścia w etapie trzecim (Badanie 3) na platformę o wysokiej rozdzielczości czasowej (technologia spinning disk Yokogawa).

Pierwsze dwa etapy zostały zrealizowane przy użyciu mikroskopu konfokalnego Leica TCS SP8. W pierwszym kroku, opisanym w publikacji własnej [266], określono optymalne warunki rejestracji charakterystyk odbicia powierzchni soczewek, co umożliwiło precyzyjne pozycjonowanie wiązki na interfejsie materiałowym. W drugim etapie, przedstawionym w pracy [263], opracowano procedurę analizy osadzania i dyfuzji cholesterolu po standaryzowanej inkubacji. Pozwoliło to na wstępną ocenę dynamiki zjawiska w skali mikrometrycznej, jednak w układzie statycznym.

Trzeci, kulminacyjny etap prac został przeprowadzony przy użyciu mikroskopu Zeiss Axio Observer Z.1 z modułem wirującego dysku Yokogawy CSU-X1. Zastosowanie tej technologii umożliwiło znaczące zwiększenie rozdzielczości czasowej przy jednoczesnym

czterokrotnym zwiększeniu pola obserwacji. Taka konfiguracja pozwoliła na operacjonalizację Hipotezy I poprzez uchwycenie momentu „zero” kontaktu lipidu z soczewką.

Podział rozdziału na trzy części odzwierciedla naturalną ewolucję metody badawczej – od wstępnej kalibracji i analizy właściwości optycznych powierzchni, poprzez statyczne mapowanie sorpcji, aż po pełnoskalową, dynamiczną wizualizację. Takie podejście pozwoliło na systematyczne doskonalenie procedur i uzyskanie danych o wysokim stopniu wiarygodności, co stało się fundamentem do weryfikacji postawionej hipotezy oraz realizacji głównego celu rozprawy.

1. Fizyczne podstawy działania skaningowego laserowego mikroskopu konfokalnego (CLSM) oraz konfokalnej mikroskopii z wirującym dyskiem Yokogawy (spinning-disk), z uwzględnieniem obrazowania w odbiciu i fluorescencji

1.1. Idea mikroskopii konfokalnej

Idea mikroskopii konfokalnej polega na realizacji optycznego sekcjonowania próbki poprzez przestrzennie selektywną detekcję promieniowania generowanego w ograniczonej objętości wokół ogniska obiektywu oraz jednocześnie tłumienie sygnału pochodzącego spoza płaszczyzny ogniskowej (*out-of-focus*). Selektowność ta osiągana jest dzięki zastosowaniu przesłony punktowej (*pinhole*) umieszczonej w płaszczyźnie sprzężonej z ogniskiem układu obrazującego, tj. w konfiguracji konfokalnej względem ogniska wzbudzenia.

Obiekt w mikroskopie formuje w próbce ognisko ograniczone dyfrakcyjnie, którego rozkład natężenia opisuje funkcja rozmycia punktu (PSF, *point spread function*). Obraz tego ogniska, utworzony przez układ optyczny w torze detekcji, jest rzutowany na płaszczyznę przesłony konfokalnej. Promieniowanie emitowane lub rozpraszane w pobliżu płaszczyzny ogniskowej odwzorowuje się w tej płaszczyźnie jako plamka o minimalnej średnicy, skoncentrowana w pobliżu osi optycznej, co skutkuje wysokim prawdopodobieństwem transmisji przez otwór przysłony. Natomiast wkład pochodzący z obszarów pozaoogniskowych tworzy w płaszczyźnie przesłony rozkład o większym promieniu charakterystycznym, a tym samym w istotnym stopniu ulega odcięciu przez ograniczoną aperturę przesłony.

W konsekwencji, zarejestrowany sygnał stanowi splot funkcji odpowiedzi wzbudzenia i detekcji, prowadząc do efektywnej, trójwymiarowej funkcji odpowiedzi układu konfokalnego, której szerokość w kierunku osiowym i poprzecznym jest mniejsza niż w klasycznym układzie szerokopółowym. Mechanizm ten determinuje poprawę kontrastu oraz rozdzielczości osiowej, stanowiąc podstawę obrazowania przekrojów optycznych w mikroskopii konfokalnej [267], [268].

Konfiguracja konfokalna prowadzi przede wszystkim do istotnej poprawy rozdzielczości osiowej oraz kontrastu w kierunku głębi próbki, co wynika z redukcji wkładu promieniowania pochodzącego spoza płaszczyzny ogniskowej. Wpływ na rozdzielczość

poprzeczną (lateralną, w płaszczyźnie x–y) jest zazwyczaj mniej wyraźny; jednak dla nie-wielkiej średnicy przesłony konfokalnej efektywna funkcja rozmycia punktu (PSF) ulega zawężeniu. W pierwszym przybliżeniu można ją opisać jako iloczyn funkcji PSF toru wzbudzenia i toru detekcji [269].

Rozmiar przesłony konfokalnej określa się zazwyczaj w jednostkach Airy, tj. jako wielokrotność średnicy dysku Airy w danej płaszczyźnie. W przybliżeniu przyosiowym średnica pierwszego minimum dyfrakcyjnego w obrazie punktu dana jest zależnością

$$d_{Airy} \approx 1,22 \frac{\lambda M}{NA}$$

gdzie λ oznacza długość fali (w obrazowaniu fluorescencyjnym najczęściej długość fali emisji λ_{em} , natomiast w trybie odbiciowym – długość fali wzbudzenia λ_{ex}), M jest powiększeniem pośrednim do płaszczyzny przesłony, a NA – aperturą numeryczną obiektywu [267], [270].

Zmniejszenie średnicy przesłony konfokalnej poniżej 1 Airy prowadzi do poprawy sekcjonowania optycznego, gdyż skuteczniej tłumi sygnał pochodzący spoza płaszczyzny ogniskowej. Jednocześnie jednak powoduje redukcję liczby rejestrowanych fotonów. W warunkach niskiego poziomu sygnału, gdy dominującym składnikiem szumu jest statystyka fotonowa (*shot noise*) oraz szum własny detektora, spadek liczby zliczeń skutkuje pogorszeniem stosunku sygnału do szumu (SNR, *signal-to-noise ratio*). W konsekwencji konieczne staje się zwiększenie mocy wzbudzenia lub wydłużenie czasu integracji sygnału, co w obrazowaniu fluorescencyjnym wiąże się ze wzrostem fotowysbielenia (*photobleaching*) oraz ryzykiem fototoksyczności [267], [271].

Z kolei zastosowanie przesłony o średnicy większej niż 1 Airy zwiększa poziom sygnału i ułatwia detekcję słabo świecących fluoroforów, jednak kosztem mniej efektywnego odrzucania tła pozaplanowego oraz pogorszenia kontrastu w kierunku osiowym. W praktyce eksperymentalnej, zwłaszcza w zastosowaniach biomedycznych, kompromisowy zakres średnicy przesłony mieści się zwykle w przedziale 0,8–1,5 Airy, w zależności od jasności znacznika, własności rozpraszających próbki oraz dopuszczalnej dawki promieniowania.

1.2. Tor optyczny skaningowego laserowego mikroskopu konfokalnego (CLSM)

1.2.1. Źródło laserowe, kolimacja i kształtowanie wiązki.

W konfokalnej mikroskopii skaningowej (CLSM, *confocal laser scanning microscopy*) wzbudzenie realizowane jest za pomocą lasera emitującego jedną lub kilka linii widmowych, co umożliwia selektywne wzbudzanie określonych fluoroforów oraz pracę w trybie odbiciowym dla zadanej długości fali [272]. Wiązka podlega kolimacji i odpowiedniemu kształtowaniu (np. z wykorzystaniem ekspandera oraz przysłon) w celu optymalnego wypełnienia apertury obiektywu, warunkującego uzyskanie ogniska ograniczonego dyfrakcyjnie. Niedostateczne wypełnienie apertury prowadzi do efektywnego zmniejszenia NA i pogorszenia rozdzielczości, natomiast nadmierne obcięcie profilu wiązki (apodyzacja) może modyfikować kształt funkcji PSF oraz wydajność wzbudzenia. Dla zapewnienia powtarzalności i stabilności pomiarów istotne są układy regulacji i monitorowania mocy promieniowania, a w niektórych konfiguracjach również kontrola stanu polaryzacji, szczególnie w trybie odbiciowym.

1.2.2. Skanowanie punktowe w płaszczyźnie x – y oraz akwizycja stosów w osi z .

W CLSM obraz płaszczyzn x – y powstaje w wyniku sekwencyjnego „przemieszczania” punktowego ogniska po powierzchni próbki. Najczęściej stosowane są skanery galwanometryczne, zapewniające dużą elastyczność parametrów kosztem umiarkowanej prędkości, oraz skanery rezonansowe, umożliwiające bardzo szybkie skanowanie w jednej osi, jednak z ograniczeniami trajektorii i czasu przebywania wiązki na piksel [267], [273]. Lustra skanujące lokalizuje się w płaszczyznach optycznie sprzężonych ze źrenicą obiektywu, co zapewnia telecentryczny charakter skanowania — liniowe przemieszczenie ogniska w próbce bez zmiany kąta zbierania promieniowania.

Rejestrację stosów w osi z (serii przekrojów optycznych) realizuje się poprzez przemieszczenie próbki (np. stolik piezoelektryczny), obiektywu (napęd piezo w głowicy) bądź wybranych elementów toru optycznego. Właściwości mechaniczne układu osi z determinują precyzję kroku, powtarzalność pozycjonowania oraz podatność na dryf. W obrazowaniu próbek żywych preferowane są rozwiązania umożliwiające szybkie, stabilne pozycjonowanie, bez udziału drgań.

1.2.3. *Obiektów: formowanie ogniska i detekcja sygnału.*

Obiektów mikroskopowy realizuje podwójną funkcję: ogniskuje wiązkę wzbudzącą do objętości ograniczonej dyfrakcyjnie oraz zbiera promieniowanie fluorescencyjne bądź odbite generowane w tym obszarze. Jego parametry – w szczególności apertura numeryczna (NA), stopień korekcji aberracji oraz rodzaj medium immersyjnego – determinują kształt funkcji rozmycia punktu (PSF), efektywną jasność układu oraz zdolność obrazowania w głąb próbki. Zwiększenie NA prowadzi do poprawy rozdzielczości przestrzennej i wzrostu wydajności zbierania fotonów, jednak jednocześnie zwiększa wrażliwość na niedopasowanie współczynników załamania między próbka a medium immersyjnym, co sprzyja powstawaniu aberracji sferycznej, szczególnie w obrazowaniu struktur tkankowych [270], [274].

1.2.4. *Separacja torów wzbudzenia i detekcji.*

Promieniowanie powracające z próbki jest oddzielane od wiązki wzbudzającej za pomocą zwierciadła dichroicznego oraz zestawu filtrów, dobranych do poszczególnych kanałów detekcji. W obrazowaniu fluorescencyjnym kluczowe znaczenie ma skuteczne tłumienie linii laserowej (wysoka gęstość optyczna filtrów) oraz minimalizacja przesłuchu widmowego między kanałami.

W trybie odbiciowym problem separacji ma odmienny charakter, gdyż sygnał często posiada tę samą długość fali co promieniowanie wzbudzające. W takim przypadku rozdzielanie realizuje się m.in. metodami polaryzacyjnymi, poprzez separację czasową (modulacja źródła i detekcja synchroniczna) lub z wykorzystaniem dedykowanego toru odbiciowego z kontrolowanym tłumieniem, zapobiegającym nasyceniu detektora [272].

1.2.5. *Detektory: PMT, APD i HyD.*

W CLSM stosuje się głównie detektory punktowe: fotopowielacze (PMT, *photo multiplier tube*), fotodiody lawinowe (APD, *avalanche photo diode*) oraz detektory hybrydowe (HyD, *hybrid detectors*). PMT charakteryzują się szerokim zakresem dynamicznym i łatwą integracją z szybkim próbkowaniem, jednak ich wydajność kwantowa zależy od rodzaju fotokatody, a szum multiplikacyjny może ograniczać detekcję bardzo słabych sygnałów. APD oferują wysoką wydajność kwantową i korzystne właściwości w trybie zliczania fotonów, zwykle przy niższym dopuszczalnym strumieniu bez wystąpienia nielinowości. Detektory HyD łączą fotokatodę z wzmocnieniem lawinowym, redukując część szumów charakterystycznych dla łańcucha dynod, co często przekłada się na poprawę stosunku sygnału do szumu w reżimie niskonaładowym [267], [272].

O wiarygodności pomiarów ilościowych decydują w szczególności: liniowość odpowiedzi, stabilność wzmocnienia, poziom szumu ciemnego oraz właściwy dobór trybu akwizycji (analogowy vs zliczanie fotonów).

1.3. Podstawowe tryby obrazowania konfokalnego: fluorescencja i odbicie

1.3.1. Obrazowanie fluorescencji

W procesie fluorescencji foton wzbudzający o długości fali λ_{ex} jest absorbowany przez cząsteczkę fluoroforu, po czym – po relaksacji bezpromienistej – następuje emisja fotonu o większej długości fali λ_{em} ($\lambda_{em} - \lambda_{ex}$ to przesunięcie Stokesa). Separację promieniowania wzbudzającego i emitowanego realizuje się za pomocą zwierciadła dichroicznego oraz filtrów pasmowych dopasowanych do widma emisji [271]. W pierwszym przybliżeniu intensywność sygnału rośnie wraz z mocą lasera oraz czasem ekspozycji (czas przebywania wiązki na piksel, *dwell time*), jednak właściwości fotofizyczne układu wprowadzają istotne ograniczenia.

Do kluczowych efektów praktycznych należą: (i) fotowysbielanie — trwała utrata zdolności fluorescencji wskutek reakcji fotochemicznych; (ii) fototoksyczność — szczególnie istotna w obrazowaniu żywych komórek i tkanek, w dużej mierze związana z generacją reaktywnych form tlenu; oraz (iii) nieliniowości przy wysokich gęstościach mocy (wynikające ze zjawisk np.: nasycenie przejść międzypasmowych, obsadzenie stanów trypletowych) [267], [271]. Ze względu na silną koncentrację wzbudzenia w ograniczonej objętości ogniskowej chwilowa gęstość mocy może być wysoka mimo umiarkowanej mocy średniej, dlatego dobór parametrów (moc, średnica otworu przesłony, szybkość skanowania, uśrednianie) bezpośrednio wpływa na jakość obrazu oraz bezpieczeństwo biologiczne.

Na wiarygodność pomiarów ilościowych oddziałują również czynniki instrumentalne (np. widmowe: kalibracja czułości toru detekcji, stabilność mocy źródła, transmitancja filtrów), a także inne zjawiska, np.: przenikanie emisji między kanałami (*bleed-through*) i niepożądane wzbudzenie innego fluoroforu (*cross-excitation*) [267], [275]. Dodatkowo znaczenie mają procesy obniżenia kwantowej wydajności emisji (*quenching*) oraz zmienność wydajności kwantowej zależna od środowiska chemicznego, m.in. pH czy oddziaływań z białkami [271].

1.3.2. Obrazowanie w odbiciu

W trybie odbiciowym kontrast wynika z różnic właściwości optycznych próbki i nie wymaga znakowania fluoroforami. Podstawowym mechanizmem jest odbicie Fresnela

na granicach o odmiennych współczynnikach załamania n ; lokalna intensywność sygnału zależy od różnicy Δn oraz kąta padania. Istotną rolę odgrywa także rozpraszanie na mikrostrukturach: dla niejednorodności o rozmiarach znacznie mniejszych niż λ dominuje reżim Rayleigha, natomiast dla struktur porównywalnych z długością fali — reżim Miego; w tkankach biologicznych zwykle obserwuje się kombinację obu mechanizmów [276], [277].

Obraz w odbiciu jest silnie czuły na mikrostrukturę, gdyż charakterystyka rozpraszania zależy od rozmiaru, kształtu i koncentracji centrów rozpraszania (np. jąder komórkowych, włókien kolagenowych) oraz od lokalnych gradientów współczynnika załamania. W ośrodkach silnie rozpraszających istotne stają się zjawiska wielokrotnego rozpraszania i depolaryzacji, które zwiększają poziom tła i mogą ograniczać efektywność sekcjonowania konfokalnego. W przeciwieństwie do fluorescencji, filtracja spektralna jest mniej skuteczna, ponieważ sygnał odbiciowy ma tę samą długość fali co wiązka wzbudzająca; dlatego stosuje się alternatywne strategie separacji, takie jak analiza polaryzacyjna, odpowiednia geometria toru optycznego, kontrola tłumienia oraz minimalizacja refleksów pasożytniczych [272].

1.4. Rozdzielczość sekcjonowania optycznego

Rozdzielczość przestrzenna układu konfokalnego jest ograniczona dyfrakcyjnie i opisywana przez funkcję PSF. W pierwszym przybliżeniu rozdzielczość poprzeczną można opisać jako

$$\Delta r \sim \frac{\lambda}{2NA},$$

gdzie λ oznacza długość fali, NA – aperturę numeryczną, w której uwzględniono współczynnik załamania medium immersyjnego [270].

Dla sekcjonowania osiowego (przy małej średnicy otworu przesłony i poprawnej korekcji aberracji) typową zależność można zapisać w postaci

$$\Delta z \sim \frac{\lambda}{NA^2}.$$

Podane zależności mają charakter poglądowy; rzeczywiste wartości zależą od przyjętego kryterium rozdzielczości (np. FWHM), długości fali emisji, średnicy przesłony konfokalnej oraz obecności aberracji [267], [269].

Istotnym czynnikiem degradującym jakość obrazowania w głąb próbki jest niedopasowanie współczynników załamania pomiędzy medium immersyjnym, szkiełkiem nakrywkowym i badaną strukturą. Różnice n prowadzą do aberracji sferycznej narastającej z głębokością, skutkującej poszerzeniem PSF, spadkiem maksymalnej intensywności w ognisku

oraz pozorną redukcją sygnału niezwiązaną z właściwościami biologicznymi próbki [274], [278]. W praktyce wymaga to odpowiedniego doboru obiektywu (olej, woda, gliceryna, silikon), korekcji na grubość szkiełka (pierścień korekcyjny), a w zastosowaniach zaawansowanych — rozważenia optyki adaptacyjnej lub kontrolowanego dopasowania współczynnika załamania (np. poprzez właściwe media montażowe).

1.5. Mikroskopia konfokalna z wirującym dyskiem

Dla przyspieszenia akwizycji w konfokalnym mikroskopie skanującym korzysta się z rozwiązań bazujących na obracającym się dysku.

Pierwsze z nich to tarcza Nipkowa, czyli pojedynczy, obracający się dysk z mikrootworami rozmieszczonymi wzdłuż spirali Archimedesesa. Cechuje się ograniczoną sprawnością optyczną: znaczna część wiązki pada na obszary nieprzezroczyste, co obniża efektywność wzbudzenia. Dodatkowo, w celu redukcji przesłuchu (*cross-talk*) między sąsiednimi ogniskami konieczny jest odpowiedni rozstaw otworów. Zbyt mała odległość zwiększa prawdopodobieństwo, że fotony rozproszone w próbce przejdą przez sąsiedni otwór, podnosząc poziom tła i pogarszając sekcjonowanie [267], [279].

Drugie z nich to dysk Yokogawy, modyfikujący koncepcję Nipkowa poprzez dodanie drugiego dysku z macierzą mikrosoczewek. Mikrosoczewki ogniskują światło wzbudzające bezpośrednio w otworach, zwiększając współczynnik wypełnienia oraz efektywność sprzężenia mocy. Skutkuje to większą jasnością i lepszym wykorzystaniem energii lasera przy zachowaniu właściwości konfokalnych, co czyni system szczególnie użytecznym w szybkiej mikroskopii żywych komórek [280].

Równoczesne wzbudzanie i detekcja wielu punktów umożliwiają wysokie częstotliwości akwizycji, istotne w badaniach procesów dynamicznych oraz obrazowaniu 3D w czasie. Ponieważ energia rozkłada się na wiele ognisk, chwilowa gęstość mocy w pojedynczym punkcie może być niższa niż w klasycznym CLSM przy porównywalnej szybkości rejestracji, co często ogranicza fototoksyczność i fotowysbielanie w żywych próbkach [280], [281].

W grubych lub silnie rozpraszających próbkach wielokrotnie rozproszone fotony zwiększają poziom tła. Część z nich może zostać zarejestrowana przez otwór nieodpowiadający miejscu wzbudzenia, co osłabia sekcjonowanie. W konsekwencji mikroskopy z wirującym dyskiem ustępują punktowemu CLSM w najbardziej rozpraszających tkankach, gdzie krytyczne jest efektywne odrzucanie sygnału spoza płaszczyzny ogniskowania.

Konstrukcyjnie średnica i rozstaw otworów determinują kompromis między jasnością, poziomem przesłuchu a jakością sekcjonowania [267], [273].

1.6. CLSM vs. wirujący dysk

W CLSM akwizycja ma charakter sekwencyjny (punkt po punkcie), dlatego czas rejestracji rośnie wraz z liczbą pikseli oraz przekrojów w osi z. System ten oferuje jednak dużą kontrolę parametrów (ROI, prędkość skanowania, uśrednianie, średnica otworu), co sprzyja uzyskiwaniu wysokiej jakości przekrojów optycznych i pracy w próbkach silnie rozpraszających. Mikroskop z wirującym dyskiem realizuje rejestrację równoległą w całym polu widzenia i jest szczególnie przydatny w szybkim obrazowaniu procesów dynamicznych (4D) w cienkich preparatach, hodowlach komórkowych i organoidach o umiarkowanej grubości [281].

W CLSM możliwe jest osiągnięcie wysokiego SNR dla słabych sygnałów dzięki detekcji punktowej, pracy w trybie zliczania fotonów oraz skutecznemu odrzucaniu tła pozaplanowego. Ograniczeniem pozostaje czas akwizycji oraz potencjalnie większa dawka przypadająca na piksel przy maksymalizacji jakości obrazu. Wirujący dysk często zapewnia korzystny kompromis SNR/czas w żywych próbkach, gdyż skraca czas ekspozycji klatki i obniża chwilową gęstość mocy; jednak w tkankach grubych i silnie rozpraszających degradacja SNR przez tło może być większa niż w CLSM.

W mikroskopach z wirującym dyskiem sygnał jest rejestrowany kamerą, najczęściej typu sCMOS (*scientific complementary metal oxide semiconductor*) lub EMCCD (*electron multiplication charge coupled device*). Kamery sCMOS łączą niski szum odczytu, szeroki zakres dynamiczny i wysoką szybkość, co sprzyja obrazowaniu ilościowemu oraz szybkim seriom czasowym. EMCCD oferują wzmocnienie elektronowe poprawiające detekcję w reżimie bardzo słabego sygnału, lecz kosztem zwiększenia szumu multiplikatywnego i zwykle mniejszego zakresu dynamicznego. Wybór detektora determinuje strategię ekspozycji, kontrolę prześwietleń (wysycenia sygnału) oraz metody normalizacji danych [267], [275]. Ze względu na możliwą niejednorodność oświetlenia w mikroskopii z wirującym dyskiem standardową procedurą jest korekcja *flat-field*, czyli technika cyfrowej obróbki sygnału mająca na celu redukcję różnic między pikselami w czułości fotodetektora (kompensacja różnych wzmocnień i prądów ciemnych) oraz zniekształceń na ścieżce optycznej.

1.7. Błędy i artefakty

W obrazowaniu fluorescencyjnym częstym źródłem tła jest autofluorescencja (np. elastyny, kolagenu, lipofuscyny), szczególnie istotna w tkankach oka. W obrazowaniu wielokolorowym istotnym źródłem błędów jest przenikanie widma emisji jednego fluoroforu do kanału rejestracji innego znacznika (*bleed-through*) oraz niezamierzone wzbudzenie dodatkowych fluoroforów przez zastosowaną linię laserową (*cross-excitation*). Ograniczenie tych efektów wymaga kontroli jednoznaczniowych, analizy nakładania się widm oraz odpowiedniego doboru filtrów i długości fal wzbudzenia [275]. W trybie odbiciowym istotne znaczenie mają refleksy pasożytnicze na granicach optycznych oraz tło rozproszenia, zwiększające ziarnistość obrazu i maskujące słabe kontrasty strukturalne.

Po stronie detekcji i elektroniki występują zjawiska nasycenia detektora (PMT/HyD) lub clipping w kamerach, prowadzące do utraty informacji ilościowej, a także niejednorodności oświetlenia (*shading*) i błędy korekcji *flat-field* (zwłaszcza w systemach z wirującym dyskiem). W seriach czasowych istotnym czynnikiem jest dryf ogniska i próbki (zmiany temperatury, relaksacja mechaniczna), który może imitować rzeczywiste zmiany biologiczne.

W obrazowaniu w głąb próbki kluczowe znaczenie ma dopasowanie współczynników załamania (medium immersyjne, grubość szkła nakrywkowego). Niedopasowanie prowadzi do aberracji sferycznej, poszerzenia PSF, spadku maksymalnej intensywności w ognisku oraz pozornych zmian sygnału z głębokością [274], [278].

2. Charakterystyka odbicia światła na powierzchni soczewek Si-Hy w mikroskopii konfokalnej

Zrozumienie optycznych właściwości powierzchni soczewek Si-Hy jest kluczowe dla prawidłowej interpretacji obrazów uzyskiwanych podczas ich obserwacji w mikroskopii konfokalnej. W ramach niniejszego etapu badań określono różnice w sygnale odbicia pomiędzy różnymi materiałami Si-Hy, co pozwoliło na dobór optymalnych parametrów akwizycji obrazu w dalszych badaniach.

Hipoteza dla tej części badania zakłada, że różnice w sygnale odbicia powierzchni soczewek Si-Hy, mierzone za pomocą mikroskopii konfokalnej, są istotnie związane z właściwościami materiału, w tym zawartością wody oraz modyfikacjami powierzchniowymi, i mogą stanowić podstawę do ich rozróżniania. Celem badania było ilościowe określenie tych różnic oraz ocena zależności między parametrami materiałowymi a sygnałem odbicia, w celu opracowania optymalnych ustawień akwizycji obrazu i stworzenia punktu odniesienia dla późniejszych eksperymentów obrazujących proces adsorpcji i penetracji lipidów w strukturze soczewek.

2.1. Materiały i metody

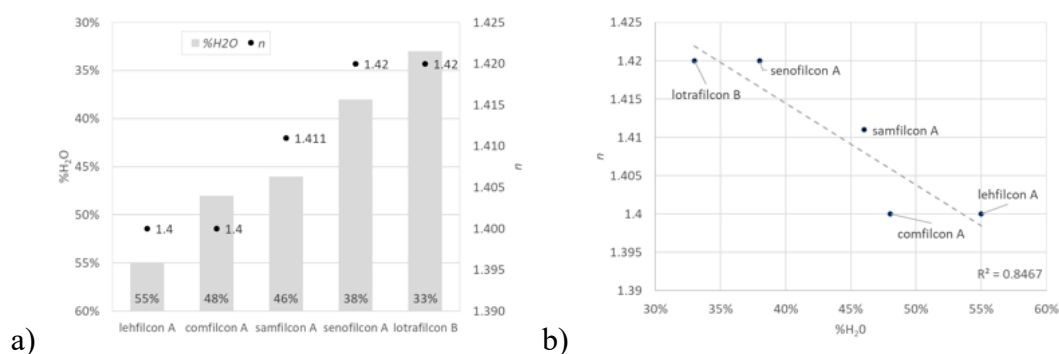
2.1.1. Soczewki kontaktowe

Do badań wybrano pięć materiałów soczewek Si-Hy wielokrotnego użytku, które wymieniono w Tabeli 8, gdzie wymieniono również parametry materiałowe. Wśród nich znajdują się zarówno produkty dobrze ugruntowane na rynku, jak i nowsze konstrukcje, różniące się m.in. zawartością wody i modyfikacjami powierzchni. Zbadano jedną soczewkę każdego materiału. Soczewki Total30 posiadają trwałe uwodnienie powierzchni uzyskane dzięki polimerowi MPC, a Air Optix plus Hydraglyde – powłokę plazmową. Na Rysunku 19 można zauważyć, że zależność pomiędzy zawartością wody a współczynnikiem załamania światła nie ma charakteru liniowego dla materiałów Si-Hy, w przeciwieństwie do klasycznych hydrożeli [282].

Tabela 8. Soczewki kontaktowe wybrane do badania (n – współczynnik załamania światła, H_2O – zawartość wody, CT – grubość centralna, Rep – tryb wymiany). Moc soczewek wynosiła $-3,00$ Dptr.

Nazwa handlowa	Material	Producent	n^*	H_2O (%) [*]	CT^* (mm)	Rep	Modyfikacje powierzchni
Acuvue Oasys	senofilcon A	Johnson & Johnson, Jacksonville, FL, USA	1.42	38	0.07	dwutygodniowy	–
Air Optix plus Hydraglyde	lotrafilcon B	Alcon, Fort Worth, TX, USA	1.42	33	0.08	miesięczny	w plazmie
Biofinity	comfilcon A	CooperVision, Pleasanton, CA, USA	1.40	48	0.08	miesięczny	–
Total30	lehtafilcon A	Alcon, Fort Worth, TX, USA	1.40	55(wewnątrz) ~100 (powierzchnia)	0.09	miesięczny	2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)
Ultra	samfilcon A	Bausch & Lomb, Rochester, NY, USA	1.411	46	0.07	miesięczny	–

* według danych producentów.



Rysunek 19 Zależność między współczynnikiem załamania światła n a zawartością wody $\%H_2O$ dla wybranych soczewek. a) wykres słupkowo-punktowy; odwrócona oś zawartości wody po lewej stronie ułatwia wizualizację trendu, b) zależność między n a $\%H_2O$ z dodaną linią trendu liniowego. Pomimo że wartości współczynników załamania pochodzą z niedokładnych danych producentów, współczynnik determinacji R^2 osiąga wartość 0,8467.

2.1.2. Przygotowanie próbek

Po wyjęciu z opakowań soczewki oczyszczano z resztek roztworu za pomocą biuły, a następnie umieszczano w płytkach wielodołkowych wypełnionych 2 ml PBS. Próbkę inkubowano w temperaturze pokojowej przez 23 ± 1 godziny, w zamkniętych komorach, aby zapewnić stabilne warunki hydratacji. Procedura została przeprowadzona na wzór innych badań [160], [227], [283], [284].

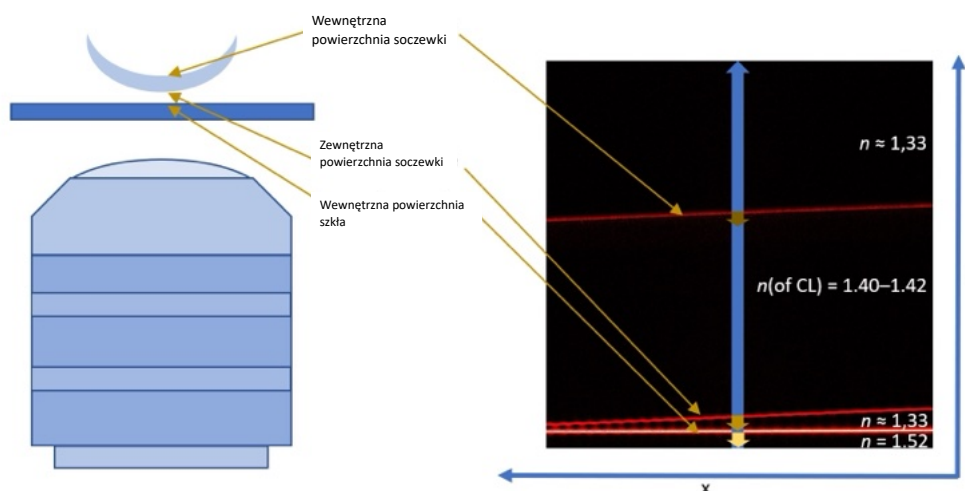
2.1.3. Pomiary mikroskopowe

Pomiary mikroskopowe przeprowadzono przy użyciu mikroskopu konfokalnego Leica TCS SP8 w konfiguracji odwróconej. Soczewki kontaktowe obrazowano w naczyniach ze szklanym dnem o średnicy 35 mm (grubość szkła 1,5 mm) z nakrywkami. Dla każdej soczewki stosowano ten sam protokół: na dno naczynka dodawano 50 μ l PBS, następnie umieszczano soczewkę powierzchnią zewnętrzną do dołu, po czym na jej górną powierzchnię nanoszono 100 μ l PBS. Naczynko z soczewką umieszczano na stoliku

mikroskopu. Powierzchnia szkła (dna naczynka) oraz powierzchnie soczewki były wizualizowane przy użyciu światła o długości fali 488 nm odbitego od próbki, które przechodziło przez akustooptyczny rozdzielacz wiązki (AOBS) ustawiony na detekcję światła odbitego i trafiało do detektora fotopowielacza (PMT) o zakresie czułości spektralnej 480–500 nm. Skanowanie w płaszczyźnie xz wykonywano w celu lokalizacji powierzchni szkła i soczewki. Rozmiar obszaru skanowania wynosił $150\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$ w płaszczyźnie xz.

Światło padające na granicę dwóch ośrodków o różnych współczynnikach załamania n_1, n_2 ulega odbiciu zgodnie z równaniami Fresnela dla współczynnika odbicia R . Im większa różnica współczynników załamania, tym większe odbicie. Dla światła padającego prostopadle równania te upraszczają się do wzoru: $R = \left(\frac{n_2 - n_1}{n_2 + n_1}\right)^2$. Powierzchnie soczewki podczas pomiaru nie były ustawione prostopadle do osi układu optycznego mikroskopu, jednak różnica była nie większa niż 3° . Ponieważ różnica współczynnika załamania między PBS a materiałem soczewki jest równa mniej niż 0,1, to błąd względny $\Delta R/R$ wprowadzany przez niedokładność prostopadłego ustawienia soczewki wynosił około 0,005. Z kolei, błąd względny pomiaru (jako iloraz wartości odchylenia standardowego i średniej), wynikający z obecności szumu w uzyskanych przekrojach xz został oszacowany na ok. 0,10–0,12, co umożliwia zaniedbanie błędu wynikającego z ustawienia powierzchni soczewki.

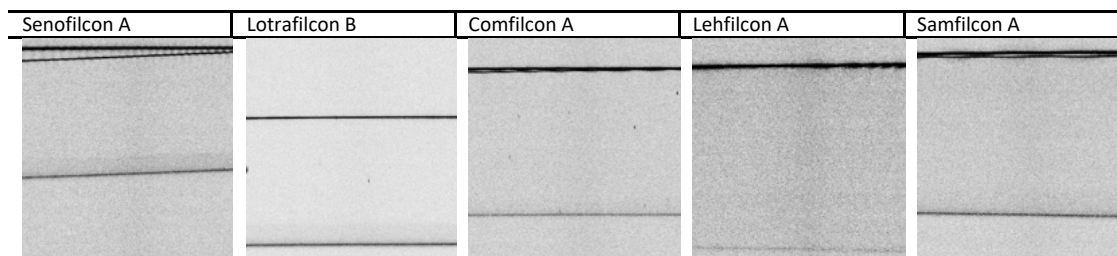
Współczynnik absorpcji wody μ_a dla długości fali 488 nm wynosi $0,00017\ \text{cm}^{-1}$ [285]. W przypadku PBS typowo uznaje się, że w zakresie widzialnym μ_a jest taki sam jak dla wody [286]. Oznacza to, że absorpcja dla typowych grubości soczewek kontaktowych jest tu zanedbywalna w porównaniu ze stratami wynikającymi z innych procesów optycznych (rozpraszanie, odbicia Fresnela), co jest częstą praktyką w badaniach tkanek i polimerów optycznych [287], [288]. Schemat pomiaru i przykładowy obraz przedstawiono na Rysunku 20.



Rysunek 20 (po lewej) Schemat konfiguracji mikroskopu i ułożenia próbek, (po prawej) przykład uzyskanego obrazu. Niebieska, długa strzałka wskazuje kierunek padania światła pochodzącego z mikroskopu. Krótsze strzałki, żółto-pomarańczowe oznaczają kierunek światła odbitego kolejno od (od góry): wewnętrznej powierzchni soczewki, zewnętrznej powierzchni soczewki oraz powierzchni dna naczynka (szkła)

2.2. Wyniki i dyskusja

Ponieważ oryginalne obrazy nie umożliwiały wyraźnej wizualnej identyfikacji granic (powierzchni soczewek), zostały one przetworzone w programie ImageJ 15.1n poprzez odwrócenie (tryb negatywu) oraz dostosowanie jasności i kontrastu. Rysunek 21 przedstawia zmodyfikowane obrazy, przygotowane wyłącznie w celach wizualizacyjnych. Wszystkie obliczenia wykonano na danych oryginalnych.

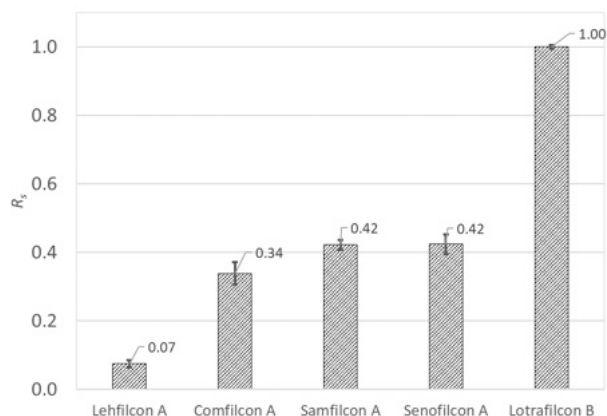


Rysunek 21 Przekształcone obrazy odbicia badanych soczewek, przedstawiające pięć przekrojów poprzecznych (xz). Obrazy są odwrócone o 180 stopni względem tych z Rysunku 20. Ciemniejsze linie oznaczają (od góry do dołu): wewnętrzną powierzchnię szkła, zewnętrzną powierzchnię soczewki kontaktowej (dla materiału senofilcon A linie są rozdzielone, w pozostałych przypadkach nakładają się), a dolna linia odpowiada wewnętrznej powierzchni soczewki. Nieprzekształcone obrazy dostępne są w materiałach uzupełniających, znajdujących się w repozytorium [289].

Dla soczewek wykonanych z materiałów lotrafilcon B, lehfilcon A, comfilcon A i samfilcon A, zewnętrzna powierzchnia soczewki może w obrazie nakładać się na powierzchnię szkła. Nakładanie się wynika z faktu, że pomiar mikroskopem konfokalnym prowadzono blisko środka soczewki, jednak nie w sposób idealny — soczewki leżą w naczynku i stykają się ze szklaną powierzchnią dna. Obecne są więc obie granice: szkło/PBS oraz PBS/soczewka, a odbicia od tych interfejsów nadal występują. Zjawisko to nie jest bezpośrednio widoczne w obrazach ze względu na ograniczoną rozdzielczość w osi z ($\sim 0,083 \mu\text{m}$) oraz szum mikroskopu.

Sygnał odbity od wewnętrznych powierzchni soczewek jest słabszy niż od powierzchni zewnętrznych, co wynika z częściowej absorpcji i rozpraszania światła w materiale soczewki. W przypadku soczewek z lehtfilcon A sygnał odbicia od powierzchni wewnętrznej jest wyraźnie mniejszy niż dla pozostałych materiałów — powierzchnia tych soczewek pokryta jest polimerem MPC [260], [290], a materiał zawiera 55% wody, przy czym hydrofilowe polimery na powierzchni stopniowo zwiększają jej zawartość ku wewnętrznej warstwie. Odwrotnie, najwyższy sygnał odbicia zaobserwowano dla soczewek z lotrafilcon B, które charakteryzują się niską zawartością wody, a dodatkowo powierzchnia jest modyfikowana plazmowo w procesie produkcji, co może wpływać na współczynnik załamania w warstwie granicznej. Przyjęto również, że pochłanianie światła w wodzie lub PBS jest nieistotne w porównaniu z odbiciem Fresnela [288].

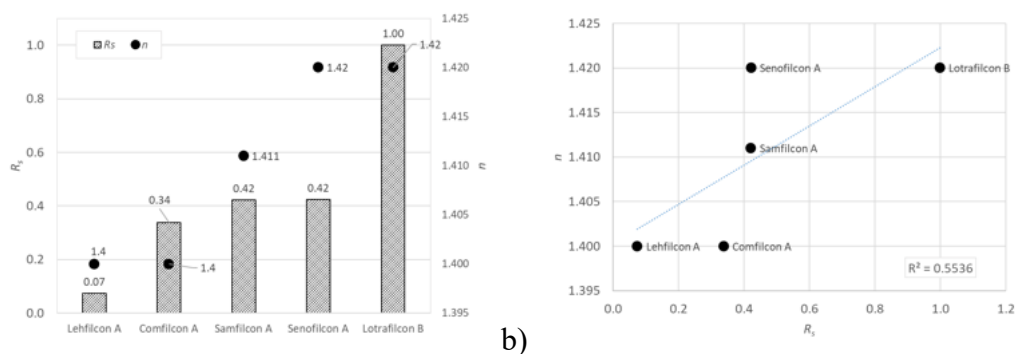
W celu numerycznego zobrazowania różnic w odbiciu od powierzchni wewnętrznych poszczególnych materiałów, obliczono średnią wartość odbicia z obrazów oryginalnych w programie ImageJ. Bezwymiarowe współczynniki: odbicia i transmisji (reflektancja R i transmitancja T) związane są ogólnym wzorem $R = 1 - T$. Oznaczmy przez R_1 i T_1 współczynniki pierwszej powierzchni (zewnętrznej) soczewki, zaś przez R_2 reflektancję drugiej powierzchni (wewnętrznej). Przy założeniu użycia naczynia wykonanego z tego samego materiału we wszystkich pomiarach, rejestrowany przez mikroskop sygnał odbicia od powierzchni wewnętrznej będzie zależny od ilości światła przechodzącego przez pierwszą powierzchnię i odbitego od drugiej powierzchni $R_S = C \cdot T_1 \cdot R_2 = C \cdot (1 - R_1) \cdot R_2$, przy czym C opisuje transmisję przez pozostałe elementy toru optycznego (obiektyw, naczynie) jako stałą transmitancję, a $R_1 = R_2$ (te same materiały po obu stronach soczewki). Dla każdej soczewki wartość R_S obliczano jako średnią $\pm$ odchylenie standardowe z pięciu, losowo wybranych obszarów $5 \times 50 \mu\text{m}$ (xz), obejmujących powierzchnię wewnętrzną oraz przylegające obszary PBS i materiału soczewki. Wyniki, znormalizowane do 1 dla najwyższej wartości (lotrafilcon A), przedstawiono na Rysunku 22. Normalizacja wyeliminowała jednostki arbitralne sygnału odbicia, uzyskanego przy tej samej mocy lasera.



Rysunek 22 Znormalizowany sygnał odbicia R_s dla analizowanych soczewek kontaktowych. Słupki błędów oznaczają wartości odchylenia standardowego.

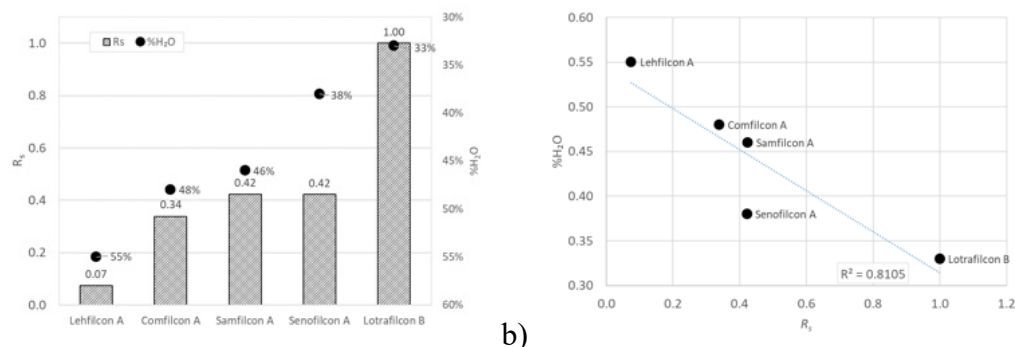
Rysunek 23 przedstawia zależność między sygnałem odbicia R_s a współczynnikiem załamania światła n . Współczynnik załamania materiału soczewki kontaktowej zależy zarówno od rodzaju polimeru, z którego jest wykonana, jak i od zawartości wody w materiale. Oczekuje się, że wysoka zawartość wody powoduje, iż n będzie zbliżony do wartości dla wody [291]. Można więc przypuszczać, że różnice w wartościach sygnału odbicia powinny sięgać ok. 40%. Jednak, jak widać na Rysunku 23, różnice te są znacznie większe. Wyróżniają się dwa materiały soczewek – lehtfilcon A oraz lotrafilcon B – oba modyfikowane powierzchniowo (choć różnymi metodami). Co więcej, soczewki o tym samym współczynniku załamania, lecz bez i z modyfikacją powierzchni, wykazują znacząco różny sygnał odbicia (lehtfilcon A vs. comfilcon A oraz senofilcon A vs. lotrafilcon B). Można również zauważyć, że w przypadku soczewek bez modyfikacji powierzchni sygnał R_s nie różni się pomiędzy materiałami, za to różnice pojawiają się wraz z pojawieniem się modyfikacji. Ze względu jednak na ograniczoną liczbę analizowanych materiałów i charakter przedstawionych danych obserwacje te mają charakter opisowy i nie stanowią podstawy do wykazania statystycznie istotnych różnic.

Rozbieżności między wartościami oczekiwanymi a zmierzonymi mogą wynikać z niepewności pomiarów n . Dane podawane przez producentów są zwykle określone tylko dla jednej długości fali: 589 nm (linia D sodu) lub 546,1 nm (linia e rtęci). Dodatkowo, choć norma ISO 18369 wymaga, by refraktometr Abbego stosowany do pomiaru n miał dokładność 0,0005, producenci podają wartości jedynie z dokładnością do dwóch miejsc po przecinku. Badania o większej precyzji, np. interferometryczne, są rzadkością [291].



Rysunek 23 Zależność między sygnałem odbicia R_s a współczynnikiem załamania światła n . a) wykres słupkowo-punktowy, b) zależność między R_s a n z dodaną linią trendu liniowego.

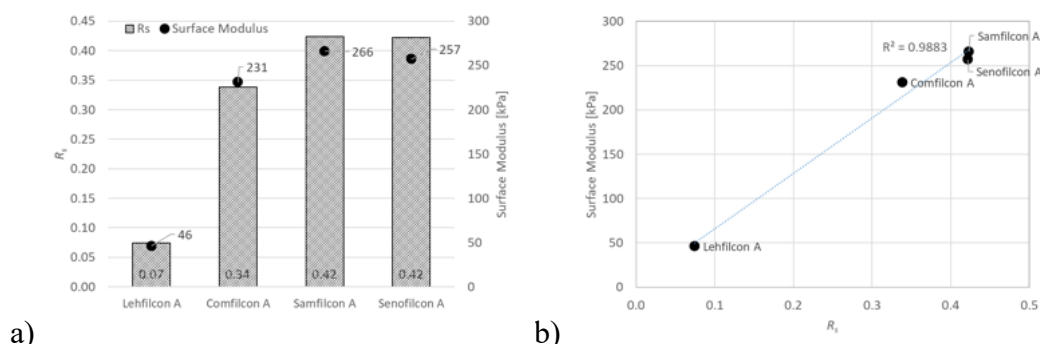
Rysunek 24 przedstawia zależność między R_s a $\%H_2O$. Można zaobserwować ogólną tendencję, że im wyższa zawartość wody, tym niższy R_s , choć jedna soczewka wykonana z senofilcon A odbiega od tego trendu. Współczynnik determinacji R^2 wynosi 0,8105. Przedstawione dane nie pozwalają więc na sformułowanie wniosku o jednoznacznej zależności statystycznej między zawartością wody a R_s . Mogą natomiast sugerować, że sama zawartość wody nie tłumaczy w pełni obserwowanych różnic, zwłaszcza w przypadku materiałów poddanych modyfikacji powierzchni.



Rysunek 24 Zależność między sygnałem odbicia R_s a zawartością wody $\%H_2O$; a) wykres słupkowo-punktowy — oś zawartości wody po lewej stronie została odwrócona w celu lepszego zobrazowania trendu, b) zależność między R_s a $\%H_2O$ z dodaną linią trendu liniowego.

Teoria Maxwella-Garnetta przewiduje, że im większa zawartość jednej z frakcji w materiale kompozytowym, tym efektywny współczynnik załamania światła jest bliższy współczynnikowi tej frakcji. Tę zależność widać na Rysunku 19 – im mniejsza zawartość wody w materiale, tym większy wpływ właściwości polimeru na parametry takie jak n [292]. Wysoka zawartość wody wpływa również na powierzchniowy moduł Younga. Sharma i wsp. w swoim badaniu zastosowali nowatorską sondę AFM o zwiększonej czułości i dokładności do pomiaru modułu powierzchniowego wybranych soczewek Si-Hy. Moduł powierzchniowy soczewki z lehfilcon A (46 ± 7 kPa) był istotnie niższy w porównaniu z comfilcon A (231 ± 51 kPa), senofilcon A (257 ± 36 kPa) i samfilcon A (266 ± 39 kPa) ($p < 0,05$) [293]. Soczewki z materiału lotrafilcon B nie były uwzględnione w badaniu.

Rysunek 25 przedstawia zależność między R_S a modulem powierzchniowym, jednak ze względu na niewielką liczbę punktów nie można wyznaczyć wiarygodnego trendu.



Rysunek 25 Zależność między sygnałem odbicia R_S a modulem powierzchniowym; a) wykres słupkowo-punktowy, b) zależność między R_S a modulem powierzchniowym z dodaną linią trendu liniowego. Surface Modulus- moduł powierzchniowy/

2.3. Wnioski

Mikroskopia konfokalna w trybie odbiciowym umożliwia uzyskanie obrazów przekrojów soczewek kontaktowych, co pozwala na analizę ich właściwości odbiciowych. Na podstawie współczynników załamania światła podawanych przez producentów można by oczekiwać, że maksymalna różnica w ilości odbijanego światła wyniesie ok. 40%. Jednak w przeprowadzonych pomiarach nie stwierdzono takiej zależności dla badanych soczewek. Co więcej, soczewki o tym samym deklarowanym współczynniku załamania mogą charakteryzować się różnymi wartościami odbicia. Właściwości materiału (wnętrza soczewki), takie jak n i $\%H_2O$, nie korelują z sygnałem odbicia R_S w przypadku soczewek z modyfikacją powierzchni (lehficon A i lotrafilcon B). Możliwa jest natomiast korelacja z powierzchniowym modulem Younga, choć należy podkreślić, że może być ona niewiarygodna z powodu ograniczonej liczby danych.

W niniejszym badaniu nie mierzono rzeczywistych właściwości powierzchni soczewek, takich jak chropowatość, gdyż wymagałoby to zastosowania innych technik, np. AFM [294]. Jednym z możliwych kierunków przyszłych badań może być określenie zależności między sygnałem odbicia a chropowatością powierzchni soczewki.

Uzyskane wyniki wskazują, że analiza sygnału odbicia z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej w trybie odbiciowym może ujawniać różnice pomiędzy badanymi materiałami soczewek, w tym pomiędzy soczewkami z modyfikacją powierzchni i bez niej. Należy jednak podkreślić, że obserwacja ta ma charakter wstępny i opisowy, ponieważ w niniejszym badaniu nie oceniano powtarzalności metody, a wartości R_S wyznaczano jako średnią z pięciu losowo wybranych obszarów jednej soczewki dla każdego materiału. Z tego względu uzyskane wyniki nie stanowią podstawy do sformułowania statystycznie

potwierdzonego kryterium rozróżniania soczewek na podstawie obecności modyfikacji powierzchni. Można jednak uznać, że metoda ta ma potencjał jako narzędzie przesiewowe w laboratoriach badawczych opracowujących nowe materiały i modyfikacje powierzchni soczewek, na przykład do wstępnej oceny czy modyfikacja powierzchni pojawiła się na soczewce oraz czy obejmuje analizowany obszar. Podobna metoda została opatentowana przez firmę Novartis, obecnie Alcon [295]. W przyszłości podejście to może stanowić podstawę do opracowania szybkiego testu wspomagającego ocenę nowych materiałów i modyfikacji powierzchni soczewek, jednak wymaga to dalszej walidacji metodycznej.

W szczególności zaobserwowano wyraźne różnice we właściwościach soczewek z różnymi rodzajami modyfikacji powierzchni, co może wskazywać na potrzebę bardziej szczegółowej charakterystyki miękkich soczewek kontaktowych z uwzględnieniem cech ich warstwy powierzchniowej.

Wyniki potwierdzają również, że mikroskopia konfokalna w trybie odbiciowym może być skutecznym, szybkim i niedestrukcyjnym narzędziem do identyfikacji różnic w powierzchniowych właściwościach optycznych soczewek Si-Hy, a także do lokalizacji miejsc pojawiania się depozytów lipidowych na ich powierzchni. Metoda ta może zatem wspierać analizę procesu adsorpcji lipidów na soczewkach kontaktowych. Jej potencjalne znaczenie dla oceny zmian funkcji optycznej lub komfortu noszenia soczewek ma charakter pośredni i wymaga dalszych badań [175]. Dodatkowo metoda odbiciowa może służyć do szybkiej identyfikacji położenia powierzchni soczewki, co ułatwia odpowiednie ustawienie parametrów akwizycji w sytuacji, gdy mierzone są inne sygnały, na przykład sygnał fluorescencji znakowanych lipidów. Możliwość tę wykorzystano w kolejnych badaniach własnych, w których metoda odbiciowa pozwoliła na precyzyjne ustawienie położenia powierzchni soczewki i dokładną akwizycję sygnału pochodzącego z depozytów lipidowych z tego samego miejsca.

Należy jednak podkreślić, że opisana metoda nie ma obecnie charakteru w pełni ilościowego. Nie przeprowadzono analizy potencjalnych błędów pomiarowych ani oceny powtarzalności pomiarów pomiędzy różnymi soczewkami tego samego materiału. Z tego względu wnioski dotyczące możliwości różnicowania materiałów na podstawie sygnału odbicia należy traktować jako wstępne.

Uzyskane wyniki nie powinny być uogólniane na wszystkie soczewki kontaktowe. Potwierdzono jednak, że zastosowana metodyka pozwala na wykrywanie różnic w wybranych właściwościach optycznych powierzchni soczewek przy użyciu mikroskopii konfokalnej.

Po tym wstępnym badaniu konieczne są dalsze prace, obejmujące większą liczbę próbek oraz ocenę powtarzalności metody, aby potwierdzić użyteczność tego podejścia dla innych typów soczewek.

Podsumowując, wyniki pierwszego etapu prac pozwoliły na precyzyjną kwantyfikację sygnału odbicia od powierzchni różnych materiałów Si-Hy oraz wypracowanie standardów pozycjonowania wiązki w osi z. Wykazana w tym badaniu zmienność charakterystyk odbicia, wynikająca z obecności powłok plazmowych oraz różnic w strukturze powierzchniowej soczewek, dostarczyła niezbędnej bazy referencyjnej. Uzyskanie tych parametrów było krytyczne dla dalszych prac, ponieważ umożliwiło w kolejnym kroku prawidłowe ustawienie pozycji powierzchni badanej soczewki. Dopiero posiadanie tak zdefiniowanego „punktu odniesienia” pozwoliło na rzetelną ocenę rozmieszczenia cholesterolu w przestrzeni 3D, co stanowiło istotę drugiego etapu ścieżki badawczej.

3. Analiza osadów i dyfuzji cholesterolu w soczewkach kontaktowych Si-Hy z wykorzystaniem fluorescencyjnej mikroskopii konfokalnej

Celem badania było przeanalizowanie procesów osadzania i dyfuzji cholesterolu w soczewkach kontaktowych Si-Hy z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej poprzez obserwację zachowania NBD-CHL na różnych materiałach Si-Hy, co pozwoliło określić wzorce interakcji lipidów z tymi soczewkami. Przyjęto hipotezę, że różnice w składzie chemicznym materiałów oraz w zastosowanych modyfikacjach powierzchniowych prowadzą do istotnych zmian w stopniu osadzania i przenikania cholesterolu, a soczewki z określonymi modyfikacjami wykazują większą odporność na gromadzenie lipidów i ograniczają ich dyfuzję w głąb materiału.

3.1. Materiały i metody

3.1.1. Soczewki kontaktowe

Tabela 9 przedstawia soczewki kontaktowe wybrane do tego badania. Wszystkie soczewki wykonano z materiałów Si-Hy, (ISO/FDA Grupa V) i sklasyfikowane jako soczewki wielokrotnego użytku – dwutygodniowe lub miesięczne. Dobór soczewek miał na celu objęcie szerokiego zakresu materiałów Si-Hy.

Tabela 9 Soczewki kontaktowe wybrane do badania (H_2O — zawartość wody, CT — grubość centralna, Rep — tryb wymiany). Moc soczewek wynosiła $-3,00 D$.

Nazwa handlowa	Material	Producent	H_2O [%]	CT [mm]	Rep	Dodatkowe cechy
Acuvue Oasys	senofilcon A	Johnson & Johnson, Jacksonville, FL, USA	38	0,07	dwutygodniowy	Technologia HYDRACLEAR® PLUS, filtr UV klasy 1
Air Optix plus Hydraglyde	lotrafilcon B	Alcon, Fort Worth, TX, USA	33	0,08	miesięczny	Technologie SmartShield®, HydraGlyde® Moisture Matrix
Biofinity	comfilcon A	CooperVision, Pleasanton, CA, USA	48	0,08	miesięczny	Technologia Aquaform®, System Neutralizacji Aberracji™
Ultra	samfilcon A	Bausch & Lomb, Rochester, NY, USA	46	0,07	miesięczny	Technologia MoistureSeal®

3.1.2. Przygotowanie próbek

Każdą soczewkę wyjęto z roztworu opakowaniowego (blistra), a następnie usunięto z jej powierzchni pozostałą ciecz za pomocą bibuły. Soczewki umieszczano w płytce wielodolekowej, przy czym każdy dołek zawierał 2 mL roztworu PBS–NBD–CHL z cholesterolem znakowanym fluorescencyjnie. W celu przygotowania roztworu PBS–NBD–CHL fluorescencyjny analog NBD-CHL (22-(N-(7-nitrobenz-2-Oxa-1,3-diazol-4-yl)amino)-

23,24-bisnor-5-cholesterol-3 β -ol) firmy ThermoFisher Scientific, rozpuszczono w dimetylosulfotlenku (DMSO) — również z ThermoFisher Scientific — w stężeniu 10 mg w 2 mL DMSO, uzyskując roztwór o stężeniu 5 mg/mL. Następnie roztwór ten połączono z PBS (pH 7,4), aby uzyskać docelowe stężenie 0,0018 mg/mL, zgodnie z badaniem Lorenz *i wsp.* [218]. Należy zaznaczyć, że dodanie grupy NBD zmienia hydrofilowość [296] i rozmiar cząsteczki, co może potencjalnie wpływać na jej zachowanie dyfuzyjne i podział między hydrofilowe i hydrofobowe segmenty polimerów Si-Hy. Mimo że ta modyfikacja może oddziaływać na wyniki, NBD-CHL był z powodzeniem stosowany w poprzednich badaniach do analizy interakcji lipidów z materiałami soczewek Si-Hy, stanowiąc przydatny model do badania zachowania cholesterolu w tych układach [252], [255]. Powstały roztwór dokładnie wymieszano, aby zapewnić równomierne rozmieszczenie lipidów. Dołki zamknięto zakręcanymi nakrętkami, a soczewki pozostawiono w roztworze na 21 ± 1 h w temperaturze pokojowej.

3.1.3. *Pomiary mikroskopowe*

Pomiary mikroskopowe wykonano przy użyciu mikroskopu konfokalnego Leica TCS SP8 w konfiguracji odwróconej. Soczewki kontaktowe umieszczano w szalce szklanej o średnicy 35 mm. Dla każdej soczewki stosowano ten sam protokół: na dno naczynia dodawano najpierw 50 μ L roztworu PBS, a następnie soczewkę umieszczano w roztworze powierzchnią zewnętrzną do dołu. Następnie na soczewkę nanoszono 100 μ L roztworu inkubacyjnego PBS–NBD–CHL. Szalka z soczewką była umieszczana na stoliku mikroskopu. Schemat konfiguracji przedstawiono na Rysunku 26.

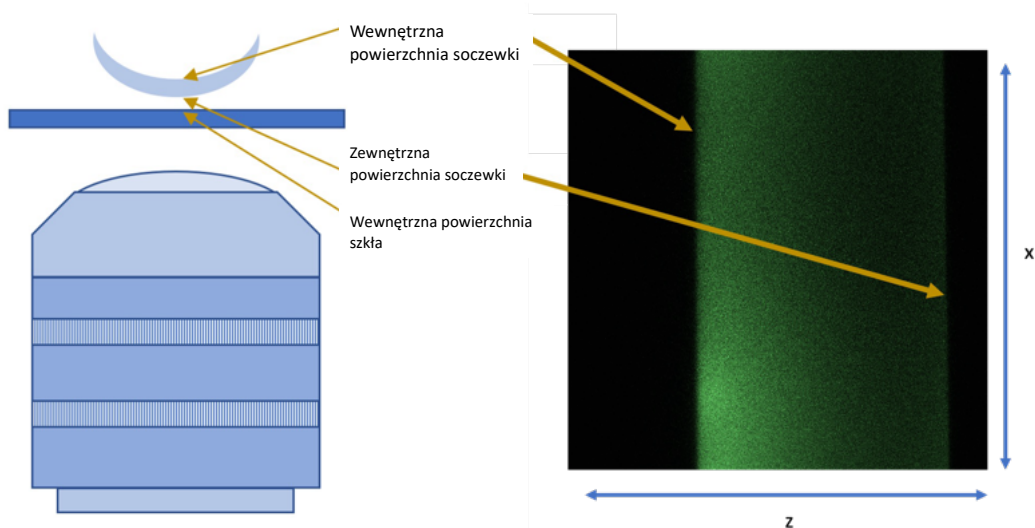
Fluorescencję NBD-CHL wzbudzano wiązką lasera o długości fali 488 nm, a emisję rejestrowano w zakresie 500–550 nm przy użyciu detektora PMT (fotopowielacza), przy wyłączeniu trybu automatycznego wzmocnienia (autogain). Parametry obrazowania fluorescencji zamieszczono w tabeli 10. Powierzchnie szkiełka nakrywkowego oraz soczewki wizualizowano światłem odbitym o długości fali 488 nm, które po przejściu przez akustooptyczny rozdzielacz wiązki (AOBS) ustawiony na detekcję światła odbitego trafiało do detektora PMT w zakresie widmowym 480–500 nm.

Tabela 10 Parametry obrazowania soczewek za pomocą mikroskopu konfokalnego Leica TCS SP8

Ustawienia konfokalne					
Parametr			Wartość		
Kąt rotatora			0°		
Tryb skanowania			xyz		
Kierunek skanowania			X Jednokierunkowy		
Prędkość skanowania			600 Hz		
Powiększenie			63x		
Obiektów			HC PL APO CS2 63x/1.20 WATER		
Medium immersyjne			Woda		
Apertura numeryczna			1.2		
Współczynnik załamania			1.33		
Zoom			1.23		
Pinhole			111.5 μm		
Pinhole Airy			1 AU		
Emission Wavelength			580 nm		
Frame Average			1		
Line Average			2		
Laser					
Laser			Status		
405 pulsed			On		
Długość Światła		Migawka	Intensywność		
488 nm		Włączona	11.0364%		
Detektor					
	Kanał	Typ	Aktywność	Wzmocnienie (Gain)	Offset
PMT 5	Kanał 5	500–550 nm	Active	796	0

W celu zlokalizowania powierzchni szkła i soczewki najpierw wykonywano skanowanie w trybie odbicia w płaszczyźnie xz, w którym oś z była skierowana prostopadle do powierzchni soczewki. Fluorescencyjne cząsteczki lipidów rejestrowano z powierzchni i wnętrza soczewki, stosując ten sam układ (obrazowanie przekrojowe przez soczewkę). Po zlokalizowaniu wewnętrznej powierzchni soczewki odpowiednio ustawiano głębokość obrazowania, a tryb skanowania zmieniano na xyz. Obrazy zbierano w zakresie $\pm 10 \mu\text{m}$ powyżej i poniżej powierzchni wewnętrznej, uzyskując z-stack o grubości $20 \mu\text{m}$, składający się z 58 skanów xy o polu $150 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$ i kroku w osi z wynoszącym $0,345 \mu\text{m}$ (345 nm).

Modele trójwymiarowe oraz filmy tworzą z zebranych danych przy użyciu oprogramowania Leica LAS X (wersja 1.4.6 28433).

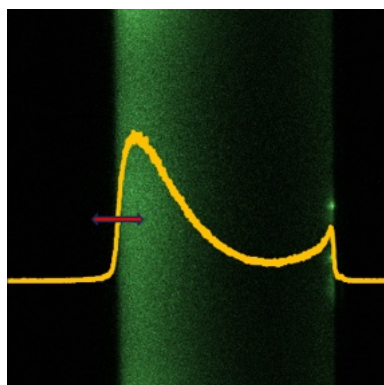


Rysunek 26 (lewa) Schemat układu mikroskopu i próbek, (prawa) przykład obrazu wynikowego. Rozmiar skanu to $z=150\ \mu\text{m}$, $x=150\ \mu\text{m}$

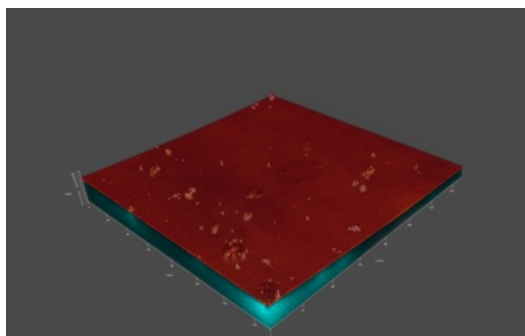
Aby upewnić się, że wyniki nie są zaburzone przez obecność wolnego barwnika, próbki kontrolne dla każdego rodzaju materiału soczewki inkubowano w roztworze PBS (pH 7,4) bez dodatku NBD-CHL. Próbkę tę poddano takim samym pomiarom fluorescencji i odbicia jak soczewki badane. W soczewkach kontrolnych nie wykryto sygnału autofluorescencji, a pomiary odbicia nie wykazały obecności złogów na powierzchni [266]. Potwierdza to, że zaobserwowana fluorescencja w próbkach badanych wynikała z interakcji NBD-CHL z materiałami soczewek, a nie z artefaktów spowodowanych wolnym barwnikiem.

3.2. Wyniki

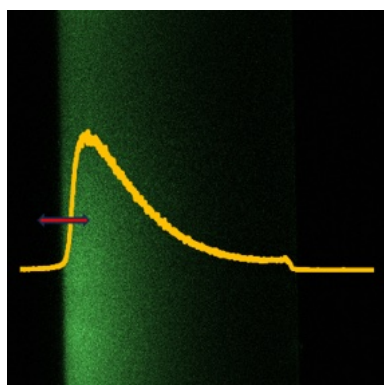
Rysunki 27–30 przedstawiają wyniki pomiarów mikroskopowych. Pokazana jest wewnętrzna powierzchnia soczewki, a na lewych panelach widoczne są przekroje wzdłuż osi xz (sygnał fluorescencji). Intensywność koloru zielonego wskazuje na obecność fluorescencyjnie znakowanego lipidu na powierzchni soczewki oraz jego absorpcję przez materiał soczewki. Żółte wykresy przedstawiają intensywność fluorescencji dla każdego pomiaru, bez normalizacji sygnału. Czerwone strzałki wskazują zakres pomiaru wzdłuż osi xyz, służących następnie do obrazowania modeli 3D. Pomiary xyz przedstawiono na dołączonych rysunkach w postaci modeli 3D (złożenie obrazów xy wzdłuż osi z), pokazujących zarówno sygnały fluorescencji, jak i odbicia. Modele 3D ilustrują lokalizację i wielkość aglomeratów.



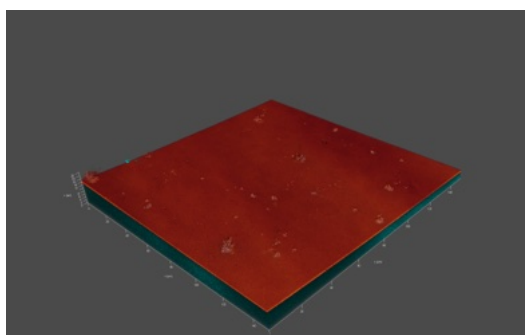
b)



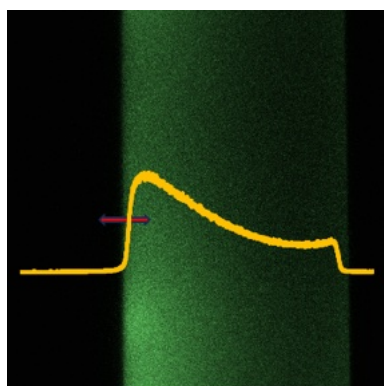
Rysunek 27 (a) obrazy xz ($150\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$) oraz (b) obrazy xyz ($150\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$) soczewki kontaktowej wykonanej z materiału senofilcon A.



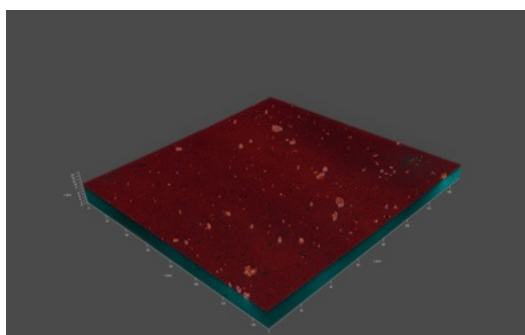
b)



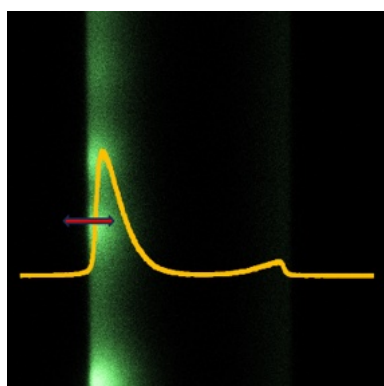
Rysunek 28 (a) obrazy xz ($150\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$) oraz (b) obrazy xyz ($150\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$) soczewki kontaktowej wykonanej z materiału lotrafilcon B.



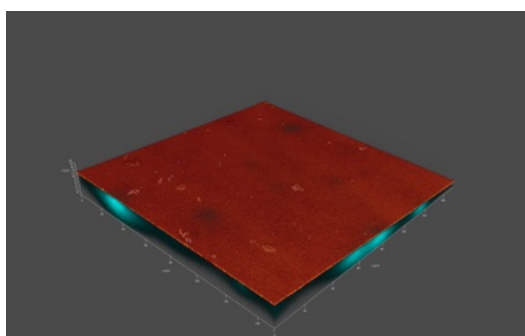
b)



Rysunek 29 (a) obrazy xz ($150\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$) oraz (b) obrazy xyz ($150\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$) soczewki kontaktowej wykonanej z materiału comfilcon A.

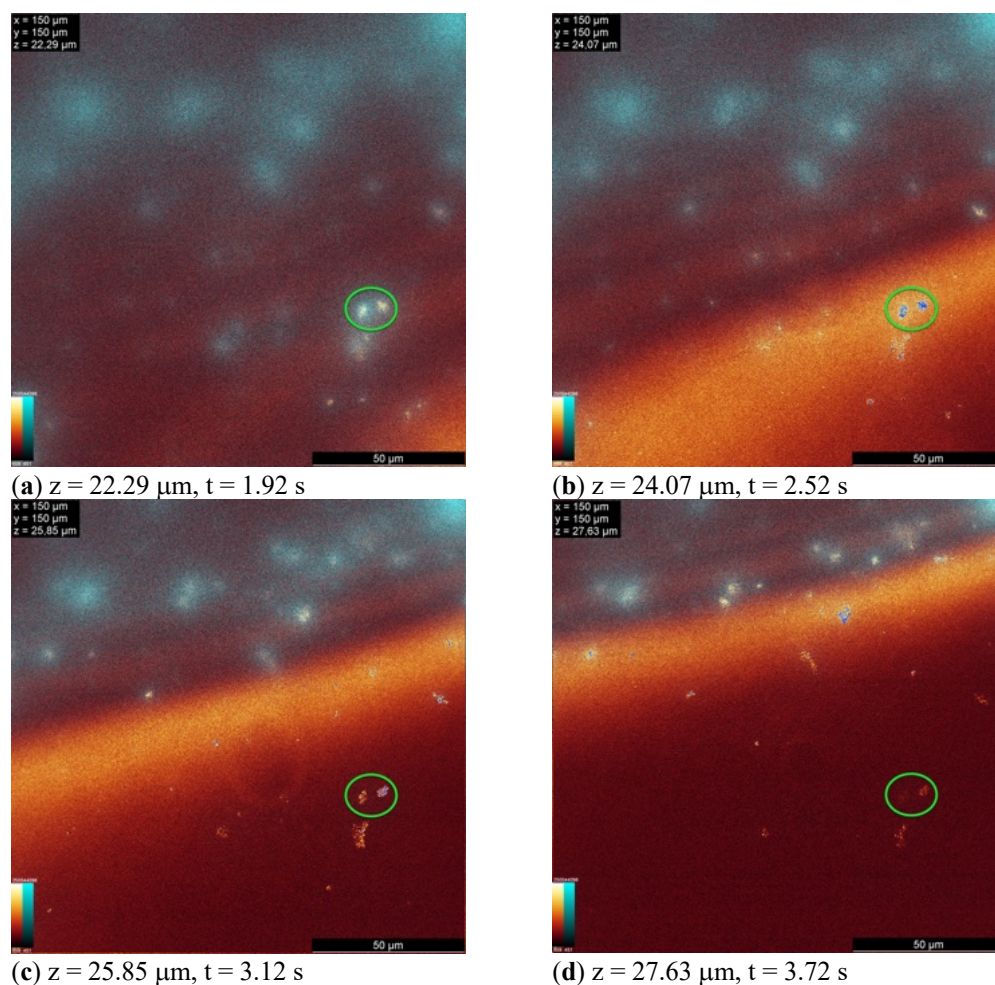


b)



Rysunek 30 (a) obrazy xz ($150\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$) oraz (b) obrazy xyz ($150\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m} \times 150\ \mu\text{m}$) soczewki kontaktowej wykonanej z materiału samfilcon A.

Dla każdej soczewki przygotowano nagrania wideo wizualizujące ruch aglomeratów. Każde nagranie składa się z serii skanów xy wykonanych na kolejnych wartościach z (z tego samego stosu z wykorzystanego do obrazów 3D). Pierwsza klatka pokazuje najgłębszy skan wewnątrz materiału soczewki, a każda kolejna przedstawia przesunięcie wzdłuż osi z. Klatki zmieniają się co 0,12 s. Nagrania są dostępne w materiałach uzupełniających. Rysunek 31 prezentuje cztery klatki z nagrania dla soczewki z senofilcon A, obejmujące obszar 5,34 μm wokół powierzchni soczewki.



Rysunek 31 Cztery klatki z nagrania wideo soczewki z materiału senofilcon A, przedstawiające cztery skany xy w różnych pozycjach (z) oraz w różnych momentach od rozpoczęcia pomiaru (t).

3.3. Ograniczenia

Chociaż niniejsze badanie dostarcza cennych informacji na temat depozycji cholesterolu na soczewkach kontaktowych Si-Hy, należy zwrócić uwagę na kilka ograniczeń. Zastosowanie prostego roztworu PBS z NBD-CHL nie odtwarza w pełni złożoności filmu łożowego, który zawiera białka, mucyny i elektrolity. Nowsze publikacje podkreślają znaczenie stosowania bardziej złożonego ATS, aby uchwycić interakcje pomiędzy wszystkimi składnikami filmu łożowego przy analizie profili depozycji [252], [253], [255]. Takie

uproszczenie może prowadzić do wyników, które nie w pełni odzwierciedlają wzorce osadzania lipidów *in vivo*. W przyszłych badaniach należy zatem uwzględnić ATS o bardziej złożonym składzie, aby lepiej odwzorować rzeczywistą kompozycję i interakcje filmu łożowego.

Soczewki były moczone w roztworze cholesterol–PBS przez 21 godzin w warunkach statycznych, co nie odzwierciedla dynamicznego środowiska oka, obejmującego przepływ łez, mruganie i cykle wysychania. Czynniki te mogą istotnie wpływać na proces osadzania lipidów, a w tym badaniu nie zostały uwzględnione. W przyszłych eksperymentach należy rozważyć zastosowanie metod testowania dynamicznego, które lepiej symulują warunki rzeczywiste. Ponadto metoda ta nie odzwierciedla typowych cykli codziennego noszenia (12 h) i czyszczenia (12 h) soczewek w ciągu 2–4 tygodni. Choć okres inkubacji był przydatny do ustalenia podstawowych wzorców depozycji, przyszłe badania powinny obejmować powtarzane cykle noszenia i czyszczenia w celu uzyskania bardziej klinicznie istotnych danych.

Z powodu powyższych ograniczeń zastosowanie kliniczne uzyskanych wyników może być ograniczone. Choć badanie dostarcza istotnych danych bazowych, konieczne są dalsze prace z wykorzystaniem bardziej złożonych i dynamicznych modeli, aby potwierdzić uzyskane wyniki w warunkach praktycznych.

3.4. Dyskusja

Na podstawie obserwacji intensywności sygnałów fluorescencji wzdłuż osi z można stwierdzić, że więcej lipidów osadziło się na wewnętrznej powierzchni soczewki (widoczne w częściach a Rysunków 27-30, jako lewa krawędź zielonego zabarwienia) w porównaniu z powierzchnią zewnętrzną. Należy jednak uwzględnić ograniczenia mikroskopii konfokalnej, szczególnie związane z obniżoną intensywnością sygnału przy obrazowaniu przez grubsze medium, co może być dodatkowo zaburzane przez fotowysielanie wywołane lasem. Ponadto, chociaż zakładano, że soczewka mogła przylegać do dna płytki, bardziej prawdopodobne jest, że unosiła się w roztworze, co mogło wpływać na rozmieszczenie i dostępność lipidów na jej powierzchni. Dla każdej soczewki można zauważyć obszary o większej i mniejszej intensywności, co odpowiada miejscom adhezji aglomeratów lipidowych do powierzchni soczewki oraz dyfuzji lipidów do jej wnętrza. Jest to również widoczne w modelach 3D (na krawędziach). Wykresy intensywności fluorescencji pokazują istotne różnice w rozkładzie sygnału. Na przykład porównując soczewki wykonane z comfilcon A i samfilcon A, można zauważyć, że w przypadku tych pierwszych lipidy

swobodniej dyfundują do wnętrza materiału. Może to wskazywać na różnice w właściwościach poszczególnych materiałów w zakresie interakcji z lipidami, można stąd założyć, że materiał samfilcon A stanowi większą barierę dla dyfuzji lipidów niż comfilcon A. Badanie Rex *i wsp.* (2018) dotyczące składu pierwiastkowego powierzchni soczewek Si-Hy wspiera hipotezę, że różnice w składzie chemicznym na powierzchni, takie jak obecność krzemu, tlenu i węgla, mogą wpływać na sposób, w jaki lipidy, w tym cholesterol, oddziałują i dyfundują przez te materiały [297]. Podkreśla to znaczenie uwzględniania zarówno właściwości objętościowych, jak i powierzchniowych soczewek przy analizie osadzania i dyfuzji lipidów.

Adsorpcja lipidów na materiałach soczewek kontaktowych jest zależna od kilku kluczowych czynników, w tym zawartości wody, składu chemicznego powierzchni i struktury molekularnej polimerów [298]. Według niedawnego przeglądu Ishihary *i wsp.* (2023), interakcja pomiędzy lipidami a soczewkami Si-Hy jest w dużej mierze determinowana równowagą pomiędzy właściwościami hydrofobowymi i hydrofilowymi materiału, jak również obecnością modyfikacji powierzchniowych mających na celu redukcję depozycji lipidów. Przykładowo soczewki o większej zawartości wody mogą wykazywać inne właściwości adsorpcji lipidów w porównaniu do tych o niższej zawartości wody, co wynika z różnic w ich hydrofilowości. Ponadto modyfikacje powierzchni, takie jak obróbka plazmowa, mogą zmieniać sposób interakcji powierzchni soczewki z lipidami, zarówno zwiększając, jak i zmniejszając ich adsorpcję [299].

Uzyskane wyniki warto odnieść do pracy Qiao *i wsp.* [255], którzy badali lokalizację depozytów estrów cholesterolu (CE-NBD) w soczewkach Si-Hy wykonanych z materiałów: lotrafilcon B, comfilcon A oraz samfilcon A, z użyciem mikroskopii konfokalnej po inkubacji w ATS oraz w modelu obejmującym wielodniowe cykle „noszenia” i pielęgnacji. Autorzy wykazali, że rozkład sygnału fluorescencji zależy istotnie od składu chemicznego materiału. W przypadku comfilcon A obserwowano względnie bardziej jednorodną dystrybucję sygnału w objętości materiału, natomiast w lotrafilcon B i samfilcon A sygnał był bardziej zlokalizowany przy powierzchniach w początkowych punktach czasowych. Wyniki te są kierunkowo zgodne z obserwacjami przedstawionymi na Rysunkach 27–30, gdzie dla niektórych materiałów (np. comfilcon A) widoczna jest większa penetracja sygnału w głąb struktury, podczas gdy dla innych (np. lotrafilcon B) sygnał ma bardziej powierzchniowy charakter.

Należy podkreślić, że Qiao *i wsp.* zwrócili uwagę na istotne ograniczenie mikroskopii konfokalnej związane z tłumieniem sygnału w funkcji głębokości oraz potencjalną

asymetrią intensywności wynikającą z orientacji próbki względem obiektywu. Autorzy weryfikowali ten efekt poprzez obrazowanie soczewek w odwróconej orientacji. W niniejszym badaniu zastosowano obrazowanie przekrojowe (xz) oraz z-stack w zakresie $\pm 10 \mu\text{m}$ wokół powierzchni wewnętrznej, jednak nie wykonywano systematycznej analizy po odwróceniu soczewki. Aczkolwiek w badaniu opisanym w niniejszej rozprawie, powierzchnia wewnętrzna była ustawiona jako kolejna, a więc z potencjalnie większymi stratami intensywności fluorescencji, a mimo to wykazywała znacznie większy sygnał.

Modele 3D ujawniają, że morfologia i liczba aglomeratów na powierzchni oraz w roztworze różnią się w zależności od rodzaju soczewki. W większości soczewek aglomeraty lipidów są stosunkowo małe i przytwierdzone do powierzchni, jak pokazano na Rysunku 31.

Nagranie, którego część klatek zaprezentowano na rysunku 31, pokazuje, że aglomeraty lipidów są trwale przytwierdzone do powierzchni i pozostają nieruchome. Zielone okręgi wskazują, że aglomeraty na soczewkach z senofilcon A nie przemieszczają się. W materiałach uzupełniających można zaobserwować korelację pomiędzy lokalizacją depozytów lipidowych na powierzchni a sygnałem fluorescencji z materiału soczewki. W przypadku innych soczewek widoczne są nieliczne lipidy unoszące się, oddalone od powierzchni. Znaczną liczbę unoszących się aglomeratów można zauważyć nad powierzchnią soczewek wykonanych z lotrafilconu B. Może to wynikać z zastosowania technologii modyfikacji powierzchni plazmowej, określanej przez producenta jako SmartShield. Technologia ta zmienia właściwości powierzchni soczewki i chroni ją przed osadami. Wcześniejsze badania wykazały, że soczewki te są szczególnie odporne na osadzanie się depozytów, takich jak cholesterol, co przypisuje się tej modyfikacji [214], [256], [300]. Widoczne luźne aglomeraty mogą sugerować, że będą one łatwiejsze do usunięcia podczas pielęgnacji i czyszczenia soczewek przez użytkownika.

Różnice w zachowaniu dyfuzji lipidów obserwowane w różnych soczewkach rodzą istotne, ale nierozstrzygnięte pytanie: czy korzystniejsze jest, aby soczewka charakteryzowała się wysoką dyfuzyjnością i akumulowała lipidy wewnątrz swojej struktury, czy też niską dyfuzyjnością, z lipidami głównie na powierzchni?

Z jednej strony lipidy gromadzące się na powierzchni soczewki mogą negatywnie wpływać na jej zwilżalność i potencjalnie prowadzić do destabilizacji filmu łzowego. Powierzchniowe agregaty lipidów mogą również zwiększać prawdopodobieństwo narastania osadów. Z drugiej strony lipidy, które dyfundują do wnętrza materiału soczewki, mogą

wpływać na jej właściwości objętościowe, takie jak przepuszczalność tlenu, transmisyjność światła czy zawartość wody.

Na obecnym etapie nie można jednoznacznie stwierdzić, który z tych scenariuszy jest bardziej niekorzystny dla jakości użytkowania soczewek. Zarówno akumulacja lipidów na powierzchni, jak i ich nasycenie wewnątrz materiału stanowią odrębne wyzwania wymagające dalszych badań.

Dodatkowe materiały uzupełniające, w tym trójwymiarowe modele oraz nagrania obrazujące ruch aglomeratów lipidowych, są dostępne online i są gotowe do pobrania z repozytorium [301]. Udostępnione pliki umożliwiają szczegółowe zapoznanie się z przestrzenną dystrybucją depozytów lipidowych oraz dynamiką ich zachowania na powierzchni i wewnątrz badanych soczewek, co stanowi istotne uzupełnienie wyników przedstawionych w niniejszym opracowaniu.

3.5. Wnioski

Badanie uwidocznilo dyfuzję i osadzanie się lipidów na powierzchniach oraz wewnątrz materiałów różnych soczewek Si-Hy, wskazując na zmienność interakcji lipidów w zależności od rodzaju materiału soczewki.

Wykazano różnice w zachowaniu lipidów na powierzchni soczewki i ponad nią, co potwierdza obecność i rolę zmodyfikowanej powierzchni soczewek Si-Hy.

Praca ta przyczynia się do lepszego zrozumienia mechanizmów osadzania i penetracji lipidów w materiałach Si-Hy w warunkach *in vitro*. Uzyskane wyniki mogą stanowić podstawę do dalszych badań łączących obserwacje mikroskopowe z parametrami klinicznymi, takimi jak komfort noszenia czy stabilność filmu łzowego, jednak w niniejszym projekcie nie oceniano bezpośrednio tych aspektów.

Zróznicowany poziom absorpcji oraz obserwowane różnice morfologiczne między materiałami soczewek mogą stanowić podstawę do opracowania nowych projektów soczewek i rozwiązań pielęgnacyjnych, ukierunkowanych na minimalizowanie depozycji lipidów.

Podsumowując drugi etap prac, opracowana procedura pozwoliła na skuteczne zmapowanie przestrzennego rozkładu cholesterolu wewnątrz matrycy Si-Hy po procesie inkubacji. Uzyskane profile intensywności oraz modele 3D dostarczyły informacji o różnicach w penetracji lipidów dla poszczególnych materiałów w stanie ustalonym.

Mimo tych osiągnięć, badanie ujawniło istotne ograniczenia stosowanej metodyki. Statyczna natura pomiarów uniemożliwiła precyzyjną ocenę samego momentu inicjacji

adsorpcji oraz śledzenie dynamiki tworzenia się aglomeratów w pierwszych sekundach kontaktu soczewki z roztworem lipidowym. Ponadto, ograniczone pole widzenia standardowego mikroskopu konfokalnego utrudniało analizę rzadszych zdarzeń powierzchniowych, co mogło rzutować na reprezentatywność wyników ilościowych. Te zidentyfikowane bariery stały się bezpośrednim bodźcem do podjęcia trzeciego etapu badań. Wymagało to przeniesienia eksperymentu na platformę o znacznie wyższej rozdzielczości czasowej i przestronnejszym polu obrazowania – mikroskop z wirującym dyskiem Yokogawy.

4. Nowa metoda obrazowania procesów osadzania na powierzchni oraz transportu lipidów w matrycy soczewek Si-Hy *in vitro*.

Osadzanie się lipidów na soczewkach Si-Hy stanowi istotny problem praktyczny, potencjalnie wpływający na komfort użytkowania oraz właściwości optyczne i fizykochemiczne soczewek, jednak dotychczasowe techniki badawcze w większości pomijały początkowe etapy interakcji lipidów z powierzchnią i wnętrzem materiału. W niniejszym badaniu opracowano nowatorską metodę obrazowania z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej z wirującym dyskiem (*spinning disc*), umożliwiającą rejestrację w czasie rzeczywistym procesów adhezji i transportu cholesterolu do wnętrza materiału, od momentu pierwszego kontaktu lipidu z soczewką. Celem badania było zastosowanie tej metody do analizy zachowania cholesterolu, a docelowo również innych lipidów, na powierzchni i w matrycy różnych materiałów Si-Hy, a hipoteza zakładała, że różnice w składzie chemicznym i modyfikacjach powierzchni soczewek determinują tempo oraz charakter jego depozycji i penetracji, możliwe do uchwycenia już w początkowej fazie kontaktu.

Uzyskane wyniki mają istotne znaczenie dla głównego celu rozprawy, ponieważ potwierdzają, że mikroskopia konfokalna z wirującym dyskiem może stanowić skuteczne narzędzie do badania wczesnych etapów interakcji lipidów z powierzchnią i wnętrzem soczewek Si-Hy. Możliwość rejestracji dynamiki tworzenia się aglomeratów oraz ich dalszego transportu do wnętrza materiału stwarza podstawę do lepszego zrozumienia mechanizmów osadzania się cholesterolu, co może mieć znaczenie w kontekście kolejnych badań oceniających wpływ złogów lipidowych na właściwości fizykochemiczne i komfort noszenia soczewek. Opracowana metodyka może być w przyszłości wykorzystana do projektowania nowych materiałów i powłok o zwiększonej odporności na depozycję lipidów oraz do tworzenia modeli predykcyjnych, uwzględniających zachowanie lipidów w warunkach zbliżonych do *in vivo*.

4.1. Materiały i metody

4.1.1. Soczewki kontaktowe

Tabela 11 przedstawia zestawienie soczewek kontaktowych wykorzystanych w badaniu, z których wszystkie wykonane są z materiałów Si-Hy sklasyfikowanych w grupie V ISO/FDA. Dobór obejmuje zarówno soczewki dwutygodniowe, jak i miesięczne, wybrane w celu uwzględnienia szerokiego zakresu właściwości materiałów Si-Hy.

Tabela 11 Soczewki kontaktowe wybrane do badania (H_2O – zawartość wody, CT – grubość centralna, Rep – tryb wymiany). Moc optyczna soczewek wynosiła $-3,00$ Dptr.

Nazwa handlowa	Material	Producent	H_2O [%]	CT [mm]	Rep	Dodatkowe cechy
Acuvue Oasys	senofilcon A	Johnson & Johnson, Jacksonville, FL, USA	38	0.07	Dwutygodniowy	Technologia Hydraclear® Plus, filtr UV klasy 1
Biofinity	comfilcon A	CooperVision, Pleasanton, CA, USA	48	0.08	Miesięczny	Technologia Aquaform®, System neutralizacji aberracji™
Clarity Elite	somofilcon A	CooperVision, Pleasanton, CA, USA	56	0.07	Miesięczny	Technologia AquaGen™, Advanced Edge Technology
Pure Vision 2	balafilcon A	Bausch & Lomb, Rochester, NY, USA	36	0.07	Miesięczny	High Definition™ Optics, Technologia ComfortMoist™
Ultra	samfilcon A	Bausch & Lomb, Rochester, NY, USA	46	0.07	Miesięczny	Technologia MoistureSeal®

4.1.2. Przygotowanie próbek

Aby zapewnić spójne warunki do analizy osadzania się lipidów soczewki kontaktowe przygotowano według poniższego protokołu. Najpierw każdą z nich wyjęto z blistra i przeniesiono do pojemnika wypełnionego 5 mL PBS, aby usunąć pozostałości płynu opakowaniowego. Proces płukania trwał 30 minut.

Następnie każdą soczewkę zanurzono w 2 mL PBS zawierającego nanomolowe stężenie barwnika fluorescencyjnego Atto 847 na 30 minut w temperaturze $36^{\circ}C$. Temperatura ta została wybrana, aby jak najdokładniej odtworzyć warunki fizjologiczne ludzkiego oka, optymalizując warunki osadzania lipidów.

Jako modelowy lipid wybrano NBD-CHL (22-(N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino)-23,24-bisnor-5-cholesterol; ThermoFisher Scientific), ponieważ cholesterol był najczęściej badanym lipidowym składnikiem osadów na soczewkach kontaktowych [179], [205], [208], [209], [252], [265]. W celu przygotowania roztworu PBS–NBD–CHL, fluorescencyjny analog NBD-CHL rozpuszczono w DMSO, również ThermoFisher Scientific) w stężeniu 10 mg w 2 mL DMSO, uzyskując roztwór o stężeniu 5 mg/mL. Następnie połączono go z PBS (pH 7,4), aby uzyskać docelowe stężenie 0,0036 mg/mL. W rezultacie końcowe stężenie DMSO w roztworze roboczym wynosiło 0,072% (v/v). Tak niskie stężenie nie powinno wpływać na integralność soczewki, zachowanie dyfuzji lipidów ani jakość sygnału fluorescencyjnego w warunkach zastosowanych w eksperymencie.

4.1.3. Pomiary mikroskopowe

Aby przygotować soczewki kontaktowe do obrazowania, wykonano następujące kroki:

1. Aplikacja PBS: Na szkiełko pomiarowe naniesiono 50 μ L PBS, aby stworzyć uwodnioną powierzchnię i ustabilizować soczewkę.
2. Umieszczenie i stabilizacja soczewki: Soczewkę kontaktową umieszczono na szkiełku wewnętrzną powierzchnią skierowaną ku górze, aby odtworzyć fizjologiczną orientację w stronę filmu łożowego oraz utworzyć stabilny rezerwuuar dla fazy wodnej podczas obserwacji. Dodano dodatkowe 50 μ L PBS, aby soczewka pozostała nawilżona i stabilna w trakcie obrazowania.
3. Ustawienie mikroskopu: Mikroskop został ustawiony i wyostrojony na wewnętrzną powierzchnię soczewki w celu uzyskania optymalnej jakości obrazu, wykorzystując sygnał z barwnika Atto 847.
4. Dodanie roztworu NBD-CHL: Do układu dodano 50 μ L PBS zawierającego NBD-CHL, uzyskując końcowe stężenie lipidów w obszarze testowym wynoszące 0,0018 mg/mL, co ściśle odpowiada wartości podanej przez Lorenza *i* *wsp.* [218]. Stężenie to wybrano na podstawie wcześniejszych badań, aby skutecznie zobrazować interakcje lipidów z materiałem soczewki [263].

Całe obrazowanie prowadzono w stałej temperaturze 36°C, aby odtworzyć fizjologiczne warunki powierzchni oka.

Obrazy rejestrowano przy użyciu odwróconego mikroskopu Axio Observer Z.1 (Carl Zeiss) wyposażonego w jednostkę wirującego dysku CSU-X1 (Yokogawa), kamerę Prime BSI EMCCD (Teledyne Photometrics) oraz obiektyw 63 $\times$ /1.2 z immersją wodną (Carl Zeiss). Fluorescencję soczewki (Atto 847) w kanale dalekiej czerwieni wzbudzano laserem o długości fali 640 nm i detekowano w zakresie 575–625 nm, natomiast fluorescencję NBD-CHL w kanale zielonym wzbudzano laserem 488 nm i detekowano w zakresie 500–550 nm.

Aby ocenić interakcje cholesterolu z powierzchnią soczewki, rejestrowano serię czasową obrazów w układzie siatki 3 $\times$ 3 pól widzenia (każde 376 $\times$ 258 μ m, co stanowi ok. 0,09% całkowitej powierzchni soczewki), z rozmiarem piksela 86 $\times$ 86 nm. Obrazy wykonywano co 3,3 sekundy. Pozycję w osi z dostosowywano na podstawie sygnału z kanału dalekiej czerwieni (barwnik Atto 847), aby zapewnić obrazowanie tuż nad powierzchnią soczewki. Umożliwiało to wizualizację przyłączania się lipidów od momentu ich pierwszego kontaktu z soczewką. Parametry akwizycji przedstawiono w tabeli 12.

Tabela 12 Ustawienia akwizycji fluorescencji w mikroskopie Zeiss Spinning Disc

Parametr	Wartość
Obiektyw	C-Apochromat 63x/1.20 W Korr UV VIS IR
Optovar	1,0× Tubelens extended
Reflektor	brak
Metoda kontrastu	fluorescencja
Źródło światła	AOTF1.LaserLine2
Intensywność źródła światła	10,00 %
Długość fali oświetlenia	487–489
Kolor kanału	zielony
Długość fali wzbudzenia	493
Długość fali emisji	517
Efektywna apertura numeryczna (NA)	1,2
Urządzenie obrazujące	PrimeBSI left
Adapter kamery	1,2× EMCCD Camera Adapter
Czas ekspozycji	50 ms
Głębokość ogniskowania	0,96 μm
Grubość sekcji optycznej	1,39 μm
Tryb binningu	1,1

Każdy pomiar trwał 15 minut, co pozwalało na ciągłą obserwację przyłączania się aglomeratów lipidowych do powierzchni soczewki. Zmiany intensywności fluorescencji w obserwowanym obszarze dostarczały informacji o rozmieszczeniu i transporcie cholesterolu na powierzchni soczewki i w jej matrycy. Po wstępnej obserwacji interakcji powierzchniowej wybierano najbardziej wyraźne aglomeraty lipidowe do szczegółowych skanów wzdłuż osi z. Umożliwiało to pogłębioną analizę zachowania lipidów na powierzchni i wewnątrz soczewki, śledzenie ich transportu do wnętrza oraz rozkładu na powierzchni.

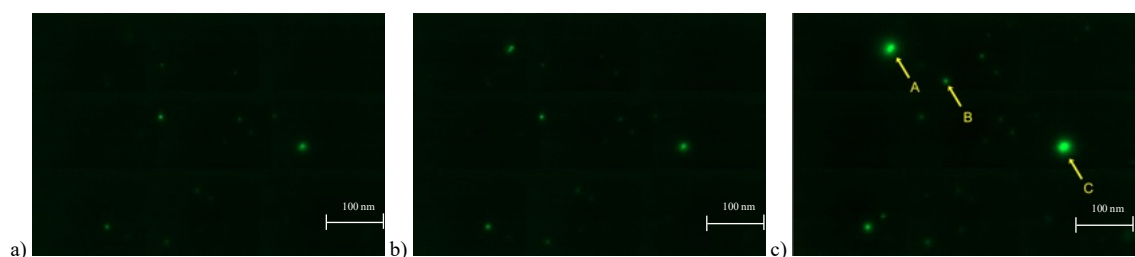
Komorę obrazującą zamknięto, aby ograniczyć parowanie. Nie zaobserwowano widocznej zmiany objętości kropli w trakcie 15-minutowych sesji obrazowania, a stężenie lipidów uznawano za stałe przez cały eksperyment.

Łącznie przeanalizowano 10 soczewek kontaktowych (po dwie z każdego testowanego materiału). Dla każdej soczewki przygotowano film przedstawiający zmiany intensywności fluorescencji na powierzchni, uwidaczniający miejsca powstawania złogów lipidowych. Dodatkowo wykonano skan fluorescencyjny powierzchni soczewki, aby zmapować miejsca osadzania się aglomeratów lipidowych.

4.2. Wyniki i dyskusja

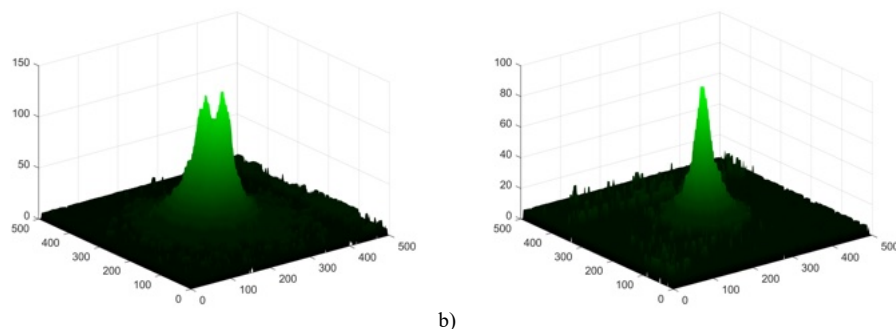
Większość przykładowych obrazów przedstawionych w niniejszej pracy pochodzi z obrazowania soczewek comfilcon A i służą one wyłącznie do zilustrowania możliwości nowo opracowanej metody wizualizacji. Wnioski wyciągnięte z badań odnoszą się do wszystkich testowanych typów soczewek, a pełne zestawy danych dla wszystkich pomiarów dostępne są w repozytorium wskazanym w opisach rysunków.

Rysunek 32 przedstawia trzy przykładowe obrazy sygnału fluorescencji w płaszczyźnie powierzchni soczewki (płaszczyzna xy). Intensywność w każdym pikselu jest proporcjonalna do ilości zgromadzonego lipidów. Widoczna jest dynamika powstawania i znikania aglomeratów (klastrów). Ustawienia czułości fotopowielacza umożliwiają wizualizację aglomeratów o różnych rozmiarach, dających sygnały o różnej intensywności. Dzięki zastosowaniu wirującego dysku Yokogawy możliwe było obserwowanie ruchu lipidów tuż nad powierzchnią soczewki, ich przemieszczania się po niej oraz przyłączania, zgodnie z metodologią przedstawioną w części 4.1.3 niniejszego rozdziału. Analiza pomiarów wykonanych dla różnych materiałów, a także dla różnych soczewek wykonanych z tego samego materiału, nie ujawniła jednoznacznych wzorców, co sugeruje, że proces adhezji lipidów jest złożony i zależy od wielu czynników. Zmienny rozmiar agregatów lipidowych wydaje się również wpływać na rozległość złożeń na powierzchni soczewki.



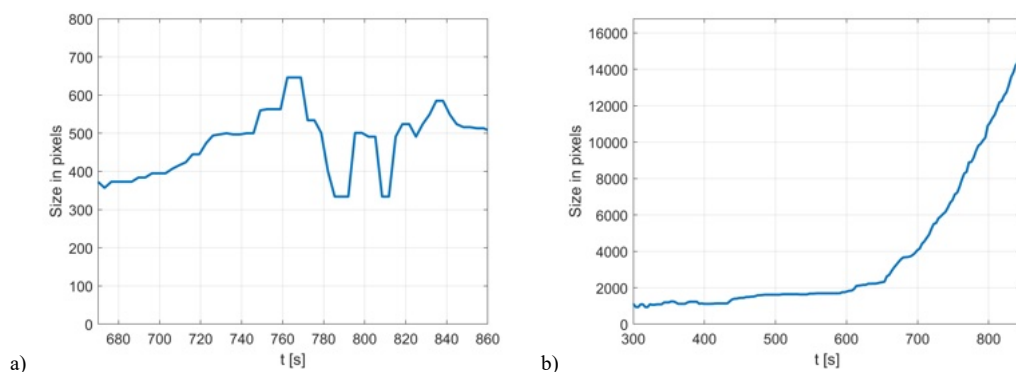
Rysunek 32 Sygnał fluorescencji w płaszczyźnie powierzchni soczewki (comfilcon A). Czas od rozpoczęcia pomiaru: a) $t = 07m:28s:577$, b) $t = 08m:12s:635$, c) $t = 14m:48s:269$. Rozmiar obrazów: $617 \mu m \times 424 \mu m$. Litery pokazane na rysunku c) oznaczają aglomeraty wybrane do dalszej wizualizacji. Wszystkie klatki dla soczewek z tabeli 11 dostępne są online w repozytorium [302].

Uzyskana seria klatek w płaszczyźnie xy umożliwia trójwymiarową wizualizację procesu odkładania cholesterolu. Rysunek 33 przedstawia klatki z serii dla soczewki comfilcon A (tej samej co na Rysunku 32), lecz pokazuje tylko dwa różne klastry. Większość aglomeratów gromadzi się w postaci kulistych skupisk o najwyższym stężeniu lipidów w centrum, co wskazuje na pojawienie się w tym miejscu pojedynczego aglomeratu lipidów (Rysunek 33 b); jednak w niektórych przypadkach dwa lub więcej aglomeratów nakłada się na siebie, jak to przykładowo obrazuje Rysunek 33 a. Ponadto, ponieważ cholesterol jest praktycznie nierozpuszczalny w wodzie, nowe złogi cholesterolu lokalizują się głównie w miejscach wcześniejszych złogów, co imituje analogiczny proces w wolnej cieczy, wynikający z wysokiej zawartości wody w soczewkach. Może to również wyjaśniać, dlaczego klinicznie można zaobserwować duże złogi lipidów. Niezależnie od odkładania się cholesterolu, transport tego lipidu do soczewki jest kontynuowany. Jeśli sygnał fluorescencyjny na powierzchni soczewki wzrasta wraz z upływem czasu, oznacza to, że proces odkładania się jest dominujący w stosunku do transportu.



Rysunek 33 Trójwymiarowa wizualizacja pojedynczej klatki na podstawie sygnału fluorescencji w płaszczyźnie xy dla dwóch różnych aglomeratów (comfilcon A). a) aglomerat A z Rysunek 32 c, $t = 09m:20s:297$, widoczne dwa połączone aglomeraty b) pojedynczy aglomerat B z Rysunek 32 c, $t = 14m:58s:269$. Oś z wskazują siłę sygnału, na osiach x,y przedstawione są piksele gdzie rozmiar 1 piksela to $0,086 \mu m$. Animacje dla wszystkich soczewek z tabeli 7 dostępne są online w repozytorium [302].

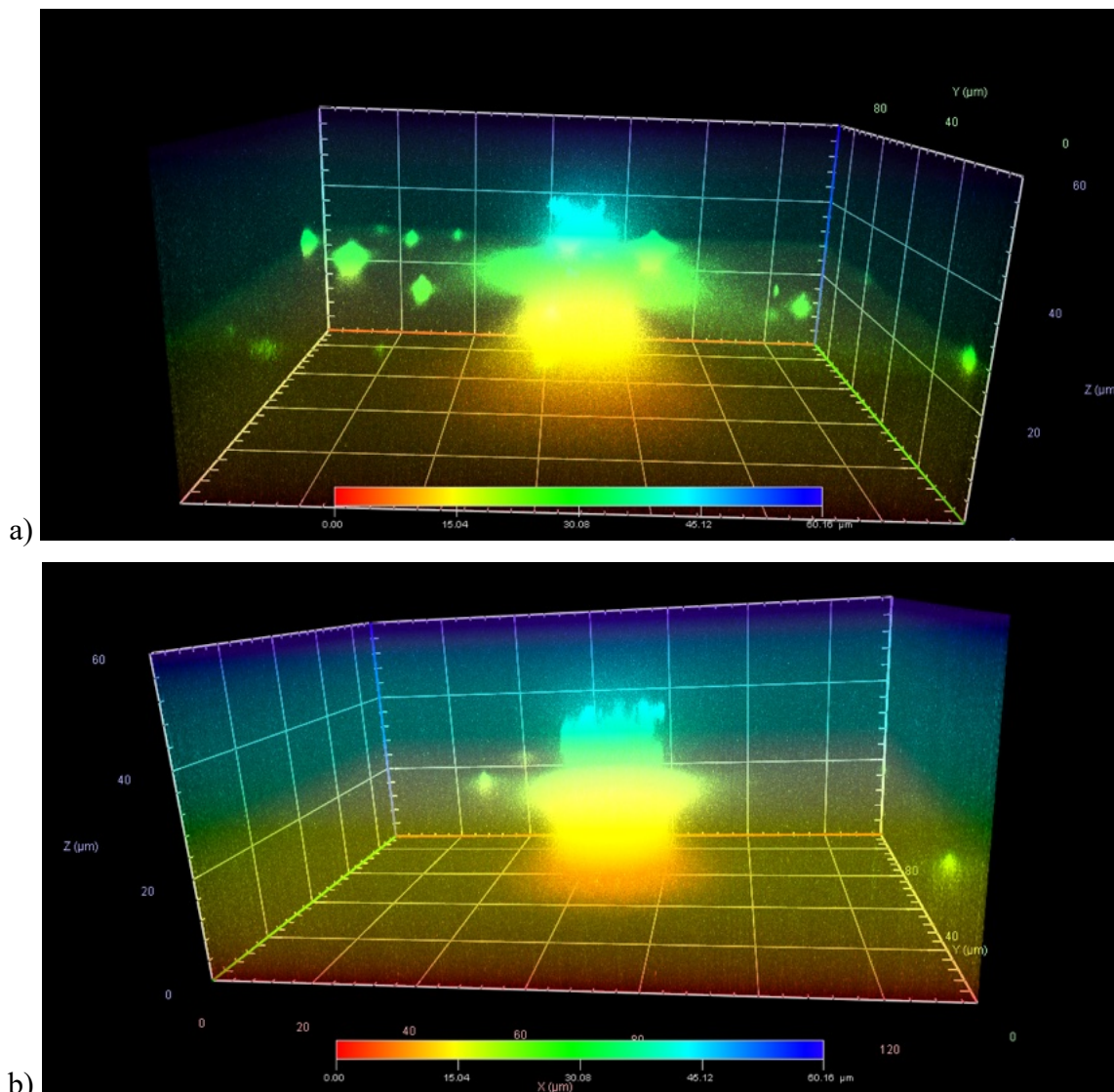
Cechą, która może wzbogacić analizę procesu odkładania lipidów, jest zmienność w czasie rozmiaru pojedynczego aglomeratu na powierzchni soczewki. Rysunek 34 przedstawia wykresy powierzchni aglomeratu w płaszczyźnie powierzchni soczewki, mierzonej jako liczba punktów, w których intensywność sygnału fluorescencji nie jest mniejsza niż połowa maksymalnej intensywności dla tego fragmentu skupiska. Aby wyeliminować wpływ szumu przy słabych sygnałach, oś czasu zaczyna się w momencie pojawienia się pierwszego złoju. Pokazano dwa różne przypadki: na Rysunku 34 a rozmiar ulega fluktuacjom, co oznacza, że część aglomeratu oddziela się od skupiska; na Rysunku 34 b tempo depozycji przewyższa tempo infiltracji, co oznacza, że na powierzchni odkłada się więcej cholesterolu niż jest transportowane do wnętrza soczewki.



Rysunek 34 Zmiana rozmiaru aglomeratów w funkcji czasu (comfilcon A). a) aglomerat B z Rysunku 32, b) aglomerat C z Rysunku 32

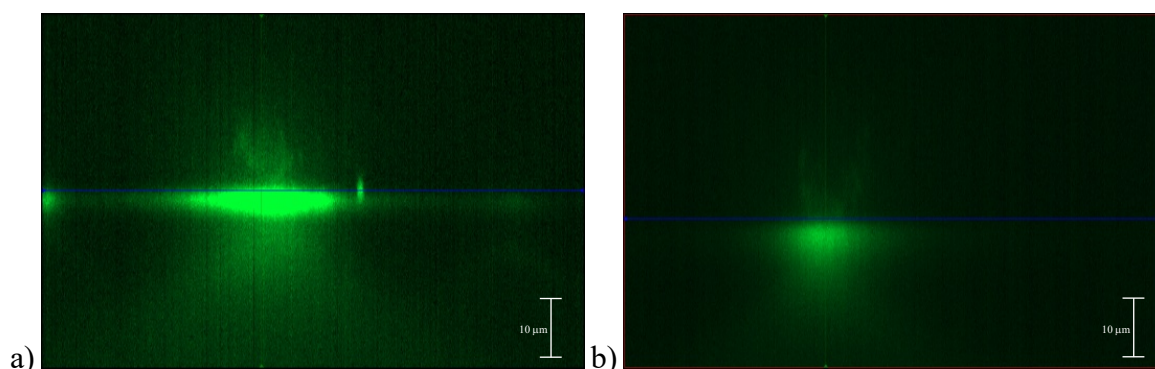
Rysunek 35 przedstawia przykładowe trójwymiarowe widoki wybranych aglomeratów cholesterolu na końcu akwizycji w dwóch przypadkach. Widok ten pokazuje przestrzenną strukturę aglomeratu. Powierzchnia soczewki odpowiada obszarowi o najwyższej intensywności złoju. Metoda ta pozwala zobrazować zarówno morfologię złoju lipidowego, jak i wzór rozprzestrzeniania się lipidów do wnętrza soczewki. Soczewka

z balafilcon A wydaje się mniej oleofobowa niż z senofilcon A, co wynika z większej liczby mniejszych skupisk na powierzchni.



Rysunek 35. Trójwymiarowe widoki sygnału fluorescencji wybranych aglomeratów cholesterolu, gdzie mapa kolorów oznacza położenie wokseli w osi z. a) balafilcon A, b) senofilcon A. Wszystkie widoki 3D zobrazowanych aglomeratów dostępne są online w repozytorium [302].

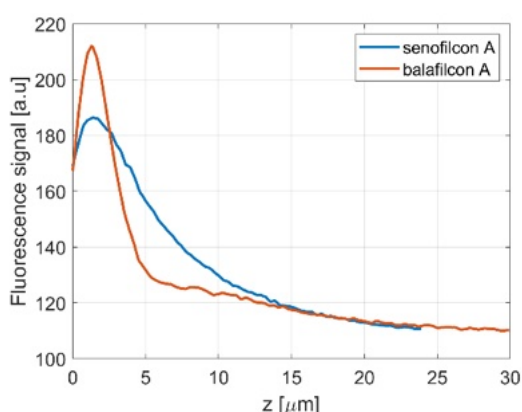
Rysunek 36 przedstawia przekrój (płaszczyzna xz) wybranego aglomeratu. Pozwala to na precyzyjniejsze śledzenie zmian w rozkładzie lipidów wewnątrz soczewki. Ponadto znajomość czasu i wielkości złogów umożliwia badanie zależności i różnic pomiędzy materiałami stosowanymi w różnych soczewkach.



Rysunek 36 Przekroje w płaszczyźnie xz sygnałów fluorescencji: a) balafilcon A, b) senofilcon A. Wszystkie przekroje zobrazowanych aglomeratów dostępne są online w repozytorium [302].

Na podstawie przekrojów można analizować profil intensywności fluorescencji w matrycy soczewki. Rysunek 37 przedstawia przykładowe charakterystyki profili intensywności dla dwóch aglomeratów wybranych we wcześniejszej części pomiaru. Każda charakterystyka przedstawia profil wzdłuż centrum aglomeratu, co pozwala na analizę transportu lipidów do wnętrza soczewek, obejmującego m.in. dyfuzję, osmozę i siły kapilarne. W szczególności możliwe jest określenie parametrów dyfuzji. W Tabeli 13 obliczono położenie z , w którym sygnał fluorescencji spada do 50% wartości maksymalnej (depth50%). Ponieważ pomiary profili wykonano po różnych czasach od początku adhezji aglomeratów (tadh), głębokość została również przeliczona dla tego samego czasu 240 s (depth50%,240), przy założeniu liniowego modelu dyfuzji.

Po przeliczeniu wartość depth50%,240 różni się nawet dla soczewek wykonanych z tego samego materiału. Oznacza to, że proces transportu nie może być opisany prostym liniowym modelem dyfuzji liniowej.



Rysunek 37 Przykładowe profile intensywności fluorescencji dla dwóch soczewek wykonanych z różnych materiałów. Charakterystyki zmierzono odpowiednio po 522 s dla senofilcon A i po 357 s dla balafilcon A od momentu adhezji aglomeratu lipidowego. Zakresy osi z zostały dobrane tak, aby zaczynały się w tym samym miejscu na powierzchni soczewek.

Tabela 13 Analiza infiltracji lipidów w soczewkach kontaktowych.

Material/próbka	tadh [s]	depth50% [μm]	depth50%,240 [μm]
senofilcon A/1	277	2,84	3,28
senofilcon A/2	522	4,73	10,29
comfilcon A/1	647	3,10	8,36
comfilcon A/2	557	1,81	4,20
somofilcon A/1	275	1,81	2,07
somofilcon A/2	662	1,46	4,03
balafilcon A/1	522	1,72	3,74
balafilcon A/2	727	1,98	6,00
samfilcon A/1	860	2,15	7,70
samfilcon A/2	762	2,41	7,65

4.3. Ograniczenia badania i propozycja udoskonaleń

Należy zauważyć, że wprowadzenie grupy NBD może zmienić hydrofilowość i rozmiar cząsteczki cholesterolu, co potencjalnie wpływa na jego zachowanie dyfuzyjne w materiale Si-Hy. Choć te modyfikacje mogą nieznacznie oddziaływać na dynamikę interakcji, NBD-CHL pozostaje wiarygodnym modelem do badania zachowania cholesterolu w materiałach soczewek kontaktowych, co wykazano we wcześniejszych pracach [263].

Zastosowanie prostego roztworu PBS z NBD-CHL nie odzwierciedla w pełni złożonego filmu łzowego, który zawiera białka, mucyny i elektrolity. Co istotne, wolny cholesterol stanowi jedynie niewielką część lipidów łzowych. Ponadto, nowsze publikacje podkreślają znaczenie stosowania bardziej złożonego ATS, aby uchwycić interakcje pomiędzy wszystkimi składnikami filmu łzowego przy prezentowaniu profili depozycji [252], [253], [255]. Takie uproszczenie może prowadzić do wyników, które nie w pełni odzwierciedlają wzorce odkładania się lipidów *in vivo*. W przyszłych badaniach należy zastosować bardziej złożony ATS, aby lepiej odwzorować skład i interakcje filmu łzowego.

Kluczowym ograniczeniem tego badania jest założenie, że depozycja NBD-CHL odzwierciedla zachowanie naturalnego cholesterolu. Wcześniejsze prace wykazały, że lipidy znakowane NBD mogą wiązać się niezależnie od niezwiązanego lipidu, co sugeruje możliwość niespecyficznych interakcji fluoroforu z materiałami soczewek [261]. Choć nasza metoda śledzi dynamicznie proces fluorescencyjnej depozycji, bez badań konkurencyjnego wiązania z nadmiarem niezwiązanego cholesterolu nie można w pełni potwierdzić swoistości sygnału dla cholesterolu. Ten aspekt powinien zostać uwzględniony w przyszłych eksperymentach.

Ze względu na powyższe ograniczenia, kliniczna przydatność uzyskanych wyników może być ograniczona. Chociaż badanie dostarcza istotnych danych bazowych, konieczne są dalsze prace z wykorzystaniem bardziej złożonych i dynamicznych modeli, aby potwierdzić przedstawione rezultaty w warunkach praktycznych.

Celem niniejszej pracy nie było jednak odtworzenie pełnej biochemicznej złożoności lipidów łożowych, lecz opracowanie metodyki typu *proof-of-concept*, pozwalającej śledzić tworzenie się i dyfuzję agregatów lipidowych na powierzchni oraz wewnątrz soczewek Si-Hy z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej z wirującym dyskiem. Wyniki należy zatem interpretować jako dane z modelowego układu, a nie badanie porównawcze różnych klas lipidów fizjologicznych.

4.4. Wnioski

Metoda opracowana w niniejszym badaniu umożliwia precyzyjną obserwację przyłączania się agregatów cholesterolu do powierzchni Si-Hy soczewek kontaktowych, począwszy od pierwszego momentu kontaktu tego lipidu z soczewką. Podejście to daje unikalną możliwość monitorowania w czasie rzeczywistym interakcji pomiędzy agregatami lipidów a powierzchnią soczewki, pozwalając na szczegółowe śledzenie dynamiki ich odkładania się i rozprzestrzeniania.

Zalety techniki mikroskopii konfokalnej z wirującym dyskiem Yokogawy w obrazowaniu komórek żywych i badaniach dynamicznych są dobrze udokumentowane w literaturze. Jej równoległy tryb skanowania skraca czas naświetlania pojedynczych punktów próbki, co pomaga zachować jej integralność [303]. Cecha ta okazała się szczególnie przydatna w naszym badaniu, w którym wysoka rozdzielczość czasowa była kluczowa do uchwycenia kinetyki odkładania się lipidów bez ingerencji w ich naturalne zachowanie.

Wyniki pokazały, że agregaty cholesterolu przyłączały się do wszystkich badanych soczewek, choć moment ich pojawienia się różnił się w zależności od materiału. Zaobserwowano również odmienne zachowania w zakresie przenikania lipidów do matrycy soczewki, z wyraźną zmiennością pomiędzy materiałami. Choć obliczenia oparte na liniowym modelu wchłaniania lipidów wskazały na różnice w dyfuzji pomiędzy typami soczewek, należy podkreślić, że głównym celem tego badania nie była analiza porównawcza soczewek ani precyzyjne wyznaczanie współczynników dyfuzji. Skupiono się na opracowaniu wiarygodnej metody badania interakcji lipid–soczewka od samego początku procesu odkładania się lipidów.

Podsumowując wyniki przedstawione w niniejszym rozdziale, należy stwierdzić, że Hipoteza I została potwierdzona częściowo. Opracowana metoda z wykorzystaniem fluorescencyjnej mikroskopii konfokalnej z wirującym dyskiem Yokogawy skutecznie pozwoliła na wizualizację i rejestrację momentu inicjacji adsorpcji lipidów na powierzchni soczewek w czasie rzeczywistym. Jednakże w zakresie różnicowania mechanizmów transportu lipidów w głąb matrycy uzyskane wyniki miały charakter wstępny i nie pozwoliły na jednoznaczne oraz statystycznie istotne rozróżnienie dynamiki tego procesu pomiędzy wszystkimi badanymi materiałami Si-Hy. Oznacza to, że metoda okazała się użyteczna przede wszystkim do jakościowej obserwacji wczesnych etapów interakcji lipid–soczewka, natomiast ocena różnic pomiędzy materiałami wymaga dalszych badań obejmujących większą liczbę próbek i bardziej rozbudowaną analizę ilościową.

Rozdział III. Wpływ soczewek kontaktowych Si-Hy na grubość warstwy lipidowej filmu łzowego, po ich aplikacji

Stosowanie soczewek kontaktowych jest powszechnie wiązane z modyfikacją oraz zaburzeniami struktury filmu łzowego [304], jednak niewiele wiadomo o zmianach zachodzących bezpośrednio po ich założeniu, zwłaszcza w odniesieniu do LLT. Celem niniejszego badania było określenie, czy aplikacja soczewek Si-Hy powoduje zmianę LLT oraz czy efekt ten zależy od właściwości materiałowych soczewek. Dodatkowo, analizowano, czy pięć minut od założenia soczewek jest wystarczające, aby wartość LLT ustabilizowała się, co mogłoby mieć praktyczne znaczenie dla klinicznej oceny filmu łzowego w czasie dopasowywania soczewek przez specjalistów ochrony wzroku.

Weryfikacji tych założeń służy Hipoteza II, zgodnie z którą aplikacja soczewek Si-Hy wywołuje istotne statystycznie zmiany LLT względem wartości wyjściowych, a skala tego efektu jest zależna od parametrów materiałowych soczewek. Dodatkowo przyjęto, że w ciągu pierwszych pięciu minut od założenia nie dochodzi do pełnej stabilizacji warstwy lipidowej. Wyniki badania mają na celu pogłębienie wiedzy na temat interakcji pomiędzy materiałem soczewki a filmem łzowym, co może mieć znaczenie w projektowaniu nowych materiałów i strategii dopasowania soczewek zwiększających komfort oraz bezpieczeństwo ich użytkowania.

1. Materiały i metody

Badanie było prowadzone zgodnie z Deklaracją Helsińską i zostało zatwierdzone przez Komisję Rektora Uniwersytetu Warszawskiego ds. etyki badań z udziałem ludzi (numer akceptacji cyfrowej: 273/2024) w dniu 29 kwietnia 2024 roku.

1.1. Soczewki kontaktowe

W badaniu wykorzystano cztery różne soczewki kontaktowe: A (lotrafilcon B), B (comfilcon A), T (lehfilcon A) oraz O (senofilcon A). Oznaczenia A, B, T i O pochodzą od pierwszych liter nazw marek: A – Air Optix, B – Biofinity, T – TOTAL30 oraz O – Oasys. Wszystkie soczewki wykonano z materiałów Si-Hy (grupa V FDA/ISO) i zaliczają się do soczewek wielokrotnego użytku. Są to produkty o ugruntowanej pozycji na rynku, różniące się parametrami, w szczególności zawartością wody (patrz Tabela 14).

W badaniu zastosowano soczewki o mocy $-0,50$ dioptrii (D), co było najmniejszą mocą dostępną dla wszystkich testowanych marek. Tak niska i jednakowa moc została wybrana w celu zapewnienia komfortu pacjentom podczas krótkiego czasu noszenia oraz zminimalizowania różnic w centralnej grubości soczewek, które wynikają z mocy optycznej. Ograniczenie zmienności grubości pozwoliło zwiększyć porównywalność wyników pomiarów między soczewkami.

*Tabela 14 Soczewki kontaktowe wybrane do badania (H_2O – zawartość wody, CT – grubość centralna, Rep – tryb wymiany). Moc soczewek wynosiła $-0,50$ D. * według danych producentów, a) modyfikacja powierzchni plazmą, b) powierzchnia modyfikowana MPC (2-metakryloiloksyetylofosforylocholina).*

Nazwa handlowa / kod badania	Materiał	Producent	H_2O (%) [*]	CT* (mm)	Rep	Cechy dodatkowe
Biofinity® (B)	comfilcon A	CooperVision, Pleasanton, CA, USA	48	0,08	miesięczny	Aquaform® Technology, Aberration Neutralizing System™
Air Optix™ Plus Hydraglyde™ (A) a)	lotrafilcon B	Alcon, Fort Worth, TX, USA	33	0,08	miesięczny	SmartShield® Technology, HydraGlyde® Moisture Matrix Technology
Acuvue® Oasys (O)	senofilcon A	Johnson & Johnson, Jacksonville, FL, USA	38	0,07	dwutygodniowy	Hydraclear® Plus Technology, Filtr UV klasy 1
Total30™ (T) b)	lehfilcon A	Alcon, Fort Worth, TX, USA	55 (wewn.) ~100 (pow.)	0,09	miesięczny	Water Gradient Technology, Celligent® Technology, Filtr UV klasy 1, Redukcja światła niebiesko-fioletowego

1.2. Uczestnicy

W badaniu wzięło udział 32 uczestników w wieku od 22 do 56 lat, wszyscy będący pracownikami biurowymi. Czterech najstarszych uczestników zostało wykluczonych z ostatecznej analizy z powodu objawów DED, potwierdzonych podczas szczegółowego badania w lampie szczelinowej; ostatecznie analizą objęto 28 osób. Średni wiek grupy wynosił 32 ± 7 lat, mediana wieku 32 lata (zakres: 22–46 lat). W grupie znalazło się 21 kobiet (75%) i 7 mężczyzn (25%).

Uczestników dobierano na podstawie ich zdolności i chęci do noszenia soczewek kontaktowych. Uwzględniono zarówno osoby nigdy wcześniej nienoszące soczewek (neofici), jak i stałych użytkowników, pod warunkiem, że w dniu badania dotychczasowi użytkownicy nie nosili soczewek. Choć wiadomo, że noszenie soczewek może wpływać na film łzowy [298], [304] – również na warstwę lipidową i funkcję gruczołów Meiboma – liczba czynników wpływających (np. materiał soczewki, harmonogram noszenia, częstotliwość wymiany) jest znaczna. Dlatego w badaniu priorytetowo traktowano ocenę kliniczną w lampie szczelinowej zamiast wykluczania uczestników na podstawie historii noszenia

soczewek. Podejście to odzwierciedla codzienną praktykę kliniczną, w której dopasowanie soczewek opiera się na aktualnym stanie powierzchni oka. Ponadto w literaturze brakuje jednoznacznych danych na temat adaptacji powierzchni oka do noszenia soczewek kontaktowych, zwłaszcza w kontekście warstwy lipidowej [298], [304]. Nie wprowadzano ograniczeń dotyczących czasu wcześniejszego noszenia soczewek, zastosowanych materiałów ani harmonogramów wymiany, ponieważ celem badania nie było porównywanie długoterminowych odpowiedzi oka w tych podgrupach. W przyszłych badaniach można będzie uwzględnić takie zróżnicowanie uczestników.

Podczas pierwszej wizyty u każdego uczestnika przeprowadzono szczegółowe badanie w lampie szczelinowej obejmujące ocenę brzegów powiek, spojówki, jakości i ilości filmu łzowego oraz rogówki. Badano obecność przeciwwskazań do noszenia soczewek kontaktowych, takich jak: objawy DED, MGD, zapalenie brzegów powiek, nużyca, przekrwienie spojówek, aktywne stany zapalne lub infekcje, obecność ciał obcych oraz inne nieprawidłowości przedniego odcinka oka.

Pełna lista kryteriów wykluczenia obejmowała: każdy stan powierzchni oka uniemożliwiający bezpieczne noszenie soczewek (jak opisano powyżej), przebyty zabieg laserowej korekcji wzroku, choroby rogówki, zapalenia przedniego odcinka oka, jednooczność, cukrzycę lub ciążę. Decyzję o wykluczeniu podejmowano zgodnie ze standardowymi profesjonalnymi wytycznymi dopasowywania soczewek, w których priorytet ma ocena kliniczna i opinia specjalisty, a nie sztywne kryteria liczbowe.

Według wiedzy autorów, dotychczas nie opublikowano badań, w których obserwowano LLT bezpośrednio po założeniu soczewek kontaktowych, stosując tę samą metodologię. W związku z tym przy szacowaniu wymaganej liczebności próby autorzy odnieśli się do wcześniej opublikowanych badań o podobnych punktach końcowych ($n = 20$ i $n = 31$) [148], [305]. Dodatkowo zdecydowano o włączeniu uczestników w szerokim przedziale wiekowym, aby zwiększyć możliwość uogólnienia wyników. Podejście to wiąże się jednak z pewnymi ograniczeniami i dlatego badanie ma charakter pilotażowy.

Na podstawie zmienności wyników raportowanej we wspomnianych publikacjach zastosowano współczynnik korekcyjny, zwiększając szacowaną liczebność próby 2–3-krotnie względem wartości minimalnej wynikającej ze wstępnych oszacowań. Takie podejście miało zapewnić odpowiednią moc statystyczną do wykrycia istotnych zmian LLT, a jednocześnie uwzględniało fakt, że analiza obejmowała oba oczy każdego uczestnika oraz potencjalną zmienność międzyoczną.

1.3. Pomiary LLT

LLT oceniano za pomocą urządzenia IDRA (Rysunek 38), które w jednej sesji mierzy LLT filmu łzowego oraz monitoruje częstotliwość i jakość mrugania.

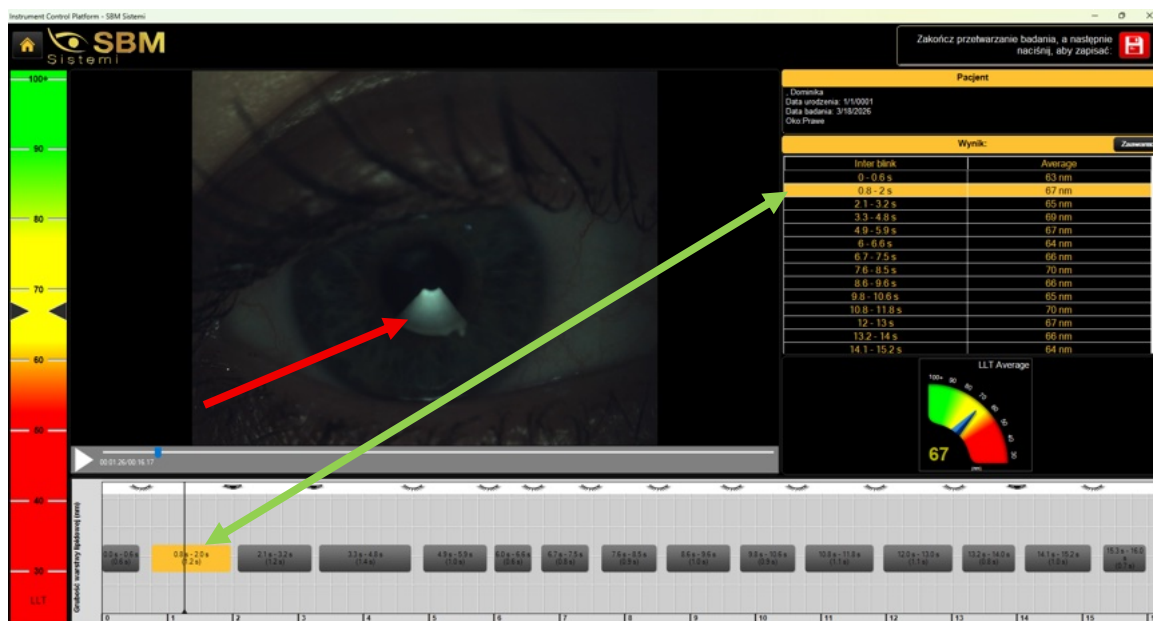


Rysunek 38 Zdjęcie urządzenia IDRA® Ocular Surface Analyzer, po lewej widok operatora, wraz z wynikami pomiaru LLT, po prawej widok czaszy służącej do pomiaru LLT (widok od strony pacjenta)

IDRA® Ocular Surface Analyzer jest nieinwazyjnym urządzeniem interferometrycznym służącym do ilościowej oceny LLT. System działa poprzez analizę kolorów oraz wzorów interferencyjnych powstających w wyniku odbicia światła białego od warstwy lipidowej i wodnej filmu łzowego, przekształcając je w numeryczne wartości LLT, co dokładniej wyjaśniono w rozdziale I, punkt 2.4.2 niniejszej rozprawy.

Kalibracja odbywa się automatycznie przed każdą sesją zgodnie z wewnętrznym protokołem producenta. System został zwalidowany względem innych platform interferometrycznych, takich jak LipiView® II, przy czym nie wykazuje statystycznie istotnych różnic w odczytach LLT [87]. Wszystkie pomiary w badaniu wykonywał jeden operator.

Szacowanie wysokości LLT odbywało się na oprogramowaniu dołączonym do urządzenia przez producenta ICP for Windows v.1.8.0.509. Czerwona strzałka na rysunku 39 wskazuje obszar badania, z którego urządzenie rejestruje obraz interferencyjny. Oszacowanie LLT przebiega pomiędzy każdym kolejnym mrugnięciem, co można zauważyć na rysunku 39 za pomocą zielonych strzałek. Wynikiem badania jest tabela z zestawem danych, czyli zakresu czasowego oraz wartości LLT dla danego pomiaru.



Rysunek 39 Zrzut ekranu z systemu SBM Sistemi z wynikami pomiaru LLT, czerwona strzałka symbolizuje obszar pomiarowy, zielona wynik dla danego okresu pomiędzy mrugnięciami.

Każdy uczestnik odbył dwie wizyty badawcze, rozdzielone co najmniej 24-godzinną przerwą. Podczas każdej wizyty wykonywano pomiary LLT zarówno bez soczewki kontaktowej, jak i po jej założeniu. W pierwszej sesji testowano dwa materiały soczewek kontaktowych, po jednym na każde oko. W drugiej sesji, przeprowadzanej w innym dniu, oceniano dwa kolejne materiały, stosując identyczny protokół pomiarowy. Uczestnicy nie byli informowani o markach testowanych soczewek w poszczególnych sesjach.

Dla każdego oka stosowano ten sam schemat badania. Najpierw wykonywano pomiar wyjściowy bez soczewki kontaktowej, rejestrując LLT przez 15 sekund w celu uzyskania wartości referencyjnej. Następnie na to samo oko zakładano soczewkę kontaktową i odnotowywano czas od jej aplikacji do rozpoczęcia kolejnego pomiaru. Po tym wykonywano pięciominutową rejestrację z założoną soczewką, podczas której urządzenie monitorowało LLT oraz częstość mrugania. Po zakończeniu pomiaru soczewkę zdejmowano, a całą procedurę powtarzano dla drugiego oka.

Aby ograniczyć wpływ kolejności aplikacji soczewek na wyniki, zastosowano zrównoważony schemat rotacji materiałów pomiędzy uczestnikami, tak aby każda z badanych soczewek pojawiała się w różnych pozycjach kolejności badania w całej grupie. Dodatkowo zrównoważono kolejność pomiarów między oczami: u pierwszych 14 uczestników badanie rozpoczynano od oka prawego, natomiast u pozostałych 14 — od oka lewego. W badaniu uwzględniono oba oczy każdego uczestnika. Przyjęto takie założenie ze względu na opisywaną w piśmiennictwie zmienność międzyoczną parametrów filmu

łzowego, obejmującą między innymi osmolarność łez, TMH oraz TBUT [82], [306]. W związku z tym nie zakładano pełnej tożsamości właściwości filmu łzowego w obu oczach nawet w warunkach fizjologicznych. Każde oko oceniano niezależnie, a sposób aplikacji soczewek ograniczał możliwość wzajemnego wpływu efektów obserwowanych między oczami w trakcie tej samej sesji.

Badania przeprowadzono w Alcon Training Center, mieszczącym się w siedzibie Alcon Polska. Środowisko pomiarowe utrzymywano w temperaturze 22°C przy umiarkowanym oświetleniu. Rekrutację prowadzono drogą mailową, kierując zaproszenia do osób spełniających kryteria włączenia do badania. Wszystkie pomiary wykonano w lipcu i sierpniu 2024 roku, co pozwoliło zachować możliwie jednorodne warunki środowiskowe i proceduralne we wszystkich sesjach.

1.4. Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu pakietu oprogramowania TIBCO Software Inc. (Santa Clara, CA, USA), Statistica® (system analizy danych), wersja 13.6.0 (<https://www.tibco.com>). Dla grupy 28 pacjentów uzyskano co najmniej 71% mocy testu do wykrycia różnic na poziomie co najmniej 10% przy $\alpha = 0,05$. Dane ilościowe podsumowano z wykorzystaniem statystyk opisowych (średnia±odchylenie standardowe (SD), mediana oraz zakres). Dane jakościowe przedstawiono w postaci odsetków. Normalność rozkładu każdej zmiennej ilościowej oceniano za pomocą testu Shapiro-Wilka.

Ponieważ dane nie spełniały założenia normalności rozkładu, do oceny różnic w LLT przed aplikacją soczewki oraz po 1, 3 i 5 minutach od aplikacji zastosowano nieparametryczny test Wilcoxona. Ze względu na wielokrotne porównania zastosowano poprawkę Bonferroniego, a wyniki uznawano za istotne statystycznie przy $p < 0,017$. Przyjęty poziom istotności statystycznej obliczono korzystając z zależności $\frac{\alpha}{lp}$, gdzie $\alpha = 0,05$, zaś lp to liczba porównań równa 3.

Dodatkowo, ponieważ każdy uczestnik miał różną liczbę pomiarów LLT w ciągu pięciominutowego okresu (odzwierciedlającą indywidualną częstotliwość mrugania), zależność między zmianą LLT a czasem od założenia soczewki oceniano za pomocą nieparametrycznego testu korelacji rang Spearmana. Analizę przeprowadzono oddzielnie dla każdej soczewki u każdego uczestnika. Po uwzględnieniu wielokrotnych porównań istotność statystyczną ustalono na poziomie $p < 0,013$.

Test Friedmana zastosowano w celu oceny różnic w częstotliwości mrugania pomiędzy soczewkami. Ponadto, współczynnik korelacji Pearsona obliczono w celu oceny, czy

liczba mrugnięć była związana ze zmianami grubości warstwy lipidowej (LLT) po 5 minutach oraz z wiekiem uczestników. Istotność statystyczną ustalono na poziomie $p < 0,05$.

2. Wyniki

Aby ocenić, czy pięciominutowy odstęp czasu jest wystarczający do oceny dopasowania soczewek, porównano zmiany LLT po jednej, trzech i pięciu minutach od aplikacji soczewki (Tabele 15–17).

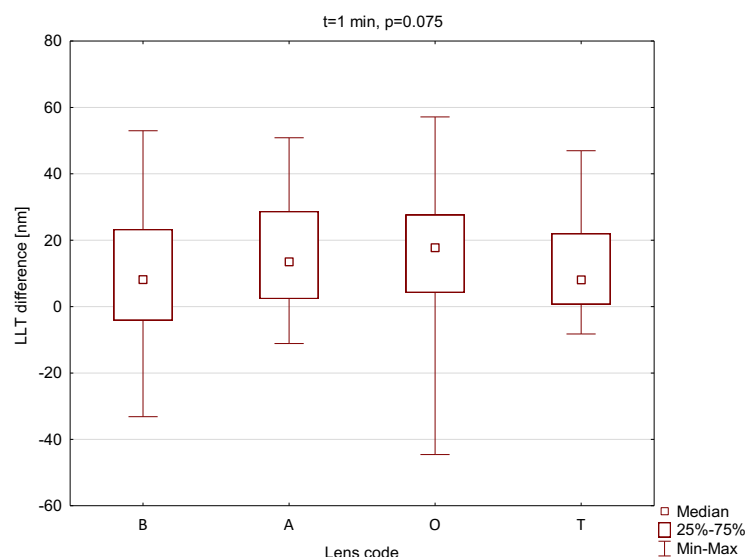
Po 1 minucie noszenia różnice w LLT pomiędzy soczewkami nie były istotne statystycznie ($p = 0,075$) (Rysunek 39). W przypadku soczewki B nie stwierdzono istotnej różnicy LLT w porównaniu z pomiarem wyjściowym bez soczewki. Natomiast soczewki A, O i T wykazały istotny statystycznie wzrost LLT w stosunku do wartości wyjściowej bez soczewki (Rysunek 40)

Po 3 minutach noszenia różnice LLT pomiędzy soczewkami nadal nie były istotne statystycznie ($p = 0,251$) (Rysunek 41). Dla soczewek B i A wartości LLT nie różniły się istotnie od wartości wyjściowych. Natomiast w przypadku soczewek O i T odnotowano istotny wzrost LLT ($p \leq 0,001$) (Rysunek 42).

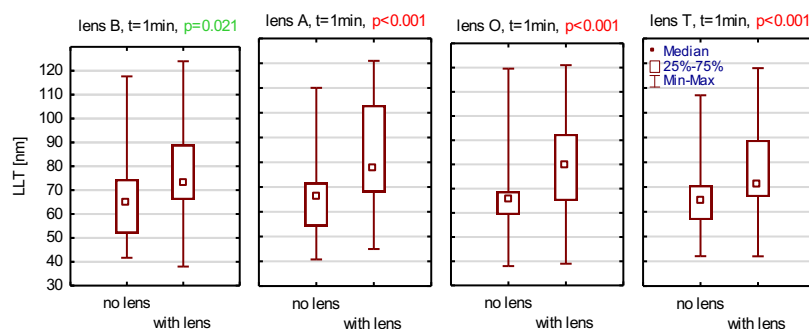
Po 5 minutach noszenia różnice LLT pomiędzy soczewkami również nie osiągnęły istotności statystycznej ($p = 0,162$) (Rysunek 43). Soczewki A i O wykazały istotny wzrost LLT względem wartości wyjściowej bez soczewki, natomiast w przypadku soczewek T i B nie zaobserwowano istotnej różnicy w porównaniu z pomiarem wyjściowym (Rysunek 44).

Tabela 15 Opisowe statystyki LLT (grubości warstwy lipidowej): przed założeniem soczewki, po 1 minucie od aplikacji soczewki, różnica w LLT (po aplikacji – przed aplikacją), SD – odchylenie standardowe.

n=28	LLT bez soczewki [nm]	LLT [nm]	LLT różnica [nm]
soczewka B			
średnia±SD	68,4±21,5	78,4±20,1	9,9±20,1
mediana	65,0	73,0	8,1
(min–max)	(41,7–117,7)	(38,0–124,0)	(–33,2–50,3)
soczewka A			
średnia±SD	66,6±18,6	83,2±19,8	16,6±17,2
mediana	66,0	77,5	13,5
(min–max)	(40,8–110,1)	(45,0–121,0)	(–11,1–50,9)
soczewka O			
średnia±SD	65,4±16,3	82,0±19,8	16,6±21,3
mediana	65,2	80,0	17,8
(min–max)	(38,0–119,6)	(39,0–121,0)	(–44,6–57,1)
soczewka T			
średnia±SD	64,9±15,9	77,3±18,4	12,0±14,4
mediana	63,8	71,0	8,0
(min–max)	(42,1–107,1)	(42,0–118,0)	(–8,3–47,0)



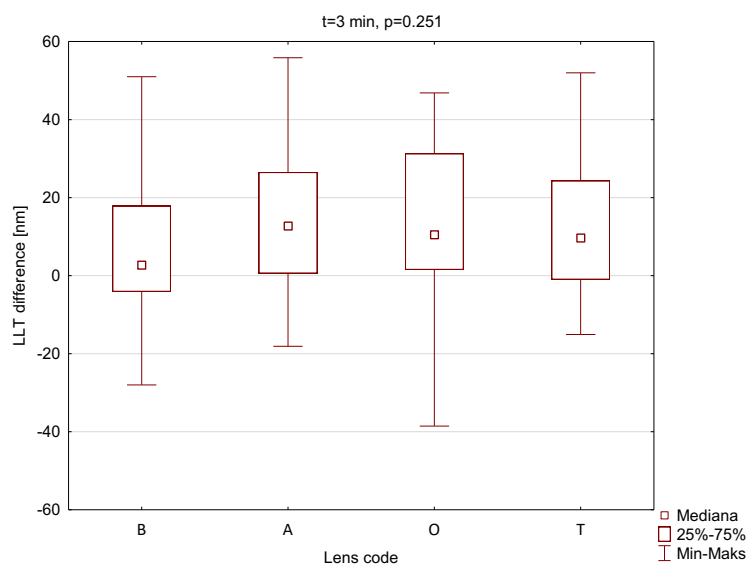
Rysunek 40 Wykres ramka-wąsy przedstawiający rozkład różnic w LLT (grubości warstwy lipidowej) w zależności od rodzaju soczewki po 1 minucie.



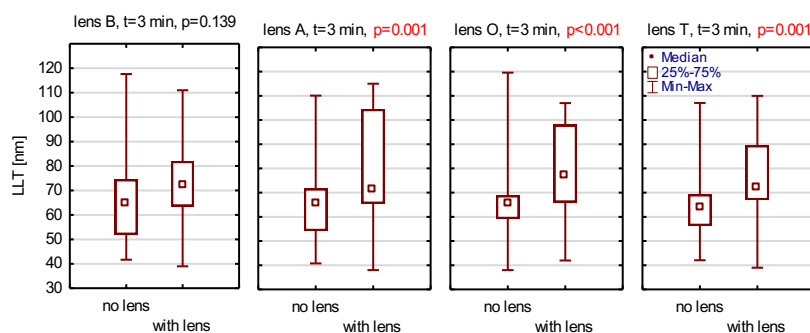
Rysunek 41 Wykresy ramka-wąsy przedstawiające rozkład LLT (grubości warstwy lipidowej) dla soczewek B, A, O i T, przed oraz 1 minutę po założeniu soczewki.

Tabela 16 Statystyki opisowe LLT (grubości warstwy lipidowej): przed założeniem soczewki, 3 minuty po założeniu soczewki, różnica w LLT (po założeniu – przed założeniem), SD – odchylenie standardowe.

n=28	LLT bez soczewki [nm]	LLT [nm]	LLT różnica [nm]
soczewka B			
średnia±SD	68,4±21,5	74,6±17,8	6,2±19,0
mediana	65,0	72,5	2,7
(min-max)	(41,7–117,7)	(39,0–111,0)	(–28,0–51,0)
soczewka A			
średnia±SD	66,6±18,6	81,4±21,3	14,8±18,9
mediana	66,0	71,0	12,8
(min-max)	(40,8–110,1)	(38,0–115,0)	(–18,1–55,9)
soczewka O			
średnia±SD	65,4±16,3	80,1±17,8	14,7±19,5
mediana	65,2	77,5	10,5
(min-max)	(38,0–119,6)	(42,0–107,0)	(–38,6–46,8)
soczewka T			
średnia±SD	64,9±15,9	77,6±17,4	12,6±15,9
mediana	63,8	72,5	9,7
(min-max)	(42,1–107,1)	(39,0–110,0)	(–15,1–52,0)



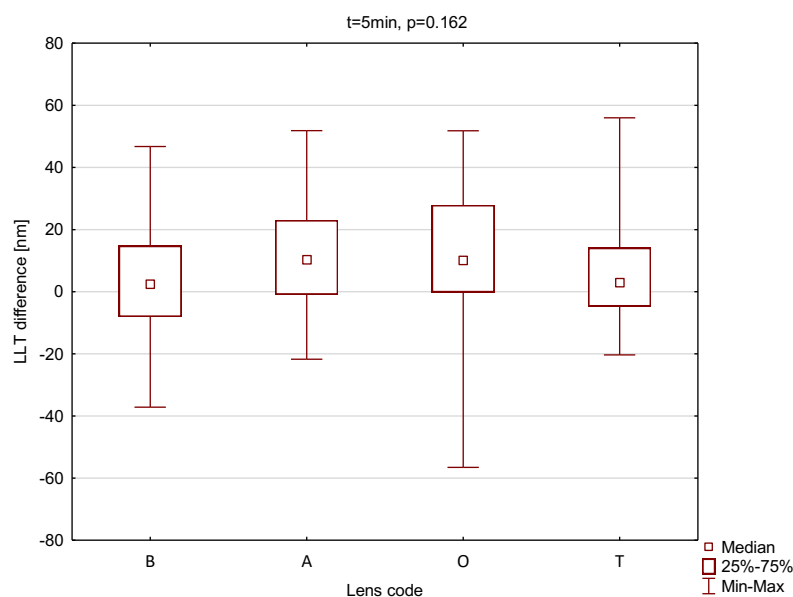
Rysunek 42 Wykres ramka-wąsy przedstawiający rozkład różnic LLT (grubości warstwy lipidowej) w zależności od typu soczewki po 3 minutach.



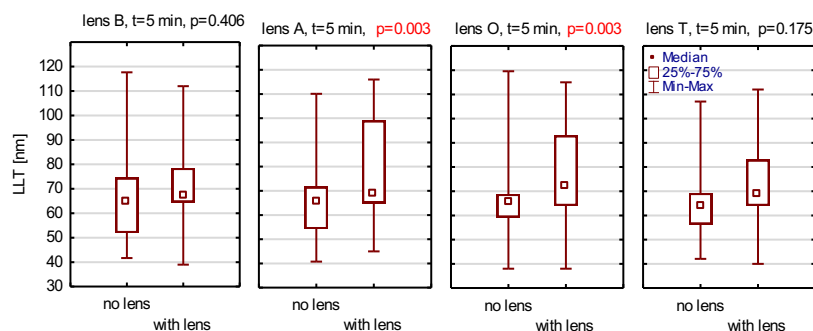
Rysunek 43 Wykresy ramka-wąsy przedstawiające rozkład wartości LLT (grubości warstwy lipidowej) dla soczewek B, A, O oraz T, przed założeniem i 3 minuty po założeniu soczewek.

Tabela 17 Statystyki opisowe LLT (grubości warstwy lipidowej): przed założeniem soczewki, 5 minut po założeniu soczewki, różnica LLT (po założeniu – przed założeniem), SD – odchylenie standardowe.

n=28	LLT bez soczewki [nm]	LLT [nm]	LLT różnica [nm]
soczewka B			
średnia±SD	68,4±21,5	71,4±18,7	3,0±19,1
mediana	65,0	67,0	2,5
(min-max)	(41,7–117,7)	(39,0–112)	(–37,2 to 46,8)
soczewka A			
średnia±SD	66,6±18,6	78,5±20,2	11,9±18,1
mediana	66,0	69,0	10,3
(min-max)	(40,8–110,1)	(45,0–116,0)	(–21,3 to 51,9)
soczewka O			
średnia±SD	65,4±16,3	78,3±20,0	12,9±21,9
mediana	65,2	72,5	10,0
(min-max)	(38,0–119,6)	(38,0–115,0)	(–56,6 to 51,8)
soczewka T			
średnia±SD	64,9±15,9	71,3±18,2	6,3±18,9
mediana	63,8	69,0	2,9
(min-max)	(42,1–107,1)	(40,0–112,0)	(–20,3 to 56,0)



Rysunek 44 Wykres ramka-wąsy przedstawiający rozkład różnic LLT (grubości warstwy lipidowej) w zależności od rodzaju soczewki po 5 minutach od założenia.



Rysunek 45 Wykresy ramka-wąsy przedstawiające rozkład LLT (grubości warstwy lipidowej) dla soczewek B, A, O i T, przed oraz 5 minut po założeniu soczewki.

Aby ocenić korelację między zmianą LLT (po założeniu – przed założeniem soczewki) a czasem, obliczono współczynnik korelacji rang Spearmana, przyjmując następującą klasyfikację: bardzo silna korelacja (0,9–1), silna korelacja (0,70–0,89), umiarkowana korelacja (0,40–0,69), słaba korelacja (0,10–0,39) oraz brak korelacji (0–0,09). Statystycznie istotne wyniki zaznaczono pogrubionym drukiem (Tabela 18).

Dla soczewki B u 17 uczestników stwierdzono istotną statystycznie ujemną korelację (w 2 przypadkach istotną dodatnią korelację), co wskazuje na konsekwentny trend spadku LLT w czasie. Natomiast dla soczewek A, O i T istotną statystycznie ujemną korelację zaobserwowano w 9 przypadkach. Istotną dodatnią korelację stwierdzono w 2 przypadkach dla soczewki A, w 7 przypadkach dla soczewki O oraz w 2 przypadkach dla soczewki T, co sugeruje mniejszą spójność zmian LLT.

Tabela 18 Współczynnik korelacji między różnicą w LLT a czasem dla każdego uczestnika. Pierwsza kolumna to numeracja uczestników, a r to współczynnik korelacji rang Spearmana. Kolor czerwony – istotna statystycznie ujemna korelacja, kolor zielony – istotna statystycznie dodatnia korelacja

No.	lens B		lens A		lens O		lens T	
	r	p	r	p	r	p	r	p
1	-0,422	<0,001	-0,377	<0,001	0,229	0,001	0,006	0,939
2	-0,343	0,005	-0,179	0,048	0,143	0,12	0,101	0,308
3	-0,454	<0,001	-0,330	<0,001	-0,129	0,109	-0,136	0,050
4	0,132	0,102	-0,136	0,099	-0,553	<0,001	-0,124	0,147
5	-0,304	0,001	0,055	0,622	-0,423	<0,001	0,211	0,141
7	-0,649	<0,001	-0,505	<0,001	-0,011	0,878	-0,309	<0,001
8	-0,573	<0,001	0,468	0,001	0,011	0,959	-0,121	0,281
9	-0,579	<0,001	0,141	0,269	0,056	0,640	0,455	<0,001
10	-0,186	0,011	-0,571	<0,001	0,119	0,155	-0,537	<0,001
11	-0,567	<0,001	0,135	0,234	0,159	0,221	-0,172	0,133
12	-0,029	0,666	-0,005	0,952	0,377	<0,001	-0,531	<0,001
13	0,296	0,143	-0,440	0,007	0,678	<0,001	-0,200	0,704
14	0,359	<0,001	0,463	0,003	-0,228	0,027	0,140	0,402
15	-0,547	<0,001	-0,114	0,342	-0,567	<0,001	0,058	0,707
16	0,267	0,001	-0,003	0,971	-0,073	0,391	-0,271	0,001
17	0,049	0,500	0,006	0,933	0,410	<0,001	-0,104	0,109
18	-0,620	<0,001	0,060	0,344	-0,115	0,138	0,437	<0,001
19	-0,269	0,194	0,325	0,151	0,014	0,937	-0,002	0,993
21	-0,398	<0,001	0,057	0,816	0,444	0,023	-0,392	0,011
22	0,139	0,330	-0,275	0,086	0,095	0,727	0,161	0,441
23	-0,346	0,001	-0,014	0,891	-0,224	0,021	-0,832	<0,001
25	-0,258	0,001	0,123	0,228	-0,254	0,019	0,047	0,631
26	-0,448	0,002	-0,261	0,006	0,557	<0,001	-0,154	0,115
27	-0,366	<0,001	0,550	<0,001	-0,446	<0,001	-0,097	0,399
29	-0,220	0,007	0,174	0,098	-0,349	0,007	-0,070	0,487
30	0,043	0,633	-0,328	0,001	-0,540	<0,001	-0,568	<0,001
31	-0,052	0,553	-0,411	<0,001	0,138	0,151	-0,517	<0,001
32	-0,157	0,394	-0,136	0,515	0,478	0,028	0,169	0,297

Dodatkowo przeprowadzono analizę częstotliwości mrugania, przedstawioną w Tabeli 19. Pomimo że liczba mrugnięć mieściła się w szerokim zakresie w przypadku poszczególnych użytkowników soczewek, nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy soczewkami. Zaobserwowano natomiast słabą ujemną korelację pomiędzy liczbą mrugnięć a zmianą LLT po 5 minutach, z wartościami współczynnika korelacji Pearsona w zakresie od $-0,3$ do $-0,1$ dla każdego typu soczewki. Ponadto, w przypadku soczewek A i T wykazano słabą dodatnią korelację pomiędzy wiekiem a liczbą mrugnięć (współczynnik Pearsona w zakresie od $0,1$ do $0,3$). Żadna z tych korelacji nie osiągnęła jednak poziomu istotności statystycznej. Otrzymana wartość p jest większa niż przyjęty poziom istotności statystycznej, stąd korelacja nie jest statystycznie różna od zera.

Tabela 19 Statystyki opisowe dotyczące częstości mrugania. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic ($p = 0,710$). SD – odchylenie standardowe.

	liczba mrugnięć w czasie 5 minut badania			
	soczewka B	soczewka A	soczewka O	soczewka T
średnia $\pm$ SD	114,9 $\pm$ 59	100 $\pm$ 61	104 $\pm$ 60	100 $\pm$ 64
mediana	111	94	108	80
(min–max)	(25–226)	(19–254)	(16–246)	(6–238)

3. Dyskusja

Pomiar LLT ma istotne znaczenie w diagnostyce i ocenie DED [307], [308]. Ponadto, soczewki kontaktowe zmieniają i zaburzają film łzowy. Stabilność filmu łzowego, wyrażona poprzez TBUT, pokazuje, że – zgodnie z obserwacjami klinicznymi – cieńsze warstwy lipidowe korelują z krótszym TBUT, natomiast grubsze warstwy są związane z większą stabilnością [91], [92], [96], [97], [144], [306].

Celem niniejszego badania było określenie, czy pięć minut po założeniu soczewki jest wystarczające do ustabilizowania się LLT, umożliwiając tym samym dokładniejszą ocenę kliniczną u użytkowników soczewek kontaktowych, pomimo obecności potencjalnych czynników zakłócających, takich jak łzawienie odruchowe, zmienność częstości mrugania, początkowy dyskomfort czy interakcje między soczewką a filmem łzowym. Ponadto pomiary te mogą dostarczyć cennych informacji na temat dynamiki powierzchni oka w związku z noszeniem soczewek kontaktowych. Stały spadek LLT w czasie może wskazywać, że materiał soczewki zaburza warstwę lipidową, prowadząc do zwiększonego parowania łez, a w konsekwencji – dyskomfortu u użytkowników soczewek.

Nieinwazyjna interferometria jest powszechnie uznawana za złoty standard w ocenie LLT filmu łzowego. Analiza wzorów interferencyjnych generowanych przez światło odbite od filmu łzowego dostarcza zarówno informacji jakościowych, jak i ilościowych o strukturze i stabilności warstwy lipidowej. W niniejszym badaniu LLT oceniano przy użyciu urządzenia IDRA, które mierzy grubość warstwy lipidowej filmu łzowego oraz monitoruje częstość i jakość mrugania. Jak wykazano w poprzednim badaniu [87], nie ma istotnej statystycznie różnicy między wynikami pomiarów LLT przy użyciu urządzeń LipiView II i IDRA, co sugeruje, że urządzenia te można stosować zamiennie w tym celu.

Uzyskane w badaniu wartości wyjściowe LLT (średni zakres dla grup: 64,9–68,4 nm) są zgodne z wcześniejszymi wynikami. Na przykład w innym badaniu średnia LLT mierzona za pomocą LipiView® u osób zdrowych wynosiła $65,0 \pm 19,1$ nm [77]. Zbieżność ta sugeruje, że uzyskane wartości bazowe odzwierciedlają typowe cechy warstwy lipidowej filmu łzowego w rzeczywistej populacji klinicznej.

Badanie wykazało, że zmiany LLT w czasie różnią się w zależności od soczewki. Na przykład dla soczewki B LLT wydaje się stabilizować w czasie, natomiast dla soczewek A i O LLT utrzymuje się na poziomie około 10 nm wyższym w porównaniu z wartością wyjściową. Ponadto, porównując liczbę mrugnięć między różnymi soczewkami, nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic; jednak mediana liczby mrugnięć była najwyższa

dla soczewki B. W naszym badaniu nie stwierdzono także istotnych statystycznie korelacji pomiędzy liczbą mrugnięć a wiekiem ani zmianą LLT po 5 minutach.

Inne badanie [307] analizowało wpływ pracy przy komputerze, noszenia soczewek kontaktowych i stosowania sztucznych łez na film łzowy, pokazując, że mimo optymalnych właściwości użytej soczewki kontaktowej, prowadziła ona do obniżenia NIKBUT i cieńszej LLT, należy jednak podkreślić, że obejmowało ono ocenę filmu łzowego po dłuższym czasie od założenia soczewki kontaktowej niż w niniejszej pracy. Ponadto noszenie soczewek zwiększało entropię odbitego wzoru tarczy Placido, co sugeruje, że użytkowanie soczewek kontaktowych zmniejsza LLT oraz zmienia dynamikę i rozmieszczenie filmu łzowego na powierzchni oka. Zaobserwowane spadki NIKBUT i LLT mogą wynikać ze zwiększonego parowania łez, destabilizacji warstwy lipidowej wywołanej soczewką oraz pogorszenia funkcji gruczołów Meiboma — wszystkie te czynniki mogą wpływać na dynamikę filmu łzowego, mimo zastosowania soczewek o optymalnych parametrach materiałowych.

Wyniki sugerują, że LLT może ulegać fluktuacjom podczas noszenia soczewek kontaktowych, a okres 5 minut może być niewystarczający do oceny filmu łzowego po założeniu soczewki kontaktowej. Wydaje się istotne wydłużenie okresu pomiaru, aby uzyskać dokładniejsze i stabilniejsze dane LLT. Nawet jeśli powrót do wartości wyjściowych LLT nie zawsze jest możliwy, stabilizacja LLT w czasie może dostarczyć cennych informacji o stanie powierzchni oka po noszeniu soczewki. Ponadto podobne pomiary należy przeprowadzać po zdjęciu soczewki, aby ocenić, jak LLT się regeneruje, co jest szczególnie ważne ze względu na możliwy związek z objawami dyskomfortu.

Badanie ma pewne ograniczenia, w szczególności stosunkowo niewielką liczebność próby oraz szeroki zakres wieku uczestników. Niemniej jednak zaobserwowano istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy zmianą LLT w czasie dla soczewki B u niemal wszystkich uczestników. Podobny trend odnotowano dla soczewki T, choć mniejsza liczba uczestników wykazywała istotną ujemną korelację. Ponadto okres obserwacji LLT w przypadku soczewek A i B mógł być zbyt krótki. Możliwe jest też, że przedział czasowy pomiarów LLT był zbyt szeroki, choć Finis *i wsp.* nie stwierdzili istotnych zmian w ciągu dnia pracy [309].

Wartości LLT oraz kierunek ich zmian w czasie różniły się w zależności od rodzaju soczewki. W przypadku soczewki B pięciominutowy okres obserwacji wydawał się wystarczający do uchwycenia wczesnej stabilizacji badanego parametru. Dla soczewki T potwierdzenie takiej obserwacji wymaga jednak dalszych pomiarów w większej grupie

badanych. Natomiast w przypadku soczewek A i O zaobserwowane zmiany LLT sugerują, że pięciominutowy okres obserwacji może być zbyt krótki do oceny wczesnej odpowiedzi filmu łzowego po aplikacji soczewki, dlatego zasadne byłoby wydłużenie czasu pomiaru.

4. Wnioski

Wyniki wskazują, że 5 minut to niewystarczający czas na pełną ocenę dopasowania soczewki kontaktowej, zwłaszcza jeżeli chodzi o jej wpływ na film łzowy a dokładniej na warstwę lipidową. Wskazuje to na słuszność przyjęcia czasu 10 minut jako standardu klinicznego dla oceny dopasowania soczewek kontaktowych [310]. Literatura sugeruje, że soczewki kontaktowe przyczyniają się do spadku LLT, jednak w ciągu pierwszych 5 minut po aplikacji obserwuje się wzrost LLT. Sugeruje to, że do wystąpienia spadku LLT potrzebny jest dłuższy okres.

Początkowy wzrost LLT może wynikać z dwóch czynników. Pierwszym jest mechaniczny wpływ procesu aplikacji soczewki, który oddziałuje na powieki i zwiększa ilość meibum wydzielanego do filmu łzowego. Drugim czynnikiem mogą być właściwości powierzchni soczewek kontaktowych, które mogą wpływać na ścięczenie warstwy wodnej, ułatwiając rozprzestrzenianie się lipidów na PLTF. Obserwacja zmian LLT w czasie po założeniu soczewki sugeruje, że różne materiały soczewek kontaktowych mogą prowadzić do zróżnicowanego tempa spadku LLT, co potencjalnie wpływa na stabilność PLTF.

Rozdział IV. Wpływ osadów lipidowych na równowagę zawartość wody w soczewkach Si-Hy

Ocena wpływu osadów lipidowych na EWC w soczewkach SI-Hy stanowi istotny element niniejszej pracy, ponieważ długoterminowa stabilność uwodnienia materiału jest kluczowa dla utrzymania komfortu i parametrów optycznych podczas użytkowania. W kontekście wcześniejszych analiz zmian w filmie łzowym, badanie to pozwala przełożyć obserwacje kliniczne na mechanizmy zachodzące na poziomie materiału soczewki. Weryfikacji tych zależności służy Hipoteza III, zgodnie z którą obecność osadów lipidowych w soczewkach Si-Hy prowadzi do istotnego zmniejszenia EWC. Realizacja Celu III zakłada zbadanie, w jaki sposób depozyty lipidowe wpływają na uwodnienie materiału przy wykorzystaniu innowacyjnego inkubatora odtwarzającego warunki fizjologiczne (35 °C, ATS, symulacja mrugania), co pozwoli na precyzyjną ocenę dynamiki tych zmian.

1. Materiały i metody

Aby zbadać nieodwracalną utratę wody w soczewkach Si-Hy w warunkach zbliżonych do fizjologicznych, opracowano autorski inkubator do soczewek kontaktowych (CLI), który symuluje mruganie oraz ekspozycję na roztwory zawierające składniki filmu łzowego. Zaprojektowany układ eksperymentalny miał na celu odtworzenie codziennego użytkowania soczewek i ocenę zmian w ich zawartości wody. Metodyka została opracowana tak, aby odwzorować zarówno mechaniczne, jak i biochemiczne czynniki stresowe istotne dla warunków panujących w oku.

1.1. Soczewki kontaktowe

Tabela 20 przedstawia przegląd Si-Hy soczewek kontaktowych użytych w badaniu, sklasyfikowanych według ISO/FDA jako Grupa V. Wybór obejmował soczewki do dwutygodniowej i miesięcznej wymiany.

Tabela 20 Soczewki kontaktowe użyte w badaniu. Moc optyczna soczewek wynosiła $-3,00$ dptr. H_2O – zawartość wody; CT – grubość centralna; Rep – tryb wymiany; MPDMS = monofunkcyjny polidimetylosiloksan; DMA = *N,N*-dimetyloakryloamid; HEMA = hydroksyetylometakrylan; TEGDMA = tetraetylenoglikolodimetakrylan; PVP = poliwinylpiperolidon; NVP = *N*-winylpiperolidon; VMA = *N*-winyl-*N*-metyloacetamid; IBM = izobornylometakrylan; TAIC = 1,3,5-trialylo-1,3,5-triazyno-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trion; M3U = bis(metakryloiloksyetyloiminokarboksyetoksypropyl)-poli(dimetylosiloksan)-poli(trifluoropropylometylosiloksan)-poli(metoksy-poli[etylenoglikol]propylometylosiloksan); FM0411M = metakryloiloksyetyloiminokarboksyetoksypropyl-poli(dimetylosiloksy)-butylodimetylosilan; HOB = 2-hydroksybutylometakrylan.

Nazwa handlowa	Material	Producent	H ₂ O [%]	CT [mm]	Rep	Główne monomery [311], [312]
Acuvue Oasys	senofilcon A	Johnson & Johnson, Jacksonville, FL, USA	38	0,07	dwutygodniowy	MPDMS, DMA, HEMA, siloksanowy makromer, TEGDMA, PVP
Biofinity	comfilcon A	CooperVision, Pleasanton, CA, USA	48	0,08	miesięczny	NVP, VMA, IBM, TAIC, M3U, FM0411M, HOB

1.2. Roztwory inkubacyjne

W badaniu zastosowano trzy różne roztwory do inkubacji soczewek Si-Hy. Roztwór referencyjny (kontrolny) stanowił komercyjny, izotoniczny roztwór soli fizjologicznej (Avizor Saline®, Avizor, Hiszpania). Zawierał on minimalne ilości środków konserwujących – poliheksanid w stężeniu 0,00005%.

Dwa pozostałe roztwory przygotowano ATS – bez lipidów, zgodnie z protokołami zaadaptowanymi z wcześniej opublikowanych metod [218], [252]. Formuła ta została opracowana w celu odtworzenia wodno-mucynowego komponentu ludzkiego filmu łzowego i nie zawierała składników lipidowych. Szczegółowy skład i stężenia przedstawiono w Tabeli 21. Pierwszy roztwór badawczy to ATS bez lipidów.

Tabela 21 Skład sztucznych łez bez lipidów (lipid-free ATS).

Składnik roztworu soli	Stężenie	Białko	Stężenie
NaCl	90 mM	Lizozym	1,9 mg/ml
Na ₂ HPO ₄	24 mM	Laktoferyna	1,8 mg/ml
KCl	16 mM	Albumina	0,2 mg/ml
Na ₂ CO ₃	12 mM	Mucyny	0,15 mg/ml
KHCO ₃	3 mM		
Cytrynian trisodowy	1,5 mM		
Mocznik	1,2 mM		
CaCl ₂	0,5 mM		
Glukoza	0,2 mM		
PHMB (poliheksametylen biguanid, konserwant)	0,00005% (~0,000156 mM)		

Drugi roztwór badawczy (ATS z lipidami) przygotowano w oparciu o tę samą bazową formułę co ATS bez lipidów, jednak wzbogacono go o sześć reprezentatywnych lipidów występujących we łzach, w celu lepszego odwzorowania naturalnego filmu

łzowego. Szczegółowy skład i stężenia przedstawiono w Tabeli 22. Te trzy roztwory oznaczono skrótowo jako „saline”, „lipid-free ATS” oraz „lipid ATS”. EWC mierzono również dla soczewek wyjętych bezpośrednio z oryginalnego blistra (oznaczenie „blister”).

Tabela 22 Lipidy dodane do roztworu ATS z lipidami (lipid ATS).

Lipid	Stężenie [mg/ml]
Oleinian cholesterolu	0,024
Trioleina	0,0016
Ester metylowy kwasu oleinowego	0,012
Cholesterol	0,0018
Kwas oleinowy	0,0018
Fosfatydylocholina	0,0005

1.3. Inkubator do soczewek kontaktowych

Na potrzeby niniejszego badania wytworzono specjalnie zaprojektowany CLI, mający na celu symulację mechanizmu mrugania (w szczególności ekspozycji na powietrze). Urządzenie CLI zostało indywidualnie zaprojektowane i wydrukowane w technologii 3D z wykorzystaniem materiału PETG (politereftalan etylenu modyfikowany glikolem). Wewnętrzne powierzchnie głównej komory zostały uszczelnione dwuskładnikową żywicą epoksydową w celu zapewnienia szczelności.

Komponenty inkubatora:

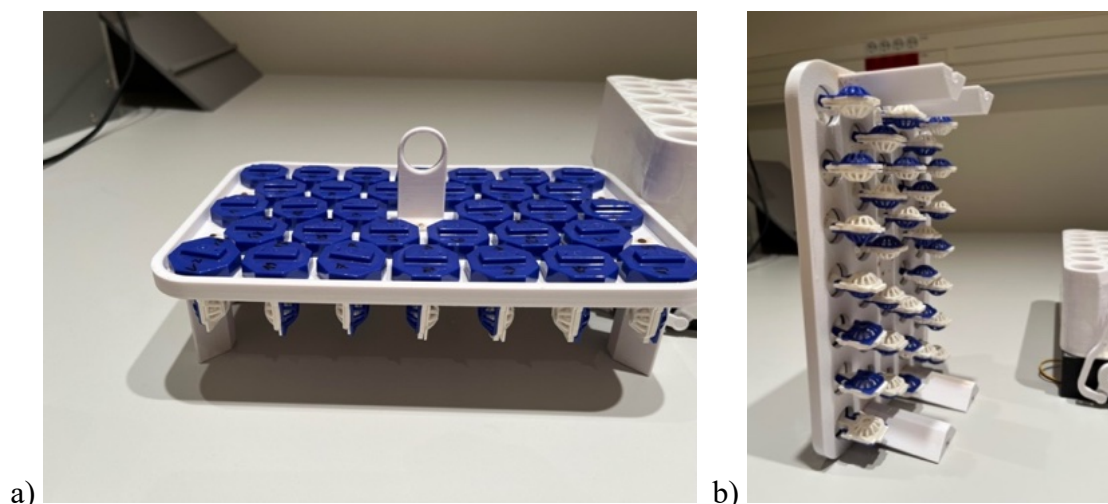
1. Główna komora – centralny korpus urządzenia zawiera 32 tuleje teflonowe, które minimalizują odkładanie się składników ATS. Wszystkie tuleje są połączone ze zbiornikiem retencyjnym, utrzymującym stały poziom płynu podczas całego eksperymentu. Każda tuleja teflonowa jest połączona z głównym zbiornikiem poprzez kanały zaprojektowane w oparciu o geometrię stożkową i techniki mostkowania. Kanały te zoptymalizowano pod kątem druku 3D metodą FDM (z ang. *Fused Deposition Modeling*), co wyeliminowało konieczność stosowania podpór i zapewniło swobodny przepływ cieczy.
2. Zespół uchwytu soczewek – umożliwia jednoczesną inkubację do 64 soczewek kontaktowych. Komercyjne pojemniki na soczewki (AOSept Plus HydraGlyde®) zostały zaadaptowane do nowego zastosowania i wkręcone we wspólną płytę (Rysunek 45). Taka konfiguracja zapewnia stabilne i równomierne rozmieszczenie wszystkich soczewek podczas inkubacji.
3. Mechanizm ruchu – system złożony z serwomechanizmów i ramion mechanicznych steruje ruchem pionowym płyty z soczewkami. Mechanizm ten umożliwia

cykliczne zanurzanie soczewek w ATS (symulacja warunków zamkniętego oka), a następnie ich wynurzanie i ekspozycję na powietrze (symulacja otwartego oka), imitując w ten sposób ruch mrugania.

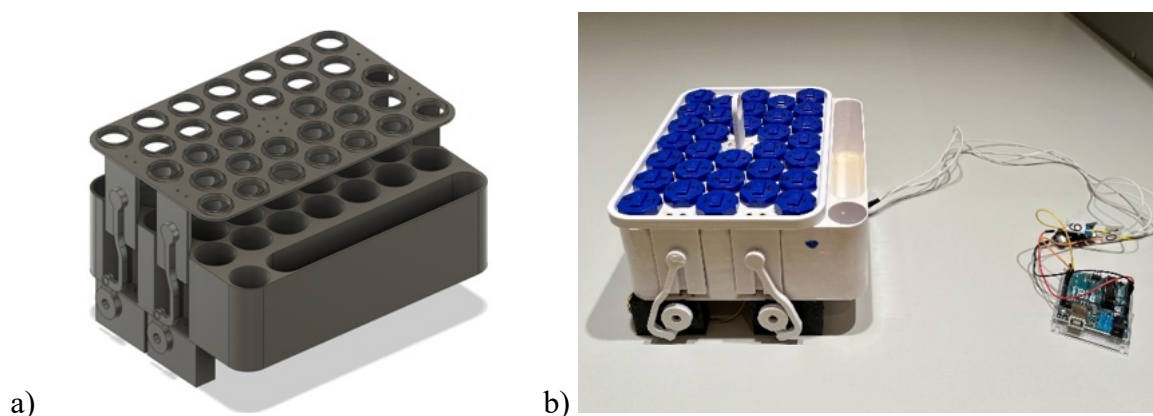
4. System sterowania – cały mechanizm ruchu jest sterowany przez mikrokontroler oparty na platformie Arduino, co umożliwia programowanie czasu cykli oraz automatyczną pracę urządzenia.

Model 3D CLI oraz jego zdjęcie przedstawiono na Rysunku 46.

CLI umożliwia prowadzenie badań obejmujących dużą próbkę soczewek oraz dynamiczną symulację warunków filmu łzowego, dzięki naprzemiennemu zanurzaniu i ekspozycji na powietrze 64 soczewek jednocześnie, zapewniając realistyczny model do oceny wpływu interakcji z lipidami w warunkach zbliżonych do fizjologicznych.



Rysunek 46 Widok z góry (a) i z boku (b) zespołu uchwytu soczewek z zamontowanymi 32 koszykami na soczewki. Białe pionowe „filary” pełnią rolę przewodnic umożliwiających precyzyjny i stabilny ruch góra–dół podczas symulowanych cykli mrugania.



Rysunek 47 Model 3D CLI oraz jego rzeczywiste zdjęcie wraz z zamontowanymi koszykami na soczewki.

1.4. Proces inkubacji

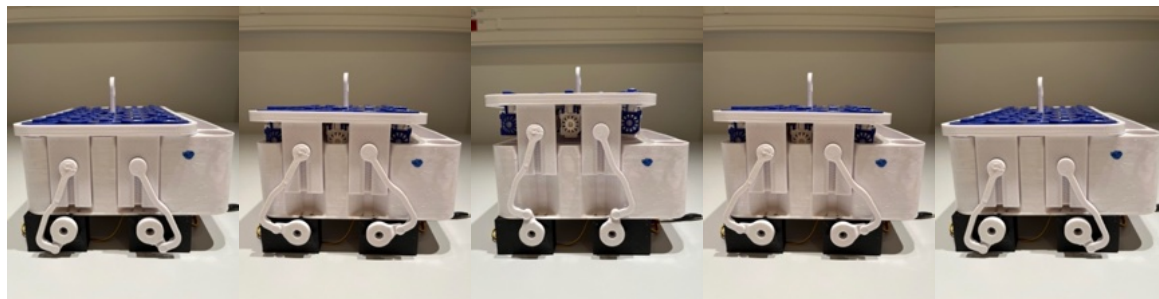
Proces inkubacji partii soczewek kontaktowych został zaprojektowany tak, aby symulować tydzień intensywnego, codziennego noszenia soczewek w trybie dziennym. Każdy

cykl obejmował 16 godzin symulowanego noszenia oraz 8 godzin przerwy, w trakcie której soczewki umieszczano w pojemnikach wypełnionych świeżym roztworem Opti-Free® PureMoist®. Łącznie soczewki były inkubowane przez 112 godzin oraz dodatkowo spędzały 56 godzin w roztworze Opti-Free® PureMoist®.

Przeprowadzono sześć takich cykli inkubacyjnych. Soczewki wykonane z dwóch różnych materiałów były inkubowane w trzech różnych roztworach: soli fizjologicznej (saline), ATS bez lipidów oraz ATS z lipidami. W każdym cyklu inkubowano 64 soczewki tego samego typu.

Podczas całego procesu inkubacji inkubator soczewek był umieszczony w inkubatorze laboratoryjnym (Steinberg, SBS-LI-18), w celu utrzymania temperatury fizjologicznej 35 °C. Mechanizm inkubatora soczewek realizował naprzemienne cykle zanurzenia i unoszenia, jak pokazano na Rysunku 47, symulując ruch mrugania z częstotliwością 10 cykli na minutę.

Mechanizm został zaprojektowany w taki sposób, aby bezpośrednio po pełnym zanurzeniu następowało uniesienie soczewek ponad poziom roztworu. Soczewki pozostawały ponad roztworem przez 5 s w każdym cyklu, z czego 1 s przeznaczono na proces unoszenia i opuszczania. Takie podejście miało na celu odtworzenie warunków fizjologicznych oraz ekspozycji soczewek kontaktowych na powietrze podczas typowego noszenia.



Rysunek 48 Sekwencja pełnego symulowanego cyklu mrugania: zanurzenie (zamknięte oko), ruch w górę, pełne wynurzenie (otwarte oko – ekspozycja na powietrze), ruch w dół, pełne zanurzenie (zamknięte oko).

1.5. Pomiary termograwimetryczne

Aby zmierzyć zawartość wody w soczewkach kontaktowych, rejestrowano masę zarówno uwodnionych, jak i suchych soczewek, wykorzystując wagosuszkę (RADWAG MA 50/1.X2.A, dokładność 0,0001 g). Pomiary przeprowadzano po przechowywaniu soczewek przez 8 godzin w roztworze Opti-Free® PureMoist®.

Soczewki podzielono następnie na osiem próbek, z których każda zawierała osiem soczewek, i umieszczono je w 40 mL PBS. Za pomocą wytrząsarki typu vortex usuwano luźno związane osady, po czym próbki pozostawiano na 10 minut w spoczynku.

Soczewki ważono w partiach po osiem sztuk, aby zapewnić odpowiednią masę próbki — powyżej 0,3 g dla masy mokrej i powyżej 0,1 g dla masy suchej. Unikano większej liczby soczewek w próbce, aby zminimalizować parowanie wody podczas przenoszenia na szalkę wagosuszarki.

Po wyjęciu z PBS nadmiar wilgoci powierzchniowej delikatnie osuszano bibułą. Następnie soczewki umieszczano na płytce i rejestrowano masę mokrą. Rozpoczynano proces suszenia, a po jego zakończeniu mierzono masę suchą. Proces suszenia był automatycznie przerywany przez wagosuszkę, gdy zmiana masy próbki była mniejsza niż 1 mg w ciągu 30 sekund, co oznaczało osiągnięcie stabilnej masy suchej.

Oprócz soczewek poddanych procesowi inkubacji, wykonano również pomiary dla soczewek bezpośrednio wyjętych z oryginalnych opakowań blistrowych.

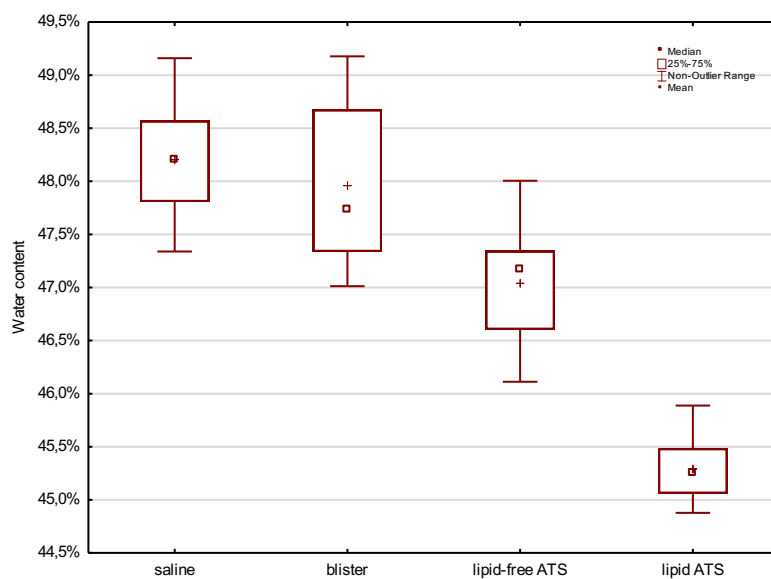
2. Wyniki

Tabela 23 przedstawia statystyki opisowe zmierzonych wartości EWC dla soczewek kontaktowych comfilcon A oraz senofilcon A. Rysunki 48 i 49 pokazują rozkład zmierzonej zawartości wody dla wszystkich rodzajów roztworów. A. Do oceny różnic statystycznych pomiędzy roztworami zastosowano nieparametryczny test Kruskala-Wallisa dla wielu prób niezależnych, oparty na wszystkich dostępnych pomiarach. Stwierdzono statystycznie istotne różnice w zawartości wody pomiędzy poszczególnymi roztworami.

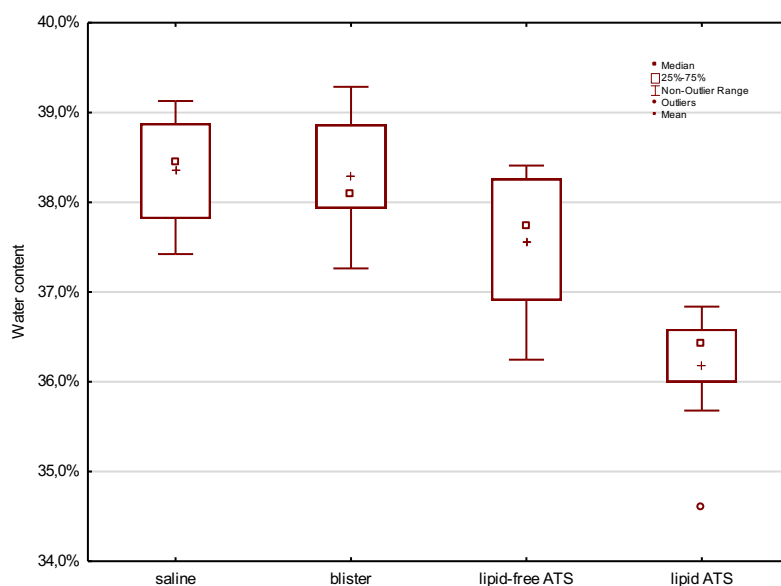
Na podstawie tych wyników przeprowadzono testy U Manna-Whitneya dla dwóch niezależnych prób (poziom istotności $p = 0,05$) dla par płynów: sól fizjologiczna vs. blister, sól fizjologiczna vs. ATS bez lipidów oraz sól fizjologiczna vs. ATS z lipidami (patrz Tabele 24, 25).

Tabela 23 Statystyki opisowe zawartości wody dla obu typów soczewek kontaktowych. Dla soczewek comfilcon A deklarowana zawartość wody wynosiła 48%, a dla soczewek senofilcon A – 38%. SD – odchylenie standardowe.

zmierzona zawartość wody (średnia±SD) [%]	blister	saline	lipid-free ATS	lipid ATS
comfilcon A	47,96±0,84	48,21±0,57	47,05±0,59	45,30±0,32
senofilcon A	38,29±0,66	38,35±0,64	37,56±0,80	36,18±0,73



Rysunek 49 Wykres ramka-wąsy pokazujący rozkład wartości zawartości wody dla różnych roztworów w soczewkach comfilcon A.



Rysunek 50 Wykres ramka-wąsy pokazujący rozkład wartości zawartości wody dla różnych roztworów w soczewkach senofilcon A.

Tabela 24 Wyniki testu U Manna-Whitneya (z poprawką ciągłości) dla soczewek comfilcon A. Testy zaznaczone na czerwono są istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

pary	Test Mann-Whitney U (z poprawką ciągłości)		
	U	Z	p
saline vs. blister	24	0,79	0,43
saline vs. lipid-free ATS	4	2,89	<<0,01
saline vs. lipid ATS	0	3,31	<<0,01
lipid-free ATS vs. lipid ATS	0	3,31	<<0,01

Tabela 25 Wyniki testu U Manna-Whitneya (z poprawką ciągłości) dla soczewek senofilcon A. Testy zaznaczone na czerwono są istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

pary	Test Mann-Whitney U (z poprawką ciągłości)		
	U	Z	p
saline vs. blister	31	0,05	0,96
saline vs. lipid-free ATS	16	1,63	0,10
saline vs. lipid ATS	0	3,31	<<0,01
lipid-free ATS vs. lipid ATS	7	2,57	0,01

3. Dyskusja

Wyniki niniejszego badania wskazują, że EWC, mierzona grawimetrycznie, dla soczewek wyjętych bezpośrednio z opakowania blister oraz po inkubacji w soli fizjologicznej w inkubatorze CLI, pozostała bardzo zbliżona do wartości deklarowanych przez producenta (nie wykazano statystycznie istotnych różnic), co wskazuje na wiarygodność i powtarzalność przeprowadzonych pomiarów. Ponadto, zarówno w przypadku soczewek z materiału comfilcon A, jak i senofilcon A, nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w EWC pomiędzy tymi dwoma warunkami (blister vs saline). Ta spójność potwierdza, że zastosowana metoda grawimetryczna dostarcza wiarygodnych i powtarzalnych wyników pomiaru EWC w wybranych warunkach eksperymentalnych. Kolejne porównania koncentrowały się na soczewkach inkubowanych w ATS bez lipidów oraz ATS z lipidami, przy użyciu soli fizjologicznej jako odniesienia, a także na bezpośrednich porównaniach pomiędzy ATS bez lipidów i ATS z lipidami. Takie podejście zapewniło, że porównywane próbki podlegały identycznym protokołom inkubacji, różniąc się jedynie składem roztworu wykorzystywanego w inkubacji.

Porównując roztwór soli fizjologicznej z ATS bez lipidów, zaobserwowano statystycznie istotny spadek EWC dla soczewek comfilcon A, podczas gdy dla soczewek senofilcon A nie stwierdzono takiego efektu. Różnica ta może odzwierciedlać swoiste cechy materiałowe związane ze skłonnością do absorpcji białek z ATS. Wcześniejsze badania wykazały, że materiały Si-Hy różnią się pod względem powinowactwa do różnych białek filmu łzowego [313], a prace dotyczące konkurencyjnych efektów adsorpcji białek z roztworów sztucznych łez dowiodły, że comfilcon A gromadzi większe ilości osadów białkowych niż senofilcon A [314]. Takie wiązanie białek mogłoby wpływać na matrycę soczewki i jej właściwości hydratacyjne, co tłumaczyłoby obserwowany spadek EWC w soczewkach comfilcon A w warunkach obecności białek, ale braku lipidów.

W przypadku obu typów soczewek – comfilcon A i senofilcon A – stwierdzono istotny statystycznie wpływ ekspozycji na lipidy na EWC. Znaczące obniżenie zawartości wody obserwowano nie tylko w porównaniu ATS z lipidami do soli fizjologicznej, ale również w porównaniu ATS z lipidami do ATS bez lipidów, i było to spójne dla obu materiałów. Wiadomo, że lipidy łatwo osadzają się zarówno na powierzchni, jak i w strukturze wewnętrznej soczewek Si-Hy [175], [263], choć ilość i rozmieszczenie tych osadów mogą różnić się w zależności od konkretnego materiału [209], [261], [297]. Powinowactwo lipidów do materiałów soczewek kontaktowych jest w dużej mierze związane z hydrofobowością niektórych komponentów polimerowych, przy czym polidimetylosiloksan (PDMS) – główny składnik silikonowy w soczewkach Si-Hy – jest powszechnie wskazywany jako kluczowy czynnik sprzyjający sorpcji lipidów [17], [260]. Ponadto wykazano, że obecność białek w roztworze sztucznych łez zwiększa ilość osadów lipidowych [218], [228], co sugeruje synergiczne oddziaływania pomiędzy składnikami filmu łzowego, mogące przyspieszać zmiany w właściwościach hydratacyjnych soczewek w czasie.

Porównując roztwór soli fizjologicznej z ATS z lipidami, stwierdzono spadek EWC o 2,91 punktu procentowego w soczewkach comfilcon A i o 2,17 punktu procentowego w soczewkach senofilcon A. Choć różnica pomiędzy tymi wartościami jest stosunkowo niewielka, może ona wynikać z odmienności w strukturze i składzie sieci polimerowej obu materiałów. Składniki silikonowe – prawdopodobnie odpowiedzialne za wiązanie lipidów – różnią się w tych materiałach: senofilcon A zawiera monofunkcyjny polidimetylosiloksan (MPDMS), podczas gdy comfilcon A zawiera kopolimer bis(metakryloiloksyetyl iminokarboksyetylo-oksylopropylo)-poli(dimetylosiloksan)-poli(trifluoropropylo-metylosiloksan)-poli(metoksy-poli[etylenoglikol] propylo-metylosiloksan) (M3U), który również obejmuje segmenty PDMS [315]. Oba typy soczewek różnią się także nominalną zawartością wody (38% vs. 48%), co odzwierciedla zastosowanie różnych środków zwiększających hydrofilowość – poliwinylpirolidonu (PVP) w senofilcon A oraz N-winylo-pirolidonu (NVP) w comfilcon A. Zawartość wody w materiale soczewki odgrywa kluczową rolę: wyższa zawartość wody generalnie koreluje ze zwiększoną absorpcją lipidów ze względu na hydrofilowy charakter matrycy polimerowej, która może przyciągać i wiązać większe ilości lipidów [177], [316]. Można ponadto przypuszczać, że wyższa zawartość wody w comfilcon A wiąże się z większym udziałem wody niezwiązanej (zamarzającej) w porównaniu do wody związanej [317], a ta frakcja może być łatwiej wypierana z matrycy podczas interakcji z lipidami. Ponadto, oba materiały charakteryzują się stosunkowo

dużymi rozmiarami porów (>170 nm) [316], co mogłoby ułatwiać penetrację lipidów w głąb polimeru i tym samym przyczyniać się do obserwowanej utraty uwodnienia.

Utrzymujący się spadek EWC może odzwierciedlać nie tylko utratę wody, ale również indukować wtórne zmiany w kluczowych właściwościach materiałowych i optycznych soczewek kontaktowych, które wcześniej wiązano z odwodnieniem soczewek, takich jak sztywność i chropowatość powierzchni [318], zwilżalność [160], współczynnik załamania światła [319], a nawet geometria soczewki [155], [156]. Takie zmiany mogą prowadzić do destabilizacji filmu łzowego przed soczewką oraz obniżenia jakości optycznej soczewki, co w konsekwencji może powodować pogorszenie efektów klinicznych i zwiększony dyskomfort użytkowników w czasie noszenia.

4. Wnioski

Niniejsze badanie dostarcza dowodów, że odkładanie się lipidów może powodować statystycznie istotne i potencjalnie nieodwracalne obniżenie EWC w Si-Hy soczewkach kontaktowych. Podczas gdy soczewki ekspozowane jedynie na roztwór soli fizjologicznej utrzymywały wartości uwodnienia zbliżone do deklarowanych, inkubacja w roztworze sztucznych łez zawierającym lipidy skutkowała mierzalnym spadkiem EWC zarówno w soczewkach z materiału comfilcon A, jak i senofilcon A.

Soczewki o wyższej zawartości wody, takie jak comfilcon A, wykazywały większą podatność na lipidowo-indukowaną utratę uwodnienia, co jest zgodne z koncepcją, że zwiększona hydrofilowość oraz większy udział wody niezwiązanej sprzyjają absorpcji lipidów.

Z klinicznego punktu widzenia, utrzymujący się spadek EWC może prowadzić do zmian właściwości soczewek, potencjalnie zaburzając stabilność filmu łzowego, jakość optyczną oraz komfort użytkowania w czasie. Wyniki te podkreślają potrzebę projektowania materiałów soczewek oraz stosowania schematów pielęgnacyjnych ukierunkowanych na minimalizowanie powinowactwa lipidów i skuteczne usuwanie osadów lipidowych, zanim spowodują one nieodwracalne zmiany.

W oparciu o obecne wyniki, przyszłe badania mogłyby rozszerzyć tę pracę na warunki *in vivo*, porównując użytkowników soczewek kontaktowych z objawami dyskomfortu po pewnym czasie noszenia soczewek wielokrotnego użytku z użytkownikami bezobjawowymi stosującymi ten sam typ soczewek. Pomiar EWC w soczewkach pobranych z obu grup po rutynowym noszeniu pozwoliłby określić, czy nieodwracalna utrata uwodnienia występuje częściej u osób z objawami. Dla dalszego wyjaśnienia mechanizmu soczewki

mogłyby zostać poddane ilościowej analizie lipidów, np. z zastosowaniem technik ekstrakcji rozpuszczalnikowej, aby bezpośrednio powiązać stopień odkładania się lipidów ze zmianami w zawartości wody. Takie dowody wzmocniłyby związek pomiędzy akumulacją lipidów, trwałym spadkiem EWC a pojawieniem się dyskomfortu związanego z noszeniem soczewek kontaktowych, zapewniając bezpośrednie kliniczne odniesienie do wyników *in vitro* zaobserwowanych w niniejszym badaniu.

Rozdział V. Podsumowanie

Niniejsza rozprawa stanowi systematyczne, wielowarstwowe opracowanie problemu interakcji lipidów z materiałami Si-Hy, ujmujące zjawiska zarówno w kierunku „lipidy → soczewka” (adsorpcja, dyfuzja do matrycy, modyfikacja właściwości powierzchniowych i hydratacyjnych), jak i „soczewka → film łzowy” (wpływ na organizację i stabilność przedsoczewkowej warstwy lipidowej filmu łzowego). Konstrukcja pracy prowadzi od tła fizjologiczno-materiałowego do badań własnych, w których połączono obrazowanie fluorescencyjną mikroskopią konfokalną oraz oceny funkcjonalne (LLT i EWC). Każdy rozdział opisujący badania własne wnosi odrębny komponent nowej wiedzy: od charakterystyki sygnałów optycznych i mikro-tekstury powierzchni Si-Hy, przez opis mechanizmów osadzania i transportu cholesterolu, po przełożenie obserwacji laboratoryjnych na parametry użytkowe i kliniczno-diagnostyczne filmu łzowego. Praca ma charakter wdrożeniowy: opracowane metody, narzędzia pomiarowe oraz wnioski interpretacyjne zostały zaprojektowane z myślą o ich bezpośrednim transferze do praktyk działu Badań i Rozwoju firmy Alcon. Dzięki temu wyniki rozprawy mają charakter nie tylko poznawczy, lecz także aplikacyjny, wyznaczając ramy dla dalszej optymalizacji materiałów i protokołów pielęgnacyjnych w nowoczesnej kontaktologii.

Rozdział II opisuje trzyetapowy proces dochodzenia do metody pozwalającej rejestrować w czasie rzeczywistym zarówno inicjację adhezji lipidów do powierzchni soczewek Si-Hy, jak i ich transport w głąb matrycy materiału.

Pierwsze badanie koncentrowało się na ilościowej ocenie sygnału odbicia dla wybranych materiałów Si-Hy oraz na wyznaczeniu parametrów akwizycji zapewniających powtarzalną lokalizację powierzchni soczewki. Wykazano, że różnice w odbiciu nie wynikają jedynie z wartości współczynnika załamania i zawartości wody deklarowanych przez producentów, lecz są silnie modulowane przez stan i modyfikacje warstwy powierzchniowej (np. powłoki plazmowe, warstwy z MPC). Ten etap dostarczył dwóch rzeczy kluczowych dla dalszych prac: po pierwsze, zewnętrzny „punkt odniesienia” – zestaw ustawień optycznych i geometrycznych (pozycjonowanie w osi z, zakres widma, wielkość pola), które minimalizują artefakty i ułatwiają porównania między materiałami; po drugie, jakościowo-ilościową mapę różnic materiałowych, potrzebną do interpretacji późniejszych obrazów, w których sygnał fluorescencji lipidów będzie nakładał się na sygnały odbiciowe interfejsu.

Drugie badanie, prowadzone na tym samym systemie wzbogacono o rejestrację fluorescencji NBD-CHL w przekrojach xz/xyz po standaryzowanej inkubacji. Celem była

obserwacja przestrzennego rozkładu sygnału na powierzchni i w najbliższych warstwach materiału, tak aby rozróżnić wstępną adsorpcję od początkowej absorpcji do masy. Uzyskane modele 3D i profile intensywności pokazały, że morfologia aglomeratów oraz tempo wnikania do matrycy są zależne od materiału, przy czym na różnych soczewkach dominować może inny bilans „powierzchnia vs. objętość”. Jednocześnie wskazano ograniczenia tego podejścia: uproszczone środowisko (PBS zamiast ATS), potencjalny wpływ znakowania NBD na dystrybucję oraz statyczna natura inkubacji. Mimo tych zastrzeżeń, etap 2 dostarczył pierwszych map głębokościowej dystrybucji sygnału.

Trzeci etap, wykorzystujący platformę z wirującym dyskiem Yokogawy, zapewnił wysoką rozdzielczość czasową oraz znacznie większe pole obserwacji. Konfiguracja ta umożliwiła precyzyjną rejestrację momentu inicjacji adsorpcji oraz śledzenie zachowania pojedynczych aglomeratów i ich penetracji do matrycy. Pozwoliło to na częściową weryfikację Hipotezy I i realizację Celu I rozprawy. Wykazano, że fluorescencyjna mikroskopia konfokalna z dyskiem Yokogawy jest wysoce skutecznym narzędziem do uchwycenia dynamiki osadzania lipidów w czasie rzeczywistym, szczególnie w fazie inicjacji procesu. Należy jednak zaznaczyć, że w zakresie różnicowania mechanizmów transportu wewnątrz matrycy między poszczególnymi materiałami Si-Hy, wyniki wskazały na dużą zbieżność procesów dyfuzyjnych, co nie pozwoliło na sformułowanie jednoznacznych różnic statystycznych dla całej badanej grupy.

Wyniki trzeciego etapu wykazały, że osadzanie rozpoczyna się bardzo szybko (w ciągu pierwszych minut) i ma charakter przestrzennie niejednorodny; powstające aglomeraty zaburzają gładkość powierzchni soczewki, co potencjalnie może wpływać na stabilność filmu łożowego. Podsumowując, opracowana metoda potwierdziła swoją wartość jako narzędzie do monitorowania kinetyki zanieczyszczania powierzchni, choć Hipoteza I o wyraźnym różnicowaniu mechanizmów transportu między materiałami została potwierdzona jedynie częściowo ze względu na zbliżone właściwości fizykochemiczne badanych polimerów. Stanowi ona jednak istotny fundament rozwojowy: może służyć w laboratoriach R&D jako szybki screening nowych materiałów oraz dostarczać danych do optymalizacji projektowania soczewek o wyższej odporności na osady lipidowe.

Badanie z rozdziału III zaprojektowano tak, by uchwycić wczesną odpowiedź filmu łożowego na aplikację soczewki Si-Hy i sprawdzić, czy jej skala zależy od materiału. Zastosowano nieinwazyjną interferometrię i cztery popularne soczewki (lotrafilcon B, comfilcon A, lehfilcon A, senofilcon A), analizując LLT przed aplikacją oraz po 1, 3 i 5 minutach. Wartości wyjściowe LLT (~65–68 nm) były zgodne z danymi referencyjnymi, co

potwierdza poprawność warunków i reprezentatywność grupy; każde oko traktowano jako niezależną jednostkę pomiarową, aby lepiej wychwycić różnice zależne od interfejsu soczewka–film łzowy.

W pierwszej minucie od aplikacji odnotowano istotny wzrost LLT względem wartości wyjściowych dla lotrafilcon B, senofilcon A i lehfilcon A, podczas gdy comfilcon A nie różnił się od stanu bazowego. Po trzech minutach utrzymywał się wzrost dla senofilcon A i lehfilcon A (lotrafilcon B i comfilcon A pozostawały bez istotnych zmian względem bazowych), a po pięciu minutach istotność utrzymała się dla lotrafilcon B i senofilcon A (lehfilcon A i comfilcon A nie różniły się już od stanu wyjściowego). Porównania przekrojowe między materiałami w tych samych punktach czasu nie osiągnęły istotności statystycznej, natomiast analiza czasowa ujawniły materiałozależne różnice: dla comfilcon A u większości uczestników obserwowano istotny spadkowy trend LLT w czasie, podczas gdy dla pozostałych materiałów wzorce były bardziej zróżnicowane (mieszane korelacje dodatnie i ujemne). Częstość mrugania nie różniła się istotnie między materiałami i tylko słabo, nieistotnie statystycznie, wiązała się ze zmianą LLT.

Wczesne pogrubienie warstwy lipidowej po aplikacji prawdopodobnie wynika z „wyciśnięcia” meibum podczas manipulacji powiekami oraz/lub ze zmianą zwilżalności powierzchni, która ułatwia rozprowadzenie frakcji niepolarnych lipidów. Brak stabilizacji LLT w pięciominutowym oknie i różne zachowania poszczególnych soczewek wskazują, że ocena dopasowania wykonana po tak krótkim czasie może być obciążona ryzykiem i powinna być uzupełniana dłuższą obserwacją.

W tym świetle Hipoteza II została potwierdzona co do głównej tezy: założenie soczewki Si-Hy powoduje statystycznie istotne zmiany LLT względem stanu wyjściowego, a ich materiałowa zależność ujawniła się przede wszystkim w kinetyce (różnych trajektoriach w czasie), choć nie w prostych porównaniach przekrojowych między soczewkami w granicach 1–5 minut. Cel II zrealizowano w pełni: ilościowo opisano wczesną dynamikę LLT po aplikacji i wykazano, że pięć minut to zbyt krótko, by przyjąć stan ustalony. Uzyskane wyniki potwierdzają zasadność przyjęcia co najmniej 10 minut jako standardowego czasu klinicznej oceny dopasowania soczewki po jej założeniu. Jednocześnie wskazują, że w badaniach naukowych dotyczących zmian LLT celowe może być wydłużenie okna obserwacji poza pierwsze 5 minut, aby pełniej uchwycić dynamikę odpowiedzi filmu łzowego.

Rozdział IV miał na celu empiryczne sprawdzenie czy obecność osadów lipidowych obniża EWC w soczewkach Si-Hy oraz w jakich warunkach efekt ten ujawnia się i

narasta. Do tego zbudowano autorski CLI, który odtwarza kluczowe parametry środowiska oka: temperaturę 35 °C, kontakt z ATS oraz cykliczną ekspozycję na powietrze imitującą mruganie. Dzięki możliwości jednoczesnej inkubacji wielu próbek w identycznym reżimie oraz zastosowaniu pomiarów termograwimetrycznych uzyskano wiarygodny, powtarzalny pomiar EWC w horyzoncie czasowym odpowiadającym intensywnemu tygodniowi użytkowania dziennego.

Wyniki wskazały, że soczewki wyjęte bezpośrednio z blistra oraz soczewki inkubowane w samej soli fizjologicznej utrzymują EWC bliskie wartościom deklarowanym przez producentów, co potwierdza poprawność metody i neutralność warunków referencyjnych. Efekty pojawiały się wraz ze złożonością środowiska: w ATS bez lipidów odnotowano spadek EWC dla comfilcon A (brak takiego efektu dla senofilcon A), co można wiązać z różnicami w powinowactwie białek do matrycy polimerowej. Kluczowe jednak było włączenie frakcji lipidowej: w ATS z lipidami EWC spadało istotnie zarówno względem soli, jak i względem ATS bez lipidów — i to w obu materiałach. Skala efektu była wymierna: w porównaniu do soli fizjologicznej EWC obniżało się średnio o ~2,9 pp dla comfilcon A i ~2,2 pp dla senofilcon A, co przy zachowaniu jednorodnej metodyki wskazuje na realny wpływ lipidów na uwodnienie.

Różnice między materiałami — architektura i chemia segmentów silikonowych (np. PDMS), rodzaj i ilość środków hydrofilowych (PVP/NVP), udział wody związanej vs. nie związanej oraz wielkość porów — modułują łatwość penetracji lipidów i podatność na utratę uwodnienia. Obserwowany, utrzymujący się spadek EWC ma znaczenie funkcjonalne: może wtórnie pogarszać zwilżalność, zmieniać współczynnik załamania, zwiększać sztywność i chropowatość powierzchni, geometrię soczewek a w konsekwencji sprzyjać PLTF i obniżać komfort.

W świetle tych danych Hipoteza III została potwierdzona: obecność osadów lipidowych prowadzi do istotnego zmniejszenia EWC w materiałach Si-Hy. Cel III również został zrealizowany: zaprojektowany inkubator umożliwił kontrolowaną, zbliżoną do fizjologicznej ocenę dynamiki zmian uwodnienia i wyraźne rozdzielenie wpływu poszczególnych składników ATS. Metodyka tworzy podstawę do dalszych, szerzej zakrojonych badań porównawczych materiałów i powłok o zróżnicowanej „odporności lipidowej”, do testów różnych schematów pielęgnacji oraz do przyszłych korelacji z wynikami *in vivo* — tam, gdzie spadek EWC może okazać się brakującym ogniwem między obciążeniem lipidowym a pogorszeniem stabilności filmu łzowego i komfortu noszenia.

Praca integruje w spójną ramę wzajemne oddziaływania między soczewką kontaktową, lipidami i filmem łzowym, pokazując zarówno wpływ lipidów na mikrostrukturę i uwodnienie materiałów Si-Hy (EWC), jak i wpływ właściwości soczewki na organizację oraz wczesną dynamikę warstwy lipidowej (LLT) po aplikacji. Dzięki przeprowadzonym badaniom rozszerzono metody badawcze (wprowadzając konfokalną metodę obrazowania od pierwszego kontaktu z poszerzonym polem obserwacji i zapisem kinetyki adhezji oraz penetracji), a także poszerzono wiedzę kliniczną i materiałoznawczą: wykazano zależne od materiału zmiany LLT w pierwszych minutach noszenia oraz potwierdzono, że depozyty lipidowe istotnie obniżają EWC w warunkach zbliżonych do fizjologicznych. Dodatkowo skonstruowano inkubator CLI, który w kontrolowanych warunkach ATS z symulacją mrukania umożliwia wielopróbkowe, powtarzalne eksperymenty. Całość wyników potwierdziła hipotezy badawcze i dostarczyła praktycznej ramy interpretacyjnej dla projektowania, doboru oraz pielęgnacji soczewek o zwiększonej odporności na depozycję lipidów.

Spis rysunków

Rysunek 1 Przekrój rogówki wykonany za pomocą Optycznej Koherencyjnej Tomografii (OCT). Źródło: repozytorium własne autora	19
Rysunek 2 Meibografia górnej i dolnej powieki. Źródło: repozytorium własne autora	23
Rysunek 3 Struktura filmu łzowego. Źródło: S. Masoudi, „Biochemistry of human tear film...” [56].....	24
Rysunek 4 Struktura prawidłowej warstwy lipidowej filmu łzowego wraz z wyróżnioną częścią polarną oraz niepolarną. filmu łzowego wraz z wyszczególnieniem zewnętrznej warstwy lipidowej. Chl-E (estry cholesterolu), WE (estry wosków), WdiE (diestrowe woski), Chl-OAHFA (estry cholesterolu (O-acyl)- ω -hydroksykwasy tłuszczowych), TAG (triacyloglicerole), PI (fosfolipidy), Chl (cholesterol), FFA (wolne kwasy tłuszczowe), Cer (ceramidy). Źródło: M. Yazdani, „Tear film lipid layer...” [74].....	26
Rysunek 5 Ilość osadzonych lipidów (w μg /soczewkę) na Focus Night & Day (lotrafilcon), PureVision (balafilcon) oraz Acuvue (etafilcon). Ilość osadów lipidowych była istotnie zależna zarówno od materiału soczewek ($P < 0,001$), jak i klasy lipidów ($P < 0,001$). Źródło: L. Jones et al., “Lysozyme and Lipid Deposition...” [179].....	40
Rysunek 6 Ilość lipidów zaadsorbowanych <i>in vitro</i> na powierzchni soczewek kontaktowych oznaczona metodą GC/MS. Badaniu poddano: asmoofilcon A, galyfilcon A, lotrafilcon A, lotrafilcon B, balafilcon A oraz etafilcon A. Uwzględnione lipidy to: estry cholesterolu, woski, cholesterol i skwalen. Źródło: M. Iwata i wsp. “ <i>In vitro</i> evaluation of lipids...” [208]	43
Rysunek 7 Średnia ilość fosfolipidów (A) oraz cholesterolu oleinianu (B) (mikrogramy na soczewkę) odzyskana z różnych próbek soczewek kontaktowych przypisanych do grup inkubowanych przez 1 i 14 dni. Słupki kreskowane: materiały Hy. Źródło: A.D. Pucker i wsp. “ <i>In vitro</i> Lipid Deposition...”[18]	46
Rysunek 8 Intensywność fluorescencji (FI) lipidów skórnych na soczewkach kontaktowych po braku mycia rąk, myciu społecznym i myciu według RCN. Źródło: D. Campbell i wsp. “The significance of hand wash...” [220]	49
Rysunek 9 Użytkowane przez ludzi soczewki lotrafilcon A zabarwione barwnikiem Oil Red O. Liczby oznaczają badanych uczestników. Znaki plus (+) oznaczają soczewki inkubowane w 0,10 g/ml oliwy z oliwek. Znaki minus (–) oznaczają soczewki inkubowane w 0,00 mg/ml roztworze cholesterol oleinianu. Źródło: A.D. Pucker i J.J. Nichols, “A method of imaging lipids...” [223].....	50
Rysunek 10 Rysunek CAD urządzenia modelującego mruganie – poza komorą atmosferyczną – z dopasowanym tłokiem do utrzymania soczewki kontaktowej. (A) Korytko z ATS, (B) tłok z teflonu, (C) silnik napędzający ruch tłoka. Źródło H. Lorentz i wsp. “The impact of intermittent...” [227].....	52
Rysunek 11 Sorpcja cholesterolu w noszonych soczewkach kontaktowych wykonanych z różnych materiałów. Źródło: W. L. Nash i M.M. Gabriel, “ <i>Ex vivo</i> Analysis of Cholesterol...” [236]	56
Rysunek 12 Średnie ($\pm$ SD) całkowite pobranie cholesterolu przez różne materiały soczewek kontaktowych jednodniowych po 16 godzinach. Ilości lipidów zostały zmierzone za pomocą metody znakowania radioaktywnego, w której cholesterol był znakowany w sztucznym roztworze łzowym zawierającym różne białka, lipidy i mucyny. Źródło: H. Walther i wsp. “ <i>In vitro</i> cholesterol deposition...” [245]	60
Rysunek 13 (A) Schematyczne przedstawienie odkładania się lipidów <i>in vitro</i> na miękkiej soczewce kontaktowej (SCL) w komórce modelującej mruganie. (B) Schemat oraz (C) zdjęcie komórki modelującej mruganie stosowanej w warunkach <i>in vitro</i> . Wymiary konstrukcji podano w milimetrach. Rysunek nie jest wykonany w skali. Źródło: C.-C. Peng i wsp. “ <i>In vitro</i> spoilation...” [246]	61
Rysunek 14 Ruch boczny powoduje przerywaną ekspozycję na powietrze (A). Ruch okrężny symuluje tarcie występujące podczas mrugania (B). Podanie filmu łzowego do powieki (C). Platforma OcuFlow (D) Źródło: H. Walther i wsp. “Differential deposition of fluorescently...” [252].....	63
Rysunek 15 Obrazy konfokalne przedstawiające przekroje poprzeczne soczewek etafilcon A, nelfilcon A, nesofilcon A, ocufilcon, delefilcon A, somofilcon A oraz narafilecon A po inkubacji z NBD-CHL w fiole oraz w modelu OcuFlow po 4 (A) i 12 (B) godzinach. Źródło: H. Walther i wsp. “Differential deposition of fluorescently...” [252]	64
Rysunek 16 Średni ($\pm$ SD) całkowity wychwyt cholesterolu dla różnych materiałów soczewek po moczeniu i czyszczeniu w soli fizjologicznej oraz 5 różnych płynach MPS po 7 dniach inkubacji w złożonym	

roztworze łzowym zawierającym znakowany radioaktywnie cholesterol ^{14}C (* $P < 0,05$ dla soczewek czyszczonych vs. nieczyszczonych). MPS – płyny wielofunkcyjne. Źródło: H. Walther i wsp. "Efficacy of Contact Lens..." [253].	65
Rysunek 17 Przykładowe obrazy profili fluorescencji CE-NBD w przekroju przez soczewki: senofilcon C (A), lotrafilcon B (B), comfilcon A (C) i samfilcon A (D) w okresie 30 dni. Źródło: H. Qiao i wsp. "In vitro evaluation of the location..." [255]	66
Rysunek 18 Całkowita ilość cholesterolu wyekstrahowana z każdej indywidualnej kombinacji soczewek Si-Hy stosowanych rutynowo oraz soczewek lotrafilcon B w połączeniu z różnymi roztworami pielęgnacyjnymi. *Soczewki lotrafilcon B zapakowane w blister zawierający środek nawilżający EOBO. **Roztwory pielęgnacyjne CLEAR CARE PLUS z HydraGlyde i OPTI-FREE PUREMOIST zawierające EOBO. †Soczewki senofilcon A noszone przez 2 tygodnie. CCP = CLEAR CARE PLUS z HydraGlyde; HMPS = stosowany rutynowo wielofunkcyjny roztwór pielęgnacyjny; OFPM = OPTI-FREE PUREMOIST. Źródło: A. Shows i wsp. "Lipid analysis on block..." [256]	67
Rysunek 19 Zależność między współczynnikiem załamania światła n a zawartością wody $\% \text{H}_2\text{O}$ dla wybranych soczewek. a) wykres słupkowo-punktowy; odwrócona oś zawartości wody po lewej stronie ułatwia wizualizację trendu, b) zależność między n a $\% \text{H}_2\text{O}$ z dodaną linią trendu liniowego. Pomimo że wartości współczynników załamania pochodzą z niedokładnych danych producentów, współczynnik determinacji R^2 osiąga wartość 0,8467.	87
Rysunek 20 (po lewej) Schemat konfiguracji mikroskopu i ułożenia próbek, (po prawej) przykład uzyskanego obrazu. Niebieska, długa strzałka wskazuje kierunek padania światła pochodzącego z mikroskopu. Krótsze strzałki, żółto-pomarańczowe oznaczają kierunek światła odbitego kolejno od (od góry): wewnętrznej powierzchni soczewki, zewnętrznej powierzchni soczewki oraz od powierzchni dna naczynka (szkła).	89
Rysunek 21 Przekształcone obrazy odbicia badanych soczewek, przedstawiające pięć przekrojów poprzecznych (xz). Obrazy są odwrócone o 180 stopni względem tych z Rysunku 20. Ciemniejsze linie oznaczają (od góry do dołu): wewnętrzną powierzchnię szkła, zewnętrzną powierzchnię soczewki kontaktowej (dla materiału senofilcon A linie są rozdzielone, w pozostałych przypadkach nakładają się), a dolna linia odpowiada wewnętrznej powierzchni soczewki. Nieprzekształcone obrazy dostępne są w materiałach uzupełniających, znajdujących się w repozytorium [289].	89
Rysunek 22 Znormalizowany sygnał odbicia R_s dla analizowanych soczewek kontaktowych. Słupki błędów oznaczają wartości odchylenia standardowego.	91
Rysunek 23 Zależność między sygnałem odbicia R_s a współczynnikiem załamania światła n . a) wykres słupkowo-punktowy, b) zależność między R_s a n z dodaną linią trendu liniowego.	92
Rysunek 24 Zależność między sygnałem odbicia R_s a zawartością wody $\% \text{H}_2\text{O}$; a) wykres słupkowo-punktowy — oś zawartości wody po lewej stronie została odwrócona w celu lepszego zobrazowania trendu, b) zależność między R_s a $\% \text{H}_2\text{O}$ z dodaną linią trendu liniowego.	92
Rysunek 25 Zależność między sygnałem odbicia R_s a modulem powierzchniowym; a) wykres słupkowo-punktowy, b) zależność między R_s a modulem powierzchniowym z dodaną linią trendu liniowego. Surface Modulus- moduł powierzchniowy/	93
Rysunek 26 (lewa) Schemat układu mikroskopu i próbek, (prawa) przykład obrazu wynikowego. Rozmiar skanu to $z=150 \mu\text{m}$, $x=150 \mu\text{m}$	99
Rysunek 27 (a) obrazy xz ($150 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$) oraz (b) obrazy xyz ($150 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$) soczewki kontaktowej wykonanej z materiału senofilcon A.	100
Rysunek 28 (a) obrazy xz ($150 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$) oraz (b) obrazy xyz ($150 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$) soczewki kontaktowej wykonanej z materiału lotrafilcon B.	100
Rysunek 29 (a) obrazy xz ($150 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$) oraz (b) obrazy xyz ($150 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$) soczewki kontaktowej wykonanej z materiału comfilcon A.	100
Rysunek 30 (a) obrazy xz ($150 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$) oraz (b) obrazy xyz ($150 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$) soczewki kontaktowej wykonanej z materiału samfilcon A.	100
Rysunek 31 Cztery klatki z nagrania wideo soczewki z materiału senofilcon A, przedstawiające cztery skany xy w różnych pozycjach (z) oraz w różnych momentach od rozpoczęcia pomiaru (t).	101

Rysunek 32 Sygnał fluorescencji w płaszczyźnie powierzchni soczewki (comfilcon A). Czas od rozpoczęcia pomiaru: a) t = 07m:28s:577, b) t = 08m:12s:635, c) t = 14m:48s:269. Rozmiar obrazów: 617 μm $\times$ 424 μm . Litery pokazane na rysunku c) oznaczają aglomeraty wybrane do dalszej wizualizacji. Wszystkie klatki dla soczewek z tabeli 11 dostępne są online w repozytorium [302].	111
Rysunek 33 Trójwymiarowa wizualizacja pojedynczej klatki na podstawie sygnału fluorescencji w płaszczyźnie xy dla dwóch różnych aglomeratów (comfilcon A). a) aglomerat A z Rysunku 32 c, t = 09m:20s:297, widoczne dwa połączone aglomeraty b) pojedynczy aglomerat B z Rysunku 32 c, t = 14m:58s:269. Oś z wskazującą siłę sygnału, na osiach x,y przedstawione są piksele gdzie rozmiar 1 piksela to 0,086 μm . Animacje dla wszystkich soczewek z tabeli 7 dostępne są online w repozytorium [302].	112
Rysunek 34 Zmiana rozmiaru aglomeratów w funkcji czasu (comfilcon A). a) aglomerat B z Rysunku 32, b) aglomerat C z Rysunku 32	112
Rysunek 35. Trójwymiarowe widoki sygnału fluorescencji wybranych aglomeratów cholesterolu, gdzie mapa kolorów oznacza położenie wokseli w osi z. a) balafilcon A, b) senofilcon A. Wszystkie widoki 3D zobrazowanych aglomeratów dostępne są online w repozytorium [302].	113
Rysunek 36 Przekroje w płaszczyźnie xz sygnałów fluorescencji: a) balafilcon A, b) senofilcon A. Wszystkie przekroje zobrazowanych aglomeratów dostępne są online w repozytorium [302].	114
Rysunek 37 Przykładowe profile intensywności fluorescencji dla dwóch soczewek wykonanych z różnych materiałów. Charakterystyki zmierzono odpowiednio po 522 s dla senofilcon A i po 357 s dla balafilcon A od momentu adhezji aglomeratu lipidowego. Zakresy osi z zostały dobrane tak, aby zaczynały się w tym samym miejscu na powierzchni soczewek	114
Rysunek 38 Zdjęcie urządzenia IDRA® Ocular Surface Analyzer, po lewej widok operatora, wraz z wynikami pomiaru LLT, po prawej widok czaszy służącej do pomiaru LLT (widok od strony pacjenta).	121
Rysunek 39 Zrzut ekranu z systemu SBM Sistemi z wynikami pomiaru LLT, czerwona strzałka symbolizuje obszar pomiarowy, zielona wynik dla danego okresu pomiędzy mrugnięciami	122
Rysunek 40 Wykres ramka-wąsy przedstawiający rozkład różnic w LLT (grubości warstwy lipidowej) w zależności od rodzaju soczewki po 1 minucie.	125
Rysunek 41 Wykresy ramka-wąsy przedstawiające rozkład LLT (grubości warstwy lipidowej) dla soczewek B, A, O i T, przed oraz 1 minutę po założeniu soczewki.	125
Rysunek 42 Wykres ramka-wąsy przedstawiający rozkład różnic LLT (grubości warstwy lipidowej) w zależności od typu soczewki po 3 minutach.	126
Rysunek 43 Wykresy ramka-wąsy przedstawiające rozkład wartości LLT (grubości warstwy lipidowej) dla soczewek B, A, O oraz T, przed założeniem i 3 minuty po założeniu soczewek.	126
Rysunek 44 Wykres ramka-wąsy przedstawiający rozkład różnic LLT (grubości warstwy lipidowej) w zależności od rodzaju soczewki po 5 minutach od założenia.	127
Rysunek 45 Wykresy ramka-wąsy przedstawiające rozkład LLT (grubości warstwy lipidowej) dla soczewek B, A, O i T, przed oraz 5 minut po założeniu soczewki.	127
Rysunek 46 Widok z góry (a) i z boku (b) zespołu uchwytu soczewek z zamontowanymi 32 koszykami na soczewki. Białe pionowe „filary” pełnią rolę przewodnic umożliwiających precyzyjny i stabilny ruch góra-dół podczas symulowanych cykli mrugania.	135
Rysunek 47 Model 3D CLI oraz jego rzeczywiste zdjęcie wraz z zamontowanymi koszykami na soczewki.	135
Rysunek 48 Sekwencja pełnego symulowanego cyklu mrugania: zanurzenie (zamknięte oko), ruch w górę, pełne wynurzenie (otwarte oko – ekspozycja na powietrze), ruch w dół, pełne zanurzenie (zamknięte oko).	136
Rysunek 49 Wykres ramka-wąsy pokazujący rozkład wartości zawartości wody dla różnych roztworów w soczewkach comfilcon A.	138
Rysunek 50 Wykres ramka-wąsy pokazujący rozkład wartości zawartości wody dla różnych roztworów w soczewkach senofilcon A.	138

Spis tabel

Tabela 1 Wykaz wybranych właściwości fizykochemicznych soczewek Si-Hy.....	16
Tabela 2 Wyszczególnienie lipidów występujących w ludzkim filmie łzowym, z uwzględnieniem ich źródeł oraz proponowanych funkcji.....	25
Tabela 3. Czynniki wpływające na grubość warstwy lipidowej (LLT).....	27
Tabela 4 Zmiany zachodzące w soczewkach kontaktowych podczas noszenia	37
Tabela 5 Składy 4 roztworów używanych w badaniu wpływu składników filmu łzowego na osadzanie się lipidów na soczewkach kontaktowych.....	53
Tabela 6 Skład roztworów wykorzystanych w badaniu kinetyki odkładania się lipidów na soczewkach.	65
Tabela 7 Metody stosowane do oceny lipidów na soczewkach kontaktowych według przeglądanych badań	71
Tabela 8. Soczewki kontaktowe wybrane do badania (n – współczynnik załamania światła, H ₂ O – zawartość wody, CT – grubość centralna, Rep – tryb wymiany). Moc soczewek wynosiła –3,00 Dptr.....	87
Tabela 9 Soczewki kontaktowe wybrane do badania (H ₂ O – zawartość wody, CT – grubość centralna, Rep – tryb wymiany). Moc soczewek wynosiła –3,00 Dptr.....	96
Tabela 10 Parametry obrazowania soczewek za pomocą mikroskopu konfokalnego Leica TCS SP8	98
Tabela 11 Soczewki kontaktowe wybrane do badania (H ₂ O – zawartość wody, CT – grubość centralna, Rep – tryb wymiany). Moc optyczna soczewek wynosiła –3,00 Dptr.....	108
Tabela 12 Ustawienia akwizycji fluorescencji w mikroskopie Zeiss Spinning Disc	110
Tabela 13 Analiza infiltracji lipidów w soczewkach kontaktowych.	115
Tabela 14 Soczewki kontaktowe wybrane do badania (H ₂ O – zawartość wody, CT – grubość centralna, Rep – tryb wymiany). Moc soczewek wynosiła –0,50 Dptr. * według danych producentów, a) modyfikacja powierzchni plazmą, b) powierzchnia modyfikowana MPC (2-metakryloiloksyetylofosforylocholina).....	119
Tabela 15 Opisowe statystyki LLT (grubości warstwy lipidowej): przed założeniem soczewki, po 1 minucie od aplikacji soczewki, różnica w LLT (po aplikacji – przed aplikacją), SD – odchylenie standardowe.	124
Tabela 16 Statystyki opisowe LLT (grubości warstwy lipidowej): przed założeniem soczewki, 3 minuty po założeniu soczewki, różnica w LLT (po założeniu – przed założeniem), SD – odchylenie standardowe. ..	125
Tabela 17 Statystyki opisowe LLT (grubości warstwy lipidowej): przed założeniem soczewki, 5 minut po założeniu soczewki, różnica LLT (po założeniu – przed założeniem), SD – odchylenie standardowe.	126
Tabela 18 Współczynnik korelacji między różnicą w LLT a czasem dla każdego uczestnika. Pierwsza kolumna to numeracja uczestników, a r to współczynnik korelacji rang Spearmana. Kolor czerwony- istotna statystycznie ujemna korelacja, kolor zielony istotna statystycznie dodatnia korelacja.....	128
Tabela 19 Statystyki opisowe dotyczące częstości mrugania. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic (p = 0,710). SD – odchylenie standardowe.....	128
Tabela 20 Soczewki kontaktowe użyte w badaniu. Moc optyczna soczewek wynosiła –3,00 dptr. H ₂ O – zawartość wody; CT – grubość centralna; Rep – tryb wymiany; MPDMS = monofunkcyjny polidimetylosiloksan; DMA = N,N-dimetyloakryloamid; HEMA = hydroksyetylometakrylan; TEGDMA = tetraetylenoglikolodimetakrylan; PVP = poliwinylpirolidon; NVP = N-winylopirolidon; VMA = N-winylo-N-metyloacetamid; IBM = izobornylometakrylan; TAIC = 1,3,5-triallylo-1,3,5-triazyno-2,4,6(1H,3H,5H)-trion; M3U = bis(metakryloiloksyetyloiminokarboksytoksypropyl)-poli(dimetylosiloksan)-poli(trifluoropropyl-metylosiloksan)-poli(metoksy-poli[etylenoglikol]propylometylosiloksan); FM0411M = metakryloiloksyetyloiminokarboksytoksypropyl-poli(dimetylosiloksy)-butylodimetylosilan; HOB = 2-hydroksybutylometakrylan.	133
Tabela 21 Skład sztucznych łez bez lipidów (lipid-free ATS).	133
Tabela 22 Lipidy dodane do roztworu ATS z lipidami (lipid ATS).	134

Tabela 23 Statystyki opisowe zawartości wody dla obu typów soczewek kontaktowych. Dla soczewek comfilcon A deklarowana zawartość wody wynosiła 48%, a dla soczewek senofilcon A – 38%. SD – odchylenie standardowe.	137
Tabela 24 Wyniki testu U Manna-Whitneya (z poprawką ciągłości) dla soczewek comfilcon A. Testy zaznaczone na czerwono są istotne statystycznie przy $p < 0,05$	138
Tabela 25 Wyniki testu U Manna-Whitneya (z poprawką ciągłości) dla soczewek senofilcon A. Testy zaznaczone na czerwono są istotne statystycznie przy $p < 0,05$	139

Bibliografia

- [1] T. Suliński i J. Pniewski, „Analysis of Polish eye care professionals’ opinions about deposits on contact lenses”, *Ophthotherapy*, t. 8, nr 4, s. 255–262, 2021.
- [2] K. Dumbleton *et al.*, „The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: Report of the Subcommittee on Epidemiology”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 54, nr 11, s. TFOS20–TFOS36, paź. 2013, doi: 10.1167/iovs.13-13125.
- [3] M. Zaki, J. Pardo, i G. Carracedo, „A review of international medical device regulations: Contact lenses and lens care solutions”, *Contact Lens and Anterior Eye*, t. 42, nr 2, s. 136–146, 2019. doi: 10.1016/j.clae.2018.11.001.
- [4] P. B. Morgan, C. A. Woods, I. G. Tranoudis, i L. Jones, „International Contact Lens Prescribing In 2024”, *Contact Lens Spectrum*, s. 22–24, 26, 28–30, 1 stycznia 2025.
- [5] N. Efron i R. M. Pearson, „Centenary Celebration of Fick’s Eine Contactbrille”, *Arch. Ophthalmol.*, t. 106, nr 10, s. 1370–1377, paź. 1988, doi: 10.1001/archophth.1988.01060140534019.
- [6] R. M. PEARSON, „Kalt, Keratoconus, and the Contact Lens”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 66, nr 9, 1989, [Online]. Dostępne na: https://journals.lww.com/optvissci/fulltext/1989/09000/kalt_keratoconus_and_the_contact_lens.11.aspx
- [7] R. M. Pearson, „Karl Otto Himmeler, manufacturer of the first contact lens”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 30, nr 1, s. 11–16, mar. 2007, doi: 10.1016/j.clae.2006.10.003.
- [8] S. M. BRAFF, „The Max Schapero Lecture: Contact Lens Horizons”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 60, nr 10, 1983, [Online]. Dostępne na: https://journals.lww.com/optvissci/fulltext/1983/10000/the_max_schapero_lecture__contact_lens_horizons.8.aspx
- [9] N. Efon, „History”, w *Contact Lens Practice*, Fourth Edition., Brisbane, Queensland, Australia: Elsevier, 2024, s. 2–8.
- [10] O. WICHTERLE i D. LÍM, „Hydrophilic Gels for Biological Use”, *Nature*, t. 185, nr 4706, s. 117–118, sty. 1960, doi: 10.1038/185117a0.
- [11] B. A. Holden i G. W. Mertz, „Critical oxygen levels to avoid corneal edema for daily and extended wear contact lenses.”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 25, nr 10, s. 1161–1167, paź. 1984.
- [12] D. M. HARVITT i J. A. BONANNO, „Re-Evaluation of the Oxygen Diffusion Model for Predicting Minimum Contact Lens Dk/t Values Needed to Avoid Corneal Anoxia”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 76, nr 10, 1999, [Online]. Dostępne na: https://journals.lww.com/optvissci/fulltext/1999/10000/re_evaluation_of_the_oxygen_diffusion_model_for.23.aspx
- [13] A. J. Hoteling *et al.*, „Characterization and quantitation of PVP content in a silicone hydrogel contact lens produced by dual-phase polymerization processing”, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, t. 106, nr 3, s. 1064–1072, kwi. 2018, doi: 10.1002/jbm.b.33904.
- [14] E. Ponzini, A. Recchioni, R. Cheloni, F. Zeri, i S. Tavazzi, „Physical Properties and Interaction With the Ocular Surface of Water-Gradient Contact Lenses”, *Eye Contact Lens*, t. 49, nr 4, 2023, [Online]. Dostępne na: https://journals.lww.com/claojournal/fulltext/2023/04000/physical_properties_and_interaction_with_the.6.aspx
- [15] *Ophthalmic optics — Contact lenses Part 1: Vocabulary, classification system and recommendations for labelling specifications*, 18369–1:2017, 2017.
- [16] J. M. González-Méijome, M. Lira, A. López-Aleman, J. B. Almeida, M. A. Parafita, i M. F. Refojo, „Refractive index and equilibrium water content of conventional and silicone hydrogel contact lenses”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 26, nr 1, s. 57–64, 2006.
- [17] N. Keir i L. Jones, „Wettability and Silicone Hydrogel Lenses: A Review”, *Eye Contact Lens*, t. 39, nr 1, 2013, [Online]. Dostępne na: https://journals.lww.com/claojournal/fulltext/2013/01000/wettability_and_silicone_hydrogel_lenses__a_review.19.aspx

- [18] A. D. Pucker, M. Thangavelu, i J. J. Nichols, „*In vitro* Lipid Deposition on Hydrogel and Silicone Hydrogel Contact Lenses”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 51, nr 12, s. 6334–6340, grudz. 2010, doi: 10.1167/iovs.10-5836.
- [19] C.-M. Phan *et al.*, „Evaluating the *in vitro* wettability and coefficient of friction of a novel and contemporary reusable silicone hydrogel contact lens materials using an *in vitro* blink model”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 47, nr 2, s. 102129, kwi. 2024, doi: 10.1016/j.clae.2024.102129.
- [20] C. Maldonado-Codina i N. Efron, „Dynamic wettability of pHEMA-based hydrogel contact lenses”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 26, nr 4, s. 408–418, 2006, doi: 10.1111/j.1475-1313.2006.00394.x.
- [21] C.-M. Phan *et al.*, „Evaluating the initial and end-of-day wettability of contemporary daily disposable contact lenses using various *in vitro* methods”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 102, nr 6, s. 375–381, 2025, doi: 10.1097/OPX.0000000000002260.
- [22] D. Campbell, S. M. Carnell, i R. J. Eden, „Applicability of contact angle techniques used in the analysis of contact lenses, part 1: Comparative methodologies”, *Eye Contact Lens*, t. 39, nr 3, s. 254–262, 2013, doi: 10.1097/ICL.0b013e31828ca174.
- [23] L. Cheng, S. J. Muller, i C. J. Radke, „Wettability of silicone-hydrogel contact lenses in the presence of tear-film components”, *Curr. Eye Res.*, t. 28, nr 2, s. 93–108, 2004, doi: 10.1076/ceyr.28.2.93.26231.
- [24] C. Carpena-Torres, E. Ferrando, C. Garca-Garca, M. Romaguera, F. Huete-Toral, i G. Carracedo, „*In vitro* Evaluation of Soft Contact Lens Wettability with a Nonmodified Commercial Videokeratoscope”, *Eye Contact Lens*, t. 50, nr 4, s. 177–182, 2024, doi: 10.1097/ICL.0000000000001074.
- [25] R. Fagehi, A. Tomlinson, V. Manahilov, i M. Haddad, „Contact lens *in vitro* wettability by interferometry measures of drying dynamics”, *Eye Contact Lens*, t. 39, nr 6, s. 365–375, 2013, doi: 10.1097/ICL.0b013e318297394c.
- [26] R. Fagehi, E. I. Pearce, K. Oliver, A. A. Abusharha, i A. Tomlinson, „Care solution effects on contact lens *in vivo* wettability”, *Clin. Exp. Optom.*, t. 100, nr 6, s. 623–632, 2017, doi: 10.1111/cxo.12518.
- [27] M. C. Lin i T. F. Svitova, „Contact lenses wettability *in vitro*: Effect of surface-active ingredients”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 87, nr 6, s. 440–447, 2010, doi: 10.1097/OPX.0b013e3181dc9a1a.
- [28] M. R. Wang, H. Lu, J. Wang, i M. Shen, „Analysis of water film thickness on contact lens by reflectometry technique”, zaprezentowano na Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE, 2011. doi: 10.1117/12.876333.
- [29] A. O. Eghrari, S. A. Riazuddin, i J. D. Gottsch, „Chapter Two - Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development”, w *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, t. 134, J. F. Hejtmancik i J. M. Nickerson, Red., Academic Press, 2015, s. 7–23. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.04.001.
- [30] M. S. Sridhar, „Anatomy of cornea and ocular surface”, *Indian J. Ophthalmol.*, t. 66, nr 2, 2018, [Online]. Dostępne na: https://journals.lww.com/ijo/fulltext/2018/66020/anatomy_of_cornea_and_ocular_surface.4.aspx
- [31] M. Papadarakakis, V. Papadopoulos, G. Stefanou, i V. Plevris, „BIOMECHANICAL PROPERTIES OF CORNEAL EXTRACELLULAR MATRIX USING EXPERIMENTAL AND COMPUTATIONAL METHODS”.
- [32] D. Massoudi, F. Malecaze, i S. D. Galiacy, „Collagens and proteoglycans of the cornea: importance in transparency and visual disorders”, *Cell Tissue Res.*, t. 363, nr 2, s. 337–349, luty 2016, doi: 10.1007/s00441-015-2233-5.
- [33] A. Kumar, H. Yun, M. L. Funderburgh, i Y. Du, „Regenerative therapy for the Cornea”, *Prog. Retin. Eye Res.*, t. 87, s. 101011, mar. 2022, doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.101011.
- [34] K. M. Meek i C. Boote, „The use of X-ray scattering techniques to quantify the orientation and distribution of collagen in the corneal stroma”, *Prog. Retin. Eye Res.*, t. 28, nr 5, s. 369–392, wrz. 2009, doi: 10.1016/j.preteyeres.2009.06.005.
- [35] M. A. Al-Aqaba, V. K. Dhillon, I. Mohammed, D. G. Said, i H. S. Dua, „Corneal nerves in health and disease”, *Prog. Retin. Eye Res.*, t. 73, s. 100762, lis. 2019, doi: 10.1016/j.preteyeres.2019.05.003.

- [36] C. S. Medeiros i M. R. Santhiago, „Corneal nerves anatomy, function, injury and regeneration”, *Exp. Eye Res.*, t. 200, s. 108243, lis. 2020, doi: 10.1016/j.exer.2020.108243.
- [37] T. Milman, „Pathology of the Conjunctiva”, w *Albert and Jakobiec's Principles and Practice of Ophthalmology: Fourth Edition*, 2022, s. 6001–6043. doi: 10.1007/978-3-030-42634-7_128.
- [38] F. Kuhn, „Conjunctiva”, w *Ocular Traumatology*, 2008, s. 141–150. doi: 10.1007/978-3-540-33825-3_11.
- [39] K. Hosoya, V. H. L. Lee, i K.-J. Kim, „Roles of the conjunctiva in ocular drug delivery: a review of conjunctival transport mechanisms and their regulation”, *Sel. Pap. 5th Int. Conf. Workshop Cell Cult.*, t. 60, nr 2, s. 227–240, lip. 2005, doi: 10.1016/j.ejpb.2004.12.007.
- [40] M. K. Walker, M. M. Schornack, i S. J. Vincent, „Anatomical and physiological considerations in scleral lens wear: Eyelids and tear film”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 44, nr 5, 2021, doi: 10.1016/j.clae.2021.01.002.
- [41] T. Utheim, R. R. Hodges, i D. A. Dartt, „The EyeLid”, w *Pathobiology of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms*, 2014, s. 2201–2215. doi: 10.1016/B978-0-12-386456-7.04712-2.
- [42] N. Knop i E. Knop, „Meibomian glands. Part I: Anatomy, embryology and histology of the Meibomian glands”, *Ophthalmologe*, t. 106, nr 10, s. 872–883, 2009, doi: 10.1007/s00347-009-2006-1.
- [43] K. Bizheva, P. Lee, L. Sorbara, N. Hutchings, i T. Simpson, „In vivo volumetric imaging of the human upper eyelid with ultrahigh-resolution optical coherence tomography”, *J. Biomed. Opt.*, t. 15, nr 4, 2010, doi: 10.1117/1.3475957.
- [44] V. Rötzer, D. Egu, i J. Waschke, „Meibomian gland cells display a differentiation-dependent composition of desmosomes”, *Histochem. Cell Biol.*, t. 146, nr 6, s. 685–694, 2016, doi: 10.1007/s00418-016-1475-y.
- [45] Y. Wang, N. Dong, i H. Wu, „Meibomian gland morphology study progression”, *Chin. J. Ophthalmol.*, t. 50, nr 4, s. 299–302, 2014, doi: 10.3760/cma.j.issn.04124081.2014.04.016.
- [46] L. Jie, O. Shang-Kun, L. Wei, L. Zu-Guo, i P. Qing-Hua, „Physical Therapy Modalities of Western Medicine and Traditional Chinese Medicine for Meibomian Gland Dysfunction”, *Digit. Chin. Med.*, t. 3, nr 4, s. 229–238, 2020, doi: 10.1016/j.demed.2020.12.001.
- [47] J. P. McCulley i W. E. Shine, „The lipid layer of tears: Dependent on meibomian gland function”, *Exp. Eye Res.*, t. 78, nr 3, s. 361–365, 2004, doi: 10.1016/S0014-4835(03)00203-3.
- [48] M. D. P. Willcox *et al.*, „TFOS DEWS II Tear Film Report”, *TFOS Int. Dry Eye Workshop DEWS II*, t. 15, nr 3, s. 366–403, lip. 2017, doi: 10.1016/j.jtos.2017.03.006.
- [49] E. Wolff, „The muco-cutaneous junction of the lid margin and the distribution of the tear fluid”, *Trans Ophthalmol Soc UK*, t. 66, s. 291–308, 1946.
- [50] F. J. Holly i M. A. Lemp, „Tear physiology and dry eyes”, *Surv. Ophthalmol.*, t. 22, nr 2, s. 69–87, wrz. 1977, doi: 10.1016/0039-6257(77)90087-X.
- [51] N. Yokoi, A. J. Bron, i G. As. Georgiev, „The Precorneal Tear Film as a Fluid Shell: The Effect of Blinking and Saccades on Tear Film Distribution and Dynamics”, *Ocul. Surf.*, t. 12, nr 4, s. 252–266, paź. 2014, doi: 10.1016/j.jtos.2014.01.006.
- [52] M. G. Doane, „Abnormalities of the Structure of the Superficial Lipid Layer on the *in vivo* Dry-Eye Tear Film”, w *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes: Basic Science and Clinical Relevance*, D. A. Sullivan, Red., Boston, MA: Springer US, 1994, s. 489–493. doi: 10.1007/978-1-4615-2417-5_82.
- [53] Q. Chen, J. Wang, A. Tao, M. Shen, S. Jiao, i F. Lu, „Ultrahigh-Resolution Measurement by Optical Coherence Tomography of Dynamic Tear Film Changes on Contact Lenses”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 51, nr 4, s. 1988–1993, kwi. 2010, doi: 10.1167/iovs.09-4389.
- [54] E. King-Smith, B. Fink, R. Hill, K. Koelling, i J. Tiffany, „The thickness of the tear film”, *Curr. Eye Res.*, t. 29, nr 4–5, s. 357–368, sty. 2004, doi: 10.1080/02713680490516099.

- [55] P. E. King-Smith, B. A. Fink, N. Fogt, K. K. Nichols, R. M. Hill, i G. S. Wilson, „The Thickness of the Human Precorneal Tear Film: Evidence from Reflection Spectra”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 41, nr 11, s. 3348–3359, paź. 2000.
- [56] S. Masoudi, „Biochemistry of human tear film: A review”, *Exp. Eye Res.*, t. 220, s. 109101, lip. 2022, doi: 10.1016/j.exer.2022.109101.
- [57] C.-C. Peng *et al.*, „Flow Evaporimeter To Assess Evaporative Resistance of Human Tear-Film Lipid Layer”, *Ind. Eng. Chem. Res.*, t. 53, nr 47, s. 18130–18139, lis. 2014, doi: 10.1021/ie5030497.
- [58] A. J. Bron, J. M. Tiffany, S. M. Gouveia, N. Yokoi, i L. W. Voon, „Functional aspects of the tear film lipid layer”, *Spec. Issue Honour David Maurice*, t. 78, nr 3, s. 347–360, mar. 2004, doi: 10.1016/j.exer.2003.09.019.
- [59] E. Knop, N. Knop, T. Millar, H. Obata, i D. A. Sullivan, „The International Workshop on Meibomian Gland Dysfunction: Report of the Subcommittee on Anatomy, Physiology, and Pathophysiology of the Meibomian Gland”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 52, nr 4, s. 1938–1978, mar. 2011, doi: 10.1167/iovs.10-6997c.
- [60] F. J. Holly i M. A. Lemp, „Surface chemistry of the tear film: Implications for dry eye syndromes, contact lenses, and ophthalmic polymers”, *Cont Lens Soc Am J*, t. 5, s. 12, 1971.
- [61] F. J. Holly, „Formation and rupture of the tear film”, *Exp. Eye Res.*, t. 15, nr 5, s. 515–525, 1973.
- [62] I. A. Butovich, „Lipidomics of human Meibomian gland secretions: Chemistry, biophysics, and physiological role of Meibomian lipids”, *Prog. Lipid Res.*, t. 50, nr 3, s. 278–301, lip. 2011, doi: 10.1016/j.plipres.2011.03.003.
- [63] I. A. Butovich, E. Uchiyama, M. A. Di Pascuale, i J. P. McCulley, „Liquid Chromatography–Mass Spectrometric Analysis of Lipids Present in Human Meibomian Gland Secretions”, *Lipids*, t. 42, nr 8, s. 765–776, sie. 2007, doi: 10.1007/s11745-007-3080-2.
- [64] I. A. Butovich, E. Uchiyama, i J. P. McCulley, „Lipids of human meibum: mass-spectrometric analysis and structural elucidation”, *J. Lipid Res.*, t. 48, nr 10, s. 2220–2235, paź. 2007, doi: 10.1194/jlr.M700237-JLR200.
- [65] I. A. Butovich, J. C. Wojtowicz, i M. Molai, „Human tear film and meibum. Very long chain wax esters and (O-acyl)-omega-hydroxy fatty acids of meibum”, *J. Lipid Res.*, t. 50, nr 12, s. 2471–2485, grudz. 2009, doi: 10.1194/jlr.M900252-JLR200.
- [66] B. Nagyová i J. M. Tiffany, „Components responsible for the surface tension of human tears”, *Curr. Eye Res.*, t. 19, nr 1, s. 4–11, sty. 1999, doi: 10.1076/ceyr.19.1.4.5341.
- [67] R. O. Paananen, T. Viitaja, A. Olżyńska, F. S. Ekholm, J. Moilanen, i L. Cwiklik, „Interactions of polar lipids with cholesteryl ester multilayers elucidate tear film lipid layer structure”, *Ocul. Surf.*, t. 18, nr 4, s. 545–553, paź. 2020, doi: 10.1016/j.jtos.2020.06.001.
- [68] M. Miyamoto, T. Sassa, M. Sawai, i A. Kihara, „Lipid polarity gradient formed by ω -hydroxy lipids in tear film prevents dry eye disease”, *eLife*, t. 9, s. e53582, kwi. 2020, doi: 10.7554/eLife.53582.
- [69] T. J. Millar i B. S. Schuett, „The real reason for having a meibomian lipid layer covering the outer surface of the tear film – A review”, *Exp. Eye Res.*, t. 137, s. 125–138, sie. 2015, doi: 10.1016/j.exer.2015.05.002.
- [70] J. P. McCulley i W. Shine, „A compositional based model for the tear film lipid layer”, *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.*, t. 95, s. 79, 1997.
- [71] P. E. King-Smith, M. D. Bailey, i R. J. Braun, „Four Characteristics and a Model of an Effective Tear Film Lipid Layer (TFLL)”, *Ocul. Surf.*, t. 11, nr 4, s. 236–245, paź. 2013, doi: 10.1016/j.jtos.2013.05.003.
- [72] „The Lipid Secretion of the Meibomian Glands”, w *Advances in Lipid Research*, Elsevier, 1987, s. 1–62. doi: 10.1016/b978-0-12-024922-0.50005-9.
- [73] P. Kulovesi, J. Telenius, A. Koivuniemi, G. Brezesinski, I. Vattulainen, i J. M. Holopainen, „The impact of lipid composition on the stability of the tear fluid lipid layer”, *Soft Matter*, t. 8, nr 21, s. 5826, 2012, doi: 10.1039/c2sm25210d.

- [74] M. Yazdani, „Tear film lipid layer and corneal oxygenation: a new function?“, *Eye*, t. 37, nr 17, s. 3534–3541, 2023.
- [75] P. E. King-Smith, E. A. Hinel, i J. J. Nichols, „Application of a Novel Interferometric Method to Investigate the Relation between Lipid Layer Thickness and Tear Film Thinning“, *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, t. 51, nr 5, s. 2418, maj 2010, doi: 10.1167/iovs.09-4387.
- [76] E. Goto i S. C. G. Tseng, „Kinetic Analysis of Tear Interference Images in Aqueous Tear Deficiency Dry Eye before and after Punctal Occlusion“, *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, t. 44, nr 5, s. 1897, maj 2003, doi: 10.1167/iovs.02-0818.
- [77] Y. Eom, J.-S. Lee, S.-Y. Kang, H. M. Kim, i J.-S. Song, „Correlation Between Quantitative Measurements of Tear Film Lipid Layer Thickness and Meibomian Gland Loss in Patients With Obstructive Meibomian Gland Dysfunction and Normal Controls“, *Am. J. Ophthalmol.*, t. 155, nr 6, s. 1104–1110.e2, cze. 2013, doi: 10.1016/j.ajo.2013.01.008.
- [78] „Increase in Tear Film Lipid Layer Thickness Following Treatment of Meibomian Gland Dysfunction“, w *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Boston, MA: Springer US, 1994, s. 293–298. doi: 10.1007/978-1-4615-2417-5_50.
- [79] E. Goto, M. Dogru, T. Kojima, i K. Tsubota, „Computer-Synthesis of an Interference Color Chart of Human Tear Lipid Layer, by a Colorimetric Approach“, *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, t. 44, nr 11, s. 4693, lis. 2003, doi: 10.1167/iovs.03-0260.
- [80] J. S. Wolffsohn *et al.*, „TFOS Lifestyle: Impact of the digital environment on the ocular surface“, *Ocul. Surf.*, t. 28, s. 213–252, kwi. 2023, doi: 10.1016/j.jtos.2023.04.004.
- [81] M. Alves *et al.*, „TFOS Lifestyle Report: Impact of environmental conditions on the ocular surface“, *Ocul. Surf.*, t. 29, s. 1–52, lip. 2023, doi: 10.1016/j.jtos.2023.04.007.
- [82] J. A. P. Gomes *et al.*, „TFOS Lifestyle: Impact of elective medications and procedures on the ocular surface“, *Ocul. Surf.*, t. 29, s. 331–385, lip. 2023, doi: 10.1016/j.jtos.2023.04.011.
- [83] F. Stapleton *et al.*, „TFOS Lifestyle: Impact of societal challenges on the ocular surface“, *Ocul. Surf.*, t. 28, s. 165–199, kwi. 2023, doi: 10.1016/j.jtos.2023.04.006.
- [84] J.-P. Guillon, „Abnormal lipid layers: observation, differential diagnosis, and classification“, w *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 2: Basic Science and Clinical Relevance*, Springer, 1998, s. 309–313.
- [85] J.-P. Guillon, „Non-invasive tearscope plus routine for contact lens fitting“, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 21, s. S31–S40, 1998.
- [86] B. Remeseiro, M. Penas, N. Barreira, A. Mosquera, J. Novo, i C. García-Resúa, „Automatic classification of the interferential tear film lipid layer using colour texture analysis“, *Comput. Methods Programs Biomed.*, t. 111, nr 1, s. 93–103, 2013.
- [87] J. M. Lee, Y. J. Jeon, K. Y. Kim, K.-Y. Hwang, Y.-A. Kwon, i K. Koh, „Ocular surface analysis: A comparison between the LipiView® II and IDRA®“, *Eur. J. Ophthalmol.*, t. 31, nr 5, s. 2300–2306, 2021.
- [88] Y. Zhao, C. L. S. Tan, i L. Tong, „Intra-observer and inter-observer repeatability of ocular surface interferometer in measuring lipid layer thickness“, *BMC Ophthalmol.*, t. 15, nr 1, grudz. 2015, doi: 10.1186/s12886-015-0036-9.
- [89] G. A. Georgiev, P. Eftimov, i N. Yokoi, „Structure-function relationship of tear film lipid layer: A contemporary perspective“, *Exp. Eye Res.*, t. 163, s. 17–28, 2017.
- [90] J. Wang, Y. Shen, X. Zhou, Z. Yu, J. Hong, i Q. Le, „Evaluation of tear film function by Oculus Keratograph 5M and IDRA ocular surface analyser“, *Int. Ophthalmol.*, t. 44, nr 1, s. 403, 2024.
- [91] J. S. Kim, H. Lee, S. Choi, E. K. Kim, K. Y. Seo, i T.-I. Kim, „Assessment of the tear film lipid layer thickness after cataract surgery“, w *Seminars in ophthalmology*, Taylor & Francis, 2018, s. 231–236.
- [92] X. Liu *et al.*, „The influence of time spent viewing the video display terminal, sleep, anxiety and depression on the thickness of the lipid layer of the tear film“, *Klin. Monatsblätter Für Augenheilkd.*, 2025.

- [93] M. J. Giraldez, S. A. Naroo, i C. G. Resua, „A preliminary investigation into the relationship between ocular surface temperature and lipid layer thickness”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 32, nr 4, s. 177–180, 2009.
- [94] A. Rohit, M. Willcox, i F. Stapleton, „Tear lipid layer and contact lens comfort: a review”, *Eye Contact Lens*, t. 39, nr 3, s. 247–253, 2013.
- [95] J. J. Nichols, G. L. Mitchell, i P. E. King-Smith, „The impact of contact lens care solutions on the thickness of the tear film and contact lens”, *Cornea*, t. 24, nr 7, s. 825–832, 2005.
- [96] T. Itokawa, T. Suzuki, H. Iwashita, i Y. Hori, „Comparison and evaluation of prelens tear film stability by different noninvasive *in vivo* methods”, *Clin. Ophthalmol.*, s. 4459–4468, 2020.
- [97] J. V. Garcia-Marques, R. Macedo-de-Araujo, D. Lopes-Ferreira, A. Cervino, S. Garcia-Lazaro, i J. M. González-Méijome, „Tear film stability over a myopia control contact lens compared to a monofocal design”, *Clin. Exp. Optom.*, t. 105, nr 1, s. 41–47, 2022.
- [98] A. D. Graham i M. C. Lin, „The relationship of pre-corneal to pre-contact lens non-invasive tear breakup time”, *Plos One*, t. 16, nr 6, s. e0247877, 2021.
- [99] J. M. González-Méijome, J. González-Pérez, A. Cerviño, E. Yebra-Pimentel, i M. A. Parafita, „Changes in corneal structure with continuous wear of high-Dk soft contact lenses: A pilot study”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 80, nr 6, s. 440–446, 2003, doi: 10.1097/00006324-200306000-00010.
- [100] J. Stachura, P. Mlyniuk, W. Bloch, A. Jimenez-Villar, I. Grulkowski, i B. J. Kaluzny, „Shape of the anterior surface of the cornea after extended wear of silicone hydrogel soft contact lenses”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 41, nr 4, s. 683–690, 2021, doi: 10.1111/opo.12830.
- [101] A. Consejo, I. Trillo-Moreno, i L. Remon, „Corneal tissue changes following short-term soft contact lens wear of different materials”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 43, nr 1, s. 35–45, 2023, doi: 10.1111/opo.13067.
- [102] N. Efron, „Contact lens-induced changes in the anterior eye as observed *in vivo* with the confocal microscope”, *Prog. Retin. Eye Res.*, t. 26, nr 4, s. 398–436, 2007, doi: 10.1016/j.preteyeres.2007.03.003.
- [103] S. Kocabeyoglu, D. Colak, M. C. Mocan, i M. Irkeç, „Sensory adaptation to silicone hydrogel contact lens wear is not associated with alterations in the corneal subbasal nerve plexus”, *Cornea*, t. 38, nr 9, s. 1142–1146, 2019, doi: 10.1097/ICO.0000000000002031.
- [104] B. Golebiowski, E. B. Papas, i F. Stapleton, „Corneal and conjunctival sensory function: The impact on ocular surface sensitivity of change from low to high oxygen transmissibility contact lenses”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 53, nr 3, s. 1177–1181, 2012, doi: 10.1167/iovs.11-8416.
- [105] J. M. Gozálvarez-Zafrilla, M. Aguilera-Arzo, i V. Compañ, „A new three-dimensional model to describe human corneal oxygenation during contact lenses wear”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 45, nr 5, s. 1126–1141, 2025, doi: 10.1111/opo.13510.
- [106] J. M. González-Méijome, A. Cerviño, S. C. Peixoto-De-Matos, D. Madrid-Costa, J. Jorge, i T. Ferrer-Blasco, „«in situ» corneal and contact lens thickness changes with high-resolution optical coherence tomography”, *Cornea*, t. 31, nr 6, s. 633–638, 2012, doi: 10.1097/ICO.0b013e31823f0905.
- [107] F. J. Ávila, „Intraocular Pressure Damping by Corneal Elasticity and Viscosity Modulation Using Silicone Hydrogel Soft Contact Lenses”, *Optics*, t. 6, nr 2, 2025, doi: 10.3390/opt6020018.
- [108] M. C. Marcellán, L. Remón, i F. J. Ávila, „Corneal hysteresis and intraocular pressure are altered in silicone-hydrogel soft contact lenses wearers”, *Int. Ophthalmol.*, t. 42, nr 9, s. 2801–2809, 2022, doi: 10.1007/s10792-022-02270-0.
- [109] A. Ahmad, B. Mohd-Ali, i B. Ishak, „Changes in the morphology of corneal endothelial cells in young myopic adults after 6 months of wearing soft contact lenses: A malaysian perspective”, *Clin. Optom.*, t. 10, s. 109–113, 2018, doi: 10.2147/OPTO.S172272.
- [110] M. J. Dougherty, B. M. Aakre, A. E. Ystenaes, i E. Svarverud, „Short-term adaptation of the human corneal endothelium to continuous wear of silicone hydrogel (Lotrafilcon A) contact lenses after daily hydrogel lens wear”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 82, nr 6, s. 473–480, 2005, doi: 10.1097/01.opx.0000168559.84788.0b.

- [111] B. Kettesy, J. Vardai, A. Berta, L. Modis, i A. Kemeny-Beke, „A survey of corneal changes caused by daily wear silicone hydrogel contact lenses”, *J. Innov. Opt. Health Sci.*, t. 8, nr 6, 2015, doi: 10.1142/S1793545815500443.
- [112] K. Dumbleton, N. Keir, A. Moezzi, Y. Feng, L. Jones, i D. Fonn, „Objective and subjective responses in patients refitted to daily-wear silicone hydrogel contact lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 83, nr 10, s. 758–768, 2006, doi: 10.1097/01.opx.0000237547.35542.b8.
- [113] N. Efron, N. A. Brennan, P. B. Morgan, i T. Wilson, „Lid wiper epitheliopathy”, *Prog. Retin. Eye Res.*, t. 53, s. 140–174, 2016, doi: 10.1016/j.preteyeres.2016.04.004.
- [114] H. Pult, S. G. P. Tosatti, N. D. Spencer, J.-M. Asfour, M. Ebenhoch, i P. J. Murphy, „Spontaneous Blinking from a Tribological Viewpoint”, *Ocul. Surf.*, t. 13, nr 3, s. 236–249, 2015, doi: 10.1016/j.jtos.2014.12.004.
- [115] M. Berry, H. Pult, C. Purslow, i P. J. Murphy, „Mucins and ocular signs in symptomatic and asymptomatic contact lens wear”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 85, nr 10, s. E930–E938, 2008, doi: 10.1097/OPX.0b013e318188896b.
- [116] M. Guillon i C. Maïssa, „Long term effects of the daily wear of senofilcon A silicone hydrogel contact lenses on eyelid tissues”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 35, nr 3, s. 112–117, 2012, doi: 10.1016/j.clae.2012.01.005.
- [117] M. E. Jansen, C. G. Begley, N. H. Himebaugh, i N. L. Port, „Effect of contact lens wear and a near task on tear film break-up”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 87, nr 5, s. 350–357, 2010.
- [118] L. G. Carney i R. M. Hill, „Variations in blinking behaviour during soft lens wear”, *Int. Contact Lens Clin.*, t. 11, nr 4, s. 250–253, 1984.
- [119] B. Ishak, J. J. Thye, B. M. Ali, i N. Mohidin, „Blinking characteristics and corneal staining in different soft lens materials”, w *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology*, World Academy of Science, Engineering and Technology (WASET), 2012, s. 1661.
- [120] M. J. Collins, D. R. Iskander, A. Saunders, S. Hook, E. Anthony, i R. Gillon, „Blinking patterns and corneal staining”, *Eye Contact Lens*, t. 32, nr 6, s. 287–293, 2006.
- [121] M. M. Schulze, A. Wong, S. Haider, K. Ebare, Z. Fadli, i C. Coles-Brennan, „Blink rate in silicone hydrogel contact lens wearers during digital device use”, w *Americian Academy of Optometry Meeting*, 2016.
- [122] M. Garcia-Montero, L. Rico-del-Viejo, I. Martinez-Alberquilla, J. L. Hernández-Verdejo, A. Lorente-Velázquez, i D. Madrid-Costa, „Effects of blink rate on tear film optical quality dynamics with different soft contact lenses”, *J. Ophthalmol.*, t. 2019, nr 1, s. 4921538, 2019.
- [123] V. Martín-Montañez, A. López-de la Rosa, A. López-Miguel, J. Pinto-Fraga, J. M. González-Méijome, i M. J. González-García, „End-of-day dryness, corneal sensitivity and blink rate in contact lens wearers”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 38, nr 3, s. 148–151, 2015.
- [124] S. Roshani, „The effect of ocular surface conditions on blink rate and completeness”, Queensland University of Technology, 2011.
- [125] T. Kojima *et al.*, „Effect of controlled adverse chamber environment exposure on tear functions in silicon hydrogel and hydrogel soft contact lens wearers”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 52, nr 12, s. 8811–8817, 2011.
- [126] A. López-de la Rosa *et al.*, „Ocular response to environmental variations in contact lens wearers”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 37, nr 1, s. 60–70, 2017.
- [127] J. M. González-Méijome, A. López-Aleman, J. B. Almeida, M. A. Parafita, i M. F. Refojo, „Qualitative and quantitative characterization of the *in vitro* dehydration process of hydrogel contact lenses”, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, t. 83B, nr 2, s. 512–526, lis. 2007, doi: 10.1002/jbm.b.30824.
- [128] P. B. Morgan i N. Efron, „*In vivo* dehydration of silicone hydrogel contact lenses”, *Eye Contact Lens*, t. 29, nr 3, s. 173–176, 2003.
- [129] N. Efron, *Contact Lens Complications E-Book: Contact Lens Complications E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2018.

- [130] C. W. McMonnies, „The clinical and experimental significance of blinking behavior”, *J. Optom.*, t. 13, nr 2, s. 74–80, 2020.
- [131] M. Navascues-Cornago, T. Sun, M. L. Read, i P. B. Morgan, „The short-term effect of contact lens wear on blink characteristics”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 45, nr 5, 2022, doi: 10.1016/j.clae.2022.101596.
- [132] C. Llorens-Quintana, I. K. Garaszczuk, i D. H. Szczesna-Iskander, „Meibomian glands structure in daily disposable soft contact lens wearers: a one-year follow-up study”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 40, nr 5, s. 607–616, 2020, doi: 10.1111/opo.12720.
- [133] I. I. Harbiyeli *et al.*, „Associations with meibomian gland loss in soft and rigid contact lens wearers”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 45, nr 1, 2022, doi: 10.1016/j.clae.2020.12.005.
- [134] Ö. Uçakhan i M. Arslanturk-Eren, „The Role of Soft Contact Lens Wear on Meibomian Gland Morphology and Function”, *Eye Contact Lens*, t. 45, nr 5, s. 292–300, 2019, doi: 10.1097/ICL.0000000000000572.
- [135] J. V. García-Marqués, C. Talens-Estarellles, S. García-Lázaro, i A. Cerviño, „The Effects of Soft Contact Lens Wear on The Tear Film and Meibomian Gland Drop-Out and Visibility”, *Life*, t. 12, nr 8, 2022, doi: 10.3390/life12081177.
- [136] A. Iqbal, R. Thomas, i R. Mahadevan, „Impact of modulus of elasticity of silicone hydrogel contact lenses on meibomian glands morphology and function”, *Clin. Exp. Optom.*, t. 104, nr 7, s. 760–766, 2021, doi: 10.1080/08164622.2021.1887703.
- [137] A. Machalińska *et al.*, „Comparison of Morphological and Functional Meibomian Gland Characteristics between Daily Contact Lens Wearers and Nonwearers”, *Cornea*, t. 34, nr 9, s. 1098–1104, 2015, doi: 10.1097/ICO.0000000000000511.
- [138] L. C. Thai, A. Tomlinson, i M. G. Doane, „Effect of Contact Lens Materials on Tear Physiology”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 81, nr 3, s. 194–204, 2004, doi: 10.1097/00006324-200403000-00012.
- [139] M. Guillon *et al.*, „Association between contact lens discomfort and pre-lens tear film kinetics”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 93, nr 8, s. 881–891, 2016, doi: 10.1097/OPX.0000000000000866.
- [140] N. Yokoi *et al.*, „Characteristics of Pre-Lens Tear Film Behavior in Eyes Wearing Delefilcon A Silicone Hydrogel Water Gradient Contact Lenses”, *Diagnostics*, t. 13, nr 24, 2023, doi: 10.3390/diagnostics13243642.
- [141] R. J. Macedo-de-Araújo, L. Rico-del-Viejo, V. Martin-Montañez, A. Queirós, i J. M. González-Méijome, „Daytime Changes in Tear Film Parameters and Visual Acuity with New-Generation Daily Disposable Silicone Hydrogel Contact Lenses—A Double-Masked Study in Symptomatic Subjects”, *Vis. Switz.*, t. 8, nr 1, 2024, doi: 10.3390/vision8010011.
- [142] K. Talbott, A. Xu, D. M. Anderson, i P. Seshaiyer, „Modelling the evaporation of a tear film over a contact lens”, *Math. Med. Biol.*, t. 32, nr 2, s. 209–238, 2015, doi: 10.1093/imammmb/dqu001.
- [143] Y. H. Kim, T. Nguyen, M. C. Lin, C.-C. Peng, i C. J. Radke, „Clinical Report: Midday Removal and Reinsertion of Soft Contact Lens Cannot Prevent Post-lens Tear-film Hyperosmolarity”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 99, nr 8, s. 652–654, 2022, doi: 10.1097/OPX.0000000000001923.
- [144] J. J. Nichols i P. E. King-Smith, „The impact of hydrogel lens settling on the thickness of the tears and contact lens”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 45, nr 8, s. 2549–2554, 2004, doi: 10.1167/iovs.04-0149.
- [145] J. J. Nichols i P. E. King-Smith, „The effect of eye closure on the post-lens tear film thickness during silicone hydrogel contact lens wear”, *Cornea*, t. 22, nr 6, s. 539–544, 2003, doi: 10.1097/00003226-200308000-00010.
- [146] N. B. Omali, L. N. Subbaraman, C. Coles-Brennan, Z. Fadli, i L. W. Jones, „Biological and clinical implications of lysozyme deposition on soft contact lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 92, nr 7, s. 750–757, 2015, doi: 10.1097/OPX.0000000000000615.
- [147] A. Mann i B. Tighe, „Contact lens interactions with the tear film”, *Exp. Eye Res.*, t. 117, s. 88–98, 2013, doi: 10.1016/j.exer.2013.07.013.

- [148] R. Capote-Puente, J.-M. Sánchez-González, M. C. Sánchez-González, i M.-J. Bautista-Llamas, „Evaluation of Celligent® Biomimetic Water Gradient Contact Lens Effects on Ocular Surface and Subjective Symptoms”, *Diagnostics*, t. 13, nr 7, 2023, doi: 10.3390/diagnostics13071258.
- [149] R. Capote-Puente, M.-J. Bautista-Llamas, i J.-M. Sánchez-González, „Tear Film Dynamics between Low and High Contact Lens Dry Eye Disease Questionnaire (CLDEQ-8) Score with a Lehighsilcon A Silicone Hydrogel Water Gradient Contact Lens: A Non-Invasive Methodology Approach”, *Diagnostics*, t. 13, nr 5, 2023, doi: 10.3390/diagnostics13050939.
- [150] G. Iskeleli, Y. Karakoc, A. Ozkok, C. Arici, O. Ozcan, i O. Ipcioglu, „Comparison of the effects of first and second generation silicone hydrogel contact lens wear on tear film osmolarity”, *Int. J. Ophthalmol.*, t. 6, nr 5, s. 666–670, 2013, doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2013.05.22.
- [151] J. Garcia-Queiruga, H. Pena-Verdeal, D. Ferreira-Figueiras, V. Noya-Padin, M. J. Giraldez, i E. Yebra-Pimentel, „Assessing neophyte response to daily disposable silicone hydrogel contact lenses: A randomised clinical trial investigation over one month”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 44, nr 5, s. 876–883, 2024, doi: 10.1111/opo.13328.
- [152] A. Rohit, M. D. P. Willcox, S. H. J. Brown, T. W. Mitchell, i F. Stapleton, „Clinical and biochemical tear lipid parameters in contact lens wearers”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 91, nr 12, s. 1384–1390, 2014, doi: 10.1097/OPX.0000000000000420.
- [153] V. Martín-Montañez *et al.*, „Effect of environmental conditions on the concentration of tear inflammatory mediators during contact lens wear”, zaprezentowano na Cornea, 2016, s. 1192–1198. doi: 10.1097/ICO.0000000000000960.
- [154] C. Chao, K. Richdale, I. Jalbert, K. Doung, i M. Gokhale, „Non-invasive objective and contemporary methods for measuring ocular surface inflammation in soft contact lens wearers – A review”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 40, nr 5, s. 273–282, 2017, doi: 10.1016/j.clae.2017.05.008.
- [155] I. Tranoudis i N. Efron, „Parameter stability of soft contact lenses made from different materials”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 27, nr 3, s. 115–131, 2004, doi: 10.1016/j.clae.2004.03.001.
- [156] P. Mlyniuk, J. Stachura, A. Jiménez-Villar, I. Grulkowski, i B. J. Kaluzny, „Changes in the geometry of modern daily disposable soft contact lenses during wear”, *Sci. Rep.*, t. 11, nr 1, 2021, doi: 10.1038/s41598-021-91779-y.
- [157] M. Lira, L. Santos, J. Azeredo, E. Yebra-Pimentel, i M. E. C. D. Real Oliveira, „Comparative study of silicone-hydrogel contact lenses surfaces before and after wear using atomic force microscopy”, *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, t. 85, nr 2, s. 361–367, 2008, doi: 10.1002/jbm.b.30954.
- [158] J. J. Nichols, „Deposition on silicone hydrogel lenses”, zaprezentowano na Eye and Contact Lens, 2013, s. 20–23. doi: 10.1097/ICL.0b013e318275305b.
- [159] A. M. Ionescu *et al.*, „Variations of the optical properties of two types of contact lenses with dehydration”, zaprezentowano na Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering, 2019. doi: 10.1117/12.2527423.
- [160] J. M. González-Méijome, A. López-Aleman, J. B. Almeida, i M. A. Parafita, „Dynamic *in vitro* dehydration patterns of unworn and worn silicone hydrogel contact lenses”, *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.*, t. 90 B, nr 1, s. 250–258, 2009, doi: 10.1002/jbm.b.31279.
- [161] F. Fornasiero, J. M. Prausnitz, i C. J. Radke, „Post-lens tear-film depletion due to evaporative dehydration of a soft contact lens”, *J. Membr. Sci.*, t. 275, nr 1–2, s. 229–243, 2006, doi: 10.1016/j.memsci.2005.09.047.
- [162] P. B. Morgan i N. Efron, „Hydrogel contact lens ageing”, *Eye Contact Lens*, t. 26, nr 2, s. 85–90, 2000.
- [163] K. Krysztofiak i A. Szyzewski, „Study of dehydration and water states in new and worn soft contact lens materials”, *Opt. Appl.*, t. 44, nr 2, s. 237–250, 2014, doi: 10.5277/oa140206.
- [164] P. Ramamoorthy, L. T. Sinnott, i J. J. Nichols, „Contact lens material characteristics associated with hydrogel lens dehydration”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 30, nr 2, s. 160–166, mar. 2010, doi: 10.1111/j.1475-1313.2009.00705.x.

- [165] A. Ionescu *et al.*, „Variations of the optical properties of two types of contact lenses with dehydration”, w *Fourth International Conference on Applications of Optics and Photonics*, M. F. P. Martins Costa, Red., Lisbon, Portugal: SPIE, paź. 2019, s. 130. doi: 10.1117/12.2527423.
- [166] M. Guillon, T. Patel, K. Patel, R. Gupta, i C. A. Maissa, „Quantification of contact lens wettability after prolonged visual device use under low humidity conditions”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 42, nr 4, s. 386–391, 2019, doi: 10.1016/j.clae.2019.03.004.
- [167] P. Eftimov, N. Yokoi, N. Peev, i G. A. Georgiev, „Impact of air exposure time on the water contact angles of daily disposable silicone hydrogels”, *Int. J. Mol. Sci.*, t. 20, nr 6, 2019, doi: 10.3390/ijms20061313.
- [168] J. Schafer, R. Steffen, W. Reindel, i J. Chinn, „Evaluation of surface water characteristics of novel daily disposable contact lens materials, using refractive index shifts after wear”, *Clin. Ophthalmol.*, t. 9, s. 1973–1979, 2015, doi: 10.2147/OPTH.S90376.
- [169] P. B. Morgan, N. Efron, S. L. Morgan, i S. A. Little, „Hydrogel contact lens dehydration in controlled environmental conditions”, *Eye Contact Lens*, t. 30, nr 2, s. 99–102, 2004, doi: 10.1097/01.ICL.00000118532.90284.09.
- [170] J. Varikooty *et al.*, „Clinical performance of three silicone hydrogel daily disposable lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 92, nr 3, s. 301–311, 2015, doi: 10.1097/OPX.0000000000000514.
- [171] S. M. Dillehay, „Does the level of available oxygen impact comfort in contact lens wear?: A review of the literature”, *Eye Contact Lens*, t. 33, nr 3, s. 148–155, 2007, doi: 10.1097/01.icl.0000245572.66698.b1.
- [172] P. B. Eftimov, N. Yokoi, N. Peev, Y. Paunski, i G. A. Georgiev, „Relationships between the material properties of silicone hydrogels: Desiccation, wettability and lubricity”, *J. Biomater. Appl.*, t. 35, nr 8, s. 933–946, 2021, doi: 10.1177/0885328220967526.
- [173] E. Ponzini, F. Maspero, A. Galli, i S. Tavazzi, „In-vitro dehydration kinetics coefficient of Kalifilcon A and other contact lens materials”, *Sci. Rep.*, t. 14, nr 1, 2024, doi: 10.1038/s41598-024-55937-2.
- [174] M. Lira, C. Lourenço, M. Silva, i G. Botelho, „Physicochemical stability of contact lenses materials for biomedical applications”, *J. Optom.*, t. 13, nr 2, s. 120–127, 2020, doi: 10.1016/j.optom.2019.10.002.
- [175] T. Suliński i J. Pniewski, „Interaction of silicone hydrogel contact lenses with lipids—a chronological review”, *OphthaTherapy Ther. Ophthalmol.*, t. 7, nr 4, s. 306–325, 2020.
- [176] S. Cheung, P. Cho, B. Chan, C. Choy, i V. Ng, „A comparative study of biweekly disposable contact lenses: silicone hydrogel versus hydrogel”, *Clin. Exp. Optom.*, t. 90, nr 2, s. 124–131, mar. 2007, doi: 10.1111/j.1444-0938.2006.00107.x.
- [177] B. J. Tighe, „A Decade of Silicone Hydrogel Development: Surface Properties, Mechanical Properties, and Ocular Compatibility”, *Eye Contact Lens Sci. Clin. Pract.*, t. 39, nr 1, s. 4–12, sty. 2013, doi: 10.1097/icl.0b013e318275452b.
- [178] H. Lorentz i L. Jones, „Lipid Deposition on Hydrogel Contact Lenses: How History Can Help Us Today”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 84, nr 4, s. 286–295, kwi. 2007, doi: 10.1097/OPX.0b013e3180485d4b.
- [179] L. Jones *et al.*, „Lysozyme and Lipid Deposition on Silicone Hydrogel Contact Lens Materials”, *Eye Contact Lens Sci. Clin. Pract.*, s. S75–S79, sty. 2003, doi: 10.1097/00140068-200301001-00021.
- [180] D. J. Doughman, E. Mobilia, D. Drago, V. Havener, i M. Gavin, „The nature of "spots" on soft lenses.”, *Ann. Ophthalmol.*, t. 7, nr 3, s. 345–8, 351, 1975.
- [181] F. C. Wedler, „Analysis of biomaterials deposited on soft contact lenses”, *J. Biomed. Mater. Res.*, t. 11, nr 4, s. 525–535, lip. 1977, doi: 10.1002/jbm.820110408.
- [182] P. S. Binder, „Complications Associated With Extended Wear of Soft Contact Lenses”, *Ophthalmology*, t. 86, nr 6, s. 1093–1101, cze. 1979, doi: 10.1016/s0161-6420(79)35420-3.
- [183] F. Rubey, „Possibilities of examination on soft contact lenses (author’s transl)”, *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.*, t. 172, nr 2, s. 222–225, 1978.

- [184] D. E. Hart, R. R. Tidsale, i R. A. Sack, „Origin and composition of lipid deposits on soft contact lenses”, *Ophthalmology*, t. 93, nr 4, s. 495–503, 1986.
- [185] R. C. Tripathi, B. J. Tripathi, i M. Ruben, „The Pathology of Soft Contact Lens Spoilage”, *Ophthalmology*, t. 87, nr 5, s. 365–380, maj 1980, doi: 10.1016/s0161-6420(80)35222-6.
- [186] S. Hosaka *et al.*, „Analysis of deposits on high water content contact lenses”, *J. Biomed. Mater. Res.*, t. 17, nr 2, s. 261–274, mar. 1983, doi: 10.1002/jbm.820170205.
- [187] D. E. Hart *et al.*, „Spoliage of Hydrogel Contact Lenses by Lipid Deposits”, *Ophthalmology*, t. 94, nr 10, s. 1315–1321, paź. 1987, doi: 10.1016/s0161-6420(87)80018-0.
- [188] B. L. Magran i I. Hurtado, „Soft contact lens damage: a one-year study in Caracas, Venezuela”, *Eye Contact Lens*, t. 15, nr 4, s. 274–278, 1989.
- [189] J. Rapp i J. R. Broich, „Lipid deposits on worn soft contact lenses”, *Eye Contact Lens*, t. 10, nr 3, s. 235–240, 1984.
- [190] P. J. Caroline, J. B. Robin, J. J. Gindi, M. S. Pickford, A. P. Olson, i D. J. Schanzlin, „Microscopic and elemental analysis of deposits on extended wear soft contact lenses”, *Eye Contact Lens*, t. 11, nr 4, s. 311–316, 1985.
- [191] R. W. J. Bowers i B. J. Tighe, „Studies of the ocular compatibility of hydrogels. White spot deposits—chemical composition and geological arrangement of components”, *Biomaterials*, t. 8, nr 3, s. 172-IN1, maj 1987, doi: 10.1016/0142-9612(87)90059-7.
- [192] C. G. Begley i P. J. Waggoner, „An analysis of nodular deposits on soft contact lenses.”, *J. Am. Optom. Assoc.*, t. 62, nr 3, s. 208–214, 1991.
- [193] V. Franklin, A. Horne, L. Jones, i B. Tighe, „Early Deposition Trends on Group I (Polymacon and Tetrafilcon A) and Group BLT (Bafilcon A) Materials”, *Eye Contact Lens*, t. 17, nr 4, s. 244–248, 1991.
- [194] D. E. Hart, „Influence of Contact Lens Material Surface Characteristics and Replacement Frequency on Protein and Lipid Deposition”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 76, nr 9, s. 616, wrz. 1999, doi: 10.1097/00006324-199909000-00016.
- [195] C. Ma??Ssa, V. Franklin, M. Guillon, i B. Tighe, „Influence of Contact Lens Material Surface Characteristics and Replacement Frequency on Protein and Lipid Deposition”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 75, nr 9, s. 697–705, wrz. 1998, doi: 10.1097/00006324-199809000-00026.
- [196] D. Mirejovsky, A. S. Patel, D. D. Rodriguez, i T. J. Hunt, „Lipid Adsorption onto Hydrogel Contact Lens Materials. Advantages of Nile Red over Oil Red O in Visualization of Lipids”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 68, nr 11, s. 858–864, lis. 1991, doi: 10.1097/00006324-199111000-00005.
- [197] R. C. Tripathi, B. J. Tripathi, R. A. Silverman, i G. N. Rao, „Contact Lens Deposits and Spoilage: Identification and Management”, *Int. Ophthalmol. Clin.*, t. 31, nr 2, s. 91–120, 1991, doi: 10.1097/00004397-199103120-00012.
- [198] A. R. Bontempo i J. Rapp, „Lipid Deposits on Hydrophilic and Rigid Gas Permeable Contact Lenses”, *Eye Contact Lens Sci. Clin. Pract.*, t. 20, nr 4, s. 242–245, paź. 1994, doi: 10.1097/00140068-199410000-00009.
- [199] C.-H. Ho i V. Hlady, „Fluorescence assay for measuring lipid deposits on contact lens surfaces”, *Biomaterials*, t. 16, nr 6, s. 479–482, sty. 1995, doi: 10.1016/0142-9612(95)98821-u.
- [200] L. Jones, V. Franklin, K. Evans, R. Sariri, i B. Tighe, „Spoliation and Clinical Performance of Monthly vs. Three Monthly Group II Disposable Contact Lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 73, nr 1, s. 16–21, sty. 1996, doi: 10.1097/00006324-199601000-00003.
- [201] L. Jones, K. Evans, R. Sariri, V. Franklin, i B. Tighe, „Lipid and protein deposition of N-vinyl pyrrolidone-containing group II and group IV frequent replacement contact lenses”, *Eye Contact Lens*, t. 23, nr 2, s. 122–126, 1997.
- [202] A. R. Bontempo i J. Rapp, „Protein-lipid interaction on the surface of a hydrophilic contact lens *in vitro*”, *Curr. Eye Res.*, t. 16, nr 8, s. 776–781, 1997.

- [203] M. D. Prager i R. P. Quintana, „Radiochemical studies on contact lens soiling. II. Lens uptake of cholesteryl oleate and dioleoyl phosphatidylcholine”, *J. Biomed. Mater. Res. Off. J. Soc. Biomater. Jpn. Soc. Biomater.*, t. 37, nr 2, s. 207–211, 1997.
- [204] H. I. Lorentz, M. Senchyna, i L. Jones, „Optimized Procedure for the Extraction of Lipid Deposits from Silicone–Hydrogel Contact Lenses”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 45, nr 13, s. 1537–1537, 2004.
- [205] E. P. Maziarz *et al.*, „Lipid deposition on silicone hydrogel lenses, part I: quantification of oleic acid, oleic acid methyl ester, and cholesterol”, *Eye Contact Lens*, t. 32, nr 6, s. 300–307, 2006.
- [206] L. Jones, L. N. Subbaraman, R. Rogers, i K. Dumbleton, „Surface treatment, wetting and modulus of silicone hydrogels”, *Optician*, t. 232, nr 6067, s. 28–34, 2006.
- [207] H. Lorentz, R. Rogers, i L. Jones, „The impact of lipid on contact angle wettability”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 84, nr 10, s. 946–953, 2007.
- [208] M. Iwata, S. Ohno, T. Kawai, H. Ichijima, i H. D. Cavanagh, „In vitro Evaluation of Lipids Adsorbed on Silicone Hydrogel Contact Lenses Using a New Gas Chromatography/Mass Spectrometry Analytical Method”, *Eye Contact Lens Sci. Clin. Pract.*, t. 34, nr 5, s. 272–280, wrz. 2008, doi: 10.1097/icl.0b013e318182f357.
- [209] F. P. Carney, W. L. Nash, i K. B. Sentell, „The Adsorption of Major Tear Film Lipids *In vitro* to Various Silicone Hydrogels over Time”, *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, t. 49, nr 1, s. 120, sty. 2008, doi: 10.1167/iovs.07-0376.
- [210] W. Ngo, M. Heynen, E. Joyce, i L. Jones, „Impact of Protein and Lipid on Neutralization Times of Hydrogen Peroxide Care Regimens”, *Eye Contact Lens Sci. Clin. Pract.*, t. 35, nr 6, s. 282–286, lis. 2009, doi: 10.1097/icl.0b013e3181b93bd1.
- [211] Z. Zhao *et al.*, „Care Regimen and Lens Material Influence on Silicone Hydrogel Contact Lens Deposition”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 86, nr 3, s. 251–259, mar. 2009, doi: 10.1097/oxp.0b013e318196a74b.
- [212] T. F. Svitova i M. C. Lin, „Tear Lipids Interfacial Rheology: Effect of Lysozyme and Lens Care Solutions”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 87, nr 1, s. 10–20, sty. 2010, doi: 10.1097/oxp.0b013e3181c07908.
- [213] A. D. Pucker, M. Thangavelu, i J. J. Nichols, „Enzymatic Quantification of Cholesterol and Cholesterol Esters from Silicone Hydrogel Contact Lenses”, *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, t. 51, nr 6, s. 2949, cze. 2010, doi: 10.1167/iovs.08-3368.
- [214] W. Nash, M. Gabriel, i M. Mowrey-McKee, „A comparison of various silicone hydrogel lenses; lipid and protein deposition as a result of daily wear”, *Optom Vis Sci*, t. 87, 2010.
- [215] J. T. Saville, Z. Zhao, M. D. P. Willcox, S. J. Blanksby, i T. W. Mitchell, „Detection and Quantification of Tear Phospholipids and Cholesterol in Contact Lens Deposits: The Effect of Contact Lens Material and Lens Care Solution”, *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, t. 51, nr 6, s. 2843, cze. 2010, doi: 10.1167/iovs.09-4609.
- [216] Z. Zhao *et al.*, „Contact Lens Deposits, Adverse Responses, and Clinical Ocular Surface Parameters”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 87, nr 9, s. 669–674, wrz. 2010, doi: 10.1097/oxp.0b013e3181ea1848.
- [217] H. Walther, H. Lorentz, L. Kay, M. Heynen, i L. Jones, „20 The effect of *in vitro* lipid concentration on lipid deposition on silicone hydrogel and conventional hydrogel contact lens materials”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 34, s. S21, 2011.
- [218] H. Lorentz *et al.*, „Contact lens physical properties and lipid deposition in a novel characterized artificial tear solution”, *Mol. Vis.*, t. 17, s. 3392, 2011.
- [219] M. Heynen, H. Lorentz, S. Srinivasan, i L. Jones, „Quantification of non-polar lipid deposits on senofilcon a contact lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 88, nr 10, s. 1172–1179, 2011.
- [220] D. Campbell, A. Mann, O. Hunt, i L. J. Santos, „The significance of hand wash compliance on the transfer of dermal lipids in contact lens wear”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 35, nr 2, s. 71–76, 2012.
- [221] N. B. Omali *et al.*, „Effect of cholesterol deposition on bacterial adhesion to contact lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 88, nr 8, s. 950–958, 2011.
- [222] W. G. Pitt, D. R. Jack, Y. Zhao, J. L. Nelson, i J. D. Pruitt, „Loading and release of a phospholipid from contact lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 88, nr 4, s. 502–506, 2011.

- [223] A. D. Pucker i J. J. Nichols, „A method of imaging lipids on silicone hydrogel contact lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 89, nr 5, s. E777–E787, 2012.
- [224] S. Vishnubhatla, D. Borchman, i G. N. Foulks, „Contact lenses and the rate of evaporation measured *in vitro*; the influence of wear, squalene and wax”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 35, nr 6, s. 277–281, 2012.
- [225] N. B. Omali *et al.*, „Effect of phospholipid deposits on adhesion of bacteria to contact lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 89, nr 1, s. 52–61, 2012.
- [226] A. Ng, M. Heynen, D. Luensmann, i L. Jones, „Impact of tear film components on lysozyme deposition to contact lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 89, nr 4, s. 392–400, 2012.
- [227] H. Lorentz, M. Heynen, W. Khan, D. Trieu, i L. Jones, „The impact of intermittent air exposure on lipid deposition”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 89, nr 11, s. 1574–1581, 2012.
- [228] H. Lorentz, M. Heynen, D. Trieu, S. J. Hagedorn, i L. Jones, „The impact of tear film components on *in vitro* lipid uptake”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 89, nr 6, s. 856–867, 2012.
- [229] W. G. Pitt, D. R. Jack, Y. Zhao, J. L. Nelson, i J. D. Pruitt, „Transport of phospholipid in silicone hydrogel contact lenses”, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, t. 23, nr 1–4, s. 527–541, 2012.
- [230] H. Lorentz, M. Heynen, H. Tran, i L. Jones, „Using an *in vitro* model of lipid deposition to assess the efficiency of hydrogen peroxide solutions to remove lipid from various contact lens materials”, *Curr. Eye Res.*, t. 37, nr 9, s. 777–786, 2012.
- [231] S. H. Brown, L. H. Huxtable, M. D. Willcox, S. J. Blanksby, i T. W. Mitchell, „Automated surface sampling of lipids from worn contact lenses coupled with tandem mass spectrometry”, *Analyst*, t. 138, nr 5, s. 1316–1320, 2013.
- [232] A. Ng, M. Heynen, D. Luensmann, L. N. Subbaraman, i L. Jones, „Impact of tear film components on the conformational state of lysozyme deposited on contact lenses”, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, t. 101, nr 7, s. 1172–1181, 2013.
- [233] W. G. Pitt *et al.*, „Quantitation of cholesterol and phospholipid sorption on silicone hydrogel contact lenses”, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, t. 101, nr 8, s. 1516–1523, 2013.
- [234] T. F. Svitova i M. C. Lin, „Racial variations in interfacial behavior of lipids extracted from worn soft contact lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 90, nr 12, s. 1361–1369, 2013.
- [235] T. F. Svitova i M. C. Lin, „Racial Variations in Interfacial Behavior of Lipids Extracted From Worn Soft Contact Lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 90, nr 12, s. 1361–1369, grudz. 2013, doi: 10.1097/OPX.0000000000000098.
- [236] W. L. Nash i M. M. Gabriel, „*Ex vivo* Analysis of Cholesterol Deposition for Commercially Available Silicone Hydrogel Contact Lenses Using a Fluorometric Enzymatic Assay”, *Eye Contact Lens Sci. Clin. Pract.*, t. 40, nr 5, s. 277–282, wrz. 2014, doi: 10.1097/icl.0000000000000052.
- [237] A. Panaser i B. J. Tighe, „Evidence of Lipid Degradation During Overnight Contact Lens Wear: Gas Chromatography Mass Spectrometry as the Diagnostic Tool”, *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, t. 55, nr 3, s. 1797, mar. 2014, doi: 10.1167/iovs.13-12881.
- [238] C. Maissa, M. Guillon, N. Cockshott, R. J. Garofalo, J. M. Lemp, i J. W. Bocclair, „Contact Lens Lipid Spoliation of Hydrogel and Silicone Hydrogel Lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 91, nr 9, s. 1071–1083, wrz. 2014, doi: 10.1097/OPX.0000000000000341.
- [239] S. Cheung, H. Lorentz, E. Drolle, Z. Leonenko, i L. W. Jones, „Comparative Study of Lens Solutions’ Ability to Remove Tear Constituents”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 91, nr 9, s. 1045–1061, wrz. 2014, doi: 10.1097/OPX.0000000000000340.
- [240] N. K. Tam *et al.*, „The role of multi-purpose solutions in prevention and removal of lipid depositions on contact lenses”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 37, nr 6, s. 405–414, grudz. 2014, doi: 10.1016/j.clae.2014.07.003.
- [241] N. K. Tam *et al.*, „Prevention and Removal of Lipid Deposits by Lens Care Solutions and Rubbing”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 91, nr 12, s. 1430–1439, grudz. 2014, doi: 10.1097/OPX.0000000000000419.

- [242] M. S. Bhamla, W. L. Nash, S. Elliott, i G. G. Fuller, „Influence of Lipid Coatings on Surface Wettability Characteristics of Silicone Hydrogels”, *Langmuir*, t. 31, nr 13, s. 3820–3828, kwi. 2015, doi: 10.1021/la503437a.
- [243] S. Hagedorn, E. Drolle, H. Lorentz, S. Srinivasan, Z. Leonenko, i L. Jones, „Atomic force microscopy and Langmuir–Blodgett monolayer technique to assess contact lens deposits and human meibum extracts”, *J. Optom.*, t. 8, nr 3, s. 187–199, lip. 2015, doi: 10.1016/j.optom.2014.12.003.
- [244] W. G. Pitt *et al.*, „Extended elution of phospholipid from silicone hydrogel contact lenses”, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, t. 26, nr 4, s. 224–234, mar. 2015, doi: 10.1080/09205063.2014.994947.
- [245] H. Walther, L. Subbaraman, i L. W. Jones, „In vitro Cholesterol Deposition on Daily Disposable Contact Lens Materials”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 93, nr 1, s. 36–41, sty. 2016, doi: 10.1097/OPX.0000000000000749.
- [246] C.-C. Peng, N. P. Fajardo, T. Razunguzwa, i C. J. Radke, „In vitro Spoilation of Silicone-Hydrogel Soft Contact Lenses in a Model-Blink Cell”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 92, nr 7, s. 768–780, lip. 2015, doi: 10.1097/OPX.0000000000000625.
- [247] D. Silva, A. C. Fernandes, T. G. Nunes, R. Colaço, i A. P. Serro, „The effect of albumin and cholesterol on the biotribological behavior of hydrogels for contact lenses”, *Acta Biomater.*, t. 26, s. 184–194, paź. 2015, doi: 10.1016/j.actbio.2015.08.011.
- [248] R. H. Bassyouni, Z. Kamel, M. M. Abdelfattah, i E. Mostafa, „Cinnamon oil: A possible alternative for contact lens disinfection”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 39, nr 4, s. 277–283, sie. 2016, doi: 10.1016/j.clae.2016.01.001.
- [249] M. T. M. Wang *et al.*, „Compatibility of phospholipid liposomal spray with silicone hydrogel contact lens wear”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 40, nr 1, s. 53–58, luty 2017, doi: 10.1016/j.clae.2016.11.002.
- [250] B. S. Schuett i T. J. Millar, „An Experimental Model to Study the Impact of Lipid Oxidation on Contact Lens Deposition In vitro”, *Curr. Eye Res.*, t. 42, nr 9, s. 1220–1227, wrz. 2017, doi: 10.1080/02713683.2017.1307416.
- [251] N. Babaei Omali *et al.*, „Lipid Deposition on Contact Lenses when Using Contemporary Care Solutions”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 94, nr 9, s. 919–927, wrz. 2017, doi: 10.1097/OPX.0000000000001114.
- [252] H. Walther, C.-M. Phan, L. N. Subbaraman, i L. Jones, „Differential Deposition of Fluorescently Tagged Cholesterol on Commercial Contact Lenses Using a Novel In vitro Eye Model”, *Transl. Vis. Sci. Technol.*, t. 7, nr 2, s. 18, kwi. 2018, doi: 10.1167/tvst.7.2.18.
- [253] H. Walther, L. N. Subbaraman, i L. Jones, „Efficacy of Contact Lens Care Solutions in Removing Cholesterol Deposits From Silicone Hydrogel Contact Lenses”, *Eye Contact Lens Sci. Clin. Pract.*, t. 45, nr 2, s. 105–111, mar. 2019, doi: 10.1097/icl.0000000000000547.
- [254] D. Luensmann *et al.*, „Kinetic Deposition of Polar and Non-polar Lipids on Silicone Hydrogel Contact Lenses”, *Curr. Eye Res.*, t. 45, nr 12, s. 1477–1483, grudz. 2020, doi: 10.1080/02713683.2020.1755696.
- [255] H. Qiao *et al.*, „In vitro Evaluation of the Location of Cholesteryl Ester Deposits on Monthly Replacement Silicone Hydrogel Contact Lens Materials”, *Clin. Ophthalmol.*, t. Volume 14, s. 2821–2828, wrz. 2020, doi: 10.2147/opth.s270575.
- [256] A. Shows *et al.*, „Lipid Analysis on Block Copolymer-containing Packaging Solution and Lens Care Regimens: A Randomized Clinical Trial”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 97, nr 8, s. 565–572, sie. 2020, doi: 10.1097/OPX.0000000000001553.
- [257] N. B. Omali *et al.*, „Lipid deposition on contact lenses in symptomatic and asymptomatic contact lens wearers”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 44, nr 1, s. 56–61, luty 2021, doi: 10.1016/j.clae.2020.05.006.
- [258] W.-H. Chang *et al.*, „Reduction of Physical Strength and Enhancement of Anti-Protein and Anti-Lipid Adsorption Abilities of Contact Lenses by Adding 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine”, *Macromol. Res.*, t. 28, nr 12, s. 1064–1073, lis. 2020, doi: 10.1007/s13233-020-8149-2.

- [259] H. Walther, H. Lorentz, M. Heynen, L. Kay, i L. W. Jones, „The Impact of Incubation Conditions on *In vitro* Phosphatidylcholine Deposition on Contact Lens Materials”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 98, nr 4, s. 341–349, kwi. 2021, doi: 10.1097/oxp.0000000000001680.
- [260] K. Ishihara *et al.*, „Antifouling Silicone Hydrogel Contact Lenses with a Bioinspired 2-Methacryloyloxyethyl Phosphorylcholine Polymer Surface”, *ACS Omega*, t. 6, nr 10, s. 7058–7067, mar. 2021, doi: 10.1021/acsomega.0c06327.
- [261] S. Masoudi i M. Willcox, „A method for studying lipid adsorption to silicone hydrogel contact lenses”, *Biofouling*, t. 37, nr 8, s. 862–878, wrz. 2021, doi: 10.1080/08927014.2021.1978433.
- [262] K. Gronert *et al.*, „Silicone hydrogel contact lenses retain and document ocular surface lipid mediator profiles”, *Clin. Exp. Optom.*, t. 106, nr 5, s. 489–497, lip. 2023, doi: 10.1080/08164622.2022.2083945.
- [263] T. Suliński, N. Nowak, J. Szymański, i J. Pniewski, „Analysis of Deposition and Diffusion of Cholesterol in Silicone Hydrogel Contact Lenses Using Confocal Microscopy”, *Vision*, t. 8, nr 3, s. 55, 2024.
- [264] S. H. J. Brown *et al.*, „Intersubject and Interday Variability in Human Tear and Meibum Lipidomes: A Pilot Study”, *Ocul. Surf.*, t. 14, nr 1, s. 43–48, sty. 2016, doi: 10.1016/j.jtos.2015.08.005.
- [265] H. Walther, H. Lorentz, M. Heynen, L. Kay, i L. W. Jones, „Factors that Influence *In vitro* Cholesterol Deposition on Contact Lenses”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 90, nr 10, s. 1057–1065, paź. 2013, doi: 10.1097/oxp.0000000000000022.
- [266] T. Suliński, N. Nowak, J. Szymański, i J. Pniewski, „Study of silicone hydrogel contact lenses’ surface reflection characteristics using confocal microscopy”, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, t. 34, nr 17, s. 2400–2410, 2023.
- [267] J. B. Pawley, Red., *Handbook Of Biological Confocal Microscopy*. Boston, MA: Springer US, 2006. doi: 10.1007/978-0-387-45524-2.
- [268] T. Wilson, *Confocal microscopy*, t. 426. Academic press London, 1990.
- [269] C. Sheppard i D. M. Shotton, „Confocal laser scanning microscopy”, *No Title*, 1997.
- [270] M. Born *et al.*, *Principles of Optics: Electromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light*, 7. wyd. Cambridge University Press, 1999. doi: 10.1017/CBO9781139644181.
- [271] J. R. Lakowicz, Red., *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Boston, MA: Springer US, 2006. doi: 10.1007/978-0-387-46312-4.
- [272] B. R. Masters, *Confocal microscopy and multiphoton excitation microscopy: the genesis of live cell imaging*, t. 72. SPIE press, 2006.
- [273] J.-A. Conchello i J. W. Lichtman, „Optical sectioning microscopy”, *Nat. Methods*, t. 2, nr 12, s. 920–931, grudz. 2005, doi: 10.1038/nmeth815.
- [274] A. Diaspro *et al.*, „Functional imaging of living Paramecium by means of confocal and two-photon excitation fluorescence microscopy”, w *Optical Diagnostics of Living Cells V*, SPIE, 2002, s. 24–31.
- [275] J. C. Waters, „Accuracy and precision in quantitative fluorescence microscopy”, *J. Cell Biol.*, t. 185, nr 7, s. 1135–1148, cze. 2009, doi: 10.1083/jcb.200903097.
- [276] S. L. Jacques, „Optical properties of biological tissues: a review”, *Phys. Med. Biol.*, t. 58, nr 11, s. R37–R61, cze. 2013, doi: 10.1088/0031-9155/58/11/R37.
- [277] C. F. Bohren i D. R. Huffman, *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*, 1. wyd. Wiley, 1998. doi: 10.1002/9783527618156.
- [278] M. J. Booth, „Adaptive optics in microscopy”, *Philos. Trans. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci.*, t. 365, nr 1861, s. 2829–2843, grudz. 2007, doi: 10.1098/rsta.2007.0013.
- [279] A. Egner, V. Andresen, i S. W. Hell, „Comparison of the axial resolution of practical Nipkow-disk confocal fluorescence microscopy with that of multifocal multiphoton microscopy: Theory and experiment”, *J. Microsc.*, t. 206, nr 1, s. 24–32, 2002.
- [280] A. Nakano, „Spinning-disk Confocal Microscopy. A Cutting-Edge Tool for Imaging of Membrane Traffic.”, *Cell Struct. Funct.*, t. 27, nr 5, s. 349–355, 2002, doi: 10.1247/csf.27.349.

- [281] D. Toomre i J. Bewersdorf, „A New Wave of Cellular Imaging”, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, t. 26, nr 1, s. 285–314, lis. 2010, doi: 10.1146/annurev-cellbio-100109-104048.
- [282] J. M. González-Méijome, M. Lira, A. López-Aleman, J. B. Almeida, M. A. Parafita, i M. F. Refojo, „Refractive index and equilibrium water content of conventional and silicone hydrogel contact lenses”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 26, nr 1, s. 57–64, 2006.
- [283] C. Maldonado-Codina i P. B. Morgan, „*In vitro* water wettability of silicone hydrogel contact lenses determined using the sessile drop and captive bubble techniques”, *J. Biomed. Mater. Res. A*, t. 83A, nr 2, s. 496–502, lis. 2007, doi: 10.1002/jbm.a.31260.
- [284] E. Havuz i M. N. Gurkaynak, „Videokeratoscopic assessment of silicone hydrogel contact lens wettability using a new in-vitro method”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 42, nr 6, s. 614–619, grudz. 2019, doi: 10.1016/j.clae.2019.07.005.
- [285] M. Hass i J. W. Davisson, „Absorption coefficient of pure water at 488 and 5415 nm by adiabatic laser calorimetry”, *J. Opt. Soc. Am.*, t. 67, nr 5, s. 622, maj 1977, doi: 10.1364/JOSA.67.000622.
- [286] M. T. Cone *et al.*, „Measuring the absorption coefficient of biological materials using integrating cavity ring-down spectroscopy”, *Optica*, t. 2, nr 2, s. 162, luty 2015, doi: 10.1364/OPTICA.2.000162.
- [287] S. L. Jacques, „Optical properties of biological tissues: a review”, *Phys. Med. Biol.*, t. 58, nr 11, s. R37–R61, cze. 2013, doi: 10.1088/0031-9155/58/11/R37.
- [288] T. Pelras, S. Glass, T. Scherzer, C. Elsner, A. Schulze, i B. Abel, „Transparent Low Molecular Weight Poly(Ethylene Glycol) Diacrylate-Based Hydrogels as Film Media for Photoswitchable Drugs”, *Polymers*, t. 9, nr 12, s. 639, lis. 2017, doi: 10.3390/polym9120639.
- [289] T. Suliński, „reflection normalization, raw images”. figshare, s. 33185813 Bytes, 2023. doi: 10.6084/M9.FIGSHARE.23911176.V1.
- [290] X. Shi *et al.*, „Surface characterization of a silicone hydrogel contact lens having bioinspired 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer layer in hydrated state”, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, t. 199, s. 111539, mar. 2021, doi: 10.1016/j.colsurfb.2020.111539.
- [291] E. Kim i K. Ehrmann, „Refractive index of soft contact lens materials measured in packaging solution and standard phosphate buffered saline and the effect on back vertex power calculation”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 43, nr 2, s. 123–129, kwi. 2020, doi: 10.1016/j.clae.2019.12.005.
- [292] V. A. Markel, „Introduction to the Maxwell Garnett approximation: tutorial”, *J. Opt. Soc. Am. A*, t. 33, nr 7, s. 1244, lip. 2016, doi: 10.1364/JOSAA.33.001244.
- [293] V. Sharma, X. Shi, G. Yao, G. M. Pharr, i J. Y. Wu, „Surface characterization of an ultra-soft contact lens material using an atomic force microscopy nanoindentation method”, *Sci. Rep.*, t. 12, nr 1, s. 20013, lis. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-24701-9.
- [294] R. Brygola, S. Sęk, M. Sokołowski, M. Kowalczyk-Hernández, i J. Pniewski, „Limits in measurements of contact lens surface profile using atomic force microscopy”, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, t. 165, s. 229–234, maj 2018, doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.02.018.
- [295] TONN THOMAS [DE], „Method for determining the quality of a surface of an ophthalmic lens”, EP3059575A1, 25 listopada 2020
- [296] F. Bertorelle, R. Dondon, i S. Fery-Forgues, „Compared behavior of hydrophobic fluorescent NBD probes in micelles and in cyclodextrins”, *J. Fluoresc.*, t. 12, nr 2, s. 205–207, 2002.
- [297] J. Rex, T. Knowles, X. Zhao, J. Lemp, C. Maissa, i S. S. Perry, „Elemental composition at silicone hydrogel contact lens surfaces”, *Eye Contact Lens*, t. 44, s. S221–S226, 2018.
- [298] L. Jones *et al.*, „TFOS Lifestyle: Impact of contact lenses on the ocular surface”, *Ocul. Surf.*, t. 29, s. 175–219, lip. 2023, doi: 10.1016/j.jtos.2023.04.010.
- [299] K. Ishihara, X. Shi, K. Fukazawa, T. Yamaoka, G. Yao, i J. Y. Wu, „Biomimetic-engineered silicone hydrogel contact lens materials”, *ACS Appl. Bio Mater.*, t. 6, nr 9, s. 3600–3616, 2023.
- [300] W. L. Nash i M. M. Gabriel, „*Ex vivo* analysis of cholesterol deposition for commercially available silicone hydrogel contact lenses using a fluorometric enzymatic assay”, *Eye Contact Lens*, t. 40, nr 5, s. 277–282, 2014.

- [301] T. Suliński, „Figures and videos with correlation between the cholesterol deposits’ location on the surface and the fluorescence signal from the lens material,” 2024, *figshare*. doi: 10.6084/M9.FIGSHARE.26131495.V2.
- [302] T. Suliński, J. Pniewski, J. Szymanski, i N. Nowak, *Data for article: A novel method for studying lipid accumulation on silicone hydrogel contact lenses’ surface and transport into the lens matrix*. figshare, 2025, s. 6953081801 Bytes. doi: 10.6084/M9.FIGSHARE.28350425.V1.
- [303] E. Wang, C. M. Babbey, i K. W. Dunn, „Performance comparison between the high-speed Yokogawa spinning disc confocal system and single-point scanning confocal systems”, *J. Microsc.*, t. 218, nr 2, s. 148–159, maj 2005, doi: 10.1111/j.1365-2818.2005.01473.x.
- [304] J. P. Craig *et al.*, „The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: report of the contact lens interactions with the tear film subcommittee”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 54, nr 11, s. TFOS123–TFOS156, 2013.
- [305] M. Kumar *et al.*, „Repeatability of lipid layer thickness using LipiView® following removal of contact lenses and its relationship to comfort”, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, t. 45, nr 2, s. 383–390, mar. 2025, doi: 10.1111/opo.13445.
- [306] H. Pena-Verdeal, J. Garcia-Queiruga, B. Sabucedo-Villamarin, C. Garcia-Resua, M. J. Giraldez, i E. Yebra-Pimentel, „A comprehensive study on tear meniscus height inter-eye differences in aqueous deficient dry eye diagnosis”, *J. Clin. Med.*, t. 13, nr 3, s. 659, 2024.
- [307] J. V. García-Marqués, C. Talens-Estarellles, S. García-Lázaro, i A. Cerviño, „Assessment of condition-induced changes on the ocular surface using novel methods to assess the tear film dynamics and the lipid layer”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 46, nr 3, s. 101799, 2023.
- [308] H. Hwang, H.-J. Jeon, K. C. Yow, H. S. Hwang, i E. Chung, „Image-based quantitative analysis of tear film lipid layer thickness for meibomian gland evaluation”, *Biomed. Eng. Online*, t. 16, nr 1, s. 135, 2017.
- [309] D. Finis, N. Pischel, M. Borrelli, S. Schrader, i G. Geerling, „Factors influencing the measurement of tear film lipid layer thickness with interferometry”, *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.*, t. 231, nr 6, s. 603–610, 2014.
- [310] C. Carpena-Torres, C. Pastrana, C. Rodríguez-Pomar, M. Serramito, i G. Carracedo, „Stabilization of comfort and visual quality after the insertion of soft contact lenses”, *Contact Lens Anterior Eye*, t. 45, nr 4, s. 101498, 2022.
- [311] L. Jones i K. Dumbleton, „Contact Lens Fitting Today: Silicone Hydrogels Part 1: Technological developments”, *Optom. Today*, s. 23–9, 2005.
- [312] N. Efron, *Contact Lens Practice-E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2023.
- [313] S. Masoudi i M. Willcox, „Protein deposition on contact lenses: surface versus bulk”, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 60, nr 9, s. 3887–3887, lip. 2019.
- [314] B. Hall, L. W. Jones, i J. A. Forrest, „Competitive Effects from an Artificial Tear Solution to Protein Adsorption”, *Optom. Vis. Sci.*, t. 92, nr 7, 2015, [Online]. Dostępne na: https://journals.lww.com/optvissci/fulltext/2015/07000/competitive_effects_from_an_artificial_tear.8.aspx
- [315] M. Pergal, M. Balaban, D. Stanković, i B. B. Petković, „Poly (dimethylsiloxane) modified polymers: Synthesis, structure and physical properties”, *Adv. Chem. Res.*, t. 43, s. 1–80, 2018.
- [316] J. A. Green *et al.*, „Material properties that predict preservative uptake for silicone hydrogel contact lenses”, *Eye Contact Lens*, t. 38, nr 6, s. 350–357, 2012.
- [317] K. Krysztofiak, M. Płucisz, i A. Szyzewski, „The influence of wearing on water states and dehydration of silicone-hydrogel contact lenses”, *Eng. Biomater. Biomaterialów*, t. 115, 2012.
- [318] T. S. Koffas, A. Opdahl, C. Marmo, i G. A. Somorjai, „Effect of equilibrium bulk water content on the humidity-dependent surface mechanical properties of hydrophilic contact lenses studied by atomic force microscopy”, *Langmuir*, t. 19, nr 8, s. 3453–3460, 2003.
- [319] M. Lira, C. Lourenço, M. Silva, i G. Botelho, „Physicochemical stability of contact lenses materials for biomedical applications”, *J. Optom.*, t. 13, nr 2, s. 120–127, 2020.