

# 激光——生物医学实现新突破的锐利武器

黄耀熊

(广州中山医科大学,广州 510087)

**[摘要]** 本文介绍近年来激光生物医学基础研究和临床诊断,各种激光手术及治疗,以及生物医学用激光器件、激光设备和激光技术的最新进展及发展趋向。文中包括作者的一些工作以及对发展我国激光生物医学的一些建议和意见。

**[关键词]** 激光生物医学,激光治疗,激光外科,激光技术和仪器

迄今,生物医学领域可以说是应用激光器和激光技术最多和最广泛的领域。在激光问世已30年的今天,由于大量不同特性的激光器与激光技术的涌现,正在促进和引导着生物医学的许多方面实现新突破。本文主要介绍近年来用于生物医学方面的激光器和激光技术,以及作为一新兴前沿学科的激光生物医学的最新进展及其发展趋向,其中包括作者的一些工作,并对我国今后发展此学科提出建议和意见。

## 1 激光生物医学的基础研究及所使用的激光技术

### 1.1 激光与组织的相互作用研究

对激光与生物组织各种相互作用机制的深入了解是将激光应用于生物医学研究和临床实践的基础。近年的研究主要在比较各种紫外和红外波段激光的光凝固和光切除效应。如对发射波长 $2.69\ \mu\text{m}$ 的CTE-YAG激光<sup>[1]</sup>,新发展起来的工作在 $1.44\ \mu\text{m}$ 的Nd:YAG激光<sup>[2]</sup>,以及常规Nd:YAG激光的4倍频和5倍频(分别为 $266\ \text{nm}$ 和 $213\ \text{nm}$ )激光等的研究。其目的主要是:希望在红外波段能找到有比现在常用的 $10.6\ \mu\text{m}$ 的 $\text{CO}_2$ 及常规的 $1.06\ \mu\text{m}$ 的Nd:YAG具有更高的组织切除率,对外围组织损伤更少,切口更平滑,又有比 $2.1\ \mu\text{m}$ 的Ho:YAG激光和 $2.94\ \mu\text{m}$ 的Er:YAG激光具有更好的光导纤维传输率的激光,从而取代它们以用于各种软、硬组织的切除及止血凝固(如血管焊接)等手术。在紫外波段,则希望能以上述经倍频的固体激光代替虽可对组织(尤其是角膜等软组织)作十分精细的雕切<sup>[3]</sup>,但价格昂贵且气体毒性高而运转又不方便的准分子气体激光。

激光与生物组织的相互作用研究的应用有助于对生物材料的加工处理和各种激光手术。激光对各种新鲜、湿软的生物材料加工比之常规机械刀具有着无可比拟的优点。目前主要研究 $193\ \text{nm}$ 的准分子激光的光蚀作用<sup>[4]</sup>,以及调Q、锁模的脉冲红外激光的等离子体中介冲击波切除作用。如利用激光可直接对湿软组织 $0.3\ \mu\text{m}$ 逐层逐层十分精细地切除,且可快速地同时对大量组织进行加工,对人角膜进行蚀刻切削,做各种角膜屈光手术。这些技术和方法预期会有十分广阔的应用前景。

本文于1994年7月4日收到。

## 1.2 激光散射

散射与吸收一样也是光与组织相互作用的一种形式。当前对激光散射的研究主要有两个方面。一是通过研究激光在生物组织内的散射和内反射确定激光能量在组织内的分布。最近开展的光子密度波的研究表明,一幅度被调制(以 MHz 频率)的激光通过生物组织时,由于多重散射,光在高散射低吸收组织(如人脑白色组织)的相速约为高吸收低散射组织的 1/10。由此便可根据光子密度波的相速来确定生物组织的光学性质,并进而用于对健康组织与肿瘤病变组织的诊断<sup>[6-7]</sup>。

另一方面,也是更主要的研究,是借助分析散射光场的变化获取散射物体非常丰富的生物医学信息。只考虑散射物中分子的回转半径、分子和分子结构等参数的为静态光散射;而考虑因散射物中分子热扩散或其他形式运动导致散射光相对于入射光的微小频移的称为准弹性光散射,又叫动态光散射。这种技术借助自差拍法或外差拍法,通过分析散射光强随时间变化的自相关函数或频谱变化,可以得到散射体各种动态特性的信息。比如,它可测出从脑血管到心脏附近各主要血管的血流速和流场分布、活细胞内细胞质流的流动和跨膜运输、细胞器和细胞骨架的结构和动力学特性,以及从蛋白到 DNA 各种分子及聚集体的大小结构和相互作用情况。这种技术突出的优点是可在活体内或活体外,在无创、不干扰样品自然状态下进行测量,且分辨率很高,只要几百微升以至几滴的极少量样品,即可测浓度低到几个 ng/ml 的溶液,可测量半径小至十多个埃的粒子(分子)。由于具有这些优点,使准弹性激光散射技术可进行许多其他手段不能进行或难以进行的生物医学测量,并解决许多尖端课题,如对机体组织、细胞、亚细胞、多聚体以至分子水平各种层次上的基础或临床研究,都有极大的价值<sup>[8]</sup>。

近年来,准弹性激光散射技术主要向着使测量速度更快,更准确,功能更齐全,适用性更广等方面发展,表现在:(1)用作自相关函数分析的自相关器各种指标大大提高,计算通道数达到 394 个,取样时间间隔高达 25 ns,并具有快、中、慢三速电路,可同时做多角度的散射光作相关函数分析;(2)光学部分最新的发展有两种形式:一是用电脑控制从 0°到近 180°角间引出的 20 多个光导纤维的开合,从而可自动循环记录各角度的散射光;二是以电脑控制步进电机,使之在 0—160°角间以 0.01°的精度在多个角度处引出散射光。这些装置都可同时作动态和静态光散射研究;(3)将整套装置从光学部分到数据分析部分集成化,从而使实验者无须再对极为精细的光学装置作任何设置和调整,只须掌握几个简单的操作程序便可进行实验,使之在测量分子大小结构等方面与分光光度计起互补作用;(4)结合其他技术形成新的边缘技术,如与毛细管电泳技术结合形成毛细管电泳光散射,测量尺度小至 0.1 μm 粒子的电荷密度分布、聚合效应和结构变化,与显微镜结合形成激光散射光谱显微镜,可测活细胞内分子的大小、浓度、聚合状况和运动等。

本文作者在美国麻省理工学院做博士后研究期间,曾参与设计和制造了上述世界上最先进的以光纤引出的准弹性激光散射装置,并用此装置对在单价盐影响下的卵磷脂微团的形成和相变过程进行了系统性的研究。结合动态和静态光散射,在世界上首次直接测定了处于相变临界状态、浓度极低的 C<sub>8</sub>-卵磷脂溶液内微团的扩散系数,流体力学半径,分子量,挠曲度,液-液两相共存曲线,临界微团浓度,微团形成的自由能、焓、化学势及相互作用能等一系列重要参量,并从理论上提出了一系列理论模型和公式,分析阐述了该微团形成和相变受人体生理上几种重要的单价盐调控的规律,对控制生物膜的形成和解体,以及把微团作为定点释放药物的载

体等各种医学、药学、生化工程的应用,有重要指导意义<sup>[9,10]</sup>。

目前,本文作者正进一步研究上述微团受多价盐调控的规律,并拟和有关方面配合,建立准弹性激光散射中心实验室,利用激光散射光谱显微镜和毛细管电泳光散射等多项边缘技术,对人脑细胞多肽跨膜运输等具有重大意义的课题进行研究。此外,还将研制眼晶体浊度分析仪,用准弹性激光散射技术定性定量分析和预测白内障的形成,这对白内障的早期诊断和治疗有重要作用。

### 1.3 激光显微镜

近年来,使光学显微镜技术实现重大突破且可望在90年代使光学显微镜“复兴”的是激光共聚焦扫描显微镜及激光CT显微镜。以往的所有显微镜都有一主要缺陷,即焦点外模糊不清的样品均进入视场,故使所成的像除焦平面上的外还叠加上模糊不清的背景和前景像,严重影响了像的清晰度和对比度。而激光共聚焦显微镜仅照明和接收焦平面上的一点,视场中只看到清晰的一点,背景和前景均为黑色。然后借助扫描的办法,将此光点先在焦平面上各点,然后再在整个样品各深度层次上扫描,最后由图象分析仪根据这些扫描信号重建整个样品三维清晰像。激光共聚焦显微镜是集激光、高速扫描技术和高效图象处理技术于一身的高科技产品,它不但可排除焦点外模糊,使样品各层次清晰成像,且横向分辨率比常规光镜高1.4倍,达130 nm。最突出的优点是可对样品甚至是活体作非侵入性无损断层扫描,即光切片。光切片最薄可达0.2 μm,然后利用图象处理技术对样品像进行三维重构,再现立体像。还可以不同的方向和角度对不同层次作观察,对活体作动态分析,即除了三维坐标外还提供一时间轴。此外,还可对样品作各种组合排列及定量分析。激光共聚焦显微镜与电镜对比,后者需对样品作包埋等处理,而前者对样品几乎不须作任何处理,这在观察活体的自然形态上有无可比拟的优点,解决了许多以往的难题并导致了许多的发现,对生物医学各领域的基础研究和临床检验有极为广阔的应用前景<sup>[11]</sup>。激光共聚焦显微镜的局限是,对没有自体荧光的样品作三维光切片时需注入荧光质。而正在发展中的激光CT显微镜<sup>[12]</sup>利用一扫描的偏斜光束照明的办法,通过分析从样品透射在各个方向上的投影像的相位传递函数,可再现样品各部分吸收率或折射率分布的状况,从而实现透明体的三维断层扫描影像的再现,弥补激光共聚焦显微镜的不足。

### 1.4 激光光谱分析

近年来,随着各种激光器和激光技术的进一步发展和完善,各种激光光谱分析技术已逐渐进入实用阶段<sup>[13,14]</sup>:(1)激光拉曼光谱分析用于对物质分子作结构分析和定性测定。由于可调激光器的发展,使拉曼光谱分析的灵敏度和测定范围得以提高和扩展。同时,谱线较强的共振拉曼光谱法和表面增强拉曼光谱法,以及灵敏度较高的各种非线性拉曼光谱法(受激拉曼散射,反拉曼散射,超拉曼散射等)也得到进一步发展。(2)激光光声光谱法的特点是只与样品的吸收有关,而与散射无关。所以在测量各种生物和生化样品时,由于不用担心散射对谱线的影响,样品无需进行复杂的预处理便可直接用于分析鉴定。现已用此法对全血、人的各种肿瘤等病变组织进行了测定。(3)激光热透镜光谱法。由于热透镜效应与所照射的激光的功率有关,故同普通吸收光谱法相比激光热透镜法提高了一正比于激光功率的因数——灵敏度增强系数,使此法成为可测量弱吸收和痕量物质十分灵敏的技术。(4)激光电离光谱是用激光去照射一分析火焰,所产生的火焰碰撞电离电流信号与待测原子的浓度成定量关系,是有极高灵敏度和选择性(可达1PPT水平)的分析技术,可对生物医学组织作痕量和超痕量物质分析。(5)激

光荧光光谱分析。近年来借助可调谐及高峰功率的脉冲激光作光源,使激光荧光光谱分析灵敏度大大提高,使用范围更广,已广泛用于各种生化样品分析及诊断正常和病变组织。

### 1.5 激光超短脉冲技术

现已能产生飞秒( $10^{-15}$ 秒)级的超短光脉冲,主要用于:监测生物和生化的超快过程(如测量活细胞内的激发光谱、荧光寿命、辐射光谱等光学特性),用飞秒脉冲光子测距技术测量皮肤成分的厚度及准分子激光切割角膜的深度等<sup>[15]</sup>。

应用于生物学上的激光技术还有激光细胞融合术、激光全息、激光散斑、激光干涉造影成像和诊断术,以及已比较实用化的激光流动细胞计数等,对提高灵敏度和功能化有较好的发展。如激光细胞融合术结合激光陷获效应以激光束作为“光镊子”,将细胞悬浮再使之融合。以微束激光对动、植物的染色体进行加工,实现对基因的修改等。

## 2 激光手术和临床治疗

近年来世界激光医学界在这方面最主要的发展是充分利用激光的优点和特点,完成其他手段所不能或难以进行的手术和治疗。如:(1)利用激光可由光纤导入的特性,实现各种无创或几乎无创的腔内手术;(2)利用生物组织对激光的选择性吸收,实现对病变组织的治疗而不影响正常组织,如激光可无损地通过眼球几个层次到达视网膜作血管凝固;(3)利用激光既可切割又可凝血的特点作几乎不出血的手术。现仅对几个方面的应用做简要介绍:(1)普外科。主要发展:①研究联合使用  $\text{CO}_2$  及 Nd:YAG 激光实现对肝等组织的无血切除;②比较  $\text{CO}_2$ , Nd:YAG, KTP/Ar<sup>+</sup> 等激光与超声手术刀、电凝固刀以及微波刀对肝等组织的切割效果,结论是以 Nd:YAG 激光和超声刀的手术效果最好<sup>[16-18]</sup>。(2)激光神经外科。如何使激光准确地投射到所要处理的部位,最新的进展有两方面:一是神经诊断影象术使术前便可准确地描绘出手术部位的图形(准确到亚毫米水平);二是光纤发送系统已能使激光准确地在肿瘤等病变局部产生热效应,从而使组织脱水而抑制肿瘤的繁殖<sup>[19]</sup>。(3)激光眼科。准分子激光用于角膜整形已得到很好的发展。810 nm 的半导体激光正显示其对青光眼、视网膜血管凝固等手术的潜能。激光皮秒和飞秒技术则可在不影响角膜上皮情况下对角膜内基质作重新造型。皮秒技术还使医生可在术前先乳化白内障,并可通过一微小切口移去这些乳化物。此技术还可在眼后部作膜去除或作无刀青光眼过滤术。巩膜造口术因 HO:YAG 激光而得到极好的改善,其他各种 YAG 激光也正被研究是否适用于此项手术,预期 90 年代中期会有突破性成果<sup>[20]</sup>。(4)头颈外科。通过使用一附在工作显微镜上的微控制器已使喉内激光手术更加准确,激光束可聚焦到直径为 300  $\mu\text{m}$  的光斑上(焦距 40 mm),且声门下镜检术使声门下喉部的激光手术成为可能<sup>[21]</sup>。(5)激光动力学疗法(PDT)。新的发展集中在发现新的光敏感剂、激光发送系统和激光器本身,联合作用 PDT 和激光致热疗法,PDT 与化疗、放疗结合的治疗法等。PDT 药物的荧光特性研究是改进肿瘤诊断、肿瘤造影及确定 PDT 剂量的途径。借助光纤可使激光(Nd:YAG)进入到难于直接照射的部位对组织加热,再用磁共振成象术对组织的致热变化显象,根据成象情况以计算机控制激光照射量。目前 PDT 不仅用于对癌的诊断和治疗,还可用于选择性地去除动脉粥样硬化,治疗上消化道及生殖部位的乳头瘤病毒感染,消除血库中血及血制品的病毒,净化血瘤的骨髓,治疗牛皮癣和白血病等<sup>[22]</sup>。(6)激光组织焊接。对软组织的焊接包括皮肤伤口的整容性愈合,血管、肠、神经、胃等组织的无线修复。由于不用线缝,故对一些细微修复的优点尤其突出。此外还证

实,激光融合时,愈合不会象通常线缝修复时那样有对异体组织的反应,这在临床上意义重大。目前此技术的局限是融合伤口的抗张强度稍低,且融合不均匀,正抓紧试验不同波长激光的融合机制,以及考虑加放生物粘合剂或借助吸收激光的染料作融合标记来解决这些问题<sup>[23]</sup>。除以上外,激光在外科、妇科、牙科、血管整形、碎石及矫形术等方面也已有很成功的应用或有很好的应用前景。

### 3 激光新器件新设备

目前医用激光器主要是 YAG,CO<sub>2</sub> 及离子激光器,现正试图发展更便宜,用途更广且更可靠的可调谐固体系统,如紫翠石及掺钛蓝宝石激光器作取代。

另一类极有发展前途,且正日益受到重视的激光器是半导体(二极管)激光器<sup>[24]</sup>。半导体激光器体积小,电-光转换效率高,且具有极好的输出稳定度,因而目前在所有激光器的销售量中占 99%,且销售值也占 25%。更重要的是,随着技术的发展,半导体激光器的输出功率已从 80 年代中期的约 100 mW 上升到瓦级水平。特别是 Diomed 公司和 Agnis 公司推出的二极管激光器,在 805 nm 波长上的输出功率已达 25—30W,而其整机尺寸仅 380 mm×450 mm×150mm,重量仅 11 公斤,所消耗的电功率少于 200 瓦,且无须任何冷却系统,自然冷却便可。由于这些激光器所输出的功率足够高,其波长又适于光导纤维传导,故导致了半导体激光手术的产生。初步研究表明,805 nm 的二极管激光在对胃、结肠、肝、子宫等组织的汽化和切割所产生的止血作用和伤口愈合效应,与 1.06 μm 的 Nd:YAG 激光相似。但由于组织对 805 nm 的激光有更大的吸收率,半导体激光在切割组织时会产生较少粘连,在作热凝时会在热凝区产生较高的温度,因而比 Nd:YAG 激光更为有效,20—25W 的半导体激光便可产生与 40—50W 的 Nd:YAG 激光相同的治疗效果。预期半导体激光器会在普外科、泌尿外科、妇科、整形外科、胸部外科和眼科等手术上有极广泛的应用,很有可能取代各种传统的离子和固体激光器用于作软组织的手术。目前正大力加强其在各种手术应用的研究。其他传统的激光器性能也有很大改善。如 Luxar 公司推出的 LX-20 CO<sub>2</sub> 激光器,仅 40 磅重,对流冷却便携式,并配以可挠曲光纤传输系统,光纤末端输出功率可达 20W。由于采取全金属管装,消除了温度应力和阳极/阴极变坏恶化,寿命更长,工作更稳定。在激光发送系统方面,Coherent 等公司还推出了以计算机控制,可对一选定的照射面以 1 mm 直径光点作扫描覆盖照射的综合发送系统,以及可发出四方光场、平直功率分布的综合发送头等。

### 4 建议

目前我国激光生物医学的研究的情况是,CO<sub>2</sub>,Ne:YAG 及 Hd-Ne 等传统激光的普及型小手术和治疗的应用十分广泛,已进行的病例数和报道的治愈率在世界上名列前茅。但仍未摆脱一窝蜂上的现象,甚至有不少是滥用,且报道的不少病例目前已有其他更有效、更方便的手段可进行。对一些突破性的应用,除 PDT 早期曾在全国或几大区范围内组织过协作攻关外,未有在其他方面作进一步的组织。特别是一些激光新技术,除个别留学回国人员在一定范围进行外,进展不大,与世界先进水平差距较大。根据这些情况,建议:(1)逐渐将我国激光生物医学发展的重点放在已证明非常有效,且又充分发挥激光特长,目前无其他手段可比拟的光纤导人无创腔内手术治疗,以及一些用于基础研究和临床诊断的新技术等方面。(2)发展这些治疗手段,

需要从研制新型激光器、光纤传导系统、纤镜、内窥镜及成象系统等各方面协调发展。应在宏观上作统筹安排,组织全国性或地区性的协作攻关。(3)注意扶持和资助在基础研究和临床实践上应用的激光新技术研究。对一些已有一定基础的实验室作重点扶持以便形成中心,由此带动局部以至全面,尽快赶上世界先进水平。

### 参 考 文 献

- [1] O Kermani *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 8.
- [2] N S Nishioka *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 7.
- [3] Q Ren. *Ophthalmology*. 1993, 100, 12, 1828.
- [4] M C Chavantes *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 6.
- [5] L O Svaasand *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 5.
- [6] B J Tromberg *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 5.
- [7] T T Tsay *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 6.
- [8] 黄耀熊. 走向世界. 1991, 7.
- [9] 黄耀熊. 光电子、激光. 1990, 4, 219.
- [10] 黄耀熊. 生物物理学报. 1991, 7, 140.
- [11] 黄耀熊等编. 医用物理学. 广东高等教育出版社. 1992, 282—284.
- [12] S Kawata *et al.*. *Appl. Optics*. 1990, 29, 26, 3805.
- [13] D C Redd *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 4.
- [14] D S Kliger ed. *Ultrasensitive Laser Spectroscopy*. Academic Press, 1983.
- [15] J M Liebmann. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 64.
- [16] J J Pietrafitta *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 26.
- [17] A N Severtsev *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 26.
- [18] S A Nayeem. *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 26.
- [19] R T Maciumas, *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 63.
- [20] D A Gaasterland *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 63.
- [21] D J Castro *et al.*. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 59.
- [22] J S Mc Caughan. Jr. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 65.
- [23] R W Harbor. *Lasers in Surgery and Medicine*. 1992, Supp. 4, 65.
- [24] I Mannonen. *Medical Laser Buyers Guide*. 1994, 100.

## LASER——TOP GUN FOR THE BREAKTHROUGH IN BIOLOGY AND MEDICINE

Huang Yaoxiong

(Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510087)

**Abstract** The recent development in the basic sciences and clinical practice of laser biomedicine, and the new devices and techniques of biomedical laser are introduces, with proposals on the development of laser biomedicine in China.

**Key words** Laser biomedicine, Laser therapy, Laser surgery, Laser technology and instrument