

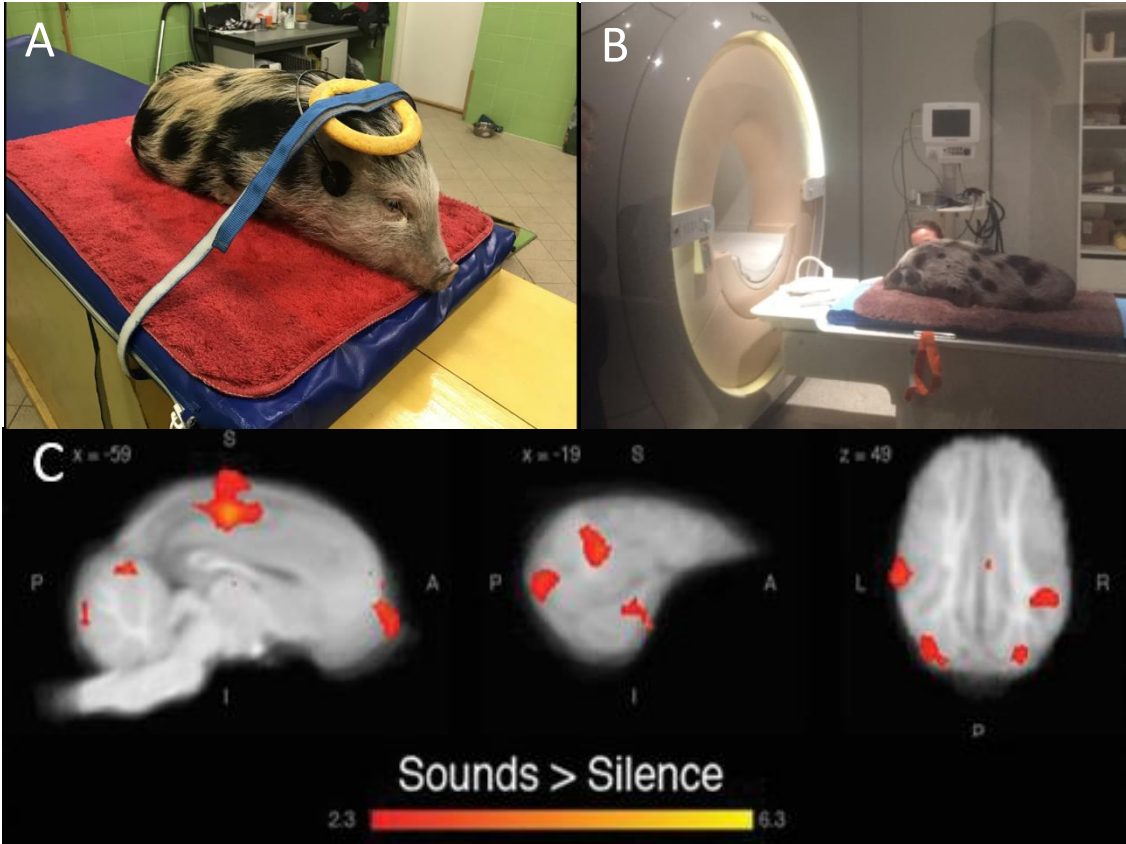
Szakmai beszámoló

Az Összehasonlító hallási fMRI vizsgálatok törpemalacokon: egy új modellfaj bevezetése a kognitív neuroetológiába című projekt agyi képalkotó vizsgálatainak egyik előfeltétele volt a törpemalacok megfelelő szocializációját biztosító háttér megteremtése. Ennek érdekében beindítottuk az emberi családoknál élő, hiperszocializált, társállatként tartott törpemalacok nevelését és tréningezését koordináló Családi Törpemalac Programot (<http://etologia.elte.hu/hu/a-csaladi-torpemalac-programrol/>). A kezdeti állattartási tapasztalatok alapján az eredetileg tervezettől eltérően az állatok állatfarmra költöztetéséről lemondtunk, és úgy döntöttünk, hogy nemcsak lehetőséget biztosítunk a nevelőknek arra, hogy élethosszig megtartsák az állatot (ezzel erősítve a kapcsolatot és a felelősségvállalást a kezdetektől), hanem kifejezetten olyan nevelőket választottunk, akik erre vállalkoztak. A programhoz tartozó 12 malac és nevelőik heti rendszerességgel látogatták az ELTE Etológia tanszéket tréningezés és tesztelés céljából egészen 2019 őszéig. Akkortól az afrikai sertéspestis Pest megyei megjelenésével összefüggő szigorú járványügyi és elővigyázatossági intézkedések az állatokkal és nevelőikkel való intenzív személyes együttműködést jelentősen megnehezítették. Ezek az intézkedések a viselkedéses adatgyűjtéseink jelentős részének lezárulta után léptek érvénybe, tehát a projektben tervezett viselkedéses kutatások megvalósítását, befejezését csak kis részben hátráltatják, a program hosszabb távú (a pályázat utáni) fennmaradása és az fMRI vizsgálatok folytathatósága szempontjából viszont kritikusak. Az utóbbi két évben kidolgoztunk az állatok lakóhelyén biztonságosan kivitelezhető viselkedéses tesztek is.

Az fMRI vizsgálatok másik előfeltétele az éber törpemalac fMRI tréning módszertanának megteremtése, gyakorlatba való átültetése és ennek megfelelően az állatok rendszeres képzése volt. Ujváry Dóra PhD és állatréner intenzív közreműködésével kidolgoztuk azt a soklépcsős képzési eljárást, melynek keretében az állatok éber fMRI-re alkalmasak lesznek: megtanulnak a tréner jelzéseire, instrukciókra és kézjelzésekre egyaránt figyelni, és egyszerű mozgásos akciókat végrehajtani. Képesek lesznek testhelyzeteket felvenni és azokat egyre hosszabb ideig (több percig is) megtartani; a későbbi mérésekhez szükséges hasalási pozícióba kerülni; hasalva fejhallgatót és (az MR mérésekhez szükséges) rádiófrekvenciás tekercset „hordani”; vizsgálóasztalra rámpán önállóan közlekedni; mozgó asztalon biztonságosan stabilan maradni; szkennerezajok mellett is tartani a hasalást; a valódi MR készülékben bemutatni a több percig tartó hasalást; valódi mérés közben az MR vizsgálóasztalon (majd az MR cső belsejében) hasalni; félperces méréseket mozdulatlanul végighasalni; többperces anatómiai, majd funkcionális méréseket végighasalni. Ez egy teljesen újszerű (és a tanszékünkön kutyákra kidolgozottól is több elemben fajra szabottan eltérő) tréning program. A tréning egyes lépései igen időigényesek, a haladás üteme pedig nagy egyedi variabilitást mutatott. A műszkennerünk heti használata mellett a leggyorsabban haladó állatok (3) rendszeresen gyakoroltak már a valódi szkennernél is, és több percig stabilan hasaltak (1. ábra A-B). A tréning-módszertant konferencia-publikációban mutattuk be (Ujváry és mtsai, 2018). A tréningbe a második évre egy másik tapasztalt állatréner, Shany Dror is bekapcsolódott.

A második év fontos mérföldköve volt, hogy a tréning eredményeképpen először sikerült éber, lekötözetlen, kooperáló, mozdulatlanul fekvő törpemalacokon (N=1) hallási fMRI vizsgálatot végeznünk (1. ábra C). Három, egyenként kétperces mérést végeztünk, melyek mindegyikében 1 mm alatt maradt az állat összesített elmozdulása, ami humán elmozdulási adatokkal összevetve is jó eredmény. Ez a sikeres mérésorozat igazolja a projekt egyik fő high-risk céljának elérhetőségét, a törpesertések tréninget követő éber fMRI mérhetőségét. Ugyanakkor az éber fMRI tréning a

projekt kezdetekor vártánál az igen jelentős tréneri erőfeszítések ellenére is lényegesen lassabban haladt, összesen csak 5 törpesertésünk került az év során a valódi szkennernél tréningezhetőség fázisába, és csak 1 állaton tudtunk sikeres mérést végrehajtani. A további 4, a tréning valódi szkennernél zajló fázisába érő állat esetén a hosszabbítás időszakára (a projekt ötödik felévére) vártuk az első sikeres méréseket. Azonban a törpemalacok éber fMRI tréningjét az afrikai sertéspestissel kapcsolatos járványügyi intézkedések (otthoni karantén) miatt határozatlan időre megszakítani kényszerültünk.



1. ábra A-B) A törpemalacok fMRI tréningjének két fázisa C) Hallási fMRI törpemalacokon (N=1). Vokális hangadás vs. csend, $p < 0.05$ korrigált.

A második év során, felmérve, hogy az fMRI modalitású agyi képpalkotás a vártánál lassabb, egy másik agyi képpalkotási modalitás bevezetése mellett döntöttünk. Kidolgoztuk a törpemalacok éber EEG mérési módszertanát, a hallási eseményfüggő potenciál (ERP) műtermék-mentesítési és elemzési technikáját, és az eredetileg fMRI-re tervezett kísérletet EEG méréssel helyettesítettük. Ehhez a mérési modalitáshoz a program hiperszocializált törpesertései alkalmas kísérleti alanyoknak bizonyultak. Tudomásunk szerint ez volt az első nem-invazív, éber egyedekkel végzett agyi képpalkotásos vizsgálat sertéseken. A vizsgálatban fajtársak, emberek, kutyák hangadásait, és nemvokális hangokat mutattunk be éber, mozdulatlanul fekvő törpesertéseknek (N=6), miközben 6 fejfelszíni (frontális és centrális a koponya középvonalán, jobb tempo-frontális, bal szem melletti, valamint föld és a referencia) elektróda segítségével rögzítettük az ingerfüggő agyi aktivitást. Az ERP-k közti eltérések a hipotézisünknek megfelelően, friss humán kutatásokkal analóg módon fajtárshangok elkülönült feldolgozását mutatták, és eltérő idői ablakokat találtunk a fajtárshangok nemvokális hangoktól (450-500 ms között a jobb frontális elektródán), valamint

az emberi (300-350 ms között a centrális elektródán) és kutya (400-450 ms között a centrális elektródán) hangjaitól származó agyi elkülönítésre. Eredményeinket konferencián mutattuk be (Magyari, Andics, 2019). A vizsgálatot kutya alanyok bevonásával összehasonlító kutatássá bővítettük, az adatgyűjtés a kutya alanyokkal még folyik, így az összehasonlító kutatást bemutató kézirat beadása az elkövetkezendő időszakban várható.

A projekt során hét viselkedéses módszertanú etológiai vizsgálatot végeztünk, ezek főbb eredményeiből három, jelentős sajtóérdeklődést is kiváltó folyóiratcikk jelent meg, egy a Scientific Reportsban (Altmetric attention score: 418, az összes mért cikk között a top 5%-on belül van) és kettő az Animal Cognition-ben (Altmetric attention score: 103, illetve 74, szintén a top 5%-on belül vannak). Ezek a többségében malac-kutya összehasonlító etológia vizsgálatok lehetővé tették a törpemalac, mint a kognitív neuroetológia új modellfaja viselkedésének pontosabb megismerését, valamint olyan egyedi különbségek feltárását, melyek egyedi jelzőszámokban kifejezve összevethetők a későbbi fMRI és EEG mérésekből származó adatokkal, az elemzésben kovariánsként használhatók.

Tematikai szempontból megkülönböztetve i) szociális érzékenységben; ii) temperamentumban, aktivitásban; és iii) interspecifikus kommunikációs készségben megnyilvánuló variabilitásokat keresünk a családban nevelkedő törpemalacok viselkedésében. Teszt-sorozatunk hét külön vizsgálatból áll, melyeket az állatok különböző életkorában végeztünk.

Szociális érzékenységet egy szociális preferencia tesztben (4 hónapos korban) és egy idegen-helyzet tesztben (longitudinálisan, 5-15 hónapos kor között végzett, ismételt) vizsgáltuk.

A szociális preferenciát mérő tesztben törpemalacok és kutyák spontán viselkedésbeli reakcióit mértük a gondozójuk, illetve egy ismeretlen tárgy vagy egy idegen személy felé. Azt találtuk, hogy a malacok és a kutyák is szívesebben voltak a gazdájuk, mint az ismerős tárgy közelében. Azonban egyik faj sem részesítette előnyben a gazdáját az idegennel szemben, látszólag más okok miatt. A kutyák inkább tartózkodtak mindkét ember közelében, mint másutt, míg a malacok inkább távol maradtak a szociális partnerektől, ami enyhe félelmet tükrözhet az ismeretlen ember iránt. A két faj különbözően viselkedett a gazdája közelében: a malacok több fizikai kontaktust igényeltek, mint a kutyák, megérintették az orrukkal a gazdájukat, hasonló módon, mint a fajtársaikkal teszik. A családtagként való tartás tehát nem biztos, hogy elegendő ahhoz, hogy a sertésekben általános preferencia alakuljon ki az emberi társaság iránt. A törpemalacok és a kutyák között megfigyelt különbségeket indokolhatják a fajspecifikus sajátosságok, beleértve azt is, hogy a kutyáknak hosszabb a szocializációs periódusuk, és az emberek vonzóbb társas ingert jelentenek számukra. Ezeket az eredményeket a Scientific Reports c. folyóiratban (Perez és mtsai, 2020a) publikáltuk.

A longitudinális idegen-helyzet tesztben a családi kutyáknál korábban megfigyelt kötődési viselkedési mintázatokat figyeltünk meg törpemalacokban: preferenciát mutattak gondozójuk iránt, a közelségét keresték és tartották fent ebben a helyzetben. Ugyanakkor a gazdától való elválasztásra és az újra találkozásra a kutyáknál kevésbé specifikusan reagáltak. Ezeket az eredményeket nemzetközi konferencián mutattuk be (Gerencsér és mtsai, 2018), folyóiratcikk beadását a közeljövőben tervezzük.

Longitudinálisan (3 hó, 6 hó, 9 hó, kifejlett egyedek) vizsgáltuk a családi törpemalacok temperamentumát és aktivitását: számukra új környezetben mutatott reakciójukat mértük, és aktivitásszintjükről az állatok hámjához rögzített mozgásszenzor segítségével gyűjtöttünk adatokat, ezeket automatizált viselkedéselemzéses módszerrel értékeljük. Nemzetközi konferencián bemutatott kezdeti eredményeink nem mutattak konzisztens egyedi különbségeket a malacok átlagos aktivitásában (Perez és mtsai, 2018). A vokalizációs viselkedésük ellenben jelentős egyedi konzisztenciát mutat különféle szociális kontextusok között. Ezt és a még zajló automatizált viselkedéselemzéses vizsgálatokban kapott eredményeinket a jövőben fogjuk publikálni.

A törpemalacok interspecifikus kommunikációs készségeinek vizsgálatára négy összehasonlító vizsgálatot végeztük el.

Az első kettőben kétutas tárgyválasztásos helyzetben vizsgáltuk a fiatal állatok emberi referenciális kommunikációs jelzésekre (kézzel való mutatás) való spontán érzékenységet, illetve az ember felé mutatott orientációs, interspecifikus kommunikációs jelzések megjelenését jutalomfalat ígéretének függvényében. Az első tesztben az állatok két rejtekhely közül választhattak többször egymás után. A kísérletvezető mindig mutatással jelezte, hogy a kettő közül melyik tartalmaz élelmet. Előzetesen tanítás nélkül csak a kutyák követték a mutatást, a malacok nem, ők inkább oldalválasztós stratégiát követtek. A második teszt eredményei azt mutatták, hogy miután enni kaptak, a malacok és a kutyák is többet fordultak az ember felé és gyakrabban értek hozzá, illetve többször is néztek fel az arcára, viszont, hogy ha nem vártak élelmet, akkor csak a kutyák néztek az emberi arcra, a malacok nem. Közvetlen emberközeli nevelt törpemalacoknál tehát spontán megjelennek kutyákhoz hasonló szociális-kommunikációs viselkedési formák, de fajra jellemző sajátosságukból kifolyólag kevésbé fogékonyak az emberi jelzésekre, és néha inkább a saját stratégiájukat követik. Ennek a kutatásnak az eredményét az *Animal Cognition* c. folyóiratban (Gerencsér és mtsai, 2019) megjelent publikációban mutattuk be.

A másik két interspecifikus kommunikációs készséget vizsgáló tesztben az ember felé mutatott kommunikációs jelzések megjelenését mértük az ún. megoldhatatlan feladat paradigma (tekintetváltás) és egy ún. elérhetetlen jutalom paradigma (mutatási viselkedés) keretében az állatok 7, illetve 9 hónapos korában. Azt találtuk, hogy a kutyák és a malacok, amikor a megoldhatatlan problémával egy számukra kinyithatatlan, de élelmet nem tartalmazó doboz formájában szembesülnek, hasonló mértékben mutattak ember felé irányuló viselkedéseket. Amikor azonban a szintén kinyithatatlan doboz élelmet is tartalmazott, akkor a malacok kevesebb ember felé irányuló viselkedést mutattak, mint a kutyák, viszont a kutyáknál kitartóbban próbálkoztak a doboz kinyitásával, ami az önálló problémamegoldásra való hajlamukat tükrözheti. A két faj között talált hasonlóságok azt mutatják, hogy az emberrel való kommunikálásra való képesség mindkét fajban hasonlóan jelen van. A viselkedésbeli különbségek hátterében a fajspecifikus sajátosságok állhatnak. A kutyák természetes módon jobban függnek és együttműködőbbek az emberrel, ami megmagyarázza, miért sikeresebbek más fajokhoz képest a velünk való kommunikációs interakciók létesítésében. Ezeket az eredményeket az *Animal Cognition* (Perez és mtsai, 2020b) című folyóiratban publikáltuk. A negyedik teszt eredménye azt mutatta, hogy a malacok és a kutyák is gyakrabban változtatnak a gazdájuk és egy, a számukra kinyithatatlan módon lezárt doboz felé mutatott orientációjukon amikor a doboz jutalmat (élelmet) tartalmaz, mint a kontrol helyzetben, amikor a doboz üres, de a kutyák esetében nagyobb a

különbség a két helyzetben mutatott viselkedés között. Ez az orientáció változtatás mutatásként, segítségkérésként értelmezhető. Ezen kutatást nemzetközi konferencián (Perez és mtsai, 2018) mutattuk be, folyóiratcikk elkészítése a közeljövőben várható.

A vezető kutató a jelen kutatás eredményeire is nagyban alapozó, törpesertések összehasonlító agyi képalkotásos vizsgálatát is végző ERC Starting Grant pályázatot nyújtott be 2019-ben, mely támogatás nyert.

A projekt kivitelése során a következő változtatások okoztak jelentősebb eltérést a költségtervtől: A kutatói alkalmazásra fordított összeg kisebb volt a tervezettnél, mert a kutatói feladatok egy részét hallgatói alkalmazással és állami ösztöndíjas PhD hallgatók részvételével oldottuk meg. A vártnál több viselkedéses tesztet végeztünk, e tesztek elvégzéséhez szükséges tréningezést, asszisztenciát és a videófelvételek kódolásának egy részét egyéni vállalkozóra bízunk, ennek költsége dologi költségként jelent meg. A nem kutatói minőségben való alkalmazásra a tervezettnél többet fordítottunk, mert az első éve tapasztalatai alapján egy további állatréner alkalmazására volt szükség a kutatási feladat megvalósításához. Ezekkel a változtatásokkal optimálisan tudtuk kielégíteni a kutatás mindenkori munkaerő-szükségletét.