

**МЕТИЛОБОГАЩЕННАЯ ДИЕТА МАТЕРИ УЛУЧШАЕТ
ЭПИЗОДИЧЕСКУЮ ПАМЯТЬ И НЕ ВЛИЯЕТ НА ПАМЯТЬ
ОБ УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНОМ СТРАХЕ У ПОТОМСТВА КРЫС
ЛИНИИ WAG/RIJ**

© 2024 г. Е. А. Федосова^{1, *}, А. Б. Шацкова¹, К. Ю. Саркисова¹

*¹Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия
E-mail: ekaterina5fedosova@rambler.ru

Поступила в редакцию 27.01.2024 г.
После доработки 17.04.2024 г.
Принята к публикации 27.04.2024 г.

Цель данной работы – выяснить, какое влияние оказывает метилобогатая диета (МОД) матери в перинатальном периоде на когнитивные функции взрослого потомства крыс линии WAG/Rij – модели наследственной absence-эпилепсии с коморбидной депрессией. Когнитивные функции (обучение и память) оценивались в тестах распознавания нового объекта (РНО) и выработки условно-рефлекторной реакции страха (fear conditioning). Эксперименты проводили на 6-месячных крысах-самцах линии WAG/Rij. Матери крыс экспериментальной группы потребляли МОД, а матери контрольной группы – контрольную диету. Тест РНО использовался для оценки эпизодической памяти. Данный тест основан на врожденной исследовательской мотивации (мотивации предпочтения новизны), которая обычно понижена при депрессии. Выработка условно-рефлекторного страха (fear conditioning) представляет собой выработку классического павловского оборонительного условного рефлекса, проявляющегося в виде реакций замираний в ответ на негативное подкрепление (электрическое раздражение лап). В тесте РНО у крыс экспериментальной группы индекс распознавания нового объекта (показатель эпизодической памяти), а также число выходов в центр арены (показатель исследовательской мотивации) были значимо больше по сравнению с аналогичными показателями у контрольной группы. Однако не было обнаружено межгрупповых различий в проявлении памяти об условно-рефлекторном страхе (% реакций замиранья) на контекст и звуковой сигнал. Результаты свидетельствуют о том, что МОД матери улучшает эпизодическую память в тесте РНО, но не влияет на память об условно-рефлекторном страхе, связанном с контекстом и звуковым сигналом, у взрослого потомства крыс линии WAG/Rij.

Ключевые слова: абсанс-эпилепсия, коморбидная депрессия, когнитивная функция, исследовательская мотивация, распознавание нового объекта, эпизодическая память, память о страхе, болевая чувствительность, материнская метилобогатая диета, крыса линии WAG/Rij

DOI: 10.31857/S0869813924050097, **EDN:** VKUPEK

ВВЕДЕНИЕ

Крысы линии WAG/Rij являются моделью наследственной absence-эпилепсии (АЭ) с коморбидной депрессией [1]. АЭ – неконвульсивная форма эпилепсии, характерным признаком которой является наличие спонтанных генерализованных пик-волновых разрядов (ПВР) на ЭЭГ, сопровождающихся отключением сознания (отсутствие реагирования на внешние стимулы). Первые одиночные ПВР у крыс линии WAG/Rij появляются примерно в возрасте 2–3 месяцев, а к 5–6-месячному возрасту число и длительность ПВР увеличиваются [1]. По мере увеличения числа и длительности ПВР у крыс линии WAG/Rij усиливаются симптомы депрессивноподобного поведения: пониженное предпочтение сахарозы в тесте потребления сахарозы (ангедония) и повышенный уровень иммобильности в тесте вынужденного плавания (поведенческая «депрессия») [1].

Несмотря на то, что патологический фенотип у крыс линии WAG/Rij генетически обусловлен, он может быть модифицирован под влиянием ранних средовых воздействий, таких как материнская забота [2, 3], обогащенная/обедненная среда [3], а также диета матери во время перинатального периода [3–8]. В качестве механизма ранних воздействий среды рассматриваются эпигенетические процессы, которые модулируют экспрессию генов без изменения последовательности ДНК. Одним из наиболее изученных эпигенетических механизмов является метилирование ДНК. Для осуществления процесса метилирования ДНК необходимы доноры метильных групп [3, 9]. Паттерн метилирования ДНК формируется на самых ранних стадиях онтогенеза, поэтому в перинатальном периоде он особенно чувствителен к воздействиям окружающей среды, прежде всего к составу материнской диеты [3].

Ранее была показана возможность коррекции проявлений АЭ и коморбидной депрессии у потомства крыс линии WAG/Rij с помощью метилобогатой диеты (МОД) матери [3–5]. Установлено, что у потомства крыс линии WAG/Rij, матери которых потребляли МОД в перинатальном периоде, симптомы АЭ и коморбидной депрессии были выражены меньше по сравнению с потомством крыс линии WAG/Rij, матери которых потребляли контрольную диету [4, 5].

Когнитивные нарушения являются частью симптоматики как АЭ [10], так и депрессии [11, 12]. Так, у крыс линии WAG/Rij – генетической модели АЭ с коморбидной депрессией – было выявлено нарушение долгосрочной памяти в тесте «Платформа с отверстиями» и в тестах выработки условного рефлекса пассивного [1] и активного [13] избегания. При реверсивном обучении в сложном лабиринте крысы линии WAG/Rij медленнее выполняли прямую и обратную задачи и делали больше ошибок по сравнению с неэпилептическими крысами Wistar [14, 15]. В одной из наших предыдущих работ у крыс линии WAG/Rij были показаны нарушения эпизодической памяти в тесте распознавания нового объекта [16, 17]. Этосуксимид – препарат первого выбора при АЭ, не обладающий собственной антидепрессантной активностью [18, 19], подавлял пик-волновую активность, повышал исследовательскую мотивацию и улучшал эпизодическую память у крыс линии WAG/Rij [17]. У крыс линии WAG/Rij, рожденных матерями, которые потребляли МОД в перинатальном периоде, также было меньше генетически обусловленных ПВР (без изменения их длительности) по сравнению с контрольными крысами [4, 5].

Цель данной работы – выяснить, какое влияние оказывает МОД матери в перинатальном периоде на когнитивные функции (обучение и память) взрослого потомства крыс линии WAG/Rij. Для оценки когнитивных функций в данной работе использовали тесты распознавания нового объекта (РНО) и выработки условно-рефлекторной реакции страха (fear conditioning). Тест РНО использовали для оценки эпизодической памяти (по индексу распознавания нового объекта). Врожденная потребность животных в новизне, в том числе в исследовании новых объектов, формирует исследовательскую мотивацию, уровень которой в тесте РНО оценивали по числу выходов в центр арены и числу стоек без опоры [17]. Тест выработки условной реакции страха использовали для оценки памя-

ти о страхе, связанном с контекстом и сигналом (по % реакций замирания). Выработка условно-рефлекторной реакции страха (fear conditioning) основана на оборонительной мотивации: потребности животных в самозащите от внешнего негативного раздражителя (электрическое раздражение лап), который использовался в данном тесте как негативное подкрепление. Поскольку в качестве негативного подкрепления применяли умеренное болевое воздействие в виде электрического раздражения лап, необходимо было сравнить порог болевой чувствительности у животных экспериментальной и контрольной группы. Для этой цели использовали тест отдергивания хвоста (tail flick test).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные. Работа выполнена на 22 крысах-самцах линии WAG/Rij: 11 животных, рожденных матерями, потреблявшими МОД (экспериментальная группа), и 11 животных, рожденных матерями, потреблявшими контрольную диету (контрольная группа). Для получения потомства самкам крыс линии WAG/Rij предоставляли контрольную диету (КД) или МОД в течение одной недели до беременности, во время беременности и в течение одной недели после рождения детенышей.

Использовали следующие метилсодержащие добавки (на 1 кг пищи): холин – 5 г; бетаин – 15 г; фолиевая кислота – 15 мг; витамин B12 – 1.5 мг; L-метионин – 7.5 г; цинк – 150 мг. Для приготовления МОД метилсодержащие добавки смешивали с 4-зерновой кашей, творогом и свежими яйцами [4, 5]; для приготовления КД использовали только 4-зерновую кашу, творог и свежие яйца [4, 5].

Всех животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде по 4–5 особей в клетке (70 x 40 x 40), в условиях естественного цикла день – ночь (день около 10 ч).

Схема эксперимента. Оценку когнитивных функций – обучения и памяти проводили у взрослого потомства крыс линии WAG/Rij, рожденного матерями, потреблявшими МОД (экспериментальная группа) или КД (контрольная группа). Возраст животных контрольной и экспериментальной группы составлял 6–7 месяцев, когда ПБР и симптомы депрессии хорошо выражены [1]. Для оценки обучения и памяти в данной работе использовали тесты распознавания нового объекта (РНО) и выработки условно-рефлекторной реакции страха (fear conditioning). Оценку болевой чувствительности у животных экспериментальной и контрольной группы проводили в тесте отдергивания хвоста (tail flick test).

Процедура тестирования в сумме составляла 9 дней. Выработка условно-рефлекторной реакции страха с использованием негативного подкрепления оказывает стрессогенное воздействие на животных в большей степени, чем тест РНО, который основан на врожденном исследовательском поведении. Чтобы исключить потенциальное влияние негативного подкрепления – электрического раздражения лап на результаты теста РНО, был использован следующий порядок проведения тестов: 2 дня – тест РНО; 2 дня – перерыв; 2 дня – обучение и тестирование выработки условно-рефлекторной реакции страха; 2 дня – перерыв; 1 день – тест отдергивания хвоста. Выполнение поведенческих тестов в разные дни и наличие перерывов между ними позволяет значительно уменьшить влияние одного теста на результаты другого [20].

Тест РНО. В данной работе использована схема эксперимента, которая применялась в наших предыдущих работах [16, 17]. Исследование проводили на квадратной арене (80 x 80 см). Объекты находились на одинаковом (20 см) расстоянии от боковых стенок арены и друг от друга. Перед каждым тестом с новым животным арену и объекты протирали 70%-ным этиловым спиртом. Процедура тестирования составляла 2 дня.

- 1) В первый день проводили фазу адаптации (А): крысу сажали в центр арены (без объектов) и в течение 5 мин регистрировали следующие показатели поведения: число стоек с опорой и без опоры, число выходов в центр, число

реакций груминга (короткие и длинные). Данные показатели регистрировали и анализировали в программе «RealTimer» (Open Science, Россия).

- 2) На следующем этапе исследования проводили фазу ознакомления (Т1), тестовую фазу 1 (Т2) и тестовую фазу 2 (Т3). В фазе ознакомления животным предъявляли два одинаковых объекта. Через 1 ч после фазы ознакомления проводили тестовую фазу 1 (Т2): один из знакомых объектов (ЗО) меняли на незнакомый объект (НО1). Через 24 ч после тестовой фазы 1 проводили тестовую фазу 2 (Т3): незнакомый объект 1 меняли на незнакомый объект 2 (НО2). Незнакомый объект отличался от знакомого по форме и цвету. В каждую из фаз тестирования (Т1, Т2 и Т3) крысу сажали в центр арены хвостом по направлению к предъявляемым объектам и в течение 5 мин регистрировали время (продолжительность) обследования каждого из объектов, а также число подходов к каждому из объектов и число переходов между ними. Эти показатели также регистрировали и анализировали в программе «RealTimer» (Open Science, Россия). Степень предпочтения незнакомого объекта характеризует индекс распознавания (ИР), который рассчитывают по формуле: $ИР = (\text{время обследования НО} - \text{время обследования ЗО}) / (\text{время обследования НО} + \text{время обследования ЗО})$ [21].

Выработка условно-рефлекторной реакции страха (fear conditioning). Условно-рефлекторную реакцию страха вырабатывали в экспериментальной установке Startle and Fear Combined System компании PanLab Harvard apparatus (Испания, 2000). Установка состояла из камеры размером 250 × 250 × 250 мм, которая была помещена в звуконепроницаемую камеру размером 670 × 530 × 550 мм.

Память о страхе в тесте выработки условно-рефлекторной реакции страха оценивается по % реакций замирания (% freezing) на условные раздражители (контекст и звуковой сигнал), ассоциированные с электроболевым раздражением лап. Замиранием считали периоды неподвижности длительностью не менее 2 с, когда можно наблюдать только дыхательные движения животного. Замирание определяли по записи механограммы пола камеры с помощью амплитудного и временного порогов. Амплитудный порог зависел от массы тела крысы, коэффициента усиления и выставлялся таким образом, чтобы отсечь интервалы с активным движением животного.

Крыс тестировали в течение 2 дней. В первый день проводили обучение животных:

- 1) крысу помещали в звуконепроницаемую камеру, в течение 120 с животное исследовало камеру при включенном свете;
- 2) затем свет выключали и в течение 28 с подавали звуковой сигнал (60 дБ);
- 3) после окончания действия звука (свет был выключен) в течение 2 с производили электрокожное раздражение лап животного (2 мА);
- 4) в течение 30 с животное находилось без какого-либо воздействия в камере с включенным светом.

На второй день проводили тестирование выработанного условно-рефлекторного страха:

- 1) на 3 мин крысу помещали в камеру с включенным светом;
- 2) затем свет выключали и в течение 3 мин подавали звуковой сигнал.

Обработку данных проводили с помощью стандартной программы, прилагающейся к установке фирмы Panlab, которая позволяла идентифицировать реакции замирания и определять их длительность. Программа также позволяла регистрировать % реакций замирания (% freezing) – это процент времени замирания от времени регистрации. Данный показатель фиксировали до (реакция на контекст, context test) и во время (реакция на контекст и сигнальный раздражитель, cued test) действия звука в течение двух дней тестирования [22].

Стоит отметить, что замирания как проявление условно-рефлекторного страха внешне напоминают замирания у крыс линии WAG/Rij во время абсансов длитель-

ностью 2–5 с, которые сопровождаются подергиванием вибрисс и наклоном головы. Однако абсансные припадки возникают преимущественно во время пассивного бодрствования (33.1%) и легкого медленноволнового сна (48.4%). В экспериментальных ситуациях, вызывающих активное поведение животных, например, при проведении любых поведенческих тестов [1], особенно связанных с избеганием/ожиданием болевого воздействия, абсансные припадки не возникают. Поэтому замирания, связанные с абсансными припадками, не могут оказать существенного влияния на результаты выработки условно-рефлекторного страха у крыс линии WAG/Rij.

Тест отдергивания хвоста (оценка болевой чувствительности). Тест отдергивания хвоста – это один из тестов для определения болевой чувствительности и оценки анальгетических свойств у фармакологических препаратов [23]. Для определения болевой чувствительности с помощью теста отдергивания хвоста использовали долориметр проводимости компании ИТС Life Science. Стимул подается в виде сфокусированного пучка света размером 4 x 6 мм на дорзальную поверхность хвоста («tail flick test»). Для этого животное удерживали на верхней панели долориметра таким образом, что его хвост располагался под установленным источником света. В момент фокусировки луча света на хвосте животного запускался таймер. Когда животное взмахивало хвостом, источник света выключали и таймер останавливали. Порогом болевой чувствительности считают период времени между началом термальной стимуляции хвоста животного и реакцией отдергивания хвоста (латентный период отдергивания хвоста). Латентный период отдергивания хвоста зависит от места приложения светового стимула: время реакции снижается по мере удаления точки приложения стимула от основания хвоста. Методика проведения теста для определения болевой чувствительности требует, чтобы болевое воздействие было хорошо ощутимо для животного, но не оказывало повреждений [23]. Поэтому расстояние от основания хвоста до точки приложения светового стимула в нашем исследовании составляло 5 см, так как это конечная точка самой «чувствительной» первой трети хвоста (длина хвоста крысы составляет в среднем 15 см, она примерно равна длине тела 15.8 ± 5.5 см).

Статистическая обработка данных. Обработку данных осуществляли с помощью пакета статистических программ «STATISTICA release 7». Тип распределения исследуемых показателей и степень его близости к нормальному определяли по критериям Колмогорова – Смирнова и Лиллиефорса (Kolmogorov–Smirnov & Lilliefors test). Если распределение показателя соответствовало критерию нормальности, использовали однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) (для показателей в тестах РНО и tail flick test), а также однофакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями (one-way ANOVA with repeated measures) для % реакций замирания в тесте выработки условно-рефлекторной реакции страха. Последующее определение статистической значимости различий в средних значениях показателей проводили по post-hoc критерию Ньюмана – Кеулса (Newman–Keuls test). В случае несоответствия критерию нормальности применяли непараметрический аналог ANOVA – Kruskal-Wallis H test (one-way ANOVA by ranks) с последующим определением значимости различий между группами с использованием множественного сравнения (Multiple comparisons of mean ranks for all groups).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) показал отсутствие влияния фактора «диета матери» на длительность исследования правого объекта ($F_{(1, 20)} = 1.7, p = 0.2$), левого объекта ($H_{(1, 23)} = 0.2, p = 0.7$), а также на число подходов к правому ($F_{(1, 20)} = 1.3, p = 0.3$) и левому ($F_{(1, 20)} = 0.9, p = 0.4$) объекту в фазе ознакомления (предъявление двух одинаковых объектов). Эти показатели значимо не отличались у крыс линии WAG/Rij, рожденных матерями, потреблявшими МОД и КД ($p > 0.05$). Дисперси-

онный анализ также показал отсутствие значимых различий по времени исследования правого и левого объектов ($H_{(1,23)} = 0.1, p = 0.8$ – МОД и $H_{(1,23)} = 2.8, p = 0.1$ – КД) и по числу подходов к объектам ($F_{(1,20)} = 0.01, p = 0.9$ – МОД и $F_{(1,20)} = 0.1, p = 0.8$ – КД). Это свидетельствует о том, что исходное предпочтение правого или левого объекта у крыс линии WAG/Rij в обеих группах отсутствовало.

Для ИР1 в тестовой фазе 1 дисперсионный анализ показал значимость фактора «диета матери» ($H_{(1,23)} = 14.6, p < 0.01$). Крысы линии WAG/Rij, рожденные матерями, потреблявшими МОД, \approx в 1.8 раз дольше ($p < 0.05$) исследовали незнакомый объект (15.7 ± 2.1 с), чем крысы, рожденные матерями, потреблявшими КД (8.6 ± 2.1 с). Знакомый объект, напротив, животные, рожденные матерями, потреблявшими МОД, исследовали \approx в 1.6 раз меньше (17.3 ± 3.7 с) по сравнению с животными контрольной группы (27.6 ± 3.7 с) ($p < 0.05$). Вследствие этого ИР1 у крыс линии WAG/Rij, рожденных матерями, потреблявшими МОД, был значимо больше, чем у крыс, рожденных матерями, потреблявшими КД (рис. 1, T2). По числу подходов к правому ($F_{(1,20)} = 0.3, p = 0.6$) и левому ($F_{(1,20)} = 1.4, p = 0.3$) объекту, а также по числу переходов между фигурами ($F_{(1,20)} = 0.8, p = 0.4$), характеризующих двигательную активность животных в этом тесте, различий между группами не наблюдали.

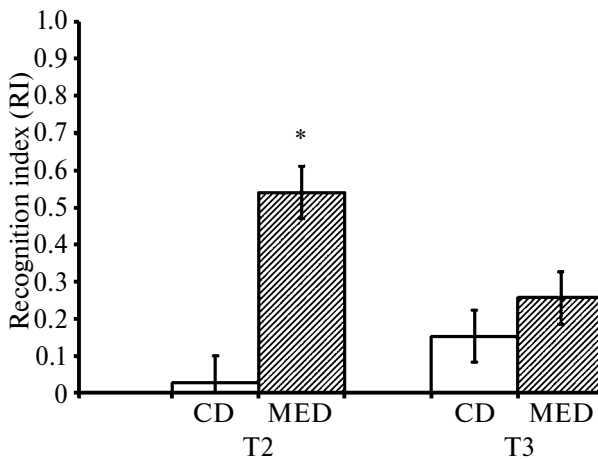


Рис. 1. Индекс распознавания нового объекта через 1 ч (ИР 1 – в тестовую фазу 1, T2) и через 24 ч (ИР 2 – в тестовую фазу 2, T3) после предъявления двух одинаковых объектов. CD – контрольная диета, MED – метилобогаченная диета. * $p < 0.05$ – у крыс линии WAG/Rij, рожденных матерями, потреблявшими МОД, по сравнению с крысами линии WAG/Rij, рожденными матерями, потреблявшими КД.

В отличие от ИР1 в тестовой фазе 1, для индекса распознавания в тестовой фазе 2 (ИР2) дисперсионный анализ показал отсутствие значимости факторов «диета матери» ($F_{(1,20)} = 0.9, p = 0.5$). Длительность исследования как незнакомого ($F_{(1,20)} = 1.7, p = 0.2$), так и знакомого объекта ($F_{(1,20)} = 0.1, p = 0.8$) значимо не отличалась у крыс экспериментальной группы по сравнению с контрольной. Вследствие этого межлинейные различия по ИР2 отсутствовали (рис. 1, T3). Крысы линии WAG/Rij, рожденные матерями, потреблявшими МОД, не отличались от животных контрольной группы также ни по числу подходов к правому ($F_{(1,20)} = 0.1, p = 0.9$) или левому ($F_{(1,20)} = 0.4, p = 0.5$) объекту, ни по числу переходов между объектами ($F_{(1,20)} = 0.1, p = 0.7$).

Таблица 1. Показатели поведения у крыс линии WAG/Rij в фазе адаптации в тесте РНО

Показатели поведения		КД	МОД
Число выходов в центр		1.2 ± 0.3	2.5 ± 0.3*
Число стоек без опоры		5.3 ± 1.1	10.5 ± 1.1 ⁺
Число стоек с опорой		4.5 ± 1.3	4.8 ± 1.3
Число реакций груминга	Короткие	0.5 ± 0.3	1.4 ± 0.3 ⁺
	Длинные	1.6 ± 0.2	1.6 ± 0.2
Число болюсов		1.5 ± 0.4	0.9 ± 0.4

КД – контрольная диета, МОД – метилобогатая диета. * $p < 0.05$ – у крыс линии WAG/Rij, рожденных матерями, потреблявшими МОД, по сравнению с крысами линии WAG/Rij, рожденными матерями, потреблявшими КД; ⁺ $0.05 < p < 0.1$ (тенденция).

Во время фазы адаптации между крысами экспериментальной и контрольной группы не наблюдали различий по числу стоек с опорой ($F_{(1,20)} = 0.1, p = 0.9$), по числу длинных реакций груминга ($F_{(1,20)} = 0.1, p = 0.9$) и по числу болюсов ($F_{(1,20)} = 1.1, p = 0.3$). Различия между крысами экспериментальной и контрольной группы обнаружены по такому важному показателю исследовательской мотивации, как число выходов в центр арены ($F_{(1,20)} = 12.5, p = 0.01$). У крыс, рожденных матерями, потреблявшими МОД (2.5 ± 0.3), этот показатель был \approx в 2 раза больше, чем у животных, рожденных матерями, потреблявшими КД (1.2 ± 0.3). Различия между группами по другому показателю исследовательской мотивации, такому как число стоек без опоры ($F_{(1,20)} = 2.7, p = 0.07$), было на уровне тенденции (у крыс, рожденных матерями, потреблявшими МОД, этот показатель был больше по сравнению с контрольной группой). Наблюдали также тенденцию к увеличению числа коротких реакций груминга ($F_{(1,20)} = 3.9, p = 0.06$) (табл. 1).

Тест выработки условно-рефлекторной реакции страха ANOVA с повторными измерениями показал значимость фактора «день эксперимента» (1-й день – обучение, 2-й день – тестирование) ($F_{(1,20)} = 23.7, p < 0.001$), а также значимость взаимодействия факторов «день эксперимента» и «диета матери» ($F_{(1,20)} = 13.1, p < 0.01$) для % реакций замирания при помещении в камеру (до действия звука). Влияние фактора «диета матери» было незначимым ($F_{(1,20)} = 1.2, p = 0.2$). У крыс, рожденных матерями, потреблявшими МОД (25.4 ± 5.2 – первый день тестирования; 67.1 ± 6.6 – второй день тестирования), также как и у крыс линии WAG/Rij, рожденных матерями, потреблявшими КД (33.9 ± 5.2 – первый день тестирования; 63.9 ± 6.6 – второй день тестирования), % реакций замирания при повторном тестировании (при помещении в камеру без действия звука) значимо возрастал, что указывает на выработку условной эмоциональной реакции на контекст – contextual fear memory (рис. 2).

Для % реакций замирания при действии сигнального раздражителя – звука показана значимость фактора «день эксперимента» ($F_{(1,20)} = 14.2, p < 0.001$), а также значимость взаимодействия факторов «день эксперимента» и «диета матери» ($F_{(1,20)} = 76.4, p < 0.001$). Влияние фактора «диета матери» также было незначимым ($F_{(1,20)} = 0.1, p = 0.9$). У крыс, рожденных матерями, потреблявшими МОД (25.7 ± 5.6 – первый день тестирования; 82.5 ± 5.6 – второй день тестирования), также как и у животных, рожденных матерями, потреблявшими КД (44.0 ± 8.1 – первый день тестирования; 82.7 ± 8.1 – второй день тестирования), % реакций замирания при повторном тестировании (при помещении в камеру при действии звука) значимо возрастал, что указывает на выработку условной эмоциональной реакции страха на сигнальный раздражитель – cued fear memory (рис. 2).

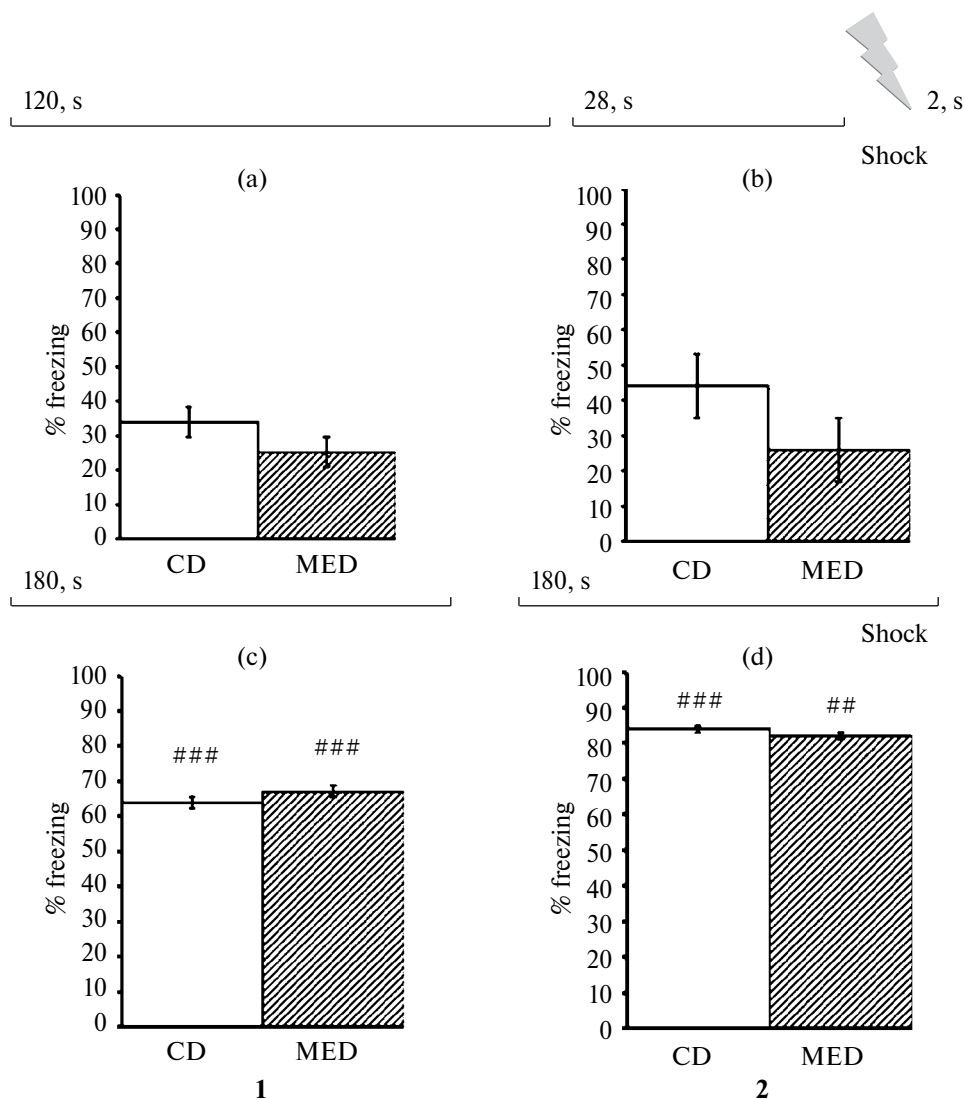


Рис. 2. Влияние МОД матери на выработку условно-рефлекторной реакции страха у крыс линии WAG/Rij. % реакций замирания в фоне во время обучения (а) и тестирования (с). % реакций замирания на условный стимул (звук) при обучении (б) и тестировании (д). По вертикали – % реакций замирания. 1 – % реакций замирания при помещении в камеру без действия звука (контекст), 2 – % реакций замирания при действии звука (сигнальный раздражитель). Размещенные над графиками серые линии, ограниченные с двух сторон, показывают каждую фазу теста с указанием их длительности. ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ – в день тестирования (2-й день) по сравнению с днем обучения (1-й день).

По данным однофакторного дисперсионного анализа, фактор «диета матери» не оказал значимого эффекта на порог болевой чувствительности ($F_{(1, 20)} = 1.8, p = 0.2$) в тесте отдергивания хвоста. У крыс, рожденных матерями, потреблявшими МОД (2.8 ± 0.4 с), порог болевой чувствительности значимо не отличался от данного показателя у животных, рожденных матерями, потреблявшими КД (3.5 ± 0.4 с) ($p = 0.2$) (рис. 3).

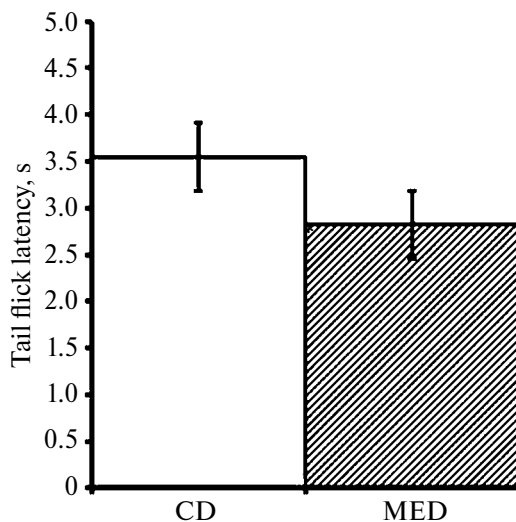


Рис. 3. Влияние МОД матери на болевую чувствительность у крыс линии WAG/Rij (латентный период отдергивания хвоста, tail flick latency). CD – контрольная диета, MED – метилобогатая диета.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В фазе ознакомления в тесте РНО ни экспериментальная, ни контрольная группа животных не проявляла предпочтение правого или левого объекта. Это говорит о том, что было выполнено одно из важнейших условий проведения теста РНО – отсутствие выраженного исходного предпочтения одной из двух одинаковых фигур.

В тестовой фазе 1 у крыс, рожденных матерями, потреблявшими МОД, ИР1 был значительно больше, чем у животных, рожденных матерями, потреблявшими КД. Это свидетельствует о том, что МОД оказала благоприятное воздействие на эпизодическую память у крыс в фазу тестирования 1, когда незнакомый объект предьявлялся через 1 ч после ознакомления животных с двумя одинаковыми объектами (фаза ознакомления). В тестовой фазе 2 у крыс экспериментальной группы не было обнаружено различий в ИР2 по сравнению с крысами контрольной группы. Вероятно, на второй день тестирования интерес к исследованию объектов у обеих групп животных снижается в одинаковой степени. Поэтому можно сделать вывод о том, что МОД не оказывала влияние на эпизодическую память у крыс в фазу тестирования 2 (через 24 ч после фазы ознакомления). Показано, что у исследуемых животных наибольшая длительность исследования нового объекта в тесте РНО наблюдается в начале тестовой фазы 1. Впоследствии данный показатель уменьшается, и в случае, если тестовая фаза 1 длится продолжительное время (разное для разных видов животных), незнакомый объект для исследуемого животного становится неотличим от знакомого [24]. В тестовой фазе 2 – через 24 ч после фазы ознакомления – большинство животных отличает новый предмет от знакомого [21, 25]. Однако межгрупповые различия в ИР2 обнаруживаются в большинстве случаев после фармакологических воздействий [21, 26]. Так, введение кофеина предотвратило вызванное скополамином нарушение эпизодической памяти, которая оценивалась спустя 1 и 24 ч после фазы ознакомления [26]. В нашей предыдущей работе было показано, что антиабсантный препарат этосуксимид подавлял пик-волновую активность и увеличивал как ИР1, так и ИР2 [17].

Межгрупповое различие ИР1 в тестовой фазе 1 достигалось за счет более длительного исследования незнакомого объекта животными экспериментальной группы и, напротив, более длительного исследования знакомого объекта животными контрольной группы [17, 21]. Помимо времени (длительности) исследования объектов, мы регистрировали число подходов к знакомому и незнакомому объекту, а также число переходов между объектами, которые служили показателями двигательной активности. Различия в двигательной активности отсутствовали у крыс, рожденных матерями, потреблявшими МОД по сравнению с КД как в тестовой фазе 1, так и в тестовой фазе 2. Это указывает на то, что выявленные различия в эпизодической памяти не могут быть связаны с изменением двигательной активности животных.

В нашей предыдущей работе [17] было показано, что у крыс линии WAG/Rij в возрасте 2 месяцев отсутствие хорошо выраженной пик-волновой активности и коморбидной депрессии сопровождалось отсутствием нарушений эпизодической памяти через 1 и 24 ч после фазы ознакомления в тесте РНО. В возрасте 6 месяцев крысы линии WAG/Rij демонстрировали нарушение эпизодической памяти в тестовой фазе 1 по сравнению со здоровыми крысами Wistar, что, вероятно, связано с проявлением в этом возрасте хорошо выраженных ПВР на ЭЭГ и симптомов депрессивноподобного поведения. Однако у 6-месячных животных не наблюдали значимых межлинейных различий в ИР2 – показателе эпизодической памяти, регистрируемом через 24 ч после фазы ознакомления [16, 17].

Тест РНО не требует предварительного обучения животных, он основан на врожденном исследовательском поведении грызунов. Важным проявлением исследовательского поведения является внимание – избирательная направленная активность животного на исследование незнакомого объекта [17, 21]. В нашей предыдущей работе [17] показано, что отсутствие избирательной направленности на исследование незнакомого объекта (отсутствие предпочтения незнакомого объекта по сравнению со знакомым) косвенно можно расценивать как дефицит внимания у крыс линии WAG/Rij. В настоящей работе показано, что животные экспериментальной группы дольше исследовали новый объект в Т2, и разница в ИР1 достигается не за счет числа подходов к незнакомому объекту, а за счет более длительного исследования нового объекта в Т2. Это может свидетельствовать о том, что МОД матери в перинатальном периоде оказывает благоприятное влияние на внимание у взрослого потомства крыс линии WAG/Rij.

Было высказано предположение [17] о том, что возможной причиной нарушений эпизодической памяти у крыс линии WAG/Rij может быть пониженный уровень исследовательской мотивации – одного из наиболее заметных поведенческих признаков депрессивных нарушений у животных. Как было показано ранее, стойки без опоры и выходы в центр арены во время стадии адаптации являются надежными поведенческими маркерами успешности последующего распознавания нового объекта в тесте РНО (по крайней мере в тестовой фазе 1, Т2). Так, обнаружена положительная корреляция между показателем эпизодической памяти в тесте РНО (ИР1) и такими показателями исследовательской мотивации, как число выходов в центр арены и число стоек без опоры [17]. В настоящей работе показано, что число выходов в центр арены и число стоек без опоры (на уровне тенденции) было больше у потомства крыс линии WAG/Rij, рожденных матерями, потреблявшими МОД по сравнению с КД. Таким образом, можно говорить о том, что МОД матери повышает исследовательскую мотивацию, что, наряду с улучшением внимания, улучшает эпизодическую память. Стоит отметить, что благоприятное влияние МОД матери на результаты теста РНО нельзя объяснить ее влиянием на уровень тревожности крыс линии WAG/Rij. В ранее проведенных тестах свето-темнового выбора, открытого поля и приподнятого крестообразного лабиринта различий в уровне тревожности между потомством крыс линии WAG/Rij, рожденным матерями, потреблявшими МОД или КД, не обнаружено [4, 5].

Действие МОД матери можно сравнить с эффектами антиабсансного препарата этосуксимида. Данный препарат, как было показано ранее, не обладает собственной анти-

депрессантной активностью [18, 19]. Этосуксимид подавлял симптомы АЭ и коморбидной депрессии, улучшал эпизодическую память в тесте РНО и повышал оба показателя исследовательской мотивации – число выходов в центр арены и число стоек без опоры у 6-месячных крыс линии WAG/Rij [17]. МОД матери во время перинатального периода также уменьшает проявление симптомов АЭ (уменьшает число ПВП без изменения их длительности) и коморбидной депрессии, повышает уровень исследовательской мотивации, исходно низкий у крыс линии WAG/Rij [17]. Эти данные свидетельствуют о том, что благоприятный эффект МОД матери на эпизодическую память в тесте РНО связан с коррекцией патологического фенотипа крыс линии WAG/Rij (симптомов АЭ и коморбидной депрессии), в том числе пониженной исследовательской мотивации [17].

У крыс линии WAG/Rij, рожденных матерями, потреблявшими МОД, так же, как и у крыс этой линии, рожденных матерями, потреблявшими КД, % реакций замиранья при повторном тестировании (при помещении в камеру без действия звука) значимо возростал по сравнению с первым тестированием. Это указывает на выработку условной эмоциональной реакции страха на контекст – contextual fear memory. Аналогичная картина наблюдалась при повторном тестировании при помещении в камеру при действии звука: % реакций замиранья значимо возростал у животных экспериментальной и контрольной группы на второй день тестирования по сравнению с первым. Это значит, что обе группы крыс линии WAG/Rij – потомство матерей, потреблявших МОД и КД, выработали условную эмоциональную реакцию страха на контекст и сигнальный раздражитель (звук), а значимые различия между группами отсутствовали.

Учитывая тот факт, что МОД матери не оказала значимого эффекта на порог болевой чувствительности у крыс, можно сделать вывод о том, что реакция на негативное подкрепление была практически одинаковой у крыс линии WAG/Rij, рожденных матерями, потреблявшими МОД и КД. У крыс исследуемой линии ранее было выявлено нарушение долгосрочной памяти в тестах выработки условного рефлекса пассивного [1] и активного [13] избегания в 5–6-месячном возрасте. Однако, по данным других авторов, в тесте пассивного избегания у крыс линии WAG/Rij в возрасте 5–6 месяцев не было обнаружено дефицита обучения и памяти. Нарушение долговременной памяти в этом тесте было показано у этих животных только в возрасте 13 месяцев [27].

В клинических исследованиях последних десятилетий представлены многочисленные данные о нарушениях в сфере внимания и особенно памяти при депрессии. Нарушения этих когнитивных функций наиболее ярко обнаруживаются при оперировании эмоционально окрашенными стимулами (феномены негативного сдвига и снижения чувствительности к положительной обратной связи) [28–34]. Для больных депрессией характерна пониженная чувствительность к поощрению, а также неадаптивный ответ на наказание [28–30]. Это проявляется в вероятностных задачах, основанных на принципах азартной игры (существуют наказание за ошибку и поощрение за верный ответ). Здоровые испытуемые демонстрируют сдвиг в сторону поощряемых ответов, в то время как при субклинических депрессиях и депрессивных расстройствах этот сдвиг минимизирован [28, 29].

Негативный сдвиг – избирательно повышенное внимание к потенциально угрожающим или фрустрирующим стимулам. Метаанализ показал, что пациенты с депрессией запоминают примерно на 10% больше негативных слов, чем позитивных [30]. Имеются данные о гиперреактивности больных на ошибку и негативную обратную связь, что нарушает их дальнейшую деятельность [31]. Вместе с тем имеются данные и об отсутствии этих признаков [31]. Нейровизуализационные исследования выявили аномальное возрастание нейронного ответа в роstralной части поясной извилины [32] и в миндалине [33] в ответ на предъявление испытуемым негативно окрашенной информации. Устойчивый сдвиг в сторону усиленной обработки негативной информации при этом объясняют недостаточной регуляцией активности со стороны префронтальной коры [34]. Примечательно, что гипофункция дофаминергической системы, выявленная у крыс линии WAG/Rij,

начинается со снижения уровня дофамина в префронтальной коре в возрасте 2-х месяцев, когда фенотипические проявления АЭ [1] и депрессии [13] еще отсутствуют. В дальнейшем гиподипсия дофаминергической системы мозга у крыс линии WAG/Rij нарастает, что сопровождается усилением симптомов АЭ и депрессии [1].

У пациентов с депрессией [31], так же, как и у моделей депрессии на животных, выявление феномена негативного сдвига вызывает некоторые трудности. У крыс линии WAG/Rij результаты тестов с использованием негативного подкрепления и их интерпретация остаются противоречивыми до настоящего времени [1, 13, 27]. Внимание к потенциально угрожающим стимулам, вызывающим страх, и целенаправленная адекватная реакция на них играют важнейшую роль в адаптации субъекта к постоянно меняющимся условиям окружающей среды. Эта адаптивная функция связана с возможностью возникновения ассоциаций между нейтральными стимулами, включая контекст, и негативным событием. Отсюда следует вывод о том, что выявить нарушения памяти о страхе при обучении с отрицательным подкреплением у животных моделей депрессии практически невозможно, если оценивать состояние памяти о страхе однократно. Одна из известных экспериментальных моделей депрессии – мыши линии *Disc1-Q31L* несут точечную мутацию во 2-м экзоне гена *Disc1* (*Disrupted-In-Schizophrenia-1*), приводящую к замене глицина на лейцин в положении 31-й аминокислоты в белке DISC1 [35]. Для этой мутантной линии показано нарушение процесса угашения условной реакции пассивного избегания. У самцов мышей линии *Disc1-Q31L* достижение полного угашения было выявлено только во время 19-го тестирования (у контрольных мышей – во время 10-го тестирования). У самок линии *Disc1-Q31L* не было обнаружено угашения условной реакции пассивного избегания в течение всех 24 дней теста [36]. Интересно, что различия в выработке условной реакции пассивного избегания между мутантными (депрессивными) и контрольными мышами не обнаружены. Известно, что мутация *Disc1-Q31L* вызывает истощение основных нейротрансмиттеров (дофамина, серотонина и норадреналина), что проявляется большим спектром депрессивно-подобных нарушений поведения, в том числе нарушением угашения условной реакции пассивного избегания [35, 36]. Можно предположить, что влияние МОД матери на память об условно-рефлекторном страхе могло бы быть выявлено у крыс линии WAG/Rij при исследовании угашения условной реакции страха.

Таким образом, в настоящей работе впервые установлено, что МОД матери во время перинатального периода улучшает эпизодическую память в тесте РНО, основанном на врожденном исследовательском поведении, но не влияет на память о страхе, обусловленном негативным подкреплением, у взрослого потомства крыс линии WAG/Rij.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. МОД матери в перинатальном периоде улучшает эпизодическую память у взрослого потомства крыс линии WAG/Rij в тесте РНО, оцениваемую через 1 ч после предъявления двух одинаковых объектов.
2. Предполагается, что благоприятный эффект МОД матери на эпизодическую память у потомства крыс линии WAG/Rij основан на повышении исследовательской мотивации.
3. МОД матери не влияет на память об условно-рефлекторном страхе, обусловленном негативным подкреплением: обе группы крыс линии WAG/Rij, рожденных матерями, потреблявшими МОД и КД, выработали условную эмоциональную реакцию страха на контекст и сигнальный раздражитель (звук). Значимые различия между группами не обнаружены.
4. МОД матери не оказала значимого эффекта на порог болевой чувствительности у крыс линии WAG/Rij.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

WAG/Rij – Wistar Albino Glaxo/Rijswijk

АЭ – абсанс-эпилепсия

ПВР – пик-волновые разряды

МОД – метилобогатая диета

КД – контрольная диета

РНО – распознавание нового объекта

ЗО – знакомый объект

НО – незнакомый объект

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (К.Ю.С.); постановка экспериментов, сбор данных (Е.А.Ф., А.Б.Ш.); обработка данных (Е.А.Ф.); написание и редактирование рукописи (Е.А.Ф., К.Ю.С.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 20–015–00327а). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по этике Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, протокол № 5 от 02.12.2020 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sarkisova K, van Luijteleaar G* (2011) The WAG/Rij strain: a genetic animal model of absence epilepsy with comorbidity of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 35(4): 854–876.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.11.010>
2. *Sarkisova KY, Gabova AV* (2018) Maternal care exerts disease-modifying effects on genetic absence epilepsy and comorbid depression. *Genes Brain Behav* 17(7): e12477.
<https://doi.org/10.1111/gbb.12477>
3. *Sarkisova K, van Luijteleaar G* (2022) The impact of early-life environment on absence epilepsy and neuropsychiatric comorbidities. *IBRO Neurosci Rep* 13: 436–468.
<https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2022.10.012>
4. *Sarkisova KY, Fedosova EA, Shatskova AB, Narkevich VB, Kudrin VS* (2022) Maternal Methyl-Enriched Diet Increases Dopaminergic Tone of the Mesolimbic Brain System in Adult Offspring of WAG/Rij Rats. *Dokl Biol Sci* 506 (1): 145–149.
<https://doi.org/10.1134/S001249662205012X>
5. *Sarkisova KY, Fedosova EA, Shatskova AB, Gabova AV, Rudenok MM, Stanishevskaya VA, Slobinsky PA* (2021) Maternal methyl- enriched diet alters absence seizures, depression- like comorbidity and DNMT1, HCN1 and TH gene expression in adult offspring. *Epilepsia* 62(S3): 1–2.
<https://doi.org/10.29003/m2311.sudak.ns2021-17/334-335>
6. *Van den Veyver IB* (2002) Genetic effects of methylation diets. *Annu Rev Nutr* 22: 255–282.
<https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.22.010402.102932>

7. *Herbeck YE, Gulevich RG, Amelkina OA, Plyusnina IZ, Oskina IN* (2010) Conserved methylation of the glucocorticoid receptor gene exon 1(7) promoter in rats subjected to a maternal methyl-supplemented diet. *Int J Dev Neurosci* 28(1): 9–12.
<https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2009.10.004>
8. *Poletaeva II, Surina NM, Ashapkin VV, Fedotova IB, Merzalov IB, Perepelkina OV, Pavlova GV* (2014) Maternal methyl-enriched diet in rat reduced the audiogenic seizure proneness in progeny. *Pharmacol Biochem Behav* 127: 21–26.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.09.018>
9. *Jaenisch R, Bird A* (2003) Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet* 33 Suppl: 245–254.
<https://doi.org/10.1038/ng1089>
10. *Cheng D, Yan X, Gao Z, Xu K, Zhou X, Chen Q* (2017) Common and distinctive patterns of cognitive dysfunction in children with benign epilepsy syndromes. *Pediatr Neurol* 72: 36–41.
<http://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2016.12.005>
11. *Czerwińska A, Pawłowski T* (2020) Cognitive dysfunctions in depression – significance, description and treatment prospects. *Psychiatr Pol* 54(3): 453–466.
<https://doi.org/10.12740/PP/OnlineFirst/105415>
12. *Di Sciascio G, Furio MA, Palumbo C* (2015) Cognitive deficits in depressive illness: how many and which instruments to identify them? *Riv Psichiatr* 50(3): 110–117.
<https://doi.org/10.1708/1910.20790>
13. *Fedosova EA, Sarkisova KYu, Kudrin VS, Narkevich VB, Bazyan AS* (2015) Behavioral and Neurochemical Characteristics of Two Months Old WAG/Rij Rats with Genetic Absence Epilepsy. *Int J Clin Exp Neurol* 3(2): 32–44.
https://doi.org/10.12691/IJCN-3-2-2_10
14. *Malyshev AV, Zakharov AM, Sarkisova KYu, Dubynin VA* (2012) Reverse learning in WAG/Rij rats with depression-like behavior. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im IP Pavlova* 62(5): 580–590.
<https://doi.org/10.1007/s11055-013-9869-y>
15. *Федосова ЕА, Шацкова АБ, Саркисова КЮ* (2022) Этосуксимид улучшает когнитивную гибкость при реверсивном обучении у крыс линии WAG/Rij с абсанс-эпилепсией и коморбидной депрессией. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 108(1): 36–58 [*Fedosova EA, Shatskova AB, Sarkisova KY* (2022) Ethosuximide improves cognitive flexibility during reversal learning in WAG/Rij rats with absence epilepsy and comorbid depression. *Russ J Physiol* 108(1): 36–58. (In Russ)].
https://doi.org/10.31857/S086981392201006X_11
16. *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>
17. *Fedosova EA, Shatskova AB, Sarkisova KY* (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(4): 501–512.
<https://doi.org/10.1007/s11055-021-01097-z>
18. *Sarkisova KYu, Kuznetsova GD, Kulikov MA, 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>
19. *Sarkisova KYu, Kulikov MA, Folomkina AA* (2011) Does antiabsence drug ethosuximide exert antidepressant effect? *Zh Vyssh Nerv Deiat Im IP Pavlova* 61(2): 227–235.
20. *Hänell A, Marklund N* (2014) Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research. *Front Behav Neurosci* 8: 252.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00252>
21. *Antunes M, Biala G* (2012) The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure and its modifications. *Cogn Process* 13: 93–110.
<https://doi.org/10.1007/s10339-011-0430-z>
22. *Pavlova IV, Rysakova MP, Zaichenko MI, Broshevitskaya ND* (2020) Behavior of Rats with High and Low Levels of Freezing in Defensive Situations and on Selection of Food Reinforcement. *Neurosci Behav Physiol* 50: 126–136.
<https://doi.org/10.1007/s11055-019-00878-x>
23. *Deuis J, Dvorakova L, Vetter I* (2017) Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Front Mol Neurosci* 10.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>
24. *Broadbent NJ, Gaskin S, Squire LR, Clark RE* (2010) Object recognition memory and the rodent hippocampus. *Learn Mem* 17: 5–11.
<https://doi.org/10.1101/lm.1650110>

25. Shimoda S, Ozawa T, Ichitani Y, Yamada K (2021) Long-term associative memory in rats: Effects of familiarization period in object-place-context recognition test. *PLoS One* 16(7): e0254570. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254570>
26. Botton PH, Costa MS, Ardaís AP, Mioranza S, Souza DO, da Rocha JB, Porciú'ncula LO (2010) Caffeine prevents disruption of memory consolidation in the inhibitory avoidance and novel object recognition tasks by scopolamine in adult mice. *Behav Brain Res* 214: 254–259. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.05.034>
27. Karson A, Utkan T, Balç F, Arıcıoğlu F, Ates N (2012) Age-dependent decline in learning and memory performances of WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Behav Brain Funct* 8: 51. <http://doi.org/10.1186/1744-9081-8-51>
28. Kunisato Y, Okamoto Y, Ueda K, Onoda K, Okada G, Yoshimura S, Suzuki S, Samejima K, Yamawaki S (2012) Effects of depression on reward-based decision making and variability of action in probabilistic learning. *J Behav Ther Exp Psychiatry* 43(4): 1088–1094. <https://doi.org/10.1016/j.jbtep.2012.05.007>
29. Henriques JB, Davidson RJ (2000) Decreased responsiveness to reward in depression. *Cogn Emot* 14(5): 711–724. <https://doi.org/10.1080/02699930050117684>
30. Dai Q, Feng Z (2012) More excited for negative facial expressions in depression: evidence from an event-related potential study. *Clin Neurophysiol* 123(11): 2172–2179. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2012.04.018>
31. Eshel N, Roiser JP (2010) Reward and punishment processing in depression. *Biol Psychiatry* 68(2): 118–124. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.01.027>
32. Fales CL, Barch DM, Rundle MM, Mintun MA, Snyder AZ, Cohen JD, Mathews J, Sheline YI (2008) Altered emotional interference processing in affective and cognitive-control brain circuitry in major depression. *Biol Psychiatry* 63(4): 377–384. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.06.012>
33. Dannlowski U, Ohrmann P, Bauer J, Kugel H, Arolt V, Heindel W, Kersting A, Baune BT, Suslow T (2007) Amygdala reactivity to masked negative faces is associated with automatic judgmental bias in major depression: a 3 T fMRI study. *J Psychiatry Neurosci* 32(6): 423–429.
34. Clark L, Chamberlain SR, Sahakian BJ (2009) Neurocognitive mechanisms in depression: implications for treatment. *Annu Rev Neurosci* 32: 57–74. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.31.060407.125618>
35. Clapcote SJ, Lipina TV, Millar JK, Mackie S, Christie S, Ogawa F, Lerch JP, Trimble K, Uchiyama M, Sakuraba Y, Kaneda H, Shiroishi T, Houslay MD, Henkelman RM, Sled JG, Gondo Y, Porteous DJ, Roder JCC (2007) Behavioral Phenotypes of Disc1 Missense Mutations in Mice. *Neuron* 54: 387–402. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.04.015>
36. Чижова НД, Смирнова КВ, Дубровина НИ, Калугев АВ, Амстиславская ТГ (2023) Особенности угашения памяти о страхе у самцов и самок мышей Disc1-Q31L. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 109(12): 1898–1907. [Chizhova ND, Smirnova KV, Dubrovina NI, Kaluev AV, Amstislavskaya TG (2023) Peculiarities of Fear Memory Disturbance in Male and Female Disc1-Q31L Mice. *Russ J Physiol* 109(12): 1898–1907. (In Russ)]. <https://doi.org/10.31857/S0869813923120038>

Maternal Methyl-Enriched Diet Improves Episodic Memory and Does Not Affect the Conditioned Fear Memory in Offspring of WAG/RIJ Rats

E. A. Fedosova^{a,*}, A. B. Shatskova^a, and K. Yu. Sarkisova^a

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS, Moscow, Russia*

**e-mail: ekaterina5fedosova@rambler.ru*

The purpose of this study is to find out what effect the maternal methyl-enriched diet (MED) in the perinatal period exerts on cognitive functions in adult offspring of WAG/Rij rats, a genetic model of absence epilepsy with comorbid depression. Cognitive functions (learning and memory) were evaluated in tests of a novel object recognition (NOR) and a conditioning of fear memory (fear conditioning). The experiments were carry out on 6-months old male WAG/Rij rats. The mothers of the experimental group fed MED, and the mothers of the control group fed the control diet. The NOR test was used to assess episodic memory. This test is based on innate exploratory motivation (novelty preference motivation), which is usually reduced in depression. The conditioning of fear memory is the classic Pavlovian defensive conditioned reflex, manifested in the form of freezing reactions in response to negative reinforcement (electrical stimulation of paws). In the NOR test, in rats of the experimental group the recognition index (a measure of episodic memory), as well as the number of entries to the center of the arena (a measure of explorative motivation) were significantly higher compared with corresponding measures in the control group. However, no intergroup differences were found in the manifestation of the conditioned fear memory (% of freezing reactions) to the context and sound signal. The results indicate that the maternal MED improves episodic memory in the NOR test, but does not affect the conditioned fear memory associated with context and sound signal in adult offspring of WAG/Rij rats.

Keywords: absence epilepsy, comorbid depression, cognitive function, exploratory motivation, novel object recognition, episodic memory, fear memory, pain sensitivity, maternal methyl-enriched diet, WAG/Rij rat