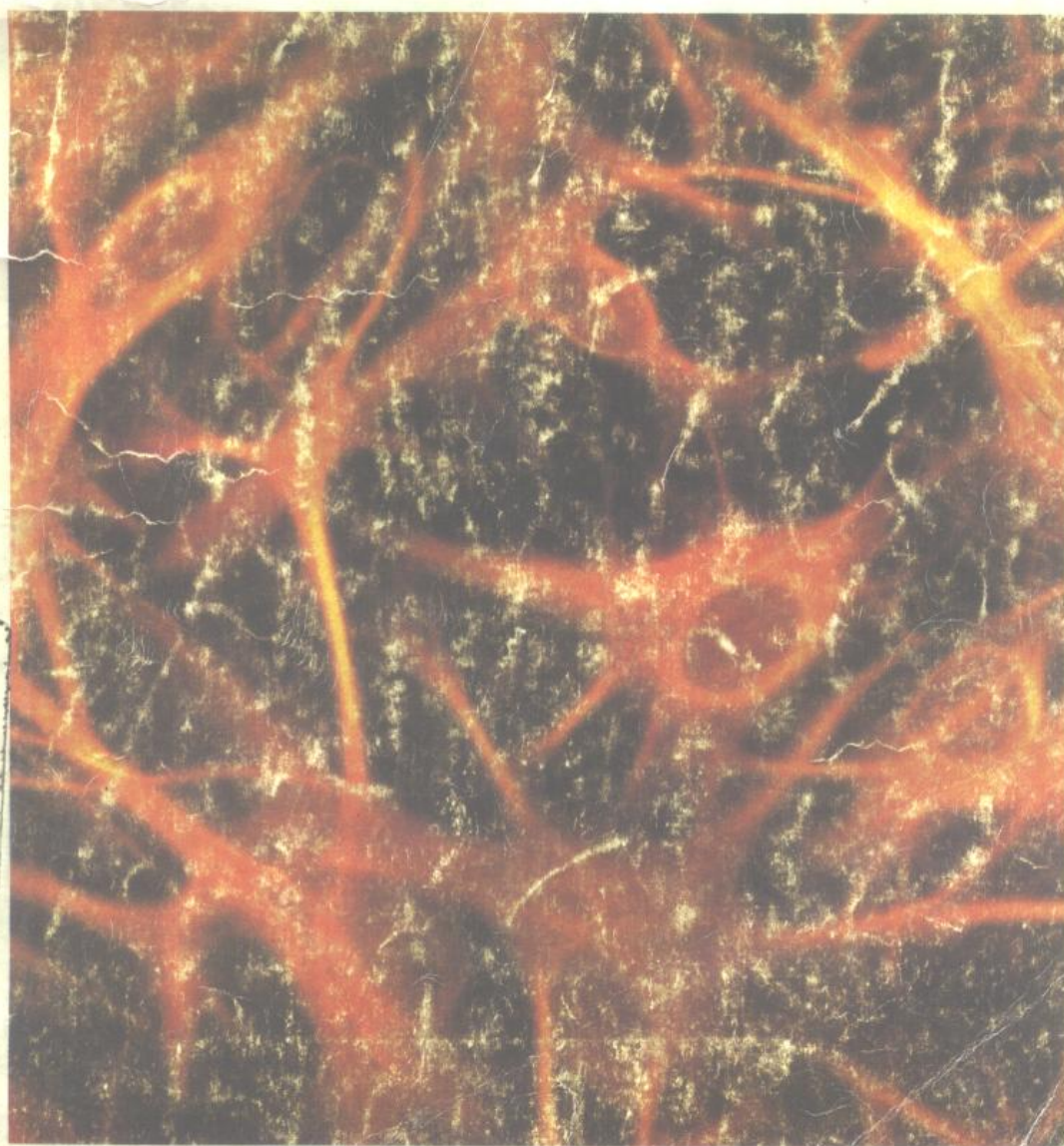


紹慈 翁恩琪 封茂滋 編著

華東師範大學出版社

神經生理學概論



神经生理学概论

周绍慈 翁恩琪 封茂滋 编著

华东师范大学出版社

(沪)新登字第201号

神经生理学概论

周绍慈 翁恩琪 封茂滋 编著

华东师范大学出版社出版发行

(上海中山北路3663号)

邮政编码: 200062

新华书店上海发行所经销 江苏阜宁印刷厂印刷

开本: 787×1092 1/16 印张: 17.25 字数: 425 千字

1994年7月第一版

1994年7月第一次印刷

印数: 001—1,500本

ISBN7-5617-1154-9/Q·009

定 价: 20.00元

前 言

自60年代初,华东师范大学生物学系开始设置《神经解剖学》及《神经生理学》专业课,以适应神经科学发展的大势。作为这两门课的主讲人,笔者在多年的研究及教学过程中,受到先师张宗汉教授、Л.Г.沃罗林院士及业师张香桐教授的指导和教诲。值此书付梓之时,不禁饮水思源,深觉师辈恩泽应该铭志於前。

30多年来,神经科学以其蓬勃和急速的发展,积累并超越在此以前200多年来的资料,大大丰富和深化人们在这一学科领域中的认识。神经科学以其所展示的诱人远景,被人们称为“最后的前沿科学”。近年间,编者同仁应多学科之需,又开设了《大脑科学概论》,《学习与记忆》以及《神经心理学》等课程,在校内产生了良好的效果。许多教师、研究生及外系学生对神经科学产生了兴趣,自愿涉足这个领域,从而促进一些跨学科的研究方向形成。可喜的势态以及多方面的反应使本书编者认识到,一本简略而又具有较广适应面的教科书是很需要的。为此,整理并修订讲稿,集而成书,并以《神经生理学概论》名之。

编者认为,在有限的教学时间内,要对神经生理学作全面的讲述,实际上是不可能的。但是,在比较暂短的课堂教学时间内,向学生介绍这门学科的梗概,并使他们了解登堂入室的途径则是能够办得到的。因此,在教材内容上需有所取舍。本书删略了不少章节,并对那些涉及其它学科甚广,研究工作进展很快的问题予以更多的着墨。此外,书中还花了较大篇幅对现代神经科学的研究方法,以及一些基础知识作了浅近和全面的介绍,意在让读者阅读本书之后,能够触类旁通,在遇到本书不曾论及的问题时,能够自觅途径,寻求获得解决的办法。好在国内有关神经科学的专著及译本日渐增多,有志于神经科学研究的读者,当不会停留于此书,而会在更广范围内获得滋养。

编者十分感谢中国科学院脑研究所吴建屏教授、上海生理研究所梅镇彤教授、上海第二军医大学陈宜张教授、北京师范大学王玢教授、上海中医学院曾兆麟教授、复旦大学王伯扬教授、东北师范大学蓝书成教授在完成本书过程中所给予的帮助和支持,使我们难以忘怀。

本书共分十四章,绪论和第一、第七、第九、第十二章系周绍慈编写;第二、第三、第四、第五、第六、第八、第十及第十三章由翁恩琪完成;第十四章系封茂滋书就。

在编写此书期间,编者得到国家教委博士学科点基金(项目编号:32880044)以及国家自然科学基金会基金(项目编号:3860894,3880327)的资助,谨在此一并申谢。

周绍慈 一九九三年中秋于沪上

目 录

绪论	1
第一节 神经生理学的发展	1
第二节 神经生理学在我国的发展	2
第三节 神经生理学的发展进入了新的时期	3
第四节 神经生理学的研究方法	4
一 解剖学方法	4
二 电子显微镜用于神经科学的研究	4
三 神经元标记法	5
四 放射自显影法	6
五 2-脱氧葡萄糖法	6
六 切除法	6
七 立体定位技术	7
八 电生理学方法	19
九 免疫细胞化学方法	13
十 放射免疫法	13
十一 条件反射研究方法	14
十二 操作式条件反射研究方法	14
第一章 神经系统结构概述	15
第一节 神经系统的进化	15
一 无脊椎动物	15
二 头索动物	16
三 脊椎动物	16
第二节 神经组织	18
一 神经元	18
二 神经胶质细胞	20
第三节 人类神经系统的分部	22
一 中枢神经系统	22
二 周围神经系统	29
第二章 神经细胞的生物电现象	33
第一节 历史简述	33
第二节 神经纤维的跨膜电位	34
一 静息膜电位和动作膜电位	34
二 兴奋和兴奋性	36
第三节 生物电现象的离子学说	38
一 静息电位的成因	38
二 动作电位的成因	43
三 离子通道	47
第三章 神经冲动的产生和传导	50

第一节	神经冲动的产生	50
一	外向电流和电紧张性电位	50
二	局部反应和动作电位	52
第二节	神经冲动的传导	53
一	冲动传导的局部电路学说	53
二	有髓神经纤维的跳跃传导	54
三	关于神经传导一般特性的讨论	57
第三节	神经干的复合动作电位	58
一	复合动作电位的组成及神经纤维的分类	59
二	不同记录方法获得的动作电位	61
第四章	突触和突触传递	64
第一节	突触的形态结构	64
一	化学性突触的亚显微结构	64
二	电突触	66
第二节	突触的分类	66
一	按神经元相互接触部位的分类	66
二	按突触亚显微结构的分类	67
三	Bodian分类法	68
四	突触类型和神经元学说	69
第三节	突触传递	70
一	神经-肌肉传递: 化学性突触的实例	70
二	中枢神经系统内的化学性突触传递	79
三	电传递	82
第五章	中枢神经系统的递质	85
第一节	概述	85
第二节	中枢递质的种类和作用	86
一	胆碱类	86
二	单胺类	87
三	氨基酸类	88
四	多肽类	89
第三节	神经肽	91
第六章	躯体感觉	95
第一节	感受器的一般机能特性	95
一	感受器的换能和编码作用	96
二	感受器的适应现象	99
四	感受器敏感性的调制	101
第二节	躯体感觉系统	102
一	丘脑	102
二	丘脑前成分	104
三	皮质的躯体感觉代表区	105
四	躯体感觉输入的下行控制	108
第三节	痛和痛的调制	108

一	痛及痛的测量	109
二	痛的外周机制	110
三	痛的中枢驿站和通路	112
第七章	听觉	120
第一节	声波的特性和量度	120
第二节	听觉的一般特性	121
第三节	外耳的功能	122
第四节	中耳的声能传递	122
一	骨传导	123
二	鼓膜张肌与镫骨肌的作用	124
三	咽鼓管与听觉	124
第五节	内耳的功能	125
一	基底膜的行波振动	125
二	毛细胞的形态	127
三	覆膜在毛细胞兴奋过程中的作用	128
四	毛细胞的兴奋及听觉信息的传递	129
五	外毛细胞的功能活动	130
六	毛细胞的电活动	130
第六节	耳蜗电位	131
一	微音电位	131
二	听神经动作电位	132
三	耳蜗内电位	132
四	总和电位	133
第七节	听觉传入纤维的编码活动	133
一	自发放电和诱发放电活动	134
二	调谐曲线及强度函数曲线	135
第八节	中枢对听觉传入信息的影响	136
一	传出纤维的电活动	137
二	传出纤维对传入纤维活动的影响	137
第九节	听觉的中枢神经机制	138
一	听觉系统的解剖	138
二	听觉系统各级中枢结构的音调定位	139
三	听觉中枢神经元的功能活动	141
第八章	视觉	147
第一节	视网膜的光电换能和信息处理	147
一	光电换能过程	147
二	视网膜的细胞构筑和突触联接	149
三	视网膜各类神经元的反应	151
四	视网膜内信息的传递	154
第二节	视觉的脑机制	155
一	中枢视通路	156
二	中枢视系统对图像信息的逐级抽提	157

三	中枢视系统对图像信息的平行处理	159
四	视皮层的功能柱构筑	161
第三节	视觉系统的可塑性	163
一	视觉剥夺的效应	163
二	感觉功能的发育与神经元间的突触竞争	163
第九章	自主神经系统的功能活动	195
第一节	自主神经系统与躯体神经系统的区别	165
第二节	交感神经系统和副交感神经系统	167
第三节	自主神经系统的功能特征	168
第四节	交感神经对不同效应器的作用	169
第五节	副交感神经对不同效应器的作用	170
第六节	交感和副交感神经系统的相互作用	171
第七节	自主神经系统机能亢进和减弱	173
第八节	自主神经系统的递质及其受体	173
一	去甲肾上腺素和它的受体	173
二	胆碱能和其它递质	174
第九节	自主神经系统的反射活动	174
一	压力感受器反射	175
二	心反射	175
三	躯体传入引起的交感反射	175
四	副交感反射	175
第十节	自主神经系统功能的中枢控制	176
第十章	脑干网状结构及其功能	178
第一节	形态学方面	178
第二节	网状神经元的一般生理特性	181
一	自发电活动	181
二	诱发反应	181
三	网状神经元的鉴别	183
第三节	下行性和上行性网状影响	183
一	下行性网状影响	183
二	上行性网状影响	186
第十一章	边缘系统的功能	188
第一节	边缘系统概念的发展和形成	188
第二节	边缘系统的定义	188
第三节	边缘系统一些重要部位的解剖	190
一	海马的含义	190
二	杏仁核群	191
第四节	边缘系统的主要传导束	191
一	穹窿	191
二	终纹	192
三	髓纹	192

四	内侧前脑束	192
第五节	边缘系统与递质	192
第六节	边缘系统的功能	194
一	边缘系统与情绪活动	194
二	边缘系统与性行为	194
三	局部刺激边缘系统所引起的情绪行为反应	195
四	边缘系统与感觉	197
五	边缘系统与内脏机能活动	199
六	边缘系统与觉醒、睡眠的机能关系	200
七	边缘系统与学习及记忆功能	201
八	边缘系统与动机	202
第十二章	运动的控制	205
第一节	运动的分类	205
第二节	运动神经元池	205
第三节	大小原则和神经元的活动	207
第四节	运动神经元的输入	208
第五节	中间神经元的功能活动	209
第六节	Renshaw 氏细胞和运动神经元返回侧枝	210
第七节	γ 运动神经元	211
第八节	脊髓反射	211
第九节	牵张反射	212
第十节	膝跳反射	213
第十一节	屈反射	215
第十二节	关节反射	216
第十三节	脊髓对运动的控制	216
第十四节	脊髓休克	217
第十五节	脑干对躯体运动的调节	218
一	网状结构对肌紧张的调节	218
二	延脑-脊髓动物	220
三	中脑动物	220
第十六节	姿势反射	220
第十七节	小脑在运动控制中的作用	221
第十八节	基底神经节在运动控制中的作用	224
第十九节	大脑皮层在运动控制中的作用	225
一	锥体束的组成	226
二	运动皮层的结构及其对肢体肌肉的控制	227
三	锥体纤维对 α 运动神经无影响的生理性质	229
四	反馈信息对皮层控制运动的重要意义	229
第二十节	言语是复杂而精细的运动	231
第二十一节	中枢回路和运动程序	232
第十三章	睡眠与觉醒节律	233

第一节	睡眠-觉醒作为一种昼夜节律	233
第二节	睡眠分期和睡眠时相	234
一	按EEG特征的睡眠分期	234
二	睡眠过程的两种时期相交替	235
第三节	睡眠学说	237
一	被动的去传入机制学说	237
二	脑干睡眠诱导区	238
三	可能作为昼夜节律的生物全钟起作用的视交叉上核	239
四	中枢单胺类递质和乙酰胆碱的制控	239
第四节	肽类物质对睡眠-觉醒节律的调节作用	240
第十四章	学习行为的神经生物学机理	242
第一节	非联合型学习	242
一	海兔缩鳃反射的习惯化	242
二	海兔缩鳃反射的敏感化	245
第二节	联合型学习	248
一	家兔瞬膜条件反射	249
二	海兔缩鳃条件反射	252
三	长时程突触增强	255
第三节	记忆概述	261
	主要参考书目	261

绪 论

神经生理学(Neurophysiology)是一门研究神经系统功能活动规律的学科。它所面对的研究对象是由 10^{12} 神经细胞和10倍於此数神经胶质细胞所组成的大脑和整个神经系统。研究对象的极度复杂,使得神经生理学成为一门实验性极强的科学,它祇能依靠各种行之有效的实验方法去剖析、认识和阐明这地球上已知的最为复杂的物质结构和它的功能。

人类进行物质生产、设计琼楼广厦、从事写作、作曲、绘画创作,探测遥远的星球、直到活动在外层空间,漫步在月球之上,创造了如此旖旎的五光十色现代社会文明。所有这一切,没有一样能够脱离神经系统和它的高级部位——大脑的功能活动。人类应该庆幸他能拥有这个系统,应该感谢这个系统。正是因为有了这个系统,才使他区别於存在於周围的一切,成为“万物之灵”。确切地说,正是这个系统,控制和指挥运动器官,创造了人类的世界。从任何一个方面看,人类早就应该彻底认识这个系统和它活动的规律了,但是他没能做到,他无法做到。只要概略地回顾一下神经生理学发展的历史,便知道个中的缘由。

第一节 神经生理学的发展

人们习惯於把神经生理学的建立和18世纪意大利藏伽伐尼(Galvani L.)的研究工作联系起来。因为1780年他发现:当有电流流经蛙的神经肌肉标本时,即会引起肌肉的收缩;以铜钩将蛙腿挂在铁栏干之上时,也会导致蛙腿颤抖。以后被证明,这是由于不同金属联接而构成回路时,即有电流流过,致使蛙腿受到刺激,引起肌肉收缩。当时,伽伐尼虽无法认识这一现象的道理,但他解释是由於固有的动物电存在而导致的结果。到了19世纪中期,由於电流计的发明,出身於瑞士世家的杜布尔·雷蒙(E. du Bois-Reymond)得以利用它直接测定神经兴奋时的动作电位,进一步为认识脑和神经活动的规律开辟了宽广的前途。

其实,一门自然学科的形成常常有一个远久的历史过程,当然,神经生理学也不会例外。其实,在Galvani L.之前就有不少学者为这门学科的形成做了有意义的贡献:例如,在18世纪40年代de Gorter就提出神经具有接受刺激的特性,并进一步提出神经组织的刺激感受性(irritability)和敏感性(sensibility)等重要神经生理学概念。在这时,英国乔治二世国王任命的“混合科学”教授(professor of mixed sciences) von Haller A.,也写成了世界第一部《生理学基础》教科书(Elementa Physiologiae)。他在书中写道:“我使用不同种类、不同年龄的动物,并将需要研究的部位裸露,在动物停止挣扎和吼叫之后,用吹气、烧灼、酒精、手术刀和醋酸去刺激这些部位,全面地研究了当触动、刺割、烧灼或是划破这些部位时,动物的不安、吼叫和挣扎等表现……。” von Haller这些朴实的描述成为我们能看到的,有关感觉神经生理学研究的最早记载。即便是这种研究非常地初级和浅易,但是它成了开风气之先的创举,以实验的方法来研究机体对於刺激的反应,一改那种单纯依靠揣想和推理方法去论断神经系统功能的做法,从

而使神经生理学逐渐地步入正途。

其实，远在公元前5世纪，古希腊圣哲Hippocrates就说过：“人类应当知道：快乐、欣喜、欢笑和运动；悲伤、哀痛、沮丧和哀悼都源于大脑而非它物。由此以一种特殊方式，我们获得智慧和知识……”。这足以表明人类在很早就懂得大脑功能的重要意义。但是，在以后的一千八百多年中，人类对于大脑和神经系统功能的认识也就停留在这种笼而统之的水平上面。可是，一谈到神经系统和脑的结构，一谈到脑和神经系统如何进行功能活动这类无法回避的问题时，由于时代的落后，人们依靠的只是设想和推论，于是导致许多谬误来。像Aristotle，这样智多识广的伟大的学者也认为“脑是无血的”，而心脏则是“神经之源”（source of nerves），是“灵魂的寄所”，是至高无上的，这些论点和我国著名儒家孟轲提出的“心之官则思”的错误论断是十分相似的。一直到16世纪，人们还因循传统的观念，认为脑是贮存“灵气”的结构，而神经则是“灵气”在其上运行的通途。笛卡尔这样的著名学者也竟然把神经设想成为一些管子，认为外界的影响通过“动物精气”（animal spirits）传至心室，再由松果体通过这些神经管子传到身体各部引起活动。这些不符合真实的凭空揣想和离奇的论断给人们思想制造了极度的混乱，所以著名的神经生理学家Brazier, M.A.B.爽直地说：“16世纪之前的神经生理学是没有什么意义的”。

18世纪中期之后，由于实验研究逐渐地兴起，一切传统的理论都不得不接受科学实验的检验。到了19世纪初叶，爱丁堡大学著名教授Monro A. 指出：在神经中不存在空隙，切断神经也没有液体或气体从其中流出，结扎神经也不见神经膨胀。他的简易实验结果使流传千载以上的“精气”、“灵气”和“液体”学说宣告结束。代之而起的是人们对神经系统基本结构的探索。约在1875年，意大利帕维亚大学组织学教授Golgi C. 使用神经组织选择性镀银技术，成功地在显微镜下显示出完整的神经细胞及其枝状的突起，从而使人们认识大脑及整个神经系统是由神经细胞（神经元，Neuron）组成，而外周神经则是由许多神经细胞发出长的突起集合而成。西班牙著名神经解剖学家S. Ramon y Cajal 用毕生精力深入地研究了多种动物的神经系统结构，进一步肯定了构成神经系统的基本单元是神经细胞，证明每个神经细胞具有明确的边界，其突起（树突和轴突）都有游离的末端。从而确立了科学的神经元理论（Neuron theory），为神经生理学奠定了坚实的形态学基础，并使而后的众多神经生理学者能够转向神经系统和神经元功能特性的研究。到了19世纪后半期，神经生理学的实验研究有了进一步的发展。20世纪初期，在神经元电活动机制、神经元之间的联系结构以及神经元信息传递机制等三个带有实质性的研究方面获得了重大进展，为现代神经生理学的发展开辟了宽广的前途。在回顾这一段值得称道的历史时，可以清楚地看到，是实验研究给神经生理学注入了生机，摆脱了传统观念布下的迷津，走上了每一步都离不开实验的发展道路，而成为一门实验性极强的科学。

第二节 神经生理学在我国的发展

一本完成于公元300~400年的中国医学著作《黄帝内经》上有这样一段叙述：“……邪中于项，因逢其身之虚，其入深，则随眼系以入于脑。入于脑则脑转，脑转则目系急，目系急则目眩以转矣。”这表明，远在周朝我国医学已对视神经的存在和脑与头晕现象之

间功能关系已有了一定认识，尽管这种认识还是十分蒙眛和粗浅，但它毕竟是先驱性的认识。这以后的很长时期，我国神经科学没有得到继续发展。直到本世纪20年代初，蔡翘、卢于道以及朱鹤年教授等人才将中枢神经系统比较解剖学的知识介绍到中国，使人们对脑和神经系统有了精确的认识，为中国的神经生理学的发展作出了贡献。一些西方学者在将神经解剖学和生理学传入我国的过程中，也曾起过良好的作用。曾来我国工作的荷兰著名学者C.U.Ariens Kappers对我国神经解剖学的发展也起了推进作用，由他改进的Weigert神经髓鞘染色方法，现在仍为我们采用。到了30年代，著名神经肌肉生理学家冯德培在神经肌肉接头的研究方面，作出了十分重要的贡献，受到国际学术界的重视。

在我国，近代神经生理学的发展是和张香桐教授的名字联系在一起的。他对神经生理学作过多方面的贡献：早在40年代，就致力于比较神经解剖学和比较神经生理学的研究，并且发表了一系列实验研究论文；他是世界上最早阐述神经元树突在中枢神经系统活动中功能意义的科学家之一，并是历史上第一个阐述了树突上突触连接重要性的人，是他发展了中枢神经系统内两种突触兴奋的理论；发现了光线照射视网膜可以提高大脑兴奋性的现象，并被国际上称为“张氏效应”；他在大脑皮层运动区的肌肉局部代表性的研究，被公认为是经典性的；他首先提出针刺镇痛效应是由于“来自痛源部位的神经冲动和来自穴位处的神经冲动在中枢神经系统内相互作用的结果”的科学论断，为发展我国感觉生理学，发扬祖国传统医学治疗方法及阐明其机制作出了重要贡献，并因此获得全国科学大会奖和茨列休尔德国际奖，比利时皇家医学科学院授予他以名誉院士称号。张香桐和北京大学赵以炳教授等人为新中国培养了一代从事神经生理学研究的教学工作者。他以他的远见和卓识倡导对神经科学的重视，并付出巨大辛劳创建了中国科学院上海脑研究所。这个研究所的建立标志着我国神经生理学的发展跨上了新的台阶。

自1976年之后，随着我国政治及经济情况的好转，神经生理学工作者的队伍逐渐壮大、研究工作的布点趋向合理、研究工作的水平日益提高，这一切将在本书中得到反映。

第三节 神经生理学发展进入了新的时期

神经生理学在20世纪50年代之后，由于科学技术的进步，研究方法的改善和研究的深化而得到很大的发展。累积的研究资料日益丰富、研究问题的面也愈加广泛，于是形成了神经科学(Neuroscience)。到了60年代，神经科学的研究队伍变得急骤庞大，国际上正面地提出了脑科学(Brain Science)，并成立了国际脑研究组织(International Brain Research Organization, IBRO)。一个十分保守的数字说明，目前大约有20万不同学科的研究人员，正在从事大脑结构和功能的研究。每年，有数以万计的研究报告和论文在专业性刊物上发表。脑科学已成为举世公认的前沿学科。在当代有关生物学的理论问题中，大脑功能的研究被列为首位。工业生产、社会教育、医学临床和新兴的电子计算机的发展，都寄希望于大脑功能研究的突破。与之同时，现代物理学、数学、化学和计算机科学技术向脑科学的渗透，并与之融合，构成了一股巨大的潮势，推动着神经生理学的发展。从而使当代神经生理学具有五方面的特点：即大量新实验技术的应用；研究方法不断地完善；新兴分枝学科的建立；学科信息量急骤增长；以及研究深度和广度发生了根本的变化。这一切，说明了神经生理学已进入一个新的发展时期。

第四节 神经生理学的研究方法

由于神经生理学是一门实验性很强的学科,因而它的发展离不开研究方法和技术的改进。现代科学技术的进步促进了神经生理学研究方法的改进,使得神经系统生理功能的研究,可以分别地在分子、亚细胞、细胞、器官以及整体行为活动等不同水平上进行。对于初学者,认识和了解这些方法和技术是很有必要的。

一、解剖学方法

由于神经系统结构复杂,我们研究它的功能,便无法脱离其结构,所以解剖学的研究方法和技术在神经生理学的研究工作中具有广泛的用途。在这里祇能择其主要的方法进行概略的介绍,以便读者以后的学习。

(一) Golgi氏染色法 为了研究神经组织的结构,必须按一定方法步骤,将组织取出、进行处理、固定,然后以切片机切成 $10\sim 50\mu\text{m}$ 左右的薄片,经过染色,置于光学显微镜下观察。因而染色方法十分重要。19世纪80年代Golgi C.首先使用硝酸银镀染整个神经元获得成功。这一古老方法的特点是可以显示整个神经元的轮廓及其树突和轴突的走向,便于研究中枢神经核团的组构及其纤维投射方向,历经改良,并被延用至今。

(二) Cajal氏染色法 为Ramon Y. Cajal于1903年所创造,可以镀染神经元内的神经原纤维,显示轴突末梢及其与另一种神经元之联系。

(三) Nissl氏染色法 为德国病理学家Franz Nissl所创建。用此法可染神经元的胞体, Nissl氏小体。因而被用在研究大脑皮层的分区、脊髓灰质的分层。此法亦可用于变性神经元的研究。当神经元轴突被切断之后,数天之内即出现胞体膨大、Nissl小体溶解、细胞核移位而稍膨大等逆行变性(retrograde degeneration)的变化。根据这些变化,可以追踪神经元所在核团,便于研究中枢神经系统各部位之间联系,这便是逆行追踪法(retrograde tracing method)。

(四) Marchi染色法 意大利Vittorio Marchi于1890年发明,可以选择性地以银镀染变性纤维的髓鞘。在以切除、吸除、电流损毁、放射照射或药物注入等方法损坏中枢神经系统某一部位或核团之后,由于大量神经元的胞体被毁,导致神经纤维发生顺行变性(anterograde degeneration),其中有髓鞘纤维变性之后,即可被Marchi法染色,这便是顺行追踪方法(anterograde tracing method)。Marchi方法对于研究中枢传导束的通路当然具有重要意义。但是,这一方法不能镀染轴突终末无鞘部分,也无法使变性的无髓鞘纤维着色,因而有它的不足之处。

(五) Nauta氏染色法 1954年Nauta使用高锰酸钾对神经组织标本进行前处理,降低组织还原性能,抑制正常纤维嗜银特性,对Marchi方法进行了创造性地改良。使得变性纤维的追踪达到轴突的终末前部分(preterminal part),显示了靠近突触部分的变性情况,从而改进了顺行追踪方法,使确定投射部位更为可靠。自50年代起, Nauta法在研究神经通路和阐明中枢神经系统各核团部位之间的连接的工作中起了十分重要作用。

二、电子显微镜用于神经科学的研究

50年代之后,电子显微镜开始用于神经科学的研究。根据理论推算,普通光学显微镜其分辨率的极限约为 $0.2\mu\text{m}$ ($2000\text{\AA}$)。即使用紫外光作光源,石英透镜,最高分辨率也

只能达 $800\text{\AA}$ ，这样在研究神经元的亚显微结构时，即受到限制。高分辨的透射电子显微镜可以分辨直径为 $2\text{\AA}$ 的结构，当然成为研究神经元结构的利器。神经元与另一种神经元连接的突触结构就是由于电子显微镜的观察才确定下来，并进一步发展成为一门独特学科——突触学(synaptology)的。突触学的发展揭示了一系列与信息传递功能有关的结构和机理，而成为神经科学中一个前沿领域。

1965年之后扫描电镜问世，由于样品制备较简单，成象方式多样、景深大，使图像富有立体感，分辨率达 $100\text{\AA}$ 左右，因而很快被用于神经元及其细胞器(如突触小泡等)的考察，使人们得以认识其形貌特征

目前，电子显微镜的使用，已使得神经结构和生理学的研究细致入微。其中重要原因之一即是，许多研究工作已将电子显微镜和传统的镀银染色法，新兴的辣根过氧化物酶标记法，组织化学，放射自显影技术以及免疫组织化学等先进方法合并使用，因而得以出现新的局面。

三、神经元标记法

由于脑和神经系统结构复杂，而作为这一复杂功能系统的单位——神经元的体积很小，突起细长，因而在研究它们的联系和功能活动时，必须借助一些便于识别、可被发现，而又无碍于神经元正常活动的物质，将其注入神经细胞内部，或是让细胞吸收，成为胞内的一种指示物质，从而得以观察神经元功能活动的动态及机制，这便是标记法(Labeling method)的含意。70年代之后，标记方法被广泛地使用。标记法之所以能被利用，乃是因为神经元的胞体是供给树突和轴突的营养中心，胞体靠着轴浆的往返不停流动，将营养送到突起的末端。也就是这种轴浆流(axoplasmic flow)将吸收或注入的标记物运送到神经元的各部，完成神经元的标记。常用的标记方法有：

(一)辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记法 有相当多的物质，例如破伤风毒素、带状疱疹病毒、白蛋白和神经生长因子等，都可被神经末梢吸收，并由于轴浆流而被逆行转运到胞体部份。当然，被胞体吸收后的物质，也可被轴浆流顺行转运到树突和轴突的末端。这便是物质的逆行轴浆转运(retrograde axoplasmic transport)和顺行轴浆转运(anterograde axoplasmic transport)。

70年代瑞典人Kristensson等将HRP注入幼鼠的腓肠肌及舌肌，结果在脊髓和延脑的相应部分运动神经元胞体内发现HRP的累积。不久LaVail正式使用HRP作为轴突逆行追踪，以后遂广泛地被用于中枢神经系统的研究。HRP可被神经末梢、胞体和树突吸收。轴突损伤部分也可摄入。在胞体内，HRP的活性可持续4~5天。在溶酶体内作为对 联苯胺呈阳性反应而呈现出来。被标记的神经元可以清晰地显示胞体、树突及轴突。此法亦可用于电子显微镜观察，确定突触分布位置，因而在追踪中枢核团之间纤维联系及外周神经与中枢之间的组织学联系时，用途很广。

(二)荧光物质标记法 1977年Kuypers成功地利用荧光物质(Fluorescent substance)标记了神经元。目前已发现数十种荧光物质可被神经元的胞体、轴突及轴突侧枝吸收而随轴浆流转运。这些物质中常用的有依氏蓝(Evans blue)，核黄(nuclear yellow)、固蓝(Fast blue)等。它们在不同波长的激发光照射下，分别发出红色、黄色及蓝色荧光。当这些荧光物质被神经细胞吸收后，即可将脑组织制成切片，置于荧光显微镜下进行观察，被标记的神经元的胞体及轴突，轴突侧支及其末梢即显示出来。如果将两种(或多种)荧光物质分别注射至一个神经元轴突和其分枝所投射的不同部位，这些不

同荧光物质将被逆行转运至神经元的胞体，从而完成双（或多）标记（double-labeling）。用这种方法，可以判断一个神经元对两个或两个以上神经部位的支配。

四、放射自显影（autoradiography, ARG）法

用 ^3H 或 ^{14}C 标记的 可以参与神经细胞代谢的化合物（如氨基酸）注入神经核团，很容易被胞体吸收，并被合成为蛋白质或其它物质，顺行转运到神经纤维末梢。将脑组织冰冻切片，在暗室中涂以感光乳胶剂。由于 ^3H 及 ^{14}C 同位素的 β 射线而使乳胶感光成像，显示神经元及轴突行径和末梢。因而ARG常用于神经元的追踪及神经元有关的代谢功能活动研究。1965年Taylor等人首次将 ^3H -亮氨酸注入小鼠眼球玻璃体内，结果在视神经内发现顺向传递的放射标记物质，从而开始放射自显影方法在研究神经系统工作中的应用。当然，从广义上说，放射自显影也是标记法的一种。

五、2-脱氧葡萄糖（2-deoxyglucose, 2 DG.）法

Wick A. 等人于1957年报道，在葡萄糖第二个碳原子上的-OH基为-H替代而形成的2-脱氧葡萄糖（2 DG），在体内经历的代谢过程和葡萄糖是不同的。葡萄糖代谢的最终产物是 CO_2 和 H_2O ，而2 DG则不会被充分利用，它在被细胞组织吸收之后，经磷酸激酶水解，形成2 DG-6 磷酸之后，即停留在这个阶段，而不能继续转化为果糖-6 磷酸和进一步分解，被细胞利用。这样，2 DG-6 磷酸就在细胞内累积起来。而且，机体的哪一个部分兴奋活动愈多，这里细胞累积的2 DG-6 磷酸也就愈多。利用2 DG在体内代谢这个特性，1977年Sokoloff等人以 ^{14}C -2 DG注入动物体内，研究中枢神经系统能量代谢。由于脑细胞活动增加时，对葡萄糖的摄取也相应地增加，用同位素标记的 ^{14}C -2 DG被吸收的量也就增多，这样就可以ARG法显示出处于兴奋活动的机能系统来。为了使标记的功能系统或组织能够清晰地显示出来，需要给予专一的刺激，使这一系统的活动增加，而尽可能使其它系统安静。2 DG方法独到之处是，可将器官、组织或细胞的结构研究和功能活动联系起来。即在1977的当年，Hand, P.等人和Hubel, D.等人将此法用于研究大鼠和猕猴的大脑皮层功能柱方面。以后的研究工作逐年增加。2 DG用于中枢神经系统的研究，在某些情况下，被标记的部份专一性不强，易于扩散，因而也有一定局限。

六、切除法（Actomy）

这是神经生理学、神经解剖学以及神经病理学的传统研究方法之一。这种方法常用于两个目的：其一是神经解剖学在阐明某一传导途径，而需要进行变性追踪时，即要选择性地损毁神经系统的某一特定部位或传导束；其次是在实验性研究中，往往以损毁神经系统的某一部位或传导束来阐明这些部位和传导束的功能。因为当神经系统的一群神经元或是一条通路被损毁时，必将招致由这些神经元和通路所司理的正常功能的丧失或是改变。常用切除方法有五种。

（一）机械损毁 早期的机械损毁大多以外科手术刀、剪等完成。由于脑组织相当柔软，因而常用能够产生负压的装置或气泵吸去需要切除的神经部位，此法大多用于神经系统或脑的表面部位（如大脑皮层）。

（二）温度损毁 通常以高频电流灼伤的方法达到目的。将尖端裸露的绝缘电极插入所需要损毁的核团，无关电极安装在动物的颈部皮肤之下，通以适量的高频电流，借以限制温度，从而控制损毁范围。在损毁大脑、小脑或脊髓表层时，可以使用特制的烙铁接-银片，将银片置于脑的表面，并使温度升至 70°C ，即可达到损毁目的，此即是分层温

度烧灼法 (laminar thermocoagulation method)。

(三) 超声波损毁 此方法始于50年代末期, 70年代Fry等人又重新改进, 使方法完善而能定点损毁位于神经系统深部的结构。但由于设备复杂, 难以推广应用。

(四) 化学损毁 一些药物及有毒物质可以用来局部损毁神经系统。有些毒物及药物对于神经组织的损毁是一种广泛的, 非选择性损毁 (nonselective lesions), 而另一些则可以用作选择性损毁 (selective lesions)。

微量的氰化钠、青霉素可以用注射器注入脑内进行局部损毁。也有报道以注射芥子气、氰氢酸作为定位损毁手段。这些化合物不仅损毁了所触及的各种神经元, 同时也损坏了经由被损毁部位的过路纤维和发自其他核团的投射末梢。因而属于非选择性损毁。

很早就有人试图以定向的, 限制性的损毁方法用于中枢神经系统。1945年Richter报道了以慢性给予二硫化碳的方法, 选择性地损坏纹状复合体。1960年, Purpura等以甲氧吡啶 (methoxypyridines) 选择性地损坏海马的锥体细胞。70年代之后, 选择性损坏方法有了很大发展, 特别是在发现6-羟基多巴 (6-hydroxydopa, 6-OH-DOPA) 及6-羟基多巴胺 (6-hydroxydopamine, 6-OH-DA) 之后。这两种化合物同属儿茶酚胺类。6-OH-DA可用于腹腔、皮下、肌肉及静脉注射, 亦可用于脑室及脑组织注射。用它作腹腔、肌肉注射时主要作用于成年动物中枢神经系统内, 含有去甲肾上腺素的一些区域, 效果显明而不过份, 并且对其它区域也无影响。在幼年动物, 非肠道道使用6-OH-DA, 将使端脑的去甲肾上腺素显著减少, 而使脑干的氨基酸含量增高。但是, 对5-羟色胺及其它递质影响很少。6-OH-DOPA可以透过血脑屏障, 可以从非肠道途径或静脉给药, 它也作用在以儿茶酚胺类化合物作为递质的神经元上, 但其作用范围比较广泛。当然, 上述两种化合物主要用于选择性损毁去甲肾上腺能神经元的研究工作。

从1969年到1974年, Olney等人相继报道谷氨酸盐可使初生小鼠视网膜变性, 谷氨酸钠可以损毁小鼠的海马, 随后又发现一种从红藻 (*Digenea simplex*) 提炼的海人酸 (Kainic acid), 与谷氨酸盐类似, 但具有更强的效能。海人酸注入成年动物的纹状体、大脑皮层、小脑以及脑室内都具有特异性损毁神经细胞的功能, 而不损伤附近的过路纤维。但是, 有报道说明, 并非所有大脑神经元对海人酸的毒性同样敏感, 例如丘脑背部及下丘脑中部的一些神经元就有一定的抗性。但是, 在剂量较大的情况下, 这些神经元也会被损毁。到目前, 海人酸的毒性作用机制仍不十分清楚, 但是在实验研究中, 它被认为是理想的, 选择性损毁中枢核团的药物。

(五) 电离损毁 以直流电通过尖端裸露的绝缘金属电极, 借以损毁中枢神经系统一定部位的方法, 很早即被使用。这种电离损毁 (electrolytic lesions) 是由于直流电所引起的离子流, 导致细胞代谢发生不可逆的变化, 而使细胞死亡。损坏部位的大小和单位时间内的通电量成正比。此外, 与制造电极的金属及电流的性质 (阳极电流或阴极电流) 亦有关系。一般地说, 阳极电流用于损毁的效果较好, 损毁的范围及形状都比阴极电流易于控制。使用不同金属的电极亦会影响损毁脑区的面积, 因为当通过阳极电流时, 有部份金属被溶解在附近。通以阴极电流时, 电极周围将有气体被释放, 会使电极产生极化, 从而使电流产生变化, 损坏脑区的大小不易控制。当然, 电离损毁也存在伤及过路纤维的问题, 从而引起一些附加的中枢性功能变化。

七、立体定位技术

无论是定位损毁, 向中枢神经系统深部的某一神经核团注射药物或是将电极插入某一