

文章编号: 0258-7025(2008)07-1116-05

# 不同离焦条件对骨硬组织激光消融的影响

张先增<sup>1</sup> 谢树森<sup>1</sup> 詹振林<sup>1</sup> 叶青<sup>2,3</sup>

(<sup>1</sup> 福建师范大学医学光电科学与技术教育部重点实验室, 福建 福州 350007  
<sup>2</sup> 福建省立医院耳鼻咽喉科, 福建 福州 350001; <sup>3</sup> 福建医科大学省立临床学院, 福建 福州 350001)

**摘要** 评估了不同离焦辐照条件对脉冲 CO<sub>2</sub> 激光骨硬组织消融的影响。实验样品为新鲜离体牛胫骨组织, 置于由计算机自动控制的一维电动平移台上。调节工作距离, 分别在光束聚焦平面前后光斑尺寸约为 510 μm 处进行非接触式垂直照射。脉冲 CO<sub>2</sub> 激光波长为 10.64 μm, 脉冲频率为 60 Hz, 能量密度范围 5~45 J/cm<sup>2</sup>。平移台移动速度为 20 mm/s, 重复扫描 6 次。肉眼和显微镜观察组织样品形态学变化, 常规组织病理切片处理, 苏木精-伊红(HE)染色, 共焦扫描显微镜观察并摄取图像。运用测量软件测量骨样品消融凹陷的几何尺寸, 获得切口宽度、深度和切口截面积随辐射曝光量的变化关系。结果表明, 脉冲 CO<sub>2</sub> 激光可以应用于骨头等硬组织的切割, 不同的离焦辐照条件对组织消融效果具有重要影响; 在临床上, 为获得窄且深的消融切口和高的消融率, 可以稍微将光束聚焦在组织表面下方。

**关键词** 医用光学与生物技术; 激光消融; 骨消融; 脉冲 CO<sub>2</sub> 激光; 离焦条件

中图分类号 R 318.51 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL20083507.1116

## Influence of Different Defocus Conditions on Bone Hard Tissue Ablation with Pulsed CO<sub>2</sub> Laser

Zhang Xianzeng<sup>1</sup> Xie Shusen<sup>1</sup> Zhan Zhenlin<sup>1</sup> Ye Qing<sup>2,3</sup>

(<sup>1</sup> Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology for Medicine of Ministry of Education, Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350007, China  
<sup>2</sup> Department of Otolaryngology, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou, Fujian 350001, China  
<sup>3</sup> Provincial Clinical College of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 35001, China)

**Abstract** This paper evaluates the influence of different defocus irradiation conditions on bone hard tissue ablation by pulsed CO<sub>2</sub> laser. Bovine shank bones in vitro were used in this experiment which were put on a PC-controlled motorized linear drive stage and moved repeatedly through the focused beam. Work distance was adjusted to obtain a beam spot size of about 510 μm on tissue sample before and after focus plane respectively. The wavelength of pulse CO<sub>2</sub> laser was 10.64 μm, pulse repetition rate was 60 Hz, and the energy density is 5~45 J/cm<sup>2</sup>. The moving speed of the stage was 20 mm/s, scanning times was 6. After irradiation, the incision morphology was observed by naked eye and confocal microscopy. The geometry measurement of the incision was also taken. It was showed that pulsed CO<sub>2</sub> laser can be used to cut hard bone tissue, and the defocus irradiation condition has an important influence on ablation effect. In order to obtain a narrow-and-deep incision and high ablation rate, one can locate the beam focus slightly under the bone surface.

**Key words** medical optics and biotechnology; laser ablation; bone ablation; pulse CO<sub>2</sub> laser; defocus irradiation condition

收稿日期: 2007-08-16; 收到修改稿日期: 2008-01-07

基金项目: 国家自然科学基金(60578057)和福建省教育厅科研项目(JA050217/JB06108)资助课题。

作者简介: 张先增(1975—), 男, 福建人, 讲师, 博士研究生, 主要从事医学光子技术与仪器方面的研究。

E-mail: xzzhang@fjnu.edu.cn

导师简介: 谢树森(1940—), 男, 福建人, 教授, 博士生导师, 主要从事生物医学光子技术及其应用的研究。

E-mail: ssxie@fjnu.edu.cn (通信作者)

## 1 引言

激光以其独特的性能,成为医学外科领域中传统手术器械(电锯、电钻等)的最具前景的替代工具。相比传统手术器械,激光具有如下优点:1)非接触手术方式可以避免机械损伤,增大手术视野;2)激光光束可以方便地通过电子设备进行精确定位和控制,可进行任意几何形状的切割;3)可方便地与计算机和机器人相结合,实现显微和远程手术;此外,某些激光设备还具有止血、无菌等特点。因此,进行骨头等硬组织激光消融的理论和实验研究,具有重要的临床意义。

国外已有大量文献对激光骨硬组织消融进行了研究报道<sup>[1~7]</sup>,国内只有几个研究组开展了这项工作<sup>[8~11]</sup>。研究内容涉及激光波长、脉宽、功率、能量密度、光斑尺寸等激光辐照参数以及扫描、冷却等各种辐照条件对生物硬组织消融效果及热损伤程度的影响。本文选用典型的医用外科脉冲 CO<sub>2</sub> 激光对离体牛胫骨组织进行了消融实验,考察了组织样品分别置于光束聚焦前后相同光斑尺寸处的两种离焦条件对消融效果包括切口形状、消融宽度、深度及消融截面积等的影响。

## 2 材料与方法

实验样品为新鲜的离体牛胫骨组织,由黄牛死后 6 h 内获得。随后切除周围软连接组织,剥掉骨膜。通过刮擦使样品表面相对平滑,并立即用浸过生理盐水的纱布包裹,存于冰箱冷藏室中。实验时先将组织样品切割成块状,尺寸大小约为 40 mm (L) × 20 mm (W) (厚度为牛胫骨原始尺寸,约 5 mm),并恢复至室温。

实验光源为脉冲 CO<sub>2</sub> 激光器(以色列夏普兰公司,Sharplan 30C),波长 10.64 μm,脉冲频率为 60 Hz,功率 0~30 W 可调。激光光束通过关节臂传输后经透镜直接聚焦于组织样品上。激光能量通过能量计(Orphir 公司,NOVA II,探头型号为 PE50-BB-SH-V2)进行实时检测。图 1 所示为实验装置图。为了评估不同离焦条件对牛胫骨的切割效果,实验样品共分为 A、B 两组,分别置于由计算机自动控制的一维电动平移台(北京卓立汉光仪器有限公司,TSA200-(A)B)上,调节工作距离,分别在光束聚焦平面前后光斑尺寸约为 510 μm 处(如图 2 (a)所示)进行非接触式垂直照射。平移台移动速度设为 20 mm/s,扫描次数为 6,即实际作用于同一位置的等效脉冲数约为 5(如图 2(b)所示,等效脉冲数

可通过脉冲重叠因子  $n = f\omega/v$  和扫描次数的乘积获得,其中  $f$  为脉冲频率, $\omega$  为光斑半径, $v$  为移动速度)。为避免喷水量和切口积水等因素对消融效果产生影响,实验时没有采用水喷雾装置。

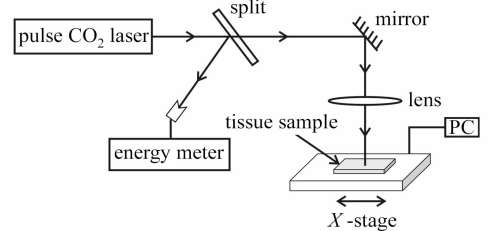


图 1 实验装置图

Fig. 1 Experimental setup

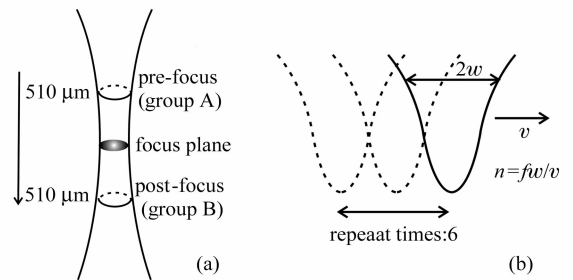


图 2 两种不同离焦辐照条件下的实验示意图。(a) 骨组织样品分为 A、B 两组,分别置于光束焦平面前后 510 μm 处进行照射;(b) 实际作用在骨组织切口每一点上的脉冲数可通过脉冲重叠因子  $n$  和扫描次数的乘积确定

Fig. 2 Schematic of the experiment under two different defocus conditions. (a) bone samples (group A and B) were put on the plane with a spot size of 510 μm before and after focus plane respectively; (b) the number of pulses acted effectively at every point along the incision can be defined as the product of the pulse overlap factor  $n$  and repeat times

激光辐照后,通过肉眼和显微镜观察组织样品形态学变化,随后样品立即用体积分数 10% 的甲醛溶液固定,24 h 后用体积分数 7% 的硝酸溶液进行脱钙。然后依次进行脱水,石蜡包埋,切片(厚度约 4~5 μm,沿垂直于扫描方向)等常规组织病理切片处理,苏木精-伊红(HE)染色。利用激光扫描共焦显微镜(德国 ZEISS 公司,LSM 510 META)进行观察并摄取图像,运用测量软件测量骨样品消融凹陷的几何尺寸,包括切口宽度、深度和切口截面积。

## 3 实验结果与讨论

### 3.1 消融现象的肉眼和显微镜观察

脉冲 CO<sub>2</sub> 激光辐照牛胫骨组织时,两种离焦条

件下都可以听到清脆的啪啪声,辐照处可见一团明亮的火焰,并伴有组织细屑喷射,空气中弥漫着焦味。随着脉冲能量的增大,辐照处火焰越加明亮,啪啪声越响,消融组织屑喷出越剧烈。照射后,显微镜下观察牛胫骨组织样品消融切口。结果显示,两种辐照条件下,消融切口宽度和深度均随激光能量密度的增大而增大,切口边缘和底部缀有颗粒状的白色凝结物,并有炭化现象产生。较小剂量下,颗粒状的白色凝结物尺寸较小且呈不规则分布,炭化现象主要发生在切口两侧表面,底部无明显炭化现象;随着剂量的增大,颗粒状白色凝结表面积增大,并逐渐连成一片,切口底部和两侧可观察到严重的炭化现象。图3所示为骨样品组织位于光束聚焦平面前光斑尺寸 $510\ \mu\text{m}$ 处(图2(a),A组)获得的消融切口图。

由于密致骨组织主要由矿物质<sup>[12]</sup>(主要是羟磷灰石,质量分数约占 $55\% \sim 58\%$ )、胶原质(约占 $25\% \sim 26\%$ )、水( $12\% \sim 15\%$ )以及少量的脂肪(约占 $1\%$ )构成。水在 $100\ ^\circ\text{C}$ 时发生气化,而矿物质成分的熔化温度则要高达 $1000\ ^\circ\text{C}$ 。实验中观察到的白色凝结物可能是尚未熔化的矿物质成分,其构成还有待进一步进行化学分析加以确认。激光辐射在骨组织样品切口周边造成的热损伤可以通过快速扫描装置和水喷雾系统来加以控制,但为避免水喷雾系统等因素对实验结果产生干扰,本实验并没有采用水喷雾系统,有关此方面的研究请参看文献[4]。

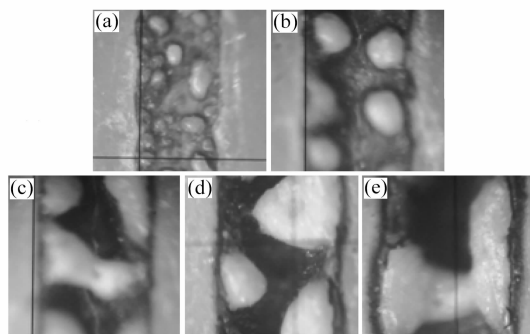


图3 辐射曝光量分别为 $5.7\ \text{J}/\text{cm}^2$  (a),  $15.4\ \text{J}/\text{cm}^2$  (b),  $33.3\ \text{J}/\text{cm}^2$  (c),  $41.2\ \text{J}/\text{cm}^2$  (d)和 $44.6\ \text{J}/\text{cm}^2$  (e)的脉冲 $\text{CO}_2$ 激光辐照置于光束聚焦平面前光斑尺寸为 $510\ \mu\text{m}$ 处(pre-focus)的牛胫骨组织获得的消融效果图( $25\times$ )

Fig. 3 Incision on bovine shank bone created by pulsed  $\text{CO}_2$  laser at  $5.7\ \text{J}/\text{cm}^2$  (a),  $15.4\ \text{J}/\text{cm}^2$  (b),  $33.3\ \text{J}/\text{cm}^2$  (c),  $41.2\ \text{J}/\text{cm}^2$  (d) and  $44.6\ \text{J}/\text{cm}^2$  (e) under pre-focus conditions ( $25\times$ )

### 3.2 消融切口的组织形态学分析

图4为脉冲 $\text{CO}_2$ 激光在不同辐射曝光量下辐

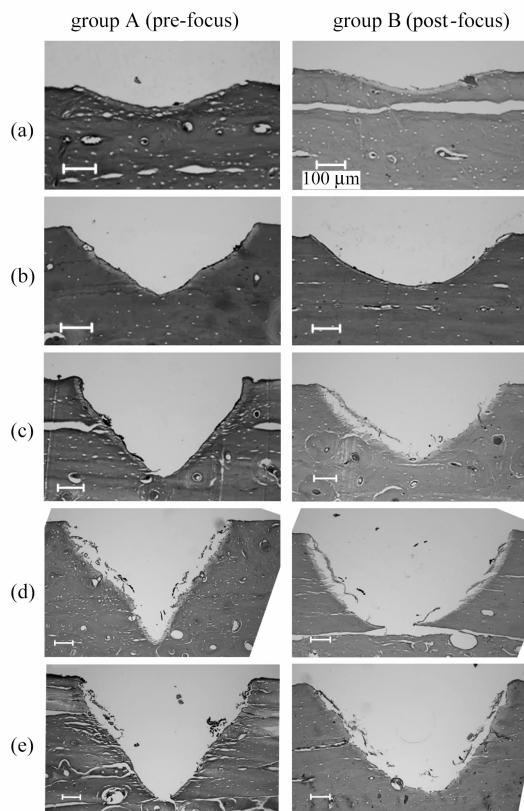


图4 两种辐照条件下,牛胫骨组织样品在辐射曝光量分别为 $5.7\ \text{J}/\text{cm}^2$  (a),  $15.4\ \text{J}/\text{cm}^2$  (b),  $33.3\ \text{J}/\text{cm}^2$  (c),  $41.2\ \text{J}/\text{cm}^2$  (d)和 $44.6\ \text{J}/\text{cm}^2$  (e)的脉冲 $\text{CO}_2$ 激光作用下获得的组织切片图。白色标示为 $100\ \mu\text{m}$ 。样品制备:脱钙和苏木精-伊红染色

Fig. 4 Histological slices transversely to the laser incision in bovine shank bone created by pulsed  $\text{CO}_2$  laser at  $5.7\ \text{J}/\text{cm}^2$  (a),  $15.4\ \text{J}/\text{cm}^2$  (b),  $33.3\ \text{J}/\text{cm}^2$  (c),  $41.2\ \text{J}/\text{cm}^2$  (d) and  $44.6\ \text{J}/\text{cm}^2$  (e) for group A (pre-focus) and group B (post-focus) respectively. White bar presents  $100\ \mu\text{m}$ .

Preparation: decalcified and HE-stained

照牛胫骨组织后经常规组织病理切片由共焦扫描显微镜获得的消融切口截面图。图中白色标示为 $100\ \mu\text{m}$ 。由图可知,两种辐照条件下,消融切口宽度和深度随着辐射曝光量的增大而增大,并且切口边缘和底部均有明显的炭化现象产生。其中,group A的消融切口呈倒三角形,切口两侧较陡峭;而group B的消融切口形状呈D状,切口两侧变化较平缓。这种切口形状的差异与两种辐照条件下光在骨组织体内的空间分布有关,当骨样品组织位于光束聚焦平面前(group A)时,随着切割深度的增加,光斑尺寸减小,能量密度增加;反之,当骨样品组织位于聚焦平面后(group B)时,随消融深度的增加,光斑尺寸增大,能量密度减少。

### 3.3 消融切口的几何尺寸测量

图5为脉冲CO<sub>2</sub>激光辐照牛胫骨组织获得的消融切口表面宽度(图5(a))和消融深度(图5(b))随辐射曝光量的变化关系曲线,误差棒为实验标准偏差。如图5(a)所示,group A和group B两种辐照条件下,消融切口表面宽度均随辐射曝光量的增大而增大。当辐射曝光量小于33.3 J/cm<sup>2</sup>时,消融切口宽度增长较为缓慢,当辐射曝光量大于33.3 J/cm<sup>2</sup>时,增长曲线变陡;相同剂量下,group A(pre-focus)的消融宽度要比group B(post-focus)小,其原因尚不是十分清楚,可能是当骨样品组织处于焦平面后(post-focus)位置时,光斑尺寸随着消融深度的增加而增大,位于骨样品表面下方的组织在快速消融的过程中。由于受到上方组织的限制,可能一并带走样品表面上方的骨组织,从而形成较大的消融切口宽度;而对处于焦平面前(pre-focus)位置的骨组织,由于其光斑尺寸随消融深度的增加而减小,则不会出现上述情形。两种辐照条件下,消融切口深度均随辐射曝光量的增大近似呈线性关系

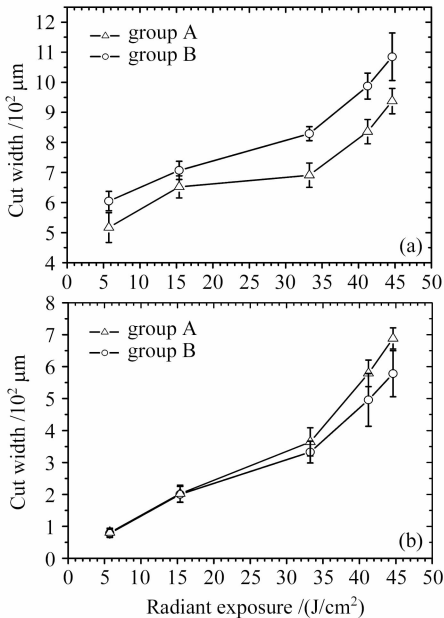


图5 脉冲CO<sub>2</sub>激光辐照牛胫骨组织获得的消融切口尺寸随辐射曝光量的变化关系。(a)骨样品组织表面切口宽度;(b)消融切口深度。误差棒为实验标准偏差

Fig. 5 Incision geometry measurements of bovine shank bone after irradiation with pulsed CO<sub>2</sub> laser versus incident radiant exposure for group A and B. (a) cutting width at the surface of bone sample, and (b) cutting depth. The error bars are standard deviation of the data

(图5(b))。当辐射曝光量低于15.4 J/cm<sup>2</sup>时,两者的消融深度基本相同,随着光剂量的增大,group A的消融深度增长速度较group B快,消融深度逐渐大于group B,并有进一步增大的趋势。

图6为实验测得的消融切口截面积随辐射曝光量的变化关系柱状图。由图可知,group A和group B两种辐照条件下的消融切口截面积随着辐射曝光量的增大而增大。在相同光剂量下,当辐射曝光量小于33.3 J/cm<sup>2</sup>时,group A(pre-focus)的消融切口截面积小于group B(post-focus),这主要是由于group A的消融切口宽度要小于group B,尽管在33.3 J/cm<sup>2</sup>处group A的消融深度大于group B;随着光剂量的增大,group A的消融深度迅速增加使得group A的消融切口截面积大于group B。

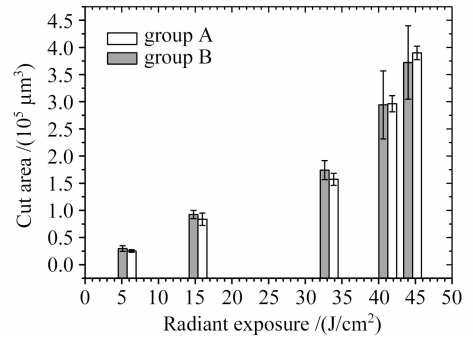


图6 脉冲CO<sub>2</sub>激光辐照牛胫骨组织获得的消融切口截面积随辐射曝光量的变化关系柱状图。误差棒为实验标准偏差

Fig. 6 Cutting cross-area of bovine shank bone after irradiation with pulsed CO<sub>2</sub> laser versus incident radiant exposure for group A and B. The error bars are standard deviation of the data

以上结果表明,在相同光剂量下,骨样品组织处于光束聚焦平面前(per-focus)位置时,可以获得更窄的消融切口和更大的消融深度。在临床上,窄的消融切口有利于伤口的愈合,而深的消融深度意味着大的消融率,可以实现高效快速的切割,缩短手术时间,减少病人痛苦。

## 4 结论

尽管激光已经成为金属和塑料加工领域的标准工具,但激光在这些领域的成功经验并不能被直接运用于骨头等具有生命意义的特殊材料。现有的研究表明,不同激光类型、辐照参数和辐照条件以及不同的靶组织类型都会影响激光消融的效果。本文选用脉冲CO<sub>2</sub>激光对离体牛胫骨组织进行消融实验,

考察了组织样品分别置于光束聚焦平面前后相同光斑尺寸处两种辐照条件对消融效果的影响。实验结果表明,脉冲 CO<sub>2</sub> 激光可以用于骨头等生物硬组织的切割;两种离焦辐照条件对骨硬组织激光消融效果包括切口几何形状、宽度和深度等都有重要的影响。在临床应用上,为了获得高的消融率,窄且深的切口,可以稍微将激光光束聚焦在组织表面下方而不是在组织体表面或上方。

### 参 考 文 献

- 1 C. Apel, R. Franzen, J. Meister *et al.*. Influence of the pulse duration of an Er:YAG laser system on the ablation threshold of dental enamel [J]. *Lasers Med. Sci.*, 2002, **17**:253~257
- 2 C. Apel, J. Meister, R. S. Ioana *et al.*. The ablation threshold of Er:YAG and Er:YSGG laser radiation in dental enamel [J]. *Lasers Med. Sci.*, 2002, **17**:246~252
- 3 Mikhail Ivanenko, Martin Werner, Said Afilala *et al.*. Ablation of hard bone tissue with pulsed CO<sub>2</sub> lasers [J]. *Medical Laser Application*, 2005, **20**:13~23
- 4 E. Victor Ross, Yacov Domankevitz, Miroslav Skrobal *et al.*. Effects of CO<sub>2</sub> laser pulse duration in ablation and residual thermal damage; implications for skin resurfacing [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 1996, **19**:123~129
- 5 Alfred Vogel, Vasan Venugopalan. Mechanisms of pulsed laser ablation of biological tissues [J]. *Chem. Rev.*, 2003, **103**:577~644
- 6 Shunichi Sato, Makoto Ogura, Miya Ishihara *et al.*. Nanosecond, high-intensity pulsed laser ablation of myocardium tissue at the ultraviolet, visible, and near-infrared wavelengths: in-vitro study [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2001, **29**:464~473
- 7 Jong-In Youn, Paula Sweet, George M. Peavy *et al.*. Mid-IR laser ablation of articular and fibro-cartilage: a wavelength dependence study of thermal injury and crater morphology [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2006, **38**:218~228
- 8 Xianzeng Zhang, Shusen Xie, Qing Ye *et al.*. An observation of ablation effect of soft tissue by pulsed Er:YAG laser [C]. *SPIE*, 2007, **6435**:64350D
- 9 Xianzeng Zhang, Shusen Xie, Qing Ye *et al.*. Wavelength dependence of soft tissue ablation by using pulsed laser [J]. *Chin. Opt. Lett.*, 2007, **5**(4):235~237
- 10 Zhang Jizhuang, Zhang Xuexue. Effect factors of laser tissue ablation [J]. *Chinese J. Lasers*, 2007, **34**(2):300~304  
张纪庄,张学学. 激光蚀除生物组织的影响因素[J]. *中国激光*, 2007, **34**(2):300~304
- 11 Jiang Fagang, Yang Xiaobo, Dai Nengli *et al.*. Femtosecond laser photodisruption in the rabbit sclera [J]. *Chinese J. Lasers*, 2006, **33**(12):1699~1703  
姜发纲,杨晓波,戴能利等. 飞秒激光对离体兔巩膜的光离解作用[J]. *中国激光*, 2006, **33**(12):1699~1703
- 12 S. Weiner, H. D. Wagner. The material bone: structure—mechanical function relations [J]. *Ann. Rev. Mater Sci.*, 1998, **28**:271~298