

冷冻损伤

张中兴 著

上海科学技术出版社



95439

冷冻损伤

张中兴 著



上海科学技术出版社

责任编辑 柯如仙

特约编辑 王国晨

冷 冻 损 伤

张中兴 著

上海科学技术出版社出版、发行

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所经销

军事医学科学院情报研究所印刷厂印刷

开本 850×1168 1/32 印张 5.25 字数 111,000

1993年3月第1版 1993年3月第1次印刷

印数 1-1,700

ISBN7-5323-3002-8/R·898

定价: 4.60元

(沪)新登字 108号

序 言

冷冻损伤涉及在体的意外性冷冻损伤、冷冻医疗，以及离体生物样品的冷冻保存和移植应用，是低温医学和低温生物学的重要内容。在某些条件下发生的意外性冷冻损伤，主要是冻伤，不仅见于严寒地区，而且见于温带以及登山、探险和意外事故中，战争和自然灾害条件下往往成批发生，威胁人们的健康，因此研究冷冻损伤在临床医学、灾害医学和军事医学中均有重要意义。

研究在体冷冻损伤的高潮是在第二次世界大战和朝鲜战争期间，许多学者注意到了血液循环障碍在冷冻损伤发展中的重要作用，发现了冻结状态下温水快速融化复温的急救效用。但是近几十年来有关的研究较少，进展缓慢。

一个偶然的原因使笔者在一生中最宝贵的时间里从事冷冻损伤，主要是其病理生理和实验治疗的研究。不少同志先后参加了这些实验。在近 20 年的时间里从组织结构、生理功能和细胞代谢的不同侧面研究了冷冻损伤程度与各种改变的关系，重点研究了冻伤组织的血流量、循环血中氧的利用、能量代谢以及某些合成与分解代谢的变化。深化了关于血液循环障碍在冷冻损伤发展过程中重要作用的认识。同时本着减轻初始损伤，改善血液循环和防止局部感染的原则进行了实验治疗研究。发现了在冻肢已经融化，水肿明显形成之后用洗必泰(双氯苯双胍己烷)溶液多次温浸可以达到如同冻结状态下温水快速融化复温的效用，更重要的是当它与动脉注射普鲁卡因合用时可使存活面积明显提高，使实验治疗达到了新的水平，为重度冻伤的治疗开辟了新的有实用价值的途径和方法。

本书的研究资料有些已经发表，有些尚未发表，为了揭示其系统性和内在联系特将它们汇集成书。应当说它是同事们共同努

力的结果，不少同志为此付出了辛勤劳动，其中特别是李凤芝同志，她始终参加这项工作，而且有些工作是以她为主完成的，这在参考资料中可以一目了然。

人生一世，草木一秋，工人做工，农民种田，许多人都愿为人类为社会做出更大的贡献，但现实中各种机遇和条件的影响，一个人往往只能在某些方面做出微小的成绩，我们的工作也是如此。不过，面对以组织坏死为转归的重度冻伤，通过努力取得今日的进展也是笔者所始料未及的。因此，作为沧海之一粟，我愿将它献给科学的春天。自然，由于主客观因素的限制，在内容和观点上均难免错误之处，务望读者指正。

张 中 兴

于军事医学科学院

1991. 3. 北京

目 录

第一章 概述	(1)
第二章 冷冻损伤的病理模型	(5)
一、定温定时冷冻损伤模型	(7)
(一) 浸冻液温与活存长度的关系	(7)
(二) 最低组织温度与活存长度的关系	(8)
二、以组织温度变化为依据的冷冻模型	(10)
(一) 冷冻时间和复温方法的选择	(12)
(二) 冷冻液温与活存面积的关系	(12)
(三) 复温水温与活存面积的关系	(13)
(四) 浸冻时间与活存面积的关系	(14)
(五) 个体差异与冷冻条件的选择	(16)
第三章 冷冻损伤的病理生理	(19)
一、病理变化	(19)
(一) -40℃ 浸冻模型	(19)
(二) 25 / 20 冻伤模型	(21)
(三) 大鼠后足冷冻模型	(25)
(四) 二甲基亚砷(Me_2SO)的影响	(33)
二、冷冻损伤组织血管通透性的变化	(34)
三、冷冻损伤组织血流量的变化	(35)
(一) 皮肤温度变化与活存的关系	(36)
(二) ^{133}Xe 廓清速率与冻伤组织活存能力的关系	(37)
(三) 冻肢血流量的变化	(38)
四、冷冻损伤组织循环血中氧含量与氧的利用	(40)
五、冷冻程度与肌肉琥珀酸脱氢酶(SDH)活性	(41)
六、冷冻程度与肌肉能量代谢	(43)

(一) 低温对肌肉干湿重百分比的影响	(44)
(二) 冷冻程度与肌肉中高能磷酸化合物含量	(44)
1. ATP 含量的变化	(44)
2. ADP 含量的变化	(45)
3. AMP 含量的变化	(46)
4. 磷酸肌酸(CP)含量的变化	(47)
5. ATP 与 CP 含量变化的关系	(48)
(三) 冻肢肌肉线粒体氧化磷酸化活性的变化	(48)
1. 呼吸三态氧耗速率的变化	(50)
2. 呼吸控制率的变化	(50)
3. 氧化磷酸化效率(ADP/O)的变化	(51)
4. 氧化磷酸化过程中 ATP 生成量的变化	(51)
(四) 低温对于骨骼肌线粒体氧化磷酸化与 CP 生成偶联的影响 ...	(52)
1. 关于大鼠骨骼肌线粒体氧化磷酸化与 CP 生成过程偶联的证明	(52)
2. 含肌酸的反应系统中加入 ATP 后线粒体呼吸第IV ₂ 态耗氧 速率变化	(53)
3. CP 生成量的变化	(54)
七、冷冻程度与肌糖元含量	(55)
八、冷冻程度与胶原代谢	(57)
(一) 正常大鼠 24h 尿中羟脯氨酸排出量	(58)
(二) 冷冻损伤程度与 24h 尿中羟脯氨酸排出量	(58)
(三) 冷冻程度与皮肤羟脯氨酸含量	(60)
九、冷冻程度与炎症反应强度(肌肉中 DNA 含量的变化)	(61)
十、冷冻程度与血清磷酸肌酸激酶(SCPK)活性	(63)
(一) 正常家兔的 SCPK 活性	(63)
(二) 兔足 25/20 冻伤模型	(63)
(三) 冷冻程度与冻后 SCPK 活性	(65)
第四章 重度冻伤的实验治疗研究	(68)

一、温水快速融化复温治疗重度冻伤.....	(68)
(一)应用时机和应用条件	(68)
1. 温水快速融化复温的效用	(70)
2. 应用时机与效用的关系	(70)
3. 冷冻程度与效用的关系	(72)
(二)对冻伤组织微循环血流量的影响	(75)
(三)对冷冻损伤组织病理改变的影响	(75)
二、5-硝基呋喃衍生物治疗重度冻伤.....	(79)
(一)呋喃西林霜剂治疗兔耳重度冻伤的效用	(80)
(二)呋喃西林霜剂治疗兔足重度冻伤的效用	(81)
(三)5-硝基呋喃化合物治疗冻伤有效基团的分析实验	(83)
(四)呋喃西林对冷冻损伤组织血管通透性的影响	(85)
(五)5-硝基呋喃化合物对组织匀浆氧耗量的影响	(85)
(六)呋喃西林对冷冻损伤组织水肿的影响	(87)
三、722 复方霜剂治疗重度冻伤	(88)
(一)治疗兔足重度冻伤的效用	(89)
(二)722 复方的抗渗出作用	(90)
四、724 复方霜剂治疗重度冻伤	(91)
(一)与呋喃西林霜剂的效用比较	(91)
(二)提取条件与效用的关系	(92)
(三)霜剂中三乙醇胺含量与效用的关系	(93)
(四)作用因素的初步分析	(93)
(五)对冻伤组织微循环血流量的影响	(94)
五、洗必泰治疗重度冻伤.....	(95)
(一)洗必泰液多次温浸与温水快速融化复温的效用比较	(95)
(二)作用因素的比较分析	(96)
1. 洗必泰液多次温浸与温水多次温浸的效用比较	(96)
2. 不同温度洗必泰液多次浸泡的效用比较	(96)
(三)应用方式与效用的关系	(98)

1. 洗必泰霜剂与洗必泰液多次温浸的效用比较	(98)
2. 洗必泰粉剂与洗必泰液多次温浸的效用比较	(99)
(四) 效用的时间因素	(99)
1. 首次应用时间与效用的关系	(99)
2. 连续应用日数与效用的关系	(100)
(五) 浓度与效用的关系	(101)
(六) 两种盐类的效用比较	(102)
(七) 疗效与抗感染作用的关系	(102)
1. 显效时的抗感染作用	(103)
2. 无效时的抗感染观察	(104)
(八) 对病理改变的影响	(107)
(九) 对组织血流量的影响	(108)
(十) 对循环血中氧含量和氧利用的影响	(109)
(十一) 肌肉琥珀酸脱氢酶(SDH)活性的变化	(109)
(十二) 肌糖元含量的变化	(110)
六、几种表面消毒剂治疗冷冻损伤的效用比较	(111)
(一) 与呋喃西林和新洁尔灭的效用比较	(112)
(二) 与杜灭芬液多次温浸的效用比较	(112)
七、动脉注射血管扩张剂的效用观察	(113)
(一) 动脉注射利血平或妥拉唑林的效用	(113)
(二) 动脉注射普鲁卡因的效用	(114)
八、温水快速融化复温与洗必泰液多次温浸 合用的效用	(115)
九、动脉注射普鲁卡因与洗必泰液多次温浸 合用的效用	(116)
(一) 冻后立即动脉注射普鲁卡因的效用	(116)
(二) 冻后 4h 或 24h 动脉注射普鲁卡因的效用	(117)
十、综合治疗作用机理的探讨	(118)
(一) 对于血流量的影响	(118)

(二) 对血流中氧利用的影响	(119)
(三) 琥珀酸脱氢酶(SDH)活性的变化	(121)
(四) 肌肉中高能磷酸化合物含量的变化	(122)
(五) 病理形态学变化	(124)
第五章 人体冷冻损伤	(127)
一、冷冻损伤的分类	(127)
二、冻结性冷冻损伤的分度	(129)
三、冷冻损伤的治疗	(131)
(一) 轻度冻伤的治疗	(131)
(二) 重度冻伤的治疗	(132)
1. 急救	(132)
2. 改善血液循环	(134)
3. 抗感染	(139)
4. 综合治疗	(143)
5. 手术治疗的一般原则	(143)
6. 全身性治疗	(144)
第六章 结束语	(146)
主要参考文献	(152)
一般参考资料	(153)

第一章 概 述

由寒冷引起的组织损伤是寒带冬季的常见病，战争期间尤为多见。据统计，两次世界大战中冻伤人数超过 100 万(Mills, 1973)。朝鲜战争期间，美军后送伤员中约四分之一是冻伤(Orr, 1951)。Killian (1981) 收集了历次战争期间冻伤的统计资料(表 1)，说明战争中冻伤较多。

我国地处北温区，三北(华北、东北、西北)地区冬季较冷。东北和西北的北部地区冬季气温一般在 $-30\sim-40^{\circ}\text{C}$ ，容易发生冻伤。战争中我军也曾多次遇到突然发生成批冻伤病人的情况，其中尤以抗美援朝战争中为最严重。和平时期的冻伤多见于野外作业、海上失事、醉酒、迷路及精神失常的病人。严重的冻伤给人体的生命安全带来严重威胁。

引起冻伤的主要原因是寒冷。但是，风速、潮湿、衣服单薄、饥饿、疲劳等均能促进冻伤的发生或加重冻伤的程度。

冻伤的发生部位与暴露情况有关。手、足、耳、鼻、面颊等部位容易发生冻伤。有时前额及会阴部亦可发生冻伤。和平时期手部冻伤多于足部；战争时期足与小腿部冻伤多于手部，约 70%~80%的冻伤发生在下肢。

冻伤包括两类由寒冷引起的损伤。一类是在不甚严寒的条件下($0\sim10^{\circ}\text{C}$)，裸露的局部较长时间受到寒冷的作用，使血液循环不良，组织营养障碍引起的损伤，此类损伤无组织冻结的过程，称为非冻结性冻伤(Meryman, 1957)，其中包括冻疮，浸渍足、战壕足等；而在比较严寒的条件下，经历组织冻结和融化过程的组织损伤，称为冻结性冻伤(Meryman, 1957; Kulka, 1965)。冻结性冻伤又依其发生速度，分为快速冻结性冻伤与慢速冻结性冻伤。潮湿的肢体与很冷的金属物接触，或在某些情况

下由液氮引起的冻结可以引起快速冻结性冻伤。而临床工作中常见的冻伤多为慢速冻结性冻伤。

表 1 战时冻伤病例的部分统计资料

战 争	关于寒冷损伤的资料	来 源
3~4 世纪,希腊 军队在亚美尼 亚战争	由历史学家赞诺芬讲述:由于寒冷 希腊军队在亚美尼亚遭到重大损失	Grattan(1922) Brandlis(1943)
1700~ 1709 年 瑞典查理十二 的俄国战役	在俄国冬天的战役中查理十二的军 队由于寒冷损失惨重	Brandlis(1943)
1803 年拿破伦 的俄国战役	在俄国和波兰由于寒冷拿破伦大军 遭到严重损失	Larrey(1817)
1854 年的克里 木战争	30 万法国人中冷冻损伤 5 290 例, 其中 1178 例为重症 5 万英国人中 2 398 例寒冷损伤,其 中 178 例死亡 在塞瓦斯托波尔 2 800 例寒冷损伤, 其中 900 例为重症,有些死亡	Sonneburg 等 (1915) Holmes(1915) Hays 等(1955) Pirogow(1864)
1862 年美国国 内战争	15 273 例寒冷损伤,其中 1 075 例 为重症,6 例死亡	Whayne 等(1958) Hays 等(1958)
1870~ 1871 年 法普战争	1014 例寒冷损伤,6 例死亡	卫生部门的报告 (1880)
1905 年日俄 战争	双方寒冷损伤约 10 000 人,1 200~ 1 500 人截肢(67%为足,28%为手)	Mac Pherson(1908) Whayne 等(1958)
1912~1913 年 巴尔干战争	即使在 0℃以上亦有很多湿型寒冷 损伤,如浸渍足。塞尔维亚一方寒冷 损伤约 2 000 人	Meyer 等(1914) Welcker(1913) Wieting(1913)

(续表)

战 争	关于寒冷损伤的资料	来 源
1914~1918年 第一次世界大 战	在俄国前线全部减员中 8%为冻	Floerken (1915)
	伤。有一夜发生了 10 000 名冻伤。据	Zuckerand(1916)
	Tuffer 报告, 79 465 例战壕足, 为全部	Pranter (1915)
	减员的 3.02%	Witteck (1914)
	英国在所有战场因寒冷损伤共减员	Friedrich (1919)
	115 367 人, 在达达尼尔海峡减员	Tuffer (1918)
	14 584 人, 其中 6 602 人为寒冷损伤。	Mignon (1918)
意大利军队在阿尔卑斯寒冷减员	30 000 例	Floerken (1920)
		英国卫生部门(1931)
		Greene (1941)
		Castellaneta(1940)
1937年西班牙 内战	在 Palomea 的 Ferstell 12 000 人中	Jimeno-Vidal(1942)
	4.16%为寒冷损伤, 5 人死亡	Lopez-Mumiz(1941)
		Ducuing (1940)
1940~1941年阿 尔巴尼亚-意大 利希腊战争	400 000 希腊士兵中 28 000 人有明	Katsar, Agnatis
	显的寒冷损伤	(1977)
1939-1945年 第二次世界大 战	不完全资料: 据 Mikat 报告,	Mikat (1951)
	252 664 例寒冷损伤, 上肢 7.9%, 下肢	Killian (1966)
	91.4%, 美国海、空军 60 000 例寒冷	Webster 等(1942)
	损伤, 1939~1940 年法军寒冷损伤	Schumacker (1947)
	10 000 例	Harris 等(1944)
1950~1952年 朝鲜战争	美军寒冷损伤 5 629 例, 占总减员的	Blair (1951)
	9.9%	Orr 等(1951)
		de Bakey (1951)

冻伤的分度是一个悬而未决的问题。目前多数学者主张将冻伤分为四度。Ⅰ度和Ⅱ度冻伤，损伤范围累及表皮和真皮，损伤较轻，病程较短，适当治疗可以加速治愈；即使不治疗，只要去除致病因素亦可自愈。因这类冻伤损伤轻，累及的范围表浅，称为轻度冻伤或浅层冻伤。Ⅲ度和Ⅳ度冻伤损伤的范围涉及皮下组织、肌肉、血管、神经乃至骨骼，其特征是组织坏死，不治疗或治疗不当，冻区组织终将坏死，造成组织乃至部分肢体的丢失，导致终身残疾，因此这类冻伤又称为重度冻伤或深部冻伤。在无感染的情况下，重度冻伤是一种无菌性坏死性炎症过程，因此还称为坏死性冻伤。

由于重度冻伤的严重危害，而且迄今为止对于其病理生理过程缺乏深入的系统研究，为了寻找有效的重度冻伤治疗方法，我们对于重度冻伤的病理生理和实验治疗进行了一些研究，本书着重介绍了这些研究的结果。

第二章 冷冻损伤的病理模型

重度冻伤的特征是组织坏死，在人体难以进行重度冻伤的实验研究，仅仅可以进行一些临床观察和有限的实验治疗。因此，在动物体制备类似人体重度冻伤的病理模型，对于重度冻伤的研究具有重要的意义。而且，尽管人体与动物有许多不同，其重度冻伤的病理生理过程和实验治疗的效果却十分接近；动物实验中有效的治疗措施在人体同样有效。

在制作重度冻伤病理模型时，首先应当注意动物种类的选择。曾经用过的动物有小鼠、大鼠、豚鼠、田鼠、家兔、狗和猴（表 2）。在这些动物中，小鼠、大鼠和豚鼠用来研究冷冻损伤

表 2 一些作者制备动物冷冻损伤模型的方法

作者	动物	温度 (°C)	时间 (min)	评价方法	参考文献 (年份)
Sullivan B.J 等	金黄袋鼠	-80	30~60	分级计面积	1957
Talwar J.R. 等	猴腿	-30	60	分级	1966
Srivasta R.K 等	大鼠后足	-10~-25	30~90	分级	1976
Sjostrom B 等	兔耳	-40		活存面积	1964
Gildenberg P.L 等	兔足	-15	-5°C 下 18 分	活存长度	1964
Dawson D. 等	兔足	-15	-5°C 下 18 分	分级	1958
Mundth E.D 等	兔足	-15	-5°C 下 18 分	分级	1964
Webster 等	兔足	-30	3	分级	1965
Gupta N.M. 等	兔足	-8	冻结 30 分	分级	1969
Gage A.A. 等	兔足	-20~-45		长度%	1970
Talwar J.R 等	兔足	-5~-10	120	分级	1966
Gulati S.M. 等	猴足	-30		分级	1969

注：除表中第四种方法用液体复温外，其余均为自然复温；冷冻方式除前三种分别用冷接触、冷室和冷风外，其余均为冷浸方式

中的某些问题是可行的，但因其个体较小，冻伤之后管理困难，难以进行实验治疗的比较观察，因此应用较少。在冻伤研究中用过的较大的动物是家兔、狗和猴，但是，狗的血管反应与人体差异较大，近来也少为采用，猴无论在组织解剖结构和生理功能方面均接近于人，是比较适宜的实验动物，但来源困难，价格昂贵，难以饲养和管理，除少数作者外（如印度的一些学者），很少有人应用。目前在重度冻伤病理生理和实验治疗研究中，应用最多的是家兔。家兔来源广泛，易于管理和观察；而且实验证明，在家兔肢体实验性重度冻伤有明显疗效的药物或方法，在猴和人体同样有效，从而为重度冻伤的研究提供了方便。

曾经用来制备重度冻伤病理模型的方法有四种：①喷雾冷冻法；②接触（固体物）冷冻法；③空气冷冻法；④冷液浸冻法。Srivasta R.K 等还研究过皮下注射少量蒸馏水，再行冷冻的方法（1976）。在冻伤研究的早期文献中喷雾冷冻法和固体冷冻法应用较多，但后来逐渐减少，可能与其冷冻范围较小，层次较浅，难以控制损伤程度有关。空气冷冻法最接近于人体的寒冷损伤，曾被一些作者使用，但其个体差异较大，难以得到比较一致的冻伤模型，实验研究的可比性较差。由于这些原因，冷液浸冻法渐被重视，广泛地用于冷冻损伤研究。冷液浸冻法的优点是温度容易控制，热的传导快而且均匀，个体间差异较小，容易掌握冷冻程度。而且尽管冷液浸冻法与人体冻伤发生的方式悬殊较大，但病理变化是一致的，治疗效用亦可互相验证。

在制备冻伤模型时，又因实验目的的不同，选择适当的动物和冷冻部位。例如，为观察冷冻对于微循环的影响，Rabb 使用了地鼠颊囊，Kulka 选用小鼠的耳朵。在实验治疗研究中应用较多的是大鼠尾巴，兔的耳朵和后足，以及猴的足。

Sjostrom 等曾将兔耳浸于接近体温的水中，用逐渐加入冷液的方法使液体降温，促使兔耳同步降温，冷冻至一定程度，并持续一定时间后，迅速加入热水，进行快速复温，寻求低温程度和

持续时间与组织丢失率之间的关系，他称这种冻伤模型为“标准”冻伤模型，但这种冻伤模型的缺点是兔耳结构简单，主要由皮肤与软骨组成，代表性较差，况且其后来的实验结果表明，这种模型不够稳定。

综上所述可以看出，迄今为止重度冻伤的实验模型仍未解决，特别是缺乏有监控指标，可以预计活存情况，重现性比较好的冻伤模型，而这种模型的建立在重度冻伤病理生理和实验治疗中均有重要意义。由此出发，我们在重度冻伤病理模型方面进行了一些研究，先后制备了两种兔足重度冻伤模型。

一、定温定时冷冻损伤模型

实验采用体重 2.5~3.0kg 的雄性青紫兰家兔，在实验室适应一段时间后将一只后足（多为右侧）充分剪毛，测量由第四跖骨粗隆至足尖的长度，并在平第四跖骨粗隆处用特种铅笔画一条浸冻线。尔后将兔足浸入不同温度的干冰-乙醇（90%~95%）液中，持续浸冻 4min。冻足取出后，用灭菌纱布拭干，加以包扎，在室温中自然复温。

冻足由冷冻液中取出时处于冻结状态，灰白色，冰冷坚硬，冻后 0.5h 左右逐渐变软，呈浅红色，冻后 1h 左右开始肿胀，冻后 4h 水肿显著，冻后 12~24h 肿胀达到高峰，体积约增加 1 倍，冻区红肿明显，跖面出现大小不等的血性水泡，晶莹透明。此种状态约持续 3~5d，以后渗出由少而多，肿胀渐消，冻区皮肤由鲜红而粉红，进而变为灰白色。7~10d 干燥坏死，出现明显的坏死分界线，最后坏死部位脱落。

（一）浸冻液温与活存长度的关系

家兔 150 只，分为 3 组。各组剪过毛的右后足分别在 -30°C ， -35°C 和 -40°C 干冰-乙醇液中浸冻 4min，结果见图 1。

-30°C 浸冻组的平均活存长度为 $23.3\% \pm 2.3\%$ （平均数 \pm 标准误，下同）； -35°C 组平均活存长度为 $11.1\% \pm 0.8\%$ ； -40°C 组平均活存长度为 $5.3\% \pm 1.4\%$ ，各组之间经 t 检验，差异均非