

mgr inż. Rafał Polowy

Wpływ czynników wrodzonych i doświadczeń nabytych na zachowanie szczurów w odpowiedzi na odtwarzane sygnały ultradźwiękowe

Rozprawa na stopień naukowy doktora
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: dr hab. Robert K. Filipkowski
Promotor pomocniczy: dr Krzysztof H. Olszyński



Postępowanie w sprawie nadania stopnia doktora
w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej
im. Mirosława Mossakowskiego PAN

Warszawa, rok 2024

Wykonanie niniejszej pracy było możliwe dzięki wsparciu finansowemu udzielonemu przez:

Narodowe Centrum Nauki (2015/19/B/NZ4/03393),

Europejski Fundusz Społeczny (EFS-POWR.03.02.00-00-1028/17-00).

Chciałbym podziękować mojemu promotorowi dr. hab. Robertowi
Kubie Filipkowskiemu za dziesięć lat przewodnictwa
w świecie naukowym i owocną współpracę.

Dziękuję mojemu promotorowi pomocniczemu dr. Krzysztofowi
Hubertowi Olszyńskiemu za wnikliwe uwagi i pomoc
w przygotowaniu niniejszej rozprawy.

Dziękuję dr Agnieszce Dianie Wardak za lata współdzielone na
studiach doktoranckich i pomoc w przeprowadzeniu
doświadczeń behawioralnych.

Dziękuję za pomoc podczas przeprowadzania warunkowania strachu
dr Anecie Wiktorii Grymanowskiej, dr Agnieszce Dianie
Wardak oraz dr. Krzysztofowi Hubertowi Olszyńskiemu.

Dziękuję także Raimundowi Spechtowi za udzielone konsultacje
techniczne.

Wykaz publikacji doktoranta

Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej

1. Olszyński, K. H., **Polowy R.**, Wardak A. D., Grymanowska A. W., Zieliński J., Filipkowski R. K. Spontaneously hypertensive rats manifest deficits in emotional response to 22-kHz and 50-kHz ultrasonic playback. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2023, 120: 110615, IF = 5,3;
2. Olszyński, K. H., **Polowy R.**, Wardak A. D., Grymanowska A. W., Filipkowski R. K. Increased vocalization of rats in response to ultrasonic playback as a sign of hypervigilance following fear conditioning. *Brain Sci.*, 2021, 11(8): 970, IF = 2,7;

Publikacje niewchodzące w skład rozprawy doktorskiej, w których badano wokalizacje ultradźwiękowe

3. Olszyński K. H., **Polowy R.**, Wardak A. D., Łaska I. A., Grymanowska A. W., Puławski W., Gawryś O., Koliński M., Filipkowski R. K. Rats emit aversive 44-kHz ultrasonic vocalizations during prolonged Pavlovian fear conditioning. *eLife*, 2023, 12:RP88810, IF = 6,4 (**równorzędny pierwszy autor**);
4. Wardak A. D., Olszyński K. H., **Polowy R.**, Matysiak J., Filipkowski R. K. Rats that learn to vocalize for food reward emit longer and louder appetitive calls and fewer short aversive calls. *PLoS One*, 2024, 19(2): e0297174, IF = 2,9;
5. Olszyński K. H., **Polowy R.**, Małz M., Boguszewski P. M., Filipkowski R. K. Playback of alarm and appetitive calls differentially impacts vocal, heart-rate, and motor response in rats. *iScience*, 2020, 23(10): 101577, IF = 4,6;
6. Gąssowska-Dobrowolska M., Cieślik M., Czapski G. A., Jęsko H., Frontczak-Baniewicz M., Gewartowska M., Dominiak A., **Polowy R.**, Filipkowski R. K., Babiec L., Adamczyk A. Prenatal exposure to valproic acid affects microglia and synaptic ultrastructure in a brain-region-specific manner in young-adult male rats: relevance to autism spectrum disorders. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, 21(10): 3576, IF = 4,9;
7. Cieślik M., Gąssowska-Dobrowolska M., Jęsko H., Czapski G. A., Wilkaniec A., Zawadzka A., Dominiak A., **Polowy R.**, Filipkowski R. K., Boguszewski P. M., Gewartowska M., Frontczak-Baniewicz M., Sun G. Y., Beversdorf D. Q., Adamczyk A. Maternal immune activation induces neuroinflammation and cortical synaptic deficits in the adolescent rat offspring. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, 21(11): 4097, IF = 4,9;
8. Robakiewicz I., Polak M., Rawska M., Alberski D., **Polowy R.**, Wytrychiewicz K., Syperek M., Matysiak J., Filipkowski R. K. Stimulus-seeking in rats is accompanied by increased c-Fos expression in hippocampal CA1 as well as short 22 kHz and flat 50 kHz calls. *Acta Neurobiol. Exp.*, 2019, 79(3): 309–317, IF = 1,4;
9. Ziemińska E., Toczyłowska B., Diamandakis D., Hilgier W., Filipkowski R. K., **Polowy R.**, Orzeł J., Gorka M., Łazarewicz J. W. Glutamate, glutamine and GABA levels in rat

brain measured using MRS, HPLC and NMR methods in study of two models of autism. *Front. Mol. Neurosci.*, 2018, 11: 418, IF = 3,5;

10. Ziemka-Nalecz M, Jaworska J, Sypecka J, **Polowy R.**, Filipkowski RK, Zalewska T. Sodium butyrate, a histone deacetylase inhibitor, exhibits neuroprotective/neurogenic effects in a rat model of neonatal hypoxia-ischemia. *Mol. Neurobiol.*, 2017, 54(7): 5300–5318, IF = 4,6;

Inne publikacje niewchodzące w skład rozprawy doktorskiej

11. Toczyłowska B., Ziemińska E., **Polowy R.**, Olszyński K. H., Łazarewicz J. W. NMR-based metabolomics of rat hippocampus, serum, and urine in two models of autism. *Mol. Neurobiol.*, 2022, 59(9): 5452–5475, IF = 4,6;
12. Popek M., Bobula B., Sowa J., Hess G., **Polowy R.**, Filipkowski R. K., Frontczak-Baniewicz M., Zabłocka B., Albrecht J., Zielińska M. Cortical synaptic transmission and plasticity in acute liver failure are decreased by presynaptic events. *Mol. Neurobiol.*, 2018, 55(2): 1244–1258, IF = 4,6;
13. Milewski K, Hilgier W, Fręsko I, **Polowy R.**, Podsiadłowska A, Zołocińska E, Grymanowska AW, Filipkowski RK, Albrecht J, Zielińska M. Carnosine reduces oxidative stress and reverses attenuation of righting and postural reflexes in rats with thioacetamide-induced liver failure. *Neurochem. Res.*, 2016, 41(1–2): 376–384, IF = 3,7;
14. Słowska A, **Polowy R.**, Golke A, Cymerys J. Role of cytoskeletal motor proteins in viral infection. *Postepy Hig. Med. Dosw.*, 2012, 66: 810–817, IF = 0,9.

Spis treści

Wykaz skrótów stosowanych w pracy	9
Streszczenie	11
Abstract	14
Innowacyjność rozprawy.....	16
1. Wstęp.....	17
1.1. USV szczurów	17
1.1.1. Charakterystyka USV 50-kHz.....	18
1.1.2. Charakterystyka USV 22-kHz.....	19
1.2. USV jako narzędzie badawcze	20
1.2.1. Zastosowanie playbacku USV i badanie odpowiedzi ultradźwiękowej szczurów	21
1.2.2. Wcześniejsze zastosowanie schematu playbacku opisanego w rozprawie	23
1.3. Czynniki wpływające na emisję USV	24
1.3.1. Zastosowanie FC w badaniu zachowania zwierząt	25
1.4. Zaburzenia emocjonalne i poznawcze w schizofrenii	28
1.4.1. Zwierzęce modele schizofrenii.....	29
1.4.2. Charakterystyka szczepu SHR	31
1.5. Podsumowanie	32
2. Cele pracy i hipotezy badawcze	33
3. Materiały i metody	34
3.1. Odtwarzanie sygnałów ultradźwiękowych (playback) szczurom poddanym FC	34
3.1.1. Warunki utrzymania zwierząt	34
3.1.2. Procedury chirurgiczne	35
3.1.3. Warunkowanie strachu (FC)	35
3.1.4. Odtwarzanie sygnałów ultradźwiękowych z głośnika (playback): konfiguracja sprzętu	37
3.1.5. Odtwarzanie sygnałów ultradźwiękowych z głośnika (playback): schemat.....	38
3.2. Playback sygnałów ultradźwiękowych u SHR przyjmujących chronicznie haloperidol	39
3.2.1. Warunki utrzymania zwierząt	39
3.2.2. Podawanie i monitorowanie przyjmowania roztworu leku.....	39
3.2.3. Odtwarzanie sygnałów z głośnika (playback): schemat	40
3.2.4. Test otwartego pola (OF)	40
3.2.5. Test rozpoznawania nowego obiektu (NOR)	41
3.2.6. Test interakcji społecznej (SI).....	41

3.2.7. Łaskotanie	42
3.3. Analiza zarejestrowanych danych	42
3.3.1. Analiza USV	42
3.3.2. Analiza zamierania	42
3.3.3. Analiza obrazu wideo	43
3.3.4. Analiza statystyczna	43
4. Wyniki	45
4.1. Wpływ doświadczeń nabytych: efekt FC	47
4.1.1. Wpływ FC na zachowanie szczurów Wistar podczas playbacku USV	51
4.2. Wpływ czynników wrodzonych: szczury SHR	66
4.2.1. Zachowanie SHR podczas treningu i testu FC	66
4.2.2. Zachowanie SHR podczas playbacku USV	67
4.3. Wpływ podania haloperidolu na zachowanie SHR	73
4.3.1. Podanie haloperidolu zwiększyło liczbę emitowanych USV w odpowiedzi na odtwarzanie USV 50-kHz	73
4.3.2. Podawanie haloperidolu nie wpłynęło na aktywność lokomotoryczną SHR w odpowiedzi na odtwarzane sygnały	75
4.3.3. Podawanie haloperidolu zmniejszyło aktywność lokomotoryczną SHR	76
5. Dyskusja	78
5.1. Podsumowanie wyników	78
5.2. Wpływ podania bodźców bólowych w treningu FC na późniejsze zachowanie szczurów	78
5.2.1. Charakterystyka pamięci i zmian biochemicznych wynikających z otrzymania wielu bodźców bólowych	79
5.2.2. Podobieństwa w zachowaniu podczas playbacku szczurów, które otrzymały 6 lub 10 szoków elektrycznych, do opisanego wcześniej behawioru szczurów chowanych pojedynczo	79
5.2.3. Porównanie otrzymanych wyników do uznanych zwierzęcych modeli zaburzeń	80
5.2.4. Podsumowanie	84
5.3. SHR jako model ADHD i schizofrenii	85
5.3.1. Problem doboru grupy kontrolnej dla SHR	85
5.3.2. Podobieństwa między zaburzeniami, których szczep SHR jest uznanym modelem, a schizofrenią	87
5.3.3. Podobieństwa między zachowaniami SHR a objawami schizofrenii u ludzi	87
5.3.4. Podsumowanie	93
5.4. Wpływ podawania haloperidolu na zachowanie SHR	93
5.4.1. Wpływ podawania haloperidolu na emisję USV przez SHR	93

5.4.2. Wpływ podawania haloperidolu na aktywność lokomotoryczną SHR w OF	95
5.4.3. Wpływ podawania haloperidolu na lęklliwość SHR w OF	96
5.4.4. Podsumowanie	98
5.5. Zastosowanie playbacku USV u SHR w badaniu SLB i poszukiwaniu nowych leków o działaniu przeciwpsychotycznym w porównaniu z innymi testami behawioralnymi	98
5.5.1. Test zaburzeń w komunikacji społecznej	99
5.5.2. Testy wycofania społecznego	99
5.5.3. Test zaburzeń oceny znaczenia bodźców	100
5.5.4. Testy niskiego afektu i anhedonii	101
5.5.5. Podsumowanie	102
5.6. Ograniczenia przeprowadzonych doświadczeń i przyszłe kierunki badań	102
6. Wnioski	104
7. Piśmiennictwo	105
8. Suplement: Wyniki analiz statystycznych	125
8.1. Wartości początkowe i efektywność warunkowania	125
8.2. Odtwarzanie sygnałów z głośnika szczurom warunkowanym	126
8.3. Odtwarzanie sygnałów z głośnika szczurom przyjmującym haloperidol	145

Wykaz skrótów stosowanych w pracy

0-P(x)	szczury kontrolne, które nie otrzymały bodźców bólowych (prób); x oznacza, dla której grupy szczurów poddanych warunkowaniu (1-P, 6-P lub 10-P) stanowią one właściwą (równoczesową) kontrolę
1-P	szczury, które otrzymały jedną próbę (bodziec bólowy) podczas warunkowania strachu
6-P	szczury, które otrzymały sześć prób (bodźców bólowych) podczas warunkowania strachu
10-P	szczury, które otrzymały dziesięć prób (bodźców bólowych) podczas warunkowania strachu
6-10-P	połączone grupy 6-P i 10-P
1-6-10-P	połączone grupy 1-P, 6-P i 10-P; wszystkie szczury poddane warunkowaniu strachu
ADHD	zespół nadpobudliwości ruchowej z deficytem uwagi (ang. <i>attention deficit hyperactivity disorder</i>)
ASD	zespół ostrej reakcji na stres (ang. <i>acute stress disorder</i>)
BW	bodziec wyodrębniony (ang. <i>cue</i>)
dB	decybel
DSM-V	piąte wydanie „Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders” Amerykańskiego Towarzystwa Psychiatrycznego
EPM	test uniesionego labiryntu krzyżowego (ang. <i>elevated plus maze</i>)
FC	warunkowanie strachu (ang. <i>fear conditioning</i>)
FFT	szybka transformata Fouriera (ang. <i>fast Fourier transform</i>)
HALO	haloperidol
HALO0	szczury nieotrzymujące haloperidolu w wodzie do picia, grupa kontrolna
HALO1	szczury otrzymujące haloperidol w wodzie do picia w dawce 1 mg/kg/d
HALO2	szczury otrzymujące haloperidol w wodzie do picia w dawce 2 mg/kg/d
HALO1+2	połączone grupy HALO1 i HALO2
HR	częstość skurczów serca (ang. <i>heart rate</i>)
IQR	rozstęp międzykwartylny (ang. <i>interquartile range</i>)
kHz	kiloherc
LED	dioda emitująca światło (ang. <i>light-emitting diode</i>)

mpf	wartość częstotliwości szczytowej z uśrednionego widma (ang. <i>peak frequency of the averaged spectrum</i>)
NMDA	kwask N-metylo-D-asparaginowy (ang. <i>N-methyl-D-aspartic acid</i>)
NR2B	podjednostka 2B receptora kwasu N-metylo-D-asparaginowego
NOR	test rozpoznawania nowego obiektu (ang. <i>novel object recognition test</i>)
OCD	zaburzenie obsesyjno-kompulsywne (ang. <i>obsessive-compulsive disorder</i>)
OF	test otwartego pola (ang. <i>open field test</i>)
PPI	hamowanie przedsygnalowe odruchu wzdrygnięcia (ang. <i>prepulse inhibition</i>)
PTSD	zespół stresu pourazowego (ang. <i>posttraumatic stress disorder</i>)
SEM	standardowy błąd średniej arytmetycznej (ang. <i>standard error of the mean</i>)
SI	test interakcji społecznej (ang. <i>social interaction test</i>)
SHR	szczury spontanicznie nadciśnieniowe – nazwa szczepu szczurów (ang. <i>spontaneously hypertensive rats</i>)
SLB	zachowanie zwierząt podobne do objawów schizofrenii (ang. <i>schizophrenia-like behavior</i>)
USV	wokalizacje ultradźwiękowe (ang. <i>ultrasonic vocalizations</i>)
USV 22-kHz	wokalizacje ultradźwiękowe w paśmie 22 kHz
USV 50-kHz	wokalizacje ultradźwiękowe w paśmie 50 kHz
WKY	Wistar-Kyoto – nazwa stada szczurów

Streszczenie

Szczury są zwierzętami społecznymi, które wykształciły formę międzyosobniczej komunikacji w postaci wokalizacji ultradźwiękowych (ang. *ultrasonic vocalizations*, USV). USV dzieli się na dwa główne typy – USV pasma 50 kHz (USV 50-kHz), które pojawiają się w sytuacjach apetytywnych („przyjemnych”), takich jak nieagresywna interakcja pomiędzy szczurami lub otrzymywanie nagrody oraz USV pasma 22 kHz (USV 22-kHz), które są powiązane z sytuacjami awersyjnymi („nieprzyjemnymi”), na przykład poczuciem zagrożenia. USV przekazują informację o stanie emocjonalnym emitującego je zwierzęcia oraz wpływają na zachowanie innych osobników.

Celem rozprawy było określenie wpływu dwóch wybranych czynników na odpowiedź behawioralną szczurów na odtwarzanie USV 50-kHz i 22-kHz z głośnika (z playbacku). Pierwszym badanym czynnikiem były cechy wrodzone szczurów, badane za pomocą porównania szczurów stada Wistar i szczepu szczurów spontanicznie nadciśnieniowych (ang. *spontaneously hypertensive rats*, SHR). Natomiast drugim analizowanym czynnikiem były doświadczenia nabyte w postaci otrzymanych bólowych bodźców elektrycznych w ramach procedury warunkowania strachu (ang. *fear conditioning*, FC). Zachowanie szczurów w odpowiedzi na playback badano z wykorzystaniem schematu doświadczalnego, opracowanego wcześniej w Pracowni Behawioralno-Metabolicznej IMDiK PAN.

Od niedawna szczep SHR uważa się za zwierzęcy model schizofrenii. U osób z tą chorobą występują objawy takie jak: urojenia, wycofanie społeczne, zubożona mowa, redukcja afektu, brak spójności myśli oraz nieprawidłowa ocena istotności bodźców. Uznano, iż obecność odpowiedników tych nieprawidłowości będzie widoczna w zachowaniu SHR. Wobec tego, sformułowano hipotezę twierdzącą, że SHR będą różniły się od szczurów Wistar pod względem odpowiedzi na playback USV. Podczas gdy właściwości USV szczurów Wistar i ich zachowanie w odpowiedzi na playback USV zostały już opisane w literaturze, niewiele wiadomo było na temat USV emitowanych przez SHR.

Założono również, że uprzednie doświadczenie bodźców bólowych podczas FC spowoduje odmienną odpowiedź behawioralną szczurów na playback USV. Wiadomo, że otrzymanie różnej liczby bodźców bólowych prowadzi do powstania jakościowo zróżnicowanej pamięci strachu u szczurów. Bodźce te są także wykorzystywane w tworzeniu i badaniu różnych zwierzęcych modeli zaburzeń lękowych i doświadczenia urazu psychicznego (traumy). Dlatego

też, podczas zastosowanego protokołu treningu FC zwierzęta otrzymały 1, 6 lub 10 szoków elektrycznych (1 mA, 1 s).

Analiza wyników pokazała, że zarówno szczury stada Wistar, jak i szczepu SHR zamierały więcej wraz z wzrostem liczby otrzymanych bodźców bólowych; jednocześnie SHR, w porównaniu ze szczurami Wistar:

- zamierały w większym stopniu zarówno przed warunkowaniem, jak i w teście FC;
- nie wykazywały wyraźnego wzrostu zamierania w teście FC po dodaniu bodźca wyodrębnionego;
- rzadziej emitowały długie USV 22-kHz w czasie treningu i testu FC.

Dzień po treningu FC odtwarzano szczurom USV 50- i 22-kHz. Szczury Wistar, które otrzymały 6 i 10 bodźców bólowych, wykazywały w porównaniu ze szczurami niewarunkowanymi wyższą aktywność lokomotoryczną i emitowały więcej USV po playbacku USV 50-kHz. W odpowiedzi na playback USV 22-kHz u zwierząt z tych grup obserwowano większą liczbę USV i silniejsze ograniczenie aktywności lokomotorycznej po jego zakończeniu niż u szczurów kontrolnych. Z kolei SHR w porównaniu ze szczurami Wistar:

- emitowały znacznie mniej USV (w tym USV 50-kHz) w odpowiedzi na playback;
- emitowały liczne krótkie USV 22-kHz;
- emitowały USV 50-kHz o niższej częstotliwości;
- wykazywały wyższą aktywność lokomotoryczną w czasie całej sesji doświadczalnej;
- nie wykazały efektu wzrostu aktywności lokomotorycznej w czasie odtwarzania USV 50-kHz.

W dyskusji uzyskanych wyników podkreślono, że niektóre zachowania szczurów Wistar, którym podano 6-10 bodźców bólowych, przypominały objawy pacjentów z doznany urazem psychicznym. Natomiast odpowiedź behawioralną tych zwierząt na playback USV zinterpretowano jako odpowiednik nadwrażliwości na bodźce, która pojawia się w zaburzeniach związanych z traumą. Zaproponowano także alternatywne wyjaśnienie, że zachowanie szczurów odzwierciedlało zjawisko prawidłowego przezwyciężania traumy.

Natomiast zachowania SHR przypominały niektóre objawy schizofrenii u ludzi. Podczas FC szczury te przejawiały wysoki poziom lękliwości oraz deficyty kognitywne – dotyczące powiązania bodźca wyodrębnionego z szokiem elektrycznym. Z kolei niska liczba USV emitowanych przez SHR przypuszczalnie odzwierciedlała wycofanie społeczne, deficyty w wyrażaniu emocji, mowę zubożoną, brak afektu lub zaburzenia oceny istotności

docierających bodźców. Opisanie wymienionych zachowań u SHR potwierdziło przydatność stosowania tego szczepu jako modelu schizofrenii.

Ponieważ SHR wokalizowały mniej licznie niż szczury Wistar w odpowiedzi na playback, postanowiono w kolejnym kroku zbadać, czy podanie leku o działaniu przeciwpsychotycznym stosowanego w leczeniu schizofrenii – haloperidolu – spowoduje wzrost liczby emitowanych USV. SHR otrzymywały haloperidol w dawce 1 lub 2 mg/kg/d w wodzie do picia przez 23 dni. W ramach reakcji na playback szczury przyjmujące haloperidol wokalizowały więcej niż zwierzęta nieprzyjmujące haloperidolu, co było efektem wokalizowania w odpowiedzi na odtwarzanie USV 50-kHz, ale nie w odpowiedzi na odtwarzanie USV 22-kHz, ani też w okresach ciszy (braku sygnału z głośnika). Z kolei w teście otwartego pola osobniki przyjmujące haloperidol wykazywały niższą aktywność lokomotoryczną, emitowały mniej krótkich USV 22-kHz i wykonywały mniej stójek, co sugeruje niższy poziom lęku u tych zwierząt. Wyniki te pozwalają przypuszczać, że w przyszłości playback USV znajdzie zastosowanie w badaniu skuteczności działania nowych leków o działaniu przeciwpsychotycznym.

Abstract

Rats are social animals that have developed a form of inter-individual communication through ultrasonic vocalizations (USV). USV are divided into two main types – 50-kHz USV, which occur in appetitive ("pleasant") situations, such as non-aggressive interaction between rats or receiving a reward, and 22-kHz USV, which are associated with aversive ("unpleasant") situations, such as a sense of threat. USV convey information about the emotional state of the emitting animal and influence the behavior of other individuals.

The aim of the dissertation was to determine the effect of two selected factors on the rats' behavioral response to the playback of 50-kHz and 22-kHz USV. The first factor was the innate characteristics of the rats, examined by comparing Wistar rats with spontaneously hypertensive rats (SHR). The second factor was acquired experiences, in the form of painful electric shocks received during fear conditioning (FC) procedure. The behavior of the rats in response to playback was studied using an experimental setup developed earlier at the Behavior and Metabolism Research Laboratory of the Mossakowski Medical Research Institute.

Recently, the SHR strain has been considered an animal model of schizophrenia. People with this disorder show symptoms such as delusions, social withdrawal, impoverished speech, reduced affect, disorganized thinking, and aberrant salience. It was assumed that SHR would exhibit behaviors that were equivalents of those symptoms. Therefore, a hypothesis was formulated that SHR would differ from Wistar rats in their response to USV playback. While the properties of Wistar rats' USV and their behavior in response to USV playback have been well-described in literature, little was known about the USV emitted by SHR.

It was also hypothesized that prior experience of painful stimuli during FC would result in a different behavioral response to USV playback. It is known that exposure to varying numbers of painful stimuli leads to qualitatively different fear memories in rats. These stimuli are also used to create and study various animal models of anxiety disorders and post-traumatic stress disorder (PTSD). Therefore, during the FC training protocol, animals received 1, 6, or 10 electric shocks (1 mA, 1 s).

The results showed that both Wistar rats and SHR froze more as the number of painful stimuli increased; however, compared to Wistar rats, SHR:

- exhibited greater freezing both before conditioning and in the FC test;
- did not show a significant increase in freezing in FC test when a discrete cue was added;

- emitted fewer long 22-kHz USV during FC training and testing.

The day after FC training, rats were exposed to playback of 50-kHz and 22-kHz USV. Wistar rats that received 6 and 10 painful stimuli showed greater locomotor activity and emitted more USV after 50-kHz USV playback than unconditioned rats. In response to 22-kHz USV playback, these animals emitted more USV and showed stronger reductions in locomotor activity than control rats. On the other hand, SHR, compared to Wistar rats:

- emitted significantly fewer USV (including 50-kHz USV) in response to playback;
- emitted numerous short 22-kHz USV;
- emitted 50-kHz USV of lower-frequency;
- showed greater locomotor activity throughout the experimental session;
- did not exhibit increased locomotor activity during 50-kHz USV playback.

Within the discussion of the results, it was highlighted that some behaviors of Wistar rats that received 6–10 painful stimuli resembled symptoms of patients with PTSD. The behavioral response of these animals to USV playback was interpreted as an equivalent of hypervigilance observed in trauma-related disorders. An alternative explanation was also proposed, suggesting that the behavior reflected an appropriate coping response to trauma.

Meanwhile, SHR behavior resembled certain symptoms of schizophrenia in humans. During FC, these rats displayed high levels of anxiety and cognitive deficits – specifically, relating to the association between a discrete cue and an electric shock. The low number of USV emitted by SHR likely reflected social withdrawal, deficits in emotional expression, impoverished speech, flat affect, or aberrant salience. The description of these behaviors in SHR confirmed the usefulness of this strain as a model of schizophrenia.

Since SHR vocalized less in response to playback compared to Wistar rats, it was then decided to investigate whether administering an antipsychotic drug commonly used to treat schizophrenia – haloperidol – would increase the number of emitted USV. SHR received haloperidol at doses of 1 or 2 mg/kg/day in drinking water for 23 days. As a result of the treatment, rats vocalized more in response to 50-kHz USV playback but not in response to 22-kHz USV playback or during silent periods (with no signal from the speaker). In the open field test, haloperidol-treated animals were less active, emitted fewer short 22-kHz USV, and performed fewer rearing behaviors, suggesting a lower level of anxiety. These findings suggest that USV playback may find application in assessing the effectiveness of novel antipsychotic drugs in future studies.

Innowacyjność rozprawy

1. Wykazano, że szczury, którym podczas treningu FC podano wiele bodźców bólowych (6 lub 10), podczas późniejszego odtwarzania USV innych szczurów wykazywały się wyższą aktywnością lokomotoryczną i częściej emitowały USV. Przypominało to nadwrażliwość na bodźce, obecną w zespole stresu pourazowego i ostrym zaburzeniu stresowym, a także uruchomienie socjalnych mechanizmów kompensacyjnych, łagodzących awersyjne ślady pamięciowe po treningu FC. Być może zastosowany schemat warunkowania, a następnie testowania odpowiedzi na odtwarzane USV okaże się użyteczny do badań nad zjawiskiem przewycięzania urazu psychicznego.
2. Opisano emisję USV przez SHR podczas treningu FC, testu FC oraz podczas odpowiedzi na playback sygnałów dźwiękowych z głośnika. SHR, w porównaniu ze szczurami Wistar, emitowały mniej liczne USV, zarówno awersyjne, jak i apetytywne.
3. Wskazano kolejne zachowania szczurów SHR, które mogą stanowić odpowiedniki objawów schizofrenii u ludzi. Emisja nielicznych USV w trakcie FC i w odpowiedzi na playback przypomina ubytki w mowie, komunikacji społecznej oraz ocenie istotności bodźców pojawiające się w schizofrenii. Emisję wyższej liczby krótkich USV 22-kHz niż szczury Wistar przed podaniem bodźców zarówno podczas FC, jak i playbacku uznano za odpowiednik solilokwii (mówienia do siebie). Obserwacje behawioru wokalizacyjnego SHR potwierdzają użyteczność stosowania tego szczepu jako modelu schizofrenii.
4. Opisano wpływ leku o działaniu przeciwpsychotycznym (haloperidolu) na zachowanie SHR w odpowiedzi na odtwarzanie USV z głośnika. Stwierdzono, że SHR otrzymujące haloperidol emitują więcej USV niż SHR nieprzyjmujące leku – specyficznie w ramach odpowiedzi na odtwarzanie apetytywnych USV 50-kHz. Obserwacja ta wskazuje możliwość stosowania odpowiedzi na USV odtwarzane z głośnika jako nowej metody badawczej w poszukiwaniu nowych terapii schizofrenii oraz innych chorób/zaburzeń, objawiających się ubytkami w komunikacji społecznej.

1. Wstęp

Szczury (*Rattus norvegicus*) są jednymi z najczęściej wykorzystywanych zwierząt w doświadczeniach neuronaukowych. Ponieważ przejawiają liczne zachowania społeczne, są częstym modelem badań chorób człowieka, w których występują zaburzenia kontaktów międzyludzkich, afektu i komunikacji (Ellenbroek i Youn, 2016). Popularną metodą oceny emocji i zachowań społecznych szczurów jest analiza ich wokalizacji ultradźwiękowych (ang. *ultrasonic vocalizations*, USV; Schwarting, 2023). Szczurze USV i ich zastosowanie w badaniu zachowania tych zwierząt zostało opisane poniżej w pierwszej kolejności.

W ramach niniejszej rozprawy badano odpowiedź behawioralną szczurów na USV odtwarzane z głośnika. Postawiono hipotezę, że odpowiedź ta będzie odmienna, jeśli badane zwierzęta zostaną wcześniej poddane warunkowaniu strachu (ang. *fear conditioning*, FC), a także że będzie ona inna u szczurów spontanicznie rozwijających nadciśnienie (ang. *spontaneously hypertensive rat*, SHR), które są zwierzęcym modelem schizofrenii. W dalszej części poniższego wstępu zostały więc przedstawione: procedura FC, szczep SHR i schizofrenia.

1.1. USV szczurów

Szczury wykształciły międzyosobniczą komunikację m.in. za pomocą USV, tzn. występujących powyżej zakresu słyszalności człowieka (Brudzynski, 2009). Dźwięki te przypominają gwizdy i są wytwarzane za pomocą krtani (Riede, 2013; Kelm-Nelson i wsp., 2018; Håkansson i wsp., 2022). Komunikacja za pomocą USV jest szczególnym przystosowaniem służącym koordynacji zachowań stadnych szczurów wewnątrz nor, gdzie w warunkach naturalnych spędzają większość czasu (Brudzynski i Fletcher, 2010). Współcześnie USV rejestruje się za pomocą specjalistycznych mikrofonów, a następnie przedstawia w formie wizualnej zwanej spektrogramem, na podstawie którego analizuje się ich właściwości akustyczne, takie jak długość, częstotliwość czy stopień modulacji (MacDonald i Brudzynski, 2018). USV emitowane przez dorosłe szczury przyjęło dzielić się na dwa główne typy, w zależności od pasma częstotliwości, w jakim się pojawiają: USV pasma 50 kHz (USV 50-kHz) i USV pasma 22 kHz (USV 22-kHz; Portfors, 2007; Brudzynski, 2013a).

USV obu typów są odmienne nie tylko w swoich właściwościach, ale także ze względu na obszary mózgu biorące udział w ich powstawaniu i odbiorze (Burgdorf i wsp., 2001; Wintink i Brudzynski, 2001; Allen i wsp., 2007; Dupin i wsp., 2019) oraz ładunek emocjonalny, jaki niosą. USV 50-kHz towarzyszą sytuacjom apetytywnym („przyjemnym”), a USV 22-kHz –

awersyjnym („nieprzyjemnym”). Co więcej, USV przenoszą pobudzenie emocjonalne z jednego osobnika na drugiego, co nazwano etotransmisją (Brudzynski, 2013).

1.1.1. Charakterystyka USV 50-kHz

Przyjmuje się, że USV 50-kHz występują w zakresie częstotliwości 35–80 kHz i mają długość w przedziale 10–150 ms (Brudzynski, 2013). W obrazie spektrograficznym USV 50-kHz cechują się zróżnicowanym przebiegiem spowodowanym zmianami częstotliwości w obrębie jednej USV. Ponieważ poszczególnym grupom (zwanym dalej klasami) USV 50-kHz nie przypisano jeszcze specyficznych funkcji biologicznych, nie istnieje ogólnie przyjęty system klasyfikacji tych dźwięków. W najprostszym podejściu dzieli się je na płaskie/niemodulowane (ang. *flat*) i modulowane (ang. *modulated*; Burgdorf i wsp., 2011), jednak niektóre zespoły wyróżniają 14 (Wright i wsp., 2010) a nawet 17 klas (Shimoju, 2022). Przyporządkowanie do określonej klasy opiera się zazwyczaj na wizualnej ocenie kształtu dźwięku na spektrogramie (Wohr i wsp., 2008; Silkstone i Brudzynski, 2019b; Silkstone i Brudzynski, 2019a; Okabe i wsp., 2021).

USV 50-kHz pojawiają się podczas zachowań społecznych takich jak: zabawa z innym osobnikiem (Kisko i wsp., 2017), łaskotanie przez eksperymentatora (Panksepp i Burgdorf, 2000), kontakt z innym osobnikiem lub spodziewanie się takiego kontaktu (Brudzynski i Pniak, 2002; Burke i wsp., 2021), czy też zachowanie przedkopulacyjne (Bogacki-Rychlik i wsp., 2021). USV tego typu emitowane są również przez szczura intruza zanim zostanie zaatakowany przez rezydenta w walce terytorialnej (Thomas i wsp., 1983). USV 50-kHz są obecne także w sytuacjach pozbawionych kontekstu społecznego, takich jak: spodziewanie się otrzymania nagrody (Burgdorf i wsp., 2000; Brenes i Schwarting, 2015; Heyse i wsp., 2015) lub otrzymywanie substancji psychoaktywnych (Simola i wsp., 2012; Pereira i wsp., 2014). Postuluje się, że USV 50-kHz są odpowiednikami ludzkiego śmiechu (Panksepp i Burgdorf, 2000; Panksepp i Burgdorf, 2003; Panksepp, 2007).

Emisję USV 50-kHz powiązano z transmisją dopaminergiczną za pośrednictwem receptorów D₁ i D₂ (Willuhn i wsp., 2014; Wöhr i wsp., 2015), szczególnie w takich obszarach mózgu jak: jądro półleżące (Burgdorf i wsp., 2007; Brudzynski, 2015), przyśrodkowa kora przedczołowa (Costa i wsp., 2020) oraz grzbietowa część prążkowia (Costa i wsp., 2020). Wśród tych obszarów kluczowym wydaje się być jądro półleżące, które odpowiada nie tylko za emisję USV 50-kHz, ale także za przetwarzanie tychże USV usłyszanych przez szczura (Sadananda i wsp., 2008; Willuhn i wsp., 2014; Pultorak i wsp., 2016). Wymienione struktury są również

elementami składowymi układu nagrody (Wise, 2002). Odtwarzanie z głośnika USV 50-kHz powoduje wyrzut dopaminy w prążkowiu (Willuhn i wsp., 2014), czyniąc odbiór sygnałów tego typu wynagradzającym dla szczura (Schultz, 2007; Salamone i Correa, 2012). Stwierdzono, że zwierzęta podchodzą do źródła apetytywnych USV (Wöhr i Schwarting, 2007; Inagaki i Ushida, 2021). Natomiast w doświadczeniu z samopodawaniem różnych dźwięków wykazano, że szczury preferują odtwarzanie USV 50-kHz zamiast playbacku innych sygnałów (Burgdorf i wsp., 2008).

1.1.2. Charakterystyka USV 22-kHz

W odróżnieniu od USV 50-kHz, opisanych powyżej, USV 22-kHz cechuje niższy zakres częstotliwości (18–32 kHz), większa długość i brak modulacji częstotliwości (Brudzynski i wsp., 1993). W efekcie podział USV 22-kHz jest też prostszy; wyróżnia się w nim długie (>300 ms) i krótkie USV (<300 ms) (Brudzynski i wsp., 1993).

Długie USV 22-kHz obserwuje się w sytuacjach awersyjnych, takich jak bezpośrednie doświadczenie bodźców negatywnych – np. nagłego podmuchu powietrza w pysk (Brudzynski i Holland, 2005), szoku elektrycznego podczas treningu FC (Graham i wsp., 2009; Kim i wsp., 2010) lub doznania porażki w walce z innym osobnikiem (Thomas i wsp., 1983; Burgdorf i wsp., 2018), a także w obecności bodźców potencjalnie oznaczających zagrożenie, takich jak głośne niespodziewane dźwięki (Kaltwasser, 1990), zapach drapieżnika (Blanchard i wsp., 1991; Fendt i wsp., 2018) lub powtórna ekspozycja na kontekst, w którym podczas FC wystąpiły bodźce bólowe (Graham i wsp., 2009; Kim i wsp., 2010).

Co więcej, długie USV 22-kHz są emitowane w sytuacjach ustania intensywnej przyjemności: przez samce szczurów po zakończeniu ejakulacji w obecności samicy (Barfield i Geyer, 1975; Sachs i Bialy, 2000), czy po odstawieniu substancji psychoaktywnych, takich jak opiaty (Covington III i Miczek, 2003), kokaina (Miczek i Barros, 1996) czy diazepam (Miczek i Vivian, 1993). Uważa się, że długie USV 22-kHz mają na celu informowanie innych osobników o zagrożeniu (Kim i wsp., 2010) i negatywnym stanie emocjonalnym szczura (Brudzynski, 2021). Z kolei Bialy i wsp. (2016) postulują, że w kontekście kopulacji długie USV 22-kHz mają funkcję rozładowania napięcia emocjonalnego i zniechęcenia innych szczurów do zbliżania się. Zaproponowano także interpretowanie USV 22-kHz jako odpowiednika ludzkiego płaczu (Brudzynski, 2019).

Emisję długich USV 22-kHz powiązano z aktywnością mezolimbicznego układu cholinergicznego, który łączy boczno-grzbietowe jądro nakrywki z przednim obszarem

podwzgórza, okolicą przedwzrokową oraz przegrodą (Brudzynski, 2013). Po odtwarzaniu długich USV 22-kHz szczurom stwierdzono zwiększenie aktywności kory śródwęchowej, ciała migdałowatego i istoty szarej okołowodociągowej (Sadananda i wsp., 2008), a także kory słuchowej, hipokampa i wzgórków dolnych (Ouda i wsp., 2016).

Krótkie USV 22-kHz są słabiej poznane. Ich pojawianie się wiąże się z awersyjnym stanem wewnętrznym zwierzęcia, bez obecności określonego źródła zagrożenia w otoczeniu (Brudzynski i wsp., 1993). Krótkie USV 22-kHz były także obserwowane w doświadczeniu, w którym szczury mogły włączać i wyłączać światło w klatce Skinnera za pomocą wsadzania nosa w otwór. Sugeruje to, że te USV związane są również z funkcjami eksploracyjnymi i poszukiwaniem nowości (Robakiewicz i wsp., 2019). Podczas doświadczenia, kiedy szczury były uczone emisji USV 50-kHz jako reakcji instrumentalnej, zwierzęta nieuczące się emitowały liczne krótkie USV 22-kHz (Wardak i wsp., 2024). Krótkie USV 22-kHz emitowały także szczury otrzymujące kokainę (Barker i wsp., 2010).

Niedawno opisano USV, które długością, brakiem modulacji oraz kontekstem występowania (trening i test FC) przypominają długie USV 22-kHz, jednakże ich częstotliwość wynosi średnio 43,8 kHz, co mieści się w zakresie USV 50-kHz. USV te nazwano wokalizacjami pasma 44 kHz (USV 44-kHz) i opisano w pracy, której jestem równorzędnym pierwszym autorem (Olszyński i wsp., 2023b). USV 44-kHz obserwowano u szczurów, które doświadczyły procedury FC z wieloma bodźcami bólowymi (6 i 10 prób) w ramach doświadczeń opisanych w niniejszej rozprawie. Obecność USV 44-kHz u szczurów poddawanych FC o podobnej intensywności potwierdził także inny zespół badaczy (Gonzalez-Palomares i wsp., 2023). Przypuszcza się, że USV 44-kHz są wariantem długich awersyjnych USV związanymi z wysokim pobudzeniem emocjonalnym szczurów, pojawiającym się w efekcie długiego i intensywnego stresu (Olszyński i wsp., 2023b).

1.2. USV jako narzędzie badawcze

USV szczurów wzbudziły zainteresowanie badaczy w latach 70. XX wieku, kiedy stwierdzono, że zawierają informację o stanie emocjonalnym zwierzęcia, przez co mogą służyć jako liczbowy wskaźnik tego stanu (Bell, 1974; Barfield i Geyer, 1975). Analiza USV emitowanych przez szczury znalazła wiele zastosowań w badaniu zachowania tych zwierząt i zaburzeń obserwowanych w szczurzych modelach chorób człowieka (Brudzynski, 2009; Brudzynski i Fletcher, 2010; Wöhr i Schwarting, 2010; Brudzynski, 2013; Premoli i wsp., 2023; Schwarting, 2023).

Społeczny aspekt emisji USV przez szczury sugeruje, że w ocenie zmian w komunikacji tych zwierząt powinno rejestrować się USV grupy osobników wchodzących ze sobą w interakcje. Jednakże poważnym ograniczeniem w analizie nagrań USV wielu szczurów naraz jest trudność w przypisaniu każdej z USV do określonego osobnika (Schwartzing, 2023). Zaproponowano różne sposoby rozwiązania tego problemu, np. wcześniejszą dewokalizację jednego ze szczurów przy nagrywaniu komunikacji w parach. Jednak zabieg ten w znaczący sposób ogranicza interakcje społeczne (Kisko i wsp., 2015). Sposobami umożliwiającymi precyzyjne rozpoznanie osobnika emitującego USV w danym momencie w trakcie bezpośredniego kontaktu z innymi szczurami jest implantacja elektrod mierzących napięcie mięśni krtani zwierzęcia (Riede, 2011; Matsumoto i wsp., 2016) lub trwale umocowanie miniaturowego mikrofonu na głowie szczura (John i wsp., 2023). Od niedawna próbuje się wprowadzić zaawansowane metody strumieniowania sygnału (ang. *beamforming*) w wykrywaniu wokalizujących zwierząt, ale nie są one jeszcze w pełni opracowane (Matsumoto i wsp., 2022; Sterling i wsp., 2023). Prostszy rozwiązaniem jest zastąpienie jednego osobnika w interakcji kontrolowanym narzędziem. Przykładem takiej metody, zastosowanej w niniejszej rozprawie, jest odtwarzanie nagrań ultradźwięków z głośnika (playback), połączone z rejestracją odpowiedzi behawioralnej badanego szczura. Układ doświadczalny, w którym stosowany jest głośnik umieszczony obok klatki identycznej z klatką domową szczura, został opracowany przez zespół Pracowni Behawioralno-Metabolicznej i opublikowany w pracy, której jestem drugim autorem (Olszyński i wsp., 2020).

1.2.1. Zastosowanie playbacku USV i badanie odpowiedzi ultradźwiękowej szczurów

Zdolność szczurów do słyszenia ultradźwięków odkryto podczas doświadczenia, w którym szczury uczyły się unikania bodźca bólowego występującego po odtwarzaniu dźwięków o różnych częstotliwościach (Gould i Morgan, 1941). Playback USV zaczęto szerzej stosować pod koniec lat 70. XX wieku, kiedy to badano zachowania godowe samic w odpowiedzi na odtwarzanie USV samców (McIntosh i wsp., 1978; Barfield i wsp., 1979). Później White i Barfield (1990) pokazali, że playbackiem można skutecznie zastąpić USV dewokalizowanego samca we wzbudzeniu zachowań inicjujących kopulację u samic. Jednakże dopiero współczesne zaplecze sprzętowe pozwoliło na ścisłą kontrolę struktury playbacku odtwarzanego szczurom (Wöhr i wsp., 2005; Wöhr i Schwartzing, 2007).

Doświadczenia wykonane przez zespół prof. R. Schwartinga i prof. M. Wöhra (Wöhr i Schwarting, 2007; Wöhr i Schwarting, 2009; Seffer i wsp., 2014; Wöhr i wsp., 2016; Berz i wsp., 2022) miały znamieny wpływ na rozwój wiedzy na temat behawioru szczurów w odpowiedzi na playback USV. Istotnie, badania te uwzględniały także analizę USV emitowanych przez szczury. Cechą charakterystyczną stosowanej przez zespół metody było umieszczenie zwierząt w uniesionym ośmioramiennym labiryncie, w którym na końcu jednego z ramion znajduje się głośnik ultradźwiękowy. Umożliwiało to jednoznaczną ocenę, czy szczur preferował przebywanie w pobliżu źródła USV. Pomimo licznych prac wykorzystujących ten schemat doświadczalny, wiele pytań odnośnie odpowiedzi behawioralnej szczurów na playback pozostało bez odpowiedzi. W oryginalnej publikacji opisującej tę metodę, USV 50- i 22-kHz odtwarzano szczurowi trzy razy po 1 min, a po każdym odtworzeniu następowało 10 min ciszy. Autorzy przedstawili zastosowanie playbacku w kilku powiązanych ze sobą doświadczeniach (Wöhr i Schwarting, 2007).

W pierwszym doświadczeniu, które było wykonane na młodych (dwudziestopięciodniowych) szczurach obserwowano, że po playbacku USV 50-kHz zwierzęta spędzały więcej czasu w pobliżu głośnika i emitowały więcej własnych USV niż po odtwarzaniu USV 22-kHz (Wöhr i Schwarting, 2007). Niestety, takiego badania nie przeprowadzono później na dojrzałych osobnikach. Należy nadmienić, że względu na znikomą emisję USV w odpowiedzi na sygnały 22-kHz, w większości późniejszych doświadczeń wykorzystujących metodę Wöhra i Schwartinga (2007) stosowano wyłącznie playback USV 50-kHz.

Ponadto pomimo kilku powtórzeń playbacku USV w obrębie jednej sesji, nie podano informacji, czy odpowiedź szczurów na każde kolejne podanie bodźców dźwiękowych była taka sama. Jest to szczególnie istotne, ponieważ w innym badaniu, gdy czas odtwarzania USV 50-kHz wydłużono do 5 min, nie obserwowano wzrostu aktywności lokomotorycznej i zbliżania się do głośnika przez szczury Wistar po powtórzeniu playbacku, co autorzy tłumaczyli przyzwyczajeniem się zwierząt do odtwarzanych dźwięków (Berz i wsp., 2021).

Dodatkowym ograniczeniem wyżej opisanej metody jest wykorzystanie jako areny do pomiarów uniesionego labiryntu. Zazwyczaj, w przypadku szczurów, znalezienie się na podwyższonej płaszczyźnie wywołuje lęk (Walf i Frye, 2007). Niewykluczone zatem, że zastosowane warunki doświadczalne były czynnikiem stresowym dla zwierząt, co wpłynęło na ich odpowiedź behawioralną.

Chociaż zachowanie szczurów w odpowiedzi na playback USV było także analizowane przez inne zespoły badaczy, przeprowadzone przez nie doświadczenia rzadko uwzględniały rejestrację USV emitowanych przez zwierzęta. Potwierdzały jednak obserwację, że odtwarzanie USV 50-kHz powodowało pobudzenie ruchowe szczurów, a USV 22-kHz – zahamowanie aktywności (Demaestri i wsp., 2019; Inagaki i Ushida, 2021; Vielle i wsp., 2021; Bonauto i wsp., 2023). Przykładami doświadczeń, w których sprawdzono odpowiedź wokalizacyjną szczurów na playback, są badania przeprowadzone przez Hammond i wsp. (2021) w formie jednorazowego playbacku w klatce bytowej. W odpowiedzi na playback USV 50-kHz zwierzęta emitowały więcej własnych USV niż na playback dźwięków tła (Hammond i wsp., 2024). Natomiast odtwarzanie USV 22-kHz miało efekt przeciwny: powodowało, że szczury wokalizowały znacznie mniej niż przed usłyszeniem dźwięków (Hammond i wsp., 2021).

1.2.2. Wcześniejsze zastosowanie schematu playbacku opisanego w rozprawie

W niniejszej rozprawie zastosowano metodę odtwarzania sygnałów ultradźwiękowych szczurów i rejestracji odpowiedzi na nie opracowaną w Pracowni Behawioralno-Metabolicznej IMDiK PAN i opisaną po raz pierwszy w publikacji Olszyńskiego i wsp. (2020). Zbadano w niej wpływ warunków chowu szczurów (pojedynczo lub parami w klatce) na emisję USV podczas sesji playbacku sygnałów ultradźwiękowych. W tym schemacie doświadczenia prowadzono w klatce identycznej z klatką bytową szczura. Zastosowana długość playbacku wynosiła 10 s z przerwami długości 5 min pomiędzy kolejnymi playbackami. Odtwarzanie USV powtórzono czterokrotnie. W schemacie tym obserwowano emisję USV 50-kHz zarówno w odpowiedzi na playback sygnałów 50-kHz, jak i 22-kHz. Również oba rodzaje playbacku powodowały zbliżanie się szczurów do głośnika. Natomiast różnice w odpowiedzi na odtwarzanie USV różnych typów wykryto w aktywności lokomotorycznej szczurów, zmianie częstości skurczów serca (ang. *heart rate*, HR) oraz liczbie emitowanych USV 50-kHz. Odpowiedź ultradźwiękową i lokomotoryczną szczurów obserwowano w każdym powtórzeniu playbacku. Główne obserwacje uzyskane w ramach naszej oryginalnej publikacji (Olszyński i wsp., 2020) przedstawiono i podsumowano w Tab. 2 (str. 46, kolumna *iScience*). W tej pracy pokazano, że szczury miały zwiększoną aktywność lokomotoryczną w czasie playbacku USV 50-kHz (Tab. 2, lp. 1), obniżoną – po playbacku USV 22-kHz (Tab. 2, lp. 2). Zwierzęta zbliżały się do głośnika w wyniku odtwarzania USV (Tab. 2, lp. 3–4). Playback powodował wzmocnienie emisji przez szczury USV (Tab. 2, lp. 5–7), które były przede wszystkim w paśmie 50 kHz (Tab. 2, lp. 8). Odtwarzanie USV 50-kHz powodowało wzrost HR szczurów (Tab. 2, lp. 9),

natomiast playback USV-22-kHz – obniżenie HR (Tab. 2, lp. 10), co prowadziło do powstania różnicy w wartości HR, która utrzymywała się przez co najmniej 1 min (Tab. 2, lp. 11). Prawdopodobnie zastosowanie playbacku w klatce tożsamej z bytową w większym stopniu naśladuje kontekst, w którym szczury laboratoryjne zwykle wchodzi z sobą w interakcje społeczne i jest mniej stresującym doświadczeniem dla zwierzęcia niż przebywanie w uniesionym labiryncie, co sprzyja emisji USV w odpowiedzi na sygnały ultradźwiękowe (Olszyński i wsp., 2020; Olszyński i wsp., 2021; Olszyński i wsp., 2023a).

Ponadto szczury chowane pojedynczo emitowały więcej USV w odpowiedzi na playback w porównaniu ze szczurami trzymanymi w parach (Olszyński i wsp., 2020). Wynik ten zwraca uwagę, że tryb chowu szczurów wpływa na to, jak będą odpowiadały na playback USV. Pokazano na przykład, że czas trwania izolacji i etap rozwoju zwierzęcia, w którym ona następuje, mają istotny wpływ na późniejsze zachowanie szczurów (Van den Berg i wsp., 1999; Ferdman i wsp., 2007). Długotrwałe osamotnienie młodych osobników wkrótce po odstawieniu od matki powoduje pojawienie się objawów odzwierciedlających depresję (Pavlova i wsp., 2022) oraz zaburzenia lękowe (Parker i Morinan, 1986), a także zaniechanie komunikacji ultradźwiękowej (Seffer i wsp., 2015; Wöhr i wsp., 2021). Opisano także, że zwierzęta oddzielone na krótki czas (od kilku godzin do jednego dnia) od innych szczurów emitują później więcej apetytywnych USV podczas zabawy (Knutson i wsp., 1998) i łaskotania niż osobniki, które stale utrzymywano w grupie (Panksepp i Burgdorf, 2000; Burgdorf i Panksepp, 2001). Natomiast, w przypadku dorosłych szczurów, kilkutygodniowy chów pojedynczo prowadzi do wzmożenia emisji USV 50-kHz w teście interakcji społecznej (Hamed i wsp., 2009). Wyniki te są podobne do tych opisanych przez Olszyńskiego i wsp. (2020). Wymienione powyżej przykłady wskazują, że czynniki zewnętrzne (klatka/arena, rodzaj chowu) wpływają na komunikację ultradźwiękową szczurów. Jeżeli tak pozornie zanedbywalne czynniki potrafią zmienić intensywność wokalizacji zwierząt, należy rozpatrzyć, jak wpływają na nią czynniki o zdecydowanie większej sile.

1.3. Czynniki wpływające na emisję USV

Środowisko i doświadczenia życiowe wynikające z interakcji z nim w znaczący sposób kształtują zachowanie zwierząt (Sadowski, 2001). Nie inaczej jest w przypadku szczurów i emitowanych przez nie USV. Chów w otoczeniu wzbogaconym (ang. *enriched environment*) o często zmieniane obiekty fizyczne, ale z ograniczoną możliwością kontaktu społecznego z innymi osobnikami, powoduje u szczurów wycofanie społeczne przypominające objawy

autyzmu (Wöhr i wsp., 2017), zwiększa także zachowania agresywne pomiędzy szczurami żyjącymi w jednej klatce (Bigelow i wsp., 2022). W rezultacie zwierzęta przejawiają wycofanie społecznie i w związku z tym emitują mniej apetytywnych USV niż przed wprowadzeniem urozmaicenia (Wöhr i wsp., 2017; Bigelow i wsp., 2022). Przeciwny efekt ma wzbogacenie środowiska o elementy społeczne (ang. *social enrichment*). Taki zabieg umożliwia szczurom częsty kontakt z nieznanymi wcześniej osobnikami. W rezultacie zwierzęta emitują ogólnie więcej USV 50-kHz, także w sytuacjach, w których nie następuje bezpośrednia interakcja z innymi szczurami, np. w playbacku i eksploracji nowego otoczenia (Brenes i wsp., 2016; Wöhr i wsp., 2017; Seffer i wsp., 2018). Opisano także, że częste łaskotanie powoduje zmianę częstości występowania określonych klas USV (więcej modulowanych i harmonicznym) w epizodach wokalizacyjnych szczurów (Garcia i wsp., 2015). Doświadczenie „nieprzyjemnych” zdarzeń również znacząco wpływa na emisję USV. Wykazano, że przewlekły stres wywołany nieprzewidywalnymi czynnikami jest w stanie zahamować emitowanie USV 50-kHz po podaniu amfetaminy (Kõiv i wsp., 2016), której podanie zwykle bardzo nasila emisję USV tego typu (Rippberger i wsp., 2015). Szczury, które w wieku młodzieńczym poddano trzydniowemu protokołowi wywoływania stresu poprzez wymuszone pływanie, umieszczanie na uniesionej platformie oraz przymusowe unieruchomienie, emitowały znacznie więcej USV 22-kHz podczas treningu FC przeprowadzonego dwa miesiące później (Yee i wsp., 2012). Podobnie nieprawidłowości w komunikacji ultradźwiękowej stwierdzono w szczurzych modelach depresji (Van Zyl i wsp., 2014) i zespołu stresu pourazowego (ang. *post-traumatic stress disorder*, PTSD; Chen i wsp., 2012), do których wywołania stosuje się podawanie bodźców bólowych.

1.3.1. Zastosowanie FC w badaniu zachowania zwierząt

Procedura FC polega na powiązaniu obojętnych bodźców warunkowych, na które składa się cała sytuacja doświadczalna, określana jako tzw. „kontekst” (ang. *context*) oraz często dodawany do niego bodziec wyodrębniony (ang. *cue*, BW; np. dźwięk, zapach, światło), z bezwarunkowym bólowym bodźcem awersyjnym, występującym najczęściej w formie szoku elektrycznego podanego na łapy. W efekcie odpowiedź obronna na bodziec awersyjny (np. zamieranie w bezruchu) zaczyna pojawiać się na skutek wystawienia na działanie bodźca pierwotnie obojętnego. Następnie, testuje się skuteczność warunkowania poprzez ponowną ekspozycję zwierzęcia na kontekst lub BW (przeważnie w innym kontekście), bez podawania bodźców bólowych (Curzon i wsp., 2011). Ewentualne późniejsze wielokrotne podanie bodźca

obojętnego prowadzi do osłabienia tej odpowiedzi, tzw. wygaszenia warunkowania (Maren i wsp., 2013).

Pierwotnie FC zostało zaprojektowane do badania podstawowych procesów neurobiologicznych, takich jak uczenie się, pamięć, emocje, czy ich połączenia – tzw. pamięci emocjonalnej (Pavlov, 1927; Baum, 1965; LeDoux, 2000; Morris i Dolan, 2004; Johansen i wsp., 2011; Flandreau i Toth, 2018). FC, w różnej formie, stosowane jest w badaniach ogólnych zaburzeń lękowych (Lissek i wsp., 2005; Pentkowski i wsp., 2022), zespołu lęku uogólnionego (ang. *generalized anxiety disorder*, GAD; Santos i wsp., 2006; Luyten i wsp., 2011b), zespołu lęku napadowego (ang. *panic disorder*, PD; de Oliveira Galvão i wsp., 2011; Johnson i wsp., 2019), zaburzeń obsesyjno-kompulsywnych (ang. *obsessive-compulsive disorder*, OCD; Rodriguez-Romaguera i wsp., 2012; Alonso i wsp., 2015) oraz PTSD (Chen i wsp., 2012; Careaga i wsp., 2016). Podawanie bodźca elektrycznego na łapy stosowane jest także jako jeden ze stresorów chronicznych w wywoływaniu zachowań depresyjnych (Katz i wsp., 1981; Ferretti i wsp., 1995; Shirayama i Hashimoto, 2017).

Przewagą stosowania szoku elektrycznego nad innymi stresorami, takimi jak np. przewlekłe unieruchomienie, kontakt z drapieżnikiem, czy porażka społeczna, jest to, że zwierzęta z trudem przyzwyczajają się do tego rodzaju bodźca (Overmier i Murison, 2005). Ponadto użycie szoku elektrycznego pozwala na wprowadzanie zmian jakościowych (różne warianty kontekstu i BW) i ilościowych (natężenie prądu, liczba prób, długość ekspozycji na bodźce) w procedurze doświadczalnej (Sigmund i Wotjak, 2006).

Intensywność zastosowanych bodźców awersyjnych, tzn. ich natężenie, długość i liczba, ma istotny wpływ na zachowanie i procesy zachodzące w mózgu zwierzęcia. Wiele badań wskazuje na kluczowy wpływ natężenia bodźca bólowego na behavior zwierząt – ich poziom zamierania (Luyten i wsp., 2011a), zachowania społeczne (Mikics i wsp., 2008), jak i liczbę emitowanych 22-kHz USV (Wöhr i wsp., 2005).

Dotkliwość FC można także regulować poprzez zmianę liczby użytych bodźców bólowych. Zastosowanie większej ich liczby (5–10), w porównaniu z 1–2 bodźcami, powoduje jakościową zmianę w zachowaniu zwierząt, tłumaczoną wykształceniem się pamięci traumatycznej (Haubrich i wsp., 2020), która jest długotrwała (Quinn i wsp., 2008), a także oporna na wygaszanie (Haubrich i Nader, 2023) i na hamowanie rekonsolidacji (Wang i wsp., 2009; Finnie i Nader, 2020; Haubrich i wsp., 2020), ale z widoczną generalizacją bodźców (Poulos i wsp. (2016).

Nie istnieją standardy określające ustalone warunki FC, prowadzące do odwzorowania określonych chorób/zaburzeń u ludzi. Uznanie danej procedury FC za naśladującą chorobę/zaburzenie zależy od interpretacji badaczy ją stosujących (Luyten i wsp., 2011b; Aliczki i Haller, 2015; Flandreau i Toth, 2018). Na podstawie przeglądu literatury Aliczki i Haller (2015) zauważyli, że w przypadku zastosowania FC jako modelu PTSD podaje się zwierzętom co najmniej trzy bodźce bólowe, podczas gdy w testowaniu pamięci – mniej niż trzy. Wskazuje się także, że w modelu PTSD wywołanym FC powinna występować nieprzewidywalność czasu pojawienia się bodźca bólowego (Foa i wsp., 1992). FC używa się również jako zwierzęcego modelu zaburzeń lękowych (Fanselow i Ponnusamy, 2008). Do niedawna PTSD było uznawane właśnie za takie zaburzenie, stąd zwierzęce modele zaburzeń lękowych i PTSD były opisywane wspólnie (Lissek i wsp., 2005). Jednak w najnowszej wersji DSM-V PTSD zostało sklasyfikowane jako zaburzenie związane z doświadczeniem urazu psychicznego (traumy) i czynnikami stresowymi (Pai i wsp., 2017; American Psychiatric Association, 2022). Z kolei w przypadku stosowania FC w wywoływaniu modeli depresji, opracowano dwa szeroko stosowane protokoły. W pierwszej zwierzęta poddaje się wielokrotnie procedurze warunkowania (Katz i wsp., 1981; Ferretti i wsp., 1995) a w drugiej – jednej długiej sesji FC, w której podaje się wiele (ponad 100) nieprzewidywalnych bodźców bólowych (Vollmayr i Henn, 2001; Kim i wsp., 2017). Skuteczność FC w badaniu zwierzęcych modeli zaburzeń lękowych (oraz PTSD) potwierdzono wielokrotnie, badając efekty FC po podaniu leków o działaniu przeciwlękowym, których zastosowanie powodowało ograniczenie zamierania zwierząt (Krystal i wsp., 2012; Kasahara i wsp., 2015; An i wsp., 2016; Ohya i wsp., 2016).

Podczas treningu i testu FC szczury często emitują USV, którymi przeważnie są długie USV 22-kHz (Wöhr i wsp., 2005; Yee i wsp., 2012). Nie ma jednak konsensusu, jaką emocję dokładnie wyrażają te USV. Jelen i wsp. (2003) uznali, że emisja USV 22-kHz podczas treningu FC jest wyrazem lęku, a nie strachu zwierzęcia, natomiast Willadsen i wsp. (2021) stwierdzili, że pojawianie się USV tego typu jest przynajmniej częściowo niezależne od ośrodków w mózgu regulujących poczucie lęku i strachu. Borta i wsp. (2006) wykazali korelację pomiędzy liczbą emitowanych USV a lękliwością szczurów sprawdzaną w uniesionym labiryncie krzyżowym; szczury z mniejszym poziomem lęku emitowały więcej USV 22-kHz o wyższej częstotliwości. Z kolei, jak wspomniano wcześniej, Bialy i wsp. (2016) postulują, że USV 22-kHz oznaczają rozluźnienie po odejściu napięcia emocjonalnego.

Jak do tej pory nie opisano, w jaki sposób uprzednie FC kształtuje odpowiedź szczurów na słyszane USV. Postanowiono więc sprawdzić w teście playbacku, jak na badane zachowania wpłynie doświadczenie określonej liczby bodźców bólowych. W efekcie, podczas doświadczeń wykonanych w ramach niniejszej rozprawy szczury, poddano FC z zastosowaniem 1, 6 lub 10 prób o zmiennej długości przerwy między bodźcami.

1.4. Zaburzenia emocjonalne i poznawcze w schizofrenii

Schizofrenia jest chorobą psychiczną, na którą według doniesień Światowej Organizacji Zdrowia zapada około 0,45% dorosłych ludzi (WHO, 2022). Pod pojęciem schizofrenii rozumie się chroniczny stan zniekształconego postrzegania rzeczywistości (Tandon i wsp., 2013) o niepoznanym w pełni podłożu genetycznym i środowiskowym (Tsuang, 2000; Takahashi, 2013; Stilo i Murray, 2019). Schizofrenię charakteryzuje złożony obraz kliniczny, cechujący się zróżnicowanymi objawami (Maier i wsp., 1999; Lichtermann i wsp., 2000; Barrantes-Vidal i wsp., 2015), dzielonymi na wytwórcze/pozytywne i ubytkowe/negatywne. Za **objawy wytwórcze** uznaje się myśli i uczucia „wytworzone” ponad stan faktyczny, często prowadzące do zachowań agresywnych (halucynacje, urojenia, natrętne myśli), z kolei za **ubytkowe** – związane z deficytami w codziennym funkcjonowaniu, które prowadzą do wycofania się (anhedonia, apatia, zaniechanie wykonywania czynności codziennych – awolicja, zubożona mowa – alogia, aspołeczność, zredukowanie afektu, upośledzona komunikacja społeczna; Andreasen i Olsen, 1982; Lewine i wsp., 1983; Andreasen i wsp., 1994; Lysaker i Salyers, 2007; Wible, 2012). Dodatkowo oprócz wyżej wymienionych objawów u osób cierpiących na schizofrenię obserwuje się także deficyty poznawcze takie jak: brak skupienia uwagi, ubytki w pamięci oraz błędne przypisywanie znaczenia docierającym bodźcom (Gold i Harvey, 1993; Fioravanti i wsp., 2012; Schiwy i wsp., 2022). Występowanie objawów u chorych jest bardzo zróżnicowane; schizofrenia diagnozowana jest przy obecności co najmniej dwóch, z czego przynajmniej jeden musi należeć do objawów wytwórczych (Luvsannyam i wsp., 2022). U osób chorych na schizofrenię często stwierdza się występowanie zaburzeń współistniejących (Buckley i wsp., 2009). Na przykład 65% pacjentów z rozpoznaniem schizofrenii cierpi na zaburzenia lękowe (Temmingh i Stein, 2015), które ze względu na powszechne współwystępowanie jest przez niektórych uznawane za objaw tej choroby (Kiran i Chaudhury, 2016; Hall, 2017).

Shitij Kapur (2003) odnosząc się do całokształtu objawów zaproponował, by określać schizofrenię jako ang. „*aberrant salience*”, czyli niemożność przypisania doświadczanym

bodźcom odpowiedniego znaczenia. Termin ten jest różnie tłumaczony na język polski; pojęciami najbliższymi oddającymi oryginalne założenia Kapura (2003) są „zaburzenie w nadawaniu istotności” (Szczotka i Majchrowicz, 2018) oraz „dysfunkcja istotności” (Zajkowski i Jankowiak-Siuda, 2014). W niniejszej rozprawie stosowane będzie tłumaczenie tego zwrotu jako: „zaburzenie oceny istotności (bodźców)”.

Za przyczynę objawów schizofrenii uznaje się przede wszystkim nadmierną transmisję dopaminergiczną, występującą głównie w korze przedczołowej i prążkowi (Lindström i wsp., 1999; Howes i wsp., 2009; Kegeles i wsp., 2010; McCutcheon i wsp., 2018). Jej źródłem ma być zanik synaps w komórkach piramidowych, co wywołuje kompensację w postaci nadmiernej syntezy dopaminy (Howes i Onwordi, 2023). U chorych na schizofrenię opisano także zaburzenia w przekazywaniu glutaminianergicznym (Goff i Coyle, 2001), serotoninergicznym (Kapur i Remington, 1996) i cholinergicznym (Tandon, 1999). Dlatego też w leczeniu schizofrenii wykorzystuje się leki o działaniu przeciwpyschotycznym, które działają antagonistycznie na dopaminergiczne receptory aktywujące obecne w synapsach (Carlsson, 1978; Miyamoto i wsp., 2005). Jednym z pierwszych leków zastosowanych w terapii schizofrenii był haloperidol (Seeman i wsp., 1974; Seeman i wsp., 1975; Niemegeers i Laduron, 1976; Seeman i wsp., 1976), którego cechą charakterystyczną jest silne powinowactwo do receptorów D₂, przez co efekt terapeutyczny osiągany jest przy niskich dawkach w krótkiej perspektywie czasowej (Leysen i wsp., 1992; Xiberas i wsp., 2001; Sikazwe i wsp., 2003). Właściwość ta wiąże się jednak ze zwiększonym ryzykiem pojawienia się tzw. objawów pozapiramidowych, tj. zaburzeń układu ruchu w postaci drgawek, niekontrolowanych skurczy mięśni i nadmiernego pobudzenia ruchowego (Kurz i wsp., 1995; Rasmussen i wsp., 2017). Skuteczność działania haloperidolu badano także na zwierzęcych modelach schizofrenii (Swerdlow i Geyer, 1993; Peres i wsp., 2018b; Osacka i wsp., 2022; Valvassori i wsp., 2023).

1.4.1. Zwierzęce modele schizofrenii

Ze względu na niepoznaną w pełni, wieloczynnikową etiologię schizofrenii, do jej badania opracowano wiele zwierzęcych modeli tej choroby. Problemem w badaniu zwierzęcych modeli chorób ludzi jest ocena trafności dobranych metod i grup doświadczalnych. W tym celu stosowany jest podział zaproponowany przez Willnera (1984), wyróżniający trzy formy trafności modelu. Trafność powierzchowna (ang. *face validity*) określa, jak bardzo model zwierzęcy przypomina objawy obecne u ludzi. Trafność teoretyczna (ang. *construct validity*) definiowana jest jako stopień, w jakim model zwierzęcy odzwierciedla patomechanizmy

ludzkiej choroby. Trafność predykcyjna (ang. *predictive validity*) opisuje zdolność modelu do przewidywania efektu leczenia. Walidacja w jakim stopniu model zwierzęcy wypełnia kryteria różnych rodzajów trafności pozwala ocenić jak dobrze odzwierciedla on określoną chorobę (Belzung i Lemoine, 2011). Nie ma chorób, dla których opracowano pojedynczy model zwierzęcy, który spełniałby dokładnie wszystkie trzy rodzaje trafności, jednak nawet częściowe odwzorowanie choroby ludzkiej u zwierzęcia pozwala na pogłębianie wiedzy na jej temat (Subramanian, 2022).

W celu jak najlepszego odwzorowania schizofrenii dąży się do tego, aby zwierzęta przejawiały zachowania będące odpowiednikami objawów schizofrenii u ludzi (ang. *schizophrenia-like behaviors*, SLB; Klein i wsp., 2013; Girardi i wsp., 2014; Ang i wsp., 2021). Przykładami SLB są: wysoka aktywność lokomotoryczna, zaburzone bramkowanie czuciowo-ruchowe, wycofanie społeczne, zaburzenia pamięci i skupienia uwagi oraz anhedonia (Peres i wsp., 2018b). Pożądane jest także, aby w zwierzęcym modelu występowały nieprawidłowości w neurotransmisji, odzwierciedlające zjawiska obecne u chorych na schizofrenię np. zaburzona neurotransmisja glutaminianergiczna (Moghaddam i Jackson, 2003) czy dopaminergiczna (Lodge i Grace, 2008), które podlegają leczeniu za pomocą leków przeciwpsychotycznych (Jones i wsp., 2011; Peres i wsp., 2018b). Wg Peres i wsp. (2018b), obecność i nasilenie SLB bada się w testach behawioralnych: otwartego pola (ang. *open field*, OF; aktywność lokomotoryczna, lęklivość), rozpoznawania nowego obiektu (ang. *novel object recognition*, NOR; pamięć), interakcji społecznej (ang. *social interaction*, SI; popęd społeczny) i testu hamowania przedsygnalowego odruchu wzdrygnięcia (ang. *prepulse inhibition test*, test PPI; bramkowanie czuciowo-ruchowe).

W zależności od sposobu wywoływania SLB, wyróżnia się cztery grupy zwierzęcych modeli schizofrenii: rozwojowe, farmakologiczne, oparte na lezjach i genetyczne. Modele rozwojowe (neurorozwojowe), których geneza opiera się na hipotezie uznającej za przyczynę choroby stany zapalne (Narihara i wsp., 2022), uzyskuje się poprzez perinatalną ekspozycję na metylazoksymetanol (Moore i wsp., 2006) lub czynniki prozapalne, takie jak kwas poliryboinozynowo-poliribocytidylowy (Naranjo i wsp., 2019) czy lipopolisacharydy (Wischhof i wsp., 2015). Modele farmakologiczne uzyskiwane są na drodze naśladowania zmian w przekazywaniu neuronalnym, np. przez podawanie amfetaminy, wzmacniającej transmisję dopaminergiczną (Featherstone i wsp., 2007; Peleg-Raibstein i wsp., 2008), czy też antagonistów receptorów NMDA (fencyklidyny, ketaminy), imitujących hipoaktywność transmisji glutaminianergicznej (Jentsch i Roth, 1999; Becker i wsp., 2003). Modele oparte na

leżących opierają się na rozległych uszkodzeniach wybranych struktur, np. brzuszego obszaru hipokampa (Lipska i wsp., 1993; Lipska i Weinberger, 1994) lub przyśrodkowej kory przedczołowej (Jaskiw i wsp., 1990; Swerdlow i wsp., 1995). Modele genetyczne opierają się mutacjach poszczególnych genów, zarówno u myszy, np. geny DISC1 (Jaaro-Peled, 2009), neureguliny 1 (Papaleo i wsp., 2016), dysbindyny 1 (Papaleo i wsp., 2012), jak i u szczurów, np. Cacna1c (Wöhr i wsp., 2021).

Co więcej, istnieją szczepy szczurów, u których SLB pojawiają się spontanicznie, bez wcześniejszych interwencji. Należą do nich: APO-SUS (Ellenbroek i wsp., 1995), Brattleboro (Cilia i wsp., 2010; Török i wsp., 2021) oraz SHR (Peres i wsp., 2018b).

1.4.2. Charakterystyka szczepu SHR

Szczep SHR wyprowadzono ze stada szczurów Wistar-Kyoto (WKY) poprzez wybiórcze krzyżowanie ze sobą osobników o wysokim ciśnieniu krwi w spoczynku (Kozo i Kyuzo, 1963). SHR są zwierzęcym modelem pierwotnego nadciśnienia tętniczego, tj. nadciśnienia o nieuchwytniej przyczynie (Lerman i wsp., 2005). Patofizjologię nadciśnienia tętniczego SHR można tłumaczyć m.in. wysoką aktywnością układu współczulnego (Judy i wsp., 1976) i nadwrażliwością układu naczyniowego na noradrenalinę (Smith i wsp., 1984). Jednakże, oprócz zaburzeń pracy układu krążenia, u SHR obserwuje się specyficzne nieprawidłowości behawioralne. Szczury te w wieku młodocianym cechują się nadaktywnością lokomotoryczną, impulsywnością oraz ubytkami uwagi, uczenia się i zapamiętywania (Meneses i Hong, 1998; Heal i wsp., 2008; Wells i wsp., 2010). W efekcie uznano SHR za zwierzęcy model zespołu nadpobudliwości ruchowej z deficytem uwagi (ang. *attention deficit hyperactivity disorder*, ADHD). Uważa się, że SHR są jedyną wyprowadzoną linią szczurów, które przejawiają wszystkie główne objawy behawioralne ADHD (Meneses i wsp., 2011; Regan i wsp., 2022).

U osób cierpiących na ADHD stwierdzono podwyższone ryzyko rozwoju schizofrenii po osiągnięciu dojrzałości (Gough i Morrison, 2016; Jeon i wsp., 2023). Z kolei zespół prowadzony przez Vanessę Costhek Abílio zasugerował, że na podstawie występowania licznych SLB, dorosłe SHR należy uznać również za szczurzy model schizofrenii (Peres i wsp., 2018b). Uważa się, że wysoka aktywność lokomotoryczna SHR odzwierciedla wytwórcze objawy schizofrenii (Knardahl i Sagvolden, 1979; Calzavara i wsp., 2011a). Deficyty w uczeniu się podczas FC i testu rozpoznawania nowego obiektu, a także zaniechanie zachowań społecznych odpowiadają objawom deficytowym, które ulegają poprawie po podaniu leków

o działaniu przeciwpyschotycznym (Calzavara i wsp., 2009; Calzavara i wsp., 2011a; Calzavara i wsp., 2011b; Leão i wsp., 2021).

Natomiast, niewiele wiadomo na temat zachowań wokalizacyjnych SHR. Dotychczas stwierdzono jedynie, że w obecności ściółki z zapachem samca samice SHR wokalizują mniej niż samice szczurów Sprague-Dawley (Zhang-James i wsp., 2014). Dlatego ważnym aspektem niniejszej pracy było opisanie USV emitowanych przez SHR i ich odpowiedzi na odtwarzanie USV z playbacku. Z racji obecnych w schizofrenii zaburzeń mowy, taki opis stanowiłby użyteczne uzupełnienie SHR jako modelu schizofrenii.

1.5. Podsumowanie

Stan emocjonalny szczurów można badać obserwując ich odpowiedź behawioralną na odtwarzane z głośnika USV. Jednakże, rejestracja USV emitowanych w takiej sytuacji nie jest szeroko stosowaną metodą badawczą. Wiadomo, że zachowanie szczurów różni się zależnie od pasma częstotliwości do którego należą odtwarzane USV. Wiadomo także, że wcześniejsze doświadczenia życiowe i cechy wrodzone zwierząt wpływają na ich zachowania społeczne.

W niniejszej rozprawie zastosowano opracowany w Pracowni Behawioralno-Metabolicznej IMDiK PAN schemat playbacku, który wcześniej pozwolił wykazać różnice w aktywności lokomotorycznej, parametrach krążeniowych i emisji USV wynikające z tego, jakiego typu były odtwarzane szczurom USV i jaki był kontekst społeczny chowu tych zwierząt. Postanowiono zbadać, jak inne czynniki wpłyną na odpowiedź szczurów na playback. Na pierwszy czynnik wybrano doświadczenie życiowe w postaci podawania bodźców bólowych podczas treningu FC. Według dostępnej literatury doznanie wielu szoków elektrycznych wywołuje trwałą pamięć zdarzenia i przewlekłe zmiany w behawiorze zwierząt. Pomimo obszernej wiedzy na temat USV emitowanych w trakcie FC nie jest znane oddziaływanie tej procedury na późniejsze zachowanie szczurów w odpowiedzi na playback USV. Drugim badanym czynnikiem były cechy wrodzone badane poprzez porównanie behawioru szczurów Wistar z SHR. Te ostatnie, ze względu na występowanie w ich zachowaniu licznych SLB są opisywane jako zwierzęcy model schizofrenii. Nie ma natomiast dostępnych informacji dotyczących wielu właściwości USV emitowanych przez SHR, a co za tym idzie, nie wiemy, na ile emisja USV przez SHR odzwierciedla opisane w schizofrenii zaburzenia komunikacji społecznej.

2. Cele pracy i hipotezy badawcze

Celem rozprawy było określenie wpływu wybranych czynników na odpowiedź behawioralną szczurów na odtwarzanie USV 50-kHz i 22-kHz z głośnika. Pierwszym z tych czynników były cechy wrodzone tych zwierząt, badane poprzez porównanie zachowania szczurów stada Wistar i szczepu SHR, którego ubytki behawioralne uznaje się za odpowiedniki objawów schizofrenii u ludzi. Drugim były doświadczenia nabyte, wynikające z uprzedniego otrzymania bodźców bólowych w ramach treningu FC. Sformułowano hipotezę (1), że zarówno cechy wrodzone, jak i doświadczenia nabyte będą powodować różnice w zachowaniu szczurów w odpowiedzi na odtwarzanie USV.

Ponieważ SHR emitowały mniej USV niż szczury Wistar, w dalszych badaniach sprawdzono wpływ podawania leku o działaniu przeciwpsychotycznym (haloperidolu) na odpowiedź wokalizacyjną SHR na odtwarzanie USV. Sformułowano hipotezę (2), że po podaniu haloperidolu SHR będą emitować więcej USV, ponieważ lek złagodzi u tych szczurów zachowania będące odpowiednikami objawów schizofrenii u ludzi.

3. Materiały i metody

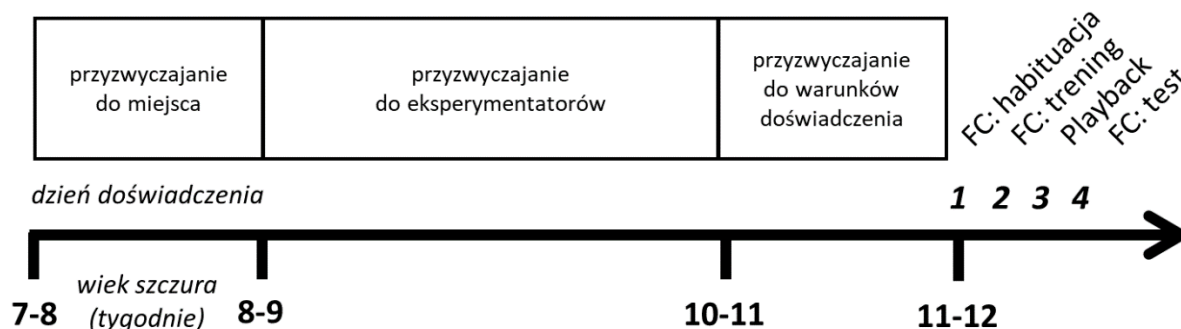
W doświadczeniach wykorzystano samce szczurów stada Wistar ($n = 94$), pochodzące z Centrum Medycyny Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku oraz SHR ($n = 116$), pochodzące ze Zwierzętarń IMDIK PAN. W pokojach do chowu zwierząt zapewniono 12-godzinny podział doby (z fazą jasną 9:00–21:00) oraz temperaturę 22–25°C. Szczury w momencie przybycia do laboratorium osiągnęły wiek 7–8 tygodni i chowane były w parach ze stałym dostępem do wody i paszy (rat breeding S8435-S022, ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Niemcy).

3.1. Odtwarzanie sygnałów ultradźwiękowych (playback) szczurom poddanym FC

3.1.1. Warunki utrzymania zwierząt

W doświadczeniach wykorzystano samce szczurów stada Wistar ($n = 94$) i szczepu SHR ($n = 80$). Doświadczenia przeprowadzano za zgodą I i II Lokalnej Komisji Etycznej w Warszawie (pozwolenia nr 646/2018 i WAW2/093/2019). Zwierzęta warunkowane oraz niewarunkowane były utrzymywane w dwóch oddzielnych pomieszczeniach. Temperatura i wilgotność powietrza były monitorowane codziennie i utrzymywały się odpowiednio na poziomie 25°C i 40–60%. Ilość wymian powietrza wynosiła od 15 do 17 objętości pomieszczenia na godzinę. FC przeprowadzano między godziną 15:00 a 24:00, a sesje odtwarzania dźwięków odbywały się w dni wolne od pracy Zwierzętarń, dzięki czemu ogólny poziom hałasu w budynku był niski.

Między przybyciem szczurów a rozpoczęciem doświadczenia mijały 4 tygodnie (Ryc. 1). W 1. tygodniu szczury przyzwyczajały się do nowych warunków, a czynności z udziałem eksperymentatorów (np. wymiana klatki) były ograniczane do minimum. W kolejnych tygodniach każde zwierzę było indywidualnie przyzwyczajane do eksperymentatora w sesjach trwających 2 min. Każdy z trzech eksperymentatorów przeprowadzał co najmniej cztery sesje przyzwyczajania do siebie (łącznie co najmniej 12 sesji). Zabieg chirurgiczny przeprowadzano w 3. tygodniu. Doświadczenia na szczurach Wistar i SHR prowadzono w tym samym czasie.



Ryc. 1. Ogólny schemat doświadczenia z warunkowaniem strachu (ang. *fear conditioning*, FC): górna część schematu przedstawia procedury przed testami behawioralnymi. Dolna część schematu przedstawia uproszony przebieg dni doświadczalnych, podczas których przeprowadzono FC i odtwarzanie sygnałów ultradźwiękowych z głośnika (playback). Szczegółowy schemat przebiegu doświadczenia w dniach 1–4 przedstawiono na Ryc. 2.

3.1.2. Procedury chirurgiczne

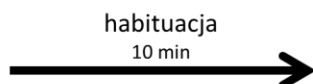
Do aorty brzusznej wszczepiano nadajnik radiotelemetryczny (HD-S10, Data Sciences International, St. Paul, Stany Zjednoczone), zgodnie z opisem zamieszczonym w publikacji Olszyńskiego i wsp. (2020). Okres rekonwalescencji po zabiegu trwał co najmniej 7 dni. W tym czasie zwierzęta były przyzwyczajane do warunków sesji odtwarzania sygnałów (Ryc. 1, 4. tydzień; Rozdz. 3.1.5); przez 4 dni każde ze zwierząt spędzało 2–3 min w pokoju doświadczalnym w warunkach przyszłego doświadczenia (Rozdz. 3.1.4). W momencie rozpoczęcia doświadczenia wszystkie zwierzęta były w wieku 11–12 tygodni. Analiza zmiennych zarejestrowanych za pomocą systemu telemetrycznego nie będzie rozpatrywana w niniejszej rozprawie; odnaleźć ją można w pracach Olszyńskiego i wsp. (2021; 2023a).

3.1.3. Warunkowanie strachu (FC)

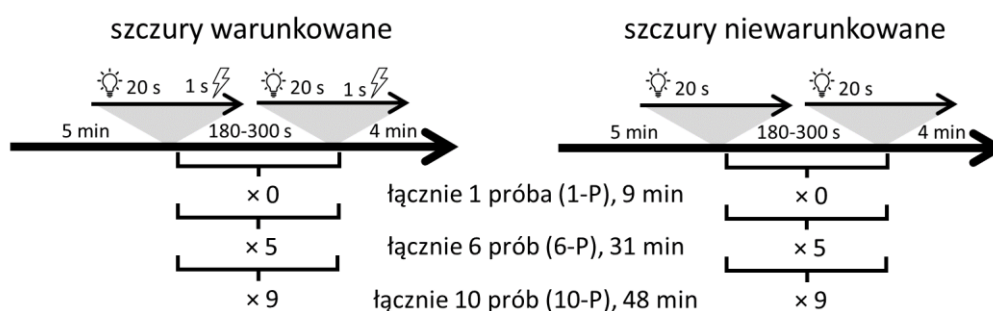
Zwierzęta przenoszono pojedynczo do pomieszczenia do FC, po czym umieszczano je w dźwiękoszczelnym urządzeniu do FC (MED-VFC2-USB-R, Med Associates, Fairfax, Stany Zjednoczone; wymiary 54,64 × 64,04 × 29,21 cm) wyłożonym pianką tłumiącą dźwięk (grubość 2,54 cm). Na jednej ze ścian urządzenia znajdowała się kamera rejestrująca wideo (30 klatek/s) w podczerwieni, a na suficie promiennik światła podczerwonego. W środku znajdowała się wykonana z przezroczystego tworzywa klatka do FC (VFC-008-LP, Med Associates, Stany Zjednoczone; wymiary 29,53 × 23,50 × 20,96 cm). Przednia, tylna ściana oraz sufit klatki wykonane były z przezroczystego tworzywa. Boczne ściany składały się z modułowych metalowych płytek; na jednej z nich znajdowała się biała lampka LED (średnica 2,5 cm), a na przeciwległej – ultradźwiękowy mikrofon pojemnościowy (CM16/CPMA,

Avisoft Bioacoustics, Berlin, Niemcy) podłączony do wzmacniacza i przetwornika cyfrowo-analogowego (UltraSoundGate 116Hb, Avisoft Bioacoustics). Podłoga klatki do warunkowania była wykonana z metalowych prętów (grubość 4,75 mm; odstęp między prętami 15,62 mm). Wnętrze urządzenia było w pełni zaciemnione. Między kolejnymi zwierzętami klatka była myta za pomocą detergentu, przecierana 10% etanolem i pozostawiana do wyschnięcia.

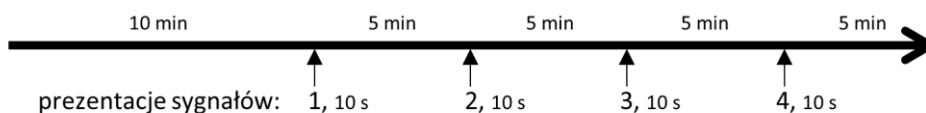
A. Dzień 1: Habitucja (klatka do warunkowania)



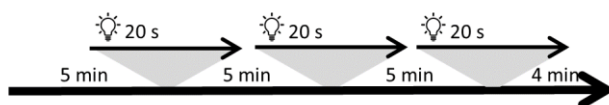
B. Dzień 2: Trening warunkowania (klatka do warunkowania)



C. Dzień 3: Odtwarzanie sygnałów ultradźwiękowych / playback (klatka równoważna domowej)



D. Dzień 4: Test warunkowania (klatka do warunkowania)



Ryc. 2. Schemat doświadczenia warunkowania strachu (FC) wraz z odtwarzaniem USV. **A. Dzień 1** – przyzwyczajanie do klatki warunkowania. Szczur przebywał w niej przez 10 min i bez prezentacji bodźców. **B. Dzień 2** – trening FC. Przez pierwsze 5 min rejestrowano zamieranie („zamieranie początkowe”) i USV. Następnie szczur otrzymywał 1, 6 lub 10 par bodźca wyodrębnionego (BW, ang. *cue*) i bólowego w układzie: 20 s białego światła LED oraz 1 s bodźca elektrycznego podanego na łapy przez pręty w podłodze (1 mA). Oba bodźce kończyły się w tym samym momencie, po czym rozpoczynała się przerwa między próbami o losowej długości od 180 s do 300 s (średnio 240 s; por. Lindquist i wsp. (2004)). W efekcie sesja treningu FC różniła się między grupami długością: 9 min dla grupy poddanej jednej próbie warunkowania (1-P), 31 min dla grupy poddanej sześciu próbom (6-P) i 48 min dla grupy poddanej dziesięciu próbom (10-P). Dla każdej grupy warunkowanej zastosowano niewarunkowaną grupę kontrolną (0-P), której sesja w klatce do warunkowania przebiegała według takiego samego schematu, jednak bez podawania bodźców bólowych. **C. Dzień 3** – sesja odtwarzania sygnałów z głośnika (Rozdz. 3.1.4 i 3.1.5). **D. Dzień 4** – test FC. Przez pierwsze 5 min rejestrowano wartości zamierania i emisji USV jako odpowiedzi na kontekst warunkowania („test kontekstu”). Następnie szczurowi trzykrotnie prezentowano dodatkowo białe światło LED (średnica 2,5 cm) przez 20 s w odstępach co 5 min (średnią z trzech

20-sekundowych okresów podawania BW uznano za miarę zamierania w teście kontekstu z dodatkiem BW). Trening i test FC były przeprowadzane przez eksperymentatora niebiorącego udziału w sesji odtwarzania dźwięków z głośnika.

Tab. 1. Liczebność grup zwierząt poddanych warunkowaniu strachu (FC) i odpowiadających im grup kontrolnych, które spędziły w klatce do FC taki sam czas, co grupa warunkowana.

Liczba prób/ szoków	Szczury warunkowane			Szczury niewarunkowane (kontrola równoczesowa)		
	Wistar, n	SHR, n	Nazwa grupy	Wistar, n	SHR, n	Nazwa grupy
1	16	17	1-P	13	11	0-P(1)
6	22	17	6-P	11	10	0-P(6)
10	19	15	10-P	13	10	0-P(10)
razem	57	49	1-6-10-P	37	31	0-P(1-6-10)

	Wistar, n	SHR, n	Nazwa grupy
Wszystkie zwierzęta	94	80	0-1-6-10-P

3.1.4. Odtwarzanie sygnałów ultradźwiękowych z głośnika (playback): konfiguracja sprzętu

Następnego dnia po warunkowaniu (Ryc. 1) szczur był umieszczany w indywidualnej klatce doświadczalnej, identycznej z klatką bytową (wymiały 37 × 25 × 16 cm) i przenoszony do pomieszczenia doświadczalnego oświetlonego białym światłem. W nieobecności eksperymentatora i innych szczurów w pomieszczeniu, zwierzęciu odtwarzano sygnały akustyczne za pomocą głośnika ultradźwiękowego (Vifa, Avisoft Bioacoustics), umieszczonego bezpośrednio nad krótszym bokiem klatki i podłączonego przetwornika cyfrowo-analogowego (UltraSoundGate Player 116, Avisoft Bioacoustics). USV emitowane przez szczura były rejestrowane przez mikrofon pojemnościowy (CM16/CPMA, Avisoft Bioacoustics) zawieszony 33 cm nad środkiem podłogi klatki i 20 cm od głośnika i podłączony do wzmacniacza i przetwornika cyfrowo-analogowego (UltraSoundGate 116Hb, Avisoft Bioacoustics). W takiej konfiguracji sprzętu sygnały z głośnika były nadal widoczne na nagraniu (co pozwalało na monitorowanie odtwarzania), ale były wyraźnie słabsze niż USV emitowane przez szczura w klatce. Zarówno do odtwarzania, jak i nagrywania sygnałów wykorzystano oprogramowanie Avisoft Recorder USGH (wersja 4.2.28, Avisoft Bioacoustics). Aktywność lokomotoryczna szczura była rejestrowana za pomocą kamery (acA1300-60gc, Basler AG, Ahrensburg, Niemcy) zamontowanej nad klatką oraz oprogramowania EthoVision XT (wersja 10, Noldus, Wageningen, Holandia).

3.1.5. Odtwarzanie sygnałów ultradźwiękowych z głośnika (playback): schemat

Po umieszczeniu szczura w klatce przygotowanej według opisu w Rozdz. 3.1.4 następowało 10 min ciszy z włączonym głośnikiem (tj. szum tła o natężeniu $20,6 \pm 0,2$ dB), po czym odtwarzano cztery zestawy sygnałów trwających po 10 s, oddzielonych od siebie 5-minutowymi przerwami (Ryc. 2C). Każdemu szczurowi odtwarzano cztery zestawy sygnałów:

- a. naturalne wokalizacje ultradźwiękowe pasma 50 kHz (USV 50-kHz): 28 sygnały w 3 powtórzeniach (łącznie 84 sygnały), o częstotliwości¹ od 49,2 do 73,4 kHz (średnio $58,6 \pm 0,7$ kHz), długości $28,4 \pm 1,6$ ms i natężeniu $31,9 \pm 0,6$ dB, nagrane w innych doświadczeniach podczas interakcji społecznych szczurów;
- b. wygenerowane za pomocą programu SASLab Pro (wersja 5.2.14, Avisoft Bioacoustics) tony o częstotliwości 50 kHz (tony 50-kHz), o liczbie, częstotliwości, długości i odstępach między sygnałami naśladującymi naturalne USV (punkt a), lecz bez modulacji i o natężeniu $32,6 \pm 0,7$ dB;
- c. naturalne wokalizacje ultradźwiękowe pasma 22 kHz (USV 22-kHz): 3 sygnały w 8 powtórzeniach (łącznie 24 sygnały), o częstotliwości od 21,4 do 23,0 kHz (średnio $22,1 \pm 0,1$ kHz), długości $375,3 \pm 21,6$ ms i natężeniu $38,3 \pm 1,2$ dB, nagrane w innych doświadczeniach podczas FC (Avisoft Bioacoustics [Internet]; c2020 Examples of rat ultrasonic vocalizations (USV), Norwegian Rat (*Rattus norvegicus*), Wistar albino strain, Males; <https://avisoft.com/rodents/>)
- d. wygenerowane za pomocą programu SASLab Pro (wersja 5.2.14, Avisoft Bioacoustics) tony o częstotliwości 22 kHz (tony 22-kHz), o liczbie, częstotliwości, długości i odstępach między sygnałami naśladującymi naturalne USV (punkt c) i o natężeniu $43,3 \pm 3,0$ dB.

Powyższe zestawy apetytywne (a, b) i awersyjne (c, d) były odtwarzane szczurom w różnej sekwencji w celu zbilansowania liczby określonych kolejności zestawów w ramach badanych grup z tym, że dźwięki tego samego pasma częstotliwości, np. USV 50-kHz i tony 50-kHz, zawsze występowały po sobie. Sygnały były odtwarzane z częstotliwością próbkowania 200 kHz w formacie 16-bitowym. Poziomy ciśnienia akustycznego szumu tła i sygnałów odtwarzania zostały ocenione na środku podłogi klatki testowej, na wysokości typowej dla

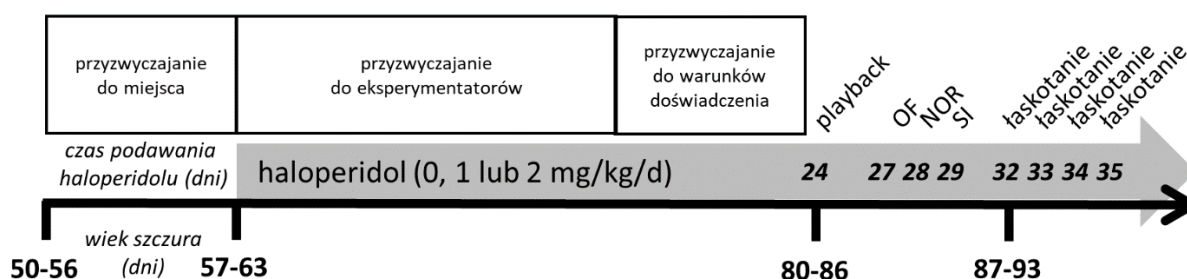
¹ W niniejszej rozprawie częstotliwość analizowanych dźwięków definiowana jest jako pomiar szczytowej wartości częstotliwości dźwięku z uśrednionego widma tego dźwięku (ang. *peak frequency of the averaged spectrum*), oznaczana przez program użyty do analizy – SASLab Pro jako *peak frequency(mean)*; skrót: mpf.

głowy zwierzęcia, zwróconej w stronę głośnika. Łączna długość sesji wynosiła 1840 s. Ze względu na znikome różnice (głównie w formie tendencji) między odpowiedzią na sygnały naturalne (USV) i wygenerowane sztucznie (tony), w niniejszej rozprawie odpowiedź na tony nie została omówiona.

3.2. Playback sygnałów ultradźwiękowych u SHR przyjmujących chronicznie haloperidol

3.2.1. Warunki utrzymania zwierząt

W doświadczeniach wykorzystano samce szczurów szczepu SHR ($n = 36$). Doświadczenia przeprowadzono za zgodą II Lokalnej Komisji Etycznej w Warszawie (pozwolenie nr WAW2/018/2024). Zachowano warunki utrzymania zwierząt opisane w Rozdz. 3.1.1.



Ryc. 3. Schemat chronicznego podawania haloperidolu wraz z zastosowanymi testami behawioralnymi.

3.2.2. Podawanie i monitorowanie przyjmowania roztworu leku

Haloperidol (H1512-10G, Sigma-Aldrich, St. Louis, Stany Zjednoczone) podawany był w wodzie do picia w dawce 1,0 mg/kg/d (grupa HALO1, $n = 12$) lub 2,0 mg/kg/d (grupa HALO2, $n = 12$). Grupa kontrolna otrzymywała wodę (grupa HALO0, $n = 12$). Ze względu na niską rozpuszczalność haloperidolu w wodzie, zastosowano dwa sposoby podawania: w jednym haloperidol był rozpuszczany wyłącznie w wodzie, w drugim – najpierw rozpuszczany był w niewielkiej ilości 6% kwasu octowego, a następnie w wodzie. Końcowe stężenie kwasu octowego w roztworze było znikome (0,00003%). Nie stwierdzono jednak różnic – ani w ilości spożytej wody, ani w późniejszych analizach zachowania – stąd też w późniejszym opisie różnice w sposobie podawania leku nie są rozpatrywane. Ponieważ szczur o masie ciała 300 g spożywa w ciągu doby średnio 37,6 g wody (obserwacja z innych uprzednio realizowanych doświadczeń) przyjęto założenie, aby dobową porcję leku dla szczura o masie ciała 300 g rozpuszczać w 30 g wody. Roztwór był przygotowywany codziennie, tuż przed podaniem, które następowało w godzinach 8:00–10:00. W tym czasie butelki z poprzedniej doby były usuwane

z klatek i przejściowo zastępowane butelkami z czystą wodą. Ilość niewypitych płynów była określana poprzez zważenie. Podawanie haloperidolu przeprowadzano według procedury opisanej przez Schmitta i wsp. (1999). Świeżo przygotowany roztwór haloperidolu był rozlewany do butelek z uwzględnieniem masy ciała dwóch szczurów przebywających razem w klatce. Ilość roztworu do wypicia była korygowana co 3 dni na podstawie pomiaru masy ciała zwierząt. Pierwsza sesja doświadczalna (playback) była przeprowadzana po 23 dniach przyjmowania haloperidolu.

3.2.3. Odtwarzanie sygnałów z głośnika (playback): schemat

Pokój doświadczalny przygotowano według opisu umieszczonego w Rozdz. 3.1.4. Sygnały prezentowano według opisu umieszczonego w Rozdz. 3.1.5, zastępując opisane tam zestawy sygnałów następującymi:

- a. naturalne USV 50-kHz: 71 sygnałów bez powtórzeń, o częstotliwości od 45,4 do 78,1 kHz (średnio $65,2 \pm 0,8$ kHz), długości $43,8 \pm 1,6$ ms i natężeniu $33,5 \pm 0,6$ dB, nagrane w doświadczeniach odpowiedzi ultradźwiękowej szczurów na USV odtwarzane z głośnika;
- b. naturalne USV 22-kHz: 3 sygnały w 8 powtórzeniach (łącznie 24 sygnały), o częstotliwości od 21,4 do 23,0 kHz (średnio $22,1 \pm 0,1$ kHz), długości $375,3 \pm 21,6$ ms i natężeniu $38,3 \pm 1,2$ dB, nagrane w innych doświadczeniach podczas FC (Avisoft Bioacoustics [Internet]; c2020 Examples of rat ultrasonic vocalizations (USV), Norwegian Rat (*Rattus norvegicus*), Wistar albino strain, Males; <https://avisoft.com/rodents/>)

Pierwszym zwierzęciem w doświadczeniu był szczur otrzymujący wodę (dawka haloperidolu wys. 0 mg/kg/d). Każdy z pakietów prezentowany był dwukrotnie, a uzyskany w ten sposób wynik z dwóch powtórzeń był podczas analizy uśredniany. Podczas odtwarzania stosowano układ playbacku: 50-50-22-22 lub 22-22-50-50. W pierwszej sesji playbacku danego dnia szczur zawsze słyszał najpierw USV 50-kHz, a następnie USV 22-kHz.

3.2.4. Test otwartego pola (OF)

Test OF przeprowadzano na podstawie prac Calzavary i wsp. (2011a) oraz Osborne i wsp. (2017). Zwierzęta umieszczano pojedynczo na dnie areny (o wymiarach podstawy 60×60 cm i wysokości 35 cm), w rogu, przodem do ściany. Kamera wideo umieszczona nad areną rejestrowała aktywność lokomotoryczną zwierzęcia. Obraz wideo posłużył także do wyliczenia

proporcji między czasem spędzonym na środku areny (za środek uznano centralny kwadratowy obszar o powierzchni równej 66% całej areny) względem czasu spędzonego przy jej ściankach, co stanowi wyraz poziomu lęklivosti szczura (im bardziej lękliwy osobnik, tym więcej czasu spędza przy ścianach). Mikrofony (CM16/COMPA, Avisoft Bioacoustics) umieszczone nad areną rejestrowały dźwięki wydawane przez zwierzęta. Test trwał 5 min. Tą samą arenę wykorzystano do testu NOR (Rozdz. 3.2.5) oraz testu SI (Rozdz. 3.2.6); stąd test OF posłużył także jako etap przyzwyczajania do warunków panujących podczas kolejnych czynności.

3.2.5. Test rozpoznawania nowego obiektu (NOR)

Test NOR przeprowadzano według Osborne i wsp. (2017). Opierał się on na wykorzystaniu dwóch rodzajów obiektów: walców wykonanych z grubego szkła lub metalu.

- Etap 1 (habitucja do obiektów). W celu zaznajomienia zwierząt z obiektami, 24 h przed wykonaniem testu umieszczono w ich klatkach dwa walce wykonane z grubego szkła.
- Etap 2 (prezentacja znanych obiektów). Następnego dnia rano oba znane szczurom obiekty umieszczano w arenie. Szczur wkładany był do areny pojedynczo, w rogu, przodem do ściany, po czym swobodnie badał arenę i obiekty przez 5 min.
- Etap 3 (prezentacja nowego obiektu). Po upływie 1 h od zakończenia Etapu 2 w arenie umieszczano dwa obiekty: jeden znany szczurom i jeden nowy (walec metalowy). Szczur wkładany był do areny tak samo jak wcześniej, po czym swobodnie badał wnętrze areny i obiekty przez 5 min. Kamera wideo umieszczona nad areną rejestrowała aktywność lokomotoryczną zwierzęcia i jego interakcje z obiektami.

3.2.6. Test interakcji społecznej (SI)

Test SI przeprowadzano na podstawie Calzavary i wsp. (2011a) oraz Osborne i wsp. (2017). Wykonywano go na dwóch szczurach z różnych miotów i różnych klatek, ale z tej samej grupy (wcześniej dostawały do picia ten sam roztwór). Zwierzęta nie miały bezpośredniego kontaktu ze sobą wcześniej (na żadnym etapie doświadczenia). Preferowano taką kolejność par, by za każdym razem następowały po sobie zwierzęta z różnych grup. Szczury umieszczane były w arenie równocześnie, w odległości 80 cm, w przeciwległych rogach, przodem do ściany. Kamera wideo umieszczona nad areną rejestrowała aktywność lokomotoryczną zwierząt oraz ich interakcje. USV były rejestrowane za pomocą mikrofonu ultradźwiękowego umieszczonego nad areną. Test trwał 7 min.

3.2.7. Łaskotanie

Łaskotanie (ang. *tickling*) przeprowadzono według metody opisanej przez Pankseppa i Burgdorfa (2000). Szczury umieszczane były pojedynczo w klatce doświadczalnej, identycznej z domową. Sesja łaskotania przeprowadzana była przez eksperymentatora ręką bez założonej rękawiczki. Przez pierwsze 15 s eksperymentator łaskotał szczura, imitując zabawę (kontakt przez grzbiet i przyciskanie do podłoża), a przez kolejne 15 s wodził palcem po ściółce w klatce, imitując ucieczkę. Dwa 15-sekundowe etapy powtarzane były na zmianę przez 2 min. Każdy ze szczurów poddawany był jednej sesji łaskotania dziennie przez 4 dni pod rząd. Kamera wideo umieszczona nad klatką rejestrowała aktywność lokomotoryczną zwierząt; do analizy wykorzystano USV zarejestrowane wyłącznie ostatniego dnia.

3.3. Analiza zarejestrowanych danych

3.3.1. Analiza USV

Nagrania audio zostały przeniesione do oprogramowania SASLab Pro (wersja 5.2.14, Avisoft Bioacoustics), gdzie na ich podstawie, z wykorzystaniem szybkiej transformacji Fouriera (długość FFT 512, ramka 100%, okno FlatTop i 75% nakładki czasowej), tworzono spektrogramy o wysokiej rozdzielczości (rozdzielczość częstotliwości: 391 Hz; rozdzielczość czasowa: 0,64 ms). Ultradźwięki na spektrogramach zostały oznaczone ręcznie. Minimalny czas trwania pojedynczego zaznaczonego elementu wynosił 1 ms. Do analizy wykorzystano wartości częstotliwości i czasu trwania elementu (długości), mierzone automatycznie przez oprogramowanie. Na podstawie tych wartości USV zostały przypisane do jednej z trzech kategorii: 50-kHz (częstotliwość >32 kHz), krótkie 22-kHz (częstotliwość od 18 do 32 kHz, długość <0,3 s) i długie 22-kHz (częstotliwość od 18 do 32 kHz, długość >0,3 s).

3.3.2. Analiza zamierania

Ocena zamierania została przeprowadzona automatycznie przez oprogramowanie Video Freeze (Med Associates) za pomocą liniowej metody oceny epizodów, w których ruch zwierzęcia, tj. zmiana pikseli między klatkami nagrania wideo, był poniżej ustalonego progu ruchu wynoszącego 18 (domyślne ustawienia pozwalające odfiltrować ruchy oddechowe) i trwał co najmniej 30 klatek wideo, tzn. 1 s.

3.3.3. Analiza obrazu wideo

W analizie wideo sesji odtwarzania sygnałów z głośnika, OF i NOR wykorzystano zautomatyzowany system śledzenia wideo (Ethovision XT, wersja 10, Noldus). Jako punkt odniesienia do pomiarów aktywności lokomotorycznej wybrano centrum kształtu każdego zwierzęcia. Na tej podstawie liczono całkowity dystans przebyty [cm] i prędkość zwierzęcia [cm/s]. Dodatkowo mierzono także:

- podczas sesji odtwarzania sygnałów z głośnika: czas spędzony w połowie klatki bliższej głośnikowi [% całego czasu spędzonego w klatce];
- w teście OF: czas spędzony w środku oraz przy ścianach areny [% całego czasu spędzonego w arenie];
- w teście NOR: czas spędzony na badaniu poszczególnych obiektów [% czasu badania obiektów]; za badanie obiektu uznano te sytuacje, gdy nos szczura znajdował się w odległości przynajmniej 5 cm od obiektów; wspinanie się na obiekt nie było uznawane za jego badanie; zachowanie szczura analizowano do momentu aż spędził on łącznie 10 s na badaniu obiektów lub przez całą sesję (5 min) – w przypadku niespełnienia tego warunku.

W testach OF i SI oceniano także zachowanie szczurów za pomocą wizualnej analizy wideo z wykorzystaniem programu BehaView (wersja 0.0.23, dr P. Boguszewski, www.pmbogusz.net). Po ręcznym oznaczeniu badanych zachowań, liczono: latencję do pojawienia się zachowania, liczbę wystąpień zachowania i czas trwania danego zachowania. W teście OF oznaczano: stójki, pielęgnację sierści, podskoki, mikcję i defekację. W teście SI oznaczano: interakcję bierną (przebywanie pary zwierząt w odległości przynajmniej 5 cm od siebie), interakcję aktywną (zwierzęta obwąchują się lub czynnie dotykają), podążanie (gdy jeden szczur idzie za drugim).

3.3.4. Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą oprogramowania Statistica (wersja 7.1, StatSoft, Tulsa, Stany Zjednoczone) oraz GraphPad Prism (wersja 8.4.3, GraphPad Software, San Diego, Stany Zjednoczone). Wykresy wykonano w programie GraphPad Prism (wersja 8.4.3, GraphPad Software).

Wartości liczbowe w tekście podawane są jako średnia z błędem standardowym średniej (średnia $\pm$ SEM) lub jako mediana z rozstępem międzykwartylnym [mediana (IQR 25%–75%)] (IQR, ang. *interquartile range*).

Wykresy pudełkowe, rysowane metodą Tukeya, przedstawiają medianę (linia środkowa pudełka) z pierwszym i trzecim kwartylem (dolna i górna krawędź pudełka). Wąsy zostały wyznaczone na podstawie kalkulacji rozstępu międzykwartylnego, czyli odległości między pierwszym a trzecim kwartylem (tj. dolną i górną krawędzią pudełka). Aby wykreślić górny wąs, do wartości trzeciego kwartyła dodano $1,5 \times \text{IQR}$. Jeżeli uzyskana wartość była równa lub wyższa niż wartość maksymalna w zbiorze danych, wąs wykreślono właśnie do niej. Jeżeli była niższa, długość wąsa wykreślono na wysokości trzeciego kwartyła + $1,5 \times \text{IQR}$; dodatkowo jeżeli w zbiorze pojawiły się wartości powyżej tego punktu, zostały one narysowane indywidualnie i były traktowane jako wartości odstające. Aby wykreślić dolny wąs, postępowano analogicznie (McGill i wsp., 1978; Krzywinski i Altman, 2014).

Wykresy przedstawiające przebieg w czasie przedstawiają wartość średnią $\pm$ SEM dla interwałów trwających 10 s. W części opisów poświęconym właściwościom zarejestrowanych USV (ich liczbie, długości i częstotliwości) analizie poddano czas obejmujący 10 s odtwarzania sygnału oraz 110 s następujące bezpośrednio po nim, tj. łącznie 120 s.

W analizie statystycznej wykorzystano testy nieparametryczne:

- Wilcoxona (ang. *Wilcoxon matched-pairs signed-rank test*) dla porównań dwóch wartości zależnych;
- Manna-Whitneya (ang. *Wilcoxon rank sum test*) dla porównań dwóch wartości niezależnych;
- Friedmana (ang. *Friedman ANOVA*) dla porównań wielu wartości zależnych;
- Kruskala-Wallisa dla porównań wielu wartości niezależnych;
- Fishera dla porównań wariancji;
- Spearmana dla korelacji.

W każdym z przypadków wykonano test dwustronny. Za próg istotności uznano $p < 0,05$.

Na podstawie oceny początkowego poziomu wokalizowania przed warunkowaniem (Ryc. 4E) dwa szczury Wistar z grupy 6-P zostały wykluczone z analizy, gdyż liczba ich USV została uznana za wartość odstającą od zbioru w obu zastosowanych metodach wykrywania takich wartości (> 75 percentyl + $1,5 \times \text{IQR}$ oraz $> 3 \times$ odchylenie standardowe). Jednakże każdy istotny poziom p został zweryfikowany jako obecny z uwzględnieniem tych dwóch szczurów.

4. Wyniki

Poniżej przedstawiono: wpływ zastosowania różnej liczby bodźców bólowych (w ramach FC; Rozdz. 4.1), użycia szczepu SHR (Rozdz. 4.2) i podawania haloperidolu szczurom SHR (Rozdz. 4.3) na odpowiedź badanych zwierząt na playback USV. Wyniki umieszczono na Ryc. 4–22 i w Tab. 2–6, a szczegółowe wyniki analiz statystycznych – w Tab. S1–S22 (Rozdz. 8).

Tak samo jak w publikacji Olszyńskiego i wsp. (2020), odpowiedź behawioralna szczurów na playback naturalnych USV i sztucznych tonów o podobnych właściwościach akustycznych była bardzo zbliżona. Dlatego też w pracy omawiane będą tylko obserwacje poczynione w ramach odtwarzania USV. Wyniki pomiaru HR nie zostały przedstawione w ramach niniejszej rozprawy; ich szerszy opis znajduje się w publikacjach Olszyńskiego i wsp. (2021; 2023a).

Wiele obserwacji, dokonanych w ramach badań przeprowadzonych w niniejszej rozprawie i odnoszących się do zachowania szczurów w odpowiedzi na playback sygnałów ultradźwiękowych, było analogicznych do opublikowanych poprzednio w pracy Olszyńskiego i wsp. (2020). Podobne obserwacje zostały zestawione w Tab. 2. W szczególności: odtwarzanie USV 50-kHz powodowało wzrost aktywności lokomotorycznej w trakcie playbacku u szczurów Wistar (Ryc. 5A–16A; Tab. S9a; Tab. 2, lp. 1) i w połowie grup SHR (Tab. S10a; Tab. 2, lp. 1). Z kolei w odpowiedzi na playback USV 22-kHz szczury obniżały aktywność lokomotoryczną po jego zakończeniu (u większości grup szczurów Wistar, Tab. S9a, i SHR, Tab. S10a; Tab. 2, lp. 2).

Po playbacku USV 50-kHz zarówno szczury Wistar (Ryc. 5C–9C, Tab. S7b), jak i SHR (Ryc. 10C–14C, Tab. S8b) spędzały więcej czasu w połowie klatki z głośnikiem (Wistar, Tab. S9b; SHR, Tab. S10b; Tab. 2, lp. 3). Po odtwarzaniu USV 22-kHz zachowanie to opisano u większości szczurów Wistar poddanych FC i u niektórych grup kontrolnych (Tab. S9b; Tab. 2, lp. 4); w przypadku SHR playback USV 22-kHz powodował zbliżanie się do głośnika wyłącznie szczurów poddanych FC (Tab. S10b; Tab. 2, lp. 4). Nie odnotowano różnic w czasie spędzonym w połowie klatki z głośnikiem między szczurami poddanymi FC a kontrolnymi (Tab. S2cd–S6cd).

Playback USV 50-kHz wywoływał odpowiedź ultradźwiękową szczurów Wistar (Ryc. 5E–9E; Tab. S7c, S9c) i SHR (Ryc. 10E–14E; Tab. S8c, S10c; Tab. 2, lp. 5). Natomiast jedynie u szczurów Wistar w większości grup odnotowano wzrost emisji USV po playbacku USV 22-kHz (Ryc. 5F–9F; Tab. S7c, S9c; Tab. 2, lp. 6). Stwierdzono także wyraźną i długotrwałą

różnicę liczby USV po odtwarzaniu USV 50-kHz vs 22-kHz u wszystkich szczurów Wistar (0-P(1-6-10) i 1-6-10-P; Tab. S14a) i SHR (0-P(1-6-10); Tab. S14b; Tab. 2, lp. 7).

Tab. 2. Porównanie podobieństw w wynikach doświadczeń z wykorzystaniem playbacku wykonanych w ramach rozprawy z opisanymi wcześniej przez nas w publikacji Olszyńskiego i wsp. (2020). Znak „+” oznacza wynik opisany w *iScience* lub zgodny z *iScience*, istotny statystycznie; „(+)” oznacza wynik zgodny z *iScience*, nieznamienny statystycznie; „-” oznacza wynik niezgodny z *iScience*; *iScience* – publikacja Olszyńskiego i wsp. (2020), *Brain Sciences* – publikacja Olszyńskiego i wsp. (2021), *Prog Neuropsychopharm Biol Psychiatrii* – publikacja Olszyńskiego i wsp. (2023a), w przypadku wiersza 8. nie wykonano analizy statystycznej.

Lp.	Wynik/obserwacja	<i>iScience</i>	<i>Brain Sciences</i>				<i>Prog Neuropsychopharm Biol Psychiatrii</i>			
		Wistar	szczury Wistar				SHR			
		brak FC	0-P	1-P	6-P	10-P	0-P	1-P	6-P	10-P
1.	Szczury poruszały się szybciej w czasie odtwarzania USV 50-kHz	+	+	+	+	+	(+)	+	+	(+)
2.	Szczury poruszały się wolniej po odtworzeniu USV 22-kHz	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	Odtwarzanie USV 50-kHz powodowało podchodzenie do głośnika	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	Odtwarzanie USV 22-kHz w mniejszym stopniu powodowało podchodzenie do głośnika	+	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+
5.	Szczury emitowały więcej USV po playbacku USV 50-kHz niż przed	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	Szczury emitowały więcej USV po playbacku USV 22-kHz niż przed	+	+	+	+	+	-	-	-	-
7.	Szczury emitowały więcej USV w odpowiedzi na playback 50- niż 22-kHz	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8.	Szczury emitowały głównie USV 50-kHz na playback USV 50-kHz i 22-kHz	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9.	Playback USV 50-kHz powodował wzrost HR	+	+	+	(+)	(+)	-	-	-	-
10.	Playback USV 22-kHz powodował obniżenie HR	+	+	(+)	+	(+)	+	+	+	+
11.	Różnica w HR pomiędzy playbackiem USV 50-kHz a 22-kHz utrzymywała się przez co najmniej 1 min od jego startu	+	+	-	-	-	+	+	-	+

4.1. Wpływ doświadczeń nabytych: efekt FC

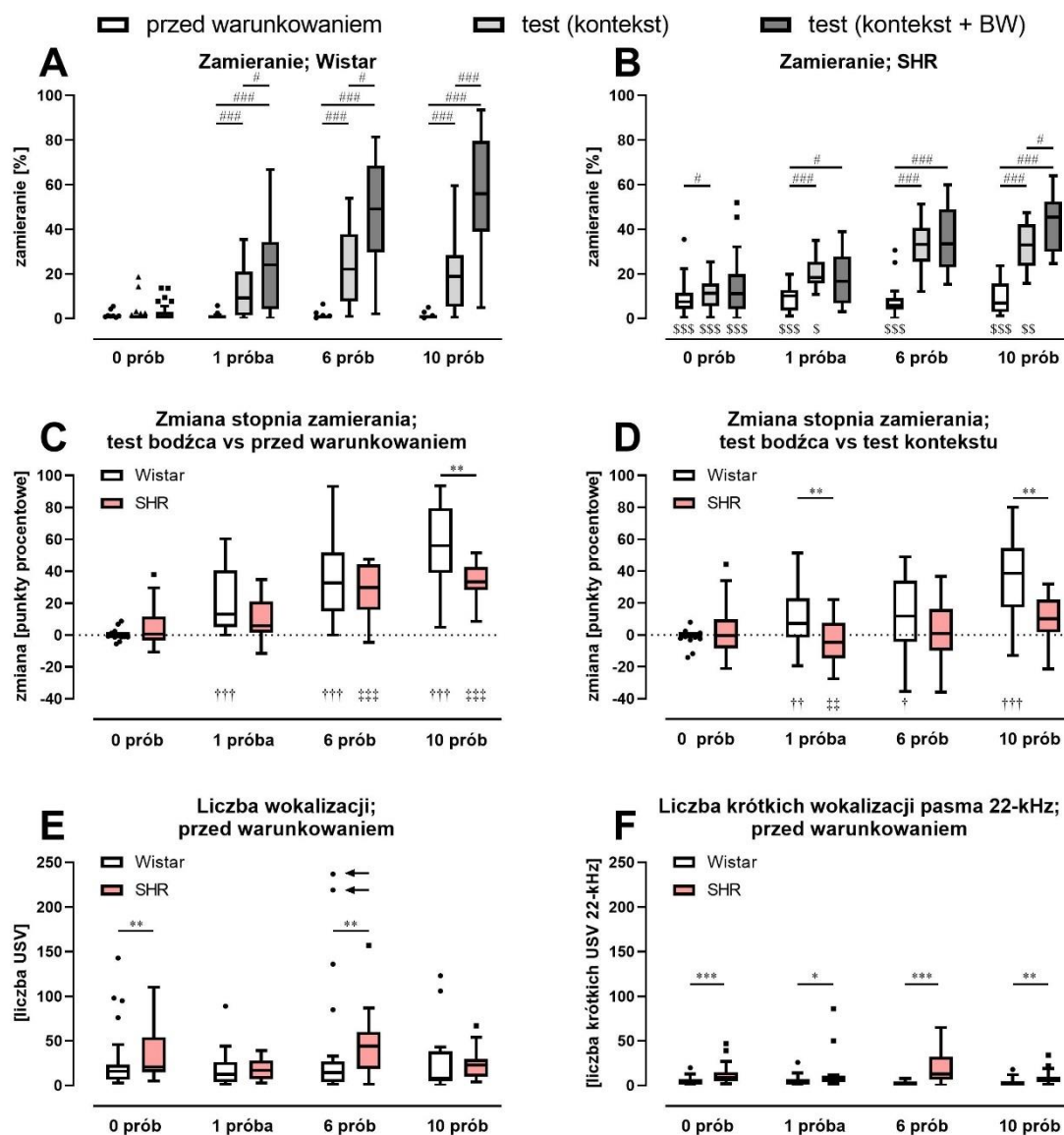
Szczury poddano FC o różnej liczbie bodźców bólowych, aby sprawdzić, jak dotkliwość doświadczeń awersyjnych wpłynie na zachowanie tych zwierząt. W ramach doświadczeń kontrolnych zbadano zachowanie szczurów przed otrzymaniem bodźców bólowych. Następnie zbadano zamieranie podczas treningu i testu FC, aby ocenić skuteczność warunkowania, a także emitowane w tym czasie USV.

Poddanie szczurów Wistar treningowi FC powodowało wzrost zamierania i zwiększenie liczby emitowanych USV 22-kHz w porównaniu do czasu przed podaniem pierwszego bodźca bólowego. Tuż przed treningiem warunkowania szczury Wistar z wszystkich czterech grup wykazywały podobny poziom zamierania (Ryc. 4A), jak i emitowały podobną liczbę USV (Ryc. 4E). U szczurów z grupy 1-P, 6-P i 10-P w teście warunkowania, czyli 1 dzień po sesji odtwarzania dźwięków, stwierdzono wzrost zamierania wraz z liczbą podanych szoków elektrycznych ($p < 0,0001$, Wilcoxon; Tab. S1a).

Zbadano liczbę i właściwości USV emitowanych podczas treningu i testu FC, w celu uzyskania informacji o potencjalnym stanie emocjonalnym zwierząt. W sesji treningu FC 44 na 57 (77,2%) szczurów Wistar emitowało długie USV 22-kHz (Tab. 3). W teście liczba ta wynosiła 38 na 57 (66,7%) zwierząt. Odsetki dla poszczególnych grup były następujące: 62,5% w treningu FC i 43,8% w teście dla szczurów 1-P, 86,4% w treningu FC i 72,7% w teście dla 6-P i 78,9% w treningu FC i teście dla 10-P. Długie USV 22-kHz szczurów poddanych FC miały: $874,9 \pm 40,3$ ms długości, $25,6 \pm 0,2$ kHz częstotliwości a latencja do emisji pierwszego USV wynosiła $420,9 \pm 33,6$ s (Tab. 3).

Szczury Wistar emitowały także krótkie USV 22-kHz zarówno podczas treningu, jak i testu FC. Te USV, w przeciwieństwie do długich USV 22-kHz, pojawiały także w grupie kontrolnej, odpowiednio u 36 na 37 (97,3%) zwierząt w trakcie treningu FC i u 35 na 37 (94,6%) podczas testu FC. W przypadku szczurów, które otrzymały bodźce bólowe, krótkie USV 22-kHz pojawiły się u 15 na 16 (93,8%) w treningu FC, 16 na 16 (100%) w teście dla grupy 1-P; 22 na 22 (100%) w treningu FC, 16 na 22 (72,7%) w teście dla 6-P; 19 na 19 (100%) w treningu FC, 17 na 19 (89,5) w teście dla 10-P. Emitowane krótkie USV 22-kHz w trakcie treningu FC miały następujące właściwości: $17,2 \pm 1,0$ ms długości, $25,6 \pm 0,2$ kHz częstotliwości i $91,7 \pm 17,6$ s latencji do emisji pierwszego USV dla grupy kontrolnej oraz $90,8 \pm 8,2$ ms długości, $26,1 \pm 0,2$ kHz częstotliwości i $210,3 \pm 29,2$ s latencji do emisji pierwszego USV dla wszystkich szczurów otrzymujących bodziec bólowy (Tab. 4).

Charakterystyka początkowa i efektywność warunkowania



Ryc. 4. Charakterystyka początkowa szczurów Wistar i SHR przed poddaniem ich warunkowaniu strachu / FC (ABCEF) oraz efektywność tego warunkowania (ABCD). Pomiar wartości początkowych (przed warunkowaniem) został wykonany w ciągu pierwszych 5 min sesji warunkowania, tj. w klatce do warunkowania przed prezentacją bodźców. **(AB)** Zamieranie początkowe (przed warunkowaniem), w teście kontekstu oraz w teście kontekstu z prezentowanym dodatkowo bodźcem wyodrębnionym (BW) u szczurów Wistar **(A)** i SHR **(B)**. **(CD)** Zmiana stopnia zamierania między testem kontekstu z prezentowanym BW a wartościami początkowymi przed warunkowaniem **(C)** oraz między testem kontekstu z prezentowanym BW a testem samego kontekstu **(D)**. Pozioma wypunktowana linia oznacza wartość zero (brak zmiany). **(EF)** Liczba wszystkich USV **(E)** oraz krótkich USV 22-kHz **(F)** emitowanych przed warunkowaniem. Jeden znak (*, #, \$, †, lub ‡) $p < 0,05$; dwa znaki $p < 0,01$; trzy znaki $p < 0,001$; * Mann-Whitney; # Wilcoxon; \$ Mann-Whitney vs analogiczny punkt na wykresie A; † Mann-Whitney vs Wistar, grupa 0-P; ‡ Mann-Whitney vs SHR 0 Prób. Liczebność grup: Wistar 0 Prób, $n = 37$; Wistar 1-P, $n = 16$; Wistar 6-P, $n = 22$; Wistar 10-P, $n = 19$; SHR 0 Prób, $n = 31$; SHR 1-P, $n = 17$; SHR 6-P, $n = 17$; SHR 10-P, $n = 15$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S1.

Tab. 3. Charakterystyka długich USV 22-kHz emitowanych przez szczury Wistar i SHR podczas sesji treningu warunkowania strachu (FC) i testu warunkowania; liczba USV – liczba długich USV 22-kHz, średnia dla wszystkich szczurów; liczba USV (22+) – liczba długich USV 22-kHz, średnia wyłącznie dla szczurów emitujących tę klasę USV; liczba szczurów – liczba szczurów emitujących długie USV 22-kHz. Gdy tylko jeden szczur w grupie emitował długie USV 22-kHz, uzyskane wartości są podane w nawiasach kwadratowych. Fisher (dla liczby szczurów), Mann-Whitney (pozostałe porównania), b.d. – brak danych. Liczebność grup (Wistar): 0-P, n = 37; 1-P, n = 16; 6-P, n = 22; 10-P, n = 19; 6-10-P, n = 39; 1-6-10-P, n = 57. Liczebność grup (SHR): 0-P, n = 31; 1-P, n = 17; 6-P, n = 17; 10-P, n = 15; 6-10-P, n = 32; 1-6-10-P, n = 49.

	Wistar	SHR	wartość p	Wistar	SHR	wartość p
	trening FC			test FC		
A. Grupy kontrolne, 0-P						
liczba USV	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	>0,9999	0,2 ± 0,2	0,0 ± 0,0	>0,9999
długość [ms]	[1191,5]	-	b.d.	[598,0]	-	b.d.
mpf [kHz]	[29,0]	-	b.d.	[25,8]	-	b.d.
latencja [s]	[117,7]	-	b.d.	[0,3]	-	b.d.
liczba szczurów	1/37 (2,7%)	0/31 (0,0%)	1,0000	1/37 (2,7%)	0/31 (0,0%)	1,0000
B. Grupy, które otrzymały 1 próbę warunkowania, 1-P						
liczba USV	92,8 ± 23,1	0,0 ± 0,0	<0,0001	96,6 ± 40,8	0,0 ± 0,0	<0,0001
długość [ms]	859,7 ± 70,8	-	b.d.	785,2 ± 92,7	-	b.d.
mpf [kHz]	24,3 ± 0,4	-	b.d.	24,6 ± 0,6	-	b.d.
latencja [s]	336,5 ± 4,3	-	b.d.	223,9 ± 66,7	-	b.d.
liczba szczurów	10/16 (62,5%)	0/17 (0,0%)	0,0001	7/16 (43,8%)	0/17 (0,0%)	0,0027
C. Grupy, które otrzymały 6 prób warunkowania, 6-P						
liczba USV	602,7 ± 125,2	21,8 ± 18,2	<0,0001	288,6 ± 82,2	12,0 ± 12,0	<0,0001
długość [ms]	903,5 ± 75,8	572,7 ± 59,6	0,0688	993,3 ± 117,8	[499,6]	b.d.
mpf [kHz]	26,0 ± 0,3	23,1 ± 1,3	0,0403	25,2 ± 0,4	[24,4]	b.d.
latencja [s]	428,0 ± 62,9	1086,5 ± 319,4	0,0208	244,3 ± 50,5	[353,8]	b.d.
liczba szczurów	19/22 (86,4%)	3/17 (17,6%)	<0,0001	16/22 (72,7%)	1/17 (5,9%)	<0,0001
D. Grupy, które otrzymały 10 prób warunkowania, 10-P						
liczba USV	736,5 ± 155,2	321,9 ± 127,3	0,0341	289,9 ± 63,7	0,0 ± 0,0	<0,0001
długość [ms]	848,9 ± 54,6	643,3 ± 24,7	0,0110	900,4 ± 53,3	-	b.d.
mpf [kHz]	25,8 ± 0,4	25,4 ± 0,7	0,6768	24,6 ± 0,3	-	b.d.
latencja [s]	470,0 ± 56,6	1410,4 ± 247,2	0,0011	240,5 ± 30,5	-	b.d.
liczba szczurów	15/19 (78,9%)	6/15 (40,0%)	0,0337	15/19 (78,9%)	0/15 (0,0%)	<0,0001
E. Grupy, które otrzymały 6 lub 10 prób warunkowania, 6-10-P						
liczba USV	664,7 ± 97,7	162,5 ± 65,1	<0,0001	289,2 ± 52,4	6,4 ± 6,4	<0,0001
liczba USV (22+)	801,6 ± 103,1	577,7 ± 168,8	0,3811	382,5 ± 60,5	[204]	b.d.
długość [ms]	879,4 ± 48,3	619,8 ± 26,2	0,0012	948,4 ± 65,5	[499,6]	b.d.
mpf [kHz]	25,9 ± 0,2	24,6 ± 0,7	0,0981	24,9 ± 0,2	[24,4]	b.d.
latencja [s]	445,7 ± 42,6	1302,4 ± 192,0	<0,0001	242,5 ± 29,5	[353,8]	b.d.
liczba szczurów	34/41 (82,9%)	9/32 (28,1%)	<0,0001	31/41 (75,6%)	1/32 (3,1%)	<0,0001
F. Grupy, które otrzymały 1, 6 lub 10 prób warunkowania, 1-6-10-P						
liczba USV	504,2 ± 78,3	106,1 ± 43,8	<0,0001	235,2 ± 40,9	4,2 ± 4,2	<0,0001
liczba USV (22+)	653,1 ± 89,8	577,7 ± 168,8	0,9310	352,7 ± 51,7	[204]	b.d.
długość [ms]	874,9 ± 40,3	619,8 ± 26,2	0,0007	918,3 ± 56,6	[499,6]	b.d.
mpf [kHz]	25,6 ± 0,2	24,6 ± 0,7	0,2267	24,8 ± 0,2	[24,4]	b.d.
latencja [s]	420,9 ± 33,6	1302,4 ± 192,0	<0,0001	239,0 ± 26,6	[353,8]	b.d.
liczba szczurów	44/57 (77,2%)	9/49 (18,4%)	<0,0001	38/57 (66,7%)	1/49 (2,0%)	<0,0001

Tab. 4. Charakterystyka krótkich USV 22-kHz emitowanych przez szczury Wistar i SHR podczas treningu warunkowania strachu (FC) i testu warunkowania; liczba USV – liczba krótkich USV 22-kHz emitowanych przez wszystkie szczury; liczba szczurów – liczba szczurów emitujących krótkie USV 22-kHz; liczba szczurów >300 s – liczba szczurów z latencją pierwszego krótkiego USV 22-kHz wyższą niż okres początkowy (300 s), tj. liczba szczurów z pierwszym krótkim USV 22-kHz emitowanym po co najmniej jednym bodźcu elektrycznym (w sesji treningu FC) lub bodźcu wyodrębnionym (BW, w sesji testowej). Fisher (dla liczby szczurów i liczby szczurów >300), Mann-Whitney (pozostałe porównania). Liczebność grup (Wistar): 0-P, n = 37; 1-P, n = 16; 6-P, n = 22; 10-P, n = 19; 6-10-P, n = 39; 1-6-10-P, n = 57. Liczebność grup (SHR): 0-P, n = 31; 1-P, n = 17; 6-P, n = 17; 10-P, n = 15; 6-10-P, n = 32; 1-6-10-P, n = 49.

	Wistar	SHR	wartość p	Wistar	SHR	wartość p
	trening FC			test FC		
A. Grupy kontrolne, 0-P						
liczba USV	16,2 ± 2,2	41,8 ± 6,4	<0,0001	11,2 ± 1,6	25,1 ± 3,5	<0,0001
długość [ms]	17,2 ± 1,0	17,5 ± 0,8	0,5931	15,7 ± 2,2	17,1 ± 0,9	0,0042
mpf [kHz]	25,6 ± 0,2	26,4 ± 0,2	0,0360	25,9 ± 0,3	26,1 ± 0,3	0,4903
latencja [s]	91,7 ± 17,6	34,9 ± 8,3	0,0004	105,6 ± 19,5	57,0 ± 12,7	0,0239
liczba szczurów	36/37 (97,3%)	31/31 (100,0%)	1,0000	35/37 (94,6%)	31/31 (100,0%)	0,4965
B. Grupy, które otrzymały 1 próbę warunkowania, 1-P						
liczba USV	14,3 ± 3,3	22,9 ± 11,0	>0,9999	44,4 ± 33,1	17,0 ± 3,0	0,1479
długość [ms]	68,0 ± 13,5	18,4 ± 1,3	0,0004	64,7 ± 18,4	21,2 ± 1,4	0,6827
mpf [kHz]	25,7 ± 0,4	26,3 ± 0,5	0,3903	25,1 ± 0,5	25,6 ± 0,6	0,5814
latencja [s]	115,7 ± 28,2	23,9 ± 4,7	0,0007	253,8 ± 57,9	108,3 ± 40,9	0,0025
liczba szczurów	15/16 (93,8%)	17/17 (100,0%)	0,4848	16/16 (100,0%)	17/17 (100,0%)	1,0000
C. Grupy, które otrzymały 6 prób warunkowania, 6-P						
liczba USV	52,7 ± 16,7	68,1 ± 11,6	0,0356	33,3 ± 20,3	15,5 ± 4,1	0,3072
długość [ms]	103,8 ± 14,5	30,7 ± 4,7	0,0004	104,0 ± 19,1	27,5 ± 9,9	0,0168
mpf [kHz]	26,3 ± 0,3	25,6 ± 0,4	0,2127	26,0 ± 0,7	25,8 ± 0,4	0,9858
latencja [s]	261,1 ± 49,8	58,0 ± 36,6	<0,0001	398,7 ± 81,6	106,8 ± 39,1	0,0012
liczba szczurów	22/22 (100,0%)	17/17 (100,0%)	1,0000	16/22 (72,7%)	17/17 (100,0%)	0,0267
D. Grupy, które otrzymały 10 prób warunkowania, 10-P						
liczba USV	88,4 ± 22,5	61,5 ± 9,9	0,7645	28,9 ± 14,7	9,7 ± 2,1	0,8437
długość [ms]	93,6 ± 13,6	60,6 ± 13,9	0,1196	115,0 ± 14,2	17,9 ± 1,8	<0,0001
mpf [kHz]	26,1 ± 0,5	26,3 ± 0,3	0,6812	25,2 ± 0,5	25,5 ± 0,5	0,7095
latencja [s]	226,1 ± 57,4	38,6 ± 9,6	0,0275	458,5 ± 78,1	159,5 ± 69,4	0,0008
liczba szczurów	19/19 (100,0%)	15/15 (100,0%)	1,0000	17/19 (89,5%)	15/15 (100,0%)	0,4920
E. Grupy, które otrzymały 6 lub 10 prób warunkowania, 6-10-P						
liczba USV	69,2 ± 13,9	65,0 ± 7,6	0,0843	31,3 ± 12,7	12,8 ± 2,4	0,3590
długość [ms]	99,1 ± 9,9	44,7 ± 7,4	0,0002	109,6 ± 11,6	23,0 ± 5,3	<0,0001
mpf [kHz]	26,2 ± 0,3	25,9 ± 0,3	0,6170	25,6 ± 0,4	25,7 ± 0,3	0,7620
latencja [s]	244,9 ± 37,3	48,8 ± 19,8	<0,0001	429,5 ± 55,8	131,5 ± 38,2	<0,0001
liczba szczurów >300 s	16/41 (39,0%)	1/32 (3,1%)	0,0002	21/41 (51,2%)	5/32 (15,6%)	<0,0001
liczba szczurów	41/41 (100,0%)	32/32 (100,0%)	1,0000	33/41 (80,5%)	32/32 (100,0%)	0,0029
F. Grupy, które otrzymały 1, 6 lub 10 prób warunkowania, 1-6-10-P						
liczba USV	53,8 ± 10,5	50,4 ± 6,8	0,2440	35,0 ± 12,9	14,3 ± 1,9	0,1611
długość [ms]	90,8 ± 8,2	35,5 ± 5,1	<0,0001	95,0 ± 10,2	22,4 ± 3,5	<0,0001
mpf [kHz]	26,1 ± 0,2	26,0 ± 0,2	0,8768	25,4 ± 0,3	25,6 ± 0,3	0,5138
latencja [s]	210,3 ± 29,2	40,1 ± 13,0	<0,0001	372,2 ± 43,4	123,4 ± 28,5	<0,0001
liczba szczurów >300 s	17/57 (29,8%)	1/49 (2,0%)	<0,0001	25/57 (43,9%)	6/49 (12,2%)	0,0005
liczba szczurów	56/57 (98,2%)	49/49 (100,0%)	1,0000	49/57 (86,0%)	49/49 (100,0%)	0,0070

4.1.1. Wpływ FC na zachowanie szczurów Wistar podczas playbacku USV

Wpływ podania bodźców bólowych w trakcie treningu FC na późniejsze zachowanie szczurów zbadano poprzez odtwarzanie im sygnałów ultradźwiękowych pasma 50 i 22 kHz, podczas którego rejestrowano zachowanie zwierząt i emitowane USV.

4.1.1.1. Warunkowane szczury Wistar cechowała większa aktywność lokomotoryczna po odtwarzaniu USV 50-kHz niż szczury kontrolne

Maksimum aktywności lokomotorycznej obserwowane podczas odtwarzania USV 50-kHz było wyższe u szczurów Wistar poddanych warunkowaniu niż u szczurów niewarunkowanych (Ryc. 5A–9A). Różnica ta była obserwowana między wszystkimi niewarunkowanymi szczurami (0-P(1-6-10); $2,62 \pm 0,24$ cm/s) a wszystkimi warunkowanymi szczurami (1-6-10-P; $3,47 \pm 0,21$ cm/s; $p = 0,0095$; Ryc. 9A, Tab. S6a) oraz między 0-P(6-10) ($2,64 \pm 0,33$ cm/s) a 6-10-P ($3,57 \pm 0,28$ cm/s; $p = 0,0163$, Mann-Whitney; Ryc. 8A, Tab. S5a).

4.1.1.2. Warunkowane szczury Wistar wykazywały głębsze ograniczenie aktywności lokomotorycznej po odtwarzaniu USV 22-kHz niż szczury kontrolne

W sytuacji odtwarzania sygnałów pasma 22 kHz (Ryc. 5B–9B), u szczurów Wistar obserwowano zmniejszenie przebytego dystansu natychmiast po odtworzeniu sygnału, tzn. różnicę w aktywności lokomotorycznej między przedziałem czasu „10 s” a „0 s”. Różnica ta była większa u zwierząt warunkowanych; przykładowo, dla odtwarzania USV 22-kHz wynosiła $1,02 \pm 0,21$ cm/s (1-6-10-P) w porównaniu z $0,39 \pm 0,21$ cm/s w grupie kontrolnej ($p = 0,0525$, Mann-Whitney).

4.1.1.3. Szczury Wistar poddane FC wokalizowały częściej, dłużej i wyżej niż grupy kontrolne

USV 50-kHz emitowane przez szczury Wistar w odpowiedzi na odtwarzanie USV 50-kHz były dłuższe ($27,7 \pm 1,0$ ms) i miały wyższą częstotliwość ($61,0 \pm 0,7$ kHz) niż USV 50-kHz emitowane w odpowiedzi na odtwarzanie USV 22-kHz (odpowiednio: $25,3 \pm 2,4$ ms, $p < 0,0001$; $58,6 \pm 1,0$ kHz; 0-1-6-10-P, $p < 0,0001$; Wilcoxon).

Szczury Wistar z różnych grup wykazywały różną liczbę, długość i częstotliwość emitowanych USV. Stwierdzono efekt grupy dla całkowitej liczby USV ($p = 0,0407$; Kruskal-Wallis; Tab. 5) i liczby USV 50-kHz wyemitowanych podczas i po odtwarzaniu USV 50-kHz ($p = 0,0419$; Kruskal-Wallis; Tab. 5). Ponadto zaobserwowano efekt grupy dla długości USV 50-kHz emitowanych podczas pierwszych 10 min ciszy ($p = 0,0346$; Kruskal-Wallis; Tab. 5). Szczury

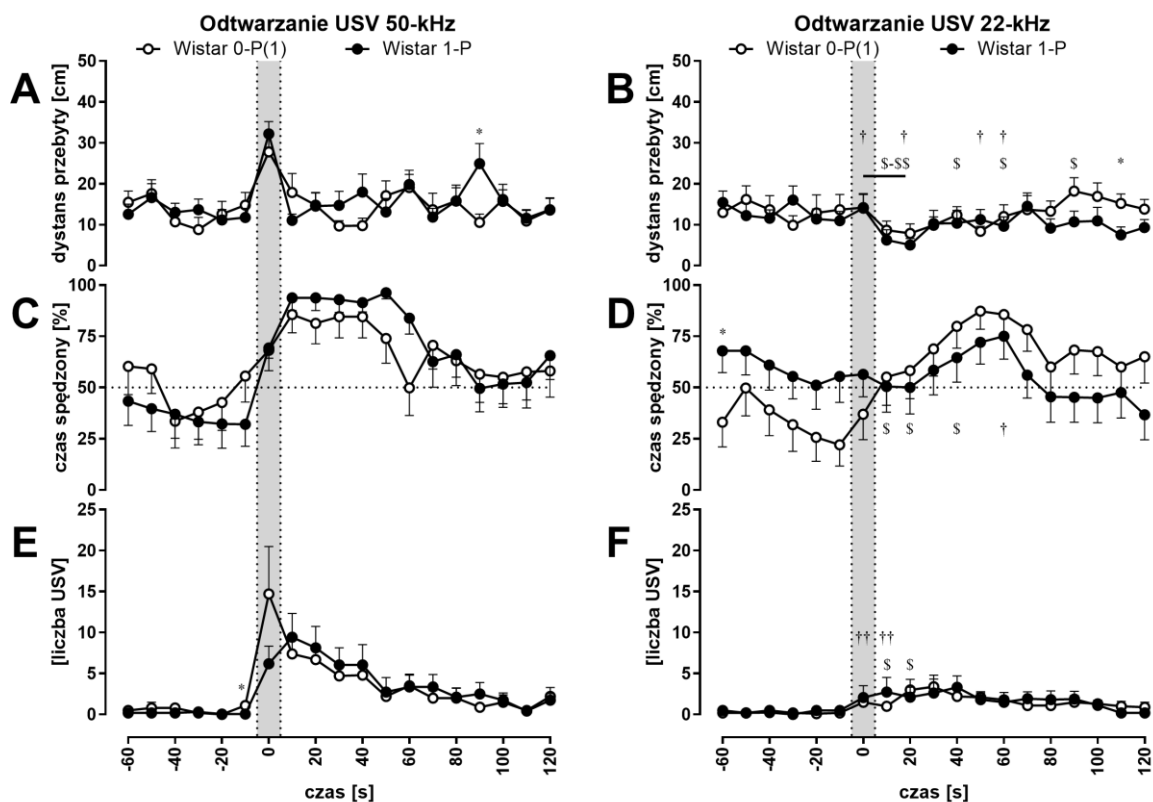
Wistar poddane FC wokalizowały więcej niż zwierzęta kontrolne przez całą sesję odtwarzania, podczas 10 min wstępnej ciszy oraz po wszystkich odtwarzanych sygnałach. Przykładowo, szczury kontrolne 0-P(1-6-10) emitowały $41,2 \pm 7,1$ USV podczas i po odtwarzaniu USV 50-kHz, podczas gdy wszystkie szczury poddane FC (1-6-10-P) emitowały $82,3 \pm 10,3$ USV ($p = 0,0275$, Mann-Whitney; Tab. 5).

Ponadto USV 50-kHz emitowane przez szczury Wistar poddane FC były dłuższe, np. podczas 10-minutowego okresu rozpoczynającego sesję ($21,6 \pm 1,4$ ms w grupie 1-6-10-P vs $15,7 \pm 1,7$ ms u szczurów kontrolnych; $p = 0,0025$; Mann-Whitney; Tab. 5). Cechowały się także wyższą częstotliwością; wartość ta była wyższa w analizie całej sesji playbacku, pierwszych 10 min oraz odpowiedzi na wszystkie cztery sygnały, lecz w większości porównania nie przekraczały progu istotności (Tab. 5).

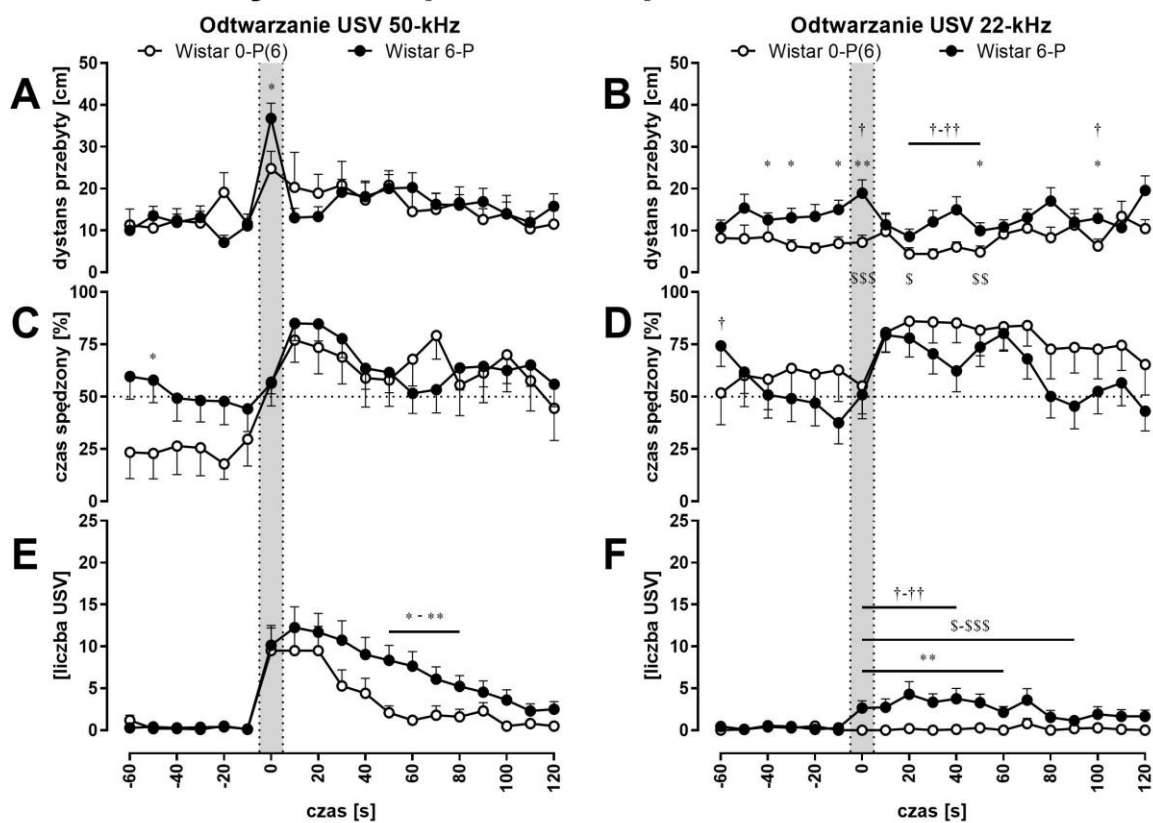
Tab. 5. Porównanie liczby USV różnych typów oraz właściwości USV 50-kHz emitowanych podczas całej sesji playbackowej, pierwszych 10 min ciszy oraz podczas odtwarzania sygnałów (tj. w czasie 10-sekundowego odtwarzania i przez następujące po nim 110 s) u szczurów Wistar kontrolnych (niewarunkowanych) oraz warunkowanych; mpf – częstotliwość; kategorie USV: 50-kHz (mpf > 32 kHz), krótkie 22-kHz (mpf 18–32 kHz, długość <0,3 s), długie 22-kHz (18–32 kHz, >0,3 s); podkreślone: efekt grupy wykazany za pomocą testu Kruskala-Wallisa; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, różnice między grupą warunkowaną a odpowiadającą jej grupą kontrolną; # $p < 0,05$, różnica między grupami 1-P a 10-P, Mann-Whitney. Grupy (Wistar): 0-P, $n = 37$; 1-P, $n = 16$; 6-P, $n = 20$; 10-P, $n = 19$; 6-10-P, $n = 39$; 1-6-10-P, $n = 55$.

grupa	liczba USV				właściwości USV 50-kHz	
	wszystkie	50 kHz	krótkie 22-kHz	długie 22-kHz	długość [ms]	mpf [kHz]
USV wyemitowane podczas całego sesji playbackowej (1840 s)						
0-P(1-6-10)	152,7 ± 24,2	141,6 ± 23,8	10,7 ± 2,6	0,4 ± 0,4	25,8 ± 1,2	58,0 ± 0,9
1-P	230,0 ± 68,0	205,7 ± 66,7	22,2 ± 8,3	2,0 ± 2,0	26,3 ± 2,0	58,3 ± 1,5
6-P	366,1 ± 84,9	346,7 ± 85,2	9,1 ± 1,9	10,4 ± 7,1	25,3 ± 2,1	61,7 ± 1,1
10-P	354,2 ± 84,7	336,1 ± 84,2	10,7 ± 2,2	7,3 ± 7,3	29,0 ± 1,8	60,1 ± 0,4
6-10-P	378,7 ± 57,9**	358,6 ± 57,8*	11,6 ± 2,1	8,4 ± 4,8	27,2 ± 1,3	60,9 ± 0,6
1-6-10-P	322,4 ± 46,8*	302,0 ± 46,7	13,5 ± 2,7	6,9 ± 3,6	26,9 ± 1,1	60,2 ± 0,6
USV wyemitowane podczas pierwszych 10 min (600 s)						
0-P(1-6-10)	23,9 ± 7,1	19,4 ± 7,0	4,5 ± 1,0	0,0 ± 0,0	<u>15,7 ± 1,7</u>	52,1 ± 1,9
1-P	53,6 ± 18,0	38,4 ± 15,6	13,1 ± 6,6	2,0 ± 2,0	<u>22,2 ± 3,4</u>	52,7 ± 2,9
6-P	72,8 ± 26,6	57,8 ± 26,6	4,6 ± 1,2	10,4 ± 7,1	<u>21,7 ± 2,1*</u>	55,5 ± 1,1
10-P	49,7 ± 23,1	38,1 ± 22,3	4,4 ± 1,3	7,3 ± 7,3	<u>21,0 ± 2,0</u>	56,6 ± 1,7
6-10-P	66,2 ± 17,1	53,3 ± 16,9	4,5 ± 0,8	8,4 ± 4,8	21,2 ± 1,3*	56,2 ± 1,0
1-6-10-P	59,2 ± 13,4	45,3 ± 13,0	7,0 ± 2,0	6,9 ± 3,6	21,6 ± 1,4**	55,0 ± 1,2
USV wyemitowane w odpowiedzi na USV 50-kHz (120 s)						
0-P(1-6-10)	<u>41,2 ± 7,1</u>	<u>39,9 ± 6,9</u>	0,9 ± 0,2	0,3 ± 0,3	27,6 ± 1,7	60,5 ± 1,5
1-P	<u>59,1 ± 19,5</u>	<u>57,8 ± 19,3</u>	1,3 ± 0,6	0,0 ± 0,0	24,8 ± 2,2	60,4 ± 1,1
6-P	86,4 ± 16,5	85,7 ± 16,5	0,8 ± 0,3	0,0 ± 0,0	27,3 ± 2,6	62,8 ± 1,4
10-P	<u>97,5 ± 17,5</u>	<u>95,8 ± 17,2*</u>	1,7 ± 0,7	0,0 ± 0,0	30,6 ± 1,8	60,9 ± 0,7
6-10-P	96,9 ± 11,9**	95,5 ± 11,8**	1,4 ± 0,4	0,0 ± 0,0	29,3 ± 1,5	61,8 ± 0,7
1-6-10-P	82,3 ± 10,3*	81,0 ± 10,2*	1,2 ± 0,3	0,0 ± 0,0	27,8 ± 1,3	61,4 ± 0,6
USV wyemitowane w odpowiedzi na USV 22-kHz (120 s)						
0-P(1-6-10)	13,5 ± 3,6	12,9 ± 3,6	0,6 ± 0,3	0,0 ± 0,0	21,5 ± 1,9	58,7 ± 1,8
1-P	14,6 ± 5,4	13,4 ± 5,3	1,1 ± 0,6	0,0 ± 0,0	31,3 ± 13,1	55,9 ± 3,3
6-P	32,2 ± 7,6	31,9 ± 7,6**	0,3 ± 0,1	0,0 ± 0,0	29,4 ± 2,4*	60,1 ± 0,7**
10-P	30,9 ± 9,8	29,9 ± 9,8	1,1 ± 0,5	0,0 ± 0,0	23,8 ± 2,4	58,9 ± 1,8
6-10-P	34,1 ± 6,1**	33,5 ± 6,1**	0,6 ± 0,3	0,0 ± 0,0	26,6 ± 1,6	59,6 ± 0,9
1-6-10-P	26,6 ± 4,7	25,8 ± 4,7*	0,8 ± 0,3	0,0 ± 0,0	27,7 ± 3,5	58,5 ± 1,1

Szczury Wistar poddane 1 próbie warunkowania



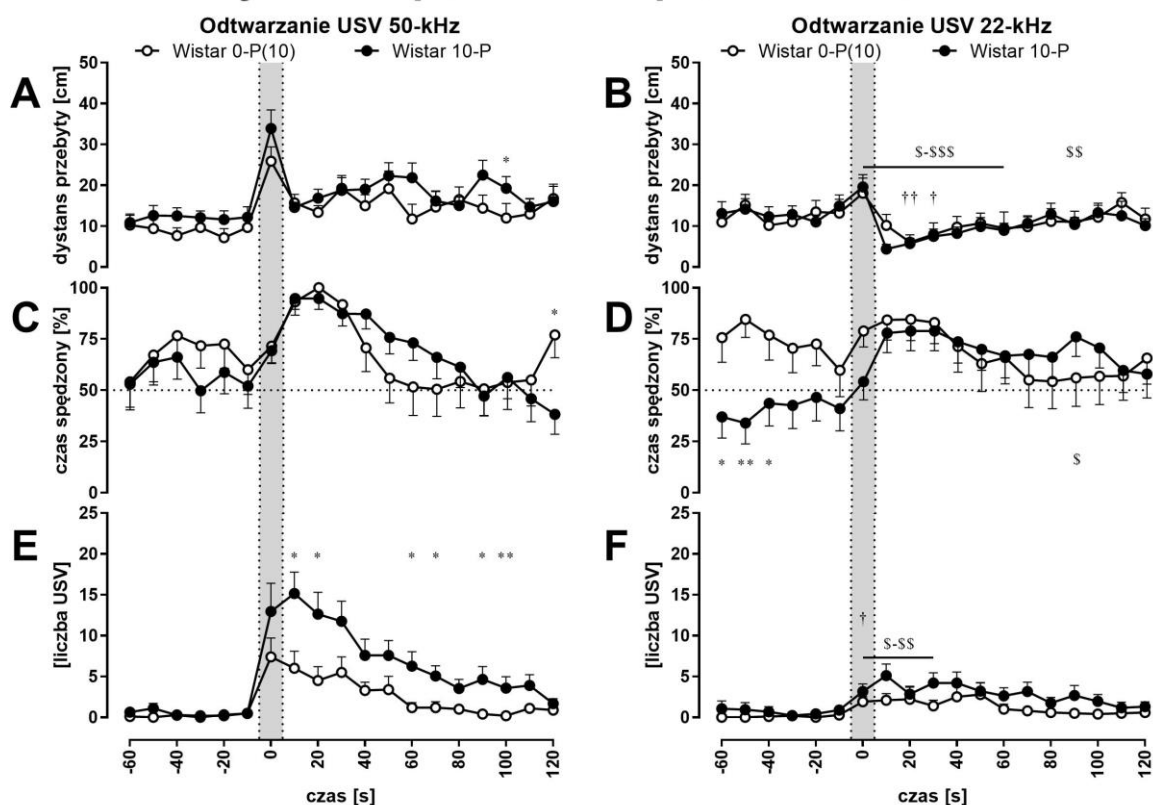
Szczury Wistar poddane 6 próbom warunkowania



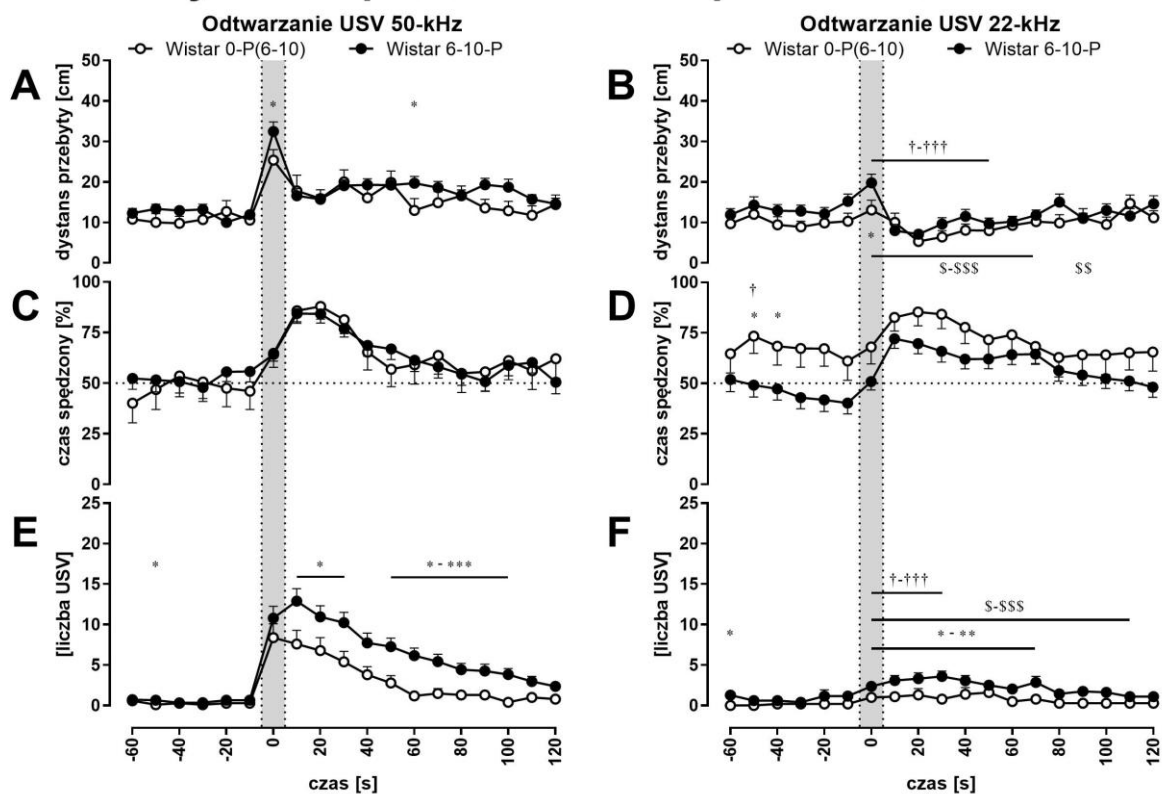
Ryc. 5. Odpowiedź szczurów Wistar, które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały jeden bodziec bólowy, na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (1-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(1)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (*, † lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$; * grupa niewarunkowana vs warunkowana; Mann-Whitney; † odpowiedź zwierząt kontrolnych (niewarunkowanych) na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon; \$ odpowiedź zwierząt warunkowanych na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon. Liczebność grup: 0-P(1), $n = 13$; 1-P, $n = 16$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S2ace, S12a–S14a.

Ryc. 6. Odpowiedź szczurów Wistar, które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały sześć bodźców bólowych, na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (6-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(6)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (*, † lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * grupa niewarunkowana vs warunkowana; Mann-Whitney; † odpowiedź szczurów kontrolnych (niewarunkowanych) na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon; \$ odpowiedź zwierząt warunkowanych na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon. Liczebność grup: 0-P(6), $n = 11$; 6-P, $n = 22$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S3ace, S12a–S14a.

Szczury Wistar poddane 10 próbom warunkowania



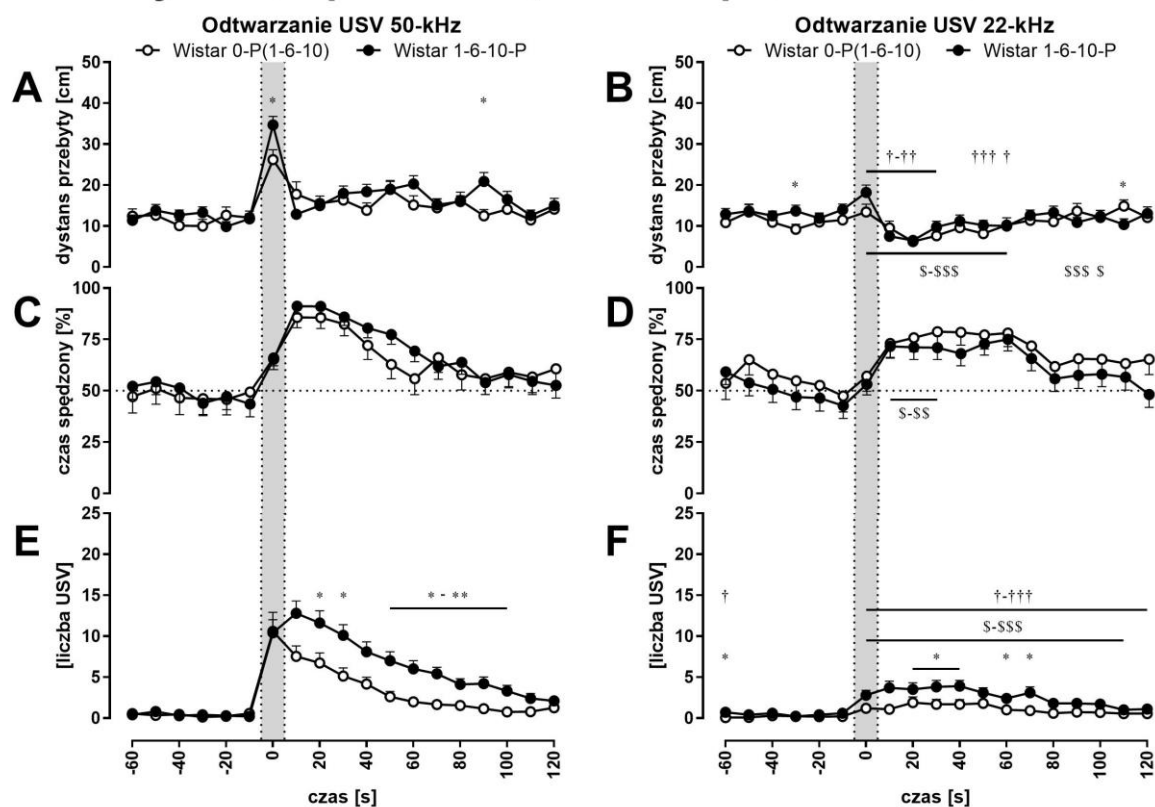
Szczury Wistar poddane 6 lub 10 próbom warunkowania



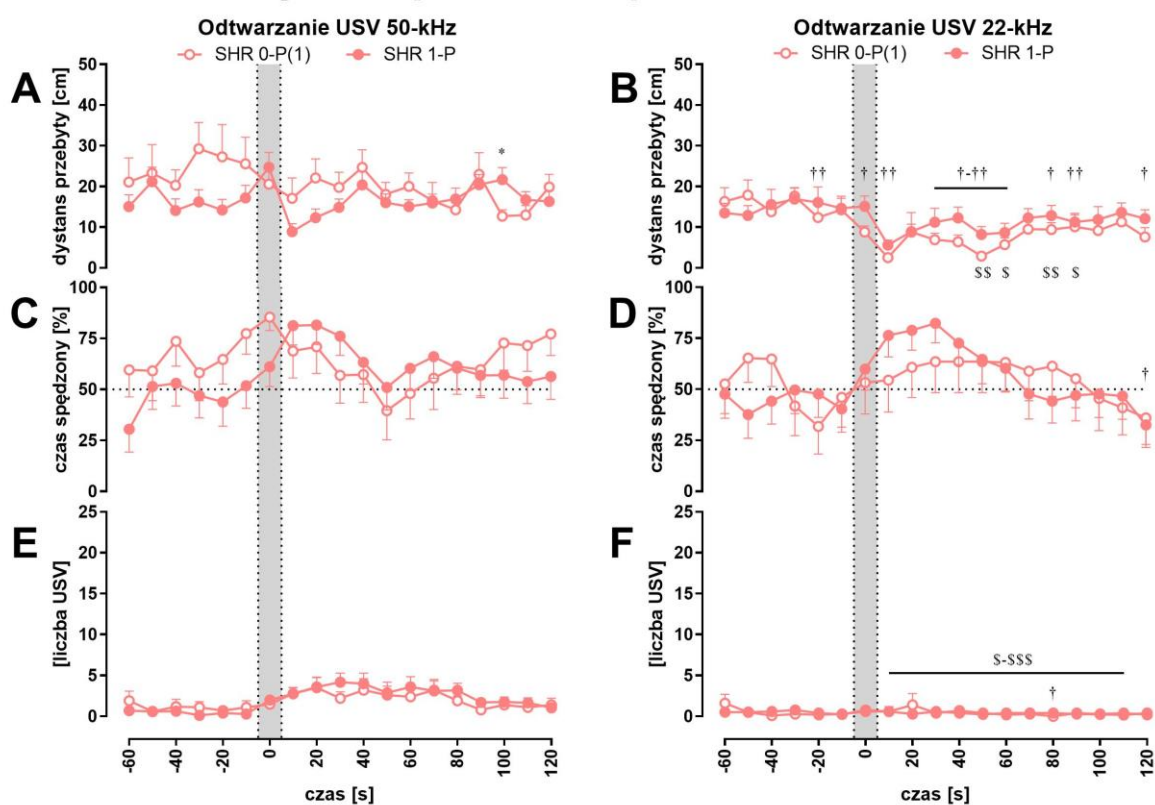
Ryc. 7. Odpowiedź szczurów Wistar, które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały dziesięć bodźców bólowych, na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (10-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(10)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (*, † lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * grupa niewarunkowana vs warunkowana; Mann-Whitney; † odpowiedź zwierząt kontrolnych (niewarunkowanych) na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon; \$ odpowiedź zwierząt warunkowanych na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon. Liczebność grup: 0-P(10), $n = 13$; 10-P, $n = 19$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S4ace, S12a–S14a.

Ryc. 8. Odpowiedź szczurów Wistar, które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały sześć lub dziesięć bodźców bólowych, na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (6-10-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(6-10)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (*, † lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * grupa niewarunkowana vs warunkowana; Mann-Whitney; † odpowiedź zwierząt kontrolnych (niewarunkowanych) na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon; \$ odpowiedź zwierząt warunkowanych na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon. Liczebność grup: 0-P(6-10), $n = 24$; 6-10-P, $n = 41$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S5ace, S12a–S14a.

Szczury Wistar poddane 1, 6 lub 10 próbom warunkowania



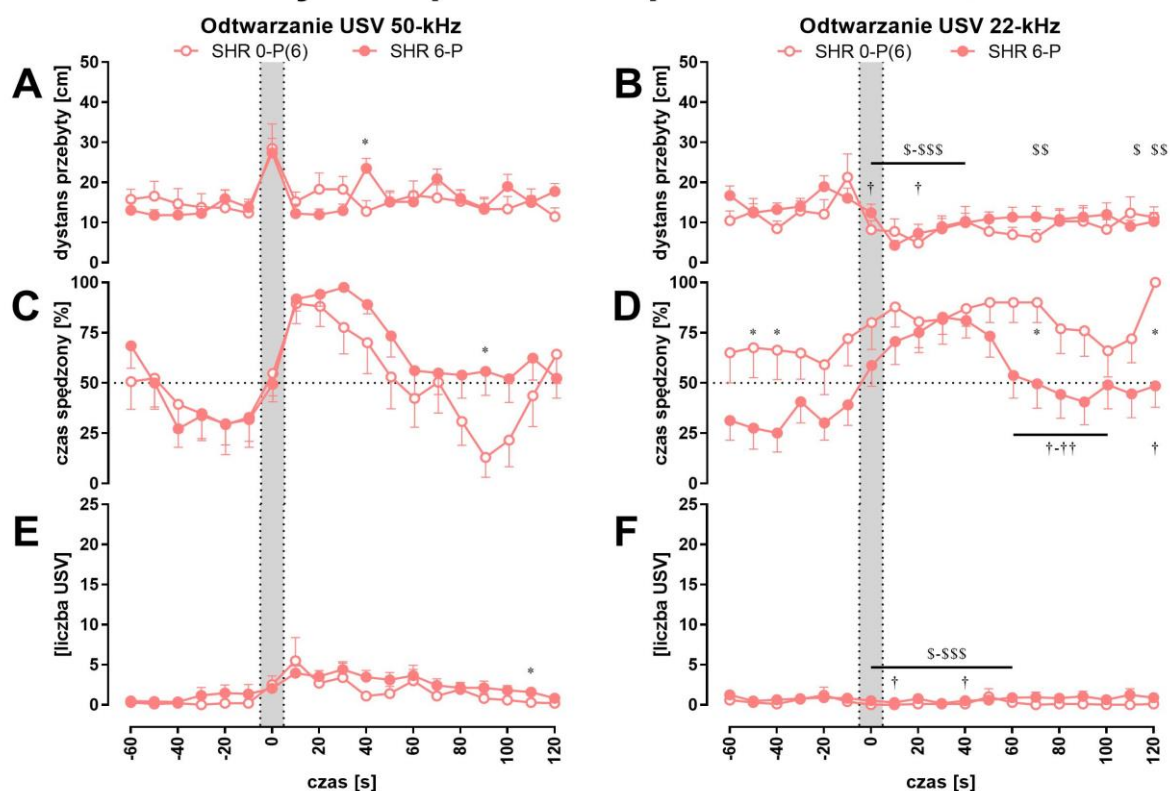
Szczury SHR poddane 1 próbie warunkowania



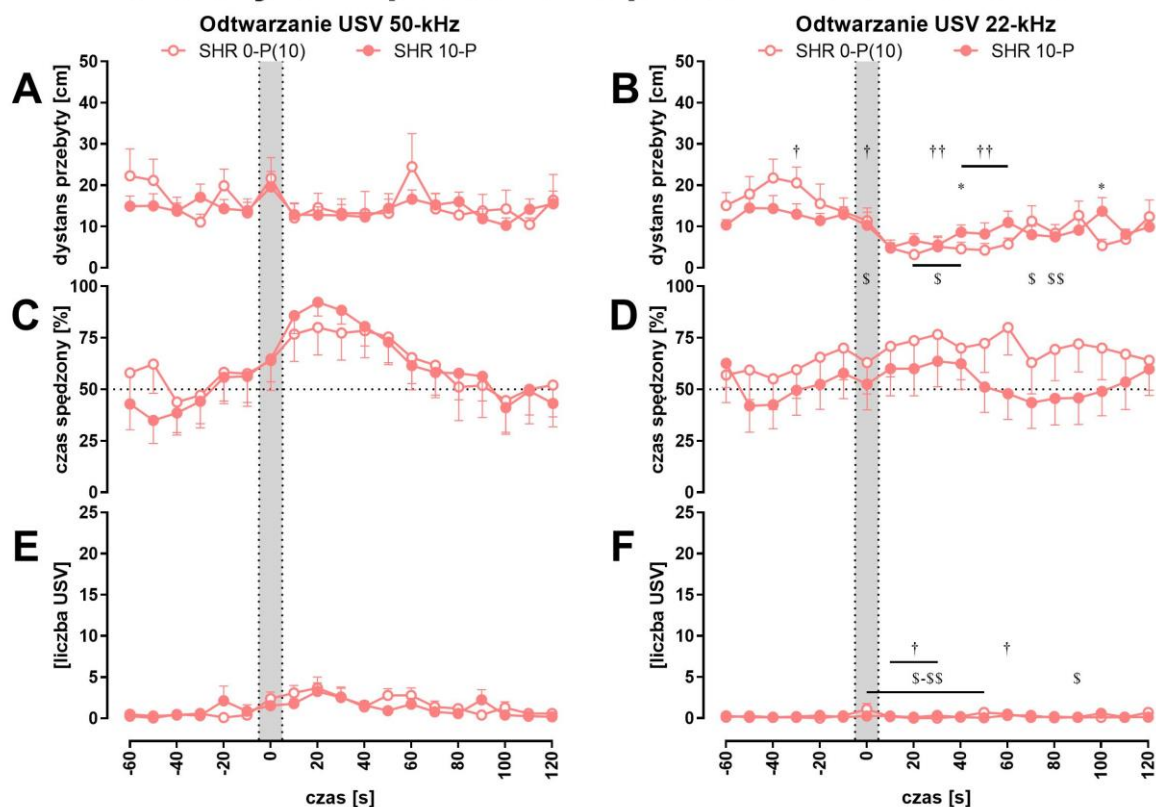
Ryc. 9. Odpowiedź szczurów Wistar, które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały jeden, sześć lub dziesięć bodźców bólowych na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (1-6-10-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(1-6-10)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (*, † lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * grupa niewarunkowana vs warunkowana; Mann-Whitney; † odpowiedź zwierząt kontrolnych (niewarunkowanych) na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon; \$ odpowiedź zwierząt warunkowanych na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon. Liczebność grup: 0-P(1-6-10), $n = 37$; 1-6-10-P, $n = 57$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S6ace, S12a–S14a.

Ryc. 10. Odpowiedź SHR, które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały jeden bodziec bólowy, na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (1-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(1)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (*, † lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * grupa niewarunkowana vs warunkowana; Mann-Whitney; † odpowiedź zwierząt kontrolnych (niewarunkowanych) na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon; \$ odpowiedź zwierząt warunkowanych na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon. Liczebność grup: 0-P(1), $n = 11$; 1-P, $n = 17$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S2bdf, S12b–S14b.

Szczury SHR poddane 6 próbom warunkowania



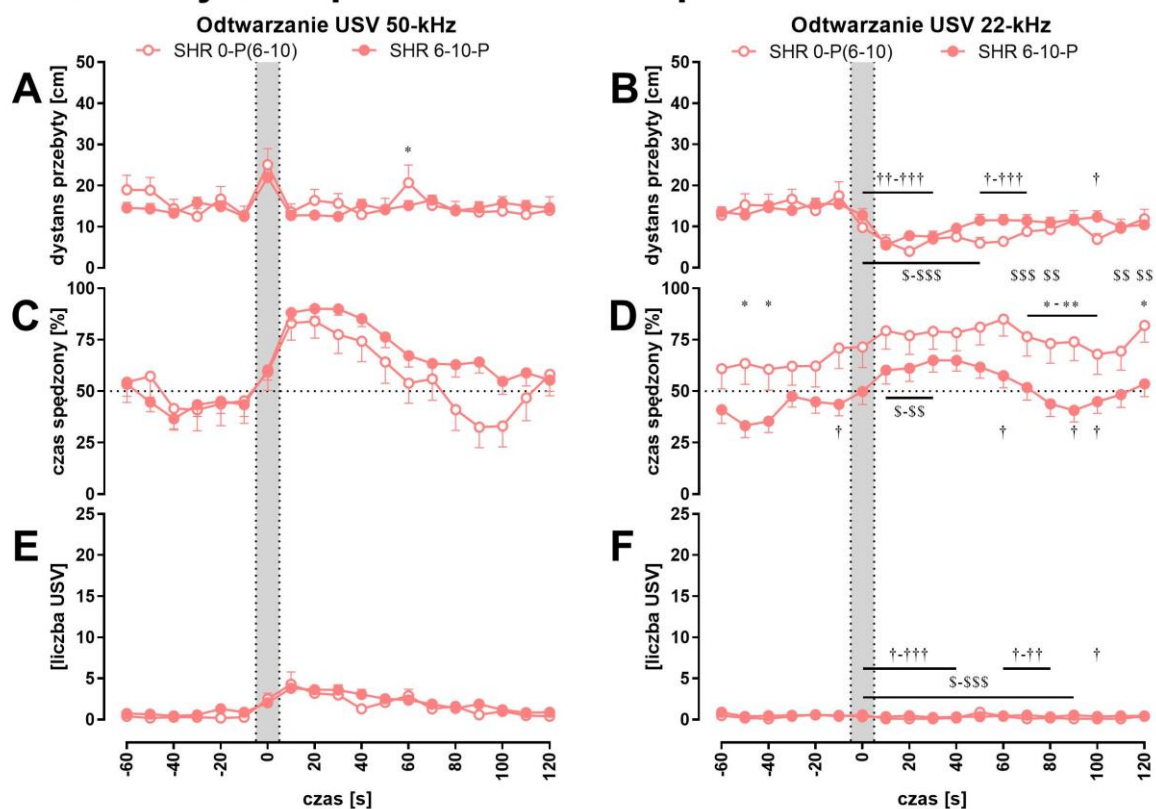
Szczury SHR poddane 10 próbom warunkowania



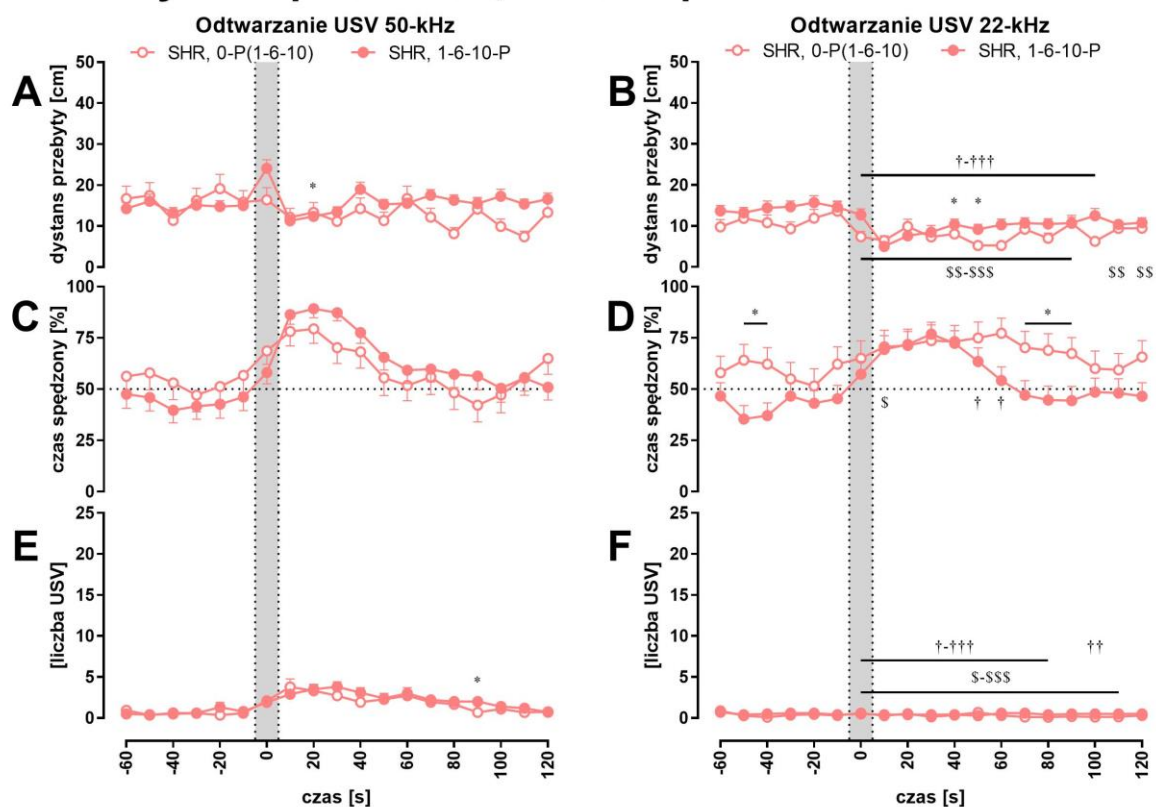
Ryc. 11. Odpowiedź SHR, które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały sześć bodźców bólowych, na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (6-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(6)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (*, † lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * grupa niewarunkowana vs warunkowana; Mann-Whitney; † odpowiedź zwierząt kontrolnych (niewarunkowanych) na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon; \$ odpowiedź zwierząt warunkowanych na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon. Liczebność grup: 0-P(6), $n = 10$; 6-P, $n = 17$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S3bdf, S12b–S14b.

Ryc. 12. Odpowiedź SHR, które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały dziesięć bodźców bólowych, na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (10-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(10)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (*, † lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$; * grupa niewarunkowana vs warunkowana; Mann-Whitney; † odpowiedź zwierząt kontrolnych (niewarunkowanych) na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon; \$ odpowiedź zwierząt warunkowanych na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon. Liczebność grup: 0-P(10), $n = 10$; 10-P, $n = 15$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S4bdf, S12b–S14b.

Szczury SHR poddane 6 lub 10 próbom warunkowania



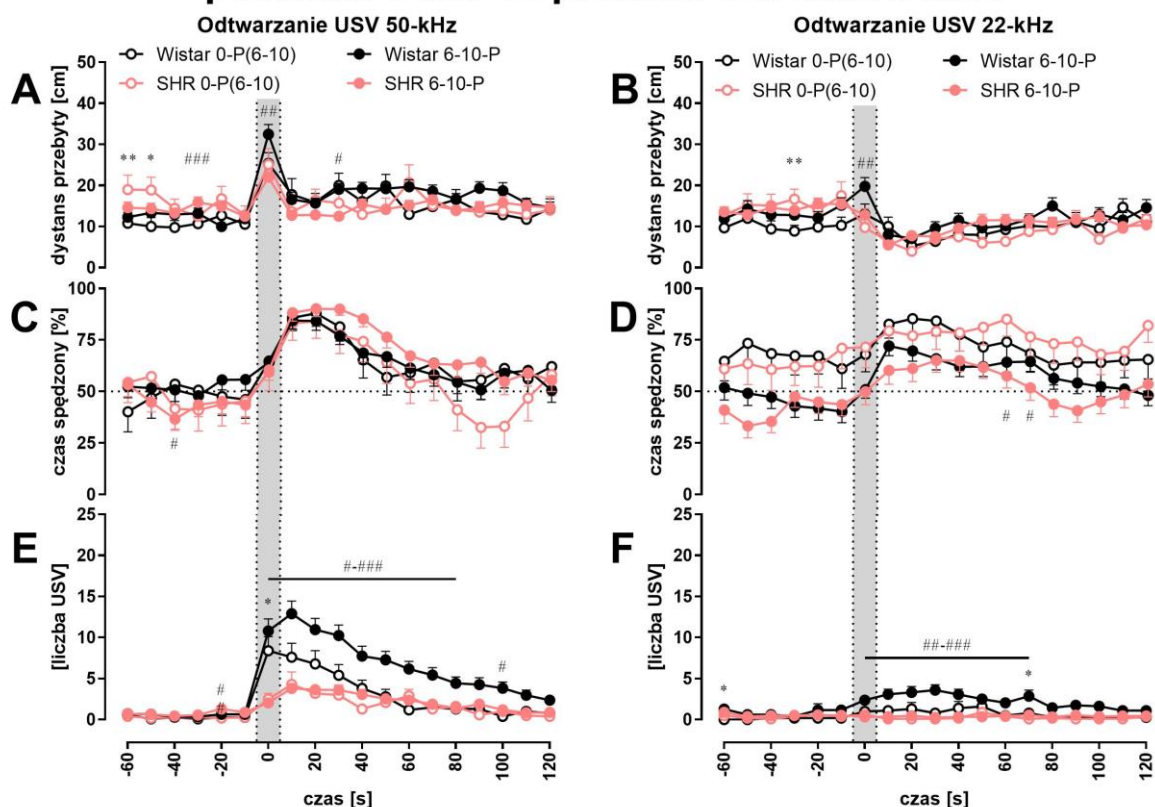
Szczury SHR poddane 1, 6 lub 10 próbom warunkowania



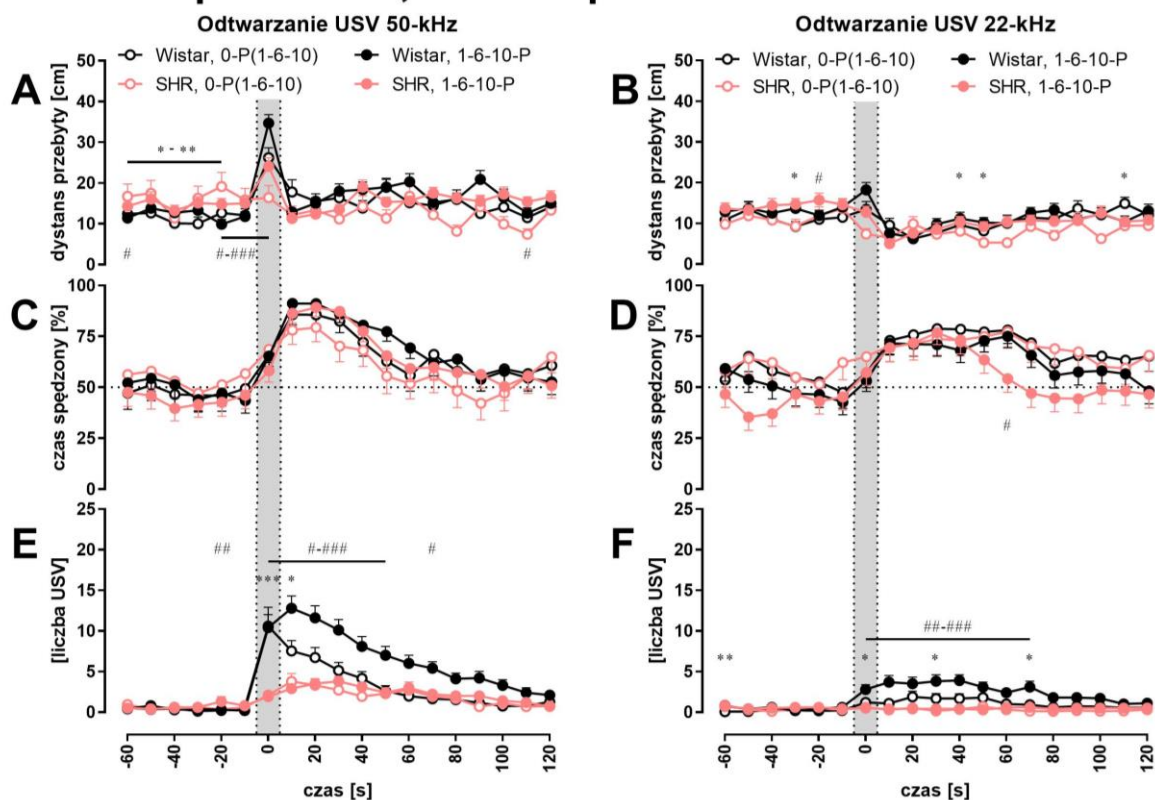
Ryc. 13. Odpowiedź SHR, które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały sześć lub dziesięć bodźców bólowych, na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (6-10-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(6-10)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (*, † lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * grupa niewarunkowana vs warunkowana; Mann-Whitney; † odpowiedź zwierząt kontrolnych (niewarunkowanych) na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon; \$ odpowiedź zwierząt warunkowanych na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon. Liczebność grup: 0-P(6-10), $n = 20$; 6-10-P, $n = 32$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S5bdf, S12b–S14b.

Ryc. 14. Odpowiedź SHR, które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały jeden, sześć lub dziesięć bodźców bólowych, na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (1-6-10-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(1-6-10)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (*, † lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * grupa niewarunkowana vs warunkowana; Mann-Whitney; † odpowiedź zwierząt kontrolnych (niewarunkowanych) na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon; \$ odpowiedź zwierząt warunkowanych na playback USV 22-kHz vs 50-kHz; Wilcoxon. Liczebność grup: 0-P(1-6-10), $n = 31$; 1-6-10-P, $n = 47$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S6bdf, S12b–S14b.

Szczury Wistar i SHR poddane 6 lub 10 próbom warunkowania



Szczury Wistar i SHR poddane 1, 6 lub 10 próbom warunkowania



Ryc. 15. Odpowiedź szczurów Wistar (czarne krzywe) i SHR (bladoróżowe krzywe), które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały sześć lub dziesięć bodźców bólowych, na prezentację ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Rycina stanowi nałożenie na siebie Ryc. 8 i Ryc. 13 celem ułatwienia porównania grup. Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (6-10-P), puste – dla niewarunkowanej (grupy kontrolnej, 0-P(6-10)). Jeden znak (* lub #) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * porównanie grup kontrolnych (niewarunkowanych), # porównanie grup warunkowanych; Mann-Whitney. Liczebność grup (Wistar): 0-P(6-10), $n = 24$; 6-10-P, $n = 41$. Liczebność grup (SHR): 0-P(6-10), $n = 20$; 6-10-P, $n = 32$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S5.

Ryc. 16. Odpowiedź szczurów Wistar (czarne krzywe) i SHR (bladoróżowe krzywe), które w warunkowaniu strachu (FC) otrzymały jeden, sześć lub dziesięć bodźców bólowych, na odtwarzanie ultradźwięków: 50-kHz (ACE) i 22-kHz (BDF). Rycina stanowi nałożenie na siebie Ryc. 9 i Ryc. 14 celem ułatwienia porównania grup. Punkty pełne prezentują dane dla grupy warunkowanej (1-6-10-P), puste – dla niewarunkowanej grupy kontrolnej (0-P(1-6-10)). Szary przedział wskazuje interwał „0 s”, podczas którego odtwarzane były sygnały z głośnika. Pozioma kropkowana linia na wykresach CD wskazuje próg 50% szans. Jeden znak (* lub #) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * porównanie grup kontrolnych (niewarunkowanych), # porównanie grup warunkowanych; Mann-Whitney. Liczebność grup (Wistar): 0-P(1-6-10), $n = 37$; 1-6-10-P, $n = 57$. Liczebność grup (SHR): 0-P(1-6-10), $n = 31$; 1-6-10-P, $n = 47$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S6.

4.2. Wpływ czynników wrodzonych: szczury SHR

Wymienione w poprzednim rozdziale analizy wykonano także dla SHR, w celu zbadania ich USV oraz sprawdzenia trafności fasadowej SHR jako zwierzęcego modelu schizofrenii.

W celu określenia, czy można przyrównywać odpowiedź wokalizacyjną SHR do tej u szczurów Wistar zbadano występowanie typów USV w repertuarze SHR. SHR emitowały USV tych samych typów co szczury Wistar i szczury opisywane przez innych (Wöhr i Schwarting, 2010), zarówno w warunkach awersyjnych, jak i apetytywnych. Podczas sesji FC SHR emitowały głównie długie USV 22-kHz (Tab. 3) i mniej liczne krótkie USV 22-kHz (Tab. 4). Podczas sesji odtwarzania dźwięków z głośnika SHR emitowały głównie USV 50-kHz (Ryc. 18), a także krótkie USV 22-kHz (Ryc. 17). Tylko 2 spośród 80 SHR wyemitowały w sesji odtwarzania dźwięków z głośnika długie USV 22-kHz (tj. 2,5%); wśród szczurów Wistar takie USV emitowało pięć szczurów z 94 (5,3%).

4.2.1. Zachowanie SHR podczas treningu i testu FC

4.2.1.1. W warunkach początkowych i teście FC SHR cechowały się wyższym stopniem zamierania niż szczury Wistar

W warunkach początkowych FC, tzn. przed sesją treningową, SHR z wszystkich czterech grup wykazywały zbliżone zamieranie (Ryc. 4B) i emitowały podobną liczbę USV (Ryc. 4E). Jednak zarówno ich zamieranie, jak i liczba emitowanych krótkich USV 22-kHz były wyższe niż u szczurów Wistar (Ryc. 4ABF, Tab. 4). W teście FC, czyli 1 dzień po sesji odtwarzania dźwięków, stwierdzono, że stopień zamierania SHR z grup 1-P, 6-P i 10-P (Ryc. 4B) wzrastał wraz z liczbą otrzymanych bodźców elektrycznych ($p < 0,0001$, Kruskal-Wallis; Tab. S1).

Poziomy zamierania SHR w teście kontekstu, ale nie w teście kontekstu + BW, były wyższe niż u szczurów Wistar (Ryc. 4AB). W teście kontekstu + BW warunkowane SHR cechował mniejszy wzrost zamierania niż szczury Wistar: zarówno, gdy odpowiedź na kontekst + BW porównano do zamierania początkowego (Ryc. 4C), jak i zamierania w teście kontekstu (Ryc. 4D; Tab. S1b).

4.2.1.2. SHR emitowały niewiele długich i liczne krótkie USV 22-kHz

Podczas treningu i testu FC zbadano także USV emitowane przez SHR, w celu uzyskania informacji, jakie emocje wyrażają badane szczury. W sesji FC tylko niektóre SHR emitowały długie USV 22-kHz (Tab. 3). Zaledwie dziewięć z 49 warunkowanych SHR (18,4%)

wyemitowało USV tego typu. Odsetek SHR emitujących USV 22-kHz wzrastał wraz z liczbą otrzymanych bodźców bólowych; wynosił 0,0% dla szczurów 1-P, 17,6% – dla 6-P i 40,0% – dla 10-P, za każdym razem będąc istotnie niższy niż u szczurów Wistar (odpowiednio: $p = 0,0001$; $p < 0,0001$; $p = 0,0337$; Fisher, Tab. 3). Z kolei w sesji testowej tylko jeden SHR wyemitował długie USV 22-kHz, w porównaniu z 38 szczurami Wistar ($p < 0,0001$; test Fishera dla porównania grup 1-6-10-P). Dodatkowo długie USV 22-kHz emitowane przez SHR podczas treningu FC były krótsze ($p = 0,0012$ dla szczurów 6-10-P) i pojawiały się później ($p < 0,0001$ dla szczurów 6-10-P; Mann-Whitney; Tab. 3).

Różnica w liczbie krótkich USV 22-kHz między szczurami Wistar i SHR pozostawała wyraźna u szczurów niewarunkowanych, lecz była przeważnie nieobecna w grupach szczurów warunkowanych, ponieważ wiele szczurów Wistar również zaczęło emitować ten typ USV (Tab. 4). Krótkie USV 22-kHz szczurów Wistar były ponad dwukrotnie dłuższe niż u SHR (np. $99,1 \pm 9,9$ vs. $44,7 \pm 7,4$ ms dla grup 6-10-P; $p = 0,0002$; Tab. 4). Zarówno w sesji treningu FC, jak i w sesji testowej, we wszystkich grupach warunkowanych i niewarunkowanych, SHR zaczynały wokalizować wcześniej niż u szczury Wistar (Tab. 4).

4.2.2. Zachowanie SHR podczas playbacku USV

4.2.2.1. SHR przejawiały mniejsze zmiany w aktywności motorycznej wywołane odtwarzaniem sygnałów niż szczury Wistar

W ciągu całej sesji odtwarzania sygnałów SHR wykazały wyższą aktywność lokomotoryczną niż szczury Wistar. Prędkość podczas całej sesji o długości 1840 s była wyższa u SHR niż u szczurów Wistar, zarówno w każdej grupie ($p = 0,0026$ – $0,0630$), jak i u wszystkich zwierząt analizowanych razem (warunkowanych i niewarunkowanych, 0-1-6-10-P; $1,60 \pm 0,03$ vs $1,38 \pm 0,04$ cm/s; $p < 0,0001$, Mann-Whitney).

Jednakże podczas odtwarzania sygnałów 50-kHz szczury Wistar pokonały większe odległości niż SHR (Ryc. 16, Tab. S2a–S6a). Efekt ten obserwowano w porównaniu wszystkich szczurów Wistar i SHR analizowanych razem (0-1-6-10-P, $p = 0,0001$; Mann-Whitney) oraz dla grup warunkowanych ($p = 0,0275$ dla 10-P; $p = 0,0041$ dla 6-10-P; $p = 0,0005$ dla 1-6-10-P; Mann-Whitney; Tab. S4a–S6a).

Co więcej, odpowiedź na sygnały pasma 22 kHz u szczurów Wistar i SHR była w większości przypadków przeciwna. Porównując przedziały czasu „-10 s” i „0 s” obserwowano wzrost aktywności lokomotorycznej u szczurów Wistar oraz jej ograniczenie u SHR, co było widoczne

w porównaniu grup 10-P ($0,01 \pm 1,0$ vs. $-2,4 \pm 1,4$ cm/s; $p = 0,0169$), 1-6-10-P ($0,34 \pm 0,16$ vs $-0,95 \pm 0,16$ cm/s; $p = 0,0251$) i wszystkich szczurów analizowanych razem (0-1-6-10-P, $0,21 \pm 0,11$ vs $-0,15 \pm 0,11$ cm/s, $p = 0,0070$; Mann-Whitney, Ryc. 16B).

Wykonano także dodatkową analizę, w której porównano różnicę w zwiększeniu aktywności lokomotorycznej po rozpoczęciu playbacku USV 50-kHz (wzrost pomiędzy interwałem „-10 s” a „0 s”) i ograniczenie aktywności lokomotorycznej po playbacku 22-kHz (spadek pomiędzy interwałem „0 s” a „10 s”) pomiędzy szczurami Wistar a SHR. Wzrost aktywności lokomotorycznej był istotnie większy u szczurów Wistar niż u SHR w grupach 6-P (14,9 (IQR 2,0–31,5) vs 1,3 (IQR -14,3–8,1); $p = 0,0026$) i 6-10-P (8,6 (IQR -7,0–26,9) vs 1,8 (IQR -14,2–10,1); $p = 0,0067$; Mann-Whitney). Odnotowano także znamieny spadek drogi przebytej przez szczury Wistar w porównaniu do SHR w grupie 10-P ($-7,1$ (IQR -21,8 – $-0,5$) vs $2,4$ (IQR 0,09–6,7); $p = 0,0023$; Mann-Whitney).

W przeciwieństwie do szczurów Wistar, nie stwierdzono u SHR różnic pomiędzy szczurami poddanymi procedurze FC a zwierzętami kontrolnymi w aktywności lokomotorycznej w trakcie playbacku USV 50-kHz ($p = 0,7237$, Mann-Whitney; Ryc. 14A, 16A, Tab. S6a).

4.2.2.2. SHR emitowały mniej USV niż szczury Wistar w odpowiedzi na odtwarzanie USV 50-kHz i prawie wcale – na USV 22-kHz

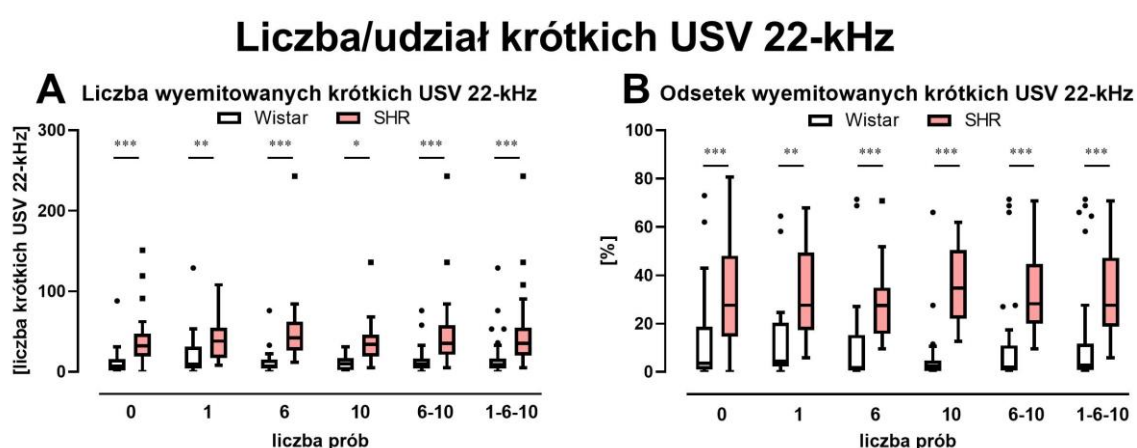
Porównanie odpowiedzi SHR ze szczurami Wistar wykazało, że po odtworzeniu dźwięków pasma 50 kHz SHR wokalizowały rzadziej niż szczury Wistar (Ryc. 16E, 17AB, Tab. S3e–S6e), a różnica ta była istotna dla grup: 6-P ($p = 0,0069$ – $0,0245$ w przedziale 0–20 s; Tab. S3e), 10-P (11/12 interwałów w przedziale 0–110 s; $p < 0,0001$ – $0,0489$; Tab. S4e), 6-10-P (10/11 interwałów w przedziale 0–100 s; $p < 0,0001$ – $0,0211$; Tab. S5e), 1-6-10-P (7/8 interwałów w przedziale 0–70 s; $p < 0,0001$ – $0,0429$; Tab. S6e), jak i dla wszystkich szczurów kontrolnych analizowanych razem ($p < 0,0001$ – $0,0337$ w przedziale 0-10 s; Tab. S6e; Mann-Whitney).

Ponieważ odpowiedź SHR na odtwarzanie USV 22-kHz była właściwie nieobecna (Ryc. 16F, 18AB), obserwowano istotne różnice między szczurami Wistar a SHR w liczbie emitowanych USV w odpowiedzi na odtwarzanie USV 22-kHz w grupach: 6-P (6/8 interwałów w przedziale 0–70 s; $p = 0,0021$ – $0,0390$; Tab. S3f), 10-P ($p = 0,0014$ – $0,0499$ w przedziale 0–90 s; Tab. S4f), 6-10-P ($p < 0,0001$ – $0,0079$ w przedziale 0–70 s; Tab. S5f), 1-6-10-P ($p < 0,0001$ – $0,0092$ w przedziale 0–10 s; Tab. S6f), jak i u wszystkich szczurów kontrolnych analizowanych razem ($p < 0,0001$ – $0,0017$ w przedziale 0–20 s; Tab. S6f; Mann-Whitney).

Przeprowadzono dodatkową analizę porównania różnic liczby USV szczurów warunkowanych vs niewarunkowanych pomiędzy SHR a szczurami Wistar w interwałach po playbacku (0–120 s). W przypadku playbacku USV 50-kHz, różnica w liczbie USV emitowanych przez szczury warunkowane a niewarunkowane u SHR z grup 10-P i 6-10-P była mniejsza niż analogiczna różnica u szczurów Wistar (dla 10-P, -13,6 (IQR -16,6 – -5,6) vs 52,3 (IQR -3,7–114,3); $p = 0,0049$; dla 6-10-P, -6,5 (IQR -14,0–17,1) vs 54,3 (IQR -26,8–119,3); $p = 0,0076$; Mann-Whitney). Podobnie, po odtwarzaniu USV 22-kHz różnica liczby emitowanych USV przez warunkowane vs niewarunkowane SHR była mniejsza niż u szczurów Wistar (0,2 (IQR -1,8–8,2) vs 25,1 (IQR 0,1–67,6); $p = 0,0438$; Mann-Whitney).

4.2.2.3. SHR emitowały USV 50-kHz o niższej częstotliwości i znacznie więcej krótkich USV 22-kHz niż szczury Wistar

Porównanie właściwości USV emitowanych przez SHR i szczury Wistar wykazało, że w większości przypadków SHR emitowały USV 50-kHz o niższej częstotliwości niż szczury Wistar (Ryc. 18D, Tab. S16). Każda grupa SHR emitowała również więcej krótkich USV 22-kHz podczas całej sesji analizowanej razem (Ryc. 17, Tab. 6, S16a) i w czasie 10-minutowego okresu ciszy rozpoczynającego sesję odtwarzania sygnałów – niż odpowiadająca im grupa szczurów Wistar (Tab. 6, S16b, proszę zwrócić uwagę na niską wartość $p < 0,0001$ w większości przypadków; Mann-Whitney), ale nie w odpowiedzi na odtwarzane sygnały (Tab. 6, S16cd). Długość i częstotliwość krótkich USV 22-kHz były zbliżone do siebie pomiędzy grupami (Tab. 6, S16).



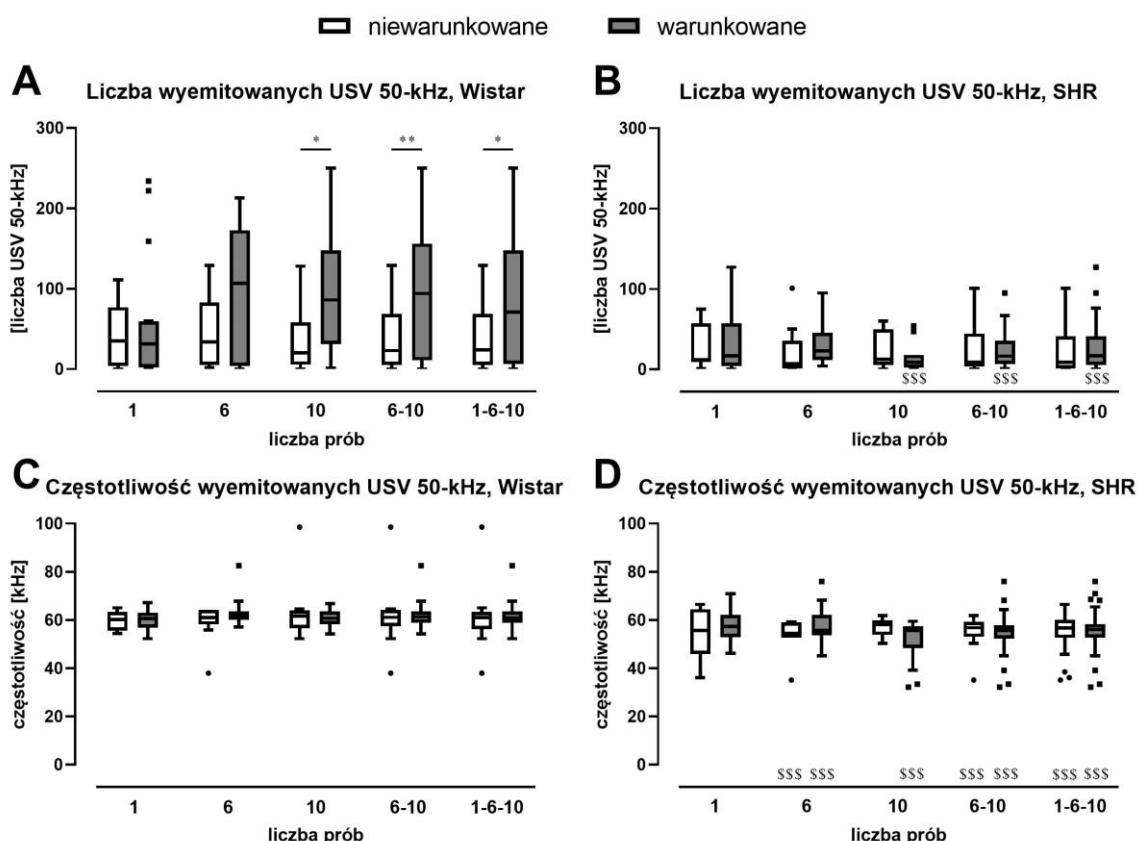
Ryc. 17. Liczba krótkich USV 22-kHz wyemitowanych podczas całej sesji playbackowej (A) oraz odsetek tychże USV w liczbie wszystkich USV (B). Wyniki przedstawiono w zależności od liczby bodźców (prób), jaką doświadczyły zwierzęta 1 dzień wcześniej podczas warunkowania strachu (FC): zero (0), jeden (1), sześć (6), dziesięć (10), a także jako sumę grup 6-P + 10-P (6-10) oraz 1-P + 6-P + 10-P (1-6-10). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; Mann-Whitney. Liczebność grup (Wistar): 0-P, $n = 37$; 1-P, $n = 16$; 6-P, $n = 22$; 10-P, $n = 19$;

6-10-P, n = 41; 1-6-10-P, n = 57. Liczebność grup (SHR): 0-P, n = 31; 1-P, n = 17; 6-P, n = 17; 10-P, n = 15; 6-10-P, n = 32; 1-6-10-P, n = 47. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S15a.

Tab. 6. Porównanie liczby, długości i częstotliwości krótkich USV 22-kHz (częstotliwość 18–32 kHz, długość <0,3 s), emitowanych przez szczury Wistar i SHR podczas całej sesji playbackowej, pierwszych 10 min ciszy oraz podczas odtwarzania sygnałów (tj. w czasie 10-sekundowego odtwarzania i przez następujące po nim 110 s) u szczurów kontrolnych oraz warunkowanych. Porównanie pomiędzy szczurami Wistar i SHR: * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001, Mann-Whitney. Grupy (Wistar): 0-P, n = 37; 1-P, n = 16; 6-P, n = 20; 10-P, n = 19; 6-10-P, n = 39; 1-6-10-P, n = 55. Grupy (SHR): 0-P, n = 31; 1-P, n = 17; 6-P, n = 17; 10-P, n = 15; 6-10-P, n = 32; 1-6-10-P, n = 49.

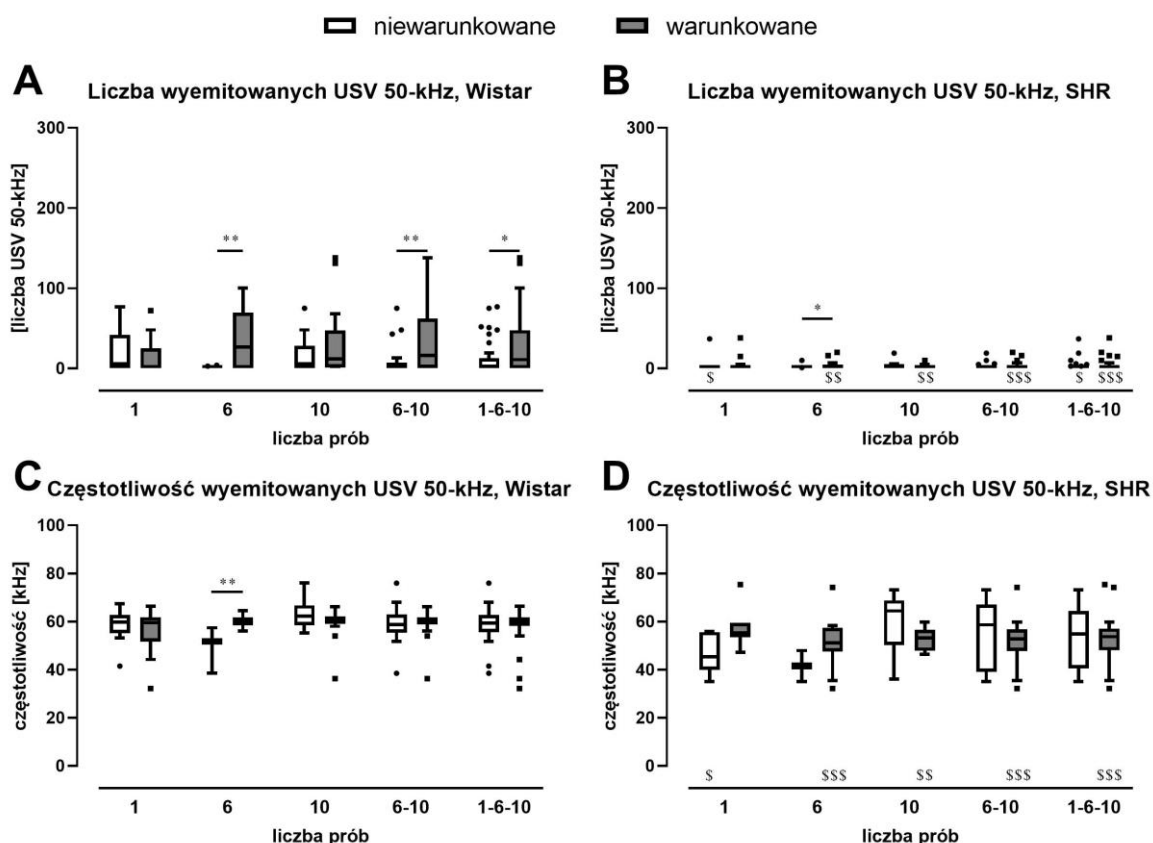
grupa	liczba krótkich USV 22-kHz		długość krótkich USV 22-kHz [ms]		częstotliwość krótkich USV-22 kHz [kHz]	
	Wistar	SHR	Wistar	SHR	Wistar	SHR
krótkie USV 22 kHz wyemitowane podczas całej sesji playbackowej (1840 s)						
0-P(1-6-10)	10,7 ± 2,6	38,4 ± 5,7 ***	13,8 ± 3,1	13,6 ± 0,6 *	25,9 ± 2,7	25,8 ± 0,2
1-P	22,2 ± 8,3	41,7 ± 6,6 **	23,1 ± 9,9	13,8 ± 0,9	25,1 ± 3,3	25,4 ± 0,3
6-P	9,1 ± 1,9	54,1 ± 12,9 ***	27,6 ± 12,6	22,1 ± 6,4	25,4 ± 2,5	25,3 ± 0,4
10-P	10,7 ± 2,2	39,5 ± 8,1 ***	16,5 ± 4,4	13,3 ± 0,8	25,3 ± 3,5	25,1 ± 0,4
6-10-P	9,9 ± 1,4	47,3 ± 7,8 ***	22,2 ± 6,8	18,0 ± 3,5	25,3 ± 0,2	25,2 ± 0,3
1-6-10-P	13,5 ± 2,7	45,3 ± 5,6 ***	22,5 ± 5,5	16,5 ± 2,3	25,3 ± 1,8	25,3 ± 0,2
krótkie USV 22 kHz wyemitowane podczas pierwszych 10 min (600 s)						
0-P(1-6-10)	4,5 ± 1,0	20,7 ± 5,0 ***	9,4 ± 0,9	13,1 ± 0,7 **	25,3 ± 0,3	26,4 ± 0,2 **
1-P	13,1 ± 6,6	17,7 ± 3,1 **	23,1 ± 11,1	13,1 ± 1,0	24,9 ± 5,3	25,8 ± 0,4
6-P	4,6 ± 1,2	29,8 ± 9,9 ***	31,9 ± 13,9	14,1 ± 1,4	25,2 ± 0,3	25,5 ± 0,4
10-P	4,4 ± 1,3	20,2 ± 2,9 ***	22,5 ± 10,3	13,0 ± 0,9	25,3 ± 0,5	25,1 ± 0,5
6-10-P	4,5 ± 0,9	25,3 ± 5,4 ***	27,7 ± 8,8	13,6 ± 0,9	25,3 ± 0,3	25,3 ± 0,3
1-6-10-P	7,0 ± 2,0	22,7 ± 3,7 ***	26,2 ± 6,9	13,4 ± 0,7	25,2 ± 0,3	25,5 ± 0,2
krótkie USV 22 kHz wyemitowane w odpowiedzi na USV 50-kHz (120 s)						
0-P(1-6-10)	0,9 ± 0,2	2,1 ± 0,4 *	22,1 ± 9,4	18,6 ± 6,3	26,1 ± 0,7	25,4 ± 0,6
1-P	1,3 ± 0,6	1,7 ± 0,6	17,9 ± 1,2	12,9 ± 2,6	26,1 ± 1,1	27,1 ± 1,3
6-P	0,8 ± 0,3	2,7 ± 1,6	10,1 ± 2,1	17,4 ± 2,5	25,3 ± 0,7	25,1 ± 0,8
10-P	1,7 ± 0,7	1,5 ± 0,6	13,2 ± 1,8	15,3 ± 2,9	25,8 ± 0,6	26,2 ± 1,0
6-10-P	1,2 ± 0,4	2,2 ± 0,9	11,8 ± 1,4	16,4 ± 1,9	25,6 ± 0,4	25,6 ± 0,7
1-6-10-P	1,2 ± 0,3	2,0 ± 0,6	13,5 ± 1,2	15,3 ± 1,5	25,7 ± 0,4	26,1 ± 0,6
krótkie USV 22 kHz wyemitowane w odpowiedzi na USV 22-kHz (120 s)						
0-P(1-6-10)	0,6 ± 0,3	0,5 ± 0,2	12,3 ± 2,9	19,3 ± 4,2	26,2 ± 0,6	26,6 ± 0,8
1-P	1,1 ± 0,6	0,8 ± 0,4	10,3 ± 2,2	11,8 ± 2,0	26,8 ± 0,8	25,2 ± 1,1
6-P	0,3 ± 0,1	1,4 ± 0,6	14,1 ± 4,2	56,2 ± 39,2	25,5 ± 0,6	25,3 ± 1,3
10-P	1,1 ± 0,5	0,7 ± 0,4	13,2 ± 3,2	18,7 ± 4,4	24,8 ± 0,8	23,0 ± 1,8
6-10-P	0,7 ± 0,3	1,1 ± 0,4	13,6 ± 2,4	39,5 ± 21,8	25,1 ± 0,5	24,3 ± 1,1
1-6-10-P	0,8 ± 0,3	1,0 ± 0,3	12,6 ± 1,8	29,6 ± 14,2	25,6 ± 0,5	24,6 ± 0,8

Odpowiedź na odtwarzanie USV 50-kHz



Ryc. 18. Właściwości USV 50-kHz (liczba, AB i częstotliwość, CD) wyemitowanych przez szczury Wistar (AC) i SHR (BD) w odpowiedzi na USV 50-kHz prezentowane z głośnika. Analizę wykonano na ultradźwiękach zarejestrowanych w przedziale czasu 120 s liczącym od początku odtwarzania USV 50-kHz z głośnika (tj. przez 10 s odtwarzania i przez 110 s bezpośrednio po jej zakończeniu). **USV (B).** Analizę wykonano na ultradźwiękach zarejestrowanych podczas pełnej sesji playbackowej (1840 s). Wyniki przedstawiono w zależności od liczby bodźców (prób), jaką doświadczyły zwierzęta 1 dzień wcześniej podczas warunkowania strachu (FC): zero (0), jeden (1), sześć (6), dziesięć (10), a także jako sumę grup 6-P + 10-P (6-10) oraz 1-P + 6-P + 10-P (1-6-10). Ponieważ różna liczba bodźców przekładała się na różny czas trwania sesji warunkowania, każda z grup warunkowanych została przyrównana do równoczesowej grupy kontrolnej (kolor biały). Jeden znak (* lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * vs równoczesowa grupa kontrolna; \$ vs Wistar; Mann-Whitney. Liczebność grup (Wistar, **AC**) szczury niewarunkowane: 1 (0-P(1)), $n = 13$; 6 (0-P(6)), $n = 11$; 10 (0-P(10)), $n = 13$; 6-10 (0-P(6-10)), $n = 24$; 1-6-10 (0-P(1-6-10)), $n = 37$; szczury warunkowane: 1 (1-P), $n = 16$; 6 (6-P), $n = 22$; 10 (10-P), $n = 19$; 6-10 (6-10-P), $n = 41$; 1-6-10 (1-6-10-P), $n = 57$. Liczebność grup SHR, **BD**) szczury niewarunkowane: 1 (0-P(1)), $n = 11$; 6 (0-P(6)), $n = 10$; 10 (0-P(10)), $n = 10$; 6-10 (0-P(6-10)), $n = 20$; 1-6-10 (0-P(1-6-10)), $n = 31$; szczury warunkowane: 1 (1-P), $n = 17$; 6 (6-P), $n = 17$; 10 (10-P), $n = 15$; 6-10 (6-10-P), $n = 32$; 1-6-10 (1-6-10-P), $n = 47$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S16c.

Odpowiedź na odtwarzanie USV 22-kHz



Ryc. 19. Właściwości USV 50-kHz (liczba, AB i częstotliwość, CD) wyemitowanych przez szczury Wistar (AC) i SHR (BD) w odpowiedzi na USV 22-kHz prezentowane z głośnika. Analizę wykonano na ultradźwiękach zarejestrowanych w przedziale czasu 120 s liczącym od początku odtwarzania USV 50-kHz z głośnika (tj. przez 10 s odtwarzania i przez 110 s bezpośrednio po jej zakończeniu). **USV (B).** Analizę wykonano na ultradźwiękach zarejestrowanych podczas pełnej sesji playbackowej (1840 s). Wyniki przedstawiono w zależności od liczby bodźców (prób), jaką doświadczyły zwierzęta 1 dzień wcześniej podczas warunkowania strachu (FC): zero (0), jeden (1), sześć (6), dziesięć (10), a także jako sumę grup 6-P + 10-P (6-10) oraz 1-P + 6-P + 10-P (1-6-10). Ponieważ różna liczba bodźców przekładała się na różny czas trwania sesji warunkowania, każda z grup warunkowanych została przyrównana do równoczesowej grupy kontrolnej (kolor biały). Jeden znak (* lub \$) $p < 0,05$, dwa znaki $p < 0,01$, trzy znaki $p < 0,001$; * vs równoczesowa grupa kontrolna; \$ vs Wistar; Mann-Whitney. Liczebność grup (Wistar, **AC**) szczury niewarunkowane: 1 (0-P(1)), $n = 13$; 6 (0-P(6)), $n = 11$; 10 (0-P(10)), $n = 13$; 6-10 (0-P(6-10)), $n = 24$; 1-6-10 (0-P(1-6-10)), $n = 37$; szczury warunkowane: 1 (1-P), $n = 16$; 6 (6-P), $n = 22$; 10 (10-P), $n = 19$; 6-10 (6-10-P), $n = 41$; 1-6-10 (1-6-10-P), $n = 57$. Liczebność grup SHR, **BD**) szczury niewarunkowane: 1 (0-P(1)), $n = 11$; 6 (0-P(6)), $n = 10$; 10 (0-P(10)), $n = 10$; 6-10 (0-P(6-10)), $n = 20$; 1-6-10 (0-P(1-6-10)), $n = 31$; szczury warunkowane: 1 (1-P), $n = 17$; 6 (6-P), $n = 17$; 10 (10-P), $n = 15$; 6-10 (6-10-P), $n = 32$; 1-6-10 (1-6-10-P), $n = 47$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S16c.

4.3. Wpływ podania haloperidolu na zachowanie SHR

Po stwierdzeniu u SHR mniejszej (w porównaniu ze szczurami Wistar) odpowiedzi USV na playback, zbadano czy podanie szczurom leku o działaniu przeciwpsychotycznym (haloperidolu) wpłynie na ich zachowanie podczas playbacku. Sprawdzone także, czy lek wpłynie na SLB pojawiające się w innych testach behawioralnych: OF, NOR i SI.

4.3.1. Podanie haloperidolu zwiększyło liczbę emitowanych USV w odpowiedzi na odtwarzanie USV 50-kHz

W celu sprawdzenia, czy szczury spożywały założoną dawkę haloperidolu, obliczono przyjętą dawkę leku, wyliczoną na podstawie konsumpcji wody. Wyniosła ona w całym okresie jego podawania $0,96 \pm 0,02$ mg/kg/d dla grupy HALO1 i $1,83 \pm 0,05$ mg/kg/d dla grupy HALO2.

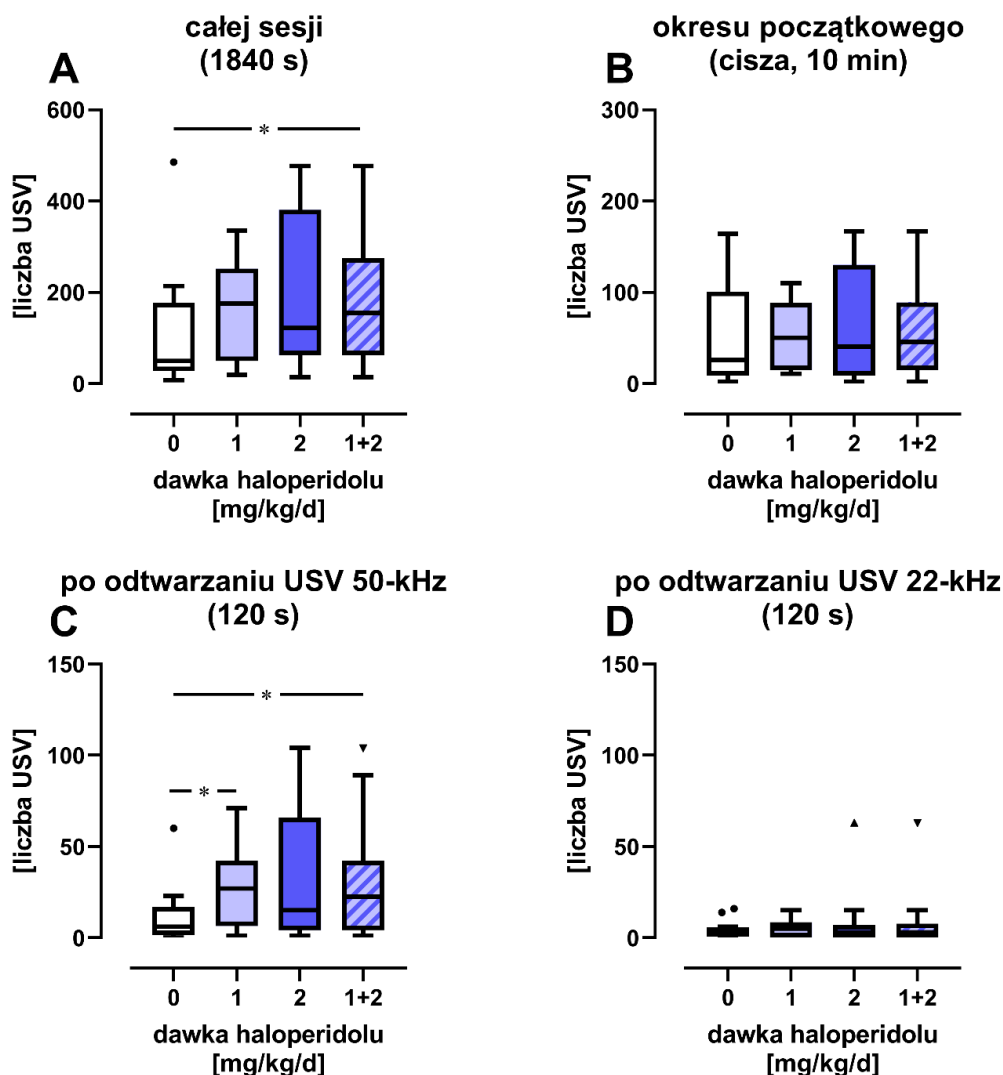
W 24. dniu podawania haloperidolu zbadano wpływ leku na zachowanie szczurów w sesji odtwarzania USV. Obserwowano więcej USV emitowanych przez szczury przyjmujące haloperidol. Różnica ta była istotna statystycznie dla porównania grupy HALO0 (po usunięciu jednej wartości odstającej) z analizowanymi razem szczurami HALO1+2 [odpowiednio: 1,2 (IQR 0,8–3,6) vs 5,0 (IQR 2,0–9,0) USV/min; $p = 0,0277$, Mann-Whitney; Ryc. 20A]. Nie wykazano korelacji pomiędzy faktycznie przyjętą dawką leku a częstością wokalizowania ($r = -0,0887$, $p = 0,6801$, Spearman). Podobnie, nie stwierdzono zależności pomiędzy podaną dawką haloperidolu a liczbą emitowanych krótkich USV 22-kHz (niepokazane). Wszystkie trzy porównywane grupy emitowały zbliżoną liczbę tych USV zarówno w całym doświadczeniu ($p = 0,4857$), jak i w ciągu pierwszych 10 min ($p = 0,4232$, Kruskal-Wallis).

Szczury z grup HALO1 i HALO2 po odtwarzaniu sygnałów z głośnika wykazywały tendencję do wokalizowania więcej niż szczury HALO0 (Ryc. 21E, Tab. S18cd, S19b–20b). Tendencja ta nasilała się, jeżeli pod uwagę wzięto się wyłącznie emitowane USV 50-kHz (Ryc. 21G, Tab. S18d, S19b–20b) oraz połączyło się odpowiedzi grup HALO1 i HALO2 (Ryc. 21FH, Tab. S18d, S19b–20b). Co interesujące, odpowiedź wokalizacyjna na dźwięki prezentowane z głośnika pojawiała się nie w trakcie odtwarzania, a po jej zakończeniu (Tab. S20b).

Większa liczba USV emitowanych przez szczury otrzymujące haloperidol wynikała z odpowiedzi wokalizacyjnej na playback USV określonego typu. Zwierzęta otrzymujące lek nie różniły się od kontrolnych pod względem emitowanych USV w czasie pierwszych 10 min ciszy (Ryc. 20B) oraz po odtwarzaniu USV 22-kHz (Ryc. 20D). Natomiast, szczury, którym podawano haloperidol, wokalizowały więcej po playbacku USV 50-kHz niż szczury z grupy

HALO0. Liczba USV była wyższa w grupie HALO1 [27,0 (IQR 6,5–41,9)] oraz w analizowanych razem szczurach HALO1+2 [22,5 (IQR 4,3–41,9)] niż w grupie HALO0 [5,8 (IQR 1,4–17,0); $p = 0,0491$, HALO0 vs HALO1; $p = 0,0472$, HALO0 vs HALO1+2; Mann-Whitney; Ryc. 20C, Tab. S17].

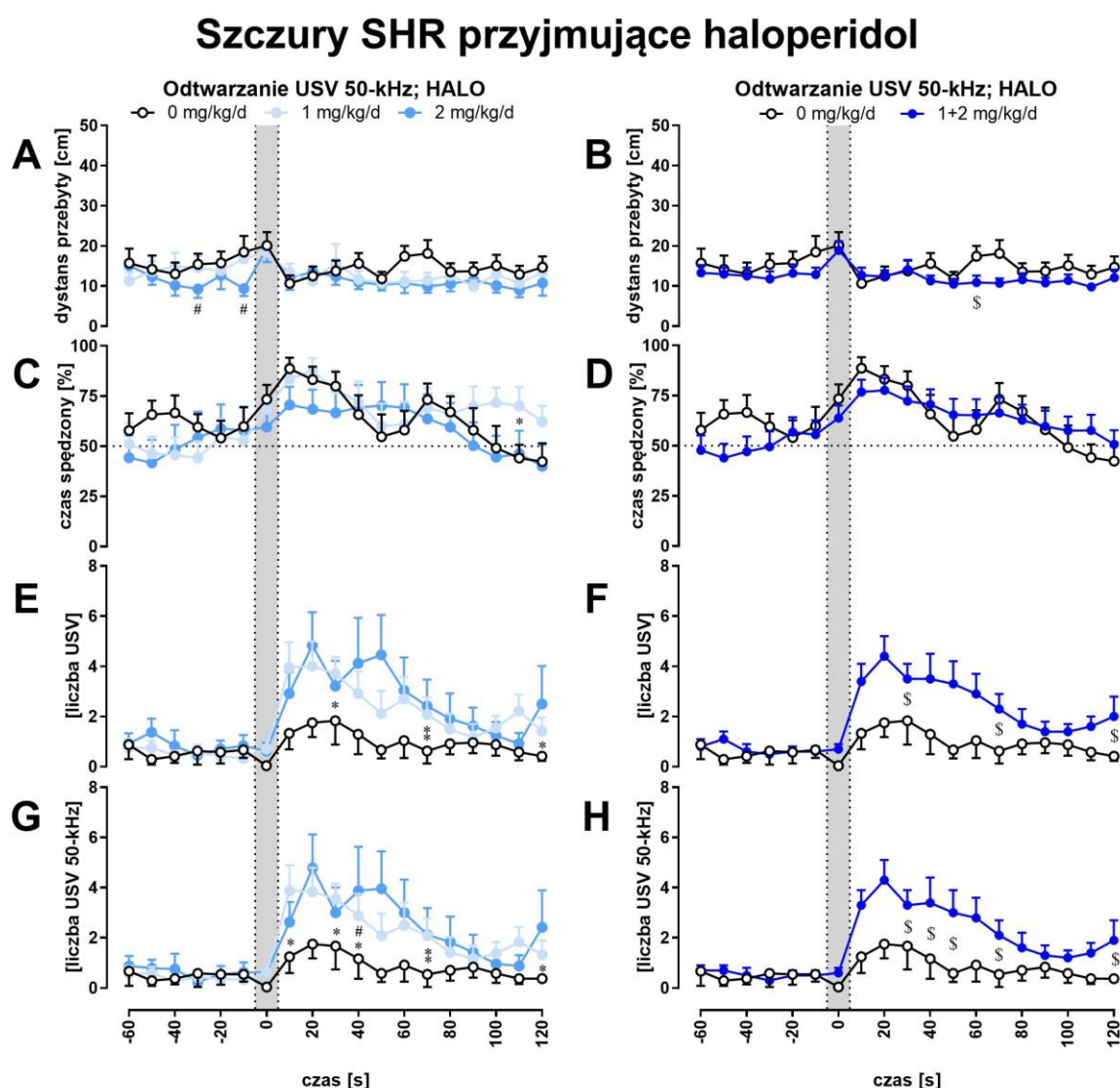
Liczba wokalizacji wyemitowanych podczas:



Ryc. 20. Emisja USV podczas sesji playbackowej przez SHR przyjmujące chronicznie haloperidol w dawce 0, 1 lub 2 mg/kg/d oraz po połączeniu wyników dla dawek 1 i 2 mg/kg/d. (A) liczba USV wszystkich typów wyemitowanych podczas całej sesji, łącznie 1840 s; **(B)** liczba USV wszystkich typów wyemitowanych podczas pierwszych 10 min sesji (przed pierwszą prezentacją sygnału z głośnika); **(C)** liczba USV wszystkich typów wyemitowanych podczas oraz bezpośrednio po odtwarzania z głośnika USV 50-kHz (od startu 10-sekundowej odtwarzania do 110 s po jej zakończeniu, łącznie 120 s); **(D)** liczba USV wszystkich typów wyemitowanych podczas oraz bezpośrednio po odtwarzania z głośnika USV 22-kHz (od startu 10-sekundowej odtwarzania do 110 s po jej zakończeniu, łącznie 120 s). Wykresy pudełkowe, rysowane metodą Tukeya, przedstawiają medianę (linia środkowa pudełka) z pierwszym i trzecim kwartylem (dolna i górna krawędź pudełka). Wąsy przedstawiają wartość $\pm 1,5$ IQR (lub wartość minimalną/maksymalną). Wartości odstające wyznaczone jako leżące w odległości większej niż 1,5 IQR od mediany; * $p < 0,05$; Mann-Whitney. Liczebność grup: dawki 0, 1, 2, $n = 12$; 1+2, $n = 24$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S17.

4.3.2. Podawanie haloperidolu nie wpłynęło na aktywność lokomotoryczną SHR w odpowiedzi na odtwarzane sygnały

Nie stwierdzono wpływu podawania haloperidolu na aktywność lokomotoryczną szczurów w odpowiedzi na playback USV 50-kHz; wartości przebytego dystansu oraz przebywania w połowie klatki zlokalizowanej bliżej głośnika nie różniły się między grupami, zarówno gdy grupy HALO1 i HALO2 były analizowane oddzielnie (Ryc. 21AC, Tab. S18ab, S19a–20a, S21), jak i łącznie (Ryc. 21BD, Tab. S18ab, S19a–20a, S21).



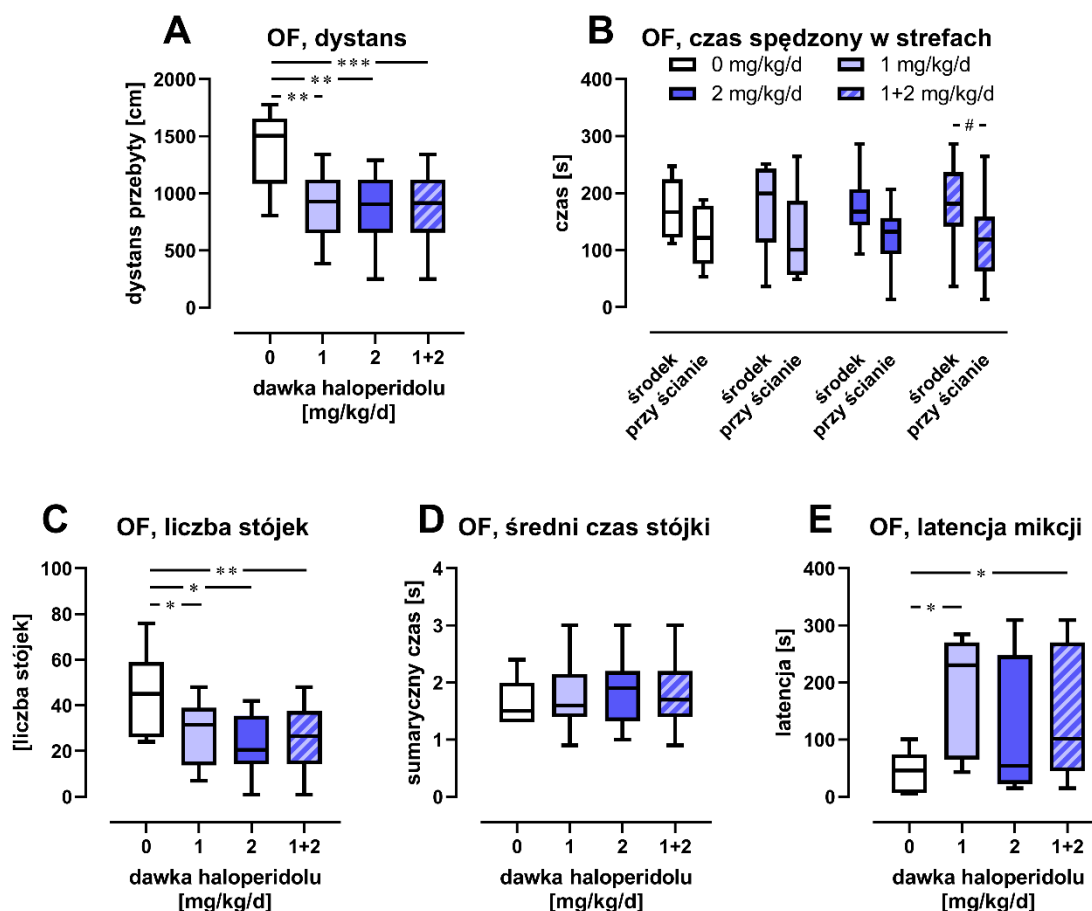
Ryc. 21. Zachowanie podczas sesji playbackowej szczurów SHR przyjmujących chronicznie haloperidol. (AB) dystans przebyty; (CD) czas spędzony w połowie klatki bliżej głośnika; (EF) liczba wyemitowanych USV wszystkich kategorii; (GH) liczba wyemitowanych USV 50-kHz. Szare pionowe pasy wskazują czas odtwarzania dźwięków z głośnika. Lewa kolumna (ACEG) prezentuje porównanie między grupami otrzymującymi haloperidol w dawkach 0, 1 lub 2 [mg/kg/d]. Prawa kolumna (BDFH) prezentuje porównanie między grupą kontrolną (HALO0) a analizowanymi razem grupami otrzymującymi haloperidol (HALO1+2 [mg/kg/d]). (CD) Przerywana linia pozioma wyznacza wartość 50% dla czasu spędzonego w połówkach klatki.

Każdy punkt przedstawia wartość średnią dla przedziału o długości $10 \text{ s} \pm \text{SEM}$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ dla 0 vs 1; # $p < 0,05$ – 0 vs 2; \$ $p < 0,05$ – 0 vs 1+2; Mann-Whitney. Liczebność grup: 0, $n = 11$ – 12 ; 1, 2, $n = 12$; 1+2, $n = 24$. Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S18–S21.

4.3.3. Podawanie haloperidolu zmniejszyło aktywność lokomotoryczną SHR

SHR poddano testom behawioralnym w tym OF, aby określić, czy podawanie haloperidolu wpłynęło na występowanie SLB opisanych przez innych (Peres i wsp., 2018b). W OF szczury nieprzyjmujące haloperidolu przebyły dłuższy dystans [1504,3 (IQR 1084,0–1656,9) cm] niż szczury HALO1 [927,9 (IQR 651,0–1120,6) cm; $p = 0,0029$], HALO2 [903,9 (IQR 656,2–1120,9) cm; $p = 0,0022$], jak i połączone szczury HALO1+2 [915,9 (IQR 656,2–1120,6) cm; $p = 0,0004$; Mann-Whitney; Ryc. 22A, Tab. S22a]. Szczury ze wszystkich grup (w tym z grupy kontrolnej) spędzały więcej czasu w środku areny niż przy jej brzegach; różnica ta była znamienna wyłącznie przy łącznej analizie zwierząt HALO1+2 [181,5 (IQR 141,3–236,8) vs 118,6 (IQR 63,3–158,7) s; $p = 0,0315$; Wilcoxon; Ryc. 22B, Tab. S22b]. Szczury HALO0 wykonały więcej stójek [45,0 (IQR 26,0–59,0)] niż szczury HALO1 [31,5 (IQR 13,8–39,0); $p = 0,0234$], HALO2 [20,5 (IQR 14,3–35,5); $p = 0,0035$] i HALO1+2 [26,5 (IQR 14,3–37,5); $p = 0,0025$; Mann-Whitney; Ryc. 22C, Tab. S22a]. Czas stójki pozostawał zbliżony we wszystkich grupach (Ryc. 22D, Tab. S22a). Szczury HALO0 oddawały pierwszy mocz wcześniej niż szczury HALO1 i szczury HALO1+2 (Mann-Whitney; Ryc. 22E, Tab. S22a). Nie stwierdzono różnic w liczbie emitowanych USV w OF (całkowitej liczbie USV, USV 50-kHz lub krótkich USV 22-kHz) pomiędzy grupami (Kruskal-Wallis).

Szczury SHR; zachowanie w teście otwartego pola



Ryc. 22. Zachowanie w teście otwartego pola (OF) szczurów SHR przyjmujących chronicznie haloperidol w dawce 0, 1 lub 2 mg/kg/d oraz po wspólnej analizie wyników dla dawek 1 i 2. (A) dystans przebyty; (B) czas spędzony w strefie środkowej i przy ścianach; (C) liczba stójek; (D) czas trwania stójki; (E) czas do pierwszego oddania moczu. Wykresy pudełkowe, rysowane metodą Tukeya, przedstawiają medianę (linia środkowa pudełka) z pierwszym i trzecim kwartylem (dolna i górna krawędź pudełka). Wąsy przedstawiają wartość $\pm 1,5 \times \text{IQR}$ (lub wartość minimalną/maksymalną). Wartości odstające wyznaczono jako leżące w odległości większej niż $1,5 \times \text{IQR}$ od mediany; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,001$; Mann-Whitney; # $p < 0,05$; Wilcoxon. Liczebność grup (A–D): 0, $n = 11$; 1, $n = 12$; 1+2, $n = 24$. Liczebność grup (E): 0, $n = 7$; 1, $n = 9$; 2, $n = 4$; 1+2, $n = 13$ (pozostałe zwierzęta nie oddały moczu). Analiza statystyczna została zamieszczona w Tab. S22.**

5. Dyskusja

5.1. Podsumowanie wyników

W doświadczeniach zastosowano układ doświadczalny, oparty na odtwarzaniu szeregu sygnałów ultradźwiękowych w warunkach przypominających klatkę bytową. Pozwoliło to na zaobserwowanie różnic między szczurami Wistar uprzednio warunkowanymi i niewarunkowanymi. Szczury, które otrzymały wiele (6 lub 10) szoków elektrycznych, w porównaniu z grupami kontrolnymi, wykazywały:

1. większy wzrost aktywności lokomotorycznej po rozpoczęciu playbacku USV 50-kHz;
2. głębsze ograniczenie aktywności lokomotorycznej po zakończeniu playbacku USV 22-kHz;
3. wyższy poziom emisji własnych USV w odpowiedzi na playback USV 50- i 22-kHz;

Dodatkowo SHR w porównaniu ze szczurami Wistar:

1. w warunkach początkowych treningu FC zamierały przez dłuższy czas i emitowały więcej krótkich USV 22-kHz;
2. zarówno podczas treningu, jak i testu FC emitowały mniej długich USV 22-kHz;
3. cechowały się mniejszym wzrostem aktywności lokomotorycznej po rozpoczęciu playbacku USV 50-kHz i mniejszym ograniczeniem aktywności lokomotorycznej po zakończeniu playbacku USV 22-kHz;
4. emitowały mniej USV w odpowiedzi na playback obu typów USV.

SHR otrzymujące haloperidol różniły się od grupy kontrolnej, nieprzyjmującej leku:

1. intensywniejszym wokalizowaniem w odpowiedzi na playback USV 50-kHz;
2. odmiennym zachowaniem w OF: były mniej aktywne lokomotorycznie, więcej czasu spędzały w środku areny, wykonywały mniej stójek i później oddawały pierwszy mocz.

5.2. Wpływ podania bodźców bólowych w treningu FC na późniejsze zachowanie szczurów

Zgodnie z zaproponowaną pierwszą hipotezą uprzednie doświadczenie bodźców bólowych podczas FC wpłynęło na odpowiedź behawioralną szczurów na playback USV. Obserwowano u nich: wyższą aktywność lokomotoryczną na playback 50-kHz USV (Ryc. 5A–9A), większy spadek aktywności lokomotorycznej po playbacku 22-kHz USV (Ryc. 5B–9B) i emisję większej liczby własnych USV w odpowiedzi na playback sygnałów obu typów (Ryc. 5EF–9EF) w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi. Należy zaznaczyć, że różnice w zachowaniu były widoczne przede wszystkim pomiędzy szczurami, które podczas treningu FC otrzymały

więcej niż jeden bodziec bólowy (grupy 6-P, 10-P i analizowane razem 6-10-P), a szczurami niewarunkowanymi. Można przypuszczać, że u tych osobników nastąpiła istotna zmiana behawioralna spowodowana traumatycznym doświadczeniem.

5.2.1. Charakterystyka pamięci i zmian biochemicznych wynikających z otrzymania wielu bodźców bólowych

Doświadczenie silnych bodźców awersyjnych prowadzi do zmian biochemicznych, prowadzących do utrwalenia pamięci. Stwierdzono, że wielokrotne podanie szoków elektrycznych podczas treningu FC nasila u szczurów zamieranie (Fanselow i Bolles, 1979; Poulos i wsp., 2016; Haubrich i wsp., 2020; Haubrich i Nader, 2023). Stopień, w jakim zwierzęta nieruchomieją po ponownym podaniu bodźców kojarzonych z bólem, jest uznawany za wskaźnik awersyjności wytworzonych wspomnień (Luyten i wsp., 2011a). Pamięć doświadczenia wielu bodźców bólowych jest oporna na modyfikację w procesie rekonsolidacji (Wang i wsp., 2009; Haubrich i wsp., 2020; Haubrich i Nader, 2023), a także na czynności prowadzące do wygaszania śladów pamięciowych (Haubrich i wsp., 2020; Haubrich i Nader, 2023). Do wytworzenia się pamięci FC kluczowa jest aktywność receptorów NMDA w ciele migdałowatym (Lee i wsp., 2001), jednakże Wang i wsp. (2009) stwierdzili, że w efekcie otrzymania dziesięciu bodźców bólowych podczas FC u szczurów następowało zmniejszenie liczby podjednostek NR2B receptorów NMDA w tym obszarze mózgu, co powodowało, że pamięć warunkowania była trwała i nie ulegała rekonsolidacji. Opisano również dodatnią korelację pomiędzy liczbą szoków elektrycznych podanych w trakcie FC a stężeniem hormonu stresu (kortykosteronu) we krwi zwierząt (dos Santos Corrêa i wsp., 2019). Nie można wykluczyć możliwości, że w grupach 6-P i 10-P pod wpływem wysokiej awersyjności doznań podczas treningu FC doszło do zmian biochemicznych w mózgu szczurów rzutujących na późniejszą percepcję playbacku USV.

5.2.2. Podobieństwa w zachowaniu podczas playbacku szczurów, które otrzymały 6 lub 10 szoków elektrycznych, do opisanego wcześniej behawioru szczurów chowanych pojedynczo

W publikacji Olszyńskiego i wsp. (2020) opisano wpływ warunków chowu na odpowiedź ultradźwiękową szczurów w tym samym schemacie playbacku, który zastosowano w niniejszej rozprawie. Stwierdzono, że zwierzęta utrzymywane w klatkach samotnie po odtwarzaniu USV z głośnika wokalizowały więcej niż te utrzymywane w parach. Należy zatem rozpatrzyć, czy istnieją elementy wspólne w chowie pojedynczym szczurów i podawaniu wielu bodźców

bólowych w FC, które podobnie wpływają na zachowanie zwierząt. Izolacja społeczna, w której szczury są w stanie przekazywać sobie sygnały węchowe i słuchowe, ale nie mają możliwości bezpośredniego kontaktu, jest dotkliwą sytuacją stresową dla zwierząt (Garzón i Del Río, 1981; Hurst i wsp., 1997). Pokazano, że prowadzi ona do rozwinięcia się u nich zachowań podobnych do objawów depresji (Carnevali i wsp., 2012). Podobnie jak FC, odosobnienie wywołuje zmiany biochemiczne u szczurów. Na skutek izolacji u zwierząt następuje wzrost ekspresji genów kodujących receptory NMDA w mózgu (Turnock-Jones i wsp., 2009; Chang i wsp., 2015) i wydzielanie kortykosteronu do krwi (Weiss i wsp., 2004; Serra i wsp., 2005). Pomimo silnej awersyjności chowu w samotności, u szczurów utrzymywanych w takich warunkach obserwuje się nasilenie występowania zachowań prospołecznych (Hurst i wsp., 1997), w tym też większą liczbę emitowanych USV podczas zabawy międzyosobniczej (Knutson i wsp., 1998), jak i podczas łaskotania (Panksepp i Burgdorf, 2000; Burgdorf i Panksepp, 2001).

Podobnie zaobserwowano, że w porównaniu ze szczurami chowanymi w parach, zwierzęta chowane samotnie emitowały więcej własnych USV w odpowiedzi na odtwarzane USV (Olszyński i wsp., 2020). Na podstawie wyników przedstawionych w pracy Olszyńskiego i wsp. (2020), jak i tych uzyskanych w niniejszej rozprawie, można wnioskować, że awersyjne doświadczenia życiowe powodują wzmocnienie zachowań prospołecznych (emisji apetytywnych USV i przebywania w pobliżu głośnika) w odpowiedzi na playback USV.

5.2.3. Porównanie otrzymanych wyników do uznanych zwierzęcych modeli zaburzeń

Większą aktywność lokomotoryczną i liczbę USV emitowanych przez zwierzęta z grup 6-P i 10-P, w porównaniu z grupami kontrolnymi, można interpretować jako wysoką czujność lub nadwrażliwość szczurów na słyszane USV. W celu weryfikacji tego przypuszczenia w pierwszej kolejności należy ocenić, czy zastosowany układ doświadczalny i otrzymane wyniki są zbliżone do uznanych zwierzęcych modeli zaburzeń, w których obserwuje się nadmierną wrażliwość lub czujność na docierające sygnały, a do ich wywoływania wykorzystuje się podawanie bodźców bólowych w procedurze FC.

5.2.3.1. Podobieństwo zachowania szczurów do objawów zespołu stresu pourazowego i ostrej reakcji na stres

Zastosowane protokoły FC dla grup 6-P i 10-P pod względem liczby, siły i nieregularności przerw między bodźcami bólowymi były podobne do metod stosowanych w celu uzyskania zwierzęcych modeli zaburzeń związanych z doświadczeniem traumy (Foa i wsp., 1992;

Fanselow i Ponnusamy, 2008; Aliczki i Haller, 2015). Obserwacjami przemawiającymi za uznaniem treningu FC jako doświadczenia traumatycznego dla szczurów z grupy 6-P i 10-P były: nasilający się wraz z liczbą otrzymanych bodźców bólowych stopień zamierania (Ryc. 4A; Tab. S1), emisja większej liczby USV 22-kHz oraz emisja USV 44-kHz, która prawdopodobnie była wyrazem silnego negatywnego stanu emocjonalnego szczura (Olszyński i wsp., 2023b).

Zaburzeniami pojawiającymi się na skutek doznania traumy są PTSD oraz zespół ostrej reakcji na stres (ang. *acute stress disorder*, ASD), które zbliżone są pod względem etiologii i diagnostyki (Friedman, 2009; American Psychiatric Association, 2022). Nadwrażliwość na docierające bodźce (ang. *hypervigilance*) jest wskazywana jako wiodący objaw zarówno w PTSD, jak i ASD (Spiegel i wsp., 1994; Cardeña i Carlson, 2011; Van Wyk, 2013; Kimble i wsp., 2014; Forbes i wsp., 2019). Nadwrażliwość może również ujawniać się wobec bodźców społecznych (Kashdan i wsp., 2010; MacNamara i wsp., 2013; Domes i Zimmer, 2019; Janssen i wsp., 2022). W takim wypadku u chorych często pojawia się awersyjna reakcja na kontakt z innymi, a nawet na samą jego zapowiedź. Osoby z PTSD lub ASD usilnie doszukują się potencjalnych zagrożeń wynikających z kontaktów międzyludzkich, nawet jeśli nie istnieją racjonalne przesłanki wskazujące na niebezpieczeństwo (Stevens i Jovanovic, 2019). Osoby takie mają również trudności w odczuwaniu empatii i afektu (Nietlisbach i Maercker, 2009). Nadwrażliwość na bodźce społecznie i ich nieprawidłowa interpretacja są związane z podwyższoną pobudliwością neuronów w korze przedczołowej (Adenauer i wsp., 2010; MacNamara i wsp., 2013) oraz ciele migdałowatym pacjentów (Stevens i Jovanovic, 2019). Oba te obszary są także silnie aktywne u szczurów w efekcie treningu FC (Maren i Fanselow, 1996; Baeg i wsp., 2001).

Można przypuszczać, że w wyniku podania wielu szoków elektrycznych u szczurów z grupy 6-P i 10-P rozwinęła się nadwrażliwość na bodźce. Spowodowała ona widoczne różnice pomiędzy tymi szczurami a grupami niewarunkowanymi w intensywności odpowiedzi behawioralnej (liczbie emitowanych USV i aktywności lokomotorycznej) w odpowiedzi na playback USV. Zachowanie to przypomina nadwrażliwość na bodźce obecną u osób z PTSD/ASD, która objawia się skupieniem uwagi na sygnałach postrzeganych jako mających związek z zagrożeniem (Kimble i wsp., 2014; Lazarov i wsp., 2019) oraz silną reakcją orientacyjną na nie (Kearney i Lanius, 2022).

W przypadku szczurów opisanych w rozprawie, wydają się one bardziej wyczulone na odtwarzane sygnały, a zbliżanie się do głośnika (Ryc. 8CD) i wysoka aktywność

lokomotoryczna (Ryc. 8AB) po playbacku przypominają reakcję orientacyjną na odtwarzane dźwięki. Ich zachowanie ma pewne podobieństwa do opisanego przez Arakawę (2007) intensywnego behawioru eksploracyjnego w OF u szczurów, którym podano jeden szok elektryczny trwający 15 s, w porównaniu z osobnikami, które szoku nie otrzymały.

Przypuszczalnie, większa aktywność lokomotoryczna szczurów z grup 6-P i 10-P (w porównaniu z grupą kontrolną) w odpowiedzi na playback nastąpiła na skutek odebrania słyszanych sygnałów jako zagrożenia. Również emisji USV 50-kHz podczas sesji playbacku nie można wykluczyć jako reakcji zwierząt na potencjalne niebezpieczeństwo. Emisję USV 50-kHz obserwowano także w sytuacjach jednoznacznie awersyjnych: tuż przed walką z innym osobnikiem (Thomas i wsp., 1983) lub bezpośrednio po doświadczeniu szoku elektrycznego (por. Ryc. 3, Taylor i wsp., 2017). Niemniej jednak, jeśli zachowanie szczurów odzwierciedlałoby typowe objawy PTSD i ASD, zwierzęta prawdopodobnie w odpowiedzi na playback USV 50-kHz zamierałyby, oddalałyby się od głośnika oraz emitowały USV 22-kHz, czego nie obserwowano.

5.2.3.2. Podobieństwo zachowania szczurów do procesu przezwyciężania urazu psychicznego

Zachowanie szczurów z grup 6-P i 10-P, oprócz podobieństw do objawów PTSD i ASD, wykazuje także cechy wspólne z występującymi u ludzi mechanizmami przezwyciężania traumy (ang. *trauma coping*).

Poszukiwanie kontaktu społecznego oraz doznań, które pomagają złagodzić bolesne wspomnienia, uznaje się za naturalny proces przezwyciężania traumy (Allen, 2008). W wyniku doświadczenia cierpienia u ludzi często dochodzi do zmian w postrzeganiu otaczającego świata, polegających na skupieniu się na pozytywnych aspektach życia, chęci niesienia pomocy oraz wzroście występowania zachowań prospołecznych (Staub i Vollhardt, 2008; Vollhardt, 2009; Xu i wsp., 2024). Warto jednak podkreślić, że rozwój zmian behawioralnych wynikających z ostrego stresu jest zależny od wielu czynników niezwiązanych bezpośrednio z urazem: zarówno osobniczych (np. płci, postrzegania własnej wartości, uwarunkowań genetycznych), jak i środowiskowych (np. pozycji społecznej, wsparcia bliskich; Holmes i Singewald, 2013; Lommen i wsp., 2013; Faber i Häusser, 2022). Podobne czynniki mogły również wpływać na zachowanie podczas playbacku USV zwierząt, którym wcześniej podano bodźce bólowe podczas treningu FC.

U ludzi wsparcie emocjonalne po urazie skutecznie wspomaga prawidłowe przezwyciężanie traumy, zapobiegając rozwojowi powiązanych z nią zaburzeń (Flannery Jr, 1990; Kaniasty, 2012; Calhoun i wsp., 2022). Zjawisko to nazywane jest buforowaniem społecznym (Kikusui i wsp., 2006; Panagioti i wsp., 2014). Analogiczne zjawisko występuje u szczurów. Odnotowano, że obecność lub zapach innego osobnika w klatce do warunkowania zmniejsza zachowania lękowe i obronne związane z podawaniem bodźców bólowych podczas treningu FC (Kiyokawa i wsp., 2014; Ishii i wsp., 2016). Po treningu FC wykonanym w ramach niniejszej rozprawy szczury przebywały w klatkach bytowych z innym szczurem. Możliwe zatem, że obecność drugiego szczura hamowała rozwój objawów podobnych do PTSD/ASD po FC. Natomiast zachowanie szczurów podczas playbacku wynikało prawdopodobnie z poszukiwania kontaktu społecznego, podobnego do obserwowanego u ludzi prawidłowo wychodzących z doświadczenia traumy. Warto wspomnieć, że do zaistnienia buforowania społecznego u szczurów wystarczą sygnały węchowe (Kiyokawa i wsp., 2009) oraz ultradźwiękowe, wyodrębnione od innych osobników, bez konieczności ich obecności (Karwicka i wsp., 2021). Z tego powodu, nawet u szczurów opisywanych przez Olszyńskiego i wsp. (2020), które były chowane pojedynczo, mogło dojść do buforowania społecznego bez bezpośredniego kontaktu pomiędzy zwierzętami, a przez wyczuwanie zapachu innych osobników chowanych pojedynczo i utrzymywanych w tym samym pokoju do chowu. W przyszłości warto zbadać, czy głębsze ograniczenie interakcji pomiędzy zwierzętami po treningu FC poprzez trzymanie szczurów osobno w klatkach z dźwiękoszczelnymi pokrywami i filtrem powietrza, wpłynie na ich zachowanie podczas playbacku USV.

W kwestii neurobiologicznej przebiegu procesów radzenia sobie z traumą uważa się, że bodziec wywołujący uraz jest najpierw przetwarzany przez jądra boczne i podstawne ciała migdałowatego, skąd sygnał przekazywany jest do prążkowia, którego pobudzenie prowadzi do zachowań ukierunkowanych na aktywne przezwyciężanie szoku pourazowego (LeDoux i Gorman, 2001). U szczurów prążkowie odpowiada za przetwarzanie sygnałów społecznych, a poprzez uwalnianie dopaminy sprawia, że odbiór takich bodźców ma efekt nagrody. Aktywność tego obszaru mózgu nie tylko wspomaga nawiązywanie kontaktu z innymi osobnikami (Báez-Mendoza i Schultz, 2013), ale także emisję USV 50-kHz (Costa i wsp., 2020).

Odnosząc powyższe informacje do zachowania szczurów z grupy 6-P i 10-P, można przypuszczać, że większa aktywność lokomotoryczna i liczba emitowanych USV w odpowiedzi na playback nastąpiła w wyniku wzmożenia zachowań prospołecznych u tych

szczurów. Behavior tych zwierząt przypomina zjawiska obserwowane u ludzi w trakcie procesu przezwyciężania traumy. Brak zachowań odpowiadających objawom PTSD w grupie 6-P i 10-P można także wytłumaczyć w odmienny sposób. W przeprowadzonym doświadczeniu zastosowano elementy różnicujące warunki FC i playbacku, takie jak odmienne pomieszczenia i zaangażowanie różnych eksperymentatorów. Te zabiegi metodyczne prawdopodobnie spowodowały, że szczury nie kojarzyły czynności podczas sesji playbacku z dotkliwymi doświadczeniami z dnia poprzedniego, co ograniczało prawdopodobieństwo przywołania „nieprzyjemnych” śladów pamięciowych.

5.2.4. Podsumowanie

Podanie szeregu bodźców bólowych (6 lub 10) podczas treningu FC spowodowało, że szczury podczas playbacku USV poszukiwały kontaktu społecznego silniej niż odpowiadające im grupy kontrolne. Zastosowany protokół FC był zbliżony do istniejących metod wywoływania zwierzęcych modeli zaburzeń związanych z traumą, takich jak PTSD i ASD. Również zachowanie zwierząt w pewnych aspektach przypominało nadwrażliwość na bodźce, które jest ważnym objawem PTSD i ASD.

Pojawiły się także przesłanki opowiadające za alternatywną interpretacją behavioru szczurów. U zwierząt mogły zajść mechanizmy kompensacyjne, które złagodziły traumatyczną pamięć podania szoków elektrycznych. Alternatywnie – zwierzęta nie kojarzyły czynności wykonywanych w ramach sesji playbacku z zagrożeniem, którego doświadczyły poprzedniego dnia. W przyszłości warto zbadać, czy wzmocnienie dotkliwości FC, np. poprzez zwiększenie natężenia szoku elektrycznego i pełną izolację osobników po treningu, spowodowałoby pojawienie się u szczurów objawów podobnych do PTSD i ASD. Interesujące byłoby także sprawdzenie, czy zastąpienie BW nagraniem USV wykorzystanym później w playbacku lub podanie BW wraz z playbackiem sprawi, że badane zwierzęta będą emitowały mniej USV niż szczury z grup kontrolnych.

Wyniki uzyskane z przeprowadzonego doświadczenia sugerują, że zachowanie szczurów z grup 6-P i 10-P może stanowić podstawę do rozwoju badań nad zjawiskiem przezwyciężania traumy. W przyszłości należy zweryfikować trafność tej hipotezy poprzez badanie aktywności neuronów w prążkowi i obserwację zachowania szczurów uprzednio warunkowanych w dłuższym okresie.

5.3. SHR jako model ADHD i schizofrenii

W kolejnej części niniejszej rozprawy porównano zachowanie szczurów stada Wistar z zachowaniem szczurów szczepu SHR, który jest uznawany za zwierzęcy model ADHD u osobników młodocianych (Sagvolden, 2000; Kozłowska i wsp., 2019) i demencji u zwierząt w podeszłym wieku (Sabbatini i wsp., 2002; Saito i wsp., 2020). Ponadto postuluje się, że SHR są zwierzęcym modelem schizofrenii, chociaż jego trafność opisana została na razie przez jeden zespół badawczy (Santoro i wsp., 2014; Peres i wsp., 2018b; Niigaki i wsp., 2019). We wszystkich wymienionych powyżej zaburzeniach występujących u ludzi obserwuje się nieprawidłowości w zachowaniu społecznym, komunikacji i percepcji bodźców (American Psychiatric Association, 2022). W związku z tym przewidywano, że odpowiedź SHR na playback USV będzie różniła się od tej obserwowanej u szczurów Wistar.

5.3.1. Problem doboru grupy kontrolnej dla SHR

Istnieje ogólny problem związany z wyborem odpowiedniego szczepu/stada zwierząt kontrolnych dla SHR. Ponieważ nie jest możliwe użycie rodzeństwa, wykorzystywane są szczury pochodzące z innych szczepów/stad. Często stosowanym kontrolnym szczepem normotensyjnym dla SHR są szczury stada WKY, z którego SHR zostały wyprowadzone (Kozo i Kyuzo, 1963). Jednakże ich użycie jest kwestionowane ze względu na znaczne różnice behawioralne w porównaniu z innymi stadami normotensyjnymi (Hard i wsp., 1985; Pare, 1994; Diana, 2002; Drolet i wsp., 2002; Clements i Wainwright, 2006; Ferguson i wsp., 2007; Grundt i wsp., 2009). Na przykład obserwowana u SHR nadaktywność lokomotoryczna została z czasem uznana za efekt dobrze już udokumentowanej niskiej aktywności szczurów WKY (Rosecrans i Adams, 1976; Tilson i wsp., 1977; McCarty i Kirby, 1982; Hard i wsp., 1985; Alsop, 2007). Ponadto szczury WKY wykazują wysokie poziomy lęku i zachowania depresyjne (Pare, 1994; Dugovic i wsp., 2000; Redei i wsp., 2001; Braw i wsp., 2008). Co więcej, SHR i WKY, mimo wspólnego pochodzenia, są genetycznie odmienne; SHR mają te same profile genetyczne niezależnie od źródła, podczas gdy niektóre kolonie WKY mają wysoką różnorodność genetyczną (H'Doubler i wsp., 1991).

Z opisanych powyżej powodów w doświadczeniach na SHR jako grupy kontrolne używane są inne stada, takie jak: Wistar (Calzavara i wsp., 2004; Calzavara i wsp., 2009; Qian i wsp., 2010; Calzavara i wsp., 2011a; Calzavara i wsp., 2011b; Peres i wsp., 2018a; Peres i wsp., 2018b), Lewis (Ramos i wsp., 2002) i Sprague-Dawley (Azar i wsp., 2011). W niektórych doświadczeniach stosowano drugą grupę kontrolną, równoległą ze szczurami WKY: Wistar

(van den Bergh i wsp., 2006), czy Sprague-Dawley (Meneses i wsp., 2011; Shanks i wsp., 2013; Zhang-James i wsp., 2014).

W efekcie takiego postępowania pojawiły się rozbieżności dotyczące wyników behawioralnych i fizjologicznych SHR, wynikające z doboru zwierząt do grupy kontrolnej. Przykładowo, niektóre publikacje opisują deficyty pamięci SHR (w labiryncie wodnym, labiryncie promienistym, OF, unikaniu biernym) przy zastosowaniu jako kontroli szczurów WKY (Hernandez i wsp., 2003; Meneses i wsp., 2011); inne jednak, porównując SHR ze szczurami Wistar, donoszą o braku deficytów u SHR w zadaniu unikania różnicującego z wykorzystaniem uniesionego labiryntu krzyżowego (Calzavara i wsp., 2004) i habituacji ruchowej w OF (Calzavara i wsp., 2011a).

Doniesienia odnośnie USV dorosłych szczurów WKY są nieliczne, jednakże sugerują różnicę w poziomie wokalizowania tych szczurów w porównaniu ze stadem Wistar. Nie jest jednak jednoznaczne, w jaki sposób wyrażają się te różnice, ponieważ podczas nagrywania osobników pojedynczo w klatce, odnotowano zarówno mniejszą (Rao i Sadananda, 2015), jak i większą (Van Zyl i wsp., 2014) liczbę emitowanych USV przez WKY w porównaniu ze szczurami Wistar.

Brak ogólnego standardu w doborze odpowiedniego szczepu/stada kontrolnego do badań nad SHR, utrudnia jednoznaczne ustalenie, w jaki sposób SHR różnią się od innych szczurów w wynikach niektórych testów behawioralnych. Ostatecznie stwierdzenie występowania określonych zachowań bądź deficytów u SHR (specyficznie) obarczone jest niepewnością. Niemniej, porównanie wyników z doświadczeń przeprowadzonych na SHR i innych szczepach/stadach szczurów umożliwia wstępne wykrycie fenotypów u SHR będących odpowiednikami objawów chorób ludzi. W rozprawie SHR badano pod względem walidacji ich jako modelu schizofrenii. Zespół, który scharakteryzował SHR jako model tego zaburzenia, sugeruje wybór szczurów Wistar jako grupy kontrolnej (Peres i wsp., 2018b). Wybór stada Wistar jako grupy kontrolnej dla SHR wydaje się zatem uzasadniony, ponieważ umożliwia dodatkowo porównanie wyników z opisanymi wcześniej SLB występującymi u SHR. Istnieje także ryzyko, że obserwowane w rozprawie różnice pomiędzy zachowaniem szczurów Wistar a SHR są artefaktem wynikającym z braku odpowiedniej grupy kontrolnej – której właściwe dobranie i traktowanie jest szczególnie ważne w badaniach behawioralnych. Co jednak kluczowe, kolejne badania porównawcze opisane w rozprawie, przeprowadzone z użyciem wielu grup doświadczalnych SHR – zarówno u szczurów po FC, jak i tych otrzymujących haloperidol – nie są już obarczone tym problemem.

5.3.2. Podobieństwa między zaburzeniami, których szczep SHR jest uznanym modelem, a schizofrenią

Szczep SHR wyprowadzono poprzez selekcję pod względem wysokich wartości ciśnienia tętniczego (Kozo i Kyuzo, 1963), które jest czynnikiem ryzyka wystąpienia deficytów poznawczych w przebiegu schizofrenii (Hagi i wsp., 2021). Wraz z wiekiem nadciśnienie tętnicze prowadzi do nagromadzenia uszkodzeń tkanki nerwowej w mózgu SHR, co powoduje pojawienie się chorób naczyniowych mózgu, które prowadzą do objawów podobnych do demencji (Tayebati, 2011; Denver i wsp., 2019). U ludzi stwierdzono, że schizofrenia zwiększa dwuipółkrotnie ryzyko rozwoju demencji (El Miniawi i wsp., 2022). Podobnie, u osób z ADHD obserwuje się wcześniejsze pojawianie się ubytków poznawczych w wieku dorosłym (Callahan i wsp., 2021), a ADHD samo w sobie jest czynnikiem ryzyka rozwoju schizofrenii (Gough i Morrison, 2016; Jeon i wsp., 2023). Dodatkowo u osób ze schizofrenią, które doświadczyły urazu psychicznego prowadzącego do PTSD, dochodzi do nasilenia zarówno wytwórczych, jak i ubytkowych objawów schizofrenii (El Jabiry i wsp., 2022). Wszystkie te czynniki wskazują na złożoną interakcję między schizofrenią a innymi zaburzeniami, co pozwala przypuszczać, że SLB u SHR mają wieloprzyczynowe podłoże.

5.3.3. Podobieństwa między zachowaniami SHR a objawami schizofrenii u ludzi

Ocena przydatności danego modelu zwierzęcego polega na sprawdzeniu, w jakim stopniu odzwierciedla on patomechanizmy, objawy i skuteczność terapii obserwowane u ludzi (Willner, 1984; Denayer i wsp., 2014). W następnym podrozdziale zostanie omówione, w jaki sposób zachowania SHR, obserwowane w przeprowadzonych doświadczeniach, stanowią SLB i jakie mechanizmy mogą leżeć u podstaw tychże zachowań.

5.3.3.1. Zamieranie SHR podczas treningu i testu FC

W przypadku większości badanych etapów FC, SHR wykazywały dłuższy czas zamierania niż szczury Wistar, co obserwowano już w okresie początkowym (przed prezentacją BW) w dniu treningu oraz podczas znalezienia się w samym kontekście FC w dniu testu (Ryc. 4AB). Wyniki te nie pokrywają się z wcześniejszymi doniesieniami, które wskazują na „ubytki w warunkowaniu strachu” w postaci niższego poziomu zamierania w porównaniu ze szczurami normotensyjnymi, takimi jak Wistar (Calzavara i wsp., 2009; Calzavara i wsp., 2011b; Peres i wsp., 2018a; Peres i wsp., 2018b) czy Sprague-Dawley (Ledoux i wsp., 1983) oraz WKY (Ledoux i wsp., 1983). Należy zwrócić uwagę, że w wymienionych wyżej pracach, przy zastosowaniu stada Wistar jako kontroli w FC bodźcem warunkowym był wyłącznie kontekst

klatki, co stanowi istotną różnicę z protokołem użytym w rozprawie. Ponadto odczytany poziom zamierania SHR w kontekście był zbliżony do wartości odnotowanej u SHR zbadanych w ramach niniejszej rozprawy (od 10% do 20%; Ryc. 4B; por. Ryc. 2 w pracy Calzavary i wsp., 2009; Ryc. 1, 2, 3 w pracy Calzavary i wsp., 2011b; Tab. 1. w pracy Peres i wsp., 2018a; Tab. 2. w pracy Peres i wsp., 2018c), zatem opisane przez inny zespół deficyty w warunkowaniu wynikały z wysokiego stopnia zamierania szczurów Wistar. Natomiast Ledoux i wsp. (1983) przeprowadzili trening FC w urządzeniu do tego przystosowanym stosując dźwięk jako BW, ale test FC odbywał się w klatkach bytowych szczurów, co utrudnia odniesienie ich wyników do zachowania SHR opisanych w rozprawie. Niemniej jednak, zachowanie SHR zaobserwowane w ramach rozprawy można uznać za wyraz nieprawidłowości w uczeniu warunkowym.

Zamieranie w okresie początkowym było wyższe we wszystkich grupach SHR niż odpowiednich grupach Wistar. prawdopodobnie wynika z wysokiego poziomu lęku SHR. Nie można wykluczyć, że wysoki stopień zamierania SHR odzwierciedla zaburzenia lękowe powszechnie współtowarzyszące schizofrenii u ludzi (Braga i wsp., 2013; Temmingh i Stein, 2015). W teście FC ekspozycja SHR na kontekst (klatkę, w której przeprowadzono trening) sprawiała, że SHR zamierały dłużej niż szczury Wistar; dodatkowo stopień zamierania nie rósł znacząco po prezentacji BW, jak miało to miejsce w przypadku szczurów Wistar (Ryc. 4CD). Brak wpływu dodania BW do kontekstu na zamieranie SHR może wynikać z wysokiego poziomu lęku SHR przed warunkami doświadczenia. Prawdopodobne jest również wytłumaczenie, że ze względu na deficyty kognitywne, szczury te nie tworzą asocjacji pomiędzy bodźcem bólowym a BW, lecz jedynie z samym kontekstem klatki. Podobnie, u osób ze schizofrenią opisano występowanie trudności z odróżnieniem sygnałów bezpiecznych od tych zwiastujących zagrożenie w różnicowym FC (Tuominen i wsp., 2022). Wyniki te sugerują, że SHR nie potrafią skutecznie ocenić, które bodźce dochodzące z otoczenia są ważne w określonej sytuacji. U ludzi takie nieprawidłowości określa się jako zaburzenie istotności (ang. *aberrant salience*) i przypuszcza się, że wpływa ono na nasilenie objawów wytwórczych oraz ubytkowych schizofrenii (Kapur, 2003; Roiser i wsp., 2009).

Innym możliwym wytłumaczeniem znacznego zamierania SHR oraz ich podatności na stres jest wysoka aktywność układu współczulnego (Judy i wsp., 1976), zwiększona wrażliwość naczyń krwionośnych na noradrenalinę (Smith i wsp., 1984) oraz wyższa reaktywność osi nadnerczowej na różne czynniki stresowe (McCarty, 1983). Czynniki te wywołują pojawienie się u SHR reakcji obronnych, które wyrażają się przez zamieranie (Miki i Yoshimoto, 2010).

U pacjentów ze schizofrenią również odnotowano nadaktywność układu współczulnego (Stogios i wsp., 2021) a także osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (Yeap i Thakore, 2005).

Wobec tego dłuższy czas zamierania SHR w okresie początkowym treningu FC i brak zauważalnego wzrostu zamierania po prezentacji BW prawdopodobnie stanowią SLB.

5.3.3.2. Niska liczba długich USV 22-kHz

Zbadano również emisję USV 22-kHz przez szczury SHR, która nie była wcześniej opisywana w literaturze. Podczas treningu i testu FC niewiele SHR po otrzymaniu szoku elektrycznego emitowało długie USV 22-kHz, przez co ogólna liczba USV tego typu była niższa niż u odpowiednich grup szczurów Wistar. Jednakże, gdy wzięto się pod uwagę wyłącznie wokalizujące osobniki SHR, liczba emitowanych przez nie długich USV 22-kHz była taka sama jak u szczurów Wistar (Tab. 2). Długie USV 22-kHz uważa się za wskaźnik odczuwania lęku przez szczura (Jelen i wsp., 2003). Stwierdzono, że liczba emitowanych awersyjnych USV jest współmierna do dotkliwości bodźców bólowych w FC (Wöhr i wsp., 2005). Na tej podstawie można przypuszczać, że nie udało się skutecznie uwarunkować SHR podczas FC, jednak zwiększony stopień zamierania tych szczurów temu przeczy. Należy więc poszukiwać innych przyczyn zaledwie sporadycznej emisji długich USV 22-kHz przez SHR. USV 22-kHz pojawiają się, gdy szczury przestają odczuwać bezpośrednie zagrożenie (Kim i wsp., 2010), np. po ucieczce do kryjówki (Litvin i wsp., 2007). Biały i wsp. (2016; 2017; 2019) postulują, że w przypadku zachowań rozrodczych USV 22-kHz są emitowane w celu rozładowania napięcia emocjonalnego. Wobec tego, SHR prawdopodobnie nie emitują USV, ponieważ nie dochodzi u nich do osłabienia/wygaszenia/redukcji stresu wynikającego z otrzymania szoków elektrycznych. Świadczyłoby to o pozostawaniu w stanie ciągłej gotowości na skutek doświadczania wyłącznie kontekstu FC. Byłoby to kolejną przesłanką za tym, że SHR nie asocjują BW z szokiem elektrycznym.

Niewykluczone, że zachowanie SHR jest odpowiednikiem nadmiernej czujności na zagrożenie, obserwowanej u osób ze schizofrenią (Mar i wsp., 1996; Dugré i wsp., 2019). Znikomą liczbę USV podczas FC można także interpretować jako odpowiednik innych objawów ubytkowych w schizofrenii, takich jak mowa zubożona (Miller i wsp., 1993) czy niezdolność do wyrażania emocji (Trémeau, 2006). Wobec tego niską emisję długich USV 22-kHz przez SHR w trakcie FC należy uznać za nowe, nieopisane wcześniej zachowanie, będące SLB.

5.3.3.3. Wysoka liczba krótkich USV 22-kHz

SHR emitowały z kolei więcej krótkich USV 22-kHz niż szczury Wistar zarówno podczas FC (Ryc. 4F, Tab. 4), jak i playbacku (Tab. 6, Ryc. 17, Tab. S15a). Wynik ten jest trudny do interpretacji, ponieważ znaczenie biologiczne tych USV nie zostało dotąd wyjaśnione (Brudzynski i wsp., 1993). Istnieją przesłanki sugerujące, że krótkie USV 22-kHz pojawiają się w odpowiedzi na umiarkowany stres związany z badaniem nowego otoczenia (Brudzynski i wsp., 1993; Robakiewicz i wsp., 2019). W takim wypadku wysoka liczba tych USV jest kolejnym dowodem na wysoką lękliwość SHR, co odpowiada objawom schizofrenii (Lysaker i Salyers, 2007).

Warto zauważyć, że krótkie USV 22-kHz emitowane przez SHR i szczury Wistar nie przypominały typowych awersyjnych USV w obrazie spektrograficznym (por. Ryc. 1B w Olszyński i wsp., 2023a). Nie można wykluczyć, że krótkie USV 22-kHz nie pełnią żadnej funkcji społecznej i pojawiają się mimowolnie, np. podczas ruchu.

Narihara i wsp. (2022), badając USV samców Sprague-Dawley w modelu schizofrenii indukowanej poporodowo, obserwowali dużą liczbę niskich, niemodulowanych USV o charakterystyce krótkich USV 22-kHz (10-24 kHz, 6-23 ms), emitowanych w sytuacji braku wyraźnych dodatkowych bodźców zewnętrznych. W chwili wprowadzenia do klatki samicy, emisja tych dźwięków obniżała się i stawała się porównywalna z grupą kontrolną. Autorzy przypuszczają, że zachowanie to jest odpowiednikiem mamrotania/mówienia do siebie (solilokwii), obecnego u pacjentów ze schizofrenią (Rutter, 1985; Higgins i Stitzer, 1989; Kobayashi i Kato, 2000). Podawanie rysperydonu (leku o działaniu przeciwpsychotycznym drugiej generacji) zniwelowało różnice w emisji tych USV między szczurami będącymi modelem schizofrenii a grupą kontrolną, jednocześnie zwiększając zainteresowanie samców samicami (Narihara i wsp., 2022). Na podstawie częstości defekacji autorzy sugerują, że emisja tych USV była niezależna od poziomu lękliwości szczurów. Podobnie, w doświadczeniach opisywanych w niniejszej rozprawie, emisja krótkich USV 22-kHz, była wyższa u SHR niż Wistar w ciągu pierwszych 10 min ciszy sesji playbackowej, niezależnie od stopnia warunkowania, lecz po odtwarzaniu USV z głośnika obniżała się i stawała porównywalna (Tab. 5). Obserwacja ta zgodna jest z przypuszczeniem, że te USV są odpowiednikiem obecnej w schizofrenii solilokwii. Jednakże podawanie haloperidolu, opisane w tej rozprawie, w przeciwieństwie do rysperydonu, nie wywołało istotnego obniżenia liczby krótkich USV 22-kHz, co można tłumaczyć dwojako: po pierwsze, haloperidol, w przeciwieństwie do rysperydonu, należy do leków o działaniu przeciwpsychotycznym pierwszej generacji, może

mieć więc inny zakres działania w układzie nerwowym; po drugie, w badaniu efektu haloperidolu nie zastosowano bezwzględnej grupy kontrolnej (szczurów „zdrowych”), jak to miało miejsce w badaniu Narihary i wsp. (2022). Wysoka emisja krótkich USV 22-kHz przez SHR – w porównaniu ze szczurami Wistar – prawdopodobnie należy do SLB, lecz z powodu niejasnej funkcji tych USV interpretację tę należy traktować ostrożnie.

5.3.3.4. Aktywność lokomotoryczna SHR podczas playbacku

Badane w rozprawie SHR cechowały się wysoką aktywnością lokomotoryczną (Tab. S5 w pracy Olszyńskiego i wsp., 2023a), co jest zgodne z wcześniejszymi doniesieniami (Van Den Buuse, 1994; Hsieh i Yang, 2008). Aktywność lokomotoryczna SHR była wyższa niż szczurów Wistar podczas sesji playbacku, szczególnie w ciągu pierwszych 10 min przed prezentacją sygnałów z głośnika (Ryc. S2AEIM w pracy Olszyńskiego i wsp., 2023a). Playback USV wpływał na aktywność lokomotoryczną szczurów: odtwarzanie USV 50-kHz wywoływało nagły wzrost aktywności lokomotorycznej, natomiast USV 22-kHz skutkowało ograniczeniem aktywności lokomotorycznej po zakończeniu sygnałów. Jednakże w obu przypadkach zmiana w drodze przebytej przez SHR była mniejsza niż u szczurów Wistar (Ryc. 15-16AB, Tab. S5-S6).

Zachowanie SHR można interpretować jako mniejsze zainteresowanie bodźcami o charakterze społecznym, co potwierdzają obserwacje innych badaczy (Calzavara i wsp., 2011b; Almeida i wsp., 2014; Robinson i Bucci, 2014; Diana i wsp., 2018). Uważa się, że rzadkie nawiązywanie kontaktu z innymi osobnikami przez SHR jest odzwierciedleniem objawów zarówno ADHD (Gauthier i wsp., 2015; Robinson i wsp., 2021), jak i schizofrenii (Sams-Dodd, 1998; Peres i wsp., 2018b). Unikanie kontaktu społecznego jest powszechną cechą chorych na schizofrenię, pojawiającą się pierwotnie lub nabywaną w efekcie negatywnej reakcji społeczeństwa na schizofrenię (Goldberg i Schmidt, 2001; Jetha i wsp., 2007; Jetha i wsp., 2013).

Mniejsza aktywność lokomotoryczna w odpowiedzi na playback u SHR prawdopodobnie wynika z niskiego zainteresowania sygnałami i nieprawidłowej interpretacji słyszanych USV. Można przypuszczać zatem, że u SHR występują SLB przypominające zaburzenia oceny istotności bodźców o znaczeniu społecznym pojawiających się u osób chorych na schizofrenię (Forcina i wsp., 2020).

5.3.3.5. Niska liczba USV u SHR podczas playbacku

Najbardziej uderzającą różnicą w zachowaniu SHR, w porównaniu ze szczurami Wistar, była niska liczba USV emitowanych w odpowiedzi na playback przez szczury, które otrzymały

bodźce bólowe podczas FC. Mediany liczby USV grup kontrolnych SHR były także niższe od wyników odpowiadających im grup szczurów Wistar, aczkolwiek jedynie sporadycznie różnice te były znamienne. Efekt szczepu/stada był widoczny zarówno w przypadku odtwarzania USV 50-kHz, jak i 22-kHz (Ryc. 18AB-19AB, Tab. S16cd).

Charakterystyka komunikacji ultradźwiękowej SHR nie została dotąd opublikowana, co uniemożliwia dokładne porównanie uzyskanych wyników z istniejącą wiedzą. Naciski tętnicze prowadzi z wiekiem do postępującego uszkodzenia słuchu u tych szczurów (McCormick i wsp., 1982; Lippincott i Rarey, 1997). Istnieje w takim wypadku ryzyko, że SHR nie słyszą wyraźnie odtwarzanych USV, co wpływa negatywnie na ich odpowiedź na playback. Jednakże, zwierzęta użyte do badań były zbyt młode (w wieku 3 miesięcy w dniu playbacku), aby pojawiły się u nich zauważalne ubytki słuchu, które odnotowano dopiero u SHR w wieku 20 miesięcy (Kappelmann i wsp., 1987). Dodatkowo wyniki doświadczenia z podawaniem haloperidolu (omówione w następnej sekcji, Rozdz. 5.4) wskazują na to, że SHR poprawnie słyszą sygnały ultradźwiękowe. Można więc przypuszczać, że SHR emitują nieliczne USV z powodu zaburzeń w zachowaniach społecznych i komunikacji międzyosobniczej.

USV 50-kHz emitowane przez SHR cechowały się także niższą częstotliwością niż te pochodzące od szczurów Wistar (Ryc. 18D-19D, Tab. S16cd). Saito i wsp. (2019) wykazali, że częstotliwość USV jest kluczową zmienną wpływającą na percepcję tych dźwięków przez inne osobniki. Jednocześnie właściwości dźwięków emitowanych przez szczury są zależne od cech anatomicznych krtani (Riede, 2013). Wykazano, że na skutek nacisnienia tętniczego dochodzi do uszkodzenia zmielinizowanych neuronów ruchowych, kontrolujących napięcie mięśni głosowych (da Silva i wsp., 2016). W efekcie dochodzi do zmniejszenia złożoności i zakresu częstotliwości USV emitowanych przez zwierzęta (Basken i wsp., 2012). Na podstawie doświadczeń przeprowadzonych w ramach tej rozprawy nie da się jednoznacznie ocenić, czy właściwości USV emitowanych przez SHR wynikają z przyczyn o podłożu emocjonalnym czy patofizjologicznym, a zatem nie ma podstaw, by stwierdzić, że niższa częstotliwość USV stanowi SLB.

Mniejsza liczba USV u SHR w odpowiedzi na playback może być interpretowana wielorako. Po pierwsze, jako odpowiednik wycofania społecznego, obecnego także u chorych na schizofrenię (Hansen i wsp., 2009; de la Asuncion i wsp., 2015); taką interpretację potwierdzałaby mniejsza zmiana w aktywności lokomotorycznej SHR w odpowiedzi na odtworzenie USV 50-kHz. Po drugie, jako zachowanie analogiczne do mowy zubożonej, należącej do objawów ubytkowych schizofrenii (Miller i wsp., 1993); aby to potwierdzić,

w przyszłości należałoby przeprowadzić analizę różnorodności klas USV emitowanych przez SHR. Po trzecie, jako nieinterpretowanie przez SHR usłyszanych USV 50-kHz jako sygnałów prospołecznych; w takim przypadku zachowanie to należałoby uznać za odpowiednik zaburzenia oceny istotności bodźców, obecnego w schizofrenii (Kapur, 2003; Roiser i wsp., 2009). Zaburzenia istotności u SHR zostaną omówione szerzej w Rozdz. 5.4, poświęconym omówieniu doświadczenia, w którym szczurom podawano haloperidol.

5.3.4. Podsumowanie

Zgodnie z przyjętą hipotezą odpowiedź behawioralna SHR na playback była odmienna od tej obserwowanej u szczurów Wistar. Przeprowadzone doświadczenia potwierdziły występowanie znanych oraz ujawniły nowe SLB, obecne w szczepie SHR. Prawdopodobnie szczury te wykazywały uogólniony lęk podczas treningu i testu FC, a także upośledzoną zdolność asocjacji BW z szokiem elektrycznym. Zbadanie zachowania SHR podczas playbacku dostarczyło nowych informacji na temat deficytów w behawiorze społecznym szczurów tego szczepu. Analiza USV emitowanych przez SHR ujawniła występowanie nieopisanych dotychczas SLB związanych z komunikacją społeczną.

5.4. Wpływ podawania haloperidolu na zachowanie SHR

W poprzedniej sekcji dyskusji stwierdzono, że cechy odpowiedzi ultradźwiękowej SHR na playback USV spełniają kryteria SLB. Analiza zachowania szczurów dostarczyła informacji tylko na temat trafności fasadowej szczepu SHR jako modelu schizofrenii. W kolejnym podrozdziale zostaną omówione wyniki doświadczeń sprawdzających trafność prognostyczną modelu na podstawie zmian w behawiorze następujących po otrzymaniu przez SHR leku o działaniu przeciwpyschotycznym – haloperidolu. Rezultaty zostaną także przedyskutowane pod kątem etiologicznych podstaw nieprawidłowości pojawiających się w schizofrenii – trafności teoretycznej. Umożliwi to zweryfikowanie hipotezy drugiej, według której podawanie haloperidolu przywraca odpowiedź ultradźwiękową SHR na playback.

5.4.1. Wpływ podawania haloperidolu na emisję USV przez SHR

W doświadczeniu odtwarzania sygnałów z głośnika stwierdzono większą częstość wokalizowania u szczurów SHR otrzymujących haloperidol niż u zwierząt kontrolnych (Ryc. 19A). Co więcej, większa liczba USV nie była zjawiskiem uogólnionym, a występującym specyficznie po odtworzeniu z głośnika USV 50-kHz. Wyjaśnienie tego wyniku umożliwia analiza transmisji synaptycznej z udziałem dopaminy, którą haloperidol hamuje.

U szczurów słyszane USV różnych typów są przetwarzane przez odmienne obszary mózgu. Odtworzenie USV 50-kHz powoduje aktywację kory czołowej i jądra półleżącego (Sadananda i wsp., 2008). Kora czołowa jest również strukturą kluczową dla emisji USV 50-kHz wywoływanej podawaniem amfetaminy, która jest agonistą receptorów dopaminergicznych pobudzających neurony (Costa i wsp., 2020). Z kolei w jądrze półleżącym wyrzut dopaminy następuje podczas ekspozycji na USV 50-kHz (Willuhn i wsp., 2014). U SHR opisano liczne zmiany w przekąźnictwie dopaminergicznym w mózgu. W korze czołowej i grzbiecie hipokampa SHR, w porównaniu ze szczurami Wistar, stwierdzono występowanie wyższej liczby neuronów zawierających hydroksylazę tyrozynową – enzym przekształcający L-tyrozinę w dopaminę – i w konsekwencji wyższe stężenie dopaminy (Leão i wsp., 2021). Natomiast w jądrze półleżącym u SHR stwierdzono podwyższoną czułość receptorów D₂ na niskie stężenia endogennej dopaminy (Russell i wsp., 1995). Dodatkowo w całym prążkowie (którego część stanowi jądro półleżące), obserwuje się u SHR zwiększoną ekspresję genów kodujących ten receptor (Madhyastha i wsp., 2024). Obserwacje te wskazują na nasilenie transmisji dopaminergicznej w mózgu SHR. Podobne zjawisko odnotowano u osób cierpiących na schizofrenię (Kapur i Remington, 1996; Howes i wsp., 2009; Kegeles i wsp., 2010), co potwierdza trafność teoretyczną SHR jako zwierzęcego modelu tej choroby.

Niewykluczone, że nadmierna transmisja dopaminergiczna powoduje, iż odtworzenie USV 50-kHz, które zwykle u szczurów powoduje uwolnienie dopaminy, w przypadku SHR nie jest w stanie efektywnie nasilić tej wyjściowo zwiększonej transmisji. Można więc przypuszczać, że wyregulowanie (osłabienie) pobudzenia dopaminergicznego przez podanie haloperidolu, antagonisty receptorów D₂, na tyle obniża wyjściowy poziom dopaminy w mózgu, że możliwy jest wzrost jej wydzielania w odpowiedzi na odtworzenie USV 50-kHz. W efekcie USV 50-kHz, które dla SHR prawdopodobnie nie mają przekazu apetytywnego, nabywają takie znaczenie. Innymi słowy, dzięki podaniu haloperidolu zostaje przywrócona istotność bodźca pochodzącego z zewnątrz. Co ważne, schizofrenię u ludzi definiuje się między innymi właśnie jako zaburzenie oceny istotności doświadczanych bodźców (Winton-Brown i wsp., 2014), które powiązано z nadmierną transmisją dopaminergiczną z udziałem receptorów D₂ w prążkowie (Howes i wsp., 2009; Kegeles i wsp., 2010; Howes i Onwordi, 2023).

Większa liczba emitowanych USV 50-kHz przez SHR przyjmujące haloperidol w odpowiedzi na specyficzny bodziec (USV 50-kHz) jest kolejnym argumentem przemawiającym za użytecznością stosowania tych zwierząt jako modelu schizofrenii i testowania na nich działania nowych leków o działaniu przeciwpsychotycznym.

5.4.2. Wpływ podawania haloperidolu na aktywność lokomotoryczną SHR w OF

Podawanie haloperidolu wywołało obniżenie aktywności lokomotorycznej SHR w OF (Ryc. 21A), lecz nie w innych testach, gdzie mierzono dystans przebyty przez zwierzęta (playback USV, Ryc. 20A-B; NOR, niepokazane).

SHR cechuje wysoka aktywność lokomotoryczna (Hsieh i Yang, 2008), która prawdopodobnie wynika z wysokiej aktywności układu współczulnego (Zubcevic i wsp., 2018). W układzie współczulnym występują pobudzające, adrenergiczne receptory α_1 (Palaia i wsp., 2018), które są niespecyficycznie blokowane przez haloperidol (Morimoto i wsp., 2002; Cahir i wsp., 2004). Możliwe, że niższa aktywność lokomotoryczna SHR otrzymujących haloperidol, obserwowana w OF, jest efektem obniżenia pobudzenia układu współczulnego. Układ współczulny reguluje reakcję „uciekaj albo walcz” (Jansen i wsp., 1995), która może pojawiać się w odpowiedzi na znalezienie się w nieznanym otoczeniu (Grossman, 1972). Zatem, wyższa aktywność lokomotoryczna grupy kontrolnej SHR podczas pierwszego kontaktu z OF przypuszczalnie wynika z chęci ucieczki z areny. Według teorii poliwalnej Porgesa, dominacja układu współczulnego hamuje zmielinizowaną część układu przywspółczulnego i związane z jej aktywnością zachowania prospołeczne i eksploracyjne (Porges, 2001; Porges, 2010). U SHR otrzymujących haloperidol mogło dojść do zmiany równowagi w układzie autonomicznym na korzyść układu przywspółczulnego, czego wynikiem była mniejsza niż w grupie HALO0 aktywność lokomotoryczna w OF. Natomiast brak różnic w aktywności lokomotorycznej grup podczas odtwarzania sygnałów z głośnika i NOR, może wynikać z przyzwyczajania się szczurów do warunków doświadczalnych: sesje playbackowe były poprzedzone okresem habituacji, a NOR – przeprowadzany w tej samej arenie co OF, którą szczur poznał dzień wcześniej. Przyzwyczajenie prawdopodobnie spowodowało obniżenie pobudzenia współczulnego u zwierząt we wszystkich grupach (Knardahl i Sagvolden, 1979; Grissom i Bhatnagar, 2009).

Wydaje się, że wyjściowo wysokie pobudzenie układu współczulnego u SHR wywołuje reakcję typu „uciekaj albo walcz”, która powoduje wysoką aktywność lokomotoryczną w OF grupy HALO0. Natomiast w grupach przyjmujących haloperidol przypuszczalnie doszło do osłabienia współczulnej transmisji adrenergicznej przez blokowanie receptorów α_1 . Dlatego też podawanie haloperidolu doprowadziło do pojawienia się zachowań eksploracyjnych, zależnych od układu przywspółczulnego. Interpretację tę należy w przyszłości zweryfikować za pomocą badań biochemicznych.

5.4.3. Wpływ podawania haloperidolu na lękliwość SHR w OF

U SHR stwierdzono większą liczbę emitowanych krótkich USV 22-kHz w okresie początkowym przed FC oraz wysokie zamieranie w teście kontekstu warunkowania (Rozdz. 4.2, Ryc. 4), co można uznawać za objaw lęku. Test OF również stosuje się w celu badania lęku zwierząt (Prut i Belzung, 2003). Zaburzenia lękowe często współwystępują ze schizofrenią (Braga i wsp., 2013; Temmingh i Stein, 2015). W OF opisano zachowania SHR, które świadczyły o odczuwaniu lęku przez szczury oraz o potencjalnym przeciwlękowym działaniu haloperidolu, gdy był podawany wraz z agonistą receptorów serotoninerгіcznych (Wesołowska i wsp., 2021). Opisane w rozprawie zwierzęta otrzymujące haloperidol były mniej aktywne lokomotorycznie, wykonywały mniej stójk i później oddawały mocz (wyższa latencja do mikcji) niż szczury z grupy kontrolnej.

W celu oceny poziomu lęku zwierzęcia w OF bada się zachowania takie jak: aktywność lokomotoryczna, czas przebywania w centrum/brzegach areny, liczbę wykonywanych stójk, liczbę epizodów mikcji i defekacji (Prut i Belzung, 2003; Gould i wsp., 2009; Seibenhener i Wooten, 2015; Harro, 2018). W trakcie OF u wszystkich grup szczurów przyjmujących haloperidol odnotowano niższe wartości całkowitej aktywności lokomotorycznej niż w grupie kontrolnej (Ryc. 21A). Taką obserwację często interpretuje się jako lęk zwierzęcia przed eksploracją nowego otoczenia (Kraeuter i wsp., 2019). Jednakże należy zachować ostrożność w interpretacji aktywności lokomotorycznej zwierząt, ponieważ może ona wynikać z wielu czynników zarówno wewnętrznych, jak i zewnętrznych (Kelley, 1993). SHR jako szczurzy model ADHD cechuje wysoka aktywność lokomotoryczna nawet w awersyjnym otoczeniu (Mormède i wsp., 2002). U SHR obserwowano podwyższoną aktywność lokomotoryczną w OF – w porównaniu ze szczurami WKY (Knardahl i Sagvolden, 1979; Gentsch i wsp., 1987) i Wistar (Khorevin i wsp., 2004), lecz niektórzy badacze opisali wynik przeciwny – mniejszą aktywność lokomotoryczną SHR w OF niż szczurów Wistar i Sprague-Dawley (Sagvolden i wsp., 1993). Ponadto przypuszcza się, że początkowa wysoka aktywność lokomotoryczna SHR wynika z silniejszej od lęku impulsywności tych zwierząt (Tchekalarova i wsp., 2023). Zatem, w przypadku SHR sam pomiar aktywności lokomotorycznej w OF nie jest wystarczający, by ocenić ich lękliwość i należy zbadać także inne zachowania towarzyszące aktywności lokomotorycznej. Można przypuszczać, że niższa aktywność lokomotoryczna w OF wraz z mniejszą liczbą stójk szczurów otrzymujących haloperidol wskazuje na celową eksplorację areny OF, podczas gdy wysoka aktywność lokomotoryczna grupy HALO0 i liczne stójki wynikają z ich nadaktywności ruchowej, obecności zachowań stereotypowych lub chęci

ucieczki z areny, a nie z mniejszej lęklivosti. Określenie, czy przyczyną danego zachowania jest nadmierna aktywność lokomotoryczna, czy obniżona lęklivość SHR, sprawia problemy również innym grupom badawczym (Tchekalarova i wsp., 2023).

Ponadto u wszystkich szczurów otrzymujących haloperidol zaobserwowano niższą liczbę stójek (Ryc. 21C). Według Prut i Belzung (2003) wysoka liczba stójek jest oznaką niskiej lęklivosti zwierząt. Jednakże inni zaobserwowali więcej stójek w OF z dodatkiem kryjówki, jeśli szczurom uniemożliwiono możliwość ucieczki do nory. Taką sytuację uznano za wywołującą lęk u zwierzęcia (Genaro i Schmidek, 2000). Wy tłumaczeniem rozbieżnych obserwacji jest spostrzeżenie, że stójki wykonywane na środku OF są zachowaniem eksploracyjnym niewynikającym z lęku (Sturman i wsp., 2018), natomiast stójki podparte przy ściankach OF są poszukiwaniem drogi ucieczki (Kuniishi i wsp., 2017). Dlatego większa liczba stójek w grupie HALO0 przypuszczalnie wskazuje na wyższy lęk zwierząt. Natomiast niższa liczba stójek u szczurów otrzymujących haloperidol sugeruje obniżenie poziomu lęku, a także wpływ leku na wzmocnienie aktywności eksploracyjnej. Alternatywnym wytłumaczeniem tego zjawiska jest to, że stójki są odpowiednikami zachowań stereotypowych w schizofrenii, które zanikają w wyniku podania leku o działaniu przeciwpsychotycznym (Peres i wsp., 2018b). W celu potwierdzenia tych przypuszczeń, w przyszłości należałoby także dokładniej mierzyć okoliczności i miejsce, w jakich odbywają się stójki, a także zbadać występowanie innych zachowań stereotypowych u SHR.

Szczury nieotrzymujące haloperidolu także wcześniej oddawały mocz po włożeniu do OF niż grupa HALO1 i obie grupy przyjmujące haloperidol analizowane razem (Ryc. 21E). Częstość mikcji w nowym otoczeniu została zaproponowana jako miara emocjonalności zwierząt (Hall, 1934). Niska latencja do mikcji w grupie HALO0 jest najprawdopodobniej reakcją lękową w odpowiedzi na znalezienie się w nieznanym miejscu. Późniejsze oddawanie moczu w OF przez szczury otrzymujące haloperidol prawdopodobnie wynika z niższej lęklivosti w nowym otoczeniu.

Na podstawie obserwacji zachowania SHR w OF można przypuszczać, że podawanie haloperidolu obniżyło lęklivość szczurów. Argumentem opowiadającym za taką interpretacją jest potwierdzone działanie przeciwlękowe tego leku u ludzi (Blin i wsp., 1996). Ocena lęklivosti zwierząt wymaga złożonej analizy behawioru, którą w przyszłości należy uzupełnić o pomiar np. stężenia hormonów stresu we krwi szczurów.

5.4.4. Podsumowanie

Zgodnie z przewidywaniami podawanie haloperidolu zwiększyło u SHR odpowiedź ultradźwiękową na playback USV, specyficznie po odtwarzaniu 50-kHz USV. Niska liczba USV emitowanych przez szczury kontrolne i zbadane w poprzednim doświadczeniu (Rozdz. 5.3) przypuszczalnie wynikała z nadmiernej transmisji dopaminergicznej w mózgu. Lek, blokując receptory D₂, najprawdopodobniej uregulował przekąźnictwo nerwowe w prążkowie. Skutkowało to zmianą w sposobie percepcji i interpretacji USV 50-kHz przez SHR: sygnały uzyskiwały znaczenie społeczne dla szczurów. Niewykluczone, że zachowanie SHR odpowiadało zaburzeniom oceny istotności bodźców, obecnym u chorych na schizofrenię i wynikającym z nadmiernej transmisji z udziałem dopaminy. W takim przypadku charakter odpowiedzi na playback przez SHR spełnia kryteria trafności fasadowej i predykcyjnej modelu schizofrenii. W przyszłości należy sprawdzić, czy występuje korelacja pomiędzy wzrostem stężenia dopaminy w prążkowie SHR a liczbą emitowanych USV w odpowiedzi na playback.

Otrzymane wyniki wskazują, że badanie odpowiedzi szczurów na playback USV jest efektywną metodą sprawdzania skuteczności działania haloperidolu w znoszeniu SLB u SHR. W przyszłości należy sprawdzić, czy inne leki o działaniu przeciwpsychotycznym, np. leki drugiej generacji, takie jak klozapina, olanzapina czy rysperydon, które były stosowane w innych doświadczeniach (Calzavara i wsp., 2009; Calzavara i wsp., 2011a; Levin i wsp., 2011), będą miały podobny wpływ na USV szczurów. Wartościowe byłoby także zbadanie, jak haloperidol i inne leki o działaniu przeciwpsychotycznym oddziałują na USV emitowane przez SHR podczas treningu i testu FC a także w sesji playbacku po warunkowaniu.

5.5. Zastosowanie playbacku USV u SHR w badaniu SLB i poszukiwaniu nowych leków o działaniu przeciwpsychotycznym w porównaniu z innymi testami behawioralnymi

Ponieważ podłoże schizofrenii jest wieloczynnikowe (Andreasen, 1999; Dean i wsp., 2003; Pickard, 2011), a zwierzęce modele tej choroby odwzorowują jej etiologię z różną dokładnością (Moghaddam i Jackson, 2003; Jones i wsp., 2011), nie istnieje uniwersalny test, który w pełni sprawdzałby trafność modeli oraz pozwalał potwierdzić skuteczność terapeutyczną nowych strategii farmakologicznych (Ellenbroek i Cools, 2000; Ang i wsp., 2021). Dlatego wymagane jest przeprowadzanie zróżnicowanych doświadczeń behawioralnych w celu wykrycia terapeutycznego działania substancji (Ang i wsp., 2021). Efekty podawania haloperidolu na zachowanie SHR w odpowiedzi na odtwarzane USV wskazują na potencjał zastosowania

playbacku zarówno w badaniu szczurzych modeli schizofrenii, jak i w ocenie skuteczności leków o działaniu przeciwpsychotycznym, testowanych w tych modelach. Z tego powodu należy porównać playback USV z innymi testami behawioralnymi, stosowanymi w badaniu SLB.

5.5.1. Test zaburzeń w komunikacji społecznej

Chociaż zaburzenia mowy są w przebiegu schizofrenii powszechne, niektórzy postulują, że niemożliwe jest ich odzwierciedlenie w modelach zwierzęcych tej choroby (Ellenbroek i Cools, 2000; Ang i wsp., 2021). Ang i wsp. (2021), zamiast badać je bezpośrednio, proponuje w zamian ogólne badanie występowania odpowiedników objawów deficytowych za pomocą testu uniesionego labiryntu krzyżowego (ang. *elevated plus maze*, EPM) i testu preferencji sacharozy (ang. *sucrose preference test*). Takie podejście nie pozwala bezpośrednio ocenić występowania SLB przypominających zaburzenia komunikacji sygnałami akustycznymi, ani skuteczności leków wpływających na ten objaw. Dlatego też analiza odpowiedzi szczurów na playback USV uzupełnia istotną lukę w dostępnych metodach badania schizofrenii. Jednakże, ponieważ alogia u ludzi przejawia się w ograniczonym zasobie słownictwa, w przyszłości należy ocenić zróżnicowanie klas USV emitowanych przez szczury w odpowiedzi na odtwarzane USV.

5.5.2. Testy wycofania społecznego

Wycofanie społeczne w zwierzęcych modelach schizofrenii bada się za pomocą testu SI (Wilson i Koenig, 2014) lub testu trójkomorowego (ang. *three-chamber test*; Kaidanovich-Beilin i wsp., 2011). W testach tych wykazano korzystny efekt podania leków o działaniu przeciwpsychotycznym drugiej generacji w postaci dłuższego czasu spędzonego przez zwierzęta na interakcji z innymi osobnikami (Becker i Grecksch, 2004; Kaidanovich-Beilin i wsp., 2011), także u SHR (Calzavara i wsp., 2011a). Efekt osłabienia objawów deficytowych jest obserwowany znacznie częściej w terapii lekami drugiej generacji niż pierwszej (Miyamoto i Nitta, 2014; Barnes i wsp., 2017). Prawdopodobnie właśnie dlatego w niniejszej rozprawie nie obserwowano efektu haloperidolu (leku pierwszej generacji) w teście SI, co zgodne jest z wynikami innych badaczy (Calzavara i wsp., 2011a). Jednakże prospołeczny efekt podawania haloperidolu obserwowany był w playbacku: szczury przyjmujące lek wokalizowały więcej w odpowiedzi na prospołeczne USV 50-kHz niż szczury nieprzyjmujące go. Możliwe więc, że playback USV uwydatnia efekty podawania leków o działaniu przeciwpsychotycznym na SLB związane z wycofaniem społecznym, które są trudne do uchwycenia w teście SI.

5.5.3. Test zaburzeń oceny znaczenia bodźców

Obecne w schizofrenii zaburzenia zdolności do bramkowania sensomotorycznego (tj. automatycznego procesowania informacji), które umożliwia osłabienie znaczenia nieistotnych bodźców na podstawie przesłanek z otoczenia, bada się za pomocą testu zjawiska PPI (Swerdlow i wsp., 2008b). Test ten, zarówno u ludzi, jak i zwierząt pozwala na ocenę, w jakim stopniu reakcja wzdrgnięcia na bodziec (sygnał, najczęściej dźwięk) zostaje obniżona przez wcześniejsze podanie słabszego przed-sygnału tego samego rodzaju (Baranowska i Wiśniewska, 2017). Wynik testu u ludzi pozostaje stabilny fenotypowo przy powtórnych testowaniu (Cadenhead i wsp., 1999; Flaten, 2002; Ludewig i wsp., 2002), nawet przez rok (Light i wsp., 2007). Deficyty w PPI u osób ze schizofrenią są dokładnie odzwierciedlone w zwierzęcych modelach choroby (Geyer i wsp., 2002; Ang i wsp., 2021), zarówno na polu objawów, jak i patomechanizmu (Braff i Geyer, 1990; Braff i wsp., 2001; Tapias-Espinosa i wsp., 2019). Co więcej, leki o działaniu przeciwpsychotycznym zwiększają PPI zarówno u chorych na schizofrenię, jak i w zwierzęcych modelach tej choroby (Kumari i Sharma, 2002; Powell i Miyakawa, 2006).

Mimo wielu zalet testu PPI w badaniach nad schizofrenią, posiada on także ograniczenia. Istnieje znaczna zmienność w poziomie PPI zarówno u osób zdrowych, jak i ze schizofrenią (Braff i wsp., 2001); w efekcie brak jest wartości referencyjnych wskazujących normę (Swerdlow i wsp., 2008b). Zjawisko niskiego PPI obecnego u osób chorych na schizofrenię nie jest tożsame z głównymi objawami tej choroby (Swerdlow i wsp., 2008b). Nie potwierdzono również korzyści związanych z niską lub wysoką wartością PPI. Co więcej, wynik testu PPI nie jest wskaźnikiem pozwalającym przewidzieć występowania innych objawów schizofrenii ani skuteczności terapii farmakologicznej w ich zwalczaniu (Swerdlow i wsp., 2008b). PPI podwyższane jest także przez nikotynę, która nie ma udowodnionego działania przeciwpsychotycznego (Kumari i wsp., 2001; Swerdlow i wsp., 2006a). U szczurów zauważono, że zmieniając długość interwału pomiędzy przed-sygnałem a sygnałem uzyskuje się zmienne odczyty deficytu PPI w tych samych grupach zwierząt PPI (Swerdlow i wsp., 2006b; Swerdlow i wsp., 2008a). Dlatego też, mimo powszechnego stosowania testu PPI, nie posiada on wartości diagnostycznej.

Playback USV pozwolił zbadać u SHR wpływ leku o działaniu przeciwpsychotycznym na zjawisko oceny istotności bodźców o biologicznie funkcjonalnym znaczeniu. Nie udowodniono dotąd, by poziom PPI miał wartość przystosowawczą w funkcjonowaniu osobnika, sam zaś test

PPI uważa się za procedurę awersyjną dla zwierząt (Valsamis i Schmid, 2011), co sprawia, że playback USV stanowi bardziej akceptowalną alternatywę. PPI prawdopodobnie pozostanie metodą służącą do wstępnego badania zwierzęcych modeli schizofrenii i testowania potencjalnych leków, ponieważ literatura dotycząca poziomu PPI w schizofrenii jest obszerna i potencjalne substancje o działaniu przeciwpsychotycznym często wpływają także na poziom PPI. Jest natomiast prawdopodobne, że playback USV umożliwi analizę bardziej złożonych mechanizmów oceny istotności bodźców, które nie są możliwe do zbadania za pomocą testu PPI.

5.5.4. Testy niskiego afektu i anhedonii

U osób chorych na schizofrenię występuje obniżenie afektu, które bada się w teście rozpoznawania emocji wyrazu twarzy; pacjenci mają trudności w określeniu emocji obecnych na twarzach innych ludzi przedstawianych na fotografiach (Morrison i wsp., 1988). Chorzy zgłaszają także w kwestionariuszach niską zdolność do odczuwania przyjemności z doznań związanych z interakcją społeczną (Blanchard i wsp., 1994; Ritsner i wsp., 2018). Testy interpretacji mimiki oraz kwestionariusze nie posiadają bezpośredniego odpowiednika stosownego w badaniach zwierzęcych modeli schizofrenii (Ang i wsp., 2021).

Dlatego też, w celu określenia poziomu afektu u zwierząt stosuje się uniesiony test EPM (O'Tuathaigh i wsp., 2010), pierwotnie zaproponowany jako test poziomu lęku zwierzęcia (Pellow i wsp., 1985). Zwiększoną lęklivość w EPM interpretuje się jako zjawisko współwystępujące z osłabieniem reakcji emocjonalnych (Ang i wsp., 2021). Inną metodą pomiaru afektu jest test wymuszonego pływania (ang. *forced swim test*, O'Tuathaigh i wsp., 2010), w którym szybsze zaniechanie pływania przez zwierzę ma odzwierciedlać apatię (Chatterjee i wsp., 2011; Shin i wsp., 2011). Z kolei w teście preferencji sacharozy za wskaźnik anhedonii uznaje się niskie spożycie słodkiej wody w porównaniu do wody bez sacharozy (Ang i wsp., 2021).

Wyraźną wadą EMP i testu wymuszonego pływania jest fakt, że pomiar afektu jest pośredni. Oba testy nie dostarczają bezpośredniej informacji na temat stanu emocjonalnego zwierzęcia, ani jego reakcji na sygnały o znaczeniu emocjonalnym. Natomiast analiza preferencji sacharozy umożliwia ocenę zdolności czerpania chwilowej przyjemności z bodźców fizycznych; jednakże chorzy na schizofrenię nie wykazują deficytów na tym polu (Moran i wsp., 2022). Playback USV wykazuje przewagę nad tymi testami, gdyż pozwala zbadać poziom pobudzenia emocjonalnego zwierząt na bodźce o znaczeniu społecznym w sposób bezpośredni.

Odpowiednikiem niskiego afektu i anhedonii społecznej jest w nim przypuszczalnie mniejsze zainteresowanie odtwarzanymi USV.

5.5.5. Podsumowanie

Walidacja zwierzęcych modeli schizofrenii wymaga przeprowadzenia zróżnicowanych testów behawioralnych. Playback USV, zwłaszcza u SHR, stanowi uzupełnienie istniejących metod badania schizofrenii i działania leków na objawy tej choroby. Analiza odpowiedzi szczurów na odtwarzane USV umożliwia ocenę efektów terapeutycznych leków o działaniu przeciwpsychotycznym na specyficzne objawy, które nie są łatwe do uchwycenia w innych testach. W porównaniu z obecnie stosowanymi testami playback USV w bardziej bezpośredni i naturalny dla szczura sposób pozwala badać stopień wycofania społecznego oraz deficyty w komunikacji społecznej, afekcie i ocenie istotności bodźców. Dodatkowo stanowi alternatywę, która nie wymaga analizy zachowania wielu zwierząt jednocześnie, dla metod oceniających zachowania społeczne szczurów. Choć testy takie jak PPI, EPM czy test preferencji sacharozy mają swoje miejsce w badaniach nad schizofrenią, posiadają ograniczenia, takie jak brak bezpośredniej wartości diagnostycznej oraz jedynie pośrednia ocena występowania objawów schizofrenii w modelach zwierzęcych.

5.6. Ograniczenia przeprowadzonych doświadczeń i przyszłe kierunki badań

Pomimo że wyniki doświadczeń potwierdziły zaproponowane hipotezy badawcze, istnieją pewne ograniczenia i niedoskonałości, które należy mieć na uwadze w planowaniu przyszłych doświadczeń. W niniejszej rozprawie zbadano jedynie samce szczurów, podczas gdy u ludzi to płeć żeńska jest bardziej narażona na rozwinięcie zaburzeń związanych z urazem psychicznym (Farhood i wsp., 2018). Podobnie, płeć jest istotnym czynnikiem kształtującym przebieg schizofrenii, np. u kobiet częściej niż u mężczyzn występują objawy wytwórcze (Leung i Chue, 2000). Dlatego doświadczenia należy powtórzyć z wykorzystaniem samic szczura. Wartościowe byłoby także zbadanie, jak długo po treningu FC utrzymują się zmiany w behawiorze zwierząt; pozwoli to ocenić, czy ich zachowanie przypomina objawy PTSD, czy ASD. Dodatkowo korzystna byłaby analiza efektu podania leków o działaniu przeciwpsychotycznym na zachowanie SHR podczas FC i po nim z zastosowaniem protokołu warunkowania użytego w rozprawie. Badania działania takich leków należy także powtórzyć z wykorzystaniem dodatkowej grupy szczurów, u których nie stwierdzono występowania SLB, np. stada Wistar.

W rozprawie zbadano wyłącznie działanie haloperidolu, który jest dobrze poznanym lekiem o działaniu przeciwpsychotycznym pierwszej generacji (Muticǎ i wsp., 2016). W przyszłości wartościowe byłoby także określenie wpływu leków drugiej generacji na emisję USV przez SHR. Leki te, w porównaniu z lekami pierwszej generacji, silniej znoszą objawy ubytkowe schizofrenii (Leucht i wsp., 2021), więc prawdopodobnie wpływałyby na wokalizowanie szczurów silniej niż haloperidol.

Ograniczeniem playbacku jest to, że w formie opisanej w niniejszej rozprawie może być zastosowany wyłącznie w doświadczeniach przeprowadzanych na szczurach. Ponieważ jednak myszy również emitują swoiste USV, należy przypuszczać, że po odpowiednich modyfikacjach możliwe będzie zastosowanie playbacku także w przypadku mysich modeli schizofrenii.

Uzyskane wyniki należy również uzupełnić o biochemiczną i czynnościową analizę obszarów mózgu biorących udział w percepcji i emisji USV. Pomogłoby to w zrozumieniu, dlaczego szczury przejawiają zachowania apetytywne także w odpowiedzi na playback USV 22-kHz, jakie są podstawy fizjologiczne zwiększonej emisji USV przez szczury, które otrzymały 6 i 10 szoków elektrycznych oraz czy deficyty w komunikacji występujące u SHR rzeczywiście wynikają z zaburzonej transmisji dopaminergicznej w prążkowiu.

6. Wnioski

Analiza odpowiedzi ultradźwiękowej szczurów na playback USV jest przydatną metodą, która dostarcza cennych informacji na temat stanu emocjonalnego tych zwierząt. Ponieważ na emisję USV wpływają zarówno nabyte doświadczenia szczurów, jak i ich wrodzone cechy, może ona znaleźć szerokie zastosowanie w badaniu zachowań społecznych szczurów oraz modeli chorób i zaburzeń, w których pojawiają się ubytki w komunikacji.

Podanie wielu bodźców bólowych szczurom Wistar podczas FC wpływa na ich odpowiedź behawioralną na playback USV następnego dnia. Zwierzęta te cechuje wyższa aktywność lokomotoryczna i emisja większej liczby USV. Zachowanie zwierząt przypomina objawy PTSD/ASD lub, alternatywnie, odzwierciedla proces przezwyciężania urazu psychicznego.

Zachowania SHR związane z emisją USV nie były wcześniej dobrze opisane i okazały się inne niż u szczurów Wistar. W porównaniu ze szczurami Wistar, SHR wykazują deficyty w komunikacji ultradźwiękowej. Emitują mniej USV podczas FC i w odpowiedzi na playback. Pod tym względem ich zachowanie przypomina ubytki w komunikacji społecznej i ocenie istotności bodźców, obserwowane u osób ze schizofrenią. Ponadto SHR emitują znacznie więcej krótkich USV 22-kHz w okresie początkowym treningu FC i playbacku, zanim otrzymają jakiegokolwiek dodatkowe bodźce. Przypomina to zjawisko solilokwii obecne u chorych na schizofrenię.

Podawanie SHR haloperidolu wpłynęło na emisję USV w odpowiedzi na playback. Zwierzęta wokalizowały więcej po usłyszeniu USV 50-kHz. Lek prawdopodobnie spowodował, zmianie uległa istotność tych dźwięków dla SHR. Wyniki przedstawionych doświadczeń potwierdzają przydatność SHR jako zwierzęcego modelu schizofrenii, który nie wymaga dodatkowych zabiegów, aby pojawiły się u niego SLB. Playback USV zastosowany u SHR okazał się testem umożliwiającym badanie efektów podania leku o działaniu przeciwpsychotycznym.

7. Piśmiennictwo

- Adenauer, H., Pinösch, S., Catani, C., Gola, H., Keil, J., Kißler, J. i Neuner, F. (2010). Early processing of threat cues in posttraumatic stress disorder—evidence for a cortical vigilance-avoidance reaction. *Biological psychiatry* 68(5): 451-458.
- Aliczki, M. i Haller, J. (2015). Electric shock as model of post-traumatic stress disorder in rodents. *Comprehensive Guide to Post-Traumatic Stress Disorder*. Switzerland: Springer International Publishing.
- Allen, J. G. (2008). Coping with trauma: Hope through understanding, American Psychiatric Pub
- Allen, T. A., Furtak, S. C. i Brown, T. H. (2007). Single-unit responses to 22 kHz ultrasonic vocalizations in rat perirhinal cortex. *Behavioural brain research* 182(2): 327-336.
- Almeida, V., Peres, F. F., Levin, R., Suizama, M. A., Calzavara, M. B., Zuardi, A. W., Hallak, J. E., Crippa, J. A. i Abilio, V. C. (2014). Effects of cannabinoid and vanilloid drugs on positive and negative-like symptoms on an animal model of schizophrenia: the SHR strain. *Schizophrenia research* 153(1-3): 150-159.
- Alonso, P., Lopez-Sola, C., Real, E., Segalas, C. i Menchon, J. M. (2015). Animal models of obsessive-compulsive disorder: utility and limitations. *Neuropsychiatr Dis Treat* 11: 1939-1955. DOI: 10.2147/NDT.S62785
- Alsop, B. (2007). Problems with spontaneously hypertensive rats (SHR) as a model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *J Neurosci Methods* 162(1-2): 42-48. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2006.12.002
- American Psychiatric Association (2022). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition, Text Revision (DSM-5-TR)
- An, Y., Chen, C., Inoue, T., Nakagawa, S., Kitaichi, Y., Wang, C., Izumi, T. i Kusumi, I. (2016). Mirtazapine exerts an anxiolytic-like effect through activation of the median raphe nucleus-dorsal hippocampal 5-HT pathway in contextual fear conditioning in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 70: 17-23.
- Andreasen, N. C. (1999). Understanding the causes of schizophrenia. *The New England Journal of Medicine* 340(8): 645-647. DOI: 10.1056/NEJM199902253400811
- Andreasen, N. C., Nopoulos, P., Schultz, S., Miller, D., Gupta, S., Swayze, V. i Flaum, M. (1994). Positive and negative symptoms of schizophrenia: past, present, and future. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 90: 51-59.
- Andreasen, N. C. i Olsen, S. (1982). Negative v positive schizophrenia: Definition and validation. *Archives of general psychiatry* 39(7): 789-794.
- Ang, M. J., Lee, S., Kim, J.-C., Kim, S.-H. i Moon, C. (2021). Behavioral tasks evaluating schizophrenia-like symptoms in animal models: a recent update. *Current Neuropharmacology* 19(5): 641-664.
- Arakawa, H. (2007). Age-dependent change in exploratory behavior of male rats following exposure to threat stimulus: Effect of juvenile experience. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology* 49(5): 522-530.
- Avisoft Bioacoustics. (2020). "Examples of rat ultrasonic vocalizations (USV), Norwegian Rat (*Rattus norvegicus*), Wistar albino strain, Males." Data, 2020, z <https://avisoft.com/rodents/>.
- Azar, T., Sharp, J. i Lawson, D. (2011). Heart rates of male and female Sprague-Dawley and spontaneously hypertensive rats housed singly or in groups. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 50(2): 175-184.
- Baeg, E. H., Kim, Y. B., Jang, J., Kim, H. T., Mook-Jung, I. i Jung, M. W. (2001). Fast spiking and regular spiking neural correlates of fear conditioning in the medial prefrontal cortex of the rat. *Cerebral cortex* 11(5): 441-451.
- Báez-Mendoza, R. i Schultz, W. (2013). The role of the striatum in social behavior. *Frontiers in Neuroscience* 7: 233.
- Baranowska, U. i Wiśniewska, R. J. (2017). Receptor nikotynowy $\alpha 7$ -nACh i jego znaczenie w funkcjonowaniu pamięci oraz wybranych chorobach ośrodkowego układu nerwowego. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 71: 633-648.
- Barfield, R. J., Auerbach, P., Geyer, L. A. i McIntosh, T. K. (1979). Ultrasonic vocalizations in rat sexual behavior. *American Zoologist* 19(2): 469-480.
- Barfield, R. J. i Geyer, L. A. (1975). The ultrasonic postejaculatory vocalization and postejaculatory refractory period of the male rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 88(2): 723.
- Barker, D. J., Root, D. H., Ma, S., Jha, S., Megehee, L., Pawlak, A. P. i West, M. O. (2010). Dose-dependent differences in short ultrasonic vocalizations emitted by rats during cocaine self-administration. *Psychopharmacology* 211: 435-442.

23. Barnes, S. A., Der-Avakian, A. i Young, J. W. (2017). Preclinical models to investigate mechanisms of negative symptoms in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin* 43(4): 706-711.
24. Barrantes-Vidal, N., Grant, P. i Kwapil, T. R. (2015). The role of schizotypy in the study of the etiology of schizophrenia spectrum disorders. *Schizophrenia bulletin* 41(suppl_2): S408-S416.
25. Basken, J. N., Connor, N. P. i Ciucci, M. R. (2012). Effect of aging on ultrasonic vocalizations and laryngeal sensorimotor neurons in rats. *Experimental brain research* 219: 351-361.
26. Baum, M. (1965). Reversal learning of an avoidance response as a function of prior fear conditioning and fear extinction. *Canadian Journal of Psychology/Revue canadienne de psychologie* 19(2): 85.
27. Becker, A. i Grecksch, G. (2004). Ketamine-induced changes in rat behaviour: a possible animal model of schizophrenia. Test of predictive validity. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 28(8): 1267-1277.
28. Becker, A., Peters, B., Schroeder, H., Mann, T., Huether, G. i Grecksch, G. (2003). Ketamine-induced changes in rat behaviour: a possible animal model of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 27(4): 687-700.
29. Bell, R. W. (1974). Ultrasounds in small rodents: Arousal-produced and arousal-producing. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology* 7(1): 39-42.
30. Belzung, C. i Lemoine, M. (2011). Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression. *Biology of mood & anxiety disorders* 1: 1-14.
31. Berz, A., de Souza, C. P., Wöhr, M. i Schwarting, R. K. (2021). Limited generalizability, pharmacological modulation, and state-dependency of habituation towards pro-social 50-kHz calls in rats. *IScience* 24(5).
32. Berz, A. C., Wöhr, M. i Schwarting, R. K. (2022). Response calls evoked by playback of natural 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 15: 812142.
33. Bialy, M., Bogacki-Rychlik, W., Kasarello, K., Nikolaev, E. i Sajdel-Sulkowska, E. M. (2016). Modulation of 22-kHz postejaculatory vocalizations by conditioning to new place: Evidence for expression of a positive emotional state. *Behavioral neuroscience* 130(4): 415.
34. Bialy, M., Podobinska, M., Barski, J., Bogacki-Rychlik, W. i Sajdel-Sulkowska, E. (2019). Distinct classes of low frequency ultrasonic vocalizations in rats during sexual interactions relate to different emotional states. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 79(1): 1-12.
35. Bialy, M., Podobinska, M., Barski, J., Bogacki-Rychlik, W. i Sulkowska-Sajdel, E. (2017). Two different classes of 22-kHz ultrasonic vocalizations during sexual interactions, correlation with rat behavioral state. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 77(Suppl. 1).
36. Bigelow, L. J., Cohen, A. J., Pimm, R., Knight, J. B. i Bernard, P. B. (2022). Ultrasonic vocalization analysis as a novel metric to assess cage enrichment in rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 61(2): 140-148.
37. Blanchard, J. J., Bellack, A. S. i Mueser, K. T. (1994). Affective and social-behavioral correlates of physical and social anhedonia in schizophrenia. *Journal of abnormal psychology* 103(4): 719.
38. Blanchard, R. J., Blanchard, D. C., Agullana, R. i Weiss, S. M. (1991). Twenty-two kHz alarm cries to presentation of a predator, by laboratory rats living in visible burrow systems. *Physiology & behavior* 50(5): 967-972.
39. Blin, O., Azorin, J. M. i Bouhours, P. (1996). Antipsychotic and anxiolytic properties of risperidone, haloperidol, and methotrimeprazine in schizophrenic patients. *Journal of clinical psychopharmacology* 16(1): 38-44.
40. Bogacki-Rychlik, W., Rolf, M. i Bialy, M. (2021). Anticipatory 50-kHz Precontact ultrasonic vocalizations and sexual motivation: characteristic pattern of ultrasound subtypes in an individual analyzed profile. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 15: 722456.
41. Bonauto, S. M., Greuel, O. M. i Honeycutt, J. A. (2023). Playback of rat 22-kHz ultrasonic vocalizations as a translational assay of negative affective states: An analysis of evoked behavior and brain activity. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*: 105396.
42. Borta, A., Wöhr, M. i Schwarting, R. (2006). Rat ultrasonic vocalization in aversively motivated situations and the role of individual differences in anxiety-related behavior. *Behavioural brain research* 166(2): 271-280.
43. Braff, D. L. i Geyer, M. A. (1990). Sensorimotor gating and schizophrenia: human and animal model studies. *Archives of general psychiatry* 47(2): 181-188.
44. Braff, D. L., Geyer, M. A. i Swerdlow, N. R. (2001). Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology* 156: 234-258.
45. Braga, R. J., Reynolds, G. P. i Siris, S. G. (2013). Anxiety comorbidity in schizophrenia. *Psychiatry research* 210(1): 1-7.

46. Braw, Y., Malkesman, O., Merenlender, A., Bercovich, A., Dagan, M., Overstreet, D. H. i Weller, A. (2008). Withdrawal emotional-regulation in infant rats from genetic animal models of depression. *Behav Brain Res* 193(1): 94-100. DOI: 10.1016/j.bbr.2008.04.026
47. Brenes, J. C., Lackinger, M., Höglinger, G. U., Schratt, G., Schwarting, R. K. i Wöhr, M. (2016). Differential effects of social and physical environmental enrichment on brain plasticity, cognition, and ultrasonic communication in rats. *Journal of Comparative Neurology* 524(8): 1586-1607.
48. Brenes, J. C. i Schwarting, R. K. (2015). Individual differences in anticipatory activity to food rewards predict cue-induced appetitive 50-kHz calls in rats. *Physiology & behavior* 149: 107-118.
49. Brudzynski, S. M. (2009). Communication of adult rats by ultrasonic vocalization: biological, sociobiological, and neuroscience approaches. *IJAR Journal* 50(1): 43-50.
50. Brudzynski, S. M. (2013). Ethotransmission: communication of emotional states through ultrasonic vocalization in rats. *Current opinion in neurobiology* 23(3): 310-317.
51. Brudzynski, S. M. (2015). Pharmacology of ultrasonic vocalizations in adult rats: significance, call classification and neural substrate. *Current Neuropharmacology* 13(2): 180-192.
52. Brudzynski, S. M. (2019). Emission of 22 kHz vocalizations in rats as an evolutionary equivalent of human crying: Relationship to depression. *Behavioural brain research* 363: 1-12.
53. Brudzynski, S. M. (2021). Biological functions of rat ultrasonic vocalizations, arousal mechanisms, and call initiation. *Brain Sciences* 11(5): 605.
54. Brudzynski, S. M., Bihari, F., Ociepa, D. i Fu, X.-W. (1993). Analysis of 22 kHz ultrasonic vocalization in laboratory rats: long and short calls. *Physiology & behavior* 54(2): 215-221.
55. Brudzynski, S. M. i Fletcher, N. H. (2010). Rat ultrasonic vocalization: short-range communication. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Elsevier. 19: 69-76.
56. Brudzynski, S. M. i Holland, G. (2005). Acoustic characteristics of air puff-induced 22-kHz alarm calls in direct recordings. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29(8): 1169-1180.
57. Brudzynski, S. M. i Pniak, A. (2002). Social contacts and production of 50-kHz short ultrasonic calls in adult rats. *Journal of Comparative Psychology* 116(1): 73.
58. Buckley, P. F., Miller, B. J., Lehrer, D. S. i Castle, D. J. (2009). Psychiatric comorbidities and schizophrenia. *Schizophrenia bulletin* 35(2): 383-402.
59. Burgdorf, J., Knutson, B. i Panksepp, J. (2000). Anticipation of rewarding electrical brain stimulation evokes ultrasonic vocalization in rats. *Behavioral neuroscience* 114(2): 320.
60. Burgdorf, J., Knutson, B., Panksepp, J. i Ikemoto, S. (2001). Nucleus accumbens amphetamine microinjections unconditionally elicit 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats. *Behav Neurosci* 115(4): 940-944. DOI: 10.1037//0735-7044.115.4.940
61. Burgdorf, J., Kroes, R. A., Moskal, J. R., Pfaus, J. G., Brudzynski, S. M. i Panksepp, J. (2008). Ultrasonic vocalizations of rats (*Rattus norvegicus*) during mating, play, and aggression: Behavioral concomitants, relationship to reward, and self-administration of playback. *Journal of Comparative Psychology* 122(4): 357.
62. Burgdorf, J. i Panksepp, J. (2001). Tickling induces reward in adolescent rats. *Physiology & behavior* 72(1-2): 167-173.
63. Burgdorf, J., Panksepp, J. i Moskal, J. R. (2011). Frequency-modulated 50 kHz ultrasonic vocalizations: a tool for uncovering the molecular substrates of positive affect. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 35(9): 1831-1836.
64. Burgdorf, J., Panksepp, J. i Moskal, J. R. (2018). Rat 22-kHz ultrasonic vocalizations as a measure of emotional set point during social interactions. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Elsevier. 25: 261-265.
65. Burgdorf, J., Wood, P. L., Kroes, R. A., Moskal, J. R. i Panksepp, J. (2007). Neurobiology of 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats: electrode mapping, lesion, and pharmacology studies. *Behavioural brain research* 182(2): 274-283.
66. Burke, C. J., Markovina, M., Pellis, S. M. i Euston, D. R. (2021). Rat 50 kHz trill calls are tied to the expectation of social interaction. *Brain Sciences* 11(9): 1142.
67. Cadenhead, K. S., Carasso, B. S., Swerdlow, N. R., Geyer, M. A. i Braff, D. L. (1999). Prepulse inhibition and habituation of the startle response are stable neurobiological measures in a normal male population. *Biological psychiatry* 45(3): 360-364.
68. Cahir, M., Mawhinney, T. i King, D. J. (2004). Differential region-specific regulation of central α 1-adrenoceptor binding following chronic haloperidol and clozapine administration in the rat. *Psychopharmacology* 172: 196-201.
69. Calhoun, C. D., Stone, K. J., Cobb, A. R., Patterson, M. W., Danielson, C. K. i Bendeż, J. J. (2022). The role of social support in coping with psychological trauma: An integrated biopsychosocial model for posttraumatic stress recovery. *Psychiatric Quarterly* 93(4): 949-970.

70. Callahan, B. L., Plamondon, A., Gill, S. i Ismail, Z. (2021). Contribution of vascular risk factors to the relationship between ADHD symptoms and cognition in adults and seniors. *Scientific reports* 11(1): 24276.
71. Calzavara, M. B., Levin, R., Medrano, W. A., Almeida, V., Sampaio, A. P. F., Barone, L. C., Frussa-Filho, R. i Abílio, V. C. (2011a). Effects of antipsychotics and amphetamine on social behaviors in spontaneously hypertensive rats. *Behavioural brain research* 225(1): 15-22.
72. Calzavara, M. B., Lopez, G. B., Abilio, V. C., Silva, R. H. i Frussa-Filho, R. (2004). Role of anxiety levels in memory performance of spontaneously hypertensive rats. *Behav Pharmacol* 15(8): 545-553. DOI: 10.1097/00008877-200412000-00003
73. Calzavara, M. B., Medrano, W. A., Levin, R., Kameda, S. R., Andersen, M. L., Tufik, S., Silva, R. H., Frussa-Filho, R. i Abílio, V. C. (2009). Neuroleptic drugs revert the contextual fear conditioning deficit presented by spontaneously hypertensive rats: a potential animal model of emotional context processing in schizophrenia? *Schizophrenia bulletin* 35(4): 748-759.
74. Calzavara, M. B., Medrano, W. A., Levin, R., Libânio, T. C., de Alencar Ribeiro, R. i Abílio, V. C. (2011b). The contextual fear conditioning deficit presented by spontaneously hypertensive rats (SHR) is not improved by mood stabilizers. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 35(7): 1607-1611.
75. Cardeña, E. i Carlson, E. (2011). Acute stress disorder revisited. *Annual Review of Clinical Psychology* 7(1): 245-267.
76. Careaga, M. B. L., Girardi, C. E. N. i Suchecki, D. (2016). Understanding posttraumatic stress disorder through fear conditioning, extinction and reconsolidation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 71: 48-57.
77. Carlsson, A. (1978). Antipsychotic drugs, neurotransmitters, and schizophrenia. *American journal of Psychiatry* 135(2): 164-173.
78. Carnevali, L., Mastorci, F., Graiani, G., Razzoli, M., Trombini, M., Pico-Alfonso, M.-A., Arban, R., Grippo, A. J., Quaini, F. i Sgoifo, A. (2012). Social defeat and isolation induce clear signs of a depression-like state, but modest cardiac alterations in wild-type rats. *Physiology & behavior* 106(2): 142-150.
79. Chang, C. H., Hsiao, Y. H., Chen, Y. W., Yu, Y. J. i Gean, P. W. (2015). Social isolation-induced increase in NMDA receptors in the hippocampus exacerbates emotional dysregulation in mice. *Hippocampus* 25(4): 474-485.
80. Chatterjee, M., Ganguly, S., Srivastava, M. i Palit, G. (2011). Effect of 'chronic' versus 'acute' ketamine administration and its 'withdrawal' effect on behavioural alterations in mice: implications for experimental psychosis. *Behavioural brain research* 216(1): 247-254.
81. Chen, X., Li, Y., Li, S. i Kirouac, G. J. (2012). Early fear as a predictor of avoidance in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Behavioural brain research* 226(1): 112-117.
82. Cilia, J., Gartlon, J., Shilliam, C., Dawson, L., Moore, S. i Jones, D. (2010). Further neurochemical and behavioural investigation of Brattleboro rats as a putative model of schizophrenia. *Journal of psychopharmacology* 24(3): 407-419.
83. Clements, K. M. i Wainwright, P. E. (2006). Spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley rats differ in performance on a win-shift task in the water radial arm maze. *Behav Brain Res* 167(2): 295-304. DOI: 10.1016/j.bbr.2005.09.016
84. Costa, G., Serra, M., Marongiu, J., Morelli, M. i Simola, N. (2020). Influence of dopamine transmission in the medial prefrontal cortex and dorsal striatum on the emission of 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats treated with amphetamine: Effects on drug-stimulated and conditioned calls. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 97: 109797.
85. Covington III, H. E. i Miczek, K. A. (2003). Vocalizations during withdrawal from opiates and cocaine: possible expressions of affective distress. *European journal of pharmacology* 467(1-3): 1-13.
86. Curzon, P., Rustay, N. R. i Browman, K. E. (2011). Cued and contextual fear conditioning for rodents.
87. da Silva, G. A. R., de Aguiar Mendes, V. A., Genari, A. B., Castania, J. A., Salgado, H. C. i Fazan, V. P. S. (2016). Recurrent laryngeal nerve alterations in developing spontaneously hypertensive rats. *The Laryngoscope* 126(1): E40-E47.
88. de la Asuncion, J., Docx, L., Sabbe, B., Morrens, M. i De Bruijn, E. R. (2015). Converging evidence of social avoidant behavior in schizophrenia from two approach-avoidance tasks. *Journal of psychiatric research* 69: 135-141.
89. de Oliveira Galvão, B., de Castro Gomes, V., Maissonette, S. i Landeira- Fernandez, J. (2011). Panic-like behaviors in Carioca High-and Low-conditioned Freezing rats. *Psychology & Neuroscience* 4(2): 205-210.
90. Dean, K., Bramon, E. i Murray, R. M. (2003). The causes of schizophrenia: neurodevelopment and other risk factors. *Journal of Psychiatric Practice*® 9(6): 442-454.

91. Demaestri, C., Brenhouse, H. C. i Honeycutt, J. A. (2019). 22 kHz and 55 kHz ultrasonic vocalizations differentially influence neural and behavioral outcomes: Implications for modeling anxiety via auditory stimuli in the rat. *Behavioural brain research* 360: 134-145.
92. Denayer, T., Stöhr, T. i Van Roy, M. (2014). Animal models in translational medicine: Validation and prediction. *New Horizons in Translational Medicine* 2(1): 5-11.
93. Denver, P., D'Adamo, H., Hu, S., Zuo, X., Zhu, C., Okuma, C., Kim, P., Castro, D., Jones, M. R. i Leal, C. (2019). A novel model of mixed vascular dementia incorporating hypertension in a rat model of Alzheimer's disease. *Frontiers in physiology* 10: 1269.
94. Diana, G. (2002). Does hypertension alone lead to cognitive decline in spontaneously hypertensive rats? *Behav Brain Res* 134(1-2): 113-121. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00459-4
95. Diana, M. C., Peres, F. F., Justi, V., Bressan, R. A., Lacerda, A. L., Crippa, J. A., Hallak, J. E. i Abilio, V. C. (2018). Sodium nitroprusside is effective in preventing and/or reversing the development of schizophrenia-related behaviors in an animal model: the SHR strain. *CNS neuroscience & therapeutics* 24(7): 624-632.
96. Domes, G. i Zimmer, P. (2019). Acute stress enhances the sensitivity for facial emotions: a signal detection approach. *Stress* 22(4): 455-460.
97. dos Santos Corrêa, M., dos Santos Vaz, B., Grisanti, G. D. V., de Paiva, J. P. Q., Tiba, P. A. i Fornari, R. V. (2019). Relationship between footshock intensity, post-training corticosterone release and contextual fear memory specificity over time. *Psychoneuroendocrinology* 110: 104447.
98. Drolet, G., Proulx, K., Pearson, D., Rochford, J. i Deschepper, C. F. (2002). Comparisons of behavioral and neurochemical characteristics between WKY, WKHA, and Wistar rat strains. *Neuropsychopharmacology* 27(3): 400-409. DOI: 10.1016/S0893-133X(02)00303-2
99. Dugovic, C., Solberg, L. C., Redei, E., Van Reeth, O. i Turek, F. W. (2000). Sleep in the Wistar-Kyoto rat, a putative genetic animal model for depression. *Neuroreport* 11(3): 627-631. DOI: 10.1097/00001756-200002280-00038
100. Dugré, J. R., Bitar, N., Dumais, A. i Potvin, S. (2019). Limbic hyperactivity in response to emotionally neutral stimuli in schizophrenia: a neuroimaging meta-analysis of the hypervigilant mind. *American journal of Psychiatry* 176(12): 1021-1029.
101. Dupin, M., Garcia, S., Boulanger-Bertolus, J., Buonviso, N. i Mouly, A.-M. (2019). New insights from 22-kHz ultrasonic vocalizations to characterize fear responses: relationship with respiration and brain oscillatory dynamics. *ENeuro* 6(2).
102. El Jabiry, S.-E., Barrimi, M. i Oneib, B. (2022). Post-traumatic stress disorder in patients treated for schizophrenia: A cross-sectional study in the psychiatric department of Oujda, Morocco. *Annals of Medicine and Surgery* 77: 103651.
103. El Miniawi, S., Orgeta, V. i Stafford, J. (2022). Non-affective psychotic disorders and risk of dementia: a systematic review and meta-analysis. *Psychological Medicine* 52(15): 3323-3335.
104. Ellenbroek, B. i Cools, A. (2000). Animal models for the negative symptoms of schizophrenia. *Behavioural pharmacology* 11(3 & 4): 223-233.
105. Ellenbroek, B., Geyer, M. i Cools, A. (1995). The behavior of APO-SUS rats in animal models with construct validity for schizophrenia. *Journal of Neuroscience* 15(11): 7604-7611.
106. Ellenbroek, B. i Youn, J. (2016). Rodent models in neuroscience research: is it a rat race? *Disease models & mechanisms* 9(10): 1079-1087.
107. Faber, N. S. i Häusser, J. A. (2022). Why stress and hunger both increase and decrease prosocial behaviour. *Current Opinion in Psychology* 44: 49-57.
108. Fanselow, M. S. i Bolles, R. C. (1979). Naloxone and shock-elicited freezing in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 93(4): 736.
109. Fanselow, M. S. i Ponnusamy, R. (2008). The use of conditioning tasks to model fear and anxiety. *Handbook of Behavioral Neuroscience* 17: 29-48.
110. Farhood, L., Fares, S. i Hamady, C. (2018). PTSD and gender: could gender differences in war trauma types, symptom clusters and risk factors predict gender differences in PTSD prevalence? *Archives of women's mental health* 21: 725-733.
111. Featherstone, R., Kapur, S. i Fletcher, P. (2007). The amphetamine-induced sensitized state as a model of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 31(8): 1556-1571.
112. Fendt, M., Brosch, M., Wernecke, K. E., Willadsen, M. i Wöhr, M. (2018). Predator odour but not TMT induces 22-kHz ultrasonic vocalizations in rats that lead to defensive behaviours in conspecifics upon replay. *Scientific reports* 8(1): 11041.
113. Ferdman, N., Murmu, R., Bock, J., Braun, K. i Leshem, M. (2007). Weaning age, social isolation, and gender, interact to determine adult explorative and social behavior, and dendritic and spine morphology in prefrontal cortex of rats. *Behavioural brain research* 180(2): 174-182.

114. Ferguson, S. A., Paule, M. G., Cada, A., Fogle, C. M., Gray, E. P. i Berry, K. J. (2007). Baseline behavior, but not sensitivity to stimulant drugs, differs among spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto, and Sprague-Dawley rat strains. *Neurotoxicol Teratol* 29(5): 547-561. DOI: 10.1016/j.ntt.2007.07.001
115. Ferretti, C., Blengio, M., Gamalero, S. R. i Ghi, P. (1995). Biochemical and behaviour changes induced by acute stress in a chronic variate stress model of depression: the effect of amitriptyline. *European journal of pharmacology* 280(1): 19-26.
116. Finnie, P. S. i Nader, K. (2020). Amyloid beta secreted during consolidation prevents memory malleability. *Current Biology* 30(10): 1934-1940. e1934.
117. Fioravanti, M., Bianchi, V. i Cinti, M. E. (2012). Cognitive deficits in schizophrenia: an updated metanalysis of the scientific evidence. *BMC psychiatry* 12: 1-20.
118. Flandreau, E. I. i Toth, M. (2018). Animal models of PTSD: a critical review. *Behavioral Neurobiology of PTSD*: 47-68.
119. Flannery Jr, R. B. (1990). Social support and psychological trauma: A methodological review. *Journal of traumatic stress* 3(4): 593-611.
120. Flaten, M. A. (2002). Test-retest reliability of the somatosensory blink reflex and its inhibition. *International journal of psychophysiology* 45(3): 261-265.
121. Foa, E. B., Zinbarg, R. i Rothbaum, B. O. (1992). Uncontrollability and unpredictability in post-traumatic stress disorder: an animal model. *Psychological bulletin* 112(2): 218.
122. Forbes, D., Nickerson, A., Bryant, R. A., Creamer, M., Silove, D., McFarlane, A. C., Van Hooff, M., Phelps, A., Felmingham, K. L. i Malhi, G. S. (2019). The impact of post-traumatic stress disorder symptomatology on quality of life: The sentinel experience of anger, hypervigilance and restricted affect. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry* 53(4): 336-349.
123. Forcina, F., Corigliano, V., Bargagna, P., Falcone, G., Nardella, A., Morandini, I., Mancinelli, I., Pompili, M. i Comparelli, A. (2020). Relationship between aberrant salience and social cognition in patients with schizophrenia. *European Psychiatry* 63.
124. Friedman, M. J. (2009). Phenomenology of posttraumatic stress disorder and acute stress disorder. *Oxford handbook of anxiety and related disorders*: 65-72.
125. Garcia, E. J., McCowan, T. J. i Cain, M. E. (2015). Harmonic and frequency modulated ultrasonic vocalizations reveal differences in conditioned and unconditioned reward processing. *Behavioural brain research* 287: 207-214.
126. Garzón, J. i Del Río, J. (1981). Hyperactivity induced in rats by long-term isolation: further studies on a new animal model for the detection of antidepressants. *European journal of pharmacology* 74(4): 287-294.
127. Gauthier, A. C., DeAngeli, N. E. i Bucci, D. J. (2015). Cross-fostering differentially affects ADHD-related behaviors in spontaneously hypertensive rats. *Developmental psychobiology* 57(2): 226-236.
128. Genaro, G. i Schmidek, W. R. (2000). Exploratory activity of rats in three different environments. *Ethology: Research Papers* 106(9): 849-859.
129. Gentsch, C., Lichtsteiner, M. i Feer, H. (1987). Open field and elevated plus-maze: a behavioural comparison between spontaneously hypertensive (SHR) and Wistar-Kyoto (WKY) rats and the effects of chlordiazepoxide. *Behavioural brain research* 25(2): 101-107.
130. Geyer, M., McIlwain, K. i Paylor, R. (2002). Mouse genetic models for prepulse inhibition: an early review. *Molecular Psychiatry* 7(10): 1039-1053.
131. Girardi, C. E. N., Zanta, N. C. i Suchecki, D. (2014). Neonatal stress-induced affective changes in adolescent Wistar rats: early signs of schizophrenia-like behavior. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 8: 319.
132. Goff, D. C. i Coyle, J. T. (2001). The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *American journal of Psychiatry* 158(9): 1367-1377.
133. Gold, J. M. i Harvey, P. D. (1993). Cognitive deficits in schizophrenia. *Psychiatric Clinics* 16(2): 295-312.
134. Goldberg, J. O. i Schmidt, L. A. (2001). Shyness, sociability, and social dysfunction in schizophrenia. *Schizophrenia research* 48(2-3): 343-349.
135. Gonzalez-Palomares, E., Boulanger-Bertolus, J., Dupin, M., Mouly, A.-M. i Hechavarria, J. C. (2023). Amplitude modulation pattern of rat distress vocalisations during fear conditioning. *Scientific reports* 13(1): 11173.
136. Gough, A. i Morrison, J. (2016). Managing the comorbidity of schizophrenia and ADHD. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 41(5): E79-E80.
137. Gould, J. i Morgan, C. (1941). Hearing in the rat at high frequencies. *Science* 94(2433): 168-168.
138. Gould, T. D., Dao, D. T. i Kovacsics, C. E. (2009). The open field test. *Mood and anxiety related phenotypes in mice: Characterization using behavioral tests*: 1-20.

139. Graham, L. K., Yoon, T., Lee, H. J. i Kim, J. J. (2009). Strain and sex differences in fear conditioning: 22 kHz ultrasonic vocalizations and freezing in rats. *Psychology & Neuroscience* 2: 219-225.
140. Grissom, N. i Bhatnagar, S. (2009). Habituation to repeated stress: get used to it. *Neurobiology of learning and memory* 92(2): 215-224.
141. Grossman, S. P. (1972). Aggression, avoidance, and reaction to novel environments in female rats with ventromedial hypothalamic lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 78(2): 274.
142. Grundt, A., Grundt, C., Gorbey, S., Thomas, M. A. i Lemmer, B. (2009). Strain-dependent differences of restraint stress-induced hypertension in WKY and SHR. *Physiol Behav* 97(3-4): 341-346. DOI: 10.1016/j.physbeh.2009.02.029
143. H'Doubler, P. B., Jr., Peterson, M., Shek, W., Auchincloss, H., Abbott, W. M. i Orkin, R. W. (1991). Spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rats are genetically disparate. *Lab Anim Sci* 41(5): 471-473.
144. Hagi, K., Nosaka, T., Dickinson, D., Lindenmayer, J. P., Lee, J., Friedman, J., Boyer, L., Han, M., Abdul-Rashid, N. A. i Correll, C. U. (2021). Association between cardiovascular risk factors and cognitive impairment in people with schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *JAMA psychiatry* 78(5): 510-518.
145. Håkansson, J., Jiang, W., Xue, Q., Zheng, X., Ding, M., Agarwal, A. A. i Elemans, C. P. (2022). Aerodynamics and motor control of ultrasonic vocalizations for social communication in mice and rats. *BMC biology* 20(1): 3.
146. Hall, C. S. (1934). Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative psychology* 18(3): 385.
147. Hall, J. (2017). Schizophrenia—an anxiety disorder? *The British Journal of Psychiatry* 211(5): 262-263.
148. Hamed, A., Jaroszewski, T., Maciejak, P., Szyndler, J., Lehner, M., Kamecka, I., Olczak, M., Kuzinska, U., Taracha, E. i Płażnik, A. (2009). The effects of buspirone and diazepam on aversive context-and social isolation-induced ultrasonic vocalisation. *Physiology & behavior* 98(4): 474-480.
149. Hammond, T., Brown, S., Meddle, S., Nielsen, B. L., Lawrence, A. i Bombail, V. (2021). Acoustic playback paradigms alter affective states in juvenile male Wistar rats. International Society for Applied Ethology (ISAE) August Global Virtual Meeting.
150. Hammond, T. J., Brown, S. M., Meddle, S. L., Nielsen, B. L., Lawrence, A. B. i Bombail, V. (2024). Feel-good songs: application of a novel playback paradigm to induce a positive affective state in juvenile male Wistar rats. *Applied Animal Behaviour Science*: 106296.
151. Hansen, C. F., Torgalsbøen, A.-K., Melle, I. i Bell, M. D. (2009). Passive/apathetic social withdrawal and active social avoidance in schizophrenia: difference in underlying psychological processes. *The Journal of nervous and mental disease* 197(4): 274-277.
152. Hard, E., Carlsson, S. G., Jern, S., Larsson, K., Lindh, A. S. i Svensson, L. (1985). Behavioral reactivity in spontaneously hypertensive rats. *Physiol Behav* 35(4): 487-492. DOI: 10.1016/0031-9384(85)90128-3
153. Harro, J. (2018). Animals, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents and why. *Behavioural brain research* 352: 81-93.
154. Haubrich, J., Bernabo, M. i Nader, K. (2020). Noradrenergic projections from the locus coeruleus to the amygdala constrain fear memory reconsolidation. *Elife* 9: e57010.
155. Haubrich, J. i Nader, K. (2023). Network-level changes in the brain underlie fear memory strength. *Elife* 12: RP88172.
156. Heal, D., Smith, S., Kulkarni, R. i Rowley, H. (2008). New perspectives from microdialysis studies in freely-moving, spontaneously hypertensive rats on the pharmacology of drugs for the treatment of ADHD. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 90(2): 184-197.
157. Hernandez, C. M., Hoifodt, H. i Terry, A. V., Jr. (2003). Spontaneously hypertensive rats: further evaluation of age-related memory performance and cholinergic marker expression. *J Psychiatry Neurosci* 28(3): 197-209.
158. Heyse, N. C., Brenes, J. C. i Schwarting, R. K. (2015). Exercise reward induces appetitive 50-kHz calls in rats. *Physiology & behavior* 147: 131-140.
159. Higgins, S. T. i Stitzer, M. L. (1989). Monologue speech: effects of d-amphetamine, secobarbital and diazepam. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 34(3): 609-618.
160. Holmes, A. i Singewald, N. (2013). Individual differences in recovery from traumatic fear. *Trends in neurosciences* 36(1): 23-31.
161. Howes, O. D., Montgomery, A. J., Asselin, M.-C., Murray, R. M., Valli, I., Tabraham, P., Bramon-Bosch, E., Valmaggia, L., Johns, L. i Broome, M. (2009). Elevated striatal dopamine function linked to prodromal signs of schizophrenia. *Archives of general psychiatry* 66(1): 13-20.

162. Howes, O. D. i Onwordi, E. C. (2023). The synaptic hypothesis of schizophrenia version III: a master mechanism. *Molecular Psychiatry* 28(5): 1843-1856.
163. Hsieh, Y.-L. i Yang, C.-C. (2008). Age-series characteristics of locomotor activities in spontaneously hypertensive rats: a comparison with the Wistar-Kyoto strain. *Physiology & behavior* 93(4-5): 777-782.
164. Hurst, J., Barnard, C., Nevison, C. i West, C. (1997). Housing and welfare in laboratory rats: welfare implications of isolation and social contact among caged males. *Animal Welfare* 6(4): 329-347.
165. Inagaki, H. i Ushida, T. (2021). The effect of playback of 22-kHz and 50-kHz ultrasonic vocalizations on rat behaviors assessed with a modified open-field test. *Physiology & behavior* 229: 113251.
166. Ishii, A., Kiyokawa, Y., Takeuchi, Y. i Mori, Y. (2016). Social buffering ameliorates conditioned fear responses in female rats. *Hormones and behavior* 81: 53-58.
167. Jaaro-Peled, H. (2009). Gene models of schizophrenia: DISC1 mouse models. *Progress in brain research* 179: 75-86.
168. Jansen, A. S., Van Nguyen, X., Karpitskiy, V., Mettenleiter, T. C. i Loewy, A. D. (1995). Central command neurons of the sympathetic nervous system: basis of the fight-or-flight response. *Science* 270(5236): 644-646.
169. Janssen, P. G., van Est, L. A., Hilbink, M., Gubbels, L., Egger, J., Cillessen, A. H. i van Ee, E. (2022). Social cognitive performance in posttraumatic stress disorder: A meta-analysis. *Journal of affective disorders* 297: 35-44.
170. Jaskiw, G. E., Karoum, F. K. i Weinberger, D. R. (1990). Persistent elevations in dopamine and its metabolites in the nucleus accumbens after mild subchronic stress in rats with ibotenic acid lesions of the medial prefrontal cortex. *Brain Research* 534(1-2): 321-323.
171. Jelen, P., Soltysik, S. i Zagrodzka, J. (2003). 22-kHz ultrasonic vocalization in rats as an index of anxiety but not fear: behavioral and pharmacological modulation of affective state. *Behavioural brain research* 141(1): 63-72.
172. Jentsch, J. D. i Roth, R. H. (1999). The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 20(3): 201-225.
173. Jeon, S. M., Lee, D. Y., Cha, S. i Kwon, J.-W. (2023). Psychiatric Comorbidities and Schizophrenia in Youths With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *JAMA network open* 6(11): e2345793-e2345793.
174. Jetha, M. K., Goldberg, J. O. i Schmidt, L. A. (2013). Temperament and its relation to social functioning in schizophrenia. *International Journal of Social Psychiatry* 59(3): 254-263.
175. Jetha, M. K., Schmidt, L. A. i Goldberg, J. O. (2007). Stability of shyness, sociability, and social dysfunction in schizophrenia: A preliminary investigation of the influence of social skills training in a community-based stable outpatient sample. *The European journal of psychiatry* 21(3): 189-198.
176. Johansen, J. P., Cain, C. K., Ostroff, L. E. i LeDoux, J. E. (2011). Molecular mechanisms of fear learning and memory. *Cell* 147(3): 509-524.
177. John, S. R., Tiwari, R., Goussha, Y., Amar, R., Bizer, A., Netser, S. i Wagner, S. (2023). Simultaneous recording of ultrasonic vocalizations and sniffing from socially interacting individual rats using a miniature microphone. *Cell Reports Methods* 3(11).
178. Johnson, P. L., Molosh, A. I., Federici, L. M., Bernabe, C., Haggerty, D., Fitz, S. D., Nalivaiko, E., Truitt, W. i Shekhar, A. (2019). Assessment of fear and anxiety associated behaviors, physiology and neural circuits in rats with reduced serotonin transporter (SERT) levels. *Transl Psychiatry* 9(1): 33. DOI: 10.1038/s41398-019-0368-y
179. Jones, C. A., Watson, D. i Fone, K. (2011). Animal models of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology* 164(4): 1162-1194.
180. Judy, W. V., Watanabe, A. M., Henry, D. P., Besch, H. R., Jr., Murphy, W. R. i Hockel, G. M. (1976). Sympathetic nerve activity: role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Circ Res* 38(6 Suppl 2): 21-29. DOI: 10.1161/01.res.38.6.21
181. Kaidanovich-Beilin, O., Lipina, T., Vukobradovic, I., Roder, J. i Woodgett, J. R. (2011). Assessment of social interaction behaviors. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(48): e2473.
182. Kaltwasser, M. T. (1990). Startle-inducing acoustic stimuli evoke ultrasonic vocalization in the rat. *Physiology & behavior* 48(1): 13-17.
183. Kaniasty, K. (2012). Predicting social psychological well-being following trauma: The role of postdisaster social support. *Psychological Trauma: theory, research, practice, and policy* 4(1): 22.
184. Kappelmann, R. B., Prazma, J. i Pillsbury III, H. C. (1987). Comparative Morphometric Analysis of Cochlear Vessels in Wistar-Kyoto Rats, Spontaneously Hypertensive Rats, and Aged Spontaneously Hypertensive Rats. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 97(6): 522-528.

185. Kapur, S. (2003). Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. *American journal of Psychiatry* 160(1): 13-23.
186. Kapur, S. i Remington, G. (1996). Serotonin-dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. *American journal of Psychiatry* 153(4): 466-476.
187. Karwicka, W., Wiatrowska, M., Kondrakiewicz, K., Knapska, E., Kurs, M. B. i Hamed, A. (2021). Relaying aversive ultrasonic alarm calls depends on previous experience. empathy, social buffering, or panic? *Brain Sciences* 11(6): 759.
188. Kasahara, K.-i., Hashimoto, S., Hattori, T., Kawasaki, K., Tsujita, R., Nakazono, O., Takao, K., Kawakubo, H. i Nagatani, T. (2015). The effects of AP521, a novel anxiolytic drug, in three anxiety models and on serotonergic neural transmission in rats. *Journal of Pharmacological Sciences* 127(1): 109-116.
189. Kashdan, T. B., Breen, W. E. i Julian, T. (2010). Everyday strivings in war veterans with posttraumatic stress disorder: Suffering from a hyper-focus on avoidance and emotion regulation. *Behavior therapy* 41(3): 350-363.
190. Katz, R. J., Roth, K. A. i Carroll, B. J. (1981). Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 5(2): 247-251.
191. Kearney, B. E. i Lanius, R. A. (2022). The brain-body disconnect: A somatic sensory basis for trauma-related disorders. *Frontiers in Neuroscience* 16: 1015749.
192. Kegeles, L. S., Abi-Dargham, A., Frankle, W. G., Gil, R., Cooper, T. B., Slifstein, M., Hwang, D.-R., Huang, Y., Haber, S. N. i Laruelle, M. (2010). Increased synaptic dopamine function in associative regions of the striatum in schizophrenia. *Archives of general psychiatry* 67(3): 231-239.
193. Kelley, A. E. (1993). Locomotor activity and exploration. Techniques in the behavioral and neural sciences, Elsevier. 10: 499-518.
194. Kelm-Nelson, C. A., Lenell, C., Johnson, A. M. i Ciucci, M. R. (2018). Laryngeal activity for production of ultrasonic vocalizations in rats. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Elsevier. 25: 37-43.
195. Khorevin, V., Levchouk, T., Gorkovenko, A. i Mishunina, T. (2004). Effect of L-DopA on the behavioral activity of wistar and spontaneously hypertensive (SHR) rats in the open-field test. *Neurophysiology* 36: 116-125.
196. Kikusui, T., Winslow, J. T. i Mori, Y. (2006). Social buffering: relief from stress and anxiety. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361(1476): 2215-2228.
197. Kim, E. J., Kim, E. S., Covey, E. i Kim, J. J. (2010). Social transmission of fear in rats: the role of 22-kHz ultrasonic distress vocalization. *PloS one* 5(12): e15077.
198. Kim, J. Y., Yang, S. H., Kwon, J., Lee, H. W. i Kim, H. (2017). Mice subjected to uncontrollable electric shocks show depression-like behaviors irrespective of their state of helplessness. *Behavioural brain research* 322: 138-144.
199. Kimble, M., Boxwala, M., Bean, W., Maletsky, K., Halper, J., Spollen, K. i Fleming, K. (2014). The impact of hypervigilance: Evidence for a forward feedback loop. *Journal of anxiety disorders* 28(2): 241-245.
200. Kiran, C. i Chaudhury, S. (2016). Prevalence of comorbid anxiety disorders in schizophrenia. *Industrial psychiatry journal* 25(1): 35-40.
201. Kisko, T. M., Himmler, B. T., Himmler, S. M., Euston, D. R. i Pellis, S. M. (2015). Are 50-kHz calls used as play signals in the playful interactions of rats? II. Evidence from the effects of devocalization. *Behavioural Processes* 111: 25-33.
202. Kisko, T. M., Wöhr, M., Pellis, V. C. i Pellis, S. M. (2017). From play to aggression: high-frequency 50-kHz ultrasonic vocalizations as play and appeasement signals in rats. *Social behavior from rodents to humans: Neural foundations and clinical implications*: 91-108.
203. Kiyokawa, Y., Honda, A., Takeuchi, Y. i Mori, Y. (2014). A familiar conspecific is more effective than an unfamiliar conspecific for social buffering of conditioned fear responses in male rats. *Behavioural brain research* 267: 189-193.
204. Kiyokawa, Y., Takeuchi, Y., Nishihara, M. i Mori, Y. (2009). Main olfactory system mediates social buffering of conditioned fear responses in male rats. *European Journal of Neuroscience* 29(4): 777-785.
205. Klein, J., Hadar, R., Götz, T., Männer, A., Eberhardt, C., Baldassarri, J., Schmidt, T. T., Kupsch, A., Heinz, A. i Morgenstern, R. (2013). Mapping brain regions in which deep brain stimulation affects schizophrenia-like behavior in two rat models of schizophrenia. *Brain stimulation* 6(4): 490-499.
206. Knardahl, S. i Sagvolden, T. (1979). Open-field behavior of spontaneously hypertensive rats. *Behavioral and neural biology* 27(2): 187-200.

207. Knutson, B., Burgdorf, J. i Panksepp, J. (1998). Anticipation of play elicits high-frequency ultrasonic vocalizations in young rats. *Journal of Comparative Psychology* 112(1): 65.
208. Kobayashi, T. i Kato, S. (2000). Hallucination of soliloquy: speaking component and hearing component of schizophrenic hallucinations. *Psychiatry and clinical neurosciences* 54(5): 531-536.
209. Kõiv, K., Metelitsa, M., Vares, M., Tiitsaar, K., Raudkivi, K., Jaako, K., Vulla, K., Shimmo, R. i Harro, J. (2016). Chronic variable stress prevents amphetamine-elicited 50-kHz calls in rats with low positive affectivity. *European neuropsychopharmacology* 26(4): 631-643.
210. Kozłowska, A., Wojtacha, P., Równiak, M., Kolenkiewicz, M. i Huang, A. C. W. (2019). ADHD pathogenesis in the immune, endocrine and nervous systems of juvenile and maturing SHR and WKY rats. *Psychopharmacology* 236: 2937-2958.
211. Kozo, O. i Kyuzo, A. (1963). Development of strain of spontaneously hypertensive rat. *Japanese Circulation Journal* 27(3): 282-293.
212. Kraeuter, A.-K., Guest, P. C. i Sarnyai, Z. (2019). The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior. *Pre-clinical models: techniques and protocols*: 99-103.
213. Krystal, A. D., Sutherland, J. i Hochman, D. W. (2012). Loop diuretics have anxiolytic effects in rat models of conditioned anxiety. *PloS one* 7(4): e35417.
214. Krzywinski, M. i Altman, N. (2014). Visualizing samples with box plots. *Nat Methods* 11(2): 119-120. DOI: 10.1038/nmeth.2813
215. Kumari, V. i Sharma, T. (2002). Effects of typical and atypical antipsychotics on prepulse inhibition in schizophrenia: a critical evaluation of current evidence and directions for future research. *Psychopharmacology* 162: 97-101.
216. Kumari, V., Soni, W. i Sharma, T. (2001). Influence of cigarette smoking on prepulse inhibition of the acoustic startle response in schizophrenia. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental* 16(4): 321-326.
217. Kuniishi, H., Ichisaka, S., Yamamoto, M., Ikubo, N., Matsuda, S., Futora, E., Harada, R., Ishihara, K. i Hata, Y. (2017). Early deprivation increases high-leaning behavior, a novel anxiety-like behavior, in the open field test in rats. *Neuroscience research* 123: 27-35.
218. Kurz, M., Hummer, M., Oberbauer, H. i Fleischhacker, W. (1995). Extrapyramidal side effects of clozapine and haloperidol. *Psychopharmacology* 118: 52-56.
219. Lazarov, A., Suarez-Jimenez, B., Tamman, A., Falzon, L., Zhu, X., Edmondson, D. E. i Neria, Y. (2019). Attention to threat in posttraumatic stress disorder as indexed by eye-tracking indices: a systematic review. *Psychological Medicine* 49(5): 705-726.
220. Leão, A. H., Meurer, Y. S., Freitas, T. A., Medeiros, A. M., Abílio, V. C., Izídio, G. S., Conceição, I. M., Ribeiro, A. M. i Silva, R. H. (2021). Changes in the mesocorticolimbic pathway after low dose reserpine-treatment in Wistar and Spontaneously Hypertensive Rats (SHR): Implications for cognitive deficits in a progressive animal model for Parkinson's disease. *Behavioural brain research* 410: 113349.
221. LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* 23: 155-184. DOI: 10.1146/annurev.neuro.23.1.155
222. LeDoux, J. E. i Gorman, J. M. (2001). A call to action: overcoming anxiety through active coping. *American journal of Psychiatry* 158(12): 1953-1955.
223. Ledoux, J. E., Sakaguchi, A. i Reis, D. (1983). Strain differences in fear between spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Brain Research* 277(1): 137-143.
224. Lee, H. J., Choi, J.-S., Brown, T. H. i Kim, J. J. (2001). Amygdalar NMDA receptors are critical for the expression of multiple conditioned fear responses. *Journal of Neuroscience* 21(11): 4116-4124.
225. Lerman, L. O., Chade, A. R., Sica, V. i Napoli, C. (2005). Animal models of hypertension: an overview. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 146(3): 160-173.
226. Leucht, S., Huhn, M. i Davis, J. M. (2021). Should 'typical', first-generation antipsychotics no longer be generally used in the treatment of schizophrenia?, Springer: 1-3,
227. Leung, A. i Chue, P. (2000). Sex differences in schizophrenia, a review of the literature. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 101(401): 3-38.
228. Levin, R., Calzavara, M. B., Santos, C. M., Medrano, W. A., Niigaki, S. T. i Abílio, V. C. (2011). Spontaneously Hypertensive Rats (SHR) present deficits in prepulse inhibition of startle specifically reverted by clozapine. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 35(7): 1748-1752.
229. Lewine, R. R., Fogg, L. i Meltzer, H. Y. (1983). Assessment of negative and positive symptoms in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin* 9(3): 368-376.
230. Leysen, J. E., Janssen, P., Gommeren, W., Wynants, J., Pauwels, P. J. i Janssen, P. (1992). In vitro and in vivo receptor binding and effects on monoamine turnover in rat brain regions of the novel antipsychotics risperidone and ocapiridone. *Molecular pharmacology* 41(3): 494-508.

231. Lichtermann, D., Karbe, E. i Maier, W. (2000). The genetic epidemiology of schizophrenia and of schizophrenia spectrum disorders. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 250: 304-310.
232. Light, G., Swerdlow, N., Cadenhead, K., Sprock, J., Radant, A. i Braff, D. (2007). One year stability of neurophysiological and cognitive endophenotypes of schizophrenia. *Proc Am Col Neuropsychopharmacology (Boca Raton, FL)*.
233. Lindquist, D. H., Jarrard, L. E. i Brown, T. H. (2004). Perirhinal cortex supports delay fear conditioning to rat ultrasonic social signals. *J Neurosci* 24(14): 3610-3617. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4839-03.2004
234. Lindström, L. H., Gefvert, O., Hagberg, G., Lundberg, T., Bergström, M., Hartvig, P. i Långström, B. (1999). Increased dopamine synthesis rate in medial prefrontal cortex and striatum in schizophrenia indicated by L-(β-11C) DOPA and PET. *Biological psychiatry* 46(5): 681-688.
235. Lippincott, L. i Rarey, K. (1997). Status of cochlear Na, K-ATPase in the aged SHR rat and its possible role in hearing loss. *European archives of oto-rhino-laryngology* 254: 413-416.
236. Lipska, B. K., Jaskiw, G. E. i Weinberger, D. R. (1993). Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic hippocampal damage: a potential animal model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 9(1): 67-75.
237. Lipska, B. K. i Weinberger, D. R. (1994). Subchronic treatment with haloperidol and clozapine in rats with neonatal excitotoxic hippocampal damage. *Neuropsychopharmacology* 10(3): 199-205.
238. Lissek, S., Powers, A. S., McClure, E. B., Phelps, E. A., Woldehawariat, G., Grillon, C. i Pine, D. S. (2005). Classical fear conditioning in the anxiety disorders: a meta-analysis. *Behaviour research and therapy* 43(11): 1391-1424.
239. Litvin, Y., Blanchard, D. C. i Blanchard, R. J. (2007). Rat 22 kHz ultrasonic vocalizations as alarm cries. *Behavioural brain research* 182(2): 166-172.
240. Lodge, D. J. i Grace, A. A. (2008). Hippocampal dysfunction and disruption of dopamine system regulation in an animal model of schizophrenia. *Neurotoxicity research* 14: 97-104.
241. Lommen, M. J., Engelhard, I. M., Sijbrandij, M., van den Hout, M. A. i Hermans, D. (2013). Pre-trauma individual differences in extinction learning predict posttraumatic stress. *Behaviour research and therapy* 51(2): 63-67.
242. Ludewig, K., Geyer, M. A., Etzensberger, M. i Vollenweider, F. X. (2002). Stability of the acoustic startle reflex, prepulse inhibition, and habituation in schizophrenia. *Schizophrenia research* 55(1-2): 129-137.
243. Luvsannyam, E., Jain, M. S., Pormento, M. K. L., Siddiqui, H., Balagtas, A. R. A., Emuze, B. O. i Poprawski, T. (2022). Neurobiology of schizophrenia: a comprehensive review. *Cureus* 14(4).
244. Luyten, L., Vansteenwegen, D., van Kuyck, K., Deckers, D. i Nuttin, B. (2011a). Optimization of a contextual conditioning protocol for rats using combined measurements of startle amplitude and freezing: the effects of shock intensity and different types of conditioning. *J Neurosci Methods* 194(2): 305-311. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2010.11.005
245. Luyten, L., Vansteenwegen, D., van Kuyck, K., Gabriëls, L. i Nuttin, B. (2011b). Contextual conditioning in rats as an animal model for generalized anxiety disorder. *Cognitive, affective, & behavioral neuroscience* 11: 228-244.
246. Lysaker, P. H. i Salyers, M. P. (2007). Anxiety symptoms in schizophrenia spectrum disorders: associations with social function, positive and negative symptoms, hope and trauma history. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 116(4): 290-298.
247. MacDonald, T. i Brudzynski, S. M. (2018). Ultrasonic vocalizations, their recording, and bioacoustic analysis. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Elsevier. 25: 7-19.
248. MacNamara, A., Post, D., Kennedy, A. E., Rabinak, C. A. i Phan, K. L. (2013). Electrocutaneous processing of social signals of threat in combat-related post-traumatic stress disorder. *Biological psychology* 94(2): 441-449.
249. Madhyastha, S., Rao, M. S. i Renno, W. M. (2024). Serotonergic and Adrenergic Neuroreceptor Manipulation Ameliorates Core Symptoms of ADHD through Modulating Dopaminergic Receptors in Spontaneously Hypertensive Rats. *International Journal of Molecular Sciences* 25(4): 2300.
250. Maier, W., Falkai, P. i Wagner, M. (1999). Schizophrenia spectrum disorders: a review. *Schizophrenia* 2: 311-405.
251. Mar, C. M., Smith, D. A. i Sarter, M. (1996). Behavioural vigilance in schizophrenia: Evidence for hyperattentive processing. *The British Journal of Psychiatry* 169(6): 781-789.
252. Maren, S. i Fanselow, M. S. (1996). The amygdala and fear conditioning: has the nut been cracked? *Neuron* 16(2): 237-240.
253. Maren, S., Phan, K. L. i Liberzon, I. (2013). The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nature reviews neuroscience* 14(6): 417-428.

254. Matsumoto, J., Kanno, K., Kato, M., Nishimaru, H., Setogawa, T., Chinzorig, C., Shibata, T. i Nishijo, H. (2022). Acoustic camera system for measuring ultrasound communication in mice. *IScience* 25(8).
255. Matsumoto, J., Nishimaru, H., Takamura, Y., Urakawa, S., Ono, T. i Nishijo, H. (2016). Amygdalar auditory neurons contribute to self-other distinction during ultrasonic social vocalization in rats. *Frontiers in Neuroscience* 10: 399.
256. McCarty, R. (1983). Stress, behavior and experimental hypertension. *Neurosci Biobehav Rev* 7(4): 493-502. DOI: 10.1016/0149-7634(83)90029-5
257. McCarty, R. i Kirby, R. F. (1982). Spontaneous hypertension and open-field behavior. *Behav Neural Biol* 34(4): 450-452. DOI: 10.1016/s0163-1047(82)91903-3
258. McCormick, J., Harris, D., Hartley, C. i Lassiter, R. (1982). Spontaneous genetic hypertension in the rat and its relationship to reduced ac cochlear potentials: implications for preservation of human hearing. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 79(8): 2668-2672.
259. McCutcheon, R., Beck, K., Jauhar, S. i Howes, O. D. (2018). Defining the locus of dopaminergic dysfunction in schizophrenia: a meta-analysis and test of the mesolimbic hypothesis. *Schizophrenia bulletin* 44(6): 1301-1311.
260. McGill, R., Tukey, J. W. i Larsen, W. A. (1978). Variations of box plots. *The american statistician* 32(1): 12-16.
261. McIntosh, T. K., Barfield, R. J. i Geyer, L. A. (1978). Ultrasonic vocalisations facilitate sexual behaviour of female rats. *Nature* 272(5649): 163-164.
262. Meneses, A. i Hong, E. (1998). Spontaneously hypertensive rats: a potential model to identify drugs for treatment of learning disorders. *Hypertension* 31(4): 968-972.
263. Meneses, A., Perez-Garcia, G., Ponce-Lopez, T., Tellez, R., Gallegos-Cari, A. i Castillo, C. (2011). Spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model for ADHD: a short overview.
264. Miczek, K. i Barros, H. (1996). Withdrawal from oral cocaine in rats: ultrasonic vocalizations and tactile startle. *Psychopharmacology* 125: 379-384.
265. Miczek, K. A. i Vivian, J. A. (1993). Automatic quantification of withdrawal from 5-day diazepam in rats: ultrasonic distress vocalizations and hyperreflexia to acoustic startle stimuli. *Psychopharmacology* 110: 379-382.
266. Miki, K. i Yoshimoto, M. (2010). Role of differential changes in sympathetic nerve activity in the preparatory adjustments of cardiovascular functions during freezing behaviour in rats. *Experimental Physiology* 95(1): 56-60.
267. Mikics, E., Baranyi, J. i Haller, J. (2008). Rats exposed to traumatic stress bury unfamiliar objects—a novel measure of hyper-vigilance in PTSD models? *Physiology & behavior* 94(3): 341-348.
268. Miller, D. D., Arndt, S. i Andreasen, N. C. (1993). Alogia, attentional impairment, and inappropriate affect: their status in the dimensions of schizophrenia. *Comprehensive Psychiatry* 34(4): 221-226.
269. Miyamoto, S., Duncan, G., Marx, C. i Lieberman, J. (2005). Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. *Molecular Psychiatry* 10(1): 79-104.
270. Miyamoto, Y. i Nitta, A. (2014). Behavioral phenotypes for negative symptoms in animal models of schizophrenia. *Journal of Pharmacological Sciences* 126(4): 310-320.
271. Moghaddam, B. i Jackson, M. E. (2003). Glutamatergic animal models of schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1003(1): 131-137.
272. Moore, H., Jentsch, J. D., Ghajarnia, M., Geyer, M. A. i Grace, A. A. (2006). A neurobehavioral systems analysis of adult rats exposed to methylazoxymethanol acetate on E17: implications for the neuropathology of schizophrenia. *Biological psychiatry* 60(3): 253-264.
273. Moran, E. K., Culbreth, A. J. i Barch, D. M. (2022). Anhedonia in schizophrenia. Anhedonia: Preclinical, translational, and clinical integration, Springer: 129-145.
274. Morimoto, T., Hashimoto, K., Yasumatsu, H., Tanaka, H., Fujimura, M., Kuriyama, M., Kimura, K., Takehara, S. i Yamagami, K. (2002). Neuropharmacological profile of a novel potential atypical antipsychotic drug Y-931 (8-fluoro-12-(4-methylpiperazin-1-yl)-6H-[1, 5] benzothieno [2, 3-b][1, 5] benzodiazepine maleate). *Neuropsychopharmacology* 26(4): 456-467.
275. Mormède, P., Moneva, E., Bruneval, C., Chaouloff, F. i Moisan, M. P. (2002). Marker-assisted selection of a neuro-behavioural trait related to behavioural inhibition in the SHR strain, an animal model of ADHD. *Genes, Brain and Behavior* 1(2): 111-116.
276. Morris, J. i Dolan, R. J. (2004). Dissociable amygdala and orbitofrontal responses during reversal fear conditioning. *Neuroimage* 22(1): 372-380.
277. Morrison, R. L., Bellack, A. S. i Mueser, K. T. (1988). Deficits in facial-affect recognition and schizophrenia. *Schizophrenia bulletin* 14(1): 67-83.

278. Mutică, M., Marinescu, I., Militaru, F., Pirlog, M.-C. i Udriștoiu, I. (2016). Clinical and biological outcomes of prolonged treatment with haloperidol in schizophrenia. *Rom J Morphol Embryol* 57(2): 477-481.
279. Naranjo, C. J., Osborne, A. L. i Weston-Green, K. (2019). Effect of cannabidiol on muscarinic neurotransmission in the pre-frontal cortex and hippocampus of the poly I: C rat model of schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 94: 109640.
280. Narihara, I., Yokoyama, H., Namba, H., Sotoyama, H., Inaba, H., Kitayama, E., Tamada, K., Takumi, T. i Nawa, H. (2022). Increased self-triggered vocalizations in an epidermal growth factor-induced rat model for schizophrenia. *Scientific reports* 12(1): 12917.
281. Niemegeers, C. J. i Laduron, P. M. (1976). Pharmacology and biochemistry of haloperidol. *Proceedings of the Royal Society of Medicine* 69(1_suppl): 3-8.
282. Nietlisbach, G. i Maercker, A. (2009). Social cognition and interpersonal impairments in trauma survivors with PTSD. *Journal of Aggression, Maltreatment & Trauma* 18(4): 382-402.
283. Niigaki, S. T., Peres, F. F., Ferreira, L., Libanio, T., Gouvea, D. A., Levin, R., Almeida, V., Silva, N. D., Diana, M. C. i Suiama, M. A. (2019). Young spontaneously hypertensive rats (SHRs) display prodromal schizophrenia-like behavioral abnormalities. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 90: 169-176.
284. O'Tuathaigh, C. M., Kirby, B. P., Moran, P. M. i Waddington, J. L. (2010). Mutant mouse models: genotype-phenotype relationships to negative symptoms in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin* 36(2): 271-288.
285. Ohyama, M., Kondo, M., Yamauchi, M., Imanishi, T. i Koyama, T. (2016). Asenapine reduces anxiety-related behaviours in rat conditioned fear stress model. *Acta Neuropsychiatrica* 28(6): 327-336.
286. Okabe, S., Takayanagi, Y., Yoshida, M. i Onaka, T. (2021). Post-weaning stroking stimuli induce affiliative behavior toward humans and influence brain activity in female rats. *Sci Rep* 11(1): 3805. DOI: 10.1038/s41598-021-83314-w
287. Olszyński, K. H., Polowy, R., Małż, M., Boguszewski, P. M. i Filipkowski, R. K. (2020). Playback of alarm and appetitive calls differentially impacts vocal, heart-rate, and motor response in rats. *IScience* 23(10).
288. Olszyński, K. H., Polowy, R., Wardak, A. D., Grymanowska, A. W. i Filipkowski, R. K. (2021). Increased vocalization of rats in response to ultrasonic playback as a sign of hypervigilance following fear conditioning. *Brain Sciences* 11(8): 970.
289. Olszyński, K. H., Polowy, R., Wardak, A. D., Grymanowska, A. W., Zieliński, J. i Filipkowski, R. K. (2023a). Spontaneously hypertensive rats manifest deficits in emotional response to 22-kHz and 50-kHz ultrasonic playback. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 120: 110615.
290. Olszyński, K. H., Polowy, R., Wardak, A. D., Łaska, I. A., Grymanowska, A. W., Puławski, W., Gawryś, O., Koliński, M. i Filipkowski, R. K. (2023b). Rats emit aversive 44-kHz ultrasonic vocalizations during prolonged Pavlovian fear conditioning. *Elife* 12: RP88810. DOI: 10.7554/eLife.88810.2
291. Osacka, J., Kiss, A., Bacova, Z. i Tillinger, A. (2022). Effect of haloperidol and olanzapine on hippocampal cells' proliferation in animal model of schizophrenia. *International Journal of Molecular Sciences* 23(14): 7711.
292. Osborne, A. L., Solowij, N., Babic, I., Huang, X. F. i Weston-Green, K. (2017). Improved Social Interaction, Recognition and Working Memory with Cannabidiol Treatment in a Prenatal Infection (poly I:C) Rat Model. *Neuropsychopharmacology* 42(7): 1447-1457. DOI: 10.1038/npp.2017.40
293. Ouda, L., Jílek, M. i Syka, J. (2016). Expression of c-Fos in rat auditory and limbic systems following 22-kHz calls. *Behavioural brain research* 308: 196-204.
294. Overmier, J. B. i Murison, R. (2005). Trauma and resulting sensitization effects are modulated by psychological factors. *Psychoneuroendocrinology* 30(10): 965-973.
295. Pai, A., Suris, A. M. i North, C. S. (2017). Posttraumatic stress disorder in the DSM-5: Controversy, change, and conceptual considerations. *Behavioral sciences* 7(1): 7.
296. Palaia, T., Park, J., Knibbs, N. i Ciccone, J. (2018). Sympathetic System. *BASIC Essentials: A Comprehensive Review for the Anesthesiology BASIC Exam*: 122.
297. Panagioti, M., Gooding, P. A., Taylor, P. i Tarrier, N. (2014). Perceived social support buffers the impact of PTSD symptoms on suicidal behavior: Implications into suicide resilience research. *Comprehensive Psychiatry* 55(1): 104-112.
298. Panksepp, J. (2007). Neuroevolutionary sources of laughter and social joy: Modeling primal human laughter in laboratory rats. *Behavioural brain research* 182(2): 231-244.

299. Panksepp, J. i Burgdorf, J. (2000). 50-kHz chirping (laughter?) in response to conditioned and unconditioned tickle-induced reward in rats: effects of social housing and genetic variables. *Behavioural brain research* 115(1): 25-38.
300. Panksepp, J. i Burgdorf, J. (2003). "Laughing" rats and the evolutionary antecedents of human joy? *Physiology & behavior* 79(3): 533-547.
301. Papaleo, F., Yang, F., Garcia, S., Chen, J., Lu, B., Crawley, J. i Weinberger, D. (2012). Dysbindin-1 modulates prefrontal cortical activity and schizophrenia-like behaviors via dopamine/D2 pathways. *Molecular Psychiatry* 17(1): 85-98.
302. Papaleo, F., Yang, F., Paterson, C., Palumbo, S., Carr, G. V., Wang, Y., Floyd, K., Huang, W., Thomas, C. J. i Chen, J. (2016). Behavioral, neurophysiological, and synaptic impairment in a transgenic neuregulin1 (NRG1-IV) murine schizophrenia model. *Journal of Neuroscience* 36(17): 4859-4875.
303. Pare, W. P. (1994). Open field, learned helplessness, conditioned defensive burying, and forced-swim tests in WKY rats. *Physiol Behav* 55(3): 433-439. DOI: 10.1016/0031-9384(94)90097-3
304. Parker, V. i Morinan, A. (1986). The socially-isolated rat as a model for anxiety. *Neuropharmacology*.
305. Pavlov, P. I. (1927). Conditioned reflexes: An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. *Ann Neurosci* 17(3): 136-141. DOI: 10.5214/ans.0972-7531.1017309
306. Pavlova, I., Broshevitskaya, N., Zaichenko, M. i Grigoryan, G. (2022). Effects of social isolation and an enriched environment on anxious-depressive behavior in rats in normal conditions and after early proinflammatory stress. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 52(5): 684-697.
307. Peleg-Raibstein, D., Knuesel, I. i Feldon, J. (2008). Amphetamine sensitization in rats as an animal model of schizophrenia. *Behavioural brain research* 191(2): 190-201.
308. Pellow, S., Chopin, P., File, S. E. i Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of neuroscience methods* 14(3): 149-167.
309. Pentkowski, N. S., Bouquin, S. J., Maestas-Olguin, C. R., Villasenor, Z. M. i Clark, B. J. (2022). Differential effects of chronic stress on anxiety-like behavior and contextual fear conditioning in the TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease. *Behavioural brain research* 418: 113661.
310. Pereira, M., Andreatini, R., Schwarting, R. K. i Brenes, J. C. (2014). Amphetamine-induced appetitive 50-kHz calls in rats: a marker of affect in mania? *Psychopharmacology* 231: 2567-2577.
311. Peres, F. F., Diana, M. C., Levin, R., Suizama, M. A., Almeida, V., Vendramini, A. M., Santos, C. M., Zuardi, A. W., Hallak, J. E. C., Crippa, J. A. i Abilio, V. C. (2018a). Cannabidiol Administered During Peri-Adolescence Prevents Behavioral Abnormalities in an Animal Model of Schizophrenia. *Front Pharmacol* 9: 901. DOI: 10.3389/fphar.2018.00901
312. Peres, F. F., Eufrásio, R. Á., Gouvêa, D. A., Diana, M. C., Santos, C. M., Swardfager, W., Abílio, V. C. i Cogo-Moreira, H. (2018b). A schizophrenia-like behavioral trait in the SHR model: Applying confirmatory factor analysis as a new statistical tool. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 85: 16-22.
313. Pickard, B. (2011). Progress in defining the biological causes of schizophrenia. *Expert reviews in molecular medicine* 13: e25.
314. Porges, S. (2010). Stress and parasympathetic control. *Stress science: neuroendocrinology*: 306-312.
315. Porges, S. W. (2001). The polyvagal theory: phylogenetic substrates of a social nervous system. *International journal of psychophysiology* 42(2): 123-146.
316. Portfors, C. V. (2007). Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 46(1): 28-34.
317. Poulos, A. M., Mehta, N., Lu, B., Amir, D., Livingston, B., Santarelli, A., Zhuravka, I. i Fanselow, M. S. (2016). Conditioning-and time-dependent increases in context fear and generalization. *Learning & memory* 23(7): 379-385.
318. Powell, C. M. i Miyakawa, T. (2006). Schizophrenia-relevant behavioral testing in rodent models: a uniquely human disorder? *Biological psychiatry* 59(12): 1198-1207.
319. Premoli, M., Pietropaolo, S., Wöhr, M., Simola, N. i Bonini, S. A. (2023). Mouse and rat ultrasonic vocalizations in neuroscience and neuropharmacology: State of the art and future applications. *European Journal of Neuroscience* 57(12): 2062-2096.
320. Prut, L. i Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology* 463(1-3): 3-33.
321. Pultorak, J. D., Kelm-Nelson, C. A., Holt, L. R., Blue, K. V., Ciucci, M. R. i Johnson, A. M. (2016). Decreased approach behavior and nucleus accumbens immediate early gene expression in response to Parkinsonian ultrasonic vocalizations in rats. *Social Neuroscience* 11(4): 365-379.
322. Qian, Y., Lei, G., Castellanos, F. X., Forssberg, H. i Heijtz, R. D. (2010). Deficits in fine motor skills in a genetic animal model of ADHD. *Behav Brain Funct* 6: 51. DOI: 10.1186/1744-9081-6-51

323. Quinn, J. J., Ma, Q. D., Tinsley, M. R., Koch, C. i Fanselow, M. S. (2008). Inverse temporal contributions of the dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex to the expression of long-term fear memories. *Learning & memory* 15(5): 368-372.
324. Ramos, A., Kangurski, A. L., Basso, P. F., Da Silva Santos, J. E., Assreuy, J., Vendruscolo, L. F. i Takahashi, R. N. (2002). Evaluation of Lewis and SHR rat strains as a genetic model for the study of anxiety and pain. *Behav Brain Res* 129(1-2): 113-123. DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00337-0
325. Rao, R. M. i Sadananda, M. (2015). Strain-and context-based 50 kHz ultrasonic vocalizations and anxiety behaviour in the Wistar-Kyoto rat. *Journal of biosciences* 40: 561-570.
326. Rasmussen, S. A., Rosebush, P. I. i Mazurek, M. F. (2017). The relationship between early haloperidol response and associated extrapyramidal side effects. *Journal of clinical psychopharmacology* 37(1): 8-12.
327. Redei, E. E., Solberg, L. C., Kluczynski, J. M. i Pare, W. P. (2001). Paradoxical hormonal and behavioral responses to hypothyroid and hyperthyroid states in the Wistar-Kyoto rat. *Neuropsychopharmacology* 24(6): 632-639. DOI: 10.1016/S0893-133X(00)00229-3
328. Regan, S. L., Williams, M. T. i Vorhees, C. V. (2022). Review of rodent models of attention deficit hyperactivity disorder. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 132: 621-637.
329. Riede, T. (2011). Subglottal pressure, tracheal airflow, and intrinsic laryngeal muscle activity during rat ultrasound vocalization. *Journal of neurophysiology* 106(5): 2580-2592.
330. Riede, T. (2013). Stereotypic L aryneal and R espiratory M otor P atterns G enerate D ifferent C all T ypes in R at U ltrasound V ocalization. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* 319(4): 213-224.
331. Rippberger, H., M van Gaalen, M., KW Schwarting, R. i Wöhr, M. (2015). Environmental and pharmacological modulation of amphetamine-induced 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats. *Current Neuropharmacology* 13(2): 220-232.
332. Ritsner, M. S., Ratner, Y., Mendyk, N. i Gooding, D. C. (2018). The characterization of social anhedonia and its correlates in schizophrenia and schizoaffective patients. *Psychiatry research* 270: 922-928.
333. Robakiewicz, I., Polak, M., Rawska, M., Alberski, D., Polowy, R., Wytrychiewicz, K., Syperek, M., Matysiak, J. i Filipkowski, R. (2019). Stimulus-seeking in rats is accompanied by increased c-Fos expression in hippocampal CA1 as well as short 22 kHz and flat 50 kHz calls. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 79(3): 309-317.
334. Robinson, A. M. i Bucci, D. J. (2014). Individual and combined effects of physical exercise and methylphenidate on orienting behavior and social interaction in spontaneously hypertensive rats. *Behavioral neuroscience* 128(6): 703.
335. Robinson, A. M., Eggleston, R. L. i Bucci, D. J. (2021). Physical exercise and catecholamine reuptake inhibitors affect orienting behavior and social interaction in a rat model of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Behavioral neuroscience* 135(5): 591.
336. Rodriguez-Romaguera, J., Do Monte, F. H. i Quirk, G. J. (2012). Deep brain stimulation of the ventral striatum enhances extinction of conditioned fear. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(22): 8764-8769. DOI: 10.1073/pnas.1200782109
337. Roiser, J., Stephan, K., Den Ouden, H., Barnes, T., Friston, K. i Joyce, E. (2009). Do patients with schizophrenia exhibit aberrant salience? *Psychological Medicine* 39(2): 199-209.
338. Rosecrans, J. A. i Adams, M. D. (1976). Brain 5-hydroxytryptamine correlates of behavior: studies involving spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav* 5(5): 559-564. DOI: 10.1016/0091-3057(76)90269-0
339. Russell, V., de Villiers, A., Sagvolden, T., Lamm, M. i Taljaard, J. (1995). Altered dopaminergic function in the prefrontal cortex, nucleus accumbens and caudate-putamen of an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder—the spontaneously hypertensive rat. *Brain research* 676(2): 343-351.
340. Rutter, D. (1985). Language in schizophrenia: The structure of monologues and conversations. *The British Journal of Psychiatry* 146(4): 399-404.
341. Sabbatini, M., Catalani, A., Consoli, C., Marletta, N., Tomassoni, D. i Avola, R. (2002). The hippocampus in spontaneously hypertensive rats: an animal model of vascular dementia? *Mechanisms of ageing and development* 123(5): 547-559.
342. Sachs, B. D. i Bialy, M. (2000). Female presence during postejaculatory interval facilitates penile erection and 22-kHz vocalization in male rats. *Behavioral neuroscience* 114(6): 1203.
343. Sadananda, M., Wöhr, M. i Schwarting, R. K. (2008). Playback of 22-kHz and 50-kHz ultrasonic vocalizations induces differential c-fos expression in rat brain. *Neuroscience letters* 435(1): 17-23.
344. Sadowski, B. (2001). Biologiczne mechanizmy zachowania ludzi i zwierząt. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.

345. Sagvolden, T. (2000). Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 24(1): 31-39.
346. Sagvolden, T., Pettersen, M. B. i Larsen, M. C. (1993). Spontaneously hypertensive rats (SHR) as a putative animal model of childhood hyperkinesia: SHR behavior compared to four other rat strains. *Physiology & behavior* 54(6): 1047-1055.
347. Saito, H., Togashi, H., Yoshioka, M., Nakamura, N., Minami, M. i Parvez, H. S. (2020). Animal models of vascular dementia with emphasis on stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *New Advances in SHR Research-Pathophysiology & Pharmacology*, CRC Press: 159-171.
348. Saito, Y., Tachibana, R. O. i Okanoya, K. (2019). Acoustical cues for perception of emotional vocalizations in rats. *Scientific reports* 9(1): 10539.
349. Salamone, J. D. i Correa, M. (2012). The mysterious motivational functions of mesolimbic dopamine. *Neuron* 76(3): 470-485.
350. Sams-Dodd, F. (1998). A test of the predictive validity of animal models of schizophrenia based on phencyclidine and D-amphetamine. *Neuropsychopharmacology* 18(4): 293-304.
351. Santoro, M. L., Ota, V. K., Stilhano, R. S., Silva, P. N., Santos, C. M., Diana, M. C., Gadelha, A., Bressan, R. A., Melaragno, M. I. i Han, S. W. (2014). Effect of antipsychotic drugs on gene expression in the prefrontal cortex and nucleus accumbens in the spontaneously hypertensive rat (SHR). *Schizophrenia research* 157(1-3): 163-168.
352. Santos, J. M., Martinez, R. C. i Brandao, M. L. (2006). Effects of acute and subchronic treatments with fluoxetine and desipramine on the memory of fear in moderate and high-intensity contextual conditioning. *Eur J Pharmacol* 542(1-3): 121-128. DOI: 10.1016/j.ejphar.2006.06.019
353. Schiwy, L. C., Forlim, C. G., Fischer, D. J., Kühn, S., Becker, M. i Gallinat, J. (2022). Aberrant functional connectivity within the salience network is related to cognitive deficits and disorganization in psychosis. *Schizophrenia research* 246: 103-111.
354. Schmitt, U., Dahmen, N., Fischer, V., Weigmann, H., Rao, M. L., Reuss, S. i Hiemke, C. (1999). Chronic oral haloperidol and clozapine in rats: A behavioral evaluation. *Neuropsychobiology* 39(2): 86-91. DOI: 10.1159/000026566
355. Schultz, W. (2007). Behavioral dopamine signals. *Trends in neurosciences* 30(5): 203-210.
356. Schwarting, R. K. (2023). Behavioral analysis in laboratory rats: challenges and usefulness of 50-kHz ultrasonic vocalizations. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 152: 105260.
357. Seeman, P., Chau-Wong, M., Tedesco, J. i Wong, K. (1975). Brain receptors for antipsychotic drugs and dopamine: direct binding assays. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 72(11): 4376-4380.
358. Seeman, P., Lee, T., Chau-Wong, M. i Wong, K. (1976). Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature* 261(5562): 717-719.
359. Seeman, P., Wong, M. i Lee, T. (1974). Dopamine receptor block and nigral fiber impulse blockade by major tranquilizers. 33: No. 243.
360. Seffer, D., Rippberger, H., Schwarting, R. K. i Wöhr, M. (2015). Pro-social 50-kHz ultrasonic communication in rats: post-weaning but not post-adolescent social isolation leads to social impairments—phenotypic rescue by re-socialization. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 9: 102.
361. Seffer, D., Schwarting, R. K. i Wöhr, M. (2014). Pro-social ultrasonic communication in rats: insights from playback studies. *J Neurosci Methods* 234: 73-81. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2014.01.023
362. Seffer, D., Schwarting, R. K. i Wöhr, M. (2018). Environmental Effects on Rat Ultrasonic Vocalizations and Brain Plasticity: Social Isolation and Environmental Enrichment. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Elsevier. 25: 371-382.
363. Seibenhener, M. L. i Wooten, M. C. (2015). Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(96): e52434.
364. Serra, M., Pisu, M., Floris, I. i Biggio, G. (2005). Social isolation-induced changes in the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the rat. *Stress* 8(4): 259-264.
365. Shanks, J., Manou-Stathopoulou, S., Lu, C. J., Li, D., Paterson, D. J. i Herring, N. (2013). Cardiac sympathetic dysfunction in the prehypertensive spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 305(7): H980-986. DOI: 10.1152/ajpheart.00255.2013
366. Shimoju, R. (2022). Harmonics and frequency-modulated calls indicate different motivational states in rats. *Behavioural Processes* 200: 104697.
367. Shin, E.-J., Kim, J.-M., T Nguyen, X.-K., L Nguyen, T.-T., Y Lee, S., Jung, J.-H., J Kim, M., K Whang, W., Yamada, K. i Nabeshima, T. (2011). Effects of *Gastrodia elata* Bl on phencyclidine-induced schizophrenia-like psychosis in mice. *Current Neuropharmacology* 9(1): 247-250.

368. Shirayama, Y. i Hashimoto, K. (2017). Effects of a single bilateral infusion of R-ketamine in the rat brain regions of a learned helplessness model of depression. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 267: 177-182.
369. Siegmund, A. i Wotjak, C. T. (2006). Toward an animal model of posttraumatic stress disorder. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1071(1): 324-334.
370. Sikazwe, D. M., Li, S., Lyles-Eggleston, M. i Ablordeppey, S. Y. (2003). The acute EPS of haloperidol may be unrelated to its metabolic transformation to BCPP+. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 13(21): 3779-3782.
371. Silkstone, M. i Brudzynski, S. M. (2019a). The antagonistic relationship between aversive and appetitive emotional states in rats as studied by pharmacologically-induced ultrasonic vocalization from the nucleus accumbens and lateral septum. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 181: 77-85. DOI: 10.1016/j.pbb.2019.04.009
372. Silkstone, M. i Brudzynski, S. M. (2019b). Intracerebral injection of R(-)-Apomorphine into the nucleus accumbens decreased carbachol-induced 22-kHz ultrasonic vocalizations in rats. *Behavioural Brain Research* 364: 264-273. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.01.044
373. Simola, N., Fenu, S., Costa, G., Pinna, A., Plumitallo, A. i Morelli, M. (2012). Pharmacological characterization of 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats: comparison of the effects of different psychoactive drugs and relevance in drug-induced reward. *Neuropharmacology* 63(2): 224-234.
374. Smith, P. G., Poston, C. W. i Mills, E. (1984). Ontogeny of neural and non-neural contributions to arterial blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 6(1): 54-60. DOI: 10.1161/01.hyp.6.1.54
375. Spiegel, D., Koopman, C. i Classen, C. (1994). Acute stress disorder and dissociation. *Australian Journal of Clinical and Experimental Hypnosis* 22: 11-11.
376. Staub, E. i Vollhardt, J. (2008). Altruism born of suffering: The roots of caring and helping after victimization and other trauma. *American Journal of Orthopsychiatry* 78(3): 267-280.
377. Sterling, M. L., Teunisse, R. i Englitz, B. (2023). Rodent ultrasonic vocal interaction resolved with millimeter precision using hybrid beamforming. *Elife* 12: e86126.
378. Stevens, J. S. i Jovanovic, T. (2019). Role of social cognition in post-traumatic stress disorder: A review and meta-analysis. *Genes, Brain and Behavior* 18(1): e12518.
379. Stilo, S. A. i Murray, R. M. (2019). Non-genetic factors in schizophrenia. *Current psychiatry reports* 21: 1-10.
380. Stogios, N., Gdanski, A., Gerretsen, P., Chintoh, A. F., Graff-Guerrero, A., Rajji, T. K., Remington, G., Hahn, M. K. i Agarwal, S. M. (2021). Autonomic nervous system dysfunction in schizophrenia: impact on cognitive and metabolic health. *NPJ schizophrenia* 7(1): 22.
381. Sturman, O., Germain, P.-L. i Bohacek, J. (2018). Exploratory rearing: a context-and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. *Stress* 21(5): 443-452.
382. Subramanian, U. (2022). Validation of Animal Models. Introduction to Basics of Pharmacology and Toxicology: Volume 3: Experimental Pharmacology: Research Methodology and Biostatistics, Springer: 157-170.
383. Swerdlow, N. R., Braff, D., Geyer, M., Lipska, B., Weinberger, D. i Jaskiw, G. (1995). Increased sensitivity to the sensorimotor gating-disruptive effects of apomorphine after lesions of medial prefrontal cortex or ventral hippocampus in adult rats. *Psychopharmacology* 122: 27-34.
384. Swerdlow, N. R., Breier, M., Mora, A. B., Ko, D. i Shoemaker, J. M. (2008a). A novel rat strain with enhanced sensitivity to the effects of dopamine agonists on startle gating. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 88(3): 280-290.
385. Swerdlow, N. R. i Geyer, M. A. (1993). Clozapine and haloperidol in an animal model of sensorimotor gating deficits in schizophrenia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 44(3): 741-744.
386. Swerdlow, N. R., Light, G. A., Cadenhead, K. S., Sprock, J., Hsieh, M. H. i Braff, D. L. (2006a). Startle gating deficits in a large cohort of patients with schizophrenia: relationship to medications, symptoms, neurocognition, and level of function. *Archives of general psychiatry* 63(12): 1325-1335.
387. Swerdlow, N. R., Talledo, J., Sutherland, A. N., Nagy, D. i Shoemaker, J. M. (2006b). Antipsychotic effects on prepulse inhibition in normal 'low gating' humans and rats. *Neuropsychopharmacology* 31(9): 2011-2021.
388. Swerdlow, N. R., Weber, M., Qu, Y., Light, G. A. i Braff, D. L. (2008b). Realistic expectations of prepulse inhibition in translational models for schizophrenia research. *Psychopharmacology* 199: 331-388.
389. Szczotka, J. i Majchrowicz, B. (2018). Schizophrenia as a disorder of embodied self. *Psychiatr Pol* 52(2): 199-215.
390. Takahashi, S. (2013). Heterogeneity of schizophrenia: Genetic and symptomatic factors. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 162(7): 648-652.

391. Tandon, R. (1999). Cholinergic aspects of schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry* 174(S37): 7-11.
392. Tandon, R., Gaebel, W., Barch, D. M., Bustillo, J., Gur, R. E., Heckers, S., Malaspina, D., Owen, M. J., Schultz, S. i Tsuang, M. (2013). Definition and description of schizophrenia in the DSM-5. *Schizophrenia research* 150(1): 3-10.
393. Tapias-Espinosa, C., Río-Álamos, C., Sánchez-González, A., Oliveras, I., Sampedro-Viana, D., Castillo-Ruiz, M. d. M., Cañete, T., Tobeña, A. i Fernández-Teruel, A. (2019). Schizophrenia-like reduced sensorimotor gating in intact inbred and outbred rats is associated with decreased medial prefrontal cortex activity and volume. *Neuropsychopharmacology* 44(11): 1975-1984.
394. Tayebati, S. K. (2011). Animal Models of VaD: Any Utility for Clinical Application? *JOURNAL OF THE NEUROLOGICAL SCIENCES* 322(1-2): 241-249.
395. Taylor, J. O., Urbano, C. M. i Cooper, B. G. (2017). Differential patterns of constant frequency 50 and 22 khz usv production are related to intensity of negative affective state. *Behavioral neuroscience* 131(1): 115.
396. Tchekalarova, J., Krushovlieva, D., Ivanova, P. i Kortenska, L. (2023). Spontaneously hypertensive rats vs. Wistar Kyoto and Wistar rats: an assessment of anxiety, motor activity, memory performance, and seizure susceptibility. *Physiology & behavior* 269: 114268.
397. Temmingh, H. i Stein, D. J. (2015). Anxiety in patients with schizophrenia: Epidemiology and management. *CNS drugs* 29: 819-832.
398. Thomas, D. A., Takahashi, L. K. i Barfield, R. J. (1983). Analysis of ultrasonic vocalizations emitted by intruders during aggressive encounters among rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology* 97(3): 201.
399. Tilson, H. A., Chamberlain, J. H., Gyls, J. A. i Buyniski, J. P. (1977). Behavioral suppressant effects of clonidine in strains of normotensive and hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 43(2): 99-105. DOI: 10.1016/0014-2999(77)90122-4
400. Török, B., Fodor, A., Klausz, B., Varga, J. i Zelena, D. (2021). Ameliorating schizophrenia-like symptoms in vasopressin deficient male Brattleboro rat by chronic antipsychotic treatment. *European journal of pharmacology* 909: 174383.
401. Trémeau, F. (2006). A review of emotion deficits in schizophrenia. *Dialogues in clinical neuroscience* 8(1): 59-70.
402. Tsuang, M. (2000). Schizophrenia: genes and environment. *Biological psychiatry* 47(3): 210-220.
403. Tuominen, L., Romaniuk, L., Milad, M. R., Goff, D. C., Hall, J. i Holt, D. J. (2022). Impairment in acquisition of conditioned fear in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 47(3): 681-686.
404. Turnock-Jones, J. J., Jennings, C. A., Robbins, M. J., Cluderay, J. E., Cilia, J., Reid, J. L., Taylor, A., Jones, D. N., Emson, P. C. i Southam, E. (2009). Increased expression of the NR2A NMDA receptor subunit in the prefrontal cortex of rats reared in isolation. *Synapse* 63(10): 836-846.
405. Valsamis, B. i Schmid, S. (2011). Habituation and prepulse inhibition of acoustic startle in rodents. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(55): e3446.
406. Valvassori, S. S., Da Rosa, R. T., Dal-Pont, G. C., Varela, R. B., Mastella, G. A., Daminelli, T., Fries, G. R., Quevedo, J. i Zugno, A. I. (2023). Haloperidol alters neurotrophic factors and epigenetic parameters in an animal model of schizophrenia induced by ketamine. *International Journal of Developmental Neuroscience* 83(8): 691-702.
407. Van den Berg, C. L., Pijlman, F. T., Koning, H. A., Diergaarde, L., Van Ree, J. M. i Spruijt, B. M. (1999). Isolation changes the incentive value of sucrose and social behaviour in juvenile and adult rats. *Behavioural brain research* 106(1-2): 133-142.
408. van den Bergh, F. S., Bloemarts, E., Chan, J. S., Groenink, L., Olivier, B. i Oosting, R. S. (2006). Spontaneously hypertensive rats do not predict symptoms of attention-deficit hyperactivity disorder. *Pharmacol Biochem Behav* 83(3): 380-390. DOI: 10.1016/j.pbb.2006.02.018
409. Van Den Buuse, M. (1994). Circadian rhythms of blood pressure, heart rate, and locomotor activity in spontaneously hypertensive rats as measured with radio-telemetry. *Physiology & behavior* 55(4): 783-787.
410. Van Wyk, M. (2013). The relationship between PTSD, hypervigilance and disordered sleep.
411. Van Zyl, P., Dimatelis, J. i Russell, V. (2014). Changes in behavior and ultrasonic vocalizations during antidepressant treatment in the maternally separated Wistar-Kyoto rat model of depression. *Metabolic brain disease* 29: 495-507.
412. Vielle, C., Montanari, C., Pelloux, Y. i Baunez, C. (2021). Evidence for a vocal signature in the rat and its reinforcing effects: a key role for the subthalamic nucleus. *Proceedings of the Royal Society B* 288(1965): 20212260.
413. Vollhardt, J. R. (2009). Altruism born of suffering and prosocial behavior following adverse life events: A review and conceptualization. *Social Justice Research* 22: 53-97.

414. Vollmayr, B. i Henn, F. A. (2001). Learned helplessness in the rat: improvements in validity and reliability. *Brain Research Protocols* 8(1): 1-7.
415. Walf, A. A. i Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature protocols* 2(2): 322-328.
416. Wang, S.-H., de Oliveira Alvares, L. i Nader, K. (2009). Cellular and systems mechanisms of memory strength as a constraint on auditory fear reconsolidation. *Nature neuroscience* 12(7): 905-912.
417. Wardak, A. D., Olszyński, K. H., Polowy, R., Matysiak, J. i Filipkowski, R. K. (2024). Rats that learn to vocalize for food reward emit longer and louder appetitive calls and fewer short aversive calls. *PLoS one* 19(2): e0297174.
418. Weiss, I. C., Pryce, C. R., Jongen-Rêlo, A. L., Nanz-Bahr, N. I. i Feldon, J. (2004). Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural brain research* 152(2): 279-295.
419. Wells, A. M., Janes, A. C., Liu, X., Deschepper, C. F., Kaufman, M. J. i Kantak, K. M. (2010). Medial temporal lobe functioning and structure in the spontaneously hypertensive rat: Comparison with Wistar-Kyoto normotensive and Wistar-Kyoto hypertensive strains. *Hippocampus* 20(6): 787-797.
420. Wesołowska, A., Rychtyk, J., Gdula-Argasińska, J., Górecka, K., Wilczyńska-Zawal, N., Jastrzębska-Więsek, M. i Partyka, A. (2021). Effect of 5-HT₆ receptor ligands combined with haloperidol or risperidone on antidepressant-/anxiolytic-like behavior and BDNF regulation in hippocampus and prefrontal cortex of rats. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*: 2105-2127.
421. White, N. R. i Barfield, R. J. (1990). Effects of male pre-ejaculatory vocalizations on female receptive behavior in the rat (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology* 104(2): 140.
422. WHO. (2022). "Schizofrenia." Data odwiedzin 7 Lipiec 2024, z <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schizophrenia>.
423. Wible, C. G. (2012). Schizophrenia as a disorder of social communication. *Schizophrenia Research and Treatment* 2012(1): 920485.
424. Willadsen, M., Uengoer, M., Schwarting, R. K., Homberg, J. R. i Wöhr, M. (2021). Reduced emission of alarm 22-kHz ultrasonic vocalizations during fear conditioning in rats lacking the serotonin transporter. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 108: 110072.
425. Willner, P. (1984). The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology* 83(1): 1-16.
426. Willuhn, I., Tose, A., Wanat, M. J., Hart, A. S., Hollon, N. G., Phillips, P. E., Schwarting, R. K. i Wöhr, M. (2014). Phasic dopamine release in the nucleus accumbens in response to pro-social 50 kHz ultrasonic vocalizations in rats. *Journal of Neuroscience* 34(32): 10616-10623.
427. Wilson, C. A. i Koenig, J. I. (2014). Social interaction and social withdrawal in rodents as readouts for investigating the negative symptoms of schizophrenia. *European neuropsychopharmacology* 24(5): 759-773.
428. Wintink, A. J. i Brudzynski, S. M. (2001). The related roles of dopamine and glutamate in the initiation of 50-kHz ultrasonic calls in adult rats. *Pharmacol Biochem Behav* 70(2-3): 317-323. DOI: 10.1016/S0091-3057(01)00615-3
429. Winton-Brown, T. T., Fusar-Poli, P., Ungless, M. A. i Howes, O. D. (2014). Dopaminergic basis of salience dysregulation in psychosis. *Trends in neurosciences* 37(2): 85-94.
430. Wischhof, L., Irrsack, E., Osorio, C. i Koch, M. (2015). Prenatal LPS-exposure—a neurodevelopmental rat model of schizophrenia—differentially affects cognitive functions, myelination and parvalbumin expression in male and female offspring. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 57: 17-30.
431. Wise, R. A. (2002). Brain reward circuitry: insights from unsensed incentives. *Neuron* 36(2): 229-240.
432. Wöhr, M., Borta, A. i Schwarting, R. K. (2005). Overt behavior and ultrasonic vocalization in a fear conditioning paradigm: a dose–response study in the rat. *Neurobiology of learning and memory* 84(3): 228-240.
433. Wöhr, M., Engelhardt, K. A., Seffer, D., Sungur, A. Ö. i Schwarting, R. K. (2017). Acoustic communication in rats: effects of social experiences on ultrasonic vocalizations as socio-affective signals. *Social behavior from rodents to humans: Neural foundations and clinical implications*: 67-89.
434. Wöhr, M., Houx, B., Schwarting, R. K. i Spruijt, B. (2008). Effects of experience and context on 50-kHz vocalizations in rats. *Physiol Behav* 93(4-5): 766-776. DOI: 10.1016/j.physbeh.2007.11.031
435. Wöhr, M., Kisko, T. M. i Schwarting, R. K. (2021). Social behavior and ultrasonic vocalizations in a genetic rat model haploinsufficient for the cross-disorder risk gene *cacna1c*. *Brain Sciences* 11(6): 724.
436. Wöhr, M., Rippberger, H., Schwarting, R. K. i van Gaalen, M. M. (2015). Critical involvement of 5-HT_{2C} receptor function in amphetamine-induced 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats. *Psychopharmacology* 232: 1817-1829.
437. Wöhr, M. i Schwarting, R. (2010). Rodent ultrasonic communication and its relevance for models of neuropsychiatric disorders. *e-Neuroforum* 1: 71-80.

438. Wöhr, M. i Schwarting, R. K. (2009). Ultrasonic communication in rats: effects of morphine and naloxone on vocal and behavioral responses to playback of 50-kHz vocalizations. *Pharmacol Biochem Behav* 94(2): 285-295. DOI: 10.1016/j.pbb.2009.09.008
439. Wöhr, M. i Schwarting, R. K. (2007). Ultrasonic communication in rats: can playback of 50-kHz calls induce approach behavior? *PloS one* 2(12): e1365.
440. Wöhr, M., Seffer, D. i Schwarting, R. K. (2016). Studying socio-affective communication in rats through playback of ultrasonic vocalizations. *Current Protocols in Neuroscience* 75(1): 8.35. 31-38.35. 17.
441. Wright, J. M., Gourdon, J. C. i Clarke, P. B. (2010). Identification of multiple call categories within the rich repertoire of adult rat 50-kHz ultrasonic vocalizations: effects of amphetamine and social context. *Psychopharmacology* 211: 1-13.
442. Xiberas, X., Martinot, J., Mallet, L., Artiges, E., Loc'h, C., Maziere, B. i Paillere-Martinot, M. (2001). Extrastriatal and striatal D2 dopamine receptor blockade with haloperidol or new antipsychotic drugs in patients with schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry* 179(6): 503-508.
443. Xu, D., Li, Y. i Ye, Y. (2024). Turning pain into strength: prosocial behaviours in coping with trauma. *European Journal of Psychotraumatology* 15(1): 2330302.
444. Yeap, S. i Thakore, J. (2005). Stress axis dysfunction in schizophrenia. *European Psychiatry* 20: S307-S312.
445. Yee, N., Schwarting, R. K., Fuchs, E. i Wöhr, M. (2012). Juvenile stress potentiates aversive 22-kHz ultrasonic vocalizations and freezing during auditory fear conditioning in adult male rats. *Stress* 15(5): 533-544.
446. Zajkowski, W. i Jankowiak-Siuda, K. (2014). Rola sieci istotności w deficytach poznawczych i afektywnych. *Neuropsychiatria i Neuropsychologia/Neuropsychiatry and Neuropsychology* 9(3): 112-119.
447. Zhang-James, Y., Yang, L., Middleton, F. A., Yang, L., Patak, J. i Faraone, S. V. (2014). Autism-related behavioral phenotypes in an inbred rat substrain. *Behavioural brain research* 269: 103-114.
448. Zubcevic, J., Watkins, J., Perez, P. D., Colon-Perez, L. M., Long, M. T., Febo, M. i Hayward, L. (2018). MEMRI reveals altered activity in brain regions associated with anxiety, locomotion, and cardiovascular reactivity on the elevated plus maze in the WKY vs SHR rats. *Brain Imaging and Behavior* 12: 1318-1331.

8. Suplement: Wyniki analiz statystycznych

Wielkie litery podane w nawiasach oznaczają części rycin, do których odnoszą się dane testy statystyczne. W niektórych przypadkach w tabeli podano dokładną nazwę ryciny. Wartości $p < 0,05$ zostały wytłuszczone.

8.1. Wartości początkowe i efektywność warunkowania

Tab. S1. Charakterystyka początkowa szczurów Wistar i SHR przed poddaniem ich warunkowaniu strachu (FC) oraz efektywność tego warunkowania (Ryc. 4). **a.** porównanie zamierania początkowego (przed warunkowaniem) vs testu kontekstu vs testu kontekstu z prezentacją bodźca warunkowego (BW); **b.** porównanie Wistar vs SHR; **c.** porównanie poszczególnych stopni FC u szczurów Wistar (0-P – odpowiednia grupa kontrolna); **d.** porównanie poszczególnych stopni FC u SHR (0-P – odpowiednia grupa kontrolna).

a	grupa	Wilcoxon		
		Wistar, porównanie zamierania (AB)		
		przed vs test(kontekst)	przed vs test(kontekst+BW)	test(kontekst) vs test(kontekst+BW)
	0-P(1-6-10)	0,9341	0,6848	0,1511
	1-P	0,0001	<0,0001	0,0302
	6-P	<0,0001	<0,0001	0,0275
	10-P	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	grupa	SHR, porównanie zamierania (AB)		
		przed vs test(kontekst)	przed vs test(kontekst+BW)	test(kontekst) vs test(kontekst+BW)
	0-P(1-6-10)	0,0350	0,0727	0,5136
	1-P	<0,0001	0,0150	0,3289
	6-P	<0,0001	<0,0001	0,4874
	10-P	0,0002	<0,0001	0,0256

b		Mann-Whitney, Wistar vs SHR			
		0-P(1-6-10)	1-P	6-P	10-P
	zamieranie[przed] (AB)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	zamieranie[test(kontekst)] (AB)	<0,0001	0,0299	0,0854	0,0071
	zamieranie[test(kontekst+BW)] (AB)	<0,0001	0,6630	0,0979	0,1036
	USV (E)	0,0177	0,5041	0,0272	0,2978
	krótkie USV 22-kHz (F)	<0,0001	0,0333	<0,0001	0,0055

Mann-Whitney, Wistar				
grupa	1-P	6-P	10-P	
zamieranie[przed] (A)				
0-P	0,3458	0,9952	0,9155	
1-P	×	0,4064	0,3605	
6-P	×	×	0,8844	
zamieranie[test(kontekst)] (A)				
0-P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
1-P	×	0,0353	0,1397	
6-P	×	×	0,5779	
zamieranie[test(kontekst+BW)] (A)				
0-P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Mann-Whitney, SHR				
grupa	1-P	6-P	10-P	
zamieranie[przed] (B)				
0-P	0,6695	0,5250	0,9078	
1-P	×	0,5401	>0,9999	
6-P	×	×	0,7095	
zamieranie[test(kontekst)] (B)				
0-P	0,0005	<0,0001	<0,0001	
1-P	×	0,0008	0,0010	
6-P	×	×	0,9626	
zamieranie[test(kontekst+BW)] (B)				
0-P	0,2038	<0,0001	<0,0001	

1-P	×	0,1232	0,0010
6-P	×	×	0,0242
USV (E)			
0-P	0,3051	0,5725	0,4836
1-P	×	0,7867	0,6644
6-P	×	×	0,9433
krótkie USV 22-kHz (F)			
0-P	0,8130	0,0112	0,0863
1-P	×	0,0826	0,2204
6-P	×	×	0,6535
zmiana zamierania; test(kontekst) vs test(przed) (C)			
0-P	<0,0001	<0,0001	<0,0001
1-P	×	0,1232	0,0008
6-P	×	×	0,0195
zmiana zamierania; test(kontekst) vs test(kontekst+BW) (D)			
0-P	0,0043	0,0405	<0,0001
1-P	×	0,8724	0,0037
6-P	×	×	0,0090

1-P	×	0,0005	<0,0001
6-P	×	×	0,1645
USV (E)			
0-P	0,0287	0,1703	0,3738
1-P	×	0,0012	0,3644
6-P	×	×	0,0357
krótkie USV 22-kHz (F)			
0-P	0,2096	0,2532	0,1515
1-P	×	0,1194	0,7720
6-P	×	×	0,0803
zmiana zamierania; test(kontekst) vs test(przed) (C)			
0-P	0,3577	<0,0001	<0,0001
1-P	×	0,002	<0,0001
6-P	×	×	0,5693
zmiana zamierania; test(kontekst) vs test(kontekst+BW) (D)			
0-P	0,0042	0,8774	0,0954
1-P	×	0,2181	0,0141
6-P	×	×	0,2948

8.2. Odtwarzanie sygnałów z głośnika szczerom warunkowanym

Tab. S2. Dystans przebyty (**ab**), czas spędzony w połowie klatki bliższej głośnika (**cd**) oraz liczba wszystkich USV wyemitowanych (**ef**) przez szczury z grupy 1-P w odpowiedzi na USV 50-kHz (**a, c, e**) i USV 22-kHz (**b, d, f**); Mann-Whitney (Ryc. 5, 10). FC – szczury warunkowane, „0” – szczury niewarunkowane 0-P(1), W – Wistar, czas – nazwa 10-sekundowego interwału wykorzystanego w porównaniu.

a

czas	Dystans przebyty, 1-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,2875	0,7461	0,7330	0,6801
-50	0,8123	0,6771	0,8201	0,5917
-40	0,2318	0,1469	0,0301	0,3851
-30	0,1563	0,1340	0,0015	0,0433
-20	0,9141	0,1219	0,0821	0,5917
-10	0,4231	0,2078	0,2284	0,7106
0	0,5026	0,4869	0,4585	0,6801
10	0,4753	0,2078	0,9547	0,0589
20	0,8123	0,0817	0,3031	0,5634
30	0,6816	0,2441	0,0548	0,1033
40	0,3744	0,3290	0,0059	0,0279
50	0,4231	0,6435	0,9095	0,8368
60	0,9484	0,1912	0,8201	0,3203
70	0,7461	0,7726	0,4244	0,1664
80	0,9828	0,7814	0,6905	0,5634
90	0,0499	0,9631	0,0548	0,0033
100	0,9828	0,0369	0,8201	0,1833
110	0,8123	0,2845	0,3918	0,0313
120	0,9484	0,3063	0,1500	0,5358

b

czas	Dystans przebyty, 1-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,5890	0,7113	0,3031	0,5814
-50	0,2680	0,2638	0,7330	0,6827
-40	0,9141	0,6771	0,6490	0,7356
-30	0,1563	0,4303	0,0301	0,5572
-20	0,5890	0,5784	0,4244	0,2604
-10	0,7461	0,7113	0,6490	0,2922
0	0,6816	0,1219	0,4585	0,3632
10	0,2150	0,0590	0,0629	0,2171
20	0,1318	0,3290	0,1863	0,0942
30	0,4753	0,6106	0,2518	0,4654
40	0,1563	0,2441	0,0410	0,3445
50	0,5595	0,1107	0,0020	0,4438
60	0,3079	0,5165	0,0352	0,9010
70	0,9828	0,3528	0,3607	0,9575
80	0,0683	0,5165	0,1863	0,3632
90	0,0683	0,2078	0,0933	0,5334
100	0,1006	0,8172	0,1191	0,7898
110	0,0251	0,4581	0,1863	0,0307
120	0,2318	0,1219	0,0352	0,3825

c

czas	Czas spędzony, 1-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,4068	0,1338	0,8645	0,4080
-50	0,3858	0,5135	0,6935	0,5839
-40	0,8857	0,2521	0,0354	0,2992
-30	0,8406	0,5421	0,2193	0,3917
-20	0,4889	0,4317	0,3562	0,2925
-10	0,2176	0,2128	0,3458	0,2487
0	0,6676	0,0894	0,2260	0,6764
10	0,2994	0,3215	0,2539	0,3353
20	0,2994	0,3771	0,3113	0,3353
30	0,8030	0,2627	0,1008	0,1797
40	>0,9999	0,4395	0,0183	0,0565
50	0,2074	0,4602	0,0382	0,0009
60	0,1330	0,3799	0,6893	0,1843
70	0,9498	0,8750	0,7486	0,7562
80	0,7944	0,8854	0,9666	0,5019
90	0,7398	0,8770	>0,9999	0,7216
100	0,7012	0,4064	0,4102	0,5894
110	0,8880	0,2258	0,5513	0,9216
120	0,7115	0,2052	0,3457	0,5691

d

czas	Czas spędzony, 1-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,0387	0,8010	0,3143	0,2168
-50	0,2024	0,1917	0,5400	0,1032
-40	0,1392	0,2369	0,1675	0,2290
-30	0,2117	0,8516	0,4272	0,8760
-20	0,0965	0,4737	0,3878	0,8345
-10	0,1385	0,9785	0,2649	0,6304
0	0,2463	0,6559	0,4272	0,7704
10	0,9032	0,4087	0,8012	0,1036
20	0,7107	0,2741	0,9134	0,0995
30	0,6255	0,3809	>0,9999	0,1053
40	0,4950	0,7510	0,6448	0,7038
50	0,2458	>0,9999	0,2297	0,8476
60	0,4636	0,8873	0,1522	0,3120
70	0,1337	0,7185	0,2611	0,6847
80	0,4449	0,4176	>0,9999	0,9932
90	0,3054	0,9051	0,5059	>0,9999
100	0,2859	0,7818	0,4936	0,8170
110	0,4149	0,8518	0,2866	0,8995
120	0,1972	0,5683	0,3715	0,6539

e

czas	USV wyemitowane, 1-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,4592	0,8357	0,4180	0,1599
-50	0,8030	0,6101	0,3190	0,4568
-40	0,2677	0,7210	0,6825	0,3271
-30	0,7425	0,1932	0,4180	0,4316
-20	>0,9999	0,5217	0,0311	0,3032
-10	0,0421	0,3322	0,8304	0,4682
0	0,1324	0,2872	0,0046	0,4101
10	0,9219	0,6606	0,0931	0,1143
20	0,9219	0,8050	0,2626	0,2268
30	0,8664	0,2134	0,4714	0,9927
40	0,9555	0,7258	0,6641	0,9480
50	0,2973	0,8736	0,8933	0,3727
60	0,8652	0,3494	0,6131	0,5370
70	0,9196	0,6055	0,7594	0,3572
80	0,9348	0,4836	0,2769	0,1289
90	>0,9999	0,1569	0,9542	0,1168
100	0,7625	>0,9999	0,3876	0,7325
110	0,9343	0,6399	0,2807	0,0862
120	0,7381	0,6441	0,5961	0,6977

f

czas	USV wyemitowane, 1-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,6690	0,3131	0,0998	0,9293
-50	>0,9999	0,6462	0,6636	0,3271
-40	0,5455	0,3455	0,4482	0,5038
-30	0,1921	0,3246	>0,9999	0,0445
-20	0,5293	0,7320	0,5761	0,8758
-10	0,8577	>0,9999	0,3002	0,6562
0	0,6925	0,1493	0,1485	0,7455
10	0,2435	>0,9999	0,1076	0,4636
20	0,7155	>0,9999	0,1787	0,0804
30	0,3932	0,5966	0,0466	0,4880
40	0,9728	0,3911	0,2600	0,0531
50	0,4045	>0,9999	0,0589	0,1053
60	0,9706	0,5205	0,1134	0,2014
70	0,7714	0,9391	0,2793	0,0709
80	0,4293	0,1324	0,0162	0,7326
90	0,8985	0,5930	0,6747	0,2512
100	0,7320	>0,9999	0,2012	0,1680
110	0,2512	0,7717	0,7409	0,6012
120	0,7103	0,7320	0,7409	0,6530

Tab. S3. Dystans przebyty (**ab**), czas spędzony w połowie klatki bliższej głośnika (cd) oraz liczba wszystkich USV wyemitowanych (**ef**) przez szczury z grupy 6-P w odpowiedzi na USV 50-kHz (a, c, e) i USV 22-kHz (b, d, f); Mann-Whitney (Ryc. 6, 11). FC – szczury warunkowane, „0” – szczury niewarunkowane 0-P(6), W – Wistar, czas – nazwa 10-sekundowego interwału wykorzystanego w porównaniu.

a

czas	Dystans przebyty, 6-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,8362	0,4735	0,0720	0,1715
-50	0,2645	0,3863	0,1734	0,7475
-40	0,9252	0,9803	0,7045	0,7688
-30	0,5344	0,9019	0,6539	0,7475
-20	0,0528	0,2429	0,4679	0,0003
-10	0,9252	0,6392	0,8633	0,3766
0	0,0325	0,9019	0,7045	0,0815
10	0,8362	0,3863	0,4262	0,5468
20	0,3551	0,2044	0,9725	0,9888
30	0,6929	0,0743	0,8094	0,1383
40	0,7493	0,0129	0,7564	0,1168
50	0,6654	0,9803	0,2512	0,3186
60	0,2330	0,5370	0,2512	0,5283
70	0,5098	0,1704	0,6047	0,2207
80	0,9850	0,7115	0,9725	0,8998
90	0,6382	0,8630	0,8094	0,8998
100	0,4175	0,2044	0,8094	0,0591
110	0,8954	0,9803	0,2230	0,0363
120	0,3551	0,0520	0,7564	0,0815

b

czas	Dystans przebyty, 6-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,1434	0,1273	0,3867	0,0591
-50	0,1434	0,9019	0,1517	0,5657
-40	0,0121	0,0662	0,2816	0,8337
-30	0,0213	0,9803	0,0720	0,5468
-20	0,0579	0,1035	0,3144	0,0631
-10	0,0191	0,6392	0,0610	0,7475
0	0,0038	0,1868	0,6539	0,1168
10	0,4625	0,3338	0,9177	0,0631
20	0,1330	>0,9999	0,6047	0,4240
30	0,1658	0,7115	0,3494	0,5101
40	0,0692	0,6392	0,7564	0,3766
50	0,0213	0,4433	0,4262	0,5101
60	0,5853	0,3595	0,3867	0,6440
70	0,3752	0,3338	0,4262	0,4574
80	0,0579	0,9803	0,8633	0,1168
90	0,4625	0,7486	>0,9999	0,6642
100	0,0359	0,5047	0,7045	0,4078
110	0,8362	0,8630	0,7045	0,5283
120	0,2330	0,7863	0,9725	0,0552

c

czas	Czas spędzony, 6-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,0541	0,2770	0,1389	0,4881
-50	0,0334	0,8978	0,0707	0,8654
-40	0,1236	0,7324	0,4940	0,2926
-30	0,1238	0,6491	0,3279	0,2705
-20	0,1859	0,4003	0,9659	0,5730
-10	0,5192	0,7658	0,8494	0,4593
0	0,6430	0,5753	0,9287	0,3202
10	0,2687	0,8863	0,4750	>0,9999
20	0,3294	0,5350	0,4284	0,3634
30	0,3856	0,1644	0,4240	0,0823
40	0,5412	0,6651	0,5172	0,1968
50	0,7398	0,4740	0,8559	0,3111
60	0,4133	0,5431	0,2224	0,9580
70	0,4868	0,4822	0,0712	0,7677
80	0,6690	0,1813	0,1725	0,4753
90	0,9618	0,0458	0,0286	0,8684
100	0,7525	0,1011	0,0436	0,6067
110	0,7662	0,3204	0,4476	0,7915
120	0,4402	0,6731	0,5399	>0,9999

d

czas	Czas spędzony, 6-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,2134	0,0761	0,5782	0,0071
-50	0,9359	0,0242	0,6856	0,0185
-40	0,5164	0,0155	0,7867	0,1170
-30	0,3423	0,1142	0,9476	0,6603
-20	0,2921	0,1364	0,9542	0,6115
-10	0,2623	0,0690	0,7595	0,6904
0	0,8600	0,1272	0,3615	0,4554
10	0,6807	0,4544	0,3132	0,8784
20	>0,9999	0,6807	>0,9999	0,6461
30	0,3646	0,9276	0,7932	0,4412
40	0,3111	0,5148	0,9270	0,5154
50	0,6432	0,2270	>0,9999	0,8224
60	0,9031	0,0528	>0,9999	0,0535
70	0,4915	0,0281	0,5865	0,1229
80	0,2901	0,0561	0,7811	0,5830
90	0,2408	0,0652	0,9039	0,5775
100	0,3748	0,3517	0,5865	0,3944
110	0,4847	0,0858	0,8832	0,4067
120	0,2616	0,0007	0,0902	0,9969

e

czas	USV wyemitowane, 6-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,2319	0,5620	0,2459	0,7887
-50	0,3683	0,4769	>0,9999	0,7078
-40	0,8063	0,6210	>0,9999	0,7857
-30	0,2927	0,2735	>0,9999	0,6081
-20	0,5343	0,1565	0,8622	0,0340
-10	0,6431	>0,9999	0,5865	0,8152
0	0,8579	0,8078	0,0278	0,0069
10	0,5767	0,6444	0,1514	0,0191
20	0,3330	0,2806	0,0905	0,0245
30	0,1153	0,2297	0,3117	0,0532
40	0,1541	0,1297	0,3564	0,1103
50	0,0160	0,0961	0,5988	0,0381
60	0,0062	0,7287	0,4240	0,0891
70	0,0212	0,3517	0,9708	0,0547
80	0,0444	0,7709	0,4927	0,0920
90	0,2390	0,3069	0,2139	0,1652
100	0,0668	0,1454	0,8905	0,4412
110	0,2171	0,0249	0,5175	0,9468
120	0,2223	0,1428	0,2783	0,2869

f

czas	USV wyemitowane, 6-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,1435	0,4314	0,2143	0,2985
-50	>0,9999	>0,9999	0,4624	0,4453
-40	0,5075	0,2232	>0,9999	0,6678
-30	0,5753	0,6715	0,1810	0,5692
-20	0,4825	0,8174	0,7243	0,1627
-10	0,2755	0,3763	0,4762	0,2897
0	0,0039	0,2348	>0,9999	0,0207
10	0,0071	>0,9999	>0,9999	0,0039
20	0,0097	0,1290	>0,9999	0,0649
30	0,0039	0,8450	0,4762	0,0021
40	0,0022	0,5030	>0,9999	0,0052
50	0,0065	0,2959	0,7381	0,0263
60	0,0039	0,2101	0,4762	0,1118
70	0,0781	0,1240	0,2143	0,0390
80	0,1435	0,1180	0,4762	0,4714
90	0,2927	0,1627	>0,9999	0,7185
100	0,2522	0,1240	0,4762	0,6521
110	0,0635	0,1240	>0,9999	0,4432
120	0,1183	0,4769	0,4762	0,5899

Tab. S4. Dystans przebyty (**ab**), czas spędzony w połowie klatki bliższej głośnika (**cd**) oraz liczba wszystkich USV wyemitowanych (**ef**) przez szczury z grupy 10-P w odpowiedzi na USV 50-kHz (**a, c, e**) i USV 22-kHz (**b, d, f**); Mann-Whitney (Ryc. 7, 12). FC – szczury warunkowane, „0” – szczury niewarunkowane 0-P(10), W – Wistar, czas – nazwa 10-sekundowego interwału wykorzystanego w porównaniu.

a

czas	Dystans przebyty, 10-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,6228	0,4284	0,0666	0,1901
-50	0,2872	0,3110	0,0666	0,4715
-40	0,0843	0,8918	0,0769	0,5149
-30	0,1950	0,3669	0,2839	0,4102
-20	0,0995	0,3110	0,0099	0,3361
-10	0,5446	0,5671	0,2316	0,3908
0	0,2701	0,5305	0,1475	0,0275
10	0,9097	0,7647	0,1151	0,2022
20	0,3624	0,8065	0,9758	0,2022
30	0,7336	0,8490	0,2316	0,1569
40	0,3426	0,4952	0,2316	0,0432
50	0,3829	0,3383	0,3758	0,0894
60	0,0594	0,9783	0,0883	0,3908
70	0,3829	0,7234	0,8793	0,9183
80	0,9397	0,2164	0,7844	0,7843
90	0,1261	0,8918	0,6482	0,0302
100	0,0493	0,8490	0,9274	0,0111
110	0,2381	0,4952	0,8315	0,7581
120	0,5701	0,6433	0,3128	0,8107

b

czas	Dystans przebyty, 10-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,7336	0,0805	0,1661	>0,9999
-50	0,6498	0,6433	0,6482	0,7065
-40	0,7053	0,1775	0,0303	0,9183
-30	0,6228	0,1025	0,0493	>0,9999
-20	0,3829	0,7234	0,8793	0,5373
-10	0,9097	0,9350	0,8315	0,8373
0	0,6228	0,4611	0,1475	0,0138
10	0,0649	0,3969	0,1306	0,4715
20	0,7913	0,1025	0,5629	0,8107
30	0,7336	0,7647	0,4833	0,2864
40	0,8206	0,0475	0,1661	0,7581
50	0,7623	0,0623	0,0493	0,2418
60	0,3234	0,2852	0,9274	0,6316
70	0,7053	0,5671	0,8315	0,3190
80	0,7623	>0,9999	0,8315	0,3361
90	0,8206	0,3969	0,9758	0,4102
100	0,6498	0,0357	0,0255	0,8107
110	0,0709	0,4611	0,0255	0,8373
120	0,6228	>0,9999	0,8315	>0,9999

c

czas	Czas spędzony, 10-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	>0,9999	0,2633	0,6640	0,3945
-50	0,8821	0,1674	0,5340	0,0698
-40	0,4005	0,6350	0,1026	0,0768
-30	0,1589	0,8820	0,1643	0,6489
-20	0,4272	0,9634	0,3646	0,8623
-10	0,5415	0,7989	0,6570	0,8856
0	0,7867	0,9455	0,9614	0,9655
10	0,5518	0,7274	0,3950	0,1458
20	>0,9999	0,8132	0,1779	0,5714
30	0,8005	0,8356	0,4815	0,8512
40	0,2115	0,8832	0,5893	0,7839
50	0,2544	0,8166	0,2245	0,9029
60	0,3189	0,9931	0,4969	0,7759
70	0,5266	0,8113	0,6367	0,5907
80	0,6479	0,9173	0,9383	0,9531
90	0,9438	0,9432	0,9522	0,7399
100	0,9673	0,7363	0,7183	0,4649
110	0,4216	0,9576	0,6301	0,9838
120	0,0219	0,7839	0,1853	0,7838

d

czas	Czas spędzony, 10-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,0211	0,6228	0,1418	0,1421
-50	0,0029	0,5197	0,1985	0,5436
-40	0,0304	0,5829	0,1709	0,7641
-30	0,1621	0,7558	0,4533	0,6259
-20	0,2687	0,6262	0,9227	0,6803
-10	0,2317	0,4384	0,7244	0,3915
0	0,0645	0,5008	0,6004	0,9820
10	0,7271	0,4953	0,6005	0,3638
20	>0,9999	0,4953	0,6175	0,2764
30	0,8871	0,7749	0,5125	0,3901
40	>0,9999	0,8628	0,8000	0,5622
50	0,8172	0,2230	0,5625	0,2480
60	0,7907	0,0992	0,3263	0,2426
70	0,4334	0,2815	0,5140	0,2255
80	0,4984	0,3188	0,5477	0,2256
90	0,2189	0,2302	0,5853	0,0441
100	0,3931	0,2394	0,6693	0,1107
110	0,7756	0,6785	0,5479	0,7899
120	>0,9999	0,9360	0,9345	0,8572

e

czas	USV wyemitowane, 10-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,3664	0,2800	0,1106	0,7075
-50	0,0543	0,4457	0,1779	0,0715
-40	0,9249	>0,9999	>0,9999	>0,9999
-30	0,1573	0,5221	0,4228	0,0760
-20	>0,9999	0,3458	>0,9999	0,1271
-10	0,5518	0,9377	0,9339	0,4602
0	0,2253	0,5909	0,0487	<0,0001
10	0,0246	0,2638	0,6326	0,0003
20	0,0380	>0,9999	0,9128	0,0186
30	0,0803	0,6086	0,3558	0,0031
40	0,3100	0,7608	0,2589	0,0489
50	0,0718	0,0564	0,4521	0,0096
60	0,0112	0,2593	0,0771	0,0328
70	0,0289	0,9927	0,8600	0,0201
80	0,0663	0,4353	0,5235	0,0396
90	0,0129	0,3399	0,5897	0,3148
100	0,0045	0,1704	0,1477	0,0048
110	0,4180	0,4457	0,3610	0,0111
120	0,7060	0,2668	0,6725	0,0629

f

czas	USV wyemitowane, 10-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,2530	0,6146	0,0678	0,8537
-50	0,2530	0,6146	0,4348	0,6722
-40	0,8506	>0,9999	>0,9999	>0,9999
-30	0,8499	>0,9999	>0,9999	0,6128
-20	0,1277	0,2500	>0,9999	0,9063
-10	0,3789	0,8132	0,5596	0,4301
0	0,5985	0,2668	0,4503	0,0168
10	0,1909	>0,9999	0,1096	0,0014
20	0,1771	0,5000	0,2292	0,0085
30	0,1718	0,2500	0,1045	0,0360
40	0,2390	>0,9999	0,1369	0,0014
50	0,4461	0,3478	0,4050	0,0037
60	0,1650	0,4921	>0,9999	0,0313
70	0,2874	0,4466	0,1365	0,0440
80	0,2961	0,5435	>0,9999	0,0499
90	0,1465	>0,9999	0,7064	0,0353
100	0,2499	0,4466	0,5229	0,2442
110	0,5257	>0,9999	0,5229	0,1451
120	0,5127	0,2628	>0,9999	0,0662

Tab. S5. Dystans przebyty (**ab**), czas spędzony w połowie klatki bliższej głośnika (**cd**) oraz liczba wszystkich USV wyemitowanych (**ef**) przez szczury z grupy 6-10-P (6-P i 10-P analizowane razem) w odpowiedzi na USV 50-kHz (**a, c, e**) i USV 22-kHz (**b, d, f**); Mann-Whitney (Ryc. 8, 13, 15). FC – szczury warunkowane, „0” – szczury niewarunkowane 0-P(6-10), W – Wistar, czas – nazwa 10-sekundowego interwału wykorzystanego w porównaniu.

a	czas	Dystans przebyty, 6-10-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
		Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
	-60	0,8874	0,2131	0,0044	0,0520
	-50	0,1169	0,1358	0,0127	0,4226
	-40	0,1865	0,8742	0,1294	0,5035
	-30	0,2761	0,5822	0,3555	0,4621
	-20	0,7925	0,9332	0,1623	0,0008
	-10	0,5480	0,4275	0,2867	0,1572
	0	0,0163	0,8889	0,4475	0,0041
	10	0,8661	0,5822	0,8246	0,2293
	20	0,7925	0,2739	0,8428	0,3497
	30	0,9194	0,2131	0,6490	0,0480
	40	0,3834	0,0351	0,2558	0,9692
	50	0,7512	0,4725	0,1355	0,0623
	60	0,0163	0,6212	0,0512	0,3554
	70	0,2945	0,2273	0,5207	0,3973
	80	0,9839	0,2131	0,7002	0,7361
	90	0,1820	0,9777	0,8065	0,0967
	100	0,4867	0,4958	0,9535	0,8380
	110	0,4952	0,5444	0,2659	0,1639
	120	0,8767	0,0692	0,7176	0,1815

b	czas	Dystans przebyty, 6-10-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
		Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
	-60	0,2416	0,9332	0,1355	0,1815
	-50	0,5753	0,7443	0,3199	0,5395
	-40	0,0506	>0,9999	0,0921	0,6307
	-30	0,0673	0,2422	0,0082	0,5996
	-20	0,4534	0,2823	0,4617	0,0592
	-10	0,0934	0,8014	0,0832	0,9164
	0	0,0264	0,5951	0,3679	0,0047
	10	0,5753	0,1866	0,4200	0,0689
	20	0,1820	0,3750	0,9907	0,5542
	30	0,1732	0,8742	0,8611	0,2207
	40	0,2883	0,0925	0,2975	0,6073
	50	0,2528	0,1041	0,3315	0,7697
	60	0,2883	0,1125	0,4907	0,8902
	70	0,3474	0,7162	0,5994	0,1852
	80	0,0934	0,9480	0,9535	0,0656
	90	0,7512	0,8014	0,9907	0,4036
	100	0,1338	0,0582	0,2273	0,5468
	110	0,0831	0,7870	0,0790	0,6544
	120	0,4699	0,6478	0,9164	0,1297

c	czas	Czas spędzony, 6-10-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
		Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
	-60	0,2015	0,9620	0,2201	0,5946
	-50	0,2295	0,3078	0,4491	0,1466
	-40	0,7693	0,5495	0,4213	0,0499
	-30	0,9036	0,6819	0,5548	0,2724
	-20	0,6342	0,7269	0,6120	0,4622
	-10	0,9939	0,9258	0,7587	0,5948
	0	0,8996	0,7332	0,8620	0,4545
	10	0,1537	0,7131	0,8775	0,2315
	20	0,6441	0,3049	0,8548	0,6884
	30	0,7172	0,3212	0,8926	0,2549
	40	0,2544	0,6680	0,3644	0,4612
	50	0,2552	0,6535	0,4305	0,3949
	60	0,8177	0,6180	0,7633	0,9394
	70	0,9550	0,8268	0,4208	0,5144
	80	0,4902	0,2896	0,3482	0,5516
	90	0,9237	0,0969	0,1289	0,9884
	100	0,8529	0,3392	0,1017	0,4022
	110	0,7801	0,5621	0,3524	0,8793
	120	0,3473	0,6465	0,5946	0,8112

d	czas	Czas spędzony, 6-10-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
		Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
	-60	0,5008	0,2529	0,5965	0,2886
	-50	0,0416	0,0351	0,5493	0,2036
	-40	0,0364	0,0324	0,4425	0,3505
	-30	0,0786	0,1606	0,4868	0,9782
	-20	0,1018	0,1117	0,8443	0,9504
	-10	0,0872	0,0728	0,5473	0,3887
	0	0,1079	0,1272	0,5423	0,6286
	10	0,9958	0,3421	0,7988	0,4272
	20	0,7708	0,4263	0,5952	0,2415
	30	0,3704	0,7876	0,5669	0,9463
	40	0,5396	0,4286	0,8846	0,9076
	50	0,8627	0,0787	0,4130	0,2975
	60	0,8494	0,0082	0,2717	0,0292
	70	0,7853	0,0171	0,3225	0,0453
	80	0,7989	0,0374	0,4680	0,2131
	90	0,9501	0,0218	0,5215	0,0787
	100	0,9515	0,1167	0,9085	0,0943
	110	0,8147	0,1194	0,6029	0,4115
	120	0,2999	0,0220	0,1883	0,8713

e

czas	USV wyemitowane, 6-10-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,8429	0,6792	0,9370	0,9045
-50	0,0289	0,9912	0,3155	0,1238
-40	0,9102	0,7921	>0,9999	0,8135
-30	0,7831	0,8325	0,7385	0,6529
-20	0,6224	0,0597	0,8229	0,0051
-10	0,8927	0,8882	0,6473	0,5316
0	0,3274	0,8738	0,0043	<0,0001
10	0,0410	0,7780	0,1598	<0,0001
20	0,0305	0,4508	0,2608	0,0013
30	0,0257	0,5581	0,1616	0,0011
40	0,0609	0,1606	0,1161	0,0155
50	0,0027	0,9803	0,8153	0,0017
60	0,0002	0,6513	0,0634	0,0098
70	0,0010	0,4868	0,8611	0,0032
80	0,0053	0,8389	0,3015	0,0177
90	0,0108	0,1515	0,5898	0,0740
100	0,0007	0,8093	0,2190	0,0211
110	0,1339	0,1526	0,2054	0,1115
120	0,2360	0,5943	0,2594	0,0508

f

czas	USV wyemitowane, 6-10-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,0414	0,8339	0,0143	0,5103
-50	0,3278	0,5931	0,2651	0,3051
-40	0,4115	0,2311	>0,9999	0,5581
-30	0,6166	0,6659	0,3476	>0,9999
-20	0,5843	0,2685	0,7425	0,2898
-10	0,1215	0,6281	0,3155	0,8762
0	0,0254	0,9430	0,3870	0,0008
10	0,0099	>0,9999	0,1302	<0,0001
20	0,0047	0,0821	0,2388	0,0022
30	0,0026	0,3207	0,2388	0,0002
40	0,0033	0,4146	0,1612	<0,0001
50	0,0164	0,7218	0,4898	0,0003
60	0,0019	0,6331	0,6766	0,0079
70	0,0369	0,0821	0,0179	0,0032
80	0,0642	0,4000	0,6459	0,5466
90	0,0728	0,2311	0,6813	0,2498
100	0,1192	0,0884	0,1576	0,2328
110	0,0622	0,1101	0,3170	0,1301
120	0,1140	0,8882	0,9378	0,1052

Tab. S6. Dystans przebyty (**ab**), czas spędzony w połowie klatki bliższej głośnika (**cd**) oraz liczba wszystkich USV wyemitowanych (**ef**) przez szczury z grupy 1-6-10-P (1-P, 6-P i 10-P analizowane razem) w odpowiedzi na USV 50-kHz (**a, c, e**) i USV 22-kHz (**b, d, f**); Mann-Whitney (Ryc. 9, 14, 16). FC – szczury warunkowane, „0” – szczury niewarunkowane 0-P(1-6-10), W – Wistar, czas – nazwa 10-sekundowego interwału wykorzystanego w porównaniu.

a

czas	Dystans przebyty, 1-6-10-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,5739	0,2004	0,0252	0,0350
-50	0,3390	0,4434	0,0336	0,1224
-40	0,0947	0,3205	0,0118	0,5743
-30	0,0518	0,5689	0,0091	0,3030
-20	0,7405	0,3605	0,0296	0,0008
-10	0,9448	0,9452	0,1470	0,0436
0	0,0095	0,7237	0,2697	0,0005
10	0,5479	0,1970	0,7319	0,0530
20	0,7002	0,0456	0,4118	0,3597
30	0,4880	0,1558	0,4118	0,2223
40	0,1027	0,3302	0,5085	0,5487
50	0,9448	0,6873	0,3645	0,4600
60	0,0700	0,3205	0,0966	0,2605
70	0,2733	0,2139	0,2917	0,1773
80	0,9203	0,2184	0,9512	0,6048
90	0,0280	0,9609	0,3208	0,1948
100	0,5530	0,1100	0,9707	0,4524
110	0,4832	0,2184	0,1651	0,0266
120	0,9509	0,4203	0,5987	0,1091

b

czas	Dystans przebyty, 1-6-10-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,2599	0,7684	0,0741	0,3630
-50	0,8233	0,3763	0,2973	0,4299
-40	0,1529	0,7459	0,0627	0,5960
-30	0,0438	0,1314	0,0003	0,3664
-20	0,3274	0,1677	0,3208	0,0266
-10	0,1815	0,9922	0,1436	0,5155
0	0,1147	0,2259	0,2292	0,0562
10	0,2226	0,9218	0,0682	0,4262
20	0,7935	0,1014	0,3980	0,5320
30	0,6275	0,7985	0,7973	0,6816
40	0,9816	0,0445	0,0416	0,9547
50	0,4455	0,0167	0,0180	0,5403
60	0,7639	0,1122	0,0701	0,6541
70	0,5175	0,4671	0,3329	0,3060
80	0,5844	0,8367	0,6685	0,3274
90	0,3670	0,7311	0,2805	0,7191
100	0,9939	0,1587	0,0992	0,6863
110	0,0042	0,6027	0,0199	0,3181
120	0,8898	0,6444	0,2244	0,4795

c

czas	Czas spędzony, 1-6-10-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,6054	0,3427	0,3763	0,5275
-50	0,5160	0,2273	0,3863	0,3276
-40	0,6211	0,2308	0,5680	0,2994
-30	0,9217	0,4338	0,8273	0,6749
-20	0,9856	0,8188	0,9255	0,9138
-10	0,5148	0,4442	0,6751	0,8834
0	0,6837	0,2192	0,5912	0,3913
10	0,0721	0,3158	0,4031	0,0883
20	0,3414	0,1289	0,3362	0,6474
30	0,6967	0,1078	0,3055	0,9207
40	0,3570	0,3046	0,5552	0,6297
50	0,1658	0,4151	0,5441	0,2743
60	0,3207	0,3430	0,5767	0,4804
70	0,9379	0,7347	0,3748	0,5227
80	0,4868	0,4016	0,4150	0,3818
90	0,8988	0,1927	0,2509	0,8316
100	0,7434	0,7090	0,4040	0,6861
110	0,7391	0,8595	0,7543	0,8409
120	0,5077	0,2341	0,8639	0,9116

d

czas	Czas spędzony, 1-6-10-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,5526	0,2673	0,7811	0,1156
-50	0,3710	0,0124	0,8462	0,0551
-40	0,4250	0,0118	0,7581	0,1592
-30	0,4586	0,3358	0,9895	0,8813
-20	0,6942	0,4629	0,8254	0,9191
-10	0,6486	0,1645	0,2716	0,6863
0	0,6027	0,3510	0,3362	0,5360
10	0,8802	0,9805	0,7272	0,7845
20	0,8092	0,9588	0,7590	>0,9999
30	0,3639	0,6529	0,6442	0,3463
40	0,4045	0,6649	0,8391	0,9247
50	0,3890	0,1820	0,8703	0,3142
60	0,7850	0,0250	0,9900	0,0170
70	0,5530	0,0400	0,9449	0,0577
80	0,5849	0,0304	0,5521	0,2395
90	0,6498	0,0533	0,8285	0,1374
100	0,5988	0,2603	0,7500	0,2057
110	0,5115	0,2394	0,7536	0,4071
120	0,1139	0,0538	0,6443	0,8637

e

czas	USV wyemitowane, 1-6-10-P, odpowiedź na USV 50-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,6359	0,6730	0,5075	0,3991
-50	0,0740	0,5762	0,1571	0,4092
-40	0,4656	0,6342	0,7492	0,3593
-30	0,5747	0,6001	0,3312	0,9594
-20	0,9143	0,2839	0,2626	0,0017
-10	0,1102	0,3838	0,8028	0,2670
0	0,9338	0,6328	<0,0001	<0,0001
10	0,0551	0,6207	0,0337	<0,0001
20	0,0488	0,5945	0,1052	0,0008
30	0,0449	0,2317	0,1171	0,0039
40	0,1003	0,2192	0,1361	0,0429
50	0,0209	0,8915	0,8110	0,0325
60	0,0025	0,8357	0,3074	0,0601
70	0,0030	0,3801	0,7660	0,0428
80	0,0180	0,8656	0,1437	0,2481
90	0,0200	0,0383	0,7448	0,3820
100	0,0022	0,9094	0,1172	0,0752
110	0,1722	0,1548	0,6196	0,6027
120	0,4635	0,4114	0,2556	0,1688

f

czas	USV wyemitowane, 1-6-10-P, odpowiedź na USV 22-kHz, Mann-Whitney			
	Wistar, 0 vs FC	SHR, 0 vs FC	0, W vs SHR	FC, W vs SHR
-60	0,0630	0,1351	0,6205	0,5633
-50	0,7448	0,3780	0,4432	0,0835
-40	0,1546	0,8572	0,4347	0,8701
-30	0,0519	0,9459	0,0129	0,5005
-20	0,0027	0,1973	0,0178	0,5596
-10	0,2955	0,1785	0,8432	0,8356
0	0,7466	0,4263	<0,0001	<0,0001
10	0,5020	0,0339	0,0016	0,0092
20	0,9084	0,0872	0,0017	0,1339
30	0,0589	0,4395	0,7618	0,1789
40	0,1503	0,0318	0,1719	0,4053
50	0,0800	0,5838	0,4559	0,4822
60	0,0229	0,3246	0,8697	0,1260
70	0,0524	0,0935	0,9849	0,6519
80	0,0198	0,6756	0,5254	0,1305
90	0,1040	0,7410	0,5212	0,5122
100	0,0125	0,4750	0,4215	0,2338
110	0,0745	0,8972	0,7647	0,1521
120	0,0069	0,0970	0,4259	0,7264

Tab. S7. Zmiana w dystansie przebytych (a), czasie spędzonym w połowie klatki bliższej głośnika (b) oraz liczbie wszystkich USV wyemitowanych (c) wokół odtwarzania USV prezentowanych w trakcie interwału „0 s” (od -60 s do 120 s, -60 s do 60 s, -10 s do 10 s, 0 do 30 s) oraz w trakcie kontrolnego interwału przed odtworzeniem („-30 s” do „-10 s”); proszę zwrócić uwagę na wartości $p > 0,05$) u szczurów Wistar; Friedman.

a	Dystans przebyty, Wistar, Friedman										
	Odpowiedź na USV 50-kHz										
	interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	-60 do 120	0,0789	0,0039	0,0613	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	-60 do 60	0,0606	0,0035	0,0176	<0,0001	<0,0001	0,0000	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	-10 do 10	0,0231	0,0001	0,0377	0,0001	0,0073	0,0007	0,0004	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	0 do 30	0,0332	0,0000	0,2099	<0,0001	0,0218	0,0134	0,0036	<0,0001	0,0009	<0,0001
	-30 do -10	0,1160	0,6457	0,3508	0,0316	0,0366	0,2683	0,4531	0,0121	0,0855	0,0183
	Odpowiedź na USV 22-kHz										
	interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	-60 do 120	0,0208	0,0009	0,2883	0,0634	0,0027	0,0003	0,0131	<0,0001	0,0015	<0,0001
	-60 do 60	0,2272	0,0010	0,1196	0,0339	0,0079	0,0002	0,0210	<0,0001	0,0004	<0,0001
	-10 do 10	0,5837	0,0152	0,7321	0,0093	0,1988	0,0004	0,0344	0,0001	0,0306	0,0001
	0 do 30	0,2407	0,0005	0,0858	0,0010	0,0018	0,0002	0,8566	0,8153	0,0846	<0,0001
	-30 do -10	0,1988	0,7788	>0,9999	0,3850	0,3679	0,8539	0,6457	0,3385	0,6489	0,7553
b	Czas spędzony, Wistar, Friedman										
	Odpowiedź na USV 50-kHz										
	interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	-60 do 120	0,0064	<0,0001	0,0010	0,0082	0,0008	<0,0001	0,0002	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	-60 do 60	0,0001	<0,0001	0,0004	0,0005	0,0032	0,0004	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	-10 do 10	0,0441	0,0001	0,0186	0,0034	0,0405	0,0012	0,0020	<0,0001	0,0001	<0,0001
	0 do 30	0,0467	<0,0001	0,4867	<0,0001	0,0036	0,0007	0,0044	<0,0001	0,0003	<0,0001
	-30 do -10	0,1423	0,8777	0,5743	0,8910	0,1699	0,6483	0,6731	0,6065	0,7903	0,7862
	Odpowiedź na USV 22-kHz										
	interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	-60 do 120	<0,0001	0,0464	0,1676	<0,0001	0,2554	<0,0001	0,1145	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	-60 do 60	<0,0001	0,1591	0,0060	<0,0001	0,6273	<0,0001	0,0197	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	-10 do 10	0,0695	0,9623	0,0514	0,0004	0,1310	0,0033	0,0160	<0,0001	0,0012	0,0001
	0 do 30	0,0620	0,6957	0,0591	0,0004	0,4753	<0,0001	0,0342	<0,0001	0,0017	<0,0001
	-30 do -10	0,4308	0,8465	0,6667	0,5623	0,4013	0,8777	0,1953	0,7928	0,1499	0,8500
c	USV wyemitowane, Wistar, Friedman										
	Odpowiedź na USV 50-kHz										
	interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	-60 do 120	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	-60 do 60	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	-10 do 10	0,0002	0,0002	<0,0001	<0,0001	0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	0 do 30	0,0032	0,2299	0,0083	0,4916	0,0752	0,4967	0,0033	0,5997	<0,0001	0,1867
	-30 do -10	0,0152	0,2319	>0,9999	0,1561	0,4966	0,3679	0,8102	0,3679	0,0702	0,1096

Odpowiedź na USV 22-kHz										
interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60 do 120	0,0046	0,0017	0,1744	<0,0001	0,0012	<0,0001	0,0131	<0,0001	<0,0001	<0,0001
-60 do 60	0,0009	0,0106	0,5917	<0,0001	0,0009	<0,0001	0,0210	<0,0001	<0,0001	<0,0001
-10 do 10	0,1801	0,2111	>0,9999	0,0021	0,0344	0,0150	0,0344	0,0001	0,0073	0,0001
0 do 30	0,7440	0,5558	0,3916	0,8120	0,7764	0,3130	0,8566	0,8153	0,9963	0,7262
-30 do -10	0,4966	0,1462	0,3333	0,5045	0,3679	0,1615	0,6457	0,3385	0,4459	0,3679

Tab. S8. Zmiana w dystansie przebytych (a), czasie spędzonym w połowie klatki bliższej głośnika (b) oraz liczbie wszystkich USV wyemitowanych (c) wokół odtwarzania USV prezentowanych w trakcie interwału „0 s” (od -60 s do 120 s, -60 s do 60 s, -10 s do 10 s, 0 s do 30 s) oraz w trakcie kontrolnego interwału przed odtworzeniem („-30 s” do „-10 s”; proszę zwrócić uwagę na wartości $p > 0,05$) u SHR; Friedman.

a

Dystans przebyty, SHR, Friedman										
Odpowiedź na USV 50-kHz										
interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60 do 120	0,6495	0,0004	0,5975	<0,0001	0,1678	0,8554	0,0666	0,0036	0,2449	<0,0001
-60 do 60	0,8654	0,0003	0,3603	0,0001	0,0785	0,8951	0,0349	0,0030	0,2208	<0,0001
-10 do 10	0,6293	0,0000	0,0781	0,0114	0,3159	0,2818	0,0224	0,0101	0,0361	<0,0001
0 do 30	0,3439	0,0001	0,1605	0,0033	0,2177	0,3561	0,0270	0,0017	0,0130	<0,0001
-30 do -10	0,6293	0,2298	0,4362	0,1615	0,3159	0,4204	0,9512	0,4301	0,6790	0,8669

Odpowiedź na USV 22-kHz										
interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60 do 120	<0,0001	0,0002	0,1271	<0,0001	<0,0001	0,0008	0,4613	0,9911	<0,0001	<0,0001
-60 do 60	<0,0001	0,0002	0,0706	<0,0001	<0,0001	0,0006	0,6897	0,9315	<0,0001	<0,0001
-10 do 10	0,0004	0,0042	0,0456	0,0014	0,0665	0,0381	0,6376	0,3863	<0,0001	<0,0001
0 do 30	0,0005	0,0046	0,1870	0,0009	0,0189	0,0219	0,5566	0,4448	0,0001	<0,0001
-30 do -10	0,2192	0,4655	0,0781	0,1134	0,1873	0,9355	0,5538	0,3320	0,1152	0,9406

b

Czas spędzony, SHR, Friedman										
Odpowiedź na USV 50-kHz										
interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60 do 120	0,5142	0,0282	0,0003	<0,0001	0,2683	0,0002	<0,0001	<0,0001	0,0033	<0,0001
-60 do 60	0,2155	0,0018	0,0019	<0,0001	0,4285	0,0001	0,0001	<0,0001	0,0020	<0,0001
-10 do 10	0,4498	0,0188	0,0084	0,0001	0,1728	0,0531	0,0020	<0,0001	0,0172	<0,0001
0 do 30	0,3227	0,0240	0,0021	<0,0001	0,0680	0,0539	0,0001	<0,0001	0,0439	<0,0001
-30 do -10	0,1430	0,4847	0,1204	0,8233	0,7685	0,4095	0,5899	0,8290	0,2107	0,5418

Odpowiedź na USV 22-kHz										
interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60 do 120	0,9406	0,0048	0,2458	<0,0001	0,9855	0,9800	0,3642	0,0002	0,2999	<0,0001
-60 do 60	0,8268	0,0029	0,4154	<0,0001	0,8829	0,9485	0,2045	0,0000	0,1826	<0,0001
-10 do 10	0,8889	0,0102	0,0741	0,0046	0,8889	0,6457	0,0839	0,0187	0,0635	0,0003
0 do 30	0,2035	0,0016	0,9536	0,0014	0,9343	0,0965	0,9420	0,0001	0,4918	<0,0001
-30 do -10	0,6650	0,7919	0,6653	0,2578	0,3704	>0,9999	0,2545	0,4620	0,5488	0,6992

c

USV wyemitowane, SHR, Friedman										
Odpowiedź na USV 50-kHz										
interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60 do 120	0,0618	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
-60 do 60	0,0963	<0,0001	0,0001	<0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
-10 do 10	0,0284	0,0005	0,0233	0,0017	0,0102	0,1146	0,0005	0,0004	0,0000	<0,0001
0 do 30	0,5076	0,2929	0,1707	0,0559	0,4177	0,3214	0,1337	0,1122	0,0977	0,0458
-30 do -10	0,8796	0,4308	0,7778	0,1738	0,8519	0,4013	0,6873	0,0829	0,8559	0,0438
Odpowiedź na USV 22-kHz										
interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60 do 120	0,6292	0,8146	0,3585	0,8387	0,3002	0,9836	0,4613	0,9911	0,3053	0,9910
-60 do 60	0,4860	0,5842	0,5342	0,6089	0,3109	0,9824	0,6897	0,9315	0,3237	0,8878
-10 do 10	>0,9999	0,2410	>0,9999	0,2894	0,5617	0,9394	0,6376	0,3863	0,6611	0,2150
0 do 30	0,3916	0,1023	0,5724	0,1366	0,0875	0,8572	0,5566	0,4448	0,5222	0,3453
-30 do -10	0,7778	0,5418	0,6667	0,6762	0,7778	0,4438	0,5538	0,3320	0,6661	0,7408

Tab. S9. Analiza dystansu przebytego (**a**), czasu spędzonego w połowie klatki bliższej głośnika (**b**) oraz liczby wszystkich USV wyemitowanych (**c**) przez szczury Wistar **przed** (tj. średniej dla interwału od „-30 s” do „-10 s”) vs **podczas** odtwarzania USV (tj. w punkcie „0 s”) vs **po** odtwarzania (tj. średniej dla interwału od „10 s” do „30 s”); Wilcoxon.

a

Dystans przebyty, Wistar, Wilcoxon										
Odpowiedź na USV 50-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,0327	0,0004	0,1475	<0,0001	0,0005	0,0002	0,0002	<0,0001	<0,0001	<0,0001
przed vs po	0,7354	0,7820	0,5195	0,0462	0,0012	0,0874	0,0079	0,0067	0,0152	0,0113
podczas vs po	0,0171	<0,0001	0,4648	<0,0001	0,0398	0,0012	0,0395	<0,0001	0,0013	<0,0001
Odpowiedź na USV 22-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,7354	0,8603	0,6377	0,1207	0,1465	0,1336	0,1515	0,0265	0,1534	0,0686
przed vs po	0,3396	0,0092	0,7646	0,2615	0,0215	0,0039	0,0787	0,0051	0,0298	0,0002
podczas vs po	0,1272	0,0131	0,6377	0,0059	0,0061	<0,0001	0,0115	<0,0001	0,0043	<0,0001

b

Czas spędzony, Wistar, Wilcoxon										
Odpowiedź na USV 50-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,1016	0,0015	0,0273	0,2290	0,9102	0,0353	0,0874	0,0249	0,0137	0,0003
przed vs po	0,0195	0,0032	0,0020	0,0249	0,0391	0,0013	0,0001	0,0002	<0,0001	<0,0001
podczas vs po	0,1484	0,0342	0,3828	0,0028	0,0195	0,0103	0,0139	<0,0001	0,0036	<0,0001

Odpowiedź na USV 22-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,5469	0,4413	>0,9999	0,6002	0,0781	0,1520	0,2783	0,1256	0,2122	0,0974
przed vs po	0,0273	0,9594	0,0625	0,0171	0,3984	0,0121	0,0590	<0,0001	0,0058	0,0002
podczas vs po	0,1562	0,7353	0,0625	0,0186	0,8438	0,0051	0,1189	<0,0001	0,0250	0,0015

c

USV wyemitowane, Wistar, Wilcoxon										
Odpowiedź na USV 50-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,0010	0,0012	0,0020	<0,0001	0,0010	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
przed vs po	0,0020	0,0002	0,0020	<0,0001	0,0005	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
podczas vs po	0,0029	0,4722	0,3750	0,3191	0,0864	0,3788	0,0451	0,1522	0,0004	0,0939

Odpowiedź na USV 22-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,9375	0,2367	0,5000	0,0060	0,7500	0,0077	0,0703	0,7266	0,0168	0,7266
przed vs po	0,1484	0,0357	0,7500	0,0022	0,0469	0,0022	0,0801	0,0002	0,0025	0,0002
podczas vs po	0,1250	0,6719	>0,9999	0,2834	0,0312	0,1836	>0,9999	<0,0001	0,6170	<0,0001

Tab. S10. Analiza dystansu przebytego (**a**), czasu spędzonego w połowie klatki bliższej głośnika (**b**) oraz liczby wszystkich USV wyemitowanych (**c**) przez SHR **przed** (tj. średniej dla interwału od „-30 s” do „-10 s”) vs **podczas** odtwarzania USV (tj. w punkcie „0 s”) vs **po** odtwarzania (tj. średniej dla interwału od „10 s” do „30 s”); Wilcoxon.

a

Dystans przebyty, SHR, Wilcoxon										
Odpowiedź na USV 50-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,7002	0,0011	0,0645	0,0032	0,3750	0,6387	0,0296	0,0083	0,1954	0,0001
przed vs po	0,2402	0,1202	0,2754	0,2069	0,8457	0,4543	0,5459	0,1386	0,7498	0,0292
podczas vs po	0,9658	0,0003	0,0273	0,0007	0,1309	0,2293	0,0073	0,0006	0,0321	<0,0001

Odpowiedź na USV 22-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,0537	0,3289	0,1055	0,3529	0,1934	0,1514	0,0400	0,0803	0,0044	0,0483
przed vs po	0,0244	0,0032	0,0098	<0,0001	0,0098	0,0054	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
podczas vs po	0,3203	0,0150	0,4316	0,0150	0,0645	0,0730	0,0400	0,0024	0,0221	<0,0001

b

Czas spędzony, SHR, Wilcoxon										
Odpowiedź na USV 50-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,1289	0,1475	0,1602	0,0335	0,6875	0,2061	0,1348	0,0174	0,0224	0,0033
przed vs po	0,9414	0,0034	0,0137	<0,0001	0,3828	0,0161	0,0087	<0,0001	0,0284	<0,0001
podczas vs po	0,2500	0,0117	0,0156	0,0002	0,2500	0,0742	0,0020	<0,0001	0,2505	<0,0001
Odpowiedź na USV 22-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,6406	0,1763	0,3750	0,1070	>0,9999	0,9697	0,5693	0,2109	0,2943	0,0682
przed vs po	0,3828	0,0049	0,2969	0,0050	0,4375	0,5195	0,2334	0,0103	0,0759	0,0001
podczas vs po	0,5000	0,0313	>0,9999	0,0078	0,6250	0,2500	0,5625	0,0010	0,3125	<0,0001

c

USV wyemitowane, SHR, Wilcoxon										
Odpowiedź na USV 50-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	0,2500	0,0009	0,0781	0,0239	0,0391	0,1045	0,0024	0,0045	0,0051	<0,0001
przed vs po	0,0176	0,0001	0,0625	0,0075	0,0078	0,0164	0,0003	0,0002	<0,0001	<0,0001
podczas vs po	0,2227	0,1468	0,2500	0,0056	0,3906	0,1304	0,1244	0,0023	0,0496	0,0008
Odpowiedź na USV 22-kHz										
	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
przed vs podczas	>0,9999	0,2949	0,1250	0,3594	0,3125	0,9063	>0,9999	0,4581	>0,9999	0,8915
przed vs po	>0,9999	0,8379	0,1250	0,4180	0,7500	0,6250	0,0840	0,5410	0,1289	0,6977
podczas vs po	>0,9999	0,2422	0,5000	0,9219	0,2500	>0,9999	0,4375	0,9600	0,7031	0,3391

Tab. S11. Porównanie czasu spędzonego w połowie klatki (%) bliżej głośnika (procent czasu) z wartością 50% w chwili odtwarzania sygnałów (playback), bezpośrednio po odtwarzaniu (dla średnich z interwałów od „10 s” do „30 s” oraz od „10 s” do „60 s”) oraz w trakcie kontrolnego interwału przed odtworzeniem („-30 s” do „-10 s”; proszę zwrócić uwagę na wartości $p > 0,05$) u szczurów Wistar (**a**) i SHR (**b**); Wilcoxon.

a	Czas spędzony vs 50%, Wistar, Wilcoxon										
	Odpowiedź na USV 50-kHz										
	interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	0 (playback)	0,1028	0,0013	0,6338	0,1259	0,0269	0,0079	0,0433	0,0006	0,0089	<0,0001
	10 do 30	0,0093	0,0023	0,1064	0,0117	0,0002	0,0002	<0,0001	<0,0001	0,0000	<0,0001
	10 do 60	0,0242	0,0005	0,1221	0,0333	0,0017	0,0001	0,0005	<0,0001	0,0001	<0,0001
	-30 do -10	0,6257	0,0980	0,0234	0,7938	0,1028	0,7172	0,8982	0,9368	0,7400	0,5235
	Odpowiedź na USV 22-kHz										
	interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	0 (playback)	0,2852	0,6051	0,7539	0,9851	0,0095	0,6580	0,0400	0,8244	0,3694	0,4769
	10 do 30	0,4189	0,6233	0,0049	0,0090	0,0142	0,0401	0,0001	0,0001	0,0009	<0,0001
	10 do 60	0,0315	0,2775	0,0049	0,0100	0,0239	0,0586	0,0002	0,0002	0,0000	0,0001
	-30 do -10	0,0378	0,7564	0,6309	0,6274	0,0891	0,7475	0,0969	0,3854	0,3694	0,6711
b	Czas spędzony vs 50%, SHR, Wilcoxon										
	Odpowiedź na USV 50-kHz										
	interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	0 (playback)	0,0029	0,2984	0,5566	$>0,9999$	0,3984	0,1762	0,2715	0,2662	0,0069	0,1356
	10 do 30	0,1211	0,0033	0,0293	<0,0001	0,1250	0,0003	0,0079	<0,0001	0,0010	<0,0001
	10 do 60	0,4004	0,0048	0,1367	<0,0001	0,1367	0,0004	0,0249	<0,0001	0,0113	<0,0001
	-30 do -10	0,1201	0,8129	0,1875	0,0381	0,7656	0,9774	0,4051	0,1628	0,9031	0,1989
	Odpowiedź na USV 22-kHz										
	interwał	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	0 (playback)	$>0,9999$	0,3499	0,1094	0,3892	0,2891	0,8953	0,0309	0,4742	0,0679	0,2541
	10 do 30	0,5488	0,6536	0,0391	0,0141	0,1797	0,0082	0,0095	0,0150	0,0039	0,0005
	10 do 60	0,5625	0,0495	0,0059	0,0207	0,0840	0,6796	0,0011	0,0685	0,0025	0,0083
	-30 do -10	0,5762	0,5839	0,2305	0,2054	0,2949	0,8029	0,0727	0,4060	0,2885	0,3308

Tab. S12. Porównanie dystansu przebytego przez szczury Wistar (**a**) i SHR (**b**) w odpowiedzi na odtwarzanie USV 50-kHz vs USV 22-kHz; Wilcoxon, czas – nazwa 10-sekundowego interwału wykorzystanego w porównaniu.

a

Dystans przebyty, USV 50-kHz vs USV 22-kHz, Wilcoxon										
Wistar										
czas	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10- P
-60	0,4973	0,3225	0,2783	0,5028	0,8394	0,7983	0,5271	0,7976	0,2486	0,4726
-50	0,4973	0,2744	0,7002	0,8237	0,1465	0,6794	0,3596	0,6078	0,7884	0,8809
-40	0,8394	0,3484	0,4648	0,4245	0,3396	0,4900	0,9664	0,9183	0,8231	0,7286
-30	0,8926	0,7436	0,1748	0,8486	0,5879	>0,9999	0,6431	0,9082	0,8580	0,9309
-20	0,8394	0,5966	0,0537	0,1055	0,1272	0,8288	0,7469	0,2682	0,6120	0,2140
-10	0,7354	0,4954	0,3203	0,1762	0,6848	0,4900	0,7048	0,1408	0,5707	0,2894
0	0,0327	0,0013	0,0068	0,0003	0,2439	0,0006	0,0065	<0,0001	0,0003	<0,0001
10	0,0681	0,0250	0,1475	0,5028	0,0942	<0,0001	0,0269	0,0007	0,0037	<0,0001
20	0,0171	0,0027	0,0137	0,0425	0,0034	0,0008	<0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001
30	0,8394	0,0654	0,0098	0,0738	0,0215	0,0012	0,0003	0,0004	0,0013	<0,0001
40	0,4143	0,0386	0,0244	0,2902	0,2163	0,0001	0,0126	0,0011	0,1211	<0,0001
50	0,0398	0,8209	0,0020	0,0074	0,1909	0,0062	0,0031	<0,0001	0,0003	0,0004
60	0,0215	0,0155	0,6377	0,0542	0,3757	0,0124	0,2643	0,0011	0,0349	<0,0001
70	0,9460	0,6322	0,3203	0,2099	0,5417	0,1042	0,2076	0,0424	0,3538	0,1860
80	0,6355	0,0833	0,1748	0,8486	0,1909	0,2413	0,0526	0,3682	0,0699	0,0987
90	0,1099	0,0290	0,6377	0,0854	0,3054	0,0062	0,2768	0,0018	0,7316	0,0001
100	0,8394	0,1167	0,0420	0,5661	>0,9999	0,2753	0,1974	0,2065	0,3696	0,0438
110	0,2439	0,2114	0,5195	0,7745	0,4143	0,3736	0,3029	0,3546	0,1071	0,1731
120	0,8394	0,1439	0,8984	0,3369	0,3757	0,4180	0,3902	0,8677	0,4461	0,5487

b

Dystans przebyty, USV 50-kHz vs USV 22-kHz, Wilcoxon										
SHR										
czas	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10- P
-60	0,8984	0,7819	0,3223	0,1202	0,6250	0,3028	0,2943	0,7468	0,3673	0,9215
-50	0,7646	0,0714	0,3750	0,4586	0,5566	0,5245	0,2943	0,9046	0,3884	0,1745
-40	0,3652	0,7119	0,3223	0,5791	0,2324	0,8469	0,8695	0,8177	0,6496	0,7374
-30	0,2061	0,8536	0,9219	0,4307	0,0195	0,4543	0,1536	0,6916	0,8242	0,7152
-20	0,0098	0,8900	0,4922	0,4038	0,4922	0,3894	0,8408	0,9926	0,1156	0,8825
-10	0,3203	0,6777	0,1309	0,4038	>0,9999	0,8040	0,2611	0,6780	0,9154	0,9137
0	0,0420	0,0714	0,0195	0,0007	0,0488	0,0103	0,0003	<0,0001	<0,0001	<0,0001
10	0,0068	0,1743	0,0840	0,0110	0,0840	0,0730	0,0083	0,0014	<0,0001	0,0005
20	0,0830	0,3529	0,0195	0,0395	0,0020	0,0353	<0,0001	0,0028	<0,0001	0,0024
30	0,0244	0,0638	0,0840	0,0174	0,1055	0,0302	0,0083	0,0015	0,0003	0,0002
40	0,0020	0,1089	0,6953	0,0067	0,0098	0,0256	0,0532	0,0006	0,0002	0,0002
50	0,0010	0,0032	0,0645	0,2842	0,0098	0,1354	0,0023	0,0454	<0,0001	0,0005
60	0,0137	0,0129	0,0645	0,5171	0,0059	0,2293	0,0004	0,1288	<0,0001	0,0097
70	0,1748	0,1324	0,0645	0,0038	0,3750	0,0256	0,0441	0,0003	0,0110	0,0001
80	0,0420	0,1743	0,6250	0,1454	0,2324	0,0054	0,2162	0,0041	0,0157	0,0013
90	0,0010	0,0017	0,4922	0,3529	0,9219	0,1688	0,6742	0,1024	0,0260	0,0016
100	0,0674	0,0448	0,2754	0,1202	0,1309	0,5614	0,0441	0,4429	0,0066	0,0583
110	0,6377	0,2842	0,4316	0,0202	0,1309	0,0554	0,0637	0,0026	0,0727	0,0027
120	0,0420	0,2069	0,9219	0,0046	0,4316	0,2078	0,6215	0,0021	0,0793	0,0010

Tab. S13. Porównanie czasu spędzonego w połowie klatki bliżej głośnika przez szczury Wistar (**a**) i SHR (**b**) w odpowiedzi na odtwarzanie USV 50-kHz vs USV 22-kHz; Wilcoxon, czas – nazwa 10-sekundowego interwału wykorzystanego w porównaniu.

a

Czas spędzony, USV 50-kHz vs tony 50-kHz, Wilcoxon										
Wistar										
czas	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60	0,0781	0,0547	0,2188	0,2686	0,3359	0,2874	0,0856	0,9031	0,4801	0,3456
-50	0,5781	0,0781	0,0469	0,6736	0,3750	0,0740	0,0256	0,3644	0,1159	>0,9999
-40	0,8125	0,0938	0,1484	>0,9999	>0,9999	0,1392	0,1964	0,3876	0,2025	0,9242
-30	0,8125	0,0938	0,1250	0,8191	0,7422	0,5806	0,3348	0,5949	0,5045	0,7988
-20	0,1719	0,2734	0,0508	0,6770	0,9219	0,3203	0,2040	0,3509	0,7031	0,8003
-10	0,0938	0,2627	0,0938	0,5657	>0,9999	0,3613	0,2503	0,2819	0,9577	0,8586
0	0,0645	0,3303	0,9375	0,4385	0,6953	0,1046	0,7924	0,1189	0,2683	0,0586
10	0,0703	0,0234	>0,9999	0,5156	0,3750	0,1250	0,5566	0,1011	0,0730	0,0050
20	0,1094	0,0391	0,4062	0,8125	0,5000	0,2500	0,9531	0,2070	0,2163	0,0085
30	0,3750	0,0547	0,2188	0,6448	0,2500	0,4219	0,8457	0,4017	0,5977	0,0495
40	0,7500	0,0469	0,0938	0,9658	0,9062	0,4531	0,1753	0,5099	0,3734	0,1107
50	0,5000	0,0625	0,0938	0,3658	0,6406	0,6763	0,1096	0,6885	0,0890	0,5436
60	0,0469	0,5859	0,4375	0,0711	0,4688	0,6719	0,2119	0,1963	0,0175	0,4578
70	0,5625	0,7986	0,5625	0,4481	0,9844	0,8889	0,6692	0,4560	0,4355	0,6307
80	0,8594	0,2891	0,5312	0,4602	>0,9999	0,7573	0,5880	0,7812	0,7512	0,3615
90	0,5781	>0,9999	0,4375	0,4629	0,6719	0,0215	0,4238	0,4047	0,2985	0,4776
100	0,3750	0,7637	0,8125	0,5386	0,8750	0,2324	0,7656	0,7461	0,4448	0,9322
110	0,9062	0,7656	0,4375	0,7539	0,9453	0,2305	0,4537	0,7155	0,4608	0,9026
120	0,7578	0,1660	0,2969	0,5326	0,2852	0,1309	0,8156	0,7428	0,6937	0,4942

b

Czas spędzony, USV 50-kHz vs tony 50-kHz, Wilcoxon										
SHR										
czas	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60	0,8828	0,2734	0,5156	0,0195	0,8203	0,2510	0,7642	0,4138	0,9006	0,9712
-50	0,9062	0,4043	0,6406	0,0625	0,9844	0,7778	0,6749	0,4030	0,7103	0,2603
-40	0,5781	0,5762	0,2578	0,9092	0,3438	0,8489	0,1481	>0,9999	0,4750	0,7486
-30	0,3594	0,9297	0,1484	0,7986	0,5938	0,7520	0,1173	0,6551	0,4952	0,6278
-20	0,1484	0,8125	0,1094	0,9563	0,5938	0,9219	0,1077	0,8923	0,8969	0,9550
-10	0,1914	0,2500	0,0938	0,6763	0,3750	0,9063	0,0352	0,7909	0,5936	0,8101
0	0,0859	0,9658	0,2500	0,5693	0,7500	0,4609	0,3389	0,8916	0,6073	0,9307
10	0,5000	>0,9999	>0,9999	0,1250	>0,9999	0,4609	0,9531	0,0093	0,5430	0,0275
20	0,7500	>0,9999	>0,9999	0,1250	>0,9999	0,1250	0,8125	0,0156	0,4033	0,0621
30	0,7500	0,6875	0,7500	0,1250	>0,9999	0,1289	0,7031	0,0166	0,6542	0,0793
40	0,7344	0,3594	0,3750	0,6035	>0,9999	0,1563	0,5625	0,1283	0,5695	0,4937
50	0,2969	0,2500	0,1250	>0,9999	>0,9999	0,1602	0,0781	0,2798	0,0339	0,8469
60	0,5664	0,9707	0,0312	>0,9999	0,4375	0,1875	0,0156	0,4201	0,0262	0,5447
70	>0,9999	0,2363	0,0156	0,8489	0,7344	0,7656	0,1161	0,7292	0,2375	0,3068
80	>0,9999	0,3047	0,0039	0,7986	0,8438	0,5703	0,0861	0,4594	0,2179	0,2417
90	0,7578	0,5654	0,0078	0,3677	0,4727	0,5703	0,0196	0,2546	0,0639	0,1660
100	0,3359	0,3477	0,0312	0,5654	0,4531	0,6328	0,0424	0,8971	0,3753	0,5000
110	0,1602	0,6786	0,1094	0,3164	0,7266	0,6191	0,1579	0,7233	0,6774	0,5002
120	0,0469	0,1992	0,0312	0,8757	0,5781	0,2773	0,0862	0,6028	0,8258	0,6487

Tab. S14. Porównanie liczby USV wyemitowanych przez szczury Wistar (**a**) i SHR (**b**) w odpowiedzi na odtwarzanie USV 50-kHz vs USV 22-kHz; Wilcoxon. b.d. – brak danych, czas – nazwa 10-sekundowego interwału wykorzystanego w porównaniu.

a

USV wyemitowane, USV 50-kHz vs USV 22-kHz, Wilcoxon										
Wistar										
czas	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60	0,7500	0,5000	0,1250	0,5391	>0,9999	>0,9999	0,0625	0,6025	0,0391	0,2934
-50	0,7500	>0,9999	>0,9999	0,2188	b.d.	0,4688	>0,9999	0,1471	0,5000	0,1634
-40	0,8125	>0,9999	>0,9999	0,3984	0,5000	>0,9999	0,6250	0,3457	0,4961	0,3503
-30	>0,9999	0,1088	>0,9999	0,9326	>0,9999	0,1088	>0,9999	0,9863	0,7089	0,4948
-20	>0,9999	0,2733	>0,9999	0,5930	>0,9999	0,5002	0,8750	0,7500	0,4859	0,3782
-10	0,1875	0,5000	>0,9999	0,5294	>0,9999	0,5002	0,7500	0,2607	0,7282	0,1304
0	0,0015	0,0597	0,0020	0,0052	0,0107	0,0065	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
10	0,0054	0,0164	0,0020	0,0008	0,1982	0,0050	0,0014	<0,0001	<0,0001	<0,0001
20	0,0972	0,0207	0,0156	0,0018	0,3828	0,0050	0,0078	<0,0001	<0,0001	<0,0001
30	0,4141	0,1141	0,0078	0,0015	0,1289	0,0121	0,0008	<0,0001	<0,0001	<0,0001
40	0,0859	0,3863	0,0312	0,0106	0,5898	0,1055	0,0428	0,0009	<0,0001	0,0009
50	0,9297	1,0000	0,1250	0,0052	0,9453	0,0557	0,3494	0,0003	0,0011	0,0011
60	0,4375	0,3505	0,0625	0,0048	0,8438	0,0787	0,2119	0,0017	0,0005	0,0012
70	0,5352	0,5076	0,6250	0,0288	0,8672	0,2209	0,5531	0,0118	0,0055	0,0087
80	>0,9999	0,6726	0,1250	0,0150	0,6875	0,0935	0,1289	0,0010	0,0009	0,0035
90	0,5000	0,7353	0,0938	0,0113	>0,9999	0,2945	0,1523	0,0027	0,0056	0,0068
100	0,9375	0,5286	0,5000	0,1261	0,6250	0,1361	0,6719	0,0133	0,0263	0,0147
110	0,6250	0,5930	0,2500	0,2845	0,3125	0,0506	0,0723	0,0114	0,0080	0,0100
120	0,4375	0,0910	0,1250	0,4769	0,4141	0,4755	0,1211	0,2192	0,0100	0,0551

b

USV wyemitowane, USV 50-kHz vs USV 22-kHz, Wilcoxon										
SHR										
czas	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
-60	0,9844	0,4688	>0,9999	0,1953	0,6875	>0,9999	>0,9999	0,2949	>0,9999	0,6578
-50	0,8438	>0,9999	0,7500	>0,9999	0,5000	0,3750	>0,9999	0,6953	0,8584	0,7383
-40	0,5000	>0,9999	>0,9999	0,4063	0,5000	0,6250	0,2500	>0,9999	0,0859	0,9994
-30	0,5000	0,1250	0,1250	0,7188	0,3750	0,8750	0,8281	0,6816	0,6748	0,1935
-20	0,2500	0,9609	0,7500	0,6680	>0,9999	0,5313	0,7500	0,4128	0,6172	0,5526
-10	0,5312	>0,9999	>0,9999	0,5547	>0,9999	>0,9999	>0,9999	0,7983	0,5742	0,8473
0	0,2969	0,0511	0,0625	0,0259	0,2422	0,0195	0,0195	0,0008	0,0082	0,0001
10	0,1172	0,0117	0,0312	0,0002	0,0156	0,0391	0,0002	<0,0001	<0,0001	<0,0001
20	0,1562	0,0034	0,1250	0,0018	0,0156	0,0012	0,0010	<0,0001	0,0010	<0,0001
30	0,0703	0,0056	0,0781	0,0004	0,0312	0,0313	0,0017	<0,0001	0,0002	<0,0001
40	0,1562	0,0117	0,0312	0,0032	0,2500	0,0078	0,0068	<0,0001	0,0016	<0,0001
50	0,1328	0,0195	0,6250	0,0077	0,0625	0,0391	0,0732	0,0005	0,0125	<0,0001
60	0,1250	0,0020	0,0938	0,0383	0,0391	0,1211	0,0044	0,0056	0,0007	<0,0001
70	0,1250	0,0010	0,1250	0,0994	0,2500	0,2500	0,0156	0,0301	0,0024	0,0002
80	0,0156	0,0010	0,0625	0,1074	0,1875	0,0938	0,0098	0,0139	<0,0001	<0,0001
90	0,3750	0,0176	0,5000	0,2227	0,5000	0,0313	0,1719	0,0105	0,0776	0,0003
100	0,0625	0,0156	0,2500	0,0781	0,2500	>0,9999	0,0312	0,1498	0,0010	0,0120
110	0,6875	0,0156	>0,9999	0,2104	0,7500	>0,9999	0,3750	0,1687	0,1914	0,0097
120	0,3125	0,1406	>0,9999	0,8828	0,7500	>0,9999	0,6250	0,6504	0,2305	0,1670

Tab. S15. Właściwości USV 50-kHz („50”: liczba; długość; mpf – częstotliwość) oraz krótkich USV 22-kHz („k22”: liczba; długość; mpf – częstotliwość; %USV – odsetek w liczbie wszystkich USV) podczas całej sesji odtwarzania sygnałów ultradźwiękowych (**a**), pierwszych 10 min ciszy (**b**), odpowiedzi na odtwarzanie USV 50-kHz (**c**) oraz USV 22-kHz (**d**). Porównanie szczurów warunkowanych z odpowiadającą im kontrolą. **cd** – analizowany przedział czasu obejmował czas odtwarzania (10 s, interwał „0 s”) oraz 110 s następujące bezpośrednio po nim (łącznie 120 s).

a

Szczury warunkowane vs niewarunkowane, Mann-Whitney										
Cała sesja										
	Wistar					SHR				
badana właściwość	1-P	6-P	10-P	6-10-P	1-6-10-P	1-P	6-P	10-P	6-10-P	1-6-10-P
50:liczba	0,7553	0,2860	0,3891	0,7978	0,6532	0,9484	0,1407	0,0594	0,0333	0,0146
50:długość	0,2120	0,4214	0,9350	0,4413	0,1294	0,9742	0,8759	0,2915	0,4855	0,4101
50:mpf	0,8172	0,8245	0,1963	0,5664	0,6569	0,4823	0,5638	0,3829	0,1454	0,2863
k22:liczba	0,8079	0,3031	0,3891	0,1157	0,2801	0,4159	0,7845	0,3264	0,2765	0,4834
k22:długość	0,6106	0,8741	0,1114	0,4365	0,7537	0,0420	0,3568	0,3873	0,0316	0,2524
k22:mpf	0,7113	0,8326	0,0264	0,0596	0,0745	0,1638	0,7722	0,3742	0,2430	0,3778
k22:%USV	0,6857	0,7486	0,2915	0,5599	0,9628	0,8549	0,3345	0,7982	0,3552	0,4459

b

Szczury warunkowane vs niewarunkowane, Mann-Whitney										
Pierwsze 10 min ciszy										
	Wistar					SHR				
badana właściwość	1-P	6-P	10-P	6-10-P	1-6-10-P	1-P	6-P	10-P	6-10-P	1-6-10-P
50:liczba	0,4960	0,9550	0,1910	0,3286	0,2172	0,3004	0,4091	0,8421	0,4415	0,2594
50:długość	0,4964	0,5345	0,8382	0,8122	0,4716	0,2127	0,0328	0,2096	0,0116	0,0031
50:mpf	0,1890	>0,9999	0,4284	0,4167	0,1263	0,6483	0,5251	0,1557	0,6826	0,4147
k22:liczba	0,1908	0,4619	0,4859	0,2593	0,1476	0,1998	0,6290	0,7366	0,8997	0,4662
k22:długość	0,9508	0,0661	0,0779	0,9346	0,9540	0,0161	0,1395	0,5332	0,1492	0,0096
k22:mpf	0,4171	0,0763	0,0357	0,0079	0,0168	0,3918	0,9683	0,3674	0,4811	0,9486

c

Szczury warunkowane vs niewarunkowane, Mann-Whitney										
Odpowiedź na USV 50-kHz										
	Wistar					SHR				
badana właściwość	1-P	6-P	10-P	6-10-P	1-6-10-P	1-P	6-P	10-P	6-10-P	1-6-10-P
50:liczba	0,6184	0,0805	0,6724	0,2673	0,2361	0,9921	0,1625	0,0129	0,0077	0,0156
50:długość	0,0989	0,0413	0,8266	0,3480	0,0816	0,0945	0,4642	0,0865	0,0734	0,4344
50:mpf	0,5765	0,3828	0,0838	0,5808	0,9104	0,7211	0,3955	0,8262	0,4289	0,3664
k22:liczba	0,2123	0,8699	0,3885	0,4833	0,1677	0,5613	0,5089	0,1639	0,5552	0,8738
k22:długość	0,9427	0,2398	0,8665	0,2980	0,3109	0,1101	0,4606	0,3727	0,8413	0,6260
k22:mpf	0,1996	0,7972	0,8023	0,9566	0,4087	>0,9999	0,8404	0,7227	0,6520	0,7511
k22:%USV	0,6184	0,0805	0,6724	0,2673	0,2361	0,9921	0,1625	0,0129	0,0077	0,0156

d

Szczury warunkowane vs niewarunkowane, Mann-Whitney										
Odpowiedź na USV 22-kHz										
	Wistar					SHR				
badana właściwość	1-P	6-P	10-P	6-10-P	1-6-10-P	1-P	6-P	10-P	6-10-P	1-6-10-P
50:liczba	0,7851	0,0358	0,4658	0,3292	0,3416	0,3049	0,0017	0,3318	0,0092	0,0376
50:długość	0,0480	0,2436	0,6991	0,6372	0,0904	0,6305	0,0227	0,8873	0,0638	0,1986
50:mpf	0,2020	0,2308	0,1320	0,4747	0,7123	0,8534	0,0083	0,3572	0,5664	0,7567
k22:liczba	0,4255	0,9692	0,1245	0,3494	0,8076	0,5034	0,6852	0,3813	0,5283	0,4244
k22:długość	0,4444	0,7302	b.d.	0,9720	0,8169	0,5333	0,5333	0,4286	0,6537	0,7943
k22:mpf	0,3968	>0,9999	b.d.	0,6308	0,2061	>0,9999	0,8000	0,6429	0,4278	0,5887

Tab. S16. Właściwości USV 50-kHz („50”: liczba; długość; mpf – częstotliwość) oraz krótkich USV 22-kHz („k22”: liczba; długość; mpf – częstotliwość; %USV – odsetek w liczbie wszystkich USV) podczas całej sesji odtwarzania sygnałów ultradźwiękowych (**a**), pierwszych 10 min ciszy (**b**), odpowiedzi na odtwarzanie USV 50-kHz (**c**) oraz USV 22-kHz (**d**). Porównanie Wistar vs SHR. **cd** – analizowany przedział czasu obejmował czas odtwarzania (10 s, interwał „0 s”) oraz 110 s następujące bezpośrednio po nim (łącznie 120 s).

a	Szczury Wistar vs SHR, Mann-Whitney										
	Cała sesja										
	badana właściwość	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	50:liczba	0,5792	<0,0001	0,7712	0,0037	0,6813	<0,0001	0,6198	<0,0001	0,4606	<0,0001
	50:długość	0,2066	<0,0001	>0,9999	<0,0001	0,5322	<0,0001	0,6701	<0,0001	0,2604	<0,0001
	50:mpf	0,3607	0,0002	0,0101	<0,0001	0,0769	<0,0001	0,0012	<0,0001	0,0021	<0,0001
	k22:liczba	<0,0001	0,3303	0,0488	0,0053	0,0004	0,0113	0,0001	0,0002	<0,0001	<0,0001
	k22:długość	0,0156	0,6455	0,1903	0,4012	0,6658	0,7329	0,3054	0,7199	0,0167	0,7623
	k22:mpf	0,9279	0,2001	0,7962	0,9004	0,2816	0,7112	0,5133	0,8762	0,6825	0,9478
	k22:%USV	0,0006	0,0014	0,0868	<0,0001	0,0064	<0,0001	0,0016	<0,0001	<0,0001	<0,0001

b	Szczury Wistar vs SHR, Mann-Whitney										
	Pierwsze 10 min ciszy										
	badana właściwość	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	50:liczba	0,0490	>0,9999	0,0529	0,2879	0,0312	0,3058	0,0048	0,1163	0,0004	0,1770
	50:długość	0,6829	0,0474	0,4337	0,0066	0,7713	0,0208	0,7418	0,0003	0,6428	<0,0001
	50:mpf	0,5658	0,2455	0,1823	0,0003	0,6277	0,0046	0,2382	<0,0001	0,4981	<0,0001
	k22:liczba	0,0020	0,0062	0,0736	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	k22:długość	0,0065	0,7966	0,0079	0,6189	0,9705	0,6748	0,0996	0,9646	0,0028	0,9131
	k22:mpf	0,4779	0,1448	0,1672	0,4979	0,0068	0,9278	0,0029	0,8085	0,0064	0,3272

c	Szczury Wistar vs SHR, Mann-Whitney										
	Odpowiedź na USV 50-kHz										
	badana właściwość	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	50:liczba	0,4491	0,6758	0,0685	0,0561	0,6583	0,0004	0,1397	0,0003	0,0968	0,0007
	50:długość	0,1285	0,1425	0,8601	0,1487	0,0409	0,8572	0,1509	0,1889	0,8769	0,0802
	50:mpf	0,4779	0,1627	0,0114	0,0060	0,1111	<0,0001	0,0033	<0,0001	0,0078	<0,0001
	k22:liczba	0,1090	0,5962	0,8118	0,3386	0,0261	0,8608	0,0874	0,4098	0,0200	0,3169
	k22:długość	0,9792	0,1419	0,5556	0,1736	>0,9999	0,7430	0,4690	0,2629	0,6595	0,8181
	k22:mpf	0,5541	0,4908	0,9048	0,9117	>0,9999	0,9065	0,7108	0,8985	0,6595	0,7785
	k22:%USV	0,4491	0,6758	0,0685	0,0561	0,6583	0,0004	0,1397	0,0003	0,0968	0,0007

d	Szczury Wistar vs SHR, Mann-Whitney										
	Odpowiedź na USV 22-kHz										
	badana właściwość	0-P(1)	1-P	0-P(6)	6-P	0-P(10)	10-P	0-P (6-10)	6-10-P	0-P (1-6-10)	1-6-10-P
	50:liczba	0,0246	0,2325	0,8905	0,0092	0,2745	0,0016	0,3887	<0,0001	0,0353	<0,0001
	50:długość	0,1645	0,3148	0,8000	0,0889	>0,9999	0,8500	0,8242	0,2562	0,2423	0,7640
	50:mpf	0,0280	0,4747	0,4000	0,0006	0,9497	0,0062	0,6574	<0,0001	0,1099	<0,0001
	k22:liczba	0,1522	0,9196	0,5804	0,2614	0,4862	0,7516	0,9917	0,5767	0,3442	0,5890
	k22:długość	0,3810	0,7302	>0,9999	0,5556	b.d.	0,2571	0,4857	0,1280	0,2721	0,1222
	k22:mpf	0,8095	0,3651	0,8000	0,7857	b.d.	0,3857	0,4857	0,4349	0,4725	0,2798

8.3. Odtwarzanie sygnałów z głośnika szczurom przyjmującym haloperidol

Tab. S17. Emisja USV podczas sesji odtwarzania sygnałów ultradźwiękowych przez SHR przyjmujące chronicznie haloperidol w dawce 0, 1 lub 2 mg/kg/d oraz po połączeniu wyników dla dawek 1 i 2; Mann-Whitney (Ryc. 19). **a.** testy statystyczne wykonane na wszystkich wartościach; **b.** testy statystyczne wykonane po odrzuceniu wartości odstających. Wartość testu podana w nawiasie – powtórzenie wartości testu z tabeli „a” (w tym porównaniu nie istnieją wartości odstające).

a	Wszystkie wartości	Mann-Whitney			
		0 vs 1	0 vs 2	1 vs 2	0 vs 1+2
	częstość wokalizowania (A)	0,1592	0,1638	0,7878	0,0985
	okres początkowy (B)	0,5599	0,7015	0,9774	0,5674
	po USV 50-kHz (C)	0,0491	0,1548	0,8314	0,0472
	po USV 22-kHz (D)	0,5959	0,7429	0,7207	0,6105

b	Bez wartości odstających	Mann-Whitney			
		0 vs 1	0 vs 2	1 vs 2	0 vs 1+2
	częstość wokalizowania (A)	0,0590	0,0613	(0,7878)	0,0277
	okres początkowy (B)	(0,5599)	(0,7015)	(0,9774)	(0,5674)
	po USV 50-kHz (C)	0,0174	0,0872	(0,8314)	0,0246
	po USV 22-kHz (D)	0,1811	0,4931	0,4521	0,2344

Tab. S18. Zachowanie podczas sesji playbackowej szczurów SHR przyjmujących chronicznie haloperidol w dawce 0, 1 lub 2 mg/kg/d oraz po połączeniu wyników dla dawek 1 i 2; Mann-Whitney (Ryc. 20); porównanie wartości w poszczególnych punktach przebiegów. **a.** dystans przebyty; **b.** czas spędzony w połowie klatki bliższej głośnikowi; **c.** liczba wyemitowanych USV wszystkich kategorii; **d.** liczba wyemitowanych USV 50-kHz, czas – nazwa 10-sekundowego interwału wykorzystanego w porównaniu.

a

czas	Liczba USV, Mann-Whitney (EF)			
	0 vs 1	0 vs 2	1 vs 2	0 vs 1+2
-60	0,5768	0,9774	0,4865	0,7251
-50	0,8328	0,7553	0,7859	0,9590
-40	0,7399	0,4428	0,1179	0,7973
-30	0,8801	0,0332	0,1507	0,1723
-20	0,8801	0,1978	0,5254	0,3809
-10	0,9759	0,0387	0,0512	0,2343
0	0,6075	0,5899	0,9279	0,5257
10	0,3164	0,8874	0,3164	0,6436
20	0,8328	0,7125	0,6075	0,9318
30	0,9279	0,7987	0,8801	0,8239
40	0,2351	0,1600	0,7399	0,1232
50	0,6505	0,6297	0,9279	0,5716
60	0,1179	0,0519	0,8328	0,0373
70	0,2604	0,0887	0,6075	0,0922
80	0,4865	0,4428	0,4134	0,3809
90	0,2351	0,4428	0,8328	0,2483
100	0,6505	0,1432	0,4865	0,2483
110	0,7859	0,2189	0,2351	0,3623
120	0,8801	0,1978	0,2875	0,3809

b

czas	Liczba USV 50-kHz, Mann-Whitney (GH)			
	0 vs 1	0 vs 2	1 vs 2	0 vs 1+2
-60	0,7649	0,2710	0,5473	0,4034
-50	0,1714	0,1178	0,6771	0,0840
-40	0,0799	0,3462	0,7938	0,1196
-30	0,1064	0,8266	0,6999	0,2971
-20	0,6261	0,6511	0,6002	>0,9999
-10	0,4108	0,9291	0,4787	0,6873
0	0,8203	0,3235	0,4040	0,4644
10	0,6906	0,0881	0,2483	0,2038
20	0,6430	0,2365	0,1241	0,6423
30	0,8499	0,4758	0,5561	0,5587
40	0,6299	0,6889	>0,9999	0,6023
50	0,7456	0,2996	0,4684	0,4180
60	0,6582	0,2147	0,3976	0,3135
70	0,8777	0,9400	0,9656	0,9641
80	>0,9999	0,9204	0,7680	0,9516
90	0,3999	0,7601	0,2831	0,7727
100	0,2094	0,7473	0,0997	0,6191
110	0,0167	0,8972	0,1485	0,1588
120	0,0727	0,8141	0,1080	0,4049

c

czas	Liczba USV, Mann-Whitney (EF)			
	0 vs 1	0 vs 2	1 vs 2	0 vs 1+2
-60	0,5393	0,7240	0,8164	0,5607
-50	0,0641	0,1264	0,8954	0,0523
-40	0,3570	0,7663	0,5494	0,4560
-30	0,5315	0,9281	0,5145	0,5989
-20	>0,9999	0,3566	0,3877	0,5572
-10	0,8985	0,9394	0,8350	0,9775
0	0,1491	0,1491	0,9143	0,0887
10	0,0506	0,2859	0,4812	0,0783
20	0,1062	0,1068	0,7198	0,0583
30	0,0183	0,1839	0,5588	0,0324
40	0,1060	0,2052	0,9414	0,0933
50	0,1256	0,0668	0,5526	0,0534
60	0,0703	0,4349	0,5486	0,1296
70	0,0059	0,2811	0,3289	0,0258
80	0,3423	0,5362	0,8502	0,3600
90	0,9327	0,7716	0,6814	0,9061
100	0,1711	0,5335	0,5847	0,2492
110	0,0820	0,4539	0,2608	0,1507
120	0,0226	0,1870	0,6815	0,0398

d

czas	Liczba USV 50-kHz, Mann-Whitney (GH)			
	0 vs 1	0 vs 2	1 vs 2	0 vs 1+2
-60	0,3300	0,3792	0,9746	0,2562
-50	0,2374	0,2692	0,8972	0,1861
-40	0,6425	>0,9999	0,6330	0,7798
-30	0,5433	0,7950	0,7663	0,5556
-20	0,8382	>0,9999	0,7663	0,9211
-10	0,7351	0,8562	0,7123	0,9826
0	0,1491	0,1491	>0,9999	0,0887
10	0,0372	0,2277	0,3627	0,0538
20	0,1278	0,1069	0,6772	0,0658
30	0,0115	0,1123	0,5191	0,0172
40	0,0327	0,0729	0,8281	0,0247
50	0,0662	0,0377	0,6113	0,0259
60	0,1113	0,4162	0,6416	0,1621
70	0,0021	0,1101	0,1544	0,0076
80	0,2573	0,1101	0,7290	0,2935
90	0,8122	0,8372	>0,9999	0,7872
100	0,1050	0,3039	0,5298	0,1233
110	0,0804	0,5288	0,2773	0,1741
120	0,0346	0,1895	0,7179	0,0465

Tab. S19. Zachowanie podczas sesji playbackowej szczurów SHR przyjmujących chronicznie haloperidol w dawce 0, 1 lub 2 mg/kg/d oraz po połączeniu wyników dla dawek 1 i 2 (Ryc. 20); porównanie przebiegów, Friedman. **a.** dystans przebyty (lewa strona tabeli) i czas spędzony w połowie klatki bliższej głośnikowi (prawa strona tabeli); **b.** liczba wyemitowanych USV wszystkich kategorii (lewa strona tabeli) i liczba wyemitowanych USV 50-kHz (prawa strona tabeli).

a

	Dystans przebyty, Friedman (A)				Czas spędzony, Friedman (B)			
HALO	0	1	2	1+2	0	1	2	1+2
-120 do 180	0,3915	0,5478	0,6214	0,3658	0,0013	0,0468	0,1434	0,0207
-60 do 60	0,1724	0,4710	0,0568	0,1727	0,0047	0,0004	0,0998	0,0000
-10 do 10	0,0388	0,1632	0,0053	0,0259	0,0028	0,0040	0,3368	0,0046
0 do 30	0,0576	0,2407	0,0937	0,0492	0,0381	0,0026	0,4656	0,0041
-120 do -100	0,3385	>0,9999	0,5580	0,7376	0,7026	0,3557	0,1717	0,6065
-30 do -10	0,4724	0,2192	0,3679	0,5682	0,7613	0,1919	0,2801	0,0700

b

	Liczba wszystkich USV, Friedman (C)				Liczba USV 50-kHz, Friedman (D)			
HALO	0	1	2	1+2	0	1	2	1+2
-120 do 180	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0000	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
-60 do 60	0,0006	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,0014	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
-10 do 10	0,0119	0,0011	0,0056	< 0,0001	0,0246	0,0009	0,0043	< 0,0001
0 do 30	0,0056	0,0012	0,0002	< 0,0001	0,0091	0,0012	0,0002	< 0,0001
-120 do -100	0,1146	0,0646	0,7640	0,4700	0,3679	0,1615	0,6188	0,3114
-30 do -10	0,8574	0,7275	0,6303	0,8643	0,7047	0,6873	0,5488	0,6205

Tab. S20. Analiza zachowania szczurów SHR przyjmujących chronicznie haloperidol w dawce 0, 1 lub 2 mg/kg/d oraz po połączeniu wyników dla dawek 1 i 2: **przed** (tj. średniej dla interwału od „-30 s” do „-10 s”) vs **podczas** odtwarzania USV (interwał „0 s”) vs **po** odtwarzaniu (tj. średniej dla interwałów od „10 s” do „30 s”); Wilcoxon.

a

	Dystans przebyty, Wilcoxon (A)				Czas spędzony, Wilcoxon (B)			
HALO	0	1	2	1+2	0	1	2	1+2
przed vs podczas	0,1831	0,5195	0,0083	0,0126	0,0674	0,0244	>0,9999	0,1042
przed vs po	0,0283	0,7002	0,3652	0,7564	0,0332	0,0137	0,4961	0,0136
podczas vs po	0,0112	0,0420	0,0923	0,0101	0,0742	0,0469	0,1602	0,0062

b

	Liczba wszystkich USV, Wilcoxon (C)				Liczba USV 50-kHz, Wilcoxon (D)			
HALO	0	1	2	1+2	0	1	2	1+2
przed vs podczas	0,0703	0,8398	0,8008	0,7874	0,1406	0,8945	0,9844	0,9909
przed vs po	0,0029	0,0010	0,0078	<0,0001	0,0029	0,0010	0,0049	<0,0001
podczas vs po	0,0010	0,0005	0,0020	<0,0001	0,0010	0,0005	0,0020	<0,0001

Tab. S21. Analiza czasu spędzonego w połowie klatki bliższej głośnikowi w porównaniu z poziomem prawdopodobieństwa 50%: podczas odtwarzania USV (interwał „0 s”) oraz bezpośrednio po (tj. dla średniej z interwałów od „10 s” do „30 s” oraz „10 s” do „60 s”), a także w przed playbackiem (tj. średniej z interwałów kontrolnych od „-120 s” do „-100 s” oraz „-30 s” do „-10 s”), Wilcoxon.

	Czas spędzony vs 50%, Wilcoxon (B)			
interwał	HALO0	HALO1	HALO2	HALO1+2
0 (playback)	0,0098	0,0859	0,3193	0,0457
10 do 30	0,0010	0,0059	0,1016	0,0013
10 do 60	0,0093	0,0186	0,0908	0,0035
-120 do -100	0,9092	0,5566	0,1602	0,1525
-30 do -10	0,4502	0,9102	0,5654	0,5881

Tab. S22. Zachowanie w teście otwartego pola (OF) szczurów SHR przyjmujących chronicznie haloperidol w dawce 0, 1 lub 2 mg/kg/d oraz po połączeniu wyników dla dawek 1 i 2 (Ryc. 21). **a.** porównania testem Manna-Whitneya; **b.** porównania testem Wilcoxona dla czasu spędzonego w strefach OF.

a

badana zmienna	różnice między grupami, Mann-Whitney			
	0 vs 1	0 vs 2	1 vs 2	0 vs 1+2
dystans (A)	0,0029	0,0022	0,6597	0,0004
czas spędzony w strefach, środek (B)	0,7987	0,7553	0,7553	0,7283
czas spędzony w strefach, przy ścianie (B)	0,8428	>0,9999	0,7553	0,9079
liczba stójek (C)	0,0234	0,0035	0,5034	0,0025
czas trwania stójki (D)	0,7271	0,4379	0,6186	0,5089
latencja mikcji (E)	0,0164	0,6485	0,5035	0,0456

b

badana zmienna	środek vs przy ścianie, Wilcoxon			
	0	1	2	1+2
czas spędzony w strefach OF (B)	0,1763	0,1763	0,1099	0,0315