

## Изменение оптических свойств гиалинового хряща при нагреве лазерным излучением ближнего ИК диапазона

В.Н.Баграташвили\*, Н.В.Баграташвили\*, В.П.Гапонцев\*\*, Г.Ш.Махмутова\*\*\*, В.П.Минаев\*\*, А.И.Омельченко\*, И.Э.Самарцев\*\*, А.П.Свиридов\*, Э.Н.Соболь\*, С.И.Цыпина\*

*Исследована in vitro динамика изменения оптических свойств гиалинового хряща при его нагреве излучением волоконных лазеров с длинами волн  $\lambda = 0.97$  и  $1.56$  мкм. Обнаружены и изучены эффекты лазерно-индуцированного просветления (для  $\lambda = 1.56$  мкм) и затемнения (для  $\lambda = 0.97$  мкм) хряща, вызванные нагревом и переносом воды, а также изменением матрикса хряща. Эти эффекты следует учитывать при оценке глубины прогрева ткани. Проведены исследования динамики светорассеяния в хряще, которые позволяют обеспечить выбор оптимальной дозы излучения при выполнении операций по лазерной пластике хрящевых тканей.*

**Ключевые слова:** волоконный лазер, хрящ, поглощение и рассеяние излучения, релаксация напряжений.

### 1. Введение

Явление ИК лазерно-индуцированной релаксации напряжений в хрящевой ткани, открытое и изученное в работах [1–4], представляет чрезвычайно перспективным с точки зрения его использования для разработки совершенно нового типа медицинских операций и процедур – управляемого изменения формы хрящевой ткани. Одно из этих применений – изменение формы хряща деформированной носовой перегородки человека (септохондрокоррекция) – уже находится на стадии внедрения в клиническую практику [5, 6].

Биохимический и клеточный отклики хрящевой ткани при их лазерном нагреве весьма чувствительны к пространственно-временному распределению температуры. При облучении хрящей лазерами ближнего ИК диапазона основной вклад в нагрев ткани дает поглощение излучения молекулами воды [7]. При этом следует иметь в виду, что поглощение и рассеяние ИК излучения могут существенно изменяться в процессе лазерного нагрева, т. е. задача нагрева становится существенно нелинейной. Это вызвано как микро-, так и макроскопическими процессами в биоткани при ее нагреве. К микроскопическим процессам относятся, в частности, деагрегация воды, а также переход «связанной» воды в «свободное» состояние (доля «связанной» воды в хряще составляет около 4% [8]). Этот переход происходит в хрящевой ткани при температуре около 70 °С и сопровождается увеличением подвижности и, возможно, освобождением протеогликанов в матриксе хряща. Макроскопические процессы включают в себя тепло- и массоперенос (воды) из нагретой лазером зоны хряща. Очевидно, что все эти про-

цессы могут приводить и к изменению светорассеяния в хряще [9, 10].

В экспериментах по изменению формы хрящевой ткани использовались лазеры различных типов. В работе [11] показано, что применение СО<sub>2</sub>-лазера для облучения хряща толщиной 1 мм приводит к сильному перегреву поверхности ткани и последующему разрушению хряща. Это вызвано очень сильным ( $\sim 10^3$  см<sup>-1</sup>) поглощением в хряще на этой длине волны. Как было продемонстрировано ранее в [2], существует лишь небольшой интервал в диаграмме температура хряща – длительность лазерного воздействия, в котором возможно изменение формы хряща без его разрушения. Использование импульсного гольмиевого лазера (2.09 мкм) [2, 6, 12] и Nd:YAG-лазера (1.32 мкм) [3] позволяет осуществлять более однородный нагрев хряща. Однако вопрос о наиболее эффективном лазере для обеспечения пластики хряща пока еще не решен, особенно в контексте широкого клинического применения. При анализе применимости для этой цели различных лазеров наше внимание привлекли диодные лазеры ближнего ИК диапазона. Эти компактные, удобные в работе и мощные лазеры (вплоть до десятков ватт) [13] являются чрезвычайно перспективными для разнообразных медицинских применений.

В настоящей работе исследованы in vitro оптические свойства гиалинового хряща при воздействии излучения диодного лазера (0.97 мкм) и волоконного эрбиевого лазера (1.56 мкм) с целью определения оптимальных условий для управляемого изменения формы хряща.

### 2. Эксперимент

На рис.1 показана схема установки для исследования оптических и механических свойств хрящей при воздействии на них лазерного излучения. В экспериментах использовался гиалиновый хрящ (носовая перегородка четырехмесячных поросят). Хрящевая пластина разрезалась на части в виде прямоугольных брусков шириной 3–5 мм, длиной 10–12 мм и толщиной от 0.5 до 2 мм.

Для облучения применялся диодный лазер ( $\lambda = 0.97$  мкм) со световодным выходом (ИРЭ – Полус, модель

\*Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, Россия, 142190 Троицк Моск. обл., ул. Пионерская, 2; e-mail: tsyrina@omega.laser.ru

\*\*ИРЭ – Полус, Россия, 141190 Фрязино Моск. обл., пл. Акад. Венденского, 1

\*\*\*Медицинский центр управления делами президента РФ, Россия, 129090 Москва, Грохольский пер., 31

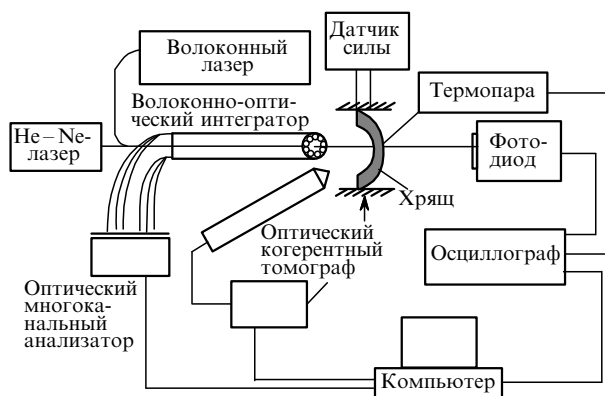


Рис.1. Схема установки для исследования оптических свойств хрящевой ткани при лазерном воздействии.

«Лазон») и выходной мощностью до 10 Вт, а также эрбиевый волоконный ИК лазер с  $\lambda = 1.56$  мкм (ИРЭ – Полус, модель ЛС-1.56) и максимальной выходной мощностью 5 Вт [13]. Размер лазерного пятна варьировался от 1 до 10 мм путем изменения расстояния между торцом световода и поверхностью хряща.

Температура внутри хрящевой ткани измерялась с помощью игольчатой термопары диаметром 30 мкм, введенной на глубину 0.5 мм в небольшой разрез, сделанный скальпелем с противоположной от облучаемой поверхности образца стороны. Контроль динамики температуры поверхности облучаемого хряща осуществлялся с помощью волоконного ИК радиометра.

Для регистрации изменения механических свойств хряща под действием лазерного излучения использовался калиброванный тензометрический датчик (рис.1). Он измерял силу, с которой давит на него деформированный хрящ (реакция опоры). Внутреннее напряжение в образце хряща создавалось с помощью перемещения тензометрического датчика [9].

Пропускание ИК лазерного излучения образцом хряща при различных уровнях ИК облучения регистрировалось германиевым ИК фотоприемником, расположенным непосредственно за образцом. Чтобы исключить деформацию пластины хряща во время лазерного облучения и высыхания, образцы помещались в специальный держатель (на рис.1 не показан), представляющий собой две металлические пластины с отверстиями для лазерного пучка. Сигналы, поступающие с тензометрического датчика, термопары и ИК приемника, регистрировались на осциллографе и компьютере.

Для измерения углового распределения видимого света ( $\lambda = 0.632$  мкм), рассеянного назад от образца хряща, мы использовали специально разработанную волоконно-оптическую систему (см. рис.1). Система состоит из набора волоконных световодов, торцы которых образуют два концентрических кольца и располагаются непосредственно перед поверхностью облучаемого образца. В центре находятся световоды, по которым канализуется зондирующее излучение He-Ne-лазера (0.632 мкм) и излучение волоконного лазера. Непосредственно во время облучения образца ИК лазером рассеянное в образце излучение He-Ne-лазера через волоконную систему поступало на приемник оптического многоканального анализатора.

### 3. Результаты и их обсуждение

#### 3.1. Динамика ИК пропускания

Для обеспечения оптимальных условий при воздействии лазерного излучения на хрящ с целью изменения его формы необходимо, чтобы глубина проникновения излучения в ткань была порядка толщины обрабатываемого материала. Основной вклад в поглощение хрящевой ткани в ИК области спектра вносит содержащаяся в ней вода. Например, на  $\lambda = 1.56$  мкм коэффициент поглощения «свободной» воды равен  $\sim 10$  см<sup>-1</sup>. Так как концентрация воды в свежеприготовленном хряще равна примерно 70–80 %, то глубина проникновения лазерного излучения с такой длиной волны в хрящевую ткань составляет примерно 1.2–1.3 мм. Наши прямые измерения пропускания тонких образцов хряща при очень низкой интенсивности лазерного излучения (мощность  $P = 0.01$  Вт) дают несколько меньшую глубину проникновения – 1 мм, что может быть обусловлено небольшим вкладом рассеяния в общее пропускание (коэффициент рассеяния излучения в хряще на  $\lambda = 1.56$  мкм более чем на порядок меньше коэффициента поглощения). Напротив, для излучения на  $\lambda = 0.97$  мкм коэффициент рассеяния в хряще ( $5 - 10$  см<sup>-1</sup>) существенно превышает коэффициент поглощения ( $0.35$  см<sup>-1</sup>).

Как показали наши эксперименты, динамика пропускания ИК лазерного излучения через хрящевую пластину различна для используемых нами длин волн 0.97 и 1.56 мкм. На рис.2,а показаны временные зависимости пропускания лазерного излучения на  $\lambda = 1.56$  мкм образцами хрящевой ткани при разных выходных мощностях лазера. Видно, что эти зависимости определяются интенсивностью лазерного излучения. Так, при низкоинтенсивном облучении пропускание хряща не меняется во

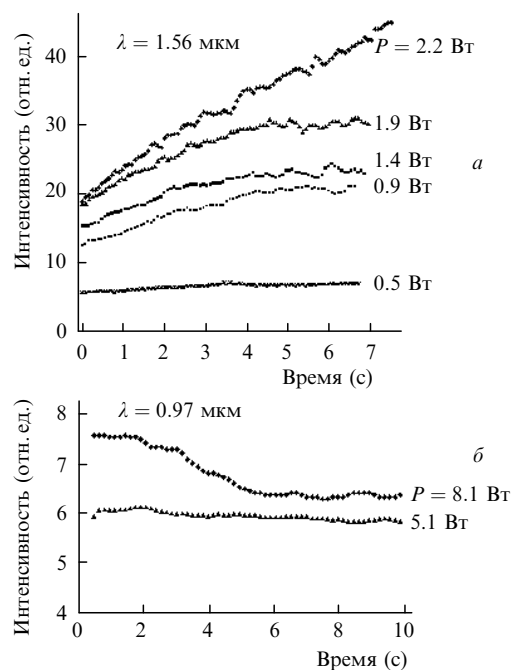


Рис.2. Временные зависимости интенсивности прошедшего через образец хряща излучения с  $\lambda = 1.56$  (а) и  $0.97$  мкм (б) при разных выходных мощностях  $P$  лазеров (толщина хряща 1.7 мм, размер пятна на образце 3 мм).

времени. Однако при большей лазерной мощности пропускание начинает увеличиваться со временем облучения. Другими словами, по мере облучения ткань просветляется на данной длине волны. При этом чем больше интенсивность излучения, тем выше скорость просветления ткани. При наибольшей мощности излучения, приведенной на рис.2,а, пропускание образца после 7 секунд облучения выросло почти в 2.5 раза по сравнению с исходным значением.

Динамика пропускания лазерного излучения на  $\lambda = 0.97$  мкм также зависит от мощности лазерного излучения (рис.2,б). При мощности  $P < 5$  Вт пропускание практически не меняется во времени, т. е. нагрев ткани в этих условиях, по-видимому, незначителен. Однако при  $P > 5$  Вт наблюдается отчетливое уменьшение пропускаемого сигнала, т. е. происходит затемнение ткани.

На наш взгляд, наблюдаемое различие в динамике ИК пропускания через хрящевую пластину на  $\lambda = 0.97$  и 1.56 мкм связано с разным вкладом в пропускание поглощения и рассеяния и их температурных зависимостей. Наблюдаемое на  $\lambda = 1.56$  мкм самоиндуцированное просветление облучаемого хряща вызвано, главным образом, нагревом содержащейся в нем воды. Нагрев воды вызывает, во-первых, деагрегацию ее молекул, что приводит к уменьшению силы осциллятора молекулы воды в ИК поглощении, а также к некоторому сдвигу полосы поглощения [14]. Во-вторых, возникший градиент температуры стимулирует перенос воды в образце из облучаемой зоны в необлучаемую. Кроме того, нагрев образца увеличивает скорость испарения воды с его поверхности. Для лазера с  $\lambda = 0.97$  мкм пропускание определяется, главным образом, рассеянием, поэтому увеличение рассеяния (см. ниже) должно приводить к уменьшению пропускания, что и наблюдается в эксперименте.

### 3.2. Лазерный нагрев и релаксация напряжений

Релаксация внутренних напряжений в облучаемой лазером хрящевой ткани зависит, главным образом, от температуры ткани и пространственно-временного распределения этой температуры. Для конкретного образца хряща этот процесс определяется, во-первых, параметрами лазерного облучения (длиной волны, интенсивностью, дозой), во-вторых, оптическими свойствами хряща (ИК поглощением и рассеянием) и, наконец, скоростью переноса тепла из облучаемой зоны.

В наших экспериментах мы измеряли температуру хрящевой ткани с помощью тонкой термопары и волоконного ИК радиометра. Необходимо отметить, что несмотря на попадание лазерного излучения на термопару, она из-за этого не перегревается и дает температуру окружающей ткани. Это прямо следует из анализа температурных зависимостей, а также из идентичности температурных зависимостей, измеренных термопарой и ИК радиометром (рис.3).

Из рис.3,а видно, что на начальной стадии облучения ( $0 < t \lesssim 10$  с) температура образца в центре лазерного пятна растет линейно со временем, затем ее рост замедляется около  $60^\circ\text{C}$  и она быстро падает после выключения лазера. Отклонение от линейности при  $t \gtrsim 10$  с обусловлено теплопереносом и температурно-индуцированным уменьшением ИК поглощения воды (см. рис.2,а и б). Взаимосвязь между длительностью лазерного облучения, напряжением в хряще и температурой показана на рис.4.

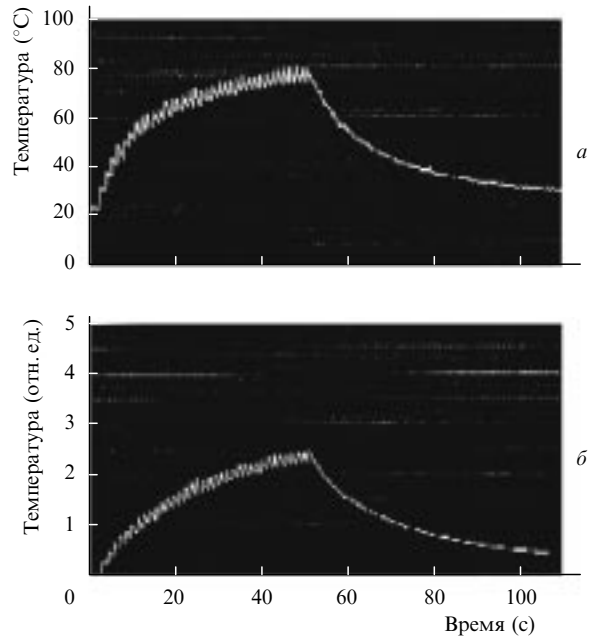


Рис.3. Осциллограммы изменения температуры при облучении образца хряща импульсно-периодическим лазерным излучением: сигнал с термопары (а) и сигнал ИК радиометра (б).

В самом начале облучения происходит незначительное увеличение реакции опоры, обусловленное температурным расширением хряща. Дальнейшее облучение приводит к постепенному уменьшению реакции опоры. Наши эксперименты показывают, что чем выше интенсивность лазерного воздействия, тем быстрее уменьшается реакция опоры. Долговременная стабильность новой формы достигается только при нагреве ткани до  $70^\circ\text{C}$  и выше. Если лазерный нагрев хряща остановить при более низкой температуре, то через некоторое время (от нескольких минут до нескольких часов) первоначальная форма хряща, помещенного в физиологический раствор, полностью восстанавливается.

### 3.3. Динамика светорассеяния

Для того чтобы предотвратить лазерный перегрев хряща, желательно определить дозу облучения, достаточную для получения стабильной релаксации напряжений (без разрушения ткани) непосредственно во время

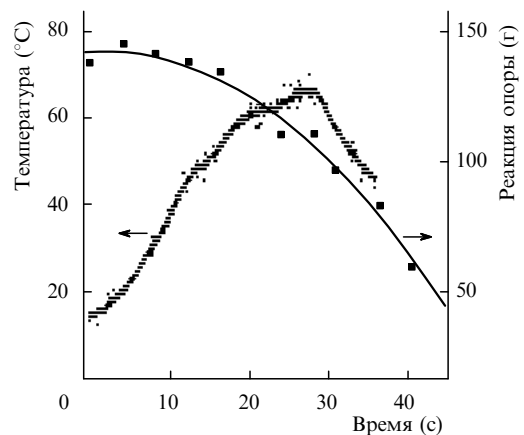


Рис.4. Температура образца хряща и релаксация напряжений при его нагреве излучением с  $\lambda = 1.56$  мкм (толщина образца 1.7 мм,  $P = 2.7$  Вт, размер пятна на образце 5 мм).

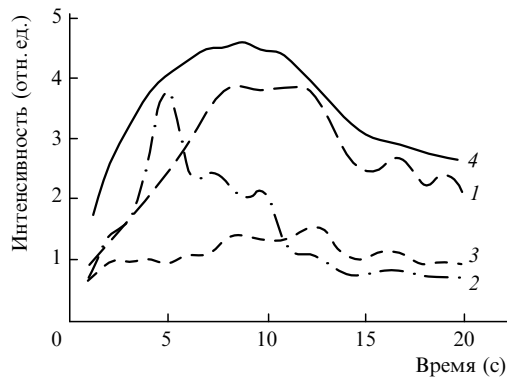


Рис.5. Временные зависимости интенсивности обратнорассеянного от образца хряща света при его лазерном нагреве (обозначения см. в тексте).

облучения образца, и выключить лазер в нужный момент. Изменения внутренней структуры и механических свойств ткани сопровождаются изменениями ее оптических свойств, поэтому в качестве контрольного параметра для системы обратной связи может быть использована интенсивность обратнорассеянного излучения зондирующего лазера.

Эксперименты по измерению интенсивности рассеянного света от облучаемого лазером хряща с помощью интегрирующей сферы продемонстрировали прямую корреляцию процессов релаксации напряжений (или изменения формы хряща) и обратного рассеяния света [9, 10]. Однако использовать интегрирующую сферу в клинических условиях практически невозможно. Мы разработали и применили достаточно простую волоконно-оптическую систему (см. рис.1) для сбора обратнорассеянного от облучаемого ИК лазером образца хряща света.

На рис.5 показаны временные зависимости интенсивности обратнорассеянного от облучаемого образца света, измеренные под разными углами относительно центра лазерного пятна (кривые 1–3). Во время облучения зависимости ведут себя по-разному и достигают максимума в разные моменты времени. Кроме того, нет корреляции их максимумов с температурой хряща. В то же время сигнал обратного рассеяния, полученный при интегрировании по всем волоконным световодам данной оптической системы (кривая 4), достигает максимума около  $70^{\circ}\text{C}$ , т.е. при температуре, при которой происходит необратимая релаксация напряжений в хрящевой ткани. Вполне естественно объяснить такое различное поведение сигналов обратного рассеяния, собранных под разными углами, деформацией поверхности хряща во время облучения. Это прямо следует из изображений облученного лазером хряща, полученных с помощью оптического когерентного томографа (рис.6). Видно, что при определенных дозах облучения образуется лунка, вызванная испарением воды.

Сигналы, записанные с помощью нашей волоконно-оптической системы, представляют собой сумму сигналов от рассеянного в объеме и отраженного от поверхности хряща света (поверхностное отражение ясно просматривается на томограммах). Очевидно, что изменение кривизны поверхности приводит к изменению углового распределения интенсивности отраженного от поверхности света. Пространственное интегрирование позволяет учесть этот эффект, и кривая для интегрального сигнала (кривая 4 на рис.5) дает полную информацию о

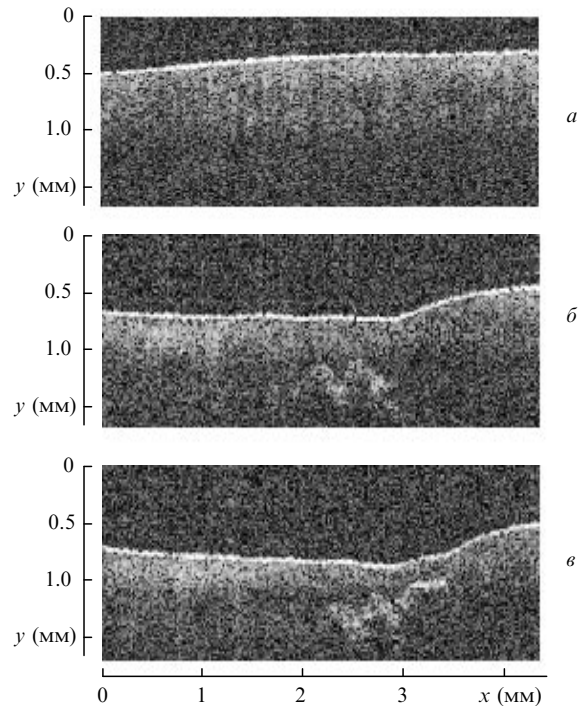


Рис.6. Изображения сечения приповерхностного слоя облучаемого лазером образца хряща ( $P = 2.2$  Вт, размер пятна 4.6 мм), полученные с помощью оптического когерентного томографа, в начальный момент времени (а), через 34 (б) и 52 с (в) после начала облучения.

временном поведении обратнорассеянного излучения. Отметим, что совершенно аналогичная динамика светорассеяния (первоначальный рост и последующее падение интенсивности) наблюдалась и при нагреве гиалинового хряща излучением лазера на  $\lambda = 0.97$  мкм.

Одно из возможных объяснений наблюдаемой немоной динамики светорассеяния состоит в следующем. Первоначальный рост сигнала рассеяния от облучаемого образца может быть вызван уходом воды из зоны облучения. Действительно, вода и матрикс хряща имеют разные коэффициенты преломления, поэтому удаление «свободной» внутритканевой воды из облучаемой зоны должно, очевидно, приводить к росту интенсивности сигнала рассеяния. Наблюдаемое дальнейшее уменьшение рассеяния при температуре выше  $70^{\circ}\text{C}$  вызвано, на наш взгляд, освобождением воды, «связанной» с матриксом хряща [4, 9]. Это приводит к снижению жесткости матрикса, его сжатию, уменьшению размеров рассеивающих центров и, в результате, к падению интенсивности рассеянного света. При этом момент достижения максимума светорассеяния должен совпадать с моментом начала уменьшения жесткости матрикса и релаксации напряжений, что и следует из экспериментов [15].

#### 4. Заключение

При умеренном нагреве гиалинового хряща излучением лазера ближнего ИК диапазона происходит изменение его оптических свойств.

Наблюдаемые нами эффекты лазерно-индуцированного просветления (для  $\lambda = 1.56$  мкм) или затемнения (для  $\lambda = 0.97$  мкм) хряща вызваны переносом внутритканевой воды и изменением матрикса хряща. Эти эффекты следует учитывать при оценке глубины прогресса ткани.

Применение волоконного лазера с  $\lambda = 1.56$  мкм весьма эффективно для обеспечения быстрого однородного нагрева тонких хрящей (толщиной менее 1–2 мм). В случае же более толстых хрящей (2–10 мм) с успехом может быть использован лазер с  $\lambda = 0.97$  мкм. Проведенные в данной работе исследования динамики светорассеяния в хряще при температуре, обеспечивающей релаксацию механических напряжений (около 70 °С), позволяют реализовать простую оптоволоконную контрольную систему для выбора оптимальной дозы излучения при выполнении операций по лазерной пластике хрящевых тканей.

Авторы благодарят Л.Н.Бутвину и А.Г.Охримчука за помощь в проведении радиометрических измерений, а также РФФИ (гранты № 99-02-16855, 00-02-16263), Фонд поддержки ведущих научных школ РФ (грант № 00-15-96596) и Американский фонд гражданских исследований (грант RB 2030) за финансовую поддержку.

1. Helidonis E., Sobol E., Kavvalos G., Bizakis J., Christodoulou P., Velegrakis G., Segas J., Bagratashvili V. *Amer. J. Otolaryngol.*, **14**, 410 (1993).
2. Sviridov A., Sobol E., Jones N., Lowe J. *Lasers in Medical Science*, **13**, 73 (1998).
3. Wong B., Milner T., Kim H., Nelson J., Sobol E. *J. Biomedical Optics*, **3**, 409 (1998).
4. Bagratashvili V.N., Sobol E.N., Sviridov A.P., Popov V.K., Omelchenko A.I., Howdle S.M. *J. Biomechanics*, **30**, 813 (1997).
5. Овчинников Ю.М., Свистушкин В.М., Шехтер А., Никифорова Г.Н., Соболев Э.Н., Баграташвили В.Н., Свиридов А.П., Омелченко А.И. *Врач*, № 12, 35 (1999).
6. Sobol E., Sviridov A., Bagratashvili V., Omelchenko A., Ovchinnikov Yu., Shekhter A., Svistushkin V., Shinaev A. *Proc. SPIE*, **3907**, 297 (2000).
7. Palmer K.F., Williams D. *J. Opt. Soc. Amer.*, **64**, 1107 (1974).
8. Maroudas A., Schneiderman R. *J. Orthop. Res.*, **5**, 133 (1987).
9. Sobol E., Bagratashvili V., Sviridov A., Omelchenko A., Shechter A., Howdle S., Helidonis E. *Proc. SPIE*, **2623**, 548 (1996).
10. Wong B.J.F., Milner T.E., Anvari B., Sviridov A.P., Omelchenko A.I., Bagratashvili V.N., Sobol E.N., Nelson J.S. *Lasers in Medical Science*, **13**, 66 (1998).
11. Helidonis E., Volitakis I., Naumidi E., Velegrakis G., Bizakis J., Christodoulou P. *Amer. J. Otolaryngol.*, **15**, 423 (1995).
12. Sobol E.N., Bagratashvili V.N., Sviridov A.P., Omelchenko A.I., Shechter A.V. *Proc. SPIE*, **2623**, 544 (1996).
13. Web-страница [www.ire-polusgroup.com](http://www.ire-polusgroup.com).
14. Vodopyanov K.L. *J. Chem. Phys.*, **94**, 5389 (1991).
15. Sviridov A.P., Sobol E.N., Bagratashvili V.N., Omelchenko A.I. et al. *Proc. SPIE*, **2923**, 114 (1997).