

1064 nm 激光照射下血管形态的动态变化

吴文娟¹ 李 东¹ 邢林庄¹ 陈 斌^{1*} 王国祥^{1,2}

(¹ 西安交通大学动力工程多相流国家重点实验室, 陕西 西安 710049)
² 美国 Akron 大学机械工程系, 美国 Akron OH44325)

摘要 目前, 治疗葡萄酒色斑(PWS)等血管性皮肤病主要使用激光疗法, 但治疗过程中血管的损伤机理仍不清楚, 深入研究激光照射过程中血管形态的动态变化规律具有重要意义。自制了鼠脊视窗, 利用 CCD 相机以及显微镜可视化观测 Nd:YAG(1064 nm)激光照射后血管形态的动态变化, 并连续观测血管直径随时间的动态变化规律。实验结果表明, 在单脉冲较低能量激光照射下, 血管随激光能量的增加持续膨胀, 能量累积到一定值时, 血管出现收缩。多脉冲激光照射血管时, 血管出现膨胀、血液凝固以及血管收缩等现象。有关激光照射后血管形态动态变化的规律, 为今后更好地使用近红外长波激光治疗 PWS 提供了参考。

关键词 医用光学; 葡萄酒色斑; 激光疗法; Nd:YAG 激光; 光凝固

中图分类号 R318.51; R758.5 **文献标识码** A **doi:** 10.3788/CJL201441.0304001

Dynamic Characteristics of Vascular Morphology after 1064 nm Laser Exposure

Wu Wenjuan¹ Li Dong¹ Xing Linzhuang¹ Chen Bin¹ Wang Guoxiang^{1,2}

(¹ State Key Laboratory of Multiphase Flow in Power Engineering, Xi'an Jiaotong University,
Xi'an, Shaanxi 710049, China
² Department of Mechanical Engineering, University of Akron, Akron OH 44325, USA)

Abstract Recently, laser therapy has been widely used for treating portwine stain (PWS) and other vascular lesions. However, the mechanism of the vascular injury during the treatment process is still not clear. In this paper, a hamster dorsal window chamber model is constructed to investigate the dynamic change of the vessel during pulsed laser treatment. A CCD camera and microscope are used to capture the dynamic variation of microvessels after 1064 nm laser pulse exposures. Experimental results show that the vessel continues expansion with the increasing of the radiant exposure, and vasoconstriction appears when the energy accumulates to a certain value with a single laser pulse. After multiple laser pulse irradiation, vessel expansion, blood coagulation and vasoconstriction are observed. These results may provide useful feedback for the treatment of PWS by near-infrared long wave laser.

Key words medical optics; port wine stain; laser therapy; Nd:YAG laser; photo coagulation

OCIS codes 000.1430; 140.6810; 140.3538; 140.3540; 170.0180

1 引 言

葡萄酒色斑(PWS)又称鲜红斑痣, 是一种由真皮内毛细血管膨胀引起的先天性血管畸形^[1]。目前

临床治疗葡萄酒色斑主要采用激光疗法, 其原理是利用激光对生物组织的选择性光热效应, 即组织不同成分对不同波段激光的吸收能力并不相同。根据

收稿日期: 2013-08-02; **收到修改稿日期:** 2013-10-09

基金项目: 国家自然科学基金(51336006, 51228602)、陕西省国际科技合作与交流计划(2013KW30-05)、中央高校基本科研业务费专项

作者简介: 吴文娟(1987—), 女, 博士研究生, 主要从事激光生物传热方面的研究。E-mail: wuwenjuan@stu.xjtu.edu.cn

导师简介: 王国祥(1963—), 男, 博士, 教授, 主要从事生物多相流方面的研究。E-mail: gwang@uakron.edu

* **通信联系人。** E-mail: chenbin@mail.xjtu.edu.cn

目标病变组织中所含色基(如血液、色素等)的光谱吸收特性选择对应的吸收峰值波长作为治疗波长,可以对目标组织进行选择性热疗以避免周围正常组织的热损伤,从而达到选择性的治疗效果^[1-3]。

目前,利用激光治疗 PWS 等血管性疾病完全治愈率很低(小于 20%^[4])。为了提高疗效及明晰治疗过程中血管的损伤机理,深入研究激光治疗过程中血管的具体形态变化对临床治疗参数的选择具有重要意义。已有国内外研究者对血管在激光照射下的热效应进行过实验研究,但所用激光参数及实验侧重点均有差异。在国外,1999 年, Barton 等^[5]研究了脉宽 2 s 的 577 nm 染料脉冲激光(PDL)照射 10~120 μm 血管的能量阈值,发现血管不同损伤类型所需能量阈值显著不同; Jia 等^[6]则对 532 nm 的单脉冲与多脉冲激光照射血管的效果进行对比,发现多脉冲方法诱导血管光凝固所需能量比单脉冲光低得多。为了进一步揭示激光治疗过程中血管的死亡机理, Suthamjariya 等^[7]观察了 Nd:YAG/KTP 激光(脉宽 1~50 ms)照射血管时的形态变化,发现激光照射后血管的可能变化有血液凝固、血管收缩、血管段缩成线状、血管消失、血管内发生气蚀(空穴)、生成气泡、血管破裂出血、血管周围组织收缩等;还发现短脉宽(1、3、5 ms)时,血管易发生破裂而不是消失,而随着激光脉宽的增加,血管凝固、消失所需能量阈值提高,因此在较大脉宽(10、25、50 ms)时,可能出现血管消失的现象。为了观察激光照射的时间效应, Heger 等^[8]利用鼠脊视窗及成像系统观测了 532、585 nm 激光照射血管 10 min 后发生的变化,发现 6.25 min 时血栓形成达到峰值。在国内,只有少数学者研究血液在激光照射下的光热作用。宓现强等^[9]研究了激光对离体动物血液流变性能的影响,屈晓超等^[10]则探索了纳米金粒子在光热疗法及生物成像中应用。

近年来的临床研究表明,近红外激光(如 1064 nm Nd:YAG 激光)治疗较深葡萄酒色斑具有较好的疗效^[11],而目前有关激光照射血管的研究主要集中在可见光波段。已有研究均以观察为主,对于激光加热过程中血管损伤的规律性定量研究尚未见报道。因此,研究 1064 nm 激光照射血管的热变化过程及其规律具有重要的意义。为此,本文自行设计了一套小鼠视窗实验系统,观察测量 1064 nm 激光以 0.3 ms 脉宽照射血管的变化规律,以期葡萄酒色斑的临床治疗提供指导。

2 实验系统及方法

图 1 示出了激光照射血管动态变化规律的实验测量系统,由长脉宽 Nd:YAG 激光器(型号:WON-COSJET TR,生产商:WON Technology Co., Ltd.)、自制的钛金属鼠脊视窗以及显微成像系统(Olympus U-TVO. 63XC;放大倍数:4 \times , 20 \times , 40 \times ; CCD)组成。对西安交通大学医学院动物实验中心提供的 SD 大鼠,手术去除大鼠背脊一侧皮肤,并使用自制钛合金视窗固定,如图 1(a)所示,然后利用 Nd:YAG 激光照射视窗内的暴露血管,实验参数如表 1 所示。用显微成像系统对血管在激光治疗前后形态的变化进行不同时间尺度的观察测量,从而获取激光照射过程中血管损伤发生及发展的基本规律以及不同能量激光照射时血管的热效应。

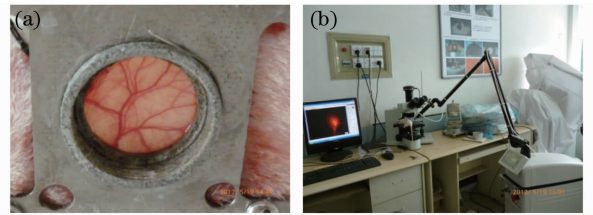


图 1 (a) 鼠脊视窗; (b) 实验系统
Fig. 1 (a) Hamster dorsal window;
(b) experimental system

表 1 激光参数

Table 1 Parameters of laser

Parameter	Value
Wavelength /nm	1064
Pulse width /ms	0.3
Speckle /mm	2
Energy density /(J/cm^2)	20~57
Pulse number n_p	1~3
Frequency f /Hz	1~10

3 实验结果与讨论

3.1 激光照射后血管的热反应

实验中使用相同能量多脉冲激光(能量密度 $F=57 \text{ J}/\text{cm}^2$ 、频率 $f=10 \text{ Hz}$ 、脉冲数 $n_p=3$)照射直径分别为 100、145、160、200 μm 的不同血管,结果示于图 2。从图中可见,相同参数激光照射不同血管,可能发生的现象有血管膨胀、血管热凝结、血管段收缩成线状甚至消失。由于不同血管深度、直径、血液红细胞含量(血容比)等均存在着差异,使得不同血管发生热凝结、消失等所需能量阈值各不相同。

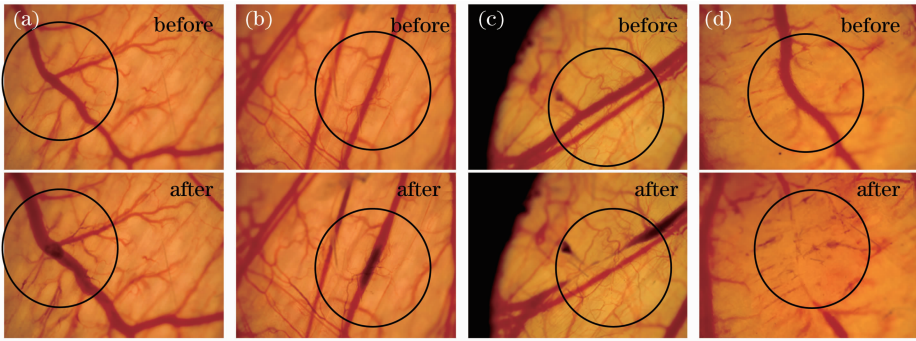


图 2 激光照射前后血管形态变化($F=57 \text{ J/cm}^2$ 、 $f=10 \text{ Hz}$ 、 $n_p=3$)。

(a) 血管膨胀; (b) 血管热凝结; (c) 血管收缩成线状; (d) 血管消失

Fig. 2 Blood vessel before and after laser irradiation ($F=57 \text{ J/cm}^2$, $f=10 \text{ Hz}$, $n_p=3$). (a) Vessel expansion; (b) blood coagulation; (c) thread-like appearance of the treated vascular segment; (d) vessel disappearance

3.2 激光照射后血管形态的动态变化规律

3.2.1 不同能量密度激光对血管热作用

选取初始直径为 $125 \mu\text{m}$ 的血管,依次使用能量密度 $F=20、30、40、50、57 \text{ J/cm}^2$ 单脉冲激光照射血管,发现血管持续膨胀(直径增加);然后使用能量密度 57 J/cm^2 、 $f=5 \text{ Hz}$ 、 $n_p=2$ 的激光照射该血管,血管继续膨胀;最后使用能量密度 57 J/cm^2 、 $f=$

10 Hz 的 2 个脉冲激光照射血管,发现血管出现收缩,如图 3 所示。将所测得的血管直径变化示于图 4,可见在较小能量下,激光照射下的血管热反应主要为热膨胀。随着能量的增加,血管持续膨胀。而多次照射后,由于血管内血液受热变性凝结,血管中出现血栓;同时,在损伤累积效应下,血管壁及血管周围组织发生损伤、形变,从而血管出现收缩。

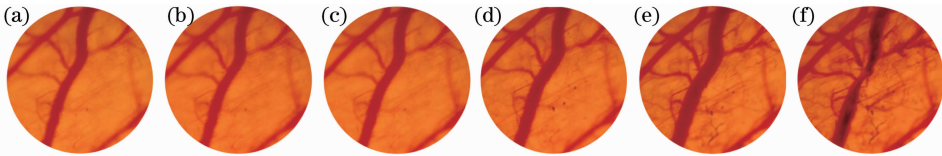


图 3 不同激光能量下的血管热效应。(a) 激光照射前; (b) 20 J/cm^2 单脉冲; (c) 30 J/cm^2 单脉冲; (d) 50 J/cm^2 单脉冲; (e) 57 J/cm^2 、 5 Hz 双脉冲; (f) 57 J/cm^2 、 10 Hz 双脉冲

Fig. 3 Blood vessel heat effect with various incident fluences. (a) Before laser irradiation; (b) 20 J/cm^2 single pulse; (c) 30 J/cm^2 single pulse; (d) 50 J/cm^2 single pulse; (e) 57 J/cm^2 , 5 Hz double pulses; (f) 57 J/cm^2 , 10 Hz double pulses

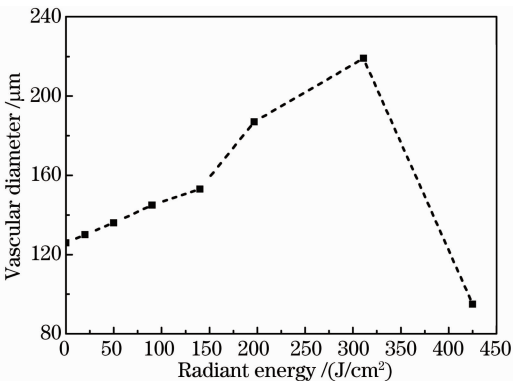


图 4 血管直径随照射激光能量的变化

Fig. 4 Dependence of the target vessels diameter on the laser fluence

3.2.2 激光照射后血管形态随时间的变化

利用能量密度 $F=57 \text{ J/cm}^2$ 、频率 $f=10 \text{ Hz}$ 、脉冲数 $n_p=3$ 的激光照射初始直径为 $100 \mu\text{m}$ 的血管,并观察该血管直径在激光照射后随时间的变化。

图 5、6 分别为激光照射后 $30 \text{ s} \sim 2 \text{ h}$ 内血管随时间的变化和血管对应段处直径随时间的变化,其中图 5 箭头为血液流动方向,A、B、C 沿血流方向标注,B 段为激光照射段,图 6 中曲线 A、B、C 分别与图 5 A、B、C 三处对应。由图可知,血管 B 段经激光照射后受热快速膨胀以及血管内血液快速升温变性从而伴有血液凝块生成,血管内血小板向血液凝块处聚集生成血栓。随着时间的流逝,血栓增长(血小板聚集),在血液灌流的作用下,该段血液量(体积)增加直至最大,从而该段直径持续增长直至不变;由于血栓堵塞血管,在血液灌流作用下,血栓两端(血管上游 A 段与下游 C 段)存在压差,从而血栓在压力作用下朝血管下游 C 段移动;血管上游 A 段直径在激光照射后受热作用先略有增长,然后由于激光照射后照射段 B 段的血管快速膨胀而使得该处血液体积急速增加,整段血管(包括 A、B、C 三处)内血液质

量守恒,从而血管两端 A、C 段血液量减少,故血管两端 A、C 段均收缩,随后随着血液的持续灌注,血管上游 A 段血液体积持续增长至不变,故 A 段血管直径开始增长直至不变;而血管下游 C 段则显示激光作用后血管直径受热增长,然后由于照射段快速膨胀使得下游血液流量减少而收缩直至不变。由图

6 可知最终血管照射段(B 段)直径随时间变大至不变,血管上游 A 段直径先增大后减小然后再次增加,血管下游 C 段则先增后减至不变。总的来说,最后 A、B 段血管直径均比初始时刻有较大增长,而下游 C 段略有下降。

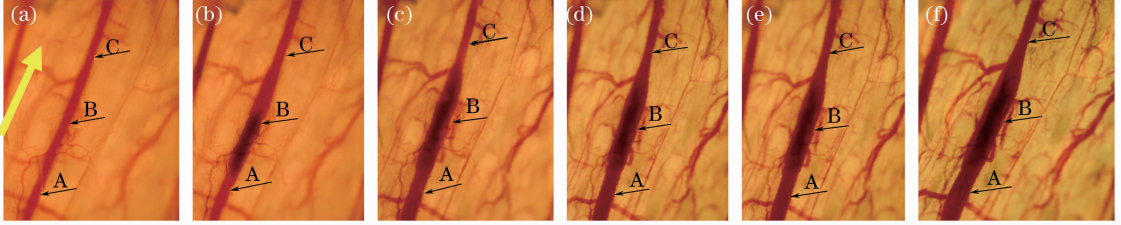


图 5 激光照射后血管不同段随时间的变化($F=57 \text{ J/cm}^2$ 、 $f=10 \text{ Hz}$ 、 $n_p=3$)。(a)照射前;(b)照射后 30 s;(c)照射后 30 min;(d)照射后 1 h;(e)照射后 1.5 h;(f)照射后 2 h

Fig. 5 Blood vessel varies with time before and after laser irradiation ($F=57 \text{ J/cm}^2$, $f=10 \text{ Hz}$, $n_p=3$). (a) Before irradiation; (b) 30 s after irradiation; (c) 30 min after irradiation; (d) 1 h after irradiation; (e) 1.5 h after irradiation; (f) 2 h after irradiation

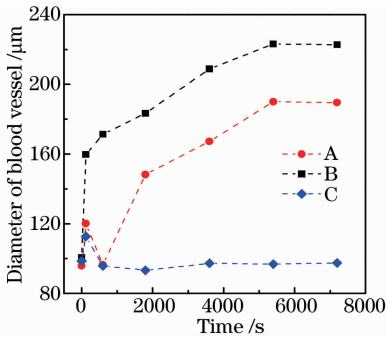


图 6 激光照射后血管不同段直径随时间的变化($F=57 \text{ J/cm}^2$ 、 $f=10 \text{ Hz}$ 、 $n_p=3$)

Fig. 6 Variance of the blood vessel diameter with time after irradiation ($F=57 \text{ J/cm}^2$, $f=10 \text{ Hz}$, $n_p=3$)

利用相同参数激光照射另一根血管,照射后血管不同段处形态随时间的变化以及直径随时间的变化如图 7(箭头为血液流动方向,A、B、C 沿血流方向

标注,B 段为激光照射段)、图 8(曲线 A、B、C 分别与图 7 中 A、B、C 三处对应)所示。激光照射前,血管不同段直径分别为 $d_A=125 \mu\text{m}$, $d_B=145 \mu\text{m}$, $d_C=75 \mu\text{m}$ 。使用 $F=57 \text{ J/cm}^2$ 、 $f=10 \text{ Hz}$ 、 $n_p=3$ 的激光照射该血管,激光照射后,血管 B 段受热快速膨胀以及血管内血液快速升温变性从而伴随有血液凝块生成,血管内血小板向血液凝块处聚集生成血栓。随着时间的流逝,在血液灌注的作用下,该段血液量(体积)增加,造成该段直径持续增长直至不变;血管上游 A 段直径在激光照射后受热作用先略有增长,然后照射段 B 段的血管快速膨胀使得该处血液体积急速增加。由于整段血管(包括 A、B、C 三处)内血液质量守恒,使得血管两端 A、C 段血液量减少,故 A、C 段均收缩;随着血液的持续灌注,A 段血管直径开始增长直至不变;血管下游 C 段则是先受热膨胀,然后由于照射段快速膨胀使得下游血液流

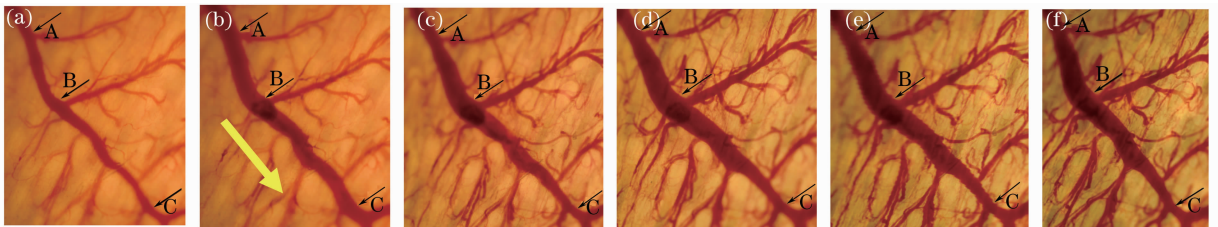


图 7 激光照射前后血管形态随时间的变化($F=57 \text{ J/cm}^2$ 、 $f=10 \text{ Hz}$ 、 $n_p=3$)。(a)照射前;(b)照射后 30 s;(c)照射后 30 min;(d)照射后 1 h;(e)照射后 1.5 h;(f)照射后 2 h

Fig. 7 Blood vessel morphology varies with time before and after laser irradiation ($F=57 \text{ J/cm}^2$, $f=10 \text{ Hz}$, $n_p=3$). (a) Before irradiation; (b) 30 s after irradiation; (c) 30 min after irradiation; (d) 1 h after irradiation; (e) 1.5 h after irradiation; (f) 2 h after irradiation

量减少而收缩直至保持不变。由图 8 可知,血管 A 段直径随时间变大至不变,B 段直径先增大后减小然后再次增加,C 段则先增后减至不变。但该血管的最终直径 A、B、C 段均大于初始时刻。

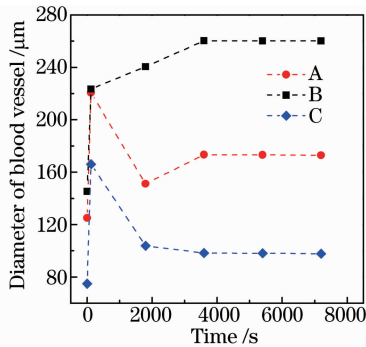


图 8 激光照射后血管直径随着时间的变化

($F=57 \text{ J/cm}^2$, $f=10 \text{ Hz}$, $n_p=3$)

Fig. 8 Variance of the blood vessel diameter with time after irradiation ($F=57 \text{ J/cm}^2$, $f=10 \text{ Hz}$, $n_p=3$)

综合图 5 和图 7 可以看出,不同血管在相同激光照射后,血管出现膨胀以及热凝固,其中凝块呈现完全堵塞及部分阻塞血管的状态,并且血管内血凝块随着时间的流逝聚集增长。由于血管照射段膨胀,而血管灌流速度有限,从而短时间内出现血管照射段两端(上游及下游)收缩,随着时间的流逝,在血液灌流的作用下,上游段血管直径再次增长,而下游段血管最终直径则与血栓是否完全堵塞血管有关。比较图 6 与图 8 发现,血管直径随时间变化趋势是一致的;但当血凝块完全堵塞血管加热段时,下游区域 2 h 后血管直径和初始时相当甚至略小,而部分阻塞血管时,下游血管段直径 2 h 后仍比初始值大。

4 结 论

搭建了激光照射血管动态变化规律的鼠脊视窗实验测量系统,获取了血管在多脉冲短脉宽激光照射下随时间的动态变化。结果显示:在单脉冲较低能量激光照射下,血管随激光能量的增加持续膨胀,能量累积到一定值时,血管出现收缩。而多脉冲激光照射血管时,血管出现膨胀、血液凝固以及血管收缩等现象。血管照射部分上下游两端直径随时间变化规律是一致的,但由于有无凝块以及凝块是否完全堵塞血管,导致不同情况下血管在血液灌流以及血栓共同作用下最终直径与初始时刻相比减小或

增大的不同结果。本实验通过对波长 1064 nm、脉宽 0.3 ms 多脉冲激光照射血管的实验研究,对比分析了不同直径血管的可能变化及其随时间的动态变化,可为今后更好地使用近红外长波激光治疗 PWS 提供参考。

参 考 文 献

- 1 M J C van Gemert, J S Nelson, T E Milner, *et al.*. Non-invasive determination of port wine stain anatomy and physiology for optimal laser treatment strategies[J]. *Phys Med Biol*, 1997, 42(5): 937-950.
- 2 Zhang Jizhuang, Zhang Xuexue. Effects of blood vessel parameters on the photo-thermal interactions during selective photothermolysis[J]. *Chinese J Lasers*, 2009, 36(8): 2202-2208.
- 3 张纪庄, 张学学. 血管参数对皮肤组织选择性光热解作用中光热响应规律的影响[J]. *中国激光*, 2009, 36(8): 2202-2208.
- 4 Hao Suli, Ding Jianhua, Lin Junxiu, *et al.*. Monte-Carlo modeling laser energy distribution in port-wine stain vessel[J]. *Chinese J Laser Medicine & Surgery*, 2009, 18(1): 16-22.
- 5 郝素丽, 丁建华, 林钧岫, 等. 鲜红斑痣病变皮肤激光能量分布的蒙特卡罗模拟[J]. *中国激光医学杂志*, 2009, 18(1): 16-22.
- 6 Kelly K M, Choi B, McFarlane S, *et al.*. Description and analysis of treatments for port-wine stain birthmarks[J]. *Arch Facial Plast S*, 2005, 7(5): 287-294.
- 7 J K Barton, D X Hammer, T J Pfefer, *et al.*. Simultaneous irradiation and imaging of blood vessels during pulsed laser delivery[J]. *Lasers Surg Med*, 1999, 24(3): 236-243.
- 8 Wangcun Jia, N Tran, Victor Sun, *et al.*. Photocoagulation of dermal blood vessels with multiple laser pulses in an *in vivo* microvascular model[J]. *Lasers Surg Med*, 2012, 44(2): 144-151.
- 9 K Suthamjariya, W A Farinelli, W Koh, *et al.*. Mechanisms of microvascular response to laser pulses[J]. *J Invest Dermatol*, 2004, 122(2): 518-525.
- 10 M Heger, I I Salles, R Bezemer, *et al.*. Laser-induced primary and secondary hemostasis dynamics and mechanisms in relation to selective photothermolysis of port wine stains[J]. *J Dermatol Sci*, 2011, 63(3): 139-147.
- 11 Mi Xianqiang, Cen Yan, Zhou Zhengyi, *et al.*. The *in vitro* effects of low power laser irradiation on animal erythrocyte rheology[J]. *Chinese J Lasers*, 2004, 31(7): 888-892.
- 12 宓现强, 岑 剌, 周正谊, 等. 低强度激光照射离体动物红细胞流变学性质的影响[J]. *中国激光*, 2004, 31(7): 888-892.
- 13 Qu Xiaochao, Liang Jiaming, Yao Cuiping, *et al.*. Optical properties of gold nanoparticle and its application in biological imaging and photothermal therapy[J]. *Chinese J Lasers*, 2007, 34(11): 1459-1465.
- 14 屈晓超, 梁佳明, 姚翠萍, 等. 纳米金微粒的光学性质及其在生物成像和光热疗法中的应用[J]. *中国激光*, 2007, 34(11): 1459-1465.
- 15 J F Black, J K Bartonh, G Frangineasa, *et al.*. Cooperative phenomena in two-pulse, two-color laser photocoagulation of cutaneous blood vessels [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 2001, 73(6): 642-650.

栏目编辑: 韩 峰