

蟾蜍坐骨神经干的动作电位检测与表征

2021年04月05日

摘要

以新制蟾蜍坐骨神经干标本为范式，使用BL-420N生物信号采集仪检测动作电位信号，以此对动作电位的时程、幅度、性质、传导速度等性质进行表征。

关键词

动作电位、蟾蜍坐骨神经干、最小二乘法回归

0.引言

通过以蟾蜍坐骨神经干为标本，学习复合动作电位与单细胞动作电位的区别，并对复合动作电位进行表征，阐明其与单细胞动作电位的区别。

1.材料与amp;方法

1.1.材料

1. 蟾蜍（体长 $\approx 10cm$ ）
2. BL-420N生物信号采集仪与配套分析软件
3. 刺激线（2头）、数据线（3头）
4. 神经屏蔽盒

1.2.方法

- 以刺激电极正极为参照，调节神经屏蔽盒内各电极位置为：刺激电极负极 $x = 0.5cm$ ，地线 $x = 1.0cm$ ，记录负极 $x = 4.0cm$ ，记录正极 $x = 5.0cm$ 。
- 取蟾蜍一侧上腹部发起处至腓总神经肌支段坐骨神经干，置于神经屏蔽盒内，中枢端靠刺激电极，外周端靠记录电极，确保与五个电极均有良好接触。
- 设置采样率为 $200kHz$ ，低通滤波设为 $2kHz$ ，并开启 $50Hz$ 陷波矫正交流电信号干扰，并将信号采集模式设为刺激触发。
- 以 $0.1ms$ 强度递增的方波刺激神经，记录其上电信号直至峰值基本维持稳定。
- 以时值递增、不同强度的方波刺激神经，记录其不同时值刺激下的阈强度。
- 物理方法损毁记录负极与记录正极之间的坐骨神经干标本，在损毁前后以 $0.1ms$, $0.5V$ 的顶强度刺激，收集双相动作电位与单相动作电位信号。
- 使用最小二乘法为优化目标拟合所得结果曲线（幂函数、逻辑斯蒂函数）。

2.结果

2.1.双相动作电位与单相动作电位

本实验共测得6个双相动作电位，6个记为有效；10个单相动作电位，3个记为有效。取其平均值，所得结果如图 1所示。横轴为从刺激给出开始记录的时间，纵轴为记录到的电信号。双相动作电位与单相动作电位的基本性质见表 1。

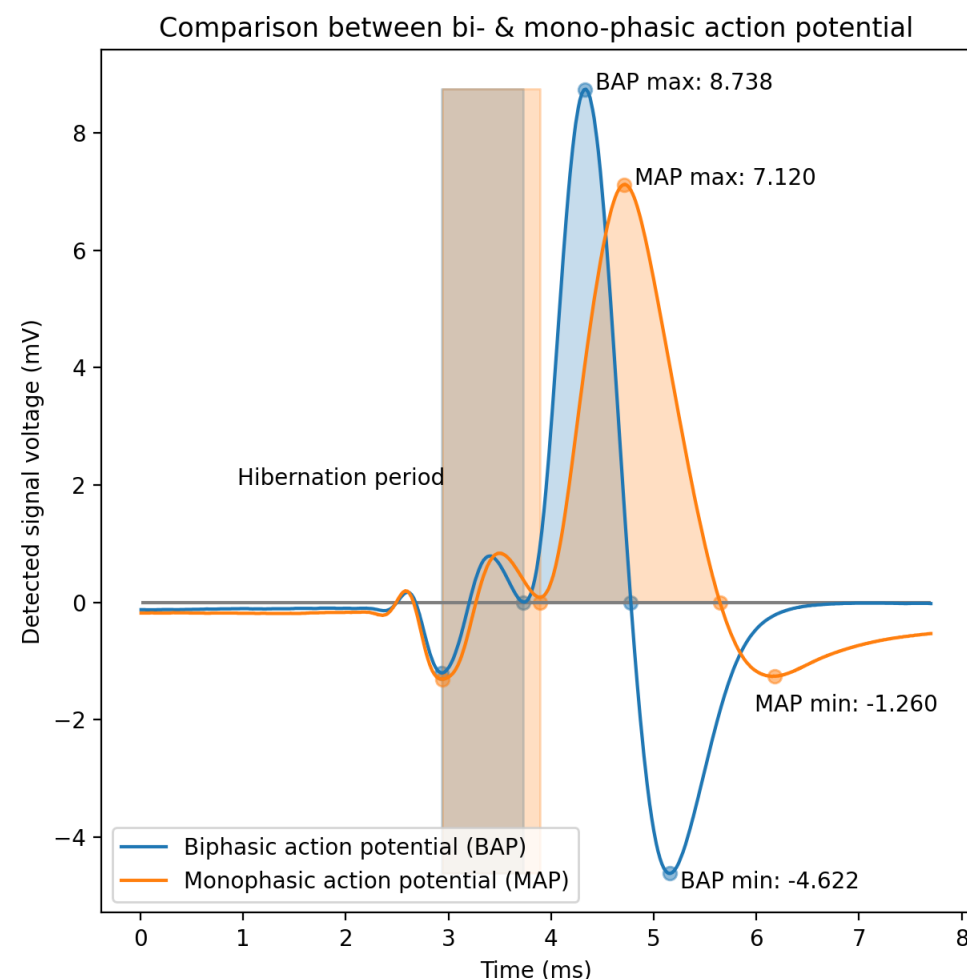


图 1: 双相动作电位（蓝）与单相动作电位（橙）平均信号对比图：以颜色区分，各动作电位图中居左的矩形阴影为潜伏期（以第一波谷至正相电位始记），居右的阴影为各正相电位的积分强度；从左至右各圆点分别表示：潜伏期起始、潜伏期结束/正相起始、正相结束/负相起始、负相结束（仅双相动作电位）

表 1: 双相动作电位与单相动作电位基本性质

性质	双相动作电位	单相动作电位
潜伏期长/ <i>ms</i>	0.795	0.95
正相时长/ <i>ms</i>	1.045	1.755
正相幅度/ <i>mV</i>	8.738	7.120
负相时长/ <i>ms</i>	2.155	>2.055
负相幅度/ <i>mV</i>	-4.622	-1.260
正负相幅度绝对值比/1	1.891	5.651
时程/ <i>ms</i>	3.200	>3.810

由于数据范围的限制，单相动作电位的测量并没有能够达到静息电位，但是仍可以从图 1 中明显看出其负相时长应远大于双相动作电位的负相时长；除此之外，我们可以发现双相动作电位的峰值幅度要明显高于单相动作电位，与实验预期不符；而单相动作电位的潜伏期、正相和负相（据图标推测）都要明显长于双相动作电位。

除信号本身性质，还可以据此计算出双相动作电位在神经纤维上的传播速度，依照公式如下

$$v_{\text{双相动作电位}} = \frac{x_{\text{记录负极}} - x_{\text{刺激负极}}}{t_{\text{潜伏期}}}$$

带入数值

$x_{\text{记录负极}} = 4.0\text{cm}$, $x_{\text{刺激负极}} = 0.5\text{cm}$, $t_{\text{潜伏期}} = 0.795\text{ms}$, 可计算的双相动作电位传播速度为
 $v = 4.40\text{cm} \cdot \text{ms}^{-1} = 44.0\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$

2.2.动作电位幅度与刺激强度的关系

通过测量时值为

0.1ms ,

20mV 至

510mV (等距,

10mV 间隔) 各强度下神经纤维上的峰值强度, 我们可以得到图 2 结果

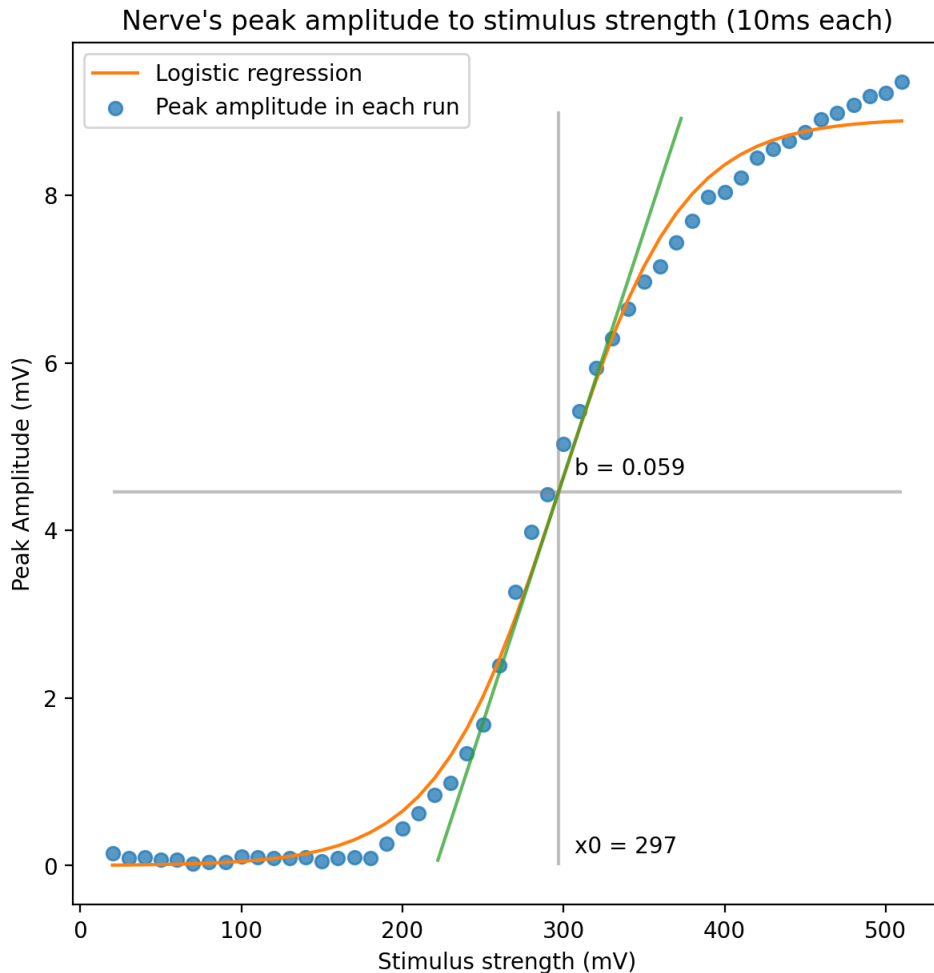


图 2: 神经纤维峰值幅度-刺激强度图: 蓝色散点为测量结果, 橙色曲线为最小二乘法逻辑斯蒂回归结果, 横竖灰线分别指示半强度与半激活电压, 绿线为半数激活电压处切线

由于过于简化的逻辑斯蒂方程无法拟合实验数据得到结果, 因此为方程新增

P_0 用于校准基线。回归所使用模型如下, 其中

K 代表模型预估的峰值强度,

r 为方程斜率因子,

x_0 为横轴校准量:

$$\hat{y} = \frac{K}{1 + \left(\frac{K}{P_0} - 1 \right) e^{-r(x-x_0)}}$$

回归曲线的

R^2 达到了

0.996, 拟合程度较好。我们也可以得到模型拟合结果中斜率因子

$r = 0.0263$; 峰值强度极限约为

8.919mV , 小于实验实际测得结果; 半数激活电压在

297mV 处, 半激活电压处函数斜率为

$b = 0.0586$ 。

2.3.动作电位阈强度与刺激时值的关系

通过测量
0.05ms 至
1.60ms 之间不等距时值下神经纤维的阈强度，我们可以得到图 3结果

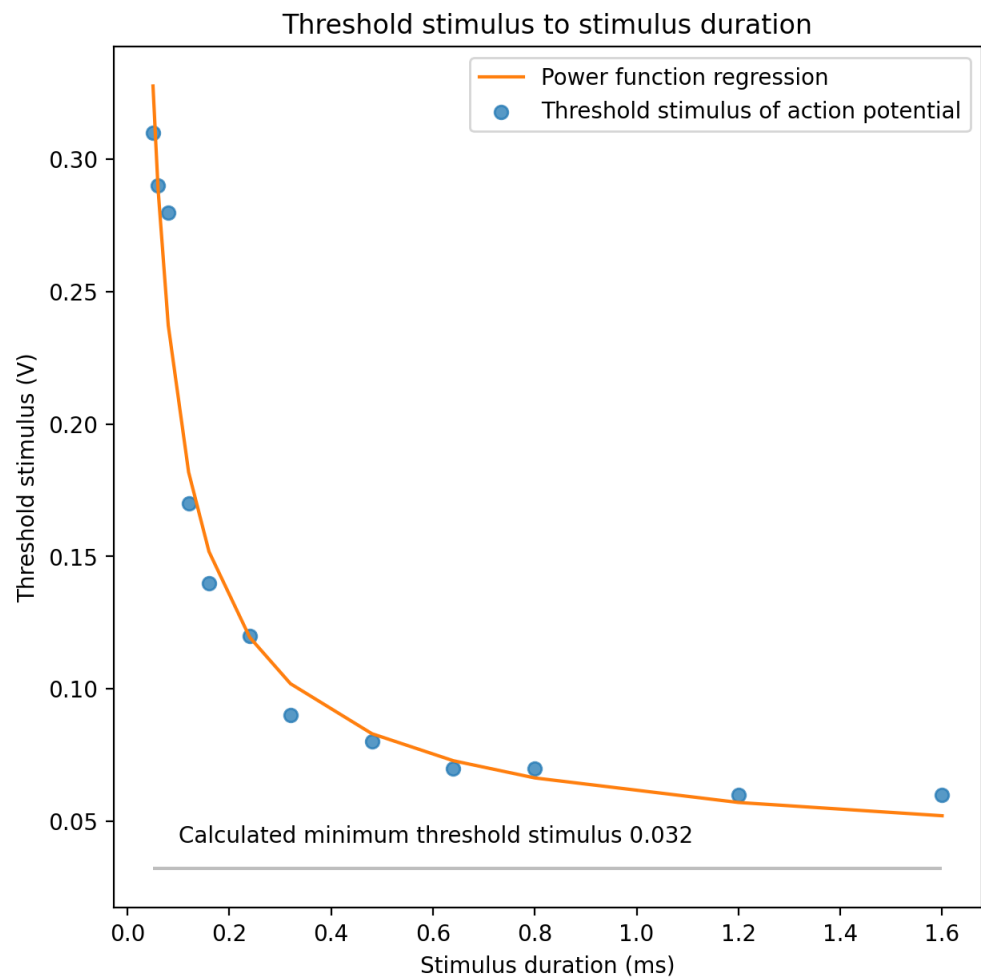


图 3：蓝色散点为阈强度测量结果，橙色曲线为最小二乘法幂函数回归结果，灰线为模型给出的基强度

幂函数拟合所用模型如下，其中
 A 与阈强度大小有关，
 b 为幂律分布的指数，
 C 为模型预估的基强度值：

$$\hat{y} = A \cdot x^b + C$$

回归曲线的
 R^2 达到
0.974，拟合程度偏好。同时我们可以得到模型中预估的基强度为
0.032V，在刺激时值
 $\geq 42.0ms$ 后阈强度与基强度差值不超过基强度的
5%，远大于实验数据所能给出的置信范围。

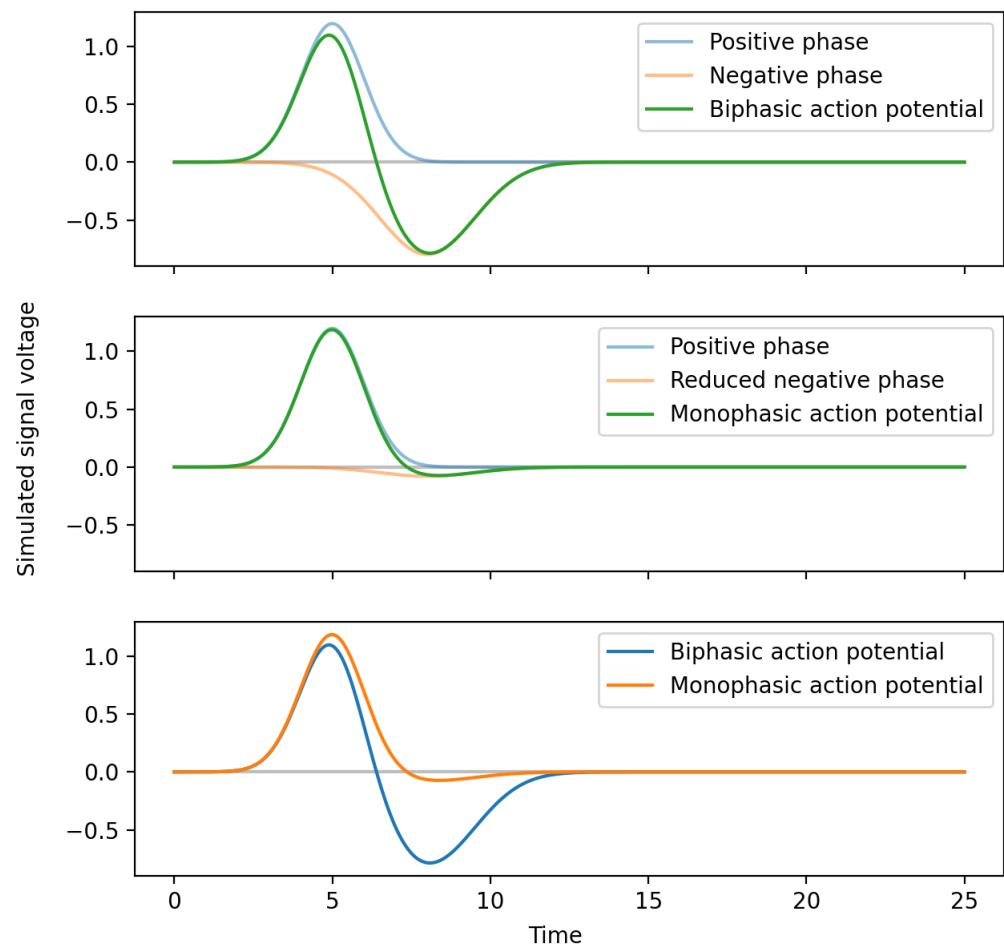
3.讨论

3.1.如何解释双相动作电位与单相动作电位的预期差别

我们可以把单细胞上的动作电位简化为一个时值非常短的方波，而不同的细胞之间在动作电位的传播速度上有略微区别，可近似为一正态分布
 $N(\bar{v}, \sigma)$ ，假设单细胞动作电位在产生-传播过程中没有任何幅值变化，则当复合动作电位走过
 t 时刻后，速度上的差距将映射为传播距离上的差距，因此在神经纤维上一个动作电位可以近似为沿距离的正态分布。而且此距离上的正态分布的方差会随着时间逐渐积累。因此尽管复合动作电位的积分强度没有变，但其宽度会明显增加，峰值强度会降低，体现在图像上也就是正相峰值幅度永远大于负相峰值幅度，见附图 1上图蓝线与橙线。

当记录电极之间距离较近，又都与刺激电极距离较远时，则会产生信号的叠加，两个不同的波形叠加到一起形成了双相动作电位的形状，见附图 1上图绿线。

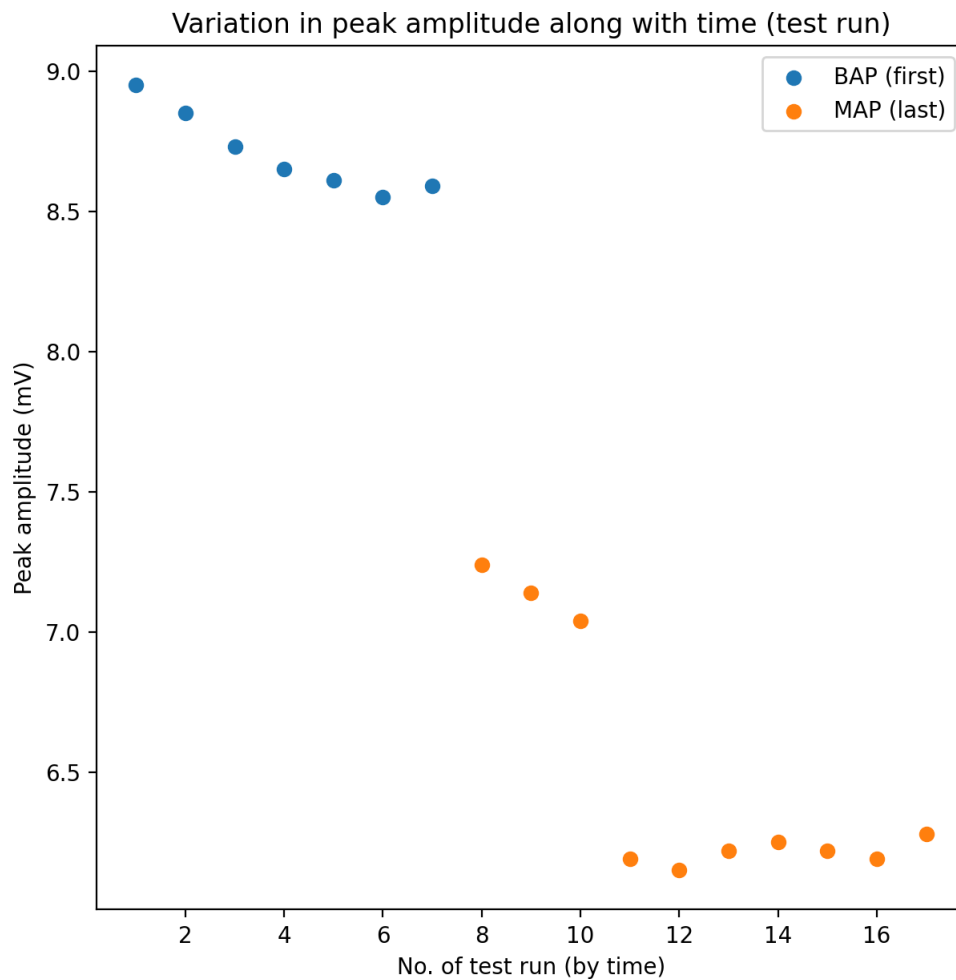
而当损毁记录电极间的神经纤维时，由于损毁的不完全性，我们不妨假设负相电位积分强度变为原先的十分之一，此时模拟得到的结果如附图 1 中图，其中正相电位的峰值强度将变得非常接近极限。我们将两次模拟的结果放到一起对比（见附图 1 下图），则不难发现此模拟结果确实出现了单相动作电位峰值幅度上升、正相时长延长，而对于负相时长的延长，此模型则不能很好地解释，姑且猜测为其一可能是损毁电压所导致，其二可能是动作电位在损毁处速度大幅下降，因此导致正负相分离得更远、重叠部分减少，同时负相的宽度更大。



附图 1: 复合动作电位模拟图：上：双相动作电位产生示意图；中：单相动作电位产生示意图；下：双/单相动作电位对比图

3.2.为何仅保留三个有效的单相动作电位

由在实验中发现，随着时间的推移，先后测量的双相动作电位、单相动作电位峰值幅度持续缓慢下降，见附图 2 散点所示。推测其为单组实验中未及时补充任氏液，因而随着每个动作电位的发生膜内外离子逐渐趋于平衡所导致；而在单相动作电位的测量中，由于中间调整参数花去了部分时间，因此产生了更多的峰值幅度下降，以致其趋于平衡。为尽可能保证实验数据前后的一致性，故舍去剩余数据点，仅保留离测量双向动作电位最接近的数据。



附图 2: 峰值强度随时间变化图

3.3.逻辑斯蒂回归/幂函数回归中，模型估计的峰值强度极限低于实验观测/基强度极限不合理的低

此二问题可以归因至同一个原因，即我们实验测量的数据点在模型拟合的过程中杠杆值不足，换言之实验测定的数据点过于接近，在拟合过程中会更倾向于照顾模型腹部的数据点，对于两侧的拟合情况不会给予过多考虑。我们可以通过简单的模拟实验来验证这一观点：以模型与实际出入较大的幂函数回归为例，保持真实测量的数据点不变，我们假设在

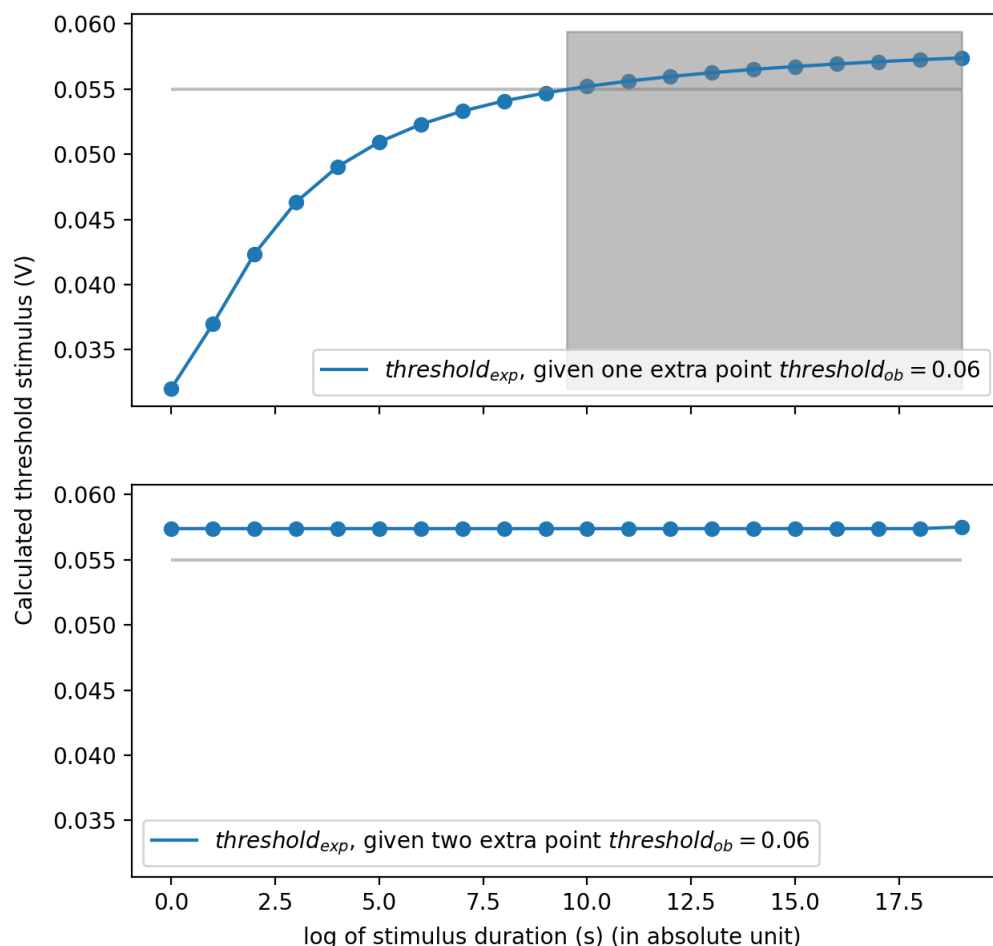
t_1 处测量的数据也是真实测量数据中的最小值，那么可以得到如附图 3 上图的曲线，其中横轴为时值的对数值。我们不难发现在约 $t_0 = 2^{9.5}ms \approx 1s$ 处模型拟合得出的

$C > 0.055V$ ，接近基于实验真实测量值的预估；而如果我们类似的假设在

$t_2 = 2t_1$ 处也有同样数值的数据点，则可以得到如附图 3 下图的曲线，即一旦新增此二点，模型拟合给出的基强度将会非常接近真实测量值的最小值。换言之，要想确认真实测量值的最小值是否接近于基强度，我们只需要在

$2.0ms$ 和

$4.0ms$ 处额外测得两个数据点，如果阈强度均保持不变，则可认为其为基强度值。



附图 3: 幂函数模型估计的基强度随给定数据点对数距离的变化: 上: 假设新增一个数据点后的模型估计基强度; 下: 假设新增两个数据点后的模型估计基强度

3.4. 计算得到的动作电位传播速度显著大于参考值

参考蛙属坐骨神经动作电位传播速度^[1]

$7 - 30 m \cdot s^{-1}$, 我们可以发现计算得到的动作电位传播速度要明显大于其范围。除去物种间差异的因素, 推断可能是在计算潜伏期时, 由于类似于(前文)[#31如何解释双相动作电位与单相动作电位的预期差别]所提及的波形叠加情况, 刺激伪迹与正相电位产生部分重叠(可以从图上的转折处和刺激伪迹的波形可以明显看出此趋势), 因而实验中选择波谷并不是潜伏期真正的终点, 要早于实际的潜伏期终点, 因此用于计算的潜伏期长度偏小, 故得到的传播速度结果偏大。

参考资料

[1] WIKIPEDIA. Action Potential[Z/OL](2021-04). https://en.wikipedia.org/wiki/Action_potential.