

# 神经解剖学 传导通路追踪法

杜卓民等 编译



科学出版社





# 神经解剖学传导通路追踪法

杜卓民等编译

科学出版社

1987

## 内 容 简 介

本书较全面地介绍了追踪神经通路的各种技术和方法,包括传统的基本方法和新近的技术应用。内容有实验室的安排与管理,各种有关仪器设备的使用,正常神经组织的染色,溃变纤维银染法,中枢神经系统损伤与定位,结合电生理的细胞内、外注射,放射自显影法,辣根过氧化物酶的标记与双标记,电子显微镜镜检在神经组织各方面的应用,荧光组织化学法,免疫细胞化学法以及2-脱氧葡萄糖法等。书中对各种方法的选择、理论基础、易于出现的问题和各种方法的优、缺点都给以较详细的讨论与探讨。

适合神经解剖学、组织学、生物学、生理学、病理学、药理学和针麻研究等方面的教师和研究工作者参考使用。

## 神经解剖学传导通路追踪法

杜卓民等 编 译

责任编辑 施兰卿

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

\*

1987年7月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

1987年7月第一次印刷 印张: 21 3/4插页: 5

印数: 0001—3,300 字数: 508,000

统一书号: 14031·111

本社书号: 4989·14

定价: 6.10元

## 前 言

神经通路的追踪是研究中枢神经系统必不可少的手段之一。尽管多年来传统的Nissl染色、髓鞘染色、神经系统受损后发生溃变的检查及结合电生理的实验等方法,已给这方面的研究工作奠定了可靠的基础,但近些年来许多新技术方法的发展和应用,已使中枢神经系统研究的深入和进展,到了令人目不暇接的程度。怎样选择和应用这些技术方法和如何处理工作中发生的问题,对广大神经解剖学工作者来说,也是一个值得考虑的课题。

本书是以Heimer, L.和Robards, M. J. 合编的《Neuroanatomical Tract-Tracing Methods》为蓝本,结合编译者各自的工作及国内外近年来发表的有关资料编译的。我们认为,这样在内容上,既引进国外新近的技术与理论,也介绍了国内一些较成熟的工作经验和成果;有些内容是我国学者们新创的成就。

本书共十五章。读者可以看到,各章并不是罗列每种技术方法的程序,而是对其应用范围与选择、可能出现的问题及各种方法的理论基础都有所分析和讨论。有的并提出了它们的优缺点和几种方法的比较与评价。

在内容上,首先对常易被忽略的实验室安排和在实验室工作时应注意的事项,提出了有实用意义的建议。其次,如对中枢系统的损伤与定位、细胞注射与微电极使用,以及目前流行的实验动物脑定位图谱作了介绍;将用于溃变成分的几种可靠的银染法和它们性能加以比较,并对镜检时怎样判断发生的错误也作了细致的分析。在论述放射自显影法的第五章中,我们特别介绍了国产核-4乳胶的优点。对辣根过氧化物酶的应用,国内也已较普遍,本书用三章篇幅,以一定的深度和广度作了介绍和讨论。关于Golgi镀银法,本是最普及的古典神经组织学技术之一,而借电镜镜检的工作,却令人耳目一新。电镜镜检在本书占了三章之多,它们除按常规处理外,还提供了在多方面应用的经验。最后,本书也较详细地介绍了神经递质与免疫组织化学法,它们具有高灵敏度和特异性,是了解神经元分布与性质定位研究工作的较新技术。而方兴未艾的过氧化物酶-抗过氧化物酶法,可能很有发展前途。为此,本书还相应介绍了灵敏度极高且不太复杂的免疫金银染色法,希望能引起国内学者们的兴趣。本书最末一章介绍了2-脱氧葡萄糖法,此法在国内开展尚不甚多,但已有些报道,结合我国的特色用于针灸穴位与中枢神经系统联系的研究,应是很有意义的工作。

为了读者查阅方便,本书除在书首列出各章的主题目次外,还在书末编出汉英对照索引。

本书所用的名词采自《中国人体解剖学名词》(中国解剖学会编),《英汉组织学胚胎学词汇》(科学出版社,1984),《英汉生物化学词汇》(科学出版社,1984),《英汉化学化工词汇》(科学出版社,1979),《英汉科技常用词汇》(国防工业出版社,1973),《英汉医学词汇》(人民卫生出版社,1978)及其它习惯用语。所用的计量单位系参照《文化部出版局、国家计量局贯彻〈中华人民共和国法定计量单位〉的联

合通知》（1984年6月1日）和《全国科技出版系统法定计量单位宣贯会议纪要》精神办理。

本书现在能贡献在读者面前，首先归功于科学出版社编辑同志的大力支持和热情鼓励。我们特别感谢许天禄教授的亲切指导和帮助以及参与编译者的各兄弟院、校的支持，尤其是中国人民解放军第三军医大学学校领导所给予的便利和关怀。也对本书稿的文字整理、缮写和校对付出辛勤劳动的周泰然副研究员表示谢意。

限于我们的业务水平，书内一定存在着不足之处和缺点甚至错误，而本书所介绍的各种方法，应该说是各有其优、缺点的。从实践的各个角度，读者还会发现尚可补充与修正之处，我们衷心欢迎给以批评、指正。

杜 卓 民

1985年7月

# 目 录

|                                |           |
|--------------------------------|-----------|
| <b>第一章 实验神经解剖学——一般方法与实验室程序</b> | <b>1</b>  |
| 一、引 言                          | 1         |
| 二、传导束追踪法                       | 1         |
| (一) 方法的类型                      | 1         |
| (二) 方法的选定                      | 3         |
| 三、实际问题                         | 4         |
| (一) 实验动物                       | 4         |
| (二) 组织处理                       | 9         |
| 四、分析                           | 12        |
| (一) 材料的总量                      | 12        |
| (二) 分析的方法                      | 12        |
| (三) 正常材料                       | 12        |
| (四) 制图与重建                      | 13        |
| 五、神经解剖学实验室                     | 14        |
| (一) 动物室与外科手术                   | 14        |
| (二) 光学设备                       | 14        |
| (三) 实验室的预防措施                   | 15        |
| 六、附录                           | 15        |
| (一) 制备冷冻切片的组织包埋                | 15        |
| (二) 用滑动切片机作冷冻切片                | 16        |
| (三) 染色法                        | 17        |
| <b>第二章 选择性破坏中枢神经系统特定部位的方法</b>  | <b>24</b> |
| 一、引言                           | 24        |
| 二、立体定向技术                       | 24        |
| (一) 理论基础                       | 24        |
| (二) 立体定向图的绘制                   | 25        |
| (三) 坐标的确定                      | 26        |
| 三、非选择性损伤技术                     | 26        |
| (一) 机械损伤                       | 26        |
| (二) 注射非选择性毒素                   | 27        |
| (三) 大脑血管系的改变                   | 27        |
| (四) 放射性物质                      | 27        |
| (五) 超声波                        | 28        |
| (六) 温度损伤                       | 28        |
| (七) 电解损伤                       | 28        |
| 四、对电解损伤的评价                     | 29        |

|                                        |           |
|----------------------------------------|-----------|
| 五、选择性损伤技术                              | 32        |
| (一) 海人酸及谷氨酸衍生物                         | 32        |
| (二) 神经毒素儿茶酚胺和吲哚胺衍生物                    | 35        |
| 六、附录: 立体定向图谱介绍                         | 39        |
| (一) 大鼠脑图谱见第297页                        |           |
| (二) 猫脑图谱见第297页                         |           |
| (三) 灵长类脑图谱见第297页                       |           |
| (四) 狗脑图谱见第298页                         |           |
| <b>第三章 输送示踪物的方法</b>                    | <b>40</b> |
| 一、引言                                   | 40        |
| 二、加压注射法                                | 40        |
| (一) 微量注射器注射法                           | 41        |
| (二) 微管注射                               | 41        |
| 三、离子透入注射法(或微电泳)                        | 43        |
| (一) 一般注意事项                             | 43        |
| (二) 细胞外注射                              | 44        |
| (三) 细胞内注射                              | 45        |
| 四、附录                                   | 48        |
| (一) 微电极技术的一般介绍                         | 48        |
| (二) 微电极的制作与应用                          | 49        |
| (三) 慢性微电极技术及其应用                        | 51        |
| <b>第四章 溃变轴浆的银浸染法</b>                   | <b>55</b> |
| 一、引言                                   | 55        |
| 二、理论性探讨                                | 57        |
| (一) 银浸染法的应用                            | 57        |
| (二) 银浸染法的选择                            | 58        |
| 三、实际应用的一些问题                            | 58        |
| (一) 术后存活期                              | 58        |
| (二) 固定与切片                              | 59        |
| 四、当前几种银浸染法的一般特性                        | 60        |
| (一) Glees法                             | 60        |
| (二) Nauta-Laidlaw法                     | 61        |
| (三) Fink-Heimer法                       | 63        |
| (四) 铜-银法                               | 65        |
| (五) Nauta-Laidlaw, Fink-Heimer及铜-银法的比较 | 69        |
| (六) 其它银浸染法                             | 70        |
| 五、关于溃变纤维与终末溃变的说明                       | 71        |
| (一) 轴索溃变                               | 71        |
| (二) 终末溃变                               | 73        |
| 六、其它溃变神经元现象                            | 73        |
| (一) 细胞体与树突的溃变相                         | 73        |
| (二) 间接的 Waller 溃变                      | 75        |

|                           |     |
|---------------------------|-----|
| (三) 丘脑内的逆行性尘粒             | 75  |
| 七、镜检时判断错误的原因              | 75  |
| (一) 神经元的银沉积               | 76  |
| (二) 自发性、偶然性及感染性溃变         | 78  |
| (三) Cammermeyer 暗 神经元     | 78  |
| (四) 神经胶质成分与结缔组织           | 78  |
| (五) 嗅球内的人工产物              | 79  |
| 八、优点与缺点                   | 79  |
| (一) 优点                    | 79  |
| (二) 缺点                    | 80  |
| 九、附录                      | 80  |
| (一) Nauta-Laidlaw 法       | 80  |
| (二) Fink-Heimer 法         | 81  |
| (三) Ebbesson-Robinson 法   | 83  |
| (四) 铜-银法                  | 83  |
| 第五章 中枢神经系统内轴索联系的放射自显影示踪术  | 86  |
| 一、引言                      | 86  |
| 二、方法的原理                   | 86  |
| 三、方法学                     | 87  |
| (一) 放射性示踪物的选择             | 87  |
| (二) 示踪物的脑内注射              | 91  |
| (三) 动物的存活期                | 92  |
| (四) 灌注和固定                 | 94  |
| (五) 切片及装片                 | 94  |
| (六) 切片涂布乳胶                | 96  |
| (七) 乳胶的曝光                 | 97  |
| (八) 乳胶的显影和定影              | 98  |
| (九) 组织染色                  | 98  |
| 四、资料分析                    | 99  |
| (一) 标记通路的确定               | 99  |
| (二) 常见的人工产物               | 100 |
| 五、电镜放射自显影技术               | 102 |
| 六、优点和缺点                   | 104 |
| (一) 优点                    | 104 |
| (二) 缺点                    | 105 |
| 七、附录                      | 105 |
| (一) 猫脑的石蜡包埋程序             | 105 |
| (二) 暗室                    | 105 |
| (三) 石蜡切片的焦油紫染色            | 105 |
| (四) D-19b 显影液             | 106 |
| (五) F-5 定影液               | 106 |
| 第六章 辣根过氧化物酶 (HRP) —— 基本方法 | 107 |



|                                  |     |
|----------------------------------|-----|
| 一、引言                             | 107 |
| 二、基本用法                           | 107 |
| 三、HRP的结合与输送                      | 108 |
| (一) HRP的特性                       | 108 |
| (二) HRP的扩散                       | 108 |
| (三) HRP与神经元的结合                   | 111 |
| 四、方法学                            | 113 |
| (一) 麻醉剂的选择                       | 113 |
| (二) 细胞外给药法                       | 113 |
| (三) 存活时间                         | 115 |
| (四) 固定和切片                        | 116 |
| (五) HRP的摄取和输送的增强                 | 117 |
| 五、各种HRP法的一般特点                    | 118 |
| (一) DAB法                         | 118 |
| (二) o-D法                         | 120 |
| (三) BDHC法                        | 123 |
| (四) TMB法                         | 123 |
| 六、结果和解释                          | 124 |
| (一) 注射的部位                        | 124 |
| (二) 细胞体的标记                       | 125 |
| (三) 轴索和终末标记                      | 128 |
| (四) 错误的原因                        | 130 |
| 七、优点和缺点                          | 131 |
| (一) 优点                           | 131 |
| (二) 缺点                           | 131 |
| 八、附录                             | 132 |
| (一) 二氨基联苯胺(DAB)法(LaVail)         | 132 |
| (二) 联苯胺二盐酸(BDHC)法I(J.S.de Olmos) | 133 |
| (三) 联苯胺二盐酸(BDHC)法II(M-M Mesulam) | 135 |
| (四) 四甲基联苯胺(TMB)法I(J.S.de Olmos)  | 137 |
| (五) 四甲基联苯胺(TMB)法II(M-M Mesulam)  | 139 |
| 第七章 辣根过氧化物酶——神经元的细胞内染色           | 143 |
| 一、引言                             | 143 |
| 二、方法                             | 144 |
| (一) 准备步骤                         | 144 |
| (二) 记录与注射                        | 144 |
| (三) 动物灌注                         | 146 |
| (四) 组织学处理                        | 146 |
| (五) 资料分析                         | 147 |
| 三、技术的应用                          | 148 |
| 四、优点和缺点                          | 149 |
| (一) 优点                           | 149 |

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| (二) 缺点                                                | 150 |
| 五、附录                                                  | 150 |
| (一) 试剂配制                                              | 150 |
| (二) 用于逆行Golgi样标记神经元群的另一法                              | 151 |
| 第八章 辣根过氧化物酶和荧光物质与其它方法结合的应用                            | 153 |
| 一、引言                                                  | 153 |
| 二、侧支投射的追踪                                             | 153 |
| (一) HRP逆行双标记的各种结合法                                    | 154 |
| (二) 荧光素的双标记法                                          | 160 |
| (三) HRP的侧支输送                                          | 161 |
| 三、HRP和顺行追踪法                                           | 161 |
| 四、HRP和递质类的组织化学法                                       | 162 |
| 五、HRP和2-脱氧葡萄糖(2-DG)法                                  | 162 |
| 六、附录                                                  | 163 |
| (一) HRP与( $^3\text{H}$ )-BSA逆行双标记法(Oswald Steward)    | 163 |
| (二) HRP与( $^3\text{H}$ )-apo-HRP逆行双标记法(Aldo Rustioni) | 165 |
| (三) 荧光物质逆行双标记法(H.G.J.M. Kuypers)                      | 166 |
| (四) HRP和AChE同时显示法                                     | 168 |
| (五) 2-DG和HRP组织化学法(Oswald Steward)                     | 169 |
| 第九章 Golgi法                                            | 171 |
| 一、引言                                                  | 171 |
| 二、快速Golgi法                                            | 171 |
| (一) 准备步骤                                              | 172 |
| (二) 固定                                                | 172 |
| (三) 银浸染法                                              | 173 |
| (四) 组织切片                                              | 173 |
| (五) 脱水与透明                                             | 174 |
| (六) 装片                                                | 174 |
| (七) 灌注固定                                              | 175 |
| 三、资料分析                                                | 175 |
| (一) 细胞定位                                              | 175 |
| (二) 细胞突                                               | 176 |
| 四、资料表示法                                               | 178 |
| (一) Golgi法材料的绘图                                       | 178 |
| (二) 照像                                                | 179 |
| 五、Golgi法的几种改良法                                        | 179 |
| (一) 双重及三重浸染法                                          | 179 |
| (二) Golgi-Kopsch法                                     | 180 |
| (三) Golgi-Cox法                                        | 180 |
| (四) 适于胚胎性组织的Golgi法                                    | 180 |
| 六、优点与缺点                                               | 180 |
| (一) 优点                                                | 180 |
| (二) 缺点                                                | 181 |

|                        |     |
|------------------------|-----|
| 一七、附录                  | 181 |
| (一) 灌注的技术方法            | 181 |
| (二) 快速Golgi法组织块的火棉胶包埋法 | 181 |
| (三) 甲醛固定材料的快速Golgi法    | 183 |
| (四) 快速Golgi法切片的稳定与复染   | 183 |
| (五) Golgi-Kopsch改良法    | 183 |
| (六) Golgi-Cox法         | 184 |
| (七) Ramón-Moliner 法    | 185 |
| (八) 胚胎组织Golgi法         | 186 |
| 第十章 神经组织的电子显微镜技术制备     | 187 |
| 一、引言                   | 187 |
| 二、固定与包埋的基本过程           | 187 |
| (一) 麻醉                 | 187 |
| (二) 手术步骤               | 188 |
| (三) 解剖与后固定             | 188 |
| (四) 脱水与包埋              | 189 |
| 三、各种处理法                | 189 |
| (一) 人工呼吸               | 190 |
| (二) $O_2$ - $CO_2$ 通气  | 190 |
| (三) 灌注的压力              | 190 |
| (四) 灌注液的温度             | 190 |
| (五) 血管冲洗液              | 191 |
| (六) 初级固定剂的组成           | 191 |
| (七) 双重灌注               | 191 |
| (八) 缓冲液冲洗与后固定          | 192 |
| (九) 醋酸双氧铀的稳定作用         | 192 |
| (十) 磷酸盐沉淀              | 192 |
| (十一) 用于髓磷脂的处理法         | 193 |
| 四、对光镜镜检结果的评价           | 193 |
| 五、超薄切片与染色              | 194 |
| 六、附录                   | 195 |
| (一) 血管冲洗液              | 195 |
| (二) 0.4mol/L磷酸盐缓冲储备液   | 195 |
| (三) 第一灌注固定剂            | 195 |
| (四) 第二灌注固定剂            | 196 |
| (五) 磷酸盐缓冲淋洗液           | 196 |
| (六) 加倍钨处理缓冲液           | 197 |
| (七) 4% $OsO_4$ 储备液     | 197 |
| (八) $OsO_4$ 后固定剂       | 197 |
| (九) 亚铁氰化钨后固定剂          | 197 |
| (十) 醋酸缓冲洗液             | 197 |
| (十一) 醋酸双氧铀组织块处理液       | 197 |

|                                             |     |
|---------------------------------------------|-----|
| (十二) 环氧树脂包埋混合剂·····                         | 198 |
| (十三) 半薄切片的装片与染色·····                        | 198 |
| (十四) 超薄切片染色·····                            | 199 |
| <b>第十一章 电镜镜检——正常与病变神经成分电镜镜检的鉴定和研究</b> ····· | 200 |
| 一、引言·····                                   | 200 |
| 二、光镜与电镜镜检之间的联系关系·····                       | 200 |
| 三、电镜镜检的实用指标·····                            | 201 |
| (一) 切片的选择·····                              | 201 |
| (二) 局部解剖·····                               | 202 |
| (三) 低倍率放大的检查 (1,000—4,000×) ·····           | 203 |
| (四) 中倍率放大的检查 (5,000—12,000×) ·····          | 204 |
| (五) 高倍率放大的检查 (15,000—25,000×) ·····         | 205 |
| 四、神经成分的鉴定·····                              | 205 |
| (一) 轴突·····                                 | 205 |
| (二) 树突·····                                 | 205 |
| (三) 轴突样树突·····                              | 205 |
| 五、病变神经纤维的超微结构·····                          | 207 |
| (一) 病变的形式·····                              | 207 |
| (二) 小结·····                                 | 212 |
| 六、形态测定法·····                                | 213 |
| (一) 计量法·····                                | 213 |
| (二) 取样·····                                 | 213 |
| <b>第十二章 Golgi法标本电镜镜检的传导通路追踪法</b> ·····      | 215 |
| 一、引言·····                                   | 215 |
| (一) 目的和可能性·····                             | 215 |
| (二) 技术探讨·····                               | 216 |
| 二、技术方法的一般描述·····                            | 218 |
| (一) 固定·····                                 | 218 |
| (二) 锇酸及铬盐处理·····                            | 219 |
| (三) 银浸染法·····                               | 221 |
| (四) 初级厚切片·····                              | 221 |
| (五) 减浸染法·····                               | 221 |
| (六) 初级切片的包埋与再装片·····                        | 223 |
| (七) 组织包埋于树脂的厚切片·····                        | 223 |
| (八) 超薄切片法·····                              | 223 |
| 三、优点和缺点·····                                | 224 |
| (一) 优点·····                                 | 225 |
| (二) 缺点·····                                 | 225 |
| 四、结论性短评和问题探讨·····                           | 225 |
| 五、附录·····                                   | 226 |
| (一) 锇与铬处理·····                              | 226 |
| (二) 甘油浸组织块·····                             | 227 |



|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| (三) 浸染组织的厚切片法                                         | 227 |
| (四) 金调色                                               | 228 |
| (五) 不用金的光化学 (UV) 法                                    | 229 |
| (六) 用金的光化学法                                           | 230 |
| (七) “间断” Golgi 浸银法                                    | 231 |
| (八) 初级切片的平铺包埋                                         | 231 |
| (九) 切树脂厚切片                                            | 232 |
| (十) 切片重装法                                             | 233 |
| (十一) 超薄切片法的监控                                         | 233 |
| (十二) 铬酸银浸染的保持措施                                       | 234 |
| 第十三章 荧光组织化学法——神经递质组织化学                                | 235 |
| 一、引言                                                  | 235 |
| 二、荧光组织化学法的化学基础                                        | 237 |
| (一) 介绍                                                | 237 |
| (二) Falck-Hillarp 法 (甲醛缩合法)                           | 237 |
| (三) 乙醛酸 (GA) 法                                        | 238 |
| 三、设备                                                  | 240 |
| 四、用甲醛或 GA 缩合法                                         | 240 |
| (一) 介绍                                                | 240 |
| (二) Falck-Hillarp 法                                   | 240 |
| (三) 乙醛酸 (GA) 法                                        | 248 |
| 五、荧光组织化学法的选择                                          | 253 |
| 六、荧光组织化学法的优缺点                                         | 254 |
| (一) 优点                                                | 254 |
| (二) 缺点                                                | 254 |
| (三) 结束语                                               | 254 |
| 七、附录                                                  | 257 |
| (一) 荧光显微镜镜检与荧光显微镜                                     | 257 |
| (二) 冷冻干燥器                                             | 258 |
| (三) 振动切片机                                             | 258 |
| (四) 恒冷切片箱                                             | 259 |
| (五) 铝-甲醛恒冷切片箱切片法显示生物单胺递质 (Lorén <i>et al.</i> , 1980) | 259 |
| 第十四章 免疫细胞化学法                                          | 261 |
| 一、引言                                                  | 261 |
| (一) 免疫学基础                                             | 261 |
| (二) 理论基础                                              | 261 |
| 二、免疫细胞化学技术的类型                                         | 261 |
| (一) 直接法                                               | 262 |
| (二) 间接法                                               | 263 |
| (三) 小结                                                | 264 |
| 三、过氧化物酶-抗过氧化物酶 (PAP) 技术                               | 265 |
| (一) 固定                                                | 265 |
| (二) 切片                                                | 265 |

|                                   |     |
|-----------------------------------|-----|
| (三) 免疫标记                          | 265 |
| (四) 光镜镜检                          | 266 |
| (五) 电镜镜检                          | 266 |
| 四、PAP技术改良法                        | 267 |
| (一) 固定                            | 267 |
| (二) 切片                            | 267 |
| (三) 试剂                            | 268 |
| 五、PAP技术的特异性                       | 268 |
| 六、PAP技术在显示儿茶酚胺能神经元中的应用            | 269 |
| (一) 光镜下的传导束                       | 270 |
| (二) 酪氨酸羟化酶的超微结构定位                 | 271 |
| 七、PAP技术在神经肽类定位中的应用                | 272 |
| (一) 光镜镜检                          | 273 |
| (二) 在轴索终末中肽的超微结构定位                | 274 |
| (三) 肽能轴索与儿茶酚胺能神经元之间的突触相互作用        | 275 |
| 八、PAP技术的优、缺点                      | 276 |
| (一) 优点                            | 276 |
| (二) 缺点                            | 276 |
| 九、结论                              | 277 |
| 十、附录                              | 277 |
| 免疫金-银染色法 (IGSS)                   | 277 |
| 第十五章 2-脱氧葡萄糖 (2-DG) 法             | 279 |
| 一、引言                              | 279 |
| 二、基本原理                            | 280 |
| 三、一般应用                            | 285 |
| 四、( $^{14}\text{C}$ )-2DG 方法学     | 286 |
| (一) 脱氧葡萄糖的注射与测定葡萄糖代谢率的方法          | 286 |
| (二) 固定与切片                         | 287 |
| (三) 放射自显影照片的制备                    | 289 |
| 五、( $^3\text{H}$ )-2DG 方法学        | 291 |
| 六、数据资料分析                          | 291 |
| (一) 定性分析                          | 291 |
| (二) 定量分析                          | 292 |
| 七、优点与缺点                           | 293 |
| (一) 优点                            | 293 |
| (二) 缺点                            | 294 |
| 八、附录                              | 294 |
| (一) 固定剂                           | 294 |
| (二) 2-DG切片硫堇染色                    | 294 |
| (三) ( $^{14}\text{C}$ )-2-DG切片染色法 | 295 |
| 参考文献                              | 296 |



# 第一章 实验神经解剖学—— 一般方法与实验室程序

## 一、引言

现已有大量神经传导束追踪技术用于神经系统组成的研究，但对还不够熟练的神经科学工作者来说，却很可能感到难于掌握。本书的意图是想帮助读者获得必要的技巧，并对所采用的方法作出正确判断和对所得的结果给以明晰的解释。但首先对一些较根本的课题应认真对待；例如，怎样在众多的方法中选定对某问题最合理的方法。因此，本书所介绍的技术方法在于使读者了解什么时候和怎样应用才是最好的。此外，本章还将阐述一般神经解剖学方法的实践，如实验动物的选择与处理、手术方法、组织切片的制备与结果的分析等等。

## 二、传导束追踪法

### (一) 方法的类型

研究中枢神经系统解剖最通用的技术可分为四大类（图1-1）。

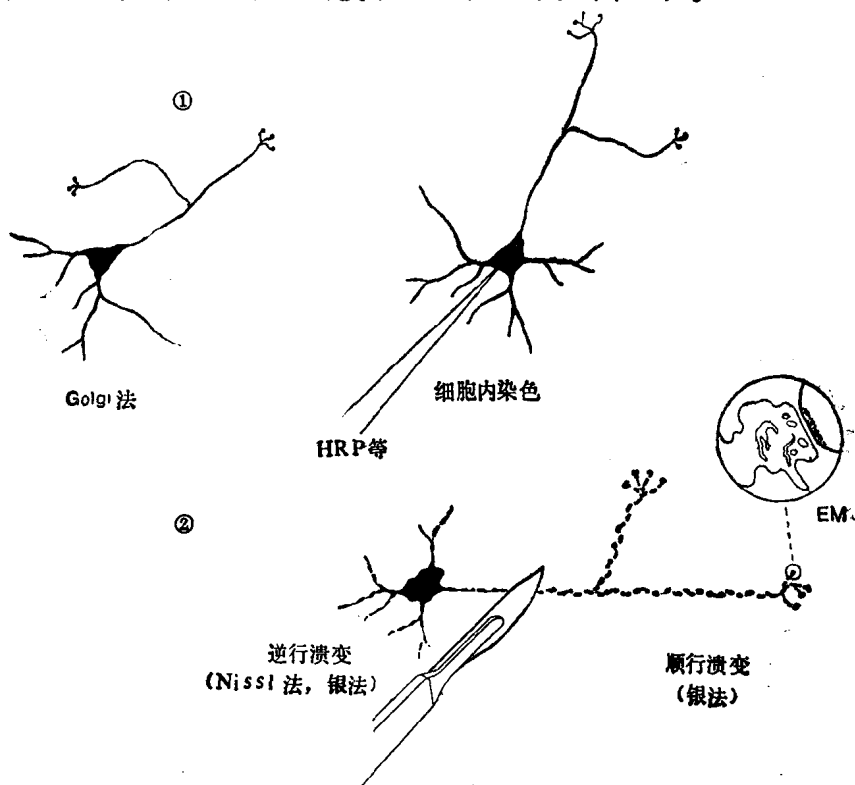


图1-1 各种类型的通路追踪法

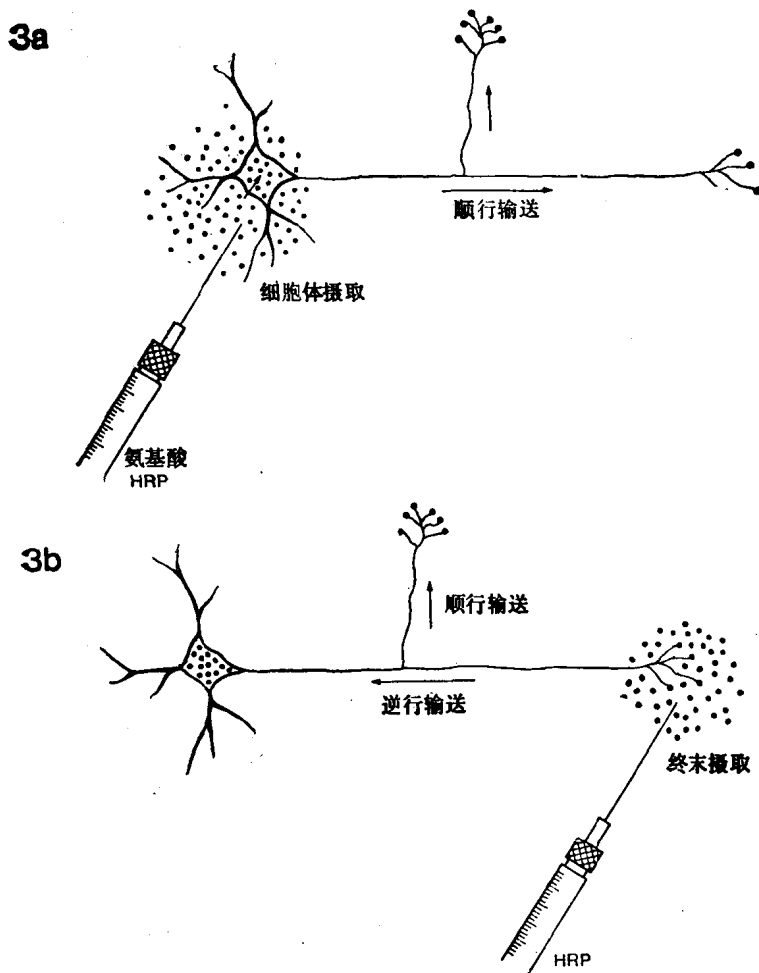


图1-1 (续)

第一大类包括 Golgi法及活体内染料注射法，多供正常神经元的研究。这些方法对研究神经细胞之间的紧隣关系以及树、轴突配布的情况特别有用（见第七、九章）。

第二大类所包括的一些方法，多是在检查神经元各部损伤后的溃变性和反应性变化。因为，即或神经元最远部位受到损伤，也能对损伤作出反应。因此，这类方法所能追踪的有效范围远比第一类为大。而且，无论是在光镜下或电镜下经过一定的染色后，都能观察到溃变及反应过程的形象。

在这一大类中，一些古典法，如Nissl法，可显示神经细胞胞体的嗜色质自溶现象；Marchi法，可用于裂解髓鞘的染色。虽然，Nissl法或Marchi法有时也用于追踪中枢神经系统内的连接关系，但近来多为新近发展的传导束追踪法所替代。在第四章及第十一章将分别介绍溃变轴索及轴索终末的镀银法和各种溃变神经成分的电镜镜检。

第三大类追踪法是给神经元以某种物质，追踪它的输送及其输送后在神经元其它部分的定位。这在第五、六、八章将予以讨论。

第四大类是应用一些组织化学法来显示中枢神经通路。如单胺组织荧光法（第十三章）、近年发展的免疫组织化学技术用来鉴定各种相关的递质（第十四章）、供显示某