

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623334>

Анализ активности нейронной сети гиппокампа *in vivo* методом миниатюрной флуоресцентной микроскопии при неврологических патологиях

Е.И. Герасимов^{1*}, А.В. Митенев¹, Е.И. Пчицкая¹, В.С. Чуканов¹, И.Б. Безprozванный^{1, 2}¹ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Российская Федерация;² University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas, Даллас, США

АННОТАЦИЯ

Миниатюрная флуоресцентная микроскопия — это метод, который позволяет нейробиологам визуализировать и регистрировать нейронную активность определённой области мозга *in vivo* у свободно передвигающихся животных [1]. Использование минископа может стать новым подходом к получению массивных данных о структуре, функционировании и организации нейронной сети интересующей структуры на уровне *in vivo* [2, 3]. Таким образом, минископ можно было бы использовать также для определения изменений, происходящих из-за патологических состояний, таких как припадки, нейродегенеративные заболевания и когнитивные последствия, связанные с перенесённой вирусной инфекцией, например вирусом гриппа. Данные, полученные с помощью миниатюрной флуоресцентной микроскопии, содержат информацию о сотнях одновременно зарегистрированных нейронов с их исходными связями и функциональными свойствами. Чтобы перейти от качественного анализа записанных данных к количественному, наша группа разработала набор инструментов с открытым исходным кодом Minian [4]. Он предоставляет возможность получать статистические метрики из обработанной записи, полученной с помощью минископа. С помощью самостоятельно разработанного инструментария в текущем исследовании было определено состояние нейронной сети в нормальных условиях в тесте «Открытое поле».

В текущем исследовании была проведена инъекция вируса AAV-GCaMP6f в гиппокамп 5-месячным диким мышам линии B6SJL, и через 3 нед над областью интереса (гиппокампом) была имплантирована градиентная линза с последующей фиксацией опорной площадки. Изменения уровня кальция регистрировали с помощью Miniscope V3 в тесте «Открытое поле». Для количественного анализа полученных данных об активности нейронов был разработан программный пакет, как уже упоминалось выше. В результате было определено, что в течение нескольких дней наиболее стабильными статистическими метриками были коэффициент корреляции Пирсона для метода активного состояния (значения коэффициента корреляции, который основан на бинаризованных данных сегментации активной фазы) и уровень сетевой активности (доля подключённых нейронов в зависимости от уровня, определяющего наличие подключения), который был практически неизменяемым в течение пяти дней записи. Более того, метод PCA, применённый к рассчитанным статистическим метрикам, показал очень тесную взаимосвязь между координатами, описывающими активность нейронной сети гиппокампа в нормальных условиях, в течение пяти дней теста.

Мы предполагаем, что использование метода миниатюрной флуоресцентной микроскопии при количественном анализе может быть очень полезным инструментом для выявления сдвигов в нейронных сетях в случае прогрессирования нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера [5], а также выявления возможных изменений после неврологических осложнений вирусных инфекций и т.д.

Ключевые слова: минископ; миниатюрная флуоресцентная микроскопия; количественный анализ; болезнь Альцгеймера; нейропатологии.

Как цитировать:

Герасимов Е.И., Митенев А.В., Пчицкая Е.И., Чуканов В.С., Безprozванный И.Б. Анализ активности нейронной сети гиппокампа *in vivo* методом миниатюрной флуоресцентной микроскопии при неврологических патологиях // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 763–766. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623334>

Рукопись получена: 04.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Источник финансирования. Работа была поддержана грантом Российского научного фонда № 21-15-00051.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Barry J., Oikonomou K.D., Peng A., et al. Dissociable effects of oxycodone on behavior, calcium transient activity, and excitability of dorso-lateral striatal neurons // *Front Neural Circuits*. 2022. Vol. 16. P. 983323. doi: 10.3389/fncir.2022.983323
2. Aharoni D., Hoogland T.M. Circuit Investigations with open-source miniaturized microscopes: past, present and future // *Front Cell Neurosci*. 2019. Vol. 13. P. 141. doi: 10.3389/fncel.2019.00141
3. Gerasimov E.I., Erofeev A.I., Pushkareva S.A., et al. Miniature fluorescent microscope: history, application, and data processing // *Zhurnal Vysshei Nervnoi Deyatelnosti imeni I.P. Pavlova*. 2020. Vol. 70, N 6. P. 852–864. doi: 10.31857/S0044467720060040
4. Dong Z., Mau W., Feng Y., et al. Minian, an open-source miniscope analysis pipeline // *Elife*. 2022. Vol. 11. P. e70661. doi: 10.7554/eLife.70661
5. Bezprozvanny I. Biochemical and biophysical research communications alzheimer's disease — where do we go from here? // *Biochem Biophys Res Commun*. 2022. Vol. 633. P. 72–76. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.08.075

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

* Е.И. Герасимов; адрес: Российская Федерация, 195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 29;
e-mail: evgeniigerasimov1997@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623334>

Analysis of the hippocampal neural network activity *in vivo* by miniature fluorescence microscopy in neurological pathologies

E.I. Gerasimov¹*, A.V. Mitenev¹, E.I. Pchitskaya¹, V.S. Chukanov¹, I.B. Bezprozvanny^{1, 2}¹ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russian Federation;² University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas, Dallas, United States

ABSTRACT

Miniature fluorescent microscopy is a method that enables neurobiologists to visualize and record neuronal activity of a specific brain region *in vivo* in freely moving mice [1]. The use of miniscope presents a novel approach for acquiring extensive data on the structure, function, and organization of the neuronal network in the region of interest at the *in vivo* level [2, 3]. In this way, the use of miniscope could also identify changes caused by pathological conditions, such as seizures, neurodegenerative diseases, and neurological complications resulting from past viral infections, like influenza virus. Data obtained through miniature fluorescent microscopy contains information on the functioning properties and original connections of hundreds of simultaneously recorded neurons. Our group developed an open-source toolbox to move from qualitative to quantitative analysis of recorded data, providing neurobiologists with statistical metrics from miniscope processed recordings through “Minian” [4]. Neuronal network state was defined in open-field test conditions under normal circumstances using a self-developed toolbox in the current study.

In this study, 5-month-old wild B6SJL mice were injected with AAV-GCaMP6f virus in the hippocampus. After 3 weeks, a gradient lens was implanted over the hippocampus with baseplate fixation. Changes in calcium levels were measured using Miniscope v3 in the “open field” test. A software package was created for quantitative analysis of the neuron activity data. As a result, the study concluded that the most consistent data over the course of five days were the Pearson correlation coefficient for the active spike method (based on binary results from active phase segmentation) and the network degree level (the ratio of interconnected neurons depending on the presence of a connection). These measures displayed a high level of stability throughout the recordings. Furthermore, the PCA method applied to the calculated statistics indicated a close relationship between the coordinates that described the activity of the hippocampal neuronal network during the five-day testing period.

The miniscope technique appears to be an effective tool for identifying shifts in neuronal networks during the progression of neurodegenerative diseases, such as Alzheimer’s disease [5]. It may also aid in detecting possible changes following neurological complications related to viral infections.

Keywords: miniscope; miniature fluorescent microscopy; quantitative analysis; Alzheimer disease; neuropathology.

To cite this article:

Gerasimov EI, Mitenev AV, Pchitskaya EI, Chukanov VS, Bezprozvanny IB. Analysis of the hippocampal neural network activity *in vivo* by miniature fluorescence microscopy in neurological pathologies. *Genes & cells*. 2023;18(4):763–766. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623334>

ADDITIONAL INFORMATION

Authors’ contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Funding sources. This research was supported by a grant within the framework of the state assignment (FSEG-2023-0014).

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

REFERENCES

1. Barry J, Oikonomou KD, Peng A, et al. Dissociable effects of oxycodone on behavior, calcium transient activity, and excitability of dorsolateral striatal neurons. *Front Neural Circuits*. 2022;16:983323. doi: 10.3389/fncir.2022.983323

Received: 04.05.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024

2. Aharoni D, Hoogland TM. Circuit investigations with open-source miniaturized microscopes: past, present and future. *Front Cell Neurosci.* 2019;13:141. doi: 10.3389/fncel.2019.00141
3. Gerasimov EI, Erofeev AI, Pushkareva SA, et al. Miniature fluorescent microscope: history, application, and data processing. *Zhurnal Vysshei Nervnoi Deyatelnosti imeni I.P. Pavlova.* 2020;70(6):852–864. doi: 10.31857/S0044467720060040
4. Dong Z, Mau W, Feng Y, et al. Minian, an open-source miniscope analysis pipeline. *Elife.* 2022;11:e70661. doi: 10.7554/eLife.70661
5. Bezprozvanny I. Alzheimer's disease — where do we go from here? *Biochem Biophys Res Commun.* 2022;633:72–76. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.08.075

AUTHORS' CONTACT INFO

* E.I. Gerasimov; address: 29 Polytechnicheskaya street, 195251 Saint Petersburg, Russian Federation;
e-mail: evgeniigerasimov1997@gmail.com