

定量刻画冷冻手术中生物组织损伤度的熵产理论

闫井夫^{1,2} 刘 静¹

(¹中国科学院理化技术研究所 北京 100080)

(²中国科学院研究生院 北京 100039)

摘要:从不可逆热力学角度出发,建立了有一定通用性、能涵盖各类冻融损伤要素的熵产理论分析方法。基于经典 Pennes 生物传热方程,导出了描述活体组织传热过程熵产率的热力学模型,初步提出了用以刻画低温手术过程中组织冻融损伤程度的公式,在此基础上,采用有限元数值计算并借助熵产公式,就血液灌注率、代谢产热及手术时间等因素对手术疗效的影响进行了考察,为从组织层次定量刻画低温手术过程中的冻融损伤提供了新的理论途径。

关键词:低温手术 熵产分析 冷热损伤 损伤评价 不可逆热力学

中图分类号: TB69, Q-331 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6516(2007)02-0050-06

Entropy generation theory to quantify the damage degree of tissues subject to cryosurgical treatment

Yan Jingfu^{1,2} Liu Jing¹

(¹Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

(²Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: From non-equilibrium thermodynamics, a generalized entropy generation theory including multiple factors involved in the freezing/heating process was proposed to evaluate the cryosurgical treatment efficiency. Starting from the well-known Pennes bioheat model, the entropy generation rate equation for characterizing the transport process of living tissues was derived, which has taken into consideration of the living properties such as blood perfusion and metabolic rate. Several correlations were preliminarily suggested to quantify the damage degree thus involved. Further, the finite element method was implemented to solve the transient phase change bioheat transfer problem as well as the entropy generation equation during cryosurgical freezing and rewarming. Effects of the above physiological and thermal parameters were then evaluated.

Key words: cryosurgery; entropy generation theory; freezing/heating injury; damage evaluation; irreversible thermodynamics

1 引言

当前,用以评价生物样品在冷冻和复温之后遭受

损伤的方法多以实验测量为主,一般包括^[1]:形态和生理学观察法,细胞培养之后实施生化检验法,荧光法,流式细胞计数法,液相色谱法,组分分析法,核磁

收稿日期:2006-05-29;修订日期:2007-02-28

基金项目:国家自然科学基金项目(50436030,50325622)支持。

作者简介:闫井夫,男,29岁,博士研究生。

共振法,氧/葡萄糖代谢检测法,差式扫描量热法,电阻抗测量法等。但就低温手术过程而言,上述方法因多是面向离体测量的,并不能用于肿瘤冷冻复温损伤的评估。理论上,至今适宜于描述生物活体组织经受冷冻复温损伤的方法十分缺乏,且大多数均着眼于细胞层次的渗透和相变结冰现象,此方面以 Mazur 建立的“双因素假说”^[2]最为著名,此后的研究者相继提出了修正性的“K-K”模型^[3]、两参数模型^[4],以及胞内冰晶形成机理模型^[5],但这些方法均未超出 Mazur 理论的范畴。不难看出,用于刻画细胞损伤特性的 Mazur 类模型不便于组织层次上的损伤评估,特别是,该方法未能考虑组织降温过程中的血液灌注率和代谢率这两个活体组织特有的热学参数。为此,有必要建立一种更接近实际的理论方法,以便在手术执行前即可对特定降温及升温方案的组织杀伤特性予以评估和优化,从而制定出合理的低温治疗程序。

从这一目标出发,本文首次将非平衡热力学中的熵产概念引入到低温手术损伤评价中。实际上,这一概念在刻画生命科学中一些基本问题方面一直是一个重要工具^[6-8]。在许多领域,熵产被认为是描述不可逆过程的通用工具^[9-11],因此将其引入到低温手术这一典型的不可逆热力学过程,将有助于更清晰地认识有关冻融损伤机制。当肿瘤组织经受强烈的冷冻及升温过程后,其内部结构一般会发发生不可逆转。相关研究表明,细胞膜是生物组织最易遭受损伤的部位之一^[12]。当细胞膜受损后,细胞内容物会出现外流,从而导致细胞外溶液和细胞内组分发生交换互溶,于是引起组织热物理特性发生改变,继而影响到组织的传热过程。由此可见,冻融损伤过程本身就是一个由传热引起的典型不可逆过程,而低温手术正是利用这种不可逆性来对目标肿瘤组织造成杀伤。针对低温手术的实际应用,本文提出了用以定量刻画冻结复温过程中组织损伤度的熵产分析法,基于经典 Pennes 生物热学方程,推导出熵产率控制方程并由此建立了相应的评判准则,在此基础上采用有限元方法,就低温手术过程中血液灌注率和代谢产热等因素对于熵产的影响进行了考察,指出了定量刻画冷冻或升温损伤的几个重要参数。

2 生物传热模型及计算区域

本文采用经典的 Pennes 模型刻画组织的降温及升温相变传热过程。为清晰起见,并考虑到低温手术中冰球的对称性,不失一般性可将传热问题建立在—

维球坐标下,图 1 所示为对应的计算空间示意图。

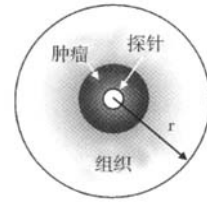


图 1 一维球坐标系下的计算模型示意图
Fig.1 Schematic of the calculation model in one dimensional spherical coordinate

此处,刀头等效为球体,且刀头在冷冻和升温阶段分别给定恒定温度,其数值参照文献^[13]选定,具体见后文。由于刀头尺寸很小,这里取其半径为 2.5 mm;相应的冻结及升温效应,只在一个较小范围(假定为刀头等效半径的 20 倍)内起作用,超出该区域,则取为绝热边界条件。同时,肿瘤也简化成与刀头同心的球体,半径取为 4.5 mm。这样,基于 Pennes 生物传热模型,可写出未冻结组织的控制方程为^[13]

$$C_u \frac{\partial T_u}{\partial t} = \frac{k_u}{r} \frac{\partial^2 (r T_u)}{\partial r^2} - \omega_b C_b T_u + Q_m + C_b \omega_b T_a$$

$$r \in \Omega_u(t) \quad (1)$$

这里,对于整个计算过程需作如下规定:(1)生物组织的冻结发生在一定温度范围内,此区间记为 $[T_m, T_{m_u}]$ ^[13],其中 T_m 和 T_{m_u} 分别代表组织的上下相变温度点;(2)认为组织的密度 ρ 为常数,且在冻结前后不发生变化;(3)未冻结组织内动脉血的温度恒定在 37 °C;(4)在血液灌注区(即未冻结组织内)血液灌注率和代谢率恒定,而在冻结组织和固液共存组织中为零,并在此基础上满足后文提及的手术标准(即依照冻融损伤准则对其在时间和空间上进一步设定)。其中 C_u, C_b 分别为组织和血液的热容; k_u 为组织的热导率; ω_b 为血液灌注率; T_a 为动脉血温度; T 为组织温度; Q_m 为代谢产热。

对于冻结组织,方程(1)中血液灌注率及代谢产热均取为零。为避免相变移动边界上复杂的迭代运算,本文采用等效比热法^[14]对未冻结组织区域、冻结区域及固液共存区域的控制方程统一进行描述,如下所示:

$$\tilde{C} \frac{\partial T}{\partial t} = \tilde{k} \left[\frac{\partial^2 T}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial T}{\partial r} \right] - \tilde{\omega}_b C_b T + Q, \quad r \in \Omega(2)$$

其中 $Q = \tilde{Q}_m + \tilde{\omega}_b C_b T_a, \Omega$ 为整个计算区域, \tilde{C} 为

等效比热, \bar{k} 为等效热导率, \bar{Q}_m 为等效代谢产热, $\bar{\omega}_b$ 为等效血液灌注率。这些等效量的定义可参见文献[13], 但考虑到冻融损伤对上述热学参数的影响, 其数值会有相应改变, 具体取值见后文。为避免上述方程的强非线性, 等效热导率 \bar{k} 被简化为分段阶跃函数, 即当 $T < T_{m1}$ 、 $T_{m1} \leq T \leq T_{m2}$ 及 $T > T_{m2}$ 时, \bar{k} 均为常数。这样, 原本复杂的非线性问题即被简化为线性的非均匀问题。

求解方程(2)的边界条件和初始条件设定如下:

$$T = T_p, r = R_0 \quad (3)$$

$$-k \frac{\partial T}{\partial r} = 0, r = 20R_0 \quad (4)$$

$$T = T_c, t = 0 \quad (5)$$

其中: R_0 为冷刀半径, T_p 为冷刀壁面温度, T_c 为体核温度 37 °C。

3 生物活体组织的熵产率控制方程

根据非平衡热力学的基本概念, 体系熵的变化可采用熵流和熵产来表示, 而只有熵产才是反映过程不可逆的量度。由非平衡统计热力学推导出的广义性熵产率方程为^[8-9]:

$$\sigma = -\frac{1}{T_2} J_q \cdot \text{grad} T - \frac{1}{T} \sum_{k=1}^n J_k \cdot \left(T \text{grad} \frac{\mu_k}{T} - F_k \right) - \frac{1}{T} \Pi : \text{grad} v - \frac{1}{T} \sum_{j=1}^r J_j A_j \quad (6)$$

式中: J_q 为热流, J_k 为扩散流, Π 为动量流或粘滞压强张量, J_j 为化学反应率, F_k 为外力项, A_j 为反应 j 的化学亲和势。分析熵产率的表达式可见: 熵产率由 4 部分组成, 第一项系由热传导引起, 第二项由扩散引起, 第三项则与引起粘滞流动的速度梯度有关, 第四项由化学反应引起。在低温生物材料的保存中, 会涉及保护剂的加载, 此问题可以由式(6)中的多组份扩散和流动项描述, 但相应分析比较复杂。作为初步尝试, 如下分析中仅考虑单纯的传热问题, 其他效应可简单地包括在该效应中。

对处于基础态下的肌肉组织的熵平衡方程可以写为:

$$\rho \frac{\partial s}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_s + \sigma = 0 \quad (7)$$

其中, 熵流可以表示为:

$$\mathbf{J}_s = \frac{\mathbf{J}_q}{T} + \sum_i S_i \mathbf{J}_{mi} \quad (8)$$

这里, J_{mi} 为物质流, 即血液与组织间的扩散流。

于是, 熵产率可写为:

$$\sigma = \nabla \cdot \mathbf{J}_s = \nabla \cdot \left(\frac{\mathbf{J}_q}{T} + \sum_i S_i \mathbf{J}_{mi} \right) \quad (9)$$

为简单起见, 计算区域内不考虑大血管存在, 且由于动、静脉间存在物质平衡的特性, 可忽略物质流 J_{mi} 对熵产率的影响。于是式(9)进一步简化为:

$$\sigma = \nabla \cdot \left(\frac{\mathbf{J}_q}{T} \right) = \frac{\nabla \cdot \mathbf{J}_q}{T} - \frac{\nabla T \cdot \mathbf{J}_q}{T^2} \quad (10)$$

这样, 将方程(2)中有关传热的热流项带入到方程(10)中, 即可建立起描述活体组织熵产率的控制方程:

$$\sigma = \frac{1}{T} \left(-\bar{c} \frac{\partial T}{\partial t} + \bar{\omega}_b C_b (T_a - T) + \bar{Q}_m \right) + \frac{\bar{k}}{T^2} \left(\frac{\partial T}{\partial r} \right)^2 \quad (11)$$

由上式可以清晰看出, 活体组织熵产率值的大小取决于如下因素: 冷冻升温过程的作用时间, 冷冻/升温速率, 冷冻/升温过程的温度场分布及温度梯度, 冷冻升温过程中生物组织的物性参数变化, 冷冻升温过程中生物组织的血液灌注率及代谢产热的变化。由大量低温手术的临床研究可知, 活体组织经受低温手术时, 其冻融损伤程度正取决于上述综合因素。所以, 熵产分析提供了对低温手术中的活体损伤进行宏观量化的广义性方法。

4 结果及讨论

本文理论模型的数值计算采用有限元方法进行。由于整个传热方程和熵产率方程的高度非线性, 求解时对控制方程采取了等价弱解积分形式, 并对熵产率方程与生物传热方程同时进行迭代求解。

由于不同组织对低温的耐受阈值不同, 各类降温速率对于不同组织的杀伤效果也不尽相同。目前, 就生物体遭受不可逆冻融损伤后所引起的热物性改变程度的数据较为缺乏, 因此本文选取了部分典型参数作为基准, 以便讨论。此外, 为简化起见, 仅考虑传热过程对于组织冻融损伤的影响, 其它相关因素及彼此间的耦合作用, 可依照本文中熵产分析法制定相应标准而类比得出。

为实现对低温手术损伤程度的定量刻画, 首先需要借助于试验结论设定一个手术标准。通常, 在低温手术实践中, 一个普遍采用的约定是, 当病变组织冷冻至 -40 °C^[15] 以下时, 即会造成不可逆损伤。为此, 可将 -40 °C 作为损伤阈值, 同时假定将病变组织加热至 45 °C 同样会引起生物组织不可逆损伤。因

此,作为对比分析,此处不失一般性地假设若手术过程中,当组织某处温度到达 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下或 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上时,其物性参数中的热容和热导率分别改变为原数值的 60%,且不可恢复。此外,当组织某处温度到达 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下时,认为该处组织的毛细血管网络已被完全破坏,因此血液灌注率及代谢产热将变为零,且复温后不再恢复。组织的其它物性参数取其典型值^[14]: $C_v = C_u = 3.6\text{ MJ}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C})$, $C_f = 1.8\text{ MJ}/(\text{m}^3 \cdot ^{\circ}\text{C})$, $k_f = 2\text{ W}/(\text{m} \cdot ^{\circ}\text{C})$, $k_u = 0.5\text{ W}/(\text{m} \cdot ^{\circ}\text{C})$, $Q_L = 250\text{ MJ}/\text{m}^3$, $T_{mi} = -8\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_u = -1\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_a = T_c = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 计算中取冷冻阶段 $T_{pi} = -183\text{ }^{\circ}\text{C}$, 加热阶段 $T_{pr} = 88\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

按照上述设定,并分别取冷冻时间 1 200 s, 加热时间 600 s, 这样就人为制定了一套标准手术方案(方案一)。相应计算结果如图 2 和图 3 所示。

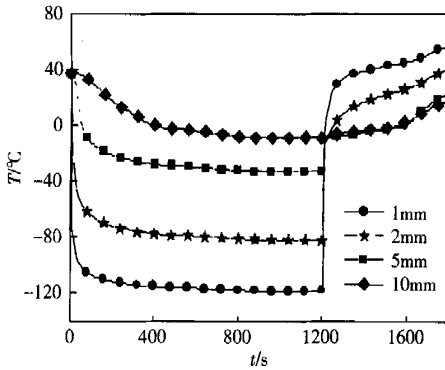


图 2 距刀头不同距离处组织的瞬态温度响应

Fig. 2 Temperature responses at various tissue positions

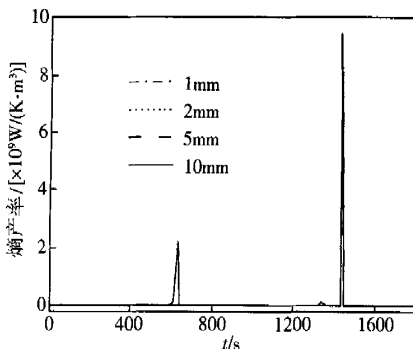


图 3 距刀头外壁不同距离处组织的瞬态熵产率

Fig. 3 Entropy generation rate responses at various tissue positions

这里,图 2 反映直径 5 mm 刀头基于标准手术方案对组织实施低温手术时不同距离处组织的瞬态温度响应,图 3 则为图 2 所对应位置的瞬态熵产率响应。对比图 2 和图 3 可以看出,在手术开始前,组织

内部温度保持均一,熵产率为零。当冷冻开始时,随着相变区域沿半径方向移动,熵产率在相应的时空位置会出现峰值,但其大小随时空的不同而发生改变,此后出现的第二次峰值则反映了升温阶段组织发生相变时熵产率的强烈变化。总的来说,就某一空间坐标,熵产率在冷冻和升温阶段均会在发生相变的温度区间所对应的时间范围内出现峰值。通过上述分析和熵产率方程的推导,可以看出,熵产率峰值随时空的变化不仅与组织温度场、温度梯度、血液灌注率及代谢率的变化密切相关,同时能够很好的反映出整个手术中相变过程(包括冻结过程和融化过程)随时空的变化。因此除通常的温度场监测外,应进一步基于温度及热物性信息评估手术中组织降温、升温过程中的瞬态熵产率及其空间分布,以便更加全面的评估整个手术过程。为更好的理解冷冻和融化过程对生物组织引起的损伤,这里可定义两种熵产:某一位置处的局部熵产 Γ_r , 或整个冷冻升温区域的总熵产 Γ 。对于一个特定的位置,如果对 τ_1 时刻到 τ_2 时刻的局部熵产率加以积分,可以得到从 τ_1 时刻到 τ_2 时刻的局部熵产:

$$\Gamma_r = \int_{\tau_1}^{\tau_2} \sigma_{\tau,r} d\tau \quad (12)$$

其中: $\sigma_{\tau,r}$ 为 τ 时刻、位置 r 处的熵产率, τ_1 和 τ_2 分别为计算的起始和终止时间。此外,对于低温手术来说,人们主要关心的是肿瘤组织的损伤程度,因此整个总熵产可以定义为:

$$\Gamma = \int_{\Omega} \int_{\tau_1}^{\tau_2} \sigma_{t,r} d\tau d\Omega \quad (13)$$

其中 Ω 代表肿瘤所覆盖的空间位置。

由熵产的定义可知,局部熵产可以用来衡量该处组织在手术过程中的不可逆性。而从上述推导可以看出其不可逆性的程度大小与温度场变化过程、血液灌注率和代谢产热之间存在一个隐含的对应关系。对于实际的生物体来说,情况较为复杂,除了血液灌注率和代谢产热的改变对于熵产的影响之外,热容、潜热等物性的改变也不容忽略,而正是这些热物性的改变程度反映了手术造成的不可逆损伤程度。因此,熵产的改变幅度可以作为一种行之有效的评判手术治疗效果的量化方法。为定量显示其相对变化,定义在位置 r 处局部熵产变化率 p_r :

$$p_r = \frac{|\Gamma_r - \Gamma'_r|}{\Gamma_r} \quad (14)$$

其中: Γ_r 为位置 r 处基于标准手术方案下的局

部熵产, Γ' , 则为位置 r 处某次低温手术后的局部熵产。由于局部熵产和总熵产是不可逆性的量度, 因此对于给定位置处局部熵产的变化, 就体现了低温手术中冷冻升温过程所造成的不可逆性改变, 因而也就体现出手术过程对于生物组织损伤的影响程度, 由此可以将 p_r 的大小作为评价低温手术疗效的指标之一。同样, 还可以定义整个肿瘤组织在手术过程中的总熵产变化率:

$$p = \frac{|\Gamma - \Gamma'|}{\Gamma} \quad (15)$$

在建立上述熵产分析理论的基础之上, 这里首先讨论代谢产热和血液灌注率及物性改变对低温手术疗效的影响。假定所实施手术同标准方案, 但由于肿瘤组织抗冻的特异性及所处的特殊位置, 导致肿瘤部位未受到不可逆损伤, 即升温后病灶部位的代谢产热和血液灌注率又恢复活性; 此外, 认为热容、热导率在 $-40\text{ }^\circ\text{C}$ 以下或 $45\text{ }^\circ\text{C}$ 以上只改变为原先的 80%, 同时此改变可以恢复, 而其它影响参数的取值同标准方案。于是可得到相应的计算结果, 分别如图 4 和图 5 所示。

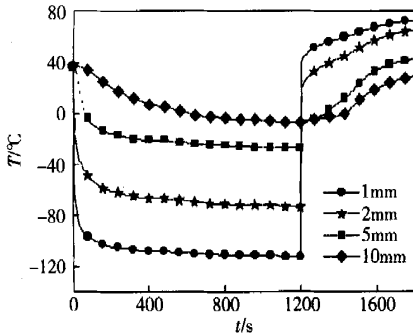


图 4 方案二中距刀头不同距离处组织的瞬态温度响应
Fig. 4 Temperature responses at various tissue positions for Case 2

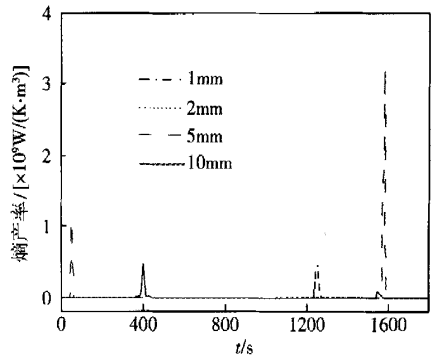


图 5 方案二中距刀头不同距离处组织的瞬态熵产率响应

Fig. 5 Entropy generation rate responses at various tissue positions for Case 2

对比图 2 与图 4 可以看出, 在冷冻阶段距刀头相同位置处方案二所达到的最低温度低于标准方案中的温度, 而在升温阶段方案二所达到的最高温度却高于标准方案中的最高温度, 温度场的这种变化显然与肿瘤的特异性及所在部位的代谢产热和血液灌注率不同有关。对比图 3 和图 5 可以看出, 这两种方案所展现的相变传递过程是截然不同的, 因此, 为了更好的将方案二与标准方案进行比较, 可依照前文所述对局部熵产变化率进行计算, 相应结果见表 1。由表 1 可知, 对于冷冻阶段来说, 肿瘤部位 p_r 很小, 因此冷冻效果相对不错, 但距刀头 5 mm 处效果变弱, 这其实也是低温手术所希望达到的效果, 原因是可减小对正常组织的破坏。由表 1 还可以看出, 再经过 600 s 的加热过程后 p_r 在距刀头 2 mm 处 (即肿瘤边缘处) 增大了许多, 说明肿瘤并未产生完全不可逆冷冻损伤, 因而依此方案实施手术很难取得预期效果。

表 1 不同冷冻复温方式下有关组织部位的局部熵产变化率

Table 1 Local entropy generation rate at various tissue positions subject to different freezing and heating

距刀头位置 r/mm	p_r		
	方案二相对于标准方案:	方案二相对于标准方案:	方案三相对于标准方案:
	冷冻 1 200 s	冷冻加热各 1 800 s	冷冻加热各 900 s
1	0.268 1	1.969 8	0.285
2	0.243 4	11.12	0.486
5	8.447 6	10.85	0.64
10	0.793 2	0.928 8	14.147

其次还讨论了冷冻升温作用时间对治疗效果的影响。这里假设冷冻及加热时间分别缩短为 600 s 及 300 s, 而其它参数设定同标准方案。

图 6 所示为对组织实施低温手术 600 s 时不同距离处组织的温度响应曲线。从图中可以看出, 组织损毁半径约在 5 mm 处, 这既摧毁了肿瘤又最大程度

地保护了周边正常组织,可见手术效果好于标准方案。为此对方案三与标准方案采用熵产分析法进行分析,结果参见表1。从中可以看出,这一手术方案也十分理想,既对肿瘤起到杀伤作用,又不至于对正常组织造成过大伤害。

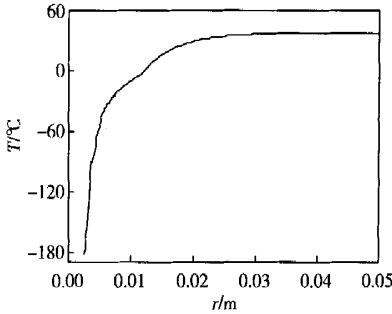


图6 冷冻600 s时的组织温度分布
Fig.6 Tissue temperature distribution
after freezing for 600 s

为了更好的说明冻融过程对于肿瘤破坏程度,对上述两种情况下的总熵产变化率进行了计算。结果方案二与标准方案的总熵产变化率 $p = 58.154$,而方案三与标准方案的总熵产变化率 $p = 0.453$ 。由此可见,第一种情况下的 p 很大,显示其肿瘤破坏程度不够;而第二种情况下 p 很小,这正好与局部熵产变化率反映的结果相一致,表明手术效果良好。

综上所述,将熵产理论用于低温手术方案的优化与术后评估是可能的。但若要达到真正实用化,其关键问题即标准手术方案的科学制定是关键。此方面,需要对如下几类问题加以深入研究:

(1)尽可能剖析肿瘤的特异性,以确保熵产分析中对于肿瘤不可逆损伤的评判标准与实际病理学检验的结果相一致。

(2)对肿瘤的空间位置及所在部位的血液灌注率和代谢产热数据需有准确的测量。

(3)由于肿瘤冷冻损伤涉及因素较多,因此熵产分析法的实际应用需建立在一定临床实验数据积累之上,其有效性与准确性还可结合其它评判准则加以验证与补充。

5 结论

提出了一种用于在冷冻手术中定量刻画生物组织损伤度的理论方法——熵产分析法,该措施的引入为临床上制定科学的低温手术方案,实现理想治疗效果提供了新的定量评估手段。熵产分析法的优点在于:

- (1)对不可逆热损伤程度可以作出定量分析;
- (2)可以在手术前进行模拟计算时实施术前初步评估,从而对手术方案予以优化;
- (3)熵产分析方法简便易行,主要依赖于温度场的分布信息及相关组织热物性参数。

本研究熵产方程的导出是建立在某些假设的基础之上,数学模型不一定完全反映实际的低温手术过程;同时,肿瘤致死机理除不可逆热损伤外还有其它诸多因素,这些都限制了熵产分析进一步的实用化,此方面有待于今后的探索。作为发展通用的热损伤评价措施的尝试,本研究工作为从组织宏观角度定量刻画低温或热损伤过程指出了新的努力方向,为低温手术的优化与评估建立了一种有效的理论手段。

参 考 文 献

- 1 Liu J, Zhou Y X. Freezing curve based monitoring to quickly evaluate the viability of biological materials subject to freezing or thermal injury. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, 377: 173 ~ 181
- 2 Mazur P, Leibo S P, Chu E H Y. A two factor hypothesis of freezing injury-evidence from Chinese hamster tissue culture cells. *Exp. Cell. Res.*, 1972, 71(2): 345 ~ 355
- 3 Kedem O, Katchalsky A. Thermodynamic analysis of the permeability of biological membranes to non-electrolytes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1989, 1000: 413 ~ 430
- 4 Kleinhans F W. Membrane permeability modeling: Kedem-Katchalsky vs a two-parameter formalism. *Exp. Cell. Res.*, 1972, 71(2): 345 ~ 355
- 5 Toner M, Cravalho E G. Thermodynamics and kinetics of intracellular ice formation during freezing of biological cells. *Journal of Applied Physics*, 1990, 67(3): 1582 ~ 1593
- 6 Prigogine I. *Introduction to Thermodynamics of Irreversible Processes*, Wiley, 1967
- 7 李如生. 非平衡态热力学和耗散结构. 北京:清华大学出版社, 1986
- 8 曾丹苓. 工程非平衡热力学. 北京:科学出版社, 1991
- 9 Bejan A. *Entropy generation through heat and fluid flow*. New York: John Wiley & Sons, 1982
- 10 Bekir S Y, Muhammet Y, Mehmet P. Entropy analysis for non-Newtonian fluid flow in annular pipe: constant viscosity case. *Entropy*. 2004, 6: 304 ~ 315
- 11 Bejan A. *Entropy generation minimization*. Boca Raton: CRC Press, 1996
- 12 Han B, Bischof J C. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. *Cryobiology*, 2004, 48(1): 8 ~ 21
- 13 Deng Z S, Liu J. Modeling of multidimensional freezing problem during cryosurgery by the dual reciprocity boundary element method. *Engineering Analysis with Boundary Elements*, 2004, 28(2): 97 ~ 108
- 14 Deng Z S, Liu J. Numerical study on the effects of large blood vessels on three-dimensional tissue temperature profiles during cryosurgery. *Numerical Heat Transfer, Part A: Applications*, 2006, 49: 47 ~ 67
- 15 Rubinsky B. *Cryosurgery*. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 2000, 2: 157 ~ 187