

文章编号: 0253-2239(2010)07-2069-05

# 脉冲 CO<sub>2</sub> 激光伴水喷雾的骨组织消融

张先增<sup>1</sup> 郭 健<sup>1</sup> 詹振林<sup>1</sup> 谢树森<sup>1</sup> 叶 青<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup> 福建师范大学激光与光电子技术研究所医学光电科学与技术教育部重点实验室, 福建省光子技术重点实验室, 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** 评估水喷雾条件对脉冲激光辐照骨硬组织的消融速率、消融效率以及组织表面形态学变化的影响。实验样品为新鲜离体牛胫骨组织;光源为脉冲 CO<sub>2</sub> 激光(波长 10.64 μm),脉冲频率 60 Hz,能量密度 26.5 J/cm<sup>2</sup>,光束经关节臂传输后聚焦在组织样品表面进行垂直点状照射,光斑尺寸为 400 μm,辐照时间 10 s。激光辐照时,水雾以 45°角倾斜向组织表面喷射,喷水速率分别设置为 0(无喷水),0.26,0.5,0.6,0.7 和 0.9 mL/s。辐照后,体式显微镜观察组织样品表面形貌变化,OCT 技术测量弹坑深度,扫描电镜观察弹坑微结构变化。结果表明,水喷雾条件对脉冲 CO<sub>2</sub> 激光骨硬组织的消融速率,消融效率以及组织表面形态学变化具有重要影响;水喷雾不仅可以起到冷却和降低热损伤的作用,通过优化选择激光辐照参数和喷水速率,可以显著增大消融速率和消融效率,改善靶组织表面的形态结构。

**关键词** 医用光学;激光消融;骨硬组织;水喷雾;脉冲 CO<sub>2</sub> 激光

中图分类号 R318.51 文献标识码 A doi: 10.3788/AOS20103007.2069

## Water Spray-Assisted Ablation of Bone Hard Tissue with Pulsed CO<sub>2</sub> Laser

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

<sup>1</sup> *Institute of Laser and Optoelectronics Technology, Fujian Provincial Key Laboratory for Photonics Technology, Key Laboratory of Opto-Electronic 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** We evaluate the influence of water spray's flow rates on the rate, the efficiency of laser-hard tissue ablation and the resulting surface morphology. Fresh bovine shank bone in vitro was used in the experiment. Light emitted from a pulsed CO<sub>2</sub> laser with a wavelength of 10.64 μm and a repetition rate of 60 Hz was transmitted through an articulated-mirror-arm system and focused to a spot of which the diameter is about 400 μm on the bone sample surface directly. The radiant energy density was 26.5 J/cm<sup>2</sup> and irradiation time was 10 s. A water spray system applied spray on sample surface with an angle of 45° during irradiation at flow rates of 0 (without a water spray), 0.26, 0.5, 0.6, 0.7 and 0.9 mL/s. After irradiation, the morphological changes and microstructure of ablation craters were examined by stereoscopic microscope and scanning electron microscope (SEM) respectively. The ablation depth was also measured by optical coherence tomography (OCT). The result shows that the water spray has a profoundly influence on laser ablation rate and efficiency for hard tissue removal and the resulting morphology. Water spray not only can cool the tissue and reduce the thermal damage, but also can augment ablation rate and efficiency, and alter the surface morphology by optimal selection of laser irradiation parameters and water spray flow rate.

**Key words** medical optics; laser ablation; bone hard tissue; water spray; pulsed CO<sub>2</sub> laser

收稿日期: 2009-08-17; 收到修改稿日期: 2009-09-20

基金项目: 国家自然科学基金(60578057, 60878062)、卫生部科学研究基金(WKJ2008-2-035)和福建省自然科学基金(2008J0317)资助课题。

作者简介: 张先增(1975—),男,讲师,主要从事医学光子技术与仪器等方面的研究。E-mail: xzzhang@fjnu.edu.cn

\* 通信联系人。E-mail: yeqing180302@yahoo.com.cn

## 1 引 言

激光消融技术用于生物硬组织(包括骨头和牙硬组织)的切削和去除,可以获得类似常规手术器械的切削效果,并表现出许多独特的性能。其在截骨术、开颅术、碎石术以及龋齿去除和备洞等领域具有广泛的应用前景。如何增强激光消融的速率和效率,减少热损伤,并尽量提高消融的选择性与精确度是激光消融技术研究的核心问题和研究重点。波长和脉宽等激光辐照参数以及靶组织的光学和热力学特性参数是影响激光消融的主要因素。此外,辐照环境和冷却条件(如有无喷水,喷水速率等)对消融效果亦有重要影响<sup>[1~4]</sup>。现有研究表明,利用激光进行生物硬组织消融时,应用水喷雾系统或消融前在组织表面附着一层水膜层可以提高消融速率和消融效率,减少热损伤,并可能改变组织表面形态和化学成份,进而对组织的修复和牙组织修复材料的黏结力产生重要影响<sup>[5~12]</sup>。迄今为止,有关水喷雾或水膜层在生物硬组织激光消融过程中的增强机制还不清楚,一些实验结果还存在争议。现有研究采用的主要激光光源为 Er:YAG(2.94  $\mu\text{m}$ )和 Er,Cr:YSGG(2.79  $\mu\text{m}$ )激光,都属于水的吸收系数远大于靶组织吸收系数的情形,研究对象主要集中在牙硬组织(釉质和本质)。对于水的吸收系数小于靶组织吸收系数的波长激光的研究尚未见报道。

实验所采用的光源为脉冲 CO<sub>2</sub> 激光,波长 10.64  $\mu\text{m}$ ,实验对象为新鲜离体牛胫骨组织,对应水和靶组织的吸收系数分别为 817  $\text{cm}^{-1}$ 和 1500  $\text{cm}^{-1}$ ,属于水的吸收系数小于靶组织吸收系数的情形。实验采用体视显微镜、OCT 和扫描电镜等手段系统评估不同水喷雾条件对消融弹坑形态学、消融速率和消融效率以及微结构变化等方面的影响。

## 2 实验材料与方法

实验样品为离体新鲜牛胫骨组织,由屠宰场牛死后 5~6 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,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 30 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(以色列夏普兰公司,Sharplan 30C),波长 10.64  $\mu\text{m}$ ,脉冲频率为 60 Hz,功率 0~30 W 可调。激光光束通过关节臂

传输后经透镜聚焦于组织样品上,光斑尺寸约 400  $\mu\text{m}$ 。脉冲能量密度设为 26.5  $\text{J}/\text{cm}^2$ ,并通过能量计(厂家:Orphir,表头型号:NOVA II,探头型号:PE50-BB-SH-V2)进行实时检测。为了评估有无喷水以及不同喷水速率对牛胫骨消融效果的影响,激光辐照时,水喷雾系统以 45°斜向下向组织表面喷水,喷水速率共分为 6 组,分别设为 0(无喷水),0.26,0.5,0.6,0.7 和 0.9 mL/s,每组样品数为 5。

激光辐照后,肉眼和体视显微镜(LEICA MZ16FA,Germany)观察组织消融弹坑形貌,光学相干层析仪(OCT,OSLF-1500)获取骨组织消融弹坑纵截面图,并利用软件测得消融弹坑深度。实验采用的 OCT 系统中心波长 850 nm,带宽 50 nm,光源功率 7 mW,纵向分辨率为 8  $\mu\text{m}$ 。扫描电子显微镜(Jeol JSM-6380LV,Japan)分别观察骨硬组织弹坑表面的形态变化。随后立即将样品放入 2.5%戊二醛溶液中,4  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱固定 3~12 h,再用 PBS 缓冲液清洗 3 次,每次 10 min,再放入 1%锇酸溶液中 4  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱下重固定 1 h,用磷酸盐缓冲液(PBS)缓冲液清洗 3 次,每次 10 min;清洗后放入溶度递增(30~100%)丙酮溶液脱水,冷冻干燥仪干燥制备标本、离子溅射镀膜。扫描电镜观察骨组织辐照表面形态和微结构的变化。

## 3 结果与讨论

### 3.1 消融弹坑表面形貌分析

图 1 所示为无喷水 and 不同喷水速率条件下脉冲 CO<sub>2</sub> 激光辐照牛胫骨组织产生的消融弹坑的表面形貌图。无喷水时,消融凹陷内表面附着一层厚厚的灰白色凝结物,可能是高温熔融后的矿物质成分附着在弹坑内壁,其构成还有待进一步进行化学分析加以确认。弹坑边缘可见一层厚厚的碳化层(约 150  $\mu\text{m}$ ),其外围是一层棕褐色的变性层,如图 1(a)所示。在喷水条件下,弹坑形状呈圆锥状,当喷水速率为 0.26 mL/s 时,消融弹坑内壁附着的灰白色凝聚物减少并呈现为白色凝胶状,内壁和底部均看见碳化现象,但碳化层和变性层厚度显著减小,如图 1(b)所示。随着喷水速率的增加,弹坑底部和内壁干净清洁,无玷污层;碳化现象仅发生在弹坑边缘且随喷水速率的增加不断减少。

以上结果表明,水喷雾可以大大降低激光硬组织消融过程中产生的热损伤,兼具冷却和清洁效果。水可以提供比空气更快速的热传导,组织表面的能量将更迅速的传给水雾,并通过汽化和对流过程对

激光作用部位进行冷却。此外,水雾在汽化过程中产生的反冲力以及水喷雾本身的冲刷力可以带走附

着在弹坑内壁的消融细屑,可以获得比未喷水更洁净的消融表面。

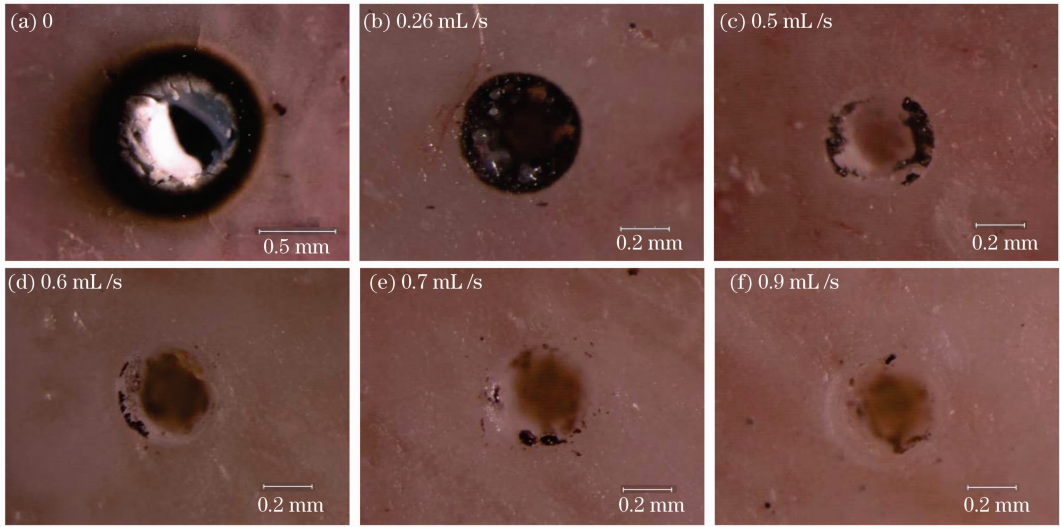


图 1 无喷水和不同喷水速率条件下,脉冲 CO<sub>2</sub> 激光辐照牛胫骨组织后获得的消融弹坑表面形貌(100×)  
 Fig. 1 Surface morphic images of crater on bovine shank bone created by pulsed CO<sub>2</sub> laser with water spray at diffenernt flow rates

### 3.2 消融弹坑深度随喷水速率的变化关系

图 2 所示为无喷水和不同喷水速率条件下,脉冲 CO<sub>2</sub> 激光辐照牛胫骨组织产生消融弹坑的 OCT 纵截面图。消融弹坑形状清晰,呈倒三角形,中心处弹坑最深,弹坑截面的这种形状与高斯光束的空间分布有关。图 3 所示为无喷水和不同喷水条件下消融弹坑深度(弹坑上表面至弹坑底部的垂直距离)变化曲线。如图所示,无喷水时激光消融获得的弹坑深度约为(208±14) μm。在喷水条件下,激光消融

弹坑的深度随着喷水速率的增大呈近似线性增加,在喷水速率为 0.6 mL/s 时,消融深度达到最大值(约为 277±30 μm),是无喷水时消融深度的 1.3 倍。此后,随着喷水速率的增加,消融深度亦呈线性迅速降低,当喷水速率为 0.9 mL/s 时,消融弹坑深度与无喷水时的弹坑深度相当(约 219±28 μm)。本实验中所有喷水速率条件下获得的消融深度均大于无喷水条件下的消融深度。

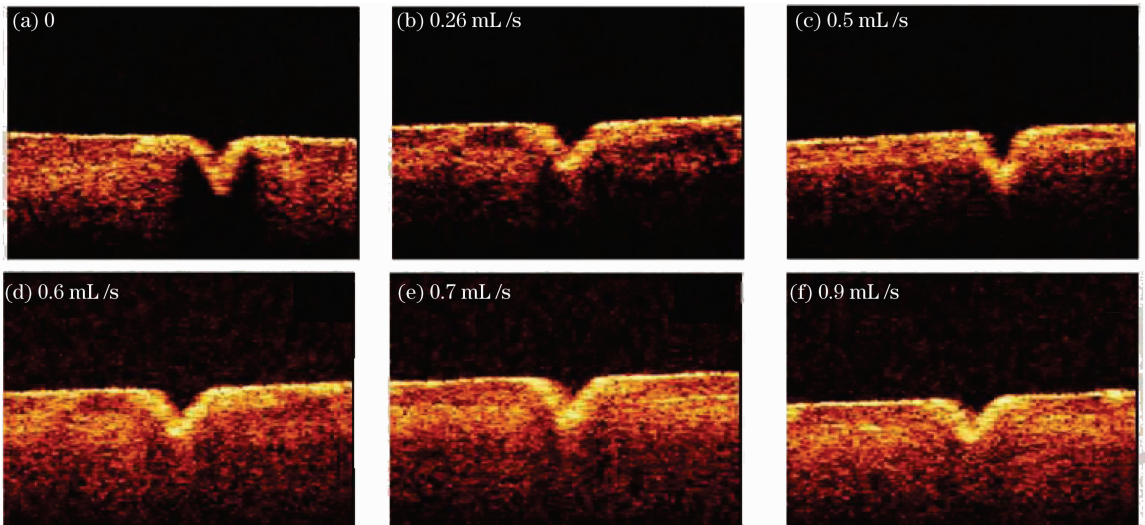


图 2 不同喷水条件下脉冲 CO<sub>2</sub> 激光辐照骨样品组织获得的消融弹坑纵截面图  
 Fig. 2 Longitudinal section of craters on bone tissue created by pulsed CO<sub>2</sub> laser with a water spray at different flow rates

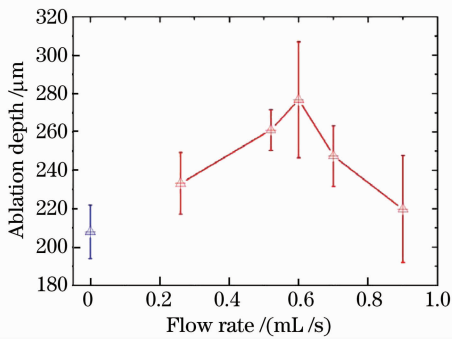


图3 脉冲  $\text{CO}_2$  激光辐照骨样品组织获得的消融弹坑深度随喷水速率的变化关系

Fig. 3 Plots of ablation depth versus different flow rates of water spray for bone tissue ablation with pulsed  $\text{CO}_2$  laser

实验结果表明,水喷雾条件对骨硬组织激光消融的速率和效率具有重要影响,恰当选取喷水速率可以显著提高激光骨硬组织消融的速率和效率。目前,有关激光消融过程中水喷雾的消融增强机制主要有两种解释。一种是 Rizoio 等<sup>[13]</sup>提出的所谓流体动力学作用,即水喷雾在组织表面产生雾化区,雾化区中的水滴颗粒剧烈吸收入射光子能量后体积急剧膨胀,变成具有超强动能的工作物质,当这些高能水雾颗粒作用于靶组织时会对组织产生破坏作用,达到切削组织的目的,随后,这些水雾颗粒重新凝结成普通水滴,对组织表面进行冷却并带走剩余能量和组织消融细屑。流体动力学作用被认为可以获得比激光直接作用于靶组织更高的消融效率。另一种解释则认为,水喷雾会在靶组织表面形成一层水膜层,水膜层吸收部分入射激光能量后会产生气穴现象,形成气穴通道,后续激光脉冲正是通过这一通道穿透水膜层后作用于靶组织。由于形成气穴通道的水蒸气的密度远低于液态水的密度(约低于液态水的 100~1000 倍),其吸收系数很小,使得激光脉冲可以穿透一定厚度的水膜层后与靶组织相互作用,即便是 Er:YAG 激光脉冲亦可以穿透几个厘米厚的水膜层,尽管 2.94  $\mu\text{m}$  波长激光在水中的穿透深度(1/e)只有几个微米量级。激光作用于靶组织时会在消融弹坑产生大量组织细屑,其对光的吸收将大大降低消融效率甚至阻止消融的继续进行。水膜层剧烈吸收激光能量后产生的反冲力可以带走附着在弹坑内壁的组织细屑,尽管其吸收了部分激光能量,但适当的喷水速率仍可以极大地提高消融的速率和效率。Daniel Fried 等<sup>[12]</sup>认为水喷雾或水膜层增强消融机制要求水的吸收系数远大于靶组织的吸

收系数。当水的吸收系数小于靶组织吸收系数时,水膜层会降低消融的效率。本实验中所采用的光源对应水和骨样品组织的吸收系数分别为  $817 \text{ cm}^{-1}$  和  $1500 \text{ cm}^{-1}$ ,属于水的吸收系数小于靶组织吸收系数情形,但实验结果表明,水喷雾仍会增强消融速率和效率。

### 3.3 消融弹坑微结构分析

图 4 所示为不同喷水条件下骨样品组织激光消融弹坑的扫描电镜图。无喷水时消融弹坑呈不规则状,弹坑边缘可见明显的变性层,弹坑内壁凹凸不平,可见大的消融细屑附着其上,有熔融现象发生,偶见裂纹[图 4(a),(b)]。当喷水速率为 0.5 mL/s 时,弹坑形状较规则,边缘变性层变小,弹坑内壁较平整,可见少许消融细屑附着其上,未见熔融现象和裂纹。当喷水速率为 0.6 mL/s 时,消融弹坑形状规则,弹坑边缘变性层消失,弹坑内壁平整,无消融细屑附着其上,无裂纹和熔融现象发生。

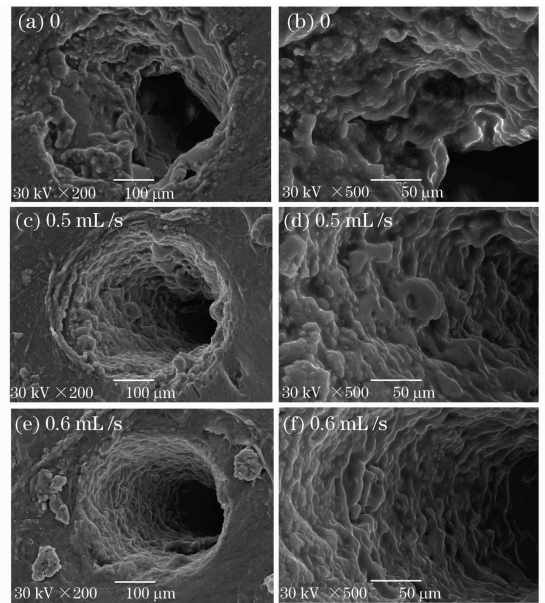


图4 无喷水和不同喷水速率条件下,脉冲  $\text{CO}_2$  激光辐照牛胫骨组织获得的消融弹坑的微结构变化

Fig. 4 Microstructure changes of crater on bovine shank bone created by pulsed  $\text{CO}_2$  laser with water spray at different flow rates

实验结果表明,水喷雾条件会改变骨硬组织激光消融的表面形态和结构。水喷雾可以减少热损伤,避免熔融现象和裂纹的发生。水吸收激光能量后产生的反冲力和水喷雾本身的冲刷力可以带走消融细屑,获得更为规则平整的弹坑。此外,激光与水膜层之间以及水膜层与靶组织之间的相互作用可能改变消融弹坑的化学成份,本课题组将在后续研究

中进行探讨。

## 4 结 论

水喷雾条件对脉冲 CO<sub>2</sub> 激光骨硬组织的消融速率, 消融效率以及组织表面形态学变化具有重要影响: 水喷雾可以起到冷却和降低热损伤的作用并兼具清洁的效果; 通过激光辐照参数和喷水速率优化组合, 可以增大消融速率和消融效率, 改善辐照表面的形态结构和平整度。在实验条件下, 最优化喷水速率为 0.6 mL/s, 在此喷水速率下, 激光消融骨组织的速率和效率最高, 消融效果最好。

## 参 考 文 献

- Zhou Zhifu, Xin Hui, Chen Bin *et al.*. Evaporation characteristics of a single droplet in laser treatment of port wine stain in conjunction with cryogen spray cooling[J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(6): 952~956  
周致富, 辛 慧, 陈 斌等. 激光手术喷雾冷却中单个液滴蒸发特性[J]. *中国激光*, 2008, **35**(6): 952~956
- X. Zhang, S. Xie, Q. Ye *et al.*. Influence of scanning velocity on bovine shank bone ablation with pulsed CO<sub>2</sub> laser[J]. *Chin. Opt. Lett.*, 2009, **7**(2): 138~141
- Zhang Xianzeng, Xie Shusen, Zhan Zhenlin *et al.*. Influence of different defocus conditions on bone hard tissue ablation with pulsed CO<sub>2</sub> laser [J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(7): 1116~1120  
张先增, 谢树森, 詹振林等. 不同离焦条件对骨硬组织激光消融的影响[J]. *中国激光*, 2008, **35**(7): 1116~1120
- Qiu Yang, Li Shengwen, Zhang Yi *et al.*. Ho : YAG laser interaction with bio-tissue and its remained thermal effect[J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(7): 1105~1110  
邱 阳, 李胜文, 张 翼等. 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[J]. *中国激光*, 2008, **35**(7): 1105~1110
- M. M. Ivanenko, P. Hering. Wet bone ablation with mechanically Q-switched high-repetition-rate CO<sub>2</sub> laser [J]. *Appl. Phys. B: Lasers and Optics*, 1998, **67**(3): 395~397
- M. E. Kim, D. J. Jeoung, K. S. Kim. Effects of water flow on dental hard tissue ablation using Er : YAG laser[J]. *J. Clinical Laser Medicine & Surgery*, 2003, **21**(3): 139~144
- R. Hibst, U. Keller. Effects of water spray and repetition rate on the temperature elevation during Er : YAG laser ablation of dentine[C]. *SPIE*, 1996
- H. W. Kang, I. Rizoju, A. J. Welch. Hard tissue ablation with a spray-assisted mid-IR laser [J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2007, **52**(24): 7243~7259
- M. Staninec, J. Xie, C. Q. Le *et al.*. Influence of an optically thick water layer on the bond-strength of composite resin to dental enamel after IR laser ablation. [J]. *Lasers Surg. Med.*, 2003, **33**(4): 264~269
- J. Meister, R. Franzen, K. Forner *et al.*. Influence of the water content in dental enamel and dentin on ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. [J]. *J. Biomed. Opt.*, 2006, **11**(3): 34030
- M. Mir, J. Meister, R. Franzen *et al.*. Influence of water-layer thickness on Er:YAG laser ablation of enamel of bovine anterior teeth[J]. *Lasers in Medical Science*, 2008, **23**(4): 451~457
- D. Fried, N. Ashouri, T. Breunig *et al.*. Mechanism of water augmentation during IR laser ablation of dental enamel. [J]. *Lasers Surg. Med.*, 2002, **31**(3): 186~193
- I. M. Rizoju, L. G. DeShazer. New laser-matter interaction concept to enhance hard tissue cutting efficiency[J]. *Laser-Tissue Interaction V*, 1994, **2134A**: 309~317