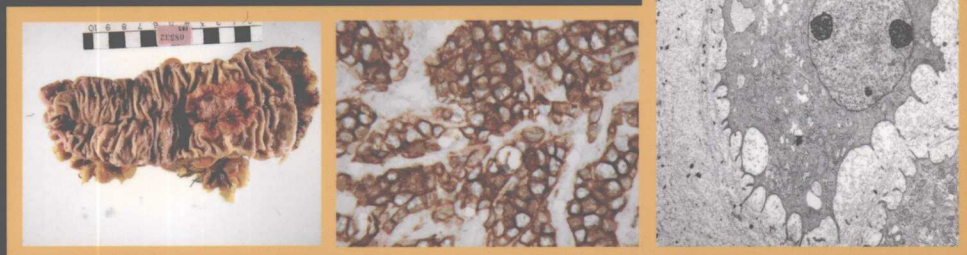


*Microwave Technology
for Light Microscopy
and Ultrastructural Studies*



微波技术

在光镜和超微结构研究中的应用

原著 Anthony S-Y Leong

主译 石雪迎



北京大学医学出版社

Microwave Technology
for Light Microscopy and Ultrastructural Studies

微波技术

在光镜和超微结构研究中的应用

原 著 Anthony S-Y Leong

主 译 石雪迎

译者名单 (按姓氏笔画排列)

石雪迎 李 方 陈阿静

R361-33
LSY

北 京 大 学 医 学 出 版 社
Peking University Medical Press

图书在版编目(CIP)数据

微波技术在光镜和超微结构研究中的应用 / (澳) 梁寿燕 (Leong, S.Y.) 著; 石雪迎主译. —北京: 北京大学医学出版社, 2008.3

书名原文: Microwave Technology for Light Microscopy and Ultrastructural Studies

ISBN 978-7-81071-638-3

I. 微… II. ①梁…②石… III. ①微波技术—应用—细胞结构—电子显微术 ②微波技术—应用—细胞结构—超微结构 IV. Q248

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 197290 号

北京市版权局著作权合同登记号: 图字: 01-2007-6118

Microwave Technology for Light Microscopy and Ultrastructural Studies

Anthony S-Y Leong

Copyright © 2005 by Anthony S-Y Leong. All rights reserved.

This translation is published under agreement with the author.

Chinese translation Copyright © 2008 by Peking University Medical Press. All rights reserved.

微波技术在光镜和超微结构研究中的应用

主 译: 石雪迎

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100083) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E-mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 莱芜市圣龙印务有限责任公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 张凌凌 责任校对: 杜 悦 责任印制: 郭桂兰

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 8.5 字数: 184千字

版 次: 2008 年 3 月第 1 版 2008 年 3 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-81071-638-3

定 价: 68.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

作者简介



Anthony S-Y Leong 教授自 1999 年以来，作为诊断病理学家任 Hunter 区病理学的医学主任，并担任澳大利亚纽卡斯尔大学解剖病理学系主任。他曾任阿德莱德大学临床病理教授和阿德莱德医学和兽医科学所外科病理学主任，并在此完成了大部分有关微波技术的研究。曾发表论文 350 篇，其中很多是微波在组织学技术尤其是抗原修复和诊断免疫组织学领域广泛应用的开拓性研究。他还编著了关于恶性淋巴瘤、免疫组织化学和抗体、肝胆管癌、组织技术学、肿瘤的电镜观察和热带病等 17 本论著。Leong 教授是澳大利亚、英国和美国的病理学会会员，中国香港和泰国病理学会的名誉会员，曾经作为高级访问学者访问美国、中国、印度尼西亚、泰国、中国台湾和中国香港等国家或地区。Leong 教授是亚太地区分子免疫组织学会的创建者和国际病理学会澳洲分会的前任主席，北京大学病理学系的客座教授。

Leong 教授对肿瘤病理学和组织技术学保持着浓厚的研究热情，并在亚太地区多次讲学。他还是病理学、肿瘤学和组织技术学等 22 份国际期刊的编委。

石雪迎

北京大学医学部病理学系 副教授

2007.12.1

译者前言

微波技术在病理学实践中的应用历史并不长，但正是由于微波技术的应用，使得免疫组织化学染色的质量发生了质的飞跃，从而让这场“棕色革命”在近二十年的时间里真正发展为现代病理诊断工作中不可或缺的辅助手段。

然而微波的神奇作用不止于此。Leong教授在这本书总结了自己和同行多年来的实践经验，全面而详细地介绍了微波技术在病理学各个领域中的应用，不仅包括我们熟悉的免疫组化微波抗原修复技术，而且涉及从常规标本固定、组织脱水处理到冰冻切片制备等病理组织学基本技术的各个环节，凸显了微波辅助处理在保证或提高切片质量的前提下，大大节省病理制片时间的优越性，为缩短病理报告周期提供了一个极为可行的技术方案。各章节均附有具体的操作步骤，因而具有很强的实用性。

书中更有专门章节介绍了微波在电镜研究和分子生物学研究中的应用，也为病理科研工作者提供了可借鉴的经验。同时书中用一定篇幅介绍了微波的作用机制，为我们更好地掌握、应用和发展这一技术提供了理论基础。

全面论述微波技术在病理学领域中应用的著作不多，希望本书的出版能为中国病理医师和技术工作者的案头增添一本有实用价值的参考书。

鉴于译者水平有限，译文中错漏谬误在所难免，请各位读者见谅并不吝赐教。

石雪迎

北京大学医学部病理学系 副教授

2007.12.1

中文版序

我很高兴北京大学医学出版社决定出版《微波技术在光镜和超微结构研究中的应用》的中文版。

微波组织学技术已经日臻成熟并广泛应用于诊断组织学和科研工作中。微波技术几乎在光镜和电镜检测标本的组织处理的各个步骤中扮演了重要的角色，涉及组织固定、脱水、常规染色、组织化学以及免疫标记等方方面面，极大地加快了检测速度。此外，微波还能增强对细胞内蛋白的保护，而后者是现代诊断病理学的核心要素。重要的是，商用微波组织处理仪的出现使得在获得标本后数分钟内制备出永久组织切片并完成诊断成为可能。微波推动组织处理技术进入了一个新的时代，并且避免了传统技术对有毒化学试剂如二甲苯、福尔马林及氯仿的依赖，创造了安全的实验室环境。

中国正处于病理诊断和技术的现代化阶段，我相信微波技术将受到中国病理学家的热烈欢迎。目睹了代表中国近两万名病理学家的中国病理医师协会的成立，我深受鼓舞。毫无疑问，中国巨大而迅速的变化必将带来病理学界的进步和改变。我热切希望能够目睹你们国家未来10年的发展，因为她已经在很多领域里成为世界的主角，包括病理学。

我很乐意由曾在我病理中心工作过的石雪迎博士翻译此书，我相信她会出色地完成这一工作。

Anthony S-Y Leong (梁寿燕) 教授

2007年8月8日

Anthony S-Y Leong, 医学博士
澳大利亚，纽卡斯尔
2008年11月

英文版前言

每当我了解到微波的一项新用途，尤其是涉及医学技术领域时，我都感到非常好奇。正如大多数发明一样，我们无法确切地知道微波的发现时间和发现者。雷达是微波炉的前身，雷达的发明要归功于二战前的英国。然而，微波试验在德国和日本甚至开始得更早。第一个谐振腔磁控管即现代微波炉的前身，在英国温布利研制成功，20世纪40年代后期由一个英国传教士带至美国，从此激发了微波技术的研究热潮，尤其是战争过程中雷达的应用，以及随后家用电器中的微波应用。

1970年的一篇简讯推测了微波用于组织固定的可能性。其后虽然也出现了一些文章，但在大约10年后将微波应用于组织学技术的研究才进入高潮。对这一技术的推动主要来自两个实验室。一个是我们在澳大利亚的实验室，于1983年报道了光镜和电镜标本的微波固定法。随后3年中发表了一系列文章介绍了大标本和冰冻切片的微波固定，以及组织化学和免疫组织化学染色的微波加速法。1985年，另一个致力于微波研究的小组在荷兰 Leiden 成立，由 Mathilde Boon 和她丈夫 LP Kok 领导。该小组推动了欧洲的研究热潮，并于1991年将“微波简讯”栏目引入《欧洲形态学杂志》(European Journal of Morphology) 期刊。Boon 和 Kok 1992 年出版了一本名为《显微学家的微波烹饪术》(Microwave Cookbook for Microscopist) 的论著，其中广泛介绍了微波应用的方法，尤其详细介绍了应用微波加快常规组织化学染色的步骤。

微波的应用远远超出了厨房范围。在组织技术学中，我们认识到微波的物理性质可作为几乎所有组织学和化学处理过程的加速剂。尤为重要的是，在光镜和电镜的免疫标记中微波的抗原修复作用不可或缺，这一发现被称作是“革命性”的。微波的这一特性已被延伸应用于显示 RNA 和 DNA 的原位杂交技术中，此方法不仅可以增强检测信号，而且可以提高敏感性和降低背景染色。最新研制的自动化处理器可以在大大短于常规方法的时间内完成光镜和电镜的组织处理，是对临床标本处理的又一贡献。围绕微波的很多疑团是由于我们无法了解微波对生物组织的作用机制，尤其是在已固定组织和甲醛存在的条件下。虽然很多文献叙述了甲醛对蛋白质的作用，但是对其全部作用机制远未彻底明了。这一缺憾显然使我们无法了解微波在组织技术学各个应用领域中的作用机制。然而，这并不能阻止我们继续研究微波的其他应用价值，并将其进一步发展。虽然微波在组织技术学的某些方面的应用仍然停留在经验阶段，但是并没有影响微波的广泛应用。

在本书中，我将与读者们分享我们实验室20年来发明和使用各种微波技术的经验，并提供我们的技术和操作的细节。希望本书可以给读者提供必要的信息，了解微波技术应用于病理学和组织学领域的诸多益处，并激发起读者应用微波技术的热情。

Anthony S-Y Leong, 医学博士
澳大利亚, 纽卡斯尔
2004 年 11 月

目 录

第一章 绪 论	1
第二章 组织固定	7
第三章 微波加速的脱矿过程	35
第四章 冰冻切片	41
第五章 组织化学和免疫组织学染色	45
第六章 抗原修复	55
第七章 微波在分子检测中的应用	79
第八章 快速组织处理	83
第九章 微波在化学和工业领域的应用	99
第十章 结 论	103
参考文献	107

第一章

绪 论

低剂量微波及射频辐射对哺乳动物组织的影响 2

微波的物理性质 3

微波的组织病理学应用背景 4

低剂量微波及射频辐射对哺乳动物组织的影响

19世纪70年代中的冷战高潮期,世界各地的美国大使馆的工作人员们总是抱怨头痛和身体不适。关于这些疾病的原因,有人推测是因为这些工作人员受到了低剂量微波(以下简称微波)及射频辐射的影响。那一时期的报道同时也激起了科学界的兴趣。无论是体内还是体外的生物系统暴露在辐射场下均能受到影响,尽管以往认为这种辐射强度不会引起明显可察觉的改变。目前越来越多的证据不仅表明存在特定的生物终端变化,而且提示这种终端变化谱的范围很广,从轻微的行为改变到造血系统的变化。由于家用微波炉的普及,高楼大厦和郊区住宅中高压电缆及电缆塔的发展,公众比以往更加担忧在这种电磁辐射环境中暴露所产生的潜在损害。尽管缺乏有力的科学数据支持,公众对此的忧虑并没有因时间的推移而减少,尤其是随着微波操作设备呈指数扩增的生产及使用,例如电信系统、监视和导航系统、加热装置如微波透热治疗机、商务和家用烹饪微波炉、用于工业及商品生产的微波干燥技术,以及更为重要的手机的使用。

1977年美国食品药品监督管理局在华盛顿组织了大批微波领域的顶尖专家对微波和射频辐射的生物效应和作用机制展开了讨论。

虽然认识到暴露于高强度的微波可能会诱导生物组织产生热现象并可能导致死亡,但是微波诱导的热死亡的生物物理分子相互作用及其机制并不完全清楚。现存资料显示,无论病因如何,致死的原因可能为高热引起的生物大分子(主要是蛋白质)的不可逆性变性,但尚不清楚哪种大分子对高强度微波诱导的变性效应的敏感性最高。根据可检出的微波致组织升温能力,以及测定特定组织包括皮肤、睾丸和眼晶状体对热损伤的敏感度,美国和其他欧洲国家制定了保护指南和安全标准,他们推荐职业暴露的最大可允许功率密度约为 $10\text{mW}/\text{cm}^2$ 。与高强度微波辐射的确定效应相比,低强度微波的生物学效应尚未完全明确。哺乳动物的中枢神经系统对于高强度的微波辐射最敏感,许多研究亦指出 $10\text{mW}/\text{cm}^2$ 的低强度甚至更低水平的微波辐射也可引起该系统的显著改变。已知的高强度微波辐射引起中枢神经系统的蛋白质变性,从而触发热死亡的级联事件,但低强度微波辐射的作用机制可能完全不同。哺乳动物中枢神经系统生物电活动的变化,人和实验动物条件及非条件反射的改变,以及可兴奋细胞系统的功能改变在相关的文献中均有报道。低强度微波暴露可以使哺乳动物的大脑产生共振现象。这一效应表现为能量吸收的不均一分布,例如最大吸收部位可能为下丘脑前部即大脑的体温调节中枢。温度每升高 0.01°C ,下丘脑视前核的温度敏感性神经元的代谢率将改变3%。因此,试验对象的生理状态改变就可以解释为微波诱导的这些神经元升温所致热代偿反应。在低剂量微波下暴露30分钟或者更长时间,就足以引起小鼠的下丘脑和丘脑下核团出现组织学改变,但神经胶质细胞却不受影响。

低剂量微波的神经学效应被归结为与神经元细胞膜结合的钙的改变。除了这些神经学效应,低场强微波还可以作用于神经内分泌系统。微波对下丘脑的影响可能引起体温调节的变化以及内分泌的改变,包括影响卵泡刺激素和黄体生成素的分泌水平。关于暴露于微波对实验动物甲状腺功能的가影响的相关报道存在分歧,有些报道甲状腺功能减

低,有些则报道功能亢进。组织学和电子显微镜研究显示甲状腺功能亢进。有关微波对哺乳动物造血系统影响的报道则显示了观测结果从量到质的一致性。微波暴露可导致短暂淋巴细胞和白细胞增多,红细胞对暴露的敏感性较低,即便有也反映为红细胞生成减少。有文献报道,随着低强度微波暴露时间的延长,几内亚猪和小鼠的有核红细胞、骨髓细胞以及淋巴结和脾脏的淋巴细胞的有丝分离活性和核结构均会发生改变。

越来越多的证据支持低强度微波和射频场可以引起哺乳动物生理及心理变化的观点;然而,关于这些改变的物理机制仍然存在争议。因此,讨论会的结束语宣称“我们现有的知识尚有巨大空白,以至于我们甚至无法明确与微波相互作用的主要位点”(Cleary, 1978)。

仍然有人推测在战争中微波使用的可能性。微波对生物组织尤其是中枢神经系统的作用,可用于开发所谓“秘密武器”。科幻小说作家们想象可以利用能量波或脉冲的武器在没有必要击毙敌人时用来击倒、击昏或者致残敌人。有人断言美国军队在长达40年的时间里为达到这种目标而进行秘密研究,美国空军在偏远地区研制用于损伤中枢神经系统的微波武器,其中有些武器不仅可以致残甚至可以致死。无线电波武器也可引起听觉系统疼痛,以及电磁热力可以用于诱导癫痫发作或者激发外周神经系统休克,产生所谓的“晕厥效果”。

微波的物理性质

微波是一类电磁波。已知的电磁波谱的频率范围很广,例如包括无线电波、电视信号波、雷达波、红外光波、可视光波和紫外光波、X射线,以及 γ 射线。虽然有些作者将微波波谱频率的范围限定为 $1 \sim 100\text{GHz}$,但一般将微波波谱频率的范围定为 $300\text{MHz} \sim 300\text{GHz}$ 。工业、科学和医药技术所应用的微波频率范围为 $45 \sim 91.5\text{GHz}$,所有的家用微波炉都是 2.45GHz 。

微波是一种非电离辐射波,其典型的标准频率为 2.45GHz ,波长为 12.2cm ,光子能量为 10^{-5} 电子伏特。因为微波脉冲波长非常短,所以可以用于距离和时间的测量。微波可以穿透云雾,呈直线传播,并产生清晰的阴影及反射,所有的这些特性均可应用于雷达(无线电定位)。雷达是微波炉的前身,据说靠近雷达天线放置的巧克力块会发生融化。

在迅速变化的电磁场中,偶极分子如水分子或蛋白质的极性侧链以 2.45GHz 的频率在 180° 的范围内振动(图1.1)。由于大多数生物分子呈非对称性并有非对称性的电荷分布,在变化的电磁场中它们会发生移动。有意思的是,近来人们发现非对称性的极性无机分子同样可以产生这种现象,利用这一原理可加热金属氧化物,例如铜氧化物、铅氧化物、铁氧化物,从而生成混合金属氧化物。分子运动或动力学诱导产生的瞬时热量与能量通量成正比,并持续产生直至辐射停止。尽管我们对能量转移的许多方面尚未完全弄清楚,但这恐怕是理解在迅速变化的电场中能量和热量如何产生的最简便的方式。微波辐射可能有许多其他的物理机制参与。场诱导的大分子氢键和质子通道的改变以及结

合水的崩解,可能引起生物系统的改变。虽然微波产生的质子能量很低而不能破坏共价键,但是低强度的微波场却很容易影响非共价次级键的稳定性,包括疏水性相互作用、氢键和范德华力,这些化学键组成精确的空间相互作用,对于生物功能和大分子锚定于细胞膜有着极其重要的作用 (Cleary, 1978)。这些关于微波作用的更有争议的方面不在本书讨论的范围内。

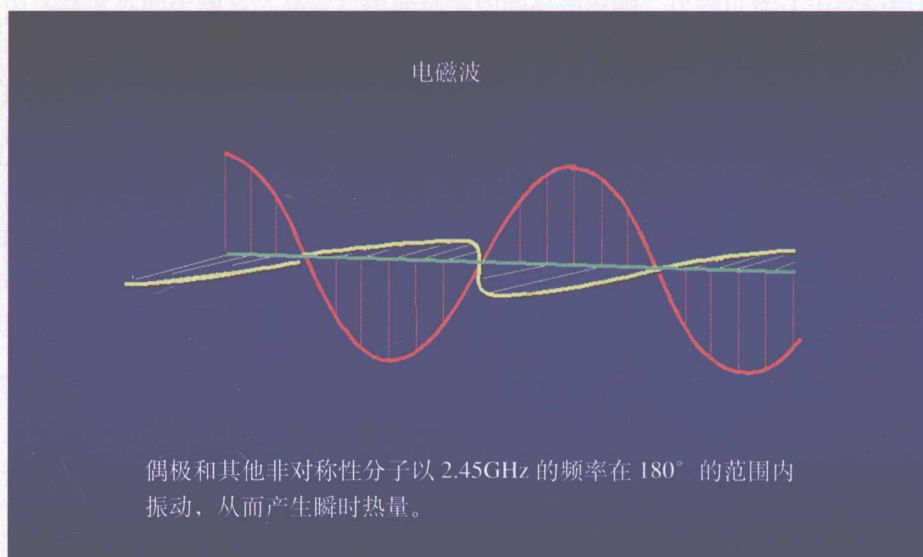


图1.1 在微波产生的迅速振动的电磁场中,偶极和其他非对称性分子以2.45GHz的频率在 180° 的范围内振动。

微波的组织病理学应用背景

几个世纪以来,我们就认识到可以利用加热来加快化学反应的速率。早在 1898 年就有文献记载了利用外部加热法来加快福尔马林固定的速度 (Ehrlich and Lazarus, 1898)。加热首先用于固定血涂片 (Baker, 1963) 和小块组织,在等渗盐溶液中煮沸2~3min 即可固定 5 ~ 10mm 的组织块 (Lillie and Fullmer, 1978)。使用火焰、蒸汽或者水浴等常规方法加热的缺点是耗时、难以准确控制时间,并且通常受热不均。使用微波加热法可以克服由于生物组织导热性差所致的上述缺点。Meyers (1970) 首次提出微波能量对于组织处理的潜在应用价值。他使用一个650W的用于肌肉和软组织热疗的微波发生器 (电子加速器 200) 来固定人体和小鼠的组织。1cm³的组织照射 90s 即可得到令人满意的固定效果,在光镜下观察可见固定均一,皱缩极微小。他观察到微波辐射可以使红细胞破裂。几乎同时,Stavinoha等 (1970) 利用微波阻止啮齿动物脑组织中乙酰胆碱酯酶所致的酶降解,从而可以更准确地分析乙酰胆碱的水平。

Bernard (1974) 所发表的论文是最为详尽的早期研究之一, 他曾将微波辐射成功地应用于多种组织的固定。他对尚未固定的麻醉裸鼠进行照射后观察, 得出的结论是受辐射组织的外观取决于温度的改变, 不同组织的适宜温度不同, 甚至某种程度上, 组织中的不同成分各有其适宜温度。不同组织的适宜固定温度为: 肝70℃, 肾77℃, 肺77℃, 睾丸85℃。他还认为这种技术对于电子显微镜同样具有潜在应用价值, 但是在他的实验中, 采用Karnovsky固定液后未能取得良好的细胞器保存效果。Login (1978) 发现所有类型的人体组织经60℃的辐射均能得到较好的固定效果, 放置于生理盐水中的1cm³组织块经辐射后呈现的形态学效果优于置于缓冲福尔马林固定液或蒸馏水中进行辐射者。在Zenker溶液中辐射所得到的效果至少与传统方法固定2小时的效果相当。无论采用何种固定液, 微波固定的组织嗜酸性增强, 但可以通过改变伊红染色时间来修正。

我们的微波试验证实了这种快速固定法在组织诊断中的发展潜力 (Daymon and Leong, 1984; Leong et al., 1985)。使用这种操作频率为2.45GHz、600W的家用微波炉, 其内部的转盘使组织在电磁波中的暴露更均匀。我们发现在生理盐水中辐射至58℃通常可以固定大多数类型的组织, 而操作时间仅需120s。因为温度的升高与电磁通量的持续时间成正比, 所以很方便对微波炉进行校准。微波固定对特殊染色无不良影响, 免疫组织化学染色标记的许多组织抗原均能得到良好的保存。我们还发现微波辐射至50℃时可大大加快肾组织和肝组织在2.5%戊二醛中的固定速度, 且超微结构保存完好。

应当指出的是在大多数的早期报道中, 微波被当作一种初级固定方法, 受辐射的组织仅置于生理盐水中而并未使用任何化学固定剂。在同一时期, 有些文献也描述了联合使用微波和常规固定剂例如福尔马林和Zenker溶液, 微波可以起到加快化学固定的作用。除了Login (1978) 运用微波加快福尔马林和Zenker溶液的固定速度外, Petrere和Schardein (1977) 使用10%缓冲福尔马林固定液作为辐射固定液固定整个胎鼠和胎兔。随后, 作为一种组织技术学的重要工具, 人们对微波的兴趣日益增加, 越来越多的刊物报道了微波应用于组织固定、组织化学和免疫组织化学染色等过程, 以及光镜和超微结构研究中的组织处理过程。在随后的章节中将详细介绍这些内容。

近来, 我们才认识到除了水分子和蛋白质的极性侧链外, 其他分子也可在微波产生的电磁场中发生振动。电荷分布不均一的分子例如无机金属和铜氧化物可能也发生振动。因此, 微波被应用于各种用途的无机金属的熔化, 例如生产用于制造半导体的混合铜氧化物以及为安全处理放射性废弃物而将其与玻璃熔合。对于生物组织, 微波的局限性在于其穿透力有限以及生物组织的热传导性能通常比较低。2.45GHz的微波在生物组织中仅能穿透几厘米, 组织中热量产生并不均匀。然而, 在某种程度上可以通过调节能量水平和暴露于非离子型射线中的时间来控制加热, 但是微波炉炉腔内热量的不均一分布以及生物组织内射线的不规则穿透仍是微波精确应用的主要限制。考虑到安全性和精确性, 从大多数发表的结果和微波处理过程以及家用微波炉目前的使用来看, 情况并不令人满意。目前几乎没有商业单位可以对这些参数进行精确控制, 并满足试验仪器的安全要求。在本书中我们将与读者分享我们使用意大利Milestone, s.r.l.公司生产的微波仪器的经验。

要点

- 微波可损伤哺乳动物组织。
- 微波炉操作功率为 2.45GHz。
- 大多数生物分子在微波诱导变化的电磁场中以 2.45GHz 的频率在 180° 的范围内振动。
- 20 世纪 70 年代，微波开始应用于组织技术学。

(石雪迎 李方 译)

第二章

组织固定

大标本的微波固定	8
组织块的微波固定	13
微波固定切片与福尔马林固定切片的不同特性	15
微波固定和常规组织处理的联合应用	17
甲醛的毒性	19
组织固定的原则	21
微波固定的分类	22
微波加速甲醛水溶液固定法	22
整体器官的微波固定和微波加速固定	24
微波固定在神经化学分析中的应用	25
微波固定与微波加速固定的最适温度	25
光镜标本的微波固定程序	25
微波固定能否破坏微生物	26
电镜标本的微波固定法	26
微波固定组织中酶和抗原超微结构的保存	28
电镜标本的微波加速固定程序	29
微波加速固定法用于细针穿刺活检标本的超微结构诊断	31
细针穿刺活检标本的快速微波加速固定和处理程序	32
细胞学标本的微波固定	33

微波技术在光镜中应用的快速发展，同时伴随并促进着微波在超微结构研究中的应用的发展。本章节涵盖了这两个领域中微波的应用。

大标本的微波固定

20世纪70年代初就有刊物报道微波在组织固定中的应用，沉寂了近10年后，我们及其他试验室的一系列研究又再次激发了对微波研究的兴趣 (Daymon and Leong, 1984; Hopwood et al., 1984; Leong et al., 1985, 1986a, 1986b; Login and Dvorak, 1985; Login et al., 1986)。微波被成功应用于通常尺寸的组织块的固定 (Daymon and Leong, 1984; Leong et al., 1985)，以及改良后用于大标本、实体器官和空腔脏器的固定 (Leong, 1991)，进一步提高了它在常规诊断实验室中的应用价值。微波在组织中的穿透深度有限。数据显示，大的实体器官例如脾、肾、乳腺和肝叶，从表面到中心的温差可高达 15°C ，因此这种标本的微波固定应当分两步进行 (Leong and Duncis, 1986)。除了实体器官表面与中心温度的显著差异之外，放置在转盘的不同部位同时受辐射的标本，温度也存在显著差异，说明家用微波炉腔内加热并不均匀 (图 2.1)。

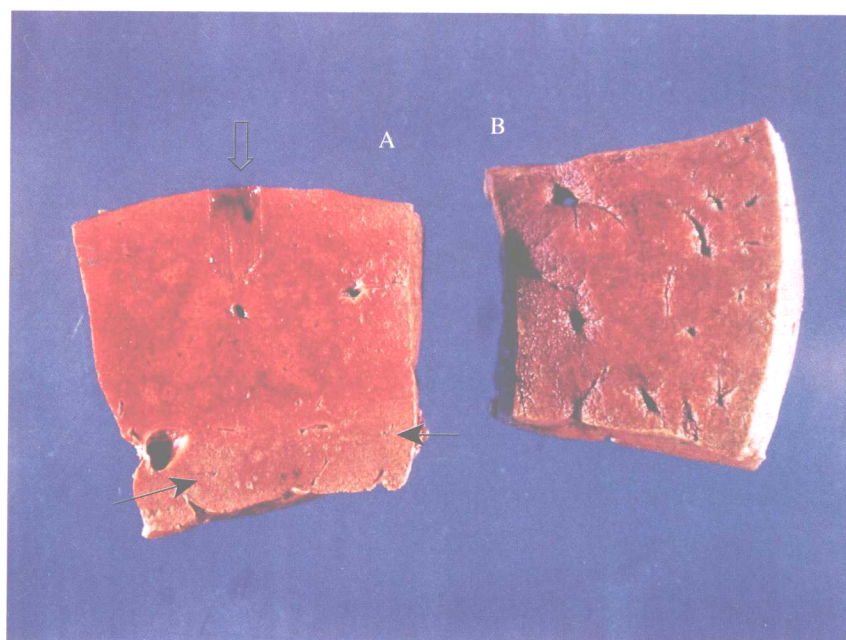


图2.1 放置在转盘不同部位同时受辐射的两块肝组织。A 放置在转盘的周边，B 放置在转盘的中央。两者外观明显不同，说明两部位辐射强度不等。A出现了明显的分界（黑色箭头），说明即使是同一块组织受热也不均匀（白色箭头处为最外侧边缘）。

第一步对大标本进行辐射处理，例如包括胃或大肠在内的新鲜的空腔脏器以及实体器官的辐射处理，旨在使这些组织获得足够的硬度以便于取材 (图 2.2 和 2.3)。第二步再将包埋盒中的组织块放置在生理盐水或10%缓冲福尔马林固定液中，微波辐射

至 $70^{\circ}\text{C} \sim 72^{\circ}\text{C}$ ，即完成了组织脱水前的固定过程。

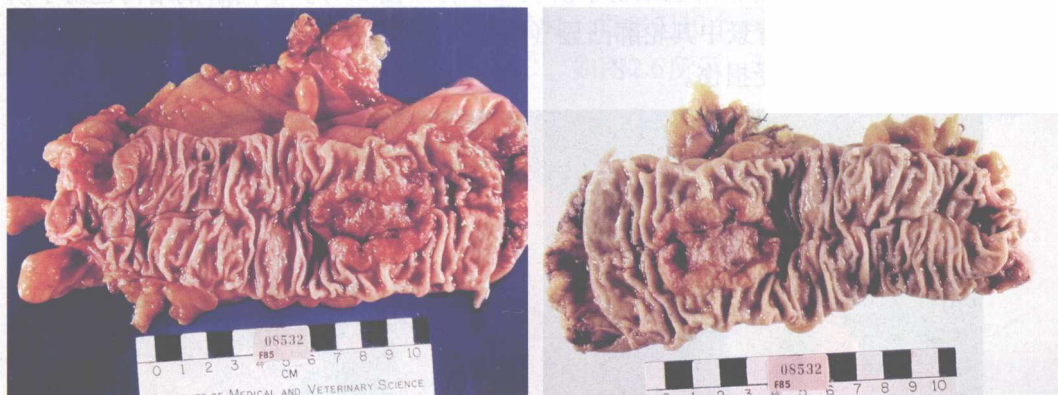


图2.2 发生溃疡型肿瘤的一段大肠组织，左为新鲜组织，右为经微波辐射后的组织。经辐射后的组织较硬实且易于控制和切割，并基本保留了原有色彩。



图2.3 经微波辐射后的一段盲肠癌切除标本。除溃疡型癌之外，还清晰可见两枚息肉（黑色箭头）以及黄色脂肪组织映衬下的淡粉色的大小各异的肠系膜淋巴结（白色箭头）。

将标本完全浸泡在盛有生理盐水的塑料桶或玻璃烧杯中，经辐射至 $67^{\circ}\text{C} \sim 72^{\circ}\text{C}$ 即可使新鲜组织获得适当的硬度。这样就无需按常规方法那样将空腔脏器剖展开钉于衬板上或将实体器官多剖面平行切开后福尔马林固定14小时。此外，应用微波硬化标本的另