

离体生物组织激光焊接特性实验研究

黄俊, 李聪, 王克鸿, 李乐乐

南京理工大学材料科学与工程学院, 江苏 南京 210094

摘要 为了获得激光焊接工艺参数对离体生物组织融合效果的影响规律,设计实验探究了激光功率、激光扫描方式等参数对离体皮肤切口融合形貌及抗张强度的影响,并对工艺参数进行了优化。结果表明,采用小功率长时间工艺规范焊接离体皮肤组织,组织切口融合效果较好、抗张强度较高,并且可以减小不可逆的热损伤;采用分段扫描焊接方式,可以加强切口附近成分的活性,减小切口热损伤。在此基础上,采用优化的工艺参数进行可靠性实验,并对切口抗张强度进行了测试。结果表明,在该工艺条件下,组织切口可实现全层融合,并且无烧损、碳化等缺陷,与连续激光焊接工艺相比,焊接时间可减少30%~40%,焊后组织切口抗张强度可达0.38 MPa,满足强度要求。

关键词 生物光学; 参数优化; 脉冲激光; 皮肤组织

中图分类号 TN249

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201744.0407001

Laser Welding Characteristics of Biological Tissues *in vitro*

Huang Jun, Li Cong, Wang Kehong, Li Lele

School of Material Science and Engineering, Nanjing University of Science and Technology,
Nanjing, Jiangsu 210094, China

Abstract To find out the role of laser parameters on *in-vitro* tissue bonding, experiments are designed to study the effect of laser parameters, such as power and scanning mode, on the appearance and tensile strength of *in-vitro* skin tissue incision, and then the process parameters are optimized. Results show that the appearance and tensile strength of tissue incision is better and greater when we use low laser power with long welding time, and also the irreversible thermal damage decreases. Using interval laser scanning increases the bioactivity closed to the incision and decreases the thermal damage. Experiments are performed to verify the reliability and stability of the optimized parameters, and the tensile strength of incision is tested. Results show that the bonding along the depth of tissue can be realized and no carbide or burning occurs. Compared with that of the continuous laser welding process, the welding time is decreased by 30%-40%, and the tensile strength of incision is 0.38 MPa, which can meet the requirement.

Key words biotechnology; parameter optimization; pulse laser; skin tissue

OCIS codes 170.6940; 140.3390; 140.3510; 160.1435

1 引言

生物组织激光焊接技术是用激光束照射人体或动物组织,利用组织对激光的吸收,发生相互作用产生热效应,使断端组织达到相互融合的目的。随着激光技术的日益发展以及在医学领域中的广泛应用,生物组织在激光作用下融合效果的研究成为国内外学者广泛关注的热点^[1-4]。然而生物组织结构复杂,其热学、光学特性因不同生物体差异较大,且激光的波长、输出功率、扫描方式等诸多参数的不同也会使其引起的热效应不同,导致生物组织在激光作用下融合的潜在机制尚不明确,从而使激光在生物组织焊接过程中应用的安全

收稿日期: 2016-11-08; **收到修改稿日期:** 2016-12-08

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(AE16001)

作者简介: 黄俊(1978—),女,博士,讲师,硕士生导师,主要从事焊接过程数值模拟、激光生物组织焊接等方面的研究。

E-mail: huangjun0061@126.com

性、可靠性和有效性等受到很大限制^[5-6]。

目前,国内外对于激光与生物组织热作用的研究大多数仍局限于离体组织实验测试以及数值模拟,很难应用到临床实践^[7-8]。究其原因在于这项技术的现有研究还存在工艺稳定性和适应性不足,切口融合质量和可靠性不易控制的问题。为了找到激光参数对生物组织融合效果的影响规律,进一步推动激光生物组织焊接的实验研究以及临床实践,本文针对离体皮肤组织激光焊接工艺进行研究,为激光生物组织焊接工艺参数的优化以及生物组织在激光作用下融合机制的研究提供参考。

2 实验材料与方法

鉴于猪皮肤与人体皮肤的层次结构和光学特性接近,实验选取离体新鲜猪背部皮肤,实测皮肤层厚 2 mm(含皮下脂肪层 0.5 mm),制作成 30 mm×20 mm×2 mm 的实验样本,切口长度 20 mm。实验采用自行设计的离体生物组织激光焊接装置,如图 1 所示。皮肤组织对激光的响应主要表现为反射、吸收、散射和透射。根据 Grothus Draper 定律,只有当激光被吸收时,生物组织和激光才能发生相互作用^[9]。新鲜皮肤组织主要成分是水 and 蛋白质,因此,为获得更有效的激光吸收率,采用输出波段为 1064 nm 的 Nd:YAG 光纤激光器。

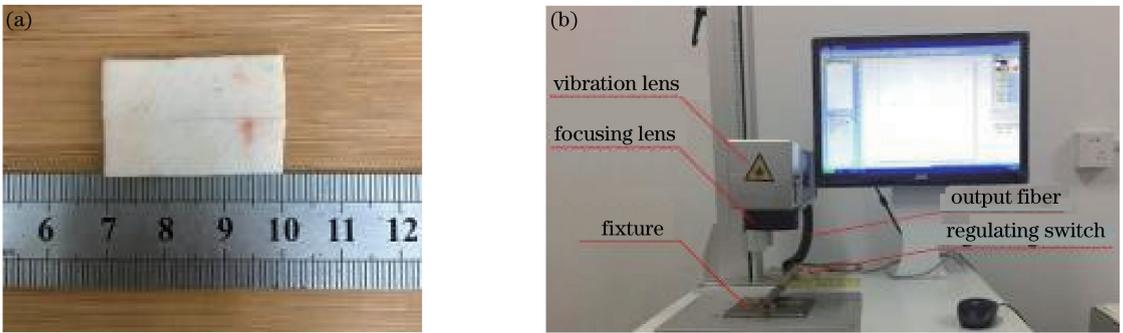


图 1 (a) 离体生物组织实验样本; (b) 实验装置

Fig. 1 (a) Tissue sample; (b) experiment setup

为进一步减小离体皮肤与活体皮肤的差异,获得优质的皮肤组织融合效果,焊前将样本浸泡在水溶液中,焊接过程进行中持续向样本组织中注入水溶液,提高样本组织对激光的吸收率。

3 实验结果与分析

激光焊接生物组织中涉及的激光参数包括波长、功率、光斑尺寸、照射方式、脉宽、重复频率等,离体皮肤组织激光焊接工艺实验主要研究不同激光功率、助焊剂、激光扫描方式、激光输出模式参数设置对离体皮肤组织切口融合情况与焊后抗张强度的影响规律。

3.1 焊接工艺研究

3.1.1 激光功率的影响

图 2 为不同激光功率下皮肤组织切口表面形貌。从图 2 可以看出,当激光功率设置为 2 W 时,皮肤表层出现了轻微的切口融合[图 2(a)];当激光功率超过 3 W 时,皮肤组织颜色呈褐色,出现碳化现象[图 2(b)]。

在焊接过程中,采用热电偶探针采集切口处温度,激光扫描时间 30 s 内,切口处温度为 68 ℃,组织表面受激光辐照区有发白现象存在,此时组织中的蛋白和胶原开始变性。随着焊接过程的进行,组织切口处温度继续升高到 80 ℃,细胞膜的通透性急剧提高,皮肤组织开始汽化,内部自由水受热蒸发遇到周围冷空气液化成白雾。当大部分水分子被汽化后,温度继续快速上升至 150 ℃,此时组织由于脱水严重发生收缩,并且变成褐色,逐步碳化、坏死,如图 2(b)所示。

激光功率低于 1 W 时,在激光扫描组织表面过程中,偶尔产生白雾,程度非常微弱。长时间扫描后皮肤表层组织出现了轻微的粘连与闭合,但真皮深层组织未粘连,说明皮肤组织对激光的吸收较弱,真皮层的温

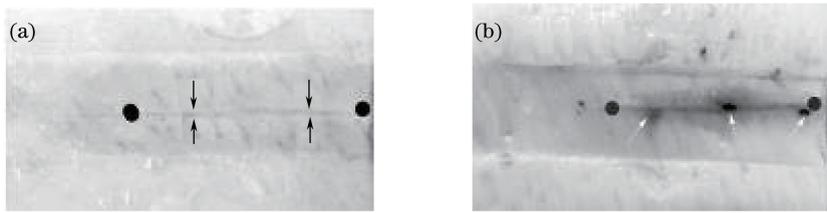


图 2 不同激光功率下离体皮肤组织焊后切口表面形貌。(a) 2 W; (b) 3 W

Fig. 2 Appearance of *in-vitro* skin tissue surface fused with different laser power. (a) 2 W; (b) 3 W

度较低,未达到 60 °C 以上,不足以使其蛋白质凝固和变性。

3.1.2 助焊剂的影响

离体皮肤组织内水分相对于活体组织较少,导致离体皮肤组织对激光的吸收程度减弱,从而降低了切口的融合强度^[10]。采用既可与组织成分(如蛋白质)生物相容,又可适当增强激光吸收的强化染料或助焊剂,可以提高离体皮肤组织焊后的抗张强度。分别采用生理盐水、印度墨水、牛血清白蛋白(BSA)作为助焊剂,研究不同助焊剂对离体皮肤组织融合情况的影响。经过不同助焊剂处理的离体皮肤组织正面、背面、横截面形貌、切口抗张强度如表 1 所示。

表 1 不同助焊剂下离体皮肤组织切口融合形貌与强度

Table 1 Appearance and strength of *in-vitro* skin tissue incision with different fluxes

Flux	Appearance of surface	Appearance of back	Cross-sectional morphology	Tensile strength /MPa
None				0.03
Physiological saline				0.05
Indian ink				0.19
BSA				0.41

从表 1 中可以看出,未经任何处理的皮肤样本组织仅表层有轻微融合,但真皮层和脂肪层相对于焊前几乎无变化,皮肤切口的横截面上仍能清晰地发现切口两侧组织处于分离状态;经过生理盐水处理的皮肤样本组织切口在激光焊接作用下,表皮层和真皮层均有融合,但真皮层融合深度较浅;经过印度墨水处理的皮肤样本组织在表皮层烧损比较严重,皮肤背部也未融合,但是在中间层获得了切口方向上的连续融合,这是由于离体皮肤组织浸入印度墨水后,对激光的吸收作用非常强烈,激光难以深入皮肤深层而不能使皮肤组织背部融合;经过 BSA 处理的皮肤样本组织在切口方向和厚度方向上均实现了良好的连续性融合,皮肤横截面上切口两侧组织发生了比较好的融合,未发现断口,这是由于 BSA 具有增加激光在组织内的透入深度和减少组织厚度方向上温度梯度的作用。

经过生理盐水处理的样本组织切口融合强度较低,说明主要靠氢键结合的方式难以实现组织中蛋白和纤维的有效粘结。经过印度墨水处理的样本组织在激光作用下,组织表面有白雾产生,随后组织烧损严重并逐渐硬化,这主要是因为墨水里含有较多碳黑,其受热发生碳化,碳化过程伴随着热量的放出,进一步加快组织内水分的蒸发和蛋白的变性速度。经 BSA 处理过的样本焊后抗张强度较高,主要是由于 BSA 可以增加激光在组织中的渗入深度并减小厚度方向的温度梯度,从而加强了皮肤组织对激光的吸收作用;另一方面,BSA 融入组织中在激光热作用下发生变性,其共价键重新组合搭桥起到了粘结切口断端组织的作用。

3.1.3 激光扫描方式的影响

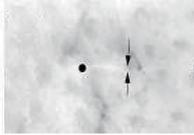
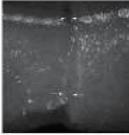
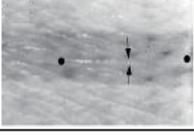
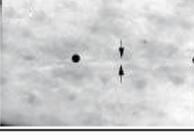
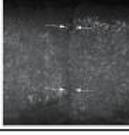
激光扫描方式对生物组织切口的融合效果影响很大,皮肤组织受激光扫描辐照有点连点扫描、直线连续

扫描、锯齿形扫描、分段扫描多种方式^[11]。离体组织与活体组织不同,它没有自愈功能,在无外界条件作用下,其内部的蛋白质和水分等几乎不会发生流动,不适合点连点扫描方式。

选取经过 BSA 处理的离体皮肤组织样本,在激光功率 2 W、光斑直径 0.2 mm、扫描速度 200 mm/s、焊接时间 20 min 的条件下,实验研究直线扫描、锯齿扫描和分段扫描 3 种不同激光扫描方式对离体皮肤组织切口焊后融合效果的影响规律。不同激光扫描方式下的离体皮肤组织正面、背面、横截面的形貌、切口抗张强度如表 2 所示。

表 2 不同激光扫描方式下离体皮肤组织切口融合形貌与强度

Table 2 Appearance and strength of *in-vitro* skin tissue incision with different laser scan paths

Laser scan path	Appearance of surface	Appearance of back	Cross-sectional morphology	Tensile strength /MPa
Straight line 				0.43
Zigzag line 				0.35
Intervals 				0.38

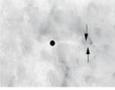
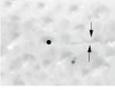
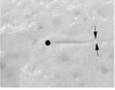
从表 2 中可以看出,在上述 3 种激光扫描模式下,均实现了切口的全层焊接融合效果,其中直线扫描方式下,组织表面有轻微的烧损现象。对于直线扫描,若激光束持久照射在切口中心,必然引起中心组织温度持续增加,可能造成组织热烧损。直线扫描仅适合平齐的切口,若切口走向弯曲,为减小热损伤,应选择对切口平整度要求不高的锯齿扫描方式。在锯齿扫描方式作用下,虽然焊后抗张强度较低,但该扫描路径可以满足平整度欠佳和走向弯曲的切口,通过适当延长激光作用时间可以提高皮肤切口的抗张强度。对于分段扫描方式,由于有一部分激光能量被切口附近组织吸收,在相同激光作用时间下,切口处组织的热作用较直线扫描方式弱,焊后切口抗张强度略微下降,但是切口附近的热作用加强可增加组织成分的活性,减小切口中央的热损伤面积。

3.1.4 激光输出模式的影响

在连续激光、不同频率脉冲激光作用下离体皮肤组织正面、背面、横截面的形貌、切口抗张强度如表 3 所示。

表 3 不同激光输出模式离体皮肤组织切口融合形貌与强度

Table 3 Appearance and strength of *in-vitro* skin tissue incision with different laser output modes

Output mode	Appearance of surface	Appearance of back	Cross-sectional morphology	Tensile strength /MPa
Continuous			 0.4 mm	0.43
Pulse (50 Hz)			 0.4 mm	0.28
Pulse (100 Hz)			 0.4 mm	0.35
Pulse (150 Hz)			 0.4 mm	0.33

从图 5 中可以看出,100 Hz 脉冲激光焊接时,离体皮肤组织切口愈合最佳,切口两侧组织的凝结效应显

著,并且没有断口显现;50 Hz、150 Hz 脉冲激光焊接时,虽然切口闭合率较高,但仍可以辨识断口的位置,其凝结效应较弱。另外,切口焊后抗张强度与脉冲频率不呈线性关系,在占空比一定时,如果重复频率偏低,一个周期内高电平持续时间延长的同时也延长了低电平持续时间,而生物组织激光焊接是一个快速的温度场循环过程,激光在低电平下组织处于冷却阶段,如果低电平持续时间过长,组织获得温度累积上升的效果将大大减弱,最后导致皮肤深层温度达不到要求而难以热沉积产生愈合;重复频率愈高,激光的模式愈接近连续输出,由于峰值功率较高且冷却时间缩短,组织的温升速度增加,最终导致组织表面温度过高而发生不可逆热损伤,样本组织表面硬化,出现表层烧损现象,从而降低了切口的闭合率,导致抗张强度降低。

与连续激光相比,采用脉冲激光焊接的皮肤抗张强度相对较低,但脉冲激光具有较高的峰值能量、穿透力较强、被水分吸收少和散射效应小等特点,有助于提高组织的温升速度,并避免不必要的热损伤,缩短了30%~40%的焊接时间。

3.2 工艺参数优化

上述工艺实验结果表明,采用小功率长时间焊接离体皮肤组织,组织切口融合效果较好、抗拉强度较高,并且可以减小不可逆的热损伤;添加适当蛋白质助焊剂,可增强蛋白和纤维变性粘结,显著提高切口抗张强度;采用分段扫描焊接方式,可以加强切口附近成分的活性;采用脉冲激光模式,焊接时间可减少30%~40%。为了获得组织连接的最大粘结强度以及最小的热损伤,确定优化工艺参数如表4所示。

为了检验该工艺的可靠性和适应性,制作9个离体皮肤组织样本进行激光焊接工艺实验,切口焊后截面如图6所示。

表4 离体皮肤激光焊接优化工艺参数

Table 4 Optimized parameters of *in-vitro* skin tissue laser welding

Output mode	Peak power /W	Pulse band /ms	Pulse frequency /Hz	Flux	Welding speed /(mm/s)	Welding time /min
Pulse	5	50	100	BSA	200	12

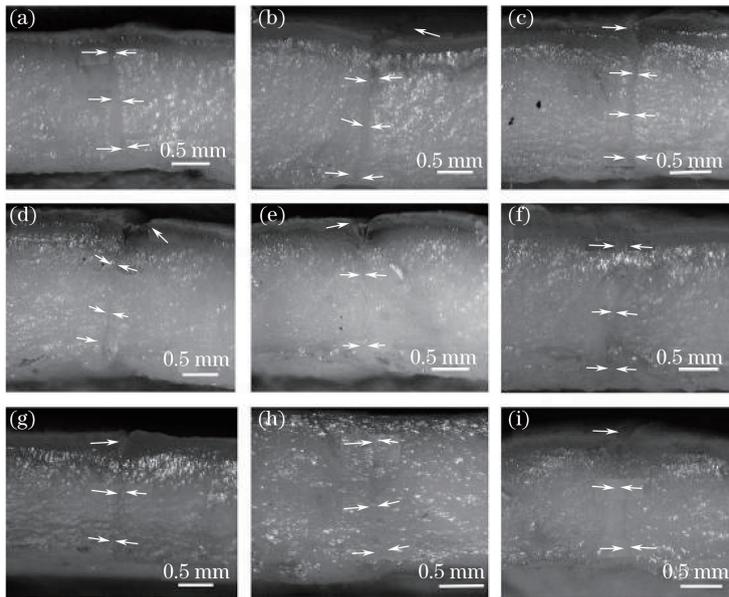


图3 离体皮肤组织切口的焊后截面

Fig. 3 Cross-sectional morphology of *in-vitro* skin tissue samples

从图3中可以看出,采用表4所示的优化工艺参数进行离体皮肤组织焊接实验,9个实验样本切口在厚度方向上均获得较好的全层融合,其中,4个样本焊后切口两侧组织发生了全层融合,切口位置不易辨识[图3(a)、(e)、(f)、(h)];另5个样本焊后切口辨识度较明显,融合效果良好。

3.3 性能测试

采用自主设计的张力测试仪对9个离体皮肤样本做切口抗张强度测试,切口两侧0.5 cm处分别用夹具

夹紧,一端夹具固定,一端夹具连接张力测试仪,张力测试仪随夹具垂直于切口向外移动,速率 6 mm/min,直至焊后皮肤切口完全拉断,记录最大张力数值。最大张力与切口的横截面积之比记为切口的抗张强度。按照上述方法测试 9 个样本切口抗张强度,得出平均抗张强度 0.35 MPa,优于文献[12]中报道的切口抗张强度,标准差为 1.58 MPa,波动范围在 8.5%以内,表明该组合工艺参数下,可实现离体皮肤组织切口的良好融合,具有可重复性。另外,由于离体生物组织内部水分减少,细胞几乎无活性,同时缺少活体组织中周围血液的促进融合作用,虽然助焊剂可以提高离体组织对激光的吸收率,但仅依靠离体组织与激光的热作用而使组织内部温度升高,来促进胶原纤维和胶原蛋白发生变性和凝结,焊后切口融合组织的抗张强度低于文献[13]中列出的原材料(离体猪背部皮肤)抗张强度。

4 结 论

实验研究了激光参数对离体皮肤组织切口形貌以及抗张强度的影响规律,结果表明,采用小功率长时间规范焊接离体皮肤组织,组织切口融合效果较好、抗张强度较高,并且可以减小不可逆的热损伤;采用分段扫描焊接方式,可以加强切口附近成分的活性;采用脉冲激光,焊接时间可减少 30%~40%。对光纤激光焊接离体皮肤组织工艺参数进行优化,结果表明,采用 BSA 助焊剂、脉冲激光功率 5 W、脉宽 50 ms、光斑半径 0.2 mm、焊接速度 200 mm/s(直线扫描)工艺焊接,能够高效高质地获得离体皮肤组织的全层融合。离体皮肤组织激光焊接可靠性实验及抗张强度测试结果表明,采用优化的工艺参数,离体皮肤组织切口抗张强度满足要求。

参 考 文 献

- [1] Nourbakhsh M S, Khosroshahi M E. An *in-vitro* investigation of skin tissue soldering using gold nanoshells and diode laser[J]. *Lasers in Medical Science*, 2011, 26(1): 49-55.
- [2] Wang S, Zhao J, Lui H, *et al.* Monte Carlo simulation of near infrared autofluorescence measurements of *in vivo* skin [J]. *Journal of Photochemistry & Photobiology B*, 2011, 105(3): 183-189.
- [3] Pan Zhenhua, Li Yingxin, Wang Xing, *et al.* Effects of low-level laser therapy on cutaneous wound healings with three doses[J]. *Chinese J Lasers*, 2010, 37(2): 599-604.
潘振华, 李迎新, 王 兴, 等. 3 种剂量弱激光对大鼠皮肤创伤愈合的影响[J]. *中国激光*, 2010, 37(2): 599-604.
- [4] Hu Liming, Liu Yun, Lu Zihua, *et al.* Skin welding with a combination of 980 nm and 1064 nm lasers[J]. *Chinese J Lasers*, 2011, 38(4): 0404001.
胡黎明, 刘 云, 芦志华, 等. 将 980 nm/1064 nm 双波长半导体激光皮肤焊接[J]. *中国激光*, 2011, 38(4): 0404001.
- [5] Dadpay M, Sharifian Z, Bayat M, *et al.* Effects of pulsed infrared low level-laser irradiation on open skin wound healing of healthy and streptozotocin-induced diabetic rats by biomechanical evaluation [J]. *Journal of Photochemistry & Photobiology B*, 2012, 111(11): 1-8.
- [6] Alfano R R, Sriramoju V. Method for picosecond and femtosecond laser tissue welding: US8974444B2[P]. 2015-03-10.
- [7] Babak N, Thomas E, Murphy, *et al.* Simulation of laser propagation through a three-layer human skin model in the spectral range from 1000 to 1900 nm[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, 19(7): 075003.
- [8] Guan K W, Jiang Y Q, Sun C S, *et al.* A two-layer model of laser interaction with skin: A photothermal effect analysis [J]. *Optics & Laser Technology*, 2011, 43(3): 425-429.
- [9] Rebecca V, Noojin G D, Harbert C A, *et al.* Porcine skin damage thresholds for 0.6 to 9.5 cm beam diameters from 1070-nm continuous-wave infrared laser radiation[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2014, 19(3): 35007-35009.
- [10] Rossi F, Matteini P, Esposito G, *et al.* *In vivo* experimental study on laser welded ICG-loaded chitosan patches for vessel repair[C]. SPIE, 2011, 7883: 78833M.
- [11] Tabakoglu H O, Topaloglu N M. The effect of irradiance level in 980-nm diode laser skin welding[J]. *Photomedicine & Laser Surgery*, 2010, 28(4): 453-458.
- [12] Halder R H, Katz A, Savage H, *et al.* Laser skin welding using water absorption and heat management[C]. SPIE, 2005, 5686: 253-255.
- [13] Lu Tianjian, Xu Feng. Mechanical properties of skin: A review[J]. *Advances in Mechanics*, 2008, 38(4): 393-426.
卢天健, 徐 峰. 皮肤的力学性能概述[J]. *力学进展*, 2008, 38(4): 393-426.