

# Animal welfare, etológia és tartástechnológia



## Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 2

Különszám

Gödöllő  
2008



## AZ AKTIVITÁS GENETIKAI HÁTTERÉNEK VIZSGÁLATA KANDIDÁNS GÉN MÓDSZERREL KUTYÁKON

Kubinyi Enikő<sup>1</sup>, Vas Judit<sup>1</sup>, Héjjas Krisztina<sup>2</sup>, Sasvári-Székely Mária<sup>2</sup>, Miklósi Ádám<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Eötvös Loránd Tudományegyetem, Biológiai Intézet, Etológia Tanszék  
1117, Budapest, Pázmány P. sétány 1/c.

<sup>2</sup>Semmelweis Egyetem, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Pathobiokémiai Intézet  
1088 Budapest, Puskin u. 6.

[kubinyie@gmail.com](mailto:kubinyie@gmail.com)

### Összefoglalás

Az utóbbi években igen elterjedté vált bizonyos, a neurotransmitter-rendszerben feltételezhetően szerepet játszó, úgynevezett kandidáns gének és kvantitatív viselkedésgyek asszociációjának vizsgálata. A kutatások elméleti háttere szerint bizonyos viselkedésgyek, például az aktivitás hátterében sokféle gén áll, amelyek additív vagy nemadditív hatásúak. Az emberi populációkban nagyon gyakran alkalmazott vizsgálat állatok esetében alig fordul elő. Munkánk során 6 kandidáns gén (D4-es típusú dopamin receptor, tirozin-hidroxiláz, katekol-o-metiltranszferáz, monoamin-oxidáz B, dopamin transzporter és dopamin-béta-hidroxiláz) és az aktivitás viselkedésgy kapcsolatát vizsgáltuk 104 német juhászkutyán. A kutyák gazdáit arra kértük, hogy (1) töltsenek ki egy validált kérdőívet a kutya aktivitásával és figyelmi képességeivel kapcsolatos kérdésekkel; (2) töltsenek ki egy újonnan tervezett kérdőívet számos viselkedésggyel kapcsolatban; (3) vegyenek részt egy viselkedésgteszt-sorozatban a kutájukkal. A tirozin-hidroxiláz mindkét kérdőív aktivitás-skálájával, és a viselkedésgteszt változóiból főkomponens-analízissel nyert aktivitás-skálával is kapcsolatban állt. Utóbbi a DRD4 génnel is szignifikáns összefüggést mutatott. Eredményeink arra utalnak, hogy a kutyák aktivitásában a TH és a DRD4 gén szerepet játszik. Hosszú távon a hasonló összefüggések révén például megelőzhető, hogy munkakutya-központokban valószínűsíthetően az elvárásoknak nem megfelelő egyedek kiképzésébe kezdjenek.

**Kulcsszavak:** aktivitás, kandidáns gén, DRD4, kutya

### Candidate gene and activity trait association on dogs

#### Abstract

In recent years molecular genetics has begun to identify certain neurotransmitter-associated genes, called candidate genes, for quantitative behavioural traits. According this model, traits such as activity are determined by various genes which interact either additively or nonadditively. Candidate gene polymorphisms and personality trait associations are widely studied in humans, but similar studies are scarce among animals. We investigated 6 candidate genes (D4 dopamine receptor, tyrosine-hydroxylase, catechol-O-methyltransferase, monoamine oxidase B, dopamine transporter, dopamine-β-hydroxylase) as potential genetical factors on the variety of the activity trait. Owners of 104 German shepherd dogs were asked (1) to fill in a validated questionnaire containing an activity and an attention-deficit scale; (2) to fill in a newly developed temperament questionnaire; (3) to participate in a behaviour test-battery with their dog. We found significant associations between the activity scale of both questionnaires and the tyrosine-hydroxylase (TH). A principal component analysis revealed an activity scale from the test-battery too; this scale was associated with TH also, besides DRD4. These findings suggest that TH and DRD4 genes are involved in the activity trait of dogs. The results could have practical applications too, by selecting working dogs at an early age.

**Keywords:** activity, candidate gene, DRD4, dog



## Irodalmi áttekintés

Az utóbbi években a molekuláris genetikusok számos olyan gént azonosítottak, amelyek a neurotranszmitter-rendszerben játszott szerepük révén befolyással vannak kvantitatív viselkedési jegyekre. Ezen úgynevezett kandidáns gének közül humán kutatásokban a D4-es típusú dopaminreceptor (DRD4) gén exon III régiójában található változatos számú tandem ismétlődés (VNTR) hatását kutatják a legintenzívebben. Az ismétlődések számától függően a génről íródó fehérje harmadik citoplazmatikus hurkának hossza variál. Mivel a receptornak ez a része kapcsolódik a G-fehérjéhez, ezért feltételezhetően befolyásolja a jelátvitel hatékonyságát. Számos asszociáció ismert e gén polimorfizmusa és különböző viselkedésjegyek, például az „újdonságkeresés” (Ebstein és mtsai, 1996) és egy gyakori gyermekpszichiátriai probléma, a figyelemhiányos hiperaktivitási zavar (Attention Deficit Hyperactivity Disorder-ADHD, Faraone és mtsai, 2005) között. A DRD4 és az újdonságkeresés kapcsolatát széncinegéken is leírták (Fidler és mtsai, 2007), de a cinegékben, hasonlóan a leggyakrabban alkalmazott rágcsálómodellekhez (pl. O'Malley és mtsai, 1992), a DRD4 ismétlődő polimorfizmusa hiányzik, míg kutyákban megvan (Inoue-Muramaya és mtsai, 2002). A kutya DRD4 VNTR 27-, 39-, és 12 bp hosszúságú elemeket tartalmaz, összesen 9 allélvariációban (Niimi és mtsai, 1999; Héjjas és mtsai, 2007a; 2007b). A közelmúltban kimutattuk, hogy rendőrségi kötelékben álló német juhászkutyák közül azok, amelyek a DRD4 exon III allélvariációi közül csak a „2”-est hordozták, kevésbé voltak aktívak, mint a „3a” típust is hordozó egyedek (Héjjas és mtsai, 2007a).

Jelen kutatásunkban a korábbi kérdőíves vizsgálatunkat a viselkedés tanulmányozására is kiterjesztjük.

## Anyag és módszer

### A genotípus meghatározása

A kutyákból szájnyalakahártya epidermisz sejteket gyűjtöttünk nem invazív módszerrel, úgy, hogy a kutyák pofájának belső oldalához vattával borított pálcikát dörzsöltünk. A szakirodalom alapján a következő kandidáns géneket választottuk ki: dopamin D4-es receptor (DRD4) exon III, DRD4 intron II, DRD4 exon I, katekolamin-O-metil transzferáz (COMT), monoamin-oxidáz B (MAOB, a monoaminok (norepinefrin, dopamin, szerotonin) bontásában vesz részt), tirozin hidroxiláz (TH, a tirozin dihidroxi-fenilalaninná való átalakulását katalizálja), dopamin béta-hidroxiláz (DBH, a dopamint norepinefrinné alakító elsődleges enzim), dopamin transzporter (DAT).



A genotípusok meghatározását a Semmelweis Egyetem Molekuláris Genetikai munkacsoportja végezte Sasvári-Székely Mária vezetésével. A DNS-t PCR-rel amplifikálták Niimi és mtsai (1999) által publikált génszekvenciák alapján, a különböző hosszúságú allélok elkülönítése gélelektroforézissel történt.

### ***A viselkedési fenotípus meghatározása***

A családi kutyák gazdáit kutyaiskolákban, kutyakiállításokon kerestük fel.

A felnőttkori „temperamentumtesztek” rendkívül elterjedtek, szinte minden fajtaklub kidolgoz egyet. Azonban e tesztek prediktív ereje rendszerint vitatható, mivel általában elmarad megbízhatóságuk és érvényességük mérése (Jones és Gosling, 2005). Ezért a viselkedéses fenotípus vizsgálatához korábbi tapasztalatok és a szakirodalom alapján egy 13 altesztből álló, 30 perc időtartamú, szabadtéri teszt sorozatot terveztünk. A vizsgálatokat 104, 1 évesnél idősebb fajtatiszta családi német juhászkutyán végeztük. Emellett a gazdák kitöltötték két kérdőívet a kutyáik aktivitásával, figyelmi képességeivel és más temperamentumvonásaival kapcsolatban (Vas és mtsai, 2007; Horváth és mtsai, 2008).

### ***A vizsgált változók***

- A kísérletvezető megközelítése (0: ha a kutya közelít a kísérletvezető (KV) felé, és üdvözlés után nem hagyja ott a kísérletvezetőt; 1: ha a kutya közelít a KV felé, de üdvözlés után otthagyja őt; 2: ha a KV közelít a kutya felé, de üdvözlés után a kutya nem hagyja ott őt).
- A DNS mintavétel során mutatott „küzdés”, ellenkezés (0: nyugodt, mozdulatlan; 1: fejét mozgatja; 2: fejét és testét is mozgatja; 3: külső segítséget kell igénybe venni, vagy nem sikerül a mintavétel).
- A kutya előtt lóbált táplálék/labda által kiváltott aktivitás (a helyváltoztatással töltött idő aránya).
- A gazda távollétekor mutatott aktivitás (0: ha a kutya nem végez helyváltoztató mozgást; 1: ha a kutya az idő kevesebb, mint felében végez helyváltoztató mozgást; 2: ha a kutya az idő 50-90%-ában végez helyváltoztató mozgást; 3: ha a kutya az idő 90-100%-ában végez helyváltoztató mozgást).
- Egy ketrecbe helyezett táplálék láttán mutatott aktivitás (ld. előbb).
- Oldalra fordítás során a felállási próbálkozások száma (0: nem próbált felállni; 1: 1x próbált felállni; 2: 2x próbált; 3: 2-nél többször, vagy 2 mp-nél hosszabb ideig próbált felállni; 4: nem lehetett lefektetni).

A változókat standardizáltuk és a standard értékeket összeadtuk.



## Eredmények és értékelés

### Genotípus

A vizsgált genetikai markerek közül német juhászkutya populációnkban a DRD4 exon III, DRD4 intron 2, MAOB és a TH esetében találtunk kellő variabilitást (1. táblázat). Valamennyi marker esetében a populáció Hardy-Weinberg egyensúlyban volt.

**1. táblázat: A vizsgált német juhászkutya populáción polimorfnek bizonyult genetikai markerek frekvenciája**

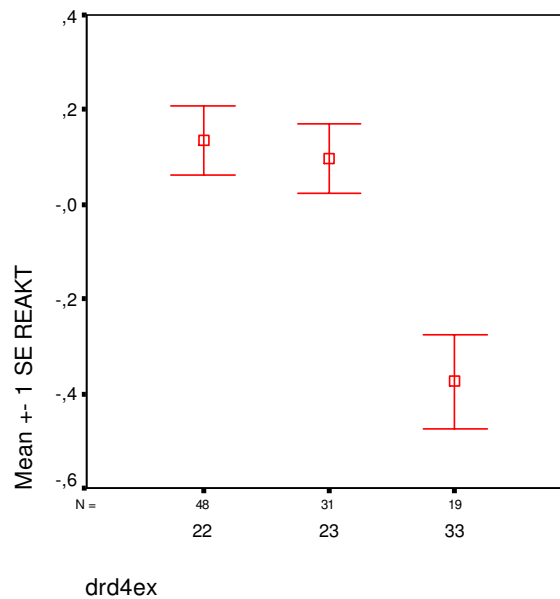
Marker	Genotípus-variációk (előfordulási %)(1)			
DRD4 exon III	22 (48%)	23 (31%)	33 (19%)	38 (3%)
DRD4 intron II	PP (52%)	PQ (33%)	QQ (15%)	
MAOB	CC (9%)	CT (23%)	TT (68%)	
TH	11 (1%)	12 (32%)	22 (67%)	

Table 1. Frequency of the polymorph genetic markers in the studies German shepherd dog population Genotype variations (frequency)(1)

### Fenotípus

Az aktivitást és figyelmi képességeket mérő kérdőív aktivitás skálája családi kutya mintákon a TH-val mutatott összefüggést ( $t=3,904$ ;  $df=96$ ;  $p<0,001$ , kizárva az egyetlen 11-es genotípusú egyedet). A temperamentumvonásokat tartalmazó kérdőívünk (Horváth és mtsai, 2008) impulzivitás skálája ugyanezt az asszociációt mutatta ( $t=2,04$ ,  $df=69$ ;  $p<0,05$ ).

A viselkedésteztekből kalkulált aktivitás-reaktivitás érték a DRD4 exon III-mal mutatott asszociációt (ANOVA;  $F=8,97$ ;  $df=2$ ;  $N=97$ ;  $p<0,001$ ; 1. ábra). Ezen érték értelmezését segíti, hogy korrelált az aktivitást és figyelmi képességeket mérő kérdőív aktivitás skálájával (Pearson  $r=0,46$ ;  $p<0,001$ ,  $df=102$ ), ami erősíti azt az előzetes elképzelésünket, hogy változóink valóban aktivitást-reaktivitást mérnek.



**I. ábra: A viselkedésteszték alapján számított aktivitás-reaktivitás érték és a DRD4 exon III genotípusok kapcsolata**

Figure 1. Associations between the DRD4 exon III and the activity-reactivity score calculated from the behavioural tests

## Következtetések és javaslatok

Feltételezések szerint a dopamin az emóciók kontrollálásában, a válaszreakciók szabályozásában, az önfegyelem kialakításában és a figyelem tartós koncentrálásában tölthet be szerepet. Vizsgálatunkban meghatároztuk a szolgálati és családi kutyaként is gyakori magyarországi német juhászok több genetikai markerének frekvenciáját, másrészt kapcsolatot kerestünk az allélgyakoriságok és az aktivitás-reaktivitás viselkedésjegy (ami az új ingerekre, személyekre adott reakciót jellemzi; Jones és Gosling, 2005) között.

A fenotípus meghatározásához az emberi viselkedés kutatásából átvett, a kutyák vizsgálatához módosított kérdőívet (Vas és mtsai, 2007), egy újonnan validált temperamentum-kérdőívet (Horváth és mtsai, 2008) és egy több altesztből álló teszt sorozatot használtunk. Eredményeink szerint a kérdőívek aktivitás/impulzivitás skálája a TH markerrel mutatott asszociációt, míg a viselkedéstesztékből számított aktivitás-reaktivitás érték a DRD4 exon III allélvariációival. Mivel a gazdák által ítélt aktivitás és a viselkedésben mutatott aktivitás korrelált, ezért megállapíthatjuk, hogy mindkét genetikai marker összefüggésben áll a kutyák aktivitásával, de a TH feltehetően inkább a motoros aktivitással, a DRD4 pedig különböző motivációs helyzetekben mutatott aktivitással áll kapcsolatban.



A kutya egyedi variabilitásának vizsgálatával a humán modell bevezetése mellett (Miklósi, 2007) nem titkolt célunk az, hogy eredményeink a gyakorlatban is alkalmazhatók legyenek a munkakutyák (rendőr-kutya, vakvezető kutya) kiválasztásában, és hozzájáruljanak az egyes fajtákra jellemző viselkedésmintázat fenntartásához. Ezzel ellensúlyozhatjuk azt az általános gyakorlatot, amely csak a külalakra jellemző fajtajelleget igyekszik fenntartani. Tesztjeink várhatóan használhatók lesznek arra, hogy a gazdák a saját szempontjaiknak megfelelő viselkedésű kutyát válasszák ki a tenyésztőnél vagy egy menhelyen.

## Köszönetnyilvánítás

A kutatást az Európai Unió (NEST 012787), az OTKA (T029705; PD48495) finanszírozta. A gazdák részvételét az ACANA Magyarország támogatta.

## Irodalomjegyzék

- Ebstein, R.P., Novick, O., Umansky, R., Priel, B., Osher, Y., Blaine, D., Bennett, E.R., Nemanov, L., Katz, M., Belmaker, R.H.* (1996): Dopamine D4 receptor (DRD4) exon III polymorphism associated with the human personality trait of novelty seeking. *Nat Genet*, 12. 78-80.
- Fidler, A. E., van Oers, K., Drent, P.J., Kuhn, S., Mueller, J.C. and Kempenaers, B.* (2007): *Drd4* gene polymorphisms are associated with personality variation in a passerine birds. *Proc. Royal Society B*. 274. 1685 – 1691.
- Faraone, S.V., Perlis, R.H., Doyle, A.E., Smoller, J.W., Gorlanick, J.J., Holmgren, M.A., and Sklar, P.* (2005): Molecular Genetics of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Biol. Psychiatry*, 57. 1313-1323.
- Héjjas, K., Vas, J., Topál, J., Rónai, Zs., Székely, A., Kubinyi, E., Horváth, Zs., Sasvári-Székely, M., Miklósi, Á.* (2007a.): Association of the dopamine D4 receptor gene polymorphism and the "activity" endophenotype in dogs. *Anim. Genetics*, 38. 629-633.
- Héjjas, K., Vas, J., Kubinyi, E. Sasvári-Székely, M., Miklósi, Á., Rónai, Z.* (2007b): Novel repeat polymorphisms of the dopaminergic neurotransmitter genes among dogs and wolves. *Mamm. Genome*, 18. 871-9.



- Horváth, Zs., Kubinyi, E., Vas, J., Miklósi, Á. (2008): Validation of a personality questionnaire and comparing traits in police and family dog German shepherd and multibreed family dog population. Kézirat.
- Inoue-Murayama, M., Matsuura, N., Murayama, Y., Tsubota, T., Iwasaki, T., Kitagawa, H., and Ito, S. (2002): Sequence Comparison of the Dopamine Receptor D4 Exon III Repetitive Region in Several Species of the Order Carnivora. *J. Vet. Med. Sci.*, 64. 747-749.
- Jones, A.C., Gosling, S.D. (2005): Temperament and personality in dogs (*Canis familiaris*): a review and evaluation of past research. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 95. 1–53.
- Miklósi, Á. (2007): *Dog Behaviour, Evolution and Cognition*. Oxford University Press
- Niimi, Y., Inoue-Murayama, M., Murayama, Y., Ito, S., Iwasaki, T. (1999): Allelic variation of the D4 dopamine receptor polymorphic region in two dog breeds, Golden retriever and Shiba. *J. Vet. Med. Sci.*, 61. 1281-1286.
- O'Malley, K.L., Harmon, S., Tang, L. and Todd, R.D. (1992): The rat dopamine D<sub>4</sub> receptor: sequence, gene structure and demonstration of expression in the cardiovascular system. *New Biol.*, 4. 137-146.
- Vas, J., Topál, J., Péch, É., Miklósi, Á. (2007): Measuring attention deficit and activity in dogs: A new application and validation of a human ADHD questionnaire. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 103. 105-117.