

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии  
Российской академии наук

Смирнов Кирилл Сергеевич

**Сенсорные факторы развития нервной системы у крыс с генетической  
предрасположенностью к абсансным приступам**

1.5.5 – физиология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель: доктор биологических наук  
Евгения Юрьевна Ситникова

# ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
Актуальность проблемы .....	5
Цель работы .....	9
Задачи исследования .....	9
Научная новизна .....	10
Научные положения, выносимые на защиту .....	12
Практическая значимость и теоретическая ценность полученных результатов .....	12
Апробация диссертации .....	13
Публикации .....	14
Структура и объем диссертации .....	15
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	15
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР .....	16
1.1.    Феномен абсансных приступов .....	16
1.2.    Модели абсансов на животных .....	18
1.3.    Пик-волновая активность у крыс линии WAG/Rij .....	19
1.4.    Нарушения, сопутствующие абсансным приступам .....	21
1.5.    Сопутствующие нарушения у крыс линии WAG/Rij .....	24
1.6.    Влияние внешних факторов в раннем онтогенезе на формирование пик-волновых разрядов у крыс линии WAG/Rij .....	27
1.7.    Роль вибротактильной системы в развитии пик-волновых разрядов .....	30
1.8.    Два сензитивных периода развития вибротактильной системы .....	33
1.9.    Влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс на поведение крыс .....	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	41
2.1.    Содержание и уход за животными .....	41
2.2.    Ограничение сенсорного притока в раннем онтогенезе .....	41
2.3.    Исследование динамики формирования опорных точек развития .....	42
2.4.    Исследование исследовательской активности и тревожности .....	44
2.4.1.    Методика «Приподнятый крестообразный лабиринт» .....	46
2.4.2.    Методика «Открытое поле» .....	46

2.5.	Исследование когнитивных способностей .....	47
2.5.1.	Методика «ИнтелиКейдж».....	48
2.5.2.	Методика выработки условной реакции двустороннего избегания.....	50
2.6.	Регистрация ЭЭГ .....	51
2.7.	Автоматическое обнаружение пик-волновых разрядов.....	52
2.8.	Статистика .....	53
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....		55
3.1.	Исследование влияния ограничения сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе на характеристики пик-волновых разрядов у взрослых животных.....	55
3.2.	Исследование влияния эпилептического фенотипа и ограничения сенсорного притока от вибрисс на раннее развитие поведения .....	58
3.3.	Исследование влияния эпилептического фенотипа и ограничения сенсорного притока в раннем онтогенезе на исследовательское поведение .....	66
3.4.	Исследование влияния эпилептического фенотипа и ограничения сенсорного притока в раннем онтогенезе на тревожность .....	68
3.5.	Исследование влияния эпилептического фенотипа и ограничения сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе на обучение .....	70
3.5.1.	Исследование обучения в экспериментальной парадигме, направленной на оценку импульсивности, в установке «ИнтелиКейдж» .....	70
3.5.2.	Исследование обучения в методике выработки условного рефлекса двустороннего избегания .....	72
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....		79
4.1.	Крысы линии WAG/Rij – модель абсансных приступов .....	79
4.2.	Симптомный и бессимптомный фенотип крыс линии WAG/Rij.....	80
4.3.	Увеличение исследовательской активности в «опасных» областях экспериментальных установок, указывающее на сниженную тревожность крыс линии WAG/Rij, имеющих симптомный фенотип .....	81
4.4.	Сниженная обучаемость крыс линии WAG/Rij, имеющих симптомный фенотип...84	
4.5.	Влияние воздействий в раннем онтогенезе на формирование пик-волновых разрядов .....	88
4.6.	Влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс в два сензитивных периода созревания вибротактильной системы на формирования опорных точек развития.....	90
4.7.	Влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс на поведение крыс во взрослом возрасте .....	93

4.8. Влияние периода воздействия в раннем онтогенезе на развитие и поведение крыс линии WAG/Rij .....	95
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	99
ВЫВОДЫ.....	104
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	105

# ВВЕДЕНИЕ

## Актуальность проблемы

Абсансные приступы (или далее абсансы) - это внезапные, относительно короткие нарушения сознания, связанные с отсутствием произвольных движений и характерными электроэнцефалографическими пик-волновыми разрядами (ПВР) (Blumenfeld, 2005; Crunelli and Leresche, 2002; Matricardi et al., 2014; Panayiotopoulos, 1999). Данные приступы являются генерализованными и бессудорожными и в большинстве случаев имеют генетическую природу (Crunelli and Leresche, 2002). ПВР, сопровождающие абсансы, являются доминирующим типом патологической активности мозга при нескольких патологиях, относимых к генерализованным эпилепсиям (Panayiotopoulos, 2005), а также наблюдаются при других заболеваниях нервной системы (Bhat et al., 2014; Dan, 2009; Pillay et al., 2013; Poothrikovil et al., 2012; Smirnov et al., 2021). Наиболее распространёнными нозологиями, при которых наблюдаются ПВР, являются детская и юношеская абсансные эпилепсии (Crunelli and Leresche, 2002; Grosso et al., 2005; Porter, 1993; Tovia et al., 2006), однако абсансы наблюдаются и у взрослых пациентов, при этом, вероятно, чаще, чем принято считать (Ozdemir et al., 2013; Panayiotopoulos et al., 1992; Trinka, 2005).

В последнее время появляется все большее количество исследований, посвященных изучению психоневрологических нарушений, сопутствующих эпилепсиям с абсансными приступами (Cermignani et al., 2013; Jones et al., 2007; Masur et al., 2013; Vega et al., 2011), которые часто сохраняются даже после эффективной терапии приступов (Wald et al., 2019) и оказывают негативное влияние на качество жизни пациентов, которое часто превосходит негативное влияние самих приступов (Boylan et al., 2004; Gilliam et al., 2003). Для исследования механизмов, лежащих в основе нарушений, сопутствующих абсансам, необходима модель на животных, воспроизводящая данные нарушения.

Существует несколько моделей на животных, воспроизводящих электрофизиологические, поведенческие и фармакологические особенности

абсансов (Beyer et al., 2008; Hosford and Wang, 1997; Lakaye et al., 2002; Luijtelaar et al., 2014). Среди них общепризнанной валидной моделью являются крысы линии WAG/Rij (Coenen and Van Luijtelaar, 1987; Russo et al., 2016; Sitnikova et al., 2014), включенные в батарею скрининга противоэпилептических препаратов (Kupferberg, 2001). Крысы линии WAG/Rij генетически предрасположены к ПБР, которые появляются в 2-3 месяца, после чего их число и продолжительность увеличивается. В основе ПБР лежит нарушение взаимодействия коры и таламуса (Lüttjohann and van Luijtelaar, 2015; Meeren et al., 2005). Известно, что область инициации ПБР у крыс линии WAG/Rij находится в проекционной области вибрисс, особого сенсорного органа, обеспечивающего вибротактильное восприятие и являющегося одним из ведущих источников сенсорной афферентации у данных животных (Adibi, 2019; Mehta and Kleinfeld, 2004). Таким образом, изучение факторов, влияющих на возбудимость соматосенсорной коры, может позволить прояснить механизмы, лежащие в основе формирования эпилептического очага.

Несмотря на то, что возникновение ПБР у крыс линии WAG/Rij генетически детерминировано, воздействия на вибротактильную систему в раннем онтогенезе влияют на характеристики ПБР у взрослых животных. Состригание вибрисс в течение первых двадцати постнатальных дней ведет к усилению пик-волновой активности (Sitnikova, 2011). Ранее было показано, что данное воздействие ведет к увеличению возбудимости соматосенсорной коры (Sitnikova, 2000). В течение первых двадцати дней жизни крысы происходит созревание вибротактильной системы, участвующей в передаче и обработке сенсорной информации от вибрисс. Внутри данного временного интервала можно выделить два сензитивных периода созревания вибротактильной системы, которые характеризуются как различными структурными изменениями в мозге (Erzurumlu and Gaspar, 2012), так и переходом поведенческой функции вибрисс от пассивного ощупывания к активному исследованию пространства (Arakawa and Erzurumlu, 2015; Grant et al., 2012). При сравнении влияния двух протоколов ограничения сенсорного притока от вибрисс (включавшего оба периода и включавшего только второй период) было обнаружено, что состригание, включавшее оба периода, вело к более выраженному увеличению возбудимости соматосенсорной коры (Shoykhet et al., 2005). Неизвестно, вызвано ли данное различие эффектом длительности ограничения сенсорного притока или связано со специфической ролью сенсорного

притока от вибрисс в течение периода пассивного ощупывания. Мы поставили цель исследовать влияние состригания вибрисс в период пассивного функционирования вибрисс и в период формирования вибротактильных движений на характеристики ПВП для того, чтобы определить специфическую роль сенсорного притока от вибрисс в каждый из данных периодов.

В течение первого периода вибриссы играют важную роль в питании и поддержании температуры тела крысят (Arakawa and Erzurumlu, 2015; Sullivan et al., 2003), а их состригание ведет к изменению исследовательской активности и социального поведения у взрослых животных (Lee et al., 2009). Количество исследований роли вибрисс в формировании поведения во второй период весьма немногочисленно (Grant et al., 2012; Shishelova, 2006). В течение первого периода вибриссы выполняют пассивную функцию, участвуя в питании и взаимодействии с сиблингами. В течение второго периода с опорой на активные движения вибрисс формируются формы поведения, необходимые для исследования пространства вне гнезда и самостоятельного существования. В данной работе мы исследуем специфическое влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс в два сензитивных периода созревания вибротактильной системы на формирование поведения крыс. Работы, выполненные ранее нашими коллегами, исследовали влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс в более длительные периоды, включавшие оба сензитивных периода, либо имели другие методологические особенности, не позволяющие разделить эффекты, характерные для каждого из рассмотренных нами периодов.

Помимо воздействий, напрямую влияющих на возбудимость соматосенсорной коры, было показано влияние других факторов раннего онтогенеза на формирование ПВП у крыс линии WAG/Rij (Schridde et al., 2006; Schridde and Luijtelaar, 2004; Schridde and van Luijtelaar, 2005). Было обнаружено, что кратковременные отлучения от матери в течение первых трех недель жизни ведут к уменьшению количества ПВП (Schridde and Luijtelaar, 2004). Известно, что данная процедура, называемая «ранний хэндлинг», также имеет отсроченные последствия на поведение взрослых животных (Levine et al., 1956; Madruga et al., 2006; Weiner et al., 1987). Поскольку первые три недели жизни крысят характеризуются активным созреванием мозга, наличием различных сензитивных периодов созревания сенсорных систем и переходом от полной зависимости от

ухода матери к самостоятельному существованию, необходимо сравнение воздействий в различные периоды внутри данного временного интервала, чтобы определить периоды, когда внешние воздействия оказывают наибольшее влияние на развитие животных. В данной работе помимо эффектов, связанных с типом воздействия (состригание вибрисс/имитация состригания), мы также анализируем эффекты периода, когда воздействие было осуществлено, на формирование ПБР и поведенческие характеристики крыс.

Ранее было обнаружено, что крысы линии WAG/Rij демонстрируют депрессивно-подобное поведение (Sarkisova and van Luijtelaaar, 2011), а также имеют нарушения обучения, вторичные по отношению к абсансам (Leo et al., 2019). Однако в данных работах в качестве контрольной линии к крысам линии WAG/Rij выступают крысы линии Wistar. Однако до 30% крыс линии Wistar демонстрируют ПБР во взрослом возрасте (Vergnes et al., 1990). Расхождение между линиями Wistar и WAG/Rij произошло около 40 лет назад (Coenen et al., 1992). За это время могли сформироваться генетические отличия, которые определяют поведенческие особенности данных линий животных вне зависимости от ПБР. Также затрудняет интерпретацию результатов сравнения крыс линии WAG/Rij с крысами линии Wistar гетерогенность популяций крыс линии Wistar в различных питомниках. У 25% крыс линии WAG/Rij не формируются ПБР (далее называемые «бессимптомный фенотип») (Sitnikova and Smirnov, 2020). Поскольку крысы с симптомным и бессимптомным фенотипом происходят из одной популяции, бессимптомных животных можно рассматривать в качестве «идеального» контроля к животным, имеющим ПБР.

Практически не встречается работ, посвященных изучению нарушений внимания, которые являются основными сопутствующими когнитивными нарушениями при эпилепсиях с абсансными приступами. При исследовании уровня тревожности, которая в форме тревожного расстройства является основным сопутствующим эмоциональным нарушением у пациентов, имеющих абсансы, у крыс линии WAG/Rij в качестве контроля использовались крысы линии Wistar. Как отмечалось ранее, использование в качестве контроля крыс линии Wistar имеет ряд ограничений. Мы поставили задачу сравнить поведение крыс линии WAG/Rij с симптомным и бессимптомным фенотипами для определения связи между ПБР и характеристиками поведения.



## **Цель работы**

Изучить влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс у крыс линии WAG/Rij в течение двух сензитивных периодов раннего онтогенеза на формирование пик-волновой активности и особенностей поведения.

## **Задачи исследования**

1. Изучить влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс в период пассивного ощупывания и период начала вибротактильной активности на формирование эпилептического фенотипа и характеристики пик-волновых разрядов у взрослых крыс линии WAG/Rij;
2. Изучить влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс в период пассивного ощупывания и период начала вибротактильной активности на поведение крыс линии WAG/Rij;
3. Сравнить влияние периодов воздействий, связанное с кратковременными отлучениями от матери, сопровождающимися экспериментальными процедурами, и неспецифичное к их типу, на формирование пик-волновых разрядов и поведенческие особенности крыс линии WAG/Rij;
4. Выявить поведенческие особенности крыс линии WAG/Rij с симптомным и бессимптомным фенотипом.

Объектом исследования являются крысы линии WAG/Rij. Предметом – поведенческие характеристики и параметры пик-волновой активности. Общая логика исследования представлена на рис. 1.

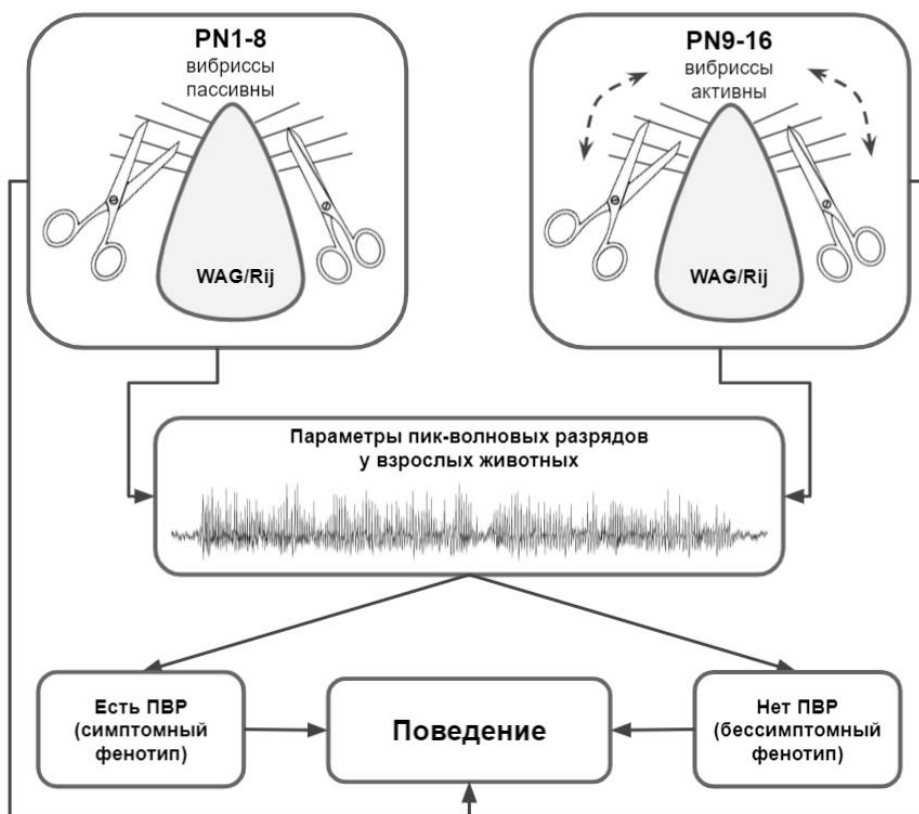


Рисунок 1. Общая логика исследования. Ограничение сенсорного притока от вибрисс проводится в два сензитивных периода созревания вибротактильной системы. Регистрация ЭЭГ позволяет разделить животных на симптомный и бессимптомный фенотип. Животные проходят поведенческое тестирование в различных методиках, направленных на оценку формирования поведения, когнитивных и эмоциональных особенностей. Анализируется влияния ограничения сенсорного притока на формирование epileptического фенотипа, параметры ПВР и поведенческие характеристики крыс, а также сравниваются поведенческие характеристики симптомного и бессимптомного фенотипов.

## Научная новизна

В последнее время в научной литературе все больше внимания уделяется поведенческим и когнитивным особенностям пациентов, имеющих абсансные приступы, а сами приступы описываются для все большего числа нозологий. Повышенный интерес к нарушениям внимания, сопровождающим абсансы, а

также эмоциональным особенностям пациентов вызван тем, что их негативное влияние на качество жизни пациентов часто превышает влияние самих приступов и сохраняется даже при медикаментозном контроле эпилептической активности. Тем не менее, до сих пор не было опубликовано исследований, в которых бы изучалась связь между параметрами ПВР и поведенческими характеристиками на валидной животной модели. В данной работе мы впервые проанализировали связь наличия и выраженности ПВР с поведенческими параметрами. У взрослых животных наличие симптомного фенотипа было связано с пониженной тревожностью и сниженной способностью к обучению. Сниженная способность к обучению у симптомных крыс была связана с более медленным определением связи между условными и безусловным стимулами и повышенной импульсивностью.

Развитие абсансов в животных моделях тесно связано с особенностями соматосенсорной коры, созревание которой зависит от сенсорного притока от вибрисс. В данной работе мы впервые проанализировали влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс в различные чувствительные периоды созревания вибротактильной системы на формирования ПВР и обнаружили, что состригание вибрисс ведет к изменению динамики ПВР и увеличению количества ПВР в возрасте 5 месяцев вне зависимости от периода воздействия.

Анализ влияния ограничения сенсорного притока в разные критические периоды созревания вибротактильной системы на сроки формирования различных форм поведения обнаружил, что состригание вибрисс в первый период ведет к задержке открытия глаз и манипуляторной активности передних конечностей, а состригание во второй период приводит к сближению сроков открытия глаз и начала ходьбы, появлению корреляции между ними, а также к исчезновению корреляционных связей между массой тела и сроками появления различных форм поведения. Таким образом, нами впервые было показано, что при ограничении сенсорного притока от вибрисс в период появления вибротактильных движений происходит реорганизация поведения.

## **Научные положения, выносимые на защиту**

1. Периоды созревания вибротактильной системы не играют специфической роли в формировании пик-волновых разрядов. Ограничение сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе модифицирует формирование ПВР, ведя к их более раннему созреванию вне зависимости от периода ограничения.

2. Крысы линии WAG/Rij демонстрируют сопутствующие абсансам поведенческие особенности. Пониженная тревожность и сниженная способность к обучению связаны с наличием симптомного фенотипа.

3. У крыс в раннем онтогенезе существуют опорные точки развития, которые являются маркерами физиологического созревания крысят. Ограничение сенсорного притока от вибрисс в период появления их активных движений ведет к сближению сроков открытия глаз и формирования ходьбы и разрушает связь между соматическим развитием и формированием опорных точек развития.

4. Кратковременные отлучения от кормящей самки, сопровождающие экспериментальные процедуры состригания вибрисс и его имитации, влияют на формирование пик-волновых разрядов и поведение крыс линии WAG/Rij во взрослом возрасте.

## **Практическая значимость и теоретическая ценность полученных результатов**

Выделение нами крыс линии WAG/Rij, имеющих бессимптомный фенотип, позволяет использовать их в качестве «идеального» контроля к симптомным животным, поскольку данные животные гораздо ближе генетически, чем крысы других линий. Сравнение эпилептических фенотипов является перспективным направлением при исследовании генетических особенностей и молекулярных

путей, ведущих к формированию ПВР, что может привести к обнаружению новых мишеней для фармакологического воздействия.

Когнитивные нарушения у пациентов, имеющих абсансные приступы, негативно отражаются на качестве жизни и не исчезают при подавлении приступов. Обнаружение у крыс с симптомным фенотипом сниженной способности к обучению и повышенной импульсивности, также выявляемых у пациентов, имеющих абсансные приступы, позволяет использовать крыс линии WAG/Rij для исследования механизмов формирования когнитивных нарушений, сопутствующих эпилепсиям с абсансными приступами.

Обнаружение нами неспецифического к периоду воздействия влияния ограничения сенсорного притока от вибрисс на формирование ПВР указывает на то, что сензитивные периоды созревания вибротактильной системы не играют принципиальной роли в развитии эпилептической активности у крыс WAG/Rij. Вероятно, решающую роль в эпилептогенезе ПВР играет не период, а длительность воздействия, поскольку ранее было показано, что более длительное ограничение ведет к более выраженным и устойчивым изменениям характеристик ПВР у взрослых животных.

**Степень достоверности результатов** подтверждается достаточным количеством экспериментальных животных, большим числом наблюдений. Интерпретация полученных результатов проведена с использованием современных методов статистического анализа. Выводы, сформулированные в диссертации, подкреплены фактическими данными, представленными в рисунках и таблицах.

### **Апробация диссертации**

Результаты работы были представлены в качестве докладов или стендовых сообщений на Конференциях молодых ученых ИВНДиНФ РАН (Москва, 2017-2019), Всероссийской конференции с международным участием: XXIII съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова (Воронеж, 2017), XIV

международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2018), Münster Symposium on Seizures and Epilepsy (Мюнстер, Германия, 2018), 3rd Nordic Neuroscience Meeting (Хельсинки, Финляндия, 2019), I онлайн-конференции и школе с международным участием «Эпилепсия: от фундаментальной науки к практике» (онлайн, 2020), 1 Национальном конгрессе по когнитивным исследованиям, искусственному интеллекту и нейроинформатике (онлайн, 2020).

## Публикации

По результатам работы опубликовано 6 статей в научных журналах из перечня ВАК.

1. Smirnov K, Tsvetaeva D, Sitnikova E. Neonatal whisker trimming in WAG/Rij rat pups causes developmental delay, encourages maternal care and affects exploratory activity in adulthood. *Brain Res Bull.* 2018 Jun;140:120-131. doi: 10.1016/j.brainresbull.2018.04.010. Epub 2018 Apr 21. PMID: 29684552.
2. Smirnov K, Sitnikova E. Developmental milestones and behavior of infant rats: The role of sensory input from whiskers. *Behav Brain Res.* 2019 Nov 18;374:112143. doi: 10.1016/j.bbr.2019.112143. Epub 2019 Aug 6. PMID: 31398362.
3. Sitnikova E, Smirnov K. Active avoidance learning in WAG/Rij rats with genetic predisposition to absence epilepsy. *Brain Res Bull.* 2020 Dec;165:198-208. doi: 10.1016/j.brainresbull.2020.10.007. Epub 2020 Oct 13. PMID: 33065174.
4. Runnova A, Zhuravlev M, Kiselev A, Ukolov R, Smirnov K, Karavaev A, Sitnikova E. Automatic wavelet-based assessment of behavioral sleep using multichannel electrocorticography in rats. *Sleep Breath.* 2021 Mar 25. doi: 10.1007/s11325-021-02357-5. Epub ahead of print. PMID: 33768413.
5. Smirnov K, Stroganova T, Molholm S, Sysoeva O. Reviewing Evidence for the Relationship of EEG Abnormalities and RTT Phenotype Paralleled by Insights from Animal Studies. *Int J Mol Sci.* 2021 May 18;22(10):5308. doi: 10.3390/ijms22105308. PMID: 34069993; PMCID: PMC8157853.
6. Ситникова Е.Ю., Смирнов К.С., Грубов В.В., Храмов А.Е. Принципы диагностики незрелой эпилептической (проэпилептической) активности на ЭЭГ у

крыс с генетической предрасположенностью к абсанс-эпилепсии.

Информационно-управляющие системы. 2019. Т. 1. С. 89-97. DOI: 10.31799/1684-8853-2019-1-89-97.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация содержит введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, заключение, выводы и цитированную литературу. Работа изложена на 126 страницах, содержит 22 рисунка и 5 таблиц. Список литературы включает 299 ссылок.

## **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ОТР	опорная точка развития
ОП	открытое поле
ПВР	пик-волновой разряд
ПД№	постнатальный день №
ПКЛ	приподнятый крестообразный лабиринт
УРДИ	условная реакция двустороннего избегания
GAERS	Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg, имбредная линия крыс с генетической предрасположенностью к абсансным приступам
WAG/Rij	Wistar Albino Glaxo rats from Rijswijk, имбредная линия крыс с генетической предрасположенностью к абсансным приступам

# ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

## 1.1. *Феномен абсансных приступов*

Абсансные приступы являются генерализованной формой эпилептических приступов и характеризуются внезапными кратковременными нарушениями сознания. Впервые данный тип приступов был описан в конце 18 века и получил название «*petit mal*» или «малый приступ» (Daly, 1968). В настоящее время термин «*petit mal*» вышел из употребления и заменен термином «абсансный приступ» или «абсанс». В 1935 году был описан характерный паттерн ЭЭГ, сопровождающий абсансный приступ, состоящий из комплексов «пик-волна» (Avoli, 2012). Данный тип активности является генерализованным, двусторонне-симметричным, имеет частоту около 3 Гц и часто ведет к постиктальному замедлению активности мозга (Sadleir et al., 2006). Выделяют типичные и атипичные абсансы. Атипичные абсансы имеют более низкую частоту (около 2,5 Гц) и не ведут к полной потере сознания. Пациенты, страдающие заболеваниями, ведущими к появлению атипичных абсансов, как правило, имеют выраженные когнитивные нарушения, ограничивающие способность к самостоятельному существованию (Pillay et al., 2013; Poothrikovil et al., 2012). В нашей работе мы сосредоточимся на феномене типичных абсансов.

Ранее считалось, что типичные абсансы являются доброкачественными, то есть не ведут к сопутствующим психоневрологическим расстройствам, однако за последние двадцать лет появилось большое количество исследований, указывающих на наличие у данной группы пациентов эмоциональных и когнитивных нарушений (Caplan et al., 2008; Cerminara et al., 2013; Cheng et al., 2017; Vega et al., 2011; Wald et al., 2019). Сопутствующие типичным абсансам нарушения ведут к отставанию от школьной программы, сложностям в освоении профессиональных навыков и снижению социальной активности, что негативным образом отражается на качестве жизни данных пациентов. В большинстве случаев типичные абсансы поддаются фармакологическому контролю, однако сопутствующие им нарушения сохраняются или даже усиливаются в результате



противосудорожной терапии, что создает необходимость исследования механизмов возникновения данных нарушений (Wald et al., 2019).

Абсансы обнаруживаются при нескольких формах эпилепсии, иногда сочетаясь в другими формами эпилептической активности (Panayiotopoulos, 2008). Наиболее характерными абсансы являются для детской абсансной эпилепсии и юношеской абсансной эпилепсии. Данные заболевания являются наследуемыми. До 45% пациентов с детской абсансной эпилепсией имеют случаи данного заболевания в семейной истории. В результате близнецового исследования было обнаружено, что конкордантность монозиготных близнецов с абсансной эпилепсией достигает 84% (Macdonald and Gallagher, 2015). Абсансы чаще всего имеют полигенную основу (Crunelli and Leresche, 2002). Неизвестно, влияют ли внешние воздействия на этиологию и патогенез эпилепсий с абсансными приступами. В качестве препаратов первой линии при абсансных используются этосуксимид и вальпроат натрия, демонстрирующие одинаковую эффективность в качестве монотерапии у более чем 80% детей (Panayiotopoulos, 1999), однако вальпроат вызывает более выраженные побочные эффекты (Brigo and Igwe, 2017). Препараты карбамазепин, вигабатрин и тиагабин, используемые при конвульсивных судорогах, противопоказаны при абсансах, поскольку могут привести к их усилению и формированию абсансного эпилептического статуса (Kpake et al., 1999; Parker et al., 1998).

Абсансы возникают в результате быстро генерализирующейся синхронизации активности нейронов в таламокортикальной сети. Согласно доминирующей концепции о патогенезе абсансов, входящие в данную сеть пирамидальные клетки коры головного мозга активируют клетки ретикулярного ядра таламуса, которые синхронизируют клетки в релейных ядрах, которые в свою очередь, передают возбуждение в кору (McCormick and Contreras, 2001). Основными механизмами, играющими роль в возникновении абсансов, являются активация кальциевых каналов типа T, участвующих в переключении таламических нейронов из режима тонической активности в пачечный режим (Chen et al., 2014), а также увеличение торможения, опосредованного рецепторами ГАМКБ (Han et al., 2012).

## **1.2. Модели абсансов на животных**

Модели на животных являются одним из основных источников знаний о физиологических механизмах, лежащих в основе неврологических заболеваний. Требования биоэтики накладывают ограничения на применение инвазивных методов на животных, однако на данный момент прогресс в биомедицинских науках невозможен без исследований, использующих данные методы. Несмотря на то, что изучение абсансных приступов в рамках физиологии насчитывает более 80 лет, до сих пор ведутся дискуссии о роли различных структур мозга в формировании абсансов, их генетической и молекулярной природы. Ответы на данные фундаментальные вопросы возможно получить лишь при использовании моделей на животных, соответствующих основным типам валидности. Идеальная модель на животных должна иметь «лицевую валидность», то есть феноменологическое сходство между тестируемым (модель на животных) и моделируемым состоянием (пациенты); «прогностическую валидность» - то есть результаты на модели должны предсказывать результаты у пациентов; «конструктивную валидность», то есть модель должна иметь хорошее теоретическое обоснование (Willner, 2008). Помимо нерешенных вопросов о физиологических механизмах абсансов, использование моделей на животных обусловлено наличием среди пациентов, имеющих данный тип приступов, до 30% фармакорезистентных случаев (Fattorusso et al., 2021). Даже когда препараты первой линии демонстрируют эффективность, наличие выраженных побочных эффектов делает поиск новых мишеней для терапии на моделях на животных чрезвычайно востребованным (Brigo and Igwe, 2017).

Первая экспериментальная модель абсансных приступов была создана при стимуляции электрическим током интраламнарной области таламуса с частотой 3 Гц у кошек (Jasper and Droogleever-Fortuyn, 1948). Впоследствии были разработаны фармакологические модели с применением пенициллина, пентилентетразола и гаммагидромасляной кислоты (Gloor, 1969; Marescaux et al., 1984; Snead, 1991). Хотя данные модели способствовали прогрессу в понимании механизмов генерации ПВР, отсутствие повторяемости приступов не позволяло с

их помощью изучать развитие заболевания. Генетические модели на животных являются более предпочтительными, чем экспериментальные, поскольку воспроизводят регулярные приступы, а также по причине того, что у людей абсансы имеют генетическую природу. Существует большое количество моделей на мышах, демонстрирующих ПВП, однако для большинства из них характерны другие неврологические нарушения, не позволяющие рассматривать их в качестве моделей типичных абсансов (Jarre et al., 2017). Две линии крыс (GAERS и WAG/Rij), у которых ПВП присутствует у большинства животных и возникают спонтанно, на данный момент являются наиболее распространенными моделями типичных абсансов (Coenen and Van Luijtelaa, 1987; Marescaux et al., 1992).

### **1.3. Пик-волновая активность у крыс линии WAG/Rij**

Линия WAG/Rij является инбредной и была выведена путем скрещивания близкородственных особей, демонстрирующих ПВП (Coenen et al., 1992). В период с октября 1986 по июль 2021 года в базе данных Web of Science при поиске по ключевым словам «WAG/Rij» и «epilepsy» проиндексировано 400 оригинальных публикаций. Абсансы, сопровождающиеся ПВП, спонтанно развиваются у крыс WAG/Rij, начиная с двух месяцев (Coenen and Van Luijtelaa, 1987). Количество ПВП постепенно увеличивается с возрастом параллельно с увеличением частоты и продолжительности, причем наиболее выраженная динамика наблюдается от 3 до 6 месяцев (Gabova et al., 2020). В возрасте 7-8 месяцев ПВП достигают зрелой формы, после чего дальнейшая динамика уже не выражена, формируя плато (Coenen and Van Luijtelaa, 1987; Gabova et al., 2020; van Luijtelaa and Bikbaev, 2007). Зрелые ПВП характеризуется частотой 7-10 Гц и продолжительности от 2 секунд, симметричны и распространены по всей коре с преобладанием во фронтальных областях (Midzianovskaia et al., 2001). ПВП у крыс WAG/Rij часто сопровождаются миоклонусом глаз, подергиванием вибрисс, учащенным дыханием и наклонами головы. Более чем в 80% случаев ПВП появляются во время пассивного бодрствования или во время легкого медленноволнового сна (Drinkenburg et al., 1991). Этосуксимид и вальпроат эффективно подавляют ПВП у

крыс линии WAG/Rij, в то время как карбамазепин увеличивают их продолжительность, что подтверждает прогностическую валидность данной модели абсансов (van Luijtelaar and van Oijen, 2020).

Линия WAG/Rij является полностью инбредной, то есть крысы данной линии являются гомозиготными по всем аутосомным генам. При скрещивании эпилептических и неэпилептических крыс в первом поколении более 95% животных демонстрируют ПВР в возрасте 6 месяцев, что указывает на доминантный тип наследования. Отсутствие различий в ПВР между самцами и самками свидетельствует о том, что гены, связанные с ПВР, находятся на аутосомных хромосомах (Peeters et al., 1990). Высокие индивидуальные различия в возрасте появления ПВР, их частоты и продолжительности, могут отражать их полигенную природу, а также роль факторов окружающей среды. Несмотря на генетическую природу ПВР у крыс линии WAG/Rij, конкретные гены, играющие роль в формировании данной формы эпилептической активности, не известны (Gauguier et al., 2004).

В большинстве исследований указывается на то, что данная линия животных является моделью детской абсансной эпилепсии (Coenen and van Luijtelaar, 2003; Drinkenburg et al., 1991; Smyk and van Luijtelaar, 2020; van Luijtelaar and Zobeiri, 2014), однако динамика формирования ПВР у крыс линии WAG/Rij и людей существенно отличается. Дебют детской абсансной эпилепсии происходит между 3 и 8 годами жизни, после достижения пубертатного периода она либо модифицируется в другую форму эпилепсии либо исчезает (Gupta, 2016; Kessler and McGinnis, 2019; Tenney and Glauser, 2013). У крыс линии WAG/Rij первые ПВР возникают уже у взрослых животных и их количество нарастает в течение жизни. В последнее время на основании обнаружения ПВР у диких крыс была высказана критика в отношении использования крыс, демонстрирующих ПВР, в качестве модели типичных абсансов у людей (Taylor et al., 2019). Данная критика основана на идее о том, что если ПВР наблюдаются у диких животных, то они не препятствуют адаптации животных и не являются патологической формой активности мозга. Однако у диких крыс длительность ПВР не превышает 2 секунд, что существенно отличает их от ПВР, наблюдаемых у крыс линии WAG/Rij.

Наличие у крыс линии WAG/Rij длительного периода онтогенеза, предшествующего возникновению зрелых ПВР, указывает на процесс

эпилептогенеза. Эпилептогенез можно определить как структурное и функциональное формирование и распространение нейронных сетей, способствующих возникновению спонтанных приступов, которые могут вести к развитию хронической эпилепсии (Pitkänen and Engel, 2014). В ряде работ у крыс линии WAG/Rij были показаны изменения экспрессии катионных каналов, активируемых гиперполяризацией (HCN) (Kanyshkova et al., 2012; Wemhöner et al., 2015), и кальциевых каналов, активируемых при высоком мембранном потенциале (Kanyshkova et al., 2014), свидетельствующие об эпилептогенных процессах, предшествующих формированию ПБР. Данный период является латентным периодом эпилептогенеза, в течение которого происходит формирование гипервозбудимых нейронных сетей. Предполагается, что в данный период внешние воздействия могут существенным образом модифицировать течение заболевания.

Одной из существующих сложностей при исследовании крыс линии WAG/Rij является отсутствие надёжного контроля. К крысам линии GAERS была выведена линия NEC, сходная генетически, но не имеющая ПБР (Marescaux et al., 1992). Контролем для крыс WAG/Rij в большинстве исследований являются крысы линии Wistar. Крысы линии WAG/Rij были выведены из одной популяции крыс Wistar более 40 лет назад (Coenen et al., 1992). За данный период времени эти линии крыс могли накопить значительное количество генетических отличий. Дополнительной сложностью при сравнении с крысами линии Wistar является наличие у 30% животных данной линии ПБР (Vergnes et al., 1990). Создание идеального контроля для крыс линии WAG/Rij возможно путем скрещивания крыс этой же линии, но не имеющих выраженных ПБР.

#### **1.4. *Нарушения, сопутствующие абсансным приступам***

Ранее считалось, что пациенты, страдающие эпилепсиями с абсансными приступами, не имеют сопутствующих нарушений в эмоциональной и когнитивной сферах, однако в течение последних лет было показано, что это не так (Carlan et al., 2008, 2005; Crunelli et al., 2020; Ott et al., 2001). В Таблице 1 мы

структурировали основные когнитивные и эмоциональные изменения, обнаруженные у пациентов, имеющих абсансные приступы, и выявленные в моделях на крысах.

		Тревожность	Депрессивность	Внимание	Память
Люди		▲	▲	▼	=
Крысы	WAG/Rij	=	▲	?	▼
	GAERS	▲	▲	=	▼

Таблица 1. Сопутствующие нарушения у пациентов, имеющих абсансные приступы, и в моделях типичных абсансов на крысах.

До 60% детей, у которых наблюдаются абсансные приступы, также имеют выраженные нейропсихиатрические заболевания, включая нарушения внимания, мышления, памяти и настроения, причем только 23% пациентов получают терапию, направленную на сопутствующие заболевания (Caplan et al., 2008). Некоторые сопутствующие нарушения, в частности, дефицит внимания могут быть обнаружены до постановки диагноза эпилепсии. Более того, такие проблемы психического здоровья, как СДВГ, депрессия и суицидальные мысли, представляют собой независимые факторы риска спонтанных судорог у детей и подростков (Jones et al., 2007). Предполагается, что данные психические проблемы могут формироваться на основе нейробиологических нарушений, предшествующих эпилепсии и ведущих к ней. Сложности в исследовании сопутствующих абсансным приступам нарушений заключается в том, что антиабсансные препараты имеют выраженные побочные эффекты, отражающиеся на эмоциональной и когнитивной сферах. Так, нарушения внимания усугубляются при монотерапии вальпроевой кислотой (Masur et al., 2013). Этосуксимид может вызывать сонливость или, наоборот, бессонницу (Hanrahan and Carson, 2021), что может вести к снижению работоспособности, повышенной отвлекаемости, головным болям и в итоге негативно отражаться на школьной успеваемости. Исследования на животных, являющихся валидной моделью типичных абсансов и не получающих антиабсансной терапии, могут помочь ответить на вопрос о первичном характере когнитивных и эмоциональных нарушений при абсансных приступах.

До 40% детей, страдающих абсансной эпилепсией, имеют дефицит внимания, что делает его наиболее распространенным сопутствующим нарушением (Crunelli et al., 2020). Обнаруживаемые у пациентов с абсансными приступами нарушения внимания могут проявляться как сниженная концентрация и трудности в поддержании уровня внимания при решении задачи (Masur et al., 2013), так и в форме повышенной импульсивности (то есть преждевременных реакций) (Serminara et al., 2013). На основе методов структурной визуализации был обнаружен меньший объем серого вещества областей мозга, вовлеченных в процессы внимания (включая орбитальную лобную извилину и височные доли) у пациентов, имеющих абсансы (Carlan et al., 2009). Уменьшенный объем миндалины, также играющей важную роль во внимании (Vuilleumier, 2009), был выявлен у группы пациентов, имеющих абсансы, сочетанные с СДВГ (Schreibman Cohen et al., 2009). Нарушения внимания могут быть связаны у данных пациентов также с изменением таламокортикальных взаимодействий, лежащих в основе абсансов. Была обнаружена активация переднего и центромедианного ядер таламуса, участвующих в регуляции уровня внимания (Schmitt et al., 2017), во время абсансов. Хотя данные ядра не участвуют в генерации ПВР, недавно была показана роль центромедианного ядра в генерализации эпилептической активности на животной модели типичных абсансов (Terlau et al., 2020).

В отличие от эпилепсий с конвульсивными приступами, для которых наиболее характерным эмоциональным нарушением является депрессия, пациенты с абсансными приступами наиболее часто имеют тревожное расстройство (Carlan et al., 2005). Важно отметить, что эмоциональные расстройства могут формироваться в результате реакции на основное заболевание, ведущее к стигматизации и изоляции пациентов (Mula and Kaufman, 2020). Отсутствие анатомических отличий в структурах, связанных с обработкой угрожающих стимулов, у группы пациентов, имеющих абсансы с сочетанными нарушениями настроения (Schreibman Cohen et al., 2009), указывает на функциональную природу данных сопровождающих нарушений. Вторичный механизм формирования делает их сопоставление с аналогичными нарушениями в моделях на животных затруднительным. Однако вероятным остается наличие первичных эмоциональных нарушений у подгрупп пациентов, имеющих абсансы, связанных с определёнными мутациями и формой течения основного

заболевания. Для подобных подгрупп исследования на моделях на животных могут предоставить новую информацию о механизмах формирования эмоциональных нарушений и способах терапии.

### **1.5. Сопутствующие нарушения у крыс линии WAG/Rij**

Обнаружение сопутствующих нарушений у пациентов, имеющих абсансы, позволило предположить, что сходные нарушения присутствуют и в моделях на животных. Было обнаружено, что крысы линии WAG/Rij имеют поведенческие особенности, среди которых наиболее исследованными являются депрессивно-подобные черты (Malyshev et al., 2014; Moyanova et al., 2018; Russo et al., 2013; Sarkisova and van Luijtelaaar, 2011). Наличие данных черт не ведет к нарушению функционирования животных, но проявляется в специализированных методиках (тест вынужденного плавания и тест предпочтения сахарозы), поэтому крысы линии WAG/Rij могут рассматриваться как модель «мягкой» депрессии (Citraro et al., 2014). Возможно, депрессивно-подобные черты у крыс линии WAG/Rij являются специфической особенностью данных животных, вызванной механизмами, отличающимися от тех, что участвуют в формировании депрессии у людей. В пользу этого говорит то, что ингибитор обратного захвата серотонина «Тразодон», используемый при терапии депрессии у людей, усиливает депрессивно-подобные поведенческие особенности у крыс линии WAG/Rij (Aygun, 2020).

Как отмечалось ранее, сопутствующие нарушения могут быть как первичными (то есть возникающими из-за нейробиологических особенностей, ведущих через независимые пути к абсансам и сопутствующим нарушениям), так и вторичными (то есть возникающими в результате негативного влияния эпилептической активности на деятельность мозга или психологической реакции на основную болезнь). Было обнаружено, что поведенческие проявления депрессивности у крыс линии WAG/Rij снижаются при фармакологическом подавлении ПВП (Sarkisova et al., 2010), что свидетельствует о их вторичной по отношению к абсансам природе. Подобный эффект был обнаружен и при исследовании влияния антиабсансных препаратов на нарушения памяти,



обнаруживаемые у крыс линии WAG/Rij в позднем возрасте (Leo et al., 2019). Однако стоит отметить, что в данных исследованиях в качестве контроля была выбрана крысы линии Wistar, которые в 30% случаев демонстрируют ПБР (Vergnes et al., 1990). Также в указанных исследованиях не была осуществлена регистрация ЭЭГ. Данные методологические аспекты не позволяют ответить на вопрос о связи между наличием ПБР и сопутствующих нарушений. Исследование генетически близких животных, отличающихся по фенотипическому признаку наличия ПБР может позволить ответить на данный вопрос.

Несмотря на то, что тревожное расстройство более распространено, чем депрессия у пациентов, страдающих эпилепсиями с абсансными приступами, исследования на крысах линии WAG/Rij продемонстрировали противоречивые результаты в отношении наличия повышенной тревожности у данных животных. Повышенный уровень тревожности обнаружен только у подгруппы крыс линии WAG/Rij с аудиогенными припадками (Sarkisova et al., 2005). Сравнение крыс линий WAG/Rij и Wistar не выявило различий под данному параметру (Karson et al., 2012). Как и в случае с указанными выше исследованиями депрессивности, в данных исследованиях не был произведен контроль ЭЭГ, что не позволяет сделать выводы о связи тревожности и ПБР. Исследования на другой животной модели типичных абсансов, крысах линии GAERS, контролем к которым выступают выведенные от одного предка, но не имеющие ПБР, крысы линии NEC, свидетельствуют о сложной связи между тревожностью и ПБР. Повышенная тревожность у крыс линии GAERS (Jones et al., 2008; Powell et al., 2014) снижалась при хроническом применении этосуксимида, подавляющего ПБР (Dezsi et al., 2013), в то время как препарат Z944, являющийся более селективным блокатором кальциевых каналов типа T, чем этосуксимид, уменьшая количество ПБР, усиливал тревожность (Marks et al., 2019). Исследования на крысах линии WAG/Rij также требует использования неэпилептического контроля для более точного выявления наличия или отсутствия повышенной тревожности у крыс, имеющих выраженные ПБР.

Среди когнитивных нарушений, обнаруживаемых у крыс линии WAG/Rij, лучше всего описана сниженная пространственная память в возрасте, когда ПБР достигают зрелой формы (Karson et al., 2012; Leo et al., 2019). Данное нарушение является вторичным по отношению к ПБР, поскольку корректируется

антиабсансным препаратом (Leo et al., 2019). Механизм нарушения памяти, вызываемого повторяющимися абсансами, может быть основан на вовлечении лимбических структур, в частности гиппокампа после длительного периода эпилептогенеза. На данный момент отсутствуют подтверждения прямого вовлечения гиппокампа в ПБР, однако на модели абсансов на мышах было показано, что ПБР ведут к уменьшению экспрессии канала HCN1 и тока Ih в нейронах области CA1, а также снижению эффективности обучения в водном лабиринте Морриса (Phillips et al., 2014), являющимся тестом, направленным на оценку памяти, опосредованной гиппокампом (Vorhees and Williams, 2006). Другим путем, который может вести к нарушениям памяти у крыс, имеющих абсансные приступы, является уменьшение числа нейронов в компактной части черной субстанции, негативно коррелирующее с числом ПБР (Sitnikova et al., 2021). Поражение черной субстанции ведет к нарушению обучения в водном лабиринте Морриса (Da Cunha et al., 2003). Таким образом, уменьшенное количество нейронов в компактной области черной субстанции у крыс линии WAG/Rij может быть причиной сниженной способности к обучению. Дальнейшие исследования, направленные на изучение роли гиппокампа и черной субстанции в ПБР, позволят определить, какой из механизмов играет решающую роль в сопутствующих абсансам нарушениям памяти у крыс линии WAG/Rij. Обнаруженные нарушения обучения и памяти, выявленные у крыс линии WAG/Rij, контрастируют с отсутствием подобных нарушений у детей, имеющих диагноз абсансной эпилепсии (Lopes et al., 2014). Поскольку данные нарушения были выявлены у крыс линии WAG/Rij после длительного периода эпилептогенеза, можно предположить, что обнаруженное различие определяется разным течением болезни у людей и крыс.

Хотя наиболее распространенным сопутствующим нарушением у пациентов, имеющих абсансные приступы, является дефицит внимания (Caplan et al., 2008; Crunelli et al., 2020; D'Agati et al., 2012; Kim and Ko, 2016; Vega et al., 2010), насколько нам известно, исследования внимания на крысах линии WAG/Rij не проводились. В работе, выполненной на крысах линии GAERS, не было выявлено нарушений зрительного внимания, однако было обнаружено более медленное обучение (Marques-Carneiro et al., 2016). Авторы данного исследования отметили, что выявленные ими особенности когнитивной сферы были

небольшими и в сильной степени зависели от экспериментальной задачи.

Использование методик, чувствительных к нарушениям внимания у животных с выраженными ПБР, позволит исследовать механизмы, ведущие к дефициту внимания при развитии абсансов.

### **1.6. Влияние внешних факторов в раннем онтогенезе на формирование пик-волновых разрядов у крыс линии WAG/Rij**

Головной мозг многих млекопитающих, в том числе человека и крысы, при рождении не полностью сформирован (Molnár et al., 2014; Nakafuku and Del Águila, 2020). Ранний онтогенез представляет собой чрезвычайно важный период, когда негативные воздействия могут вызвать нарушения развития нервной системы, в то время как создание благоприятных условий может, наоборот, привести к компенсации врожденных нарушений. Развитие эпигенетических методов за последние годы позволило обнаружить, что факторы внешней среды могут влиять на активность генов, приводя к существенным изменениям в течении генетически детерминированных заболеваний (Zahir and Brown, 2011; Zoghbi and Beaudet, 2016).

Причиной абсансных приступов являются генетические факторы и долгое время считалось, что индивидуальный опыт и внешняя среда не оказывают существенного влияния на течение заболевания. Однако результаты исследований на моделях на животных привели к пересмотру данной точки зрения. Предположение о выраженном влиянии внешних факторов на развитие абсансов было высказано на основании высокой вариативности параметров ПБР в инбредных линиях крыс, предрасположенным к абсансным приступам (Schridde and Luijtelaar, 2004). Поскольку данные животные очень сходны генетически в результате длительного близкородственного скрещивания, выраженные различия в характеристиках ПБР не могут объяснены генетическим факторами. Было обнаружено, что условия выращивания крысят линии WAG/Rij существенно влияют на частоту и длительность ПБР (Schridde et al., 2006; Schridde and Luijtelaar, 2004; Schridde and van Luijtelaar, 2005). Одним из наиболее изученных способов оценки влияния неспецифических факторов внешней среды на развитие

крыс являются создание обогащенной и обедненной среды (Diamond et al., 1972; Larsson et al., 2002). Обогащенная среда создается путем добавления в клетку новых предметов. Содержание крыс линии WAG/Rij в обогащенной среде в течение первых двух месяцев жизни ведет к увеличению числа ПБР и их продолжительности по сравнению с животными, содержащимися в обедненной среде, при этом воздействия не влияют на процент животных, имеющих ПБР (Schridde and van Luijtelaar, 2005). Однако следует отметить, что в данной работе ЭЭГ регистрировалась в возрасте 3 месяцев, когда ПБР только начинают формироваться, таким образом, нельзя сделать заключение о том, ведут ли данные воздействия к изменению характеристик ПБР в зрелой форме или влияют именно на динамику их формирования.

Наличие влияния ранних воздействий на формирование ПБР не является уникальным для крыс линии WAG/Rij. Исследования, проведенное на крысах линии GAERS, содержащихся в обогащенной среде, обнаружило более позднее появление и меньшую длительность эпилептической активности, по сравнению с крысами, содержащимися в стандартных условиях (Dezsi et al., 2016). Также было выявлено, что содержание в обогащенной среде ведет к снижению сопутствующей тревожности. Результаты исследования влияния факторов среды на формирование ПБР у крыс линии WAG/Rij и GAERS противоречат друг другу, что может быть вызвано как генетическими различиями между линиями, так и методическими особенностями. В работе, выполненной на крысах линии WAG/Rij, животные при создании условий обогащенной среды содержались в больших группах (8-10 крыс в клетке), в то время как животные из группы обедненной среды, содержались поодиночке (Schridde and Luijtelaar, 2004). В исследовании, выполненном на крысах линии GAERS, все экспериментальные группы состояли из 3-4 животных. Таким образом, количество животных в группе могло быть независимым фактором, оказывающим влияние на формирование ПБР, ведя к изменению социальных взаимодействий и групповой иерархии.

Одним из факторов, которые могут оказывать влияние на раннем этапе эпилептогенеза, является материнская забота, поскольку в течение первых двух недель жизни крысята полностью зависят от ухода, обеспечиваемого кормящей самкой. Известно, что качество материнской заботы влияет на распределение эпигенетических меток, формирование нейроэндокринных систем и развитие

поведения крысят (Curley and Champagne, 2016). Материнское поведение крыс включает стандартные действия, такие как вылизывание и кормление крысят, строительство гнезда и перетаскивание в него крысят, необходимые для нормального развития потомства (Rosenblatt, 1975). У разных линий крыс материнская забота имеет свои особенности, которые коррелируют с эмоциональными характеристиками животных и могут быть объяснены генетическими различиями (Holmes et al., 2006; Orso et al., 2019). Крысы линии с генетической предрасположенностью к депрессивности меньше заботятся о потомстве по сравнению с контрольной линией животных (Lavi-Avnon et al., 2005). Сниженный уровень материнской заботы у крыс WAG/Rij (Dobryakova et al., 2008) является фактором, способствующим развитию ПБР, что было показано в экспериментах по пересадки потомства от кормящих самок линии WAG/Rij самкам линии Wistar (Sitnikova et al., 2016).

Проведение экспериментальных процедур в раннем онтогенезе, как правило, сопровождается кратковременным отлучением крысят из гнезда. Сами по себе подобные отлучения, получившие название «ранний хэндлинг», оказывают выраженное воздействие на развитие животных (Levine et al., 1956; Pryce et al., 2003; Weinberg and Levine, 1977). Было обнаружено, что данное воздействие в большинстве случаев оказывает положительное влияние на поведение животных во взрослом возрасте (Vallée et al., 1997; Wakshlak and Weinstock, 1990; Weiner et al., 1987) в отличие от долговременных отлучений из гнезда, называемых «отлучение от матери» (Daniels et al., 2004; Roque et al., 2014; Vetulani, 2013). Следует отметить, что кормящие самки демонстрируют увеличение материнской заботы по отношению к потомству после возвращения крысят в домашнюю клетку (Pryce et al., 2001; Rüedi-Bettschen et al., 2004), что может модулировать эффекты раннего хэндлинга и отлучения от матери. Можно предположить, что эффекты воздействий в раннем онтогенезе могут быть более выраженными у линий животных, демонстрирующих сниженную материнскую заботу. В большинстве исследований влияния раннего хэндлинга изучались длительные периоды воздействия (>20 дней). Однако ранний онтогенез характеризуется быстрыми изменениями в нервной системе и в поведении, ведущими от полной зависимости от кормящей самки до формирования способности к самостоятельному существованию к концу третьей недели жизни. В

результате исследований эффектов раннего хэндлинга в разные периоды раннего онтогенеза было показано, что воздействие в течение первой недели жизни почти также эффективно, как и воздействие в течение трех недель (Levine and Lewis, 1959).

Ранний хэндлинг и отлучение от матери ведут к изменениям в экспрессии белков, специфичных для нейронов (Acosta, 2017; Ohta et al., 2020; Tsotsokou et al., 2021), и меняют возбудимость нейронов в различных структурах мозга (Ali et al., 2013; Spyrka et al., 2020). Известна роль воздействий в раннем онтогенезе на эпилептогенез в модели киндлинга миндалина. Было обнаружено увеличение пачечной активности нейронов соматосенсорной коры и ретикулярного ядра таламуса (Ali et al., 2013) и снижение количества пирамидальных нейронов в зоне СА3 гиппокампа (Kumar et al., 2011) после киндлинга у крыс, подвергнутых отлучению от матери. Таким образом, можно предположить, что воздействия в раннем онтогенезе могут также модифицировать и формирование абсансных приступов. При исследовании влияния как раннего хэндлинга, так и отлучения от матери в течение трех первых недель было обнаружено уменьшение числа ПВР у взрослых животных, которое в соматосенсорной коре сопровождалось увеличением экспрессии белка ионного канала HCN1 и амплитудой связанного с ним тока (Schridde et al., 2006). Как и в ранее рассмотренной работе данной группы, в которой изучалось влияние обогащенной и обедненной среды, в данном исследовании регистрация ЭЭГ была проведена до завершения формирования эпилептической активности (4.5 месяца), на основании чего можно предположить более раннее возникновение ПВР. Регистрация ЭЭГ в более позднем возрасте может дать ответ на вопрос о том, влияют ли подобные воздействия на характеристики зрелых ПВР.

### ***1.7. Роль вибротактильной системы в развитии пик-волновых разрядов***

Существует несколько теорий, описывающих механизмы инициации и генерализации ПВР (Bancaud et al., 1974; Buzsáki, 1991; Gloor, 1968; Meeren et al., 2005; Penfield and Jasper, 1954) и отдающих ведущую роль корковым или

таламическим структурам, однако на данный момент доминирующей является теория, согласно которой область инициации ПВР находится в коре головного мозга (Lüttjohann and van Luijtelaar, 2015; Meeren et al., 2002; Polack et al., 2007). С помощью нелинейных методов анализа сигнала было обнаружено, что активность в периоральной области соматосенсорной коры предшествует активности в таламусе, что позволило выдвинуть предположение о том, что очаг ПВР у крыс линии WAG/Rij находится именно в данной области (Meeren et al., 2002). Данное предположение было подтверждено исследованиями, в которых изучалось влияние локального введения лидокаина у крыс линии WAG/Rij (Sitnikova and van Luijtelaar, 2004), а также этосуксимида у крыс линии GAERS (Polack et al., 2007). Было обнаружено, что подавление активности именно соматосенсорной коры ведет к исчезновению ПВР. На данный момент общепризнанной является следующая схема распространения ПВР: после возникновения возбуждения в соматосенсорной коре происходит вовлечение сенсорных таламических ядер, включая вентропостеромедиальное и постериорное ядра (Lüttjohann and van Luijtelaar, 2015); далее происходит генерализация ПВР, в которой важную роль играют центральные ядра таламуса (Terlau et al., 2020); после генерализации ПВР и кора, и таламус могут в разных пароксизмальных циклах играть ведущую роль в усилении возбуждения (Crunelli et al., 2020).

Указанные выше структуры мозга, участвующие в пик-волновой активности, обеспечивают передачу и обработку информации от вибрисс (Рис.2). Вибриссы являются важным сенсорным органом у крыс, обеспечивая восприятие расстояний и текстур за счёт вибротактильных движений с частотой около 8 Гц (Deschênes et al., 2012). Они располагаются по обе стороны морды. Основное отличие вибрисс от обычных волос состоит в наличии больших фолликулов, которые содержат плотные нервные окончания и сенсорные рецепторы. Выступая в качестве преобразователей механического воздействия, вибриссы опосредуют передачу сигнала прикосновения к рецепторам в фолликулах (Adibi, 2019). Сигналы от данных рецепторов поступают по тройничному нерву в ствол мозга, откуда, разделяясь на лемнисковый и паралемнисковый пути, идут соответственно в вентропостеромедиальное и постериорное ядра таламуса, а затем в периоральную зону соматосенсорной коры.

Поскольку зона инициации ПВР находится в первичной проекционной зоне вибрисс, было выдвинуто предположение о том, что сенсорный приток от вибрисс модулирует характеристики ПВР. У крыс линии Long Evans, демонстрирующих ПВР, введение лидокаина в область вибрисс вело к снижению частоты ПВР, не влияя на их количество и продолжительность, в течение 2 часов после введения вещества (Shaw and Liao, 2005). Исследование эффекта введения лидокаина вблизи тройничного нерва крыс линии WAG/Rij обнаружило полное подавления ПВР в течение двух часов после введения (Abbasova et al., 2010).

Рассогласование в результатах данных двух работ может быть объяснено выбором места введения лидокаина – в первой работе это была неспецифичная зона вибриссовой подушечки, в то время как во второй работе препарат вводился около тройничного нерва, передающего сигналы от вибрисс. Введение лидокаина вблизи лицевого нерва не имело эффекта на ПВР (Abbasova et al., 2010).

Сенсорный приток от вибрисс модулирует процесс созревания нейронов в таламусе и соматосенсорной коре (Diamond and Arabzadeh, 2013; Erzurumlu and Gaspar, 2012; Simons and Land, 1994). Было показано, что крысы, подвергавшиеся удалению вибрисс в раннем онтогенезе, демонстрируют повышенный уровень активационных реакций в первичной проекционной области вибрисс на фоне дефицита торможения (Sitnikova, 2000). Одностороннее состригание вибрисс ведет к увеличению возбудимости нейронов 5 слоя соматосенсорной коры, контралатеральной стриженной стороне, по сравнению с нейронами, контралатеральными интактной стороне, за счёт уменьшения плотности каналов HCN на дендритах (Breton and Stuart, 2009). На основании увеличения возбудимости соматосенсорной коры в результате ограничения сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе было предположено, что данное воздействие будет влиять на характеристики ПВР у крыс линии WAG/Rij. Было обнаружено, что состригание вибрисс в течение первых 3 недель жизни увеличивает частоту ПВР. Эпилептическая активность у животных, подвергнутых состриганию вибрисс, была выражена уже в 5 месяцев, а число ПВР соответствовало уровню восьмимесячных животных из контрольной группы (Sitnikova, 2011).



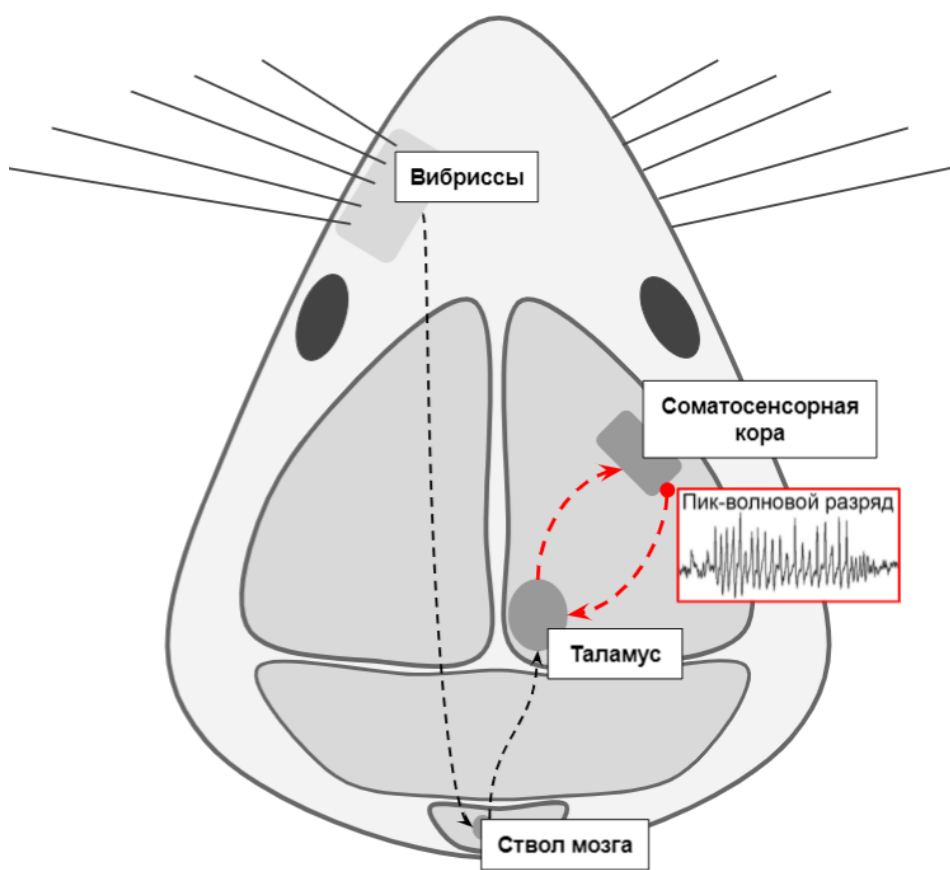


Рисунок 2. Схема вибротактильной системы. Пунктирными линиями обозначаются связи между структурами мозга, участвующие в проведении и обработке сенсорной информации от вибрисс. Красным цветом обозначены связи между структурами, вовлечёнными в генерацию пик-волновой активности.

### **1.8. Два сензитивных периода развития вибротактильной системы**

Созревание вибротактильной системы подчиняется общим принципам, определяющим процесс индивидуального развития. Оно состоит из последовательных стадий, каждая из которых характеризуется приобретением нового сенсорного опыта и формированием новых функциональных систем, обеспечивающих выживание на последующих этапах (Raevsky et al., 1997).

Известно, что наличие сенсорного притока от вибрисс в первые несколько постнатальных дней имеет решающее значение для тонкой структурной организации вибротактильной системы (Erzurumlu, 2010; Erzurumlu and Gaspar, 2012) и развития поведения (Шишелова, 2000). По аналогии с классическими работами по ограничению сенсорного притока от зрительного анализатора (Hooks and Chen, 2007; Hubel and Wiesel, 1970; Wiesel and Hubel, 1963), данный период развития вибротактильной системы часто обозначается как критический (Durham and Woolsey, 1984; Loos and Woolsey, 1973). Критический период можно определить, как время, в течение которого наличие определенного внешнего или внутреннего фактора необходимо для нормального развития, и отсутствие такого фактора приводит к необратимым изменениям в организме (Erzurumlu and Killackey, 1982). Однако существуют значительные различия между тем, как реализуется сенсорная депривация в зрительной и вибротактильной модальности, которые не позволяют проводить однозначные аналогии и требуют более специфичной терминологии при описании влияния ограничения сенсорного притока от вибрисс. Зрительная депривация, осуществляемая путем сшивания века, блокирует сенсорный вход без повреждения сенсорного органа. Ограничения сенсорного притока от вибрисс осуществляется либо необратимым путем (за счёт повреждения фолликулов вибрисс или перерезки тройничного нерва), либо путем состригания вибрисс, которые со временем отрастают. Известно, что состригание вибрисс в раннем онтогенезе ведет к увеличению возбудительных рецептивных полей нейронов и снижению эффективности торможения в соматосенсорной коре (Keller and Carlson, 1999; Simons and Land, 1987; Sitnikova, 2000), а также к изменению поведения, опирающегося на функцию вибрисс (Kurzina et al., 2017; Papaioannou et al., 2013). Таким образом, изменения в созревании соответствующих структур мозга и поведения после сенсорной депривации вибротактильной системы указывают на уязвимость развивающейся системы к физическому повреждению во время ее созревания, а не на критическую роль сенсорного опыта. С целью разделения механизмов, лежащих в основе действия сенсорной депривации зрительной и вибротактильной систем, было предложено использовать для последней термин «сензитивный период» (Belford and Killackey, 1980) Сензитивный период можно определить как время в онтогенезе, в течение которого сенсорная система уязвима к вредным

воздействиям, таким как токсическое или структурное повреждение (Erzurumlu and Killackey, 1982). Также существует подход, в рамках которого критический период рассматривается как последовательность сензитивных периодов (Knudsen, 2004), то есть отсутствие сенсорного притока в течение всего критического периода будет вести к необратимому изменению функции сенсорного органа, а во время одного из сензитивных периодов будет специфично влиять на качество реализации функции, но не приводить к ее полному нарушению.

У крыс и мышей анатомическое созревание неокортикального представительства вибрисс происходит в течение первой постнатальной недели; после этого периода деафферентация вибрисс не вызывает серьезных структурных изменений в соматосенсорной коре и связанных с ней структурах мозга (Belford and Killackey, 1980; Erzurumlu, 2010). Крысята демонстрируют реакцию на прикосновение к вибриссам с ПД3 (Sokoloff et al., 2015), одергивают их с ПД4 и вытягивают с ПД7 (Landers and Philip Zeigler, 2006). Активное ощупывание окружающей среды с помощью вибрисс начинается на второй постнатальной неделе (Mosconi et al., 2010), хотя уже до этого крысята используют информацию от вибрисс при движениях тела (Clem et al., 2008). Адекватный сенсорный приток от вибрисс в данный период также важен для питания и социального поведения. Так, крысята, подвергнутые ограничению сенсорного притока в течение первой постнатальной недели, имеют сниженную массу тела (Arakawa and Erzurumlu, 2015; Smirnov et al., 2018). Состригание вибрисс в течение ПД3–5 вызывает нарушение обнаружения материнского соска и снижение способности к скучиванию (Sullivan et al., 2003). Скучивание является типичным социальным поведением новорожденных грызунов, которое способствует поддержанию постоянной температуры тела. Снижение данной способности у крысят после состригания вибрисс свидетельствует о важности сенсорного притока от них для осуществления поведенческой адаптации на протяжении неонатального периода.

В период, начинающийся с ПД9, активно происходит формирование тормозных синапсов (Gaine et al., 2016; van der Bourg et al., 2017). Несмотря на то, что ограничение сенсорного притока от вибрисс после первой постнатальной недели не вызывает нарушений в макроструктуре соматосенсорной коры, развитие рецептивных полей нейронов первичной проекционной зоны вибрисс нарушается при состригании с ПД12 (Shoykhet et al., 2005), хотя и в меньшей

степени, чем состригание вибрисс с рождения. Стоит отметить, что в данной работе состригание, начинавшееся с рождения, продолжалось после ПД12. Таким образом, можно предположить как принципиальную значимость сенсорного притока от вибрисс с рождения до ПД12 для формирования возбудимости соматосенсорной коры, так и более выраженное влияние длительных воздействий по сравнению с короткими (Рис. 3). Поскольку абсансные приступы формируются в результате увеличенной возбудимости соматосенсорной коры, то можно предположить, что состригание вибрисс в период их пассивного использования будет вести к более раннему появлению и большей продолжительности ПВР по сравнению с периодом возникновения вибротактильных движений. Если данное предположение не подтвердится, то сопоставление эффектов ограничения сенсорного притока от вибрисс в каждый из периодов с результатами работы, в которой состригание проводилось в течение обоих периодов (Sitnikova, 2011), позволит проверить гипотезу о решающем влиянии длительности ограничения сенсорного притока.

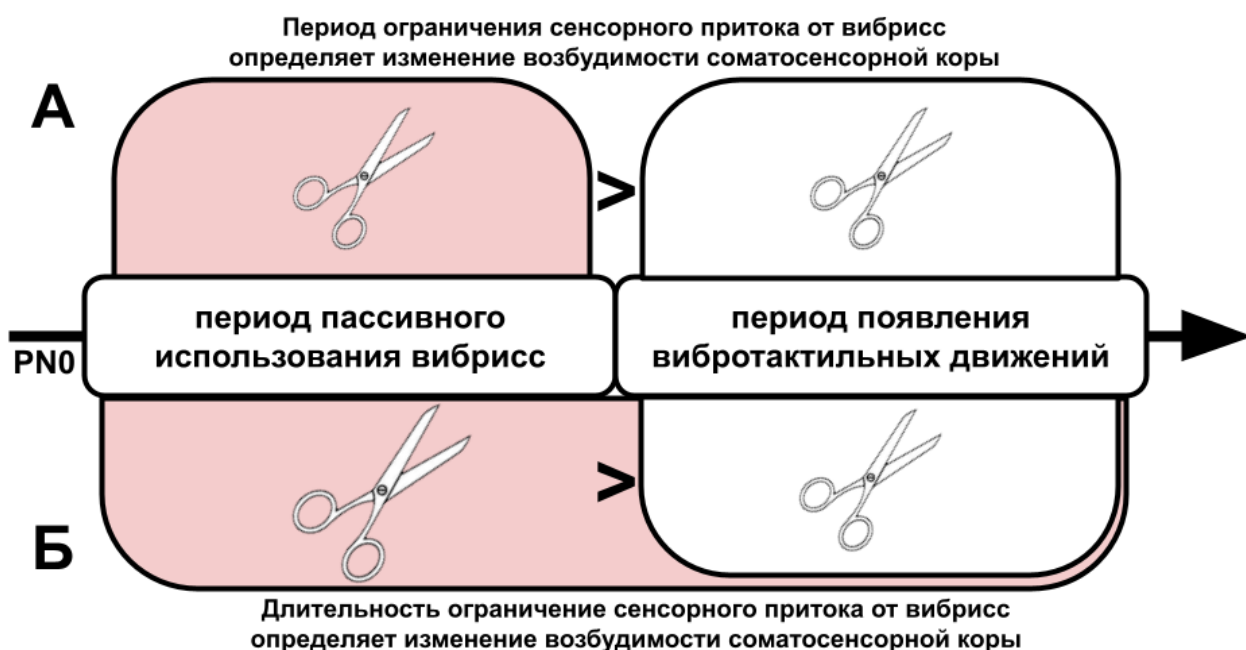


Рисунок 3. Схематическое изображение двух гипотез о влиянии ограничения сенсорного притока от вибрисс на возбудимость соматосенсорной коры. А. Гипотеза о влиянии периода. Б. Гипотеза о влиянии длительности.

Наличие сенсорного притока от вибрисс в период появления вибротактильных движений имеет решающее значение для развития моторной и эмоциональной сферы. В лаборатории Нейроонтогенеза ИВНДИНФ РАН было показано, что состригание вибрисс у крыс линии Wistar в течение ПД9-20 снижает эмоциональную реактивность на потенциально опасные стимулы в подростковом возрасте (Shishelova, 2006). Появление вибротактильных движений происходит в ПД11-13 (Grant et al., 2012), после чего крысята начинают активно использовать вибриссы для ощупывания предметов. Именно в этот период крысята начинают самостоятельно покидать гнездо (Bolles and Woods, 1964). Таким образом, в раннем постнатальном онтогенезе крыс можно выделить два важных периода, когда ограничение сенсорного притока от вибрисс специфическим образом влияет на поведение животных. Первый период предшествует началу вибротактильных движений. Второй период соответствует времени, когда крысята начинают активно использовать вибриссы при реализации поведения. Специфическая роль вибрисс в поведении животных в каждый период указывает на то, что ограничение сенсорного притока от вибрисс будет оказывать различное влияние на развитие животных в зависимости от периода воздействия.

### ***1.9. Влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс на поведение крыс***

Новорожденный проходит несколько стадий физического и поведенческого развития, в течение которых происходит формирование навыков, необходимых для самостоятельной жизни. Среди данных навыков, которые мы будем называть опорными точками развития (ОТР) у человека, можно отметить переворачивание, ползание, указательный жест, ходьбу и первое слово (Dosman et al., 2012; Misirliyan and Huynh, 2021). ОТР являются важными маркерами, указывающими на соответствие развития ребенка возрастным нормам. Сенсорный дефицит, вызванный неадекватным уходом или неблагоприятной окружающей средой, часто приводит к задержке развития (Ardiel and Rankin, 2010; Lewis, 1978; McDonald et al., 2013). Крысята также осваивают ряд двигательных навыков в течение первых недель постнатальной жизни, которые необходимы им для

самостоятельной жизни, и этот процесс связан с созреванием сенсорных входов - открытием слуховых проходов и глаз, началом вибротактильной активности вибрисс (Brys et al., 2014; Heyser, 2004; Rao Barkur and Bairy, 2016). Можно выделить следующие ОТР, необходимых крысятам для выхода из гнезда и перехода к автономному существованию: ходьба, манипуляционная активность передних конечностей, аутогруминг и вертикальная активность. По правилу «осевого градиента» передние конечности достигают функциональной зрелости раньше, чем задние (McCandlish et al., 1993). По поведенческим и физиологическим показателям постнатальное развитие крыс можно разделить на четыре стадии: неонатальный (ПД0–7), младенческий (ПД8–21, подразделяется на ранний и поздний), ювенильный (ПД22–30 у самок и ПД22–35 у самцов), перипубертатный (ПД 30–38 у самок и ПД 35–55 у самцов) (Ojeda and Skinner, 2006). Крысы обычно достигают вышеуказанных ОТР в течение периода ПД10-20. Хотя прямое сопоставление ОТР человека и крысы следует проводить с осторожностью, порядок событий в развитии является сходным для млекопитающих (Workman et al., 2013). И младенцы, и крысята имеют продолжительный неонатальный период, когда их выживание полностью зависит от ухода матерей. Достижение ОТР характеризует сенсомоторное развитие и переход от полной зависимости от матери к самостоятельному существованию.

В большинстве работ, посвященных исследованию ограничения сенсорного притока от вибрисс на формирование поведения крыс, изучалось влияние данного воздействия в один промежуток времени, который либо входил в один из сензитивных периодов созревания вибротактильной системы (Chu et al., 2013; Lee et al., 2009; Soumiya et al., 2016), либо включал в себя оба периода (Carvell and Simons, 1996). Как нами было ранее указано, существуют, по крайней мере, два сензитивных периода развития вибротактильной системы. На основании результатов вышеупомянутых исследований нельзя сделать вывод о роли сенсорного притока от вибрисс в течение сензитивных периодов на развитие животных. В лаборатории Нейроонтогенеза ИВНДиНФ РАН было выполнено несколько работ, сравнивающих влияние сенсорного притока от вибрисс в разные периоды раннего онтогенеза на развитие поведения крыс. Ограничение сенсорной афферентации с 13-го дня жизни у крыс путем перерезки *n. medianus* приводило к ускорению созревания ранних поведенческих реакций (Pigareva and Vorob'eva,

1994). В другом исследовании было обнаружено, что у крысят, подвергнутых состриганию вибрисс с ПД2, происходит ускорение созревания аутогрумминга, стоек без опоры и замедление формирования манипуляторной активности, в то время как у крысят, подвергнутых состриганию вибрисс с ПД9, было выявлено исчезновение корреляционных связей между сроками формирования ОТР (Шишелова and Раевский, 2009). В указанных работах исследование ограничения сенсорного притока на формирование ОТР было выполнено на крысах линии Wistar. Наличие неврологических расстройств, в частности генетических форм эпилепсии, связано с задержкой формирования ОТР у детей (Bednarek, 2006; Grissom, 2013; Reiss, 2009). Сходные результаты были обнаружены и на животных. Так, крысы, склонные к киндлингу, демонстрировали более позднее открытие глаз и формирование ходьбы по сравнению с крысами, не склонными к нему (Sharma et al., 2018). Можно предположить, что факторы, ведущие к усилению эпилептической активности у крыс линии WAG/Rij, будут также вести к задержке раннего развития.

Раннее развитие крыс характеризуется быстрым набором массы тела, который в первые дни жизни обеспечивается за счет питательных веществ, поступающих при сосании соска матери. Несмотря на то, что вибротактильные движения, обеспечивающие активное осязание с помощью вибрисс начинаются в конце второй постнатальной недели, пассивное прикосновение с их помощью позволяет крысятам обнаруживать сосок (Sullivan et al., 2003), а ограничение сенсорного притока от вибрисс в этот период ведет к снижению массы тела (Arakawa and Erzurumlu, 2015; Smirnov et al., 2018). Крысята, имеющие сниженную массу тела часто демонстрируют задержку раннего развития (Glass et al., 1986; Naik et al., 2015). Можно предположить, что состригание вибрисс в первый и второй период созревания вибротактильной системы будет вызывать различные эффекты на динамику набора массы тела и его связь с формированием ОТР.

Вибриссы играют у крыс важнейшую роль в ориентации в пространстве, позволяя определять расстояние до предметов и различия в текстуре поверхности (Ahn and Kim, 2017; Deutsch et al., 2019; Voigts et al., 2014). Ограничение сенсорного притока от вибрисс в течение трех первых дней жизни ведет к сниженной эффективности выполнения задачи, в которой требуется преодолеть постепенно увеличивающееся расстояние между двумя площадками

(Lee et al., 2009). Помимо воздействия на функции, непосредственно связанные с вибротактильной системой, такие как различение формы и текстуры, состригание вибрисс у новорожденных крысят увеличивает исследовательское поведение и социальную активность во взрослом возрасте (Chu et al., 2013; Lee et al., 2009). В то же время сенсорная депривация часто ассоциируется с гиперактивностью как у людей, так и у животных (McLaughlin et al., 2014; Newson et al., 2005). Известно, что в парадигмах обучения, основанных на вибротактильной чувствительности, состригание вибрисс в раннем онтогенезе ведет к изменению поведенческих стратегий, однако неизвестно о влиянии данной процедуры на иные формы обучения. Специфичная роль сенсорного притока в различные периоды созревания вибротактильной системы на формирование исследовательской активности неизвестна. Можно предположить, что состригание вибрисс в период окончания анатомического созревания соматосенсорной коры будет вести к увеличению исследовательской активности с целью компенсации сниженной чувствительности вибрисс. Состригание в период формирования активных поведенческих актов будет менять стратегию исследования пространства, приводя к меньшей опоре на сенсорный приток от вибрисс.



## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### ***2.1. Содержание и уход за животными***

Исследование выполнено на крысах линии WAG/Rij, выращенных и содержащихся в Институте высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (Москва, Россия). Эксперименты проводились в соответствии с Директивой ЕС 2010/63 / EU для экспериментов на животных и были одобрены комитетом по этике животных ИВНДиНФ РАН. Крыс содержали в контролируемых условиях окружающей среды с циклом свет:темнота 12:12 ч (свет включался в 08.00) при температуре  $20 \pm 1$  ° C с постоянным уровнем влажности и проветриванием. Еда и вода предоставлялись без ограничений.

Эксперименты выполнены на потомстве, полученном от 18 первородящих самок крыс линии WAG/Rij в возрасте 4-6 мес. День родов был обозначен как ПД0. На следующий день после рождения количество самцов и самок в помете было уравнено, так чтобы общее количество животных в помете составляло от 6 до 10. Пол детенышей был определен путем измерения уrogenитального расстояния.

Крысята были отсажены от матерей в ПД26 и содержались вместе с крысятами своего пола из своего помета (3-5 животных в клетке). После операции по вживлению электродов животные содержались отдельно, чтобы предотвратить поломку электродов.

### ***2.2. Ограничение сенсорного притока в раннем онтогенезе***

Пометы были разделены на четыре группы: две экспериментальные и две контрольные. Экспериментальные группы были подвергнуты ежедневному двустороннему состриганию вибрисс. Процедура состригания длилась примерно 10–20 с для одного крысенка. Во время состригания самка отсаживалась в отдельную клетку и крысят по одному вынимали из домашней клетки. Состригание проводилось в течение ПД1-8 в первой экспериментальной группе,

далее обозначаемой как С1 (4 помёта) и в течение ПД9-16 во второй экспериментальной группе, далее обозначаемой как С2 (5 помётов). Схема экспериментальных воздействий изображена на Рис. 4.

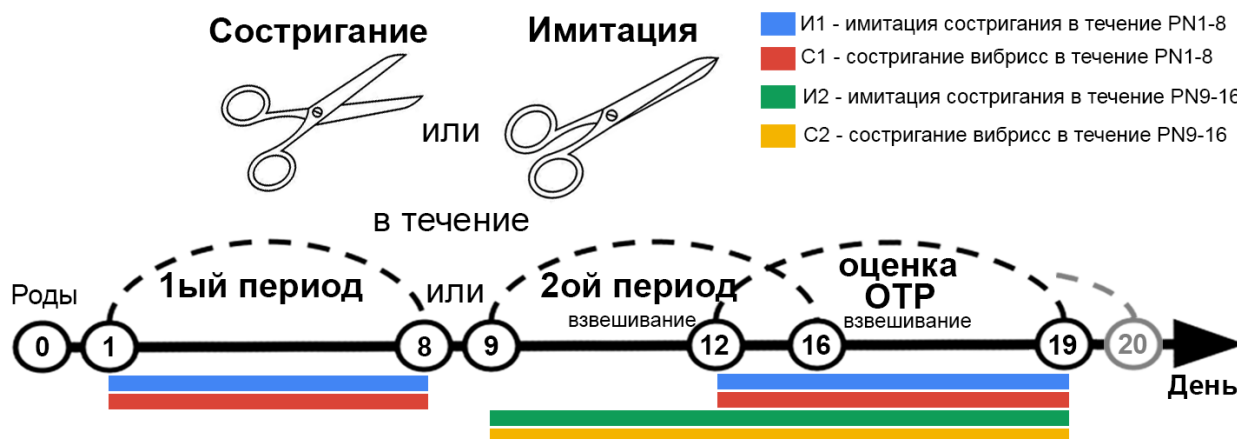


Рисунок 4. Последовательность экспериментальных воздействий и оценки созревания опорных точек развития.

В контрольных группах животные были подвергнуты процедуре имитации состригания вибрисс, в течение которой тупой стороной ножниц прикасались к зоне вибрисс. Длительность процедуры также составляла примерно 10–20 секунд. Имитация состригания проводилась ежедневно в течение ПД1-8 в первой контрольной группе, далее обозначаемой как И1 (4 помета) и в течение ПД9-16 во второй экспериментальной группе, далее обозначаемой как И2 (5 пометов).

### 2.3. Исследование динамики формирования опорных точек развития

На основании работ, выполненных ранее в лаборатории Нейроонтогенеза ИВНДИНФ РАН (Шишелова, 2000; Шишелова and Раевский, 2009), нами были сформирована батарея оценки опорных точек развития (ОТР), к которым мы отнесли несколько моторных навыков и открытие глаз. В течение ПД12-19 мы наблюдали за свободным поведением животных в открытом поле в течение 3 минут. Каждого крысенка помещали в центр черного равномерно освещенного (150 лк) квадратного поля (30 × 30 × 14,5 см). Экспериментатор оценивал

достижение той или иной ОТР с опорой на комплексные критерии, созданные на основании работ лаборатории Нейроонтогенеза и литературных данных (Geisler et al., 1993).

- Открытие глаз оценивалось как «-», когда оба века были закрыты; «+-», когда веки были частично открыты или один глаз был открыт, а другой закрыт; «+», когда оба глаза были полностью открыты по всей длине века.

- Ходьба определялась как последовательные и уверенные движения всех четырех лап, когда живот не касался земли. При зрелой ходьбе спина была прямой, а ступни параллельны. Эпизоды зрелой ходьбы у детенышей состояли из более чем 10 шагов. Данная ОТР оценивалась как «-» при ползании; «+--» - неустойчивая ходьба, когда тело опиралось преимущественно на передние конечности, а живот касался земли; «+-» - неуверенная ходьба, когда живот не касался земли; «+» - зрелая ходьба, бег.

- Аутогруминг (умывание) является формой гигиенической активности и представляет собой последовательные и стереотипные движения конечностей и языка. Незрелый аутогруминг включает только умывание головы, в то время как зрелая ОТР представляет собой умывание, начинающееся от области носа и распространяющееся по всему телу до гениталий и хвоста (Kalueff et al., 2016). Данная ОТР оценивалась как «-», когда крысенок умывал только голову; «+--» при появлении движений за головой; «+-», когда крысенок начинал умывать живот; «+», когда крысенок умывал все тело.

- Вертикальная активность с опорой представляют собой способность устойчиво стоять, опираясь на стену передними конечностями. Данная ОТР оценивалась как «-», когда данная форма поведения отсутствовала; «+--», когда крысенок начинал опираться передними конечностями на стену, но не принимал вертикальное положение; «+-», когда крысенок принимал вертикальное положение, но не мог удерживать его в течение 1 секунды; «+», когда крысенок мог устойчиво стоять более 1 секунды.

- Вертикальная активность без опоры представляет собой способность сохранять вертикальное положение без опоры на стене. Этот параметр был оценен как «-», когда данная форма поведения отсутствовала; «+--», когда крысенок начинал отрывать от поверхности передние конечности, но не мог принять вертикальное положение; «+-», когда крысенок принимал вертикальное

положение, но его пока была неустойчивой; «+», когда крысенок мог сохранять вертикальное положение более 1 секунды. Дополнительное тестирование двигательной активности и проводилось в ПД20 для крысят, которые не достигали зрелой формы данной ОТР в ПД19.

- Силовое созревание передних конечностей проверялось как способность висеть на горизонтальной перекладине (далее обозначается как «Горизонтальный хват»). Перекладина представляла собой стальной стержень диаметром 0,5 см, закрепленный горизонтально на высоте 15 см. Формирование данной ОТР оценивалось как «-», когда крысенок не мог обхватить перекладину; «+-», когда крысенок мог обхватить перекладину одной передней конечностью; «+», когда крысенок удерживал перекладину обеими передними конечностями и мог висеть более 5 секунд либо взбирался на перекладину.

- Манипуляторное созревание передних конечностей (далее будет обозначаться, как «Вертикальный хват») проверялось в тесте, требующем обхватить тонкую пластиковую соломинку. Созревание данной ОТР оценивалось как «-», когда крысенок не мог схватить соломинку; «+-», когда крысенок пытался схватить соломинку, но не мог ее удержать; «+», когда крысенок успешно обхватывал и удерживал соломинку.

Ходьба, аутогруминг и обе формы вертикальной активности оценивались в открытом поле. Затем крысята проходили тесты «Горизонтальный хват» и «Вертикальный хват». Далее оценивалась степень открытия глаз и измерялась масса тела. День, когда впервые выставлялась оценка «+», определялся как день достижения ОТР. В связи с постепенным созреванием анализируемых форм поведения во время тестирования мы использовали промежуточные баллы, такие как «+--» и «+-». Данная система оценки позволяла нам избежать преждевременных выводов о достижении ОТР. Для анализа были использованы данные, полученные только на самцах, поскольку самки не участвовали в дальнейших экспериментах.

#### **2.4. Исследование исследовательской активности и тревожности**

Для оценки исследовательской активности и тревожности нами были выбраны два широко распространенных теста («Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Открытое поле») (Hogg, 1996; Kraeuter et al., 2019; Moser, 1989; Seibenhener and Wooten, 2015; Walf and Frye, 2007; Walsh and Cummins, 1976). Схема, отражающая последовательность экспериментальных процедур, совершенных на взрослых животных, изображена на Рис. 5.

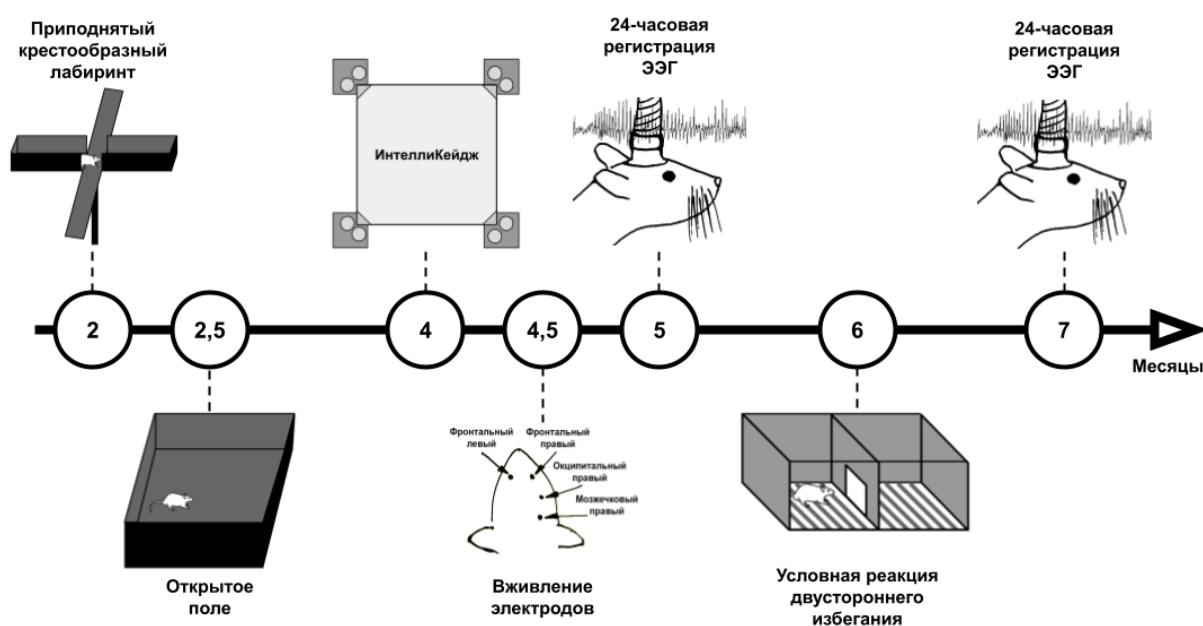


Рисунок 5. Последовательность экспериментальных процедур, совершенных на взрослых животных.

В обоих тестах присутствуют параметры, оценивающие то, как животное исследует новое пространство и в какой мере на его поведение влияет уровень тревожности. Необходимо отметить, что использование данных методик в качестве оценки тревожности связано с выраженным эффектом анксиолитиков на определенные параметры поведения животных (время в центральной зоне ОП и открытых рукавах ПКЛ) (Albrechet-Souza et al., 2005; Lister, 1987), однако, поскольку тревога является субъективным переживанием, возможность определения которого у животных спекулятивна (Steimer, 2011), мы будем подразумевать под тревожностью выраженность вышеуказанных поведенческих параметров.

#### *2.4.1. Методика «Приподнятый крестообразный лабиринт»*

Установка для данного теста была изготовлена из матового черного акрилового пластика и состояла из двух открытых и двух закрытых рукавов (50 × 10 см каждое) со свободным доступом ко всем рукавам из центральной площадки (далее обозначаемой как «центр», 10 × 10 см). Закрытые рукава по периметру имели стены высотой 15 см. Тестирование проводилось в возрасте 2 месяцев. Крысу помещали в центр носом к открытому рукаву и ее поведение записывали на видео в течение 5 мин с помощью видеокамеры JVS GR-DVP7 (Китай), установленной в 1.5 м над центром.

Были определены три зоны интереса: закрытые рукава, открытые рукава и центр. Для мониторинга и анализа двигательной активности использовалась система видеонаблюдения на основе движения (Easy Track™, российское программное обеспечение, функционально соответствующее системе Noldus EthoVision™). С целью снизить влияние экспериментатора на поведение животного, экспериментатор после посадки крысы переходил в соседнюю комнату и отслеживал поведение на мониторе компьютера. Видеоданные анализировались онлайн и офлайн. Программа определяла местоположение крысы каждые 40 мс, строила трек движения и рассчитывала следующие параметры: длина трека, средняя скорость и время в открытых и закрытых рукавах; количество заходов в закрытые и открытые рукава. Экспериментатор в процессе наблюдения подсчитывал количество стоек и эпизодов аутогруминга, а после окончания теста – количество фекалий. Перед посадкой следующего животного установка очищалась с помощью воды и спирта.

#### *2.4.2. Методика «Открытое поле»*

Установка для данного теста проставляла собой квадратное поле из черного оргстекла (108 × 108 см) со стенками высотой 40 см. Тестирование проводилось в возрасте 2.5 месяцев. Крысу помещали в центр ОП и ее активность

записывали на видео в течение 10 мин с помощью видеокамеры JVS GR-DVP7 (Китай), установленной на 180 см выше центра ОП. Easy Track™ использовался для автоматического видео слежения за двигательной активностью.

Были определены две зоны интереса: центральная квадратная область (1/9 всего ОП) и периферийные области (квадратные области вдоль стен, 8/9 всего ОП). Для оценки привыкания данные десятиминутной регистрации были разделены пятиминутные интервалы, для каждого из которых был произведен расчет следующих параметров: длина трека, средняя скорость и время в каждой из зон. Во время эксперимента экспериментатор вручную подсчитывал количество стоек, эпизодов аутогруминга, а после окончания тестирования – количество фекалий. Предпочтение крысами пространства вдоль стенок открытого поля обозначается как тигмотаксис и связывается с уровнем тревожности (Simon et al., 1994).

## **2.5. Исследование когнитивных способностей**

Исследование когнитивных способностей животных было проведено в методике выработки условного рефлекса двустороннего избегания (УРДИ), а также в установке автоматизированной оценки поведения «ИнтеллиКейдж» (IntelliCage™, TSE) Первая методика является классической методикой оценки обучения (Hock and Scheich, 1986; Luvisetto et al., 2008; Moscarello and LeDoux, 2013), однако мы включили в наш анализ расширенный набор параметров, что позволило нам выявить особенности динамики обучения, ранние компоненты которой мы связали с процессами внимания, а поздние – с процессами памяти. Установка «ИнтеллиКейдж» является инновационной системой, позволяющей оценивать поведение животных с минимальной вовлеченностью экспериментатора (Kiryk et al., 2020). Из-за технических сложностей, связанных с наладкой системы, нам удалось провести тестирование животных из второй экспериментальной и второй контрольной групп. Тем не менее, полученные результаты представляют собой интерес в рамках анализа влияния ограничения

сенсорного притока от вибрисс и эпилептического фенотипа на поведение животных, поэтому мы включили их в данную работу.

### *2.5.1. Методика «ИнтеллиКейдж»*

По сравнению с традиционными методами оценки поведения «ИнтеллиКейдж» имеет несколько преимуществ, способствующих большей надежности и воспроизводимости данных. Среди них можно отметить: содержание животных в социальной группе, проведение непрерывных и продолжительных экспериментов, минимизацию человеческого вмешательства, настраиваемый дизайн экспериментальных парадигм. В рамках нашей работы было проведено исследование обучения крыс в парадигме оценки импульсивности в возрасте 4 месяцев. Минимум за неделю до тестирования каждому животному имплантировали радиочастотный транспондер для идентификации под анестезией хлорал гидратом в минимальной дозе, вызывающей обезболивание, но не приводящей к глубокому наркозу.

«ИнтеллиКейдж» представляет собой камеру (100 x 100 x 36 см), закрывающуюся сверху прозрачными пластиковыми створками с отверстиями для поступления воздуха. Каждый угол камеры соединен с оперантным отсеком, вход в который оборудован кольцевой антенной для идентификации транспондера. В каждом отсеке за отдельной металлической створкой, открытие которой осуществляется программным обеспечением при выполнении животным требуемого действия, располагаются две бутылки с водой. Доступ к пище осуществляется из общей камеры и является свободным. Таким образом, обучение реализуется путем питьевого подкрепления определённых последовательностей действий внутри оперантных отсеков. Крыс содержали в установке «ИнтеллиКейдж» небольшими группами (по 3 или 4 животных) в течение 8 дней, и в течение этого периода они обучались получать доступ к питьевой воде, совершая тычки носом в специальной области внутри оперантных углов. Следующая последовательность действий вела к питьевому подкреплению: «заход в оперантный угол» - «тычок носом в одну (левую или правую) сторону» -



«двухсекундное ожидание» - «второй тычок носом в ту же сторону». При совершении данной последовательности доступ к воде открывался на 7 секунд. Если период ожидания между тычками составлял менее 2 секунд, в отсеке включался синий световой сигнал и доступа к воде блокировался на все время данного захода. Тычок носом в противоположную сторону после первого тычка не влиял на возможность получить подкрепление в изначально выбранной стороне, однако крыса не могла получить вознаграждение с противоположной стороны во время текущего захода. Схема на Рис. 6 демонстрирует пять выделенных нами поведенческих последовательностей, состоящих из следующих действий: заход, тычок носом, питье и выход. Помимо описанной выше последовательности, ведущей к открытию доступа к бутылке с водой (данная последовательность обозначена нами как «Успешная»), нами были выделены следующие поведенческие последовательности: «Исследующая» (заход - выход); «Проверяющая» (заход – тычок носом - выход); «Импульсивная» (заход – тычок носом – ожидание меньше двух секунд – тычок носом - выход), «Остальное» (в нее мы объединили другие формы поведения, которые вместе составляли не более 5% от общего количества заходов и не продемонстрировали значительного влияния исследуемых факторов). Одно животное было исключено из эксперимента из-за чрезвычайно низкой частоты посещений с питьем, что представляло угрозу для его жизни.

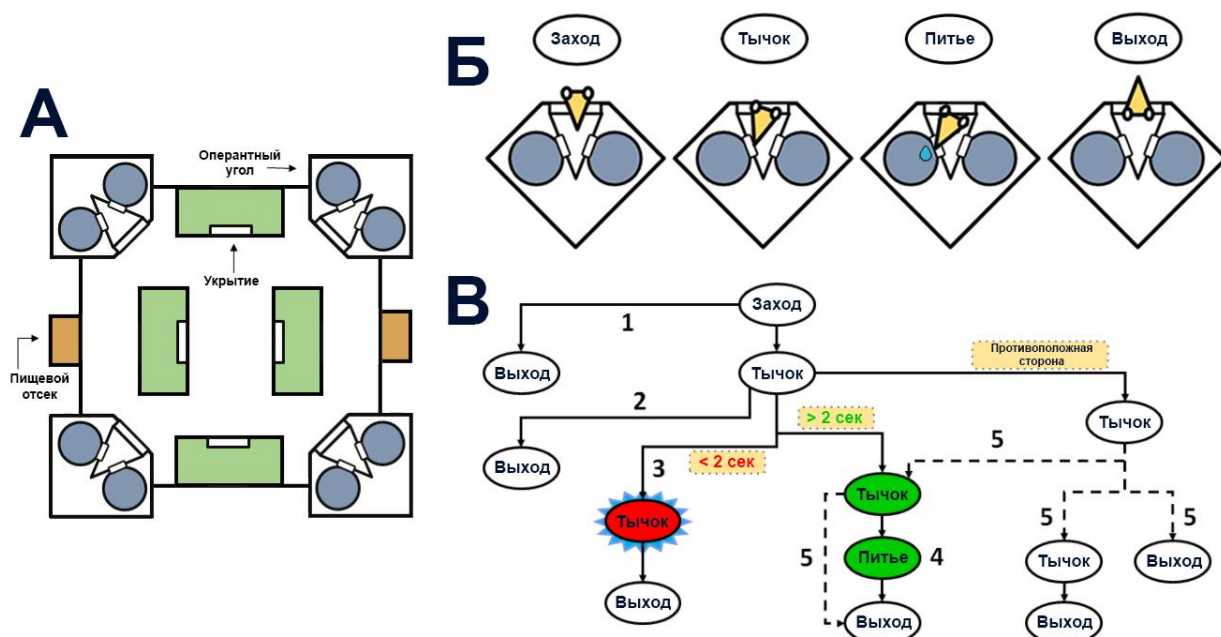


Рисунок 6. Схема эксперимента в установке «ИнтеллиКейдж». А. Схематическое изображение установки. Б. Типы событий, регистрируемых в оперантных углах. В. Варианты поведенческих стратегий, использованных при анализе данных: 1 – Исследующая; 2 – Проверяющая; 3 – Импульсивная; 4 – Успешная; 5 – Остальное.

### *2.5.2. Методика выработки условной реакции двустороннего избегания*

Тест УРДИ проводился в челночной камере, которая состояла из двух отсеков (30 x 26 x 30 см) с аркой между ними. Пол в обоих отсеках состоял из трехмиллиметровых прутьев из нержавеющей стали, по которым подавался электрический ток. Тестирование проводилось в возрасте 6 месяцев. Крысам позволяли исследовать камеру до начала теста в течение 2 минут. Во время тестирования крысы обучались избегать электрического тока (0,5 мА, безусловный стимул), который следовал за предъявлением звукового тона (70 дБ, 5 с, условный стимул), перемещаясь в соседний (безопасный) отсек. Сразу после перехода животного в соседний отсек начинался межстимульный интервал, который длился от 20 до 40 с (длительность определялась случайным образом), а отсек, в котором находилось животное по истечению межстимульного интервала назначался как стимульный. Если крыса не переходила в «безопасный» отсек в течение 40 с, электрическая стимуляция прекращалась, и следующая попытка начиналась после случайного межстимульного интервала. Подача стимулов контролировалась программным обеспечением. Экспериментатор находился в соседней комнате и наблюдал за экспериментом через видеокамеру (JVS GR-DVP7, Китай), расположенную на 180 см выше камеры УРДИ.

Существуют три типа поведения животного в данной методике: избегание (крыса переходит в «безопасное» отделение после предъявления звука и до удара током), избавление (крыса переходит в «безопасный» отсек после удара током) пассивная реакция (крыса не переходит в «безопасный» отсек после удара током и ждет его окончания). В рамках данного исследования нами оценивались избегания, поскольку именно они отражают формирования ассоциативной связи между условным и безусловным стимулами. Нами был установлен следующий

критерий обучения: при выполнении 5 избеганий в 6 последовательных попытках животное считалось обучившимся и тестирования прекращалось. Если крыса не достигала критерия обучения в течение 50 попыток, тестирование останавливалось и данное животное исключали из анализа (всего было исключено 3 крысы). Были измерены и проанализированы следующие параметры: количество попыток до достижения критерия обучения; количество избеганий до достижения критерия обучения; количество попыток до первого избегания. Схема обучения в данной методике изображена на Рис. 7

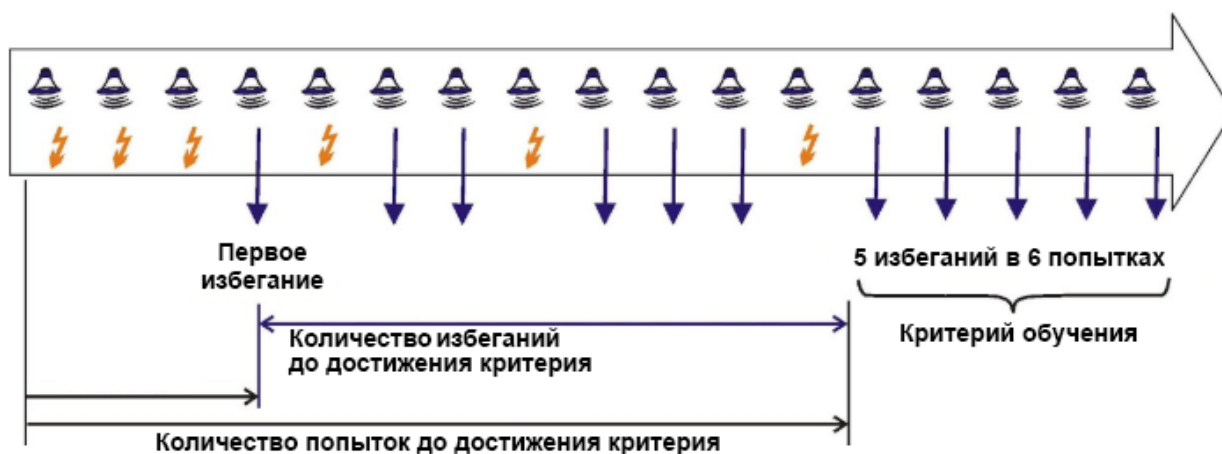


Рисунок 7. Схема эксперимента в методике УРДИ.

## 2.6. Регистрация ЭЭГ

Регистрация ЭЭГ проводилась в 5, 7 и 9 месяцев, однако поскольку в 9 месяцев из-за порчи электродов регистрация была проведена только у 33 животных из 63, записанных в возрасте 5 месяцев (52,4%), мы использовали данные регистрации в 5 и 7 месяцев для надёжного сопоставления динамики ПВР и связи характеристик ПВР с поведенческими показателями. В возрасте 4.5 м каждому животному были вживлены винтовые электроды для регистрации ЭЭГ. Стереотаксическая операция проводилась под наркозом хлоралгидратом (внутрибрюшинная инъекция 325 мг/кг, 4% раствор в 0.9% NaCl). Электроды прикрепляли к черепу винтами из нержавеющей стали (длина стержня = 2.0 мм, диаметр головки = 2.0 мм, диаметр стержня = 0.8 мм). Активные электроды

помещали эпидурально над левой и правой сторонами лобной коры (AP 2; L +/- 2.5). Все координаты указаны в мм относительно точки брегмы. Референтный электрод располагался над мозжечком (поскольку исследованные нами ПВР не регистрируются над мозжечком, данную схему можно считать монополярной). Электроды были зафиксированы на поверхности черепа с помощью мономера метилметакрилата вместе с дополнительным крепежным винтом (AP -6, L +3). После операции животным вводили внутримышечно инъекции метамизола натрия (ФГНИИ Микроген, Россия, 25 мг/кг) для снятия боли после пробуждения. После операции каждое животное содержалось в отдельной клетке для предотвращения повреждения разъемов электродов.

После операции крысам давали восстановиться в течение как минимум десяти дней. Регистрацию ЭЭГ проводили у свободно движущихся крыс, помещенных в клетки из оргстекла (25x60x60 см) при цикле свет:темнота 12:12 ч (свет включался в 8:00). Сигналы ЭЭГ регистрировались непрерывно в течение всего дня (минимальная продолжительность записи ЭЭГ составляла 20.6 ч, максимальная – 25.1 ч), подавались на многоканальный усилитель (PowerLab 4/35, ADInstruments) через вращающийся контакт с полосовой фильтрацией между 0.5–200 Гц и оцифровывались с частотой 400 Гц.

## ***2.7. Автоматическое обнаружение пик-волновых разрядов***

Полная запись ЭЭГ каждой крысы проверялась на наличие ПВР. ПВР определялись автоматически по активности правого фронтального отведения с использованием специального программного обеспечения. Алгоритм обнаружения использовал непрерывное вейвлетное преобразование (технические подробности описаны в (Sitnikova et al., 2009)). Отличительной особенностью ПВР является повышенная мощность вейвлета на характерной для них частоте (8-10 Гц) и ее первой гармонике (17-20 Гц), таким образом ПВР определялись, когда мощность вейвлета в обоих диапазонах превышала пороговые значения. В каждой полосе пороговые значения мощности вейвлета были определены эмпирически (около 100 для 8-10 Гц и 220 для 17-20 Гц), и эти значения были скорректированы для

каждого животного для достижения оптимального обнаружения ПВР. Для повышения селективности этого метода минимальная длительность ПВР была установлена на уровне 2 с. Результаты автоматического обнаружения были проверены экспертом и при необходимости скорректированы. На Рис. 8 изображён типичный зрелый ПВР и принцип автоматизированного обнаружения данной формы эпилептической активности.

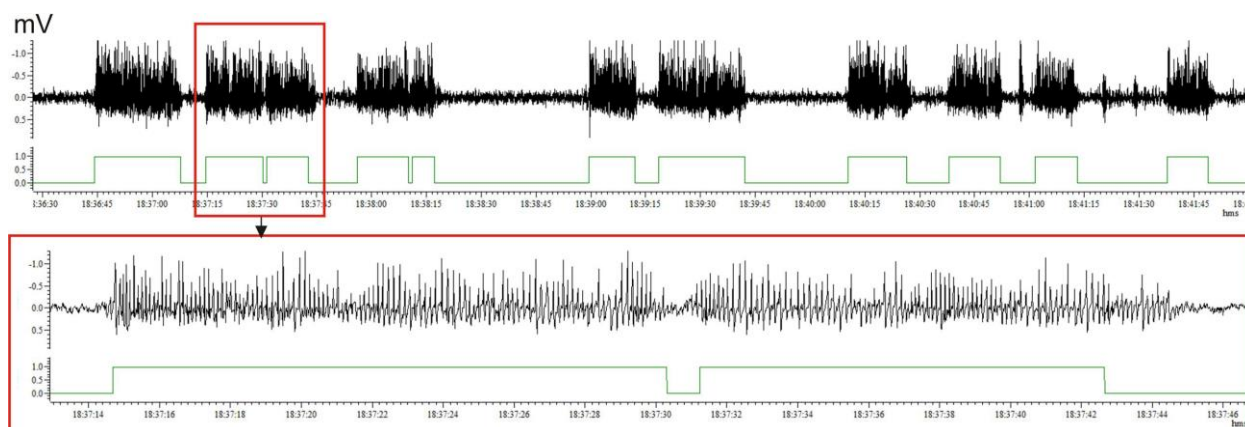


Рисунок 8. Пример ПВР и принцип его обнаружения.

## 2.8. Статистика

Статистические методы были использованы в соответствии с характеристиками распределения данных и дисперсий сравниваемых групп. Тест Стьюдента использовался при сравнении групп с нормальным распределением и равными дисперсиями, при неравенстве дисперсией использовался тест Уэлча. При сравнении эффектов взаимодействия факторов использовалась многофакторный анализ ANOVA с корректировкой Бонферрони при наличии множественных сравнений. При наличии нескольких замеров одного и того же параметра взаимодействие эффектов замера и экспериментальных факторов было проанализировано с помощью анализа ANOVA для повторных измерений. Корреляции Спирмена или Пирсона были вычислены в зависимости от характера распределения данных. В каждом из разделов далее будет дано обоснование выбору статического теста. В табл. 2 представлено число животных, использованное для анализа результатов в различных методиках.

Методика	Состригание ПД1-8	Имитация ПД 1-8	Состригание ПД9-16	Имитация ПД 9-16	Симптомный фенотип	Бессимптомный фенотип
ОТР	14	14	16	19	44	19
ПКЛ	7	9	14	18	33	15
ОП	11	9	15	18	37	16
ИК	-	-	12	13	19	6
УРДИ	13	13	14	19	41	18
ЭЭГ (5 м)	14	14	16	19	44	19
ЭЭГ (7 м)	12	13	13	17	43	12

Таблица 2. Число животных, использованных в поведенческих методиках и при регистрации ЭЭГ. ОТР – исследование формирования опорных точек развития. ПКЛ – методика «Приподнятый крестообразный лабиринт». ОП – методика «Открытое поле». ИК – методика «ИнтелиКейдж». УРДИ – исследование формирования условной реакции двустороннего избегания.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

### 3.1. *Исследование влияния ограничения сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе на характеристики пик-волновых разрядов у взрослых животных*

Известно, что состригание вибрисс в течение PN1-20 ведет к увеличению количества ПВР в взрослых животных (Sitnikova, 2011). В данном разделе мы анализируем влияние состригания вибрисс в два сензитивных периода развития вибротактильной системы (ПД1-8/ПД9-16) на формирование ПВР.

Часть крыс линии WAG/Rij не демонстрирует выраженных ПВР во взрослом возрасте (бессимптомный фенотип). Мы решили проанализировать, влияет ли состригание вибрисс в период пассивного ощупывания и в период начала активного ощупывания на формирование эпилептического фенотипа. Сравнение количества животных в каждой из исследованных групп не выявило значимых различий в соотношении симптомных и бессимптомных животных (точный тест Фишера,  $p > 0.05$ ). На Рис 9. Изображены соотношения животных с симптомным и бессимптомным фенотипом в каждой из групп. Таким образом, ограничение сенсорного притока от вибрисс в различные сензитивные периоды созревания вибротактильной системы не влияло на формирование эпилептического фенотипа у взрослых животных.



Рисунок 9. Соотношение животных с симптомным и бессимптомным фенотипами в разных экспериментальных группах.

Далее мы поставили перед собой вопрос, влияет ли состригание вибрисс на параметры ПВР у животных с симптомным фенотипом. Используя данные регистрации ЭЭГ, полученные у одних и тех же животных в возрасте 5 и 7 месяцев, мы проанализировали влияние факторов «состригание» (состригание/имитация) и «период» (ПД1-8/ПД9-16) на динамику средней суммарной продолжительности ПВР в час у крыс. Нами было обнаружено, что состригание вибрисс влияло на динамику созревания ПВР, приводя к отсутствию увеличения средней суммарной продолжительности ПВР в час у крыс, подвергнутых состриганию вибрисс, с пяти до семи месяцев, в то время, как у животных, подвергнутых имитации состригания, было обнаружена выраженное увеличение данного параметра ( $F(1, 40)=6.516$ ,  $p=0.015$ , Рис. 10А). Среди крыс, подвергнутых состриганию вибрисс, 50% продемонстрировало увеличение средней суммарной продолжительности пик-волновых разрядов в час, в то время, как среди крыс, подвергнутых имитации состригания, увеличение данного параметра было выявлено у 87.5%.

Обнаружив влияние состригания вибрисс на динамику пик-волновой активности, мы решили выяснить, какой из параметров пик-волновой активности (среднее количество ПВР или средняя длительность одного ПВР) наиболее чувствителен к данному воздействию, учитывая разные механизмы, которые предположительно их определяют (Lüttjohann and van Luijtelaar, 2015; van Luijtelaar and van Oijen, 2020). Для этого мы проанализировали влияние факторов «состригание» и «период» на среднее количество ПВР в час и на среднюю длительность одного ПВР в пять и семь месяцев. Значимый эффект взаимодействия факторов был обнаружен для среднего количества ПВР в час ( $F(1, 40)=7.498$ ,  $p=0.009$ ), но не для средней длительности разряда. Таким образом, состригание вибрисс привело изменению возрастной динамики ПВР за счёт влияния на количество ПВР.



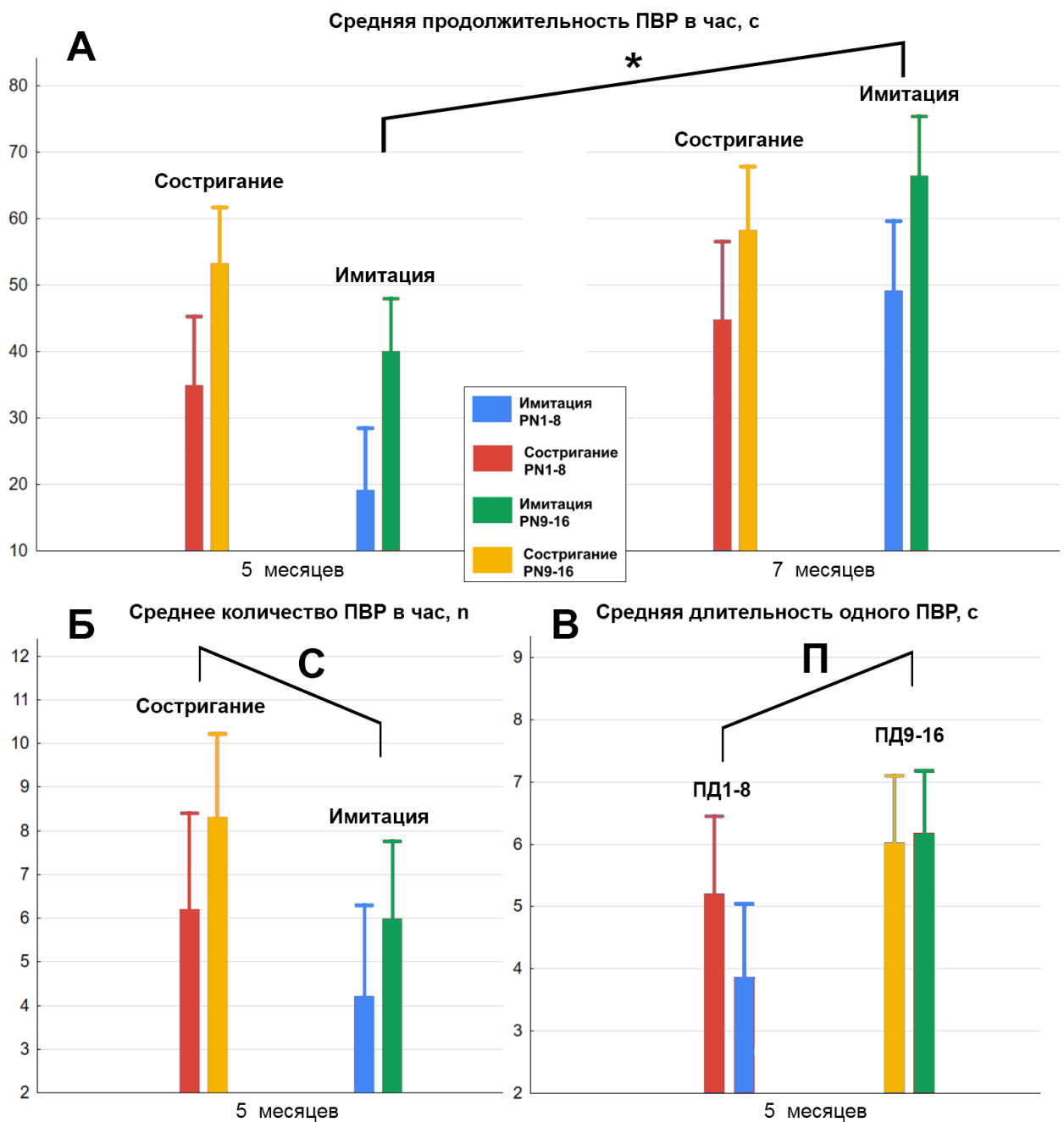


Рисунок 10. Влияние экспериментальных процедур на параметры ПВР. А. Динамика средней продолжительности ПВР в 5 и 7 месяцев. Б. Количество ПВР в 5 месяцев. В. Средняя длительность одного ПВР в 5 месяцев. «\*» обозначает статистически значимые различия между крысами, подвергнутыми имитации состригания в возрасте 5 и 7 месяцев. Буква «П» обозначает статистически значимый эффект фактора «период». Буква «С» обозначает статистически значимый эффект фактора «состригание» ( $p < 0.05$ ).

Далее мы решили проверить, будет ли состригание вибрисс влиять на характеристики ПВР в каждый из возрастов. Мы выполнили анализ влияния факторов «воздействие» и «период» отдельно в возрасте 5 и 7 месяцев. В возрасте 5 месяцев мы обнаружили значимый эффект фактора «период» на среднюю продолжительность ПВР в час ( $F(1, 41)=4.141$ ,  $p=0.048$ ); значимый эффект фактора «состригание» на среднее количество ПВР в час ( $F(1, 41)=5.086$ ,  $p=0.03$ , рис.10Б); значимый эффект фактора «период» на среднюю длительность одного ПВР ( $F(1, 41)=7.693$ ,  $p=0.008$ , рис.10В). В возрасте 7 месяцев ни один из факторов не оказывал значимых эффектов на параметры пик-волновой активности. Попарное пост-хок сравнение исследованных групп с поправкой Бонферрони не обнаружило различий между группами ни по одному из параметров ( $C1/I1$  и  $C2/I2$ ,  $p>0.05$ ), что говорит об отсутствии специфичных для периода состригания эффектов исследованного воздействия. Таким образом, экспериментальные факторы влияли на параметры ПВР лишь в возрасте, когда эпилептическая активность проходит становление, причем ограничение сенсорного притока влияло на количество ПВР, а период воздействия – на среднюю длительность одного разряда.

Подытоживая результаты исследования влияния ограничения сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе на ПВР у взрослых животных, стоит отметить неспецифичное к периоду воздействия влияние состригания вибрисс на возрастную динамику ПВР, проявляющуюся в увеличении количества ПВР в возрасте их активного формирования и отсутствия его дальнейшего увеличения с возрастом.

### ***3.2. Исследование влияния эпилептического фенотипа и ограничения сенсорного притока от вибрисс на раннее развитие поведения***

Поскольку мы обнаружили, что ограничение сенсорного притока от вибрисс не влияло на наличие симптомного фенотипа, мы включили фенотип как независимый фактор в наш анализ, однако анализ трех факторов совместно приводил к нарушениям допущений, требуемых для выполнения ANOVA. Таким

образом, мы проанализировали отдельно влияние фактора «фенотип» на массу тела и ОТР и совместно – факторы «состригание» и «период».

Для того, чтобы ответить на вопрос о влиянии эпилептического фенотипа на массу тела и ОТР, мы провели сравнение симптомных и бессимптомных животных. Масса тела не отличалась ни в один из дней, когда проводилась оценка созревания ОТР (ПД12-19). Сроки созревания ОТР также не различались между симптомными и бессимптомными животными. Тем не менее, нами были обнаружено, что животные с симптомным фенотипом имеют большее количество корреляционных связей между сроками формирования ОТР, чем бессимптомные животные (симптомный/бессимптомный: 7/3,  $p < 0.05$ , коэффициент ранговых корреляций Спирмена, рис. 11). Таким образом, наличие эпилептического фенотипа не влияло сроки формирования ОТР, но влияло на взаимосвязи между ними у крыс WAG/Rij. Формирование двух ОТР считалось взаимосвязанным, когда между сроками их формирования проходило стабильное для всех крыс число дней.

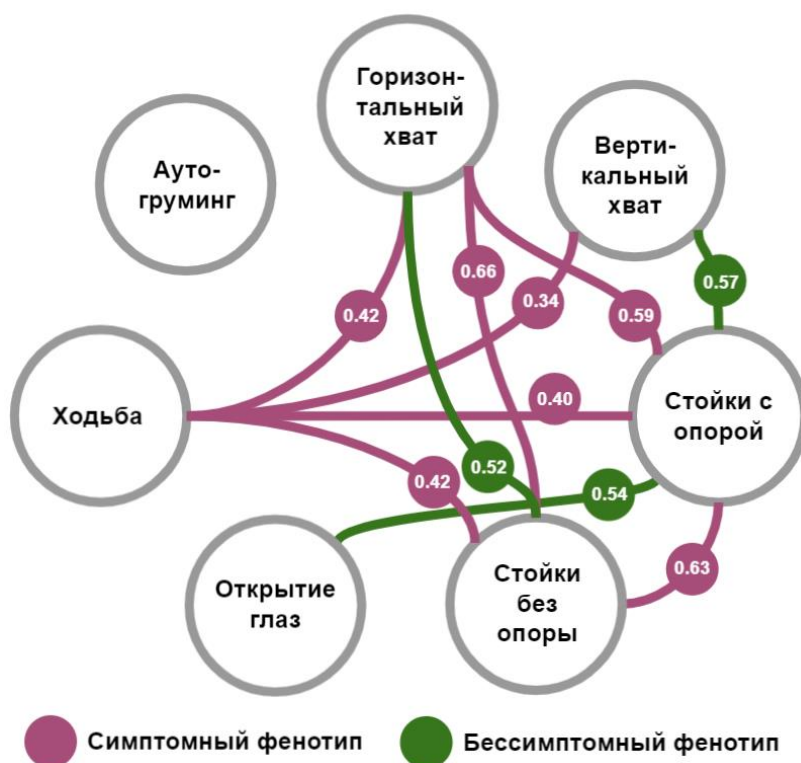


Рисунок 11. Корреляции между сроками формирования ОТР у симптомного и бессимптомного фенотипов.

Анализ влияния факторов «состригание» и «период» обнаружил статистически значимое влияние периода воздействия (независимо от типа) на массу тела ( $F(1, 53)=27.026$ ,  $p<0.001$ , рис.12А). Пост-хок анализ выявил статистически значимые различия между животными, подвергнутыми воздействиям в первый и второй период во все дни в течение ПД13-19 ( $p<0.05$ , Рис. 12А). У взрослых животных было обнаружено влияние фактора «состригание» на массу тела ( $F(1, 40)=6.5398$ ,  $p=0.014$ ), причем пост-хок анализ выявил статистически значимые различия между животными, подвергнутыми состриганию вибрисс и имитации, в возрасте 2 месяцев ( $p<0.05$ , Рис. 12Б), но не в возрасте 2.5 месяцев.

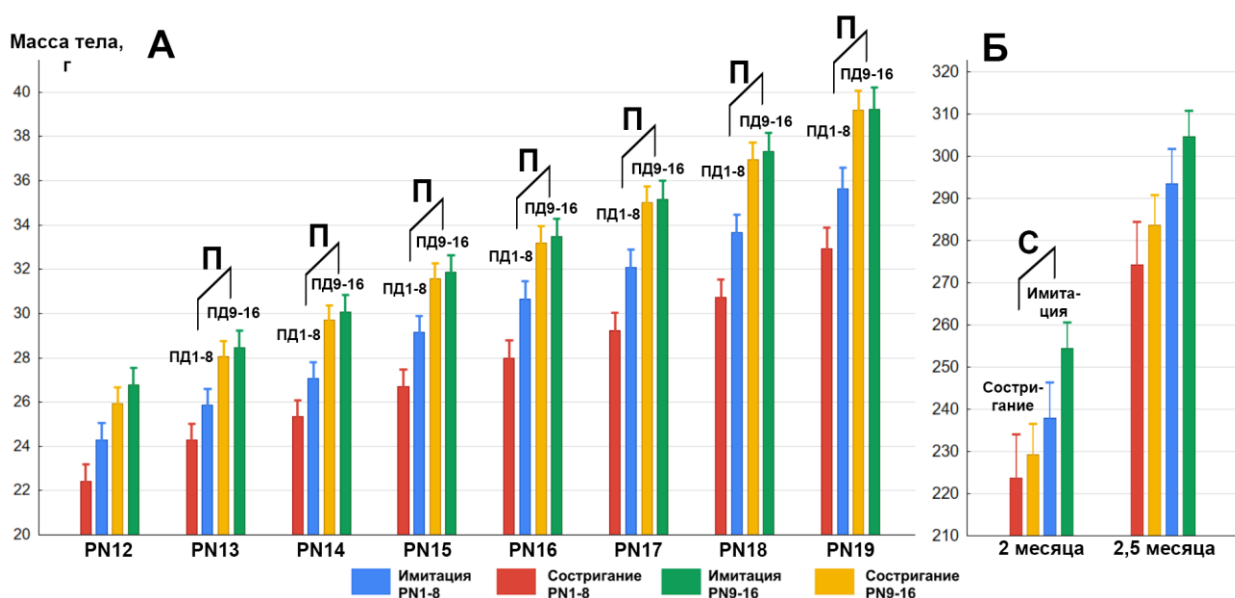


Рисунок 12. Динамика массы тела. А. В раннем онтогенезе. Б. Во взрослом возрасте. Буква «П» обозначает статистически значимый эффект фактора «период». Буква «С» обозначает статистически значимый эффект фактора «состригание» ( $p<0.05$ ).

Далее нами был выполнен анализ влияния экспериментальных факторов на сроки формирования ОТР. Результаты представлены на рис.13. Нами было обнаружено взаимодействие факторов «состригание» и «период» на срок открытия глаз ( $F(1, 59)=32.082$ ,  $p<0.001$ ). Пост-хок анализ выявил значимые отличия между группами С1 и И1 ( $16.2\pm 0.1/15.2\pm 0.1$ ,  $p<0.05$ ) и между группами С2 и И2 ( $15.3\pm 0.1/15.8\pm 0.1$ ,  $p<0.05$ ). Было обнаружено влияния как фактора

«состригание» ( $F(1, 59)=4.8988, p=0.031$ ), так и фактора «период» ( $F(1, 59)=21.747, p<0.001$ ) на срок формирования ходьбы. Фактор «период» влиял на срок формирования аутогруминга ( $F(1, 59)=9.8726, p=0.003$ ). Было обнаружено взаимодействие факторов ( $F(1, 59)=13.123, p<0.001$ ) на срок формирования горизонтального хвата, при этом пост-хок анализ выявил значимые различия между группами С1 и И1 ( $15.3\pm 0.3/14.1\pm 0.3; p<0.05$ ). На срок формирования вертикальной активности с опорой влиял как фактор «состригание» ( $F(1, 59)=5.3703, p=0.024$ ), так и фактор «период» ( $F(1, 59)=22.394, p<0.001$ ). На срок формирования вертикальной активности без опоры влиял только фактор «период» ( $F(1, 59)=64.624, p<0.001$ ). Таким образом, мы обнаружили, что состригание вибрисс в период ПД1-8 ведет к более позднему открытию глаз и формированию горизонтального хвата. Состригание вибрисс во второй период ведет к более раннему открытию глаз по сравнению с имитацией состригания. Независимо от периода воздействия состригание вибрисс ведет к более позднему формированию ходьбы и стоек с опорой. Независимо от типа воздействия, воздействия в первый период ведут к более раннему формированию ходьбы и обоих видов стоек, но к более позднему формированию аутогруминга.

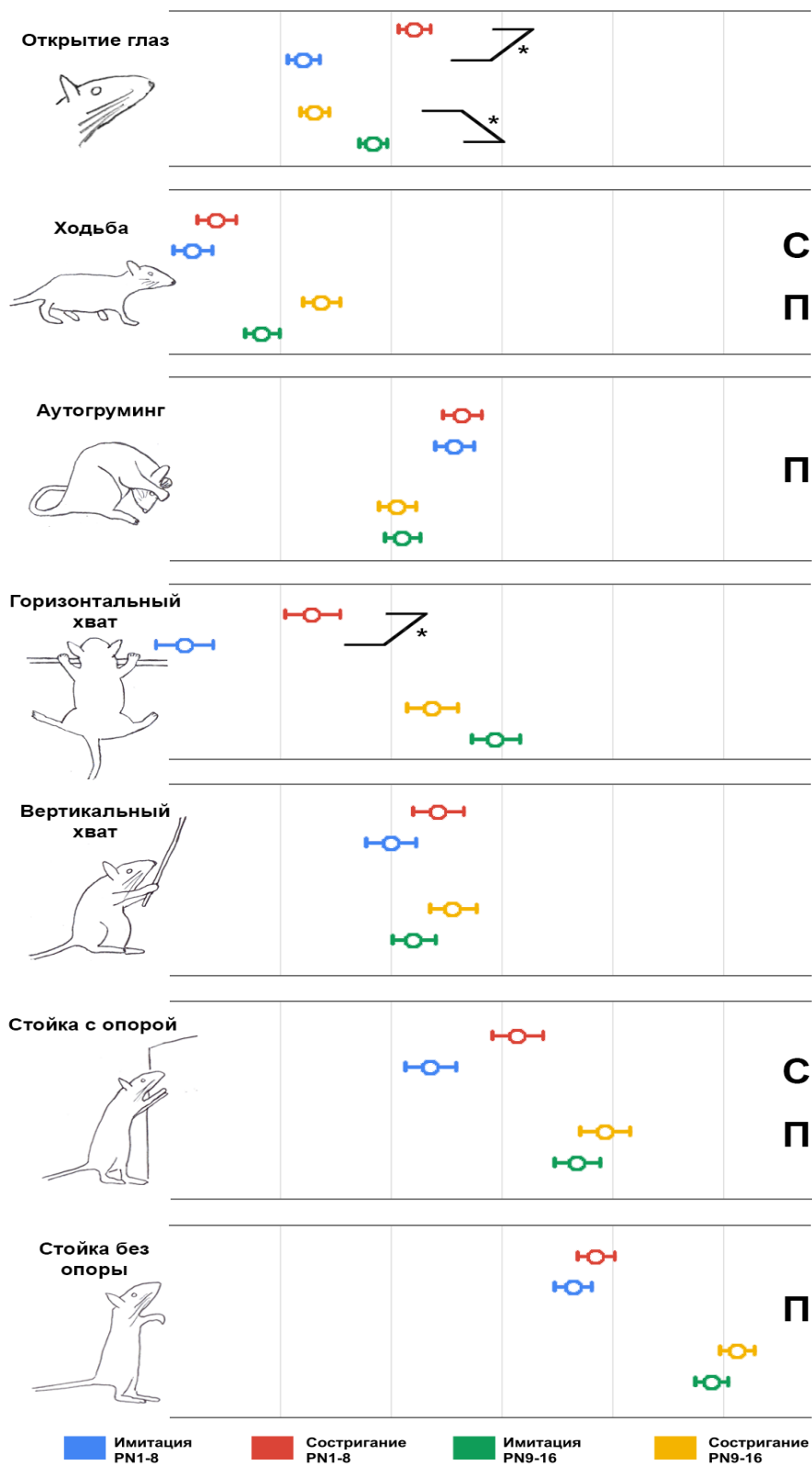


Рисунок 13. Сроки формирования ОТР. «\*» обозначает статистически значимое различие между группами. Буква «П» обозначает статистически значимый

эффект фактора «период». Буква «С» обозначает статистически значимый эффект фактора «состригание» ( $p < 0.05$ ).

Ранее в лаборатории Нейроонтогенеза было показано, что состригание вибрисс ведет к разобщению корреляционных связей между сроками формирования ОТР (Шишелова and Раевский, 2009). Нами было обнаружено, что среди всех групп наибольшее количество корреляционных связей было в группе И2 (4), в группах И1 и С2 было по две корреляционные связи и группе С1 одна (Рис. 14).

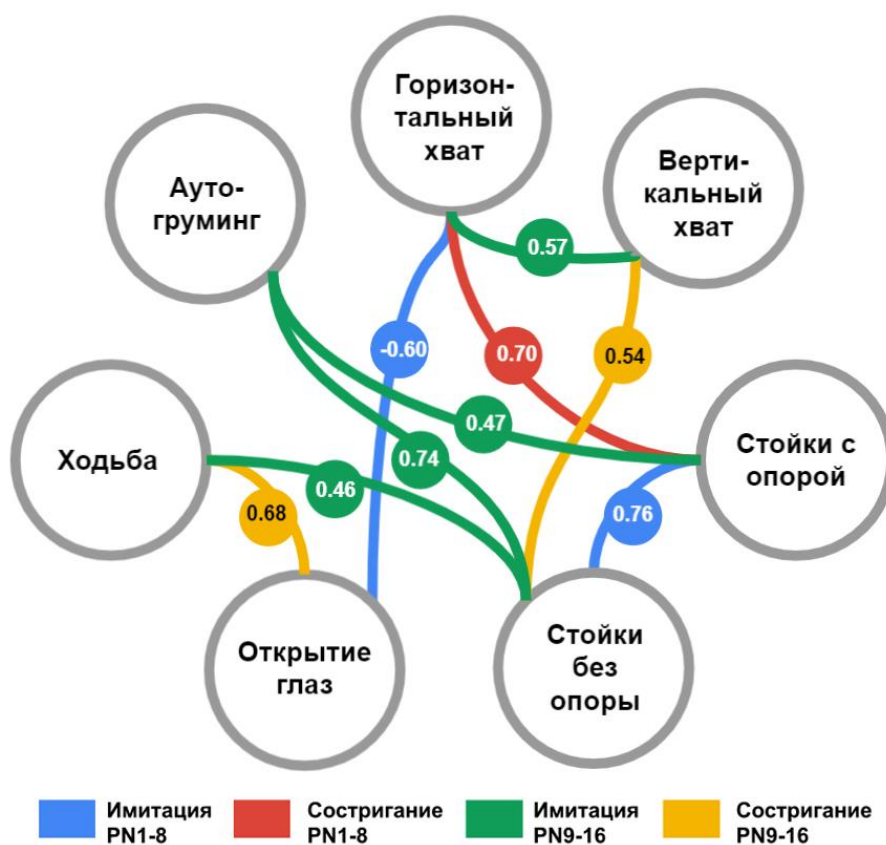


Рисунок 14. Корреляции между сроками формирования ОТР.

Поскольку только состригание вибрисс во второй период вело к появлению корреляции между сроками формирования ходьбы и открытия глаз (0.68,  $p < 0.05$ , линейный коэффициент корреляции Пирсона, рис.15А), мы решили проанализировать, как воздействия в раннем онтогенезе влияют на разницу

между сроками формирования данных ОТР (взаимодействие факторов «состригание» и «период»:  $F(1, 59)=26.667$ ,  $p<.001$ ) и обнаружили, что именно у этой группы обе ОТР формировались в один день (С2/И2:  $0.0\pm 0.2/1.0\pm 0.2$ ,  $p<0.05$ , рис.15Б) в то время, как состригание в первый период увеличивало количество дней между сроками их формирования (С1/И1:  $1.8\pm 0.2/1.0\pm 0.2$ ,  $p<0.05$ , рис.15Б). Таким образом, можно говорить об изменении порядка формирования ОТР в группе С2 (рис.15В)

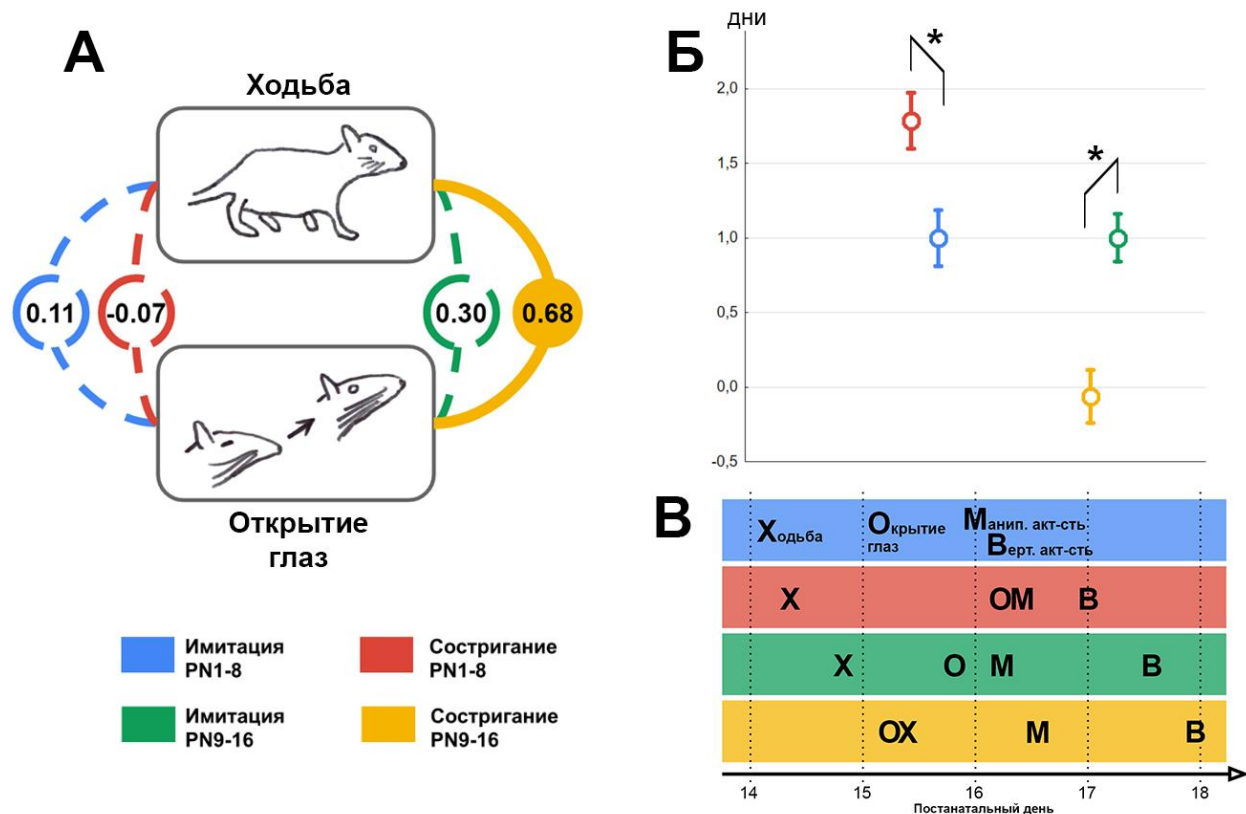


Рисунок 14. А. Корреляции между сроками созревания ходьбы и открытия глаз. Б. Число дней между сроками созревания ходьбы и открытия глаз. В. Порядок формирования ОТР. «\*» обозначает статистически значимое различие между группами ( $p<0.05$ ).

Также мы проанализировали, будут ли воздействия в раннем онтогенезе влиять на связи между общим физическим созреванием крысят и формированием ОТР. Для этого мы вычислили корреляции между сроками ОТР и массой тела в день появления зрелой формы той или иной ОТР. Нами было обнаружено, что состригание вибрисс во второй период приводило к уменьшению количества



связей между сроками формирования ОТР и массой тела (1 корреляция) по сравнению с другими воздействиями (рис.16).

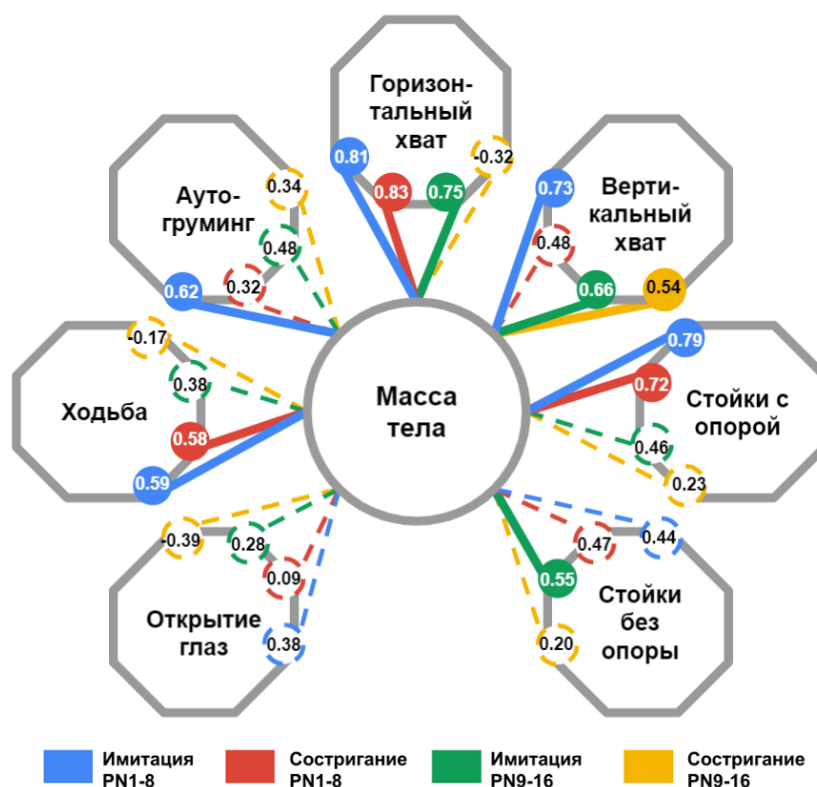


Рисунок 16. Корреляции между массой тела и сроками созревания ОТР. Сплошные линии отражают статистически значимые корреляции ( $p < 0.05$ ), пунктирные – незначимые.

Таким образом, мы обнаружили, что ограничение сенсорного притока от вибрисс в зависимости от периода воздействия различным образом влияет на ранее развитие крыс WAG/Rij. Состригание в первый период вело к более позднему открытию глаз и формированию горизонтального хвата. Состригание вибрисс во второй период вело сближению сроков формирования ходьбы и открытия глаз и появлению корреляции между ними, но нарушало связи между формированием ОТР и набором массы тела. Также нами было обнаружено влияние периода воздействий вне зависимости от их типа. Воздействия во второй период вызывали более позднее формирование ходьбы и вертикальной активности и более раннее формирование аутогруминга, а также вели к большей массе тела в период ПД12-19.

### **3.3. Исследование влияния эпилептического фенотипа и ограничения сенсорного притока в раннем онтогенезе на исследовательское поведение**

Сравнив параметры поведения, характеризующие исследовательскую активность в методиках ПКЛ и ОП крыс с симптомным и бессимптомным фенотипами, мы не обнаружили отличий в пройденном расстоянии и вертикальной активности, однако выявили отличия в параметрах, отражающих тревожность, что описано в следующей главе.

Далее мы проанализировали влияние факторов «состригание» и «период» на параметры исследовательского поведения. Мы обнаружили, что состригание вибрисс вело к увеличению пройденного пути в закрытых рукавах в методике ПКЛ ( $F(1, 44)=5.5018, p=0.024$ , рис.17А). В методике ОП нами было обнаружено взаимодействие факторов «состригание» и «период» при оценке количества стоек ( $F(1, 48)=6.9897, p=0.011$ ). Пост-хок анализ выявил то, что состригание во второй период вело к значительному уменьшению числа стоек по сравнению с имитацией состригания в тот же период ( $C2/I2: 7.4\pm 0.9/10.8\pm 0.8, p<0.05$ , рис.17Б). Было обнаружено влияние фактора «период» на следующие параметры: количество свешиваний из центра в методике ПКЛ ( $F(1, 43)=19.080, p<0.001$ , рис.17В); количество эпизодов аутогрумिंगа в методике ПКЛ ( $F(1, 44)=5.6469, p=0.022$ , рис.17Г); количество эпизодов аутогрумिंगа в методике ОП ( $F(1, 48)=8.4129, p=0.006$ , рис.17Д).

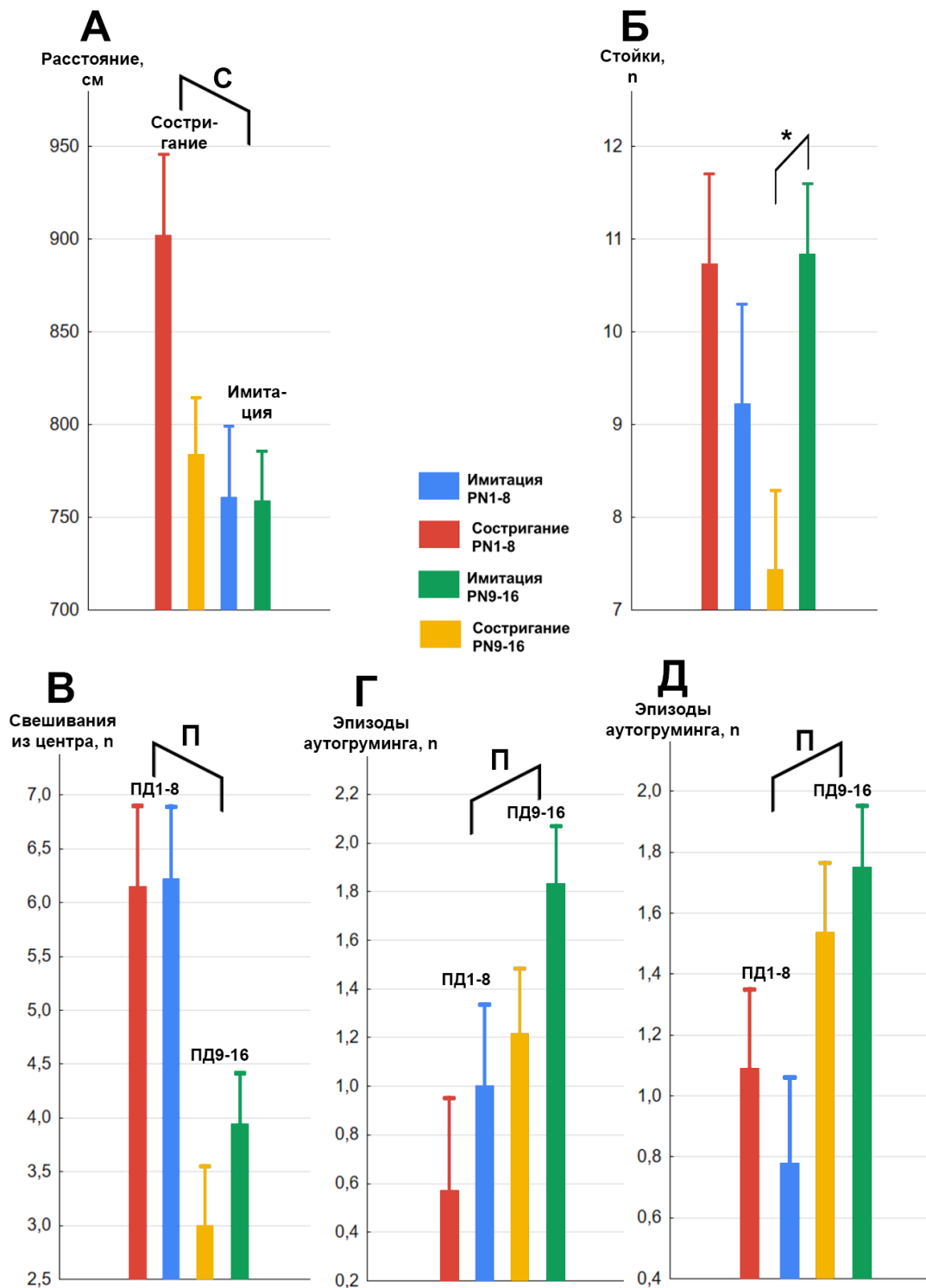


Рисунок 17. Влияние экспериментальных процедур на параметры исследовательской активности. А. Расстояние, пройденное в закрытых рукавах в методике «Приподнятый крестообразный лабиринт». Б. Количество стоек в методике «Открытое поле». В. Количество свешиваний из центра в методике «Приподнятый крестообразный лабиринт». Г. Количество эпизодов аутогруминга в

методике «Приподнятый крестообразный лабиринт». Д. Количество эпизодов аутогруминга в методике «Открытое поле». «\*» обозначает значимое различие между группами. Буква «П» обозначает статистически значимый эффект фактора «период». Буква «С» обозначает статистически значимый эффект фактора «сосригание» ( $p < 0.05$ ).

### 3.4. Исследование влияния эпилептического фенотипа и ограничения сенсорного притока в раннем онтогенезе на тревожность

Симптомные крысы меньше времени проводили в закрытых рукавах и двигались в них с большей средней скоростью, проводили больше времени в открытых рукавах ( $t$ -test,  $p < 0.05$ ) и больше времени в центре ПКЛ (таблица 3). У крыс с симптомным фенотипом была обнаружена значимая корреляция между средним числом ПВР в час в возрасте 7 месяцев и временем в открытых рукавах в ПКЛ (0.36,  $n=34$ , рис. 18).

Зона	Параметр	Фенотип	
		Симптомный ( $n=34$ )	Бессимптомный ( $n=14$ )
Закрытые рукава	Эпизоды аутогруминга	1.3±0.2	1.3±0.3
	Стойки	10.1±0.4	10.6±0.6
	Заходы	12.4±0.6	12.4±1.3
	Расстояние	775.5±21.3	815.6±30.7
	Время	177.4±6.5 *	221.1±6.8
	Средняя скорость	4.5±0.1 *	3.7±0.2
	Заходы	5.5±0.6	3.5±0.6
Открытые рукава	Расстояние	131.1±17.8	59.6±11.4
	Время	40.6±5.5 *	19.3±2.9
	Средняя скорость	3±0.2	3±0.3
Центр	Заходы	17.3±0.8	15±1.2
	Расстояние	186.6±7.3	148.9±11
	Время	76.8±3.3 *	59.5±5.1

Средняя скорость	2.5±0.1	2.6±0.1
------------------	---------	---------

Таблица 3. Влияние эпилептического фенотипа на поведенческие параметры в методике «Приподнятый крестообразный лабиринт». «\*» обозначает значимые различия между фенотипами ( $p < 0.05$ ).

Симптомные крысы больше заходили в центр открытого поля в течение первых 5 минут ( $3.5 \pm 0.4 / 1.9 \pm 0.5$ ,  $p < 0.05$ ) и проводили в нем больше времени в течение вторых 5 минут ( $9.2 \pm 1.3 / 4.4 \pm 1.4$ ,  $p < 0.05$ )

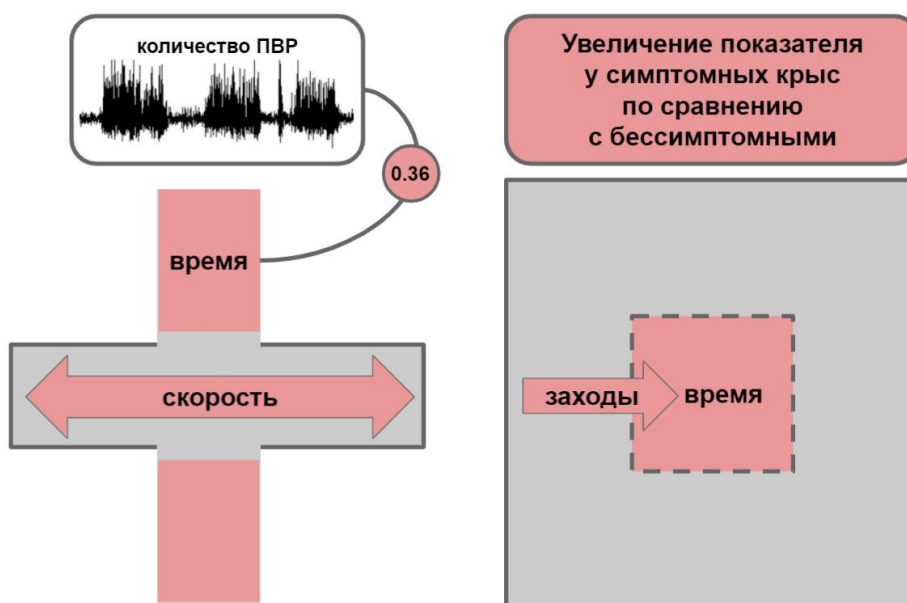


Рисунок 18. Влияние эпилептического фенотипа на параметры, связанные с тревожностью.

Таким образом, мы обнаружили, что симптомные животные демонстрируют сниженный уровень тревожности, что выразилось в большем времени, проведенном в «небезопасных» зонах поведенческих методик (рис. 18). В отличие от эпилептического фенотипа, влиявшего на параметры методик ПКЛ и ОП, связанные с тревожностью, состригание вибрисс влияло на исследовательскую активность в данных методиках, причем разнонаправленно в зависимости от периода состригания.

### **3.5. Исследование влияния эпилептического фенотипа и ограничения сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе на обучение**

#### **3.5.1. Исследование обучения в экспериментальной парадигме, направленной на оценку импульсивности, в установке «ИнтеллиКейдж»**

«ИнтеллиКейдж» становится новым стандартом долгосрочных поведенческих исследований грызунов (крыс и мышей), живущих в социальной среде. Он широко используется для поведенческого фенотипирования у мышей (Cisbani et al., 2021; Endo et al., 2011; Masuda et al., 2018; Mifflin et al., 2021; Puścian et al., 2014), однако использование его версии для крыс до сих пор ограничено (Urbach et al., 2014; Wu et al., 2017). В нашем исследовании мы определили четыре поведенческих последовательности у крыс WAG/Rij, участвующих в целенаправленном обучении, требующем подавления импульсивных ответов. Крысы решали экспериментальную задачу методом проб и ошибок, получая при выполнении правильной последовательности действий доступ к питьевой воде. 4 последовательности составляли около 95% от всех зарегистрированных в ходе эксперимента: «Успешная», «Исследующая», «Проверяющая», «Импульсивная».

Нами было обнаружено статистически значимое увеличение процента посещений оперантных углов, сопровождаемых «Успешной» поведенческой последовательностью, по отношению к общему посещений ( $F(15; 360) = 9.0$ ,  $p < 0.05$ ; рис.19А). Данный результат свидетельствует, что крысы в течение эксперимента улучшали выполнение задачи, при этом ни эпилептический фенотип, ни ограничение сенсорного притока в раннем онтогенезе не влияли на этот показатель.

Резкое увеличение процента посещений, сопровождаемых «Импульсивной» последовательностью наблюдалось в начале экспериментальной сессии, то есть при переходе от светлого к темному периоду 1-го дня (1Д/1Н:  $29.4 \pm 2.9 / 55.7 \pm 2.5\%$ ,  $p < 0.05$ , t-тест для зависимых выборок, рис.19Б). Этому сопутствовало уменьшение процента «Исследующей» последовательности (1Д/1Н:  $59.0 \pm 3.6 / 27.4 \pm 2.6\%$ ,  $p < 0.05$ , t-тест для зависимых выборок, рис.19В). Данный результат отражает обнаружение крысами закономерности, что посещения без тычков носом («Исследующая» последовательность) не приводят к открытию

доступа к питьевым бутылкам, в результате чего они начали совершать большее количество тычков, не усвоив правила, что для открытия доступа второй тычок должен быть не раньше двух секунд после первого, что отразилось в резком росте «Импульсивной» последовательности (Рис.19Б).

Нами было обнаружено, что животные с симптомным фенотипом показали более высокий процент посещений, сопровождаемых «Импульсивной» поведенческой последовательностью в ночную фазу восьмого дня эксперимента (симптомные/бессимптомные:  $64.6 \pm 3.8 / 45.3 \pm 5.1\%$ ,  $p < 0.05$ , критерий Манна-Уитни, Рис.19Б). Аналогичная тенденция была обнаружена в дневную фазу седьмого дня эксперимента (симптомные/бессимптомные:  $64.7 \pm 4.2 / 48.6 \pm 4.9\%$ ,  $p < 0.07$ , тест Манна-Уитни, рис.19Б). Различия между симптомным и бессимптомным фенотипом также проявились при переходе с ночной фазы шестого дня к дневной фазе седьмого дня, когда только бессимптомные крысы показали статистически значимое уменьшение процента «Импульсивной» поведенческой последовательности (6Н/7Д:  $67.8 \pm 4.3 / 48.6 \pm 4.9\%$ ,  $p < 0.05$ , критерий знаковых рангов Вилкоксона, рис.19Б).

Ограничение сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе повлияло на исследовательское поведение в установке «ИнтелиКейдж». Парный t-тест выявил статически значимые отличия между крысами, повергнутыми состриганию вибрисс, и крысами, подвергнутыми имитации состригания, в проценте посещений, сопровождаемых «Исследующей» последовательностью в ночную фазу первого дня ( $20.5 \pm 1.7 / 34.9 \pm 4.3$ ,  $p < 0.05$ ), ночную фазу второго дня ( $11.0 \pm 0.9 / 19.0 \pm 2.9$ ,  $p < 0.05$ ) и дневную фазу четвертого дня ( $12.6 \pm 1.7 / 25.9 \pm 5.1$ ,  $p < 0.05$ ), то есть в первой половине эксперимента.

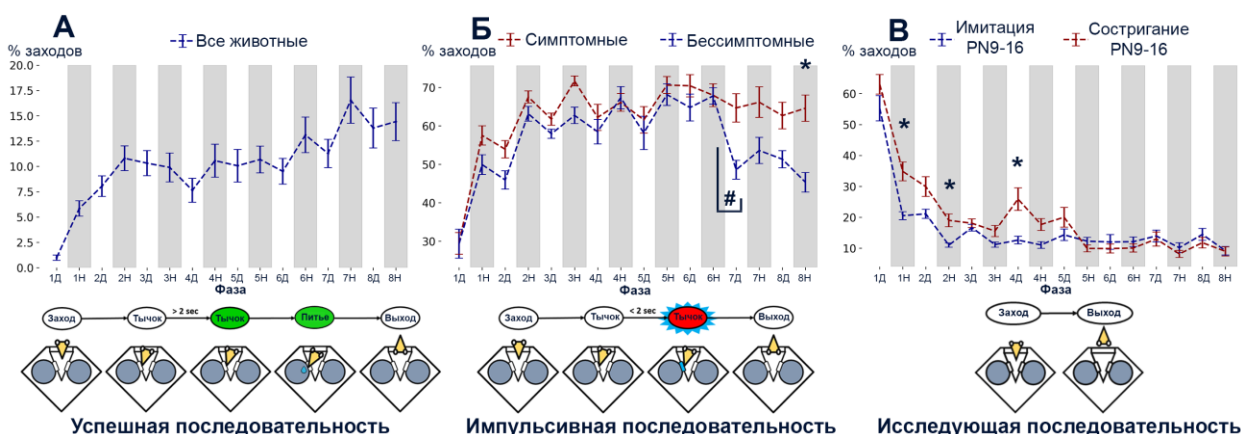


Рисунок 19. Динамика поведенческих последовательностей. А. Динамика успешной последовательности у всех животных. Б. Динамика импульсивной последовательности у животных с разным эпилептическим фенотипом. В. Динамика исследующей последовательности у животных, подвергнутым состриганию вибрисс или имитации в течение ПД9-16. «\*» обозначает различия между группами. «#» обозначает различие между последовательными фазами ( $p < 0.05$ ).

### 3.5.2. Исследование обучения в методике выработки условного рефлекса двустороннего избегания

Нами было проанализировано три параметра, отражающие различные этапы обучения в методике УРДИ. Номер попытки достижения критерия является стандартным параметром, отражающим формирование устойчивой реакции избегания. Номер попытки первого избегания свидетельствует об обнаружении связи между условным и безусловным стимулами. Количество попыток до достижения критерия является признаком того, как быстро животное формирует устойчивую реакцию избегания после обнаружения связи между стимулами.

Нами было обнаружено, что симптомные животные позже достигали критерия обучения за счет более позднего первого избегания, причем количество попыток от первого избегания до достижения критерия не отличалось между симптомными и бессимптомными животными (табл. 4)

<i>Параметр</i>	<i>Симптомный фенотип (n=43)</i>	<i>Бессимптомный фенотип (n=15)</i>
<i>Номер попытки достижения критерия</i>	26.0±1.2 *	19.8±2.0
<i>Количество попыток от первого избегания до достижения критерия</i>	15.7±1.2	12.4±2.1
<i>Номер попытки первого избегания</i>	11.1±1.1 *	7.7±2.0



Таблица 4. Влияние эпилептического фенотипа на параметры обучения. «\*» обозначает статистически значимые различия между фенотипами ( $p < 0.05$ )

Далее мы решили проанализировать, будет ли выраженность ПВР коррелировать с параметрами усвоения УРДИ. Значимые корреляции были обнаружены при разделении выборки симптомных крыс на две подгруппы по среднему значению общей длительности ПВР в час (45 секунд). Мы предположили, что именно у крыс с высокой общей длительностью ПВР (более 45 секунд, тяжелый фенотип) будут обнаружены значимые корреляции между характеристиками ПВР и параметрами обучения, поскольку у данных животных патологическая активность может вовлекать большее количество структур мозга, в том числе задействованных в поддержании внимания и формировании памяти, помимо непосредственно необходимых для формирования ПВР. Нами было обнаружено, что общая длительность ПВР в возрасте 7 месяцев положительно коррелировала с количеством попыток до достижения критерия обучения и номером первого избегания (рис.20). Стоит отметить, что ни один из параметров обучения в методике УРДИ не коррелировал с общей длительностью ПВР в возрасте 5 месяцев. Таким образом, чем большее время длились ПВР у крыс с тяжелым фенотипом, тем медленнее они обнаруживали связь между условным и безусловным стимулами и тем больше попыток им требовалось для устойчивого усвоения УРДИ. Стоит отметить, что при оценке связи отдельных характеристик ПВР и параметров обучения была выявлена статистически значимая корреляция между количеством ПВР и количеством попыток до достижения критерия обучения ( $r=0.55$ ,  $p < 0.05$ , метод корреляций Пирсона)

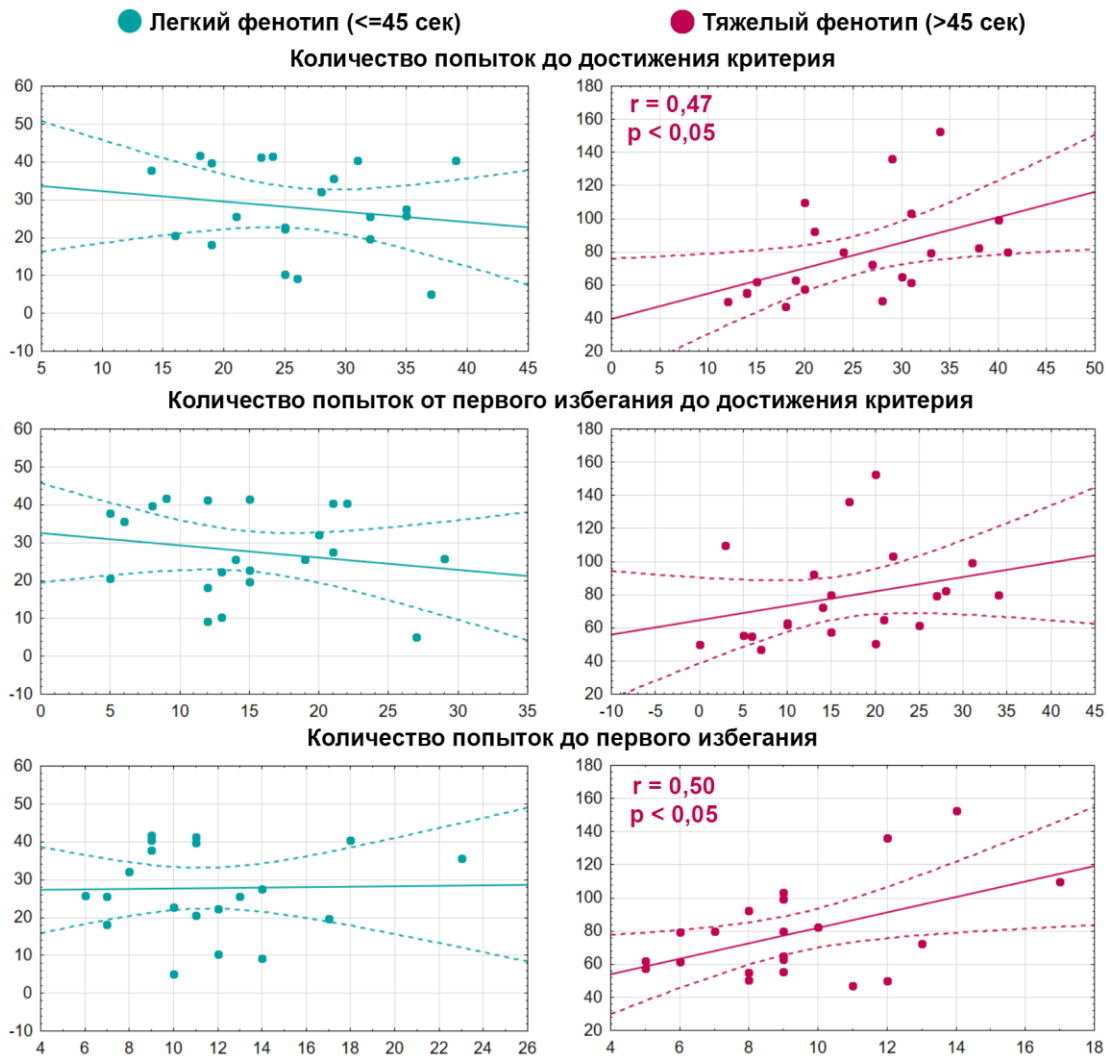


Рисунок 20. Корреляции между тяжестью симптомного фенотипа и параметрами обучения в УРДИ.

Также мы проанализировали связь средней частоты ПВР и параметров обучения в методике УРДИ. Мы обнаружили значимую обратную корреляцию между частотой ПВР и номером попытки первого избегания (рис.21). Другие параметры обучения не коррелировали со средней частотой ПВР.

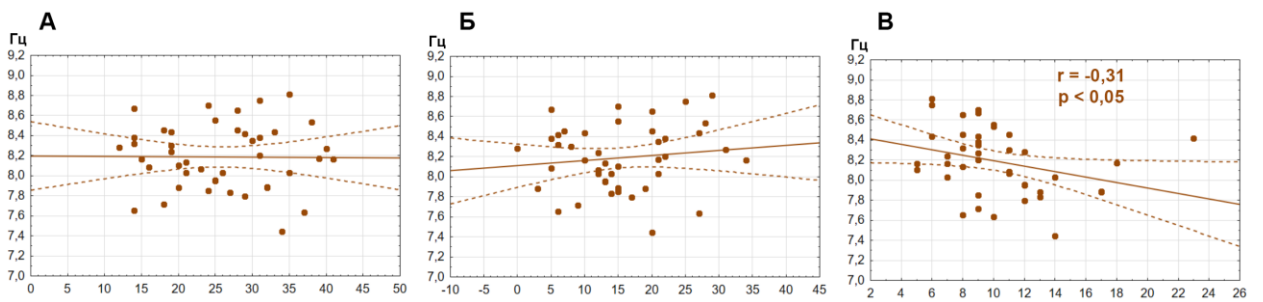


Рисунок 21. Корреляции между средней частотой ПВР и параметрами обучения в УРДИ. А. Количество попыток до достижения критерия. Б. Количество попыток от первого избегания до достижения критерия. В. Количество попыток до первого избегания.

Мы не обнаружили влияния состригания вибрисс на обучения в методике УРДИ. Однако период воздействия оказывал влияние на характеристики обучения, причем по иному пути, чем эпилептический фенотип. Крысы, подвергнутые воздействию в первый период (независимо от типа воздействия) позже достигали критерия обучения ( $F(1, 54)=4.6946$ ,  $p=0.03469$ , рис.22А) за счет большего количества попыток между первым избеганием и достижением критерия ( $F(1, 54)=6.6244$ ,  $p=0.01284$ , рис.22Б). Номер попытки, во время которой было совершено первое избегание, не отличался (рис.22В).

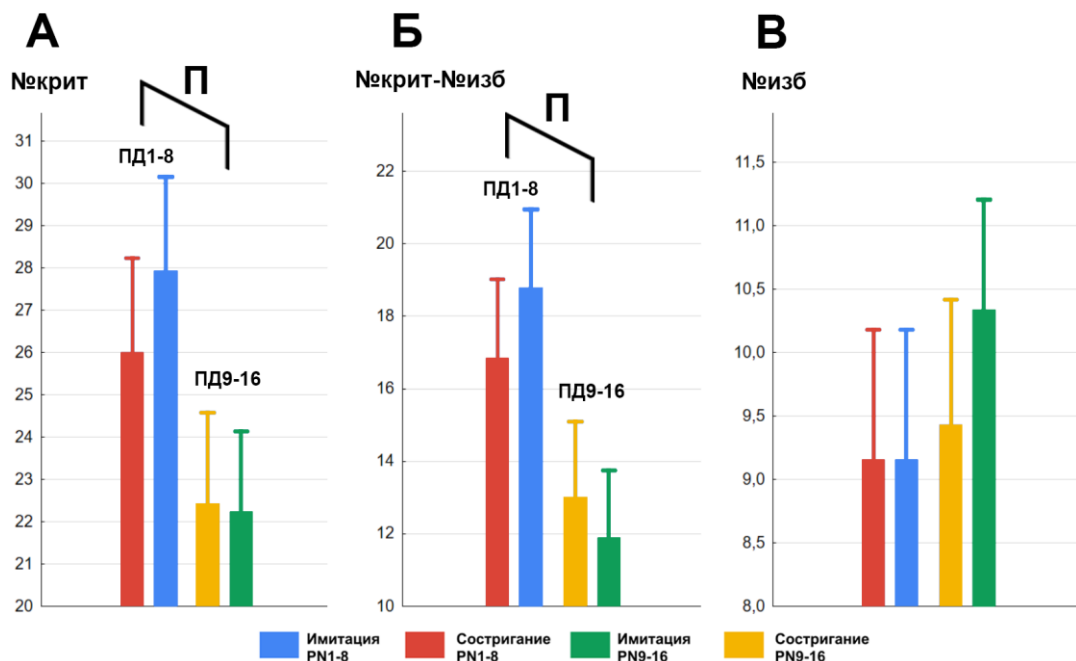


Рисунок 22. Влияние периода воздействия на параметры усвоения условной реакции двустороннего избегания. А. Номер попытки достижения критерия. Б. Количество попыток между первым избеганием и достижением критерия. В. Номер попытки первого избегания. Буква «П» обозначает статистически значимый эффект фактора «период» ( $p < 0.05$ ).

Мы подытожили обнаруженные эффекты типа и периода воздействия на поведенческие характеристики крыс линии WAG/Rij, а также выявленные различия между симптомным и бессимптомным фенотипами (табл. 5).

<i>Фактор</i>	<i>Масса тела</i>	<i>Раннее развитие</i>	<i>Исследовательская активность</i>	<i>Тревожность</i>	<i>Когнитивные функции</i>
<i>Симптомный/ Бессимптомный фенотип</i>	=	= сроки формирования ОТР ▲ связи между сроками созревания ОТР	=	▼	▼ формирование реакции избегания за счет более медленного обнаружения связи между условным и безусловным стимулами ▼ способность к обучению на поздних этапах задачи на импульсивность
<i>Состригание вибрисс/имитация состригания</i>	▼ в возрасте 2 месяцев ▼ связи между массой тела и сроками формирования ОТР при состригании во второй	▲ срок открытия глаз при состригании в первый период ▼ срок открытия глаз при	▲ пройденное расстояние в закрытых рукавах ▼ вертикальная активность во второй период ● Изменение стратегии исследования	=	=

	период	состригании во второй период	пространства
<i>Воздействия в период пассивного прикосновения/в период активного ощупывания)</i>	▼ в раннем онтогенезе	▼ разница в сроках открытия глаз и формирования ходьбы при состригании во второй период	▲ аутогруминг при воздействиях во второй период ▼ формирование устойчивой реакции избегания

Таблица 5. Влияние экспериментальных факторов на поведение крыс линии WAG/Rij

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### 4.1. Крысы линии WAG/Rij – модель абсансных приступов

Модели на животных являются важным инструментом для изучения механизмов, лежащих в основе неврологических заболеваний. Эпилептическая активность, сопровождающаяся поведенческими приступами, требует назначения препаратов, подавляющих приступы, поскольку согласно принципу “seizures beget seizures” отсутствие фармакологического контроля судорог может вести к их нарастанию и отягчению сопутствующих когнитивных и эмоциональных нарушений. Однако прием противосудорожных препаратов характеризуется побочными эффектами, которые сложно отделить от сопутствующих основному заболеванию нарушений. Исследование животных моделей, воспроизводящих эпилептическую активность, может ответить на вопрос о механизмах, лежащих в основе сопутствующих нарушений, и установить, вовлечение каких структур мозга необходимо для формирования патологической активности.

Стоит отметить, что склонность к формированию ПВР является характерной для крыс различных лабораторных линий (Pearce et al., 2014; Perescis et al., 2019; Taylor et al., 2017), а также диких животных (Taylor et al., 2019). Данные наблюдения привели к появлению критики идеи о том, что ПВР являются патологической активностью мозга у крыс. Однако продолжительность ПВР у диких крыс составляет 0.5-1 секунду, в то время как признаком зрелого ПВР у крыс линии WAG/Rij является длительность превышающая 1,5 секунды (Sitnikova et al., 2019). Таким образом, феномен ПВР может встречаться у крыс, не рассматриваемых в качестве модели абсансных приступов, однако данная активность у них не достигает критериев патологической. ПВР у крыс линии WAG/Rij могут возникать в состоянии активного бодрствования, ведя к прерыванию текущего поведенческой активности, что указывает на дезадаптивный характер ПВР.

Еще одно направление критики использования крыс, имеющих ПВР, в качестве модели абсансных приступов опирается на различие в их развитии у человека и крыс. Абсансные приступы у людей характерны для педиатрической

популяции, в то время как у крыс они появляются во взрослом возрасте. Предполагается, что ПБР могут быть зарегистрированы у гораздо большего количества людей, чем количество пациентов, имеющих клинический диагноз, включающий абсансные приступы. При отсутствии выраженного негативного влияния данной формы эпилептической активности на адаптацию субъекта ПБР могут быть обнаружены лишь случайно в результате регистрации ЭЭГ, изначально имеющей другую цель. В последние годы появляется все больше сообщений об обнаружении абсансных приступов у взрослых пациентов (Brigo et al., 2018; Taniguchi et al., 2020; Trinka, 2005), что свидетельствует о том, что по крайней мере некоторые формы генерализованной эпилепсии с абсансными приступами у людей имеют сходное течение с моделями на крысах.

#### **4.2. Симптомный и бессимптомный фенотип крыс линии WAG/Rij**

Генетическая предрасположенность крыс линии WAG/Rij к ПБР была сформирована в результате селекции крыс, спонтанно демонстрирующих данный тип эпилептической активности (Peeters et al., 1990; Vadász et al., 1995). Однако до сих пор неизвестно, какие именно гены вносят вклад в формировании ПБР у крыс линии WAG/Rij. Были обнаружены локусы на хромосомах 5 и 9, отличающиеся у данной линии от контрольной (Gauguier et al., 2004). Тем не менее никакие идентифицированные специфические генные мутации не объясняют развитие спонтанных припадков у крыс линии WAG/Rij (van Luijtelaar and Sitnikova, 2006). Несмотря на то, что ранее сообщалось о развитии ПБР у всех крыс линии WAG/Rij (Coenen et al., 1992), мы обнаружили, что около 25% крыс в популяции ИВНДиНФ РАН не формируют выраженной пик-волновой активности. Появление животных с бессимптомным фенотипом может быть объяснено генетическим дрейфом, неизбежным в малых популяциях (LaBar and Adami, 2017). Поскольку крысы линии WAG/Rij в популяции ИВНДиНФ РАН являются близкими родственниками и, следовательно, сходны генетически, крысы с бессимптомным фенотипом являются идеальным контролем для крыс с симптомным фенотипом. На данный момент в нашей лаборатории ведется работа по формированию подлинии крыс



WAG/Rij, не демонстрирующих ПБР. Обнаруженное нами отсутствие влияния ограничения сенсорного притока в раннем онтогенезе на наличие симптомного фенотипа свидетельствует в пользу генетической природы обнаруженного расщепления популяции на два фенотипа. Таким образом, можно сделать вывод, что воздействия на вибротактильную систему в раннем онтогенезе могут способствовать увеличению возбудимости нейронов соматосенсорной коры только при наличии генетических предпосылок для формирования гипервозбудимого очага. Однако, возможно, что более продолжительное ограничение сенсорного притока, может привести к изменению соотношения фенотипов, вызывая более выраженные изменения в возбудимости нейронов соматосенсорной коры.

#### ***4.3. Увеличение исследовательской активности в «опасных» областях экспериментальных установок, указывающее на сниженную тревожность крыс линии WAG/Rij, имеющих симптомный фенотип***

Тревожное поведение грызунов обычно оценивается путем регистрации реакции животных на новую, потенциально опасную среду (Litvin et al., 2008). Исследование тревожности в методиках «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Открытое поле» основано на том, что крысы воспринимают открытые пространства более опасными (Anchan et al., 2014; Ari et al., 2019; Carola et al., 2002; Coussons-Read and Crnic, 1996). В поисках пищи и ресурсов животные сталкиваются с ситуациями, имеющими различную степень угрозы. В зависимости от уровня неопределенности и временной и пространственной близости к опасности такие ситуации могут вызывать различные поведенческие состояния. Ситуации с низким уровнем угрозы, в которых воспринимаемая опасность является рассредоточенной и неопределенной, вызывают тревогу и поведение пассивного избегания, в то время как ситуации с более высокой угрозой, в которых воспринимаемая опасность является неизбежной и четко определенной, вызывают страх или панику и поведение активного избегания (Perusini and Fanselow, 2015). При оценке неопределенных условий, однако не несущих прямой

угрозы, предполагается, что тревога включает в себя конфликт между присутствующими одновременно стремлениями избегать потенциально опасных зон и исследовать новую обстановку (в частности, открытое пространство в использованных нами методиках).

Результаты нашего исследования свидетельствуют об увеличении исследования потенциально опасных зон (открытых рукавов «Приподнятого крестообразного лабиринта» и центральной зоны «Открытого поля») у симптомных самцов линии WAG/Rij в возрасте 2 месяцев по сравнению с бессимптомными. Одной из возможных интерпретаций данного результата является наличие низкого уровня тревожности у симптомных крыс. Ранее было показано, что крысы линии WAG/Rij, имеющие аудиогенные приступы, демонстрируют повышенную тревожность, в то время как крысы линии WAG/Rij, не имеющие аудиогенных приступов, не отличаются по уровню тревожности от крыс линии Wistar (Sarkisova and Kulikov, 2006). Наши результаты противоречат результатам данного исследования. Возможно несколько объяснений выявленному противоречию. В рассмотренном выше исследовании крысы линии WAG/Rij сравнивались с крысами линии Wistar, в нашем исследовании сравнивались симптомный и бессимптомный фенотипы крыс линии WAG/Rij. Таким образом, можно предположить, что симптомный фенотип ближе по уровню тревожности к крысам линии WAG/Rij, в то время как бессимптомные крысы более тревожны. В нашем исследовании мы не проводили исследования возможности индукции аудиогенных судорог у животных. Ранее было показано, что крысы линии WAG/Rij, склонные к аудиогенному киндлингу, демонстрируют меньшее число пик-волновых разрядов по сравнению с крысами, устойчивыми к киндлингу (Vinogradova, 2008). Можно предположить, что бессимптомные крысы линии WAG/Rij более являются также аудиогенными, что может объяснить наличие у них более высокой тревожности по сравнению с симптомными крысами.

Альтернативное объяснение различий между нашими результатами и результатами работы Саркисовой и Куликова основывается на различном возрасте, когда проводилась оценка тревожности в методике «Приподнятый крестообразный лабиринт». В нашем исследовании оценка тревожности проводилась в возрасте 2 месяцев, а в исследовании наших коллег в возрасте 5-6 месяцев. Отсутствие различий в тревожности в возрасте 6 месяцев между

крысами линии WAG/Rij и крысами линии Wistar также было обнаружено в исследовании другой научной группы (Karson et al., 2012). Вероятно, до появления ПБР крысы линии WAG/Rij имеют сниженную тревожность, которая вместе с развитием ПБР повышается до уровня контрольной линии крыс. Сравнение уровня тревожности у крыс с симптомным и бессимптомным фенотипом в более позднем возрасте позволит ответить на вопрос и исследование склонности к аудиогенным судорогам позволят ответить на вопрос, какое из объяснений является верным.

Тревожное расстройство часто сопутствует генерализованным эпилепсиям с абсансными приступами (Jones et al., 2007; Vega et al., 2011). Как обнаруженный нами сниженный уровень тревожности у крыс с симптомным фенотипом, так и отсутствие различий в данном показателе между крысами линии WAG/Rij и крысами линии Wistar свидетельствует о различии механизмов, определяющих взаимосвязь между ПБР и тревожностью, у пациентов, имеющих абсансные приступы, и в животных моделях. Вероятно, повышенная тревожность у пациентов, имеющих абсансные приступы, формируется в результате психологической реакции на основное заболевание.

Методики «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» также направлены на оценку исследовательского поведения (Schmitt and Hiemke, 1998; Seibenhener and Wooten, 2015). Нами не было обнаружено отличий в исследовательском поведении у животных с симптомным и бессимптомным фенотипами, что согласуется с результатами, полученными на двухмесячных крысах линии WAG/Rij по сравнению с крысами линии Wistar (Fedosova et al., 2021). Однако в возрасте 6 месяцев, когда ПБР достигают взрослой формы, у крыс линии WAG/Rij было обнаружено снижение исследовательской активности, что может указывать на связь абсансных приступов и уровня общей активации. Увеличение продолжительности ПБР связывают с усиленным тоническим торможением (Destexhe, 1998; Liu et al., 1992), которое, вероятно, в крайних проявлениях является причиной гипотонии при различных неврологических синдромах (Ali Rodriguez et al., 2018; Smirnov et al., 2021). Можно предположить, что увеличение ПБР указывает на прогрессирующий дисбаланс между возбуждением и торможением, который ведет к снижению общей локомоторной активности. Данное предположение подтверждается тем, что после подавление

ПВР этосуксимидам, в вышеуказанной работе было обнаружена нормализация исследовательского поведения (Fedosova et al., 2021).

#### **4.4. Сниженная обучаемость крыс линии WAG/Rij, имеющих симптомный фенотип**

Нарушение когнитивных функций, сопутствующее эпилепсиям с абсансными приступами, отрицательно сказывается на обучении. Как правило, данные пациенты демонстрирует более низкую успеваемость, чем нормотипичные ровесники, чаще остаются на второй год и чаще имеют диагноз нарушений обучаемости. Недавнее исследование показало, что до 65% детей с диагнозом детской абсансной эпилепсии имеют от легкого до выраженного отставания от академической программы (Wald et al., 2019). Ранее было обнаружено, что крысы линии WAG/Rij демонстрируют нарушения обучения в возрасте, когда ПВР достигают зрелой формы. Выявленные нарушения были преимущественно связаны со сниженной пространственной памятью и проявлялись на стадии воспроизведения сформированного в результате обучения поведения (Karson et al., 2012; Leo et al., 2019). В нашем исследовании мы решили изучить другую форму обучения, основанную на формировании условной реакции избегания, и проанализировать динамику ответов, предшествовавших формированию устойчивой реакции.

Реакция избегания - это естественное адаптивное поведение в ответ на опасность. Обучение реакции избегания относится к инструментальному обуславливанию. В парадигме УРДИ крысы обучаются избегать болезненного стимула (удар током, безусловный стимул), инициируя локомоторную реакцию, благодаря предшествующему безусловному стимулу звуковому тону (условный стимул). Нами было обнаружено, что крысы линии WAG/Rij, имеющие выраженные ПВР, позже формируют устойчивую реакцию избегания в результате более медленного обнаружения связи между условным и безусловным стимулами. Вероятно, что данный результат связан с нарушением управляющих функций, обеспечивающих выявления значимых параметров окружающей среды. Данное предположение согласуется с исследованиями на пациентах, имеющих

абсансные приступы, в которых было показано, что дефицит управляющих функций наблюдается при выраженных ПБР (D'Agati et al., 2012; Vega et al., 2010; Wald et al., 2019). Обнаруженное нами нарушение раннего этапа усвоения условной реакции в период, когда ПБР активно формируются (6 месяцев), может свидетельствовать, что нарушения исполнительных функций и внимания предшествуют возникновению нарушений памяти, обнаруженных в возрасте, когда ПБР достигают зрелой формы (12-13 месяцев) (Karson et al., 2012; Leo et al., 2019).

Наряду с нарушением внимания, дефицит управляющих функций у крыс линии WAG/Rij может быть объяснен отсутствием мотивации исследовать окружающую среду, связанным с депрессивным фенотипом, описанным у данной линии крыс (Russo et al., 2013; Sarkisova and van Luijtelaa, 2011). Действительно, исследования моделей депрессии на крысах показали, что у крыс с индуцированным депрессивным поведением, нарушения в обучении обнаруживаются уже на этапе освоения (Martis et al., 2018; Sun and Alkon, 2004). Также было показано, что при обучении в методиках, оценивающих память при социальном взаимодействии и исследовании нового объекта, крысы линии WAG/Rij демонстрируют сниженную исследовательскую активность и социальное предпочтение, вероятно, в результате депрессивно-подобных изменений мотивации (Leo et al., 2019). Поскольку в нашем исследовании мы не изучали выраженность депрессивного фенотипа у крыс линии WAG/Rij, мы не можем установить влияние сниженной мотивации на исследовательское поведение, однако стоит отметить, что в методиках, направленных на прямую оценку исследовательского поведения, мы не обнаружили различий между симптомным и бессимптомным фенотипом. Вопрос о том, вызвано ли более медленное усвоение условной реакции у крыс линии WAG/Rij первичным образом в результате дефицита внимания или вторично из-за снижения мотивации к исследованию является вопросом для будущих исследований. Одним из вариантов такого эксперимента может быть исследование влияния антидепрессантов на обучение у крыс линии WAG/Rij.

Одной из возможных причин, по которой когнитивные нарушения в сходной с использованной нами методике не были обнаружены нашими коллегами у крыс в возрасте, когда ПБР активно формируются, являются методические различия в

формировании реакции избегания в разных тестах (Leo et al., 2019). Тест пассивного избегания, использованный ими, имеет очень короткую стадию усвоения, что не позволяет оценить обучения животных на начальном этапе. Используемая нами методика УРДИ имеет начальную стадию, во время которой происходит обнаружение связи между условным и безусловным стимулами, состоящую из нескольких попыток.

Методика обучения в водном лабиринте Морриса, также использованная в вышеупомянутом исследовании, направлена на оценку пространственной памяти, которая связана с активностью гиппокампа (Vorhees and Williams, 2006), в то время как для формирования реакции избегания необходимо вовлечение миндалины (Choi et al., 2010; Ramirez et al., 2015). Несмотря на то, что участие гиппокампа в ПВР не подтверждено, наши предварительные записи локальной электрической активности, записанной одновременно из коры, таламуса и гиппокампа указывают на вовлечение гиппокампа в пик-волновую активность, что, однако, наблюдается не у всех животных, демонстрирующих ПВР. Вероятно, вовлечение гиппокампа в ПВР может происходить лишь на поздних стадиях развития данного типа патологической активности мозга, что приводит к нарушению пространственной памяти у старых животных.

Предполагается, что за различными характеристиками ПВР, такими как количество, длительность и частота, могут лежать различные физиологические механизмы (Destexhe, 1998; Lüttjohann and van Luijtelaa, 2015). Можно ли использовать характеристики ПВР в качестве маркеров когнитивной дисфункции при абсансной эпилепсии? Нами были обнаружены корреляции между параметрами обучения в методике УРДИ и характеристиками ПВР. Количество попыток до первого избегания и количество попыток до достижения критерия обучения коррелировали с общей продолжительностью ПВР, при этом количество ПВР коррелировало с количеством попыток до достижения критерия обучения. Данные связи были обнаружены только у животных с тяжелым фенотипом.

Нами также была обнаружена отрицательная корреляция между частотой ПВР и количеством попыток до первого избегания. Данный результат интересно сопоставить с данными о связи частоты ПВР и тета-ритма (Pearce et al., 2014). Известно, что высокочастотный тета-ритм наблюдается при активном исследовании окружающего пространства (López-Madróna et al., 2020). Поскольку

частота ПВР обратно коррелировала с номером первого избегания, то можно предположить, что крысы, которые демонстрируют более высокую частоту ПВР, также имеют большую частоту тета-ритма и более высокую исследовательскую активность, которая может способствовать более быстрому обнаружению связи между условным и безусловным стимулами.

Повышенная импульсивность у людей связана с низкой школьной успеваемостью и профессиональными достижениями. Связь между уровнем импульсивности и обучением обнаруживается и у крыс (Moreno et al., 2010; Pavlova et al., 2020; Zaichenko et al., 2019). Нами было обнаружено, что крысы с симптомным фенотипом, демонстрирующие более медленное обучение в методике УРДИ, имели более высокий уровень импульсивности при тестировании в установке «ИнтеллиКейдж». Наши результаты не согласуются с данным о том, что крысы, селектированные по признаку быстрого формирования реакции избегания, имеют повышенную импульсивность (Moreno et al., 2010). Данное расхождение можно объяснить тем, что повышенная импульсивность и сниженная способность к усвоению реакции избегания у крыс, использованных в нашем исследовании, являются вторичными по отношению к эпилептической активности в результате вовлечения в нее структур мозга, связанных с вниманием. В вышеупомянутой работе повышенная импульсивность была вызвана изменениями в работе серотонинэргической и дофаминэргической систем, сформировавшихся в результате селекции крыс, демонстрирующих быстрое обучение в методике активного избегания.

Среди нарушений внимания, обнаруживаемым у детей с абсансной формой эпилепсии, наиболее выраженным является повышенная импульсивность (Serminara et al., 2013). Импульсивность можно определить, как склонность к быстрым, незапланированным реакциям на внутренние или внешние раздражители со сниженным учетом негативных последствий этих реакций для импульсивных индивидуумов или окружающих. Было обнаружено, что при выполнении задания, нацеленного на оценку импульсивности, детей с абсансной эпилепсией характеризовали большим количеством ошибок по типу ответа на нецелевой стимул, указывающих на проблемы с исполнительным контролем. Существуют различные экспериментальные парадигмы, направленные на оценку разных форм импульсивности у животных, такие как импульсивный выбор и

импульсивное действие (Broos et al., 2012; D'Amour-Horvat and Leyton, 2014; Jentsch, 2008; Pavlova et al., 2020; Zaichenko et al., 2019). В использованной нами парадигме, направленной на оценку импульсивной реакции, импульсивное поведение провоцируется необходимостью ждать определённый временной интервал между двумя поведенческими реакциями для получения подкрепления. Парадигма была реализована в экспериментальной установке «ИнтеллиКейдж».

Крысы с симптомным фенотипом совершали большее количество посещений оперантных углов с преждевременным тычком носом («Импульсивная» последовательность) в конце эксперимента по сравнению с крысами с бессимптомным фенотипом. Процент посещений, относимых к «Импульсивной» последовательности, резко снижался у крыс с бессимптомным фенотипом, начиная с 5-го дня, в то время как у симптомных крыс он был почти стабильным. Нарушения обучаемости у крыс WAG/Rij, по-видимому, являются вторичными по отношению к ПБР, а фармакологическое подавление SWD приводит к улучшению когнитивных функций (Leo et al., 2019). По сравнению с выраженными различиями между фенотипами, обнаруженными в методике УРДИ в возрасте 6 месяцев, различия в способности к обучению в методике «ИнтеллиКейдж» в возрасте 4-4.5 месяцев были менее очевидными и проявлялись только после длительного тестирования. Дальнейшее исследование внимания симптомных и бессимптомных крыс линии WAG/Rij в возрасте, когда ПБР достигают зрелой формы, необходимы, чтобы сделать выводы о связи между повышенной импульсивностью и абсансными приступами.

#### **4.5. Влияние воздействий в раннем онтогенезе на формирование пиковых разрядов**

Ранее было обнаружено, что ограничение сенсорного притока от вибрисс в течение первых трех недель жизни ведет к увеличению количества ПБР у крыс линии WAG/Rij как в возрасте, когда они формируются, так и в возрасте, когда они достигают зрелой формы (Sitnikova, 2011). В основе обнаруженного увеличения количества ПБР лежит увеличение возбудимости соматосенсорной коры (Sitnikova, 2000). Известно, что состригание вибрисс с рождения ведет к более сильному увеличению возбудимости соматосенсорной коры, чем такое же



воздействие с ПД12 (Shoykhet et al., 2005). Однако в данной работе состригание, начинавшееся с рождения, продолжалось и после ПД12, таким образом длительность воздействия была разной, что не позволяет определить принципиальную роль сенсорного притока от вибрисс в сензитивные периоды развития вибротактильной системы. Нами было проведено сравнение животных, подвергнутых состриганию вибрисс с ПД1 по ПД8 и с ПД9 по ПД16.

Нами было обнаружено, что крысы, подвергнутые ограничению сенсорного притока от вибрисс вне зависимости от периода воздействия, имели большее количество ПВР в возрасте 5 месяцев. Также было выявлено отсутствие у крыс, подвергнутых состриганию вибрисс, увеличения длительности ПВР между 5 и 7 месяцами, что может указывать на то, что эпилептогенез у данных животных завершился раньше, чем у крыс, подвергнутых имитации состригания. Крысы из контрольных групп достигли зрелой формы ПВР к семи месяцам, что соответствует литературным данным о динамике эпилептической активности у крыс линии WAG/Rij. В возрасте 7 месяцев контрольные и экспериментальные группы не отличались по характеристикам ПВР. Можно предположить, что генотип, определяющий наличие эпилептического фенотипа, также задает «потолок» развития ПВР, максимальную степень их развития, на уровень которой не влияет сенсорный опыт в раннем онтогенезе, по крайней мере, в той форме воздействия, которое мы использовали в нашей работе. Однако ограничение сенсорного притока ведет к более раннему достижению данного «потолка». Нами не было обнаружено специфического влияния периода ограничения сенсорного притока на характеристики ПВР. Также мы не обнаружили эффекта состригания вибрисс на характеристики ПВР в возрасте, когда ПВР достигают зрелой формы, что было обнаружено после более длительного состригания (Sitnikova, 2011). Данные результаты свидетельствуют в пользу идеи о том, что длительность, а не период ограничения сенсорного притока в раннем онтогенезе оказывает решающую роль на формирования ПВР.

Анализ влияния ограничения сенсорного притока от вибрисс в разные периоды раннего онтогенеза обнаружил, что тип воздействия и период независимо друг от друга влияют на различные параметры ПВР у взрослых животных. Состригание вибрисс вело к увеличению количества ПВР, в то время как воздействия во второй период вели к увеличению средней длительности

одного ПВР по сравнению с воздействиями в первый период. Согласно гипотезе, выдвинутой Лютйохан и ван Лютелааром, за данными параметрами ПВР лежат различные нейронные механизмы: количество ПВР определяется возбудимостью коры, средняя длительность разряда – вовлечением ретикулярного ядра таламуса (Lüttjohann and van Luijteleaag, 2015). Увеличение количества ПВР у крыс, повергнутых состриганию вибрисс, может быть объяснено влиянием данного воздействия на генетически предопределенный очаг в соматосенсорной коре. Различия в длительности ПВР у крыс, подвергнутым воздействиям (независимо от их типа) в течение ПД1-8 или ПД9-16 может быть объяснено менее специфичным эффектом на формирование мозга отлучением от кормящей матери. Ранее было показано, что хэндлинг и отлучение от матери в течение ПД1-21 вели к уменьшению количества ПВР у крыс линии WAG/Rij (Schridde et al., 2006). В нашем исследовании все крысы были подвергнуты хэндлингу и кратковременному отлучению от матери, при этом периоды, в которые данные воздействия были совершены, были значительно короче, что может быть причиной различий в их влиянии на характеристики ПВР. Также необходимо отметить, что эффекты типа и периода воздействия на характеристики ПВР наблюдались только в возрасте 5 месяцев, что свидетельствует, что исследованные нами экспериментальные факторы различным образом влияют на эпилептогенез ПВР, однако не определяют характеристики зрелых ПВР.

#### ***4.6. Влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс в два сензитивных периода созревания вибротактильной системы на формирования опорных точек развития***

Новорожденные крысы являются глухими и слепыми и неспособны к самостоятельному питанию. Вибриссы присутствуют у крысят с рождения, однако вибротактильная система созревает к третьей неделе жизни (Grant et al., 2012). В течение первых недель жизни активность вибрисс у крысят меняется от незрелого пассивного прикосновения к активному предметно-ориентированному ощупыванию. Созревание вибротактильной системы в этот период связано с резкими изменениями в поведении крыс. В данной работе мы показали, что

ограничение сенсорной информации от вибрисс в период пассивного прикосновения и в период появления активного ощупывания различным образом влияет на развитие поведения у крыс WAG/Rij. Мы обозначили поведенческие акты и сенсорные изменения, возникающие в период раннего онтогенеза как опорные точки развития, опираясь на концептуальный подход используемый при оценке развития младенцев, у которых оценка ОТР используется для ранней диагностики нарушений развития нервной системы (Johansen et al., 2017; Schiariti et al., 2018). В то же время, формирование ОТР у крыс плохо изучено. Из-за консервативного порядка и схожей роли развития моторных функций у людей и грызунов результаты, полученные в нашем исследовании, при сопоставлении с данными исследований на людях могут быть использованы в трансляционной перспективе.

Мы обнаружили, что состригание вибрисс в течение ПД1-8 ведет к более позднему открытию глаз и формированию горизонтального хвата, однако не меняет общий порядок формирования ОТР. Прошлые исследования, выполненные в лаборатории Нейроонтогенеза ИВНДиНФ РАН показали, что подобная процедура в течение ПД1-19 вела к более раннему открытию глаз, ускоренному формированию аутогруминга и стоек без опоры, но задерживала формирование манипуляторной активности передних конечностей (Шишелова and Раевский, 2009). Расхождение можно объяснить различиями в методологии. В нашем исследовании был использован дизайн, при котором состригание проводилось у всех крысят в помете, а в исследовании Шишеловой и Раевского только у половина крысят из помета были подвергнуты данной форме ограничения сенсорного притока (Шишелова and Раевский, 2009). Стоит отметить, что при состригании вибрисс у половины помета эффекты воздействия были даже более выражены у интактных сиблингов, что может указывать на более важную роль взаимодействий внутри гнезда на формирование ОТР, чем сенсорного притока от вибрисс. Также в вышеупомянутом исследовании состригание вибрисс продолжалось более длительный период времени, включая оба периода, исследованные в нашей работе. Учитывая, что более раннее открытие глаз является единственным специфичным эффектом ограничения сенсорного притока от вибрисс в течение ПД9-16, можно предположить, что именно в этот период негативные воздействия на вибротактильную систему могут вызвать

компенсаторную перестройку связей между зрительным анализатором и моторными функциями. Недостаток сенсорного притока может быть компенсирован быстрым созреванием других незрелых сенсорных входов, то есть «актуализацией». Было показано, что крысы, лишенные вибрисс, начинают более эффективно использовать визуальные сигналы (Schiffman et al., 1970). Идея компенсаторного использования одной сенсорной системы после депривации другой системы была продемонстрирована на функционально слепых крысах, у которых вибриссы вытягивались дальше, чем у контрольных животных, при исследовании окружающей среды (Arkley et al., 2014). В наших экспериментах состригание вибрисс в течение ПД9-16 могло вызвать ускорение открытия глаз и перестройку функциональной системы, обеспечивающей ходьбу, с большей опорой на зрительную информацию.

Еще одним расхождением между данными, полученными в нашем исследовании и работе Шишеловой и Раевского, является малое количество корреляционных связей между сроками формирования различных ОТР, обнаруженном у животных, использованных в наших экспериментах. Помимо вышеуказанных отличий в методологии данное различие может быть вызвано тем, что в нашем исследовании были использованы крысы линии WAG/Rij, имеющие генетическую предрасположенность к формированию ПВР. Однако несмотря на то, что симптомный и бессимптомный фенотипы не различались сроками формирования ОТР, у симптомного фенотипа было обнаружено гораздо больше корреляционных связей между сроками формирования ОТР, чем у бессимптомных животных. Таким образом, крысы с симптомным фенотипом оказались более похожими в формировании взаимосвязей между ОТР на крыс линии Wistar, чем бессимптомные крысы. Дальнейшее исследование развития поведения у крыс линии WAG/Rij с симптомным и бессимптомным фенотипом при сравнении с крысами линии Wistar необходимо, чтобы определить сходства и различия в ОТР у разных линий крыс и их связь с развитием ПВР во взрослом возрасте.

При нормальном развитии общее физическое развитие связано с ОТР. Так дети, которые быстрее набирают вес, раньше начинают улыбаться, сидеть и ходить (Flensburg-Madsen and Mortensen, 2017), а у свинохвостых макаков низкий вес при рождении является надежным предиктором задержки в развитии (Kroeker

et al., 2007). Тяжелые детеныши крыс и кроликов, которые обычно показывают более высокие темпы роста в молодости, демонстрируют более быстрое развитие исследовательского поведения, чем более легкие (Rödel et al., 2008; Rödel and Meyer, 2011). Мы обнаружили, что ограничение сенсорного притока от вибрисс в течение ПД9-16 уменьшает количество корреляционных связей между массой тела и сроками формирования ОТР. Вероятно, ограничение сенсорного притока в период, когда крысята начинают активно использовать вибриссы при реализации моторных актов, ведет к реорганизации поведения, запуская механизмы, компенсирующие отсутствие необходимой афферентации, что может изменять связи между поведением и соматическим ростом.

Ограничения сенсорного притока от вибрисс не оказало влияния на набор массы тела в раннем онтогенезе. Отсутствие влияния состригания вибрисс на массу тела кажется противоречащим данным о важности пассивного прикосновения с помощью вибрисс в течение первой недели жизни в обнаружении соска кормящей самки (Sullivan et al., 2003). Однако в нашей работе, посвященной исследованию материнского поведения крыс линии WAG/Rij, было показано, что после возвращения крысят, подвергнутых состриганию вибрисс самки демонстрируют больше ухода по отношению к ним по сравнению с матерями крысят, подвергнутых имитации состригания (Smirnov et al., 2018). Таким образом, нарушения в обнаружении соска крысятами, подвергнутыми ограничению сенсорного притока от вибрисс, могут быть скомпенсированы усилением материнской заботы.

#### ***4.7. Влияние ограничения сенсорного притока от вибрисс на поведение крыс во взрослом возрасте***

Вибротактильная система играет важную роль при исследовании крысами окружающего пространства, а ограничение сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе оказывает отсроченное влияние на исследовательскую активность животных (Lee et al., 2009; Papaioannou et al., 2013). Мы проанализировали, будет ли состригание вибрисс в различные чувствительные периоды развития вибротактильной системы влиять на исследовательскую

активность крыс линии WAG/Rij. Нами было обнаружено, что состригание вибрисс вне зависимости от периода ведет к увеличению расстояния, пройденного в закрытых рукавах методики «Приподнятый крестообразный лабиринт», что отражает исследовательскую активность животных в «безопасных» условиях. Мы не обнаружили подобного эффекта в методике «Открытое поле». В данной методике состригание вибрисс в первый и второй период оказало разнонаправленное влияние на вертикальную активность животных, приведя к ее уменьшению у крыс, подвергнутых состриганию вибрисс во второй сензитивный период. Наши результаты согласуются с работой, выполненной ранее в лаборатории Нейроонтогенеза, в которой не было обнаружено влияния ограничения сенсорного притока от вибрисс в течение ПД9-20 на пройденное расстояние и скорость взрослых животных в методике «Открытое поле», однако было выявлено уменьшение количества стоек (Шишелова and Раевский, 2009).

Несмотря на то, что методики «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Открытое поле» направлены на оценку сходных параметров, их результаты часто оказываются не связанными или даже противоречащими (Anchan et al., 2014; Lalonde and Strazielle, 2010; Sudakov et al., 2013). Методика «Открытое поле» в большей степени направлена на оценку исследовательской активности и привыкания к новой среде, а методика «Приподнятый крестообразный лабиринт» - на оценку тревожности. Поскольку закрытые рукава методики «Приподнятого крестообразного лабиринта» являются «безопасной» зоной, то специфическое для них увеличение пройденного расстояния у крыс, подвергнутых состриганию вибрисс, может свидетельствовать о том, что изменения исследовательской активности в результате данной процедуры является зависимым от ситуационного контекста и модулируется уровнем тревожности. Вероятно, отсутствие закрытых пространств в методике «Открытое поле» не позволило наблюдать данного эффекта.

Стоит отметить, что увеличенная активность животных, подвергнутых состриганию вибрисс, в закрытых рукавах методики «Приподнятый крестообразный лабиринт» также может быть связана со сниженной чувствительностью вибрисс, побуждающей животных больше исследовать окружающее пространство для компенсации сенсорного дефицита. Похожий результат был обнаружен в исследовании, в котором оценивалось поведение

мышей в методике преодоления пространства между платформами (Papaioannou et al., 2013). Животные, подвергнутые состриганию части вибрисс в течение первых 6 дней жизни, более активно исследовали пространство, что не отражалось на успешности выполнения задачи. Изменение стратегии исследования пространства также было обнаружено нами при анализе поведения животных в методике «ИнтеллиКейдж». Мы выявили большее количество посещений оперантных углов, во время которых крысы не совершали тычков носом («Исследующая» последовательность), у крыс, подвергнутых состриганию во второй сензитивный период. Данное увеличение было обнаружено в только первой половине эксперимента, когда крысы адаптировались к новой среде. Можно предположить, что невозможность использовать вибриссы в период созревания вибротактильной системы, когда они начинают участвовать в поведении, привела к меньшей опоре на данный сенсорный вход при исследовании пространства во взрослом возрасте. Несмотря на изменение поведенческой стратегии исследования пространства, крысы, подвергнутые состриганию, не отличались от контрольной группы по эффективности обучения. Данная интерпретация согласуется с обнаруженным нами увеличением исследовательского поведения, у крыс, подвергнутых состриганию вибрисс, в закрытых рукавах методики «Приподнятый крестообразный лабиринт» и литературными данными, указывающими на то, что ограничение сенсорного притока от вибрисс в чувствительный период созревания вибротактильной системы влияет на поведенческую стратегию, но не на общую эффективность выполнения задачи у взрослых животных (Kurzina et al., 2017; Papaioannou et al., 2013).

#### ***4.8. Влияние периода воздействия в раннем онтогенезе на развитие и поведение крыс линии WAG/Rij***

Известно, что кратковременные отлучения от матери («ранний хэндлинг») в раннем онтогенезе влияют на развитие крысят и имеют отсроченные последствия во взрослом возрасте (Levine et al., 1956; Madruga et al., 2006; Meaney and Aitken, 1985; Pruce et al., 2001). В большинстве работ данное воздействие длится с рождения до ПД21. В нашем исследовании мы изучили эффекты

кратковременных отлучений от матери, сопровождавших экспериментальные процедуры в группах, подвергнутых как состриганию вибрисс, так и его имитации.

Нами было обнаружены различия в массе тела крысят, подвергнутых воздействиям в различные периоды раннего онтогенеза. Крысята, подвергнутые воздействиям в течение ПД1-8 имели меньшую массу тела, чем крысята, подвергнутые воздействиям в течение ПД9-16. Кратковременные отлучения из гнезда ведут к необходимости самкам заново строить гнездо и переносить в него крысят, а также выполнять другие действия, связанные с уходом за крысятами. Известно, что крысы линии WAG/Rij демонстрируют сниженный уход за крысятами по сравнению с крысами линии Wistar (Dobriakova et al., 2015; Dobryakova et al., 2008), что может вносить вклад в патогенез ПБП (Sarkisova and Gabova, 2018; Sitnikova et al., 2016). Можно предположить, что сниженная реализация материнского ухода после возвращения крысят в домашнюю клетку вела к тому, что часть крысят дольше находилась вне гнезда и получала меньше питания, что оказывало более существенное влияние на общее физическое развитие в период, когда крысята наиболее беспомощны, и вело к появлению различий между массой тела крысят, подвергнутым экспериментальным воздействиям в первый и второй периоды.

Нами было обнаружено, что крысята, подвергнутые воздействиям во второй период, позже начинали ходить и делать стойки. Задержка развития моторных навыков была обнаружена после длительного отлучения от матери (6 часов) в течение ПД2-15 (Mesquita et al., 2007). В нашем исследовании мы не сравнивали развитие животных, подвергнутых воздействиям, с интактными животными, поэтому мы не можем сделать вывод о том, ведут ли кратковременные отлучения от матери в раннем онтогенезе к задержке развития поведения. Однако обнаруженное нами более позднее формирование ходьбы и стоек у крысят, подвергнутых воздействиям в течение ПД9-16, может свидетельствовать, что кратковременные отлучения от матери в период, когда животные начинают демонстрировать активное исследовательское поведение, негативно отражаются на развитии поведения, по сравнению с воздействиями в течение ПД1-8.

Нами было обнаружено, что крысы, подвергнутые экспериментальным процедурам в первый период, совершали больше свешиваний из центра методики ПКЛ и демонстрировали меньше эпизодов аутогруминга в методиках ПКЛ и ОП,



что можно проинтерпретировать как признак сниженной тревожности. Аутогруминг у грызунов - это поведение, которое, помимо гигиенической функции, может быть отражать эмоциональное состояние животного. Данный тип поведения усиливается во время стрессовых ситуаций, которые не связаны с загрязнением шерсти (Kalueff and Tuohimaa, 2005; van Erp et al., 1994), напоминая компульсивные действия человека (Kalueff et al., 2016). Уменьшение тревожного поведения у взрослых животных, повергнутых раннему хэндлингу, является одним из наиболее хорошо описанных его эффектов (Rainekei et al., 2014). Известно, что эффекты раннего хэндлинга являются наиболее выраженными, когда данная процедура проводится в течение первой недели жизни (Meaney and Aitken, 1985). Обнаруженное нами уменьшение числа эпизодов аутогруминга у крыс, подвергнутых экспериментальным воздействиям в первый период, может отражать более сильный эффект на формирование эмоциональной сферы животных. Можно предположить, что сравнение с группой крыс, не подвергнутых хэндлингу, выявило бы меньший эффект или его отсутствие на показатели, связанные с тревожностью, у крыс, подвергнутым воздействиям во второй период. Однако возможна также иная интерпретация сниженного количества эпизодов аутогруминга у крыс, подвергнутых экспериментальным воздействиям в первый период. При исследовании нами формирования ОТР было обнаружено, что аутогруминг созревает позже у крыс, подвергнутым экспериментальным воздействиям в первый период, таким образом, вероятно, что меньшее количество эпизодов данной формы поведения у взрослых животных связано с его измененным формированием в онтогенезе.

Нами было обнаружено, что крысы, подвергнутые экспериментальным воздействиям в различные периоды (вне зависимости от типа воздействия), продемонстрировали различия в параметрах обучения, причем по иному типу, чем различия, выявленные при сравнении крыс с симптомным и бессимптомным фенотипом. Крысы, подвергнутые воздействиям в первый период, позже достигали критерия обучения за счет большего количества попыток после первого избегания. Таким образом, воздействия в первый период не влияли на скорость обнаружения связи между условным и безусловным стимулами (что было обнаружено у симптомных животных), но замедляли устойчивое формирование данной связи. Сообщалось, что манипуляции в раннем возрасте улучшают,

ухудшают или не влияют на обучение или память у взрослых (Kosten et al., 2012). Эти несоответствия могут отражать различия в использованных методиках и периодах воздействия. Эффекты ранних воздействий специфичны для различных форм обучения и если для обучения, основанного на торможении реакции, ранние кратковременные отлучения из гнезда улучшают обучение во взрослом возрасте, то при обучении реакциям избегания показан негативный эффект (Guijarro et al., 2007; Kosten et al., 2012; Madruga et al., 2006; Meerlo et al., 1999; Plescia et al., 2014; Stamatakis et al., 2008). Также отмечается, что воздействия в течение первой постнатальной недели влияют негативно, в то время как воздействия в течение третьей недели улучшают способность к обучению у взрослых животных (Kosten et al., 2012). Наши результаты согласуются с данными выводами. Предполагается, что сниженная способность к обучению реакции избегания у крыс, подвергнутых раннему хэндлингу, может быть связана со сниженной эмоциональной реактивностью, вызванной уменьшением активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (Plotsky and Meaney, 1993) и увеличением экспрессии рецепторов ГАМКа в миндалине (Caldji et al., 2000). В течение ПД4-14 крысята демонстрируют сниженную реакцию на стресс (Levine et al., 2010). Вероятно, что воздействия, которые начинаются до наступления периода сниженного ответа на стресс, ведут к более выраженным изменениям в эмоциональной реактивности во взрослом возрасте, что может объяснить более низкую способность к обучению реакции избегания у крыс, подвергнутым экспериментальным воздействиям в течение ПД1-8.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Крысы линии WAG/Rij генетически предрасположены к развитию пиково-волновой активности, в поведении сопровождаемой замираниями, что соответствует клинической картине абсансных приступов у человека, обнаруживаемых при генерализованных формах эпилепсии и иных неврологических заболеваниях. Основой для формирования данного вида эпилептической активности является нарушения таламокортикального взаимодействия, причем на животных моделях показана ведущая роль кортикального гипервозбудимого очага в инициации ПВР. Данный гипервозбудимый очаг у крыс линии WAG/Rij локализован в первичной проекционной зоне вибротактильной системы в соматосенсорной коре. Ограничение сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе влияет на свойства нейронов соматосенсорной коры и ведет к увеличению ПВР у взрослых крыс. Крысята рождаются с незрелой вибротактильной системой, функционирующей в пассивном режиме в течение первых десяти постнатальных дней, однако играющей роль в питании и взаимодействии с матерью и сиблингами. Активные движения вибрисс начинаются после десятого дня, участвуя в формировании различных форм поведения, необходимых для самостоятельного существования.

Ограничение сенсорного притока от вибрисс в каждый из этих периодов оказывает влияние на характеристики нейронов соматосенсорной коры и параметры поведения, требующего участия вибротактильной системы. Наличие двух сензитивных периодов развития вибротактильной системы в раннем онтогенезе и влияния сенсорного притока от вибрисс на характеристики ПВР позволило нам предположить, что ограничение сенсорного притока в каждый из описанных периодов будет специфическим образом влиять на формирование ПВР. Поскольку в популяции ИВНДиНФ 25% процентов крыс линии WAG/Rij не демонстрирует выраженных ПВР во взрослом возрасте, мы поставили вопрос о том, будет ли ограничение сенсорного притока влиять на соотношение животных с симптомным и бессимптомным фенотипом. Нами не было обнаружено изменения соотношения крыс, имеющих выраженные ПВР во взрослом возрасте и не

имеющих их, после состригания вибрисс в раннем онтогенезе. Вероятно, что наличие или отсутствие ПВР у животных определяется генетическими причинами и изменения сенсорного притока, по крайней мере, в использованной в нашем исследовании форме, недостаточно для увеличения возбудимости нейронов, необходимого для формирования гипервозбудимого очага. Ограничение сенсорного притока вело к увеличению количества ПВР и их общей длительности в возрасте 5 месяцев и отсутствию дальнейшего увеличения ПВР с возрастом. Крысы, подвергнутые состриганию вибрисс в раннем онтогенезе, в возрасте, когда у крыс линии WAG/Rij, не подвергнутым каким-либо воздействиям в раннем онтогенезе, ПВР активно формируются, демонстрировали характеристики ПВР, соответствующие зрелой форме данной эпилептической активности. Вероятно, ограничение сенсорного притока от вибрисс вело к более раннему созреванию ПВР. Для проверки данного предположения необходима регистрация в период, когда ПВР только начинают формироваться (2-3 месяца). Воздействия в разные периоды раннего онтогенеза вне зависимости от типа различным образом влияли на характеристики ПВР в возрасте 5 месяцев. Воздействия с 9 по 16 постнатальный день вели к увеличению средней длительности ПВР. Таким образом, состригание вибрисс вне зависимости от периода увеличивало количество ПВР, а воздействия в период появления вибротактильных движений вне зависимости от типа воздействия увеличивали длительность разрядов, что свидетельствует о различных механизмах, определяющих данные характеристики ПВР.

Сравнение крыс с симптомным и бессимптомным фенотипами позволило нам обнаружить поведенческие особенности животных, имеющих выраженные ПВР. Крысы с симптомным фенотипом демонстрировали сниженную тревожность, что проявилось в большем времени, проведенном в «опасных» зонах методик «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Открытое поле» в возрасте, когда ПВР только начинают формироваться. Сообщается об отсутствие различий в тревожности между крысами линий WAG/Rij и Wistar в возрасте, когда ПВР выражены. Можно предположить, что тревожность увеличивается в ходе формирования ПВР у крыс линии WAG/Rij, достигая значений контрольной линии во взрослом возрасте. Следует отметить, что крысы линии Wistar также часто демонстрируют ПВР во взрослом возрасте. В нашем исследовании впервые была

реализована регистрации ЭЭГ у всех животных, прошедших поведенческое тестирование, что позволяет надёжно установить связь между эпилептическим и поведенческим фенотипами.

Нами было обнаружено, что крысы с симптомным фенотипом демонстрируют сниженную способность к обучению в методиках «ИнтеллиКейдж» и УРДИ, связанную с нарушениями внимания. Обнаруженные особенности обучения соответствует данным о когнитивных нарушениях у пациентов, имеющих абсансные приступы. Ранее было показано, что нарушения пространственной памяти, а также отсроченного воспроизведения реакции избегания возникают у животных в возрасте, когда ПВР достигают максимальной формы. Мы предполагаем, что нарушения внимания возникают уже на начальных стадиях формирования ПВР в результате первичного нарушения таламокортикального взаимодействия, в то время как нарушения памяти появляются при зрелых ПВР, когда патологическая активность может охватывать другие структуры мозга.

Нами были обнаружены корреляции между параметрами обучения и характеристиками ПВР, но только у животных с наиболее выраженными ПВР. Те же параметры, что оказались связанными с характеристиками ПВР, отличали симптомный фенотип от бессимптомного. Таким образом, можно предположить, что симптомные животные имеют первичное когнитивное нарушение, определяемое генетическими причинами, вызывающими ПВР, которое далее становится более выраженным вместе с усиливающимся нарушением таламокортикального взаимодействия, что подчёркивает необходимость контроля абсансных приступов для снижения выраженности сопутствующих когнитивных нарушений.

Помимо изменения динамики формирования ПВР у крыс линии WAG/Rij, ограничение сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе также влияло на поведение животных, причем нами были обнаружены как специфичные для каждого из сензитивных периодов эффекты, так и вызванные самой процедурой состригания без влияния периода.

Развитие крыс в раннем постнатальном онтогенезе характеризуется созреванием сенсорных каналов и формированием моторных актов, необходимых для обособления от матери, которые мы в нашем исследовании назвали опорные точки развития. Аналогичные процессы происходят и при развитии детей,

предоставляя информацию о соответствии ребенка возрастным нормам. Нами было обнаружено, что ограничение сенсорного притока от вибрисс в течение периода, когда вибротактильная система функционирует в пассивном режиме, ведет к задержке открытия глаз, но ускоряет его при воздействии в период появления активных движений вибрисс. Вибриссы являются ключевым источником афферентации при исследовании пространства. Сближение сроков созревания ходьбы и открытия глаз, а также появления между ними корреляции у животных, подвергнутых состриганию в период, когда сенсорный приток от вибрисс необходим для развития моторных актов, вероятно, отражает реорганизацию функциональной системы, обеспечивающей ходьбу, с большей опорой на зрительную информацию. Об изменении общей логики развития при состригании вибрисс с 9 по 16 день свидетельствует уменьшение количества корреляционных связей у данных животных между сроками формирования ОТР и массой тела. Если в других группах большая масса тела свидетельствовала о большей вероятности достижения той или иной ОТР, то в данной группе эта закономерность нарушалась.

Ограничение сенсорного притока от вибрисс оказало влияние на исследовательскую активность животных во взрослом возрасте. Известно, что данная процедура модифицирует стратегию исследования пространства. В методике «Приподнятый крестообразный лабиринт» крысы, подвергнутые состриганию вибрисс, больше перемещались в закрытых рукавах, что может быть вызвано сниженной чувствительностью вибротактильной системы, стимулирующей более активное исследовательское поведение. Также нами было обнаружено изменение стратегии исследовательского поведения при тестировании животных в методике «ИнтелиКейдж», в которой животные, подвергнутые состриганию вибрисс, совершали больше посещений оперантных углов без тычков носом на стадии освоения экспериментальной задачи. Поскольку для обнаружения зоны, регистрирующей тычки носом, необходимо активное ощупывание пространства внутри оперантных углов, можно также предположить, что этот результат вызван снижением чувствительности вибрисс.

Как при состригании вибрисс, так и при его имитации крысята извлекались из домашней клетки на непродолжительное время. Известно, что кратковременные отлучения от матери, получившие название «ранний хэндлинг»,

влиять на поведение животных во взрослом возрасте. Нами было обнаружено, что вне зависимости от типа воздействия, период, когда производились экспериментальные процедуры, влиял на соматическое развитие и поведение животных. Крысята, подвергнутые воздействиям в первый период, имели меньшую массу тела во время оценки сроков созревания ОТР. Несмотря на то, что самки демонстрируют увеличенную заботу после возвращения крысят в домашнюю клетку, известно, что самки линии WAG/Rij меньше ухаживают за потомством. Таким образом, после возвращения в домашнюю клетку некоторые крысята могли долгое время находиться вне гнезда и не получать питание, что могло оказать более выраженный негативный эффект в течение первых постнатальных дней, когда крысята больше всего нуждаются в уходе кормящей самки.

Нами было обнаружено, что воздействия во второй период привели к более позднему формированию ходьбы и вертикальной активности. Извлечение крысят из домашней клетки в период, когда данные моторные акты активно формируются, могло запустить стрессовый ответ организма, негативно отразившийся на их формировании. У животных, подвергнутым воздействиям во второй период, было обнаружено больше эпизодов аутогруминга в методиках ПКЛ и ОП, а также уменьшенное количество свешиваний из центральной зоны в методике ПКЛ, что может указывать на более высокий уровень тревожности у данных животных. Еще одним специфичным к периоду эффектом регулярного извлечения крысят из домашней клетки в раннем онтогенезе является более медленное усвоение реакции избегания у крысят, подвергнутым воздействиям в первый период, причем если эпилептический фенотип приводил к такому же эффекту за счет более медленного обнаружения связи между условными и безусловным стимулами, то извлечение из домашней клетки в первый период вело к более медленному появлению устойчивой реакции избегания.

## ВЫВОДЫ

1. Ограничение сенсорного притока у крыс линии WAG/Rij в раннем онтогенезе ведет к усилению пик-волновой активности в возрасте 5 месяцев и, вероятно, ведет к ее более раннему созреванию по сравнению с имитацией состригания.
2. Сензитивные периоды созревания вибротактильной системы не являются специфичными для развития пик-волновой активности.
3. Характеристики пик-волновой активности в период созревания чувствительны к различным параметрам воздействий в раннем онтогенезе. Ограничение сенсорного притока от вибрисс ведет к увеличению числа пик-волновых разрядов, а период воздействия вне зависимости от типа влияет на среднюю длительность разрядов.
4. Воздействия с первого по восьмой постнатальный день вне зависимости от типа ведут к сниженной массе тела по сравнению с воздействиями с девятого по шестнадцатый день.
5. Ограничение сенсорного притока от вибрисс с первого по восьмой и с девятого по шестнадцатый день разнонаправленно влияет на сроки открытия глаз. Состригание вибрисс во второй период ведет сближению сроков открытия глаз и формирования ходьбы и появлению корреляции между данными опорными точками развития.
6. Крысы линии WAG/Rij с симптомным фенотипом демонстрируют изменения исследовательского поведения, указывающие на сниженный уровень тревожности, в период, предшествующий развитию пик-волновых разрядов.
7. Ограничение сенсорного притока от вибрисс в раннем онтогенезе усиливает исследовательское поведение во взрослом возрасте, вероятно, из-за сниженной чувствительности вибрисс.
8. Крысы линии WAG/Rij с симптомным фенотипом демонстрируют сниженную способность к обучению, вызванную нарушением внимания.
9. Воздействия с первого по восьмой постнатальный день вне зависимости от типа ведут к более медленному формированию условной реакции избегания по сравнению с воздействиями с девятого по шестнадцатый день.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abbasova, K.R., Chepurnov, S.A., Chepurnova, N.E., van Luijtelaaar, G., 2010. The role of perioral afferentation in the occurrence of spike-wave discharges in the WAG/Rij model of absence epilepsy. *Brain Res.* 1366, 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.10.007>
2. Acosta, G.B., 2017. Early Life Experience, Maternal Separation, and Involvement of GABA and Glutamate Transporters, GABA And Glutamate - New Developments In Neurotransmission Research. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.70868>
3. Adibi, M., 2019. Whisker-Mediated Touch System in Rodents: From Neuron to Behavior. *Front. Syst. Neurosci.* 13. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2019.00040>
4. Ahn, S., Kim, D., 2017. Radial Distance Estimation with Tapered Whisker Sensors. *Sensors* 17. <https://doi.org/10.3390/s17071659>
5. Albrechet-Souza, L., Oliveira, A.R., De Luca, M.C.Z., Tomazini, F.M., Santos, N.R., Brandão, M.L., 2005. A comparative study with two types of elevated plus-maze (transparent vs. opaque walls) on the anxiolytic effects of midazolam, one-trial tolerance and fear-induced analgesia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 29, 571–579. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbbp.2005.01.010>
6. Ali, I., O'Brien, P., Kumar, G., Zheng, T., Jones, N.C., Pinault, D., French, C., Morris, M.J., Salzberg, M.R., O'Brien, T.J., 2013. Enduring Effects of Early Life Stress on Firing Patterns of Hippocampal and Thalamocortical Neurons in Rats: Implications for Limbic Epilepsy. *PLOS ONE* 8, e66962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066962>
7. Ali Rodriguez, R., Joya, C., Hines, R.M., 2018. Common Ribs of Inhibitory Synaptic Dysfunction in the Umbrella of Neurodevelopmental Disorders. *Front. Mol. Neurosci.* 11. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00132>
8. Anchan, D., Clark, S., Pollard, K., Vasudevan, N., 2014. GPR30 activation decreases anxiety in the open field test but not in the elevated plus maze test in female mice. *Brain Behav.* 4, 51–59. <https://doi.org/10.1002/brb3.197>
9. Arakawa, H., Erzurumlu, R.S., 2015. Role of whiskers in sensorimotor development of C57BL/6 mice. *Behav. Brain Res.* 287, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.03.040>
10. Ardiel, E.L., Rankin, C.H., 2010. The importance of touch in development. *Paediatr. Child Health* 15, 153–156.
11. Ari, C., D'Agostino, D.P., Diamond, D.M., Kindy, M., Park, C., Kovács, Z., 2019. Elevated Plus Maze Test Combined with Video Tracking Software to Investigate the Anxiolytic Effect of Exogenous Ketogenic Supplements. *JoVE J. Vis. Exp.* e58396. <https://doi.org/10.3791/58396>
12. Arkley, K., Grant, R.A., Mitchinson, B., Prescott, T.J., 2014. Strategy change in vibrissal active sensing during rat locomotion. *Curr. Biol. CB* 24, 1507–1512. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.036>
13. Avoli, M., 2012. A brief history on the oscillating roles of thalamus and cortex in absence seizures. *Epilepsia* 53, 779–789. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03421.x>
14. Aygun, H., 2020. Trazodone increases seizures in a genetic WAG/Rij rat model of absence epilepsy while decreasing them in penicillin-evoked focal seizure

- model. *Epilepsy Behav.* 103, 106847.  
<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.106847>
15. Bancaud, J., Talairach, J., Morel, P., Bresson, M., Bonis, A., Geier, S., Hemon, E., Buser, P., 1974. "Generalized" epileptic seizures elicited by electrical stimulation of the frontal lobe in man. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 37, 275–282. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(74\)90031-5](https://doi.org/10.1016/0013-4694(74)90031-5)
  16. Bednarek, N., 2006. Developmental delay and epilepsy 8, 5.
  17. Belford, G.R., Killackey, H.P., 1980. The sensitive period in the development of the trigeminal system of the neonatal rat. *J. Comp. Neurol.* 193, 335–350.  
<https://doi.org/10.1002/cne.901930203>
  18. Beyer, B., Deleuze, C., Letts, V.A., Mahaffey, C.L., Boumil, R.M., Lew, T.A., Huguenard, J.R., Frankel, W.N., 2008. Absence seizures in C3H/HeJ and knockout mice caused by mutation of the AMPA receptor subunit Gria4. *Hum. Mol. Genet.* 17, 1738–1749. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn064>
  19. Bhat, S., Ming, X., Dekermenjian, R., Chokroverty, S., 2014. Continuous spike and wave in slow-wave sleep in a patient with Rett syndrome and in a patient with Lhermitte-Duclos syndrome and neurofibromatosis 1. *J. Child Neurol.* 29, NP176-180. <https://doi.org/10.1177/0883073813509888>
  20. Blumenfeld, H., 2005. Cellular and network mechanisms of spike-wave seizures. *Epilepsia* 46 Suppl 9, 21–33. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00311.x>
  21. Bolles, R.C., Woods, P.J., 1964. The ontogeny of behaviour in the albino rat. *Anim. Behav.* 12, 427–441. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(64\)90062-4](https://doi.org/10.1016/0003-3472(64)90062-4)
  22. Boylan, L.S., Flint, L.A., Labovitz, D.L., Jackson, S.C., Starner, K., Devinsky, O., 2004. Depression but not seizure frequency predicts quality of life in treatment-resistant epilepsy. *Neurology* 62, 258–261.  
<https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000103282.62353.85>
  23. Breton, J.-D., Stuart, G.J., 2009. Loss of sensory input increases the intrinsic excitability of layer 5 pyramidal neurons in rat barrel cortex. *J. Physiol.* 587, 5107–5119. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.180943>
  24. Brigo, F., Igwe, S.C., 2017. Ethosuximide, sodium valproate or lamotrigine for absence seizures in children and adolescents. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2, CD003032. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003032.pub3>
  25. Brigo, F., Tavernelli, V., Nardone, R., Trinka, E., 2018. De novo late-onset absence status epilepticus or late-onset idiopathic generalized epilepsy? A case report and systematic review of the literature. *Epileptic Disord. Int. Epilepsy J. Videotape* 20, 123–131. <https://doi.org/10.1684/epd.2018.0961>
  26. Broos, N., Schmaal, L., Wiskerke, J., Kosteljik, L., Lam, T., Stoop, N., Weierink, L., Ham, J., Geus, E.J.C. de, Schoffemeer, A.N.M., Brink, W. van den, Veltman, D.J., Vries, T.J. de, Pattij, T., Goudriaan, A.E., 2012. The Relationship between Impulsive Choice and Impulsive Action: A Cross-Species Translational Study. *PLOS ONE* 7, e36781. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036781>
  27. Brys, I., Pupe, S., Bizarro, L., 2014. Attention, locomotor activity and developmental milestones in rats prenatally exposed to ethanol. *Int. J. Dev. Neurosci. Off. J. Int. Soc. Dev. Neurosci.* 38, 161–168.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2014.08.007>
  28. Buzsáki, G., 1991. The thalamic clock: emergent network properties. *Neuroscience* 41, 351–364. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90332-i](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90332-i)
  29. Caldji, C., Francis, D., Sharma, S., Plotsky, P.M., Meaney, M.J., 2000. The effects of early rearing environment on the development of GABAA and central

- benzodiazepine receptor levels and novelty-induced fearfulness in the rat. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* 22, 219–229. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(99\)00110-4](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00110-4)
30. Caplan, R., Siddarth, P., Gurbani, S., Hanson, R., Sankar, R., Shields, W.D., 2005. Depression and anxiety disorders in pediatric epilepsy. *Epilepsia* 46, 720–730. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.43604.x>
31. Caplan, R., Siddarth, P., Stahl, L., Lanphier, E., Vona, P., Gurbani, S., Koh, S., Sankar, R., Shields, W.D., 2008. Childhood absence epilepsy: Behavioral, cognitive, and linguistic comorbidities. *Epilepsia* 49, 1838–1846. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01680.x>
32. Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., Renzi, P., 2002. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behav. Brain Res.* 134, 49–57. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00452-1](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00452-1)
33. Carvell, G.E., Simons, D.J., 1996. Abnormal tactile experience early in life disrupts active touch. *J. Neurosci.* 16, 2750–2757. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-08-02750.1996>
34. Cerminara, C., D'Agati, E., Casarelli, L., Kaunzinger, I., Lange, K.W., Pitzianti, M., Parisi, P., Tucha, O., Curatolo, P., 2013. Attention impairment in childhood absence epilepsy: an impulsivity problem? *Epilepsy Behav.* EB 27, 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2013.02.022>
35. Chen, Y., Parker, W.D., Wang, K., 2014. The Role of T-Type Calcium Channel Genes in Absence Seizures. *Front. Neurol.* 5, 45. <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00045>
36. Cheng, D., Yan, X., Gao, Z., Xu, K., Zhou, X., Chen, Q., 2017. Neurocognitive Profiles in Childhood Absence Epilepsy. *J. Child Neurol.* 32, 46–52. <https://doi.org/10.1177/0883073816668465>
37. Choi, J.-S., Cain, C.K., LeDoux, J.E., 2010. The role of amygdala nuclei in the expression of auditory signaled two-way active avoidance in rats. *Learn. Mem.* 17, 139–147. <https://doi.org/10.1101/lm.1676610>
38. Chu, Y.-F., Yen, C.-T., Lee, L.-J., 2013. Neonatal whisker clipping alters behavior, neuronal structure and neural activity in adult rats. *Behav. Brain Res.* 238, 124–133. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.10.022>
39. Cisbani, G., Poggini, S., Laflamme, N., Pons, V., Tremblay, M.-È., Branchi, I., Rivest, S., 2021. The Intellicage system provides a reproducible and standardized method to assess behavioral changes in cuprizone-induced demyelination mouse model. *Behav. Brain Res.* 400, 113039. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113039>
40. Citraro, R., Chimirri, S., Aiello, R., Gallelli, L., Trimboli, F., Britti, D., De Sarro, G., Russo, E., 2014. Protective effects of some statins on epileptogenesis and depressive-like behavior in WAG/Rij rats, a genetic animal model of absence epilepsy. *Epilepsia* 55, 1284–1291. <https://doi.org/10.1111/epi.12686>
41. Clem, R.L., Celikel, T., Barth, A.L., 2008. Ongoing in vivo experience triggers synaptic metaplasticity in the neocortex. *Science* 319, 101–104. <https://doi.org/10.1126/science.1143808>
42. Coenen, A.M., Drinkenburg, W.H., Inoue, M., van Luijckelaar, E.L., 1992. Genetic models of absence epilepsy, with emphasis on the WAG/Rij strain of rats. *Epilepsy Res.* 12, 75–86. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(92\)90029-s](https://doi.org/10.1016/0920-1211(92)90029-s)

43. Coenen, A.M., Van Luijtelaar, E.L., 1987. The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Res.* 1, 297–301. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(87\)90005-2](https://doi.org/10.1016/0920-1211(87)90005-2)
44. Coenen, A.M.L., van Luijtelaar, E.L.J.M., 2003. Genetic Animal Models for Absence Epilepsy: A Review of the WAG/Rij Strain of Rats. *Behav. Genet.* 33, 635–655. <https://doi.org/10.1023/A:1026179013847>
45. Coussons-Read, M.E., Crnic, L.S., 1996. Behavioral assessment of the Ts65Dn mouse, a model for down syndrome: Altered behavior in the elevated plus maze and open field. *Behav. Genet.* 26, 7–13. <https://doi.org/10.1007/BF02361154>
46. Crunelli, V., Leresche, N., 2002. Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nat. Rev. Neurosci.* 3, 371–382. <https://doi.org/10.1038/nrn811>
47. Crunelli, V., Lőrincz, M.L., McCafferty, C., Lambert, R.C., Leresche, N., Di Giovanni, G., David, F., 2020. Clinical and experimental insight into pathophysiology, comorbidity and therapy of absence seizures. *Brain* 143, 2341–2368. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa072>
48. Curley, J.P., Champagne, F.A., 2016. Influence of Maternal Care on the Developing Brain: Mechanisms, Temporal Dynamics and Sensitive Periods. *Front. Neuroendocrinol.* 40, 52–66. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2015.11.001>
49. Da Cunha, C., Wietzikoski, S., Wietzikoski, E.C., Miyoshi, E., Ferro, M.M., Anselmo-Franci, J.A., Canteras, N.S., 2003. Evidence for the substantia nigra pars compacta as an essential component of a memory system independent of the hippocampal memory system. *Neurobiol. Learn. Mem.* 79, 236–242. [https://doi.org/10.1016/s1074-7427\(03\)00008-x](https://doi.org/10.1016/s1074-7427(03)00008-x)
50. D'Agati, E., Cerminara, C., Casarelli, L., Pitzianti, M., Curatolo, P., 2012. Attention and executive functions profile in childhood absence epilepsy. *Brain Dev.* 34, 812–817. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2012.03.001>
51. Daly, D.D., 1968. Reflections on the Concept of Petit Mai. *Epilepsia* 9, 175–178. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1968.tb04618.x>
52. D'Amour-Horvat, V., Leyton, M., 2014. Impulsive actions and choices in laboratory animals and humans: effects of high vs. low dopamine states produced by systemic treatments given to neurologically intact subjects. *Front. Behav. Neurosci.* 8. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00432>
53. Dan, B., 2009. Angelman syndrome: Current understanding and research prospects. *Epilepsia* 50, 2331–2339. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02311.x>
54. Daniels, W.M.U., Pietersen, C.Y., Carstens, M.E., Stein, D.J., 2004. Maternal separation in rats leads to anxiety-like behavior and a blunted ACTH response and altered neurotransmitter levels in response to a subsequent stressor. *Metab. Brain Dis.* 19, 3–14. <https://doi.org/10.1023/b:mebr.0000027412.19664.b3>
55. Deschênes, M., Moore, J., Kleinfeld, D., 2012. Sniffing and whisking in rodents. *Curr. Opin. Neurobiol.* 22, 243–250. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.11.013>
56. Destexhe, A., 1998. Spike-and-wave oscillations based on the properties of GABAB receptors. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 18, 9099–9111.
57. Deutsch, D., Schneidman, E., Ahissar, E., 2019. Generalization of Object Localization From Whiskers to Other Body Parts in Freely Moving Rats. *Front. Integr. Neurosci.* 13. <https://doi.org/10.3389/fnint.2019.00064>
58. Dezsi, G., Ozturk, E., Salzberg, M.R., Morris, M., O'Brien, T.J., Jones, N.C., 2016. Environmental enrichment imparts disease-modifying and

- transgenerational effects on genetically-determined epilepsy and anxiety. *Neurobiol. Dis.* 93, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.05.005>
59. Dezsi, G., Ozturk, E., Stanic, D., Powell, K.L., Blumenfeld, H., O'Brien, T.J., Jones, N.C., 2013. Ethosuximide reduces epileptogenesis and behavioral comorbidity in the GAERS model of genetic generalized epilepsy. *Epilepsia* 54, 635–643. <https://doi.org/10.1111/epi.12118>
  60. Diamond, M.C., Rosenzweig, M.R., Bennett, E.L., Lindner, B., Lyon, L., 1972. Effects of environmental enrichment and impoverishment on rat cerebral cortex. *J. Neurobiol.* 3, 47–64. <https://doi.org/10.1002/neu.480030105>
  61. Diamond, M.E., Arabzadeh, E., 2013. Whisker sensory system - from receptor to decision. *Prog. Neurobiol.* 103, 28–40. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.05.013>
  62. Dobriakova, I., Tanaeva, K., Dubynin, V., Sarkisova, K., 2015. [Comparative analysis of the maternal motivation expression in WAG/Rij and Wistar rats in the place preference and open field tests]. *Zhurnal Vysheĭ Nervn. Deiatelnosti Im. P Pavlova* 64, 448–59.
  63. Dobryakova, Y.V., A Dubynin, V., van Luijtelaar, G., 2008. Maternal behavior in a genetic animal model of absence epilepsy. *Acta Neurobiol. Exp. (Warsz.)* 68, 502–508.
  64. Dosman, C.F., Andrews, D., Goulden, K.J., 2012. Evidence-based milestone ages as a framework for developmental surveillance. *Paediatr. Child Health* 17, 561–568.
  65. Drinkenburg, W.H.I.M., Coenen, A.M.L., Vossen, J.M.H., Van Luijtelaar, E.L.J.M., 1991. Spike-wave discharges and sleep-wake states in rats with absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 9, 218–224. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(91\)90055-K](https://doi.org/10.1016/0920-1211(91)90055-K)
  66. Durham, D., Woolsey, T.A., 1984. Effects of neonatal whisker lesions on mouse central trigeminal pathways. *J. Comp. Neurol.* 223, 424–447. <https://doi.org/10.1002/cne.902230308>
  67. Endo, T., Maekawa, F., Vöikar, V., Haijima, A., Uemura, Y., Zhang, Y., Miyazaki, W., Suyama, S., Shimazaki, K., Wolfer, D.P., Yada, T., Tohyama, C., Lipp, H.-P., Kakeyama, M., 2011. Automated test of behavioral flexibility in mice using a behavioral sequencing task in IntelliCage. *Behav. Brain Res.* 221, 172–181. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.02.037>
  68. Erzurumlu, R.S., 2010. Critical period for the whisker-barrel system. *Exp. Neurol.* 222, 10–12. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.12.025>
  69. Erzurumlu, R.S., Gaspar, P., 2012. Development and Critical Period Plasticity of the Barrel Cortex. *Eur. J. Neurosci.* 35, 1540–1553. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2012.08075.x>
  70. Erzurumlu, R.S., Killackey, H.P., 1982. Critical and sensitive periods in neurobiology. *Curr. Top. Dev. Biol.* 17, 207–240. [https://doi.org/10.1016/s0070-2153\(08\)60522-0](https://doi.org/10.1016/s0070-2153(08)60522-0)
  71. Fattorusso, A., Matricardi, S., Mencaroni, E., Dell'Isola, G.B., Di Cara, G., Striano, P., Verrotti, A., 2021. The Pharmacoresistant Epilepsy: An Overview on Existant and New Emerging Therapies. *Front. Neurol.* 0. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.674483>
  72. Fedosova, E., Shatskova, A., Sarkisova, K., 2021. Ethosuximide Increases Exploratory Motivation and Improves Episodic Memory in the Novel Object

- Recognition Test in WAG/Rij Rats with Genetic Absence Epilepsy. *Neurosci. Behav. Physiol.* 51, 501–512. <https://doi.org/10.1007/s11055-021-01097-z>
73. Flensburg-Madsen, T., Mortensen, E.L., 2017. Predictors of motor developmental milestones during the first year of life. *Eur. J. Pediatr.* 176, 109–119. <https://doi.org/10.1007/s00431-016-2817-4>
74. Gabova, A.V., Sarkisova, K.Yu., Fedosova, E.A., Shatskova, A.B., Morozov, A.A., 2020. Developmental Changes in Peak-Wave Discharges in WAG/Rij Rats with Genetic Absence Epilepsy. *Neurosci. Behav. Physiol.* 50, 245–252. <https://doi.org/10.1007/s11055-019-00893-y>
75. Gainey, M.A., Wolfe, R., Pourzia, O., Feldman, D.E., 2016. Whisker Deprivation Drives Two Phases of Inhibitory Synapse Weakening in Layer 4 of Rat Somatosensory Cortex. *PLOS ONE* 11, e0148227. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148227>
76. Gauguier, D., Luijtelaar, G. van, Bihoreau, M.T., Wilder, S.P., Godfrey, R.F., Vossen, J., Coenen, A., Cox, R.D., 2004. Chromosomal Mapping of Genetic Loci Controlling Absence Epilepsy Phenotypes in the WAG/Rij Rat. *Epilepsia* 45, 908–915. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.13104.x>
77. Geisler, H.C., Westerga, J., Gramsbergen, A., 1993. Development of posture in the rat. *Acta Neurobiol. Exp. (Warsz.)* 53, 517–523.
78. Gilliam, F., Hecimovic, H., Sheline, Y., 2003. Psychiatric comorbidity, health, and function in epilepsy. *Epilepsy Behav.* EB 4 Suppl 4, S26-30. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2003.10.003>
79. Glass, A.R., Herbert, D.C., Anderson, J., 1986. Fertility Onset, Spermatogenesis, and Pubertal Development in Male Rats: Effect of Graded Underfeeding. *Pediatr. Res.* 20, 1161–1167. <https://doi.org/10.1203/00006450-198611000-00024>
80. Gloor, P., 1969. Epileptogenic action of penicillin. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 166, 350–360. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1969.tb46405.x>
81. Gloor, P., 1968. Generalized cortico-reticular epilepsies. Some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia* 9, 249–263. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1968.tb04624.x>
82. Grant, R.A., Mitchinson, B., Prescott, T.J., 2012. The development of whisker control in rats in relation to locomotion. *Dev. Psychobiol.* 54, 151–168. <https://doi.org/10.1002/dev.20591>
83. Grissom, M., 2013. Disorders of childhood growth and development: screening and evaluation of the child who misses developmental milestones. *FP Essent.* 410, 32–44; quiz 45–50.
84. Grosso, S., Galimberti, D., Vezzosi, P., Farnetani, M., Di Bartolo, R.M., Bazzotti, S., Morgese, G., Balestri, P., 2005. Childhood absence epilepsy: evolution and prognostic factors. *Epilepsia* 46, 1796–1801. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00277.x>
85. Guijarro, J.Z., Tiba, P.A., Ferreira, T.L., Kawakami, S.E., Oliveira, M.G.M., Suchecki, D., 2007. Effects of brief and long maternal separations on the HPA axis activity and the performance of rats on context and tone fear conditioning. *Behav. Brain Res.* 184, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.06.020>
86. Gupta, A., 2016. Evolving Tale of Childhood Absence Epilepsy: Finally Better News? *Epilepsy Curr.* 16, 145–146. <https://doi.org/10.5698/1535-7511-16.3.145>
87. Han, H.A., Cortez, M.A., Snead, O.C., 2012. GABAB Receptor and Absence Epilepsy, in: Noebels, J.L., Avoli, M., Rogawski, M.A., Olsen, R.W., Delgado-

- Escueta, A.V. (Eds.), *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*. National Center for Biotechnology Information (US), Bethesda (MD).
88. Hanrahan, B., Carson, R.P., 2021. Ethosuximide, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
89. Heyser, C.J., 2004. Assessment of developmental milestones in rodents. *Curr. Protoc. Neurosci.* Chapter 8, Unit 8.18.  
<https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0818s25>
90. Hock, F.J., Scheich, H., 1986. Functional activity in the brain of socially deprived rats produced by an active avoidance test after razobazam (Hoe 175) treatment: a 2-deoxyglucose study. *Behav. Neural Biol.* 46, 398–409.  
[https://doi.org/10.1016/s0163-1047\(86\)90401-2](https://doi.org/10.1016/s0163-1047(86)90401-2)
91. Hogg, S., 1996. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 54, 21–30.  
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)02126-4](https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)02126-4)
92. Holmes, M.C., Abrahamsen, C.T., French, K.L., Paterson, J.M., Mullins, J.J., Seckl, J.R., 2006. The Mother or the Fetus?  $11\beta$ -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 2 Null Mice Provide Evidence for Direct Fetal Programming of Behavior by Endogenous Glucocorticoids. *J. Neurosci.* 26, 3840–3844.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4464-05.2006>
93. Hooks, B.M., Chen, C., 2007. Critical Periods in the Visual System: Changing Views for a Model of Experience-Dependent Plasticity. *Neuron* 56, 312–326.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.10.003>
94. Hosford, D.A., Wang, Y., 1997. Utility of the lethargic (lh/lh) mouse model of absence seizures in predicting the effects of lamotrigine, vigabatrin, tiagabine, gabapentin, and topiramate against human absence seizures. *Epilepsia* 38, 408–414. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1997.tb01729.x>
95. Hubel, D.H., Wiesel, T.N., 1970. The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens. *J. Physiol.* 206, 419–436.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1970.sp009022>
96. Jarre, G., Guillemain, I., Deransart, C., Depaulis, A., 2017. Chapter 32 - Genetic Models of Absence Epilepsy in Rats and Mice, in: Pitkänen, A., Buckmaster, P.S., Galanopoulou, A.S., Moshé, S.L. (Eds.), *Models of Seizures and Epilepsy (Second Edition)*. Academic Press, pp. 455–471. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804066-9.00033-X>
97. Jasper, H.H., Droogleever-Fortuyn, J., 1948. Thalamo-cortical systems and the electrical activity of the brain. *Fed. Proc.* 7, 61.
98. Jentsch, J.D., 2008. Impulsivity in Animal Models for Drug Abuse Disorders. *Drug Discov. Today Dis. Models* 5, 247–250.  
<https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2009.03.011>
99. Johansen, K., Persson, K., Sonnander, K., Magnusson, M., Sarkadi, A., Lucas, S., 2017. Clinical utility of the Structured Observation of Motor Performance in Infants within the child health services. *PloS One* 12, e0181398.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181398>
100. Jones, J.E., Watson, R., Sheth, R., Caplan, R., Koehn, M., Seidenberg, M., Hermann, B., 2007. Psychiatric comorbidity in children with new onset epilepsy. *Dev. Med. Child Neurol.* 49, 493–497. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2007.00493.x>
101. Jones, N.C., Salzberg, M.R., Kumar, G., Couper, A., Morris, M.J., O'Brien, T.J., 2008. Elevated anxiety and depressive-like behavior in a rat model of

- genetic generalized epilepsy suggesting common causation. *Exp. Neurol.* 209, 254–260. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.09.026>
102. Kalueff, A.V., Stewart, A.M., Song, C., Berridge, K.C., Graybiel, A.M., Fentress, J.C., 2016. Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nat. Rev. Neurosci.* 17, 45–59. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.8>
103. Kalueff, A.V., Tuohimaa, P., 2005. The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. *J. Neurosci. Methods* 143, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.10.001>
104. Kanyshkova, T., Ehling, P., Cerina, M., Meuth, P., Zobeiri, M., Meuth, S.G., Pape, H.-C., Budde, T., 2014. Regionally specific expression of high-voltage-activated calcium channels in thalamic nuclei of epileptic and non-epileptic rats. *Mol. Cell. Neurosci.* 61, 110–122. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2014.06.005>
105. Kanyshkova, T., Meuth, P., Bista, P., Liu, Z., Ehling, P., Caputi, L., Doengi, M., Chetkovich, D.M., Pape, H.-C., Budde, T., 2012. Differential regulation of HCN channel isoform expression in thalamic neurons of epileptic and non-epileptic rat strains. *Neurobiol. Dis.* 45, 450–461. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.08.032>
106. Karson, A., Utkan, T., Balci, F., Arıcıoğlu, F., Ateş, N., 2012. Age-dependent decline in learning and memory performances of WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Behav. Brain Funct. BBF* 8, 51. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-8-51>
107. Keller, A., Carlson, G.C., 1999. Neonatal whisker clipping alters intracortical, but not thalamocortical projections, in rat barrel cortex. *J. Comp. Neurol.* 412, 83–94. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19990913\)412:1<83::aid-cne6>3.0.co;2-7](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19990913)412:1<83::aid-cne6>3.0.co;2-7)
108. Kessler, S.K., McGinnis, E., 2019. A Practical Guide to Treatment of Childhood Absence Epilepsy. *Paediatr. Drugs* 21, 15–24. <https://doi.org/10.1007/s40272-019-00325-x>
109. Kim, E.-H., Ko, T.-S., 2016. Cognitive impairment in childhood onset epilepsy: up-to-date information about its causes. *Korean J. Pediatr.* 59, 155–164. <https://doi.org/10.3345/kjp.2016.59.4.155>
110. Kiryk, A., Janusz, A., Zglinicki, B., Turkes, E., Knapska, E., Konopka, W., Lipp, H.-P., Kaczmarek, L., 2020. IntelliCage as a tool for measuring mouse behavior - 20 years perspective. *Behav. Brain Res.* 388, 112620. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112620>
111. Knake, S., Hamer, H.M., Schomburg, U., Oertel, W.H., Rosenow, F., 1999. Tiagabine-induced absence status in idiopathic generalized epilepsy. *Seizure - Eur. J. Epilepsy* 8, 314–317. <https://doi.org/10.1053/seiz.1999.0303>
112. Knudsen, E.I., 2004. Sensitive Periods in the Development of the Brain and Behavior. *J. Cogn. Neurosci.* 16, 1412–1425. <https://doi.org/10.1162/0898929042304796>
113. Kosten, T.A., Kim, J.J., Lee, H.J., 2012. Early Life Manipulations Alter Learning and Memory in Rats. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 36, 1985–2006. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.07.003>



114. Kraeuter, A.-K., Guest, P.C., Sarnyai, Z., 2019. The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods Mol. Biol.* Clifton NJ 1916, 99–103. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_9)
115. Kroeker, R., Sackett, G., Reynolds, J., 2007. Statistical methods for describing developmental milestones with censored data: effects of birth weight status and sex in neonatal pigtailed macaques. *Am. J. Primatol.* 69, 1313–1324. <https://doi.org/10.1002/ajp.20440>
116. Kumar, G., Jones, N.C., Morris, M.J., Rees, S., O'Brien, T.J., Salzberg, M.R., 2011. Early Life Stress Enhancement of Limbic Epileptogenesis in Adult Rats: Mechanistic Insights. *PLOS ONE* 6, e24033. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024033>
117. Kupferberg, H., 2001. Animal Models Used in the Screening of Antiepileptic Drugs. *Epilepsia* 42, 7–12. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2001.00002.x>
118. Kurzina, N., Aristova, I., Volnova, A., 2017. Effects of early sensory deprivation on spatial learning in adult rats. *Biol. Commun.* 62, 256-260-256–260. <https://doi.org/10.21638/11701/spbu03.2017.404>
119. LaBar, T., Adami, C., 2017. Evolution of drift robustness in small populations. *Nat. Commun.* 8. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01003-7>
120. Lakaye, B., Thomas, E., Minet, A., Grisar, T., 2002. The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg (GAERS), a rat model of absence epilepsy: computer modeling and differential gene expression. *Epilepsia* 43 Suppl 5, 123–129. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.43.s.5.17.x>
121. Lalonde, R., Strazielle, C., 2010. Relations between open-field, elevated plus-maze, and emergence tests in C57BL/6J and BALB/c mice injected with GABA- and 5HT-anxiolytic agents. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 24, 365–376. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2009.00772.x>
122. Landers, M., Philip Zeigler, H., 2006. Development of rodent whisking: trigeminal input and central pattern generation. *Somatosens. Mot. Res.* 23, 1–10. <https://doi.org/10.1080/08990220600700768>
123. Larsson, F., Winblad, B., Mohammed, A.H., 2002. Psychological stress and environmental adaptation in enriched vs. impoverished housed rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 73, 193–207. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(02\)00782-7](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(02)00782-7)
124. Lavi-Avnon, Y., Yadid, G., Overstreet, D.H., Weller, A., 2005. Abnormal patterns of maternal behavior in a genetic animal model of depression. *Physiol. Behav.* 84, 607–615. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.02.006>
125. Lee, L.-J., Chen, W.-J., Chuang, Y.-W., Wang, Y.-C., 2009. Neonatal whisker trimming causes long-lasting changes in structure and function of the somatosensory system. *Exp. Neurol.* 219, 524–532. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.07.012>
126. Leo, A., Citraro, R., Tallarico, M., Iannone, M., Fedosova, E., Nesci, V., De Sarro, G., Sarkisova, K., Russo, E., 2019. Cognitive impairment in the WAG/Rij rat absence model is secondary to absence seizures and depressive-like behavior. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 94, 109652. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.109652>
127. Levine, S., Chevalier, J.A., Korchin, S.J., 1956. The effects of early shock and handling on later avoidance learning. *J. Pers.* 24, 475–493. <https://doi.org/10.1111/j.1467-6494.1956.tb01283.x>

128. Levine, S., de Kloet, E., Dent, G., Schmidt, M.S., 2010. Stress Hyporesponsive Period. *Encycl. Stress* 606–611. <https://doi.org/10.1016/B978-012373947-6.00361-5>
129. Levine, S., Lewis, G.W., 1959. Critical period for effects of infantile experience on maturation of stress response. *Science* 129, 42–43. <https://doi.org/10.1126/science.129.3340.42>
130. Lewis, B.J., 1978. Sensory deprivation in young children. *Child Care Health Dev.* 4, 229–238. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2214.1978.tb00081.x>
131. Lister, R.G., 1987. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl.)* 92, 180–185. <https://doi.org/10.1007/BF00177912>
132. Litvin, Y., Pentkowski, N.S., Pobbe, R.L., Blanchard, D.C., Blanchard, R.J., 2008. Chapter 2.5 Unconditioned models of fear and anxiety, in: Blanchard, R.J., Blanchard, D.C., Griebel, G., Nutt, D. (Eds.), *Handbook of Behavioral Neuroscience, Handbook of Anxiety and Fear*. Elsevier, pp. 81–99. [https://doi.org/10.1016/S1569-7339\(07\)00006-9](https://doi.org/10.1016/S1569-7339(07)00006-9)
133. Liu, Z., Vergnes, M., Depaulis, A., Marescaux, C., 1992. Involvement of intrathalamic GABA<sub>B</sub> neurotransmission in the control of absence seizures in the rat. *Neuroscience* 48, 87–93. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90340-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90340-8)
134. Loos, H.V. der, Woolsey, T.A., 1973. Somatosensory Cortex: Structural Alterations following Early Injury to Sense Organs. *Science* 179, 395–398. <https://doi.org/10.1126/science.179.4071.395>
135. Lopes, A.F., Monteiro, J.P., Fonseca, M.J., Robalo, C., Simões, M.R., 2014. Memory Functioning in Children with Epilepsy: Frontal Lobe Epilepsy, Childhood Absence Epilepsy, and Benign Epilepsy with Centrottemporal Spikes. *Behav. Neurol.* 2014, 218637. <https://doi.org/10.1155/2014/218637>
136. López-Madrona, V.J., Pérez-Montoyo, E., Álvarez-Salvado, E., Moratal, D., Herreras, O., Pereda, E., Mirasso, C.R., Canals, S., 2020. Different theta frameworks coexist in the rat hippocampus and are coordinated during memory-guided and novelty tasks. *eLife* 9. <https://doi.org/10.7554/eLife.57313>
137. Luijtelaar, G. van, Onat, F.Y., Gallagher, M.J., 2014. Animal models of absence epilepsies: What do they model and do sex and sex hormones matter? *Neurobiol. Dis.* 72PB, 167. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.08.014>
138. Lüttjohann, A., van Luijtelaar, G., 2015. Dynamics of networks during absence seizure's on- and offset in rodents and man. *Front. Physiol.* 6. <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00016>
139. Luvisetto, S., Basso, E., Petronilli, V., Bernardi, P., Forte, M., 2008. Enhancement of anxiety, facilitation of avoidance behavior, and occurrence of adult-onset obesity in mice lacking mitochondrial cyclophilin D. *Neuroscience* 155, 585–596. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.06.030>
140. Macdonald, R.L., Gallagher, M.J., 2015. Chapter 84 - The Genetic Epilepsies, in: Rosenberg, R.N., Pascual, J.M. (Eds.), *Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease (Fifth Edition)*. Academic Press, Boston, pp. 973–998. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410529-4.00084-X>
141. Madruga, C., Xavier, L.L., Achaval, M., Sanvitto, G.L., Lucion, A.B., 2006. Early handling, but not maternal separation, decreases emotional responses in two paradigms of fear without changes in mesolimbic dopamine. *Behav. Brain Res.* 166, 241–246. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.08.005>

142. Malyshev, A.V., Zakharov, A.M., Sarkisova, K.Yu., Dubynin, V.A., 2014. Reversal Learning in WAG/Rij Rats with Depression-Like Behavior. *Neurosci. Behav. Physiol.* 44, 36–43. <https://doi.org/10.1007/s11055-013-9869-y>
143. Marescaux, C., Micheletti, G., Vergnes, M., Depaulis, A., Rumbach, L., Warter, J.M., 1984. A model of chronic spontaneous petit mal-like seizures in the rat: comparison with pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsia* 25, 326–331. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1984.tb04196.x>
144. Marescaux, C., Vergnes, M., Depaulis, A., 1992. Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg--a review. *J. Neural Transm. Suppl.* 35, 37–69. [https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9206-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9206-1_4)
145. Marks, W.N., Zabder, N.K., Greba, Q., Cain, S.M., Snutch, T.P., Howland, J.G., 2019. The T-type calcium channel blocker Z944 reduces conditioned fear in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg and the non-epileptic control strain. *Eur. J. Neurosci.* 50, 3046–3059. <https://doi.org/10.1111/ejn.14406>
146. Marques-Carneiro, J.E., Faure, J.-B., Barbelivien, A., Nehlig, A., Cassel, J.-C., 2016. Subtle alterations in memory systems and normal visual attention in the GAERS model of absence epilepsy. *Neuroscience* 316, 389–401. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.048>
147. Martis, L.-S., Brisson, C., Holmes, M.C., Wiborg, O., 2018. Resilient and depressive-like rats show distinct cognitive impairments in the touchscreen paired-associates learning (PAL) task. *Neurobiol. Learn. Mem.* 155, 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.08.014>
148. Masuda, A., Kobayashi, Y., Itoharu, S., 2018. Automated, Long-term Behavioral Assay for Cognitive Functions in Multiple Genetic Models of Alzheimer's Disease, Using IntelliCage. *J. Vis. Exp. JoVE.* <https://doi.org/10.3791/58009>
149. Masur, D., Shinnar, S., Cnaan, A., Shinnar, R.C., Clark, P., Wang, J., Weiss, E.F., Hirtz, D.G., Glauser, T.A., Childhood Absence Epilepsy Study Group, 2013. Pretreatment cognitive deficits and treatment effects on attention in childhood absence epilepsy. *Neurology* 81, 1572–1580. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182a9f3ca>
150. Matricardi, S., Verrotti, A., Chiarelli, F., Cerminara, C., Curatolo, P., 2014. Current advances in childhood absence epilepsy. *Pediatr. Neurol.* 50, 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2013.10.009>
151. McCandlish, C.A., Li, C.X., Waters, R.S., 1993. Early development of the SI cortical barrel field representation in neonatal rats follows a lateral-to-medial gradient: an electrophysiological study. *Exp. Brain Res.* 92, 369–374. <https://doi.org/10.1007/BF00229024>
152. McCormick, D.A., Contreras, D., 2001. On The Cellular and Network Bases of Epileptic Seizures. *Annu. Rev. Physiol.* 63, 815–846. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.63.1.815>
153. McDonald, J.L., Milne, S., Knight, J., Webster, V., 2013. Developmental and behavioural characteristics of children enrolled in a child protection pre-school. *J. Paediatr. Child Health* 49, E142-146. <https://doi.org/10.1111/jpc.12029>
154. McLaughlin, K.A., Sheridan, M.A., Lambert, H.K., 2014. Childhood Adversity and Neural Development: Deprivation and Threat as Distinct Dimensions of Early Experience. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 47, 578–591. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.10.012>

155. Meaney, M.J., Aitken, D.H., 1985. The effects of early postnatal handling on hippocampal glucocorticoid receptor concentrations: temporal parameters. *Brain Res.* 354, 301–304. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(85\)90183-x](https://doi.org/10.1016/0165-3806(85)90183-x)
156. Meeren, H., van Luijtelaar, G., Lopes da Silva, F., Coenen, A., 2005. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch. Neurol.* 62, 371–376. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.3.371>
157. Meeren, H.K.M., Pijn, J.P.M., Van Luijtelaar, E.L.J.M., Coenen, A.M.L., Lopes da Silva, F.H., 2002. Cortical Focus Drives Widespread Corticothalamic Networks during Spontaneous Absence Seizures in Rats. *J. Neurosci.* 22, 1480–1495. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-04-01480.2002>
158. Meerlo, P., Horvath, K.M., Nagy, G.M., Bohus, B., Koolhaas, J.M., 1999. The influence of postnatal handling on adult neuroendocrine and behavioural stress reactivity. *J. Neuroendocrinol.* 11, 925–933. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.1999.00409.x>
159. Mehta, S.B., Kleinfeld, D., 2004. Frisking the Whiskers: Patterned Sensory Input in the Rat Vibrissa System. *Neuron* 41, 181–184. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(04\)00002-9](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(04)00002-9)
160. Mesquita, A., Pêgo, J.M., Summavielle, T., Maciel, P., Almeida, O., Sousa, N., 2007. Neurodevelopment milestone abnormalities in rats exposed to stress in early life. *Neuroscience* 147, 1022–33. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.04.007>
161. Midzianovskaia, I.S., Kuznetsova, G.D., Coenen, A.M., Spiridonov, A.M., van Luijtelaar, E.L., 2001. Electrophysiological and pharmacological characteristics of two types of spike-wave discharges in WAG/Rij rats. *Brain Res.* 911, 62–70. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(01\)02705-6](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(01)02705-6)
162. Miffilin, M.A., Winslow, W., Surendra, L., Tallino, S., Vural, A., Velazquez, R., 2021. Sex differences in the IntelliCage and the Morris water maze in the APP/PS1 mouse model of amyloidosis. *Neurobiol. Aging* 101, 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2021.01.018>
163. Misirliyan, S.S., Huynh, A.P., 2021. Development Milestones, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
164. Molnár, Z., Kaas, J.H., Carlos, J.A. de, Hevner, R.F., Lein, E., Němec, P., 2014. Evolution and Development of the Mammalian Cerebral Cortex. *Brain. Behav. Evol.* 83, 126–139. <https://doi.org/10.1159/000357753>
165. Moreno, M., Cardona, D., Gómez, M.J., Sánchez-Santed, F., Tobeña, A., Fernández-Teruel, A., Campa, L., Suñol, C., Escarabajal, M.D., Torres, C., Flores, P., 2010. Impulsivity characterization in the Roman high- and low-avoidance rat strains: behavioral and neurochemical differences. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* 35, 1198–1208. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.224>
166. Moscarello, J.M., LeDoux, J.E., 2013. Active Avoidance Learning Requires Prefrontal Suppression of Amygdala-Mediated Defensive Reactions. *J. Neurosci.* 33, 3815–3823. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2596-12.2013>
167. Mosconi, T., Woolsey, T.A., Jacquin, M.F., 2010. Passive vs. active touch-induced activity in the developing whisker pathway. *Eur. J. Neurosci.* 32, 1354–1363. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07396.x>
168. Moser, P.C., 1989. An evaluation of the elevated plus-maze test using the novel anxiolytic buspirone. *Psychopharmacology (Berl.)* 99, 48–53. <https://doi.org/10.1007/BF00634451>

169. Moyanova, S., De Fusco, A., Santolini, I., Celli, R., Bucci, D., Mastroiacovo, F., Battaglia, G., Nicoletti, F., Tchekalarova, J., 2018. Abnormal Hippocampal Melatonergic System: A Potential Link between Absence Epilepsy and Depression-Like Behavior in WAG/Rij Rats? *Int. J. Mol. Sci.* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19071973>
170. Mula, M., Kaufman, K.R., 2020. Double stigma in mental health: epilepsy and mental illness. *BJPsych Open* 6, e72. <https://doi.org/10.1192/bjo.2020.58>
171. Naik, A., Patro, I., Nisha, P., 2015. Slow Physical Growth, Delayed Reflex Ontogeny, and Permanent Behavioral as Well as Cognitive Impairments in Rats Following Intra-generational Protein Malnutrition. *Front. Neurosci.* 9. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00446>
172. Nakafuku, M., Del Águila, Á., 2020. Developmental dynamics of neurogenesis and gliogenesis in the postnatal mammalian brain in health and disease: Historical and future perspectives. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 9, e369. <https://doi.org/10.1002/wdev.369>
173. Newson, P., Lynch-Frame, A., Roach, R., Bennett, S., Carr, V., Chahl, L.A., 2005. Intrinsic sensory deprivation induced by neonatal capsaicin treatment induces changes in rat brain and behaviour of possible relevance to schizophrenia. *Br. J. Pharmacol.* 146, 408–418. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706349>
174. Ohta, K.-I., Suzuki, S., Warita, K., Sumitani, K., Tenkumo, C., Ozawa, T., Ujihara, H., Kusaka, T., Miki, T., 2020. The effects of early life stress on the excitatory/inhibitory balance of the medial prefrontal cortex. *Behav. Brain Res.* 379, 112306. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112306>
175. Ojeda, S.R., Skinner, M.K., 2006. Puberty in the rat. *Knobil Neills Physiol. Reprod.* 2061–2126. <https://doi.org/10.1016/B978-012515400-0/50043-9>
176. Orso, R., Creutzberg, K.C., Wearick-Silva, L.E., Wendt Viola, T., Tractenberg, S.G., Benetti, F., Grassi-Oliveira, R., 2019. How Early Life Stress Impact Maternal Care: A Systematic Review of Rodent Studies. *Front. Behav. Neurosci.* 13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00197>
177. Ott, D., Caplan, R., Guthrie, D., Siddarth, P., Komo, S., Shields, W.D., Sankar, R., Kornblum, H., Chayasirisobhon, S., 2001. Measures of psychopathology in children with complex partial seizures and primary generalized epilepsy with absence. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 40, 907–914. <https://doi.org/10.1097/00004583-200108000-00012>
178. Ozdemir, H.H., Demir, C.F., Cura, H.S., 2013. Absence status seen in an adult patient. *J. Neurosci. Rural Pract.* 4, 342–344. <https://doi.org/10.4103/0976-3147.118809>
179. Panayiotopoulos, C.P., 2008. Typical absence seizures and related epileptic syndromes: Assessment of current state and directions for future research. *Epilepsia* 49, 2131–2139. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01777.x>
180. Panayiotopoulos, C.P., 2005. *Idiopathic Generalised Epilepsies, The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management.* Bladon Medical Publishing.
181. Panayiotopoulos, C.P., 1999. Typical absence seizures and their treatment. *Arch. Dis. Child.* 81, 351–355. <https://doi.org/10.1136/adc.81.4.351>
182. Panayiotopoulos, C.P., Chroni, E., Daskalopoulos, C., Baker, A., Rowlinson, S., Walsh, P., 1992. Typical absence seizures in adults: clinical,

- EEG, video-EEG findings and diagnostic/syndromic considerations. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 55, 1002–1008. <https://doi.org/10.1136/jnnp.55.11.1002>
183. Papaioannou, S., Brigham, L., Krieger, P., 2013. Sensory deprivation during early development causes an increased exploratory behavior in a whisker-dependent decision task. *Brain Behav.* 3, 24–34. <https://doi.org/10.1002/brb3.102>
184. Parker, A.P., Agathonikou, A., Robinson, R.O., Panayiotopoulos, C.P., 1998. Inappropriate use of carbamazepine and vigabatrin in typical absence seizures. *Dev. Med. Child Neurol.* 40, 517–519. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.1998.tb15409.x>
185. Pavlova, I.V., Zaichenko, M.I., Merzhanova, G.K., Grigoryan, G.A., 2020. Conditioned Reflex Reactions in High-Impulsivity Rats Are Weaker than Those in Low-Impulsivity Animals. *Neurosci. Behav. Physiol.* 50, 567–574. <https://doi.org/10.1007/s11055-020-00937-8>
186. Pearce, P.S., Friedman, D., LaFrancois, J.J., Iyengar, S.S., Fenton, A.A., MacLusky, N.J., Scharfman, H.E., 2014. Spike-Wave Discharges in Adult Sprague-Dawley Rats and Their Implications for Animal Models of Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsy Behav.* EB 32, 121–131. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2014.01.004>
187. Peeters, B.W.M.M., Kerbusch, J.M.L., van Luijtelaar, E.L.J.M., Vossen, J.M.H., Coenen, A.M.L., 1990. Genetics of absence epilepsy in rats. *Behav. Genet.* 20, 453–460. <https://doi.org/10.1007/BF01065569>
188. Penfield, W., Jasper, H., 1954. *Epilepsy and the functional anatomy of the human brain*. Little, Brown & Co., Oxford, England.
189. Perescis, M.F.J., van Luijtelaar, G., van Rijn, C.M., 2019. Neonatal exposure to AY-9944 increases typical spike and wave discharges in WAG/Rij and Wistar rats. *Epilepsy Res.* 157, 106184. <https://doi.org/10.1016/j.epilepsyres.2019.106184>
190. Perusini, J.N., Fanselow, M.S., 2015. Neurobehavioral perspectives on the distinction between fear and anxiety. *Learn. Mem. Cold Spring Harb.* N 22, 417–425. <https://doi.org/10.1101/lm.039180.115>
191. Phillips, A.M., Kim, T., Vargas, E., Petrou, S., Reid, C.A., 2014. Spike-and-wave discharge mediated reduction in hippocampal HCN1 channel function associates with learning deficits in a genetic mouse model of epilepsy. *Neurobiol. Dis.* 64, 30–35. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.12.007>
192. Pigareva, M.L., Vorob'eva, A.D., 1994. [The advanced display of behavioral reactions in sensory deprived rat pups]. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I. P. Pavlova* 44, 985–991.
193. Pillay, N., Archer, J.S., Badawy, R.A.B., Flanagan, D.F., Berkovic, S.F., Jackson, G., 2013. Networks underlying paroxysmal fast activity and slow spike and wave in Lennox-Gastaut syndrome. *Neurology* 81, 665–673. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182a08f6a>
194. Pitkänen, A., Engel, J., 2014. Past and present definitions of epileptogenesis and its biomarkers. *Neurother. J. Am. Soc. Exp. Neurother.* 11, 231–241. <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0257-2>
195. Plescia, F., Marino, R.A.M., Navarra, M., Gambino, G., Brancato, A., Sardo, P., Cannizzaro, C., 2014. Early handling effect on female rat spatial and non-spatial learning and memory. *Behav. Processes* 103, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2013.10.011>

196. Plotsky, P.M., Meaney, M.J., 1993. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 18, 195–200. [https://doi.org/10.1016/0169-328x\(93\)90189-v](https://doi.org/10.1016/0169-328x(93)90189-v)
197. Polack, P.-O., Guillemain, I., Hu, E., Deransart, C., Depaulis, A., Charpier, S., 2007. Deep Layer Somatosensory Cortical Neurons Initiate Spike-and-Wave Discharges in a Genetic Model of Absence Seizures. *J. Neurosci.* 27, 6590–6599. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0753-07.2007>
198. Poothrikovil, R.P., Koul, R.L., Mani, R., Al Futaisi, A., 2012. Evolution of Ohtahara syndrome to continuous spikes and waves during slow sleep in an infant. *Neurodiagnostic J.* 52, 261–274.
199. Porter, R.J., 1993. The absence epilepsies. *Epilepsia* 34 Suppl 3, S42-48. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.1993.tb06258.x>
200. Powell, K.L., Tang, H., Ng, C., Guillemain, I., Dieuset, G., Dezsai, G., Çarçak, N., Onat, F., Martin, B., O'Brien, T.J., Depaulis, A., Jones, N.C., 2014. Seizure expression, behavior, and brain morphology differences in colonies of Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg. *Epilepsia* 55, 1959–1968. <https://doi.org/10.1111/epi.12840>
201. Pryce, C.R., Bettschen, D., Feldon, J., 2001. Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. *Dev. Psychobiol.* 38, 239–251. <https://doi.org/10.1002/dev.1018>
202. Pryce, C.R., Bettschen, D., Nanz-Bahr, N.I., Feldon, J., 2003. Comparison of the effects of early handling and early deprivation on conditioned stimulus, context, and spatial learning and memory in adult rats. *Behav. Neurosci.* 117, 883–893. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.117.5.883>
203. Puścian, A., Łęski, S., Górkiewicz, T., Meyza, K., Lipp, H.-P., Knapska, E., 2014. A novel automated behavioral test battery assessing cognitive rigidity in two genetic mouse models of autism. *Front. Behav. Neurosci.* 8. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00140>
204. Raevsky, V.V., Alexandrov, L.I., Vorobyeva, A.D., Golubeva, T.B., Korneeva, E.V., Kudriashov, I.E., Kudriashova, I.V., Pigareva, M.L., Sitnikova, E.Yu., Stashkevitch, I.S., 1997. Sensory information—The major factor of ontogeny. *Neurosci. Behav. Physiol.* 27, 455–461. <https://doi.org/10.1007/BF02462947>
205. Rainecki, C., Lucion, A.B., Weinberg, J., 2014. Neonatal Handling: An Overview of the Positive and Negative Effects. *Dev. Psychobiol.* 56, 1613–1625. <https://doi.org/10.1002/dev.21241>
206. Ramirez, F., Moscarello, J.M., LeDoux, J.E., Sears, R.M., 2015. Active Avoidance Requires a Serial Basal Amygdala to Nucleus Accumbens Shell Circuit. *J. Neurosci.* 35, 3470–3477. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1331-14.2015>
207. Rao Barkur, R., Bairy, L.K., 2016. Comparison of the developmental milestones and preweaning neurobehavioral parameters in rat pups exposed to lead (Pb) during gestation, lactation and pregestation period. *Drug Chem. Toxicol.* 39, 248–255. <https://doi.org/10.3109/01480545.2015.1082136>
208. Reiss, A.L., 2009. Childhood developmental disorders: an academic and clinical convergence point for psychiatry, neurology, psychology and pediatrics. *J. Child Psychol. Psychiatry* 50, 87–98. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.2008.02046.x>

209. Rödel, H.G., Bautista, A., García-Torres, E., Martínez-Gómez, M., Hudson, R., 2008. Why do heavy littermates grow better than lighter ones? A study in wild and domestic European rabbits. *Physiol. Behav.* 95, 441–448. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.07.011>
210. Rödel, H.G., Meyer, S., 2011. Early development influences ontogeny of personality types in young laboratory rats. *Dev. Psychobiol.* 53, 601–613. <https://doi.org/10.1002/dev.20522>
211. Roque, S., Mesquita, A.R., Palha, J.A., Sousa, N., Correia-Neves, M., 2014. The Behavioral and Immunological Impact of Maternal Separation: A Matter of Timing. *Front. Behav. Neurosci.* 0. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00192>
212. Rosenblatt, J.S., 1975. Prepartum and postpartum regulation of maternal behaviour in the rat. *Ciba Found. Symp.* 17–37. <https://doi.org/10.1002/9780470720158.ch3>
213. Rüedi-Bettschen, D., Feldon, J., Pryce, C.R., 2004. Circadian- and temperature-specific effects of early deprivation on rat maternal care and pup development: short-term markers for long-term effects? *Dev. Psychobiol.* 45, 59–71. <https://doi.org/10.1002/dev.20014>
214. Russo, E., Citraro, R., Constanti, A., Leo, A., Lüttjohann, A., van Luijckelaar, G., De Sarro, G., 2016. Upholding WAG/Rij rats as a model of absence epileptogenesis: Hidden mechanisms and a new theory on seizure development. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 71, 388–408. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.09.017>
215. Russo, E., Citraro, R., Davoli, A., Gallelli, L., Di Paola, E.D., De Sarro, G., 2013. Ameliorating effects of aripiprazole on cognitive functions and depressive-like behavior in a genetic rat model of absence epilepsy and mild-depression comorbidity. *Neuropharmacology* 64, 371–379. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.06.039>
216. Sadleir, L.G., Farrell, K., Smith, S., Connolly, M.B., Scheffer, I.E., 2006. Electroclinical features of absence seizures in childhood absence epilepsy. *Neurology* 67, 413–418. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000228257.60184.82>
217. Sarkisova, K., van Luijckelaar, G., 2011. The WAG/Rij strain: a genetic animal model of absence epilepsy with comorbidity of depression [corrected]. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 35, 854–876. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbbp.2010.11.010>
218. Sarkisova, K.I., Kulikov, M.A., Shatskova, A.B., 2005. [Are WAG/Rij rats with genetic absence epilepsy anxious?]. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I. P. Pavlova* 55, 253–261.
219. Sarkisova, K.Y., Gabova, A.V., 2018. Maternal care exerts disease-modifying effects on genetic absence epilepsy and comorbid depression. *Genes Brain Behav.* 17, e12477. <https://doi.org/10.1111/gbb.12477>
220. Sarkisova, K.Y., Kuznetsova, G.D., Kulikov, M.A., van Luijckelaar, G., 2010. Spike-wave discharges are necessary for the expression of behavioral depression-like symptoms. *Epilepsia* 51, 146–160. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02260.x>
221. Sarkisova, K.Yu., Kulikov, M.A., 2006. Behavioral characteristics of WAG/Rij rats susceptible and non-susceptible to audiogenic seizures. *Behav. Brain Res.* 166, 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.07.024>



222. Schiariti, V., Longo, E., Shoshmin, A., Kozhushko, L., Besstrashnova, Y., Król, M., Neri Correia Campos, T., Náryma Confessor Ferreira, H., Verissimo, C., Shaba, D., Mwale, M., Amado, S., 2018. Implementation of the International Classification of Functioning, Disability, and Health (ICF) Core Sets for Children and Youth with Cerebral Palsy: Global Initiatives Promoting Optimal Functioning. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 15. <https://doi.org/10.3390/ijerph15091899>
223. Schiffman, H.R., Lore, R., Passafiume, J., Neeb, R., 1970. Role of vibrissae for depth perception in the rat (*Rattus norvegicus*). *Anim. Behav.* 18, 290–292. [https://doi.org/10.1016/s0003-3472\(70\)80040-9](https://doi.org/10.1016/s0003-3472(70)80040-9)
224. Schmitt, L.I., Wimmer, R.D., Nakajima, M., Happ, M., Mofakham, S., Halassa, M.M., 2017. Thalamic amplification of cortical connectivity sustains attentional control. *Nature* 545, 219–223. <https://doi.org/10.1038/nature22073>
225. Schmitt, U., Hiemke, C., 1998. Combination of open field and elevated plus-maze: a suitable test battery to assess strain as well as treatment differences in rat behavior. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 22, 1197–1215. [https://doi.org/10.1016/s0278-5846\(98\)00051-7](https://doi.org/10.1016/s0278-5846(98)00051-7)
226. Schreibman Cohen, A., Daley, M., Siddarth, P., Levitt, J., Loesch, I.K., Altshuler, L., Ly, R., Shields, W.D., Gurbani, S., Caplan, R., 2009. Amygdala volumes in childhood absence epilepsy. *Epilepsy Behav.* EB 16, 436–441. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2009.08.009>
227. Schridde, U., Luijtelaar, G.V., 2004. The influence of strain and housing on two types of spike-wave discharges in rats. *Genes Brain Behav.* 3, 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1848.2004.00034.x>
228. Schridde, U., Strauss, U., Bräuer, A.U., van Luijtelaar, G., 2006. Environmental manipulations early in development alter seizure activity, Ih and HCN1 protein expression later in life. *Eur. J. Neurosci.* 23, 3346–3358. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04865.x>
229. Schridde, U., van Luijtelaar, G., 2005. The role of the environment on the development of spike-wave discharges in two strains of rats. *Physiol. Behav.* 84, 379–386. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.12.015>
230. Seibenhener, M.L., Wooten, M.C., 2015. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *J. Vis. Exp. JoVE.* <https://doi.org/10.3791/52434>
231. Sharma, P., Powell, K.L., Wlodek, M.E., O'Brien, T.J., Gilby, K.L., 2018. Delayed myelination and neurodevelopment in male seizure-prone versus seizure-resistant rats. *Epilepsia* 59, 753–764. <https://doi.org/10.1111/epi.14013>
232. Shaw, F.-Z., Liao, Y.-F., 2005. Relation between activities of the cortex and vibrissae muscles during high-voltage rhythmic spike discharges in rats. *J. Neurophysiol.* 93, 2435–2448. <https://doi.org/10.1152/jn.00999.2004>
233. Shishelova, A.Y., 2006. Effect of whisker removal on defensive behavior in rats during early ontogenesis. *Neurosci. Behav. Physiol.* 36, 883–888. <https://doi.org/10.1007/s11055-006-0102-0>
234. Shoykhet, M., Land, P.W., Simons, D.J., 2005. Whisker Trimming Begun at Birth or on Postnatal Day 12 Affects Excitatory and Inhibitory Receptive Fields of Layer IV Barrel Neurons. *J. Neurophysiol.* 94, 3987–3995. <https://doi.org/10.1152/jn.00569.2005>
235. Simon, P., Dupuis, R., Costentin, J., 1994. Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behav. Brain Res.* 61, 59–64. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)90008-6](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)90008-6)

236. Simons, D.J., Land, P.W., 1994. Neonatal whisker trimming produces greater effects in nondeprived than deprived thalamic barreloids. *J. Neurophysiol.* 72, 1434–1437. <https://doi.org/10.1152/jn.1994.72.3.1434>
237. Simons, D.J., Land, P.W., 1987. Early experience of tactile stimulation influences organization of somatic sensory cortex. *Nature* 326, 694–697. <https://doi.org/10.1038/326694a0>
238. Sitnikova, E., 2011. Neonatal sensory deprivation promotes development of absence seizures in adult rats with genetic predisposition to epilepsy. *Brain Res.* 1377, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.12.067>
239. Sitnikova, E., Hramov, A.E., Grubov, V., Koronovsky, A.A., 2014. Age-Dependent Increase of Absence Seizures and Intrinsic Frequency Dynamics of Sleep Spindles in Rats. *Neurosci. J.* 2014, e370764. <https://doi.org/10.1155/2014/370764>
240. Sitnikova, E., Hramov, A.E., Koronovsky, A.A., van Luijtelaaar, G., 2009. Sleep spindles and spike–wave discharges in EEG: Their generic features, similarities and distinctions disclosed with Fourier transform and continuous wavelet analysis. *J. Neurosci. Methods* 180, 304–316. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.04.006>
241. Sitnikova, E., Rutskova, E.M., Raevsky, V.V., 2016. Maternal care affects EEG properties of spike-wave seizures (including pre- and post ictal periods) in adult WAG/Rij rats with genetic predisposition to absence epilepsy. *Brain Res. Bull.* 127, 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.08.019>
242. Sitnikova, E., Rutskova, E.M., Tsvetaeva, D., Raevsky, V.V., 2021. Spike-wave seizures, slow-wave sleep EEG and morphology of substantia nigra pars compacta in WAG/Rij rats with genetic predisposition to absence epilepsy. *Brain Res. Bull.* 174, 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2021.06.003>
243. Sitnikova, E., Smirnov, K., 2020. Active avoidance learning in WAG/Rij rats with genetic predisposition to absence epilepsy. *Brain Res. Bull.* 165, 198–208. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2020.10.007>
244. Sitnikova, E., Smirnov, K., Grubov, V., Hramov, A., 2019. Diagnostic principles of immature epileptic (proepileptic) EEG activity in rats with genetic predisposition to absence epilepsy. *Inf. Control Syst.* 2019, 89–97. <https://doi.org/10.31799/1684-8853-2019-1-89-97>
245. Sitnikova, E., van Luijtelaaar, G., 2004. Cortical control of generalized absence seizures: effect of lidocaine applied to the somatosensory cortex in WAG/Rij rats. *Brain Res.* 1012, 127–137. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.03.041>
246. Sitnikova, E.I., 2000. [Vibrisectomy in rats in early ontogeny leads to disordered functional properties of the cortical projection neurons]. *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im. I. P. Pavlova* 50, 137–141.
247. Smirnov, K., Stroganova, T., Molholm, S., Sysoeva, O., 2021. Reviewing Evidence for the Relationship of EEG Abnormalities and RTT Phenotype Paralleled by Insights from Animal Studies. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 5308. <https://doi.org/10.3390/ijms22105308>
248. Smirnov, K., Tsvetaeva, D., Sitnikova, E., 2018. Neonatal whisker trimming in WAG/Rij rat pups causes developmental delay, encourages maternal care and affects exploratory activity in adulthood. *Brain Res. Bull.* 140, 120–131. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.04.010>

249. Smyk, M.K., van Luijtelaar, G., 2020. Circadian Rhythms and Epilepsy: A Suitable Case for Absence Epilepsy. *Front. Neurol.* 11. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00245>
250. Snead, O.C., 1991. The gamma-hydroxybutyrate model of absence seizures: correlation of regional brain levels of gamma-hydroxybutyric acid and gamma-butyrolactone with spike wave discharges. *Neuropharmacology* 30, 161–167. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(91\)90199-l](https://doi.org/10.1016/0028-3908(91)90199-l)
251. Sokoloff, G., Plumeau, A.M., Mukherjee, D., Blumberg, M.S., 2015. Twitch-related and rhythmic activation of the developing cerebellar cortex. *J. Neurophysiol.* 114, 1746–1756. <https://doi.org/10.1152/jn.00284.2015>
252. Soumiya, H., Godai, A., Araiso, H., Mori, S., Furukawa, S., Fukumitsu, H., 2016. Neonatal Whisker Trimming Impairs Fear/Anxiety-Related Emotional Systems of the Amygdala and Social Behaviors in Adult Mice. *PloS One* 11, e0158583. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158583>
253. Spyrka, J., Gugula, A., Rak, A., Tytko, G., Hess, G., Blasiak, A., 2020. Early life stress-induced alterations in the activity and morphology of ventral tegmental area neurons in female rats. *Neurobiol. Stress* 13, 100250. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2020.100250>
254. Stamatakis, A., Pondiki, S., Kitraki, E., Diamantopoulou, A., Panagiotaropoulos, T., Raftogianni, A., Stylianopoulou, F., 2008. Effect of neonatal handling on adult rat spatial learning and memory following acute stress. *Stress Amst. Neth.* 11, 148–159. <https://doi.org/10.1080/10253890701653039>
255. Steimer, T., 2011. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. *Dialogues Clin. Neurosci.* 13, 495–506.
256. Sudakov, S.K., Nazarova, G.A., Alekseeva, E.V., Bashkatova, V.G., 2013. Estimation of the level of anxiety in rats: differences in results of open-field test, elevated plus-maze test, and Vogel's conflict test. *Bull. Exp. Biol. Med.* 155, 295–297. <https://doi.org/10.1007/s10517-013-2136-y>
257. Sullivan, R.M., Landers, M.S., Flemming, J., Vaught, C., Young, T.A., Jonathan Polan, H., 2003. Characterizing the functional significance of the neonatal rat vibrissae prior to the onset of whisking. *Somatosens. Mot. Res.* 20, 157–162. <https://doi.org/10.1080/0899022031000105190>
258. Sun, M.-K., Alkon, D.L., 2004. Induced depressive behavior impairs learning and memory in rats. *Neuroscience* 129, 129–139. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.07.041>
259. Taniguchi, G., Masaki, K., Kondo, S., Yumoto, M., Kasai, K., 2020. Long-Term Undiagnosed Nonconvulsive Status Epilepticus Identified by Urgent Electroencephalography with Hyperventilation Activation. *Case Rep. Neurol.* 12, 153–159. <https://doi.org/10.1159/000506828>
260. Taylor, J.A., Reuter, J.D., Kubiak, R.A., Mufford, T.T., Booth, C.J., Dudek, F.E., Barth, D.S., 2019. Spontaneous Recurrent Absence Seizure-like Events in Wild-Caught Rats. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 39, 4829–4841. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1167-18.2019>
261. Taylor, J.A., Rodgers, K.M., Bercum, F.M., Booth, C.J., Dudek, F.E., Barth, D.S., 2017. Voluntary Control of Epileptiform Spike–Wave Discharges in Awake Rats. *J. Neurosci.* 37, 5861–5869. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3235-16.2017>

262. Tenney, J.R., Glauser, T.A., 2013. The Current State of Absence Epilepsy: Can We Have Your Attention? *Epilepsy Curr.* 13, 135–140. <https://doi.org/10.5698/1535-7511-13.3.135>
263. Terlau, J., Yang, J.-W., Khastkhodaei, Z., Seidenbecher, T., Luhmann, H.J., Pape, H.-C., Lüttjohann, A., 2020. Spike-wave discharges in absence epilepsy: segregation of electrographic components reveals distinct pathways of seizure activity. *J. Physiol.* 598, 2397–2414. <https://doi.org/10.1113/JP279483>
264. Tovia, E., Goldberg-Stern, H., Shahar, E., Kramer, U., 2006. Outcome of children with juvenile absence epilepsy. *J. Child Neurol.* 21, 766–768. <https://doi.org/10.1177/08830738060210092101>
265. Trinka, E., 2005. Absences in adult seizure disorders. *Acta Neurol. Scand. Suppl.* 182, 12–18. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2005.00522.x>
266. Tsotsokou, G., Nikolakopoulou, M., Kouvelas, E.D., Mitsacos, A., 2021. Neonatal maternal separation affects metabotropic glutamate receptor 5 expression and anxiety-related behavior of adult rats. *Eur. J. Neurosci.* 54, 4550–4564. <https://doi.org/10.1111/ejn.15358>
267. Urbach, Y.K., Raber, K.A., Canneva, F., Plank, A.-C., Andreasson, T., Ponten, H., Kullingsjö, J., Nguyen, H.P., Riess, O., von Hörsten, S., 2014. Automated phenotyping and advanced data mining exemplified in rats transgenic for Huntington’s disease. *J. Neurosci. Methods* 234, 38–53. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2014.06.017>
268. Vadász, C., Carpi, D., Jando, G., Kandel, A., Urioste, R., Horváth, Z., Pierre, E., Vadi, D., Fleischer, A., Buzsáki, G., 1995. Genetic threshold hypothesis of neocortical spike-and-wave discharges in the rat: An animal model of petit mal epilepsy. *Am. J. Med. Genet.* 60, 55–63. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320600111>
269. Vallée, M., Mayo, W., Dellu, F., Le Moal, M., Simon, H., Maccari, S., 1997. Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 2626–2636.
270. van der Bourg, A., Yang, J.-W., Reyes-Puerta, V., Laurency, B., Wieckhorst, M., Stüttgen, M.C., Luhmann, H.J., Helmchen, F., 2017. Layer-Specific Refinement of Sensory Coding in Developing Mouse Barrel Cortex. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 27, 4835–4850. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhw280>
271. van Erp, A.M., Kruk, M.R., Meelis, W., Willekens-Bramer, D.C., 1994. Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat: handling, social contact, defeat, novelty, restraint and fur moistening. *Behav. Brain Res.* 65, 47–55. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)90072-8](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)90072-8)
272. van Luijckelaar, G., Bikbaev, A., 2007. Midfrequency cortico-thalamic oscillations and the sleep cycle: genetic, time of day and age effects. *Epilepsy Res.* 73, 259–265. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2006.11.002>
273. van Luijckelaar, G., Sitnikova, E., 2006. Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 30, 983–1003. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.03.002>
274. van Luijckelaar, G., van Oijen, G., 2020. Establishing Drug Effects on Electrographic Activity in a Genetic Absence Epilepsy Model: Advances and Pitfalls. *Front. Pharmacol.* 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00395>

275. van Luijckelaar, G., Zobeiri, M., 2014. Progress and Outlooks in a Genetic Absence Epilepsy Model (WAG/Rij). *Curr. Med. Chem.* 21, 704–721.
276. Vega, C., Guo, J., Killory, B., Danielson, N., Vestal, M., Berman, R., Martin, L., Gonzalez, J.L., Blumenfeld, H., Spann, M.N., 2011. Symptoms of Anxiety and Depression in Childhood Absence Epilepsy. *Epilepsia* 52, e70–e74. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03119.x>
277. Vega, C., Vestal, M., DeSalvo, M., Berman, R., Chung, M., Blumenfeld, H., Spann, M.N., 2010. Differentiation of attention-related problems in childhood absence epilepsy. *Epilepsy Behav.* EB 19, 82–85. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2010.06.010>
278. Vergnes, M., Marescaux, Ch., Depaulis, A., Micheletti, G., Warter, J.-M., 1990. Spontaneous Spike-and-Wave Discharges in Wistar Rats: A Model of Genetic Generalized Nonconvulsive Epilepsy, in: Avoli, M., Gloor, P., Kostopoulos, G., Naquet, R. (Eds.), *Generalized Epilepsy: Neurobiological Approaches*. Birkhäuser, Boston, MA, pp. 238–253. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-6767-3\\_17](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-6767-3_17)
279. Vetulani, J., 2013. Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing human condition. *Pharmacol. Rep.* PR 65, 1451–1461. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(13\)71505-6](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(13)71505-6)
280. Vinogradova, L.V., 2008. Audiogenic kindling in Wistar and WAG/Rij rats: kindling-prone and kindling-resistant subpopulations. *Epilepsia* 49, 1665–1674. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01617.x>
281. Voigts, J., Herman, D.H., Celikel, T., 2014. Tactile object localization by anticipatory whisker motion. *J. Neurophysiol.* 113, 620–632. <https://doi.org/10.1152/jn.00241.2014>
282. Vorhees, C.V., Williams, M.T., 2006. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat. Protoc.* 1, 848–858. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.116>
283. Vuilleumier, P., 2009. The role of the human amygdala in perception and attention. *Hum. Amygdala* 220–249.
284. Wakshlak, A., Weinstock, M., 1990. Neonatal handling reverses behavioral abnormalities induced in rats by prenatal stress. *Physiol. Behav.* 48, 289–292. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(90\)90315-u](https://doi.org/10.1016/0031-9384(90)90315-u)
285. Wald, E.L.A.F., Klinkenberg, S., Voncken, T.P.C., Ebus, S.C.M., Aldenkamp, A.P., Vles, J.S.H., Vermeulen, R.J., Hendriksen, J.G.M., Hall, M.H.J.A.D.-V., 2019. Cognitive development in absence epilepsy during long-term follow-up. *Child Neuropsychol.* 25, 1003–1021. <https://doi.org/10.1080/09297049.2019.1614156>
286. Walf, A.A., Frye, C.A., 2007. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat. Protoc.* 2, 322–328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>
287. Walsh, R.N., Cummins, R.A., 1976. The Open-Field Test: a critical review. *Psychol. Bull.* 83, 482–504.
288. Weinberg, J., Levine, S., 1977. Early handling influences on behavioral and physiological responses during active avoidance. *Dev. Psychobiol.* 10, 161–169. <https://doi.org/10.1002/dev.420100209>
289. Weiner, I., Feldon, J., Ziv-Harris, D., 1987. Early handling and latent inhibition in the conditioned suppression paradigm. *Dev. Psychobiol.* 20, 233–240. <https://doi.org/10.1002/dev.420200211>

290. Wemhöner, K., Kanyshkova, T., Silbernagel, N., Fernandez-Orth, J., Bittner, S., Kiper, A.K., Rinné, S., Netter, M.F., Meuth, S.G., Budde, T., Decher, N., 2015. An N-terminal deletion variant of HCN1 in the epileptic WAG/Rij strain modulates HCN current densities. *Front. Mol. Neurosci.* 8, 63. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2015.00063>
291. Wiesel, T.N., Hubel, D.H., 1963. Single-cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. *J. Neurophysiol.* 26, 1003–1017. <https://doi.org/10.1152/jn.1963.26.6.1003>
292. Willner, P., 2008. Methods for Assessing the Validity of Animal Models of Human Psychopathology. pp. 1–23. <https://doi.org/10.1385/0-89603-198-5:1>
293. Workman, A.D., Charvet, C.J., Clancy, B., Darlington, R.B., Finlay, B.L., 2013. Modeling transformations of neurodevelopmental sequences across mammalian species. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 7368–7383. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5746-12.2013>
294. Wu, N., Wang, F., Jin, Z., Zhang, Z., Wang, L.-K., Zhang, C., Sun, T., 2017. Effects of GABAB receptors in the insula on recognition memory observed with intelligage. *Behav. Brain Funct. BBF* 13, 7. <https://doi.org/10.1186/s12993-017-0125-4>
295. Zahir, F.R., Brown, C.J., 2011. Epigenetic Impacts on Neurodevelopment: Pathophysiological Mechanisms and Genetic Modes of Action. *Pediatr. Res.* 69, 92–100. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e318213565e>
296. Zaichenko, M.I., Grigoryan, G.A., Merzhanova, G.Kh., 2019. Escape and Avoidance Reactions to Painful Electrocutaneous Stimulation of the Self and Another in Rats with High and Low Levels of Impulsivity. *Neurosci. Behav. Physiol.* 49, 1008–1015. <https://doi.org/10.1007/s11055-019-00830-z>
297. Zoghbi, H.Y., Beaudet, A.L., 2016. Epigenetics and Human Disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 8, a019497. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019497>
298. Шишелова, А.Ю., 2000. Роль сенсорного притока в формировании ранних поведенческих реакций и способности к обучению (кандидат биологических наук). Москва.
299. Шишелова, А.Ю., Раевский, В.В., 2009. Влияние Вибриссэктомии В Раннем Постнатальном Онтогенезе У Крысят На Развитие Поведения. *Журнал Высшей Нервной Деятельности Им Ип Павлова* 59.