

基础研究

吲哚菁绿染色对 980nm 半导体激光
消融髓核组织效果的影响任龙喜¹, 焦守国², 尹建¹, 韩正锋¹, 白秋铁¹

(1 北京市垂杨柳医院骨科 100022 北京市; 2 烟台经济开发区医院骨科 264006 山东省烟台市)

【摘要】目的:观察吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)染色对 980nm 半导体激光消融髓核组织效果的影响。**方法:**选取新鲜山羊腰椎标本并制成脊柱功能单位(SFU)144 个, 随机选择 24 个行预实验, 余 120 个随机分为空白组、蒸馏水组 and ICG 染色组, 每组 40 个, 再根据给予能量不同随机分为 5 小组。蒸馏水组与 ICG 染色组分别在髓核内注射 100 μ l 蒸馏水或 ICG, 测定质量后应用 980nm 半导体激光器分别以总能量 70、210、350、490、630J 对本行连续脉冲式激光照射以汽化髓核组织, 术后再测定质量, 并计算照射前后标本质量差(髓核消融量)。**结果:**髓核组织消融量随激光照射能量增大而增多, 在 70、210、350、490、630J 的总能量时空白组的髓核消融量分别为 0.0754 $\pm$ 0.0046g、0.1170 $\pm$ 0.0306g、0.1454 $\pm$ 0.0410g、0.1560 $\pm$ 0.0058g 和 0.1742 $\pm$ 0.0429g, 各能量组间比较 $P<0.01$; 蒸馏水组的髓核消融量分别为 0.0596 $\pm$ 0.0110g、0.0719 $\pm$ 0.0228g、0.1246 $\pm$ 0.0293g、0.1518 $\pm$ 0.0079g 和 0.2133 $\pm$ 0.0513g, 各能量组间比较 $P<0.01$; ICG 染色组的髓核消融量分别为 0.0699 $\pm$ 0.0098g、0.1067 $\pm$ 0.0154g、0.1978 $\pm$ 0.0569g、0.2224 $\pm$ 0.0358g 和 0.2626 $\pm$ 0.0241g, 各能量组间比较 $P<0.01$ 。在较低总能量($E<490J$)照射下蒸馏水组消融量较其他两组少, 而当总能量达 630J 时, 蒸馏水组消融量高于空白组, 但仍低于 ICG 染色组。在相同激光能量照射下, 总能量低于 350J 时, ICG 染色组髓核消融量较空白组无明显差别, 而当能量高于 350J 时染色剂组较空白组有显著性差异($P<0.01$)。空白组汽化率为 0.4mg/J, ICG 染色后为 0.5mg/J。**结论:**半导体激光消融髓核组织量随能量增大而增多; ICG 可以提高半导体激光的汽化率, 在总能量高于 350J 时 ICG 染色能够增强 980nm 半导体激光消融髓核组织的效果。

【关键词】 半导体激光; 吲哚菁绿; 汽化; 髓核

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2009.04.12

中图分类号: TN248.4, R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2009)-04-0290-04

Effect of indocyanine green-dyeing on the 980nm diode laser ablating nucleus pulposus/REN Longxi, JIAO Shouguo, YIN Jian, et al/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2009, 19(4):290~293

【Abstract】Objective: To investigate the effect of indocyanine green(ICG) dyeing on 980nm diode laser ablating nucleus pulposus. **Method:** Fresh goat lumbar samples were selected and 144 spine functional units (SFU) were made and randomly classified to three groups: the blank group, the distilled water group and the ICG-dyeing group, each group was further divided into 5 subgroups according to the laser energy. The distilled water group and the ICG dyeing group were injected 100 μ l distilled water or ICG to the nucleus pulposus respectively and weight was determined. Then the nucleus pulposus of the specimens were radiated by a 980nm diode laser at the total energy of 70、210、350、490、630J on impulse, and the weight was determined again. **Result:** The ablation of nucleus pulposus accreted with the addition of laser energy. The ablation of each group at the total energy of 70、210、350、490、630J respectively was accounted as follows. The blank group: 0.0754 $\pm$ 0.0046g, 0.1170 $\pm$ 0.0306g, 0.1454 $\pm$ 0.0410g, 0.1560 $\pm$ 0.0058g and 0.1742 $\pm$ 0.0429g, Comparison among the energy groups was $P<0.01$. The distilled water group: 0.0596 $\pm$ 0.0110mg, 0.0719 $\pm$ 0.0228g, 0.1246 $\pm$ 0.0293g, 0.1518 $\pm$ 0.0079g and 0.2133 $\pm$ 0.0513g, energy group comparison ($P<0.01$). The ICG-dyeing group: 0.0699 $\pm$ 0.0098g, 0.1067 $\pm$ 0.0154mg, 0.1978 $\pm$ 0.0569g, 0.2224 $\pm$ 0.0358g and 0.2626 $\pm$ 0.0241g, energy group comparison ($P<0.01$). At the equal energy level, the ablation of the blank group was less than the other two groups at a lower energy($E<490J$). However, the distilled water group was more than the blank group when the energy was higher than 630J, but less than

第一作者简介: 男(1959-), 教授, 主任医师, 医学博士, 研究方向: 脊柱外科

电话: (010)87720225 E-mail: LX_Ren@sina.com

the ICG-dying group. At the equal energy level, there was no difference in ablation between the ICG-dying group and the blank group when the energy was lower than 350J. However there was dramatic difference when the energy was higher than 350J ($P < 0.01$). The vaporize rate of the blank group was 0.4mg/J and the ICG-dying group was 0.5mg/J respectively. **Conclusion:** The ablation of nucleus pulposus accreted with the increase of energy. ICG-dying could raise the vaporize rate, which enhanced the ability of 980nm diode laser ablating nucleus pulposus.

【Key words】 Diode laser; Indocyanine green; Vaporize; Nucleus pulposus

【Author's address】 Department of Orthopedics, Chuiyangliu Hospital, Beijing, 100022, China

1984年 Choy 最早提出经皮激光椎间盘减压术(percutaneous laser disc decompression, PLDD)并于 1987 年首次报道^[1]。当前临床应用 PLDD 所用能量各家报道不一,但无论何种激光,随照射总能量的加大均有对周围组织造成损伤的潜在可能。作者试图通过对髓核组织先行吲哚菁绿(ICG)染色后再行 PLDD,以期达到低能量安全消融髓核组织的目的。

1 资料与方法

1.1 主要实验仪器与药品

德国 Ceram Optec 公司生产的 CeralasD15 型 980nm 半导体激光器及 400 μ m 光导纤维,最大输出功率 30W; Sartorius 224S 电子天平(德国赛多利斯公司生产),精确度为 0.0001g; 100 μ l 微量进样器(上海高鸿工贸有限公司生产)。注射用吲哚菁绿粉剂(25mg, 沈阳济世制药有限公司, 国药准字: H20045514)。

1.2 实验材料与分组

选取新鲜山羊腰椎标本, 分离周围肌肉组织后制作成脊柱功能单位(包括完整椎间盘和上、下终板及部分椎体)共 144 个。

1.2.1 染色剂浓度确定 随机选取标本 24 个, 随机分为 3 组, 注射浓度分别为 0.5mg/ml、1.0mg/ml 和 2.0mg/ml ICG 100 μ l。激光照射总能量为 350J 时, PLDD 前后各组标本质量均有明显变化, 三组的髓核消融量分别为 0.1436 ± 0.0383 g、 0.1978 ± 0.0569 g 和 0.1442 ± 0.0496 g, 经统计学分析显示三组间无显著性差别, $F = 2.43$, $P > 0.05$, 但 1.0mg/ml 时消融量较多。本研究选定浓度为 1.0mg/ml 的染色剂。

1.2.2 分组 将剩余的 120 个标本随机分为 3 组, 即空白组、注射蒸馏水组及注射 ICG 染色剂组(浓度=1.0mg/ml), 然后行 PLDD, 每组组内再根据照射总能量不同分为 5 个小组, 照射总能量分

别为 70J、210J、350J、490J 和 630J。

1.3 实验方法

用微量进样器向蒸馏水组及染色剂组标本髓核组织内分别注射 100 μ l 的蒸馏水或 ICG, 并以电子天平测量标本质量并做记录。然后在 C 型臂 X 线机透视下将 18G 穿刺针插入椎间盘, 侧位位于上下终板中间并与之平行, 针尖位于椎间盘中后 1/3 处, 正位位于椎间盘正中间, 然后置入光导纤维, 确认位置合适后开始发射激光。工作方式设定为连续脉冲式, 发射时间 1.0s, 脉冲间隔时间 0.5s, 总共照射时间为 105s。照射完毕后再次称量标本的质量, 前后差值即为髓核消融量。

1.4 统计学处理方法

测量数据以 SPSS 11.0 软件包进行处理, 各组数据经正态性、方差齐性检验后行 q 检验, $P < 0.05$ 为有统计学差别。

2 结果

消融后髓核组织明显收缩(图 1~3)。空白组、蒸馏水组与染色剂组在不同能量消融后髓核组织消融量见表 1。三组均随能量的增大而消融量增多, 同组不同能量的消融量有差异; 不同组相同能量的消融量亦有差异。

在较低总能量($E < 350$ J)照射下蒸馏水组消融量较空白组组少($P < 0.05$); 总能量为 350J 时, ICG 染色组、蒸馏水组与空白组消融量比较无统计学差异($P > 0.05$); 总能量为 490J 时蒸馏水组与空白组比较无差别($P > 0.05$); 而当总能量达到 630J 时, 蒸馏水组消融量高于空白组($P < 0.05$), 但仍低于 ICG 染色组($P > 0.05$)。

在相同激光能量照射下, 总能量低于 350J 时, ICG 染色组髓核消融量与空白组无显著性差异, 而当能量分别为 490J 和 630J 时染色剂组较空白组有显著性差异($P < 0.01$)。

ICG 染色髓核后应用 980nm 半导体激光行



图 1 ICG 染色髓核组织着色 图 2 ICG 染色后行 PLDD 过程示意 图 3 PLDD 后着色的髓核组织体积缩小

表 1 不同能量下空白组、蒸馏水组及 ICG 染色剂组髓核消融量 ($\bar{x} \pm s, g$)

	70J	210J	350J	490J	630J
空白组	0.0754±0.0046	0.1170±0.0306	0.1454±0.0410	0.1560±0.0058	0.1742±0.0429
蒸馏水组	0.0596±0.0110	0.0719±0.0228	0.1246±0.0293	0.1518±0.0079	0.2133±0.0513
ICG 染色剂组	0.0699±0.0098	0.1067±0.0154	0.1978±0.0569	0.2224±0.0358	0.2626±0.0241

PLDD 的汽化率较空白组为高, 分别为 0.5mg/J (ICG 染色) 和 0.4mg/J (空白)。

3 讨论

3.1 ICG 的特性及其临床应用

ICG 是一种暗绿色的无毒色素, 1957 年美国 Fox 等最早介绍其用于测定肝功能及判断预后。其最大吸收波长 (805nm) 与最大荧光波长 (835nm) 均在近红外光范围内, 峰吸收波长与二极管激光发出的波长一致, 故可用于 ICG 染料增强的二极管激光光凝, 广泛用于眼科造影、激光美容、血管焊接成形及皮肤血流灌注测定等。其分子为三维立体结构, 两个多环结构具有亲脂性, 硫酸盐基团具有亲水性, 因此具有亲脂和亲水的双重特性。髓核组织有较高含水量及蛋白多糖, 故其极易与髓核组织结合。

3.2 ICG 染色对半导体激光消融髓核组织的影响

激光对髓核的汽化效果衡量标准主要有两个: 汽化率与消融率。汽化率为汽化质量与激光能量的比值, 而消融率为汽化体积与激光能量的比值。因汽化质量测定较体积便捷、准确, 故本实验采用汽化率。该值主要取决于激光的波长、组织的吸收常数、激光穿透深度、组织的含水程度以及激光工作模式^[2]。目前认为 PLDD 消融生物组织的机理主要是光热消融, 即在可见和近红外波段。激光

消融是由于组织或色素吸收光能而使局部瞬时加热, 从而导致组织汽化。ICG 的最大峰吸收波长为 805nm, 与本实验所用激光器 980nm 相近, 因而染色后可以增加髓核对激光能量的吸收, 提高汽化率。Sato 等^[3]的实验证实髓核经 ICG 染色后其对激光吸收增加 100 多倍。Hill 等^[4]发现当激光照射到含水量较多的组织时, 如果该波长恰好与水吸收光谱的峰值相吻合, 能量可大部分被表面组织吸收, 温度迅速上升, 导致组织内水分连同组织本身一起被汽化, 达到消融的目的。Lee 等^[5]分别用亚甲蓝和 13# 红染料染色 PMMA 后测定其吸收曲线发现, 被亚甲蓝染色后其吸收范围介于 560~670nm 之间, 而 13# 红染料染色后吸收峰值在 505nm 左右。此后应用波长为 514nm 的氩离子激光行汽化消融术发现后者的消融范围较前者明显增大。龚卓等^[6]通过应用 980nm、810nm 半导体激光和 1064nm 钕激光照射鸡蛋蛋白清后测量蛋白凝固团的直径和高度, 发现三种波长的激光照射活性蛋白形成的体积大小差异明显, 其中与水吸收峰值相吻合的 980nm 激光热凝固效应最强。本实验结果所得汽化率为 0.4mg/J, 较 Choy 报道的明显为高, 可能与所应用的激光仪器、实验方法与条件不同等因素有关。

ICG 染色后组织变为深蓝绿色, 颜色加深, 吸收增强, 较空白组而言组织生物光动力学效应提高, 消融量得以增加。Sato 等^[3]应用 805nm 半导体

激光照射被 ICG 染色的髓核组织,术后发现被染色的椎间盘组织比没有染色的椎间盘组织更易被汽化,从而认为在 PLDD 术中用 ICG 染色椎间盘髓核组织能更为有效地、更有选择性地促进椎间盘组织的消融。本实验结果表明,ICG 染色后行 PLDD 术,可以提高激光的汽化率,进一步证实了 Sato 等的观察结果。但 Sato 等在其研究中所消融髓核组织为从椎间盘内游离后行激光照射,而在本研究中应用脊柱功能单位进行实验,能够更加真实地反映髓核组织的激光消融情况。龚卓等^[7]通过应用 980nm 和 810nm 半导体激光照射鸡肝、鸡胸肉和瘦猪肉,观察并记录凝固的时间,发现对同一种激光而言,颜色最深的鸡肝凝固时间最短,颜色最浅的鸡胸肉最长,证实了深颜色组织较浅颜色者具有更强的激光生物热效应。

在本实验中,作者发现当激光照射总能量较低(<350J)时空白组髓核消融量最高,ICG 染色组次之,蒸馏水组最低;能量逐渐加大时三者差距逐渐缩小,当总能量达到 490J 时,ICG 染色组即超过了空白组,蒸馏水组仍然为最低;而当总能量达到 630J 时,蒸馏水组超过空白组,但均低于 ICG 染色组。消融量与能量比率 ICG 染色组最高,蒸馏水组次之,空白组最低。考虑原因可能为当能量较低时激光能量的一部分被组织吸收用于较缓和的水热能积累而非汽化作用,而当能量增加到一定程度后激光照射对组织的效应主要表现为急剧汽化作用,反映为髓核组织消融量的增加。ICG 染色后既增强了组织对激光能量的吸收又加深了组织的颜色,从而可以在应用较低总能量时即达到较满意的汽化效果,汽化率最高。林征宇等^[8]通过应用 810nm 半导体激光照射兔肝脏组织并测定温度变化,发现当被照射组织温度升高到 55℃左右时温度上升的速度降低,而温度达到 70℃左右时速度升高加快,并认为其原因是 55℃时组织水肿代偿了部分热量,而 70℃时组织变性、水肿机制丧失,温度升高加快。该现象也从另一个方面证实了 980nm 激光对水的较强吸收作用。这也就可

以解释临床上因椎间盘组织含水量随年龄增长逐渐减低,应用 PLDD 治疗颈腰椎间盘突出症时年轻患者疗效要优于年老患者的原因^[9]。

3.4 本实验的临床意义

目前 PLDD 已经成为一种治疗椎间盘突出症的较为成熟的微创治疗方法,但临床照射所用能量各家报道不一,随照射总能量的加大有造成对周围组织损伤的潜在可能,已有不少因能量过大导致术后肢体疼痛、麻木不适等不良反应的临床报道。本实验证实应用 ICG 染色后可以用较低的激光能量达到较满意的汽化效果。降低激光照射总能量可提高安全性^[3],也可降低治疗费用,有利于 PLDD 的进一步推广应用。

4 参考文献

1. Choy DSJ, Case RB, Fielding W, et al. Percutaneous laser nucleolysis of lumbar disc [J]. N Engl J Med, 1987, 317(12): 771-772.
2. 王晨光, 洪庆坚, 朱海波, 等. 经皮穿刺半导体激光腰椎间盘突出减压术的临床研究[J]. 中国激光医学杂志, 2001, 10(1): 31-34.
3. Sato M, Ishihara M, Arai T, et al. Use of a new ICG-dye-enhanced diode laser for percutaneous laser disc decompression [J]. Laser Surg Med, 2001, 29(3): 282-287.
4. Hill RA, Stern D, Lesiecki ML, et al. Effects of pulse width on Erbium YAG laser photothermal trabecular ablation (LTA) [J]. Laser Surg Med, 1993, 13(13): 440-444.
5. Lee CL, Roberts C, Litsky AS. Laser ablation of dyed acrylic bone cement [J]. Lasers Surg Med, 1997, 20(3): 280-289.
6. 龚卓, 王勉镜, 高孟林. GaAlAs, InGaAs, Nd:YAG 三种激光热凝固效应的比较[J]. 中国激光医学杂志, 2003, 12(2): 100-102.
7. 龚卓, 王勉镜. 980nm 和 810nm 两种半导体激光生物热效应的比较[J]. 中国激光医学杂志, 2006, 15(3): 141-143.
8. 林征宇, 武乐斌, 李成利, 等. 肝脏激光间质热消融治疗中组织温度变化规律的实验研究[J]. 医学影像学杂志, 2006, 16(9): 982-985.
9. 杨茂伟, 吕刚, 范广宇, 等. Nd:YAG 激光治疗腰椎间盘突出症的临床分析[J]. 中国激光医学杂志, 2002, 11(2): 99-101.

(收稿日期: 2008-10-06)

(英文编审 郭万首)

(本文编辑 卢庆霞)