

North-East // Yakut medical journal. 2019. Vol. 2, No. 66. P. 28-31/ DOI: 10.25789/YMJ.2019.66.08

4. Возрастные изменения внешнего дыхания у человека / Михайлов П.В., Осетров И.А., Ахапкина А.А., Муравьев А.А. // Ярославский педагогический вестник. 2012. № 4. С. 172-175.

Age-related changes in human external respiration / Mihajlov P.V., Osetrov I.A., Ahapkina A.A., Murav'jov A.A. // Yaroslavl Pedagogical Bulletin. 2012. Vol. 4. P. 172-175.

5. Инструкция по применению формул и таблиц должных величин основных спирографических показателей / Клемент Р.Ф. [и др.]. М.-Л.: МЗ СССР, ВНИИ пульмонологии, 1986. 79 с.

Instructions for the use of formulas and tables of proper values of the main spirometric indicators / Klement R.F. [et al.]. M-Leningrad, 1986. 79 p.

6. Ким Л.Б. Состояние внешнего дыхания у жителей Крайнего Севера в зависимости от возраста и полярного стажа // Бюлл. СО РАМН. 2010. Т. 30, № 3. С. 18-23.

Kim L.B. The state of external respiration in the inhabitants of the Far North, depending on age and polar experience // Bulletin of Siberian Medicine. 2010. Vol. 30, No. 3. P. 18-23.

7. Колчинская А.З., Лябах Е.Г., Филиппов М.М. Общие представления о гипоксии нагрузки, ее генезе и компенсации. Вторичная тканевая гипоксия / под ред.

А.З. Колчинской. К., 1983. С. 183-191.

Kolchinskaya A.Z., Ljabah E.G., Filippov M.M. General ideas about load hypoxia, its genesis and compensation. Secondary tissue hypoxia / edited by A.Z. Kolchinskaya. K., 1983. P. 183-191.

8. Механизмы влияния атмосферных загрязнений на течение заболеваний легких / Луценко М.Т. [и др.] // Пульмонология. 1992. № 1. С. 6-10.

Mechanisms of influence of atmospheric pollution on the course of lung diseases / Lucenko M.T. [et al.] // Pulmonology. 1992. Vol. 1. P. 6-10.

9. Резервы организма и здоровье студентов из различных климатогеографических регионов / Агаджанян Н.А. [и др.] // Вестник Российского ун-та Дружбы народов. Серия: Медицина. 2006. № 2. С. 37-41.

Body reserves and health of students from different climatogeographic regions / Agadzhanjan N.A. [et al.] // RUDN Journal of Medicine. 2006. Vol. 2. P. 37-41.

10. Черняк В.А., Неклюдова Г.В. Спирометрия: как избежать ошибок и повысить качество исследования // Практич. пульмонология. 2016. № 2. С. 47-55.

Chernyak V.A., Nekljudova G.V. Spirometry: how to avoid mistakes and improve the quality of research // Practical pulmonology. 2016. Vol. 2. P. 47-55.

11. Assessment of respiratory function in stu-

dents, residing in different Industrial areas / Konkabaeva A.E. [et al.] // European Researcher. 2013. Vol. 56, No. 8-1. P. 2017-2022.

12. Crapo R.O. The role of reference values in interpreting lung function tests // Eur. Respir. J. 2004. Vol. 24, No. 3. P. 341-342. DOI: 10.1183/09031936.04.00063804

13. Guenette J.A., Witt J.D., McKezie D.C. Respiratory mechanics during exercise in endurance-trained men and women // J. Physiol. 2007. Vol. 581, No. 3. P. 1309-1322. DOI: 10.1113/jphysiol.2006.126466

14. Janssens J.P., Pache J.C., Nicod L.P. Physiological changes in respiratory function associated with ageing // Eur Respir J. 1999. Vol. 13. P. 197-205. DOI: 10.1183/09031936.99.14614549

15. Kim J., Sapienza C.M. Implications of expiratory muscle strength training for rehabilitation of the elderly: Tutorial // J Rehabil Res Dev. 2005. Vol. 42. P. 211-224. DOI: 10.1682/jrrd.2004.07.0077

16. Morris J.F., Koski A., Breese J.D. Normal values and evaluation of forced end-expiratory flow // Am Rev Respir Dis. 1975. Vol. 111, No. 6. P. 755-62. DOI: 10.1164/arrd.1975.111.6.755. PMID: 1137244

17. Reference values for forced spirometry / Roca J. [et al.] // Eur. Respir. J. 1998. Vol. 11, No. 4. P. 1354-1362. DOI: 10.1183/09031936.9.11061354

НАУЧНЫЕ ОБЗОРЫ

DOI 10.25789/YMJ.2024.86.17

УДК 611.08\$=57.08

С.Э. Аветисов, А.К. Дзамихова, А.В. Шитикова,
Ю.М. Ефремов, П.С. Тимашев

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ БИОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РОГОВИЦЫ

В обзоре представлены описание методов и результаты различных экспериментальных исследований биомеханических свойств роговицы: методика растяжения образцов, способ индентации, а также атомно-силовая микроскопия. В качестве «источников» образцов рассмотрены роговицы экспериментальных животных и человека (в частности, донорских глаз и материала, полученного в результате кератопластики). Селективная оценка отдельных структур роговицы с помощью классических механических тестов на растяжение в известной степени лимитирована из-за достаточно малой толщины этих структур и, как следствие, сложностей фиксации образца. В реальной практике перспективным остается использование более адаптированных для проведения подобных исследований индентации и атомно-силового микроскопа, с одной стороны, исключающих необходимость механической фиксации образца, а с другой – обеспечивающих возможность исследования различных участков и поверхностей последнего.

Ключевые слова: роговица, биомеханические свойства, методы экспериментальной оценки.

The review presents a description of methods and results of various experimental studies of corneal biomechanical properties: the technique of tensile testing, the indentation method, and atomic force microscopy. Corneas of experimental animals and humans (in particular, donor eyes and material obtained as a result of keratoplasty) are considered as "sources" of samples. Selective evaluation of individual corneal structures using classical mechanical tensile tests is limited to a certain extent due to the rather small thickness of these structures and, as a consequence, difficulties in fixing the specimen. In real practice, it remains promising to use indentation and AFM, which are more adapted for such studies, on the one hand, eliminating the need for mechanical fixation of the specimen, and on the other hand, providing the possibility of studying various areas and surfaces of the latter.

Keywords: cornea, biomechanical properties, methods of experimental evaluation.

АВETИCOB Сергей Эдуардович – д.м.н., проф., акад. РАН, научн. руковод. НИИ глазных болезней им. М.М. Краснова, зав. кафедрой Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, ORCID: 0000-0001-7115-4275; **ДЗАМИХОВА Асият Касумовна** – аспирант НИИ глазных болезней им. М.М. Краснова, asiata.abukerimova@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-2245-6346.

Первый МГМУ им. И.М. Сеченова: **ШИТИКОВА Алина Викторовна** – ассистент кафедры, ORCID: 0000-0001-8249-9703, **ЕФРЕМОВ Юрий Михайлович** – к.б.н., зав. отделом Ин-та регенеративной медицины Первого МГМУ, ORCID: 0000-0001-7040-253X, **ТИМАШЕВ Петр Сергеевич** – д.х.н., проф., научн. руковод. Ин-та регенеративной медицины, ORCID: 0000-0001-7773-2435.

Энциклопедическое толкование определяет биомеханику как «раздел биофизики, на основе моделей и методов изучающий механические свойства биологических тканей, отдельных структур и органов». С точки зрения решаемых задач, биомеханические исследования можно условно разделить на фундаментальные и прикладные. В первом случае речь идет об определении различных показателей, характеризующих механические свойства тканей, а во втором – помимо этого, о клиническом значении этих свойств в плане потенциального влияния на патогенез, методы диагностики и лечения различных заболеваний [2].

Роговица, являясь частью наружной фиброзной оболочки глаза, помимо проведения и преломления лучей света, обеспечивает функцию поддержания определенной формы глазного яблока, в первую очередь связанную с биомеханическими свойствами. Кроме этого именно роговица является зоной «приложения» наиболее распространенных в клинической практике апланационных методов измерения внутриглазного давления, и определяемые показатели могут в том числе зависеть и от «биомеханики» роговицы. Таким образом, в отношении роговицы прикладное направление биомеханических исследований связано с решением задач диагностики и мониторинга глаукомы, а также патологических изменений ее толщины и формы, индуцированных заболеваниями и хирургическими вмешательствами [1, 3, 5, 11, 13-15, 19, 22-23, 26-27, 32, 37, 44].

Методы оценки «биомеханики» роговицы разделяют на клинические и экспериментальные. Клинические, или прижизненные (*in vivo*), методы исследования основаны на анализе изменений формы роговицы в результате какого-либо воздействия, например, с помощью тонометра Маклакова различной массы или струи воздуха (эластометрия и двунаправленная пневмоапланация роговицы соответственно). Экспериментальные методы базируются на механических испытаниях изолированных образцов роговицы (*ex vivo*), полученных у экспериментальных животных, из донорских глаз человека, а также в результате каких-либо хирургических вмешательств на роговице [28].

Для характеристики биомеханических особенностей материала используют такой показатель, как модуль Юнга (модуль упругости), характеризующий сопротивление материала рас-

тяжению/сжатию (т.е. жесткость). При этом основой биомеханических тестов является оценка индуцированной и выраженной в различной степени деформации образца. В модельных экспериментах используют механическое растяжение образцов до момента разрыва, метод индентации, а также атомно-силовую микроскопию [4, 8, 15, 52]. Выбор метода механического тестирования существенно зависит от метрических характеристик (в частности, площади и объема) образцов, которые во многом связаны с методикой получения последних.

Цель настоящего обзора – анализ современных экспериментальных методов исследования биомеханических свойств роговицы.

Методы, основанные на растяжении образцов. Наиболее распространенным методом является одноосное растяжение образцов биоматериала, подготовленных в виде мембран, пленок, полосок [7, 12, 34, 47, 49]. Фрагменты роговицы в виде полосок могут быть получены из её различных слоёв и в различных направлениях [50]. Следует отметить, что т.н. пробоподготовка образцов роговицы связана с определенными сложностями в плане достижения равномерной толщины/ширины полоски по всему образцу, а также применения образцов малых размеров для уменьшения влияния гетерогенности биомеханических свойств материала на конечные результаты исследования.

В ходе эксперимента полоску материала закрепляют с двух концов в специальных держателях. При этом необходима одновременная стабильная фиксация без повреждений, которые могут стать причиной разрыва образца в области держателей [29-30, 49]. В ряде случаев применяют держатели, созданные специально под определенный образец, а в некоторых случаях используют фиксацию образца в держателе с помощью клея.

Перед растяжением, как правило, производят преднапряжение образца до минимальной детектируемой прибором силы и устанавливают начальную длину образца. В некоторых случаях применяют циклы предварительной нагрузки/разгрузки с небольшой амплитудой растяжения [25]. Предварительная циклическая обработка образца позволяет получать более воспроизводимые результаты измерений механических свойств. Выбор необходимого количества циклов предварительной обработки проводят по наилучшему совпадению графиков

напряжения-деформация в последующих циклах [38-39].

Растяжение образца осуществляют за счет перемещения одного из держателей с заданной скоростью с помощью как специальных установок [10, 49], так и универсальных механических испытательных систем [48]. В процессе тестирования регистрируют перемещение держателя и силу растяжения, как правило, с помощью специальных тензодатчиков. Растяжение проводят до разрыва образца. Полученные зависимости относительного удлинения (отношение удлинения к начальной длине образца, в %) от напряжения (отношение силы к начальной площади поперечного сечения образца, в кПа или МПа) используют для определения модуля упругости (модуля Юнга при растяжении), удлинения при разрыве (максимальное удлинение) и напряжения при разрыве (максимальное напряжение). Модуль упругости определяют по наклону участка с линейной зависимостью напряжений от деформации. Величина модуля упругости характеризует жесткость материала: чем больше наклон линейного участка, тем выше модуль упругости и тем более жестким является материал. Максимальные удлинение и напряжение характеризуют прочность и устойчивость материала к разрыву.

Сравнение биомеханических свойств роговицы человеческих и свиных глаз было проведено путем одноосного растяжения на устройстве «Instron» [9]. Получены схожие результаты по модулю упругости (для роговицы глаз человека и свиньи $42,814 \pm 11,674$ и $39,261 \pm 11,039$ МПа соответственно), что позволило сделать вывод о возможности использования по этому критерию роговицы свиного происхождения в качестве замены человеческой при различных экспериментальных исследованиях.

При кератоконусе отмечено более высокое значение деформации ($0,45 \pm 0,05$ N) при более низкой нагрузке ($8,2 \pm 1,5$ N) в сравнении с данными контрольной группы ($0,35 \pm 0,03$ N при нагрузке $17,9 \pm 0,9$ N), а также снижение модуля Юнга (156 ± 35 и 376 ± 38 МПа соответственно) [10]. Аналогичные данные были получены и в другом исследовании [36]. В то же время при сравнении жесткости условно нормальных образцов роговицы (донорские глаза) и образцов роговицы при кератоконусе существенной разницы выявлено не было [24].

Следует отметить, что классический принцип одноосного растяжения

(т.е. приложения силы в одном направлении) не исключает возможности влияния на конечный результат анизотропности биомеханических свойств роговицы, обусловленной определенной ориентацией стромальных фибрилл.

Разновидностью механического растяжения является воздействие на образец с помощью жидкости (англ. «inflation test»), с последующей регистрацией отклонения образца от исходного положения в зависимости от уровня гидростатического давления. Метод является более сложным в плане фиксации образца и регистрации деформации и требует прочного и герметичного закрепления дискообразного образца роговицы по периметру. Роговица, таким образом, как мембрана разделяет две соседние камеры, в одну из которых нагнетают жидкость (физиологический раствор) для создания гидростатического давления, одновременно регистрируя степень отклонения роговицы от исходного положения в зависимости от уровня давления жидкости. Регистрацию отклонения проводят с помощью видеокамеры или более сложными способами (лазерные датчики, специальные маркерные объекты на поверхности роговицы). Для расчёта модуля упругости требуются специальные модели, описывающие механическое поведение мембран.

При селективном исследовании различных слоев роговицы кролика и человека методом растяжения давлением жидкости был сделан вывод о меньшей растяжимости стромы по сравнению с десцеметовой мембраной независимо от видовой принадлежности [32]. В другой работе проведена оценка «биомеханики» десцеметовой мембраны животных (коров, свиней, крыс) и человека в сравнении с передней капсулой хрусталика [17]. В человеческих образцах биомеханические свойства десцеметовой мембраны и капсулы хрусталика были схожими в отличие от образцов животного происхождения, в которых мембрана оказалась более жесткой, чем капсула хрусталика.

Метод индентации. Механическое тестирование с помощью микро- и наноиндентации активно используют для оценки жесткости различных полимерных материалов и металлов, а в последние годы метод начали активно применять и для исследования биологических материалов, в том числе мягких тканей [31, 41, 42]. В последнем случае характерные значения де-

формации при использовании данного метода составляют всего десятки-сотни микрометров, поэтому термин «микроиндентация» является более обоснованным. Измерения методом индентации проводят как на специализированных приборах [31], так и с помощью универсальных измерительных систем [21]. Требования к образцу в таких экспериментах минимальны и включают определенную ровность поверхности, достаточную толщину для продавливания (сотни микрометров) и возможность стабильного закрепления на поверхности. При измерениях в воздушной среде для предотвращения скольжения и латеральных перемещений нижней части образца по поверхности подложки на неё приклеивают наждачную бумагу. При измерении в жидкости образец обычно приклеивают к подложке.

В процессе индентации осуществляют контролируемое погружение индентора в поверхность образца. Контактная часть индентора может быть выполнена в форме цилиндра, конуса, пирамиды, но для исследования мягких образцов с целью предотвращения повреждений чаще применяют сферы микрометровых или миллиметровых размеров. Индентор выполнен из жесткого материала (металл, рубин) с целью предотвращения его деформации в ходе индентации. Индентор конструктивно связан с тензометрическим датчиком, измеряющим силу, действующую на индентор, а также с двигателями для перемещения индентора относительно образца. При индентации происходит вертикальное перемещение, в то время как латеральное перемещение можно использовать для индентации в различных точках образца, то есть для картирования механических свойств [21, 40].

Исследование, как правило, начинают при расположении контактной части прибора на некоторой высоте над или в непосредственном контакте с образцом, а индентацию проводят до заданных глубины или нагрузки. В последнем случае процесс индентации осуществляют на постоянной скорости движения индентора до момента фиксации тензометрическим датчиком заданной силы, после чего индентор начинает обратное движение. В результате определяют зависимость силы (F) от глубины продавливания (δ), и используют модели контактной механики для получения значения модуля Юнга (модуль Юнга при индентации). Например, для сферического индентора, зависимость сила-индентация аппрок-

симируют следующим уравнением, соответствующим модели Герца [41]:

$$F = \frac{4}{3} f(\delta) \frac{E}{1-\nu^2} \delta^{\frac{3}{2}} \sqrt{R},$$

где E – модуль Юнга, ν – коэффициент Пуассона образца (принимается равным 0.5 для большинства биологических образцов), R – радиус индентора.

Для образцов, чья толщина сопоставима с глубиной индентации, необходима поправка на толщину в виде рассчитанной для данного случая и известной по литературе функции $f(\delta)$ [18, 24].

Текущее развитие метода микроиндентации связано с применением более сложных моделей, описывающих помимо упругого, вязкоупругое и нелинейное поведение образца [43]. Для этого в процесс тестирования добавляют фазу, включающую оценку релаксации сил или ползучести, путем удерживания индентора на постоянной глубине или на постоянном уровне силы воздействия, соответственно.

С помощью наноиндентации была проведена оценка биомеханических свойств 17 роговиц с кератоконусом и 10 условно здоровых роговиц, непригодных для трансплантации. Наноиндентация была проведена на глубине 25 мкм при скорости приложения силы 300 мкН/мин. В результате более низкое значение модуля упругости было выявлено при кератоконусе ($23,2 \pm 15,0$ и $48,7 \pm 20,5$ кПа) [33].

В другом экспериментальном исследовании метод был использован для оценки изменений «биомеханики» роговицы кроликов в результате кроссликинга роговицы: после удаления в центральной зоне эпителия роговицу обрабатывали фотосенсибилизатором рибофлавином и проводили УФ-излучение в течение 30 мин с мощностью 3 мВт/см². В результате отмечено значительное увеличение жесткости роговицы: увеличение модуля Юнга на 78,4-87,4%, предельного напряжения – на 69,7-106,0% и снижение предельной деформации на 0,57-78,4% в течение 8 мес. наблюдения [53]. В аналогичном исследовании после кроссликинга для топографической оценки изменений «биомеханики» роговицы кроликов были выделены 5 зон индентации на расстоянии до 1,5; 1,5-3,0; 3,0-4,5; 4,5-6,0 и 6,0-7,5 мм от центральной зоны образца. Отмечено увеличение модуля упругости, более выраженное в центральной зоне [51].

Атомно-силовая микроскопия. Атомно-силовой микроскоп (АСМ) яв-

ляется разновидностью сканирующего зондового микроскопа, получивший широкое применение в области биологических исследований [6]. Процесс построения изображения в АСМ основан на сканировании поверхности специальным зондом, называемым кантилевером. Кантилевер представляет собой упругую балку (консоль) микрометровых размеров, которая на одном конце закреплена на специальном основании, а на свободном – представляет собой взаимодействующую с образцом заостренную иглу в виде пирамиды, конуса или микросферы. Радиус острия иглы стандартных кантилеверов находится в пределах от 1 до 100 нм, тогда как микросфера может иметь радиус в несколько микрометров. Кантилеверы изготавливают из кремния или нитрида кремния, обычно балка имеет прямоугольную форму с длиной 100-300, толщиной 1-10 и шириной 10-50 мкм. Для оптимального светотражения верхнюю сторону балки дополнительно покрывают тонким слоем металла (алюминия или золота), что необходимо для функционирования оптической системы регистрации изгиба кантилевера, которая включает направленный на балку луч лазера и фотоприемник, состоящий из нескольких секций для детекции положения отраженного луча.

В основе работы АСМ лежит силовое взаимодействие между иглой кантилевера и поверхностью образца. Сила, действующая на зонд со стороны поверхности, контролируется с помощью описанной выше оптической системы регистрации изгиба кантилевера. Сигнал с фотоприемника, обычно измеряемый в единицах напряжения или силы тока, в дальнейшем путем калибровки преобразуется в сигнал отклонения кантилевера в нанометрах и в силу, измеряемую в пико- или наноньютонах. Изображения получают в процессе построчного относительного перемещения кантилевера и исследуемого образца, называемого сканированием. Отдельные строчки (профили поверхности) складываются в массив и формируют конечное изображение. Для осуществления процесса сканирования используют пьезодвигатель (сканер), чаще выполненный в виде трубки из пьезоэлектрического материала с нанесенными на нее электродами. При приложении напряжения пьезотрубка изгибается, сжимается или растягивается, перемещая кантилевер относительно образца с субнанометровой точностью.

Основным режимом, предназна-

ченным для измерения физических свойств образца в АСМ, является режим снятия силовых кривых. Данный режим очень близок к тестированию с помощью наноиндентации. Силовые кривые отражают зависимость величины изгиба кантилевера (силы взаимодействия зонда с поверхностью) от вертикального смещения сканера при сближении и удалении кантилевера от образца, то есть при индентации. Однако помимо собственно индентации происходят и локальные силовые взаимодействия зонда с поверхностью (силы притяжения, адгезия). Процесс снятия силовых кривых также называют силовой спектроскопией.

Силу, действующую на кантилевер, рассчитывают в соответствии с законом Гука:

$F = kd$, где k – коэффициент жесткости кантилевера, а d – его вертикальное отклонение от равновесного положения.

Значения жесткости кантилеверов предоставляются производителем в определенном диапазоне, включающем допустимые отклонения при производстве, и зависят от их геометрических параметров и материала, из которого они изготовлены. Для уточнения значений жесткости проводят её калибровку методом тепловых шумов на фоне регистрации термальных колебаний кантилевера, параметры резонанса которых зависят от жесткости.

Силовые кривые далее обрабатывают с помощью модели Герца (в случае микросферы в качестве зонда) или другими моделями контактной механики. Модуль Юнга, полученный с помощью АСМ, может отличаться от модуля Юнга, полученного с помощью методов индентации. При использовании АСМ характерные глубины индентации составляют десятки-сотни нанометров, что соответствует поверхностному слою образца. Большую роль может играть поверхностное натяжение (поверхностная энергия) в случае его присутствия. Исследования «биомеханики» обычно проводят при погружении образцов в слой жидкости (физиологический буферный раствор), реже, на полностью высушенных образцах. В первом случае возможно определенное влияние капиллярных сил на результаты механических измерений. Высушивание образцов, несмотря на повышение качества морфологической оценки, может приводить к значительному изменению механических свойств биологических образцов, главным образом, в виде увеличения жесткости.

В ряде случаев метод АСМ был применен в исследовании срезов тканей, в частности, полученных на криотоме [45, 46]. В этом случае образцы обычно не подвергают стадии химической фиксации, проводят быстрое замораживание в специальной среде, после чего получают срезы толщиной порядка 10 мкм, переносят на стекло и исследуют на АСМ в жидкости.

Метод АСМ позволяет проводить картирование механических свойств с высоким пространственным разрешением – при использовании острого зонда на мягких тканях порядка сотен нанометров. К недостаткам метода можно отнести «привязанность» измеряемых свойств к поверхности образца, а для изучения свойств внутренних слоев необходимо выполнение срезов.

Следует отметить, что АСМ существенно расширяет возможности оценки «биомеханики» различных слоев роговицы, объективные сложности которой в первую очередь связаны с малой толщиной образцов. Основные направления исследований связаны с селективной оценкой модуля Юнга различных слоев роговицы в норме и после кроссликинга при кератоконусе, возможными изменениями показателя при интраоперационном применении красителей, а также при сравнении биомеханических свойств десцеметовой мембраны и капсулы хрусталика.

Выявлены различия модуля упругости передней базальной мембраны эпителия, боуменовой мембраны и десцеметовой мембраны [16, 20, 35, 36]. Полученные в этих исследованиях результаты могут быть представлены в виде следующих основных положений:

- модуль Юнга передней стромы роговицы (281 ± 214 кПа) значительно выше задней стромы ($89,5 \pm 46,1$ кПа);
- модуль Юнга боуменовой мембраны превышает аналогичный показатель десцеметовой мембраны практически в два раза ($109,8 \pm 13,2$ и $50 \pm 17,8$ кПа соответственно);
- наименее жесткой структурой роговицы является базальная мембрана эпителия (модуль Юнга – $7,5 \pm 4,2$ кПа).

В серии сравнительных исследований в качестве экспериментальной модели для АСМ использовали роговицу кролика [50]. Средние значения модуля упругости для всех слоев роговицы (эпителия, передней и задней стромы, десцеметовой мембраны и эндотелия) оказались значительно меньше по сравнению с аналогичными показа-

телями роговицы человека. Выявленную закономерность необходимо учитывать при использовании роговицы кроликов в качестве экспериментальной модели при изучении различных патологических процессов роговицы и разработке модификаций кератопластики. В эксперименте на изолированных свиных глазах с помощью АСМ выявлено статистически достоверное увеличение среднего показателя модуля Юнга (т.е. повышение жесткости) в зоне кроссликинга [28].

Заключение. Внедрение в клиническую практику метода двунаправленной пневмоапланации роговицы значительно расширило возможность прижизненного исследования «биомеханики» глаза. При этом, несмотря на зону приложения механического воздействия методов пневмоапланации (роговица) и терминологического наличия в определяемых показателях роговичного компонента (*роговичный гистерезис, фактор резистентности роговицы*), с учетом анатомической целостности фиброзной оболочки, остается открытым вопрос потенциального влияния на эти показатели биомеханических свойств склеры. Кроме этого, методика не позволяет оценивать биомеханические особенности различных слоев роговицы, в частности, при изучении механизма эктатических заболеваний роговицы и разработке современных методов селективной кератопластики.

В качестве экспериментальных методов выбора биомеханического тестирования роговицы следует рассматривать методику растяжения образцов, способ индентации, а также АСМ, а в качестве «источников» образцов – роговицы экспериментальных животных и человека (в частности, донорских глаз и материала, полученного в результате кератопластики).

Абсолютные значения модуля Юнга как основного показателя, характеризующего биомеханические свойства образцов роговицы, полученные в различных экспериментальных исследованиях, могут существенно отличаться в силу ряда причин: технологии получения и подготовки образца, метрических характеристик образца и алгоритма исследования. Исходя из этого, актуальным является проведение сравнительных исследований, предполагающих определение относительных показателей.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (грант № 23-74-10113, <https://rscf.ru/project/23-74-10113>).

Литература

1. Аветисов, Э. С. Близорукость. М.: Медицина, 1986. 239 с.
Avetisov E.S. Myopia. M.: Medicine, 1986. 239 p.
2. Аветисов Э.С. Близорукость. 2-е изд. / Э.С. Аветисов - М.: Медицина, 1999. 288 с.
Avetisov E.S. Myopia. - 2nd ed. / E.S. Avetisov. M.: Medicine, 1999. - 288 p.
3. Аветисов, Э. С. Трехфакторная теория близорукости и ее прогрессирования / Близорукость. Патогенез, профилактика прогрессирования и осложнений: материалы международного симпозиума. Москва, 1990. С.9-15.
Avetisov, E. S. Three-factor theory of myopia and its progression / Myopia. Pathogenesis, prevention of progression and complications: materials of the international symposium. Moscow. 1990. P: 9-15.
4. Антонюк В.Д., Кузнецова Т.С. Исследование биомеханических свойств роговицы на приборе CORVIS ST (Oculus, Германия) у пациентов с миопией и миопическим астигматизмом / Офтальмохирургия. 2020. No. 4. 20 – 28 с.
Antonyuk V.D., Kuznetsova T.S. Study of corneal biomechanical properties on CORVIS ST device (Oculus, Germany) in patients with myopia and myopic astigmatism / - Ophthalmosurgery. 2020. No. 4. P. 20 - 28.
5. Иомдина Е.Н., Бауэр С.М., Котляр К.Е. Биомеханика глаза: теоретические аспекты и клинические приложения / Москва: Реальное Время; 2015.
Iomdina E.N., Bauer S.M., Kotliar K.E. Eye biomechanics: theoretical aspects and clinical applications. / Moscow: Real Time; 2015.
6. Плескова С.Н. Атомно-силовая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях: Учебное пособие / Долгопрудный: Издательский Дом «Интеллект». 2011. P:184 с.
Pleskova S.N. Atomic force microscopy in biological and medical research: Textbook / Dolgoprudny: 'Intellect' Publishing House. 2011. 184 p.
7. Сравнительная оценка биомеханических характеристик ацеллюлярного дермального матрикса для кератопластики / К.И. Мелконян, К.И. Попандопуло, С.Б. Базлов [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. 2022. №29(5). – С:94-107. doi.org/10.25207/1608-6228-2022-29-5-94-107
Comparative Evaluation of Biomechanical Characteristics of Acellular Dermal Matrix for Herioplasty / K.I. Melkonyan, K.I. Popandopulo, S.B. Bazlov [et al.] // Kuban Scientific Medical Bulletin. 2022. №29(5). P: 94-107.
8. Экспериментальные исследования биомеханических свойств роговицы / С.Э. Аветисов, Г.А. Осипян, А.К. Абукеримова и др. // Вестник офтальмологии. 2022. №138(3). С.124-131. DOI10.17116/oftalma2022138031124.
Experimental studies of the biomechanical properties of the cornea / S.E. Avetisov, G.A. Osipyanyan, A.K. Abukerimova [et al.] // Vestn Oftalmol. 2022. No.138(3). P:124-131.
9. A comparison of biomechanical properties between human and porcine cornea / Y. Zeng, J. Yang, K. Huang, Z. Lee, X. Lee // J Biomech. 2001. No. 34(4). P: 533-7. doi: 10.1016/s0021-9290(00)00219-0
10. A magnetically actuated, optically sensed tensile testing method for mechanical characterization of soft biological tissues / L. Rosalia, A. Hallou, L. Cochrane, T. Savin // Sci Adv. 2023. No.13;9(2):eade2522. doi: 10.1126/sciadv.ade2522.
11. Binnig G., Quate C.F., Gerber C. Atomic force microscope // Phys Rev Lett. 1986. No.3;56(9). P:930-933. doi: 10.1103/PhysRevLett.56.930.
12. Biomechanical Characterization of Human Soft Tissues Using Indentation and Tensile Testing / M. Griffin, Y. Premakumar, A. Seifalian // J Vis Exp. 2016. No.13;(118):54872. doi: 10.3791/54872.
13. Biomechanics of the anterior human corneal tissue investigated with Atomic Force Microscopy / M. Lombardo, G. Lombardo, G. Carbone, M.P. De Santo, R. Barberi, S. Serrao // Investigative Ophthalmology & Visual Science, published online. 2012. No.53(2). P:1050-1057.
14. Buch H. Prevalence and causes of visual impairment according to World Health Organization and United States criteria in an aged, urban Scandinavian population The Copenhagen City Eye Study // Ophthalmology. 2001. No.108(12). P:2347-2357. doi: 10.1016/s0161-6420(01)00823-5
15. Corneal Biomechanical Properties in Varying Severities of Myopia / M.R. Sedaghat, H. Momeni-Moghaddam, A. Azimi [et al.] // Front Bioeng Biotechnol. 2021. No. 21(8):595330. doi:10.3389/fbioe.2020.595330.
16. Compliance profile of the human cornea as measured by atomic force microscopy / Last J, Sara MT, Croasdale CR, Russell P, Murphy C.J. // Micron. 2012. No. 43(12). P:1293-8. doi.org/10.1016/j.micron.2012.02.014].
17. Danielsen C.C. Tensile mechanical and creep properties of Descemet's membrane and lens capsule // Exp Eye Res. 2004. No. 79(3). P:343-50. doi.org/10.1016/j.exer.2004.05.014
18. Determination of elastic moduli of thin layers of soft material using the atomic force microscope / E.K. Dimitriadis, F. Horkay, J. Maresca, B. Kachar, R.S. Chadwick // Biophys J. 2002. No. 82(5). P:2798-810. doi: 10.1016/S0006-3495(02)75620-8.
19. Determining the mechanical properties of human corneal basement membranes with atomic force microscopy / J.A. Last, S.J. Liliensiek, P.F. Nealey, C.J. Murphy // Journal of Structural Biology. 2009. No.167. P:19-24. doi.org/10.1016/j.jsb.2009.03.012
20. Dias J.M., Ziebarth N.M. Anterior and posterior corneal stroma elasticity assessed using nanoindentation // Exp Eye Res. 2013. No.115. P:41-46. doi.org/10.1016/j.exer.2013.06.004
21. Electromechanical probe and automated indentation maps are sensitive techniques in assessing early degenerated human articular cartilage / S. Sim, A. Chevrier, M. Garon [et al.] // J Orthop Res. 2017. No.35(4). P:858-867. doi: 10.1002/jor.23330.
22. Epidemiologic Study of Ocular Refraction among Schoolchildren in Taiwan in 1995 / L. Lin, Y. Shih, C. Tsai, [et al.] // Optometry and Vision Science. 1999. No. 76(5). P:275-281. doi:10.1097/00006324-199905000-00013
23. Fisher R.F. Elastic constants of the human lens capsule // Physiol. 1969. No. 201. P:1-19. doi.org/10.1113/physiol.19.9.sp008739
24. Foster, C.S., Yamamoto, G.K. Ocular rigidity in keratoconus // American Journal of Ophthalmology. 1978. No.86. P:802-806
25. Fung Y.C. Biomechanics. 10.1007/978-1-4757-2257-4. doi:10.1007/978-1-4757-2257-4
26. Ganesan P, Wildsoet C. Pharmaceutical intervention for myopia control // Expert Rev Ophthalmol. 2010. No.5(6). P:759-787. doi:10.1586/eop.10.67
27. Global Prevalence of Myopia and High Myopia and Temporal Trends from 2000 through 2050 / B.A. Holden, T.R. Fricke, D.A. Wilson [et al.] // Ophthalmology. 2016. No.123. P:1036-1042. DOI: 10.1016/j.ophtha.2016.01.006

28. Grading cartilage damage with diffuse reflectance spectroscopy: Optical markers and mechanical properties / N.R. Rovnyagina, G.S. Budylin, P.V. Dyakonov, Y.M. Efremov [et al.] // *J Biophotonics*. 2023. No.16(3):e202200149. doi: 10.1002/jbio.202200149.
29. Hawkes P.W., Spence J.C. Atomic Force Microscopy in the Life Sciences // *Science of Microscopy*. 2007. No.10.1007/978-0-387-49762-4. P:1025–1069. doi:10.1007/978-0-387-49762-4_16
30. Indentation versus tensile measurements of Young's modulus for soft biological tissues / C.T. McKee, J.A. Last, P. Russell, C.J. Murphy // *Tissue Eng Part B Rev*. 2011. No.7(3). P:155-64. doi: 10.1089/ten.TEB.2010.0520.
31. International Conference on Mechatronics and Automation (ICMA) - A cost-effective micro-indentation system for soft material characterization / W. Zhang, X. Dong [et al.] // 2015. P:825–830. doi:10.1109/icma.2015.7237592
32. S. The prevalence rates of refractive errors among children, adolescents, and adults in Germany // *Clinical Ophthalmology*. 2008. No.601. doi.org/10.2147/oph.s2836
33. Keratoconus: biomechanics ex vivo / R. Lohmüller, D. Böhringer, P.C. Maier, A.K. Ross [et al.] // *Klin Monbl Augenheilkd*. 2023. No. 240(6). P:774-778. doi: 10.1055/a-2062-3633
34. Kontomaris S.V., Stylianou A. Atomic force microscopy for university students: applications in biomaterials // *European Journal of Physics*. 2017. No. 38(3):033003. doi:10.1088/1361-6404/aa5cd6
35. Lavanya Devi A.L., Nongthomba U., Bobji M.S. Quantitative characterization of adhesion and stiffness of corneal lens of *Drosophila melanogaster* using atomic force microscopy // *J Mech Behav Biomed Mater*. 2016. No.53. P:161-173.
36. Nanoscale topography of the corneal epithelial basement membrane and Descemet's membrane of the human / G.A. Abrams, S.S. Schaus, S.L. Goodman, P.F. Nealey, C.J. Murphy // *Cornea*. 2000. No.19. P:57–64. doi.org/10.1097/00003226-200001000-00012]
37. New locus for autosomal dominant high myopia maps to the long arm of chromosome 1 / P. Paluru, S.M. Ronan, E. Heon, M. Devoto, Wildenberg [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2003. No. 44. P:1830–1836. doi: 10.1167/iovs.02-0697
38. Nguyen B.A., Roberts C.J., Reilly M.A. Biomechanical Impact of the Sclera on Corneal Deformation Response to an Air-Puff: A Finite-Element Study // *Front Bioeng Biotechnol*. 2019. No.10(6). P:210. doi: 10.3389/fbioe.2018.00210.
39. Novel parameter of corneal biomechanics that differentiate normals from glaucoma / R. Lee, R.T. Chang, I.Y. Wong [et al.] // *J. Glaucoma*. 2016b. No. 25. P:603-609. doi: 10.1097/IJG.0000000000000284
40. Mechanical properties of anterior lens capsule assessed with AFM and nanoindenter in relation to human aging, pseudoexfoliation syndrome, and trypan blue staining / Y.M. Efremov, N.A. Bakhchieva, B.S. Shavkuta [et al.] // *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020. No. 112:104081. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.104081.
41. Microindentation test for assessing the mechanical properties of cartilaginous tissues / X. Li, Y.H. An, Y.D. Wu // *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007. No. 80(1). P:25-31. doi: 10.1002/jbm.b.30564.
42. Microindentation for in vivo measurement of bone tissue mechanical properties in humans / A. Diez-Perez, R. Güerri, X. Nogues [et al.] // *J Bone Miner Res*. 2010. No. 25(8). P:1877-85. doi: 10.1002/jbmr.73.
43. Oyen M.L. Nanoindentation of Biological and Biomimetic Materials // *Adv Mater*. 2012. P:0–0. doi:10.1111/j.1747-1567.2011.00716.x
44. Prevalence and associated factors of myopia in high-school students in Beijing / L.J. Wu, Q.S. You, J.L. Duan [et al.] // *PLoS ONE*. 2015. No.10: e0120764. doi: 10.1371/journal.pone.0120764
45. Probing Micromechanical Properties of the Extracellular Matrix of Soft Tissues by Atomic Force Microscopy / I. Jorba, J.J. Uriarte, N. R. Campillo, Farré, D. Navajas // *J Cell Physiol*. 2017. No. 232(1). P:19-26. doi: 10.1002/jcp.25420
46. Sicard D., Fredenburgh L.E., Tschumperlin D.J. Measured pulmonary arterial tissue stiffness is highly sensitive to AFM indenter dimensions // *J Mech Behav Biomed Mater*. 2017. No.74. P:118-127. doi: 10.1016/j.jmbbm.2017.05.039.
47. Soden P.D., Kershaw I. Tensile testing of connective tissues // *Med Biol Eng*. 1974. No.12(4). P:510-8. doi: 10.1007/BF02478609.
48. Softening Effects in Biological Tissues and NiTi Knitwear during Cyclic Loading / Y.F. Yasenchuk, E.S. Marchenko, S.V. Gunter [et al.] // *Materials (Basel)*. 2021. No.21;14(21):6256. doi: 10.3390/ma14216256.
49. Standardized tensile testing of soft tissue using a 3D printed clamping system / M. Scholze, S. Safavi, K.C. Li, B. Ondruschka [et al.] // *HardwareX*. 2020. No. 21;8:e00159. doi:10.1016/j.ohx.2020.e00159.
50. Tensile biomechanical properties and constitutive parameters of human corneal stroma extracted by SMILE procedure / Y. Xiang, M. Shen, C. Xue [et al.] // *J Mech Behav Biomed Mater*. 2018. No.85. P:102-108. doi: 10.1016/j.jmbbm.2018.05.042.
51. Use of Nanoindentation in Determination of Regional Biomechanical Properties of Rabbit Cornea After UVA Cross-Linking / X. Zheng, Y. Xin, C. Wang [et al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2023. No. 3;64(13). P:26. doi:10.1167/iovs.64.13.26.
52. Vellara H.R., Patel D.V. Biomechanical properties of the keratoconic cornea: a review / *Clin Exp Optom*. 2015. No. 98(1). P:31-8. doi: 10.1111/cxo.12211.
53. Wollensak G., Iomdina E. Long-term biomechanical properties of rabbit cornea after photodynamic collagen crosslinking / *Acta Ophthalmol*. 2009. No. 87(1). P:48-51. doi: 10.1111/j.1755-3768.2008.01190.x.

К.О. Пашинская, А.В. Самодова

РОЛЬ ТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ КРОВИ В РЕАКЦИЯХ АДАПТАЦИИ К ДИСКОМФОРТНЫМ, ЭКСТРЕМАЛЬНО ДИСКОМФОРТНЫМ УСЛОВИЯМ СЕВЕРА И АРКТИКИ

DOI 10.25789/YMJ.2024.86.18

УДК 612.06: 612.017.1:612.398.12

Целью данного обзора является интеграция данных о роли транспортных белков крови в реакциях адаптации к дискомфортным и экстремально дискомфортным условиям Севера и Арктики РФ. Регуляция сдвигов гомеостаза у человека в неблагоприятных условиях Арктики осуществляется, в том числе за счет увеличения продукции гаптоглобина и трансферрина, реализующих антиоксидантную, иммуномодулирующую функции. Увеличение концентраций иммуноглобулинов в крови обеспечивает эффективность утилизации продуктов метаболизма, компонентов клеточного разрушения и повреждения. В неблагоприятных условиях Севера и Арктики возникает сдвиг и нарушение адаптационных изменений липидного обмена.

Ключевые слова: гаптоглобин, трансферрин, иммуноглобулины, липид-транспортные комплексы, неблагоприятные условия Севера и Арктики, адаптация.

Институт физиологии природных адаптаций ФГБУН ФИЦКИА им. акад. Н.П. Лаврова УрО РАН, Архангельск: **ПАШИНСКАЯ Ксения Олеговна** – м.н.с., nefksu@mail.ru, ORCID: 0000-0001-6774-4598, **САМОДОВА Анна Васильевна** – к.б.н., в.н.с., зав. лаб., annapoletaeva2008@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-9835-8083.

The purpose of this review is to integrate data on the role of blood transport proteins in adaptation reactions to uncomfortable and extremely uncomfortable conditions of the North and Arctic of the Russian Federation. Regulation of shifts in homeostasis in humans under unfavorable Arctic conditions is carried out, among other things, by increasing the production of haptoglobin and transferrin, which perform antioxidant and immunomodulatory functions. An increase in the