

# 神经元放电行为动态特征的光相位表征方法

陈志亚<sup>1</sup>, 季颖<sup>1</sup>, 唐文波<sup>1</sup>, 张明明<sup>2</sup>, 徐媛媛<sup>1</sup>, 王亚伟<sup>1</sup>

<sup>1</sup>江苏大学理学院, 江苏 镇江 212013;

<sup>2</sup>江苏大学机械工程学院, 江苏 镇江 212013

**摘要** 神经元是生物神经系统结构与功能的基本单位,它通过放电活动对信息进行编码、传递和整合,在生命活动中起到重要作用;基于神经元放电活动的动力学本质和相位成像技术,探讨对活细胞及其内部亚结构进行无损、免标记成像的方法,根据神经元模型的相位信息对其静态形态特征和放电行为的动态表征进行研究;运用光学成像仿真技术建立神经元相位模型并获得其相位分布信息,从相位函数的物理意义出发分析模型的亚结构特征;考虑放电活动中样品胞内离子浓度变化对其折射率及相位信息的动态影响,初步探讨用相位信息直观表征该动态过程的方法;对于该较复杂的非均质相位体模型,引入异质对比补偿思想,免相位解耦地获得样品亚结构局部的静态形态信息及其动态放电活动的相位表征结果,并通过仿真分析验证该方法的有效性。结果表明,神经元放电特征及其形态的光相位表征方法具有无损、免标记、可定量的优势。

**关键词** 生物光学; 光相位; 异质对比补偿法; 神经元; 折射率

中图分类号 Q233

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201845.0607001

## Optical Phase Characterization Method for Dynamic Characteristics of Neuronal Discharge

Chen Zhiya<sup>1</sup>, Ji Ying<sup>1</sup>, Tang Wenbo<sup>1</sup>, Zhang Mingming<sup>2</sup>, Xu Yuanyuan<sup>1</sup>, Wang Yawei<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Science, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China;

<sup>2</sup>School of Mechanical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China

**Abstract** As basic units of structure and function of the biological nervous system, neurons encode, transmit, and integrate information through discharge activities neuron, plays an important role in life activities. Based on the dynamic nature of neuronal discharge activity and phase imaging technique, we discuss nondestructive and label free imaging method for living cells and their inner substructure. According to phase information of neuron model, we study the characteristics of static morphology and dynamic discharge activities. The optical imaging simulation technique is used to establish the neuron phase model and obtain the information of its phase distribution. Starting from the physical meaning of the phase function, the substructure of the model is analyzed. Considering dynamic effect of the change of intracellular ion concentration in discharge activities on refractive index and phase information, the method of visualizing the dynamic process with phase information is discussed preliminarily. For the complex heterogeneous phase volume model, the local static morphological information on the substructure and phase characterization result of dynamic discharge activity on the sample are obtained without phase decoupling by introducing the heterogeneous contrastive compensation idea. The availability of the method is verified by simulation analysis. The results show that the optical phase characterization method for neuronal discharge characteristics and morphology is nondestructive, label-free, and quantifiable.

**Key words** biotechnology; optical phase; heterogeneous contrastive compensation method; neuron; refractive index

**OCIS codes** 170.3880; 100.2960; 100.3008

收稿日期: 2017-09-19; 收到修改稿日期: 2017-12-08

基金项目: 国家自然科学基金(11474134, 11374130, 11604127)、江苏省“六大人才高峰”项目(2015-DZXX-023)

作者简介: 陈志亚(1994—), 女, 硕士研究生, 主要从事生物细胞形态及动态行为的光学检测方面的研究。

E-mail: 464620328@qq.com

导师简介: 季颖(1978—), 女, 教授, 硕士生导师, 主要从事生物细胞形态及动态行为的光学检测方面的研究。

E-mail: jy@ujs.edu.cn(通信联系人)

## 1 引言

神经元是神经系统的基本结构,具有接收外界刺激、传递和处理信息的功能,是大脑信息处理的基本单位。各种神经元在形态、体积上各不相同,但都具有相似的结构和基本特性。神经元的基本构成包括胞体及从胞体发出的2种突起——树突和轴突。一般胞体近似圆形,内有细胞核和线粒体等细胞器。树突和轴突分别是神经元信号传入和传出的主要部位。轴突一般直接从胞体发出,直径在延伸过程中基本保持一致,很少形成分支<sup>[1]</sup>。神经元放电活动对神经网络信息编码和传递具有重要作用,而且神经元的形态特征识别在很多科学领域的研究和应用中也有重大意义。神经元放电活动的本质是细胞内外离子的交换<sup>[2]</sup>,同时伴随着神经元形态特征的变化<sup>[3]</sup>。膜片钳技术作为研究离子通道的重要手段被广泛使用,但其实验操作要求高且通量低,传统的细胞分离培养方法已不能满足膜片钳实验的要求。随着光学检测技术在生物学领域的不断发展,多种光学成像技术逐渐被广泛应用。例如,钙成像技术<sup>[4]</sup>常被用于监测神经元内部钙离子的动态,但是该技术需要对样品进行标记,并且钙离子指示剂可能会对细胞的活动产生影响。内源信号的脑功能光学成像<sup>[5]</sup>能有效地探索大脑功能,但是其易受呼吸、心跳、血管周期性搏动等的影响,信噪比较低。Li等<sup>[6]</sup>提出了光学切片断层技术,通过该技术可以获得目前最为精细的小鼠全脑神经元三维(3D)连接图谱,该技术主要针对的是大量神经元的连接,对单个神经元的动态活动关注较少。

对于活细胞动态情况的监测<sup>[7]</sup>,定量相位显微成像技术<sup>[8-9]</sup>显示出了明显优势。该技术利用透明物体(如细胞)的相移特性对其物理特性进行定量研究,具有免标记、非侵入、无损伤的特点,可用于长时

间观察细胞和研究细胞生长等动态过程,已有研究人员借助该技术成功地研究了红细胞等均质细胞的各种形态和动态活动。Popescu等<sup>[10]</sup>利用结合相差显微与相移技术的傅里叶相位显微技术(FPM)实现了对红细胞的清晰成像<sup>[10]</sup>,之后利用单次曝光的希尔伯特相位显微技术(HPM)研究了红细胞的形态及动力学<sup>[11]</sup>,随后利用结合了FPM几何共路和HPM单次曝光优点的衍射相位显微技术(DPM)成功地研究了红细胞膜运动及其运动的空间和时间相干性<sup>[12]</sup>。Cintora等<sup>[13]</sup>提出可采用空间光干涉显微技术(SLIM)来定量研究神经元结构, Lee等<sup>[14]</sup>利用该技术对超过1周的神经元的生长情况进行了检测。考虑到神经元放电活动受多重因素的共同调制,而目前传统的神经元放电节律模式动力学研究在多参数分析手段方面有诸多不足,本文将相位显微技术运用到神经元放电活动的动力学特征研究中,运用光学仿真技术建立神经元相位模型,采用直观可视的手段分析神经元瞬态亚结构特征和折射率变化对相位分布的影响。

## 2 神经元模型相位特征分析

## 2.1 神经元基本模型及其静态相位分布

根据小鼠大脑神经元的相关参数和实际形态<sup>[15-19]</sup>,建立了包含细胞体、轴突和树突等基本结构的简化神经元模型,如图1所示。该模型的主体沿 $z$ 轴向上依次为树突、胞体和轴突。树突在 $z$ 轴上的底面中心为坐标原点,胞体是一个含有细胞核和线粒体的球形细胞,细胞核中心坐标为 $(1.5 \mu\text{m}, 0 \mu\text{m}, 10 \mu\text{m})$ ,线粒体中心坐标为 $(-5 \mu\text{m}, 0 \mu\text{m}, 19.5 \mu\text{m})$ 。树突是直径为 $2 \mu\text{m}$ 、长度为 $5 \mu\text{m}$ 的圆柱体,轴突是直径为 $1 \mu\text{m}$ 、长度为 $25 \mu\text{m}$ 的圆柱体,细胞体是直径为 $30 \mu\text{m}$ 的球体,细胞核是直径为 $8 \mu\text{m}$ 的球体,线粒体是沿 $x$ 、 $y$ 、 $z$ 轴方向半轴长分

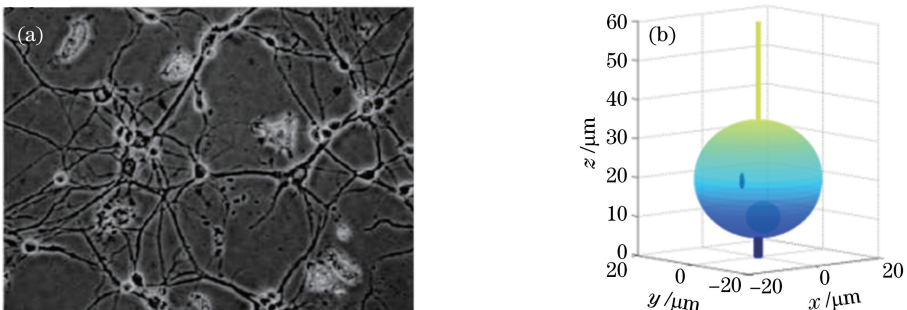


图1 神经元的(a)实际形态<sup>[15]</sup>和(b) 3D简化模型

Fig. 1 (a) Practical morphology<sup>[15]</sup> and (b) 3D simplified model of neurons

别为  $0.5, 0.5, 2 \mu\text{m}$  的椭球体。基于电磁波传输理论,应用 VirtualLab™ 系统进行样品相位成像的仿真实验。取光源波长  $632.8 \text{ nm}$ , 设光线沿  $z$  轴方向入射, 细胞核、线粒体以及环境液的折射率分别设为  $1.45, 1.39$  和  $1.33$ , 设细胞质、树突和轴突的折射率相同, 均为  $1.365$ 。下面对模型的相位信息进行分析。

图 2(a) 所示为光沿  $z$  轴方向入射后, 在  $xoy$  面上得到的二维(2D)解包裹相位图; 图 2(b) 所示为 3D 解包裹相位。结合图 1 所示的模型分析和图 2 可知, 细胞相位分布与其形态特征密切相关。图 2(a) 中对应的大圆即为胞体的 2D 解包裹相位, 图 2(b) 中的树突、轴突与细胞核不同轴, 这些均与模型的设置吻合; 但是相位函数中光程整体的积分作用使得样品的物理厚度与折射率信息耦合在一起, 无法从相位分布图中直接获得样品的亚结构形态信息和折射率分布, 而

由相位函数  $\phi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} \int_0^{h(x,y)} [n_c^z(x, y, z) - n_0] dz$  [其中  $\lambda$  为光源波长,  $h(x, y)$  为样品轴向物理厚度,  $n_0$  为培养液的折射率,  $n_c^z(x, y, z)$  为细胞质的折射率]<sup>[20]</sup> 可知, 相位梯度  $\text{grad}(P) = \frac{\partial P}{\partial x}i + \frac{\partial P}{\partial y}j + \frac{\partial P}{\partial z}k$  (其中  $P$  为细胞相位分布) 对折射率的变化敏

感, 细胞各组成部分往往具有特定的折射率, 并且各不相同, 因此相位梯度 [如图 3(a) 所示] 也就可以表征细胞的亚结构边界 (即梯度值变化处), 这在微分干涉对比显微技术 (DIC)<sup>[21]</sup> 中已经得以验证。考虑到梯度分布的阴影问题, 为了使细胞亚结构边界更清晰, 对上述相位的横向一阶偏导取绝对值, 获得相应的神经元相位梯度绝对值分布, 如图 3(b) 所示。从图 3(b) 中可以直观、清楚地观察到样品各部分 (如胞体、线粒体、细胞核等) 在入射方向上的边界投影。为了直观地反映定量信息, 取图 3(a) 中模型相位梯度沿  $A$  方向截面的曲线, 如图 3(c) 所示 ①~⑥ 表示神经元模型各亚结构边界折射率发生变化的点。由于相位梯度是根据前向差分的定义计算得到的, 在  $A$  方向上, 光线依次穿过培养液、细胞质、线粒体、细胞核、树突和轴突, 然后穿过树突、轴突、细胞核、细胞质和培养液, 因此折射率的值也发生相应的变化。由于光线在穿过细胞时的折射率会发生增大或减小, 因此相位梯度在横向曲线图中有正值和负值。根据前向差分的概念, 当光经过样品时, 相位梯度的变化由折射率的变化决定。而折射率经历了 6 次增大和 6 次减小的变化, 且增加量与减小量相等, 这恰好与相位梯度横向曲线中的 12 次波动对应。

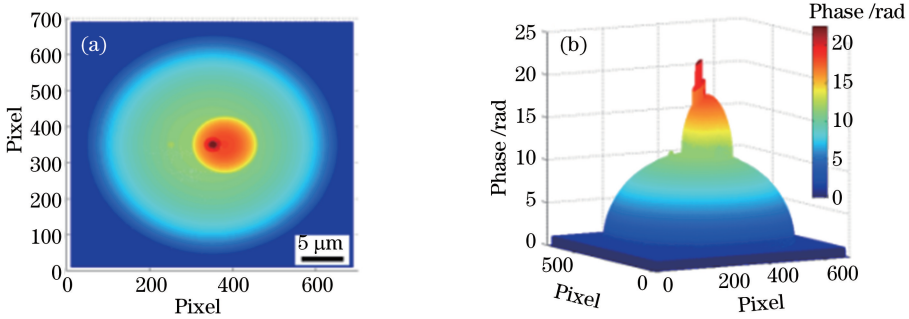


图 2 神经元模型在  $z$  轴方向的 (a) 2D 和 (b) 3D 解包裹相位

Fig. 2 (a) 2D and (b) 3D unwrapping phases of neuron model along  $z$  axis

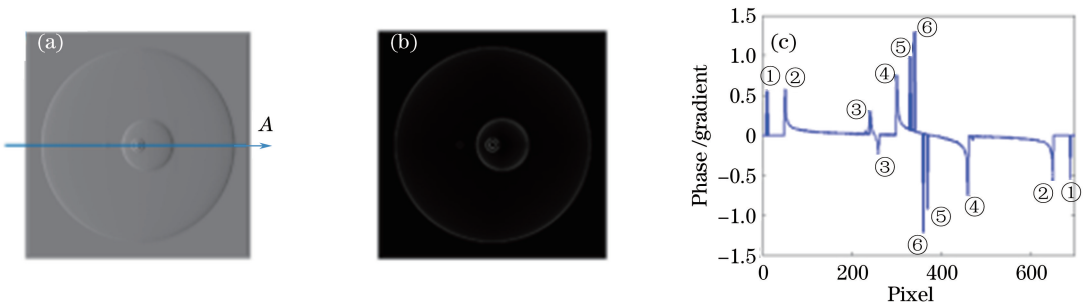


图 3 神经元的相位。 (a) 梯度分布; (b) 梯度绝对值分布; (c) 梯度横向曲线

Fig. 3 Phase of neuron. (a) Gradient distribution; (b) absolute value of gradient; (c) horizontal gradient curve

对照样品模型,从图 3(b)中可以直观、清楚地观察到胞体、线粒体、细胞核、树突和轴突在光照射方向上的形态投影。

表 1 所示为入射方向上模型的相位梯度突变点之间的距离,其中相邻 2 个点之间的距离是通过比例变换(即平面波照射模型范围大小与其相位图像显示像素大小的比值)计算得到的神经元模型参数值。由表 1 可知,突变点之间的距离与所设参数基本吻合。基于这些定量信息,可以快速检测细胞的亚结构边界轮廓,对神经元的形态特征及其在生理活动中的变化情况进行判断,进而区分其种类。需要指出的是,作为该形态特征分析方法有效性的说明,本文仅列举了由单一方向的相位信息进行分析的情形,实际上对于神经元这一类形态结构复杂的样品,需要采集多个方向的相位分布信息才能确定其形态特征,并且具体采集角度和采集数量需要根据样品情况和检测要求而定。

表 1 入射方向上神经元模型的相位梯度突变点之间的距离  
Table 1 Distance between phase gradient mutation points of neuron model in incident direction

Corresponding point	Distance between two points / $\mu\text{m}$	Parameter
①-①	34.92	—
②-②	29.92	30 $\mu\text{m}$ (Soma diameter)
③-③	0.90	1 $\mu\text{m}$ (Length of mitochondria in $x$ direction)
④-④	7.91	8 $\mu\text{m}$ (Nucleus diameter)
⑤-⑤	2.00	2 $\mu\text{m}$ (Dendritic diameter)
⑥-⑥	1.00	1 $\mu\text{m}$ (Axon diameter)

## 2.2 折射率变化对细胞相位特征的动态影响

神经元放电活动模式除了与细胞的形态特征有关,其本质为细胞内外的离子交换<sup>[2]</sup>。胞浆内的离子浓度的变化会引起胞液折射率的变化,从而改变样品相位信息。这为通过相位信息的变化表征神经元放电活动提供了物质基础和客观依据。为了分析折射率变化对细胞相位特征的调制作用,并且考虑到动态分析对采样点的稳定性和多样性的要求,选取样品的轴向亚结构边界点(即相位梯度突变点)作为监测点,例如,图 3(c)中相位梯度横向曲线中的标记点③、④、⑤、⑥。

在神经元折射率参数的选取方面,根据 Popescu 课题组<sup>[16-18]</sup>通过空间光干涉层析成像技术(SLIT)得到的活神经元的折射率分布(如图 4 所示),设置细胞质、树突和轴突的折射率相同,其变化

范围为 1.356~1.367,且在仿真分析中以 0.001 为步长来改变其量值,通过观察相应折射率下样品整体相位以及各监测点相位的变化来研究样品相位对折射率变化的表征。

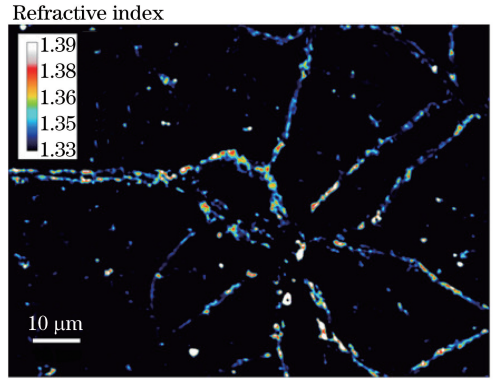


图 4 活神经元折射率分布

Fig. 4 Refractive index distribution through live neuron

图 5(a)~(h)所示为细胞质、树突和轴突的折射率在 1.356~1.367 内变化时  $xoz$  面上的样品解包裹相位,为了显示相位分布的动态变化,以 10 rad 为参考值(虚线所示),由相位图中表征样品胞体相位的曲面与参考线之间的位置关系,以及表征树突和轴突的斜柱体矩形切面长度的变化可明显反映出样品的相位变化。图 5(i)所示为各监测点(各组标记点中左边的点)的相位值随折射率的变化。理论上,由相位函数的定义,当入射波长、周边介质折射率和样品物理厚度一定时,样品引起的相移量应与其自身折射率呈线性关系,这与图 5(i)中所示的仿真结果相吻合。

此外,考虑到神经元形态结构的复杂多样性,功能也因细胞内部细胞器的不同而各不相同,而在样品整体相位分布中,各亚结构相关信息都耦合在一起难以区分,不利于单独观察,对观察细胞内部结构产生了影响,因此下面采用异质对比补偿的方法将样品整体相位分布分解,对神经元的形态结构及动态特征进行具体分析。

## 3 基于异质对比补偿法的亚结构局部分析

### 3.1 异质对比补偿法的原理

神经元往往包含细胞核和线粒体等细胞器,各部分有不同的折射率,属于非均质相位体。根据相位函数  $\phi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} \int_0^{h(x, y)} [n_c^z(x, y, z) - n_0] dz$ <sup>[20]</sup>,非均质样品整体引起的轴向相移为

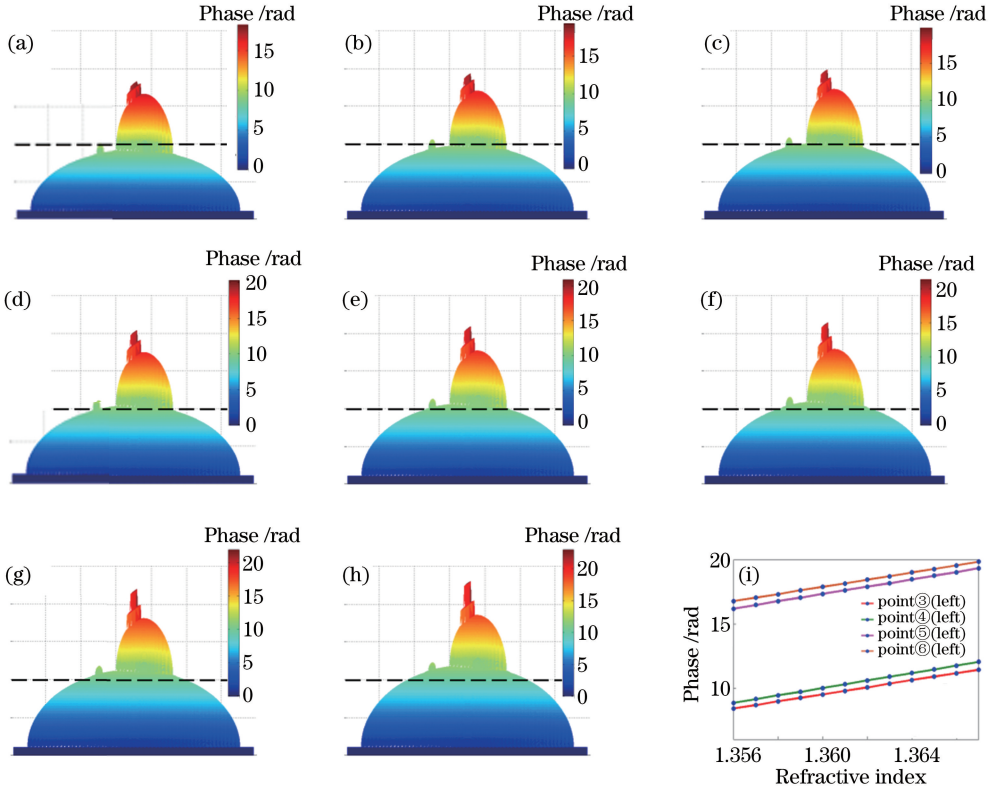


图 5 (a)~(h)神经元折射率为 1.356~1.367 时的相位;(i)监测点相位值与折射率的关系

Fig. 5 (a)-(h) Phases with neuron refractive indexes in range of 1.356-1.367; (i) relationship between phase value of monitoring point and refractive index

$$\phi_0(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} \left\{ \int_0^{h_n(x, y)} [n_n - n_c^z(x, y, z)] dz + \int_0^{h_c(x, y) - h_n(x, y)} [n_c^z(x, y, z) - n_m] dz \right\}, \quad (1)$$

式中:  $n_m$  为周围培养液的折射率;  $n_n$  为细胞核的平均折射率;  $h_c(x, y)$  为细胞沿  $z$  轴方向的物理厚度;  $h_n(x, y)$  为细胞核沿  $z$  轴方向的物理厚度。为了更清楚地表征神经元的静态和动态相位特征, 采用异质对比补偿的方法解构样品的亚结构, 即将样品内部的折射率均设为  $n_c^z(x, y, z)$ , 则由该既定样品引起的基准补偿相移量为

$$\phi_1(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} \int_0^{h_c(x, y)} [n_c^z(x, y, z) - n_m] dz. \quad (2)$$

将  $\phi_0(x, y)$  和  $\phi_1(x, y)$  进行相减运算, 得到

$$\Delta\phi(x, y) = \phi_0(x, y) - \phi_1(x, y) =$$

$$\frac{2\pi}{\lambda} \left[ (n_m + n_n) h_n(x, y) - \int_0^{2h_n(x, y)} n_c^z(x, y, z) dz \right], \quad (3)$$

式中:  $\Delta\phi(x, y)$  为样品整体轴向相移与既定样品的基准补偿相移量的差值, 即样品因内部细胞核的存在而引起的轴向相移差。

简言之, 异质对比补偿法的思想即为将神经元内部亚结构所占空间的折射率  $n_n$  用胞质折射率  $n_c^z(x, y, z)$  补偿, 再将神经元整体相位  $\phi_0(x, y)$  与补偿后的细胞相位  $\phi_1(x, y)$  进行对比, 两者的相对相位差  $\Delta\phi(x, y)$  即为神经元亚结构的相对相位。

为了计算方便, (3) 式中  $n_c^z(x, y, z)$  可用轴向平均折射率  $n_c(x, y)$  代替, (3) 式可简化为

$$\Delta\phi(x, y) = \frac{2\pi}{\lambda} [n_m + n_n - 2n_c(x, y)] h_n(x, y). \quad (4)$$

由(4)式可以看出, 当细胞质轴向平均折射率  $n_c(x, y)$  一定时,  $\Delta\phi(x, y)$  仅与细胞核折射率和轴向物理厚度有关。测得细胞整体的实际相移  $\phi_0(x, y)$  和均质既定样品的相移  $\phi_1(x, y)$ , 可以根据相对相移量  $\Delta\phi(x, y)$  计算得到细胞核的相对光学厚度  $\Delta S(x, y)$ , 即

$$\Delta S(x, y) = \frac{\lambda}{2\pi} \Delta\phi(x, y) = [n_m + n_n - 2n_c(x, y)] h_n(x, y). \quad (5)$$

需要指出的是, 相对光学厚度并不是真实的, 仅是细胞核与细胞质折射率之差沿细胞核轴向引起的相对光学厚度。

在实际应用中,样品引起的相移  $\phi_0(x, y)$  可以通过细胞的相位成像得到,基准补偿相移  $\phi_1(x, y)$  可以设置细胞质的平均折射率  $n_c(x, y)$  和细胞体整体轴向物理厚度  $h_c(x, y)$  后通过软件仿真模拟得到。细胞体轴向物理厚度  $h_c(x, y)$  可通过共聚焦反射显微技术 (CRM)<sup>[22]</sup> 或双介质定量测量技术 (DQM)<sup>[23]</sup> 获得。

### 3.2 异质对比补偿法有效性的验证

为了验证上述分析方法的有效性,对物理参数已知的样品进行仿真分析。使用如图 6(a) 所示的

模型,令培养液折射率为 1.33,为了方便表述,设胞体、树突和轴突的折射率为  $n_c = 1.36$ ,细胞核和线粒体折射率为 1.45。图 6(d) 所示为将细胞内部的折射率都设置为  $n_c$  的基准补偿相位体模型。取光源波长 632.8 nm,令光线沿  $z$  轴入射,模拟得到的样品包裹相位图分别如图 6(b) 和图 6(e) 所示。对图 6(b) 和图 6(e) 进行解包裹运算,得到的解包裹 3D 相位分布图分别如图 6(c) 和图 6(f) 所示。由图 6(c) 可知,细胞内、外部所有结构特征都耦合在一起,难以区分,影响了对细胞内部结构的观察。

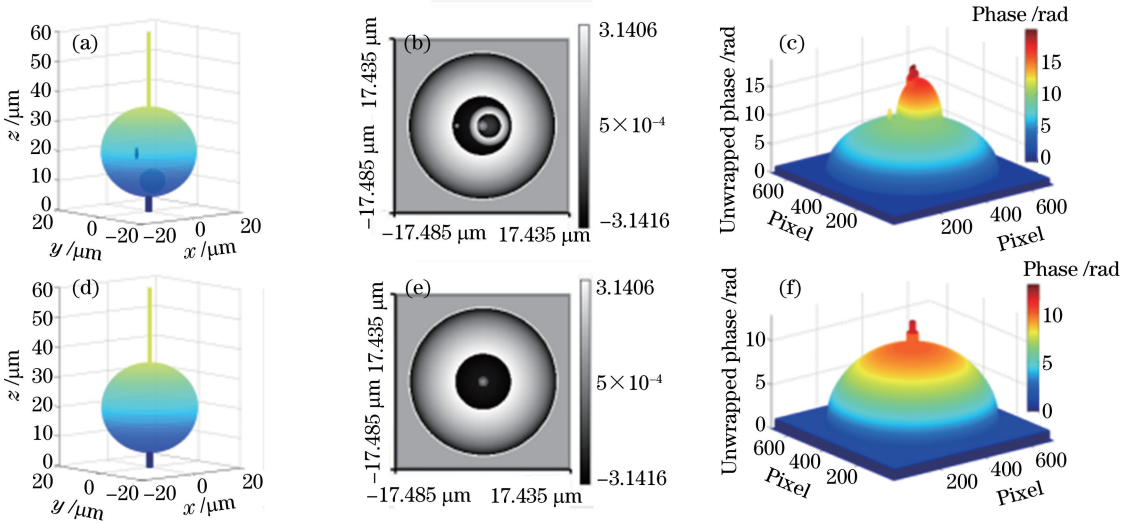


图 6 补偿前神经元的(a)模型、(b)包裹相位和(c)解包裹相位;补偿后神经元的(d)模型、(e)包裹相位和(f)解包裹相位

Fig. 6 (a) Model, (b) wrapped phase, and (c) unwrapped phase of neuron before compensation; (d) model, (e) wrapped phase, and (f) unwrapped phase of neuron after compensation

对图 6(c) 和图 6(f) 所示的相位值进行相减处理,得到的样品内部线粒体和细胞核的解包相位  $\Delta\phi$ ,如图 7(a) 所示。图 7(b) 所示为根据(5)式计算得到的样品内部线粒体和细胞核的光学厚度  $\Delta S$ 。相对于图 6(c),图 7(a) 和图 7(b) 更清晰地展现了细胞内部结构的特性。

为了定量验证该方法的有效性,设细胞核的折射率  $n_n$  为已知的定值,则可以计算出细胞核轴向物理厚度:

$$h_n(x, y) = \frac{\lambda \Delta\phi(x, y)}{2\pi[n_m + n_n - 2n_c(x, y)]} \quad (6)$$

图 7(c) 所示为将细胞各部分折射率的值代入(6)式得到的样品内部线粒体和细胞核的物理厚度分布。图 7(d) 所示为通过补偿分析计算得到的样品内部结构的物理厚度值与模型参数设定值的比较。由图 7(d) 可知,两者基本吻合,只是在底部基底处有一定的误差,这是由于采用 VirtualLab<sup>TM</sup> 软件建模,根据其应用原理,较复杂的样品由多个部分

拼接而成,因此在相位相减时引入了一定的误差。当实际样品为连续的整体时可避免该误差。

### 3.3 基于异质对比补偿法的样品动态表征

由于相位函数同时包含了样品的物理厚度和折射率信息,因此无论是物理厚度还是折射率的变化都可以通过相位分布的变化体现出来。考虑到神经元放电时其形态变化相对于胞内离子浓度的变化为慢现象<sup>[24]</sup>,因此仅讨论由离子浓度变化引起折射率变化时样品的相位分布动态表征。采用的模型仍如图 6(a) 所示。设置细胞质、树突和轴突的折射率为 1.356~1.367,且按步长为 0.001 逐渐增加。培养液折射率为 1.33,细胞核和线粒体折射率为 1.45。

图 8(a)~(h) 所示为细胞质、树突和轴突折射率为 1.356~1.367 时,通过数值运算得到的细胞核和线粒体相位分布,其中左边表征的是线粒体的相移,右边表征的是细胞核的相移,虚线表示固定参考值,由左边图形逐渐远离参考线和右边图形在参考线处颜色的变化可明显反映出样品的相位变化。

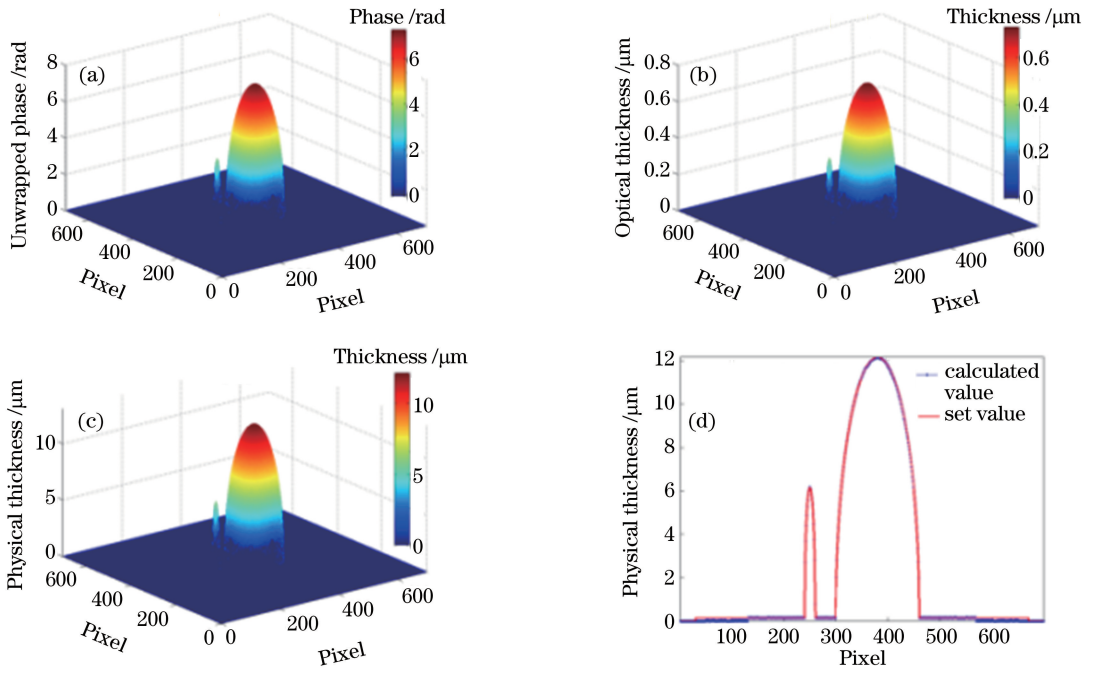


图 7 样品内的细胞核与线粒体。(a)解包裹相位;(b)光学厚度;(c)物理厚度;(d)预测结果验证  
Fig. 7 Nucleus and mitochondria in sample. (a) Unwrapped phase; (b) optical thickness; (c) physical thickness; (d) verification of predicted result

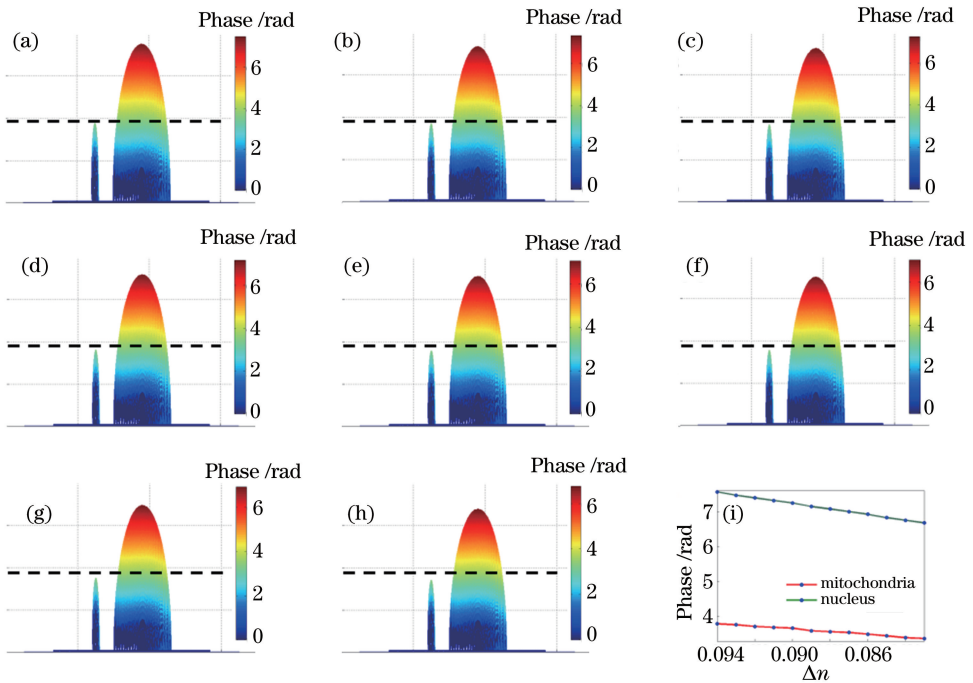


图 8 神经元亚结构的细胞核与线粒体。(a)~(h)细胞质折射率变化时的相位;(i)监测点相位值与折射率差值的关系  
Fig. 8 Nucleus and mitochondria of neuronal substructure. (a)-(h) Phases with refractive index variation of cytoplasm; (i) relationship between phase value of monitoring point and difference of refractive index

由图 8(a)~(h)可知,当细胞质、树突和轴突的折射率增大,即当线粒体和细胞核的折射率与其差值  $\Delta n$  逐渐减小时,线粒体与细胞核的相移逐渐减小。假定细胞核和线粒体部分为均质,取其各自的相位中

心点(相心)作为亚结构监测点。图 8(i)所示为细胞内部线粒体与细胞核相心处的相移量随  $\Delta n$  的变化情况。由图 8(i)可知,细胞内线粒体和细胞核的相移与  $\Delta n$  呈线性变化关系。也就是说,线粒体和细

胞核的相移量与折射率的变化呈正相关,这样就可以通过监测样品的相位变化来表征其内部折射率的变化,从而直观地表征离子浓度的变化。

## 4 结 论

本文基于神经元放电活动的物质本质和动力学特点,从膜电位、离子浓度、折射率、相位分布的内在关系入手,运用光相位成像技术研究神经元模型光相位信息分布及其对折射率动态变化的表征。基于神经元基本结构建立了相位模型,获得了其在入射方向上的光相位分布信息,并通过相位梯度等相关函数的计算,根据模型的轴向亚结构边界的信息分析出样品的形态结构特征。基于神经元放电活动的本质是胞内离子浓度的变化,以样品折射率的变化为基础,将其在相应相位信息中直观表征出来,为后续研究用相位参量描述神经元放电活动提供了一定基础。针对具有复杂亚结构的样品,引入异质对比补偿的思想,给出了相应亚细胞结构局部的静态和动态分析,并且避免了繁琐的相位信息解耦运算。上述基于光相位成像的分析方法可为神经元放电活动的原态直观监测提供一种新的思路。该方法目前尚处于理论与仿真分析阶段,相对于神经元的实际结构,采用的模型较为简单且仅考虑了胞体折射率呈线性变化的情形,尚有一定的局限性,后续将在实验和理论两方面进一步开展研究。

## 参 考 文 献

- [1] Ju G, Wu S X. Neurobiology [M]. Xi'an: The Fourth Military Medical University Press, 2015: 27-45.  
鞠躬, 武胜昔. 神经生物学[M]. 西安: 第四军医大学出版社, 2015: 27-45.
- [2] Hodgkin A L, Huxley A F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve [J]. Bulletin of Mathematical Biology, 1990, 52(1/2): 25-71.
- [3] Wu W N, Ren N, Wang Z H, *et al.* *In vitro* cultivation and identification of goat dorsal root ganglia cells [J]. Chinese Veterinary Science, 2011, 41(9): 941-944.  
吴卫妮, 任妮, 王志豪, 等. 山羊背根神经节神经细胞的原代培养及鉴定 [J]. 中国兽医科学, 2011, 41(9): 941-944.
- [4] Namiki S, Sasaki T, Matsuki N, *et al.* Regional difference in stainability with calcium-sensitive acetoxymethyl-ester probes in mouse brain slices [J]. International Journal of Neuroscience, 2009, 119(2):

214-226.

- [5] Lu Y D, Lu Y L, Chen Y, *et al.* Progress in image processing methods of optical imaging based on intrinsic signals [J]. Chinese Journal of Biomedical Engineering, 2012, 31(6): 934-940.  
陆云达, 陆一樑, 陈垚, 等. 基于内源信号的脑功能光学成像图像处理方法研究进展 [J]. 中国生物医学工程学报, 2012, 31(6): 934-940.
- [6] Li A A, Gong H, Zhang B, *et al.* Micro-optical sectioning tomography to obtain a high-resolution atlas of the mouse brain [J]. Science, 2010, 330(6009): 1404-1408.
- [7] Xiong J W, Chen L, Liu M S, *et al.* An optical manner for estimation viability of cells based on their morphological characteristics [J]. Journal of Optoelectronics • Laser, 2005, 16(12): 1514-1519.  
熊建文, 陈丽, 刘明胜, 等. 基于形态学特征的细胞活性无损检测新方法研究 [J]. 光电子 • 激光, 2005, 16(12): 1514-1519.
- [8] Xu Y Y, Wang Y W, Jin W F, *et al.* New progress on quantitative phase microscopy and phase retrieval for biological cells [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2014, 51(2): 020006.  
徐媛媛, 王亚伟, 金卫凤, 等. 生物细胞定量相位显微技术及相位恢复方法的新进展 [J]. 激光与光电子学进展, 2014, 51(2): 020006.
- [9] Zuo C, Chen Q, Sun J S, *et al.* Non-interferometric phase retrieval and quantitative phase microscopy based on transport of intensity equation: a review [J]. Chinese Journal of Lasers, 2016, 43(6): 0609002.  
左超, 陈钱, 孙佳嵩, 等. 基于光强传输方程的非干涉相位恢复与定量相位显微成像: 文献综述与最新进展 [J]. 中国激光, 2016, 43(6): 0609002.
- [10] Popescu G, Deflores L P, Vaughan J C, *et al.* Fourier phase microscopy for investigation of biological structures and dynamics [J]. Optics Letters, 2004, 29(21): 2503-2505.
- [11] Popescu G, Ikeda T, Best C A, *et al.* Erythrocyte structure and dynamics quantified by Hilbert phase microscopy [J]. Journal of Biomedical Optics, 2005, 10(6): 060503.
- [12] Popescu G, Park Y, Dasari R R, *et al.* Coherence properties of red blood cell membrane motions [J]. Physical Review E, 2007, 76(3): 031902.
- [13] Cintora P, Arikath J, Kandel M, *et al.* Cell density modulates intracellular mass transport in neural networks [J]. Cytometry Part A, 2017, 91(5): 503-509.
- [14] Lee Y J, Cintora P, Arikath J, *et al.* Quantitative assessment of neural outgrowth using spatial light interference microscopy [J]. Journal of Biomedical



- Optics, 2017, 22(6): 066015.
- [15] Weng Q F. The primary culture of neurons in the cerebral cortex of newborn mice[J]. Guide of China Medicine, 2013, 11(20): 87-88.  
翁启芳. 新生大鼠大脑皮层神经元的原代培养[J]. 中国医药指南, 2013, 11(20): 87-88.
- [16] Wang Z, Chun I S, Li X, *et al.* Topography and refractometry of nanostructures using spatial light interference microscopy[J]. Optics Letters, 2010, 35(2): 208-210.
- [17] Wang Z, Marks D L, Carney P S, *et al.* Spatial light interference tomography (SLIT) [J]. Optics Express, 2011, 19(21): 19907-19918.
- [18] Wu H, Williams J, Nathans J. Complete morphologies of basal forebrain cholinergic neurons in the mouse[J]. Elife, 2014, 3(4): e02444.
- [19] Ouyang L T, Wang D Y, Zhao J, *et al.* Experimental study on the phase-contrast imaging of the living hippocampal neuron cells by digital holographic microscopy [J]. Chinese Journal of Lasers, 2013, 40(9): 0909001.  
欧阳丽婷, 王大勇, 赵洁, 等. 老鼠大脑海马区神经元活细胞的数字全息相衬成像实验研究[J]. 中国激光, 2013, 40(9): 0909001.
- [20] Popescu G. Chapter 5 quantitative phase imaging of nanoscale cell structure and dynamics[J]. Methods in Cell Biology, 2008, 90: 87-115.
- [21] O'Sullivan J A, Preza C. Alternating minimization algorithm for quantitative differential-interference contrast (DIC) microscopy[C]. SPIE, 2008, 6814: 68140Y.
- [22] Lue N, Choi W, Popescu G, *et al.* Live cell refractometry using Hilbert phase microscopy and confocal reflectance microscopy[J]. The Journal of Physical Chemistry A, 2009, 113(47): 13327-13330.
- [23] Rappaz B, Barbul A, Emery Y, *et al.* Comparative study of human erythrocytes by digital holographic microscopy, confocal microscopy, and impedance volume analyzer[J]. Cytometry Part A, 2008, 73A(10): 895-903.
- [24] Pavillon N, Benke A, Boss D, *et al.* Cell morphology and intracellular ionic homeostasis explored with a multimodal approach combining epifluorescence and digital holographic microscopy [J]. Journal of Biophotonics, 2010, 3(7): 432-436.