

临床冷冻治疗学

LINCHUANG
LENGDONG ZHILIAOXUE

主编 王伦长 涂汉军 秦 军

●本书共二十章，系统地介绍了临床冷冻治疗的原理、方法和技术，涉及基础理论、临床实践、科研进展及麻醉、护理、设备等相关专业知识和，为冷冻治疗在耳鼻喉科、眼科、口腔科、神经外科、胸心外科、泌尿科、皮肤、泌尿外科、妇科、肿瘤科等学科的临床应用提供理论基础和参考依据。

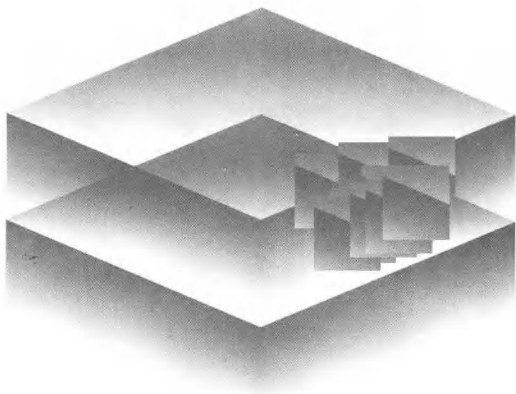
●本书科学性、先进性、实用性均强，适于临床医师及医学教学、科研人员在各自的工作中参考。

河南科学技术出版社

临床冷冻治疗学

LINCHUANG LENGDONG ZHILIAOXUE

主编 王伦长 涂汉军 秦 军



河南科学技术出版社

· 郑州 ·

内 容 提 要

本书共二十章,系统地介绍了临床冷冻治疗的原理、方法和技术,涉及基础理论、临床实践、科研进展及麻醉、护理、设备等相关专业知识,为冷冻治疗在耳鼻喉科、眼科、口腔科、神经外科、胸心外科、普通外科、骨科、泌尿外科、妇科、皮肤科等领域的应用提供了理论基础和丰富的经验。

本书科学性、先进性、实用性均强,适于临床医师及医学教学、科研人员在各自的工作中参考。

图书在版编目(CIP)数据

临床冷冻治疗学/王伦长等主编. —郑州:河南科学技术出版社, 2005. 9
ISBN 7-5349-3368-4

Ⅰ. 临… Ⅱ. 王… Ⅲ. 冷冻疗法 Ⅳ. R454.5

中国版本图书馆CIP数据核字(2005)第091110号

出版发行:河南科学技术出版社

地址:郑州市经五路66号 邮编:450002

电话:(0371) 65737028 65724948

责任编辑:赵怀庆

责任校对:何 蛟

封面设计:张 伟

版式设计:栗亚平

印 刷:河南第一新华印刷厂

经 销:全国新华书店

幅面尺寸:210mm×297mm 印张:19.25 字数:560千字

版 次:2005年9月第1版 2005年9月第1次印刷

印 数:1—4 000

定 价:70.00元

如发现印、装质量问题,影响阅读,请与出版社联系。

主 编	王伦长	涂汉军	秦 军		
副主编	李新建	罗 杰	张 力		
编著者	王 耕	王 辉	王 震	王伦长	王晓康
	王高进	付 锐	兰明银	左顺庆	冯晓敏
	江 斌	朱 涛	刘 瑜	刘久波	刘东艳
	刘安永	刘伯毅	刘菊英	伍启刚	李国义
	李新建	李晓斌	阳金楚	汤显斌	严 斌
	何 跃	何明武	陈立新	陈双郎	罗 杰
	张 力	张红旗	张春莲	周 辉	郑 翔
	易建华	姚启盛	赵 猛	秦 军	涂汉军
	徐勋良	黄 敏	黄剑云	黄宽明	曹文华
	戴熙善				

推广冷冻治疗技术 提高大众健康水平

中国工程院院士
北京天坛医院名誉院长
北京市神经外科研究所所长
北京天坛医院教授

王忠诚



序 言

临床冷冻治疗学是一门新兴的临床应用科学,随着实验手段的改进、科技理论的创新、诊断仪器的升级、冷冻设备的精良,冷冻技术用于临床的范围越来越广,临床效果越来越好,备受广大医务工作者和病人的欢迎。

20 世纪 60 年代以来,我国有条件的医院不仅用冷冻技术治疗了相关各科的大量疾病,而且还利用低温技术保存组织和器官以及细胞和基因从而为组织修复与器官移植以及转基因、克隆技术等创造了必要的条件,并取得了令人鼓舞的成果。

低温冷冻在生物学和医学中的广泛应用,是一个活跃的科研领域。王伦长教授和他领导的临床冷冻技术项目组从 1996 年开始进行的为期 10 年的冷冻神经外科的基础与临床研究计划,系统地研究冷冻物理、化学变化,冷冻创伤,冷冻对于脑组织免疫功能的激发,载瘤小鼠冷冻后瘤细胞是否存在凋亡,冷冻联合化疗及生物治疗胶质瘤能否抑制肿瘤复发等方面的实验研究取得了正相关的可喜进展。同时,也带动了临床医师进一步完善和提高冷冻技术在临床应用的兴趣和信心。

正是在这一背景下,王伦长等有关专家学者总结自己的实践,同时查阅、搜集国内、外有关临床冷冻知识的大量资料和文献,以其科学性、先进性、实用性编辑成《临床冷冻治疗学》一书。无疑它是提供给正在一线工作的医务人员与人类疾病作斗争的又一利器。我们在此除认真拜读这一典著外,诚愿将本书推荐给广大基础和临床工作者,热诚期望广大医务工作者在科技创新、消除疾病、促进健康、造福人类的实践中做出更大的贡献。

马廉亭 袁先厚

2004 年 12 月 12 日

前言

《临床冷冻治疗学》终于和大家见面了，此前冷冻疗法、冷冻技术、人体冷冻、低温医学等都从不同侧面阐述了关于冷冻科学的有关知识。然而，系统地临床角度认识冷冻治疗学这还是首次尝试。这要归功于科技日新月异的当今世界，归功于前辈们不畏艰辛的大胆探索。

21 世纪，随着分子生物学、遗传学、影像技术、微电子学、计算机技术、腔镜技术、纳米技术、机器人学科等的发展，早期诊断、早期治疗、微创外科和锁孔技术已成为当代外科发展的潮流。特别是新型冷媒体的出现和氩氮冷冻刀、LCS—3000 型冷冻机的面世，为当代外科又开辟了新的途径，同时也提高了临床医师对冷冻科学的进一步认识，并将其作为临床冷冻某些特定疾病的首选或备用技术，真正实现了“工欲善其事，必先利其器”的至理名言。

熟能生巧，习惯成自然，对于一门新兴的疗法或技术只要我们不断地从理论到实践中去熟悉、掌握、完善、提高它，一种事半功倍的治疗效果一定会使你欣慰，令病友满意。

冷冻科学的发展和其他科学一样是方兴未艾、永无止境的。当我们刚刚着手系统地将其冷冻学基础与临床知识反刍咀嚼时，中国科学家已试图将微创冷冻技术用于解决人类共同顽疾——成瘾性脑病；俄罗斯科学家在“人体冷冻”方面大胆地进行尝试并预言“人体冷冻复活不是梦”；美国人体冷冻公司 Aicor 已保存着 49 具完整的尸体或人头，全世界已有大约 580 位富人向 Aicor 公司提前预订了死后的“病房”企求重生；英国科学家雄心勃勃地在打造“冷冻方舟”以图保存濒危动物、植物 DNA，来留住这多彩的世界；日本科学家用冷气桑拿来提高人体免疫系统并减肥健身来延缓人体的衰老，编织着长生不老的神话。人类总是以其恒温动物的方式充分思考、探索、利用，享受着从热控骤变到冰凌世界的奥秘和乐趣，堪为万物之灵。

《临床冷冻治疗学》是在马廉亭教授、袁先厚教授的热情鼓励和悉心指导下完成的，他们在繁忙的工作中还不辞辛劳为本书作序，为此我们深深致谢！该书编著过程中各位专家教授在夜以继日地临床工作中还不忘总结这方面的经验和体会，并在浩如烟海的信息库中撷取大量的国内、外有关资料和文献，集腋成裘，令人敬佩！正当该书即将出版之际，中国工程院院士王忠诚教授认为这属适宜技术，应当予以推广，并欣然为本书题写书名和荐词，这无疑对我们是极大的鞭策和鼓励。还有安安群同志参与了封面设计，许大国同志进行了外文校对，张义梅、戴华同志共同完成了全书的文字录入工作，在此一并感谢。

《临床冷冻治疗学》是一门复杂而艰巨的系统工程，它需要借鉴前人的科研成果，更需要当代人去开拓创新。由于我们学术水平不高、编写能力有限，错误和不足之处在所难免，诚恳请求各位同道批评指正。

王伦长

2004 年 12 月于湖北十堰



第一章	冷冻治疗学的基础与临床	(1)
	概述	(1)
	第一节 冷冻的基础研究	(1)
	第二节 冷冻技术的临床应用	(5)
	第三节 冷冻技术在其他医学领域中的应用	(10)
第二章	冷冻病理学	(14)
	概述	(14)
	第一节 冷冻致细胞损伤的机制和病理改变	(14)
	第二节 冷冻后组织反应的一般规律	(15)
	第三节 不同正常组织冷冻后的病理改变	(16)
	第四节 肿瘤组织冷冻后的病理变化	(19)
第三章	冷冻免疫学	(22)
	第一节 冷冻免疫学的基本知识	(22)
	第二节 肿瘤冷冻治疗的免疫学变化	(25)
	第三节 冷冻治疗皮肤疾病时患者免疫功能的变化	(29)
	第四节 子宫腔内冷冻治疗时患者免疫功能的变化	(30)
	第五节 冷冻保存对细胞、组织及器官免疫原性的影响	(30)
第四章	冷冻神经外科的研究现状与发展	(42)
第五章	冷冻技术保存干细胞	(46)
第六章	冷冻与麻醉：低温麻醉与监护	(52)
	第一节 低温对生理功能的影响	(52)
	第二节 低温的适应证与禁忌证	(55)
	第三节 低温并发症防治	(56)
	第四节 低温的实施方法	(56)
	第五节 低温期间的监测	(58)
第七章	冷冻治疗的术后管理	(60)
	第一节 一般准备	(60)



第二节	呼吸系统的管理	(61)
第三节	循环系统的管理	(65)
第四节	消化系统的管理	(67)
第五节	冷冻治疗后其他监测与治疗	(69)
第六节	冷冻术后局部并发症的处理	(71)
第七节	冷冻治疗后护理	(72)
第八章	冷冻治疗设备概览	(73)
	概述	(73)
第一节	冷冻治疗设备简介	(74)
第二节	冷冻治疗设备开发	(82)
第九章	冷冻技术在眼科的应用	(86)
	概述	(86)
第一节	冷冻治疗的机制	(86)
第二节	眼用冷冻器及其制冷原理	(88)
第三节	常见眼病的冷冻治疗	(90)
第十章	冷冻技术在耳鼻喉科的应用	(98)
第一节	梅尼埃病	(98)
第二节	耳郭假囊肿	(102)
第三节	慢性鼻炎	(104)
第四节	慢性咽炎	(107)
第十一章	冷冻技术在口腔科的应用	(111)
第一节	概论	(111)
第二节	冷冻麻醉	(117)
第三节	冷冻处理与冷冻保存	(117)
第四节	冷冻技术在颌面部软组织良性肿瘤及瘤样病变治疗 中的应用	(120)
第五节	冷冻技术在颌骨病变治疗中的应用	(127)
第六节	冷冻技术在口腔颌面部神经疾患治疗中的应用	(131)
第七节	冷冻技术在口腔黏膜良性病变治疗中的应用	(133)
第八节	冷冻技术在口腔黏膜癌前病变治疗中的应用	(135)
第九节	冷冻技术在口腔癌治疗中的应用	(137)
第十节	冷冻技术在颌面部皮肤癌治疗中的应用	(141)
第十一节	冷冻技术在恶性黑色素瘤治疗中的应用	(142)
第十二节	冷冻技术在涎腺疾病治疗中的应用	(144)
第十三节	冷冻技术在牙体牙髓牙周组织疾病治疗中的应用	(146)
第十四节	其他	(147)
第十二章	冷冻技术在神经外科的应用	(157)
	概述	(157)
第一节	冷冻切除脑胶质瘤	(157)
第二节	冷冻切除治疗脑膜瘤	(159)
第三节	头皮鳞癌冷冻切除	(160)

第四节	垂体瘤的冷冻治疗	(161)
第五节	三叉神经痛的冷冻治疗	(162)
第六节	偏头痛的冷冻治疗	(163)
第七节	帕金森病的冷冻治疗	(164)
第八节	脑 AVM 的冷冻治疗	(164)
第十三章	冷冻技术在胸心外科的应用	(166)
第一节	概论	(166)
第二节	肺部病变的冷冻治疗	(169)
第三节	食管癌的冷冻治疗	(172)
第四节	冷冻预防开胸术后胸痛	(173)
第五节	冷冻治疗在心脏外科中的应用	(174)
第六节	冷冻治疗的其他应用	(175)
第十四章	冷冻技术在普通外科的应用	(178)
第一节	肝癌	(178)
第二节	胰腺癌	(188)
第三节	甲状腺癌	(195)
第四节	乳腺癌	(196)
第五节	直肠癌癌	(198)
第十五章	冷冻技术在骨外科的应用	(205)
概述		(205)
第一节	冷冻的作用机制	(205)
第二节	冷冻技术与组织库	(206)
第三节	冷冻在同种异体骨关节移植中的应用	(208)
第四节	冷冻在异体神经移植中的应用	(208)
第五节	冷冻在异体血管移植中的应用	(209)
第六节	冷冻在异体肌腱移植中的应用	(210)
第七节	冷冻治疗残端神经瘤	(210)
第八节	冷冻技术治疗浅表创伤	(211)
第九节	冷冻技术治疗腰痛	(212)
第十节	冷冻技术在治疗骨肿瘤中的应用	(213)
第十六章	冷冻技术在泌尿外科的应用	(217)
概述		(217)
第一节	前列腺冷冻消融术	(218)
第二节	肾脏肿瘤的冷冻治疗	(224)
第三节	膀胱肿瘤的冷冻治疗	(225)
第四节	泌尿外科其他疾病的冷冻治疗	(226)
第十七章	冷冻技术在妇科的应用	(231)
概述		(231)
第一节	宫颈糜烂的冷冻治疗	(232)
第二节	宫颈癌前期病变和宫颈癌的冷冻治疗	(237)
第三节	外阴白色病变	(240)
第四节	宫腔内冷冻治疗	(241)



第十八章 冷冻技术在皮肤科的应用	(247)
第一节 皮肤结构和物理性质	(247)
第二节 皮肤血管瘤	(251)
第三节 瘢痕疙瘩	(252)
第四节 基底细胞癌	(253)
第五节 雀斑	(254)
第六节 黄褐斑	(254)
第七节 疣	(255)
第八节 神经性皮炎	(257)
第十九章 冷冻损伤的防治	(260)
概述	(260)
第二十章 冷冻治疗围手术期的护理	(266)
概述	(266)
第一节 神经外科疾病冷冻治疗的护理	(266)
第二节 胸心外科疾病冷冻治疗的护理	(271)
第三节 普通外科疾病冷冻治疗的护理	(277)
第四节 泌尿外科疾病冷冻治疗的护理	(278)
第五节 骨科疾病冷冻治疗的护理	(280)
第六节 冷冻美容护理	(281)
第七节 妇科疾病冷冻治疗的护理	(283)
第八节 常见眼病冷冻治疗的护理	(284)
第九节 口腔颌面部疾病冷冻治疗的护理	(286)
第十节 耳鼻喉科疾病冷冻治疗的护理	(287)
第十一节 皮肤病冷冻治疗的护理	(289)
附录 中国首届冷冻医学临床国际学术研讨会综述	(291)
中国医师协会 中华医院管理学会 关于开展《临床适宜技术推广项目》“冷冻治疗机及临床应用 技术”全国临床应用研究协作的函	(296)

冷冻治疗学的基础与临床

概 述

自古以来就有人想利用低温治疗各种疾病。早在公元前 2 500 年以前,埃及就有记载利用低温治疗头部的复杂骨折和胸部的炎症,也有记载希波克拉底利用冰治疗出血和浮肿^[1]。但是,直到近代才将低温用于手术(即冷冻手术)。1983 年,Openshowi ski 首次利用乙醚气化需要吸收热量而冷冻部分大脑皮质。到了 19 世纪 90 年代, Von L. rode 使液态空气的生产商业化,进而推动了利用液氧、液氮、干冰、氟利昂等的气化所致低温治疗各种疾病。1961 年,Cooper 发明了用液氮作为冷冻装置,从而迎来了冷冻手术的新时代。这种装置利用真空向密闭的套管中通入液氮,使液氮气化,而得到 -190°C 的低温。通过低温冷冻机体,利用冷冻所发生的机体反应现象治疗疾病,这就是冷冻手术。这种冷冻装置在临床应用中取得显著效果,从而推动了冷冻外科的迅速发展。国外文献在 20 世纪 60 年代相继报道了冷冻治疗眼部、口腔、膀胱、皮肤、脑瘤、支气管肿瘤等疾病的病例,国内冷冻外科起步稍晚,20 世纪 70 年代初,冷冻外科在许多临床科室逐步开展,在 20 世纪 80 年代已普及到全国各级医疗单位,不仅总结出大量有价值的临床经验,在冷冻外科的基础理论研究方面也取得重要成果。近年来,随着冷冻设备的更新和冷冻技术的完善,冷冻外科的基础与临床研究也进入了一个崭新的时代。

第一节 冷冻的基础研究

一、冷冻方法

首先证明冷凝可杀死活组织的是 Boyle (1683), 然后是 Arnott 在 1851 年开始尝试用盐水混合物产生 -24°C 的低温,用它限制癌组织的生长,他在用于破坏乳腺癌以减轻疼痛方面取得部分成功。1959 年,Rowbotham 开始用比较笨重的以干冰和酒精冷却的插管来治疗脑肿瘤,直到 1961 年 Cooper 才开启使用液氮冷却的“冷刀”。冷冻外科现在应用的制冷方法主要有:半导体制冷、气体膨胀制冷和相变制冷等方法。

(一) 半导体制冷

半导体制冷又称为温差电制冷或电子制冷。半导体制冷技术是利用帕尔帖(Peltier)效应进行的。帕尔帖效应是当两种不同的金属组成闭合回路,并通上电流时,在其两个连接点上分别会出现制冷效应,故又称为热电制冷法。有关研究发现,不但两种金属的接点处可发生帕尔帖效应,两种不同



的半导体(P型和N型半导体)的接点也可以发生帕尔帖效应而且通过在半导体中掺入有关杂质,可产生比两种金属的连接要更强的帕尔帖效应。因此,目前所用的热电制冷器件多采用半导体,称为半导体制冷片。半导体制冷不能达到液氮那样的低温(-196°C)。半导体制冷的优点是使用方便,不需要特殊的低温材料,只要通电即可。半导体制冷有利于眼科白内障摘除和视网膜剥离后的凝固黏着,也有用于皮肤疾患的治疗,如寻常疣、神经性皮炎等。在治疗中需小冷量者,可应用半导体制冷技术。

(二) 气体节流膨胀制冷

气体节流膨胀制冷是利用气体的节流冷却效应来制冷。气体在与周围介质不进行交换,亦不对外做功的情况下,通过小孔扩散来降低压力的方法称为节流。气体在节流时,可以改变自己的温度,这种现象称为焦耳-汤姆孙效应(Joule-Thomson effect)。应用气体节流冷却原理研制的冷刀,内装一支焦耳-汤姆孙效应的微型制冷器。进入“冷刀”内的高压气体,通过喷管,在喷管口喷射,气体喷出后,在低压区急剧膨胀,使“冷刀”接触人体组织时,与组织进行热交换,将组织热量带走,使组织发生冷冻。

(三) 相变制冷

固体变液体和液体变气体时,都需要吸收热,相变制冷就利用这种相变吸热的原理而制冷。液体氮是无色、无味、无毒、不助燃也不自燃的液体,气化时可吸收大量热而使组织制冷。如将液氮装在冷冻治疗器内,当其气化时,即可使治疗器探头的温度迅速降低,当其接触组织时,则可使组织快速降温而致组织坏死。如用液氮直接喷射在组织上,可使组织更迅速降温而受到破坏。因此,液氮是现今冷冻外科中应用最普遍的制冷剂。为了适应多种形状大小不同的病变,可制成各种各样的冷冻头。

二、冷冻器械

(一) 金属软管式冷冻治疗机

金属软管式冷冻治疗机的制作有专用的杜瓦瓶储存液氮。利用真空绝热原理,基本保持氮的液态单相传输。管道可以有一定的弯曲摆动度,便于治疗操作。在末端可同样安装各种冷冻头。同时此机还装配有定温、测温、复温等自动控制装置。

(二) 双相传输管冷冻治疗机

这种传输管是根据氮的液和气两种态相而研制的。采用一般不具绝热性能的塑料软管,在塑料软管的始端,安置加热元件,使小部分液氮气化,形成一层气膜,贴附于塑料管的内壁,这层气膜具有很大的热阻,起着绝热作用。塑料管的远端则连接冷冻治疗器与冷冻头,便于进行冷冻治疗。

(三) 氟利昂循环式制冷治疗机

这种冷冻机是利用氟利昂作为制冷剂,采用二元复叠式制冷系统,用压缩机循环制冷。其冷冻头温可达 $-75^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 。虽然这种冷冻治疗机和液氮冷冻治疗机相比制冷温度较低,但已可达到破坏细胞的有效温度。其最大优点是使冷冻头温度稳定,能连续制冷,可避免常要加制冷剂的麻烦。氟利昂循环式制冷治疗机,在视网膜剥离的黏着、白内障摘除和基底细胞癌的治疗方面,已取得良好效果。

(四) 浸冷式冷冻治疗器

浸冷式冷冻治疗器是一种更简便的冷冻治疗器械,利用金属传储冷量的原理,制备有一套不同形状工作头的金属棒。另备一个储液罐,在罐口盖一个有许多圆洞的金属板架,其圆洞稍大于金属棒,以便金属棒可插入。优点是设备简单,使用方便。对治疗一般范围不大的体表病变,易获得较好的治疗效果。

(五) 柔性体腔内低温治疗仪

柔性体腔内低温治疗仪主要适用于治疗食管、支气管、胃、肠、妇科、腹腔等肿瘤。这是一种高、精、尖的医疗设备。该仪器和各种内窥镜配合使用。其工作原理是输冷管道通过内窥镜内径仅为

2.8mm 的活栓孔,将冷量送至冷冻刀头,在内窥镜的控制下对病变部位实施冷冻。

(六) 氩氦刀

自 1963 年 Cooper 首先报道采用液氮冷冻治疗恶性肿瘤以来,冷冻疗法作为肿瘤治疗的一种辅助手段曾受到广泛关注,但因传统的方法不能较好地控制降温速度,难以保护正常组织,容易出现并发症等而限制了该疗法的应用。近年研制的氩氦刀则克服了上述缺点,从而成为肿瘤治疗的一个新方法。该系统应用高压氩气在 1min 内将针尖温度降至 -140°C ,使肿瘤组织速冻为较规则的冰球,又采用高压氦气使冰球解冻至 40°C 左右,在冷冻-复温的过程中达到摧毁肿瘤的目的。主要适用于治疗脑肿瘤、肺、腹腔等肿瘤的冷冻治疗。

(七) 程序降温冷冻装置(低温保存装置)

程序冷冻装置是生物材料低温保存研究的基本工具,主要由三部分组成。①制冷源:由自动升压液氮容器、液氮柱瓦瓶、输送管等组成。将液氮蒸气或液态氮输送到制冷室。②冷冻室:冷冻室中生物样品和空间的测温探头与温度控制仪连接。③温度控制仪连接:该控制仪按预定输入的程序,控制液氮或液态氮的流量,达到指定的冷冻速度。

三、冷冻杀伤肿瘤的机制

冷冻彻底摧毁癌细胞取决于四个因素:最低温度、结冰温度、冷冻次数、冷冻时间。当肿瘤组织温度迅速下降至 -100°C ,使冰晶迅速在细胞内形成,其后的解冻期内细胞膜的破裂及再水化作用将导致细胞死亡。因此,冷冻区域细胞死亡是细胞内外冰晶形成,电解质毒性浓缩和 pH 改变,血液淤积和微血栓形成,细胞脱水破裂,小血管破坏造成的联合作用。传统的液氮冷冻由于降温速度慢,结果先在细胞间隙内形成的冰晶吸走了细胞内的水分,脱水后的细胞内因不易形成冰晶而免遭冷冻伤害,而新的冷冻治疗系统如氩氦刀等由于降温速度快($10\sim 20\text{s}$ 内达 -140°C 左右),冰晶迅速在细胞内形成,使细胞变性坏死,再通过高压氩气快速加温 30s 内将温度升至 0°C ,并随后升达 45°C ,这一过程对癌细胞有高度摧毁性,重复这一冷冻过程会使癌细胞坏死更加彻底。其作用机制为:①在 -5°C 左右,细胞外液首先被冻为冰晶,使细胞外液溶质浓度升高,细胞内水分析出而脱水,细胞内的高浓度溶质,导致电解质浓缩,酸碱度及酶系统活力的改变,而损伤其代谢系统。②当温度降至 -15°C 以下时,细胞内冰晶形成,细胞内外基质融合成块,破坏了细胞内大分子和亚细胞结构,这是冷冻产生的主要损伤机制。③在快速升温中,在 $-20\sim -40^{\circ}\text{C}$ 时细胞内的冰晶膨胀从而破坏细胞的膜性结构,使其破裂,形成致死性的损伤。④冷冻后毛细血管内皮细胞损伤后微血栓形成所致微循环障碍,是导致冷冻后组织坏死的主要原因。⑤经冷冻后残存的坏死肿瘤细胞,可形成特异性抗原,诱导机体产生具有组织或器官特异性和种属特异性的抗体,即超低温诱导的免疫反应。⑥冷冻诱导周边区肿瘤细胞凋亡。在透射电镜下,冷冻后标本瘤细胞核形状不规则,核皱缩,核膜明显肿胀,部分染色质边聚,说明了肿瘤细胞遗传物质的损伤,导致 DNA 合成能力的丧失,从而抑制了其分化及增殖能力。特别是染色质边聚,是细胞缺氧后早期致死性改变的标志。细胞完整性丧失,是导致细胞死亡的直接原因。

四、冷冻免疫反应

冷冻产生的抗肿瘤免疫反应也是近年来研究热点之一。低温生物学研究表明,组织细胞或肿瘤细胞经冷冻损伤后,将形成一种特异性抗原引起机体产生对正常组织或肿瘤组织发生反应的特殊抗体,即低温免疫反应。经临床实践证实,许多肿瘤经冷冻破坏后,它们的转移病灶也随之缩小或消失。某些产物可能是抗原性的,因而能在血液内刺激抗体的产生。这些抗体能有效的抑制同种肿瘤细胞的生长。冷冻免疫反应越强,冷冻坏死越厉害,则冷冻免疫反应也越大。动物实验发现应用非免疫原性小鼠黑色素 B16 细胞接种,冷冻治疗后 7 周,再次用等量的同种肿瘤细胞攻击而未产生肿瘤,提示冷冻



摧毁局部肿瘤同时改变了肿瘤抗原的不显著性,产生了针对该肿瘤的特异性免疫反应^[6]。这说明局部冷冻能显著提高细胞的免疫功能。对冷冻免疫机理的阐明将有助于各类冷冻肿瘤疫苗的研制和开发^[7],目前正探索理想冷冻率、最佳冷冻温度与解冻率,可使冷冻免疫反应最大。

有些耐冷或冷血鱼类、昆虫及植物,会在低温下产生一种抗冷冻蛋白。各种抗冷冻蛋白都具有使体液的冰点温度降低的能力,而起着保护这些生物体在温度处于0℃以下但仍不太低的情况下免致冰冻的作用。此外,这些蛋白在体液因温度进一步降低最终冰冻下来后,还具有使冰晶结构发生变化的能力,可有助于提高冷冻疗法杀灭肿瘤细胞的效果。在形成时会撕裂细胞膜或核膜以及各种组织的连接部,从而确保在冷冻下使肿瘤细胞死亡。

五、冷冻外科的相关问题

(一) 冷冻时间

冷冻量的大小,与数种因素有关,除冷冻方法有差别外。冷冻时间是很重要的因素。用同一种制冷剂,同一种冷冻方法,则冷冻量常与冷冻时间成正比关系。冷冻时间长,则冷冻量大。但从冷冻的有效范围来说,则有一定限度。因为还受活体组织本身条件的影响,到一定限度时,再延长冷冻时间,冻结的范围常不是无限扩大的。有试验证实,从1~10mm深的组织,冷冻后的降温速度,以1min内为最快,以后直到3min,其降温曲线乃渐趋平坦。在治疗中应用冷冻时间的长短,主要根据病变的厚度而增减。

(二) 冻-融循环

与冷冻量有关的另一个因素乃是冻-融循环次数。冷冻先使组织冻结,然后让其自然缓慢融解,1次冻结与融解称为1个冻-融循环。增加冻-融次数乃增加冷冻量。临床上对小而薄的病变,一般用1个冻-融循环,即可达到治疗目的。大而厚的病变,可重复1次或多次,特别恶性肿瘤的治疗,多采用2次或3次冻-融;增加冻-融次数,可增强降温效果与扩大冻结范围。Charles(1977)用Hela细胞做冷冻试验,用-35~-40℃冷冻持续60s,1次冻-融可杀伤35%,2次冻-融则杀伤85%。根据后来的研究观察,多次冻-融虽比1次冻-融的效果大,但也不是完全成正比关系。

(三) 冷冻治疗时间和间隔时间

较小的病变,一般是1次冷冻治疗就可治愈。较大或较深的病变,有时1次冷冻治疗后还残留一部分病变组织未完全破坏去除,这时就需要进行2次冷冻治疗。特别是恶性肿瘤,为了达到彻底治愈,常不是紧接着连续进行的,每2次治疗之间,常需要间隔一定的时间,以观察前1次冷冻治疗后的情况。一般间隔时间,短则3~5d,长则2~3周。如为很大病变,原计划是采取分片冷冻者,或在冷冻后即发现有部分病变组织尚存留,则可连续进行冷冻治疗,不需等待多日。

(四) 冷冻范围

冷冻治疗范围的大小,主要根据病变的大小。一般良性病变,冷冻范围可与病变大小相同。有的则需稍大于病变范围,特别是恶性肿瘤的冷冻范围,必须大于所见的肿瘤范围。根据恶性肿瘤的治疗原则,须超过肿瘤边缘3~5mm。表面的范围容易控制,应特别注意的是肿瘤的深处。有时表浅部位已达到适当的温度而冻结,而肿瘤深处因距离较远,尚未达到一定的温度和破坏。

六、冷冻保存生物组织的原理

当水从细胞外流的直接影响是使得细胞内液的浓度增加,由于细胞外未冰冻溶液的浓度也很高,所以很容易造成细胞膜的破裂。在冷冻速度很快时,细胞内的水还来不及排出便在细胞内结冰,细胞内结冰所引起的机械力及气泡会对细胞质膜及细胞内小器官的膜造成损伤。另一方面,细胞周围的水也对细胞形成机械挤压作用,使之发生变形,并随着冰体积的增加,使细胞被隔离在各冰晶间未冰冻溶液的狭缝中,细胞的大小和形状均依狭缝的大小而变。在冷冻过程中细胞会经受一系列的热力学、

化学与机械力的作用,使得细胞会受到损伤。但由于体温低,各种化学反应基本停止,生命状态暂停,组织得以保存在该时的状态,这就是低温保存生物组织的原理。同时要保护细胞在冷冻条件下不受损伤,应注意保存温度、冻-融循环次数及添加抗冷冻保护剂。

七、冷冻的基础研究进展

数十年来,人们对冷冻致伤机制的探索从未停止过。一般认为冷冻治疗是通过细胞内冰晶形成,细胞皱缩脱水来破坏组织而达到治疗目的。但是对冷冻手术所造成全身性损伤如“冷休克”的原理尚未搞清,推测与冷冻后组织坏死产物的吸收有关^[2]。已有研究表明,冷冻可致脑局部微循环障碍。表现为微血管密度减低、微动脉变细,血流速度减慢,全血黏度升高,红细胞聚集增多等^[3]。而微循环障碍是休克发生的病理生理基础,所以冷冻所致全身微循环障碍可能是冷休克产生的机制之一,从而为其防治提供了理论基础。

中枢神经系统是一个复杂的网络系统。同常规手术一样,冷冻手术同样不可避免地会对正常组织造成一定损伤,还会影响远隔灰质核团的功能。有研究表明脑冷冻后 C-fos、nNOS、SP 在皮质及皮质下核团表达差异,发现冷冻对脑组织所产生刺激弱于常规手术,提示冷冻手术有其独特的优越性,这无疑使“微创冷冻外科”这一新概念得到进一步深化^[4]。最近日本学者通过转基因技术发现 C-fos 基因对冷冻所致的小鼠 C-fos 基因缺陷而减轻^[5]。

细胞凋亡在中枢在中枢神经系统的损伤、修复及肿瘤治疗中有举足轻重的作用。人们期望通过调控凋亡相关基因的表达水平,主动控制细胞凋亡的发生过程。建立神经元损伤修复的新方法或设计肿瘤治疗新方案,以诱导细胞凋亡。最近,国内外学者陆续报道冷冻与细胞凋亡的关系,并认为除坏死外,细胞凋亡是冷冻杀伤肿瘤细胞的重要机制之一^[8,9]。

新生肿瘤血管是肿瘤快速生长的物质基础,肿瘤的发生、发展对血管生长有强烈的依赖性,因此抗血管生成治疗已成为肿瘤治疗的新靶点。国内最新研究发现冷冻能减少微血管密度,降低肿瘤周边区域 VEGF、一氧化氮(NO)等促血管生成物质的表达从而抑制肿瘤生长^[10]。并且发现重复冻-融后上述作用更强,这可能是临床重复冻-融获得较好疗效的内在基础之一。也无疑为冷冻抗血管生成治疗提供了新的佐证。

目前肿瘤治疗仍以综合治疗为主。由于单纯冷冻治疗肿瘤效果有限,以冷冻为基础的联合疗法是冷冻治疗的发展方向。如何寻找具有协同效应的高效、低毒的联合方式,以及有针对性的有效联合时间及联合顺序,调动各种疗法优势互补,以期在临床应用中发挥更大的作用,这方面的研究目前正深入进行。在进行冷冻基础研究的同时,国内外学者对冷冻技术的临床应用也正在进行有益的尝试。

第二节 冷冻技术的临床应用

低温冷冻在生物学和医学中有广泛的应用,是一种活跃的科研领域。既用于进行有关治疗如冷冻手术等微创治疗技术,还用于对生物物质的长期储存。

一、冷冻器械

半导体冷冻治疗机、气体节流型冷冻治疗器、二氧化碳冷冻治疗器、液氮冷冻治疗器等。致冷剂的选择:目前最常用的致冷剂有液氮(-196℃)、二氧化碳雾(-78℃)、氟利昂及氧化亚氮(笑气)等,后三者较少用于肿瘤冷冻,液氮无色、无味、易操作,它的气体无毒、无刺激性,液氮气化时体积增加696倍,需用特制的杜瓦容器储存^[11]。



二、冷冻方法

一般有接触法、喷雾法、刺入法和倾注法等。依据肿瘤的大小和部位而适当选择，一般说来，接触法适用于小于2cm直径的肿瘤，喷雾法适用于面积较大、表面不光滑的肿瘤，刺入法则用于脑瘤或前列腺瘤，而倾注法多用于某些内脏的肿瘤。有时也可将接触法与喷雾法联合应用，瘤体较大时可先将肿瘤冻固的上面部分切除再冻，以增加冷冻的深度，称之为冻-切-冻法。大面积血管瘤进行分批区治疗时，由于液氮喷射不均或冷冻面积不够而残留部分皮损，故治疗时必须注意瘤体与正常组织交界部位的冷冻剂量和喷射液氮均匀性，否则将增加治疗次数或复发机会，影响疗效。

三、冷冻操作

若用冷冻机，应先将冻头降温至低点，将冻头与病灶接触，使瘤组织在已经冻固即将达到固形时再适当加压。对较大而深的肿瘤在到达固形以前或一开始就加压，有可能促进肿瘤的医源性扩散。如有可能应先阻断肿瘤区的血流，然后冷冻，如此即可避免肿瘤扩散，易于使肿瘤致冷，且不致引起全身过度降温冷冻速度和时间：若以每分钟100℃左右的温度差梯度急速冷冻，继而以每分钟1~10℃的温度梯度降解，组织细胞的破坏程度最大。对于恶性肿瘤至少3~15min，3个冻-融循环较1次冷冻杀伤肿瘤效果好^[2]。

四、冷冻外科治疗的适应证

肿瘤的冷冻外科治疗是肿瘤的一种手段，不是万能的医疗方法，有它的适应证和局限性。掌握好，效率高，并发症少，但不可草率从事，既要积极又要慎重，一般来说比较安全，但也有并发症和副作用。适应证一般可分为：①根治性治疗：对于表浅部位的肿瘤，如皮肤癌、舌癌、宫颈癌、眼前部肿瘤、肛管直肠癌、皮肤恶性黑色素瘤等，其病灶小而浅、尚无淋巴结转移者，特别是老年体弱、全身情况不允许行广泛手术或患者对广泛手术有顾虑者，可采用根治治疗。②姑息性治疗：上述部位肿瘤，其病变已超过根治范围者，可用冷冻治疗以减轻症状，延长生命。对于某些深部器官的肿瘤（如肺癌、肝癌等），病灶不大但因患者有严重肺、肝功能不全不能耐受大手术者，可以考虑作冷冻治疗，晚期胃、食管、贲门、结肠、胰、骨肿瘤、广泛侵袭颅内肿瘤、尾部脊髓瘤等不能作根治手术者，冷冻法亦可起到姑息疗法作用。

五、临床应用研究

一般认为，冷冻对瘤细胞杀伤力的大小，取决于冷冻程度、降温复温速度、冷冻时间、冷冻次数、冷冻范围以及受冷组织血供情况和肿瘤组织的敏感性等。动物实验和临床实践证明快速冷冻和缓慢复温对组织细胞具有最大的破坏力。对恶性肿瘤的治疗，2次冻-融的效果比单次冻-融好，3次冻-融有比2次冻-融好^[3]。以上这些实验是观察离体的单层细胞或瘤细胞匀浆对冷冻的反应，而临床上冷冻治疗可根据B超探测实体瘤冷冻后肿瘤大小、深浅及所在部位的血供以及肿瘤组织的导热性能全面考虑，能否将肿瘤细胞彻底地冷冻坏死是冷冻治疗肿瘤成败的关键之一。

（一）冷冻技术在普外科的应用

普通外科中最适合冷冻的疾病是肝肿瘤及直肠肛管疾病。1963年Cooper提出冷冻治疗肝癌的设想，并首先由放射学家和外科医师紧密合作而成功。目前主要方法包括：①经皮冷冻治疗肝肿瘤：有液氮冷冻系统和氩氦冷冻系统两大类。氩氦超导手术系统——氩氦刀，是一种只在刀尖冷冻，刀杆保持常温，唯一可用氨气解冻的微创靶向冷冻仪器，因其降温及复温速度快，定位非常准确，可进行深部冷冻，疗效确切，克服了液氮冷冻治疗仪的不足，极大方便了手术医师。②术中冷冻治疗：肝癌的切除率低，常不足20%，而手术切除肿瘤是肝癌可能被治愈的唯一方法，故对肝功能较差，肿瘤较