

低温医学

主编 刘金刚 刘作斌

人民卫生出版社

Y473.62

低温医学

主编 刘金刚 刘作斌

主审 张中兴 丁鸿才

人 民 卫 生 出 版 社

(京)新登字 081 号

低 温 医 学

刘金刚 刘作斌 主编

人 民 卫 生 出 版 社 出 版

(北京市崇文区天坛西里10号)

人 民 卫 生 出 版 社 胶 印 厂 印 刷

新 华 书 店 北 京 发 行 所 发 行

787×1092毫米16开本 39+印张 4 插页 882千字

1993年9月第1版 1993年9月第1版第1次印刷

印数: 00 001—2 100

ISBN 7-117-01924-7/R·1925 定价: 34.30元

〔科技新书目300—227〕

作者、单位和专业

(按姓氏笔划排序)

作者姓名	工作地址、单位	专 业	邮 政 编 码
丁振海	上海,第二军医大学	放射医学	200433
丁鸿才	西安,第四军医大学 附属口腔医院	口腔科学	710032
王传富	青岛医学院附属医院	眼科学	266003
王春波	青岛医学院	药理学	266003
王瑞东	青岛医学院	泌尿外科学	266003
毛欣欣	杭州,浙江省医疗器械 研究所	医疗器械	310009
任祖汉	锦州,解放军 205 医院	骨外科学	121001
朱兆明	北京,解放军 304 医院	烧伤外科学	100037
刘尔珍	青岛医学院	妇产科学	266003
刘运章	上海医科大学 附属新华医院	五官科学	200092
刘作斌	北京,解放军总医院	低温医学	100853
刘金刚	青岛医学院附属医院	低温医学	266003
陈鸿书	北京,军事医学科学院	医学情报学	100850
何长民	上海,第二军医大学 附属长征医院	泌尿外科	200003
郑斯涌	杭州,杭州大学生物系	细胞生物学	310028
柏乃庆	上海,上海市组织器官 配型中心	血液学	200003
张中兴	北京,军事医学科学院	低温生物学	100850
张正生	青岛医学院附属医院	心胸外科学	266003
张 斌	承德医学院	低温生理学	067000
徐保德	山东,解放军 89 医院	神经外科学	261200
顾宝清	西安,第四军医大学	普通外科学	710032
高绪孟	青岛医学院附属医院	麻醉学	266003
唐 曙	上海医科大学 附属新华医院	皮肤科学	200092

崔向东	青岛医学院附属医院	低温生理学	266003
章忠敏	杭州.浙江省医疗器械 研究所	医疗器械	310009
阎靖中	青岛医学院附属医院	泌尿外科学	266003
葛来增	临沂地区肿瘤医院	外科学	276000
韩鸿兴	上海机械学院	低温生物工程	200001

序 言

低温医学是一门新兴的医学科学,其中心内容是应用低温技术治疗疾病,改善机体功能、增进人体健康。低温技术在医学中的应用既有悠久的历史,又有新近的发展,特别是60年代以来,发展更快。不仅可以治疗许多疾病,而且可以利用低温保存多种细胞、组织和器官,为机体组织、器官的修复和生理功能的改善提供了新的治疗条件,使一些以往无法医治的疾患和缺陷,有了新的救治措施。所以,低温医学已成为现代医学中重要的组成部分,涉及到医学的许多专科。低温医学在我国的发展,还是近20多年的事,时间虽短,但发展很快。低温技术已经用于治疗多种疾病,而且已普及到基层医疗单位。但由于低温医学是新近发展起来的学科,在理论与实践方面,需要了解和掌握的知识很多,而目前国内在低温医学方面尚无较全面深透的专科书籍,参考资料也不多,使得许多单位开展低温医疗工作受到一定的限制,不利于低温医学的推广与普及,因此,亟需一本能反应国内较成熟经验和国际研究动向的低温医学专著。

为了促进我国低温医学的发展,造福于人民的健康,本书作者们收集了国内外有关科学资料、国内低温医学的研究成果和各自的工作经验,编著成这本《低温医学》。其中对细胞、组织与器官的低温生物学基础、低温保存技术和临床应用,以及冷冻外科的基础和应用,都作了深入详细的介绍,既有理论,也有技术,具有较高的科学性与实用性。

本书在生物材料低温保存方面,介绍了低温保存有关的基础理论和低温保存技术及其临床应用。细胞方面包括血液细胞、造血细胞、生殖细胞的保存;组织方面有皮肤、角膜、骨与软骨、心脏瓣膜和大血管、内分泌腺等的保存。还有器官的保存。在冷冻外科方面,介绍了有关基础理论在临床各学科中的应用,如皮肤科、口腔科、耳鼻喉科、眼科、神经外科、妇科、泌尿外科、普通外科中多种疾病的治疗。对应用冷冻外科治疗的适应证、禁忌证、应用器械、术前准备、操作方法、术后处理、治疗效果,以及并发症的防治等,都作了详细的介绍,为开展冷冻医疗提供了理论基础和详实的经验。

总之,本书的编写适应了我国当前医学界的客观需要,内容包含了国内外大量现代科学资料,比较全面新颖,有较高的参考价值。本书的出版,为我国医学文献填补了新的内容,对我国低温医学的发展必将起到促进作用。在与疾病作斗争,保护人民健康的事业中,将会增加新的医疗专科技术和更多的技术力量。望我国医学界的同道们共同努力,在今后的工作中能为低温医学的发展,不断创新,促其进步;使我国的低温医学迅速发展,以适应现代化建设的需要,在造福于全人类健康方面,做出应有的贡献。

丁鸿才 张中兴

1992年6月于青岛

前 言

低温医学(low temperature medicine)是低温生物学(cryobiology)中一门年轻的综合性边缘学科,主要包括低温生理、低温保存和冷冻医疗三大分支。随着低温技术在医学中的广泛应用,现代低温医学(cryomedicine)已经发展成为一门独立的医学学科,在医疗工作中发挥越来越多的作用。

简单地说,低温技术是一把“双刃剑”。利用深低温或超低温(low or ulture low temperature)可达到保存或破坏细胞组织功能和结构这两种截然不同的目的。例如,低温保存(cryopreservation),既可利用深低温长期冷冻保存血液、配子、角膜、皮肤等细胞和组织,也可应用低温灌注保存肾脏、心脏等大器官。特别是在低温保存技术基础上建立起来的组织器官库(tissue and organ bank),可充分利用供体移植材料,随时提供临床移植应用,成为移植外科学的重要组成部分;冷冻医疗,或称冷冻外科(cryotherapy or cryosurgery),则是利用深低温选择性地破坏病变组织,达到手术切除之目的。

70年代以来,我国临床低温医学工作发展较快。由于移植外科的实际需要,全国各大中城市几乎都开展了组织器官低温保存工作;冷冻医疗几乎已经普及到基层医疗单位,并已取得较多的经验和成果,特别是近年来,随着冷冻医疗器械的不断改进,冷冻外科治疗的范围不断扩大,已由体表疾病延伸至体腔内疾病,在某些方面已经能够替代传统的外科手术,有效地治疗诸如前列腺、子宫腔、肛肠等腔内疾病。大致说来,目前我国在诸如胰岛、胎肝、骨髓冻存与移植,以及妇科疾病冷冻治疗等方面的工作,已经走在国际前列。

本书以科学性、实用性和时代性为宗旨,力求较系统、全面地介绍国内外低温医学各方面较成熟的经验和成就,促进我国低温医学事业的发展,提高临床多学科医疗水平。26名作者都是国内从事所撰写内容方面的具有实践工作经验的专家,所撰写的内容几乎都是在参阅国内外最新资料基础上,个人长期工作经验的总结。全书共分7篇32章,配有165幅插图。第1篇为全书绪论,简练介绍了低温医学方面的诸多概念、发展简史和国内外概况;第2篇分5章、第3篇分9章,分别论述与低温保存有关的低温生物学基础理论,较详细的介绍了细胞、组织和器官的低温保存技术及其临床应用;第4篇介绍冷冻医疗的理论基础;第5篇分9章,以介绍实用性临床经验为主,详细论述冷冻医疗在临床多学科的应用;第6篇论述低体温和冷冻损伤;第7篇介绍低温测量技术和冷冻医疗器械。鉴于国外低温生物学基础理论研究较系统和深入,第2篇第1~3、5章参阅了Organ Preservation for Transplantation(Armand M. Karow, Jr & David E. Pegg, Marcel Dekker, Inc, New York and Basel)一书有关章节内容。为突出本书的参考性,每一章、节之后均列出国内外公开发行的参考文献,其中多数章节是按照综述撰写方式,在正文中按出现的先后次序用角码注明;此外,与临床冷冻医疗有关各章节的内容基本包括:概述和国内外现状、仪器设备、技术方法、临床应用及其效果、注意事项或注评,以便参考实用。

本书是国内从事低温医学、低温生物学的医生和研究工作者的参考书,亦可供高等医药院校医学和生物学教师和研究生参考。鉴于本书内容涉及的专业领域广,并有很强的针

对性和实用性,对临床各专业医生亦有较好的参考价值。

本书在编写过程中,滨州医学院泌尿外科韩振藩教授自始至终热心于本书的出版工作,对于全书的文图整理予以精心指导;青岛医学院附属医院低温医学研究室(所)的全体同志给予多方面大力支持,特别是孟凡会、王新生、丁昌荣三位同志,为全书文稿输入计算机和校对工作,付出了艰苦的劳动,在此一并致谢!

全书从1991年6月份组稿,历时1年完成。虽然尽了最大的努力,漏误之处在所难免,敬请读者指正。

刘金刚 刘作斌

1992年6月于青岛

目 录

第 1 篇 绪论	(1)
第 2 篇 低温生物学基础	(6)
第 1 章 细胞体外存活的生物学原理	(6)
第 1 节 细胞存活的基本条件	(6)
一、细胞生存所需基本的细胞外条件	(6)
(一)渗透压	(6)
(二)酸碱度	(7)
(三)无机离子	(7)
(四)代谢底物	(7)
二、基本的细胞机理	(8)
(一)内环境的维持	(8)
(二)能量代谢	(9)
第 2 节 局部缺血的影响	(13)
一、对代谢方面的影响	(13)
二、对离子和水转运的影响	(15)
第 3 节 降低温度对组织的影响	(15)
一、低温状态下组织对代谢物的需求	(17)
二、降温对离子主动转运过程的影响	(17)
三、低温保存介质	(18)
四、温度休克	(19)
五、小结	(20)
第 2 章 低温保存的生物物理学和化学问题	(23)
第 1 节 热和温度	(23)
第 2 节 生物学系统中的液态水和冰	(24)
一、液态水和冰的物理特性	(24)
二、细胞内冰的形成	(26)
三、慢速与快速降温的定量概念	(27)
四、缓慢降温技术	(27)
五、保存	(28)
六、活样品的复温和重结晶作用	(28)
第 3 节 低温保护剂	(29)
一、溶质浓度	(31)
二、脱水作用	(31)
三、核酸	(32)

四、酶类	(32)
五、细胞膜的成分	(33)
第4节 小结	(34)
第3章 器官的低温生物学基础及其低温保存	(38)
第1节 引言	(38)
第2节 降温速率对单细胞的影响	(38)
一、定量理论	(39)
二、细胞存活与降温速率和细胞内冻结之间的关系	(41)
第3节 降温速率对多细胞系统的影响	(42)
一、从单细胞到多细胞系统的推论	(42)
(一)相关的几何问题	(42)
(二) L_p 的相关值问题	(43)
(三)细胞体积	(43)
二、降温速率、细胞内冻结与多细胞胚胎的存活	(44)
三、降温速率与胎鼠组织存活的关系	(45)
四、其它器官和组织	(45)
第4节 溶液—效应的损伤	(46)
一、细胞外液中的物理—化学变化	(46)
二、关于缓慢降温冷冻细胞	(49)
第5节 低温保护剂对细胞的保护作用	(49)
一、保护剂的依数性与化学特性	(49)
二、依赖于低温保护剂浓度的保护作用	(50)
三、取决于保护剂对细胞穿透能力的保护作用	(51)
第6节 复温速率对存活率的影响	(52)
第7节 解融后返回生理状态时的渗透性问题	(55)
第8节 器官特有的低温生物学问题	(56)
一、体积大小或尺度增加问题	(56)
二、器官的隔室化问题	(57)
三、细胞内外容积的比值问题	(58)
四、器官中细胞的异质性问题	(58)
第4章 细胞低温保存后特性的改变和修复	(62)
第1节 超微结构与特性变化	(62)
一、细胞增殖动力学的变化	(62)
(一)细胞的成活与破损	(62)
(二)细胞增殖	(63)
二、生物膜结构和功能的变化	(63)
(一)低温保存后的膜结构变化	(63)
(二)冻存复苏后的膜功能变化	(64)
三、免疫特性的变化	(65)
(一)冻存淋巴细胞表面结构的变化	(65)
(二)对淋巴细胞转化的影响	(65)
(三)细胞毒试验	(66)

(四)对淋巴因子释放的影响	(66)
四、低温对酶活性的影响	(66)
(一)酶在低温状态下的活性变化	(66)
(二)低温对酶结构的影响	(67)
五、对遗传性状的影响	(68)
(一)染色体的结构与畸变	(68)
(二)低温保存复苏后的染色体	(68)
第2节 细胞低温保存后的修复与衰亡	(69)
一、器官低温损伤后的再生	(69)
二、低温保存细胞的修复	(70)
第5章 低温保护剂的药理学特性	(72)
第1节 概述	(72)
第2节 低温保护剂	(73)
一、低温保护剂的化学性质	(73)
(一)低温保护剂的一般化学性质	(73)
(二)甘油的物理化学特性	(74)
(三)二甲基亚砜的物理化学特性	(74)
(四)穿透性与非穿透性保护剂	(75)
二、低温保护剂的药理学特性	(76)
第3节 非穿透性低温保护剂	(79)
一、葡聚糖	(79)
二、羟乙基淀粉	(79)
三、Pluronic polyols	(79)
四、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)	(80)
第4节 穿透性低温保护剂	(80)
一、一般评价	(80)
二、非质子传递溶剂	(81)
第5节 低温保护剂的作用机理	(84)
一、依数性低温保护作用	(84)
二、单独的保护机理	(84)
三、低温保护与辐射防护的关系	(86)
第6节 低温保护剂与冷冻速度的关系	(86)
第7节 保护剂的联合作用	(88)
第3篇 低温保存及其临床应用	(91)
第6章 器官库及其临床应用	(91)
第1节 现代医学中的器官库	(91)
一、器官库的概念	(91)
二、器官保存的基本方法	(91)
(一)细胞组织深低温冷冻保存	(91)
(二)大器官低温灌流保存	(92)
(三)冷冻干燥保存法	(92)

第2节 器官移植与人体器官库	(92)
一、器官移植的进展	(92)
二、综合性器官库	(93)
(一)国外综合性器官库工作情况	(93)
(二)国内移植器官保存现状	(96)
第3节 器官库所需的降温冷冻设备	(97)
一、程序降温冷冻装置	(97)
(一)基本结构和常见类型	(97)
(二)对程控冷冻装置设计指标的要求	(98)
(三)常用程控降温装置的应用	(98)
二、简易降温冷冻方法	(99)
三、相变和冷冻循环	(99)
四、几个典型的生物材料冷冻程序	(100)
第4节 美国器官库管理方式简介	(101)
一、器官库的社会原则	(101)
二、供体	(102)
(一)行为规范	(102)
(二)鼓励措施	(103)
三、相对独立的器官库	(104)
四、移植接受者	(105)
五、展望	(105)
第7章 生殖细胞的冷冻保存	(107)
第1节 精子的冷冻保存及人类精子库	(107)
一、人精子冻贮技术简史	(107)
二、精子冻贮的意义	(108)
三、精子冻贮用设备和物品	(108)
(一)精子检测设备和物品	(108)
(二)精液器皿	(109)
(三)配制冷冻保护液用设备、物品	(109)
(四)恒温装置	(109)
(五)降温冷冻设备	(109)
四、冻贮精液标准	(110)
(一)精子的可冻性	(110)
(二)供精者的选择	(110)
(三)精液标准	(111)
(四)精液检测	(111)
五、冷冻保护剂的配制和使用	(112)
(一)单纯甘油	(112)
(二)甘油复合液	(112)
六、冷冻保存方法	(113)
(一)冻贮方式	(113)
(二)降温冷冻方法	(114)

(三)冻精的标记、管理	(115)
(四)冻精的复温使用	(115)
七、人类精子库与人工授精	(115)
(一)人类精子库的概念	(115)
(二)人工授精的分类	(116)
(三)供精人工授精的准备	(116)
(四)供精者的适配	(117)
八、冻精授精的实施	(117)
(一)冻精的使用	(118)
(二)影响授精成功率的因素	(118)
(三)胎儿畸形和自然流产问题	(119)
(四)授精婴儿性别比例问题	(119)
第2节 卵细胞和胚胎的冷冻保存	(119)
一、体外受精的由来与进展	(120)
二、胚胎低温冷冻的意义	(120)
(一)基础研究	(120)
(二)广泛的应用	(121)
(三)临床医疗	(121)
三、降温冷冻设备及物品	(121)
(一)降温冷冻设备	(121)
(二)冷冻包装器皿	(121)
(三)必要的实验室设备	(121)
四、胚胎冷冻保存方法	(121)
(一)冷冻保存方法	(122)
(二)冷冻保护剂	(122)
(三)降温冷冻方法	(122)
(四)诱发冷冻结晶	(123)
(五)降温方法研究	(124)
五、现行的人胚卵冻存方法	(124)
(一)胚卵的选择	(124)
(二)受精卵~8细胞期胚卵及卵母细胞的冻存	(125)
(三)8细胞期胚卵至早期胚泡的冻存	(125)
六、复温及保护剂的清除	(125)
(一)复温方法	(125)
(二)保护剂清除	(126)
(三)复温后胚卵活力的判断	(126)
第8章 血液细胞的低温保存	(132)
第1节 红细胞的低温保存	(132)
一、概述	(132)
二、红细胞保存的国内外现状	(132)
(一)国外现状	(132)
(二)国内现状	(133)

三、红细胞的保存方法	(134)
(一)血液保存的关键	(134)
(二)4℃保存法	(135)
(三)冷冻保存法	(136)
四、血液保存期间红细胞的一些变化	(138)
(一)形态的变化	(138)
(二)钙离子的变化	(138)
(三)红细胞流变学性质的变化	(139)
(四)膜结构及组成的变化	(139)
(五)代谢的变化	(139)
(六)红细胞抗原性的变化	(139)
五、红细胞的质量检查	(140)
(一)保存红细胞质量体外检查法	(140)
(二)保存红细胞质量体内检查法	(140)
六、红细胞的临床应用	(140)
(一)全血的适应证	(140)
(二)浓缩红细胞适应证	(141)
七、小结	(141)
第2节 白细胞的低温保存	(141)
一、概述	(141)
二、白细胞保存的国内外现状	(142)
(一)国外现状	(142)
(二)国内现状	(142)
三、白细胞的保存方法	(142)
(一)白细胞的制备	(142)
(二)白细胞保存	(143)
四、白细胞的质量检查	(143)
五、临床应用	(143)
六、小结	(144)
第3节 血小板的低温保存	(144)
一、概述	(144)
二、血小板保存的国内外现状	(144)
(一)国外现状	(144)
(二)国内现状	(145)
三、血小板的保存方法	(145)
(一)血小板制备	(145)
(二)血小板4℃保存	(146)
(三)冷冻保存	(147)
四、血小板保存的影响因素	(147)
五、血小板的质量检查	(148)
(一)体外质量检定	(148)
(二)体内存活率测定	(148)
六、血小板的临床应用	(149)

七、小结	(150)
第9章 造血细胞的低温保存	(153)
第1节 胎肝细胞的冷冻保存	(153)
一、引言	(153)
二、胎肝细胞悬液的制备及纯化	(153)
(一)胎肝细胞悬液的制备	(153)
(二)分离与纯化	(154)
三、胎肝细胞冷冻保存方法	(154)
(一)程序降温法	(154)
(二)过冷保存法	(155)
(三)玻璃化保存法	(155)
(四)低温保护剂的应用	(155)
(五)低温保存袋	(156)
(六)融冻	(156)
(七)冷冻保存胎肝细胞的活力检测	(156)
四、胎肝细胞对造血功能的刺激作用	(157)
(一)植活及增殖、分化和重建造血功能	(157)
(二)刺激造血的无细胞胎肝成分	(158)
(三)非特异性刺激作用	(158)
五、冷冻保存胎肝细胞的临床应用	(158)
(一)胎肝细胞移植	(158)
(二)胎肝细胞输注	(159)
六、结束语	(160)
第2节 骨髓的低温保存及应用	(160)
一、低温保存设备	(160)
二、骨髓的采集和制备	(161)
三、冻存方法	(161)
(一)冷冻速度	(161)
(二)冷冻保护剂	(162)
(三)贮存温度和时间	(163)
四、活力测定方法	(164)
五、临床应用效果	(165)
六、进展与评述	(166)
第3节 外周血造血干细胞的低温保存	(167)
一、超低温保存技术	(167)
二、冻存对细胞直径和细胞化学的影响	(167)
三、冻存后造血干细胞的活力	(168)
四、临床应用效果	(169)
五、结论与展望	(169)
第4节 对造血细胞低温保存的评述	(170)
一、低温保存技术与冻存效果	(170)
二、冻存细胞悬液的输注方法和 Me_2SO 剂量	(170)

三、临床效果及需注意的问题	(171)
第10章 细胞株和医用菌种的低温保存	(176)
第1节 细胞株的低温保存	(176)
一、冻存和融化的方法	(178)
二、细胞株存活后的生物学特性检测	(179)
第2节 杂交瘤的冷冻保存	(180)
一、杂交瘤技术简介	(180)
二、杂交瘤的深低温保存	(181)
(一)脾细胞的冻存方法	(181)
(二)骨髓瘤细胞的冻存	(181)
(三)杂交瘤在液氮内的冻结保存	(181)
第3节 医用菌种的低温保存	(182)
一、冷冻真空干燥法保藏菌种	(182)
(一)原理与保存效果	(182)
(二)方法	(182)
(三)影响冻干菌种存活的因素	(186)
二、深低温冷冻保存菌种	(187)
(一)方法和步骤	(187)
(二)适用的菌种	(189)
第11章 组织的低温保存	(191)
第1节 皮肤的低温保存	(191)
一、皮肤低温保存的意义	(191)
二、皮肤结构特点与低温保存的关系	(191)
三、皮肤移植的目的	(192)
四、4℃保存法	(192)
(一)生理盐水保存法	(192)
(二)营养液保存法	(192)
五、冷冻保存法	(193)
(一)低温保护剂	(193)
(二)控制冷冻的速度	(193)
(三)复温	(194)
(四)保存容器的选择	(194)
六、皮肤活力的鉴定	(194)
七、皮肤保存需注意的问题	(195)
第2节 角膜的低温保存	(196)
一、角膜保存发展简史	(196)
(一)探索期	(196)
(二)临床应用初期	(196)
(三)广泛临床应用期	(196)
(四)发展期	(196)
二、供眼的选择和采集	(197)
(一)供体角膜材料的来源	(197)

(二)供体角膜材料的选择	(197)
(三)供眼角膜的获取方法	(198)
(四)角膜移植片制作	(198)
三、低温保存方法	(198)
(一)板层移植材料的保存	(198)
(二)穿透性移植材料的保存	(199)
(三)短期保存法	(199)
(四)中期角膜保存法	(199)
(五)长期角膜保存法	(201)
四、深低温冻贮法	(202)
(一)角膜低温保存简史	(202)
(二)冻贮设备和物品	(203)
(三)Capella 四步保存法	(203)
(四)O'Neill 保存法	(204)
(五)简化二步法	(204)
五、角膜内皮活性检测	(204)
(一)染色法	(205)
(二)温度逆转法	(205)
(三)碳酸氢根净流测定	(205)
(四)内皮显微镜检查法	(205)
(五)其他方法	(206)
六、冻贮角膜移植效果	(206)
(一)判定标准	(206)
(二)植片内皮细胞的变化	(207)
七、角膜冻贮技术研究	(208)
(一)冻贮方法研究	(208)
(二)内皮活性研究	(209)
(三)冻贮角膜抗原性研究	(209)
八、眼库的建立和管理	(209)
第3节 骨与软骨的低温保存	(213)
一、骨与软骨的解剖生理特点	(214)
二、供骨来源与选择	(215)
三、取骨与保存	(215)
(一)取材方法	(216)
(二)保存方法	(216)
四、骨库记录与管理制度	(216)
(一)登记记录	(216)
(二)冻贮方式	(217)
(三)管理措施	(217)
五、冷冻骨的复温及使用	(217)
六、骨移植效果的评价	(218)
(一)X 线片	(218)
(二)血管造影	(218)