

单模氦-氖激光对兔眼急性损伤阈值的研究

丁维玲 赵天吉 强茹玲 武桂芳
(天津市激光技术研究所) (天津市眼科医院)
刘昶庭 穆瑞东
(天津市劳动卫生职业病研究所)

提要: 本实验用单模氦-氖激光对青紫蓝兔眼进行 1s 和 1/8s 照射。照射剂量分为 6 种和 5 种剂量, 每种剂量照射 30 点。得出兔眼视网膜损伤几率为 50% 时, 角膜处激光功率——ED₅₀。

A study of single mode He-Ne laser injury threshold of rabbit's eyes

Ding Weiling, Zhao Tianji, Qiang Ruling
(Tianjin Institute of Laser Technology)

Wu Guifang
(Tianjin Ophthalmic Hospital)

Liu Changting, Mu Ruidong
(Tianjin Institute of Industrial Hygiene and Occupational Diseases)

Abstract: In this experiment, gray chinchilla rabbits were exposed to He-Ne laser light with 6 and 5 different dosages respectively. The exposure time was 1 second and 1/8 second. 30 points were exposed for every dosage. ED₅₀, the probability of injury to the retina at a rate of 50%, was obtained.

氦-氖激光器是目前最普遍使用的激光器件之一。输出功率一般在 100mW 以内, 因此, 人们往往忽视这种小功率激光对人体特别是对眼睛损伤的危险性。由于眼睛的聚焦作用, 使视网膜的激光功率密度增加 10⁶ 倍^[1], 对人眼也会造成损伤。我们在多模实验的基础上^[2], 又进行了单模氦-氖激光不同照射时间对兔眼损伤阈值的研究。

实验装置及动物

1. 实验装置

图 1 为实验装置示意图。该装置是由照

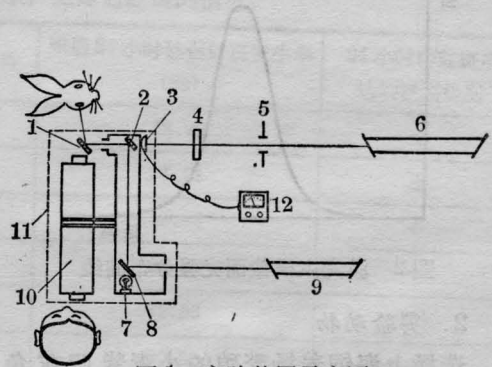


图 1 实验装置示意图

1. 反射镜 1; 2. 反射镜 2; 3. 监测功率计探头;
4. 衰减器; 5. 电动快门; 6. HN-T₄氦-氖激光器;
7. 照明灯; 8. 半反镜; 9. 瞄准氦-氖激光器;
10. 观察系统; 11. 定点照射仪; 12. 功率计

射系统、瞄准照明系统和观察系统三部分组成。

照射系统是由输出功率大于 50mW、单横模、发散角小于 1mrad 的 HN-T₄ 氮-氖激光器及快门和衰减器组成的。照射时间是由 PKM-4 型电动快门自动控制(本实验的照射时间为 1s 和 1/8s)。自制的定点照射仪包括瞄准照明系统、观察系统、反射镜 1。瞄准照明系统采用小功率氮-氖激光器,它与照明光通过半反镜后,同光路地经反射镜 2 和反射镜 1 进入瞳孔。实验人员通过观察系统可寻找兔视网膜理想照射位置,并且观察眼底组织及损伤斑。激光功率的选择是由调节衰减器得到不同的激光功率完成的。

测量激光功率是通过使用自制的袖珍式光电功率计完成的,误差 $< \pm 5\%$ 。功率计的光电接收头安装在定点照射仪上,可时时监测。该功率计指示的数值经过修正即可得到入射兔眼角膜处的激光功率值。

照射兔眼的光束是激光原光束,如图 2 所示。光强沿直径方向是高斯分布,光斑直径为光束横截面上沿直径方向功率密度为最大值的 $1/e^2$ 倍处的二点距离。经计算激光射入兔眼角膜处光斑直径为 4.30 mm,光斑面积为 0.145cm^2 。

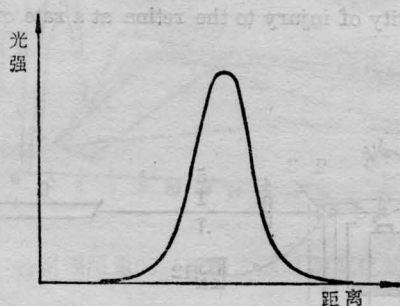


图 2 激光束横截面光强分布曲线

2. 实验动物

选择上海饲养场繁殖的小青紫蓝灰兔,所有实验动物都经过严格的挑选,必须符合以下条件:(1) 体重 2~2.5 kg;(2) 眼底色素大致相同,无角膜、晶体、玻璃体及眼底疾病;

(3) 屈光度 $+15 \sim +30$;轴长 15~17 cm。

实验方法及步骤

照射前调整照射激光与瞄准激光同光路。实验动物在全身麻醉和充分散瞳后,放到定点照射仪前的五维运动的兔架上固定好。实验人员通过移动兔架在定点照射仪的目镜前瞄准所要照射眼底的部位(视乳头下黄斑区)。由电动快门控制激光对兔眼进行照射,见图 3。照射后对兔眼进行即刻、30 分钟、60 分钟三次观察,凡照射后 1 小时内,经二位眼科医生通过眼底镜检查看到损伤斑(小灰白点),即为阳性损伤。

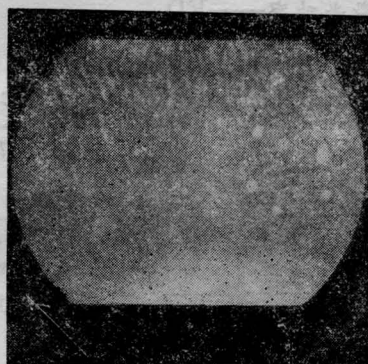


图 3 定位照射兔视网膜损伤斑点

病理取材采用改良的视网膜裂孔定位法。实验人员在眼底镜观察下,使眼底镜之光束瞄准损伤点的中央不动,从眼球外可看见巩膜面上透过来的眼底镜光点,此点即为视网膜损伤点,用龙胆紫作标记,立即用角膜针在此点做缝线。定位完毕后,用静脉注入空气处死动物,待血凝后摘除眼球,用中性 10% 福尔马林固定,石蜡包埋,在损伤部位连续切片, H-E 染色。

实验结果

1. 1 秒钟照射

对 15 只青紫蓝兔的 30 只眼进行六种剂量激光照射。将兔随机抽样分成三组,每组 5 只兔,10 只眼。每只眼照射二种剂量,3 个点(点距大于损伤斑直径二倍以上)。每种剂量共照射 30 个点。实验结果见表 1。

表1 氩-氦激光对兔视网膜的急性损伤(1秒照射)

激光功率 (mW)	功率密度 (mW/cm ²)	照射点数	损点 伤数	阳性率 (%)
38.0	262	30	28	93.3
30.0	207	30	21	70.0
27.0	186	30	18	60.0
24.0	166	30	14	46.7
20.0	138	30	3	10.0
15.0	103	30	0	0

从表1的结果可以看出,照射剂量与损伤阳性率的反应关系为S型曲线。每次照射后均未发现角膜、晶体和玻璃体的异常变化。这种6328 Å 氩-氦激光只对视网膜造成损伤^[3]。对实验数据采用加权直线回归法进行统计学处理,用微机进行计算。得到回归直线方程式为: $\hat{y} = -8.19 + 9.32x$; ED₅₀为26.0 mW (或179 mW/cm²); ED₅₀可信限为24.5~27.5 mW (或169~190 mW/cm²)。回归直线的相关系数 $r=0.988$, 很接近1。结果是可信的。

2. 1/8秒照射

对15只青紫蓝兔的30只眼进行五种剂量照射,其它均同1秒的照射方法。实验结果如表2所示。

表2 氩-氦激光对兔视网膜急性损伤(1/8秒照射)

激光功率 (mW)	功率密度 (mW/cm ²)	照射点数	损点 伤数	阳性率 (%)
43.0	297	30	30	100
38.0	262	30	24	80.0
33.0	228	30	20	66.7
28.0	193	30	10	33.3
23.0	159	30	0	0

从表2的结果可以看出,1/8秒的照射同1秒照射一样,照射剂量与损伤阳性率的反应关系呈S型曲线。经加权直线回归法计算,

回归直线方程式为: $\hat{y} = -15.8 + 14.0x$; ED₅₀为31.2 mW (或215 mW/cm²); ED₅₀的可信限为29.8~32.6 mW (或206~225 mW/cm²), 计算结果是可信的。

3. 光镜病理改变

根据1秒照射ED₅₀的可信限,选择了27、25、23 mW三种剂量进行照射,其光镜下所见视网膜损伤点之病理改变如下:

27 mW 损伤点——在低倍镜下可见视网膜损伤病灶,病灶处和脉络膜及巩膜粘连,病灶处之色素上皮断裂。在高倍镜下除可见色素上皮断裂和脉络膜粘连外,可见神经纤维层水肿,外颗粒层紊乱。

25 mW 损伤点——局限病灶处视网膜隆起,除水肿外视网膜下有出血,造成局限性视网膜脱离,外颗粒层分离,胶质细胞增生,脉络膜局限性多形核细胞浸润,神经节细胞变性。

23 mW 损伤点——视网膜有轻度水肿、隆起,色素上皮断裂,脉络膜有局限性多形核细胞浸润。

以上结果可以看出,在眼底镜下观察到的视网膜损伤点,光镜下均有病理改变。最明显的改变为色素上皮细胞。另外有视网膜水肿、出血及脉络膜多形核细胞浸润。由于病理取材样本较少,未能看出病理改变和功率间的关系。

讨论

1. 经过对氩-氦激光照射兔眼视网膜损伤阈值的研究,发现影响激光对兔眼损伤的因素除激光功率、发散角和眼底色素外,还与激光模式、照射眼底位置以及照射时间等有着密切的关系。

2. 通过病理形态学观察,我们认为取材是病理的关键。我们的方法及程序为:先激光照射,暴露巩膜面,定位、处死动物,血凝后摘除眼球。这种定位方法的优点在于,1) 定位准确; 2) 缩短时间; 3) 充分利用兔眼的有利条件。 (下转第585页)

表4 本组实验结果与国外资料对比

组别	MRD ₅₀ (J/cm ²)	95% 可信限 (J/cm ²)
高加索人	48~78	
中国人(偏白)	65.519	61.295~70.173
中国人(黄白)	60.989	58.867~63.188
中国人(偏黑)	52.321	46.112~59.367
黑人	46~60	

光能量较多,因此,较低的激光功率密度就达到损伤阈值,故肤色偏黑者损伤阈值偏低,相反,偏白者损伤阈值稍高(图9、10、11)。

3. 本组动物实验小白猪的MRD₅₀为



图9 无明显变化

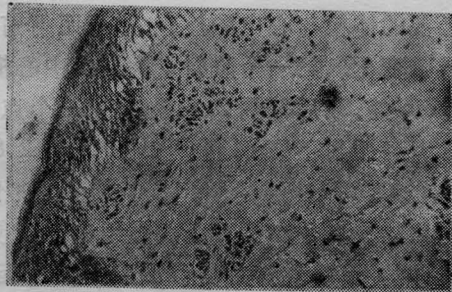


图10 鳞状上皮细胞胞浆呈空泡状,细胞核固缩,固有层毛细血管轻度扩张充血

(上接第625页)

3. 根据大数量动物实验数据以及眼睛是人体最重要的感觉器官之一,我们认为,以最小损伤阈值(ED₁)的95%可信限下限为基数,取100倍的安全系数是比较合适的。因此,建议我国氦-氖激光最大允许照射剂量应为:1秒照射 $8.76 \times 10^{-4} \text{ W/cm}^2$; 1/8秒照射 $13.0 \times 10^{-4} \text{ W/cm}^2$ 。此标准略高于美国标准。

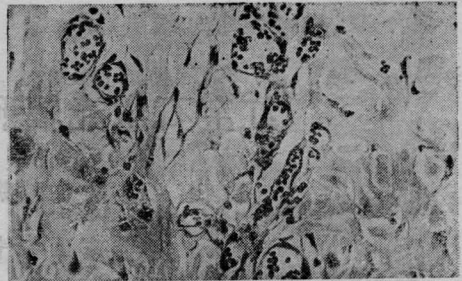


图11 血管轻度扩张,红血球游走于腔外

59.385 J/cm², 95%可信限为59.950~61.923 J/cm², 与人皮肤实验结果MRD₅₀为52.321~65.519 J/cm², 95%可信限为46.112~70.173 J/cm²很相近,可见选用小白猪为动物实验是合适的。

4. 可能影响实验结果的几种因素

(1) 麻醉的深度,小猪的麻醉兴奋,包括进入深度麻醉之前及即将苏醒时,皮肤往往出现充血样,此时对1.06 μm激光的吸收较好,容易获得有效红斑;当逐渐加深后则皮肤呈白色,用相同剂量照射有时不出现红斑,或出现了又迅速消退,因此,实验时要注意麻醉的深度,以免影响结果。

(2) 观察红斑的主观因素,对红斑的出现与扩大基本无争议,但对红斑的消退有不同意见,因此,对红斑的持续时间就存在着不客观因素。

(3) 实验室温度,过低或过高室温都会影响红斑的观察,注意调节实验时温度,以保证实验的可靠性。

参 考 文 献

[1] M. L. Wolbarsht; "Laser applications in medicine and biology", 1971.
 [2] 刘昶庭等;《劳动卫生与环境医学》, 1983, No. 1, 1.
 [3] A. Kohtiao et al.; *Amer. J. Ophthal*, 1966, **62**, 524~527.
 [4] W. P. Hansen et al.; *Appl. Opt.*, 1967, **6**, 1973~1975.