



# 实用冷冻外科

浙江制冷学会  
浙江省中医院

16  
2

# 实用冷冻外科

章崧英 周孝增 主编

浙江制冷学会  
浙江中医院

## 前 言

冷冻外科又称低温外科，是六十年代发展起来的一门新学科，我国在冷冻外科临床应用方面的工作虽亦开展多年，但尚缺少这方面自己编写的专题书籍，为了便于临床医务人员了解冷冻外科的基本知识，推广应用深低温技术，在医疗工作中的合理应用冷冻治疗，充分发挥冷冻外科的独特性能和各种有利作用，我们着手编写本书，供广大医务人员和冷冻疗法的专业人员参考。

本书内容主要根据浙江省中医院冷冻组多年来冷冻治疗的临床实践体会，结合国内外有关资料进行介绍。本书除着重介绍冷冻外科的基本原理、各型临床应用外，同时介绍了各种常用的低温治疗器的性能、结构和常见故障的排除以及液氮制作、贮存和运输等方面知识。对冷冻外科治疗各种疾病的适应症、操作方法、治疗效果和并发症提出了初步的看法。鉴于冷冻外科在我国开展只不过6—7年时间，不少内容尚处于摸索发展阶段，认识有一定局限性，特别对低温免疫方面的见解，目前尚缺乏完全一致的认识，需在今后实践中不断研究提高。

由于我们水平和经验有限，收集国内外资料不够全面，错误缺点，在所难免。希望批评指正！

编 者

1980.1月

# 实用冷冻外科

## 目 录

第一章 冷冻外科发展史·····	章崧英 ( 1 )
第二章 低温生物学·····	周孝增 ( 4 )
第一节 冷冻损伤的机理·····	( 4 )
第二节 冷冻对组织细胞的变化·····	( 9 )
第三节 冷冻对正常和肿瘤细胞的杀伤力·····	( 16 )
第四节 组织冷冻后酶的变化·····	( 22 )
第三章 低温免疫学·····	周孝增 ( 23 )
第一节 低温免疫学基本概念·····	( 23 )
第二节 恶性肿瘤低温免疫的实验研究·····	( 27 )
第三节 恶性肿瘤低温免疫的临床观察·····	( 34 )
第四章 致冷剂和冷冻器械·····	王 晖 ( 39 )
第一节 温差电致冷·····	( 39 )
第二节 等焓膨胀致冷·····	( 41 )
第三节 相变致冷·····	( 43 )
第四节 温度测定·····	( 56 )
第五章 冷冻手术操作方法·····	章崧英 ( 61 )
第一节 冷冻手术前准备及术后处理·····	( 61 )
第二节 常用冷冻方法·····	( 63 )
第三节 冷冻手术的优缺点·····	( 68 )
第六章 冷冻手术在普外科的应用·····	周孝增 ( 71 )

第一节	冷冻止血	( 71 )
第二节	冷冻痔切除术	( 75 )
第三节	普外科其他疾病的冷冻治疗	( 82 )
<b>第七章</b>	<b>冷冻手术在肿瘤科的应用</b>	周孝增 ( 87 )
第一节	概论	( 87 )
第二节	冷冻治疗恶性肿瘤的免疫学问题	( 91 )
第三节	皮肤癌的冷冻治疗	( 92 )
第四节	冷冻治疗肝癌	( 98 )
第五节	冷冻治疗肛管直肠癌	( 100 )
第六节	冷冻治疗乳腺癌	( 102 )
<b>第八章</b>	<b>冷冻手术在良性及癌前期皮肤病的应用</b>	
		段秀麟 ( 104 )
第一节	良性皮肤病	( 104 )
第二节	癌前期皮肤病	( 112 )
第三节	冷冻疗法的反应及其处理	( 114 )
<b>第九章</b>	<b>眼科冷冻手术</b>	张小益 ( 117 )
第一节	白内障冷冻摘出术	( 119 )
第二节	冷冻手术治疗视网膜膜剥离	( 125 )
第三节	冷冻治疗青光眼	( 130 )
第四节	冷冻治疗单疱病毒性角膜炎	( 132 )
第五节	冷冻治疗眼部肿瘤	( 136 )
第六节	冷冻治疗其他眼病	( 137 )
<b>第十章</b>	<b>冷冻手术在口腔科的应用</b>	陈 因 ( 139 )
第一节	技术操作	( 139 )
第二节	良性肿瘤、粘膜病及癌前病变的冷冻治疗	( 141 )

第三节	口腔癌的冷冻治疗·····	( 148 )
第四节	反应、并发症及其处理·····	( 151 )
第十一章	冷冻手术在耳鼻咽喉科的应用·····陆明芳	( 155 )
第一节	耳鼻咽喉部良性疾患·····	( 155 )
第二节	耳鼻咽喉部癌前期病变与癌·····	( 161 )
第三节	耳鼻咽喉科特有疾患·····	( 165 )
第四节	冷冻反应和并发症·····	( 185 )
第十二章	冷冻手术在妇科中的应用·····汤贵珍	( 188 )
第一节	慢性宫颈炎·····	( 188 )
第二节	宫颈癌前期病变及宫颈癌·····	( 199 )
第三节	外阴白斑病·····	( 204 )
第四节	宫腔内冷冻·····	( 206 )
第十三章	冷冻手术在泌尿科的应用·····周孝增	( 210 )
第一节	冷冻治疗前列腺肥大和肿瘤·····	( 210 )
第二节	膀胱冷冻术·····	( 221 )
第三节	肾脏的冷冻手术·····	( 225 )
第十四章	冷冻手术在其他领域的应用·····章崧英	( 226 )
第一节	冷冻手术在神经外科的应用·····	( 226 )
第二节	冷冻手术在胸外科的应用·····	( 230 )
第三节	冷冻手术在骨科的应用·····	( 233 )
第十五章	低温贮存·····周孝增	( 236 )
第一节	低温保护剂·····	( 236 )
第二节	血液低温贮存·····	( 239 )
第三节	其他细胞和组织器官的低温贮存法·····	( 246 )
附录:		
一、	液氮的制取、贮存和运输·····高连华	( 249 )

## 二、液氮冷冻治疗器的常见故障及其排除方法

..... 王 晖 ( 271 )

## 第一章 冷冻外科发展史

冷冻疗法是利用某种制冷物质产生低温，藉以达到治疗疾病的一种方法。早在公元前，冷水（井水）和冰就被用来退烧（发热）、消肿和止血。我国古代也有冷罨法的记载，东汉张仲景著“伤寒杂病论”文蛤散证治条，即以文蛤散治疗误用冷水喷淋浇洒，而引起的变证，又如明朝李时珍所著“本草纲目”“……伤寒阳毒，热盛昏迷者，以冰一块置于臆中（即胸前）良，亦解烧酒毒……”。又如“鲜溪外治方选”卷下，痔门篇，取冷水治疗痔疮等，从这些文献说明我国古代早已有原始的冷冻疗法。

国外在纪元前377年 Hippocrates 用冰控制肿胀和止血。而用冰作麻醉进行手术也有一千多年的历史。1851年英国 Arnott 首先用冰盐水来治疗癌肿，1899年 White 用液态空气来治疗皮肤病，但由于价格昂贵，不易贮藏，故不能得到推广，1907年 Pusey 用二氧化碳干冰治疗皮肤病，1910年 Scheoler 亦用二氧化碳干冰通过兔子巩膜的实验性冷冻，证实可产生视网膜与脉络膜间炎性粘连，作为治疗视网膜剥离的依据。1927年 Overvain 及 Mac Donald 分别以二氧化碳干冰治疗膀胱肿瘤和弥漫性膀胱粘膜糜烂。1940年 Smith 及 Fay 证实全身降温能抑制新生物的成长。同年 Weitzner 最早报告用干冰治疗子宫内膜炎，获得成功。1959年 Bory 报告冷冻对肿瘤不仅有麻醉、凝固及破坏组织的作用，而且在复温后残余的瘤组织，可产生免



疫物质抑制肿瘤的生长，使得冷冻治疗恶性肿瘤有了实践的依  
据。此外，冷冻还对脑缺氧的防治和心脏直视手术延长阻断循  
环时间，起到良好的作用。

冷冻在医学上的应用，虽有悠久的历史，但因制冷物质不  
够理想，温度欠低，治疗作用不强，使用器械亦差，所以得不  
到广泛的采用，自从1961年 Cooper 及 Lee 等研制成功能调节  
温度的液氮冷冻治疗器，并首先应用在神经外科，取得良好效  
果，打开了冷冻外科广阔的前景。

液氮具有温度低（ $-196^{\circ}\text{C}$ ），无色、无臭、无味、无毒、  
既不自燃又不助燃，生产不困难等特点，因此，是一种比较理  
想的制冷剂。近年来医学上使用的冷冻疗法，大多以液氮作为  
制冷物质，而且由于冷冻医疗器械的不断改进，为冷冻外科的  
开展和推广，创造了更为有利的条件。

1963年 Lincoff 及 Mac Lean 等利用液氮冷冻治疗视网 膜  
剥离的成功报道。1964年 Marcove 对一例放疗失败的肱骨转移  
瘤进行液氮冷冻治疗使疼痛消失，取得良好效果，同年 Soan 及  
Gonder 等报告液氮冷冻治疗前列腺。1968年 Lynbroponlar 发  
表肾脏液氮冷冻手术疗法。1969年 Lewis 首次报告液氮冷冻痔  
疮50例，同年 Sako 报道液氮冷冻治疗口腔白斑，比切除或烧  
灼效果更好，Rautenbach 又制成可以切开组织的冷刀（Cryo-  
scalpel）1971年 Lutzerer 使用冷刀进行实验性肾脏切除手术，  
1976年 Gorenstein 报道经支气管镜内冷冻治疗支气管肿瘤等，  
在我国1965年上海新华医院首先报道冷冻摘出白内障，1972年  
上海报道氧气节流的冷冻疗法，而液氮冷冻治疗还是1973年才  
开展，对某些常见病多发病取得良好的效果，目前已在普外科、  
泌尿科、骨科、脑外科、胸外科、皮肤科、妇科、眼科、口腔

科、五官科和肿瘤科等广泛应用。

液氮冷冻不但在治疗上起了一定的作用，同时在保存人体或生物组织、细胞、体液或器官等方面，亦有巨大的贡献，如保存血液和血液成份、皮肤、精液、角膜、骨等，此外，对深部组织疾病、内脏或内腔肿瘤等亦可治疗，而且对冷冻在生物学上理论基础的研究，也有深入的探索，因之，冷冻医疗是有其广阔灿烂的前途，亟待努力攀登！

## 第二章 低温生物学

低温生物学，又称冷冻生物学，是在低温状态下对生物体的变化进行一系列研究的一门新学科。凡将物体的温度降低到比周围空气或水的温度更低的程度，但一般都不低于 $-100^{\circ}\text{C}$ ；就称为冷冻或低温，倘若将温度降到 $-100^{\circ}\text{C}$ 至 $-210^{\circ}\text{C}$ 或更低，则称为深度冷冻或深低温。目前医学生物学中对温度的界限都没有明确规定，所以，凡温度降低至 $0^{\circ}\text{C}$ 以下，和 $-200^{\circ}\text{C}$ 以上的统称为冷冻或低温。早在数百年以前，人们在生活实践中已经观察到冰冻能杀死细胞的现象，近年来，发现在冷冻过程中，组织细胞大多被破坏或杀死，但也有些细胞幸存，说明一般冷冻并没有绝对杀死细胞或破坏组织的能力，于是就在低温生物学和冷冻对组织细胞的致死力方面进行了大量研究工作，提供了比较完善的低温生物学知识。

### 第一节 冷冻损伤的机理

冷冻的主要作用首先是使活细胞遭受损伤，继而发生细胞死亡。关于冷冻杀伤细胞的机制，目前还没有彻底弄清，认识尚未一致，但大多数认为是冷冻生物学的综合作用所致。就目前所知，冷冻对组织细胞损伤和死亡的主要机制为：

**一、细胞内外冰晶形成，细胞脱水和电解质浓度增高；酸硷度紊乱**

纯水的冰冻是全部物质一致转化为固体的过程。溶液与水不同，其中含有溶质，故其冰冻也与纯水不同。含有细胞的溶

液，由细胞膜分隔为细胞内与细胞外两个不同的间隙，其中只有水份易通过细胞膜，溶质通过细胞膜要比水份困难得多，水份从细胞内流向细胞外，还是从细胞外通往细胞内，完全是由该两个间隙中的溶质浓度所决定的，也就是说水份的流向是随渗透压的高低而改变的。冷却时，细胞外水份随温度降低，先形成细小颗粒状尖锐的冰晶，造成脱水状态，体液浓缩，电解质浓缩，渗透压增高，甚至达到有害的电解质浓度，酸硷度也随之而发生变化。为了维持细胞内外间隙体液的渗透压平衡，最有效的调节作用莫过于使细胞内溶质浓度升高，一种方式是细胞内的水份通过细胞膜外溢，形成细胞内脱水浓缩，使细胞内外电解质浓度和渗透压达到平衡。另一种方式是使细胞外溶质进入细胞内。一般来说，第一种方式是机体自身代偿的最常见现象；后一种方式只能在细胞膜毁损破裂后才会出现，平时是很少发生的。当细胞内水份溢出后，细胞内电解质浓度便迅速提高，可达到有害程度，起到了毒性浓缩作用，使细胞遭受不可回逆的损害。

现已证明，降温的速率快慢对冰晶在细胞外形成或细胞内外均形成，起到了重要作用。在缓慢冷冻时，细胞外液先冻结，出现冰晶，导致细胞外液浓缩。此时细胞一方面直接受到高浓度溶质，特别是高浓度电解质的直接损害；另一方面由于细胞外溶液浓缩而增加渗透压力，使细胞皱缩。冷却速度愈慢，细胞受上述不利影响的时间也愈长。若在缓慢冷冻前加入低温保护剂，例如甘油，二甲基亚砷 (Dimethyl sulfoxide)、聚乙烯吡咯酮 (PVP) 等，便可显著减少细胞的损伤。保护剂的作用是减少冰晶形成，因此也减少了溶质浓度的变化。

快速冷冻时，情况与缓慢冷冻不同。即便仍然在细胞外先形成冰晶，但是因为降温速度太快，以致细胞还未皱缩时，细

胞内也形成了冰晶。所以快速冷冻可使细胞内外都形成冰晶，但在温度未达到 $-80^{\circ}\text{C}$ 之前，细胞内就不出现冰晶。细胞内冰晶对细胞的损害作用主要是由细胞内微结构受到机械性损伤引起的，复温后细胞内微结构出现了形态学上的变化。低温保护剂在这种情况下起的作用不大。在解冻时，速冻细胞比慢冻细胞更易受到损伤，提示速冻对细胞的破坏作用主要发生在解冻期。

冷冻过程中，除了细胞脱水和电解质浓度增高外，酸硷度也发生显著变化，细胞酸中毒，代谢发生障碍。另一方面，冷冻还能直接损害活细胞的分子成分。存在于细胞膜中的类脂蛋白复合体，由于它们之间是以弱键连接的，处于不稳定状态，冷冻后自然环境发生巨大变化，促使类脂蛋白复合体变性，以致细胞膜的完整性遭到破坏，结果脂蛋白丧失，细胞膜通透性改变，细胞死亡。这几种情况对细胞都具有致命的作用。

## 二、温度休克

温度休克是指细胞，并不是由于直接的冷却作用，而是由于温度急剧变化而遭受损害。就细胞致死力而言，温度急剧变化的作用要比绝对温度更为重要。在某种情况下，由于温度发生骤变，细胞在未冻结之前，就已丧失其生命。例如，精子的温度只需每分钟有 $2^{\circ}\text{C}$ 的变化，就可在冻结以前被杀死，当前，各种细胞对温度变化的刺激，具有不同的抵御能力；与此相反，某些遭受温度侵袭的细胞，不但不发生损伤和死亡，甚至出现保护性的形态学反应，这种现象的发现，推动了生物学家对冷冻贮存各种细胞的研究。

## 三、血流郁滞

冷冻后，血液流速立见减慢，这种血流减慢现象具有明显选择性。小静脉对温度损伤最为严重，微动脉的温度损伤较

轻，因为后者血液流速较快，几乎要比前者快一倍，所以微动脉发生血流郁滞要比小静脉为迟。小静脉一旦出现血流郁滞，毛细血管的血流也受到障碍，继之，微动脉血流减少，最终也同样发生血流郁滞，造成微循环完全阻断。此外，冷冻还可直接损伤微血管壁，使血小板和其他血细胞很快与损伤的血管壁粘附，加上冷冻后局部血液流速减慢，两者相结合，促使微循环血栓栓塞，微血管的管腔出现恒久性阻塞，血流停止，组织细胞呈现缺血性梗塞而死亡。

微血管冷冻后，主要表现为血管通透性增加和血浆，血浆蛋白以及血细胞的渗出，后者主要为多核形细胞、淋巴细胞和初期局限在冻伤边缘的浆细胞。动物实验证明，在正常情况下注射伊文思兰，染料只在管腔内流通，不在管壁沉积，也不向组织间隙渗出。冷冻数秒钟后，立即可见染料在损伤的血管壁中沉积，冷冻时间越长、沉积越多，几分钟内便可见到血管通透现象，染料在小静脉周围泄漏最为明显，时间越长，渗出越多。如果先将组织冷冻，待局部血流完全停止后再注入染料，发现并无染料渗出；而在冷冻中心区的外围，由于温度稍高，推迟了恒久性血流郁滞的发生，但管壁仍受损伤，此处仍可见到染料泄漏；距冷冻中心区再远的区域，因未出现血流郁滞，管壁也未受到冷冻损伤，所以染料照样在管腔内流通，未见沉积和渗出。说明血管壁冷冻损伤的程度与温度陡度有关，温度越低，管壁损伤越重，血流郁滞现象越明显，组织细胞损伤也越严重。最近进一步证明，冷冻复温后，可出现双相性止血形式，止血在复温后20分钟第一次达到高峰，血流停止是由于阻塞性血小板栓子聚集和另一种无特征的体液因素所引起的。30分钟后，一小部分血流自动恢复，45—50分钟后，约90%的微

血管的血流恢复正常；然而到50分钟以后，又重新出现止血，约一小时后，血流几乎全部停止。在第二次止血阶段中，并未见到血小板有聚集阻塞现象，而是由于内皮细胞微结构损坏所引起的。不论那一种变化、微血管的血流郁滞或栓塞，均可直接导致细胞的死亡。

#### 四、细胞缺氧

细胞缺氧实际上是微血管血栓栓塞和血流郁滞引起的，而细胞缺氧的后果，必然引起细胞的死亡。所以血流郁滞和细胞缺氧是同一个病因在两个阶段所出现的不同表现和后果。实验研究证明，复温后立即从冷冻创面采取的标本，几乎全无细胞生存。若在血循试验中测定放射性氙的摄取量以及血管内注射碳粒子，则可观察到直接的证据。这两种试验都倾向于证实冷冻后第一小时内微循环在初期是通畅的，继而就全部阻塞。

在以上这些导致细胞死亡的原因中，究竟何种因素占主导地位，目前尚未明确证实。多数认为冷冻损伤的机理是由各方面因素综合而成的，各种因素相辅相乘，互相贯连。（图1）

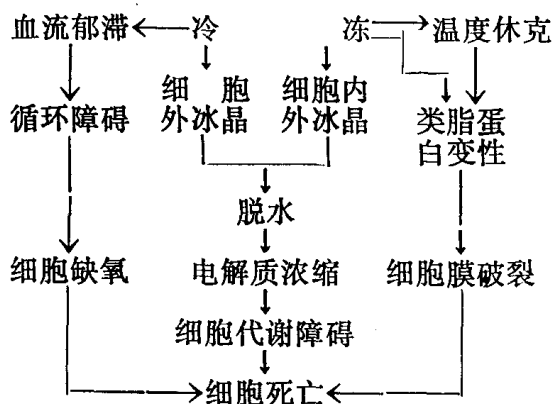


图1 冷冻损伤机理简图

## 第二节 冷冻对组织细胞的变化

冷冻在生物学上有两种截然不同的作用：（一）促使细胞死亡。（二）维持细胞生命。前者作为冷冻手术，达到治病目的；后者作为低温贮存组织细胞的手段。冷冻外科着重利用它的第一种作用，探索不同的组织细胞在不同的条件下，取得最广泛最可靠的细胞死亡，以求最良好的治疗效应。

冷冻外科医生在临床实践中最为关心的问题是制冷物质的效能和它对病变组织的控制性破坏，为此除了选择理想的制冷剂外，必须考虑组织冷冻坏死的范围和深浅度。冷冻病变的产生与制冷物质的选择、冷冻时间、冷冻速率和组织温度等有着密切关系。

### 一、组织温度陡度

液氮冷冻探头接触组织后，立即可见境界明显的白色冰球，冰球并随冷冻时间延长而扩展，但冰球内不同部位的组织温度在同一单位时间内有很大差异，说明冷冻区内的组织存在着明显的温度陡度，越近中心即冷冻探头接触部，组织温度越低，越离中心，温度逐渐升高，直至冰球边缘，温度已接近冰点，离冰球边缘的外围组织，纵然温度已升至零上，但还存在着一定的温度陡度，直至离边缘6—8毫米，才与正常组织温度平衡。冰球的大小与冷冻探头的温度、探头接触面的大小、冷冻时间和组织血供多少等因素有关，组织细胞损伤程度视其位置，温度和降温速度而定，越近冰球中心，组织细胞损伤程度越大，而接近冰球边缘的组织，就不一定产生不可逆性组织冷冻坏死，而只表现为可逆性炎症反应。



对家兔的肝叶、横纹肌和皮肤进行接触法冷冻，冷冻三分钟。冷冻一开始，使用热电偶测温针分别在距接触点2、5、8、11毫米处同时连续测温，并描记温度陡度。冷冻结束后15分钟，1、3、7、14、28、42和70天分别将动物致死，取冷冻区组织在 Boin 氏液中固定24小时，然后放在70%乙醇中保存，最后以石蜡包埋切片，用苏木色精——伊红液染色观察。

实验指出，冷冻开始后，组织表面在数秒钟内即出现冰球。冷冻第一分钟，冰球向四周明显扩展，扩大速度很快；第二分钟，冰球又有进一步扩大，但速度较第一分钟为慢；第三分钟，冰球虽仍有扩大，但不很明显，扩大的速度最慢，冰球扩大的速度和局部组织降温的速率相平行。以距肝面2毫米深度的组织为例，冷冻第一分钟，温度由+25℃降至-44℃，降温幅度为69℃；第二分钟，温度降至-73℃，降温幅度为29℃；第三分钟，温度降至-80℃，降温幅度仅为7℃（表一）。由此可见，冰球内的组织温度在冷冻三分钟以后，不再

表一 家兔肝叶、横纹肌和皮肤液氮冷冻所致的温度陡度比较

距冷冻中心深度 (家兔)	时 间 (秒)	肝 叶☆	横 纹 肌 <sup>△</sup>	皮 肤 <sup>△</sup>
2mm	30	0.5	6	-3
	60	-44	-31	-43
	120	-73	-76	-85
	180	-80	-83	-91
5mm	30	19	20	15
	60	-7	-6	-13
	120	-36	-42	-48
	180	-48	-50	-54