

文章编号: 0258-7025(2008)07-1105-06

# 脉冲 Ho:YAG 激光与生物组织相互作用效果 与残留热效应的分析

邱 阳<sup>1</sup> 李胜文<sup>2</sup> 张 翼<sup>1</sup> 李汉明<sup>1,3</sup> 朱鹏飞<sup>1</sup> 董全力<sup>1</sup>  
阮英茆<sup>2</sup> 李英骏<sup>1,3</sup> 毛灵涛<sup>3</sup> 王 超<sup>3</sup> 张 杰<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 中国科学院物理研究所光物理实验室, 北京 100080  
<sup>2</sup> 清华大学第一附属医院, 北京 100083; <sup>3</sup> 中国矿业大学, 北京 100083)

**摘要** 医疗激光在生物组织切割领域应用愈加广泛,但其作用效果与不良反应仍未形成统一的参数标准,对操作经验依赖严重,不便于推广;而激光参数的选择又对产品开发具有决定性意义。为寻求医疗激光标准化的工程优选参数,通过动物体外实验,在模拟手术环境下考察了不同能量密度 Ho:YAG 激光(50~400 J/cm<sup>2</sup>)与狗肾实质等组织的相互作用,获得了作用效果的统计结果、标本切片的显微图像、残留热效应记录。分析了作用效果的影响因素以及热效应的演化。研究发现,作用效果的归一化曲线在 290 J/cm<sup>2</sup> 存在峰值,可作为标准化工程优选参数的推荐值;影响因素和残留热效应的分析为医疗设备的改进提供了参考。

**关键词** 医用光学与生物技术;标准化;体外实验;Ho:YAG 激光;相互作用;固体激光

**中图分类号** R 318.51 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/CJL20083507.1105

## Ho:YAG Laser Interaction with Bio-Tissue and Its Remained Thermal Effect

Qiu Yang<sup>1</sup> Li Shengwen<sup>2</sup> Zhang Yi<sup>1</sup> Li Hanming<sup>1,3</sup> Zhu Pengfei<sup>1</sup> Dong Quanli<sup>1</sup>  
Ruan Yingmao<sup>2</sup> Li Yingjun<sup>1,3</sup> Mao Lingtao<sup>3</sup> Wang Chao<sup>3</sup> Zhang Jie<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Optical Physics, Institute of Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China  
<sup>2</sup>First Hospital of Tsinghua University, Beijing 100083, China  
<sup>3</sup>China University of Mining & Technology, Beijing 100083, China

**Abstract** Medical laser has been applied more and more broadly in bio-tissue cutting, but the efficacy and the side effect have never been standardized at parameters level, depending highly on the experiences of the operator, which causes disadvantage for the spread of this technology; while the choice of the technical parameters of the laser form a crucial factor in the developing of the product. To seek for the optimized parameters, we studied the interaction between the tissue such as the parenchyma of the dog's kidney and Ho:YAG laser at different energy densities (50~400 J/cm<sup>2</sup>), in a circumstance of operation simulated via some extra corporeal animal experiments. We got the statistical results of the interaction, the optical micrograph of the slice and the record of the remained thermal effects. We analyzed the influencing factors of the interaction and the evolution of the remained thermal effects. A peak-value exists at about 290 J/cm<sup>2</sup> on the unified curve of the efficacy, which can be used as the recommended value in standardizing. The analysis of the influencing factors and the remained thermal effects brings reference to the improving on the medical laser devices.

**Key words** medical optics and biotechnology; standardization; extracorporeal experiment; Ho:YAG laser; interaction; solid-state laser

收稿日期:2007-08-16; 收到修改稿日期:2007-12-03

基金项目:国家 973 计划(2007CB815102),国家自然科学基金(60621063)和清华-裕元医学科学研究基金和首都医学发展科研基金(2005-3029)资助项目。

作者简介:邱 阳(1975—),男,上海人,工程师,主要从事激光与医疗器械产业化的研究。E-mail:survive\_yang@163.com

李胜文(1957—),男,吉林人,教授,主任医师,主要从事泌尿外科临床与研究。E-mail:shengwenli@hotmail.com

导师简介:张 杰(1950—),男,北京人,研究员,主要从事强场物理方面的研究。E-mail:jzhang@aphy.iphy.ac.cn

## 1 引 言

由于激光医疗发展时间较短,各类激光临床治疗作用效果与不良反应仍尚未形成统一的标准,对术者操作经验依赖较为严重<sup>[1]</sup>,影响了激光治疗的推广。医疗激光的功率增长日趋缓慢<sup>[2]</sup>,原因主要是现有的成熟光学技术已经被充分开发,进一步发展的潜力小,而突破性技术基础研究的成本高昂,且短期内的成果突破难以预测。另外,与内窥镜配套使用的功率激光的热效应影响已经不能忽略<sup>[3]</sup>。以上制约使国内外激光应用领域正在试图加深对现有激光医疗潜力的认识,从治疗效果角度入手,通过对现有激光医疗设备技术的细化,提高该类设备的技术水平<sup>[4]</sup>。

本研究意在获取激光与生物组织间的作用效果的影响因素和残留热效应,推进激光医疗技术的发展,有利于医疗激光标准化的工作;获得的结果支持在不提升功率的前提下提高治疗效果,使得在现有激光产生技术基础上进一步改进医疗设备成为可能。并期望降低术者操作难度;改善学习曲线;减小残留热效应的副作用,方便医疗激光设备的应用和推广。

## 2 实 验

### 2.1 概 述

本研究为动物体外实验。为模拟临床手术环境,选用已经获得临床应用的脉冲 Ho:YAG 激光,波长 $2\ \mu\text{m}$ ;激光通过光纤传导,光纤末端单脉冲能量 $0.6\sim 2.5\ \text{J}$ ;脉宽 $300\ \mu\text{s}$ ;重复频率 $8\ \text{Hz}$ 。光纤芯径为 $600\ \mu\text{m}$ ;光纤数值孔径 $\text{NA}=0.22$ 。

实验生物组织为医疗实验狗的肾实质、前列腺和膀胱上表面黏膜组织。取活体组织与激光实验之间的间隔时间小于 $24\ \text{h}$ ;其间,实验组织在保温箱(约 $4\ ^\circ\text{C}$ )内保存,符合体外实验要求。由于目前该类激光手术大多为微创腔镜手术,即激光通过光纤传导,光纤通过内窥镜插入患者体内病变部位,直接照射治疗。因此,该类激光工作在体液或生理盐水液体环境下(内窥镜通常有循环水)。将实验组织置于生理盐水(质量分数 $0.9\%$ 氯化钠溶液浸泡组织,热效应实验除外)中,光纤插入液面下实验,重现了腔镜手术的情形。组织浸入生理盐水后,激光操作时间小于 $3\ \text{min}$ ,实验室室温 $22\ ^\circ\text{C}$ 。激光作用后 $15\ \text{s}$ 内用甲醛液固定实验组织,成为标本。

### 2.2 数据点独立性与统计相关性

由于 Ho:YAG 激光为脉冲激光,每个脉冲与实验组织之间形成唯一的作用点。为保证不同作用点之间的病理改变相互独立,不互相干扰,将实验组织固定:将光纤出射端夹持在电控平移台上,随着平移台的移动,光纤出射端面掠过实验组织表面,脉冲激光在实验组织切片表面留下一系列作用点;平移台移动速度 $15\ \text{mm/s}$ ;激光工作重复频率 $8\ \text{Hz}$ ;平均相临两点中心距 $1.9\ \text{mm}$ ;该中心距足以将实验点间隔开。

为保证同一组实验中各点的激光作用参数不变,通过组织切片和实验平台的调节,保证光纤掠过实验组织表面的高度重复精度小于 $0.1\ \text{mm}$ ,通过对同一条件下多点(大于 $5$ 点)实验结果的统计,获得了较为准确的激光-组织相互作用效果数据。

### 2.3 对 照 组

分别改变激光单脉冲输出能量参数和光纤出射端面距离靶组织的距离参数,获得不同参数下的作用效果对照,参数范围:单脉冲输出能量 $0.6\sim 2.5\ \text{J}$ ;作用距离 $0.5\sim 2\ \text{mm}$ 。

在残留热效应的实验中,同样改变了激光单脉冲输出能量参数和作用距离参数,但由于生理盐水溅射较为严重,为保护热像仪镜头,实验取消了生理盐水,改为激光直接照射在靶组织上。由于热像仪为被动探测,靶组织在激光照射后辐射出的红外线在没有生理盐水吸收的条件下,可以更精确地被热像仪记录。 $2\ \mu\text{m}$ 的激光在与生物组织相互作用时,不论是否在液体环境下,其表面的作用效果相似<sup>[5]</sup>。因此认为激光直接照射靶组织的实验方案可以间接反映腔镜手术的情形,且结果更精确。实验参数范围:单脉冲输出能量 $0.6\sim 2.5\ \text{J}$ ;作用距离 $1\sim 3\ \text{mm}$ 。利用热像仪实时监测激光作用后的温度梯度变化,通过对监测数据的统计分析与时分截图采样,获取生物组织上某一具体位置在激光照射后的绝对温度值;多幅图像连续分析,可得到温度演化的情形。

### 2.4 实 验 数 据

实验结果的分析由三部分组成:

第一部分是实验标本的尺寸测量,为保证测量的分辨率,采用带标尺的 $200$ 万像素数码图像,放大后参照标尺相对测量,取多点平均值。数据处理和拟合采用 Origin6.1 软件。

第二部分是光学显微镜下的显微图像,所用设备为 OLYMPUS BH-2 型生物光学显微镜,透射成

像,放大倍率 40 倍至 400 倍不等;标本切片厚度  $5\ \mu\text{m}$ ,采用苏木素-伊红(H. E.)染色剂染色。

第三部分是热像仪成像,热像仪型号为 Avio PVS-8000. MK-II 型,可以实时监控或记录输出图像。图像均配有彩色温度标尺,温度范围  $85\sim 300\ ^\circ\text{C}$ 。图像回放时可以多幅图像顺序动态显示。

### 3 实验结果及分析

#### 3.1 激光作用效果

单脉冲能量与损伤半径的测量统计结果如图 1 所示。图 1 中黑色方块与黑色圆点是出射端面距离靶组织分别为  $0.5\ \text{mm}$  和  $1\ \text{mm}$  时的损伤直径。由于光纤出射具有一定发散角,根据光纤芯径  $600\ \mu\text{m}$ ,数值孔径  $\text{NA}=0.22$  计算,两种条件下能量密度相差  $60.9\%$ 。单脉冲能量与损伤半径的关系并非严格一阶线性。黑色方块有明显拐点,而黑色圆点没有。由于怀疑图 1 中的黑色圆点也存在拐点,仅因为能量密度不够而未显现出来,因此对两条曲线的能量密度进行归一化。归一化后的能量密度与损伤半径的结果如图 2,两条曲线相互吻合得相当好。采用

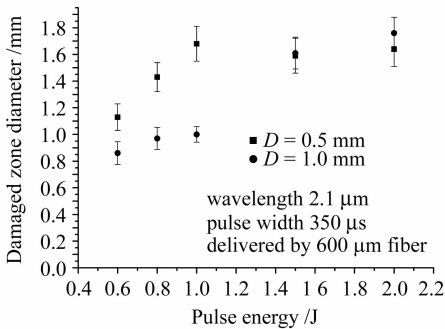


图 1 单脉冲能量-损伤半径关系曲线

Fig. 1 Relation curve of pulse energy to damaged zone diameter

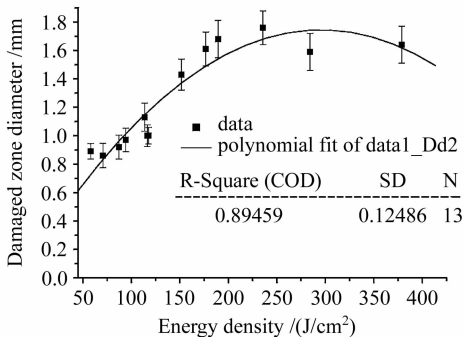


图 2 归一化后的能量密度-损伤半径拟合曲线

Fig. 2 Fitted curve of the unified energy density to damaged zone diameter

多项式拟合时,标准差  $\text{SD} = 0.12486$ ;曲线约在  $290\ \text{J}/\text{cm}^2$  位置处有峰值点。

出现上述结果的原因,认为与 Ho:YAG 激光的作用机制有关<sup>[6,7]</sup>。由于微爆破效应在作用过程中占主导,动力学的特征必须考虑,微爆破过程是在生理盐水介质对 Ho:YAG 激光吸收后,爆轰波沿径向向外扩散的过程。由于实际应用中激光脉冲宽度通常为固定值或调节有限,单脉冲能量的增大主要是瞬时功率峰值更高,在激光吸收系数一定的前提下,过高的瞬时功率峰值并不能持续维持爆轰波的爆轰条件。在单脉冲能量增大到一定值以后,微爆破效应的效果趋于饱和,形成作用效果峰值。

#### 3.2 显微结构

图 3 为狗肾实质受到激光损伤后的典型创口纵剖面(放大 40 倍),激光脉冲能量  $1\ \text{J}$ 。图中 L 为入射方向,黑圈 A 处为激光损伤底部,有少量烧蚀,但其上部更大的损伤区域烧蚀痕迹极其轻微,损伤的空腔是由动力学外力,即微爆破产生的冲击波造成的。图中可见黑圈 A 右上和左侧许多组织已经在外力作用下解离,并外翻。

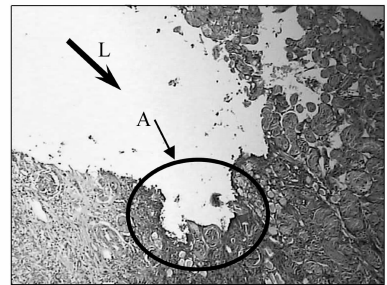


图 3 狗肾实质激光损伤纵剖面

Fig. 3 Vertical section for the parenchyma of the dog's kidney at damaged zone

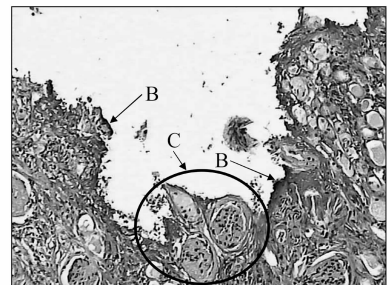


图 4 激光损伤的底部

Fig. 4 Bottom of the laser damaged zone

图 4 将图 3 黑圈 A 处激光损伤底部放大至 100 倍,创口在此处的纵剖面呈现一个“坑”的形状。坑壁表面有少量烧蚀痕迹(图中箭头 B 处呈现深黑色的部分),严重炭化的深度仅有  $10\ \mu\text{m}$  量级,进一步

证实了关于动力学的推测。因为如果按照已有的有关激光烧蚀深度的公式计算<sup>[5]</sup>

$$D = \frac{1}{\alpha} \cdot \ln \left[ \frac{F_{th} \cdot \alpha}{(T_c - T_0) \rho c} \right],$$

烧蚀深度将达到毫米量级,烧蚀炭化层的厚度应远大于图 4 中展示的情形。

另外,黑圈 C 处可见 3 个损伤程度不同的肾小球,这 3 个肾小球几乎处于激光入射方向的中心,但肾小球处并无明显烧蚀痕迹,进一步加深了对烧蚀作用在整体毁损效果中所占比重的怀疑。

当把图 4 中的 3 个肾小球部位放大到 400 倍时(见图 5),可见左上部肾小球已经破裂,左下部肾小球的细胞核也已经均质化(图中米粒状黑点是细胞核,均质化即细胞核破裂,与细胞质混合;均质化的细胞失去活性,是被毁损的组织),但右侧比较靠上的肾小球却相对保持完整。如果是烧蚀引起的毁损,右侧的肾小球毁损应比左侧的严重。因此加强了对微爆破效应的判断,并推测右侧的肾小球是由于爆轰波的冲击,从较深位置上翻而来的。

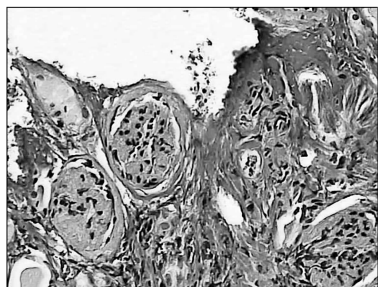


图 5 图像左侧的三个肾小球(放大 400 倍)  
Fig. 5 Three glomeruli can be seen at left  
(zoom to 400 times)

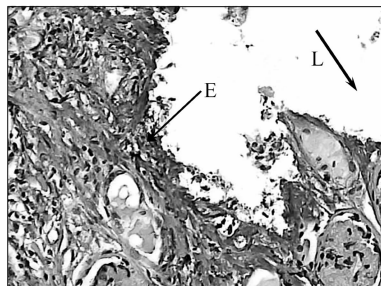


图 6 肾小球左侧的凹坑

Fig. 6 Concavity at the left of the glomerulus

图 6 显示了肾小球左侧的区域,由于激光是沿着图 6 中箭头 L 方向入射的,因此,侧面的凹坑只能是微爆破效应造成的。图中可见箭头 E 处细胞核已经均质化,可以证明微爆破效应会导致均质化。

图 7 展示了另一个创口的两幅图像,放大 40

倍,激光自箭头方向入射,脉冲能量 1 J。可见创口有横向撕裂(箭头 J, K 处),只可能是由动力学因素引起。综上所述,微爆破效应在本实验中占有主导地位,可以很好地支持 3.1 节中关于归一化曲线峰值的解释。

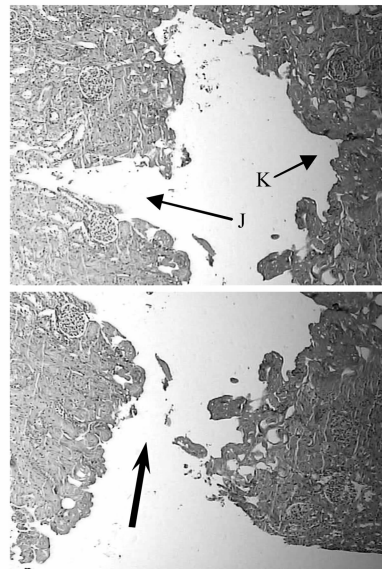


图 7 放大 40 倍的创口全貌,两幅图像可以拼接成一整幅图像

Fig. 7 Panorama of the wound; zooms to 40 times.  
Those two graphs can be connected into a whole one

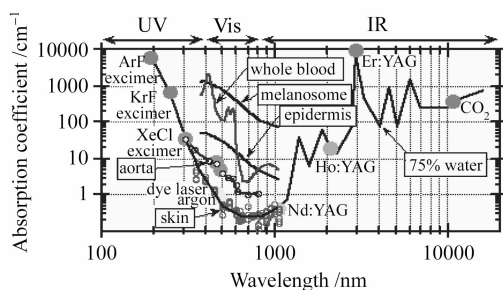


图 8 生物组织对各种典型激光的吸收谱

Fig. 8 Absorption spectrum of tissues to laser

由显微图像可以发现,由于水对激光吸收强烈,激光对于非切除部位的损伤深度很小,因此推荐发展高吸收波长的激光作为医疗激光的光源。参考欧盟标准:生物组织对激光的吸收谱(图 8),推荐铥、钬和铒 3 类激光<sup>[8,9]</sup>。

### 3.3 残留热效应

通过热像仪获得的典型动态结果如图 9 所示。温度色标代表 300~85 °C。激光脉冲能量 1 J;光纤出射端面距离靶组织 1 mm。

图 9 中温度最高的椭圆斑点是激光出射端面的散射,激光斑点非圆是因为实验中热像仪以大约

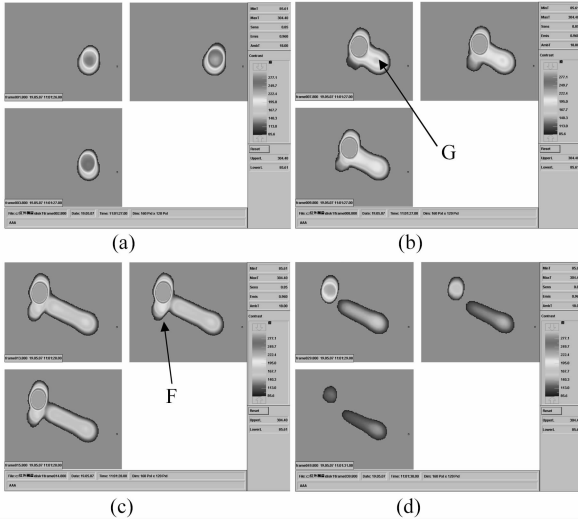


图 9 热像仪图像截图,从(a)~(d)按激光发射顺序排列

Fig. 9 Frozen graphs gotten from IR viewer, arranged according to the sequence of laser shots from (a)~(d)

60°倾角拍摄所导致;箭头 F 所指处为激光斑点下的不规则影象,是飞溅起的少量液体(原附着在靶组织表面)吸收激光能量后辐射出的红外(IR)线,激光作用后立即消失。由色温标可见激光作用后温度梯度的动态演变过程。

激光作用的起始点(图中箭头 G 所指)作用效果比较明显,是因为实验中激光启动在前,平移台开始移动在后,每次在起始点处总要重复照射 2~3 个脉冲,第 1 个脉冲飞溅起的少量液体会对后续脉冲产生强烈的吸收作用,以至于起始点位置不但温度高,而且温度保持时间最长。

图 10 显示了对照组的情况,(a)激光脉冲能量 1 J,光纤出射端面距离靶组织 1 mm;(b)中的脉冲能量比(a)大 1.5 倍,温度色标相同。光纤与组织间的空间温度略高(箭头 H 处)外,并无明显不同。箭头 H 处的温度升高,是由于飞溅的液体吸收激光导致的,但根据图 10(b)上的温标,该处温度在 0.5 s 之内由 250 °C 降至 150 °C,因此不足以使软组织产生气化;而如果烧蚀,3.2 节中的显微图像又证明标本

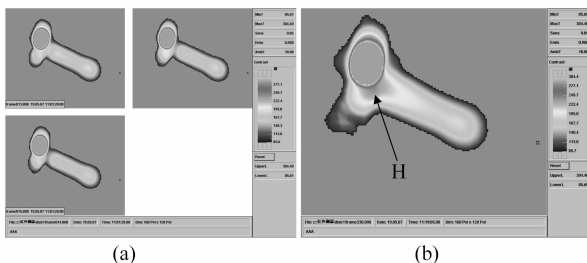


图 10 残留热效应的对比

Fig. 10 Contrast of remained thermal effect

极少有炭化层;加之实验所用激光波长处于红外波段,光生化效应比紫外(UV)波段小得多,可以忽略不计,因此图 10 的对比图像对动力学论断的支持十分有力。

而且,图 10(b)的能量密度为 294.5 J/cm<sup>2</sup>。在图 2 曲线峰值附近,比较有代表性。图 10(b)显示有相当多的能量加热了靶组织上方的物质,主要是飞溅的液体,这些能量产生的温度不足以烧蚀或气化靶组织,只是在温度逐渐降低后以红外线(图 10(b)中温度色标较低的部分)等方式耗散掉了,能量利用率降低了。因此在脉冲宽度不变的前提下,单脉冲能量的提高伴随着能量利用率的降低,这从能量的角度解释了图 2 中曲线峰值存在的原因。

## 4 结 论

本实验参数状态下得到的尺寸测量、显微结构和残留热图像结果均支持微爆破效应在作用过程中占主导的论断,并且在 290 J/cm<sup>2</sup> 能量密度下有作用效果峰值。考虑到目前激光产生技术的应用已经接近现有商用技术的极限,该峰值从提高治疗效果的角度对该类医疗设备的优化改进和标准化具有积极意义。

考虑到 Ho:YAG 激光晶体准 4 能级的量子特性,在作为功率输出类医疗设备时,在工程应用中已经达到功率上限,热透镜等效应比较明显。因此对于闪光灯抽运的固体激光,固定作用距离,调节重复频率的方案对标准化和设备优化更有利。其改进不单针对激光设备,还可以包括内窥镜类设备。

对于半导体抽运的固体激光,不能单纯考虑提高单脉冲能量,还应该考虑改变脉宽以适应相应的脉冲能量,来产生良好的作用效果。考虑到医生使用的人机工程因素,固定作用距离,优化脉宽-脉冲能量关系的方案可能对标准化和设备优化有利。

液体界面产生的强烈吸收作用会加强激光作用效果。由于在腔镜手术中容易产生液体空泡<sup>[10]</sup>,而空泡壁即为液体界面,该特性可以用于对该类设备的优化改进。

对含水质量分数 75% 的组织(成年人的肌肉)而言,高吸收系数的激光附带损伤较小,即不良反应小,因此优先推荐铈<sup>[11]</sup>、钬和钇 3 类激光作为治疗激光光源。

致谢 感谢中国科学院物理研究所光物理开放实验室魏志义研究员对本项目研究的指导与支持;感谢

中国科学院物理研究所 L05 组, L07 组对实验准备工作的贡献。

### 参 考 文 献

- 1 Zhang Xiao, Du Chuanjun. Application of holmium laser in the therapy of bladder tumor [J]. *Applied Laser*, 2006, **26**(5): 358~360  
张 骁, 杜传军. 钬激光在膀胱肿瘤治疗中的应用[J]. *应用激光*, 2006, **26**(5): 358~360
- 2 H.-Peter Berlien, Gerhard J. Müller, H. Breuer *et al.*. *Applied Laser Medicine* [M]. Berlin: Springer Verlag 2003
- 3 Wei Huajiang, Xing Da, He Bohua *et al.*. Thermal changes on optical properties in human benign prostatic hyperplasia tissue [J]. *Acta Optica Sinica*, 2007, **27**(7): 1249~1253  
魏华江, 邢 达, 何博华 等. 热作用致良性前列腺增生组织的光学特性变化[J]. *光学学报*, 2007, **27**(7): 1249~1253
- 4 M. B. Cortie, A. Dowd, N. Harris *et al.*. Core-shell nanoparticles with self-regulating plasmonic functionality [J]. *Phys. Rev. B*, 2007, **75**(11): 113405
- 5 M. Ith, H. Pratisto, H. J. Altermatt *et al.*. Dynamics of laser-induced channel formation in water and influence of pulse duration on the ablation of biotissue under water with pulsed erbium-laser radiation [J]. *Appl. Phys. B*, 1994, **59**: 621~629
- 6 A. J. Nevorotin, A. Kallikorm, G. L. Zeltzer *et al.*. On the mechanism of injurious effect of excimer (308 nm) laser on the cell [C]. *SPIE*, 1991, **1427**: 381~397
- 7 Ralf Brinkmann, Christoph Hansen, Dirk Mohrenstecher *et al.*. Analysis of cavitation dynamics during pulsed laser tissue ablation by optical on-line monitoring [J]. *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, 1996, **2**(4): 826~835
- 8 Xianzeng Zhang, Shusen Xie, Qing Ye *et al.*. Wavelength dependence of soft tissue ablation by using pulsed lasers [J]. *Chin. Opt. Lett.*, 2007, **5**(4): 235~237
- 9 <http://omlc.ogi.edu/classroom/ece532/class3/muaspectra.html>
- 10 Ed Zwaan, Séverine Le Gac, Kinko Tsuji *et al.*. Controlled cavitation in microfluidic systems [J]. *Phys. Rev. Lett.*, 2007, **98**: 254501
- 11 Lin Zhifeng, Gao Mingwei, Gao Chunqing. Experimental investigation of laser diode end pump Tm:YAG laser [J]. *Chinese J. Lasers*, 2007, **34**(2): 181~185  
林志锋, 高明伟, 高春清. 激光二极管端面抽运 Tm:YAG 激光器[J]. *中国激光*, 2007, **34**(2): 181~185