

265 毫微米脉冲激光辐照皮肤的损伤阈研究

李兆璋 吴家女 盖宝康

周衍

(上海第二医科大学激光医学研究室)

(上海交通大学)

提要 本文探讨了 265 nm 脉冲辐照皮肤所引起的紫外红斑。实验中明显地观察到紫外红斑的两相反应——延迟和瞬时红斑。概率统计分析表明,本实验所获得的猪皮肤最小红斑剂量(22.00 mJ/cm²)是可信的。

Study of injury threshold of skin irradiated with 265 nm pulsed laser light

Li Zhaoshang, Wu Jianu, Gai Bakang

Zhuo Yan

(Laser Research Laboratory, Shanghai No. 2 Medical University)

(Jiatong University)

Abstract: Investigation of ultraviolet erythema of the skin irradiated with 265 nm pulsed laser was presented. Two phases of reactions of ultraviolet erythema—immediate and delayed ones were clearly observed in our experiment. The probability statistical analysis indicated that minimal dose of 50% perceptible redness occurrence rate on the porket skin (22.00 mJ/cm²) is fiducial.

通常,紫外波段可分成三段:UVA(315~400 nm)、UVB(280~315 nm)、UVC(200~280 nm)。由于它们单光子能量不同,引起生物组织的反应也不相同。UVC段的光子能量大,很易引起光致化学反应。二十世纪初,已有许多学者研究了非激光的UVC紫外光对皮肤的作用。后来,Rottier(1953)与Magnus(1964)分别测定过人不同部位的紫外最小红斑剂量(MRD);他们的数据(见表1)说明UVC段紫外光比UVB段紫外光更易引起红斑。为了探索紫外激光对皮肤的作用,本实验采用Nd:YAG四倍频激光器作照射光源,以白猪为动物模型,测定白猪皮肤受265 nm脉冲激光照射的损伤阈。类似的实验国内外尚未见报道,因此本实验的结果可作为制订我国激光防护标准紫外波段皮肤最

大允许照射量(MPE)的初步依据。

一、实验装置及方法

采用Q开关Nd:YAG激光器作照射源。其四倍频的波长为265 nm,脉冲宽度为9 ns,单脉冲最大输出为20 mJ,输出稳定性为±5%,光束发散度为0.36 mrad。

照射装置的光路见图1所示。测定辐照量的两个能量计: NJ-NI型和RJ7200型(U.S.A)。实验中所用的各组辐照量通过分束比($K=0.27\pm 0.019$)与实时监测的能量进行换算。

实验的环境条件: 室温 $11.2\pm 0.8^{\circ}\text{C}$, 湿度 $72.3\%\pm 8.1\%$ 。

实验动物采用三只4.5公斤的上海白猪。照射前两小时经麻醉处理,在剃净猪毛的皮肤上,离脊椎2 cm的两侧到腹部各划

表 1 人皮肤紫外红斑的 MRD

作者及日期	照射部位	照射面积	受照人数	观察红斑的时间	UVC(nm) MRD	UVB(nm) MRD
Rottier (1953)	臂	0.5×8mm ²	7	照后 6~14 小时	257 nm 1130 mW/sterad	297 nm 1697 mW/sterad
Magnus (1964)	背	3×10mm ²	13	照后 3~8 小时	260 nm 25.12 mJ/cm ²	300 nm 50.12 mJ/cm ²

表 2 红斑评定标准

级	肉眼观察	组 织 学 检 查
0	无 反 应	正 常
±	极淡红斑, 无明显边界	表皮层正常, 真皮层毛细血管扩张充血
+	淡红斑, 能看到边界	表皮层基本正常, 真皮层毛细血管扩张充血, 红细胞渗出
++	中度红斑, 有明显边界, 无水肿	真皮层毛细血管扩张充血, 表皮层细胞内水肿, 少量细胞核固缩。
+++	红斑, 周围有时伴水肿	同++级外, 真皮层胶原纤维增粗, 角质层疏松。

表 3 265 nm 脉冲激光辐照猪皮肤产生瞬时红斑的情况

照射组	辐照量均值(mJ/cm ²) ± 标准差	照射点数	瞬 时 红 斑			
			发生率 %	出现的时间范围 (照后秒数)	持续时间的范围 '(分)''(秒)	红斑程度
1	13.66±0.13	31	—	—	—	—
2	16.61±0.64	31	19.35	15''~23''	30''~5'	±-
3	20.21±0.33	33	39.39	12''~18''	2'~10'	±
4	24.23±0.70	34	67.64	6''~14''	2'~12'	±+
5	29.04±1.22	34	88.23	4''~12''	2'~15'	+ -
6	39.44±2.03	40	100	即刻~10''	5'~20'	+ -

表 4 265 nm 脉冲激光辐照猪皮肤产生延迟红斑的情况

照射组	辐照量均值(mJ/cm ²) ± 标准差	照射点数	照后 24 小时红斑数	照后 24 小时延迟红斑发生率 (%)	24 小时中红斑所 达的最高级别
1	13.66±0.13	31	4	12.90	±
2	16.61±0.64	31	8	25.81	±
3	20.21±0.33	33	14	42.42	+
4	24.23±0.70	34	20	58.82	++
5	29.04±1.22	34	25	73.53	++
6	39.44±2.03	40	36	90.00	+++

40 个 2cm×2cm 的方格。每个方格垂直照射一个脉冲。

观察红斑以肉眼为主, 评定标准见表 2。

各照射组均作皮肤常规(H. E. 染色)组织学检查, 在接近出现 50% 最小红斑剂量的辐照组中适当作些电镜检查。

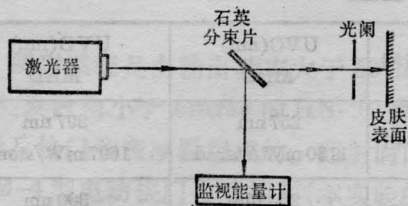


图1 实验装置光路简图

二、实验结果与分析

实验共照射224点。21点作皮肤组织学检查，203点按6组辐照量归类进行概率统计分析。

表3与表4说明265nm脉冲激光照射皮肤后红斑出现的情况。

265nm脉冲激光辐照白猪皮肤产生瞬时红斑，最长持续时间不超过20分钟，扩散直径可达5~8mm。延迟红斑在6个辐照组中出现的时间各不相同，红斑的程度也有变化，图2描述了各组红斑程度随时间变化的情况。照射后48小时第1~4组的红斑都消退，色素沉着不明显；第5~6组有些照射点留有淡褐色色素沉着，持续1~2天；第6组照射点中约25%结痂。

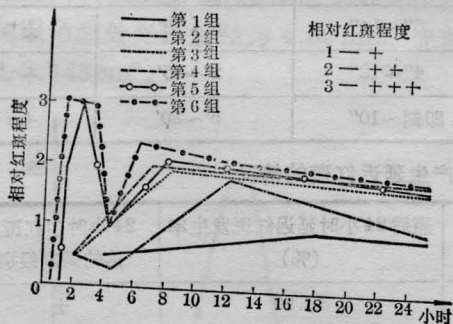


图2 各组辐照量的红斑程度随时间变化的曲线图

根据光学显微镜组织学检查，第1组皮肤各层受照后基本正常。第2、3、4组皮肤(照后24小时)真皮层毛细血管有不同程度的扩张充血，第4组表皮层少量细胞轻度肿胀，棘细胞层界线不清；第5组(照后24小时)除上述现象外还呈现角质层疏松、表皮层细胞内水肿、部分细胞核固缩；第6组皮肤反

应最严重，表皮层细胞有空泡形成、局部基层细胞排列紊乱、真皮深层胶原纤维增粗。照后2小时组织学检查情况基本同上，但细胞核固缩、细胞内水肿以及胶原纤维增粗现象不甚明显。第3、4组照射点24小时后电镜检查发现基底层细胞中部分线粒体嵴模糊或消失，或者整个线粒体肿胀，细胞间隙稍增大。照后2小时电镜检查无异常发现(见图3)。

根据概率统计分析，由目测法和加权回归法求出的265nm脉冲激光辐照猪皮肤的MRD₅₀及其95%可信限如表5及图4所示。

表5 265nm脉冲激光辐照白猪皮肤的损伤阈概率统计分析

	目测法	加权回归法
回归方程		$y=5.2066x-1.9892$
MRD ₅₀ (mJ/cm ²)	22.13	22.00
95% 可信限 (mJ/cm ²)	19.79~24.75	20.20~23.94

注： x 为辐照量的对数值， y 为红斑发生的概率单位。

加权回归法所得的方程经 χ^2 检验，本实验 χ^2 值0.0836远小于 $\chi^2(3)0.05$ 值，因此方程是满意的。

三、讨论

1. UVC与UVB紫外红斑的异同点

UVC(200~280nm)与UVB(280~315nm)两个紫外波段照射猪皮肤都能引起瞬时和延迟两相红斑反应。当我们采用265nm脉冲激光或308nm准分子激光照射猪皮肤时，两相紫外红斑反应十分明显，但表现不完全相同。265nm脉冲激光使皮肤产生的瞬时红斑持续时间比308nm脉冲激光所产生的长。两者引起延迟红斑反应均需一段时间，这是光致化学反应的特点。265nm激光所引起的延迟红斑约在照后半时至4.5小时出现，而308nm激光照射过的皮肤则在照后

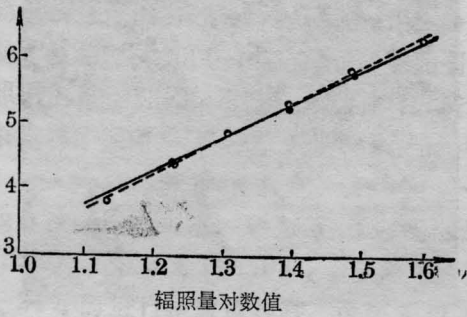


图4 红斑发生概率单位与辐照量对数值的关系图
 实线——目测法直线；虚线——加权回归直线
 ○——实验值；●——计算值

5至18小时才出现延迟红斑。上述现象可能与265nm激光单光子能量比308nm的大有关,光子能量大引起光化反应的速度也快。另外,从实验中所观察到的延迟红斑程度随时间变化的情况可以推测,在紫外红斑出现过程中有数种光化学物质在不同时间起着作用,这与国外有关报导的看法是一致的。

紫外红斑是光致化学反应的结果。皮肤组织在此过程中产生的热不象热效应那么显著,但还是有变化。我们在实验中也注意了这个问题,通过对皮肤温度的测定(用上海医用仪表厂的半导体7151型温度计),发现随着辐照量的增加,皮肤红斑的温度比未受照

射的皮肤温度高。第6组照后1小时皮肤红斑处的温度为29.1°C,对照皮肤的温度为27.8°C,这说明光致化学反应中还是有热的变化。同时也提醒我们注意,进行这类实验时必须注意周围环境温度的稳定性。

2. 紫外激光防护标准的探讨

根据1979年世界卫生组织颁布的紫外辐射卫生标准以及近年来国际上有关的激光防护标准(ANSI、IEC等),紫外波段260~270nm的皮肤最大允许照射量(MPE)为3mJ/cm²,308nm(脉宽为15ns)的MPE为6.2mJ/cm²。根据我们实验获得的损伤阈值——引起50%照射点产生最小可见红斑的辐照量(MRD₅₀):MRD₅₀(265nm)为22.00mJ/cm²,MRD₅₀(308nm)为53.84mJ/cm²,计算MRD₅₀/MPE的比值γ:γ(265nm)为7,γ(308nm)为9。这些数据表明在紫外波段考虑MPE的安全系数(若用动物作实验)至少该取10。由于紫外波段光谱对生物组织反应的影响很大,因此对于脉冲宽度很短的各类紫外激光源应尽可能多做些生物实验,以保证激光防护标准的可靠性。

参考文献(略)

(上接第599页)

钟后取皮肤活检,皮色偏黑者3人在辐照量功率密度4.933W/cm²取材,2人基本无明显病理变化,1人见表皮细胞内外水肿、部分基底细胞液化、真皮层血管扩张充血。一般皮色者7人,在辐照量5.804W/cm²组作皮肤组织检查,6人无变化,1人限于表皮内轻度病理改变。偏白者2人,在辐照量6.674W/cm²活检,均无明显病理变化。有变化者取材辐照量大于其MRD₅₀,结果示于表7。

以加权直线回归法统计计算:

$$\text{回归方程 } y = -7.388 + 16.550x$$

$$\text{MRD}_{50} \quad 5.603 \text{ W/cm}^2$$

$$95\% \text{ 可信限 } 5.490 \sim 5.719 \text{ W/cm}^2$$

用 x^2 检验, $P < 0.05$,是满意的。

表7 488nm 氩离子激光对人皮肤
 损伤测试结果统计

编组	辐照量功率密度	辐照点	红斑数	病理变化
1	3.337W/cm ²	60	0	
2	3.918W/cm ²	60	2	
3	4.933W/cm ²	60	10	偏黑者3人 2/3(-)1/3(+)
4	5.369W/cm ²	60	18	
5	5.804W/cm ²	60	36	一般皮色7人 6/7(-)1/7(+)
6	6.239W/cm ²	60	48	
7	6.674W/cm ²	60	53	偏白者2人(-)
8	6.96W/cm ²	60	57	
9	7.25W/cm ²	60	60	