

# 308 nm 紫外激光对兔眼角膜的光化学 损伤反应的研究

徐 清 许松林 吴家女

(上海第二医科大学激光医学研究室, 上海 200025)

袁才来 乐耀康 蒋金财

(中国科学院上海光机所, 上海 201800)

## Study of ultraviolet-induced photochemical damage in rabbits' corneal irradiated with 308 nm XeCl excimer laser

*Xu Qing, Xu Shonglin, Wu Jianu*

(Laser Research Laboratory, Shanghai No. 2 Medical University, Shanghai 200025)

*Yuan Chailai, Le Yuekang, Jian Baochai*

(Shanghai Institute of Optics and Fine Mechanics, Academia Sinica, Shanghai 201800)

**Abstract** Investigation of Chinchilla rabbits' corneal losions induced by 308 nm excimer laser was presented. The damage mechanism was the same as photo-chemical and there were two phases of reaction of immediate damage and delayed ones. By statistical analysis, the immediately corneal injury threshold ( $ED_{50}$ ) of  $0.485 \text{ J/cm}^2$  was obtained and its 90% confidence limit was  $0.349 \sim 0.608 \text{ J/cm}^2$ . The delayed reaction appeared 6~18 hours after the irradiation.

**Key words** excimer laser, corneal, photochemical, injury threshold, delayed reaction

近来,紫外激光和近紫外激光对生物组织的损伤作用研究引起世界众多学者的关注<sup>[1~4]</sup>。本实验采用 308 nm XeCl 准分子激光器作为照射源,以兔眼角膜为动物模型,研究角膜受 308 nm 紫外激光照射瞬时反应的损伤阈,并对角膜损伤延迟反应作一探讨,为制订我国激光防护标准提供依据。

## 1 实验装置和方法

采用中国科学院上海光机所研制的 XeCl 准分子激光器,辐射波长 308 nm,输出光斑尺寸

为  $8 \times 20 \text{ mm}^2$ , 激光束发散角为  $2 \times 4 \text{ mrad}$ , 实验装置光路见图 1。激光输出端放置一块紫外石英透镜, 焦距为 25 cm。在动物角膜前放置 1 mm 狭缝的光阑。激光束经透镜和光阑将原光斑缩小为直径是 1 mm 的圆光斑于角膜入射平面。激光辐照量用经计量局定标的激光能量计监测。在重复频率 1 Hz 时, 此激光器输出稳定性在  $\pm 2\%$ 。

实验动物选用青紫蓝灰兔, 体重 2 kg 左右。照射前用裂隙灯检查, 角膜正常者选用。实验前用 2.5% 异戊巴比妥钠 2.5 mg/kg 剂量静脉麻醉。激光束垂直照射于瞳孔区角膜平面, 每个角膜照射 5 点, 均匀分布。共用 5 种不同的照射剂量, 每种均照 50 点, 共照射了 42 只兔, 84 只角膜。照后分别以立即、2h, 6h, 12h, 18h, 24h, 和 48h 用 1% 荧光素染色, 用裂隙灯显微镜检查(由两人以上核对)。并在各时间段将部分摘取眼球取角膜进行病理组织学、电镜观察组织形态和结构的变化。

实验室室温为  $20 \pm 5^\circ\text{C}$ , 相对湿度小于 80%。

## 2 实验结果与分析

2.1 肉眼观察和裂隙灯观察瞬时可见损伤以角膜上皮层为主, 表现为圆形淡灰色斑点, 少数呈椭圆形、长条形, 且斑点大小大致与照射剂量相关, 照射剂量为  $660 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ,  $850 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ,  $930 \text{ mJ}/\text{cm}^2$  时, 损伤斑为圆形, 较大。剂量为  $250 \text{ mJ}/\text{cm}^2$  时, 斑点细长, 色淡。所有损伤斑边界清晰, 用荧光素染色后, 肉眼即可见损伤斑中央有褐黄色隆起, 照后立即还可观察到: 虹膜轻度出血, 瞳孔缩小, 照后 20~30 min 可见前房小量白色絮状分泌物附着于瞳孔周围, 照后 6 h 左右出现大量白色絮状物, 12 h 后逐渐减少, 24 h 恢复正常。瞬时损伤一般在照后 30 min 内发生, 在照后 6~18 h 出现延迟损伤斑, 斑点大小颜色和形状和瞬时损伤斑相似。损伤斑在照后 24 h 后消失。

2.2 角膜瞬时损伤率随激光辐照量增加而提高(见表 1)。实验将角膜瞬时损伤斑点进行数理统计分析得到准分子激光照射剂量对数( $X$ )与角膜损伤几率单位( $Y$ )的回归方程<sup>[5]</sup>:  $Y = 6.364 + 4.298X$ , 由方程算得  $ED_{50} = 0.485 \text{ J}/\text{cm}^2$  (95% 置信限为  $0.349 \sim 0.608 \text{ J}/\text{cm}^2$ ), 用  $X^2$  检验:  $P < 0.05$ 。

Table 1 Relationship of corneal injury percentage to radiant exposure just after irradiation

Goup	Radiant exposure ( $\text{J}/\text{cm}^2$ )	Radiant counts	Injury counts	Injury percentage
1	0.25	50	5	10%
2	0.34	51	18	35%
3	0.66	50	27	54%
4	0.85	51	41	80%
5	0.93	49	47	96%

对受 308 nm 激光照射后角膜进行追踪观察得到各组照射剂量的损伤发生率随时间变化的曲线(见图 2), 可以看出 308 nm 紫外激光对角膜损伤除了瞬时反应外在照后 8~18 h 出现

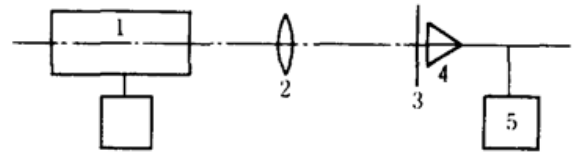


Fig. 1 Experimental setup for the xenon fluoride excimer laser  
1—Excimer laser; 2—Quartz lens ( $f = 25 \text{ cm}$ )  
3—Iris (1 mm); 4—Object; 5—Energy meter

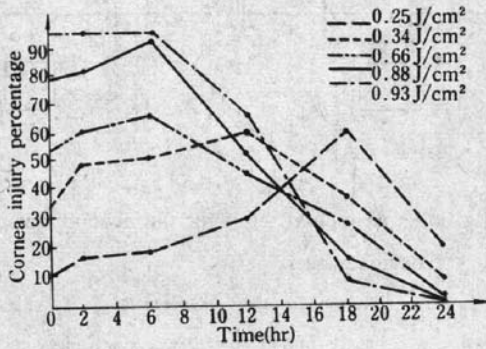


Fig. 2 Curve diagram of corneal injury percentage to irradiation time with a 308 nm laser

延迟反应高峰,此峰值出现的早晚亦与照射剂量有关。照射剂量大于瞬时损伤阈( $ED_{50}$ ),延迟反应的最高损伤率在照后 6 h 左右,当照射剂量接近  $ED_{50}$  时,最高损伤率在照后 12 h 左右;而照射剂量小于  $ED_{50}$  时,则最高损伤率在照后 18 h 左右。

2.3 根据光学显微镜组织学观察,第 1 组角膜受照后 30 min 可见角膜上皮细胞基本正常,第 2、3、4 组角膜受照后 30 min(上皮有不同程度的损伤,第 3 组角膜)可见上皮细胞坏死,变性,上皮变薄,细胞层次由正常的 4~5 层减少到 1~3 层,胞核浓染(图 3(a))。照后 48 h 上皮基本趋于正常(图 3(b))。第 5 组角膜受照后上皮损伤较严重,上皮细胞层脱开,形成溃疡状,有的累及基质细胞,基质增宽。照后 48 h 角膜上皮有所恢复。根据电子显微镜观察,第 3 组角膜受照后 30 min 上皮浅层细胞表面微绒毛消失,浅层细胞大部分坏死,脱开。翼细胞的间桥粒联结尚好,细胞核稍固

缩,细胞微绒毛减少(图 3(c))。照后 48 h 角膜上皮基本恢复正常(图 3(d))。

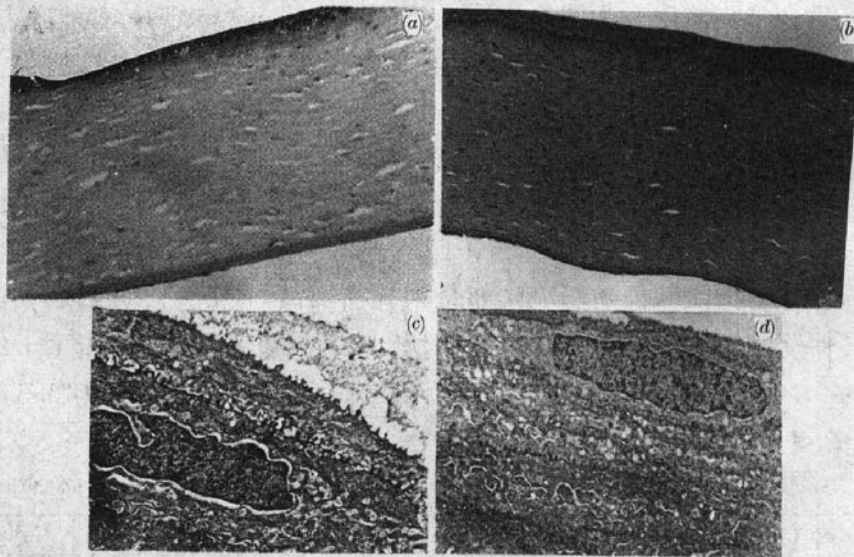


Fig. 3 (HE Staining  $\times 160$ )

### 3 讨 论

兔角膜受 308 nm 紫外激光照射后,角膜损伤反应存在两种形式,瞬时反应和延迟反应。

延迟反应一般出现在照后 6~18 h,经分析认为,角膜与紫外激光相互作用发生的是光致化学反应,反应导致生物组织(角膜)的蛋白质变性和凝结。但反应或损伤与吸收的能量直接相关,而当生物组织受紫外激光辐照,组织中蛋白质吸收紫外光直到组织细胞出现改变,此过程并不是即刻完成,而是需要一段潜伏期,潜伏期长短与吸收的能量有关,故角膜延迟损伤反应出现的早晚决定于照射剂量的大小(如图 2)。如果高剂量照射角膜,除了光化学反应外,也可造成角膜部分热损伤。

实验结果表明:辐照量为  $0.485 \text{ J/cm}^2$  可造成瞬时角膜损伤,且损伤可逆,在照后 48 h 上皮细胞基本修复。在辐照后 6~18 h 内,出现延迟损伤反应,尤其是照射剂量小于瞬时损伤阈值时,延迟损伤反应更为明显(如图 2)。0.25  $\text{J/cm}^2$  照射剂量组的瞬时损伤发生率为 10%,照后 18 h 达到 60%,这和国外报道基本相符。如 Zuchlish 曾以实验证明,角膜上皮损伤在 337 nm 照射后 12~24 达到最大值。若损伤现象在 1 h 以内出现,则该能量可能为损伤能量的 2~3 倍<sup>[6]</sup>。美国 ANSI 防护标准规定的紫外激光损伤检查是在照后  $10^3 \text{ s}$  进行。因此我国在制订紫外波段激光安全标准时,应注意延迟效应特点,选择合理的阈损伤检查时间,保证激光安全标准的可靠性。

### 参 考 文 献

- 1 J. A. Parrish, *Arch Dermatol.*, **121**, 500(1985)
- 2 C. A. Puliafiato, *Arch Ophthalmol.*, **104**(9), (1986)
- 3 D. Sliney *et al.*, *Safety with Laser and Other Optical Sources*, 1980, New York
- 4 J. Marshall *et al.*, *Ophthalmology*, **92**(6), 749(1985)
- 5 黄志宏,数理统计方法,人民卫生出版社,1987
- 6 J. A. Zuchlish, *Invertigative Ophthalmology*, **15**, 9(1983)

(收稿日期:1991年2月4日;修改稿收到日期:1991年3月12日)