



·激光的热和力学效应·

1064 nm 激光不同辐照时间对小鼠皮肤热损伤的实验与理论研究*

周 巡^{1,2}, 马 琼¹, 刘智搏¹, 康宏向¹

(1. 中国人民解放军军事科学院 军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850; 2. 中北大学 信息与通信工程学院, 太原 030051)

摘 要: 通过实验和理论分析的方法研究 1064 nm 激光不同辐照时间对小鼠皮肤的热损伤规律。利用皮肤镜图像和光学相干断层图像评估小鼠皮肤组织热损伤程度, 利用 Arrhenius 热损伤方程计算热损伤参数, 建立激光诱导皮肤组织热损伤模型, 并与实验结果进行对比。结果表明, 在靶功率密度为 30 W/mm² 的 1064 nm 激光辐照下, 0~100 ms 辐照时间内, 小鼠皮肤组织损伤可恢复; 150~280 ms 辐照时间内, 小鼠皮肤组织出现水肿现象和热凝固损伤; 280~550 ms 辐照时间内, 小鼠皮肤表皮层出现汽化现象, 损伤斑周围出现焦痂, 真皮层发生变性; 660 ms 辐照时间以上, 小鼠皮肤表皮层和真皮层出现汽化现象, 伤口渗出组织液, 皮下组织发生变性。理论分析与实验结果一致, 建立的热损伤模型能够验证小鼠皮肤热损伤程度。

关键词: 1064 nm 激光; 热损伤; 热损伤等级; 热损伤方程; 热损伤模型

中图分类号: Q631

文献标志码: A

doi: 10.11884/HPLPB202234.210338

1064 nm laser induced thermal injure in mice skin with different laser duration

Zhou Xun^{1,2}, Ma Qiong¹, Liu Zhibo¹, Kang Hongxiang¹

(1. Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Science, Academy of Military Science PLA China, Beijing100850, China;

2. Information and Communication Engineering College, North University of China, Taiyuan 030051, China)

Abstract: To explore laser induced thermal injure in skin tissue, 1064 nm laser induced thermal injure in mice skin with different laser duration was studied by experimental and theoretical analysis methods. Dermoscope images and optical coherence tomography images were used to assess the degree of thermal injure in biological skin tissue. Arrhenius thermal injure equation was used to calculate thermal damage parameters and establish a laser induced thermal injure model of skin tissue, then compared with experimental results. The results show that under the 1064 nm laser irradiation with 30 W/mm² power density, there was reversible damage in the mouse skin tissue within 0 to 100 ms laser duration; the mice skin tissue appeared edema and thermal coagulation injure within 150 to 280 ms laser duration; during the laser duration of 280 to 550 ms, the epidermis of the mice skin was vaporized, eschars appeared around the damage spot, and the dermis was degenerated. Over 660 ms laser duration, the epidermis and dermis of the mice skin were vaporized, tissue fluid was exuded from the wound and the subcutaneous tissue was degenerated. The theoretical analysis is consistent with the experimental results. The established thermal injure model can verify the degree of thermal injure in mice skin.

Key words: 1064 nm laser; thermal injure; classification of thermal injure; thermal injure equation; thermal injure model

波长为 1064 nm 的连续光纤激光器广泛应用于激光切割、焊接、打孔、清洗等工业生产、加工领域^[1], 1064 nm 激光具有波长较长、能量峰值较高、穿透力强、被水分吸收少和散射效应小等特点^[2], 其穿透力比一般波长激光更深, 能够被皮肤中的黑色素、氧合血红蛋白等作为目标吸收, 因此目前也广泛应用于疾病治疗和美容行业。国内外关于 1064 nm 激光对皮肤组织的研究主要集中在血管性疾病^[3]、皮肤疾病治疗^[4-6] 和美容^[7-9] 等领域, 目前, 关于

* 收稿日期: 2021-08-01; 修订日期: 2021-12-24

基金项目: 后勤科研重大专项 (AWS16J002)

联系方式: 周 巡, zx66patrol@163.com。

通信作者: 康宏向, khx007@163.com。

1064 nm 激光对皮肤组织的损伤效应和量效关系的相关研究较少, 本文通过研究 1064 nm 激光对小鼠皮肤热损伤的损伤特征、量效关系, 探讨 1064 nm 激光对生物皮肤组织的热损伤规律。研究结果对激光相关工作的安全生产、激光设备的安全使用和激光损伤后的快速诊断治疗有重要指导意义。

1 实验方法与装置

1.1 实验动物

SPF 级昆明小鼠 12 只, 雌雄各半, 8~9 周龄, 体重 30 g 左右, 购自北京斯贝福生物技术有限公司, 动物许可证号 SCXK(京)2018-0010; 实验前常规饲养 3d, 观察无异常者方可进行实验。

1.2 实验装置

1064 nm 连续光纤激光器 (CW-R-C-A-200, 深圳市杰普特光电股份有限公司); 激光输出光斑大小由激光光束分析仪测量; 光学相干断层成像 (OCT) 系统为扫频 OCT, 主要包括: 基于 MEMS 的 Santec 扫频光源 (中心波长 1310 nm, 主频扫频 100 kHz, 可调带宽 91.5 nm), 平衡探测器 (INT-MSI-1300B, Thorlabs 公司), 数据采集板卡 (ATS9350, Alarztec 公司), 成像深度大约为 3 mm; 皮肤表面温度由红外热像仪 (FOTRIC 225s, FOTRIC 公司) 实时监测, 损伤面积由皮肤镜检测 (Miis Horus Scope DSC100, MIIS 公司)。

1.3 激光辐射方法

激光辐照前, 用脱毛膏进行小鼠背部皮肤脱毛备皮, 小鼠经 1% 戊巴比妥钠腹腔麻醉后, 在背部皮肤划定一个辐照区域, 2×5 方格阵列, 方格边长为 1 cm, 故辐照区域面积为 $2 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ 。小鼠背部划定的 10 个辐照方格, 从左到右从上到下依次增大辐照时间, 每一只小鼠都按照相同的辐照方法对皮肤进行辐照。1064 nm 连续光纤激光器, 设置输出功率为 120 W, 激光经凸透镜聚焦后垂直辐照小鼠皮肤, 光斑直径为 2 mm, 靶功率密度为 $30 \text{ W}/\text{mm}^2$, 辐照过程中用红外热像仪监测并记录温度值, 激光辐照活体小鼠皮肤的光路如图 1 所示。

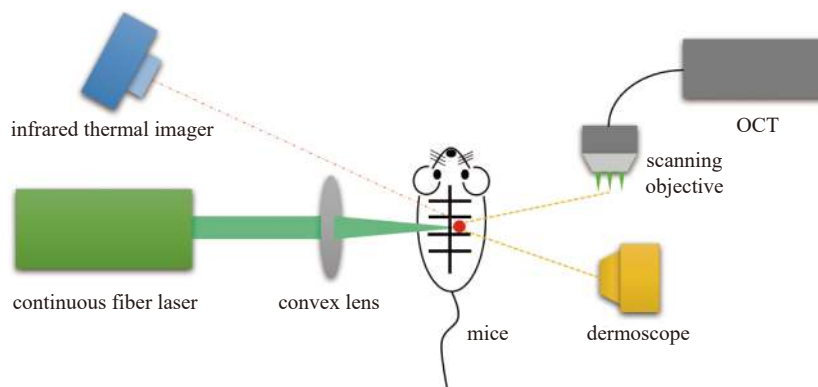


Fig. 1 Light path diagram of 1064 nm laser radiation on living mice skin

图 1 1064 nm 激光辐照活体小鼠皮肤的光路

1.4 实验指标

1.4.1 皮肤损伤皮肤镜观察及损伤面积计算

激光辐照后 30 min, 用皮肤镜记录小鼠皮肤损伤情况; 利用小鼠皮肤镜图像, 通过二值化处理选取的皮肤损伤区域, 计算目标区域的像素点得到损伤斑面积。

1.4.2 皮肤损伤 OCT 仪扫描及损伤深度计算

激光辐照后 1 h, 用 OCT 系统对皮肤损伤进行无创、无辐射成像; OCT 扫描图像通过二值化处理选取的皮肤损伤区域, 计算目标区域的像素点得到损伤深度。

1.4.3 皮肤表面温度监测

激光辐照前、辐照中以及辐照后, 用红外热像仪实时监测小鼠表面皮肤温度的变化, 并记录温度场的的数据。

1.5 统计学分析

采用 SPSS19.0 软件分析, 检验水准 $\alpha = 0.05$, 采用多组均数间比较的方差分析进行统计学分析。

2 实验结果与讨论

2.1 皮肤镜图像分析

1064 nm 激光辐照后小鼠创面皮肤镜观察结果显示 (如图 2 所示), 随着激光辐照时间增加, 小鼠皮肤损伤由轻

至重依次出现起泡、红斑、汽化和炭化结痂等不同程度热损伤。激光辐照 60 ms, 皮肤未见明显损伤(图 2(a)); 激光辐照 100 ms, 皮肤表皮出现白色凝固斑^[10], 属于热凝固损伤(图 2(b)); 激光辐照 150~210 ms, 小鼠皮肤表面出现明显损伤斑, 有微型水疱凸起, 周围伴有白色凝固斑(图 2(c)、图 2(d)); 激光辐照 280 ms, 损伤斑呈黄褐色和红色, 中心区域出现炭化焦痂现象(图 2(e)); 辐照 360~550 ms, 小鼠皮肤表面出现明显汽化现象, 损伤斑周围出现红斑(图 2(f)、图 2(g)); 辐照 660~780 ms, 损伤斑范围内的皮肤表皮被完全汽化, 伤口渗出组织液, 损伤斑周围伴有严重焦痂现象, 皮下组织被暴露(图 2(h)、图 2(i))。

皮肤损伤斑的皮肤镜图像经图像处理获得小鼠皮肤损伤斑的面积^[11], 以激光辐照时间为横坐标, 以损伤斑面积为纵坐标, 利用 Origin 软件进行方程拟合, 结果显示两者呈良好的对数函数变化关系, 相关系数 $R^2=0.9913$, 如图 3 所示。激光辐照时间越长, 皮肤损伤越严重, 辐照时间达到一定值, 损伤面积增大趋势逐渐平缓。

2.2 OCT 扫描图像分析

使用 OCT 对激光损伤后的皮肤做快速检测及成像, 可直接观察到小鼠皮肤组织内部损伤情况^[12]。1064 nm 激光辐照后小鼠损伤创面 OCT 扫描成像结果(如图 4 所示), 随着激光辐照时间增加, 皮肤损伤程度和深度逐渐增加, 皮肤结构越来越混乱。小鼠正常皮肤组织, 表面平滑, 表皮、真皮和皮下组织三层结构清晰可见^[13]; 激光辐照 60 ms, 皮肤未见明显损伤(图 4(a)); 激光辐照 100 ms, 皮肤表皮可见明显损伤改变(图 4(b)); 激光辐照 150~210 ms, 小鼠皮肤组织损伤明显, 主要表现为表皮层变性, 出现凸起状损伤(图 4(c)、图 4(d)); 辐照 280~550 ms, 小鼠皮肤组织表皮被汽化, 真皮层变性(图 4(f)、图 4(g)), 出现坑状损伤; 辐照 660~780 ms, 小鼠皮肤组织表皮层被全部汽化, 真皮浅层被汽化, 皮下组织变性, 出现深坑状损伤(图 4(h)、图 4(i))。

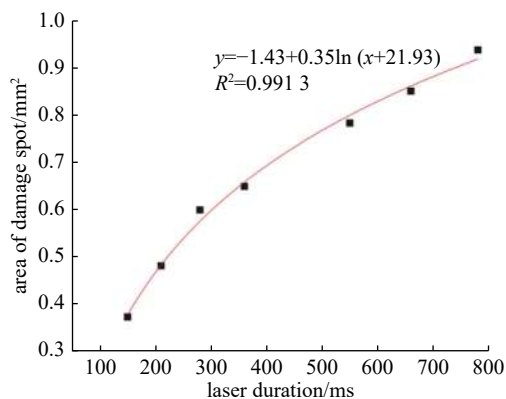


Fig. 3 Relationship between laser duration and area of damage spot

图 3 损伤斑面积随激光辐照时间的变化情况

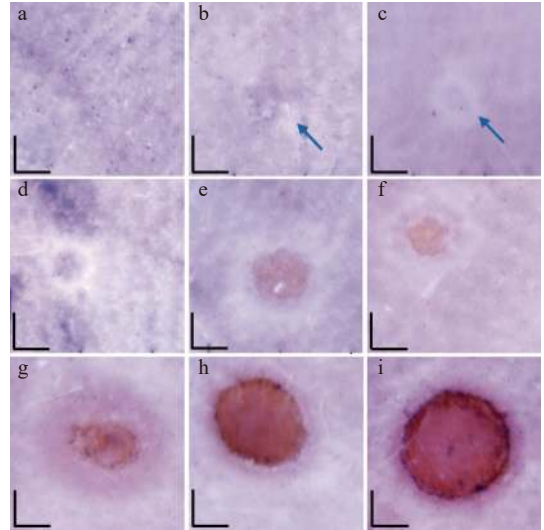


Fig. 2 Dermoscope images of injure in mice skin at different duration of 1064 nm laser irradiation(a: 60 ms, b: 100 ms, c: 150 ms, d: 210 ms, e: 280 ms, f: 360 ms, g: 550 ms, h: 660 ms, i: 780 ms.

Scale bar of dermoscope images: 500 μm)

图 2 1064 nm 激光辐照后小鼠皮肤损伤斑的皮肤镜图像

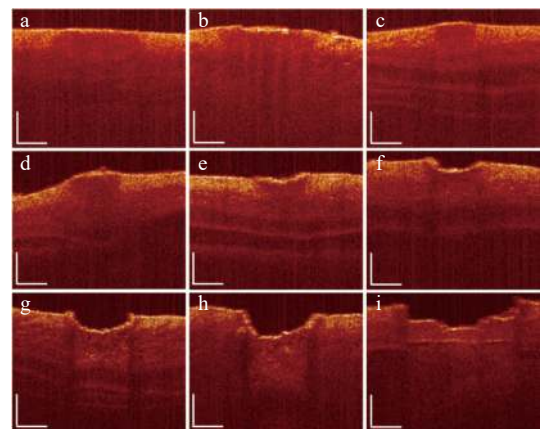


Fig. 4 OCT images of injure in mice skin at different duration of 1064 nm laser irradiation (a: 60 ms, b: 100 ms, c: 150 ms, d: 210 ms, e: 280 ms, f: 360 ms, g: 550 ms, h: 660 ms, i: 780 ms. Scale bar of dermoscope images: 500 μm)

图 4 1064 nm 激光辐照后小鼠皮肤损伤斑的皮肤镜图像

小鼠损伤创面 OCT 扫描成像结果显示, 当激光辐照时间为 280~780 ms 时, 小鼠皮肤组织表皮层出现汽化现象, OCT 图像显示出明显坑状结构, 利用数字图像处理方法可计算获得坑状结构的最大深度, 即为皮肤损伤的深度, 以激光辐照时间为横坐标, 以损伤斑最大深度为纵坐标, 利用 Origin 软件进行方程拟合, 结果显示两者呈良好的线性关系, 相关系数 $R^2=0.9938$, 表明激光辐照时间越长, 皮肤损伤深度越深, 如图 5 所示。

2.3 激光皮肤损伤分级

上述实验结果表明,激光皮肤损伤可以采用皮肤镜图像或联合 OCT 扫描图像作为损伤分级的重要评价指标。参考美国烧伤协会 (ABA) 发布的烧伤标准^[14],将小鼠激光皮肤损伤大致分为四级如表 1 所示,分别为:辐照时间为 100 ms 时,皮肤发生微小水疱的轻微损伤,表皮平整,定义为一级损伤;辐照时间为 150~210 ms 时,皮肤表皮发生轻微起泡、隆起状白色凝固斑,定义为二级损伤;辐照时间为 280~660 ms 时,皮肤表皮发生轻微汽化、浅坑状淡红色血斑,损伤斑面积显著增大,定义为三级损伤;辐照时间为 660~780 ms 时,皮肤表皮层汽化严重,真皮浅层汽化,创面渗出组织液,创面边缘出现焦痂,深坑状深红色血斑,损伤斑面积变化趋势缓慢,定义为四级损伤。

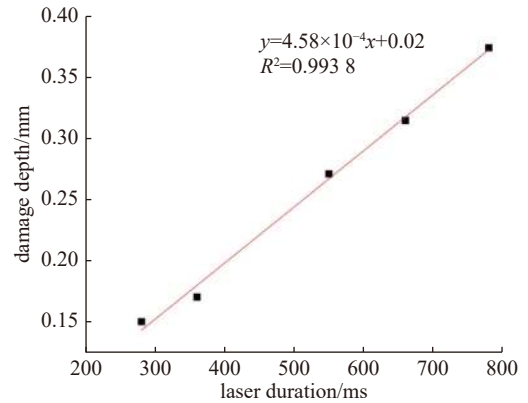


Fig. 5 Relationship between laser duration and damage depth
图 5 损伤深度随激光辐照时间的变化情况

表 1 1064 nm 激光诱导生物皮肤组织的热损伤分级

Table 1 Classification of 1064 nm laser induced thermal injury in biological skin tissue

laser duration/ms	damage	appearance
0~100	first-degree injury	White coagulation spots appear on the skin epidermis, and the epidermis is flat
150~210	second-degree injury	Blisters appear on the skin epidermis, with raised white coagulation spots
280~550	third-degree injury	The epidermis of the skin is slightly vaporized, the dermis is degenerated, and shallow pit-like light red blood spots
660~∞	fourth-degree injury	The skin epidermis and superficial dermis are vaporized, accompanied by exudation of tissue fluid, eschars appear on the edges of the wound, and deep pit-like crimson blood spots

3 理论分析

3.1 Arrhenius 热损伤方程

Arrhenius 热损伤方程是由 Arrhenius 创立的化学反应速率常数随温度变化关系的经验公式,由 Henriques Jr FC 在 1947 年提出用于预测和计算热损伤的程度和速率,定量描述热损伤,Henriques 和 Moritz 认为热损伤的两个最直接也是最根本的影响参数是组织的绝对温度和持续时间^[15],他们首次总结出了经典的热损伤积分方程

$$\Omega = \int_0^t A e^{-\frac{E}{RT}} dt \quad (1)$$

式中: $A(s^{-1})$ 为材料参数 (频率因子); $E(J \cdot mol^{-1})$ 为活化能; $T(K)$ 为热力学温度; $R = 8.314 J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$ 为普适气体常数, Ω 是热损伤参数,其数值可以表征生物组织的损伤情况,若 $\Omega = 0.5$,生物组织开始出现微红斑块,不会影响肢体活动和功能障碍,且是可恢复的损伤,相当于一级烧伤,若 $\Omega = 1$,生物组织开始出现不可恢复的损伤,组织将处于坏死状态,若 $\Omega = 10$,生物组织开始出现水疱,周围红肿,相当于二级烧伤,若 $\Omega = 100$,生物组织出现炭化现象,创面出现坏死并形成焦痂,相当于三级烧伤。

由式(1)可知,热损伤参数 Ω 不仅与生物组织材料的属性有关,还与生物组织表面的温度 and 对应温度持续的时间有关,因此,小鼠皮肤组织热损伤模型的建立还需要小鼠皮肤表面温度随时间变化的数据。

3.2 建立激光诱导生物皮肤组织的热损伤模型

离散数据无法代入式(1)中计算积分,因此使用 Origin 软件对每一个辐照点的温度数据进行处理得到温度-时间曲线拟合图,如图 6 所示。

将拟合后得到的最高绝对温度 T 和激光照射时间 t 的函数 $T(t)$ 代入式(1)中,可以建立激光诱导生物皮肤组织的热损

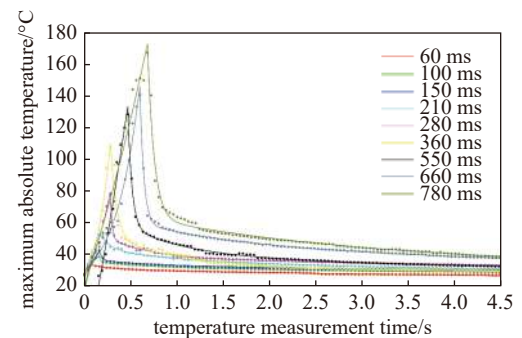


Fig. 6 Temperature-time fitting curve

图 6 温度-时间的拟合曲线图

伤模型, 计算得出热损伤参数

$$\Omega = \int_0^t A e^{-\frac{E}{kT(t)}} dt \quad (2)$$

3.3 热损伤参数 Ω 和激光辐照时间的拟合分析

由式(2)计算得出热损伤参数 Ω 后, 热损伤参数 Ω 和激光辐照时间的关系如表2所示, 可以看出随着激光辐照时间的增加, 热损伤程度有明显上升的趋势, 从激光辐射时间 280 ms 起, 热损伤参数 Ω 呈指数级增长。

以 Arrhenius 热损伤方程中热损伤参数 Ω 作为评价指标, 0.5, 1, 10 和 100 是不同损伤程度的临界点。激光辐照时间在 60~100 ms 范围内, $\Omega < 0.5$, 小鼠皮肤组织出现轻微损伤斑, 部分辐照点出现微型水疱, 属于可恢复损伤, 符合 $\Omega = 0.5$ 和 $\Omega = 1$ 时的热损伤现象, 属于一级损伤; 辐照时间为 150 ms 时, $\Omega < 10$, 小鼠皮肤组织出现热凝固损伤和水肿现象, 符合 $\Omega = 10$ 时的热损伤现象, 属于二级损伤; 辐照时间为 210 ms 时, Ω 略大于 100, 小鼠皮肤组织出现更为明显的表皮坏死性热凝固损伤以及水肿现象, 辐照时间为 280~550 ms 时, Ω 远大于 100, 皮肤表皮汽化而导致表皮坏死, 辐照时间超过 660 ms, 小鼠皮肤组织表皮层和真皮层汽化严重, 创面边缘有明显的焦痂, 均符合 $\Omega = 100$ 对应的热损伤现象, 属于三级与四级损伤。本研究理论分析与实验结果基本一致, 个别辐照时间点热损伤现象不明显, 分析原因可能是激光辐照后皮肤温度达峰时间以及持续时间极短导致的, 激光辐照时间点不足, 建立的激光诱导生物皮肤组织热损伤模型有待优化。

4 结 论

本文通过实验获得了 1064 nm 连续激光不同辐照时间对小鼠皮肤组织的热损伤规律, 并利用经典的 Arrhenius 热损伤方程进行理论分析, 并进行两者的对比分析。小鼠皮肤经 1064 nm 连续激光损伤作用后, 依据生物效应损伤特征进行热损伤程度评估, 由轻到重可分为四级; 建立的激光诱导生物皮肤组织热损伤模型, 在轻度激光皮肤热损伤时, 如出现微型水疱、轻微热凝固损伤和水肿现象, 理论分析能够较好地验证热损伤分级; 但在中度和重度激光皮肤热损伤时, 理论分析得出的热损伤参数 Ω 偏大, 导致热损伤分级偏高, 后续激光生物组织热损伤模型还需要进一步验证与优化。本文提出的激光诱导生物皮肤组织的热损伤模型可以用于激光设备的安全风险分析, 热损伤等级可以用于激光损伤后的快速诊断和治疗, 对激光设备的安全使用和激光损伤的诊疗具有重要应用价值。

参考文献:

- [1] 李文景. 基于半导体激光种子的1064nm光纤激光器研究[D]. 长春: 长春理工大学, 2013: 5-7 (Li Wenjing. Study of a 1064nm fiber laser based on semiconductor seed laser[D]. Changchun: Changchun University of Science and Technology, 2013: 5-7)
- [2] Hu Xinhua, Fang Qiyin, Cariveau M J, et al. Mechanism study of porcine skin ablation by nanosecond laser pulses at 1064, 532, 266, and 213 nm[J]. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 2001, 37(3): 322-328.
- [3] 周国瑜, 沈玲悦, 田克斌, 等. 长脉冲可调脉宽Gentle YAG 1064nm激光治疗颌面部血管瘤113例效果评估[J]. *上海口腔医学*, 2006, 15(3): 250-253. (Zhou Guoyu, Shen Lingyue, Tian Kebin, et al. Treatment of 113 oral and maxillofacial hemangiomas with long pulsed turnable 1064nm Gentle YAG laser[J]. *Shanghai Journal of Stomatology*, 2006, 15(3): 250-253)
- [4] Chalermuwattananan N, Rujhirunsakool S, Kamanamool N, et al. The comparative study of efficacy between 1064-nm long-pulsed Nd: YAG laser and 595-nm pulsed dye laser for the treatment of acne vulgaris[J]. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 2021, 20(7): 2108-2115.
- [5] 韦洁, 黎冻, 周翔, 等. Q开关Nd: YAG 1064nm激光联合口服氨甲环酸片治疗黄褐斑疗效观察[J]. *中国美容医学*, 2013, 22(9): 965-969. (Wei Jie, Li Dong, Zhou Xiang, et al. Clinical efficacy of using Q-switch Nd: YAG 1064nm laser combined with ranexamic acid for the treatment of melasma[J]. *Chinese Journal of Aesthetic Medicine*, 2013, 22(9): 965-969)
- [6] Zhang Mengli, Huang Yuqing, Wu Qiuju, et al. Comparison of 1064-nm and dual-wavelength (532/1064-nm) picosecond-domain Nd: YAG lasers in the treatment of facial photoaging: a randomized controlled split-face study[J]. *Lasers in Surgery and Medicine*, 2021, 53(9): 1158-1165.
- [7] Kim J Y, Jung H J, Kim D S, et al. The effect of 1320 nm Nd: YAG laser and long-pulsed 1064 nm Nd: YAG laser irradiation on hairless mouse skin[J]. *Korean Journal of Dermatology*, 2004, 42(4): 385-391.
- [8] 和晓琳, 李杨, 罗雯, 等. 长脉宽1064nm Nd: YAG激光在皮肤科的应用[J]. *皮肤病与性病*, 2020, 42(6): 817-820. (He Xiaolin, Li Yang, Luo Wen, et al. Application of long pulse width 1064nm Nd: YAG laser in dermatology[J]. *Journal of Dermatology and Venereology*, 2020, 42(6): 817-820)

表 2 热损伤程度和激光辐照时间关系表

Table 2 Relationship between laser duration and degree of thermal injure

laser duration/m	Ω
60	3.51×10^{-10}
100	3.86×10^{-19}
150	4.39
210	208.73
280	19 607.46
360	4.62×10^{13}
550	6.52×10^{14}
660	2.12×10^{15}
780	5.59×10^{23}

- [9] Won K H, Lee S H, Lee M H, et al. A prospective, split-face, double-blinded, randomized study of the efficacy and safety of a fractional 1064-nm Q-switched Nd: YAG laser for photoaging-associated mottled pigmentation in Asian skin[J]. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 2016, 18(7): 381-386.
- [10] Graham S J, Bronskill M J, Henkelman R M. Time and temperature dependence of MR parameters during thermal coagulation of *ex vivo* rabbit muscle[J]. *Magnetic Resonance in Medicine*, 1998, 39(2): 198-203.
- [11] Fan Yingwei, Ma Qiong, Liang Jie, et al. Quantitative and qualitative evaluation of recovery process of a 1064 nm laser on laser-induced skin injury: *in vivo* experimental research[J]. *Laser Physics Letters*, 2019, 16: 115604.
- [12] Fan Yingwei, Luo Site, Huo Li, et al. An imaging analysis and reconstruction method for multiple-micro-electro-mechanical system mirrors-based off-centre scanning optical coherence tomography probe[J]. *Laser Physics Letters*, 2020, 17: 075601.
- [13] Li Zhifang, Wu Shulian, Cai Shoudong, et al. Segment and feature extraction of optical coherence tomography image of mouse's skin *in vivo* using mathematical morphology[C]//Proceedings of the 2009 2nd International Conference on Biomedical Engineering and Informatics. 2009: 1-4.
- [14] Kagan R J, Peck M D, Ahrenholz D H, et al. Surgical management of the burn wound and use of skin substitutes: an expert panel white paper[J]. *Journal of Burn Care & Research*, 2013, 34(2): e60-e79.
- [15] Moritz A R, Henriques F C. Studies of thermal injury: II. the relative importance of time and surface temperature in the causation of cutaneous burns[J]. *The American Journal of Pathology*, 1947, 23(5): 695-720.