



为什么神经干双相动作电位不对称?

Why Neural Stem Biphasic Action Potential Asymmetry?

陆源



目的

- ◆ 探讨坐骨神经干双相动作电位（**biphasic action potential, BAP**）正相振幅大于负相振幅、正相时程小于负相时程的形成机制
- ◆ 学习提出问题、用实验设计解决问题的方法
- ◆ 知道神经干动作电位引导的方法和原理



神经干双相动作电位波形特征的形成机制

实验方案



1 材料

1.1 实验动物 (laboratory animal) 中华蟾蜍指名亚种
(Zhuoshan Toad), 10只, 雌雄不拘、体重 $\bar{x} \pm sg$



雄蟾



雌蟾



1 材料

1.2 药品 任氏液, 4% 普鲁卡因, 3 mol/L 氯化钾

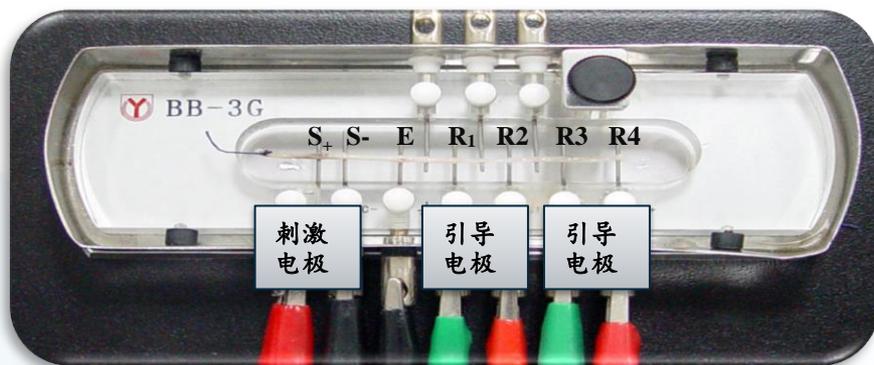


1 材料

1.3 器材 RM6240 多道生理信号采集处理系统（成都仪器厂），BB-3G神经标本盒（成都仪器厂）



RM6240C多道生理信号采集处理系统



神经干标本盒



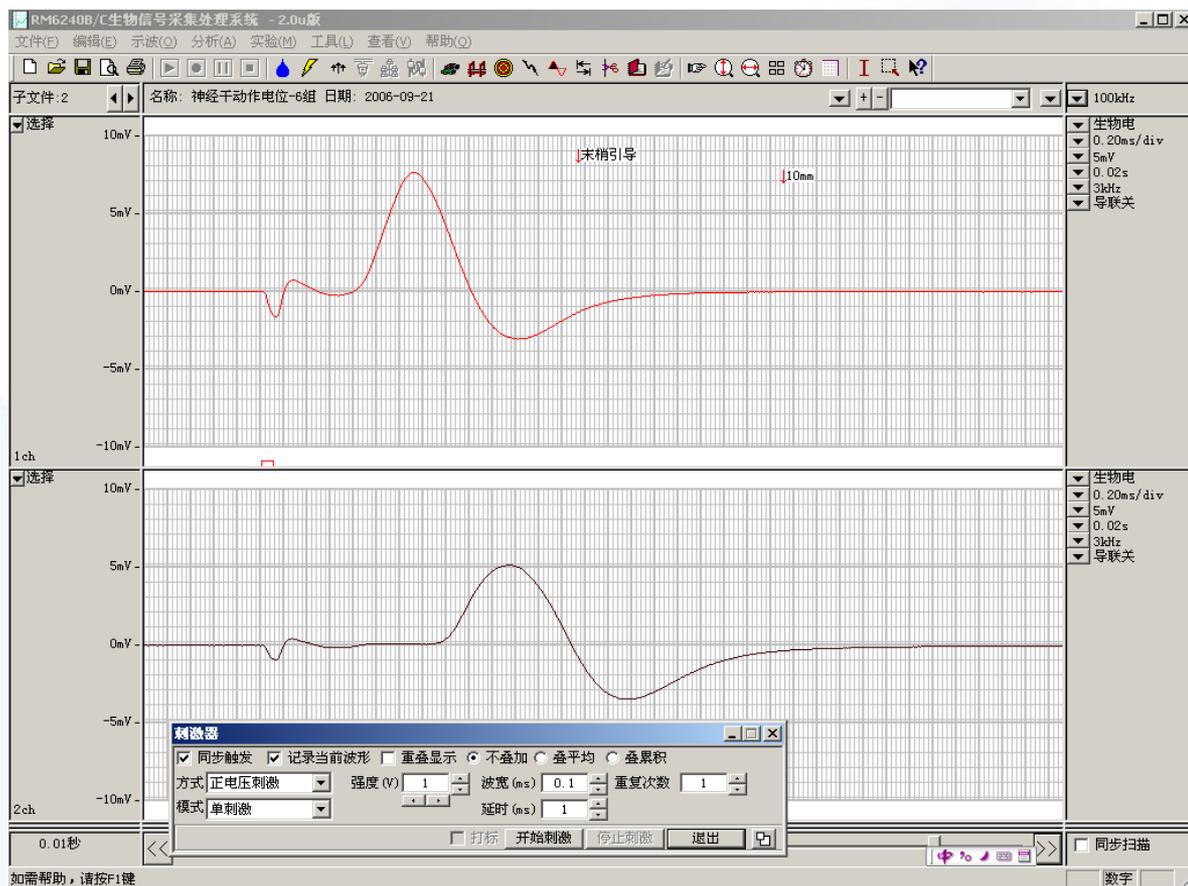
2 方法

2.1 仪器连接 标本盒两对引导电极分别接RM6240多道生理信号采集处理系统1、2通道，刺激电极接刺激器输出



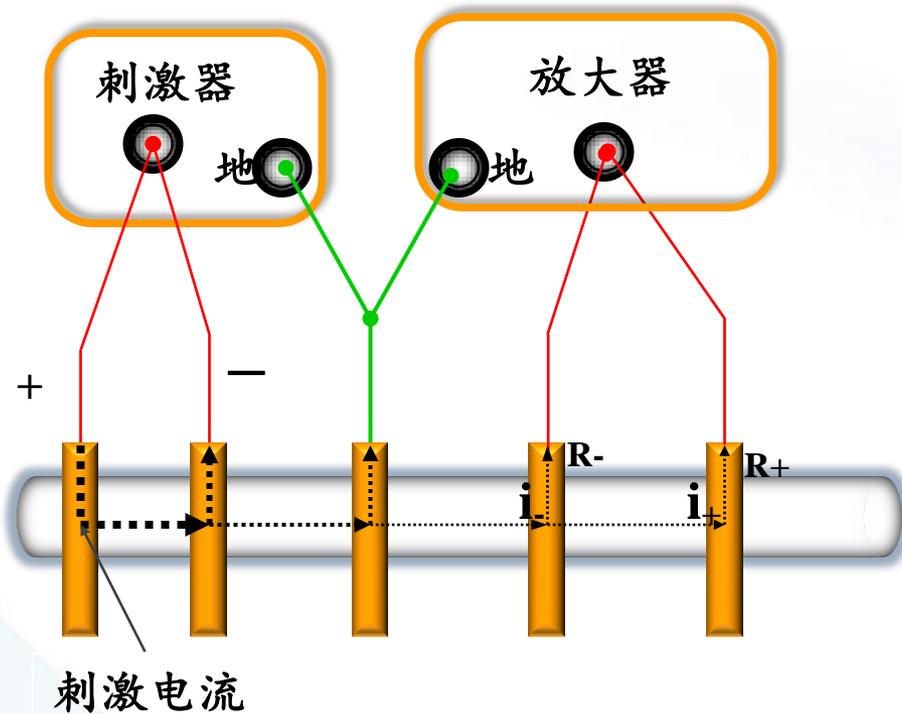
2 方法

2.2 仪器参数 第1通道和2通道时间常数0.02s、滤波频率3 KHz、灵敏度5 mV，扫描速度0.2ms/div；采样频率100 KHz；单刺激方式，强度1.0 V，波宽0.1 ms，延迟1 ms，同步触发

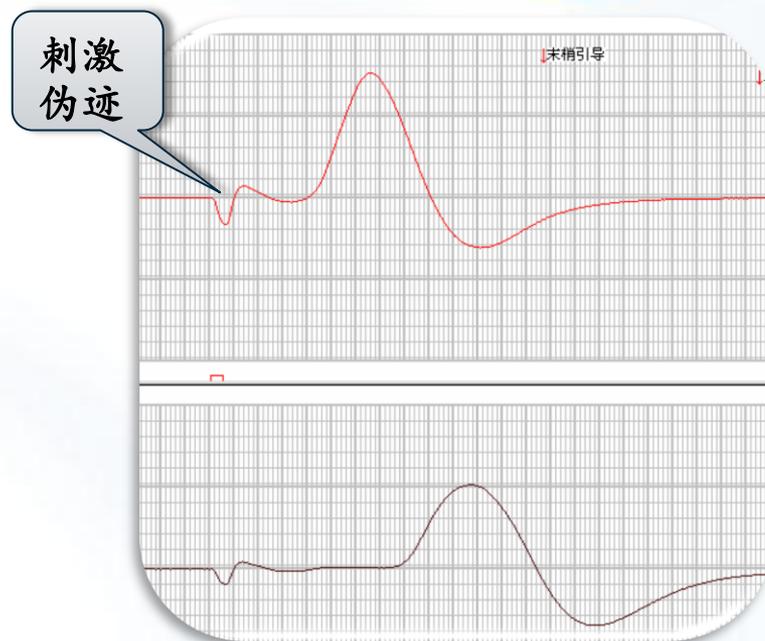


2 方法

▶ 刺激伪迹 (Stimulus artifact)



刺激伪迹是刺激电流通过导电介质扩散至两引导电极而形成的电位差信号



2 方法

2.3 制备坐骨神经干 (preparation of sciatic nerve trunk) 蟾蜍毁脑脊髓，去上肢和内脏，下肢剥皮浸于任氏液中。下肢标本背面向上置于蛙板上，剪去尾椎；标本腹面向上，用玻璃分针分离脊柱两侧神经丛，用线在近脊柱处结扎，剪断神经；将神经干经尾椎孔从腹面移向背面。标本背面向上固定，从大腿至跟腱分离坐骨神经。坐骨神经标本置任氏液中备用



2 方法



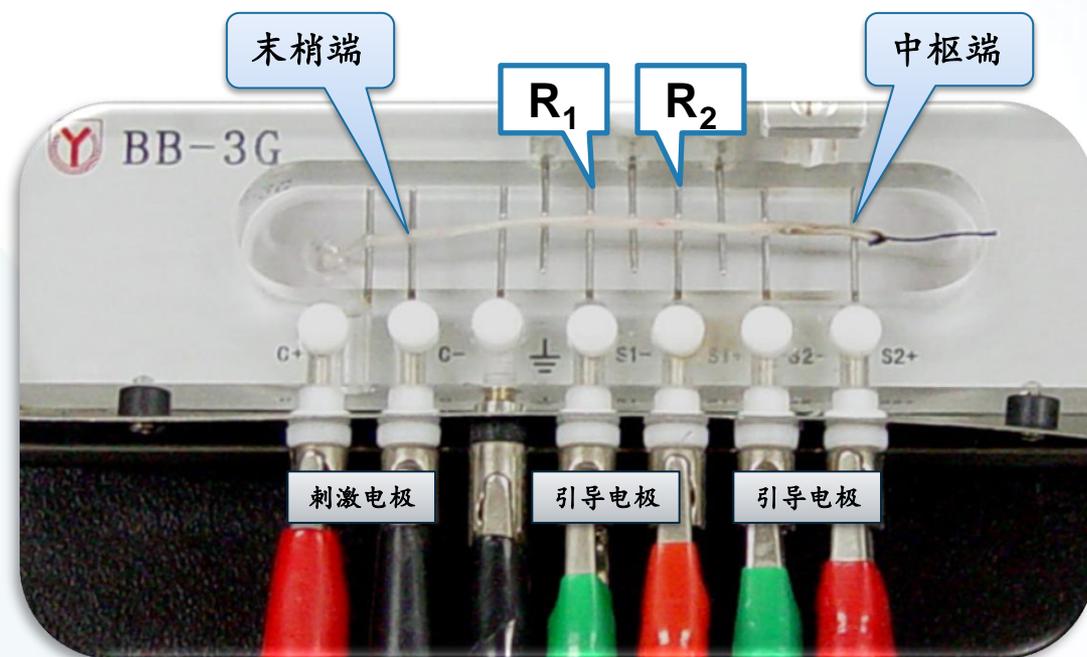
<http://10.71.149.149/onpc/vidsim/bo/toad/pnt.htm>



2 方法

2.4 从神经干中枢端引导BAP

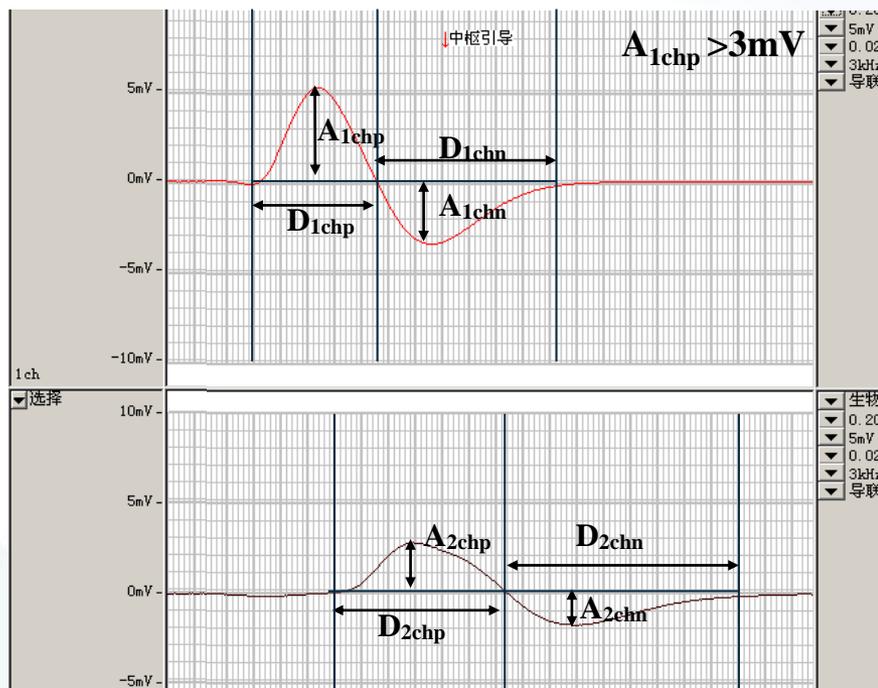
2.4.1 试验方法 神经干标本平直的置于标本盒的电极上，末梢端位于刺激电极侧，中枢端位于引导电极侧。用强度1.0 V，波宽0.1ms的电脉冲刺激神经干末梢端，记录坐骨神经干中枢端引导的BAP



2 方法

2.4 从神经干中中枢端引导BAP

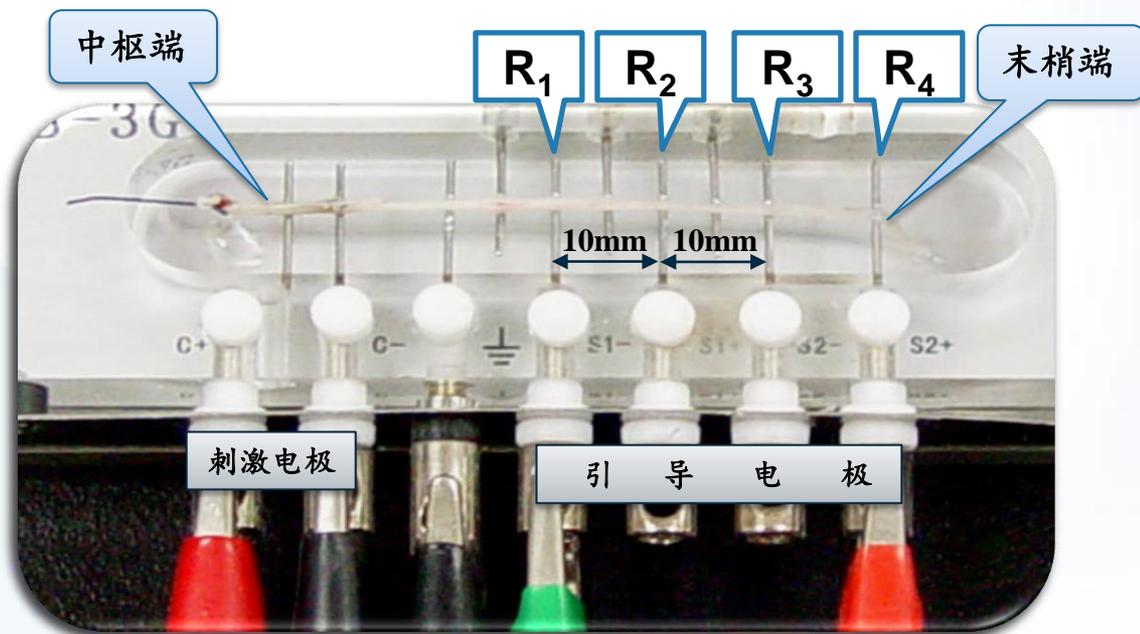
2.4.2 数据测量 用区域测量工具分别测量两对引导电极引导的BAP正相波、负相波的振幅(amplitude)和时程(duration)，数据入统计表1



2 方法

2.5 引导 R_2 不同位置的神经干BAP

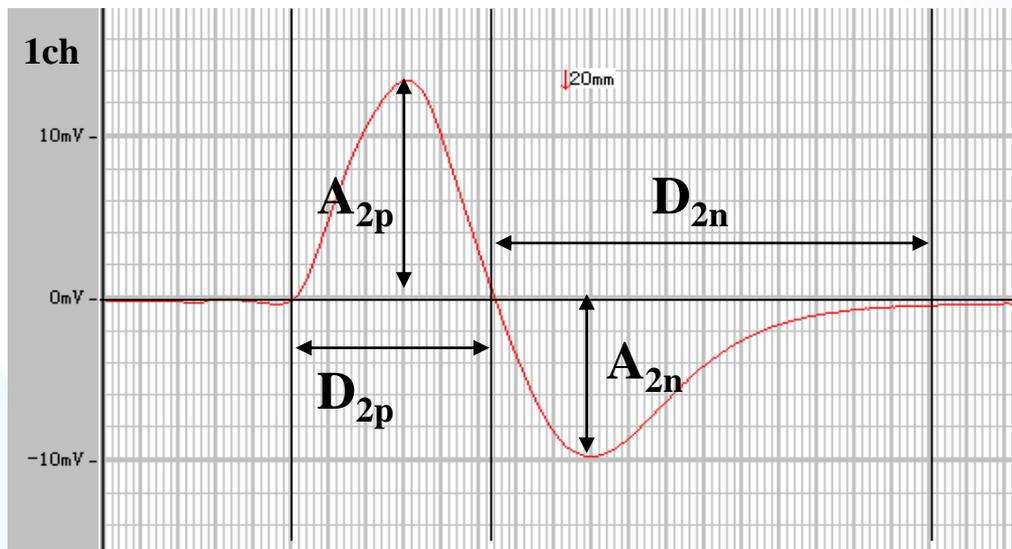
2.5.1 试验方法 神经干标本平直的置于标本盒的电极上，中枢端位于刺激电极侧，末梢端位于引导电极侧。用强度1.0 V，波宽0.1 ms的电脉冲刺激神经干中枢端。移动引导电极 R_2 至 R_3 、 R_4 处，分别记录第1对引导电极引导的BAP



2 方法

2.5 引导 R_2 不同位置的神经干BAP

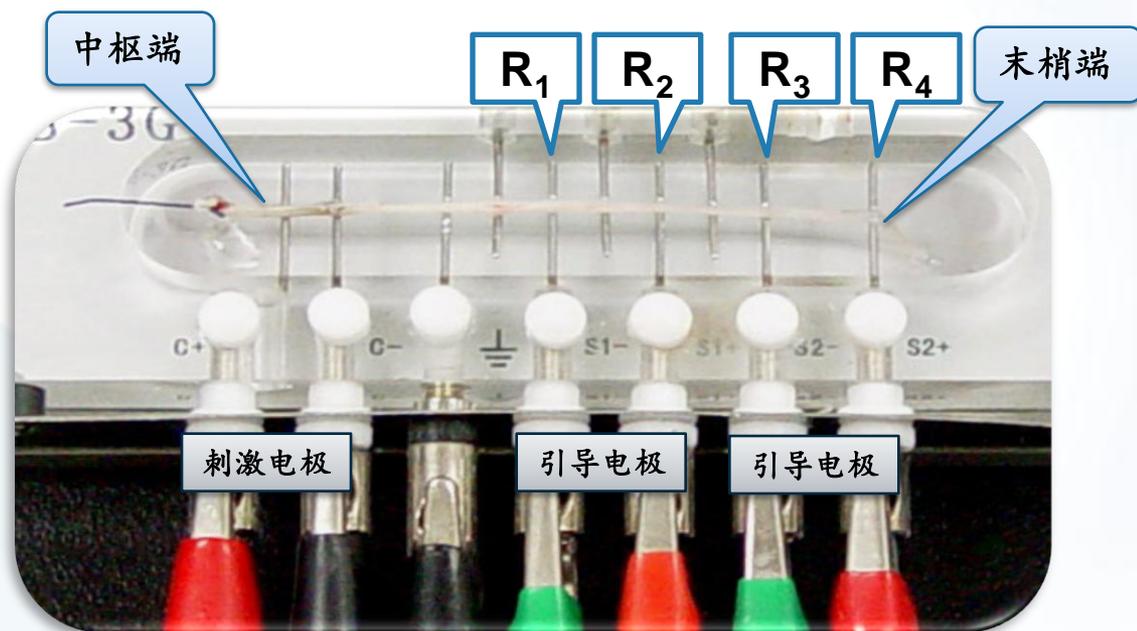
2.5.2 数据测量 测定 R_2 不同位置时第1对引导（电极间距为10、20、30mm）引导的BAP正相波、负相波的振幅和时程，数据入统计表2、3



2 方法

2.6 从神经干末梢端引导BAP

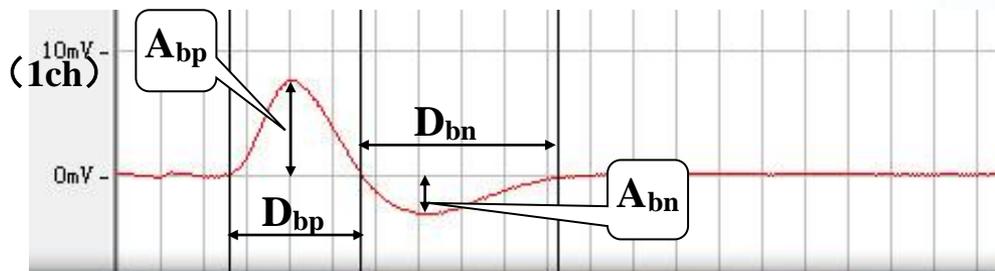
2.6.1 试验方法 神经干标本平直的置于标本盒的电极上，中枢端位于刺激电极侧，末梢端位于引导电极侧。用强度1.0 V，波宽0.1 ms的电脉冲刺激神经干中枢端，记录第1对引导电极引导的 BAP



2 方法

2.6 从神经干末梢端引导BAP

2.6.2 数据测量 测定末梢端引导的第1对电极引导的BAP正相波、负相波的振幅和时程，数据入统计表4



居板...

COL (1)	COL (2)	COL (3)	COL (4)	COL (5)
通道号	编号	区域时间 (ms)	最小值 (mV)	最大值 (mV)
1	Q184	1.52	0.171	7.63
1	Q242	2.30	-3.05	0.427

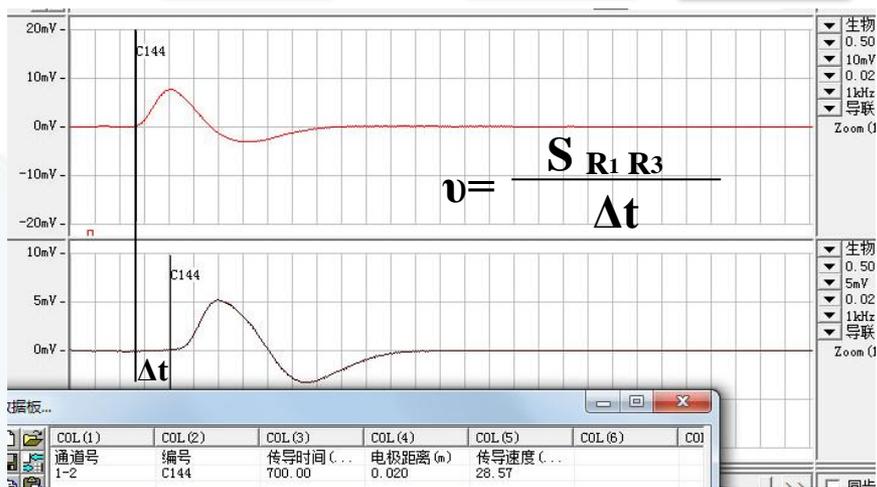
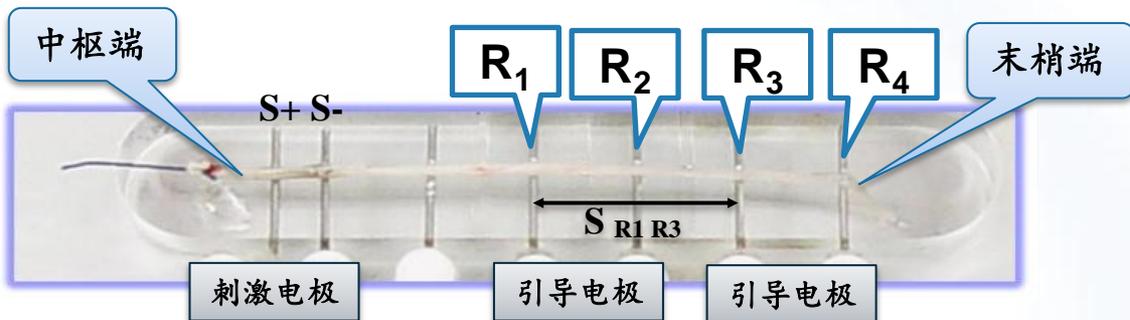
A_{bn}



2 方法

2.7 兴奋传导速度的测定

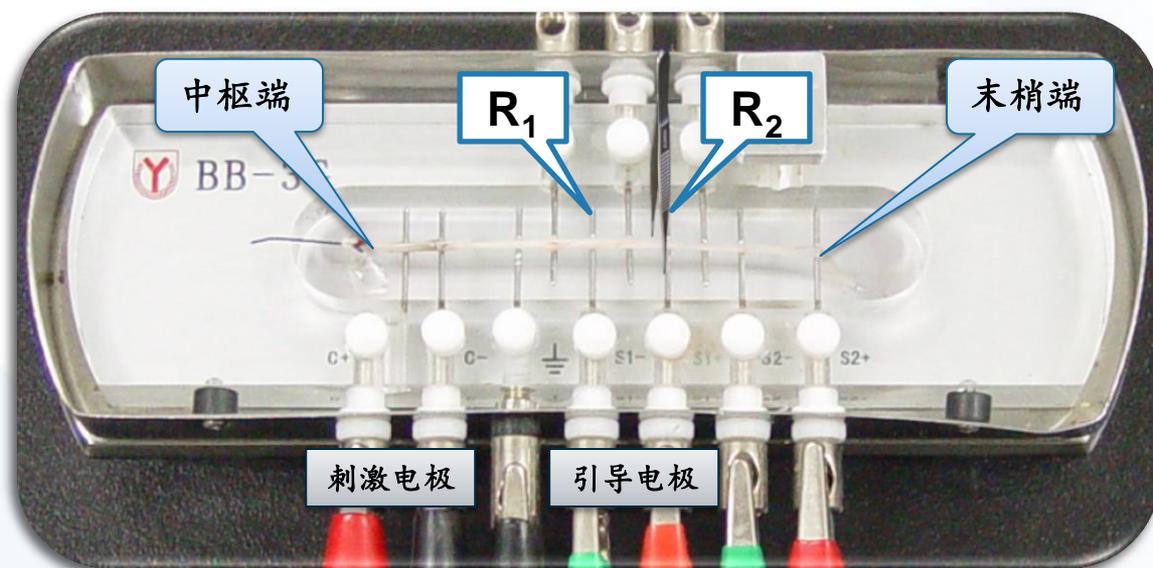
在上一试验记录的动作电位数据上测定第1和第2对引导电极引导的BAP起点的时间差 Δt ，根据 $v = S_{R1R3} / \Delta t$ ($S_{R1R3} = 2\text{cm}$) 计算出神经兴奋的传导速度，数据入统计表6



2 方法

2.8 引导神经干损伤后的动作电位

2.8.1 试验方法 保持上一试验的神经干放置位置、方向和刺激参数，在 R_2 前紧贴 R_2 处用镊子夹伤神经干，再刺激神经干，记录神经干损伤后的第1对引导电极引导的动作电位

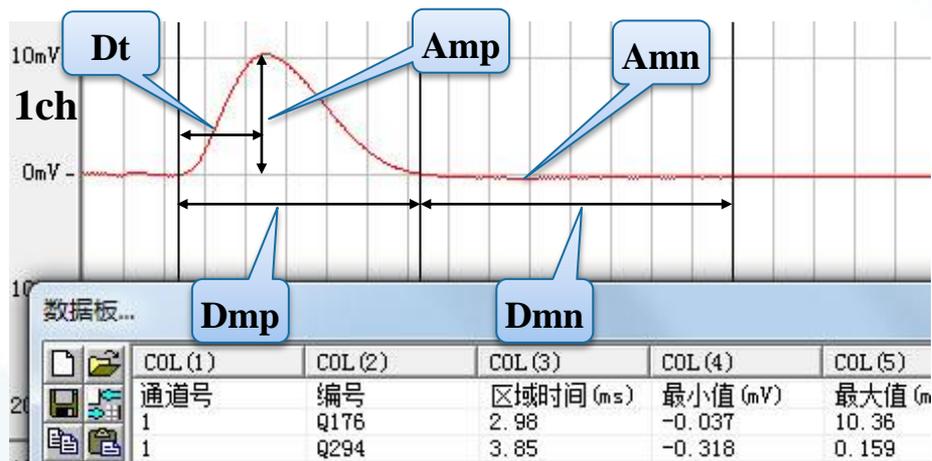


2 方法

2.8 引导神经干损伤后的动作电位

2.8.2 数据测量 测定神经干损伤后的第1对引导电极引导的动作电位的振幅、时程和动作电位起点与最大振幅时的时间，数据入统计表4

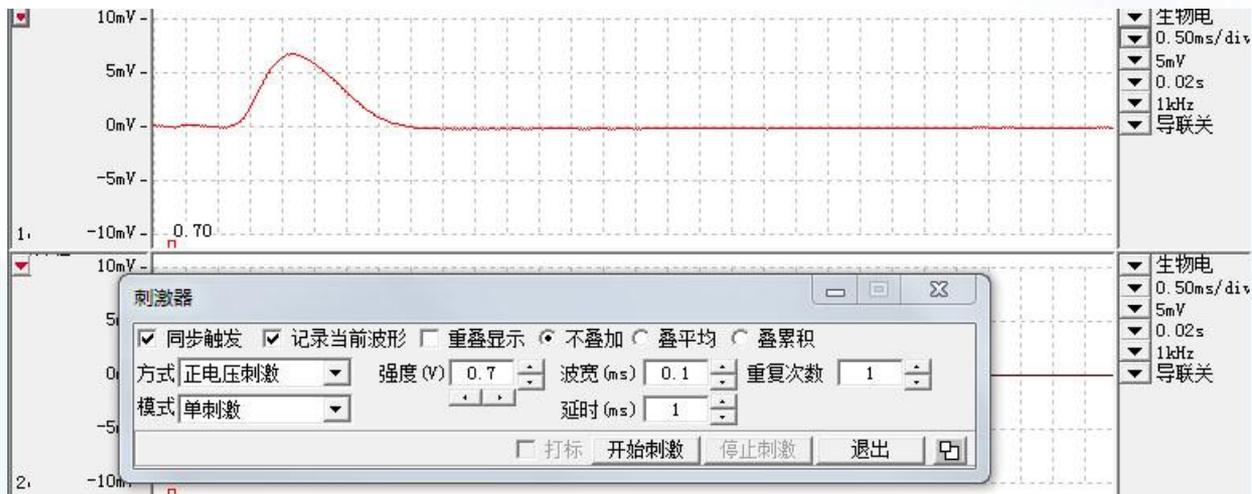
单相动作电位 (monophasic action potential, MAP)



2 方法

2.9 观察不同刺激强度时的动作电位振幅

2.9.1 试验方法 保持上一试验的神经干放置位置和方向，用波宽0.1ms，强度从0.1V开始，步长按0.02V增加，逐次刺激神经干并记录刺激电压和AP或MAP的振幅



2 方法

2.9 观察不同刺激强度时的动作电位振幅

2.9.2 数据测量 刺激强度与AP振幅数据入表5，按图1作图。将刚引发AP的刺激强度和引发最大AP振幅的最小刺激强度数据入统计表6

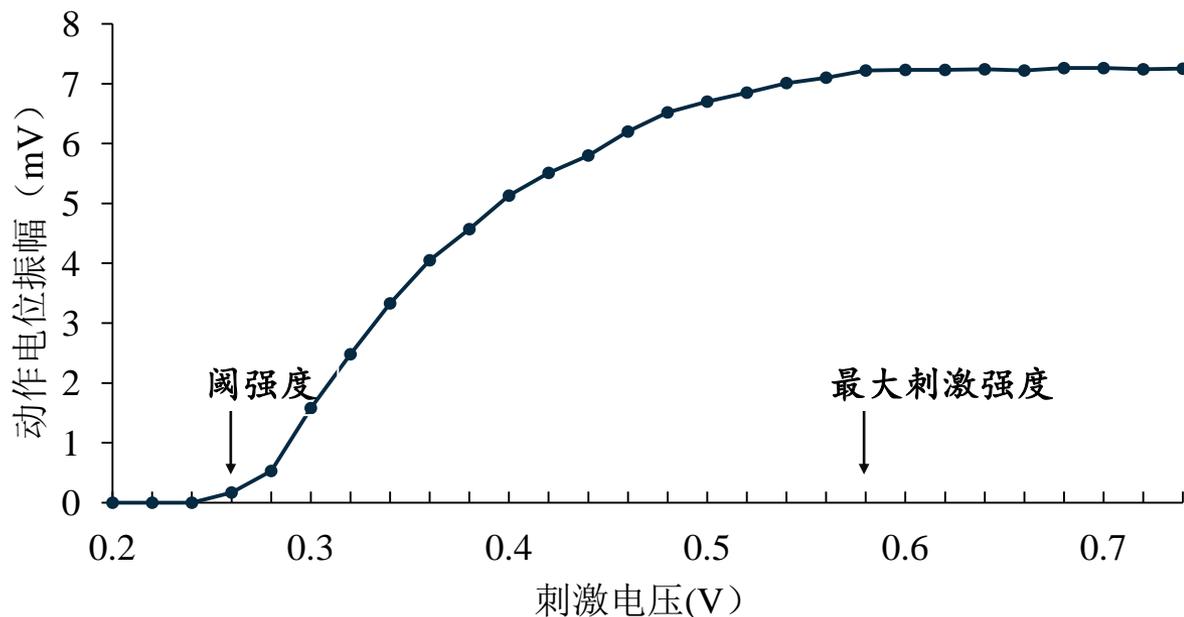


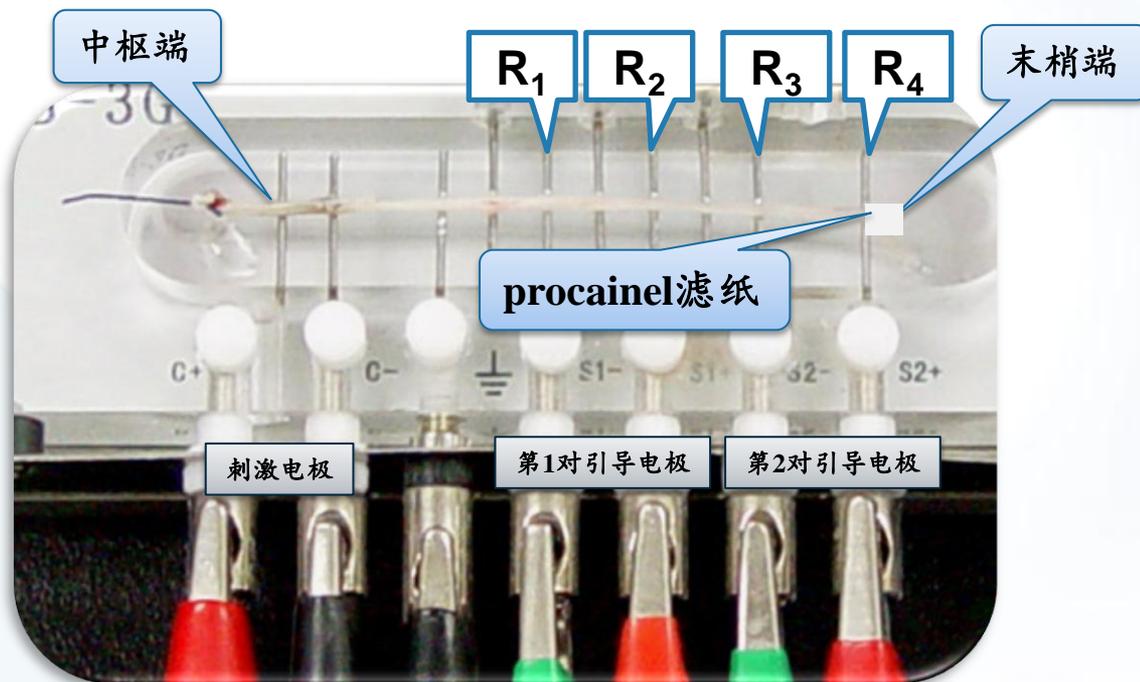
图1 刺激强度与动作电位振幅的关系



2 方法

2.10 测定 procaine 处理前后的AP振幅

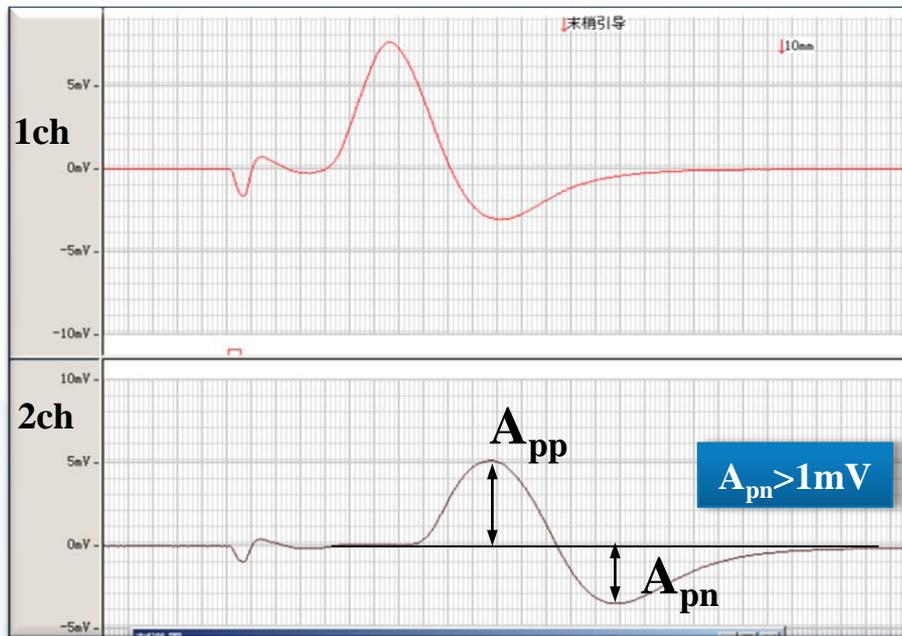
2.10.1 试验方法 神经干中枢端置于刺激电极侧，末梢端置于引导电极侧。用强度1.0 V，波宽0.1 ms的电脉冲激刺神经干，记录第2对引导电极引导的BAP（负波大于1mV）。含4% procain的滤纸放置于R₄电极处的神经干上，5min后再记录第2对引导电极引导的AP



2 方法

2.10 测定 procaine 处理前后的AP振幅

2.10.2 数据测量 测量4% procain 处理前，处理后5min时 第2对电极的AP正相波和负相波的振幅；数据入统计表7



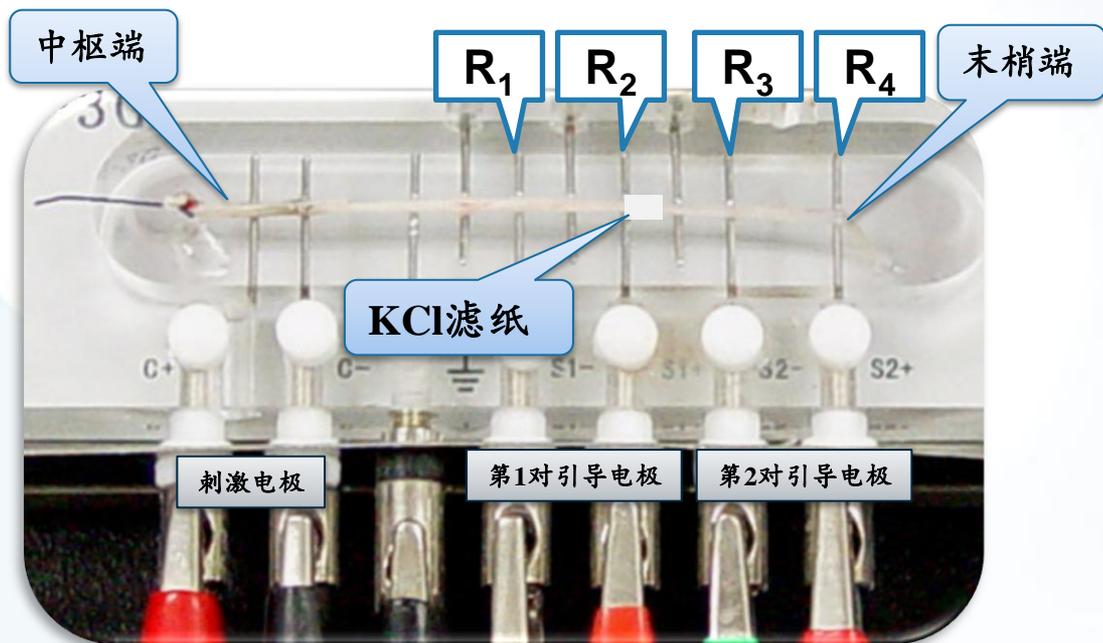
procain 处理前动作电位



2 方法

2.11 测定 KCl 处理前后的 AP 振幅

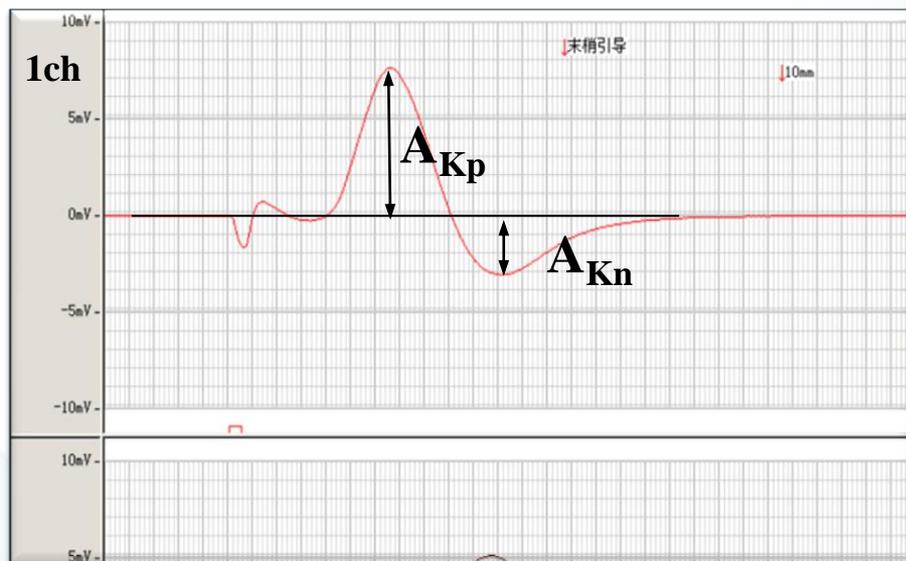
2.11.1 试验方法 保持上一试验的神经干位置、方向和刺激参数，刺激神经干记录第1对引导电极引导的BAP。将含 3 mol/L KCl 的滤纸放置于R₂电极处的神经干上，2min后再记录第1对引导电极引导的AP



2 方法

2.11 测定 KCl 处理前后的 AP 振幅

2.11.2 数据测量 分别测量 3 mol/L KCl 处理前、处理后第1对引导电极引导的 AP 正相波和负相波的振幅；数据入统计表8



KCl处理前动作电位



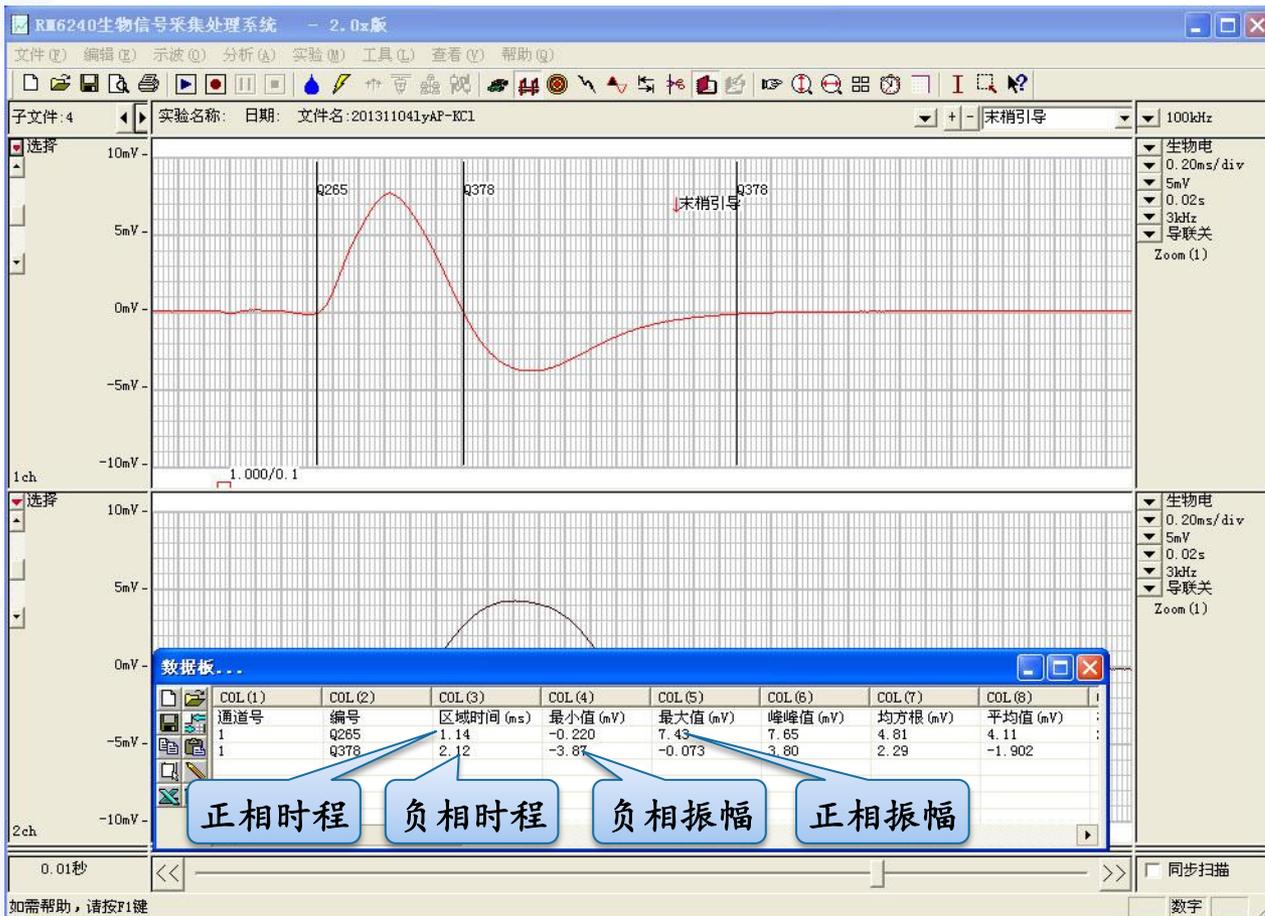
2 方法

2.12 统计方法 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计采用Student t test方法



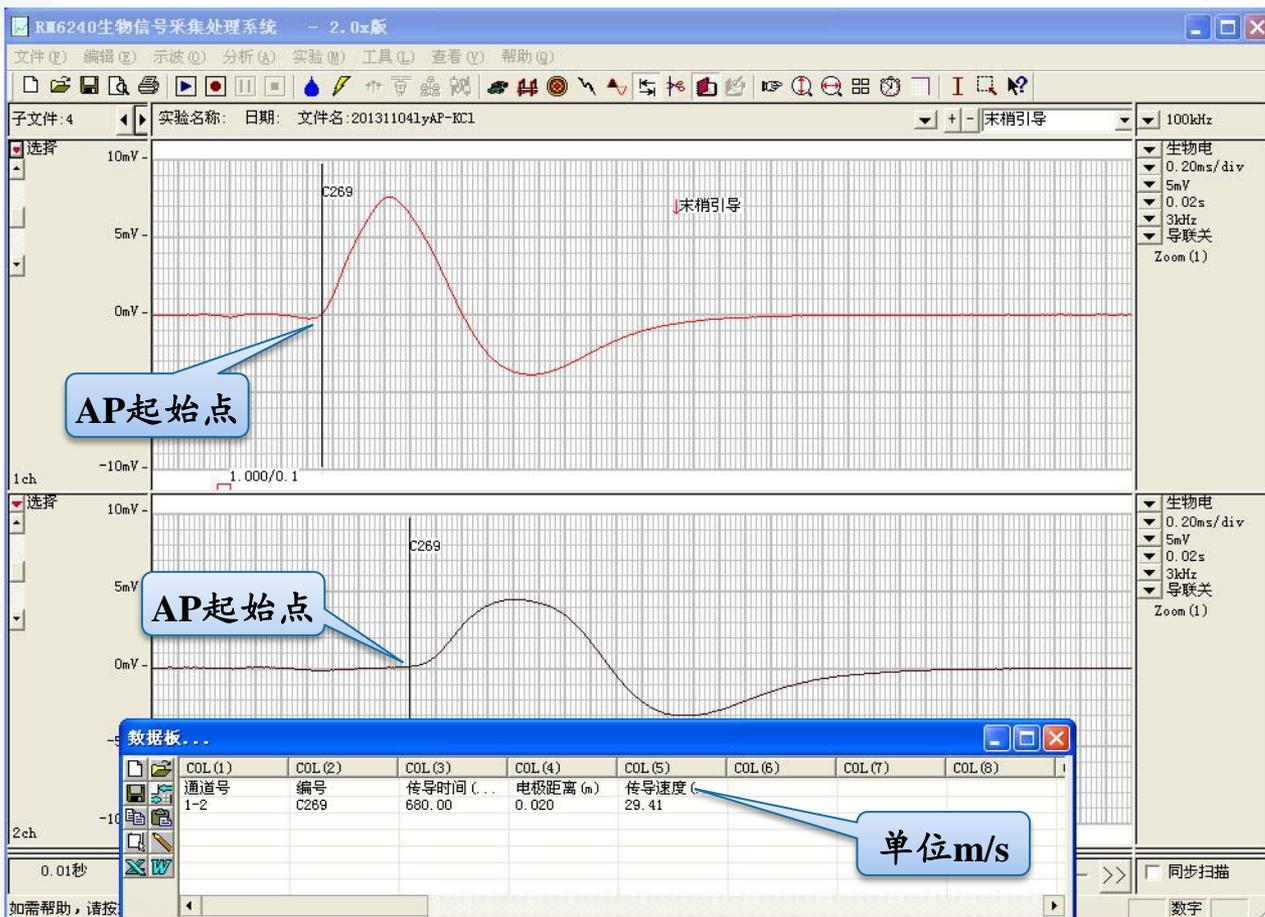
3 结果

3.1 动作电位振幅、时程数据测量



3 结果

3.2 动作电位传导速度测量



3 结果

3.3 数据整理、录入统计

3C班20141030ap.xls [共享] [兼容模式] - Microsoft Excel

表4 末梢引导的坐骨神经干BAP和神经损伤后引导的AP

sample	A _{bp} (mV)	A _{bn} (mV)	D _{bp} (ms)	D _{bn} (ms)	A _{mp} (mV)	A _{mn} (mV)	D _{mp} (ms)	D _{mn} (ms)
1	8.77	4.89	0.84	2.32	10.47	1.86	1.13	3.03
2	9.86	6.63	0.86	1.97	11.17	1	1.16	1.09
3	6	3.74	0.79	2.37	7.13	0.415	1.04	1.2
4	10.48	6.47	0.8	1.86	11.85	0	1.6	0
5	10.72	6.35	0.76	1.5	12.29	0.708	1.16	1.66
6	7.03	4.6	0.86	2	9.44	0	1.49	0
7	4.25	2.25	0.77	1.82	5.03	0	1.33	0
8	5.74	3.63	0.92	1.88	6.95	0	1.41	0.00
9	7.5	4.54	0.81	1.54	9.5	0	1.98	0.00
10	8.28	4.62	0.81	2.12	8.09	0.879	1.08	2.08
$\bar{x}\pm s$	7.86±2.16	4.77±1.40	0.82±0.05	1.94±0.29	9.19±2.36	0.49±0.63	1.34±0.29	0.91±1.09
p		1.29E-06		5.144E-07		5.771E-07		
p					0.000	0.000	3.4E-04	

就绪 148%



3 结果

3.4 统计结果汇总、分析

The screenshot shows an Excel spreadsheet with two tables comparing action potentials (AP) in frog sciatic nerves. Table 1 (left) shows APs induced by central stimulation, and Table 4 (right) shows APs induced by peripheral stimulation. The data includes amplitude (A), duration (D), and p-values for various parameters.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	表1 蟾蜍坐骨神经干中枢引导的动作电位				表4 末梢引导的坐骨神经干BAP和神经损伤后引导的AP			
2	A _{1chp} (mV)	A _{1chn} (mV)	p		A _{bp} (mV)	A _{bn} (mV)	p	
3	3.98±1.61	2.53±0.89	0.000		7.86±2.16	4.77±1.40	0.000	
4								
5	D _{1chp} (ms)	D _{1chn} (ms)	p		D _{bp} (ms)	D _{bn} (ms)	p	
6	0.84±0.07	1.89±0.45	0.000		0.82±0.05	1.94±0.29	0.000	
7								
8	A _{2chp} (mV)	A _{2chn} (mV)	p		A _{mp} (mV)	A _{mn} (mV)	p	
9	2.36±1.10	1.10±0.53	0.005		9.19±2.36	0.49±0.63	0.000	
10								
11	A _{1chp} (mV)	A _{2chp} (mV)	p		A _{bp} (mV)	A _{mp} (mV)	p	
12	3.98±1.61	2.36±1.10	0.000		7.86±2.16	9.19±2.36	0.000	
13								
14	A _{1chn} (mV)	A _{2chn} (mV)	p		D _{bp} (ms)	D _{mp} (ms)	p	
15	2.53±0.89	1.10±0.53	0.000		0.82±0.05	1.34±0.29	0.000	
16								
17								



重要提示

- 实验操作流程做到心中有数
- 标本放置于标本盒上的时间不要超过10min
- 必须正确标记记录的数据
- 及时保存数据，观察项目全部完成后再测量数据
- 禁止编辑更改原始数据
- 实验过程中仔细观察、认真思考
- 实验结束后小组围绕实验结果讨论
- 各组准备好发言



实验前预习及准备要求

- 学习和掌握生物电的理论
- 学习和掌握神经干AP引导方法和原理
- 观看《神经干标本制备》视频，熟记操作要点
- 学习和掌握RM6240多道生理信号采集处理系统记录神经干AP的参数、数据标记、数据测量和数据保存方法
- 准备书面的实验流程，熟记每项试验的方法、要求
- 准备实验数据记录表和统计表
- 小组准备好讨论问题稿
- 理解和掌握实验设计原理、理论依据
- 提出你的实验设计方案



生物电研究的重要记事



背景介绍

- ◆ 最早记录生物电现象
- ◆ 最早证明生物电存在



1786年，意大利解剖学家及物理学家Galvani证明生物电存在。

Galvani电镊子

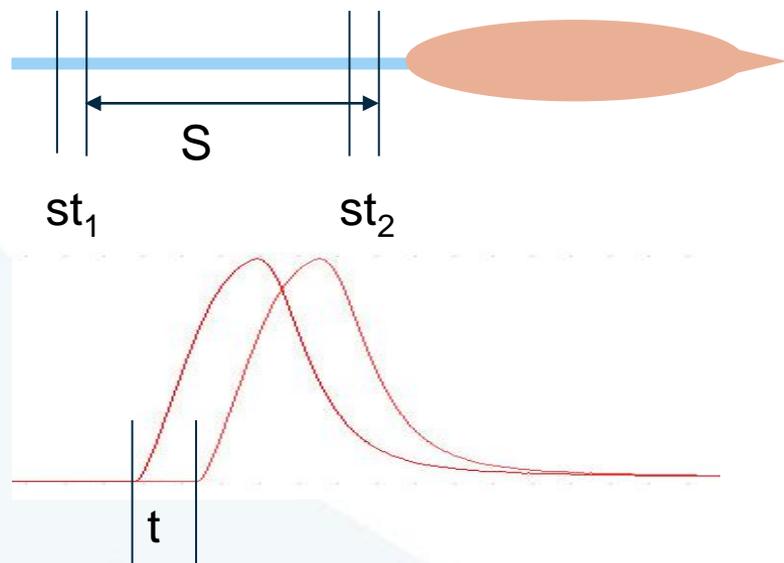


背景介绍

◆ 神经冲动传导速度的测定

Helmholtz发明myograph测定

神经冲动传导速度为30m/s

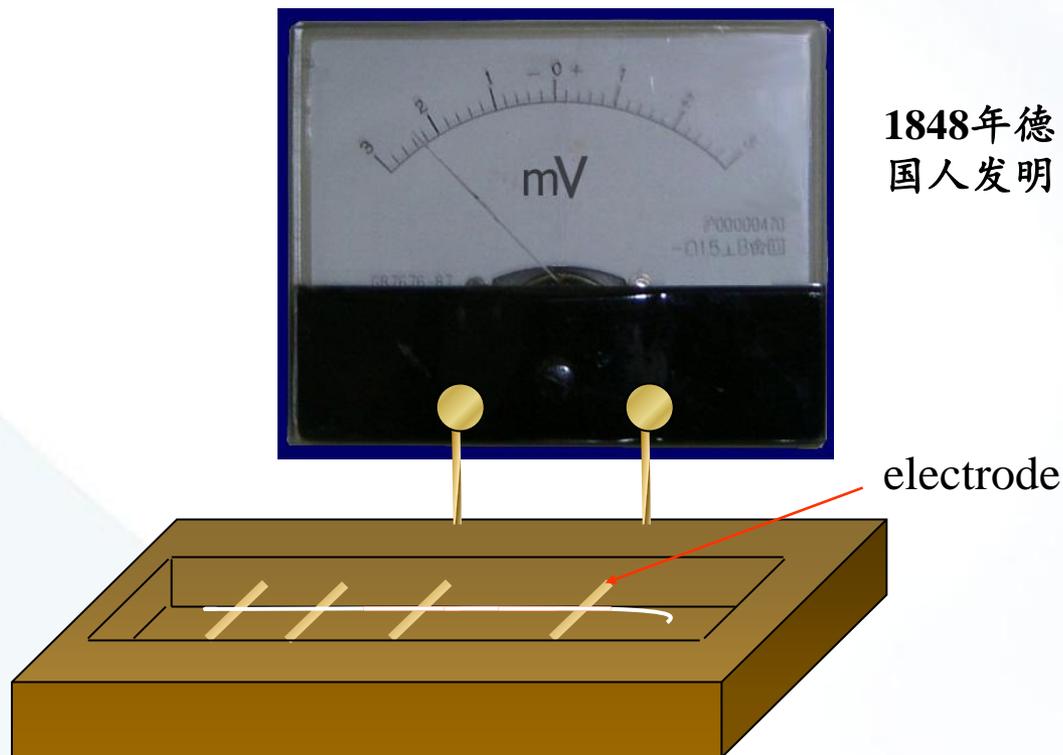


背景介绍

一、细胞外记录（Extracellular Recording）阶段

◆ 神经冲动传导速度的测定

1850年，用检流计测得蛙坐骨神经干动作电位的传导速度为
20~30m/s



用检流计测神经冲动传导速度



背景介绍

◆外周神经分类

1933年美国科学家 Gasser和 Erlanger
用示波器对外周神经活动进行总结性
研究，并发表了著名的论文《Electric
signals of Nervous Activity》(1939年)



1897年
德国人发明

高灵敏度双端双线示波器

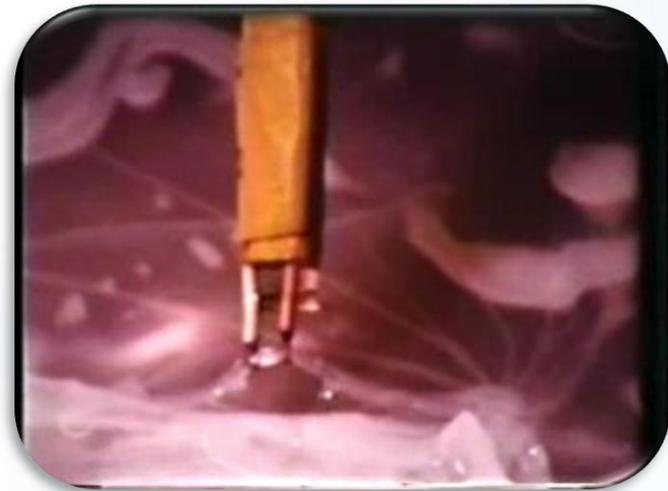


背景介绍

二、细胞内记录（Intracellular Recording）阶段

◆离子假说的提出

剑桥大学Hodgkin和Huxley应用金属微电极对乌贼巨神经纤维电活动进行系统研究，Hodgkin和Katz提出离子假说

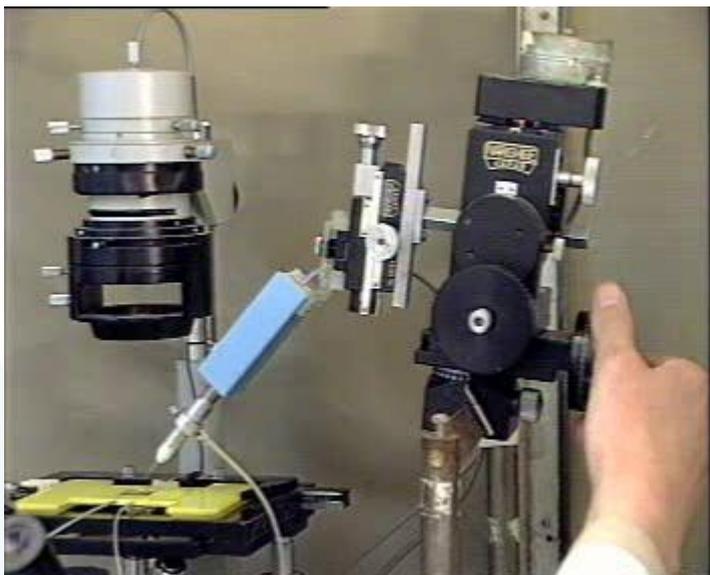


背景介绍

◆玻璃微电极的发明

1949年，凌宁和Gerard 发明玻璃微电极。电压钳和膜片钳将电生理研究推向分子水平

玻璃微电极



细胞电生理实验



谢谢

