

Выделение и анализ активных ансамблей нервных клеток, ассоциированных с паттернами поведения мыши

Варехина А.В.^{1*}, Иванченко М.В.¹, Сотсков В.П.^{2,3}, Кривоносов М.И.¹,
Анохин К.В.⁴

¹ Институт информационных технологий, математики и механики, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

² Центр междисциплинарных исследований в области биологии, Колледж де Франс, Париж, Франция

³ Институт биологии, Высшая нормальная школа, Париж, Франция

⁴ Институт перспективных исследований мозга, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* varekhina@unn.ru

Ключевые слова: кальциевый имиджинг; активность нервных клеток; анализ данных

Мотивация и цель: Кальциевый имиджинг – метод, позволяющий регистрировать кальциевую динамику в нервных клетках не только в культурах, но и непосредственно в мозге объекта исследования. Полученные с помощью этого метода результаты могут быть использованы как в изучении влияния определенных физиологических состояний на работу нервных клеток, так и при анализе механизмов взаимодействий отдельных клеточных ансамблей между собой [1]. В этом исследовании мы изучали взаимосвязь между поведением животного и сетевой кальциевой активностью нервных клеток.

Методы и алгоритмы: Нервные импульсы регистрировались с помощью установленного на голове минискапа NVista HD. Мышь с минископом помещали в кольцевой трек, предварительно очищенный от посторонних запахов. Вдоль взаимно перпендикулярных диаметров дорожки расположены четыре метки, позволяющие животному делать какие-либо выводы о своем текущем положении. В каждый момент времени в ходе эксперимента на видео фиксировались координаты положения мыши [2, 3]. Мы предлагаем алгоритм, позволяющий выделять графы взаимодействия нервных клеток и анализировать их кальциевую динамику в течение времени. Сначала была проведена разметка поведенческих видео и выделены следующие типы деятельности мыши: сидит на месте, бежит, умывается, смотрит наружу или внутрь кольцевого трека, стойка наружу или внутрь кольцевого трека. Для моментов времени, когда нельзя было однозначно сказать, что происходит на видео, был введен класс «не определено». Далее были построены графы взаимодействия клеток в течение времени с парами активных клеток. По построенному графу и парам взаимодействий клеток за все время видео были получены группы из трех последовательно загорающихся клеток – тройки активных нейронов. В рассмотрении участвовали только те тройки клеток, внутри которых были только две связи между клетками и строгое отсутствие третьей (рис. 1), что позволяет установить предполагаемое распространение сигнала. Для того чтобы выделить взаимосвязь между определенным паттерном поведения и активностью клеток в тройках, был применен критерий хи-квадрат с поправкой на множественные сравнения на множество троек. Для демонстрации значимости

связи между комбинациями из трех клеток и поведением мыши была исследована работа алгоритма на графах, построенных на рандомизированной последовательности кальциевых событий [4].

Результаты: Таким образом, были выделены статистически значимые тройки клеток, ассоциированные с паттернами поведения, и восстановлены воспроизводимые временные соотношения в их активации (рис. 2). В графе с 562 вершинами в течение 15-минутного видео было выделено 1.6 млн троек для оригинального и 2.3 млн троек для рандомизированного графов. Такое большое число найденных троек связано с низким числом их повторений за время эксперимента. В связи с этим было предложено отобрать только тройки, наблюдающиеся не менее 5 раз. Такой выбор порогового значения обусловлен тем, что в рандомизированном графе отсутствуют статистически значимые тройки, ассоциированные с поведением мыши и наблюдавшиеся более 4 раз. При этом в реконструированном графе на основе кальциевой активности нейронов было обнаружено 2064 тройки, наблюдавшихся более 4 раз (рис. 2), а статистически значимых из них – 433.

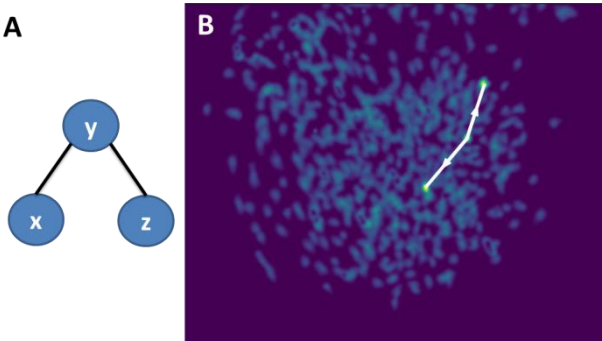


Рис. 1. А – конфигурация искоемых троек взаимодействующих клеток. В – общий внешний вид тройки взаимодействующих клеток. Стрелками указана последовательность активации клеток. Желто-зеленые участки – клетки в пределах тройки, синие участки – клетки, не участвующие в рассмотрении

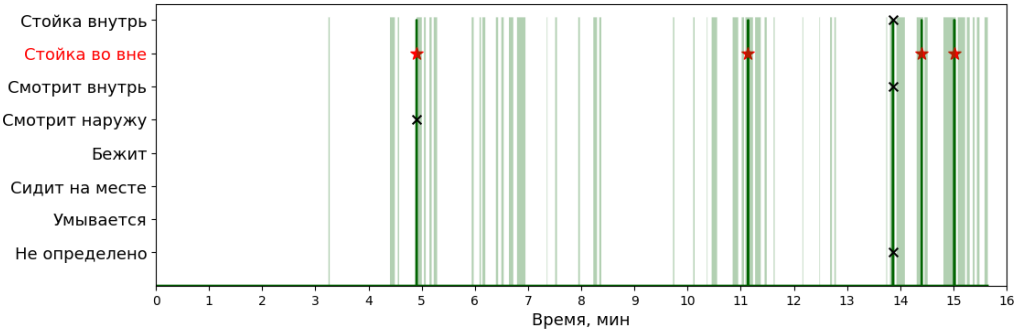


Рис. 2. Время горения тройки взаимодействующих клеток. Темно-зеленым отмечены периоды активности тройки клеток, светло-зеленым – периоды «лучшего» класса, во время которого дольше всех были активны клетки в пределах тройки. Название этого класса выделено красным цветом. Красными звездочками отмечены моменты активности тройки в пределах лучшего класса, зелеными крестами – моменты активности тройки в пределах других классов

Выводы: Исследование показало, что существуют статистически значимые ансамбли клеток, активные только во время определенной деятельности, причем их состав и частота активности отличались от таковых в рандомизированном графе. Это говорит о том, что есть закономерность между передачами сигнала в клетках. Полученные результаты можно использовать в предсказании паттернов поведения по кальциевой динамике нервных клеток и разработке неинвазивных интерфейсов мозг-компьютер.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке «Центра фотоники», финансируемого Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (контракт № 075-15-2022-293).

Identification and analysis of active neural cell ensembles associated with mice behavioral patterns

Varekhina A.V.^{1*}, Ivanchenko M.V.¹, Sotskov V.P.^{2,3}, Krivonosov M.I.¹, Anokhin K.V.⁴

¹ *Institute of Information, Technology, Mathematics and Mechanics, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia*

² *Center of Interdisciplinary Research in Biology, Collège de France, Paris, France*

³ *Institute of Biology, École Normale Supérieure, Paris, France*

⁴ *Institute for Advanced Brain Studies, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

* varekhina@unn.ru

Key words: calcium imaging; neural activity; data analysis

Motivation and Aim: Calcium imaging is a method that allows recording calcium dynamics in neural cells not only in cultures, but also directly in the brain of the object of study. The results obtained using this method can be used both in the study of the influence of certain physiological states on the work of neural cells, and in the analysis of the mechanisms of interactions of individual cell ensembles with each other [1]. In this study, we examined the relationship between animal behavior and the network calcium activity of nerve cells.

Methods and Algorithms: Neural impulses were recorded using an NVista HD head-mounted miniscope. The mouse with the miniscope was placed in a ring track, previously cleaned of foreign odors. Four marks are placed along the mutually perpendicular diameters of the track, allowing the animal to draw conclusions about its current position. At each time point during the experiment, the coordinates of the mouse position were recorded in the video [2, 3]. We propose an algorithm that allows us to isolate graphs of the interaction of neural cells and analyze their calcium dynamics over time. First, behavioral videos were labeled and the following types of mouse activity were distinguished: sitting, running, grooming, looking outside or inside the ring track, standing on the outside or inside edge of the ring track. For times when it was impossible to say certainly what was going on in the video, the label “undefined” was introduced. Next, graphs of the interaction of cells over time with pairs of active cells were constructed. According to the constructed graph and pairs of cell interactions, groups of sequentially igniting cells (triples of active neurons) were obtained. Only those triples of cells were considered, within which there were only two connections between cells and

a strict absence of a third (Fig. 1), which allows to establish the supposed signal propagation. In order to isolate the relationship between a certain pattern of behavior and the activity of cells in triples, the chi-square test was applied, adjusted for multiple comparisons for multiple triples. To demonstrate the significance of the relationship between combinations of triples cells and mouse behavior, the work of the algorithm on graphs based on a randomized sequence of calcium events was studied [4].

Results: Thus, statistically significant triples of cells associated with behavior patterns were identified, and reproducible temporal relations in their activation were restored (Fig. 2). In a graph with 562 vertices during a 15-minute video, 1.6 million triples were identified for the original and 2.3 million triples for the randomized graphs. Such a large amount of found triples is associated with a low number of their repetitions during the experiment. In this regard, it was suggested to select only triples observed at least 5 times. This choice of threshold value is due to the fact that there are no statistically significant triples associated with mouse behavior and observed more than 4 times in the randomized graph. At the same time, 2064 triples were found in the reconstructed graph based on the calcium activity of neurons, which were observed more than 4 times, and 433 of them were statistically significant.

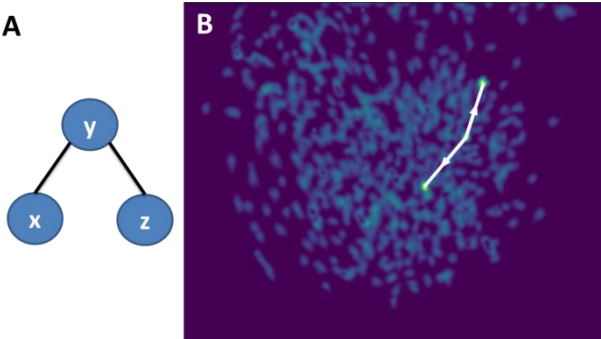


Fig. 1. A – Configuration of the desired triples of interacting cells. **B** – General appearance of the triple of interacting cells. The arrows indicate the cell activation sequence. Yellow-green areas signify cells within the three, while blue areas are cells not taken into consideration

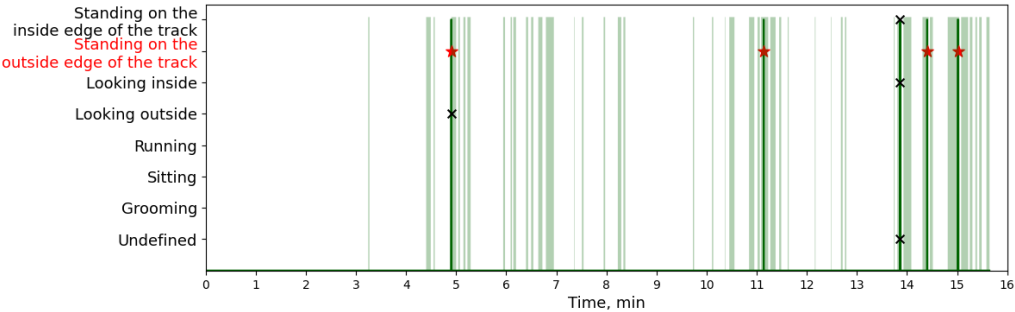


Fig. 2. Activity time of the interacting cells triples. Dark green marked the periods of activity of the three cells, light green marked periods of the “best” label, during which the cells within the three were active for the longest time. The name of this label is highlighted in red. Red asterisks mark the moments of activity of the three within the best label, green crosses mark the moments of activity of the three within other labels

Conclusion: The study showed that there are statistically significant ensembles of cells that are active only during a certain activity, and their composition and frequency of activity differed from those in the randomized graph. This suggests that there is a pattern between signal transmissions in cells. The results obtained can be used in the prediction of behavior patterns by the calcium dynamics of nerve cells and the development of non-invasive brain-computer interfaces.

Funding: The study is supported by the “Center of Photonics” funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (contract No. 075-15-2022-293).

Список литературы/References

1. Robbins M., Christensen C.N., Kaminski C.F., Zlatic M. Calcium imaging analysis – how far have we come? *F1000Res*. 2021;10:258
2. Sotskov V.P., Plusnin V.V., Pospelov N.A., Anokhin K.V. The Rapid Formation of CA1 Hippocampal Cognitive Map in Mice Exploring a Novel Environment. In: *Advances in Cognitive Research, Artificial Intelligence and Neuroinformatics: Proceedings of the 9th International Conference on Cognitive Sciences*, October 10-16, 2020, Moscow, Russia. Springer International Publishing, 2021;452-457
3. Sotskov V.P., Pospelov N.A., Plusnin V.V., Anokhin K.V. Calcium imaging reveals fast tuning dynamics of hippocampal place cells and CA1 population activity during free exploration task in mice. *Int J Mol Sci*. 2022;23(2):638
4. Hanhijärvi S., Garriga G.C., Puolamäki K. Randomization techniques for graphs. In: *Proceedings of the 2009 SIAM international conference on data mining*. Society for Industrial and Applied Mathematics, 2009;780-791