

Az autizmus neurokognitív alapjainak egy új translációs modellel való vizsgálata K128448 – zárójelentés

I. Bevezetés

Kutatócsoportunk több évtizede végzi azokat a szerteágazó kognitív etológiai vizsgálatokat, melyek közös jellemzője a kutya és az ember viselkedési készségeiben és elmeműködésében megfigyelhető hasonlóságok feltárása. A beszámoló tárgyát képező kutatás e tágabb kereten belül arra az elképzelésre fókuszált, miszerint a kutya alkalmas modellje lehet a humán társas-kognitív készségeket érintő idegrendszeri zavarok, és így az autizmus spektrumzavar tanulmányozásának. Célunk tehát a humán autizmus spektrumzavar (ASD) állati modellekkel való vizsgálatának újfajta megközelítése volt, arra a feltételezésre alapozva, hogy a kutya sajátos evolúciós története miatt jó translációs értékkel bíró modell lehet az autizmus kutatásában. Azok a viselkedési konvergenciák ugyanis, amelyek a kutya és ember között megfigyelhetők, egyedülállóan alkalmassá teszik ezt a fajt arra, hogy rajta keresztül jobban megérthessük az autizmus neurokognitív hátterének egyes aspektusait.

Bár a projektet eredetileg 3 évre terveztük, de végül 18 hónappal meghosszabbítottuk. A hosszabbítást alapvetően a COVID-19 pandémia miatt előállt helyzet indokolta. A kutyák és gazdáik aktív részvételét igénylő empirikus vizsgálatainkat ugyanis lehetetlenné tették az időszakos lezárások (látogatási tilalom) és nagyban gátolta a kutatóközpontunkban hosszabb ideig érvényben lévő maszkviselési kötelezettség is (amely alapvető problémát okozott a kommunikációs interakciókon alapuló tesztjeink végrehajtásában). A projekt kényszerű módosításaival összefüggésben a pályázat költségvetésében is történtek átcsoportosítások, de természetesen minden egyes változást az előírt módon engedélyeztettünk, valamint e változások érdemben nem befolyásolták a támogatási szerződésben vállaltakat, sőt éppen a pályázat sikeres teljesítése érdekében történtek. A problémák ellenére a kutatás jórészt a terveknek megfelelően haladt, a kísérletek jelentős részét eredményesen sikerült lezárni és publikálni. A pályázatban eredetileg vállaltakat jóval meghaladva, összesen 19 külföldi- és 1 hazai „peer reviewed” folyóiratcikket sikerült megjelentetni a projekt támogatásával (a folyóiratok közül 11 D1, 7 pedig Q1 besorolású, a publikációk összesített impakt faktora 86,178). Néhány vizsgálat esetben pedig eredményeink benyújtásra előkészített kéziratok formájában még közlés előtt állnak (részleteket ld. alább).

II. A kutatás eredményeinek ismertetése

1. Elméleti eredmények

A projekt egyik fontos elméleti eredménye, hogy a fenti megfontolások nyomán egy review cikk formájában részletesen kidolgoztuk és kifejtettük az autizmus állati modellekkel való vizsgálatának ezen újfajta megközelítését (1), hangsúlyozva, hogy a kutya mint modellállat alkalmazása nemcsak értékes adatokkal szolgálhat az autizmus evolúciós gyökereinek és kóroktani hátterének jobb megértéséhez, de ezek nyomán a kutya az alkalmazott gyógyszerkutatás számára is ígéretes modellként kerülhet bevezetésre.

2. Empirikus eredmények

Kísérletes megfigyeléseinkben a humán autizmus spektrumzavarral kapcsolatos ismereteinkből származó különböző hipotéziseket teszteltünk, a kutya mint állatmodell translációs validitásának vizsgálata céljából.

2.1. Kérdőíves vizsgálatok

A humán autizmus dignóizálásánál használt kérdőívekre alapozva kifejlesztettünk és publikáltunk (2) egy olyan kérdőíves eszközt, amely alkalmas arra, hogy a kutya emberrel kapcsolatos társas kompetenciájának különböző aspektusait felmérhessük. A nagyszámú (>1300) egyedről beérkezett adatok elemzése nyomán 3 olyan faktor (tulajdonságcsoporthoz) volt azonosítható (kontaktus keresés és szinkronizációra való készség, idegenekkel szembeni reakciók; emberi kommunikációs jelzések iránti figyelem), amely alapján jól jellemezhető egy adott kutya társas kompetenciája. Ez lehetőséget adott arra, hogy a viselkedéses vizsgálatokhoz az ennek alapján kialakított kritériumrendszer alkalmazva a társas kompetencia szempontjából alacsonyan vagy magasan funkcionáló alanyokat választhassunk ki, illetve hogy a kutyák társas kompetencia terén mutatott készségeit az egyes vizsgálatok elemzésekor kovariánsként figyelembe vehessük.

2.2. A társas- és nem szociális jellegű ingerek figyelem megzavaró hatásának összehasonlító vizsgálata

Egy érintőképernyős feladatban kísérletesen vizsgáltuk a társas és nem szociális ingerek figyelem megzavaró hatását fejlett társas kompetenciával jellemzett illetve autisztikus jegyeket mutató kutyák esetében (2). Úgy találtuk, hogy társas ingerek figyelemelterelő hatása nem független attól, hogy a kutya milyen mértékben mutat autizmusra emlékeztető viselkedési tüneteket. A társas kompetencia szempontjából magasabban funkcionáló kutyák teljesítményét (nézési idő és válasz latencia) ugyanis jobban befolyásolja az, hogy a feladat szempontjából irreleváns zavaró inger társas- vagy nem társas jellegű.

2.3. A megfigyelői hatás (audience effect) vizsgálata különböző helyzetekben

A továbbiakban teszteltük azt a hipotézist is, hogy a társas kompetenciában megfigyelhető eltérések összefüggést mutathatnak azzal, hogy a kutya mennyire érzékeny a megfigyelői hatásra (azaz hogy mennyire befolyásolja a teljesítményüket az, hogy valaki figyel-e őket feladat végrehajtása közben). Családi kutyák különböző feladathelyzetekben történő vizsgálatával kimutattuk, hogy bár viselkedésükre nincs jelentős befolyásoló hatása annak, hogy ismerős avagy ismeretlen személy az, aki éppen megfigyeli őt, de a megfigyelői hatás kontextus-függő módon nyilvánul meg és jellegzetes egyedi eltéréseket mutat – azaz a kutyák eltérő hajlandóságot mutatnak arra, hogy szituációs szabályoknak megfelelően viselkedjenek (3). További vizsgálatokban azt is sikerült igazolni, hogy a kutyák társas kompetenciájának olyan jellegzetességei, mint a gazdával való kapcsolat bizonytalansága (kapcsolati szorongás, elkerülés) összefüggést mutat a kutyák feladattartásával és teljesítményével (a gazdával való kapcsolati problémák gyengítik a megfigyelői hatást). Úgy találtuk továbbá, hogy megfigyelői hatásra való egyedi érzékenységük összefüggést mutat az alvás során mérhető agyi elektromos aktivitásuk egyedi jellemzőivel is (4).

2.4. Társas ingerekkel való befolyásolhatóság

A kutyák fejlett szociális kompetenciájának egyik fontos megnyilvánulása lehet a társas ingerekkel való „előfeszíthetőség”. Mivel a humán autizmus velejárájaként ez a készség gyakran sérül, fontos tisztázni, hogy a kutyák általában befolyásolhatók-e ily módon. Ezért kísérletesen vizsgáltuk (5), hogy pozitív- illetve negatív társas ingerekkel való előkezelés (különböző érzelmi töltetű interakciók egy idegennel) után hogyan viselkednek egy olyan helyzetben ahol lehetőségük van „spontán bekapcsolódni” egy ember feladatmegoldásra irányuló törekvéseibe. Az eredmények szerint a társas ingerekkel való „előkezelés” érzelmi töltete jellegzetesen befolyásolja a viselkedésüket, bár a kutyák e kifinomult társas érzékenységét társas kompetencia egyéni eltérései jelentősen módosíthatják.

A „társas befolyásolhatóság” témakörében az ásítást, mint tipikus átragadási jelenséget is vizsgáltuk abból a szempontból, hogy az oxytocin (OXT) kezelés hogyan hat e viselkedésre (6,7). Bár az eredmények alapján a klasszikus „ásítás-átragadás paradigma” nem igazán

alkalmas arra, hogy a kutyák empatiszus készségét (mint a társas kompetencia jellegzetes megnyilvánulását) és annak zavarait mérni lehessen, az OXT kezelés (melynek társas helyzetekben stresszcsökkentő hatása lehet) csökkenti a kutyák ásítás-átvételi hajlandóságát.

2.5. Társas ingerek „implicit” jutalmazó hatása

Feltételezések szerint a humán autizmus jellegzetes velejárója az is, hogy az olyan társas ingerek, mint pl. emberi arc látványa, vagy a szóbeli közlés egyes prozódiai jellemzői kevésbé képesek önmagukban pozitív megerősítő (jutalmazó) hatást kiváltani. Ennek nyomán megvizsgáltuk hogy a kutyák számára az emberi arc látványa képes-e spontán ösztönző (jutalmazó) szerepet betölteni egy olyan feladatban, ahol szabadon választhatnak két teljesen egyforma jutalmat rejtő edény közül (8). Úgy találtuk, hogy egyedi szinten a kutyáknak bő egyharmada spontán preferenciát mutatott az arc-ingerral társított edény felé, s ez arra utal, hogy az arc „ösztönző” értékének különbözősége a társas kompetencia egyedi eltéréseivel függhet össze.

Azt is igazoltuk (9), hogy a kutya érzékeny az emberi beszéd prozódiai sajátosságaira, és a neki címzett megszólítás akusztikus jellemzői iránt mutatott preferenciája jól vizsgálható mesterséges, ún. kompozit ingerek segítségével. Egy összehasonlító vizsgálatsorozatban (10) pedig szisztematikusan feltérképeztük a kutya- és gyermek-felé irányuló kommunikációra jellemző emberi arcjáték jellemzőit. Hat olyan tipikus arckifejezést sikerült leírni és elemezni, amelyek az ún. dajkabeszéd intonációs jellegzetességeinek fontos kiegészítő elemei, ugyanakkor ezek az arckifejezések a gazdák kutyájuk felé irányuló kommunikációja során is megjelennek. Az ezekkel kapcsolatos egyedi különbségek vizsgálata fontos lehet az autizmussal összefüggő jelenségek kutyában megfigyelhető párhuzamainak további tisztázásában.

2.6. Oxytocin és társas kompetencia

Bár az oxytocint (OXT) régóta összefüggésbe hozzák a társas kognitív készségeknek azon megnyilvánulásaival amelyek az autizmusban érintett társas kompetencia főbb összetevői, még keveset tudunk arról, hogy az egyéni különbségek hogyan módosítják az OXT általános „társas kompetencia-javító” hatását. Ezért egy kísérletben laboratóriumi körülmények között tartott beagle kutyák bevonásával vizsgáltuk azt a kérdést, hogy van-e kapcsolat az intranazális úton bejuttatott OXT és a társas kompetencia különböző megnyilvánulásai között, különös tekintettel arra, hogy az egyébként standard körülmények között tartott egyedek közötti egyéni eltérések hogyan befolyásolják az oxytocin kezelés hatását. A humán vizsgálatok alapján azt feltételeztük, hogy az alacsonyabb társas készségeket mutató egyedek érzékenyebben reagálnak az OXT kezelésre, esetükben inkább várható pozitív hatás. Eredményeink egyrészt egyértelműen igazolták hogy az OXT kezelés alkalmas lehet a társas viselkedés egyes aspektusainak befolyásolására, másrészt pedig az előzetes várakozásokkal összhangban megerősítették, hogy a társas kompetencia szempontjából „alacsony” illetve „magas” csoportokba sorolt kutyák viselkedésére jellegzetesen eltérően hat az oxytocin (11).

Az OXT kezelés viselkedési hatásait családi kutyákon tovább vizsgálva kimutattuk, hogy a ’társas befolyásolhatóság’ azaz a mások elvárásainak való megfelelési hajlandóság szintén módosítható a kutyák oxytocin rendszerének manipulálásával. E vizsgálatokban (12,13) a befolyásoló hatást kétféle módon értük el: egyrészt orrspray formájában bejuttatott OXT révén, másrészt pedig ’természetes úton’, a kutyák társas ingerekkel (simogatás, szemkontaktus) való stimulálásával. Az eredmények azt mutatják, hogy mindkét módszer alkalmas arra, hogy egy jutalom-választási tesztben erősítsük az alanyok társas befolyásolhatóságát. Laboratóriumi körülmények között illetve házikedvencként tartott beagle kutyák bevonásával végzett, viselkedési tesztek és genetikai vizsgálatokat egyaránt alkalmazó összehasonlító vizsgálatban (14) pedig kimutattuk, hogy a kutyák „társas válaszkészségében” megfigyelhető egyedi eltérések gén-környezet interakciós hatásoknak köszönhetőek: ugyanis a kenneltartás bizonyos genotípusok esetén jelentős hatással van a társas viselkedési zavarok, és a társas ingerekkel összefüggő stressz megjelenésére, míg más genotípusú egyedek

rezisztensnek bizonyultak a társas deprivációval szemben.

2.7. Társas kategorizációs képességek

Az autizmus spektrumzavar tüneteinek fontos jellemzője az is, hogy az elme sajátos módon észleli és dolgozza fel az elvárt eseményektől való eltéréseket, és ezért képtelen a „jelek” (jelentést hordozó változások) és a „zaj” (véletlenszerű fluktuációk) egymástól való elválasztására és az összefüggések kiszűrésére. Ez a működésmód sajátos tanulási deficitként jelentkezhet például olyankor, amikor egyes prototípusok megfigyelése alapján kell spontán valamilyen általánosított reprezentációt (kategóriát) kialakítani. Egy további kísérletünkben (*jelenleg még kéziratban*) ezért azt vizsgáltuk, hogy a társas kompetencia szempontjából eltérően funkcionáló kutyák milyen különbségeket mutatnak tárgy-kategorizációs képességeiket tekintve egy olyan feladatban, ahol az előre betanított „prototípushoz” mindenben hasonló, de attól valamilyen paraméterében (anyagában, színében, méretében) eltérő tárgyat kell a korábban megtanult céltárggyal azonos kategóriába tartozóként felismerni. Míg a tréning során mind a „magas” mind az „alacsony” csoportba sorolt kutyák azonos sikerességgel tanulták meg az alapfeladatot, a fejlett társas kompetenciával jellemzett kutyák összességében sikeresebbek voltak a kategorizációs feladatban. Úgy tűnik, hogy az alacsonyan funkcionáló egyedek ugyanolyan jellegű tanulási nehézségeket mutatnak a tárgy-kategóriák kialakítása során, mint amelyek a humán vizsgálatok szerint az autizmus tüneteivel jár együtt.

A kutya-ember párhuzam további kibontása érdekében tipikus fejlődésű, és autizmussal élő óvodás gyerekekkel is elvégeztünk egy kategorizációs képességeket érintő vizsgálatot (15). Ebben arra a kérdésre kerestük a választ, hogy emberek illetve kutyák csoportba sorolása során milyen mértékben támaszkodnak az olyan állandó jellegekre (mint pl. bőr- illetve szőrszín) és mennyiben végzik a csoportosítást időleges jellemzők (pl. ruházat) alapján. Úgy találtuk hogy bár vannak kimutatható különbségek, de az autizmussal élő gyerekek társas kategorizáció során alkalmazott stratégiái nem térnek el lényegesen a tipikus fejlődésű társaikétól, s már akár 4 éves korban is képesek rugalmasan kezelni a társas kategóriákat és az emberek besorolásánál előnyben részesítik a kulturális alapon szerveződő bélyegeket.

Az a tény, hogy autisztikus működésmóddal jellemzett idegrendszer túl nagy jelentőséget tulajdonít az elvárt, és a valós bekövetkezett események közötti eltérésnek, a kategorizációs képességeket igénylő feladatok mellett más tanulási helyzetekben is jellegzetes deficitként jelentkezhet. A probléma gyökere minden esetben az lehet, hogy egy tanulási helyzetben nem képes diszkriminálni jelentéktelen környezeti változékonyság (amit ignorálni kellene) és a lényeges releváns változások között. Más szóval az autisztikus elme az elvárásoktól való eltérés legkisebb mértékét sem képes figyelmen kívül hagyni, s a lényegkiemelő képességnek ez a hiánya végeredményben tanulásra való képtelenséghez vezet.

Az elképzelés kutyákra való érvényességét egy olyan tanulási feladattal teszteltük, ahol a jutalom két lehetséges hely valamelyikén volt található, s ennek helyét próbáról próbára egy 'marker' egyértelműen jelezte. Viszont a marker felbukkanása előtt egy „előjelző inger” jelent meg, és ez változó megbízhatósággal (100%, 50%, 30%) jelezte előre, hogy hol fog a marker felbukkanni (azaz hol várható a jutalom). A társas kompetencia szempontjából „magasan funkcionáló” illetve „deficites” kutyák (N=22) ún. prediktív nézési viselkedésének elemzése egyértelműen azt mutatja, hogy érzékelik az előjelző inger megbízhatóságának változását, és kevésbé vannak határozott elvárásaik akkor, amikor az előjelző inger alacsony megbízhatósággal jelzi a marker felbukkanásának helyét. Ugyanakkor, bár a prediktív nézési viselkedés mutat egyedi eltéréseket, ezt nem sikerült összefüggésbe hozni a résztvevő kutyák a társas kompetenciájában mutatkozó egyéni különbségekkel. A negatív eredménynek többféle oka lehet, sajnos az eredményeket ebben a formában publikálni nem tudtuk, további vizsgálatok szükségesek. Ennek nyomán kidolgoztunk egy olyan tréning módszert is, amely alkalmas a kutyák tanulási teljesítményének mérésére klasszikus gátlási (blocking) paradigma alkalmazásával. Ebben azt teszteltük, hogy egy új (a feladat szempontjából irreleváns) inger

képes-e „megbontani” a korábban megtanult kontingens kapcsolatot valamely inger és annak következménye között. Azt feltételeztük, hogy az autisztikus tünetek erősödésével a kutyákban egyre gyengébb 'gátlási' hatás várható, azaz a társas kompetencia szempontjából alacsony funkcionáló egyedeknél a korábban megerősített inger-válasz kapcsolat kevésbé képes meggátolni, hogy az adott szituációban megjelenő új ingernek az állat jelentőséget tulajdonítson, és ennek hatására elkezdjen „újra tanulni”. Egyrészt sikerült demonstrálni az összefüggést a társas kompetenciában mért egyedi eltérések és a kutyák (N=40) blocking-ra való hajlama között azonban az előzetes elvárásainkkal ellentétes módon. Úgy tűnik ugyanis, hogy a más vizsgálatokban is alkalmazott kérdőív alapján alacsonyabb társas kompetenciát mutató kutyák inkább hajlamosak a blocking-ra, azaz jobban ragaszkodnak az eredetileg társított ingerkapcsolathoz. Az eredmények publikálása folyamatban van.

2.8. Az alvási EEG módszerének alkalmazása a kutyák társas kompetenciájának vizsgálatában.

Módszertani vizsgálatink eredményeképpen részletes áttekintő elemzésben igazoltuk, hogy a kutya az alváskutatás számára is ígéretes translációs modell, egyebek mellett az alvással kapcsolatos társas-kognitív folyamatok vizsgálatára egyedülálló lehetőséget biztosít (16). További vizsgálatokban világitottunk rá az alvási EEG adatok feldolgozásával kapcsolatos validitási és megbízhatósági problémákra és kerestünk megoldásokat ezekre (17).

Egy további kísérletünkben pedig az alvás megzavarás módszerét alkalmazva azt elemeztük, hogy a REM illetve a Non-REM fázisok megzavarása (mesterséges felébresztés) hogyan befolyásolja a kutya társas készségeinek egyik jellegzetes megnyilvánulását, az emberi arc-érzelmelek feldolgozását. Úgy találtuk, hogy mind az ébresztések száma, mind pedig a Non-REM fázisok időtartama befolyásolja azt, hogy a kutyák hogyan teljesítenek az alvást követő értelemfelismerési tesztben (18). Az a tény, hogy nemcsak az embereknél, hanem a kutyánál is kapcsolat van az alvási struktúra és az emberi arcon látható érzelmelek feldolgozása között megerősítik azt az elképzelést, hogy a poliszomnográfias módszer alkalmas lehet a kutya társas készségeinek és az abban megnyilvánuló zavarok vizsgálatára.

A fentiekben ismertetett kísérletes vizsgálatok összességében jól párhuzamba állíthatók a humán autizmus kutatási eredményeivel, és tovább erősítik azt az elképzelést, hogy a kutya az autizmus spektrum bizonyos aspektusainak megértését segítő modellfajként számításba vehető.

III. A beszámolóban idézett publikációk

1. Topál J. et al. 2019. WIREs Cog Sci 10:4, e1495
2. Galambos Á. et al. 2021. Appl Anim Behav Sci 244:105451
3. Kiss O. Topál J. 2019. Biol Futura 70:103-111
4. Kiss O. et al.. 2020. Front Psychol 11:1461
5. Galambos Á. et al. 2021. Appl Anim Behav Sci 236:105242
6. Kis A. et al. 2020. Appl Anim Behav Sci 223:104916
7. Kis A. & Topál J. 2020. Appl Anim Behav Sci 224:104969
8. Bolló H. et al. 2021. iScience 24(8):102763
9. Gergely A. et al. 2021. Anim Behav 176:167-174
10. Gergely, A. et al. 2023. Sci Rep 13:929
11. Turcsán B. et al. 2022. Front Vet Sci 9:785805
12. Kis A. et al. 2022. Animals, 12:296.
13. Kis A. et al. 2022. Appl Anim Behav Sci 253:105681
14. Turcsán B. et al. 2020. Front Vet Sci 7:183
15. Kiss O. et al. 2021. Sci Rep 11:6549
16. Bódizs R. et al. 2020. Curr Op Behav Sci 33:25-33
17. Gergely A. et al. 2020. Animals 10(6):927
18. Bolló H. et al. 2020. Sci Rep 10:10492