

308 nm 激光诱导动物血管荧光光谱的观测

徐积仁 黄南堂 康 宁 陈明哲 陈凤荣 马 丽

(中国科学院物理研究所, 北京 100080)

(北京医科大学第三医院)

摘要 利用 XeCl 准分子激光辐照兔、狗动物主动脉及多种器官, 观测到近紫外至可见波段连续发射的荧光光谱, 荧光在 380 nm 及 450 nm 处有二个极值, 测得正常主动脉及主动脉斑块二极值强度之比分别为 $I_{380}/I_{450} = 1.05 \pm 0.07$ 及 1.32 ± 0.10 。

关键词 准分子激光, 主动脉, 斑块, 荧光光谱

308 nm laser-induced fluorescence spectra of animal blood vessel

Xu Jiren, Huang Nangtang, Kang Ning

(Institute of Physics, Academia Sinica, Beijing 100080)

Chen Mingzhe, Chen Fengrong, Ma Li

(Third Affiliated Hospital, Beijing Medical University, Beijing)

Abstract A XeCl excimer laser at 308 nm was used to irradiate rabbit's dog's aorta and different organs. Fluorescence spectra indicated a broad-continuum emission from 300 to 700 nm with the peak fluorescence at wavelengths of 380 and 450 nm. The ratio of peak fluorescence intensity is $I_{380}/I_{450} = 1.05 \pm 0.07$ for normal artery, $I_{380}/I_{450} = 1.32 \pm 0.10$ for atheromas plaques.

Key words excimer laser, aorta, atheromas plaques, fluorescence spectrum

1 引 言

发展激光血管荧光光谱术, 是为了探求不用附加设备, 在用激光对斑块消融作用的同时, 获得激光血管成型术在治疗过程中所必需的诊断信息^[1]。为此, 本文在保持可能被直接用于消融斑块的激光辐照剂量的条件下, 观察了激光引起动物血管正常组织与斑块组织的不同荧光光谱, 以及动物不同器官的荧光光谱, 以期找出正常血管壁与斑块荧光光谱的差别。由于血管组织是由细胞或多种生物分子组成, 其成分极其复杂, 因此蛋白质内固有荧光团的种类也是多

样的,激光激发的生物体荧光光谱,将不同于通常在原子或分子中常见的荧光光谱,它们可能出现对激发频率的依赖性,选用 308 nm 激光作激发波长,有利于治疗及诊断条件的一致。从而为探索血管疾病的诊治方法积累数据。

2 实验条件与方法

工作中所用准分子激光器为西德 Lamda-Physik 公司生产的 EMG103 型,用 XeCl 为工作物质,输出波长 308 nm,脉宽 20 ns,以 10 Hz 工作,经透镜聚焦输入至石英光纤,光纤外径 1 mm,芯径 60 μm ,长 6 m,在光纤输出端每个脉冲能量可稳定保持 10 mJ,用以直接照射被切开的新鲜动物血管样品内壁,再用自制激光荧光光谱仪收集血管内壁的荧光光谱,其装置如图 1 所示。每次样品都制成同等大小,用特制支架固定,以免激光照射过程中样品变形,样品荧光用透镜聚焦至半米光栅单色仪的入射狭缝,为了减小激发线对荧光波形的干扰,工作中选用 $f = 10 \text{ cm}$ K₉ 玻璃透镜。单色仪扫描范围 308 nm 至 600 nm,出口狭缝接 EMI9816 光电倍增管,信号输入至 Boxcar162 型信号平均器,再由 $x - y$ 记录仪自动记录。为了监控荧光与信号平均器的门同步,增加 S/N 比值,还用宽带示波器监控每次输入脉冲幅度及同步的稳定性。被照射的样品、聚光镜及单色仪入口狭缝都置于密闭的暗盒中,入射的激光用光纤引入,保证了杂散光的仔细屏蔽。

为了比较动物正常血管与斑块组织的荧光,工作中专门用高胆固醇食物喂养动脉硬化性大耳兔,与正常喂养的医学试验大耳白兔,及狗血管的荧光光谱作比较,先后共试验了 14 只兔样品,其结果基本一致,由于实验条件的相对固定,不同部位组织之间的荧光强度可用作相对比较,作为定性参考。所用新鲜血管指在实验时解剖的活体血管样品。为了探索荧光分布的特异性,以增加诊断的分辨率,工作中还试验了特殊的荧光增感剂^[2],使用四环素、金霉素等生理盐水溶液浸泡血管,及体内注射的方法,浸泡溶液的浓度通常采用 $\sim 1 \text{ mg}/1 \text{ ml}$,注射量为 $0.3 \sim 1 \text{ mg}/\text{kg}$ 体重等不同条件。

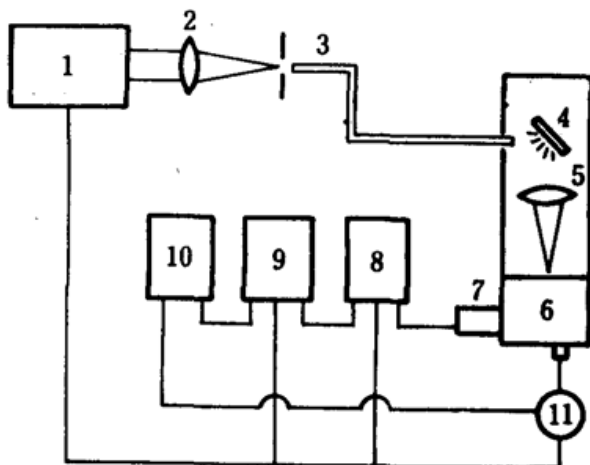


Fig. 1 Experimental setup

1—XeCl excimer laser; 2—Quartz lens; 3—Quartz fibre;
4—Sample supporter; 5—Glass lens; 6—0.5 m grating
monochromator; 7—EMI 9816 photomultiplier; 8—SS-6300
oscilloscope; 9—Model 162 Boxcar integrator;
10— $x - y$ recorder; 11—Scanning controller

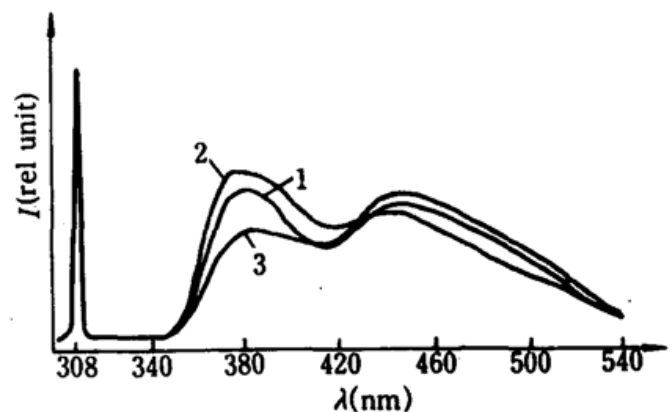


Fig. 2

1—Fluorescence spectrum from normal aorta of a rabbit,
 $I_{380}/I_{450} = 1.05 \pm 0.07$; 2—Fluorescence spectrum from
atheromas plaques of a rabbit, $I_{380}/I_{450} = 1.32 \pm 0.10$; 3—
Fluorescence spectrum from aorta of a dog. $I_{380}/I_{450} = 0.92 \pm$
 0.07

3 结果与讨论

为了便于比较,图 2 中给兔主动脉正常组织与主动脉斑块组织受 308 nm 激光诱发的荧光光谱随波长的分布,从近紫外至可见波段,荧光光谱连续分布,在 308 nm 及 450 nm 处分布有二个荧光发射极大值,其结果与人体正常主动脉及脂肪斑块在 308 nm 激发诱导的荧光光谱的极值位置基本符合^[1],对兔正常主动脉二极值强度之比 $I_{380}/I_{450} = 1.05 \pm 0.07$,对主动脉斑块(主要属脂肪性黄色斑块)的二极值强度比 $I_{380}/I_{450} = 1.32 \pm 0.10$,该值在血管不同部位的取样误差之外,远大于正常动脉血管的比值。然而,斑块比强度的真实比值也当依赖于动脉血管壁上实际斑块沉积的情况。可见,利用 I_{380} 与 I_{450} 荧光强度的相对比值,可能用于诊断血管内斑块沉积的位置及分布。为了比较,图 2 中还给出用 308 nm 激光激发狗的主动脉血管壁的荧光光谱,其谱分布与兔的也基本一致, $I_{380}/I_{450} = 0.92$ 。一般认为狗是没有动脉粥样硬化性血管疾病的动物,可见兔荧光峰值 I_{450} 的减少表明主动脉血壁内膜沉积物的增加。

当然对不同器官组织,由于表面层的组织结构不完全一致,预期其荧光光谱分布将有差别,图 3 给出狗的不同器官由 380 nm 激发所记录到的近紫外与可见区的荧光光谱,图中激发光强相对较小是因为 K_9 透镜对 308 nm 的吸收所致。尽管二主峰的强度比相差很大,由主动脉 $I_{380}/I_{450} = 0.92$ 到肾表面 $I_{380}/I_{450} = 2.66$,但荧光分布的轮廓、范围及极值波长位置基本上一致。由此可见,荧光极值位置是直接和组织器官的某种蛋白质的基元发光团有关。通常正常主动脉血管与粥样硬化主动脉组织蛋白质的主要成分为胶原与弹性硬蛋白,在不同条件下胶原与弹性硬蛋白比例在正常主动脉中为 0.5,在粥样硬化动脉血管中达 7.5,可见随着主动脉血管粥样硬化的增加,弹性蛋白构成组织比例的减少,将由此引起相应荧光成分的减少,这里观察到 450 nm 荧光峰的减弱,与上述分析一致。由于在兔的动脉血管中只找到脂肪性黄色斑块,解剖后没有直接观察到钙化斑块,不能明确判断钙化荧光的特征峰值,尚有待在老年人体粥样动脉硬化斑块沉积物中寻找。

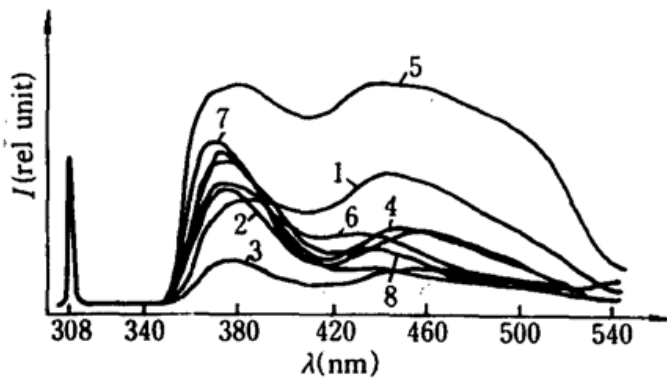


Fig. 3 Fluorescence spectra from different organs of a dog

1—Aorta; 2—Thogh artery; 3—Carotid artery; 4—Kidney artery; 5—Coronary artery; 6—Peritoneal artery; 7—Lirer surface tissue; 8—Kidney surface tissue

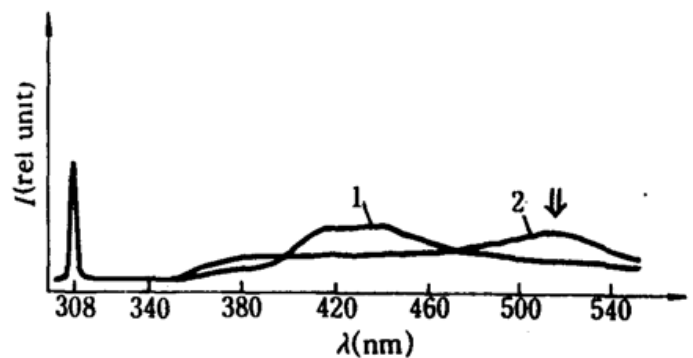


Fig. 4 Fluorescence spectra from rabbit's artery treated with tetracycline-derivative solution

1—Normal aorta; 2—Atheromas plaques, shows a new peak at ~510 nm

为了改善斑块荧光与主动脉正常血管荧光的分辨能力,即特征性,提高选择性作用与临床应用的能力,工作中探索了斑块荧光的增感剂,图 4 给出兔主动脉血管浸泡过四环素衍生物溶液的荧光光谱,图 4 中(1)为正常主动脉荧光,由于浸泡过四环素衍生物后的荧光带强度普遍

减弱,380 nm 峰消失,从 410 nm 至 440 nm 观察到显著减弱的宽带荧光峰,而在同样条件下浸泡过四环素衍生物的斑块荧光中,这些荧光峰几乎完全消失,而 510 nm 处出现具有特异性的新荧光峰,显然该峰与斑块组织的选择性吸收作用有关。而浸泡过四环素的组织,激光消融作用加快,显然与四环素提高了组织对 308 nm 激光的吸收率,及荧光发射损耗等因素减少有关。对体内注射金霉素血管斑块的荧光谱中,也观察到增加的 510 nm 峰,不过主荧光峰未见明显减弱,这与斑块直接吸收的剂量有关。实验表明,使用四环素只能加强组织对激光的吸收率与消融率,只有选用四环素衍生物或金霉素浸泡或注射于体内,才可能加强斑块的特异性荧光及选择性作用的能力。

4 小 结

利用 308 nm 激光激发兔及狗的主动脉血管及其不同器官组织,观察到组织近紫外至可见波段连续分布的荧光发射,在 380 nm 及 450 nm 处有二个主要荧光极值峰,对正常主动脉内壁二峰强度之比 $I_{380}/I_{450} = 1.05 \pm 0.07$,对斑块 $I_{380}/I_{450} = 1.32 \pm 0.10$,对不同器官有类似荧光谱,但二峰比值变化较大。利用此二极值强度之比,有可能被用作激光心血管成型术的斑块组织的实时诊断及定位的新手段。这有待心导管技术及人体体内原位检测技术的发展。并对荧光极值的起源作了尝试性的解释,对人体血管不同斑块的荧光光谱研究正在进行。利用四环素注射有可能加强激光作用于组织的消融率,利用四环素衍生物注射,有可能诱导出斑块的特异性荧光,荧光增感剂的作用将有助于提高斑块组织的定性判断与消融率。

参 考 文 献

- 1 Günther Laufer *et al.*, *Circulation*, **78**, 1031(1988)
- 2 Smith T *et al.*, *Radiology*, **174**, 1009(1990)