

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623255>

# Фебрильные судороги вызывают снижение доли кальций-проницаемых AMPA-рецепторов в синапсах пирамидных нейронов коры и гиппокампа крыс

Т.Ю. Постникова\*, А.В. Грифлюк, А.С. Жигулин, Е.Б. Соболева, О.И. Барыгин, Д.В. Амахин, А.В. Зайцев

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация

## АННОТАЦИЯ

Фебрильные судороги (ФС) являются одним из наиболее распространённых неврологических расстройств в детском возрасте. Они могут вызвать необратимые функциональные изменения в нейронных сетях и привести к развитию эпилепсии и когнитивных нарушений [1]. В раннем возрасте в гиппокампе и коре головного мозга наблюдается повышенный уровень содержания кальций-проницаемых AMPA-рецепторов (CP-AMPA, не экспрессирующих субъединицу GluA2). CP-AMPA участвуют в различных пластических изменениях в ЦНС, включая как нормальные физиологические процессы (синаптическая пластичность), так и ряд патологических состояний, когда эти рецепторы включаются в мембрану нейронов, где такие рецепторы в норме не экспрессируются. Было показано, что CP-AMPA могут также встраиваться в синапсы во время судорог [2]. Остаётся неясным, как ФС влияют на экспрессию CP-AMPA, к каким нарушениям в работе нейронных сетей могут приводить эти изменения.

**Цель исследования.** Определить, изменяется ли доля CP-AMPA в синапсах пирамидальных нейронов энторинальной коры и гиппокампа крысы сразу (через 15 мин) и через 48 ч после ФС.

Десятидневных крысят подвергали воздействию потока тёплого воздуха (46 °C) в течение 30 мин, чтобы вызвать гипертермию, приводящую к развитию ФС. В исследование были включены только те животные, у которых ФС длились не менее 15 мин. Контрольная группа состояла из крыс-однопомётников, отсаженных от матери на аналогичный период времени, но содержавшихся при комнатной температуре. Для оценки доли CP-AMPA в гиппокампе использовали изолированные пирамидальные нейроны, в которых AMPA-опосредованные токи индуцировали путём применения 100 мкМ каината. В энторинальной коре возбуждающие постсинаптические токи (EPSCs) вызывались внеклеточной стимуляцией. Селективная блокада CP-AMPA была достигнута с помощью антагониста IEM-1460. Для дальнейшей оценки вклада CP-AMPA мы определили индекс выпрямления AMPA-опосредованных EPSC. Для визуализации нейронов, экспрессирующих CP-AMPA, использовали метод поглощения кобальта, вызванного каинатом. Срезы мозга стимулировали каинатом в присутствии AP-5 и ТТХ. Для подтверждения того, что приток  $Co^{2+}$  был опосредован AMPA, мы использовали блокатор DNQX. Базовая синаптическая передача оценивалась путём регистрации полевых постсинаптических потенциалов в гиппокампе в ответ на стимуляцию коллатералей Шаффера при различной силе тока.

Мы обнаружили, что ФС вызывают быстрое снижение количества CP-AMPA на мембранах пирамидальных нейронов гиппокампа. Так, в нейронах, выделенных из гиппокампа крысы через 15 мин после ФС, IEM-1460 вызывал значительно меньшую блокаду вызванного каинатом тока, чем контроль (22% против 14%,  $p < 0,05$ ). Аналогичный результат был получен для внеклеточно вызванных EPSCs в энторинальной коре (ФС: 10% против контроля: 3%,  $p < 0,05$ ). Кроме того, индекс выпрямления EPSC был значительно выше в нейронах экспериментальной группы по сравнению с контрольной. Через два дня после ФС различий между группами не было. Это может быть связано с тем, что доля CP-AMPA в пирамидальных нейронах быстро уменьшается в этом возрасте. Метод поглощения кобальта подтвердил результаты электрофизиологических исследований, показавших, что более значительное окрашивание наблюдалось в поле CA1 гиппокампа и энторинальной коре у контрольных крыс по сравнению с крысами, подвергнутыми ФС. Этот эффект наблюдался уже через 15 мин после ФС, а через два дня различий между группами не было. Несмотря на снижение доли CP-AMPA, уровень базовой нейротрансмиссии в срезах мозга крыс, подвергшихся ФС, не отличался от контрольных значений.

Таким образом, ФС значительно снижают экспрессию CP-AMPA в пирамидальных нейронах энторинальной коры и гиппокампа у молодых крыс. Эти изменения не влияют на свойства базовой синаптической передачи в гиппокампе.

**Ключевые слова:** фебрильные судороги; гиппокамп; энторинальная кора; кальций-проницаемые AMPA-рецепторы; IEM-1460.

Рукопись получена: 26.04.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

**Как цитировать:**

Постникова Т.Ю., Грифлюк А.В., Жигулин А.С., Соболева Е.Б., Барыгин О.И., Амахин Д.В., Зайцев А.В. Фебрильные судороги вызывают снижение доли кальций-проницаемых AMPA-рецепторов в синапсах пирамидных нейронов коры и гиппокампа крыс // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 532–535. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623255>

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источник финансирования.** Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 23-25-00143.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Silverstein F.S., Jensen F.E. Neonatal seizures // *Annals of Neurology*. 2007. Vol. 62, N 2. P. 112–120. doi: 10.1002/ana.21167
2. Malkin S.L., Amakhin D.V., Veniaminova E.A., et al. Changes of AMPA receptor properties in the neocortex and hippocampus following pilocarpine-induced status epilepticus in rats // *Neuroscience*. 2016. Vol. 327. P. 146–155. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.04.024

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

\* Т.Ю. Постникова; адрес: Российская Федерация, 194223, Санкт-Петербург, пр-т Тореца, д. 44; e-mail: [tapost2@mail.ru](mailto:tapost2@mail.ru)

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623255>

# Febrile seizures cause a decrease in calcium-permeable AMPA receptors at synapses of rat cortical and hippocampal pyramidal neurons

T.Yu. Postnikova\*, A.V. Griflyuk, A.S. Zhigulin, E.B. Soboleva, O.I. Barygin, D.V. Amakhin, A.V. Zaitsev

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation

## ABSTRACT

Febrile seizures (FS) are a prevalent childhood neurological disorder that can result in lasting functional alterations in neural networks, contributing to the onset of epilepsy and cognitive impairment [1]. Higher levels of calcium-permeable AMPA receptors (CP-AMPA receptors), which lack the GluA2 subunit, are detected in the hippocampus and cortex at an early age. CP-AMPA receptors are involved in various plastic changes within the central nervous system (CNS), including regular physiological processes (synaptic plasticity) and various pathological conditions. Such changes occur when these receptors are included in the neurons' membrane, where they are not typically expressed. CP-AMPA receptors were demonstrated to incorporate into synapses during seizures [2]. The effect of FSs on CP-AMPA receptor expression is uncertain, and the resultant alterations in neuronal network function are unclear.

The aim of this study was to determine whether the proportion of CP-AMPA receptors at synapses of pyramidal neurons in the rat entorhinal cortex and hippocampus alters immediately (at 15 min) and 48 h post FS.

Ten-day-old rats were exposed to a stream of warm air (46 °C) for 30 minutes to induce hyperthermia, resulting in the development of FS. Only animals with FS that lasted for a minimum of 15 minutes were included in the study. The control group was comprised of littermates removed from the dam for an equivalent period but kept at room temperature. Isolated pyramidal neurons were used to determine the proportion of CP-AMPA receptors in the hippocampus. AMPA-mediated currents were induced by application of 100 μM kainate. Excitatory postsynaptic currents (EPSCs) were evoked by extracellular stimulation in the entorhinal cortex. The antagonist IEM-1460 was used to selectively block CP-AMPA receptors. The rectification index of AMPA-mediated EPSCs was calculated to better assess the contribution of CP-AMPA receptors. Neurons expressing CP-AMPA receptors were visualized using the kainate-induced cobalt uptake method. Brain slices were stimulated with kainate while AR-5 and TTX were present. The DNQX blocker was used for the determination that the influx of  $Co^{2+}$  was mediated by AMPA receptors. Basal synaptic transmission was assessed by recording field postsynaptic responses in the hippocampus stimulated by Shaffer collaterals at different current strengths.

FS induced a rapid decrease in the levels of CP-AMPA receptors on the membranes of pyramidal neurons in the hippocampus. As a result, 15 min after FS, IEM-1460 caused significantly less blockade of kainate-evoked current in neurons isolated from rat hippocampus compared to control (22% vs. 14%,  $p < 0.05$ ). A similar finding was observed for EPSCs evoked extracellularly in the entorhinal cortex, with a frequency of 10% in the FS group compared to 3% in the control group ( $p < 0.05$ ). Furthermore, the FS group's neurons exhibited a significantly greater rectification index of EPSCs compared to the control group's neurons. However, two days post-FS, no significant differences existed between the two groups. This observation may be attributed to the rapid decrease in the proportion of CP-AMPA receptors in pyramidal neurons at this stage. The cobalt uptake method supported electrophysiological findings, revealing higher staining levels in the CA1 field of the hippocampus and entorhinal cortex of control rats compared to FS rats. The observed effect surfaced 15 minutes after FS, and no divergences emerged between the groups after two days. Although the proportion of CP-AMPA receptors was reduced, basal neurotransmission levels in brain slices obtained from rats that underwent FS did not differ from control values.

In summary, the expression of CP-AMPA receptors in entorhinal cortex and hippocampal pyramidal neurons in young rats decreases significantly with FS. These alterations do not impact the characteristics of basal synaptic transmission in the hippocampus.

**Keywords:** febrile seizures; hippocampus; entorhinal cortex; calcium-permeable AMPA receptors; IEM-1460.

## To cite this article:

Postnikova TYu, Griflyuk AV, Zhigulin AS, Soboleva EB, Barygin OI, Amakhin DV, Zaitsev AV. Febrile seizures cause a decrease in calcium-permeable AMPA receptors at synapses of rat cortical and hippocampal pyramidal neurons. *Genes & Cells*. 2023;18(4):532–535. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623255>

Received: 26.04.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024

## ADDITIONAL INFORMATION

**Funding sources.** This study was supported by RSF grant No. 23-25-00143.

**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, and final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

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

## REFERENCES

1. Silverstein FS, Jensen FE. Neonatal seizures. *Annals of Neurology*. 2007;62(2):112–120. doi: 10.1002/ana.21167
2. Malkin SL, Amakhin DV, Veniaminova EA, et al. Changes of AMPA receptor properties in the neocortex and hippocampus following pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Neuroscience*. 2016;327:146–155. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.04.024

## AUTHORS' CONTACT INFO

\* T.Yu. Postnikova; address: 44 Thorez street, 194223 Saint Petersburg, Russian Federation; e-mail: tapost2@mail.ru