

吡啶菁绿与亚甲基蓝对生物组织激光钎焊强度及热损伤的影响

李聪, 王克鸿*, 黄俊**

南京理工大学材料科学与工程学院, 江苏 南京 210094

摘要 激光生物组织焊接与传统的缝合相比具有手术时间短、伤口愈合快、组织损伤少、无需拆线等优点。为了改善激光生物组织的焊接强度与质量, 增加组织全厚度方向的激光吸收率, 并探究染料对生物组织激光钎焊强度及热损伤的影响, 以牛血清蛋白溶液为基体, 壳聚糖为稳定剂, 吡啶菁绿、亚甲基蓝为染色剂, 利用波长为 1064 nm 的 Nd:YAG 激光器对施加助焊剂的离体猪皮肤进行钎焊实验, 并对焊接效果进行对比。结果表明: 吡啶菁绿与亚甲基蓝是激光焊接过程中效果显著的有机生色团, 能在促进光热转换效率、增大焊接强度的同时降低热损伤。

关键词 激光技术; 激光材料加工; 生物组织; 抗拉强度; 热损伤; 焊接

中图分类号 TN249

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201946.1207002

Effects of Indocyanine Green and Methylene Blue on Tensile Strength and Thermal Damage of Laser Biological Tissue Soldering

Li Cong, Wang Kehong*, Huang Jun**

School of Materials Science and Engineering, Nanjing University of Science and Technology,
Nanjing, Jiangsu 210094, China

Abstract In comparison with the traditional suturing, laser biological tissue welding has the following advantages: shorter operation time, faster wound healing, less tissue damage, and no thread removal. To improve the strength and quality of laser soldering of biological tissues, increase the laser absorptivity in the direction of full-thickness, and explore the effects of dyes on the strength and thermal damage of laser soldering of biological tissues, we use the bovine serum albumin solution as the matrix, chitosan as the stabilizer, and indocyanine green and methylene blue as dyes. We use a Nd:YAG laser (1064 nm) to weld the skin *in vitro* with flux and compare the welding effect of flux. Results show that indocyanine green and methylene blue are significant organic chromophores for laser welding. They promote the efficiency of photothermal conversion, improve the welding strength, and reduce thermal damage.

Key words laser technique; laser material processing; biological tissue; tensile strength; thermal damage; welding

OCIS codes 140.3390; 140.3510; 160.1435

1 引 言

人类、动物在意外受伤或者进行外科手术时会在身体上产生伤口, 小型伤口可通过生物体的自愈能力自行恢复, 而较大的伤口则需要进行治疗处理才能痊愈, 否则会因闭合与修复伤口的时间过长而增加受环境中细菌感染的风险^[1]。因此, 一种即时、有效闭合伤口且使伤口具有一定水密性的治疗

方法对于减小感染风险、加快伤口愈合具有重要意义。目前, 较大的伤口仍以针线缝合的方式进行闭合密封, 而针线缝合只是机械地将组织牵引、挤压在一起, 易导致愈合组织出现扭结, 且缝线针脚间易出现未闭合开裂, 从而造成感染; 此外, 缝合过程是一种引入新创伤的过程, 增大了瘢痕组织生成的概率^[2]。针对针线缝合的缺陷, 有人提出了生物组织激光辅助缝合的技术, 该技术可避免传统针线缝合

收稿日期: 2019-07-08; 修回日期: 2019-08-18; 录用日期: 2019-08-29

基金项目: 国家基础科研项目(JCKY2018606C002)

* E-mail: wkh1602@126.com; ** E-mail: huangjun0061@126.com

过程中出现的一些问题^[3]。经广泛证明,在激光焊接的伤口中,无排异反应,且愈合得更好更快,经过组织结构的重组,可形成无瘢痕、即时水密闭合伤口,从而降低了感染的风险^[4]。激光组织缝合有两种不同的方法:激光组织焊接(LTW)和激光组织钎焊(LTS)。在LTW中,激光能量作用于组织的边缘;在LTS中,通常是在激光加工之前,在组织边缘上添加物质(如焊料)。近年来,尽管激光焊接技术取得了一系列实验成果,但受大面积热损伤^[5-6]、低结合强度的限制而未被广泛应用。

为了验证和推动激光焊接在外科中的广泛应用,必须建立一种标准且安全的方法。在被焊接的组织上使用蛋白质焊料有望解决该问题,原因是这一做法可以提供额外的蛋白质来加强结合,而不会触发排异反应。为了增强待焊组织对激光的吸收,可以在蛋白质焊料中添加合适的染料,将激光产生的热量集中到蛋白质焊料区域,防止底层组织过热^[7-8]。使用发色团的一个优点是使激光器的波长更接近吸收峰。激光组织钎焊已被成功应用于血管、软骨和皮肤等多种组织的焊合。传统的光敏剂发色团,例如有机染料吲哚菁绿(ICG),在使用时有一个明显的局限性,即:当其被储存在水溶液或分散体中时,会表现出较弱的光化学稳定性,以及在生物

体环境中表现出过度扩散性^[9]。因此,在助焊剂中引入一种染料的稳定剂,使染料在固定区域内扩散并填充切口来改善焊接质量显得尤为重要。壳聚糖(CTS)具有较高的生物相容性,且是染料的优良载体,鉴于此,本文设计了一种染料+壳聚糖+牛血清白蛋白(BSA)的助焊剂。

本文以牛血清白蛋白作为生物焊料,以吲哚菁绿+壳聚糖或亚甲基蓝(MB)+壳聚糖作为吸收生色团,采用波长为1064 nm的Nd:YAG激光器对猪皮肤进行钎焊,评估和对比不同浓度的吲哚菁绿和亚甲基蓝作为外源吸收体时有效激光组织钎焊的抗拉强度与组织的热损伤状况。

2 实 验

猪皮肤与人体皮肤的组织结构相近^[10],因此本实验选用新鲜的离体猪皮作为原料,将其制作成尺寸为30 mm×20 mm×2 mm的实验样本(含皮下脂肪层,厚度为0.5 mm),如图1所示,切口长度为20 mm,并在体积分数分数为5%的牛血清蛋白溶液中浸泡20 min。皮肤组织相比其他生物组织厚,需要用穿透能力更强的激光才能实现全层焊透,因此采用波长为1064 nm的Nd:YAG光纤激光器。

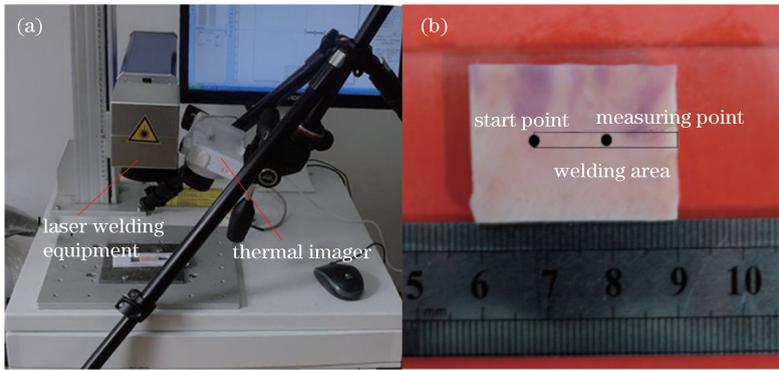


图1 实验仪器及样本。(a)生物组织焊接用激光器及热像仪;(b)离体猪皮肤样品及切口焊接位置

Fig. 1 Experimental instrument and sample. (a) Laser for biological tissue welding and thermal imager; (b) skin sample *in vitro* and welding position

根据前期实验优化的激光工艺参数进行焊接实验,工艺参数如表1所示。焊前利用注射器将激光生物组织焊接所用的助焊剂施加于焊缝内,并保持切口闭合。

采用浙江衢州艾普计量仪器有限公司生产的SF-30型数显式推拉力计,测试焊后试样焊缝的抗拉强度,测量用仪器及测试过程如图2所示。测试过程如下:利用夹具将样本切口的一侧夹紧并固定于工作台上,切口的另一侧固定于拉力计上,

在水平方向上平缓地移动拉力计,直至切口焊缝完全断开,拉力计的最大值即焊缝的抗拉强度。

表1 激光焊接生物组织的工艺参数

Table 1 Process parameters of laser welding for biological tissue

Power /W	Pulse frequency / kHz	Welding speed / (mm·s ⁻¹)	Welding time /s
4	100	100	1200

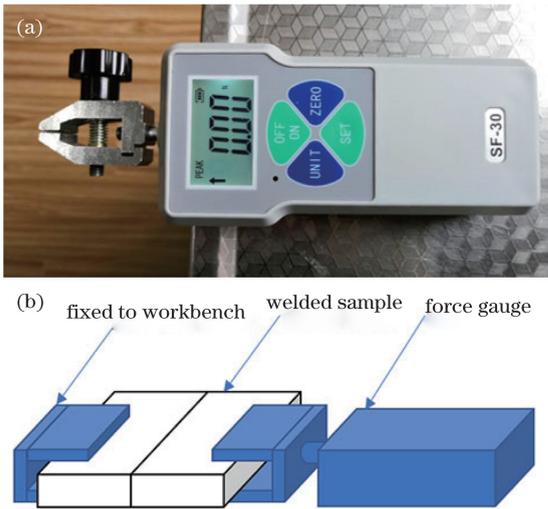


图2 测试仪器及测试过程。(a)测试抗拉强度所用数显式推拉力计;(b)抗拉强度测试过程示意图

Fig. 2 Test instrument and test processing. (a) Digital explicit push-pull force meter for measuring tensile strength; (b) diagram of process for measuring tensile strength

采用正交法设计实验,以染料种类、染料浓度、施加位置为变量,如表2所示,研究这些变量对生物组织激光焊接强度及热损伤的影响,其中对照组不添加染料,仅使用壳聚糖及牛血清蛋白作为钎料。焊接过程中,采用Fotric 227s型热像仪对焊接温度进行实时测量与记录,绘制焊接过程的温度-时间曲线,并进行热损伤计算。焊后测试焊缝的抗拉强度,并观察切片的组织形貌。

表2 染料种类、质量浓度及位置分布

Table 2 Type, mass concentration, and location distribution of dyes

Type of dyes	Mass concentration / (mg·L ⁻¹)	
	Surface	Back
Indocyanine green	50	50
	100	100
	150	150
	200	200
	250	250
Methylene blue	50	50
	100	100
	150	150
	200	200
	250	250

3 结果与分析

3.1 染料种类对焊接强度的影响

亚甲基蓝用途广泛,既可用于生物组织和纺织物的染色剂,也可用作吸收或荧光检测的光谱探针;

此外,临床上常将亚甲基蓝常用作消炎、消毒的制剂,或用于治疗正铁血红蛋白血症和帕金森病等疾病。亚甲基蓝具有良好的生物相容性。

吲哚菁绿无毒性,是美国食品药品监督管理局(FDA)唯一批准的体内应用染料,临床上常将其用作肝病治疗中的清除试剂以及肿瘤切除手术中的荧光指示剂。此外,吲哚菁绿具有良好的组织相容性,可以促进生物组织对激光的吸收,已被应用于生物组织的激光焊接中^[11]。

在本文中,不同种类的生物染料对离体皮肤组织激光焊接切口的抗拉强度表现出了不同影响。从宏观角度来看,添加亚甲基蓝溶液的实验组切口均获得了较好的融合效果,切口处的颜色加深,部分亚甲基蓝溶液浓度较大的实验组切口处有亚甲基蓝色残留。图3所示为将质量浓度为50 mg·L⁻¹的亚甲基蓝施加于正、反面获得的切口的宏观效果图,1、2分别表示亚甲基蓝溶液施加于切口的正、反面。

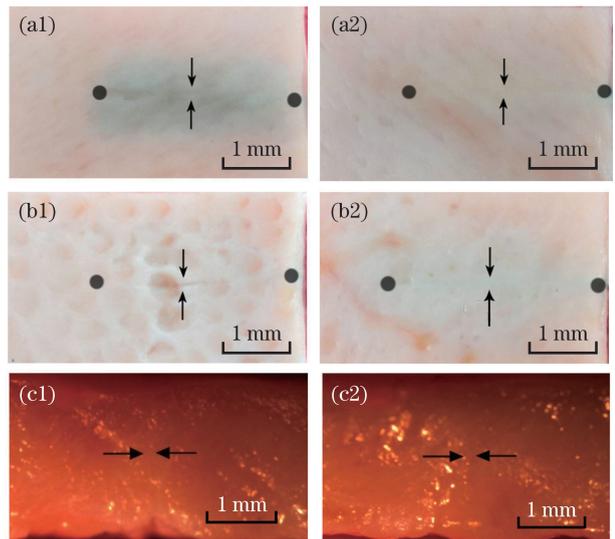


图3 亚甲基蓝实验组焊接试样的宏观形貌。(a)焊后切口正面;(b)焊后切口反面;(c)焊后切口侧面

Fig. 3 Macroscopic morphologies of welded specimens of methylene blue test group. (a) Front of welded incision; (b) reverse side of welded incision; (c) side of welded incision

在宏观形貌上,施加吲哚菁绿溶液的实验组切口也均能获得较好的融合效果。图4所示为将质量浓度为150 mg·L⁻¹的吲哚菁绿施加于正、反面时获得的切口的宏观效果图,1、2分别表示吲哚菁绿溶液施加于切口的正、反面。

将5种不同质量浓度的染料施加于猪皮肤切口的正、反面,将切口的抗拉强度值进行平均,并与不施加染料的实验组进行对照,结果如图5所示。当

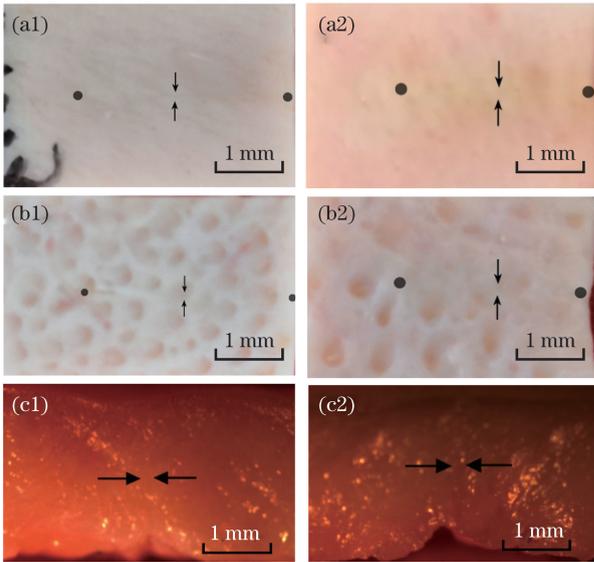


图 4 吡啶菁绿实验组焊接试样的宏观形貌。(a)焊后切口正面;(b)焊后切口反面;(c)焊后切口侧面

Fig. 4 Macroscopic morphologies of welded specimens of indocyanine green test group. (a) Front of welded incision; (b) reverse side of welded incision; (c) side of welded incision

染料被施加于切口正面时,亚甲基蓝组获得了最大的抗拉强度平均值,其次是吡啶菁绿组,且两种染料组获得的切口的抗拉强度平均值均大于不施加任何染料的对照组,比对照组的切口平均抗拉强度高 50%。当染料被施加于切口反面时,吡啶菁绿组获得了最大的切口抗拉强度平均值,其次是亚甲基蓝组,且两种染料组获得的切口抗拉强度平均值均大于不施加任何染料的对照组。

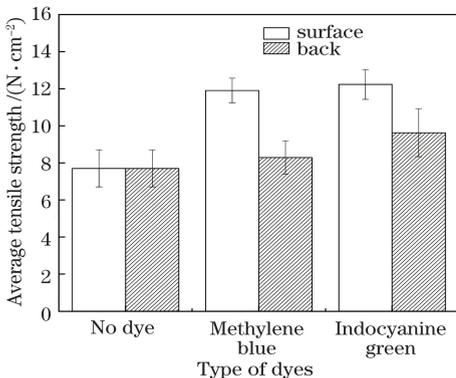


图 5 将不同的生物染料施加于切口正、反面时切口抗拉强度的平均值

Fig. 5 Average tensile strength of welded incisions with different biological dyes

将 5 种不同质量浓度的染料施加于猪皮肤切口的正、反面,取切口抗拉强度的最大值,并与不施加染料的对照组进行比较,结果如图 6 所示。当染料

被施加于切口正面时,质量浓度为 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的吡啶菁绿组获得了最大的切口抗拉强度,为 $(15.15 \pm 1.21) \text{ N}\cdot\text{cm}^{-2}$, 优于文献[12-13]报道的强度,其次是质量浓度为 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的亚甲基蓝组,且两种染料组获得的最大切口抗拉强度均大于不施加任何染料的对照组。当染料施加于切口反面时,质量浓度为 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的吡啶菁绿组的抗拉强度最大,达到 $(11.9 \pm 0.66) \text{ N}\cdot\text{cm}^{-2}$, 其次是质量浓度为 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的亚甲基蓝组,且两种染料组获得的最大切口抗拉强度均大于不施加任何染料的对照组。

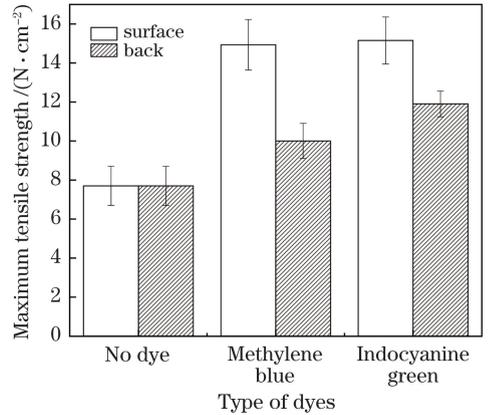


图 6 将不同的生物染料施加于切口正、反面时切口抗拉强度的最大值

Fig. 6 Maximum tensile strength of welded incisions with different biological dyes

亚甲基蓝和吡啶菁绿在提高焊后切口的抗拉强度方面各有优势。当将它们施加于切口正面时,在质量浓度范围为 $50\sim 250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下,吡啶菁绿比亚甲基蓝获得了更大的切口抗拉强度平均值,且亚甲基蓝组切口抗拉强度值的极差 ($4.33 \text{ N}\cdot\text{cm}^{-2}$) 与吡啶菁绿组的极差 ($4.27 \text{ N}\cdot\text{cm}^{-2}$) 差别不大,即两种染料浓度的变化对切口抗拉强度的影响相近。但如果对切口抗拉强度的最大值进行对比,则吡啶菁绿溶液更具优势。当将它们施加于切口反面时,吡啶菁绿比亚甲基蓝获得了更大的抗拉强度平均值和抗拉强度最大值,这可能是由于吡啶菁绿与离体皮肤组织的相容性更高(表现在施加两种染料溶液时,离体皮肤组织对吡啶菁绿溶液的吸收更迅速),能更深地渗入离体皮肤组织,因此组织深处能吸收更多的激光能量。

3.2 染料浓度及施加位置对焊接强度的影响

亚甲基蓝实验组的抗拉强度如表 3 所示。亚甲基蓝溶液浓度及施加位置对切口抗拉强度的影响如图 7 所示。由图 7 可知:在每种浓度条件下,亚甲基蓝施加于切口正面比施加于反面能获得更大的抗拉

强度;当施加于正面时,亚甲基蓝对切口抗拉强度有明显的增大作用,且切口抗拉强度随着亚甲基蓝溶液浓度的增大而减小,当亚甲基蓝溶液的质量浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时切口抗拉强度达到最大,为 $(14.93 \pm 1.22) \text{ N} \cdot \text{cm}^{-2}$;当施加于反面时,与不施加任何生物染料相比,除了在质量浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对切口抗拉强度有稍微明显的增大外,其他浓度条件对切口抗拉强度的增大作用并不显著。

表 3 亚甲基蓝实验组的抗拉强度

Table 3 Tensile strength of methylene blue test group

Mass concentration of methylene blue / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Tensile strength / ($\text{N} \cdot \text{cm}^{-2}$)	
	Surface	Back
50	14.93 ± 1.22	8.08 ± 0.89
100	11.10 ± 0.92	10.00 ± 0.93
150	11.73 ± 0.78	9.60 ± 1.30
200	11.20 ± 0.83	7.80 ± 1.62
250	10.60 ± 1.13	6.78 ± 0.91

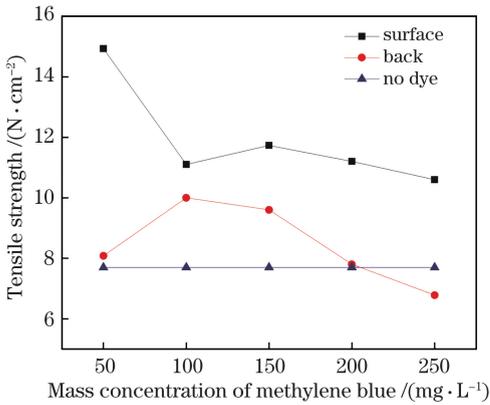


图 7 亚甲基蓝浓度及施加位置对切口抗拉强度的影响
Fig. 7 Effects of methylene blue concentration and applied position on tensile strength

亚甲基蓝能促进离体皮肤组织对激光的吸收,进而增大离体皮肤组织中的能量输入,增大切口的抗拉强度。但在激光穿透离体皮肤组织过程中,能量被组织吸收殆尽,当传递到皮肤底层时能量剩余较少,并且施加于反面的染料溶液因重力作用而具有逆浓度特性,导致亚甲基蓝溶液渗入组织的深度小于施加于正面的,因此亚甲基蓝溶液施加于切口反面仅能增加微弱的激光吸收量,表现为对切口抗拉强度无明显的增大作用。

吡啶菁绿实验组的抗拉强度如表 4 所示。吡啶菁绿溶液浓度及施加位置对切口抗拉强度的影响如图 8 所示。由图 8 可知:在每种浓度条件下,吡啶菁绿施加于切口正面比施加于切口反面均能获得更大的抗拉强度;当施加于切口正面时,切口抗拉强度-吡啶菁绿质量浓度曲线呈倒 U 形,并在质量浓度为

$150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最大,为 $(15.15 \pm 1.21) \text{ N} \cdot \text{cm}^{-2}$;当施加于切口反面时,吡啶菁绿对切口抗拉强度有增大的作用(与未施加吡啶菁绿相比),增大量为 $0.9 \sim 4.2 \text{ N} \cdot \text{cm}^{-2}$,且随着吡啶菁绿质量浓度增大,切口抗拉强度有微弱的增大。

表 4 吡啶菁绿实验组的抗拉强度

Table 4 Tensile strength of indocyanine green test group

Mass concentration of indocyanine green / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Tensile strength / ($\text{N} \cdot \text{cm}^{-2}$)	
	Surface	Back
50	11.18 ± 0.80	8.60 ± 0.91
100	10.88 ± 1.23	8.90 ± 1.06
150	15.15 ± 1.21	9.15 ± 1.30
200	13.00 ± 1.35	11.90 ± 0.66
250	10.93 ± 0.95	9.55 ± 0.90

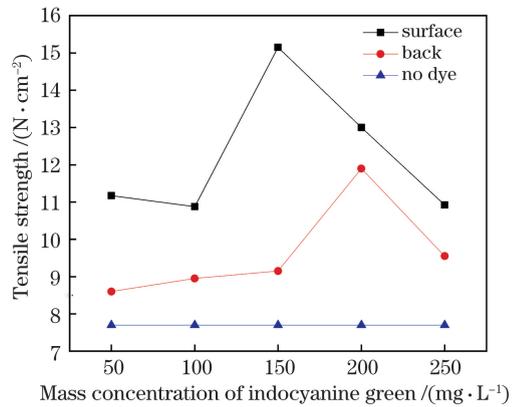


图 8 吡啶菁绿质量浓度及施加位置对切口抗拉强度的影响
Fig. 8 Effects of indocyanine green concentration and applied position on tensile strength

3.3 染料种类及施加位置对热损伤的影响

在离体皮肤的激光焊接中,样本组织所达到的温度是衡量组织热损伤最直观的方式。测量点温度是指焊接 15 min 时测量点的最高温度。选择 15 min 为节点是因为当焊接到 15 min 时,样本的温度分布已稳定。分析得知,生物染料浓度的变化对测量点温度并没有规律性的影响,因此不再考虑将浓度作为热损伤的影响因素。对由每种染料不同施加位置的各组实验获得的测量点温度进行平均,并与不施加染料的对照组进行比较,结果如图 9 所示。

由图 9 可知,不施加染料实验组和亚甲基蓝组测量点的平均温度均达到了蛋白质变性凝结的温度 ($60 \text{ }^\circ\text{C}$),吡啶菁绿组测量点的平均温度也接近蛋白质变性凝结的温度。仅从测量点的平均温度来看,亚甲基蓝和吡啶菁绿均能降低组织在焊接过程中的温度,但吡啶菁绿的作用效果更明显,测量点的平均温度比不施加染料实验组的低 $3.6 \text{ }^\circ\text{C}$ 。通过测量点温度能够大致判断组织所处的热损伤范围,但更精

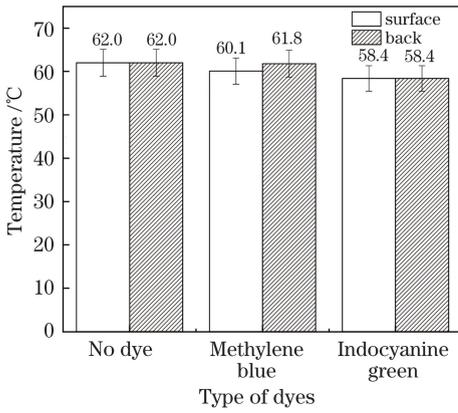


图 9 不同染料和不同施加位置下测量点的平均温度
Fig. 9 Average temperature of measuring points of different dyes at different applied positions

确的热损伤程度需要通过 Arrhenius 方程^[14] 计算得出,即

$$\Omega_t = A \int_0^t \exp\left(-\frac{\Delta E}{RT_{t'}}\right) dt' = \ln \frac{C_0}{C_t}, \quad (1)$$

式中: t 为激光焊接持续时间; Ω_t 为焊接持续时间内所造成的热损伤; A 为阿伦尼乌斯常数; ΔE 为实验活化能; R 为摩尔气体常数; $T_{t'}$ 为 t' 时刻组织的绝对温度; C_0 为未变性胶原质的初始含量; C_t 为 t 时刻未变性胶原质的剩余含量。

选取质量浓度分别为 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的亚甲基蓝、吲哚菁绿实验组, 以及不施加染料的对照组进行热损伤计算, 浓度的选取原则是每种染料中最大抗拉强度出现的浓度。利用 Arrhenius 方程计算得到最终的热损伤值 Ω 如表 5 所示。由表 5 可知: 不施加染料的对照组及两种染料组的热损伤均达到了不可逆的程度 ($\Omega > 1$); 与不施加染料的对照组相比, 亚甲基蓝组的 Ω 值小了 1 个量级, 吲哚菁绿组的 Ω 值小了 2 个量级。这说明与不施加任何染料相比, 施加亚甲基蓝和吲哚菁绿均能减轻焊接过程中组织的热损伤程度, 但吲哚菁绿减轻的效果更突出。

表 5 不同染料和不同施加位置下测量点的热损伤值

Table 5 Thermal damage of measuring points of different dyes at different applied positions

Applied position	Thermal damage		
	Control group	Methylene blue	Indocyanine green
Surface	5881	740	11.7
Back	5881	934	46.9

相对于不施加任何染料, 施加吲哚菁绿和亚甲基蓝能够减轻组织热损伤的原因有两点: 一是生物

染料会吸收部分热能, 施加生物染料的组织的比热容变大, 在吸收相同能量的条件下, 施加吲哚菁绿和亚甲基蓝的组织温度更低; 二是生物染料促使热量集中于染色区域, 减小了组织发生热损伤的面积。

4 结 论

利用 Nd:YAG 激光器对施加助焊剂的离体猪皮肤进行焊接实验, 对比焊接效果, 探究染料种类、浓度及施加位置对焊接强度和热损伤的影响。实验结果表明: 吲哚菁绿与亚甲基蓝是激光焊接过程中效果显著的有机生色团, 能提高光热转换效率, 在增大焊接强度的同时降低热损伤; 当使用质量浓度为 $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的吲哚菁绿助焊剂, 且施加位置为正面时, 可获得最大的抗拉强度 (15.15 ± 1.21) $\text{N}\cdot\text{cm}^{-2}$, 且热损伤较小。吲哚菁绿是综合性能更为优秀的生物组织激光焊接助焊剂染料。

参 考 文 献

- [1] Gabay I, Barequet I, Varssano D, *et al.* Bonding surgical incisions using a temperature-controlled laser system based on a single infrared fiber[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2013, 18(11): 111416.
- [2] Park S, Kang H W. Multivariate analysis of laser-induced tissue ablation: *ex vivo* liver testing [J]. *Applied Sciences*, 2017, 7(10): 974.
- [3] Sriramoju V, Alfano R R. *In vivo* studies of ultrafast near-infrared laser tissue bonding and wound healing [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2015, 20(10): 108001.
- [4] He W P, Frueh J, Hu N, *et al.* Guidable thermophoretic Janus micromotors containing gold nanocolorifiers for infrared laser assisted tissue welding [J]. *Advanced Science*, 2016, 3(12): 1600206.
- [5] Sajjadi A Y, Mitra K, Grace M. Expression of heat shock proteins 70 and 47 in tissues following short-pulse laser irradiation: assessment of thermal damage and healing [J]. *Medical Engineering & Physics*, 2013, 35(10): 1406-1414.
- [6] Lim H S. Reduction of thermal damage in photodynamic therapy by laser irradiation techniques [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2012, 17(12): 128001.
- [7] Liljemalm R, Nyberg T. Quantification of a thermal damage threshold for astrocytes using infrared laser generated heat gradients [J]. *Annals of Biomedical Engineering*, 2014, 42(4): 822-832.
- [8] Tuncer I, Ozçakir-Tomruk C, Sencift K, *et al.*

- Comparison of conventional surgery and CO₂ laser on intraoral soft tissue pathologies and evaluation of the collateral thermal damage [J]. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2010, 28(1): 75-79.
- [9] Khosroshahi M E, Nourbakhsh M S. Enhanced laser tissue soldering using indocyanine green chromophore and gold nanoshells combination [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2011, 16(8): 088002.
- [10] Guan K W, Jiang Y Q, Sun C S, *et al.* A two-layer model of laser interaction with skin: a photothermal effect analysis [J]. *Optics & Laser Technology*, 2011, 43(3): 425-429.
- [11] Tabakoglu H O, Topaloglu N, Gulsoy M. The effect of irradiance level in 980-nm diode laser skin welding [J]. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2010, 28(4): 453-458.
- [12] Liu Q M, Huang J, Wang K H, *et al.* Multivariate nonlinear regression model of laser fusion *in vitro* skin tissue incision performance based on response surface methodology [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2018, 45(8): 0807002.
刘其蒙, 黄俊, 王克鸿, 等. 基于响应面法的离体皮肤组织激光融合切口性能多元非线性回归模型 [J]. *中国激光*, 2018, 45(8): 0807002.
- [13] Huang J, Li C, Wang K H, *et al.* Laser welding characteristics of biological tissues *in vitro* [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2017, 44(4): 0407001.
黄俊, 李聪, 王克鸿, 等. 离体生物组织激光焊接特性实验研究 [J]. *中国激光*, 2017, 44(4): 0407001.
- [14] Fried N M, Walsh J T. Laser skin welding: *in vivo* tensile strength and wound healing results [J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2000, 27(1): 55-65.