

Effects of Various Laser Wavelengths and Power Densities on the Ocular Damage in Pigmented Rats

Phil-Sang Chung^{1,2}, Jang-In Shin¹, Moo-hwan Chang³, So-Young Chang¹,
Jung-Wook Kang¹, Heejun Hwang¹ and Jin-Chul Ahn^{1,2,†}

¹Medical Laser and Device Research Center, ²Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery,
³Department of Ophthalmology Surgery Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

With the widespread use of laser in medical and industrial settings, the incidence of laser injury to the ocular continues to grow among workers involved in handling lasers. The aim of this study is to compare ocular damages after irradiation with various laser wavelengths and power density. Ocular of pigmented rats was irradiated with CO₂ laser, 1064 nm Nd:YAG laser, and 532 nm diode laser. We observed damage of cornea, lens, and retina using slit lamp microscope and funduscopy. H&E staining of histopathology were applied to study the specimens. The higher exposure (200 mW/cm², 10 sec) with CO₂ laser resulted in severe damage at the cornea. For the 1064 nm Nd:YAG laser, the higher exposure than 10 mW/cm² (10 sec) resulted in damage at the cornea and lens. Further, with the 532 nm diode laser, retinal lesions were induced when 10 mW/cm² (0.25 sec) was delivered to the eye. These results suggest that the ocular damages are different from various laser wavelength and power density.

Key Words: CO₂ laser, Nd:YAG laser, Diode laser, Ocular damage, MPE (Maximal permissible exposure)

서 론

1958년 Schawlow와 Towns가 방사선을 자극하여 발생하는 초단파를 증폭시킴으로써 레이저의 개념을 처음 도입한 이후 레이저의 사용이 산업, 군사, 의학 등 많은 분야로 확산되고 있다 (Nam et al., 2004). 의료계에서 자주 사용하는 진단용 또는 외과용 레이저 사용이 안전한 사용의 역사를 남기고 있지만, 병원에서 의사가 방향을 잘못 잡아 쏜 레이저 광선에 시력을 잃고, 화재가 발생하고 또 화상을 입기도 하고, 레이저 장비 기술자나 의공 기사가 레이저 기계의 작업을 하다가 눈의 손상을 받기도 하고, 레이저 색소를 교환하다가 화상을 입기도 하였고, 레이저 광선으로 인한 화재로 환자가 생명을 잃기도 하였다. 우리나라에서의 레이저 관련 사고는 정식으로 보고된 사례를 찾을 수는 없어도 비공식적으로 알려진 사고 등 많은 사례가 있을 것으로 추정되는 바이다 (Rhee et al., 2004).

FDA의 1984~1989년의 134예와 Roc.kwell의 1964~1994년의 272예의 레이저 사고 분석에 의하면 각각 전체 레이저 사고의 75%와 73%가 눈에 대한 손상이었다 (Rhee et al., 2004). Rathkey (Rathkey, 1965)에 의해 우발적 laser 조사로 인한 황반부 손상이 처음 보고된 이후 레이저의 이용이 의학, 과학, 산업 등 여러 분야에서 증가됨에 따라 이에 따른 눈의 손상에 대한 위험성이 증가되고 있다. 한편 Gabel 등 (Gabel et al., 1989)은 레이저를 다루는 연구원이나 취급자들의 정기적인 안과 검진이나 레이저 손상 후 검진에서 증상이 없었던 레이저 반흔이 발견되기도 한다고 보고하였다. 따라서 레이저 취급자에 있어서 망막에 대한 의식하지 못하는 레이저 손상의 유병률과 위험율은 보고된 것 보다 높다고 생각할 수 있다.

레이저에 의한 눈의 손상은 대부분 레이저의 정렬, 조준 작업 시 사고로 일어나는 경우가 많은데, 1981년 Boldrey et al (Boldrey et al., 1981)이 Nd:YAG 레이저에 의한 눈의 손상을 처음 보고한 이후 국내에는 레이저에 의한 안구손상에 대해 체계적인 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 각 영역별 다양한 파장의 레이저를 이용하여 레이저 세기에 따른 각막, 망막, 수정체의 손상 정도를 비교 분석하고자 하였다.

*논문 접수: 2008년 7월 28일
수정제접수: 2008년 9월 20일

†교신저자: 안진철, (우) 330-714 충남 천안시 안성동 산 29번지, 단국대학교 의학레이저 의료기기 연구센터 (의과대학 329호)
Tel: 041-550-1786, e-mail: jcahn@dankook.ac.kr

재료 및 방법

1. 실험동물

사람의 안구와 유사한 pigmented Brown Norway (BN, SLC co., Shizuoka, Japan) rat (6주령)을 7일간의 적응 기간을 거친 후 외견상 외안부 질환이 없음을 확인하고 대퇴부에 ketamine hydrochloride (케타라, 유한양행, 대한민국)와 xylazine hydrochloride (렘폰, 한국바이엘, 대한민국)을 1:1로 섞어서 주사하여 마취한 후 실험을 진행하였다.

2. 레이저 조사

안구에 대한 각 레이저의 조사 세기와 시간은 최대 허용 노광량 (Maximum permissible exposure, MPE)을 기준으로 정했다. ANSI (American National Standards Institute)에 의하면 최대 허용 노광량은 보통 환경하에서 인체에 조사해도 유해한 영향을 주는 일이 없는 레이저 방사 수준의 최대값으로 레이저의 파장, 관련된 에너지, 노광 지속 시간에 의해 결정된다. 즉, CO₂ 레이저는 100 mW/cm²로 10초, 1064 nm Nd:YAG 레이저는 5 mW/cm²로 10초, 또한 532 nm diode 레이저는 2.55 mW/cm²로 0.25초를 노출한 값으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 최대 허용 노광량을 기준으로 저출력에서 고출력의 세기로 조사했다. 즉, CO₂ 레이저는 200 mW/cm², 100 mW/cm², 50 mW/cm²로 10초 동안 조사했고, 1064 nm Nd:YAG 레이저는 20 mW/cm², 10 mW/cm², 5 mW/cm², 2.5 mW/cm²로 10초 동안 조사하였다. 또한 532 nm diode laser는 10 mW/cm², 2.5 mW/cm², 1 mW/cm²로 0.25초 동안 조사하였다.

3. 안구의 손상 여부 관찰

각 레이저에 따른 세기별로 Brown Norway rat의 안구에 조사한 후, 세극등 턱받침에 쥐를 고정시키고 쥐 각막의 굴절력을 중화시켜 세극등을 통하여 직접 안저 관찰이 가능하게 하였다. 망막의 안저 촬영은 10% sodium fluorescein 용액을 주사하고 안저 검사기를 이용하여 촬영하였다.

4. 안구의 조직 관찰

레이저 조사에 따른 안구의 조직학적인 변화를 관찰하기 위해 안구를 적출하여 4% paraformaldehyde에 24시간 동안 고정하였다. 조직을 파라핀에 포매하고 조직 절단기 (Leica, HI-1210, Ger)를 사용하여 4 µm 두께로 조

직을 잘라 sialinized slide에 부착시켜 슬라이드를 제작하고 H&E (hematoxylin and eosin)염색을 시행하였다. 슬라이드의 절편을 탈파라핀 시키고 함수과정을 거친 후 hematoxyline 용액에 5분간 반응시키면 Hematoxylin의 산화과정에 의해 생성된 hematein이 매염제와 결합하여 양전하를 띠게 되어 음전하를 띤 핵 내 인산기와 결합해서 청색으로 염색된다. 이를 흐르는 물에 5분간 씻어내고 eosin에 2분 동안 반응시키면 음전하를 띤 eosin과 양으로 하전되어 있는 세포질이나 결합조직이 결합하여 분홍색으로 염색된다. 이를 흐르는 물에 씻어내고 탈수과정을 거친 후 봉입하여 광학현미경으로 조직학적인 변화를 관찰하였다.

결 과

1. 안구의 손상 여부 관찰

본 연구에서는 실제 임상에서 사용되는 의료용 레이저 중 CO₂ 레이저, 1064 nm Nd:YAG 레이저, 532 nm diode 레이저를 이용하여 레이저 세기에 따른 각막, 망막, 수정체의 손상 정도를 비교 분석하고자 하였다.

CO₂ 레이저는 파장이 10,600 nm로 안구에 조사 시 각막까지만 도달하며 이 레이저의 최대 허용 노광량은 100 mW/cm²로 10초 동안 노출한 경우이다. 이에 본 실험에서는 이를 기준으로 200 mW/cm², 100 mW/cm², 50 mW/cm²로 10초 동안 조사한 후 각막과 수정체의 손상 여부를 세극등 현미경으로 관찰하였고 망막의 손상 여부를 안저 검사기로 살펴보았다. 그 결과 200 mW/cm²로 조사한 경우는 육안으로도 확인이 될 정도로 각막에 손상을 입은 상태였고, 세극등 현미경으로 관찰한 결과 각막이 뚫려서 그 안의 내용물이 돌출됨을 확인하였다. 최대 허용 노광량인 100 mW/cm²와 이보다 저출력인 50

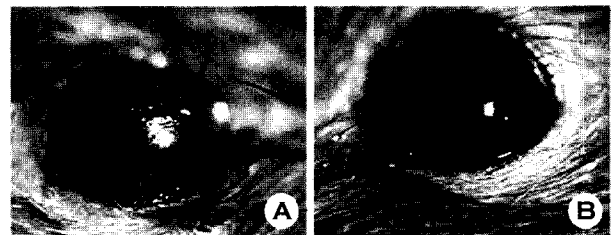


Fig. 1. The cornea observed by slit lamp microscopy after irradiation with CO₂ laser. A) The exposure with 200 mW/cm² resulted in severe damage in the cornea. B) No effect could be observed after radiation with the lower exposure than 200 mW/cm² in cornea and lens.

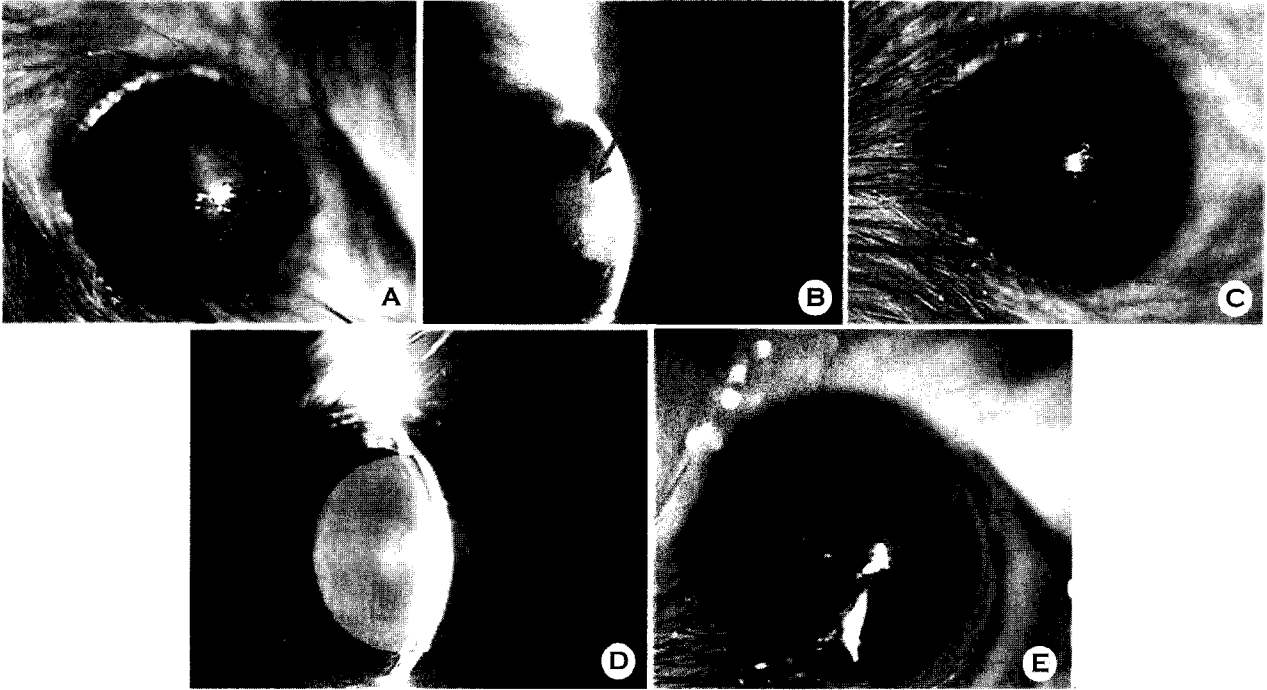


Fig. 2. The cornea and lens observed by slit lamp microscopy after irradiation with 1,064 nm Nd:YAG laser. **A, B)** The exposure with 20 mW/cm² (10 sec) resulted in a fully developed cataract. **C, D)** There was minimal, if any, opacity present. **E)** No effect could be observed after radiation with the lower exposure (5 mW/cm², 10 sec) in cornea.

mW/cm²로 조사한 경우는 각막과 수정체가 모두 거의 깨끗함이 관찰되었다 (Fig. 1). 또한 안저 검사기로 망막을 관찰한 결과, 최대 허용 노광량인 100 mW/cm²를 비롯해 200 mW/cm²로 조사한 경우에도 망막에서는 손상 여부를 확인할 수 없었다.

1064 nm Nd-YAG 레이저는 파장이 1064 nm로 안구에 조사 시 각막, 수정체, 망막까지 손상을 입히는 것으로 알려져 있으며 이 레이저의 최대 허용 노광량은 5 mW/cm²로 10초 동안 노출한 경우이다. 이에 본 실험에서는 이를 기준으로 20 mW/cm², 10 mW/cm², 5 mW/cm², 2.5 mW/cm²로 10초 동안 조사한 후 안구의 손상 여부를 관찰하였다. 그 결과 20 mW/cm²로 조사한 경우는 각막과 수정체의 심각한 손상을 야기해 백내장과 눈 속에서 전방출혈이 일어났음을 관찰했다. 10 mW/cm²로 조사한 경우에도 각막엔 손상이 없었으나 수정체에는 손상이 있는 것으로 확인되었으며, 최대 허용 노광량인 5 mW/cm²와 이보다 저출력인 2.5 mW/cm²로 조사한 경우는 각막과 수정체가 모두 거의 정상이었다 (Fig. 2). 각각의 세기로 조사한 후 안저 검사기로 망막을 관찰한 결과 모든 세기에서 정상으로 보였다.

532 nm diode 레이저는 안구에 조사 시 각막과 수정체를 거쳐 망막까지 도달하여 손상을 야기하며 이 레이저

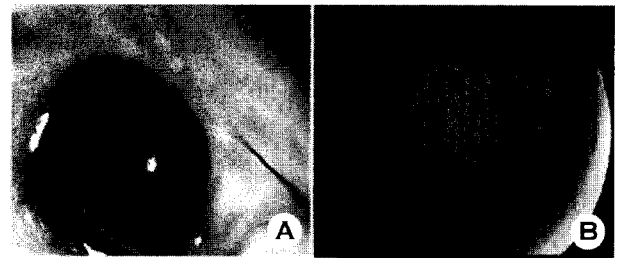


Fig. 3. The cornea and retina observed after irradiation with 532 nm diode laser. **A)** There was no effect on cornea after irradiation with 10 mW/cm² (0.25 sec). **B)** The retina irradiated with 10 mW/cm² (0.25 sec) was observed by Fundus photograph. Decreased foveal reflex and yellowish discoloration were noted at the fovea.

의 최대 허용 노광량은 2.55 mW/cm²로 0.25초 동안 노출한 경우이다. 이에 본 실험에서는 이를 기준으로 10 mW/cm², 2.5 mW/cm², 1 mW/cm²로 0.25초 동안 조사한 후 각막과 수정체 및 망막의 손상 여부를 관찰하였다. 그 결과 1 mW/cm²부터 10 mW/cm²에 이르는 세기까지 각막과 수정체의 손상은 확인되지 않았으나 안저 검사기를 이용해 망막을 관찰한 결과 10 mW/cm²로 조사한 경우, 망막의 시신경 끝부분에 손상이 확인되었고 그 외의 세기에서는 별다른 손상을 확인하지 못했다 (Fig. 3).

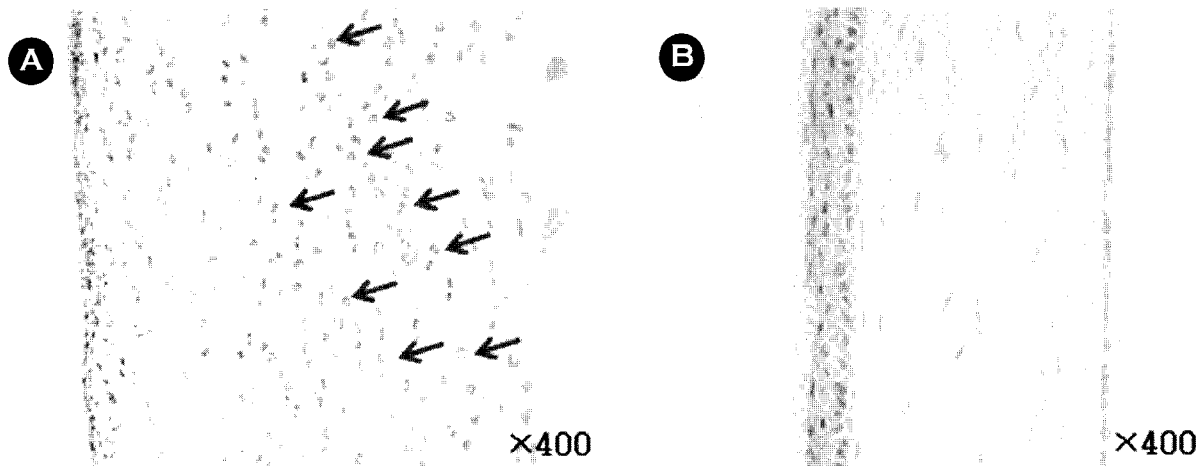


Fig. 4. The corneal epithelium received laser damage with 200 mW/cm^2 (10 sec) and 100 mW/cm^2 (10 sec) by CO_2 laser. It was revealed by hematoxylin and eosin (HE) staining. **A)** There was markedly abnormal epithelium. Neutrophil could be seen in all over subepithelium and stroma. **B)** The epithelium of rat was normal.

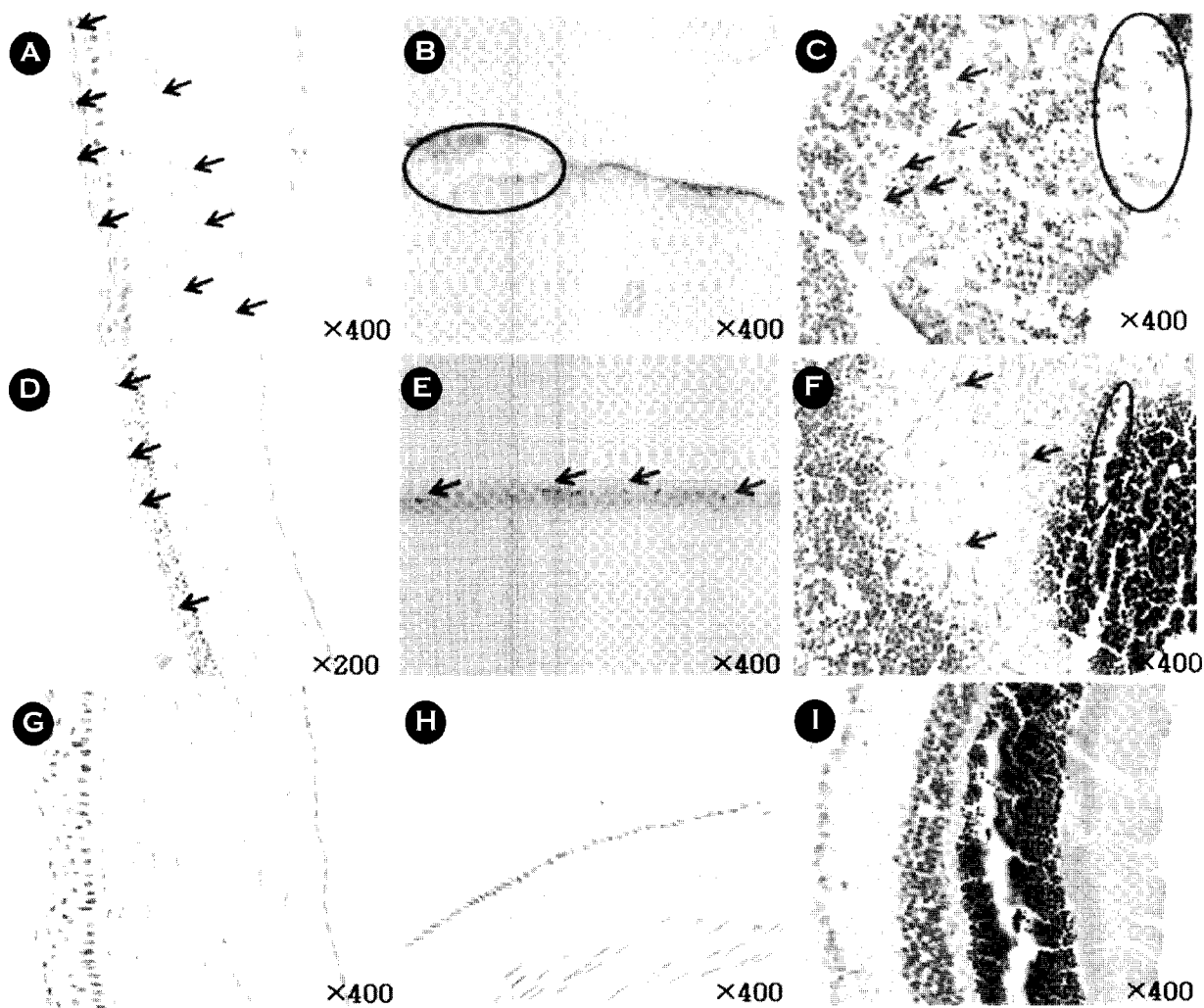


Fig. 5. The cornea, lens, and retina received laser damage with 20 mW/cm^2 (10 sec), 10 mW/cm^2 (10 sec), and 5 mW/cm^2 (10 sec) by 1064 nm Nd:YAG laser. It was revealed by hematoxylin and eosin (HE) staining. **A, B, C)** The exposure with 20 mW/cm^2 (10 sec) resulted in disruption of cornea, lens, and retina. Squamous cells and neutrophils could be seen in stroma. Further, apoptosis cells were observed in retina. **D, E, F)** The exposure with 10 mW/cm^2 (10 sec) resulted in slightly damage of cornea, lens, and retina. **G, H, I)** No effect could be observed after radiation with 5 mW/cm^2 (10 sec) in cornea, lens, and retina.

2. 안구의 조직 관찰

CO₂ 레이저를 이용해 200 mW/cm², 100 mW/cm², 50 mW/cm²의 세기로 10초 동안 조사한 후 이들을 조직염색법을 통해 각막, 수정체, 망막의 조직상의 변화를 살펴본 결과, 200 mW/cm²로 조사한 후 각막 상피층의 구분이 없어지고 stroma의 전반부에 걸쳐 neutrophil이 분포하여 손상이 심각한 것으로 보였다. 반면, 최대 허용 노광량인 100 mW/cm²와 이보다 저출력인 50 mW/cm²로 조사한 후의 각막은 각막 상피층의 구분이 분명하며 stroma 부분도 깨끗하여 정상으로 확인되었다. 또한 수정체나 망막의 조직학적인 변화도 거의 없었다 (Fig. 4).

1064 nm Nd:YAG 레이저를 이용해 20 mW/cm², 10 mW/cm², 5 mW/cm², 2.5 mW/cm²의 세기로 10초 동안 조사한 후 조직염색법을 이용해 각막, 수정체, 망막의 조직상의 변화를 살펴본 결과, 20 mW/cm²로 조사한 경우 각막에는 편평 상피세포가 관찰되며 stroma 중간 부분까지 neutrophil이 분포함을 보여 중등 정도의 손상으로 사료되고 수정체의 경우 내피의 일부분이 손실되어 이 부분의 핵까지 소실됨을 보였다. 또한 망막의 경우 바깥핵층(outer nuclear layer) 부분에 necrosis가 일어나 부분 손실되어 뿔려있는 것이 관찰되고 바깥핵층(outer nuclear layer)와 속핵층(inner nuclear layer) 사이에 보라색의 핵들이 관찰되는데 이들은 염증세포들로 간주된다. 즉, 20 mW/cm²로 조사한 후의 현미경상에서는 각막과 수정체의 손상만이 관찰되었으나 조직염색법에 의해서는 각막, 수정체, 망막 모두에서 심각한 손상이 확인되었다. 10 mW/cm²로 조사한 후 각막, 수정체, 망막의 조직상의 변화를 살펴본 결과, 각막에는 여전히 약간의 편평 상피세포가 관찰되며 stroma의 1/3선까지 neutrophil이 분포함을

보여 경 중등의 손상으로 사료되고 수정체의 경우 내피에 핵은 존재하지만 apoptosis가 일어나 죽어가고 있는 것으로 보였다. 또한 망막의 경우 바깥핵층 부분에 약간의 necrosis가 일어나 있고 바깥핵층과 속핵층 사이에 여전히 약간의 염증세포들이 관찰되었다. 즉, 20 mW/cm²보다는 약하지만 여전히 각막, 수정체, 망막 모두에서 손상이 확인되었다. 최대 허용 노광량인 5 mW/cm²와 이보다 저출력인 2.5 mW/cm²로 조사한 후 조직상의 변화를 살펴본 결과, 각막, 수정체, 망막 모두 정상으로 확인되었다. 수정체의 경우도 내피를 따라 핵들도 정상적으로 분포하여 있고 망막에서도 각층의 구분이 명확하며 염증세포들이 확인되지 않았다 (Fig. 5).

532 nm diode 레이저를 이용해 10 mW/cm², 2.5 mW/cm², 1 mW/cm²의 세기로 0.25초 동안 조사한 후 각막, 수정체, 망막의 조직상의 변화를 살펴본 결과, 10 mW/cm²의 세기로 조사한 각막에는 상피세포의 일부분이 손실됨을 보여 약간의 손상이 확인되었으나 수정체는 거의 정상이었다. 그러나 안저 검사기에서도 확인이 되었듯이 망막의 조직을 본 결과 바깥핵층과 속핵층의 상당 부분에 심한 necrosis가 일어나 있고, 그 두 핵층 사이에 apoptosis가 일어나고 있는 핵들도 관찰이 되며 염증세포들이 많았다. 그러나 MPE값인 2.55 mW/cm²와 이보다 저출력인 1 mW/cm²에서는 정상과 마찬가지로 전혀 손상이 없는 조직들이 관찰되었다 (Fig. 6).

고 찰

레이저의 파장 영역에 따라 안구의 손상 정도는 달라지는데, 예를 들면 10,600 nm인 CO₂ 레이저와 같은 원적외선 레이저는 대부분 각막에 손상을 주며, Diode laser,

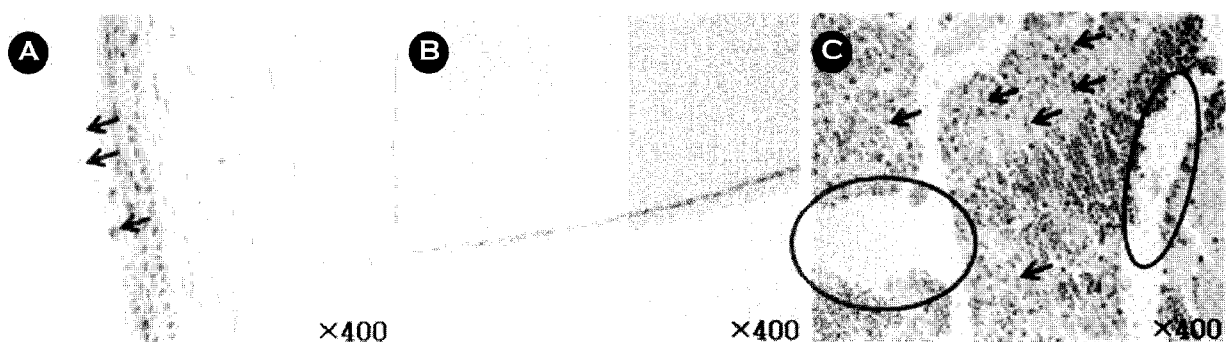


Fig. 6. The cornea, lens, and retina received laser damage with 10 mW/cm² (0.25 sec) by 532 nm diode laser. It was revealed by hematoxylin and eosin (HE) staining. **A)** The exposure with 10 mW/cm² (0.25 sec) resulted in slightly damage of cornea. **B)** Further, there was no effect on lens. **C)** However, the irradiation with same dose resulted in disruption of retina. Necrosis and apoptosis could be seen in outer nuclear layer and inner nuclear layer.

Nd:YAG, Ho:YAG laser와 같이 800~2,000 nm 파장의 근적외선 레이저는 각막, 수정체, 망막 모두에 손상을 줄 수 있다. 또한 Argon, KTP/532, Krypton 레이저와 같은 가시광선 레이저는 각막과 수정체에 의해 망막에 초점이 맞추어져 망막에 손상을 준다 (Rhee et al., 2004).

레이저 손상의 가장 큰 기전은 광열적 효과로 생각되며, 안구의 색소침착 여부 및 레이저 노출 기간이 가장 중요한 요인으로 여겨진다. 망막색소상피와 맥락막에 있는 멜라닌이 맥락 망막계에서 빛을 가장 잘 흡수하는 것으로 알려져 있고, 이 멜라닌은 빛 에너지를 열 에너지로 전환시켜 노출된 색소화된 조직들의 온도를 증가시키며, 주변의 조직에 열 전도를 일으켜 그 위에 놓여진 신경망막과 빛에 노출되지 않은 주변 망막 및 맥락막에 까지도 손상을 일으키는 것으로 생각된다. 증가된 맥락 망막의 온도는 단백질을 변성시키고 세포 내 조직들의 구조를 무너뜨리며, 효소계의 대사과정을 무너뜨려 염증과 세포손상을 일으키게 된다 (Jeong et al., 2007).

이에 본 연구에서는 실제 임상에서 사용되는 의료용 레이저 중 CO₂ 레이저, 1064 nm Nd:YAG 레이저, 그리고 visible 레이저로 532 nm diode 레이저를 이용해 레이저에 의한 의료사고 중 70%을 넘고 있는 안구를 대상으로 세기에 따른 손상 정도를 살펴보았다. 그 결과, 각막에만 손상을 일으키는 것으로 알려진 CO₂ 레이저의 경우 최대 허용 노광량에서는 각막, 수정체, 망막 모두 정상이었지만 고출력에서는 각막만 심각하게 손상을 입었다. 각막, 수정체, 망막 모두에 손상을 일으키는 것으로 알려진 1,064 nm Nd:YAG 레이저의 경우, 고출력에서는 각막에 이어 수정체까지 손상을 입었으며, 마지막으로 망막에

초점이 맞추어져 망막에 손상을 입히는 532 nm diode 레이저로 고출력으로 조사했을 경우는 망막의 손상을 확인했다.

따라서 본 연구에서는 다양한 파장의 레이저를 이용하여 세기에 따른 안구의 손상 정도를 확인하였다. 그러나 이런 눈에 대한 손상은 완전히 예방 가능한 것이므로, 레이저의 파장과 노출기간에 의해 정해진 눈의 최대 허용 노광량이 초과될 위험이 있을 때에는 보호안경을 착용하는 등의 안전관리가 필요하겠다.

감사의 글

이 연구는 단국대학교 의학레이저 의료기기 연구센터의 지원에 의해서 이루어진 것임.

REFERENCES

- Boldrey EE, Little HL, Flocks M, Vassiliadis A. Retinal injury due to industrial laser burns. *Ophthalmology* 1981. 88: 101-107.
- Gabel VP, Bringruber R, Lorenz B. Clinical observations of six cases of laser injury to the eye. *Health Phys.* 1989. 56: 705-710.
- Jeong WD, Hwang YH, Kim JS, Lee JH. Maculopathy from red laser pointer. *J Korean Ophthalmol Soc.* 2007. 48: 1007-1011.
- Nam GM, Park JS, Choi YI. A case of Nd:YAG laser injury to the macula. *J Korean Ophthalmol Soc.* 2004. 45: 1756-1760.
- Rathkey AS. Accidental laser burn of the macula. *Arch Ophthalmol.* 1965. 74: 346-348.
- Rhee CK, Chung PS, Lee SJ, Oh CH. Medical laser safety. *J Clinical Otolaryngol.* 2004. 15: 174-183.