

文章编号: 0258-7025(2002)07-0667-06

# 大鼠肝脏热损伤的光散射研究

朱 苒, 骆清铭, 曾绍群, 余江胜, 阮 玉

(华中科技大学生物医学光子学教育部重点实验室, 武汉 430074)

**提要** 利用连续波(650 nm)透射测量技术,对不同温度(55~95℃)作用下大鼠肝脏组织的热损伤过程进行了动态监测。薄样品的采用,使得通过透射测量直接得到散射系数的变化量随时间及温度的变化关系成为可能。结果表明,热作用过程中,散射系数的变化量随时间的变化关系可用于描述生物组织的热损伤过程,利用所得结果推导出了大鼠肝脏组织的热损伤参数(其反应的活化能为135.2(kJ/mol),熵为116.7(J/K·mol))在此基础上对组织的热损伤情况进行了探讨。

**关键词** 大鼠肝脏,连续光透射测量,散射系数,热损伤,损伤参数

中图分类号 Q 631 文献标识码 A

## Study on Kinetics of Thermally Induced Damage of Rat Liver with Light Scattering Technique

ZHU Dan, LUO Qing-ming, ZENG Shao-qun, YU Jiang-sheng, RUAN Yu

(The Key Laboratory of Biomedical Photonics of Ministry of Education of China, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074)

**Abstract** Kinetics of thermally induced damage of rat liver at different constant temperature (55~95℃) were studied with continuous wave transillumination technique. It showed that thermal damage could be described by scattering coefficient. According to the relation of change in scattering coefficient and time at different temperature, the activation energy ( $E = 135.2$  (kJ/mol)) and entropy of activation ( $\Delta S = 116.7$  (J/K·mol)) were calculated. The thermal damage of rat liver was analyzed. This work provides a new method to measure thermal damage properties.

**Key words** rat liver, continuous wave transillumination, scattering coefficient, thermally induced damage, damage properties

## 1 引言

热疗已广泛应用于各种良性及恶性肿瘤的治疗,除此之外,对前列腺肥大也显示出独特的功效。为确保治疗的安全性及有效性,热致病变组织损伤的理论研究非常重要<sup>[1~3]</sup>,理论的准确性取决于各种参数的测量。而现有的生物组织热损伤参数(反应的活化能、熵)非常缺乏<sup>[4~6]</sup>,生物组织的复杂性与多样性是原因之一。同时,有关生物组织热损伤参数测量的文献也并不多见,一般都是从单一生物成分(如细胞或蛋白质)入手,根据热作用下发生某种程度的热损伤来确定其损伤参数的,有关组织水

平的热损伤参数则很少见<sup>[6,7]</sup>。在研究组织水平的热损伤时人们往往只能沿用单一成分的数据,从而导致理论的预测值与实验值存在较大差距<sup>[2,4]</sup>。

随着激光技术的发展及其在生物学中的广泛应用,人们开始将光学方法引入到生物组织的热损伤研究中<sup>[8]</sup>。对可见光及近红外光,生物组织表现出高散射的特性,其散射系数远大于吸收系数<sup>[9]</sup>,因此将这一波段光用于组织特性的研究对组织本身所带来的影响较小。以前有人希望通过吸收系数随温度的变化情况来研究生物组织的热损伤,但后来更多的研究证明热作用下生物组织散射特性的改变更显著,而对吸收系数的影响却较小<sup>[10,11]</sup>。事实上,

收稿日期 2001-04-02;收到修改稿日期 2001-06-18

基金项目 国家自然科学基金重点项目(No. 59836240)和国家杰出青年科学基金(No. 60025514)资助项目。

作者简介 朱苒(1966.10—),女,博士后,主要从事医学光子学的研究。E-mail: zhudawn@hotmail.com

生物组织在经历热损伤时,其形态的改变是非常大的,散射系数本身与组织的结构及形态密切相关<sup>[11]</sup>,因此用散射系数的变化来研究生物组织的热损伤进程更为合理。也曾有人通过对蛋白热凝固过程中散射系数随时间变化的动态监测来了解热致蛋白的损伤过程,测得了蛋白的热损伤参数<sup>[5]</sup>,然而蛋白与生物组织毕竟存在着很大的差别,蛋白质仅仅是生物组织的成分之一,因此对生物组织凝固损伤的研究将更有意义。

## 2 材料与方法

### 2.1 样品的制备

实验所用组织样品由本校同济医学院病理教研室提供。切片的制作采用的是组织光学的常规方法<sup>[10]</sup>:首先将新鲜的大鼠肝脏在液氮下迅速冷却至 $-18^{\circ}\text{C}$ ,紧接着用显微冰冻切片机将其制成厚度为 $120\ \mu\text{m}$ 的切片,样品尺寸约为 $10\ \text{mm}\times 10\ \text{mm}$ 见方,然后将样品置于盖波片的中心,盖波片厚 $150\ \mu\text{m}$ 。为保证样品不受挤压,事先在另一些盖波片上设置了凹槽,槽深为 $120\ \mu\text{m}$ ,然后将其盖在放有样品的盖玻片上。最后将样品盒插入光纤支撑架的缝隙中,测量是在恒温水浴槽中进行的。

样品及玻片的厚度都很小,主要基于以下两方面的考虑:一方面,薄的样品将能避免多次散射;另一方面,小样品盒可以在很短的时间内与水温达到平衡。根据 Essenpreis<sup>[12]</sup>的理论推导,样品与水浴槽中的水温达到平衡所需时间约为 $30\ \text{ms}$ 。

由于样品是经过速冻处理的,没有冰晶出现,因此可以不考虑样品的制作过程对组织可能造成的损伤;另外肝脏组织较为均匀,可以认为所有样品都具有相同的光学特性参数。制作好的样品放置冰箱中以 $4^{\circ}\text{C}$ 的温度保存,并用沾有生理盐水的纱布覆盖在样品盒上。在 $24\ \text{h}$ 内,可以忽略脱水对样品特性所带来的影响,一般而言,样品保存的最长时间不得超过 $72\ \text{h}$ <sup>[10]</sup>。我们的实验是在样品制作后 $24\ \text{h}$ 内完成的。

### 2.2 实验装置

为了对组织样品热凝固过程进行动态监测,我们研制了一种较为简单的透射测量系统,该系统主要由以下几部分组织:激光器、样品支撑架、锁定放大器、计算机采集系统相关的探测电路及传输光纤,对样品的测量是在恒温水浴槽中进行的。实验系统框图如图1所示。

波长为 $650\ \text{nm}$ 的半导体激光器(功率为 $5\ \text{mW}$ )经调制后,耦合到芯径为 $2\ \text{mm}$ 的光纤上,然后通过样品支撑架将光直接照射在样品的中心,在紧靠样品盒的另一侧是一根芯径为 $5\ \text{mm}$ 的光纤,用于接受来自样品的透射光强,在与探测器耦合后,将此信号送入锁定放大器,最后被计算采集系统所采集。

对光源的调制及对探测信号的锁定放大,将能有效地消除背景光对测量所带来的影响。这里所用的调制频率为 $100\ \text{kHz}$ ,锁放的积分时间为 $100\ \text{ms}$ ,计算机的采样频率为 $100\ \text{Hz}$ 。在样品支撑架的中心有一个 $500\ \mu\text{m}$ 的缝隙,以便插入样品盒,支撑架的两端可以分别固定两根光纤,保证光对样品的入射是垂直的。入射光纤的芯径小而出射光纤的芯径大,可以尽可能多地收集透过样品的光信号。由于激光器功率很小,可以忽略测量光源本身对样品的热效应。

LB801型超级恒温水浴器由双层锅构成,并通过水泵使水循环,恒温误差范围为 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。为确保在测量过程中组织样品含水量的变化对测量可能造成的影响,在用于样品测量的内层锅中盛放 $3000\sim 4000\ \text{ml}$   $0.9\%$ 的生理盐水。

### 2.3 测量步骤

1)将盛有生理盐水的内层水浴锅的温度调到所需值。

2)样品盒插入固定光纤的缝隙中,然后放入恒温水浴槽的内层锅中,同时开始测量透射光强。

3)根据锁定放大器上的读数,可以判断透射光强是否趋于恒定,当显示的数值不再变化时,停止对该片样品的测量。

4)改变温度设置,以 $5^{\circ}\text{C}$ 的温度为间隔,重复步骤1)~(3),完成 $55\sim 95^{\circ}\text{C}$ 的测量。为保证测量的准确性,在每一个温度下,至少对2片样品进行实时监测。

## 3 理 论

由于两光纤靠近样品盒,入射光纤较细,而探测光纤较粗,可以认为通过样品的透射光强将全部为探测光纤所接收。组织样品厚度为 $120\ \mu\text{m}$ ,与近红外光子在生物组织中的平均自由程相当,这样当光通过样品时,可认为只存在单次散射<sup>[13]</sup>。这种测量方法并不牵涉到复杂的传输理论,根据测量值,便可由 Beer 定律直接推得组织的光学特性参数,如总的衰减系数 $\mu_{\tau} = \mu_{a} + \mu_{s}$ 和有效衰减系数 $\mu_{\text{eff}}$ <sup>[11]</sup>

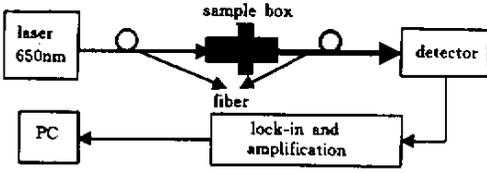


图 1 组织热损伤动态监测的透射测量系统

Fig. 1 CW transillumination system for monitoring of thermal kinetics of tissue

$$\mu_t = -\frac{1}{d} \ln [K(d)/I_0] \quad (1)$$

式中  $d$  为样品厚度,  $I_0$  为入射光强,  $K(d)$  为穿过厚度为  $d$  的样品的透射光强。

前面已经说过, 对可见及近红外光而言, 生物组织的散射系数远大于吸收系数。而组织热凝固后, 散射系数  $\mu_s$  会产生较大的变化, 一般为凝固前的 2 ~ 4 倍, 吸收系数  $\mu_a$  仅有微小的变化, 而且这种变化相对于散射系数而言要小得多<sup>[10, 11]</sup>。因此可以认为, 当组织样品处在某种高温下加热时, 总的衰减系数的变化主要取决于散射系数的变化量。这样便可得到生物组织薄样品在较高温度  $T$  加热时, 散射系数的变化量与透射光强间的关系

$$\Delta\mu_s(t)|_T \approx \Delta\mu_s(t)|_T = -\frac{1}{d} \ln [K(t)/K(0)] \quad (2)$$

式中  $K(0)$  与  $K(t)$  分别为初始时刻与  $t$  时刻所测到的透射光强。

生物组织受热凝固变形是一个损伤累积的动态过程。为方便起见, 一般假定加热过程中, 生物组织仅包含两部分: 即受热损伤变形部分  $C_d$  与未变形部分  $C_n$ 。随着损伤程度的不同, 这两部分的量也在发生着相应的变化, 它们与损伤积分  $\Omega$  之间有如下关系<sup>[6]</sup>

$$C_d/(C_d + C_n) = 1 - \exp(-\Omega) \quad (3)$$

对组织进行恒温加热(加热时间为  $t$ )时, 上式便可改写为

$$C_d/(C_d + C_n) = 1 - \exp[-k'(T)t] \quad (4)$$

式中  $k'(T)$  为 Arrhenius 损伤速率, 可用下式表示

$$k'(T) = d\Omega/dt = A \exp(-E/RT) = (2\pi k_b T/h) \times \exp(-E/RT) \exp(-\Delta S/RT) \quad (5)$$

这里  $E$  代表特定组织损伤的活化能,  $T$  (K) 为绝对温度,  $A$  为经验常数,  $\Delta S$  (J/K) 为组织凝固变形的熵,  $R = 8.31$  (J/mol·K) 为普适气体常数,  $k_b = 1.38$

$\times 10^{-23}$  (J·K<sup>-1</sup>) 为玻尔兹曼常数,  $h = 6.63 \times 10^{-34}$  (J) 为普朗克常数。

考虑到散射系数与组织形态及结构的变化密切相关, 而热凝固会显著改变组织形态, 从而影响到散射系数的变化。假定: 在一定温度  $T$  下恒温加热时, 组织凝固前后的散射系数分别为  $\mu_{sn}$  与  $\mu_{sd}(T)$ , 则加热过程中生物组织总的散射系数便可表示为

$$\mu_s(t, T) = \frac{C_d}{C_d + C_n} \mu_{sd}(T) + \frac{C_n}{C_d + C_n} \mu_{sn} \quad (6)$$

将(3)式代入(6)得

$$\mu_s(t, T) - \mu_{sn} = [\mu_{sd}(T) - \mu_{sn}] [1 - e^{-\Omega}] \quad (7)$$

令  $\Delta\mu_s(t, T) = \mu_s(t, T) - \mu_{sn}$  及  $\Delta\mu_{s, \max}(t, T) = \mu_{sd}(T) - \mu_{sn}$  (7) 式即可变换为如下形式

$$\Delta\mu_s(t, T) = \Delta\mu_{s, \max}(T) [1 - e^{-\Omega}] \quad (8)$$

恒温加热时则有

$$\Delta\mu_s(t, T) = \Delta\mu_{s, \max}(T) [1 - e^{-k'(T)t}] \quad (9)$$

## 4 结果与分析

本文对 23 片大鼠肝脏薄样品在不同温度 (55℃, 60℃, 65℃, 70℃, 75℃, 80℃, 85℃, 90℃, 95℃) 下加热时透射光强随时间的变化情况进行了动态监测。我们在文献 [14] 中给出了不同温度下所测得的透射光强及相应散射系数的变化量随时间变化的详细结果, 为简便起见, 这里只给出了主要的结论, 并画出了一种温度下的典型图例。

图 2(a) 给出了 80℃ 温度下实验测得的透射光强随时间的变化关系。当样品刚开始加热时, 透射光强会迅速减小, 再逐渐趋于某一个恒定值。不同温度下, 透射光强的变化规律是相似的, 只是衰减程度有所不同, 温度越高衰减得越快, 趋于定值所用的时间越短。实验过程中, 很难保证每片样品的初始透射光强完全一样, 因此不可能直接对测量数据定量比较。

在实验中采用薄样品, 便可以利用(2)式, 由所测得的实验数据直接推出不同温度下大鼠肝脏散射系数的变化量随时间的变化关系, 从而实现了测量数据的定量比较。图 2(b) 描述了 80℃ 时散射系数的变化量随时间的变化关系, 图中“+”代表的数据点, 是由图 2(a) 的测量数据直接推算得到的。当样品刚开始加热时, 散射系数的变化量会迅速增加, 再逐渐趋于恒定。不同温度下, 散射系数变化量的大小及其变化速率是不同的, 温度越高, 散射系数的变化量越大, 趋于定值所用的时间越短。但较高温

度(60~95℃)时,所对应的恒定值差别并不大,而55℃时散射系数所趋于的恒定值就小得多。

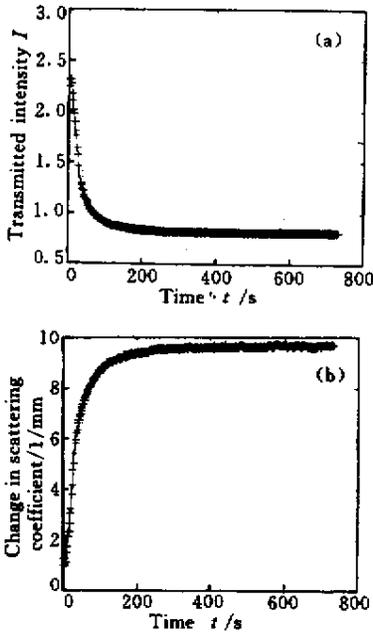


图2 热作用下透射光强(a)及散射系数的变化量(b)随时间的变化关系

Fig.2 Typical chart of transmitted intensity( $I$ )(a) and change in scattering coefficient( $\Delta\mu_s$ )(b) as a function of time

我们对不同温度(55~95℃)下,散射系数的变化量与时间的依赖关系按相同的指数规律进行了拟合,拟合曲线都能与实验结果很好地吻合(图2(b)中的实线就是由各数据点拟合得到的)。差别仅在于各系数的不同,将不同温度下拟合的表达式综合起来考虑,便可用如下的形式来表示散射系数的变化量随时间及温度的变化关系

$$\Delta\mu_s(t, T) = \alpha(T) \times [B(T) - e^{-k(T)t}] \quad (10)$$

式中 $k(T)$ ,  $B(T)$ ,  $\alpha(T)$ 各量均与温度相关,但温度对 $B(T)$ 的值影响较小,不同温度下所得到的值约为(0.9~1); $k(T)$ 与 $\alpha(T)$ 均随温度的升高而增加,相比之下,其变化量要大得多。

## 5 讨论

### 5.1 热损伤参数的获取

在不同温度下,通过对薄样品的透射测量,能够直接获取大鼠肝脏组织散射系数的变化量随时间的变化关系,拟合的表达式(10)式与前面的理论分析(9)式非常相近。比较以上两式可以看出(10)

式中的 $k(T)$ 正好对应恒温 $T$ 加热下组织样品的热损伤速率;而 $\alpha(T)$ 是指不同温度下组织样品形变后的散射系数的最大变化量; $B(T)$ 的值接近于1,但并不完全等于1。

尽管存在差异,实验结果还是能很好地反映组织的热损伤过程。其实我们关心的只是散射系数变化量的变化趋势,它反映的是散射系数变化速率,即 $k(T)$ ,称其为散射系数的变化速率参数。

对不同温度下所有样品散射系数的变化量随时间的变化关系进行拟合,就能得到与温度 $T$ 相对应的变化速率参数 $k(T)$ ,为方便后面分析,在图3中画出了变化速率参数的 $k(T)$ 指数形式与温度倒数的对应关系[ $\ln k(T)$ 与 $1/T$ ]。图中的圆圈是针对不同样品计算所得到的数据,实线是对数据点的线性拟合,两者能较好地吻合。为了能从图中得到直线的斜率与截距,我们作出这条完整的直线,并对数据点的部分在图中放大画出。

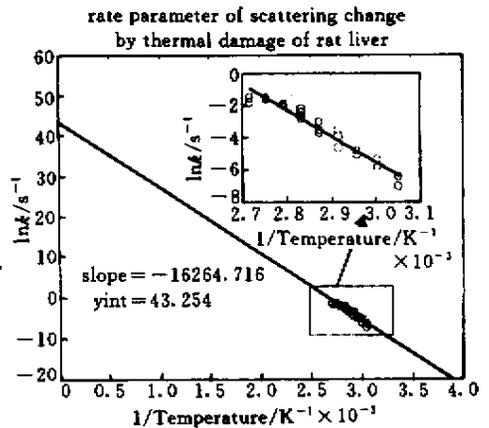


图3 散射系数的变化速率参数与温度之间的关系[ $\ln k(T)$  and  $1/T$ ]

Fig.3 Rate parameter of scattering coefficient as a function of  $T$  [ $\ln k(T)$  and  $1/T$ ]

对数据线性拟合的表达式为

$$\ln k(T) = 43.25 - 16265 \times 1/T \quad (11)$$

此式与(5)式的对数表达形式 $\ln k'(T) = \ln A - E/RT$ 完全吻合。由此证明,生物组织在不同温度下加热时,散射系数的变化速率参数能够正确反映生物组织的热损伤速率,我们将其理解为生物组织的损伤参数,便能进一步得到大鼠肝脏组织的活化能 $E$ 、经验常数 $A$ 及熵 $\Delta S$

$$E = 135.2 \text{ (kJ/mol)}$$

$$A = 6.10 \times 10^{18} \text{ (s}^{-1}\text{)}$$

$$\Delta S \approx 116.7 \text{ (J/K} \cdot \text{mol)}$$

以上结果与文献 4~6 中的数据基本吻合,利用这些数据,便可以很容易地对大鼠肝脏组织的热损伤进行定量分析。

## 5.2 热损伤分析

A. R. Moritz 等<sup>[15]</sup>在对遭热损伤的猪皮的基底真皮细胞的完全坏死情况进行研究后,把  $\Omega = 0.53$  作为不可逆损伤阈值,就蛋白质来说,当  $\Omega = 1$  时有 63% 的分子变形。

恒温加热时有

$$\Omega = \left[ A \exp(-E/RT) \right] \quad (12)$$

利用前面所得的反应活化能  $E$  及经验常数  $A$ , 进一步可作出大鼠肝脏的热损伤积分为  $\Omega = 1$  时所处的温度及作用时间的关系曲线,如图 4 所示。图中直线代表大鼠肝脏达到  $\Omega = 1$  的热损伤时的临界值,在直线下方,出现的热损伤较小( $\Omega < 1$ ),而曲线之上,则出现了更大程度的热损伤( $\Omega > 1$ )。由此可见,温度与加热时间决定了大鼠肝脏样品的热损伤,即组织的热损伤程度并不由单一的温度决定,也与加热时间相关,这一点也是与文献 6 中的描述完全吻合。

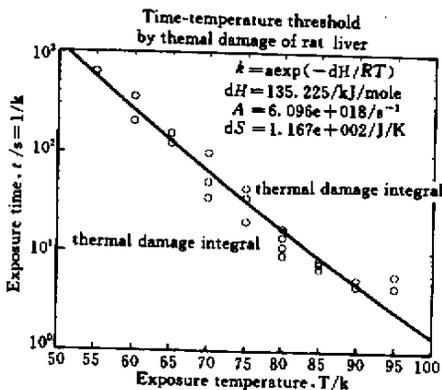


图 4 大鼠肝脏组织的热损伤与加热温度及时间的关系

Fig.4 Time-temperature threshold by thermal damage of rat liver

应该指出的是,理论研究的出发点是基于 Arrhenius 反应速率,即认为所有的反应速率都是按指数规律进行的,我们所推得的散射系数也是按指数规律变化的,但拟合的表达形式(10)与理论分析式(9)存在一定的差异。这是因为 Arrhenius 反应定律是基于单一物质发生化学反应时得到的<sup>[15]</sup>,但大鼠肝脏组织所包含的成分非常复杂,仅蛋白质就有很多种,而不同蛋白质凝固变形的活化能并不相同,当我们对大鼠肝脏热损伤过程进行分析时,所研究

的是多种物质热损伤的总体效应,这里我们得到的  $k(T)$  实际上是整个大鼠肝脏组织平均的热损伤速率。我们根据散射系数的变化速率参数计算得到的活化能与熵,也是大鼠肝脏组织热损伤参数的平均值,这样也就可以解释测量数据与文献中的数据存在一定差异的原因了。

虽然研究单一细胞、或单一蛋白质的热损伤参数并不困难,但在组织水平对热损伤的分析却并非易事。临床中的热疗是对组织而言的,因此,对组织水平上所作的平均热损伤研究更有意义。以往有关生物组织热损伤参数的研究,即活化能和熵的获取,是在某种可测量的损伤标记或终值下,通过测量在某种损伤程度下的温度进程得到的<sup>[17,18]</sup>。这些损伤程度的标记可以是热导致的组织变白、细胞萎缩、胶原质的透明度发生变化、肌肉胶原质的双折射率变化、紫癜变形、组织空泡、蒸发及切除等<sup>[19,20]</sup>。事实上,对这些量的测定实际上引入了很多人为的因素,因此对损伤累积的量化分析并不准确。

## 6 结 论

连续波透射测量技术能够直接获取热作用下生物组织散射的动态特性,由此,便能够通过散射系数的监测了解生物组织的热损伤进程。实验结果充分证实了热作用下散射系数的变化可用于描述生物组织的热损伤进行,散射系数的变化速率可以反映生物组织的热损伤速率,在此基础上,推算出了生物组织的热损伤参数。利用连续波透射测量技术对生物组织热损伤的动态监测,为组织热损伤参数的测量提供了一条新途径。

致谢 感谢同济医科大学病理教研室刘云华教授及其同事为我们提供了实验所需的组织样品。美国 Oregon 激光医学研究中心 Steven. L. Jacques 教授在本实验室讲学期间,对本文的写作提出了许多宝贵的建议,在此特别致以最诚挚的谢意。

## 参 考 文 献

- 1 Gerhard Muller, Andre Roggan. Laser-induced interstitial thermotherapy [ M ]. Bellingham, Washington : SPIE, 1995. 3~6
- 2 Beop-Min Kim, Steven L. Jacques, Sohi Rastegar et al.. Nonlinear finite-element analysis of the role of dynamic changes in blood perfusion and optical properties in laser coagulation of tissue [ J ]. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics, 1996, ( 4 ) 922~933
- 3 A. Roggan, G. Muller. Dosimetry and computer based

- irradiation planning for laser-induced interstitial thermotherapy (LITT), Gerhard Muller, Andre Roggan, Laser-induced interstitial thermotherapy [ M ]. Bellingha, Washington : SPIE, 1995. 114 ~ 156
- 4 Matthew G. inner, Megumi N. Iizuka, Michael C. Kolios *et al.*. A theoretical comparison of energy sources—microwave, ultrasound and laser—for interstitial thermal therapy [ J ]. *Physics in Medicine Biology*, 1998, **43**(12) 3535 ~ 3547
  - 5 R. Meijerink, M. Essenpreis, J. W. Pickerking *et al.*. Rate process parameters of egg white measured by light scattering, Gerhard Muller, Andre Roggan, laser-induced interstitial thermotherapy [ M ]. Bellingha, Washington : SPIE, 1995. 66 ~ 80
  - 6 A. J. Welch. The thermal response of laser irradiated tissue [ J ]. *IEEE J. Quantum Electron.*, 1984, **QE-20**(12) :1471 ~ 1481
  - 7 Y. Yang, A. J. Welch, H. G. Rylander. Rate process parameters of albumen [ J ]. *Lasers Surg. Med.*, 1991, **11**(2) :180 ~ 190
  - 8 John W. Pinkering, Paul Posthumus, Martin J. C. van Gemert. Continuous measurement of the heat-induced changes in the optical properties (at 1.064 nm) of rat liver [ J ]. *Lasers Surg. Med.*, 1994, **15**(2) 200 ~ 205
  - 9 Wang Jiangang, Wang Guiying, Xu Zhizhan. Monte-Carlo method for research on imaging of inhomogeneity in the scattering medium [ J ]. *Chinese J. Lasers* (中国激光), 2001, **A28**(2) :169 ~ 172 (in Chinese)
  - 10 Inci F. Cilesiz, Ashley J. Welch. Light dosimetry : effects of dehydration and thermal damage on the optical properties of the human aorta [ J ]. *Appl. Opt.*, 1993, **32**(4) 477 ~ 487
  - 11 A. Roggan, K. Dorschel, O. Minet *et al.*. The optical properties of biological tissue in the near infrared wavelength range—review and measurements, Gerhard Muller, Andre Roggan, laser-induced interstitial thermotherapy [ M ]. Bellingha, Washington : SPIE, 1995. 11 ~ 44
  - 12 Essenpreis M.. Thermally induced changes in optical properties of biological tissue, Ph. D dissertation, University College London, 1992. 68 ~ 69
  - 13 Luo Qingming, Gong Hui, Liu Xiande *et al.*. Simulation and examination of laser propagation in biological tissue [ J ]. *Acta Photonica Sinica* (光子学报), 1995, **24**(2) :125 ~ 129 (in Chinese)
  - 14 Dan ZHU, Qingming LUO, Jiangsheng YU *et al.*. The coagulation process of biological tissue measured by light scattering [ C ]. *SPIE*, 1999, **3863** 518 ~ 522
  - 15 A. R. Moritz, F. C. Henriques. Studies of thermal injury. II. The relative importance of time and source temperature in causation of cutaneous burns [ J ]. *Amer. J. Pathol.*, 1947, **23** 695 ~ 720
  - 16 Xu Yunsheng. Thermal Analysis of skin Burns, PhD thesis. Huazhong University of Science and Technology (华中理工大学博士论文), 1992. 15 ~ 18 (in Chinese)
  - 17 A. G. Borovoi, E. I. Naats, U. G. Opiel. Scattering of light by a red blood cell [ J ]. *J. Biomed. Opt.*, 1998, **3**(3) 364 ~ 371
  - 18 N. T. Wright, S. S. Chen, J. D. Humphrey. Time-temperature equivalence of heat-induced changes in cells and proteins [ J ]. *ASME : J. Biomech. Eng.*, 1998, **120**(1) 22 ~ 26
  - 19 Ramtin Agah, Devang Sheth, Massoud Motamedi. Effect of coagulation on laser light distribution in myocardial tissue [ C ]. *SPIE*, 1991, **1425** :172 ~ 179
  - 20 Steven L. Jacques. How tissue optics affect dosimetry for photochemical, photothermal, and photomechanical mechanisms of laser-tissue interaction, recent advances in the uses of light in physics, chemistry, engineering and medicine [ C ]. *SPIE*, 1991, **1599** 316 ~ 322