

Широкопольная оптическая нейровизуализация изменений концентрации кальция и гемоглобина в кортексе анестезированной мыши в ответ на подачу многократных сенсорных стимулов

Научный руководитель – Бакаева Занда Валериевна

Трифонова Арина Павловна

Студент (бакалавр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: arina280703@yandex.ru

Введение. В настоящее время широкопольная оптическая нейровизуализация (ШОН) применяется при исследованиях как здорового мозга, так и *in vivo* моделей различных патологий. Для решения многих научных задач по регистрации гемодинамических событий и изменений концентрации кальция данным методом необходима многократная подача сенсорных стимулов, что сложно реализуемо на бодрствующей мыши. Однако использование наркоза также сопряжено со сложностями при детекции ответа в кортексе.

Целью данной работы было создание протоколов регистрации электрофизиологической и гемодинамической реакции в кортексе на сенсорную стимуляцию наркотизированных мышей.

Материалы и методы. Мы использовали мышей линии C57BL/6J-Tg(Thy1-GCaMP6f) GP5.17Dkim/J (JAX stock #025393), экспрессирующих кальциевый биосенсор в нейронах. Проводили операцию по созданию краниального окна путем истончения костей черепа. Изменения сигнала GCaMP6f регистрировали при помощи возбуждающего диода 470 нм. Для регистрации гемодинамических событий использовали режим светорассеяния на 530 и 656 нм. Зрительную стимуляцию проводили белым светодиодом, тактильную стимуляцию осуществляли при помощи имплантированных стальных колец и электростимулятора. Эксперименты проводили на анестезированных изофлураном грызунах.

Результаты. Мы протестировали различные протоколы непрерывной стимуляции (4 и 2 с) и импульсной стимуляции (серии из 4 стимулов по 200 мс, 1 Гц) на нескольких амплитудах стимулов (60, 90, 300 мкА для тактильных и 100, 200 мкА для зрительных стимулов). Наркоз позволяет элиминировать артефакты локомоции, но существенно снижает амплитуду как гемодинамического, так и кальциевого ответа на стимулы одинаковой с таковыми для бодрствующих животных силы. Реакции в кортексе на стимулы нет при достижении хирургической стадии наркоза. Снижение дозы изофлурана позволяет регистрировать ответ, но необходимая амплитуда стимула должна быть выше, чем при экспериментах на бодрствующих мышах. С применением Фурье-анализа мы выявили пики на 1,3 и 2,4 Гц, которые соответствуют дельта-волнам на ЭЭГ, что существенно затрудняет получение целевого сигнала.

Выводы. Мы показали, что стадия ингаляционного наркоза влияет на возможность детекции реакций на сенсорные стимулы. Для регистрации кальциевых и гемодинамических ответов на подачу сенсорного стимула необходимы тщательный подбор дозы изофлурана, а также использование алгоритмов частотной фильтрации, которая позволяет избавиться от артефактов ритмической активности спящего мозга, сердцебиения и дыхания.