

一种多用途的神经脉冲频率分析器

李朝义

(上海生理研究所)

神经脉冲(动作电位)是动物神经系统内信息传递的一种重要形式。用微电极从细胞外记录到的神经脉冲,是单相、双相或三相的尖脉冲,幅度大约1—10毫伏,频率多数为10—100次/秒,其瞬间频率则可在0.1—500次/秒范围内变化。在神经脉冲的传递中,脉冲的幅度和波形是没有意义的,而频率的变化则是一个重要的参量。神经细胞的兴奋通常都伴随着脉冲的密度增加,其抑制则表现为密度减小。此外,脉冲数在时间上的分布和变化,也是研究神经系统信息传递的一个重要方面。

为了能定量地研究神经脉冲序列及其变化,我们设计了一种比较实用的线路,配合电生理实验室的其它常规仪器——示波器、刺激器、计数器等,可以对神经脉冲进行甄别、整形、自动计数、分频和数-模转换等处理。在仿生学、针麻原理和神经生理学研究,中,可用以分析神经细胞的持续放电和对各种刺激的反应。

本仪器现已在实验室中实际使用。

结构和原理

整个仪器包括三部分:1.甄别、整形和计数电路(以下简称“计数电路”),2.开关控制电路(简称“控制电路”),3.泵阶梯扫描发生器(简称“扫描电路”)。

一、计数电路

这部分电路的框图示于图1,线路结构见图2(A)。主要功能是由一个泵阶梯波发生器完成的。它由储存电容(C_{10})、电子开关(BG_9)和恒流源(BG_8 、 R_{26} 、 R_{27})组成。输入的神经脉冲经过甄别和整形后,变为具有一定幅度和宽度的正脉冲[图1(d),图6],通过电容 C_9 和

二极管 D_4 ,送至电子开关 BG_9 基极,使其瞬间导通,这时电源电压通过恒流源向 C_{10} 充入一定量电荷。输入端每进入一个脉冲, C_{10} 的电压就升高一级,这就是所谓的“泵阶梯电压”。每一级阶梯的高度决定于瞬间充电电流的大小,也就是取决于恒流源的内阻,它可以通过改变 R_{27} 的阻值来调节。由于 BG_8 的基极是用稳压管(DZ_2)偏置的,恒流源的工作可不受电源电压变化的影响。

泵阶梯波发生器可以把神经脉冲的数目转变为相应的模拟量(模拟电压),实现数-模转换。这时,开关 K_1 放在“III”位置,干簧继电器 J_2 的常开触点并联在储存电容 C_{10} 两端。在每次控制方波结束时,由控制电路发出清洗脉冲,使 J_2 触点闭合, C_{10} 迅速放电。清洗脉冲过去后,触点再开放, C_{10} 又可以重新积累电荷,进行下一次变换。

如果用单结晶体管(BG_{10})的 EB_1 结代替继电器 J_2 的常开触点,并联在 C_{10} 两端,即把开关 K_1 放在“I”位置,以上泵阶梯波发生器线路就同时又具备了锯齿波发生器的性能。当阶梯数逐渐增加, C_{10} 上端的电压达到单结晶体管的峰点电压时, BG_{10} 的 EB_1 结导通,电容迅速放电,阶梯电压很快降到接近地电位(谷点电压)。如果输入端继续有脉冲输入, C_{10} 两端又开始重新积累电荷,进入第二个阶梯周期。如此不断反复,阶梯电压每上升到一个固定的数值(即上升一定级数),电容就自动放电一次,出现泵阶梯式锯齿电压(图5)。利用线路的这个特性,可以对神经脉冲进行分频(图8)。由于单结管的峰点电压是一定的(由分压比 η 决定),调节每一级阶梯的高度,实际上也就改变了脉

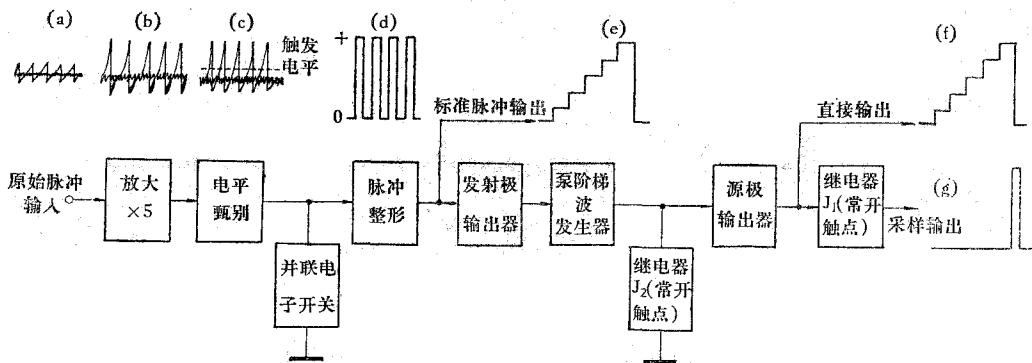


图1 神经脉冲频率分析器计数电路部分框图

上面的小图表示神经脉冲处理过程

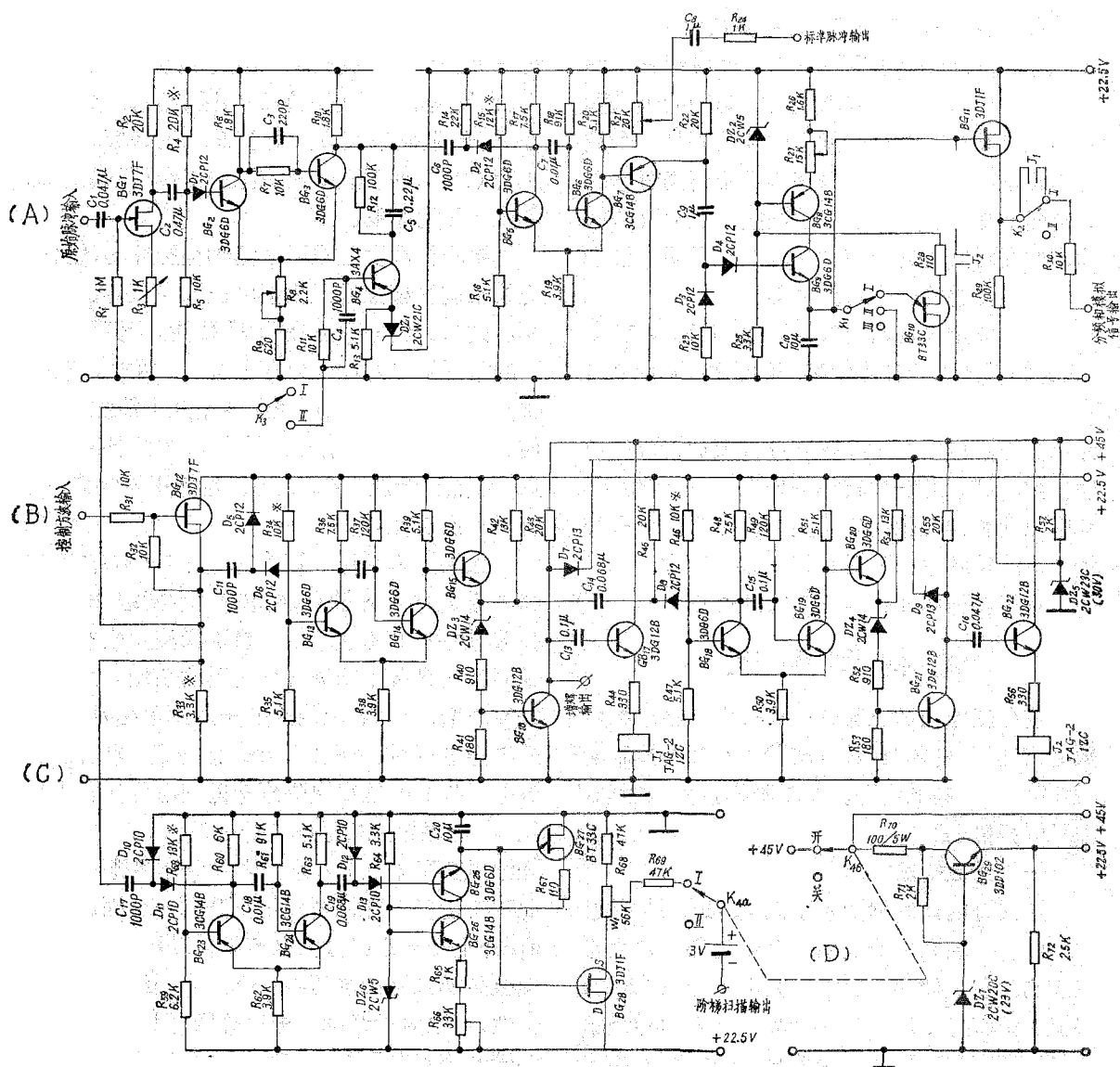


图2 神经脉冲频率分析器线路图

(A) 计数电路; (B) 控制电路; (C) 扫描电路; (D) 电源供给电路

电阻中有*号者,表示其阻值需根据工作点要求作适当调整; C_{10} 和 C_{20} 必须用漏电小的金属电容

冲的分频比。所以,在用作分频时,可以用恒流源电阻 R_{27} 来选择合适的分频比。在线路中,恒流源的作用是保证锯齿波的高度线性,从而使每一级阶梯的高度相等。

计数电路的其它部分是为了对输入的神经脉冲进行必要的预处理而设置的。输入级 (BG_1) 是一个场效应管放大器,具有 1 兆欧输入阻抗和五倍左右增益。输入脉冲信号从 SBR-1 型二线示波器的 Y 轴放大器中引出 (图 3),荧光屏上偏转 1 厘米,输出信号为 2 伏。经

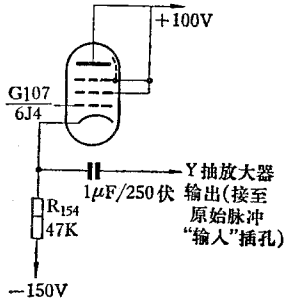


图3 SBR-1型示波器的Y轴放大器引出方式
粗线代表附加的引出线(指 $1\mu\text{F}/250$ 伏电容两端联线)

过 BG_1 放大,使脉冲幅度达到 10 伏左右,由二极管 D_1 取出正向信号,送至甄别电路。甄别电路是一个发射极耦合的史密特触发器 (BG_2 , BG_3),调节发射极电阻 R_8 ,使触发电平略高于噪声电平[图 1(C)] 即可起到甄别信号的作用。其输出脉冲通过电容 C_6 和二极管 D_2 送至另一个触发器 (BG_5 , BG_6) 进行整形,变成具有一定幅度和宽度的标准脉冲,从 BG_6 的集电极输出,其幅度可用电位器 R_{21} 调节。 BG_7 为发射极输出器,它把整形级和后面的线路隔离开来,使分频器产生的锯齿波不致影响输出的标准脉冲的波形和幅度。经过整形的脉冲,从 BG_7 的发射极通过 C_9 和 D_4 送至泵阶梯波发生器,进行数-模转换或分频等处理。为了避免储存电容 C_{10} 通过示波器的输入阻抗“漏电”,在泵阶梯波发生器和示波器之间,接入一个场效应管的源极输出器 (BG_{11}),由于它具有很高的输入阻抗,从而大大延长了 C_{10} 的“漏电”时间。

二、控制电路

控制电路的作用是,使刺激器发出的控制方波按次序地推动计数电路中的电子开关

(BG_4) 和两个干簧继电器 (J_1 , J_2) 动作,实现脉冲选通及模拟信号采样和清除。这些过程由三个在时间上严格相关的脉冲来控制 (图 4)。

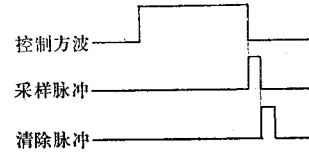


图4 控制方波、采样脉冲和清除脉冲的时间关系图

首先,控制方波使接在甄别和整形级之间的并联电子开关 (BG_4) 截止,在方波波宽所决定的时间内,让神经脉冲通过,送到后面线路中去。在控制方波结束时,又发出两个相继的短脉冲。前一个是采样脉冲,它使继电器 J_1 的常开触点闭合,把阶梯电压在方波结束时所达到的最高值以脉冲形式送至示波器显示。紧接在采样脉冲之后,发出清除脉冲,它使继电器 J_2 的常开触点闭合;这时,储存电容 C_{10} 迅速通过触点放电,储存的信号被清除,准备进行下一次处理。干簧继电器的吸合时间约需 2 毫秒,所以这两个脉冲的宽度取 5 毫秒较合适。控制部分的工作原理简述如下。

输入级 (BG_{12}) 用场效应管源极输出器,是为了减小刺激器的负载。刺激器送至栅极的正方波(控制方波)从源极输出,经过开关 K_3 (放置在“II”位置)和 R_{11} 作用在电子开关 BG_4 的基极,使其截止。在控制方波波宽时程内,允许神经脉冲通过。在没有控制信号时, BG_4 的静态偏置使并联电子开关处于导通状态,从甄别电路输出的脉冲信号被电容 C_5 短路,没有信号送到后面电路中去。所以,刺激器的正方波就是选通计数电路的门控信号。同时,从源极输出的正方波,通过电容 C_{11} 和二极管 D_5 、 D_6 的微分和限幅作用,取出其后沿,去触发史密特触发器 (BG_{13} , BG_{14}),产生一个宽度为 5 毫秒的矩形波,从 BG_{15} 的发射极输出,经 BG_{16} 放大,其集电极上输出的脉冲,被二极管 D_7 嵌位于 +30 伏。这个脉冲一方面用作示波器增辉(增强采样信号的亮度),同时,经过发射极输出器 BG_{17} 进行功率放大后,去控制干簧继电器 J_1

动作,在 J_1 触点接通的瞬间,示波器上可得到一个采样信号。干簧继电器选用 JAG-2 1ZC 型,其绕组直流电阻为 1200 欧姆。采样脉冲经过 C_{14} 、 R_{45} 微分和 D_8 限幅,取出其后沿,触发另一个史密特电路 (BG_{18} , BG_{19}),所产生的脉冲就是清除脉冲。同样,经过发射极输出器 (BG_{20})、电压放大 (BG_{21}) 和嵌位 (D_9),在 BG_{22} 的发射极上取得功率输出,控制第二个干簧继电器 (J_2),在 J_2 触点闭合瞬间,电容 C_{10} 放电,储存的信号被清除。

总结控制电路的工作过程是:

1. 刺激器发出控制方波,使并联电子开关截止,神经脉冲在方波时程内通过计数电路。

2. 控制方波结束,发出采样脉冲,在 J_1 触点关闭瞬间,进行采样显示。

3. 采样脉冲结束,发出清除脉冲,在 J_2 触点关闭瞬间,清除电容 C_{10} 内储存的信号。

三、泵阶梯扫描发生器

泵阶梯波的原理,除用作脉冲计数外,也用来推动示波器产生阶梯式扫描。在这种情况下,刺激器每发出一个控制方波,示波器的扫描就在 X 方向跳动一级 (图 14)。这由另一个泵阶梯波发生器来完成,其线路原理和计数部分大致相同。控制方波从控制电路的源极输出器送至扫描电路输入端,由微分电容 C_{17} 和限幅二极管 D_{11} 取出其前沿,去触发由 BG_{23} 、 BG_{24} 组成的触发器,触发器的输出脉冲推动泵阶梯扫描发生器工作。阶梯扫描信号通过源极输出器 (BG_{28}) 接到示波器的“外接”扫描插孔。调节源极电位器 W_1 ,可使扫描幅度与示波器荧光屏上的刻度一致。电阻 R_{66} 用来改变每次扫描的阶数。串联的干电池可平衡单结晶体管谷点电压,使扫描线保持在荧光屏范围内。

性能指标

一、电源

用 +45 伏直流稳压电源或壹号乙电池供电。+22.5 伏电压由 BG_{29} 和 DZ_7 组成的串联稳压器 [图 2 (D)] 提供。消耗电流 60 毫安 (继电器不工作时)。

二、输入信号的要求

1. 神经脉冲 幅度 0.5—2 伏

频率 (密度) < 1000 次/秒

$\frac{\text{信号峰值}}{\text{噪声峰-峰值}} > 2$

2. 控制方波 幅度 $\geq +20$ 伏

宽度 > 50 毫秒

间隔 > 3 毫秒

三、输出信号指标

1. 标准脉冲 波形 矩形波

幅度 0—+10 伏可调

宽度 0.5 毫秒

前沿时间 5 微秒

后沿时间 5 微秒

2. 分频信号 锯齿波幅度 5 伏

分频比调节范围 5—50:1

3. 模拟电压 线性范围 5 伏

数-模比可调范围 0.1—1 伏/脉冲

模拟电压漂移 0.03 伏/分钟

4. 阶梯扫描电压 扫描幅度 5 伏

阶数调节范围 5—50 级

扫描电压漂移 0.03 伏/分钟

5. 增辉脉冲 幅度 -30 伏

宽度 5 毫秒

功能和应用

一、神经脉冲甄别和标准化

把微电极记录到的神经脉冲从各种噪声 (如微电极噪声、50 赫干扰等) 中分离出来,通过整形,变为幅度和宽度一定的标准脉冲 [图 1 (d), 图 6]。可送至磁带录音机记录保存,或送至计数器自动计算神经脉冲数目。

用法

1. 原始脉冲 (包括神经脉冲和噪声) 从示波器 Y 轴放大器引出 (图 3), 送至“原始脉冲输入”插孔。其幅度和信噪比必须满足前述要求。脉冲幅度应在示波器上监视, 荧光屏上偏转 1 厘米的幅度较合适, 这时 Y 放大器的输出信号为 2 伏。

2. 标准脉冲从“标准脉冲输出”插孔输出。同时接至示波器的另一条线上监视。调节“触发电平”旋钮(R_8),使触发电平略高于噪声电平,这时在荧光屏上可见到与神经脉冲同步的标准脉冲信号(图6)。

3. 根据外接仪器的要求,调节“标准脉冲幅度”旋钮(R_{11}),取得需要的脉冲幅度。

4. 输出端可接至磁带录音机拾音器插孔,以记录实验数据,或接频率计数器自动计算神经脉冲数目,或作其它频率分析的预处理用。

5. 开关 K_3 放在“I”位置时,为标准脉冲“连续”输出,放在“II”位置时,只在控制方波波宽限定的时间内“门控”输出标准脉冲(图7)。

二、脉冲分频

用分频的方法将频率高(密度大)的神经脉冲按一定比例变为频率较低的信号,在示波器上显示和照相。这样,既可充分利用示波器有限的显示空间,节省照相胶片,并便于在照片或示波器上计算脉冲的数目。图8A是一个神经细胞持续放电记录,B是按10:1比例分频后的信号;每一个分频信号(即一个阶梯周期)代表10个神经脉冲,每一个点代表一个神经脉冲。

用法

1. 原始脉冲的输入方法同“功能一节”。
2. 开关 K_1 和 K_2 都放在“I”位置。
3. 分频信号从“分频和模拟输出”插孔输出。
4. 调节电阻 R_{17} ,选择需要的分频比。
5. 开关 K_3 放在“I”位置时,可对持续放电作连续分频(图8,9),放在“II”时,只对控制方波波宽限定的时间内的脉冲进行分频(图10)。

三、数-模转换

在控制方波波宽所限定的时间内,把神经脉冲数转换为电压模拟量。这一功能的应用较灵活。例如:可以在示波器上以模拟电压来表示每次刺激的反应脉冲数(图11)和多次刺激平均反应水平(反应序列图);通过移动门控脉冲位置(调节双边刺激器第二输出的时迟),选择反应中某一成分进行计数;作脉冲-时间序列图(图12,13)或感受野的脉冲-空间序列图等。

用法

1. 原始脉冲输入方法同“功能一节”。

2. 控制方波从双边刺激器(双脉冲发生器)的第二输出产生,送至“控制方波输入”插孔。幅度应 $\geq +20$ 伏,频率、宽度、间隔和时迟要根据使用的目的决定,并预先在示波器上调妥。

3. 模拟信号从“分频和模拟输出”插孔输出。

4. 当每次处理的脉冲数较多时,为了保证数-模转换工作在模拟电压的线性范围内,宜用较小的数-模比,可将 R_{17} 的阻值调到最大。

5. 开关 K_1 置“III”位置, K_3 置“II”位置。

6. 开关 K_2 接“I”位置时,模拟信号为“直接输出”,荧光屏上显示数-模转换的连续过程(图11,图12);接“II”位置时,模拟信号为“采样输出”,荧光屏上只在每次控制方波结束时显示处理的最终结果(图13)。

7. 作“采样输出”时,要使用增辉脉冲。将本仪器的“增辉输出”接到示波器的“示波管阴极”插孔。同时,把荧光屏光点的亮度调到刚刚隐退的程度,只有在增辉脉冲到达时,荧光屏上才显示出亮点。

四、阶梯式扫描

刺激器每发出一个控制方波,使荧光屏的光点在X方向上自动移动一级(图14)。在作时间或空间序列图时,或需要在一张照片上连续记录细胞对许多次刺激的反应时,都要采用这种扫描方式。此外,配合脉冲马达控制的自动刺激系统,还可以用来显示细胞的光谱反应特性、声音频率反应特性和强度反应特性等。

用法

1. 刺激器输出的控制方波接“控制方波输入”插孔。

2. “阶梯扫描输出”接示波器X轴“外接”输入插孔,X轴放大器增益可放在0.2—0.5伏/厘米档上。

3. 调节“扫描阶数”旋钮(R_{16})可改变每次扫描的阶数。

4. 调节电位器 W_1 ,使扫描线与荧光屏刻度一致(满刻度)。

5. 扫描线的位置用示波器X轴“移位”旋钮调节。

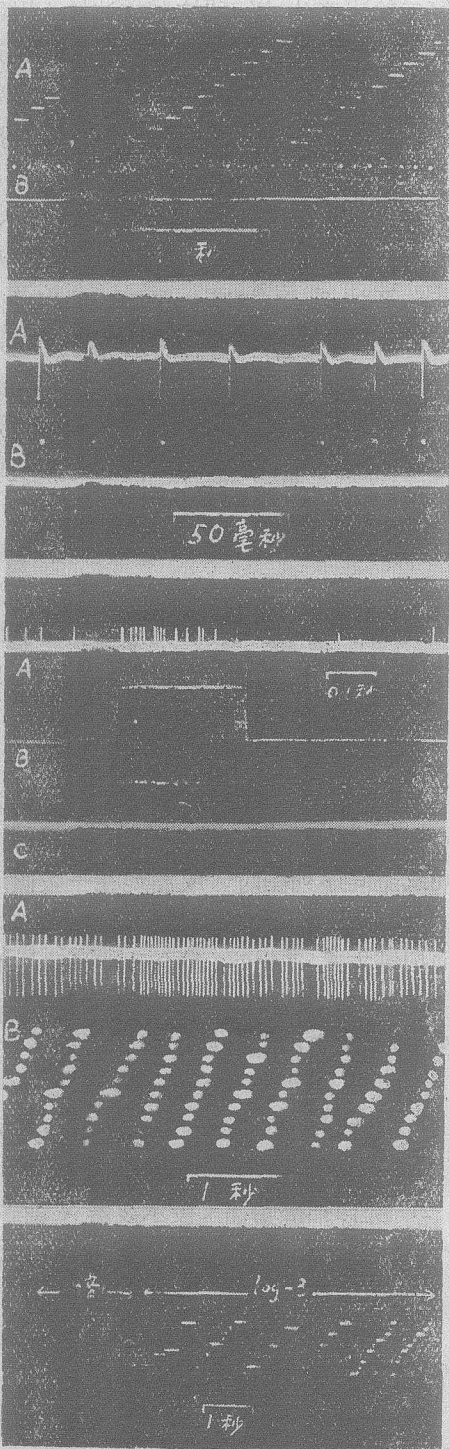


图5 用泵阶梯波发生器作脉冲分频处理

A. 输出的分频信号,分频比为 10:1; B. 输入的脉冲信号

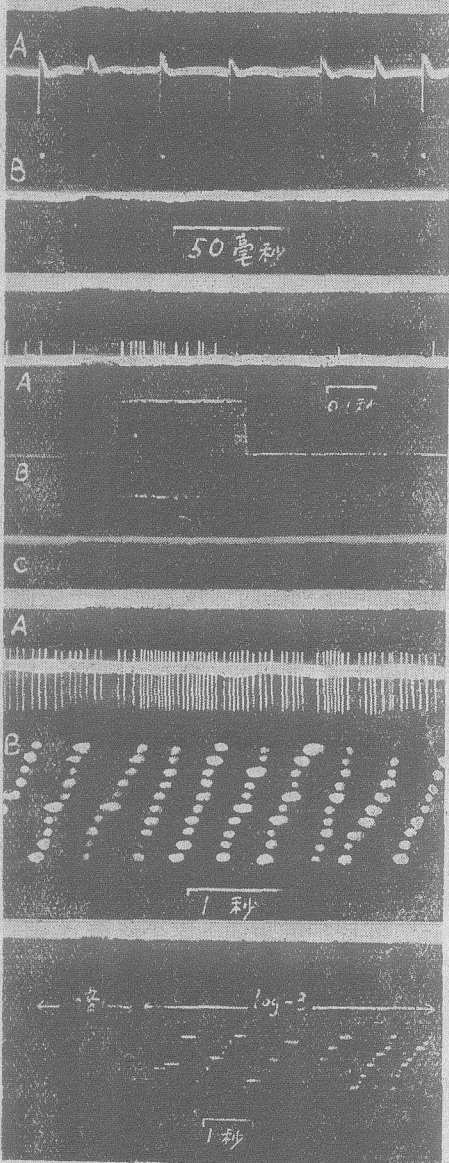


图6 对神经脉冲进行甄别和标准化

A. 输入的神经脉冲; B. 经过甄别后输出的标准脉冲

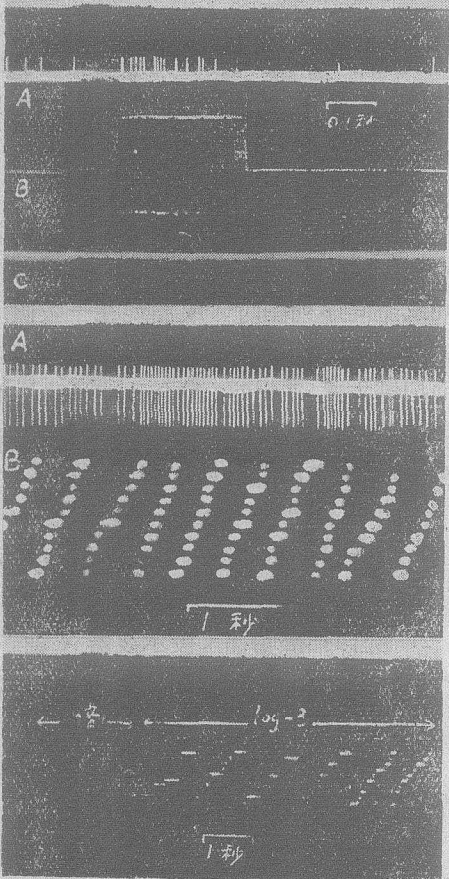


图7 用控制方波控制标准脉冲输出的时间

A. 输入的神经脉冲; B. 控制方波的位置和宽度; C. 在控制方波时程内输出的标准脉冲信号

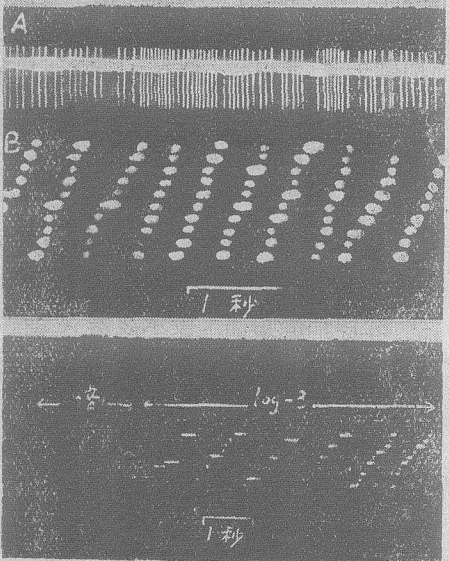


图8 对神经细胞的持续放电进行分频处理

A. 一个神经细胞的持续放电记录; B. 输出的分频信号,分频比为 10:1

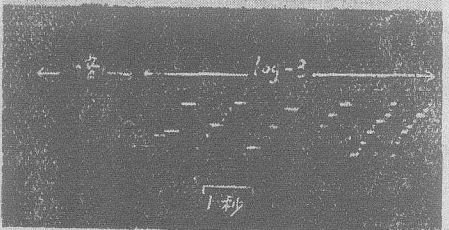


图9 一个猫外侧膝状体神经元在不同亮度下细胞持续放电的分频图

分频比为 10:1

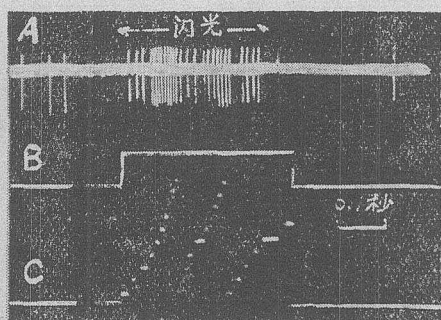


图 10 用频图表示神经细胞对刺激的反应

- A. 猫外侧膝状体神经元的自发放电和对闪光的反应；
B. 控制方波的位置和宽度；C. 对闪光反应的频图信号

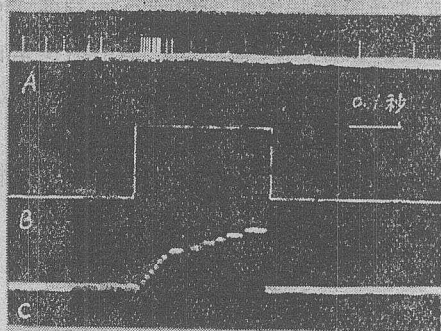


图 11 用模拟电压表示神经细胞对刺激的反应

- A. 猫外侧膝状体神经元的自发放电和对闪光刺激的反应；B. 控制方波的位置和宽度；C. 经过数-模转换后，对闪光反应的模拟电压图形，图形的斜率表示神经脉冲的密度。本图也可用“采样输出”的方式来表示（参看图 1g）

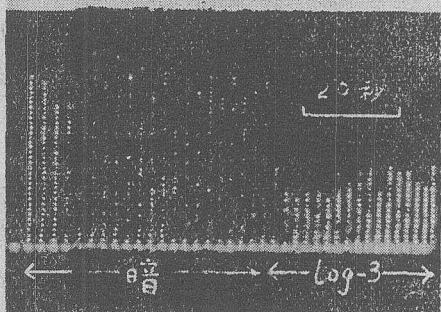


图 12 一个猫外侧膝状体神经元在不同亮度下，细胞持续放电的“脉冲-时间序列图”

Y 轴竖线的高度代表单位时间(1 秒)内细胞放电数，线上的每一个亮点相对于一个放电脉冲；X 轴代表时间。控制方波序列：波宽 1 秒，间隔 1 秒

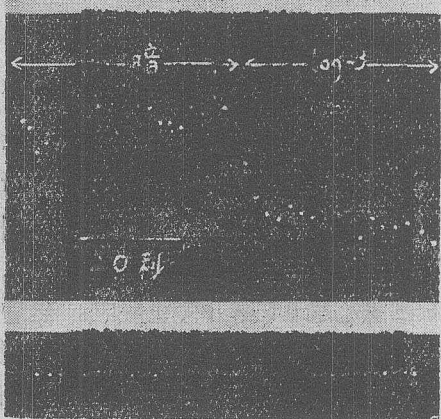


图 13 同图 12。用“采样输出”方式显示的“脉冲-时间序列图”

图 14 用刺激器输出的控制方波序列推动示波器产生阶梯式扫描

每一个亮点相对于一个控制方波