

神经电生理信号多道同步采集和分析系统

1 华中科技大学电信系；武汉 430074；~2 湖北医科大学生理学教研室；武汉 430071 彭莉辉 1；吴鸿修 1；*；庄峻 1；尹世金 2；韩丹 2；刘维泽 2；汤剑清 2

关键词：双通道数据采集；胞外记录；数据分析；中断

摘要：单细胞多点同步记录技术在国内外已经被广泛应用，但在国内仍缺乏与国产或日产细胞电生理记录仪器相匹配的多通道同步生物电信号采集与分析系统。本文介绍了新近研制的可进行双通道甚至更多通道细胞电生理信号采集的神经细胞电生理信号采集与分析系统，及其关键技术及实现方法和应用实例。

单细胞电生理记录技术是神经科学研究领域中的重要研究手段，可以用于两个或者两个以上记录点的神经信号同步分析与研究。国际上，多通道单细胞活动同步记录技术应用比较普遍，所用计算机信号采集和处理系统为技术较成熟的专业系统[1~3]。近 20 年来，我国部分科学工作者也采用了类似技术研究不同类型神经元和心肌细胞的电生理特性，所用计算机信息采集和处理系统为 T Q - 1 9 医用数据处理机[4, 5]和自研的多功能电生理处理机[6]。目前，国内仍然缺乏技术上较为成熟的多通道细胞电生理信号同步采集和处理系统。尽管目前美国 Axon 公司、澳大利亚 AD Instrument 公司、德国 HEKA 公司等系列产品中有功能强大的与 Patch Clamp 放大器配套使用的多通道 gap free 信息采集系统，但由于这些信息采集系统与外来仪器的兼容性较差，价格昂贵，而且国内公司起步较晚，生产的仪器性能与国外的相比还存在一定差距，现有的一些产品已无法满足神经生理学的需要。所以，虽然目前我国的多数细胞电生理实验室不乏多种国产的和日本产的细胞微电极记录装置，但缺乏与之相匹配的计算机生物电信号采集系统，尤其是多通道同步记录与采集分析系统。为此，华中科技大学生物物理与生物化学研究所和湖北医科大学生理学教研室合作，共同研制了 NeuroLab 神经细胞电生理信号采集与分析系统。

1. 系统介绍

国内大多数细胞电生理室现有的微电极放大器、前置放大器、示波器和刺激器可

以满足单细胞甚至多细胞同步电生理实验记录的需要, NeuroLab I 型神经细胞电生理信号采集与分析系统力求与上述系列仪器配套使用, 进行多通道信号同步采集与分析, 主要包含数据采集卡和软件。本系统为使用 Visual C++ 5.0 开发的 32 位应用程序, 运行于 win95/98 环境下。输入通道可达到 8 路(差分)/16 路(单端), 采样频率可达到 100 kHz, A/D 转换器分辨率为 12 位, 误差不超过 0.04%, 可满足细胞水平研究时域和频域的要求; 可发出 trigger 信号以触发刺激器产生刺激信号。这套系统不仅可以完成数据的采集和显示, 对采样条件进行管理, 把实验结果直接保存在磁盘中, 也可打印出来进行观察, 并根据神经生理研究的特点, 提供较丰富的分析功能。实验数据可被 SAS, Sigmaplot, Matlab 等通用软件调用, 实现数据共享。本系统经过综合测试, 运行稳定, 在生理实验中与示波器照相结果所作的对比说明, 该系统可以满足神经细胞水平研究时域和频域的要求。

2. 应用实例

本系统对双玻璃微电极同步引导的在体大鼠双背侧海马单个神经元的细胞外放电活动进行了信息采集、储存与处理分析。

实验动物的选取及处理 实验动物选用 40~60 d 的雄性 SD 大鼠, 乌拉坦(1 g/kg)腹腔注射麻醉后行气管插管术。在立体定向仪(SN-3, Nihon Kohden)上固定后, 进行双侧开颅并挑开硬脑膜, 止血后敷一层温度适宜的 4% 盐水琼脂以保护脑组织。用立体定向仪植入一双极金属同芯电极至右背侧海马区, 电极尖端位置是 A:3.5~4.0, R:2.5~2.8, H:2.5~3.0, 用以中枢电刺激, 实验过程中维持动物肛温在 37°C 左右。

细胞外单位放电活动的引导 在腹腔注射肌松剂 pavulon (0.05 mg/kg), 在人工呼吸下进行双玻璃微电极同步记录。电极尖端直径为 0.5~2 μm , 电阻为 10~30 M Ω , 电极内充灌 0.5 mol/L 醋酸钠的 2% 滂胺天蓝溶液。左右背侧海马电极尖端位置是 A:2.5~3.0, R:L 2.5~3.0, H:2.0~3.0。 双侧的单位放电活动分别经两微电极放大器(7101, 8201, Nihon Kohden)、双通道前置放大器(FZG-81, 中国科学院上海生理研

究所)和示波器(SBR-1)进行处理和显示。同时分别采用两台生物电主放大器(SZF-1, 上海国泰)进行监听, 双通道电生理信号经双通道磁带录像机(Philips, VR-HD1000)储存。在记录过程中, 给电刺激(60 Hz, 2 s, 0.4~0.6 mA, 串间隔为5~10 min)以观察诱发放电活动。而后进行计算机后期采集。记录完毕后, 采用普鲁氏蓝法和滂胺天蓝法标记电极尖端位置, 组织块经石蜡切片后进行 HE 染色来确定电极尖端的位置。

3. 系统的关键技术及其实现方法[7~9]

数据采集 Windows 已成为国内大多数实验室的主流配置。然而, 这却给对实时性要求很高的采集系统的开发带来了新的问题。数据采集的过程通常是: 计算机启动数据采集, 开始进行 A/D 转换, 当 A/D 转换完毕后, 采集卡发中断消息给系统, 系统得到通知后, 就会在中断程序读取转换数据, 保存, 并启动下一次 A/D 转换。我们在进行神经信号的研究时, 对采样频率的要求有时可高达 100 kHz。而 Windows 的多任务性则不允许一个应用程序独占系统资源。若使用上述采集方式, 一个简单的鼠标或键盘敲击可能就会导致数据的丢失。而 Windows 给采集系统的开发带来的另一个问题是: 系统禁止应用程序直接操作硬件。

针对上述 Windows 的特点, 我们在 NeuroLab 神经细胞电生理信号采集与分析系统的开发中使用了以下一些技术:

使用 VXD 来捕获中断并进行中断处理 VXD 即虚拟设备驱动程序, 实质上是一种 DLL (动态链接库), 是微软专为 Windows 制定的设备驱动程序接口规范。我们针对我们的数据采集卡开发了专门的 VXD, 以完成所需的对硬件的底层编程。

使用 FIFO FIFO 是一种先进先出的存储器件, 在我们的数据采集卡上, 使用了 1 K word 的 FIFO。A/D 转换的数据均先存放在 FIFO 中, 当 FIFO 半满时, 就会向系统发中断。因此, 采集卡由原有的完成一次 A/D 转换就发一次中断变为完成 512 次 A/D 转换才发一次中断, 大大降低了对系统的响应要求。

采用多线程和双缓冲技术 我们在内存中开了两个缓冲区,当中断到来时,先从 FIFO 中读取数据,存入缓冲区 A,直至缓冲区 A 满,则转将 FIFO 中的数据存入缓冲区 B,并在屏幕上显示,同时置 A 满标志,将缓冲区 A 中的数据存盘,如图 2 右框所示;而当缓冲区 B 满时,则转将 FIFO 中的数据存入缓冲区 A,并在屏幕上显示,同时置 B 满标志,将缓冲区 B 中的数据存盘。如图 2 所示地进行循环。而上述一系列的操作都是在另一个优先权高于主线程的中断线程中完成的。

数据的曲线显示 我们专门开发了一个用来进行数据的曲线显示的 ActiveX 控件 CurveDisp。ActiveX 控件是一种 OLE 控件,可在 VB, VC, Delphi 甚至 Internet 浏览器中使用,接口像 Windows 的标准控件一样简单。因此, CurveDisp 控件不仅使用在本系统中,也使用在华中科技大学生物物理与生物化学研究所开发的膜片钳系统,细胞图像与生理信号同步采集系统中。

CurveDisp 控件全面考虑了神经信号研究的需要,可显示多达 16 个通道的数据。基于各通道数据是同时采集的,所有通道以相同的时间比例显示相同时间区域的数据。每个通道数据的幅度均可以不同的比例缩放,在不同的幅度范围内观察。为突出某些重要通道,还可动态调整各个通道所占显示区域的比例。为增加观察的直观性和方便性,增加了两个可由用户任意拖动的标尺,每个标尺带有一个可上下移动的文字框,文字框中显示标尺所在点的时间和幅值大小。通过这两个标尺可进行简单的数据分析,如可由两标尺间的信号时间差及重复次数,快速估算出信号的频率,同时,也为以后的区域测量与分析作好了准备。

NeuroLab 神经电生理信号采集与分析系统采用了多文档技术。这样在系统中,用户可以打开多个文件,即可将不同条件下做出的实验数据同时打开观察作对比(图 1)。这对于神经生理研究以及其它的生理学研究都是非常重要的。

数据分析本系统提供了较丰富的分析功能,如功率谱分析、相关性分析、微分、多种积分、傅立叶变换、滤波等,并针对神经电生理信号研究提供了事件检测分

析、峰值间隔直方图、关联间隔直方图等方法。

经实验证明，本系统已成功应用于双通道细胞外单位放电同步记录与分析，而细胞外信号与细胞内信号相比，电信号特性相差不大，随着实验条件的改进，本系统一定可以应用到细胞内单位放电同步记录与分析。同时，如将本系统与膜片钳系统技术相结合，相信在不久的将来，可研制出双通道膜片钳记录与分析系统。