

Tartu Ülikool  
Sotsiaalteaduste valdkond  
Psühholoogia instituut

Karolina Puksa

**POSITIIVNE AFEKTIIVSUS JA PÜSISUHKRUTARBIMINE: INDIVIDUAALSED  
ERINEVUSED AKUUTSE AMFETAMIINI MÕJUS 50-KHZ  
ULTRAHELHÄÄLITSUSTELE NING LIKUMISAKTIIVSUSELE**

Uurimistöö

Juhendajad: prof. Jaanus Harro, MD, PhD

Marten Vares, MA

Jooksev pealkiri: Individuaalsed erinevused amfetamiini manustamisel

Tartu 2020

**Positiivne afektiivsus ja püsisuhkrutarbimine: individuaalsed erinevused akuutse amfetamiini mõjus 50-kHz ultrahelihäälitsustele ning liikumisaktiivsusele**

**Kokkuvõte**

Käesolevas töös uuriti, kuidas mõjutab akuutne amfetamiini manustamine erineva positiivse afektiivsuse ja püsisuhkrutarbimisega rottide 50-kHz ultrahelihäälitsuste arvu ja liikumisaktiivsust. Kõdistamisele järgnevate ultrahelihäälitsuste alusel jaotati rotid (N = 40) palju- ja vähekuudisejateks (vastavalt HC ja LC) ning suhkruelistuse testide põhjal palju- ja vähemaiustajateks (vastavalt HSuc ja LSuc). Kõikidele rottidele manustati katsepäeval amfetamiini (1 mg/kg, kõhuõonesiseselt) ning skooriti nende 50-kHz ultrahelihäälitsusi ja liikumisaktiivsust, mis esinesid 20 minuti jooksul pärast amfetamiini manustamist. Kahesuunalise ANOVA tulemusena selgus, et HC ja LC ning HSuc ja LSuc rotid ei erinenud teineteisest amfetamiini manustamisele järgnevas kудisemises ja liikumisaktiivsuses statistiliselt oluliselt. Tulemustest järeldub, et ilma eelneva kroonilise muutliku stressirežiimita ei erine fenotüübid käitumuslikus vastuses amfetamiinile.

Märksõnad: positiivne afektiivsus, püsisuhkrutarbimine, amfetamiin, 50-kHz ultrahelihäälitsused, liikumisaktiivsus

**Positive affectivity and sugar intake: individual differences in the effect of acute amphetamine on 50-kHz ultrasonic vocalizations and locomotor activity**

**Abstract**

The present study investigated the effects of acute amphetamine administration on the number of 50-kHz vocalizations and locomotor activity in rats with different sugar intake and positive affectivity. Rats (N = 40) were divided into high and low chirpers (HC and LC, respectively) based on vocalizations emitted during tickling, and high and low sucrose consumers (HSuc and LSuc, respectively) based on sugar preference tests. On challenge day, all rats were administered amphetamine (1 mg/kg, intraperitoneally) and scored for 50-kHz ultrasound and locomotor activity occurring within 20 minutes from amphetamine administration. Two-way ANOVA revealed that there were no statistically significant differences between HC and LC, and HSuc and LSuc rats in chirping and locomotor activity after amphetamine administration. The results suggest that without a previous chronic variable stress regimen, the phenotypes do not differ in behavioral response to amphetamine.

Keywords: positive affectivity, sugar intake, amphetamine, 50-kHz ultrasound vocalizations, locomotor activity

## 1. Sissejuhatus

### 1.1 Sarrustustasu regulatsioon ajus

Tasu on tavaliselt jaotatud motivatsiooniliseks („tahtmine“) ja hedooniliseks („meeldimine“) komponendiks (Berridge & Robinson, 1998). Üks olulisimaid aju tasu juhteteid, mesolimbiline dopamiini juhtetee, saab alguse dopamiinergiliste neuronite kehadest ventraalses tegmentaalses alas ning projitseerib sealt *nucleus accumbens* (Ikemoto, 2007; Phillips & Fibiger, 1978). Mesolimbiline dopamiinergiline süsteem, eelkõige dopamiini vabanemine naalduvas tuumas, mängib olulist rolli paljudes tasu aspektides, mida vallandavad loomulikud kaasasündinud tasustiimulid (Heffner, Hartman, & Seiden, 1980; Phillips, Atkinson, Blackburn, & Blaha, 1995; Robinson et al., 2001; Young, Joseph, & Gray, 1992) ja psühhostimulandid (Koob, Sanna, & Bloom, 1998; Wise, 1998; Di Chiara & Imperato, 1988; Nestler, 2001). *Nucleus accumbens* omab kriitilist tähtsust tahtmise ja meeldimise kodeerimisel ning suunab tähelepanu rahuldust pakkuvale stiimulile (Nestler & Carlezon, 2006; Salamone, Correa, Mingote, & Weber, 2003).

### 1.2 Rottide ultrahelihäälitsused

Rotid suhtlevad ultrahelihäälitsuste abil ning edastavad nende abil teistele liigikaaslastele oma motivatsioone ja emotsionaalseid seisundeid (Brudzynski, 2009, 2013). Kuna ultrahelihäälitsuste mõõtmise kaudu saame ettekujutuse rottide emotsionaalsetest protsessidest (Wöhr & Schwarting, 2013; Burgdorf et al., 2008, Brudzynski, 2013), kasutatakse nende häälitsuste mõõtmist psühhofarmakoloogia eksperimentides rottide emotsionaalsuse indeksina (Wöhr & Schwarting, 2013). Kaks käesoleval ajal enam uuritud põhilist ultrahelihäälitsuste kategooriat on 22-kHz ja 50-kHz häälitsused (Brudzynski, 2007, 2013).

#### 1.2.1 22-kHz ultrahelihäälitsused

22-kHz ultrahelihäälitsused on hoiatamise ja alarmeerimise häälitsused (Brudzynski, 2013), mida rotid produtseerivad ebameeldivates ja ohtlikes situatsioonides (Brudzynski, 2009, 2015), näiteks kassi läheduses (Blanchard et al., 1991), elektrilöögi saamisel jalgadesse (Wöhr, Borta, & Schwarting, 2005; Cuomo et al., 1988) või sabasse (van der Poel, Noach, & Miczek, 1989), akustilise ehmatuse korral (Kaltwasser, 1990), narkootikumidest võõrutamisel (Barros & Miczek, 1996; Mutschler & Miczek 1998; Covington & Miczek 2003), domineeriva

liigikaaslase kohalolul (Panksepp, Burgdorf, Beinfeld, Kroes, & Moskal, 2004; Thomas, Takahashi, & Barfield, 1983) ning sotsiaalse isolatsiooni (Francis, 1977) ja sotsiaalse kaotuse puhul (Panksepp et al., 2004; Thomas et al., 1983). 22-kHz häälsused võivad peegeldada negatiivseid afektiseisundeid, mis on sarnased ärevusele (Jelen, Soltysik, & Zagrodzka, 2003; Brudzynski, 2013; Schwarting & Wöhr, 2012) ning anksiolüütikumid vähendavad nende vokalisatsioonide arvu (Miczek, Weerts, Vivian, & Barros, 1995). 22-kHz ultrahelihäälsused on seotud laterodorsaalse tegmentaalse tuuma koliinergiliste neuronite aktiivsusega (Brudzynski, 2001).

### **1.2.2 50-kHz ultrahelihäälsused**

50-kHz ultrahelihäälsused ehk kudinad on vokalisatsioonid vahemikus 35-80kHz (Brudzynski, 2013), mis peegeldavad rõõmusarnaseid afektiseisundeid (Brudzynski, 2007; Burgdorf & Moskal, 2010). Kudisemise abil saab mõõta roti positiivset emotsionaalsust nii kvantitatiivselt kui ka kvalitatiivselt häälsuste alakategooriate kaudu (Brudzynski, 2007; Burgdorf et al., 2008; Knutson, Burgdorf, & Panksepp, 2002). 50-kHz ultrahelihäälsused on seotuse ja sotsiaalse koostöö hüüud (Brudzynski, 2013).

Kudisemine on seotud positiivsete emotsionaalsete ja motivatsiooniliste seisunditega, nagu aju dopamiinergiliste süsteemide elektriline stimulatsioon (Burgdorf et al., 2000; Burgdorf, Wood, Kroes, Moskal, & Panksepp 2007), mängimine (Burgdorf et al., 2008; Knutson et al., 1998) või selle ootus (Knutson, Burgdorf, & Panksepp, 1998), „kõdistamine“ (Burgdorf & Panksepp, 2001; Panksepp & Burgdorf, 2000) või selle ootus (Panksepp & Burgdorf, 2000), paaritumine (Bialy, Rydz, & Kaczmarek, 2000; McGinnis & Vakulenko, 2003; Burgdorf et al., 2008) ning psühhostimulantide manustamine (Burgdorf, Knutson, Panksepp, & Ikemoto, 2001; Thompson, Leonard, & Brudzynski, 2006; Simola, Frau, Plumitallo, & Morelli, 2014). 50-kHz ultrahelihäälsused on seotud mesolimbilise dopamiinergilise juhtetega, eelkõige suurenenud dopamiini aktiivsusega naalduva tuuma kesta (Brudzynski, 2015, Burgdorf et al., 2001; Thompson et al., 2006; Burgdorf et al., 2007).

### **1.2.3 Kudisemise fenotüübid**

Rottide vahel on stabiilsed individuaalsed erinevused 50-kHz häälsuste produtseerimise arvus, mis esinevad nii mitmenädalasel kõdistamisel (Mällo, et al., 2007, Mällo, Matrov, Kõiv, &

Harro, 2009) kui ka pärast amfetamiini manustamist (Taracha, et al., 2012). Paljukudisevad rotid on passiivsemad uudiskasti ja sundujumise testides (Mällo et al., 2007) ning vähekudisevad rotid on haavatavamad kroonilise muutliku stressi suhtes (Mällo et al., 2009; Raudkivi, Mällo, & Harro, 2012). Kaasasündinud erinevusi tõestab ka asjaolu, et on võimalik aretada kõrge ja madala positiivse afektiivsuse tasemega rotte, sealjuures produtseerivad paljukudisevad loomad vähem 22-kHz häälsusi kui vähekudisejad ning vastupidi (Burgdorf, Panksepp, Brudzynski, Kroes, & Moskal, 2005; Panksepp, Burgdorf & Gordon, 2001). Paljukudisejate fenotüüp on positiivselt seotud sahharoosi eelistamisega (Mateus-Pinheiro et al., 2014) ja selektiivse aretamise järgselt eelistavad kõrge positiivse afektiivsusega rotid suhkrut rohkem võrreldes juhuslikustatud aretusega rottidega (Burgdorf et al., 2009).

Samuti sõltub roti häälitsemine amfetamiini manustamise järgselt stabiilsetest rottidevahelistest individuaalsetest erinevustest positiivse afektiivsuse osas. Paljukudisevad rotid produtseerivad pärast amfetamiini manustamist rohkem 50-kHz häälsusi kui vähekudisevad loomad (Vares et al., 2018). Krooniline muutlik stress vähendab amfetamiini indutseeritud 50-kHz häälsusi vähekudisevatel rottidel, osutades kõrgele anhedooniale nende loomade seas, mistõttu madalama positiivse afektiivsusega rotid on amfetamiini mõjudele haavatavamad (Kõiv et al., 2016).

### **1.3.1 Amfetamiini toimemehhanism**

Amfetamiin tõstab rakkudevälise dopamiini taset eelkõige *nucleus accumbens* (Koob et al., 1998, Di Chiara & Imperato, 1988) seondudes dopamiini transporterile, takistades seeläbi dopamiini tagasihaaret presünaptilisse rakku. Lisaks pöörab amfetamiin ümber dopamiini transporterite funktsiooni, mistõttu dopamiin vabaneb dopamiini transporterite kaudu sünaptilisse pillu (Howell & Kimmel, 2008; Sulzer, Sonders, Poulsen, Galli, 2005).

### **1.3.2 Amfetamiini mõju ultrahelihäälsustele**

Amfetamiin aktiveerib mesolimbilise dopamiinergilise närviülekanne ning seeläbi tõuseb 50-kHz ultrahelihäälsuste arv (Burgdorf, Wood, Kroes, Moskal, Panksepp, 2007; Ahrens, Ma, Maier, Duvauchelle, Schallert, 2009; Burgdorf et al., 2001). Pärast amfetamiini lokaalseid süste *nucleus accumbens* hakkavad rotid kudisema (Burgdorf et al., 2001; Thompson et al., 2006), mis

tähendab, et dopamiinireseptorite aktivatsioon naalduvas tuumas on võtmesündmus psühhostimulantide indutseeritud 50-kHz hääliitsuste produtseerimisel.

Rottide vahel on stabiilsed individuaalsed erinevused amfetamiini manustamisele järgnevat kudisemishääliitsuste arvus (Ahrens et al., 2013; Taracha et al., 2012). 50-kHz ultrahelihääliitsusi käsitletakse narkootikumi meeldivuse ja motivatsiooniliste omaduste näitajana (Burgdorf et al., 2001) ning nende emissiooni kasutatakse järjest enam narkootikumide poolt esile kutsutud emotsionaalse seisundi markerina (Simola & Brudzynski, 2018). Samuti saab kudinade mõõtmist rakendada positiivse afektiseisundi näitajana sõltuvuse tekkimise uurimisel (Ahrens et al., 2009; Barker et al., 2014; Taracha et al., 2014.).

### 1.3.3 Amfetamiini mõju liikumisaktiivsusele ja stereotüüpiatele

Amfetamiin suurendab väikeste annuste juures liikumisaktiivsust ja suurtemate annuste juures indutseerib väikeseid korduvaid ehk stereotüüpseid liigutusi (Kelley, 2001; Wise & Bozarth, 1987; Jackson, Andén, Dahlström, 1975; Pijnenburg, Honig, Van der Heyden, & Van Rossum, 1976; Lyon & Randrup, 1972; Robinson & Becker, 1986), mõlemad leiavad aset dopamiinergilise aktiivsuse suurenemise tõttu. Amfetamiini poolt vahendatud rakuvälise dopamiini taseme tõus *nucleus accumbens* on hüperlokomotsiooni põhjuseks (Staton & Solomon, 1984; Dreher & Jackson, 1989) ning rottidel, kes on amfetamiini manustamise järgselt aktiivsemad, on dopamiini tase naalduvas tuumas kõrgem kui nendel, kelle liikumisaktiivsus on madal (Piazza et al., 1991). Roti stereotüüpne käitumine väljendub tavaliselt lakkumises, närimises, nuuskimises ning korduvates pealiigutustes (Robinson & Becker, 1986; Kelley, 2001; Wise & Bozarth, 1987). Stereotüüpiad seostatakse kõrgenenud aktiivsusega dopamiinergilises nigrostriataalses juhtetes (Creese & Iversen, 1975; Weston & Greenfield, 1985; Staton & Solomon, 1984). Amfetamiini korduval manustamisel muutub suurenenud liikumisaktiivsuse vastus tugevamaks ehk tekib käitumuslik sensitiseerimine (Segal & Mandell, 1974).

### 1.4 Suhkrutarbimine

Suhkru manustamine kutsub esile 50-kHz ultrahelihääliitsusi (Sclafani & Clyne, 1987; Mateus-Pinheiro et al., 2014). Sahharoosi tarbimise kogus on näitaja roti individuaalsest hedoonilisusest ning kudinad on indikaatorid suhkru meeldivusest rotile (Mateus-Pinheiro et al., 2014; Der-Avakian & Markou, A. 2012).

Narkootilised ained ja suhkur kutsuvad esile sarnaseid käitumuslikke ja neurobioloogilisi efekte – suhkur võib mõjutada samu neuroloogilisi süsteeme kui amfetamiin (Colantuoni et al., 2001). Nii, nagu psühhostimulantide manustamine, tõstab ka suhkru manustamine dopamiini taset naalduvas tuumas (Mateus-Pinheiro et al., 2014; Der-Avakian & Markou, 2012; Hajnal, Smith, Norgren, 2004). Suhkrutarbimine muudab aju neurokeemiat analoogselt kroonilisele narkootikumitarbimisele, näiteks mõjutab sahharoositarbimine dopamiinireseptorite ekspressiooni *nucleus accumbens* (Hakim, Keay, 2019; Colantuoni et al., 2001) ja tõstab rakuvälise dopamiini taset *nucleus accumbens* kestas (Rada, Avena, & Hoebel, 2005). Sarnaselt narkootikumide kuritarvitamise muustrile, söövad rotid esimesel tunnil alates suhkrule ligipääsust suures koguses granuleeritud sahharoosi ning nädalate jooksul tõstavad nad progressiivselt oma suhkrutarbimist (Colantuoni et al., 2001). Suhkrule ligipääsu lõppedes kõrgeneb rottide ärevuse tase ehk neil tekivad võõrutusnähud (Colantuoni et al., 2002).

#### 1.4.1 Suhkrutarbimise fenotüübid

Rottide seas esinevad suured individuaalsed erinevused suhkru tarbimise koguses (Sills & Vaccarino, 1994; Desousa, Bush, Vaccarino, 2000) ning see on stabiilne tunnus (Hakim & Keay, 2018), eriti mõõdetuna pimedustsükli ajal (Tõnissaar, Herm, Rincken, & Harro, 2006). Vähemaiustajad rotid on ärevamad (DeSousa, Wunderlich, Cabo, & Vaccarino, 1998) ning manustavad endale vähem amfetamiini (DeSousa, et al., 2000). Kõrge ja madala suhkrutarbimise olemasolu võib peegeldada rottide kaasasündinud erinevusi tundlikkuses tasule (Hakim & Keay, 2020).

Individuaalsed erinevused sahharoosi tarbimises ennustavad vastuvõtlikkust amfetamiini dopamiini-aktivatsiooni (Sills & Crawley, 1996) ja psühhomotoorsetele efektidele (Sills & Vaccarino, 1994). Paljumaiustavad rotid on pärast amfetamiini manustamist aktiivsemad (Sills, Vaccarino, 1994; Sills, Onalaja, & Crawley, 1998) ning kroonilise muutliku stressirežiimi järgselt kudisevad paljumaiustajad amfetamiini manustamisel enam kui vähemaiustajad (Kõiv et al., 2019). Suurtel suhkrutarbijatel vabaneb sahharoosi ja amfetamiini manustamisel *nucleus accumbens* presünaptilistest rakkudest rohkem dopamiini võrreldes rottidega, kes suhkrut vähem tarbivad (Sills & Crawley 1996; DeSousa et al., 2000) ning see väljendub käitumuslikes erinevustes suhkru tarbimisel ja amfetamiini manustamisel (Sills et al., 1998). Kaasasündinud mesolimbilise dopamiinisüsteemi funktsioneerimise eripärad võivad olla füsioloogiliseks aluseks



käitumuslikele erinevustele suhkru ja psühhostimulantide manustamisel (Hakim & Keay, 2020; DeSousa et al., Colantuoni et al., 2000).

### 1.5 Uuringu eesmärk

Käesoleva uuringu eesmärk on välja selgitada 50-kHz ultrahelihäälistuste ja püsisuhkrutarbimise fenotüüpide omavahelisi seoseid akuutsel amfetamiini manustamisel ehk kuidas on omavahel seotud positiivne afektiivsus ja hedoonia psühhostimulantide akuutsete efektide kogemisel käitumuslikul tasandil.

**Hüpotees 1:** Paljukudisevad rotid produtseerivad akuutse amfetamiini manustamise järgselt rohkem 50-kHz ultrahelihäälistusi ja nende liikumisaktiivsus on kõrgem võrreldes vähekudisevate rottidega.

**Hüpotees 2:** Paljumaiustavad rotid produtseerivad akuutse amfetamiini manustamise järgselt rohkem 50-kHz ultrahelihäälistusi ja nende liikumisaktiivsus on kõrgem võrreldes vähemaiustavate rottidega.

Töö autor koostas kirjanduse kokkuvõtte, kirjutas metodoloogia, teostas osa kirjeldatud eksperimentidest (viis osaliselt läbi kōdistamise ja suhkruelistuse mõõtmise ning analüüsis liikumisaktiivsuse täies mahus), statistilise analüüsi ja tõlgendas tulemusi lähtuvalt uuringu eesmärgist ja hüpoteesidest.

## 2. Meetod

### 2.1 Katseloomad

Isased Wistar liini rotid (N = 40) võõrutati emast 21-päeva vanusena ning majutati algul ühekaupa standardsetesse läbipaistvatesse polüpropüleenist saepurukattega puuridesse, pärast kahenädalast kōdistamise perioodi majutati loomad neljakaupa. Loomi hoiti kontrollitud temperatuuriga (20-22°C) ruumis 12-tunnise valguse-pimeduse tsükliga (valgustsükkel 7:00-19:00). Vesi ning toidugraanulid olid rottidele vabalt kättesaadavad. Kõik käitumuslikud eksperimentid, v.a suhkruelistuse mõõtmine, viidi läbi valgustsükli ajal. Eksperimentid olid kooskõlas Euroopa Liidu seadusandlusega (direktiiv 2010/63/EU).

## 2.2 Üldine protseduur

Rottide kōdistamise protseduur algas päev pärast nende üksikmajutust, loomi kōdistati üks kord päevas 14 päeva järjest (Mällo et al., 2007, 2009) ning pärast kōdistamisperioodi majutati rotid neljakaupa. Kōdistamisperioodi kudinate põhjal jaotati rotid paljukudisejateks (HC – inglise k *high-chirping*) ja vähekudisejateks (LC – inglise k *low-chirping*). Suhkrutarbimise baastaseme määramiseks viidi järgneva nelja nädala jooksul läbi suhkruelistuse testid, mille põhjal jaotati katseloomad paljumaiustajateks (HSuc – inglise k *high sucrose*) ja vähemaiustajateks (LSuc – inglise k *low sucrose*), kudisemise ja suhkrutarbimise tasakaalustamiseks majutati nad ümber uutesse neljastesse gruppidesse (Tõnissaar et al., 2006). Antud eksperimendi puhul oli tegemist 2 × 2 katseplaaniga, kus sõltumatuteks gruppideks oli neli fenotüüpi: HC-HSuc, HC-LSuc, LC-HSuc, LC-LSuc, igas grupis 10 rott.

Kirjeldatud katsed olid osa suuremast uuringust, kus kasutati 80 katselooma. Pärast fenotüüpide määramist viidi neist pooltega (n = 40) 67 päeva jooksul läbi krooniline muutliku stressi režiim, mille andmeid ei raporteerita. Pärast 67 päeva möödumist anti loomadele eksperimendipuuriga habitueerumiseks kaks päeva. Habitueerimisperioodile järgneval päeval manustati rottidele amfetamiini ning skooriti nende ultrahelihäälitsusi ja liikumisaktiivsust. Katseloomad ohverdati viis päeva pärast amfetamiini manustamise lõppu.

## 2.3 Kōdistamine

Kōdistamine on noortele rottidele loomuomase mängimise simulatsioon, mis kutsub esile kudinaid (Cloutier, LaFollette, Gaskill, Panksepp, & Newberry, 2018). Katseloom võeti kodupuurist välja ning asetati väiksemasse (30 × 15 × 13 cm) läbipaistmatusse plastikust kasti, kus talle anti 15 sekundit aega habitueerumiseks, sellele järgnes 15 sekundit looma kōdistamist eksperimentaatori poolt. 15-sekundilise kōdistamissessiooni ajal stimuleeriti rotti ühe käe kiiresti vahelduvate sõrmeliigutustega looma kaelal ja seljal. Mõned sekundid enne sessiooni lõppu pöörati rott selja peale ning stimuleeriti sõrmedega tema kõhtu, pärast mida loom vabastati (Panksepp & Burgdorf, 2000; Mällo et al., 2007, 2009). Kahe minuti jooksul korrati 15-sekundilist stimulatsiooni neli korda, pärast igat sessiooni oli 15-sekundiline paus. Seejärel asetati rott tagasi oma kodupuuri ning plastikust kast puhastati niiske salvrätiga. Rotte kōdistati sellisel viisil kahe minuti jooksul üks kord päevas 14 päeva järjest.

Loomade häälightsusi lindistati ultrahelimikrofoniga, mis asus plastikust kasti põhjast 20 cm kõrgusel. Ultrahelihäälightsused skooriti automaatselt kasutades programmi DeepSqueak. Loomad jaotati HC ja LC gruppi kasutades päevade 12-14 ultrahelihäälightsuste keskmisi skooore (Mällo et al., 2007, 2009).

#### **2.4 Suhkrueelistuse mõõtmine**

Suhkrueelistuse baastaseme määramine toimus pimedustsükli ajal, üks kord nädalas nelja nädala jooksul. Rott võeti kodupuurist välja ja asetati üks tund enne pimedustsükli algust kodupuurist väiksemasse eksperimendipuuri. Kaks pudelit, üks täidetud 1%-lise sahharoosilahusega ja teine veega, asetati eksperimendipuurile sellisel viisil, et rotil oli mõlemale vaba ligipääs. Terve pimedustsükli ajal oli loom eksperimendipuuris üksinda ning pärast pimedustsükli lõppu asetati rott tagasi kodupuuri. Enne pimedustsükli algust kaaluti mõlemad pudelid, 12 tunni möödudes kaaluti need uuesti ning arvutati välja roti suhkrulahuse tarbimine grammides. Katseloomad jaotati HSuc ja LSuc gruppidesse kasutades viimase kolme nädala sahharoosilahuse tarbimise masse.

#### **2.5 Amfetamiini manustamine**

Amfetamiini manustamisele järgnevate ultrahelihäälightsuste ja liikumisaktiivsuse salvestamine leidis aset loomaruumis, vaheseinaga eraldatud ruumiosas, kus asus rottide kodupuuriga sarnane eksperimendipuur. Amfetamiini manustamisele kahel eelneval päeval asetati katseloom kord päevas kuueks minutiks eksperimendipuuri sellega habitueerumiseks.

D-amfetamiini sulfaat lahustati steriilses 0.9%-lises naatriumkloriidi lahuses. Katseloomad kaaluti vahetult enne protseduuri. Rott võeti kodupuurist välja, mässiti tugevalt rätiku sisse selleks, et rott jääks rahulikuks ning loomale manustati kõhuõõnesiseselt eelnevalt süstlasse valmis mõõdetud amfetamiini lahust annusena 1 mg amfetamiini 1 kg roti kehamassi kohta. Seejärel asetati katseloom koheselt eksperimendipuuri. Roti ultrahelihäälightsusi ja liikumisaktiivsust salvestati 20 minutit.

Kudinate lindistamiseks kasutati ultrahelimikrofoni, mis asus umbes 30 cm kõrgusel eksperimendipuuri põhjast, lindistused skooriti täies ulatuses kasutades programmi DeepSqueak.

Liikumisaktiivsuse salvestamiseks kasutati digitaalset videokaamerat, mille videosalvestusi hiljem aktiivsuse skoorimiseks kasutati.

## 2.6 Liikumisaktiivsuse skoorimine

Hinnati nii vertikaalset kui ka horisontaalset liikumisaktiivsust. Vertikaalse aktiivsuse skoorimiseks loendati videosalvestuse pealt roti tagajalgadele tõusmist (nurk puuri põhjaga vähemalt 45°). Horisontaalset liikumisaktiivsust skooriti jooneületuste kaudu, selleks jaotati eksperimendipuur (55 × 33 cm) kuueks võrdse pindalaga ruuduks ning loendati joonte ületamisi kõigi nelja käpaga.

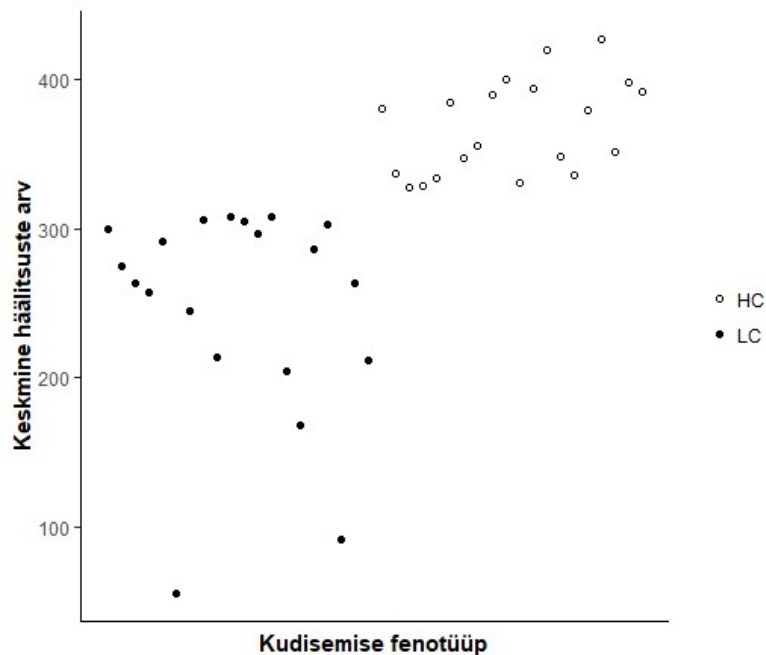
## 2.7 Statistiline analüüs

Kõiki käitumuslikke andmeid analüüsiti statistikaprogrammiga IBM SPSS Statistics, versioon 23. Ühe- või kahesuunalist ANOVAt kasutati seal, kus kohane, post-hoc teste läbi ei viidud, sest faktorite tasemeid oli kaks. Kõik ANOVA eeldused olid täidetud, v.a dispersioonide homogeensuse eeldus mõnede gruppide puhul. Siiski kasutati läbivalt ANOVAt, sest kui gruppide suurus on võrdsed, siis mõõdukas variatiivsuse erinevus ei mõjuta ANOVA täpsust oluliselt (Box, 1954). Kõik andmed esitati kui keskmine ± standardviga ning statistilise olulisuse piiriks määrati  $p < 0.05$ .

# 3. Tulemused

## 3.1.1 Kudisemise fenotüüpide määramine

Rottide kōdistamisele järgnevate 50-kHz hāälitsuste stabiilsuse mōõtmiseks kasutati korrelatsioonianalüüsi ning gruppide erinevuse hindamiseks ühesuunalist ANOVAt. Kōdistamispäevade 12 – 14 kudisemiste arvu korrelatsioonid olid kōrged ja statistiliselt olulised jäädes  $r = .64$  ja  $.77$  vahele ( $p < .001$  kõigi kolme korrelatsiooni puhul). Rotid jaotati LC ja HC gruppidesse jagades 50-kHz ultrahāälitsuste kolme päeva keskmised skoorid mediaanvāārtuse järgi kaheks (Joonis 1). LC grupi hāälitsuste arvu keskmine oli  $248 \pm 16,2$  ning HC rottide keskmine oli  $368 \pm 7,15$ . HC ja LC grupid erinesid kudisemise arvus statistiliselt oluliselt ( $F(1, 38) = 46.7; p < .001$ ).



**Joonis 1.** Kolme viimase kõdistamispäeva ultrahelihääletsuste arvu keskmised. Katseloomad jaotati HC ja LC gruppidesse mediaanväärtuse järgi.

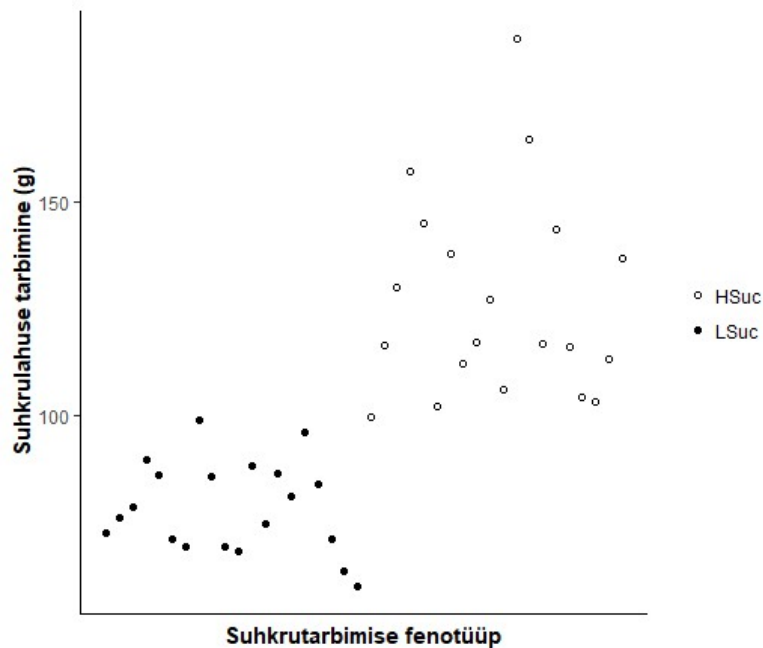
### 3.1.2 Suhkrutarbimise fenotüüpide määramine

Rottide suhkrulahuse tarbimise stabiilsuse mõõtmiseks kasutati korrelatsioonianalüüsi ning gruppide erinevuse hindamiseks ühesuunalist ANOVAt. Suhkrulahuse tarbimise korrelatsioonid nelja suhkruelistuse testi korral olid kõrged ja statistiliselt olulised jäädes  $r = .56$  ja  $.88$  vahele ( $p < .001$  kõigi kuue korrelatsiooni puhul) (Tabel 1). Rotid jaotati HSuc ja LSuc gruppidesse kasutades viimase kolme nädala sahharoosilahuse tarbimise masside mediaanväärtust (Joonis 2), esimene suhkruelistuse baastaseme mõõtmine jäeti arvutustest välja, sest see korreleerus järgnevate testidega vähem. HSuc grupi suhkrulahuse tarbimise keskmine oli  $127 \pm 5,28$  grammi, LSuc rottide keskmine oli  $78,4 \pm 2,39$  grammi. HSuc ja LSuc grupid erinesid statistiliselt oluliselt sahharoosilahuse tarbimises ( $F(1, 38) = 69.8; p < .001$ ), kuid mitte veetarbimises ( $F(1, 38) = 1.61, p = .212$ ).

**Tabel 1.** Kolme viimase nädala suhkrulahuse tarbimise keskmised, standardvead ja korrelatsioonid koos usalduspiiridega.

Muutuja	<i>M</i> (g)	<i>SEM</i> (g)	1	2	3
1. I nädal	68,23	2,65			
2. II nädal	97,73	4,30	.66* [.44, .81]		
3. III nädal	101,89	5,44	.57* [.31, .75]	.78* [.62, .88]	
4. IV nädal	108,33	5,74	.55* [.29, .74]	.73* [.55, .85]	.88* [.79, .94]

*Märkus:* \* tähistab  $p < .001$ .

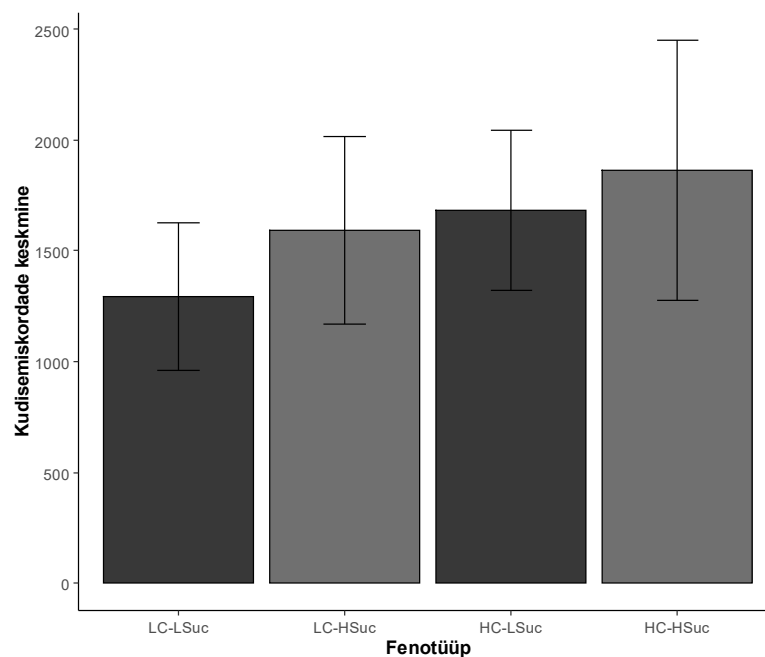


**Joonis 2.** Kolme viimase nädala suhkrulahuse tarbimise masside keskmised. Katseloomad jaotati HSuc ja LSuc gruppidesse mediaanväärtuse järgi.

Palju-ja vähekudisemise efekt suhkrutarbimisele ei olnud ühesuunalist ANOVAt kasutades statistiliselt oluline ( $F(1, 38) = .138, p = .712$ ).

### 3.2.1 Kudisemine amfetamiini manustamise järgselt

Joonisel 3 on välja toodud fenotüüpide keskmised 50-kHz ultrahelihäälitsuste arvud 20 minuti jooksul pärast amfetamiini manustamist. Gruppide võrdlemiseks kasutati kahe-suunalist ANOVAt. HC rottide keskmine ultrahelihäälitsuste arv amfetamiini manustamise järgselt oli  $1774 \pm 173$ , LC grupi keskmine oli  $1442 \pm 138$ . Kuigi HC rotid kudisesid keskmiselt rohkem kui LC rotid, ei olnud erinevus statistiliselt oluline ( $F(1, 36) = 2.22, p = .145; \eta_p^2 = .058$ ). HSuc grupi keskmine häälitsuste arv oli  $1728 \pm 183$  ning LSuc rottide keskmine oli  $1488 \pm 130$ . Samuti kudisesid HSuc rotid keskmiselt enam kui LSuc rotid, kuid erinevus ei olnud statistiliselt oluline ( $F(1, 36) = 1.15, p = .291, \eta_p^2 = .031$ ). Interaktsiooni kudisemise fenotüüp  $\times$  suhkruarbitamise fenotüüp mõju 50-kHz häälitsuste arvule ei olnud statistiliselt oluline ( $F(1, 36) = .072, p = .790, \eta_p^2 = .002$ ).

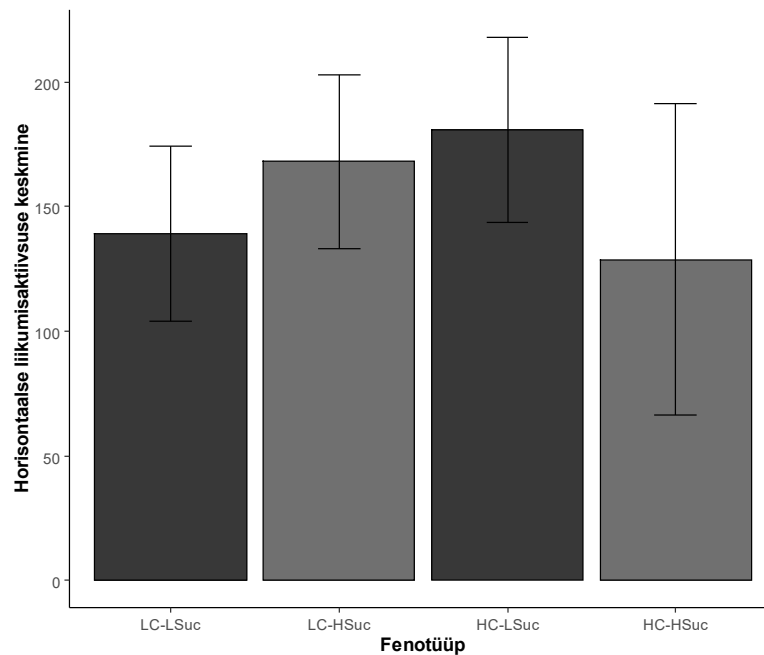


**Joonis 3.** Fenotüüpide kudinade arvu keskmised koos standardvigadega. Ükski erinevus ei olnud kahe-suunalise ANOVA järgi statistiliselt oluline.

#### 3.2.2.1 Horisontaalne liikumisaktiivsus amfetamiini manustamise järgselt

Joonisel 4 on välja toodud fenotüüpide keskmine jooneületuste arv 20 minuti jooksul pärast amfetamiini manustamist. Gruppide võrdlemiseks kasutati kahe-suunalist ANOVAt. HC grupi

keskmise jooneületuste arv oli  $155 \pm 19,0$ , LC rottide keskmine oli  $154 \pm 12,8$ , gruppide erinevus ei olnud statistiliselt oluline ( $F(1, 36) = .003, p = .958, \eta_p^2 < .001$ ). HSuc ja LSuc rottide keskmised olid vastavalt  $149 \pm 18,3$  ning  $160 \pm 13,6$ , taas ei olnud grupid statistiliselt oluliselt erinevad ( $F(1, 36) = .267, p = .608, \eta_p^2 = .007$ ). Ka interaktsiooni kudisemise fenotüüp  $\times$  suhkrutarbimise fenotüüp mõju horisontaalsele liikumisaktiivsusele ei saavutanud statistilist olulisust ( $F(1, 36) = 3.26, p = .079, \eta_p^2 = .083$ ).

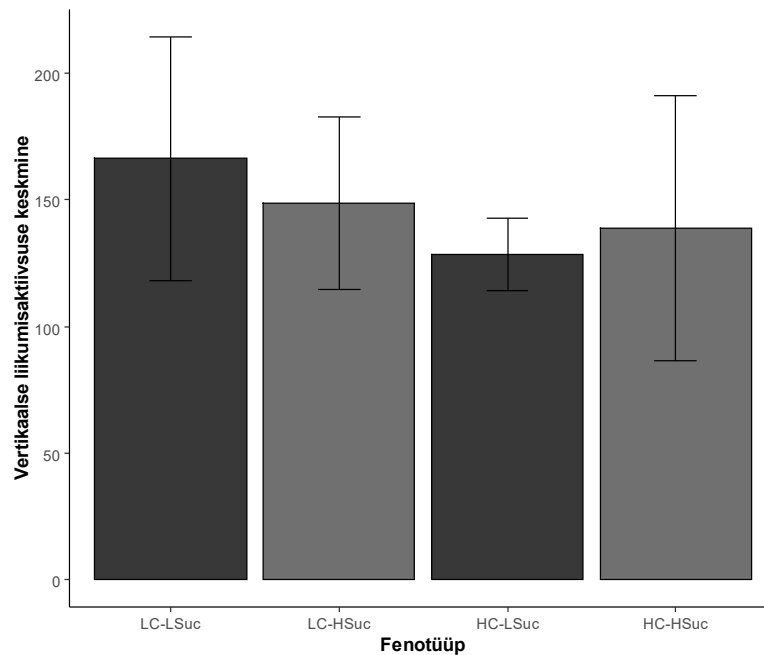


**Joonis 4.** Fenotüüpide jooneületuste arvu keskmised koos standardvigadega. Ükski erinevus ei olnud kahesuunalist ANOVAt kasutades statistiliselt oluline.

### 3.2.2.2 Vertikaalne liikumisaktiivsus amfetamiini manustamise järgselt

Joonisel 5 on välja toodud fenotüüpide keskmine tagakäppadele tõusmise arv 20 minuti jooksul pärast amfetamiini manustamist. Gruppide võrdlemiseks kasutati kahesuunalist ANOVAt. HC rottide keskmine tagakäppadele tõusmise arv oli  $134 \pm 13,6$ , LC rottide keskmine oli  $157 \pm 14,8$ , erinevus ei olnud statistiliselt oluline ( $F(1, 36) = 1.337, p = .255, \eta_p^2 = .036$ ). HSuc grupi keskmine tagakäppadele tõusmise arv oli  $144 \pm 15,5$  ning LSuc rottide keskmine oli  $148 \pm 13,2$ , gruppide erinevus ei olnud statistiliselt oluline ( $F(1, 36) = .034, p = .856, \eta_p^2 = .001$ ). Interaktsiooni kudisemise fenotüüp  $\times$  suhkrutarbimise fenotüüp efekt vertikaalsele liikumisaktiivsusele ei olnud samuti statistiliselt oluline ( $F(1, 36) = .472, p = .496, \eta_p^2 = .013$ ).





**Joonis 5.** Fenotüüpide tagakäppadele tõusmise arvu keskmised koos standardvigadega. Ükski erinevus ei olnud kahe-suunalise ANOVA järgi statistiliselt oluline.

Amfetamiini manustamise järgse horisontaalse ja vertikaalse liikumisaktiivsuse korrelatsioon oli kõrge ( $r = .71$ ,  $p < .001$ ). Kudinate arv oli liikumisaktiivsusega samuti pigem kõrgelt korreleeritud: kudisemise korrelatsioonid jooneületuste ja tagakäppadele tõusmisega olid vastavalt  $r = .61$  ja  $r = .45$  (mõlema korrelatsiooni puhul  $p < .001$ ).

#### 4. Arutelu

Käesoleva töö eesmärgiks oli uurida, kuidas mõjutavad individuaalsed erinevused positiivses afektiivsuses ja hedoonias käitumuslikku vastust akuutsele psühhostimulandi manustamisele. Rotid jaotati kudisemise ja suhkrutarbimise alusel fenotüüpidesse ning võrreldi palju- ja vähekudisejate ning palju- ja vähemaiustajate 50-kHz ultraheliäärituste arvu ja liikumisaktiivsust pärast amfetamiini manustamist.

Uuringus saadi kinnitust sellele, et suhkrutarbimine ja kudisemine kōdistamise järgselt on stabiilsed omadused, millel on eri mõõtmiskordade vahel kõrge korrelatsioon, mis kordab varasemalt leitud tulemusi nende omaduste püsivuse kohta (Mällo, et al., 2007, 2009; Tõnissaar et al., 2006). Lisaks leiti käesolevas uuringus, et kuigi kudinate arv pärast amfetamiini

manustamist oli HC ja HSuc gruppides kõrgem kui vastavalt LC ja LSuc gruppides, ei olnud erinevused statistiliselt olulised. Fenotüübid ei erinenud statistiliselt oluliselt ka horisontaalse ja vertikaalse liikumisaktiivsuse osas. Kumbki püstitatud hüpotees ei saanud kinnitust. Viimastel kümnenditel on mitmetes uuringutes leitud, et rottide suhkruarbitimine ja positiivne afektiivsus ennustavad nende käitumuslikku vastust amfetamiini manustamisele (Kõiv et al., 2016, 2019; Vares et al., 2018; Sills et al., 1998, Sills & Vaccarino, 1994) Erinevusi käesoleva töö ja eelnevate uuringute tulemuste vahel võivad seletada mitmed asjaolud.

Eelduste vastaselt ei kudasid HC rotid amfetamiini manustamisele järgneva 20 minuti jooksul statistiliselt oluliselt rohkem kui LC rotid. Saadud tulemused on vastuolus Varese jt (2018) uuringuga, kus leiti, et kõigis HC gruppides, kuid mitte üheski LC grupis, tõstis akuutne amfetamiini manustamine 50-kHz ultrahelihäälitsuste arvu, sealjuures oli HC ja LC rottide erinevus statistiliselt oluline. Samas leidsid Kõiv jt (2016), et LC ja HC grupid ei erinenud häälitsuste arvus pärast amfetamiini manustamist, kuid krooniline muutlik stressirežiim vähendas LC rottide amfetamiini manustamise järgset kudasemist. Varese jt (2018) uuringuga võrreldes on Kõivu jt (2016) kasutatud meetod sarnasem antud töö meetodiga, mistõttu on tulemused võrreldavad. Ka Vares jt (2018) toovad esile, et erinevusi Kõivu jt (2016) tulemustega võisid põhjustada kõhuõõnesisesed süstid, mida katseloomadele eksperimendi käigus administreeriti.

Samuti ei häälitsenud HSuc rotid amfetamiini manustamise järgselt statistiliselt oluliselt enam kui LSuc rotid. Kõiv jt (2019) leidsid, et krooniline muutlik stressirežiim tugevdas amfetamiini efekti kudasemisele paljumaiustajatel, kuid sarnaselt käesolevale uuringule ei erinenud kontrollgrupi Lsuc ja Hsuc rottide 50-kHz häälitsuste arv statistiliselt oluliselt. Seetõttu võib järeldada, et fenotüüpide vaheline erinevus akuutsel amfetamiini manustamisel ilmneb siis, kui rottidega läbi viia kroonilise muutliku stressi režiim. Kroonilise stressi kogemine võib sensitiseerida aju tasusüsteeme ning seeläbi tugevdada käitumuslikku vastust amfetamiini manustamisele (Lin, Bruijnzeel, Schmidt, & Markou, 2002).

HC ja LC rotid ei erinenud horisontaalses ja vertikaalses liikumisaktiivsuses pärast amfetamiini manustamist. Samasugused tulemused saadi ka Kõiv jt (2016) uuringus, kus kontrollgrupi palju- ja vähekudisejad ei erinenud amfetamiini manustamisele järgnevas liikumisaktiivsuses. Samas uuringus (Kõiv et al., 2016) leiti, et krooniline stress vähendas LC rottide liikumisaktiivsust

võrreldes kontrollgrupi vähekuudisejatega. Sarnaselt käesoleva tööga leidsid Ahrens jt (2013), et HC ja LC gruppide aktiivsus amfetamiini manustamisel ei erinenud, kuid neid tulemusi on keeruline võrrelda, sest Ahrensi jt (2013) uuringus ei kasutatud rottide fenotüüpidesse määramisel kōdistamist, vaid kudinate arvu esmasel amfetamiini manustamisel.

Antud töös ei erinenud ka HSuc ja LSuc rotid amfetamiini manustamisele järgneva liikumisaktiivsuse osas vastupidiselt Sills jt (1998) uuringule, kus kõigi amfetamiini annuste (0.25, 0.5 ja 1.0 mg/kg) juures oli paljumaiustajate liikumisaktiivsus kõrgem vähemaiustajate aktiivsusest. Taas on tulemusi raske võrrelda, sest meetodika kahe uuringu vahel on oluliselt erinev: Sills jt (1998) kasutasid katseloomade gruppidesse määramiseks nende granuleeritud suhkru tarbimist, kõigile rottidele siirdati ajju kanüül *nucleus accumbens* rakuvälise dopamiini taseme mõõtmiseks, katseloomade arv oli enam kui poole väiksem ning nende liikumisaktiivsust mõõdeti amfetamiini manustamisele järgneva kahe tunni jooksul. Lisaks toovad autorid välja, et enamike HSuc rottide liikumisaktiivsuse skooridest langes LSuc grupi skooride vahemikku, vaid väikesel osal paljumaiustavatest oli liikumisaktiivsus suurem. Sills ja Vaccarino (1994) leidsid, et HSuc rottidel oli oluliselt kõrgem liikumisaktiivsus vastusena ainult 1.75 mg/kg amfetamiini annusele, kuid käesolevas töös kasutatud annuse 1 mg/kg manustamisel ei olnud gruppide vahel erinevusi. Kōivu jt (2019) uuringus suurendas eelnev stress 1 mg/kg akuutse amfetamiini manustamise efekti jooneületustele ainult paljumaiustavatel rottidel, kuid antud tööle analoogselt ei olnud kontrollgrupi HSuc ja LSuc rottide liikumisaktiivsus statistiliselt oluliselt erinev.

Kokkuvõtteks kinnitab käesolev töö sarnase metodoloogiaga uuringute tulemusi, kus ilma eelneva kroonilise muutliku stressi režiimita ei erinenud palju- ja vähemaiustajad ning palju- ja vähekuudisejad amfetamiini manustamisele järgnevate 50-kHz ultrahelihäälitsuste arvus ja liikumisaktiivsuses. On oluline mõista kaasasündinud erinevusi tasu kogemisel ja keskkonnast tulenevate faktorite mõju aju tasusüsteemile, sest narkootikumi akuutsete efektide meeldimine võib olla eelsoodumuseks sõltuvuse tekkele (de Wit, 1998). Seetõttu võiks edasistes uuringutes hinnata fenotüüpide käitumuslikku vastust psühhostimulantidele erinevates keskkonnatingimustes, näiteks võrrelda rottide käitumist nii rikastatud kui ka isoleeritud keskkonnas. Käesoleva uuringu tulemused viitavad sellele, et kuigi kudisemine, suhkrutarbimine ja liikumisaktiivsus on seotud *nucleus accumbens* funktsiooniga, võivad nende neurooloogilised mehhanismid osaliselt erineda.

Käesolev uurimistöö on osa suuremast uuringust, milles käsitleti kroonilise muutliku stressirežiimi mõju palju- ja vähekudivivate ning palju- ja vähemaiustavate rottide käitumuslikule vastusele amfetamiini manustamise järgselt.

### **Kasutatud kirjandus**

- Ahrens, A. M., Ma, S. T., Maier, E. Y., Duvauchelle, C. L., & Schallert, T. (2009). Repeated intravenous amphetamine exposure: rapid and persistent sensitization of 50-kHz ultrasonic trill calls in rats. *Behavioural brain research*, *197*(1), 205-209.
- Ahrens, A. M., Nobile, C. W., Page, L. E., Maier, E. Y., Duvauchelle, C. L., & Schallert, T. (2013). Individual differences in the conditioned and unconditioned rat 50-kHz ultrasonic vocalizations elicited by repeated amphetamine exposure. *Psychopharmacology*, *229*(4), 687-700.
- Barker, D. J., Bercovicz, D., Servilio, L. C., Simmons, S. J., Ma, S., Root, D. H., ... & West, M. O. (2014). Rat ultrasonic vocalizations demonstrate that the motivation to contextually reinstate cocaine-seeking behavior does not necessarily involve a hedonic response. *Addiction biology*, *19*(5), 781-790.
- Berridge, K. C., & Robinson, T. E. (1998). What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience?. *Brain research reviews*, *28*(3), 309-369.
- Bialy, M., Rydz, M., & Kaczmarek, L. (2000). Precontact 50-kHz vocalizations in male rats during acquisition of sexual experience. *Behavioral neuroscience*, *114*(5), 983.
- Box, G. E. (1954). Some theorems on quadratic forms applied in the study of analysis of variance problems, I. Effect of inequality of variance in the one-way classification. *The annals of mathematical statistics*, *25*(2), 290-302.
- Brudzynski, S. M. (2001). Pharmacological and behavioral characteristics of 22 kHz alarm calls in rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *25*(7-8), 611-617.
- Brudzynski, S. M. (2007). Ultrasonic calls of rats as indicator variables of negative or positive states: acetylcholine–dopamine interaction and acoustic coding. *Behavioural brain research*, *182*(2), 261-273.
- Brudzynski, S. M. (2009). Communication of adult rats by ultrasonic vocalization: biological, sociobiological, and neuroscience approaches. *ILAR journal*, *50*(1), 43-50.

- Brudzynski, S. M. (2013). Ethotransmission: communication of emotional states through ultrasonic vocalization in rats. *Current opinion in neurobiology*, 23(3), 310-317.
- Brudzynski, S. M. (2015). Pharmacology of ultrasonic vocalizations in adult rats: significance, call classification and neural substrate. *Current neuropharmacology*, 13(2), 180-192.
- Brudzynski, S. M., Silkstone, M., Komadoski, M., Scullion, K., Duffus, S., Burgdorf, J., ... & Panksepp, J. (2011). Effects of intraaccumbens amphetamine on production of 50 kHz vocalizations in three lines of selectively bred Long-Evans rats. *Behavioural brain research*, 217(1), 32-40.
- Burgdorf, J., & Moskal, J. R. (2010). Frequency modulated 50 kHz ultrasonic vocalizations reflect a positive emotional state in the rat: neural substrates and therapeutic implications. In *Handbook of behavioral neuroscience* (Vol. 19, pp. 209-214). Elsevier.
- Burgdorf, J., & Panksepp, J. (2001). Tickling induces reward in adolescent rats. *Physiology & behavior*, 72(1-2), 167-173.
- Burgdorf, J., Knutson, B., & Panksepp, J. (2000). Anticipation of rewarding electrical brain stimulation evokes ultrasonic vocalization in rats. *Behavioral neuroscience*, 114(2), 320.
- Burgdorf, J., Knutson, B., Panksepp, J., & Ikemoto, S. (2001). Nucleus accumbens amphetamine microinjections unconditionally elicit 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats. *Behavioral neuroscience*, 115(4), 940.
- Burgdorf, J., Kroes, R. A., Moskal, J. R., Pfaus, J. G., Brudzynski, S. M., & 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.
- Burgdorf, J., Panksepp, J., & 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.
- Burgdorf, J., Panksepp, J., Brudzynski, S. M., Beinfeld, M. C., Cromwell, H. C., Kroes, R. A., & Moskal, J. R. (2009). The effects of selective breeding for differential rates of 50-kHz ultrasonic vocalizations on emotional behavior in rats. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, 51(1), 34-46.
- Burgdorf, J., Panksepp, J., Brudzynski, S. M., Kroes, R., & Moskal, J. R. (2005). Breeding for 50-kHz positive affective vocalization in rats. *Behavior genetics*, 35(1), 67-72.

- Burgdorf, J., Wood, P. L., Kroes, R. A., Moskal, J. R., & Panksepp, J. (2007). Neurobiology of 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats: electrode mapping, lesion, and pharmacology studies. *Behavioural brain research*, *182*(2), 274-283.
- Cloutier, S., LaFollette, M. R., Gaskill, B. N., Panksepp, J., & Newberry, R. C. (2018). Tickling, a technique for inducing positive affect when handling rats. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (135), e57190.
- Colantuoni, C., Rada, P., McCarthy, J., Patten, C., Avena, N. M., Chadeayne, A., & Hoebel, B. G. (2002). Evidence that intermittent, excessive sugar intake causes endogenous opioid dependence. *Obesity research*, *10*(6), 478-488.
- Colantuoni, C., Schwenker, J., McCarthy, J., Rada, P., Ladenheim, B., Cadet, J. L., ... & Hoebel, B. G. (2001). Excessive sugar intake alters binding to dopamine and mu-opioid receptors in the brain. *Neuroreport*, *12*(16), 3549-3552.
- Covington III, H. E., & 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.
- Creese, I., & Iversen, S. D. (1975). The pharmacological and anatomical substrates of the amphetamine response in the rat. *Brain research*, *83*(3), 419-436.
- Cuomo, V., Cagiano, R., De Salvia, M. A., Maselli, M. A., Renna, G., & Racagni, G. (1988). Ultrasonic vocalization in response to unavoidable aversive stimuli in rats: effects of benzodiazepines. *Life sciences*, *43*(6), 485-491.
- De Wit, H. (1998). Individual differences in acute effects of drugs in humans: their relevance to risk for abuse. *NIDA Res Monogr*, *169*, 176-187.
- Der-Avakian, A., & Markou, A. (2012). The neurobiology of anhedonia and other reward-related deficits. *Trends in neurosciences*, *35*(1), 68-77.
- DeSousa, N. J., Bush, D. E., & Vaccarino, F. J. (2000). Self-administration of intravenous amphetamine is predicted by individual differences in sucrose feeding in rats. *Psychopharmacology*, *148*(1), 52-58.
- Desousa, N. J., Wunderlich, G. R., De Cabo, C., & Vaccarino, F. J. (1998). Individual differences in sucrose intake predict behavioral reactivity in rodent models of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and behavior*, *60*(4), 841-846.

- Di Chiara, G., & Imperato, A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(14), 5274-5278.
- Dreher, J. K., & Jackson, D. M. (1989). Role of D1 and D2 dopamine receptors in mediating locomotor activity elicited from the nucleus accumbens of rats. *Brain research*, 487(2), 267-277.
- Francis, R. L. (1977). 22-kHz calls by isolated rats. *Nature*, 265(5591), 236-238.
- Hajnal, A., Smith, G. P., & Norgren, R. (2004). Oral sucrose stimulation increases accumbens dopamine in the rat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 286(1), R31-R37.
- Hakim, J. D., & Keay, K. A. (2019). Prolonged ad libitum access to low-concentration sucrose changes the neurochemistry of the nucleus accumbens in male Sprague-Dawley rats. *Physiology & behavior*, 201, 95-103.
- Hakim, J. D., Chami, J., & Keay, K. A. (2020).  $\mu$ -Opioid and dopamine-D2 receptor expression in the nucleus accumbens of male Sprague-Dawley rats whose sucrose consumption, but not preference, decreases after nerve injury. *Behavioural Brain Research*, 381, 112416.
- Heffner, T. G., Hartman, J. A., & Seiden, L. S. (1980). Feeding increases dopamine metabolism in the rat brain. *Science*, 208(4448), 1168-1170.
- Howell, L. L., & Kimmel, H. L. (2008). Monoamine transporters and psychostimulant addiction. *Biochemical pharmacology*, 75(1), 196-217.
- Ikemoto, S. (2007). Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens–olfactory tubercle complex. *Brain research reviews*, 56(1), 27-78.
- Jackson, D. M., Andén, N. E., & Dahlström, A. (1975). A functional effect of dopamine in the nucleus accumbens and in some other dopamine-rich parts of the rat brain. *Psychopharmacologia*, 45(2), 139-149.
- Jelen, P., Soltysik, S., & 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.
- Kaltwasser, M. T. (1990). Startle-inducing acoustic stimuli evoke ultrasonic vocalization in the rat. *Physiology & behavior*, 48(1), 13-17.

- Knutson, B., Burgdorf, J., & Panksepp, J. (1998). Anticipation of play elicits high-frequency ultrasonic vocalizations in young rats. *Journal of Comparative Psychology*, *112*(1), 65.
- Knutson, B., Burgdorf, J., & Panksepp, J. (1999). High-frequency ultrasonic vocalizations index conditioned pharmacological reward in rats. *Physiology & behavior*, *66*(4), 639-643.
- Knutson, B., Burgdorf, J., & Panksepp, J. (2002). Ultrasonic vocalizations as indices of affective states in rats. *Psychological bulletin*, *128*(6), 961.
- Kõiv, K., Vares, M., Kroon, C., Metelitsa, M., Tiitsaar, K., Laugus, K., ... & Harro, J. (2019). Effect of chronic variable stress on sensitization to amphetamine in high and low sucrose-consuming rats. *Journal of Psychopharmacology*, *33*(12), 1512-1523.
- Koob, G. F., Sanna, P. P., & Bloom, F. E. (1998). Neuroscience of addiction. *Neuron*, *21*(3), 467-476.
- Lin, D., Bruijnzeel, A. W., Schmidt, P., & Markou, A. (2002). Exposure to chronic mild stress alters thresholds for lateral hypothalamic stimulation reward and subsequent responsiveness to amphetamine. *Neuroscience*, *114*(4), 925-933.
- Lyon, M., & Randrup, A. (1972). The dose-response effect of amphetamine upon avoidance behaviour in the rat seen as a function of increasing stereotypy. *Psychopharmacologia*, *23*(4), 334-347.
- Mällo, T., Matrov, D., Herm, L., Kõiv, K., Eller, M., Rincken, A., & Harro, J. (2007). Tickling-induced 50-kHz ultrasonic vocalization is individually stable and predicts behaviour in tests of anxiety and depression in rats. *Behavioural Brain Research*, *184*(1), 57-71.
- Mällo, T., Matrov, D., Kõiv, K., & Harro, J. (2009). Effect of chronic stress on behavior and cerebral oxidative metabolism in rats with high or low positive affect. *Neuroscience*, *164*(3), 963-974.
- Mateus-Pinheiro, A., Patrício, P., Alves, N. D., Machado-Santos, A. R., Morais, M., Bessa, J. M., ... & Pinto, L. (2014). The Sweet Drive Test: refining phenotypic characterization of anhedonic behavior in rodents. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *8*, 74.
- McGinnis, M. Y., & Vakulenko, M. (2003). Characterization of 50-kHz ultrasonic vocalizations in male and female rats. *Physiology & behavior*, *80*(1), 81-88.
- Miczek, K. A., & Barros, H. M. T. (1996). Withdrawal from oral cocaine in rats: ultrasonic vocalizations and tactile startle. *Psychopharmacology*, *125*(4), 379-384.



- Miczek, K. A., Weerts, E. M., Vivian, J. A., & Barros, H. M. (1995). Aggression, anxiety and vocalizations in animals: GABA A and 5-HT anxiolytics. *Psychopharmacology*, *121*(1), 38-56.
- Mutschler, N. H., & Miczek, K. A. (1998). Withdrawal from a self-administered or non-contingent cocaine binge: differences in ultrasonic distress vocalizations in rats. *Psychopharmacology*, *136*(4), 402-408.
- Nestler, E. J. (2001). Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nature reviews neuroscience*, *2*(2), 119-128.
- Nestler, E. J., & Carlezon Jr, W. A. (2006). The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biological psychiatry*, *59*(12), 1151-1159.
- Panksepp, J., & 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.
- Panksepp, J., Burgdorf, J., & Gordon, N. (2001). Towards a genetics of joy: breeding rats for "laughter". *Emotions, qualia, and consciousness* (pp. 124-136).
- Panksepp, J., Burgdorf, J., Beinfeld, M. C., Kroes, R. A., & Moskal, J. R. (2004). Regional brain cholecystokinin changes as a function of friendly and aggressive social interactions in rats. *Brain research*, *1025*(1-2), 75-84.
- Phillips, A. G., & Fibiger, H. C. (1978). The role of dopamine in maintaining intracranial self-stimulation in the ventral tegmentum, nucleus accumbens, and medial prefrontal cortex. *Canadian Journal of Psychology/Revue canadienne de psychologie*, *32*(2), 58.
- Phillips, A. G., Atkinson, L. J., Blackburn, J. R., & Blaha, C. D. (1993). Increased extracellular dopamine in the nucleus accumbens of the rat elicited by a conditional stimulus for food: an electrochemical study. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, *71*(5-6), 387-393.
- Piazza, P. V., Rougé-Pont, F., Deminière, J. M., Kharoubi, M., Le Moal, M., & Simon, H. (1991). Dopaminergic activity is reduced in the prefrontal cortex and increased in the nucleus accumbens of rats predisposed to develop amphetamine self-administration. *Brain research*, *567*(1), 169-174.

- Pijnenburg, A. J. J., Honig, W. M. M., Van der Heyden, J. A. M., & Van Rossum, J. M. (1976). Effects of chemical stimulation of the mesolimbic dopamine system upon locomotor activity. *European journal of pharmacology*, 35(1), 45-58.
- Raudkivi, K., Mällo, T., & Harro, J. (2012). Effect of chronic variable stress on corticosterone levels and hippocampal extracellular 5-HT in rats with persistent differences in positive affectivity. *Acta Neuropsychiatrica*, 24(4), 208-214.
- Robinson, D. L., Phillips, P. E., Budygin, E. A., Trafton, B. J., Garris, P. A., & Wightman, R. M. (2001). Sub-second changes in accumbal dopamine during sexual behavior in male rats. *Neuroreport*, 12(11), 2549-2552.
- Robinson, T. E., & Becker, J. B. (1986). Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain research reviews*, 11(2), 157-198.
- Salamone, J. D., Correa, M., Mingote, S., & Weber, S. M. (2003). Nucleus accumbens dopamine and the regulation of effort in food-seeking behavior: implications for studies of natural motivation, psychiatry, and drug abuse. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 305(1), 1-8.
- Schwartz, R. K. W., & Wöhr, M. (2012). On the relationships between ultrasonic calling and anxiety-related behavior in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45(4), 337-348.
- Sclafani, A., & Clyne, A. E. (1987). Hedonic response of rats to polysaccharide and sugar solutions. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 11(2), 173-180.
- Segal, D. S., & Mandell, A. J. (1974). Long-term administration of d-amphetamine: progressive augmentation of motor activity and stereotypy. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2(2), 249-255.
- Sills, T. L., & Crawley, J. N. (1996). Individual differences in sugar consumption predict amphetamine-induced dopamine overflow in nucleus accumbens. *European journal of pharmacology*, 303(3), 177-181.
- Sills, T. L., & Vaccarino, F. J. (1994). Individual differences in sugar intake predict the locomotor response to acute and repeated amphetamine administration. *Psychopharmacology*, 116(1), 1-8.

- Sills, T. L., Onalaja, A. O., & Crawley, J. N. (1998). Mesolimbic dopaminergic mechanisms underlying individual differences in sugar consumption and amphetamine hyperlocomotion in Wistar rats. *European Journal of Neuroscience*, *10*(5), 1895-1902.
- Simola, N., & Brudzynski, S. M. (2018). Rat 50-kHz ultrasonic vocalizations as a tool in studying neurochemical mechanisms that regulate positive emotional states. *Journal of neuroscience methods*, *310*, 33-44.
- Simola, N., Fenu, S., Costa, G., Pinna, A., Plumitallo, A., & 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.
- Simola, N., Frau, L., Plumitallo, A., & Morelli, M. (2014). Direct and long-lasting effects elicited by repeated drug administration on 50-kHz ultrasonic vocalizations are regulated differently: implications for the study of the affective properties of drugs of abuse. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *17*(3), 429-441.
- Staton, D. M., & Solomon, P. R. (1984). Microinjections of d-amphetamine into the nucleus accumbens and caudate-putamen differentially affect stereotypy and locomotion in the rat. *Physiological Psychology*, *12*(2), 159-162.
- Sulzer, D., Sonders, M. S., Poulsen, N. W., & Galli, A. (2005). Mechanisms of neurotransmitter release by amphetamines: a review. *Progress in neurobiology*, *75*(6), 406-433.
- Taracha, E., Hamed, A., Krząścik, P., Lehner, M., Skórzewska, A., Płaźnik, A., & Chrapusta, S. J. (2012). Inter-individual diversity and intra-individual stability of amphetamine-induced sensitization of frequency-modulated 50-kHz vocalization in Sprague–Dawley rats. *Psychopharmacology*, *222*(4), 619-632.
- Taracha, E., Kaniuga, E., Chrapusta, S. J., Maciejak, P., Śliwa, L., Hamed, A., & Krząścik, P. (2014). Diverging frequency-modulated 50-kHz vocalization, locomotor activity and conditioned place preference effects in rats given repeated amphetamine treatment. *Neuropharmacology*, *83*, 128-136.
- Thomas, D. A., Takahashi, L. K., & 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.

- Thompson, B., Leonard, K. C., & Brudzynski, S. M. (2006). Amphetamine-induced 50 kHz calls from rat nucleus accumbens: a quantitative mapping study and acoustic analysis. *Behavioural brain research, 168*(1), 64-73.
- Tönissaar, M., Herm, L., Rincken, A., & Harro, J. (2006). Individual differences in sucrose intake and preference in the rat: circadian variation and association with dopamine D2 receptor function in striatum and nucleus accumbens. *Neuroscience letters, 403*(1-2), 119-124.
- Van der Poel, A. M., Noach, E. J. K., & Miczek, K. A. (1989). Temporal patterning of ultrasonic distress calls in the adult rat: effects of morphine and benzodiazepines. *Psychopharmacology, 97*(2), 147-148.
- Weston, J., & Greenfield, S. A. (1985). Application of acetylcholinesterase to the substantia nigra induces stereotypy in rats. *Behavioural brain research, 18*(1), 71-74.
- Wintink, A. J., & Brudzynski, S. M. (2001). The related roles of dopamine and glutamate in the initiation of 50-kHz ultrasonic calls in adult rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 70*(2-3), 317-323.
- Wise, R. A. (1998). Drug-activation of brain reward pathways. *Drug and alcohol dependence, 51*(1-2), 13-22.
- Wise, R. A., & Bozarth, M. A. (1987). A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychological review, 94*(4), 469.
- Wöhr, M., & Schwarting, R. K. (2013). Affective communication in rodents: ultrasonic vocalizations as a tool for research on emotion and motivation. *Cell and tissue research, 354*(1), 81-97.
- Wöhr, M., Borta, A., & 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.
- Young, A. M. J., Joseph, M. H., & Gray, J. A. (1992). Increased dopamine release in vivo in nucleus accumbens and caudate nucleus of the rat during drinking: a microdialysis study. *Neuroscience, 48*(4), 871-876.

*Käesolevaga kinnitan, et olen korrekselt viidanud kõigile oma töös kasutatud teiste autorite poolt loodud kirjalikele töödele, lausetele, mõtetele, ideedele või andmetele.*

*Olen nõus oma töö avaldamisega Tartu Ülikooli digitaalarhiivis DSpace.*

*Karolina Puksa*