

# 动作电位编码光学二次谐波快速检测 神经纤维膜电位动力学

杨洪钦 陈新光 黄义梅 罗志慧 李 晖 谢树森

(福建师范大学激光与光电子技术研究所 医学光电科学与技术教育部重点实验室,  
福建省光子技术重点实验室, 福建 福州 350007)

**摘要** 神经纤维膜电位动力学特性与神经信息的传导和编码密切相关。目前,传统电生理测量方法无法同时对膜上多个部位的动作电位进行快速检测。利用非线性光学二次谐波方法,通过数学建模,研究了髓鞘神经纤维动作电位编码的二次谐波信号特征及其检测灵敏性,并将其用于分析由压力引起的神经纤维形态改变,包括轴突直径和髓鞘厚度的改变,实现神经传导信息变化的快速检测。发现神经纤维膜电位的变化可以通过光学二次谐波信号的特征来表征。当神经纤维严重脱髓时,其上的动作电位会产生明显的传输阻滞。结果表明光学二次谐波技术有望成为神经纤维损伤状态快速检测的一种有力手段。

**关键词** 生物光学;光学二次谐波;神经纤维;数值模拟;膜电位动力学

**中图分类号** Q336; O437 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS201232.0417001

## Membrane Potential Dynamics of Nerve Fibers Fast Probed by Action-Potential-Encoded Second Harmonic Generation

Yang Hongqin Chen Xinguang Huang Yimei Luo Zhihui Li Hui Xie Shusen

(Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology for Medicine of Ministry of Education,  
Fujian Provincial Key Laboratory for Photonics Technology, Institute of Laser and Optoelectronics Technology,  
Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350007, China)

**Abstract** Action potential dynamics of nerve fibers is related to the information conduction and code among neurons. Nowadays, traditional electrophysiologic approach still could not fast probe the action potential dynamics simultaneously at multiple positions on nerve fibers. Nonlinear optical second harmonic generation combined with mathematical modeling is used to study the characteristics of myelinated nerve fibers. The detected sensitivity of the method is analyzed at first, and then, the information changes induced by the changes in morphology including axonal diameter and myelin thickness on a myelinated nerve fiber under a compression are investigated. The results demonstrate that changes in membrane potential induced by a compression may be fast probed via second harmonic generation. Furthermore, the action potential conduction is blocked when severe demyelination happens on the nerve fiber. It is shown that optical second harmonic generation is a potential tool to evaluate the injured states of nerve fibers.

**Key words** biotechnology; optical second harmonic generation; nerve fiber; numerical simulation; membrane potential dynamics

**OCIS codes** 170.1790; 190.1900

## 1 引 言

神经细胞或神经元膜电位的动力学特性直接影响着神经元之间的信息通信性质。了解神经元膜电

位的动力学特性是探索人体复杂机体功能不可或缺的途径<sup>[1,2]</sup>。传统的膜片钳技术宏观上实现了对神经元离子通道离子电流的记录,它的发明和应用极

收稿日期: 2011-09-29; 收到修改稿日期: 2011-10-27

基金项目: 国家自然科学基金(60978071)和福建省自然科学基金(2010J01322)资助课题。

作者简介: 杨洪钦(1974—),男,博士,副教授,主要从事生物医学光学方面的研究。E-mail: hqyang@fjnu.edu.cn

大地促进了神经电生理学的发展。但是,由于人类神经元精细而又复杂的结构,膜片钳技术目前只能用于某些有限个离子通道的记录<sup>[2,3]</sup>,且无法实现对整个神经元膜电位动力学特性和动作电位传导特性的实时监测。

近年来,随着非线性光学成像技术的发展,光学显微术和生物成像水平得到了显著的提高<sup>[4~8]</sup>。二次谐波显微成像技术所具有的成像质量高、无损和无需染色等特点,为克服测量神经元膜电位动力学特性的传统方法中的不足提供了一种新颖的实验方法<sup>[9,10]</sup>,于是,利用动作电位编码的二次谐波信号进行无损细胞诊断或探测神经元细胞膜电位的动力学特性成为研究者关注的焦点,并成为神经电生理学领域研究的热点问题之一<sup>[3,11~19]</sup>。Moreaux等<sup>[13~15]</sup>详细描述了膜电位二次谐波感应材料的电光响应。Nuriya等<sup>[16]</sup>于2006年率先将二次谐波敏感染料FM4-64用于树突膜电位的成像,并给出了细胞膜上发色团的二次谐波信号与膜电位的线性关系。2007年,Jiang等<sup>[17]</sup>成功地进行了大脑皮质细胞膜电位的二次谐波成像,并进一步研究了相关的生物物理机制。2010年,Shneider等<sup>[18]</sup>从理论上探讨和分析了无髓鞘神经纤维动作电位编码的二次谐波信号,指出该二次谐波信号能够实现局部细胞膜电位动力学变化的超快速、高分辨率检测。本文将Shneider提出的方法拓展到髓鞘神经纤维,并将它用于分析由压力引起的神经纤维形态改变导致的神经传导信息变化的快速检测,研究结果可用于指导和分析细胞膜电位动力学二次谐波的实验测量,具有重要的临床参考价值。

## 2 理论模型

### 2.1 髓鞘神经纤维动作电位传输模型

为研究简便,只考虑髓鞘神经纤维由10个郎飞节(Ranvier nodes)和10段节间髓鞘组成,如图1所示。图中,①、②、⋯、⑩表示第*i*个郎飞节,M1、M2、⋯、M10表示第*i*段节间髓鞘。每个郎飞节和每段节间髓鞘的长度分别为2.5 μm和2 mm。

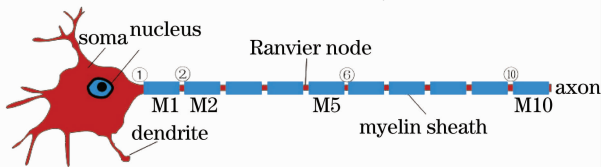


图1 髓鞘神经纤维示意图

Fig. 1 Diagram of a simplified myelinated nerve

神经纤维动作电位传输的常用模型是以经典Hodgkin-Huxley方程<sup>[20]</sup>为基础的数学模型。最近,Carpio等<sup>[21]</sup>在前人工作的基础上,对动作电位沿无髓纤维传输的Hodgkin-Huxley方程进行了改进,给出了动作电位沿髓鞘纤维的传输方程,即Myelinated Hodgkin-Huxley模型。根据该模型,髓鞘部分可看作绝缘的电缆,用如下偏微分方程来表示:

$$C \frac{\partial V}{\partial t} = \frac{\pi(d/2)^2}{R_i} \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} - \frac{V}{r}, \quad (1)$$

式中*V*为髓鞘上的电位差,*C*为单位长度髓鞘的电容,*R<sub>i</sub>*为神经纤维节间的内部轴向电阻,*r*为节间区径向电阻。

郎飞节上,采用Modified Hodgkin-Huxley模型<sup>[21~23]</sup>,即

$$C_m \frac{\partial V_i}{\partial t} = \frac{1}{r_m} \frac{\partial^2 V_i}{\partial x^2} - AI_{ion} - I_{ex}, \quad (2)$$

式中*V<sub>i</sub>*是第*i*个郎飞节上的膜电位,*C<sub>m</sub>*,*r<sub>m</sub>*和*A*分别是每个郎飞节处的膜电容、膜电阻和膜的面积。*I<sub>ex</sub>*是外部刺激电流,*I<sub>ion</sub>*是郎飞节上通过细胞膜的离子总电流,其表达式为

$$I_{ion} = g_{Na} m_i^3 h_i (V_i - V_{Na}) + g_K n_i^4 (V_i - V_K) + g_L (V_i - V_L), \quad (3)$$

式中*g<sub>Na</sub>*,*g<sub>K</sub>*和*g<sub>L</sub>*表示细胞膜上Na<sup>+</sup>通道,K<sup>+</sup>通道和漏电流通道的最大电导,*V<sub>Na</sub>*,*V<sub>K</sub>*和*V<sub>L</sub>*分别是Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>和漏电流的化学电位,可以根据Nernst方程得到。*m<sub>i</sub>*和*h<sub>i</sub>*分别是Na<sup>+</sup>通道的激活和失活控制因子,*n<sub>i</sub>*是K<sup>+</sup>通道的激活控制因子,满足如下方程:

$$\frac{dm_i}{dt} = \alpha_m (1 - m_i) - \beta_m m_i, \quad (4)$$

$$\frac{dh_i}{dt} = \alpha_h (1 - h_i) - \beta_h h_i, \quad (5)$$

$$\frac{dn_i}{dt} = \alpha_n (1 - n_i) - \beta_n n_i, \quad (6)$$

式中 $\alpha_w$ 和 $\beta_w$ ( $w=m,h,n$ )为根据Hodgkin-Huxley实验得到的经验公式,具体见文献<sup>[20]</sup>。

动作电位沿神经纤维传导时,由于压力等外部因素导致的神经纤维形态发生改变,诸如髓鞘厚度和内部轴突大小的改变<sup>[24,25]</sup>,将直接引起髓鞘电容和径向电阻的改变。其关系式表示如下<sup>[26,27]</sup>:

$$C = k_1 / \ln(D/d), \quad (7)$$

$$r = k_2 \ln(D/d), \quad (8)$$

式中*D*为神经纤维的外径(包含髓鞘),*d*为轴突内径,在无受损情况下,*D*和*d*分别为15 μm和10 μm。*k<sub>1</sub>*

和  $k_2$  分别是匹配系数, 其数值分别为  $(1.6 \text{ pF/mm}) \ln 1.43$  和  $(290 \text{ M}\Omega \cdot \text{mm}) / \ln 1.43$ <sup>[26]</sup>。其他相关参数主要参考文献[20~23, 26]。

## 2.2 动作电位编码的光学二次谐波

假设神经细胞膜上已经标记有超极化染料分子 FM4-64, 这种染料分子在强激光作用下产生二次谐波。根据非线性光学原理, 介质在强激光作用下, 电极化强度与辐射电场的关系可表示为

$$P = \chi^{(1)} E + \chi^{(2)} E^2 + \chi^{(3)} E^3 + \dots, \quad (9)$$

式中  $P$  为感应极化强度,  $E$  为入射光电场强度,  $\chi^{(i)}$  为第  $i$  阶极化率。其中  $\chi^{(2)} E^2$  为二次谐波非线性效应的根源。

当动作电位产生时, 由于动作电位大小为毫伏量级, 而细胞膜的厚度约为纳米量级, 则细胞双层膜的电场强度为兆伏每米量级以上。在这种情况下,  $\chi^{(3)}$  对二次谐波极化强度的影响不能忽略<sup>[5, 14~16]</sup>, 因此, 有效二阶极化率为<sup>[5]</sup>

$$\chi_{\text{eff}}^{(2)} \sim \chi^{(2)} + \chi^{(3)} E_m, \quad (10)$$

式中  $\chi^{(2)}$ ,  $\chi^{(3)}$  分别为二阶和三阶极化率,  $E_m$  为细胞双层膜电场强度且  $E_m = V_m / \delta_m$ ,  $V_m$  和  $\delta_m$  分别为膜电位的变化即动作电位大小和细胞膜厚度。因此, 二次谐波感应强度可表示为

$$P_{2\omega} \sim \chi_{\text{eff}}^{(2)} E_\omega E_\omega \sim \chi^{(2)} E_\omega E_\omega + \chi^{(3)} E_m E_\omega E_\omega, \quad (11)$$

二次谐波强度为

$$I^{\text{SHG}} \sim (|\chi^{(2)}|^2 + 2\chi^{(2)}\chi^{(3)}E_m + |\chi^{(3)}E_m|^2)E_\omega^4. \quad (12)$$

由于  $\chi^{(2)} \gg \chi^{(3)} E_m$ ,  $|\chi^{(3)} E_m|^2 \ll 2\chi^{(2)}\chi^{(3)} E_m$ , 因此  $|\chi^{(3)} E_m|^2$  可忽略不计。令  $\kappa = 2\text{Re}(\chi^{(2)}/\chi^{(3)})$ , 考虑超极化染料分子 FM4-64 在细胞膜上的偏离角度用有序参量  $\theta$  表示。(12)式的简化式, 即由超极化染料分子产生的二次谐波强度与动作电位的表达式可表示为<sup>[13~15, 18]</sup>

$$I^{\text{SHG}}(E_m) = I_0^{\text{SHG}} [1 + \kappa E_m (1 - \theta)], \quad (13)$$

式中  $I^{\text{SHG}}$  为任意时刻任意位置动作电位编码的二次谐波强度,  $I_0^{\text{SHG}}$  为未产生动作电位时的二次谐波强度。在动作电位沿神经纤维传输的过程中, 二次谐波强度的变化率可表示为

$$\frac{\Delta I^{\text{SHG}}}{I_0^{\text{SHG}}} = \frac{I^{\text{SHG}} - I_0^{\text{SHG}}}{I_0^{\text{SHG}}} = \kappa E_m (1 - \theta), \quad (14)$$

式中  $\Delta I^{\text{SHG}}$  表示产生动作电位前后二次谐波强度的变化。根据文献[17, 18], 当细胞膜上镶嵌的 FM4-64 分子受到波长为 800 nm 的激光作用时, (14)式中  $\kappa = 7 \times 10^{-9} \text{ m/V}$ ,  $\theta = 0.26$ <sup>[17, 18]</sup>。由(14)式可知, 在动作电位产生过程中, 二次谐波强度的变化率

与动作电位成线性关系, 即通过测量由细胞膜上染料引起的二次谐波强度的变化就能检测到神经细胞膜电位的变化。

## 3 数值计算与分析

### 3.1 动作电位及其光学二次谐波编码

首先验证分析模型的可靠性。先利用提出的模型, 在与文献[18]中模型相同的条件下, 研究单个动作电位与电场强度关系, 如图 2 所示。由图 2 可知, 在相同条件下, 由本文所提出模型所获得的动作电位特征, 包括静息电位、幅度、去极化和复极化过程的持续时间等与 Shneider 等<sup>[18]</sup>报道的结果一致。

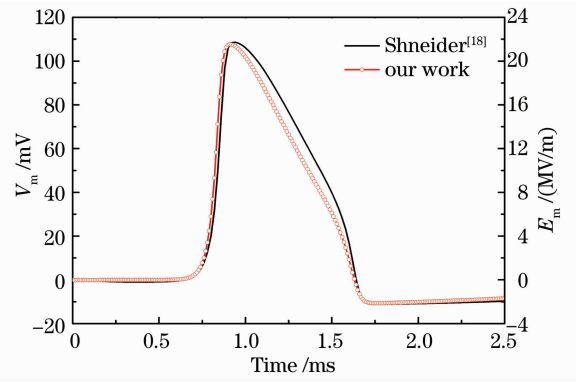


图 2 单个动作电位和电场强度的比较

Fig. 2 Comparison of single action potential and electric field

为了研究方便, 本模拟在郎飞节①上施加一个外部刺激电流  $I_{\text{ex}} = 100 \mu\text{A}/\text{cm}^2$  ( $t > 0.4 \text{ ms}$ ), 并观察郎飞节③~⑨上的兴奋状态(产生动作电位)。在神经纤维完好的情况下, 动作电位沿神经纤维传输波形的时空分布如图 3 所示。从图 3 可以看出, 在未受到外界干扰时 ( $t < 0.4 \text{ ms}$ ), 神经纤维处于静息状态; 当受到外界电源刺激时, 郎飞节③受到前一个郎飞节传输过来电流的刺激, 产生动作电位, 并朝郎飞节④方向传播, 随之引发郎飞节④产生动作电位。其他郎飞节也逐个受到刺激并产生动作电位。由图 3 可知, 动作电位的幅值和速度无明显衰减, 这与 Shneider 等<sup>[18, 21]</sup>报道的结果一致。由于一个动作电位约为毫伏量级且细胞膜厚度很薄,  $\delta_m \approx 5 \text{ nm}$ , 此时, 横跨细胞膜的电场在很短时间内(一个动作电位的持续时间,  $0.5 \sim 2 \text{ ms}$ )可达到兆伏每米量级以上, 如图 2 所示。如此高强度的电场变化可以通过细胞膜上电压敏感染料产生二次谐波信号的改变进行探测。

将各种类型的双亲性推拉发色团染料, 如

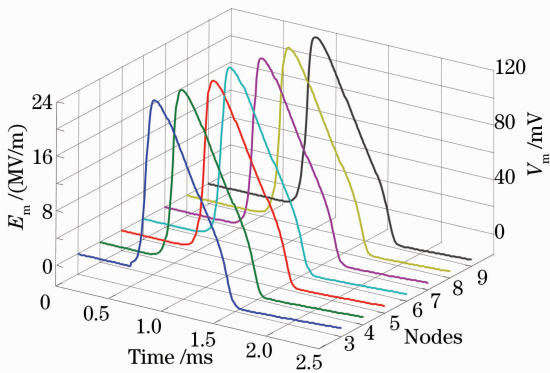


图 3 动作电位传输和电场强度的时空分布

Fig. 3 Spatio-temporal distribution of action potentials and electric fields along a nerve fiber

FM4-64,用于神经细胞膜电位的成像已经成功地得到了证明<sup>[12~19]</sup>。细胞膜上镶嵌的 FM4-64 在入射激光的作用下产生二次谐波。对无损伤的神经纤维膜,利用(14)式,结合图 2 的模拟结果,可以获得图 4 所示的二次谐波变化与膜电位关系。由图 4 可以明显看出二次谐波信号变化和膜电位成线性关系,相对变化率为  $10.45\% \pm 0.03\%$ ,该结果与 Nuriya 等<sup>[16]</sup>的结果一致。一个动作电位的持续时间约 1.0 ms,而在细胞膜上获得 1 frame 二次谐波信号图像需要的时间约  $10 \mu\text{s}$ <sup>[18,19]</sup>。那么在动作电位发生时,可以获得 100 frame 的二次谐波信号图像。因此,在如此高的时间分辨率条件下,由细胞膜上染料分子受到激光场作用时产生的二次谐波信号足以获得神经纤维膜上动作电位的动力学特征。

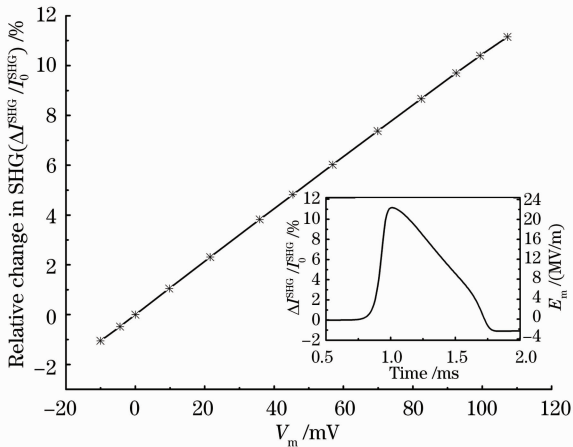


图 4 二次谐波信号与膜电位的关系

Fig. 4 Relation between second harmonic signals and membrane potentials

### 3.2 压力诱导膜电位改变的光学二次谐波表征

神经纤维在受到外部压力作用时会发生形态的

改变,如急性脱髓鞘和轴突内径的减小<sup>[24,25]</sup>。为简单起见,研究中假设有一个外部压力均匀地作用在 M5 段髓鞘上使轴突内径减小,根据 Ouyang 等<sup>[24]</sup>的报道,此时还会引起不同程度的急性脱髓鞘。本文采用 DMR(Demyelination ratio,  $r_{DM}$ )表示神经纤维的脱髓鞘程度,即实际髓鞘厚度与完好髓鞘厚度的比值。当神经纤维发生脱髓鞘即纤维外径  $D$  减小时,根据(7)式和(8)式,它会相应地引起髓鞘电容  $C$  和径向电阻  $r$  的改变,进而直接影响下一个郎飞节动作电位的产生。由(1)~(8)式以及(14)式,可以获得压力诱导的脱髓鞘程度与二次谐波的关系,如图 5 和图 6 所示。图 5(a)~(d)给出了神经纤维 M5 段处,在正常髓鞘与由压力引起的不同程度脱髓鞘情况下,郎飞节⑥上动作电位传导的二次谐波信号比较。当  $r_{DM} = 100\%$ ,即没有发生脱髓鞘时,从图 5(a)可以看出,动作电位编码的二次谐波信号与正常髓鞘情况下神经纤维膜电位完全重合。当施加的压力使神经纤维脱髓鞘程度达到  $r_{DM} = 10\%$ 时[图 5(b)],二次谐波信号的幅度较正常髓鞘情况下的信号有明显下降,且出现了微小的传导延迟。

当  $r_{DM} = 5\%$ 时,二次谐波信号出现了严重的衰减,但此时动作电位还能继续沿纤维传导,如图 5(c)所示。当  $r_{DM} = 2.5\%$ 时,二次谐波信号探测的动作电位出现了传导阻滞,这是因为在 M5 髓鞘处,由于严重的脱髓鞘<sup>[28]</sup>,使得离子电流透过脱髓鞘部位流向外界环境,且沿轴向传输的电流无法达到激发产生一个动作电位的阈值。

图 6 给出了在 M5 段髓鞘处正常髓鞘与不同  $r_{DM}$ 情况下郎飞节⑥上探测到的单个动作电位编码的二次谐波信号的变化率。图中  $\lambda = \Delta I^{SHG} / I_0^{SHG}$ ,即动作电位发生前后二次谐波信号的改变。从图 6(a)~(d)可以明显看出,随着  $r_{DM}$ 的减小即脱髓鞘程度的加剧,除了二次谐波信号幅度发生明显减少外,二次谐波信号的传导也出现了明显的延迟,并且成正比相关。这是因为当  $r_{DM}$ 减少时,髓鞘厚度在减少,而直接引起膜电容的增大,这一结果引起下一个郎飞节的膜电位上升率的减少,即产生一个动作电位的去极化减缓。当脱髓鞘区域的  $r_{DM} \leq 2.5\%$ 即发生严重的脱髓鞘时<sup>[28]</sup>,没有足够的电流激发起下一个郎飞节处细胞膜去极化,从而出现了动作电位的传导阻滞。

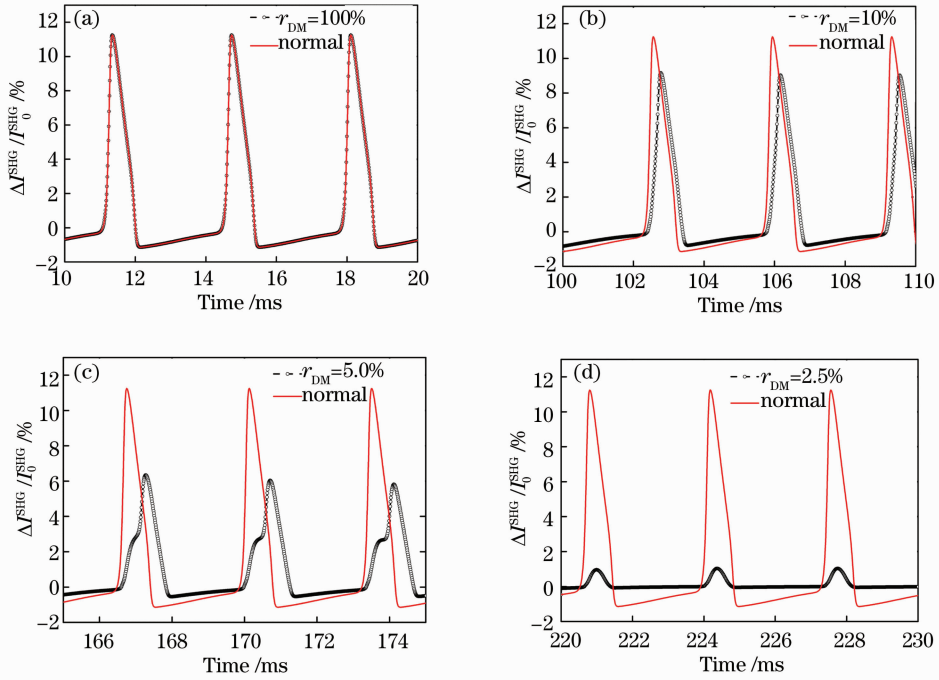


图 5 压力诱导不同程度脱髓鞘引起二次谐波信号的变化。(a)  $r_{DM}=100\%$ ；(b)  $r_{DM}=10\%$ ；  
(c)  $r_{DM}=5\%$ ；(d)  $r_{DM}=2.5\%$

Fig. 5 Changes of second harmonic signal with different degrees of demyelination induced by compression. (a)  $r_{DM}=100\%$ ；(b)  $r_{DM}=10\%$ ；(c)  $r_{DM}=5\%$ ；(d)  $r_{DM}=2.5\%$

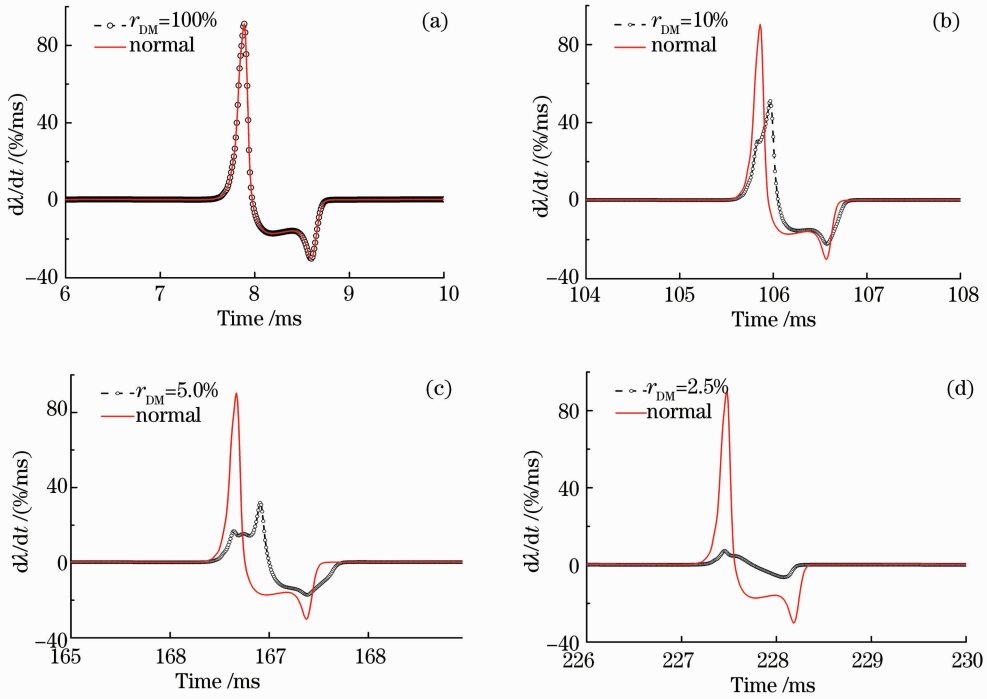


图 6 压力诱导二次谐波信号变化率的比较。(a)  $r_{DM}=100\%$ ；(b)  $r_{DM}=10\%$ ；(c)  $r_{DM}=5\%$ ；(d)  $r_{DM}=2.5\%$   
Fig. 6 Comparison of change rate of second harmonic signal with different degrees of demyelination induced by compression. (a)  $r_{DM}=100\%$ ；(b)  $r_{DM}=10\%$ ；(c)  $r_{DM}=5\%$ ；(d)  $r_{DM}=2.5\%$

## 4 结 论

由于超极化染料分子的超灵敏性和动作电位产生时在细胞膜上的强电场作用,利用非线性光学二次谐波成像,可以实现神经纤维膜电位动力学的快速检测。本研究通过数学建模,研究了利用二次谐波技术快速检测由压力引起的神经纤维形态改变导致的神经传导信息变化。结果表明压力诱导神经纤维形态改变,包括轴突直径和髓鞘厚度的改变,可以通过经动作电位编码的光学二次谐波信号的特征来表征。当神经纤维严重脱鞘时,其上的动作电位会产生明显的传输阻滞。今后可以结合实验研究,利用动作电位编码二次谐波快速获取神经纤维膜的电位动力学特性。

## 参 考 文 献

- 1 A. Fletcher. Action potential; generation and propagation[J]. *Anaesth. Intens. Care Med.*, 2008, **9**(6): 251~255
- 2 B. P. Bean. The action potential in mammalian central neurons [J]. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2007, **8**(6): 451~465
- 3 M. Nuriya, M. Yasui. Membrane potential dynamics of axons in cultured hippocampal neurons probed by second-harmonic-generation imaging[J]. *J. Biomed. Opt.*, 2010, **15**(2): 020503
- 4 Li Heng, Shao Yonghong, Wang Yan *et al.*. Spectrally resolved multifocal multiphoton microscopy using microlens array and galvo mirror scanning [J]. *Chinese J. Lasers*, 2010, **37**(5): 1240~1244  
李 恒, 邵永红, 王 岩 等. 基于微透镜阵列和振镜扫描的光谱分辨多焦点多光子显微技术[J]. *中国激光*, 2010, **37**(5): 1240~1244
- 5 P. J. Campagnola, M. Wei, A. Lewis *et al.*. High-resolution nonlinear optical imaging of live cells by second harmonic generation[J]. *Biophys. J.*, 1999, **77**(6): 3341~3349
- 6 Quan Tingwei, Zeng Shaoqun, Lü Xiaohua. Comparison of algorithms for localization of single fluorescent molecule in super resolution imaging [J]. *Chinese J. Lasers*, 2010, **37**(11): 2714~2718  
全廷伟, 曾绍群, 吕晓华. 超分辨率成像中荧光分子定位算法性能比较[J]. *中国激光*, 2010, **37**(11): 2714~2718
- 7 Zhang Yunbo, Zheng Jihong, Jiang Yanmeng *et al.*. Near UV-band frequency division multiplexing detecting technique with fluorescence microscopy [J]. *Acta Optica Sinica*, 2011, **31**(6): 0618002  
张运波, 郑继红, 蒋妍梦 等. 近紫外波段频分复用荧光显微探测技术研究[J]. *光学学报*, 2011, **31**(6): 0618002
- 8 P. J. Campagnola, H. A. Clark, W. A. Mohler *et al.*. Second-harmonic imaging microscopy of living cells [J]. *J. Biomed. Opt.*, 2001, **6**(3): 277~286
- 9 Tang Zhilie, Xing Da, Liu Songhao. Imaging theory for nonlinear second and third harmonic generation microscopy[J]. *Sci. China Ser. G*, 2003, **33**(6): 212~218  
唐志列, 邢 达, 刘颂豪. 非线性二次谐波和三次谐波共焦显微镜的成像理论[J]. *中国科学 G 辑*, 2003, **33**(3): 212~218
- 10 Yang Chuping, Kuang Weimin, Liu Jun *et al.*. Resolution of confocal scanning microscope for second harmonic wave[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2006, **35**(11): 1709~1712  
杨初平, 旷卫民, 刘 军 等. 二次谐波共焦成像的分辨率[J]. *光子学报*, 2006, **35**(11): 1709~1712
- 11 M. Scanziani, M. Häusser. Electrophysiology in the age of light [J]. *Nature*, 2009, **461**(7266): 930~939
- 12 L. Moreaux, O. Sandre, M. Blanchard-Desce *et al.*. Membrane imaging by simultaneous second-harmonic generation and two-photon microscopy[J]. *Opt. Lett.*, 2000, **25**(5): 320~322
- 13 L. Moreaux, O. Sandre, J. Mertz. Membrane imaging by second-harmonic generation microscopy [J]. *J. Opt. Soc. Am. B*, 2000, **17**(10): 1685~1694
- 14 L. Moreaux, T. Pons, V. Dambrin *et al.*. Electro-optic response of second-harmonic generation membrane potential sensors [J]. *Opt. Lett.*, 2003, **28**(8): 625~627
- 15 T. Pons, J. Mertz. Membrane potential detection with second-harmonic generation and two-photon excited fluorescence: a theoretical comparison [J]. *Opt. Commun.*, 2006, **258**(2): 203~209
- 16 M. Nuriya, J. Jiang, B. Nemet *et al.*. Imaging membrane potential in dendritic spines [J]. *PNAS*, 2006, **103**(3): 786~790
- 17 J. Jiang, K. B. Eisenthal, R. Yuste. Second harmonic generation in neurons: electro-optic mechanism of membrane potential sensitivity [J]. *Biophys. J.*, 2007, **93**(5): L26~L28
- 18 M. N. Shneider, A. A. Voronin, A. M. Zheltikov. Action-potential-encoded second harmonic generation as an ultrafast local probe for noninvasive membrane diagnostics [J]. *Phys. Rev. E*, 2010, **81**(3): 031926
- 19 D. A. Dombeck, M. Blanchard-Desce, W. W. Webb. Optical recording of action potentials with second-harmonic generation microscopy [J]. *J. Neurosci.*, 2004, **24**(4): 999~1003
- 20 A. L. Hodgkin, A. F. Huxley. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve [J]. *J. Phys.*, 1952, **117**(4): 500~544
- 21 A. Carpio, I. Peral. Propagation failure along myelinated nerves [J]. *J. Nonlinear Sci.*, 2011, **21**(4): 1~22
- 22 R. Fitzhugh. Computation of impulse initiation and saltatory conduction in a myelinated nerve fiber [J]. *Biophys. J.*, 1962, **2**(1): 11~21
- 23 G. Condouris, R. Goebel, T. Brady. Computer simulation of local anesthetic effects using a mathematical model of myelinated nerve [J]. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1976, **196**(3): 737~745
- 24 H. Ouyang, W. Sun, Y. Fu *et al.*. Compression induces acute demyelination and potassium channel exposure in spinal cord [J]. *J. Neurotraum.*, 2010, **27**(6): 1109~1120
- 25 R. Nashmi, M. Fehlings. Changes in axonal physiology and morphology after chronic compressive injury of the rat thoracic spinal cord [J]. *Neuroscience*, 2001, **104**(1): 235~251
- 26 L. Goldman, J. Albus. Computation of impulse conduction in myelinated fibers: theoretical basis of the velocity-diameter relation [J]. *Biophys. J.*, 1968, **8**(5): 596~607
- 27 S. Reutskiy, E. Rossoni, B. Tirozzi. Conduction in bundles of demyelinated nerve fibers: computer simulation [J]. *Biol. Cybern.*, 2003, **89**(6): 439~448
- 28 D. I. Stephanova, A. S. Alexandrov, A. Kossev *et al.*. Simulating focal demyelinating neuropathies: membrane property abnormalities [J]. *Biol. Cybern.*, 2007, **96**(2): 195~208