

## Abstract

Lately, we can observe a steady increase in the number of autism spectrum disorder (ASD) diagnoses. The ASD population is characterised with deficits in social interactions and communication, as well as the presence of stereotyped behavior. Lack of social skills often manifests itself through empathy impairment. Until recently, empathy was thought to occur only in humans, but a growing body of research indicates that emotional contagion - the simplest form of empathy, is widely found in nature, including in primates, marine mammals, birds and rodents. Despite the importance of the phenomenon, there is still little data on the neuronal basis of sharing emotions.

Aim of my PhD project was to assess the empathic abilities and the activity pattern within the amygdala and the prefrontal cortex of *Fmr1*KO(FVB) mice (both males and females) - commonly used mouse model of ASD. To study this phenomenon, I employed the Remote Transfer of Fear paradigm, in which mice are housed in pairs for three weeks, one labelled an Observer, and the other a Demonstrator. In the test session, the Demonstrator is subjected to aversive stimuli outside of the home cage, while the Observer remains there undisturbed. Then, the Demonstrator returns to the home cage, where it can freely interact with the Observer and the first nine minutes of interactions are recorded. The activity of the amygdala and prefrontal cortex was assessed using immunohistochemistry against c-Fos protein, a standard neuronal novelty marker. Behavior was measured by using software utilizing machine learning, for automatic pose estimation (DeepLabCut) and automatic classification and recognition of animal behavior patterns (simBA).

Behavioral and c-Fos activation pattern results indicated the existence of deficits in emotional contagion in *Fmr1*KO(FVB) mice. Furthermore, data obtained during this study points to differences in response to stressed partner between females and males, both on behavioral and c-Fos levels. The behavior recognition model created during this study made it possible to study behavior with great accuracy, and after short re-training, can be successfully used in another study.

## Streszczenie

W ostatnim czasie obserwujemy stały wzrost liczby diagnoz zaburzeń ze spektrum autyzmu (ASD). Osoby w spektrum charakteryzują deficyty w interakcjach społecznych i komunikacji, a także obecność stereotypowych zachowań. Brak umiejętności społecznych często manifestuje się u nich także upośledzeniem empatii. Do niedawna uważano, że empatia występuje jedynie u ludzi, natomiast rosnąca liczba badań wskazuje, że zarażenie emocjonalne - najprostsza forma empatii, występuje powszechnie w przyrodzie, w tym u naczelnych, ssaków morskich, ptaków i gryzoni. Pomimo znaczenia tego zjawiska, wciąż istnieje niewiele danych na temat neuronalnych podstaw dzielenia się emocjami.

Celem mojego projektu doktorskiego była ocena zdolności empatycznych i wzorca aktywności w ciele migdałowatym i korze przedczołowej myszy *Fmr1KO(FVB)* (zarówno samców, jak i samic) - powszechnie stosowanego mysiego modelu ASD. Aby zbadać to zjawisko zastosowałem paradygmat Pośredniego Transferu Strachu, w którym myszy są trzymane w parach przez co najmniej trzy tygodnie przed eksperymentem. Jedna z myszy zostaje oznaczona jako Obserwator, a druga jako Demonstrator. W sesji testowej Demonstrator jest poddawany awersyjnym bodźcom poza klatką domową, podczas gdy Obserwator pozostaje w klatce domowej. Następnie Demonstrator zostaje umieszczony z powrotem w klatce domowej, gdzie może swobodnie wchodzić w interakcje z Obserwatorem, a pierwsze dziewięć minut interakcji jest nagrywane. Aktywność ciała migdałowatego i kory przedczołowej oceniano za pomocą barwień immunohistochemicznych przeciwko białku c-Fos, standardowemu neuronalnemu markerowi nowości. Zachowanie zanalizowano przy użyciu oprogramowania wykorzystującego uczenie maszynowe do automatycznego szacowania pozycji (DeepLabCut) oraz automatycznej klasyfikacji i rozpoznawania wzorców zachowań zwierząt (simBA).

Wyniki behawioralne i wzorce aktywacji c-Fos wskazały na istnienie deficytów w zarażaniu emocjonalnym u myszy *Fmr1KO(FVB)*. Co więcej, dane uzyskane podczas tego badania pokazały różnice w reakcji na zestresowanego partnera między samicami i samcami, zarówno na poziomie behawioralnym, jak i w poziomie białka c-Fos. Model analityczny stworzony podczas tego badania umożliwił badanie zachowania z dużą dokładnością, a co więcej, po krótkim przetrenowaniu, powodzeniem może być wykorzystywany w innych badaniach.