

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 2

Különszám

Gödöllő
2008



NEUROETOLÓGIA – AVAGY A KUTYÁK VISELKEDÉSÉNEK TANULMÁNYOZÁSA FUNKCIONÁLIS MRI-VEL

Tóth Lilla¹, Gácsi Márta², Miklósi Ádám², Bogner Péter¹, Repa Imre¹

¹Kaposvári Egyetem, Diagnosztikai és Onkoradiológiai Intézet, 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

²ELTE, TTK, Biológiai Intézet, Etológia Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány P. sétány 1./C
toth.lilla@sic.hu

Összefoglalás

Az eddigi etológiai kutatások eredményei azt mutatják, hogy a kutyák egyes fejlett szocio-kognitív és kommunikációs képességei funkcionális szempontból megfelelnek az emberek hasonló tulajdonságainak, így a kutyák alkalmasak lehetnek bizonyos humán agyi működések modellezésére. Jelen tanulmány célja annak bemutatása, hogy miként lehet a kutyák viselkedésének hátterében álló idegi folyamatokat, így a szocio-kognitív képességeket tanulmányozni egy modern képalkotó eljárással, a funkcionális mágneses rezonanciás képalkotással (fMRI). Éber és nem rögzített állatokkal MR-vizsgálatot végezni rendkívül bonyolult, hiszen számos metodikai nehézséggel kell számolni, ezért a gyakorlatban kábítást és/vagy rögzítést szokás alkalmazni állat MRI esetén. Ezzel ellentétben kutatócsoportunk egy új módszert dolgozott ki, melynek lényege, hogy a kutyákat egy speciális program szerint tréningezzük az MR-vizsgálat előtt. Ennek célja, hogy a kutyák 10-20 percig éber állapotban (nyitott szemmel), rögzítés és kábítás nélkül, nyugodtan és mozdulatlanul feküdjenek az MR-készülékben. A tréningprogram több részből áll: *a kutyákat szoktatjuk a mozdulatlanlanság elviselésére, az MR-berendezés által keltett zaj és rezgés eltűrésére.* A tréningezett éber kutyák esetében mindenféle kényszerítés alkalmazása nélkül megfelelő minőségű anatómiai felvételeket tudunk készíteni, melyek mind diagnosztikai céllal, mind pedig a funkcionális MRI vizsgálatokhoz felhasználhatóak. Az fMRI vizsgálatok metodikájának kidolgozásával egyre több információhoz juthatunk az éber kutyák viselkedésének hátterében húzódó neurológiai folyamatokról.

Kulcsszavak: kutya, funkcionális MRI, szociális kogníció, módszertan, neuroetológia

Neuroethology – Examination of dogs's behaviour with functional MRI

Abstract

It has been showed by ethological studies that dogs have high social cognitive abilities. This hypothesis raises the question which kind of cerebral mechanisms play role in the organization of these high sociocognitive attainments. For studying the above-mentioned behavioral abilities we explore the functional and/or anatomical neurological analogies between humans and dog in those brain areas which were found crucial in human sociocognitive processes. The aim of this study is to show a possible method for examining the neurological processes of dog's behaviour with a modern imaging technique, with functional magnetic resonance imaging. Scanning awake dogs is very difficult and complicated with fMRI, because of several methodological problems. We worked out an investigation method for awake dogs that includes special training in which we prepare dogs step-by-step for fMRI examination. During the training the subjects *learn to ignore the noise and vibrancy of MR machine and not to move during scanning.* We have already taken appropriate anatomical images of awake dogs' brain that can be used for both diagnostic and functional MRI. In case of fMRI we have taken significant steps towards a universally usable research method.

Keywords: dog, functional MRI, social cognition, methodology, neuroetology



Irodalmi áttekintés

A szociális kogníció

Szociális kogníció alatt mindazokat a viselkedésbeli képességeket értjük, amelyeket az egyed a fajtársakkal való együttélés során használ, így a fajtárs felismerését és a fajtársak közötti kötődést éppúgy, mint a fajtársakkal való kommunikációt vagy kooperációt (Adolphs, 1999). Más szóval a szociális kogníció azokat a kognitív folyamatokat és azok magatartásbeli megnyilvánulásait foglalja magában, amelyek a szociális környezetre vonatkoznak, szemben a többi, a fizikai környezetre vonatkozó magatartásformákkal.

Az eddigi etológiai kutatások eredményei alapján elmondható, hogy a kutyák fejlett szocio-kognitív és kommunikációs képességekkel rendelkeznek (pl. Soproni és mtsai, 2001), amelyek a domesztikáció során teljesedtek ki. Az emberrel való együttélés folyamán a kutyában megjelentek olyan szocio-kognitív képességek, melyek emberi analógiáknak tekinthetők (Csányi, 2000). Több kutatási eredmény utal arra, hogy a kutyák kötődési (pl. Topál és mtsai, 1998), gesztusokon alapuló kommunikációs (pl. Miklósi és mtsai, 2000), vagy éppen szociális tanulási képességei (Pongrácz és mtsai, 2001) funkcionális szempontból megfelelnek az emberek hasonló tulajdonságainak. Mindezen előismeretek birtokában jogosan merülhet fel annak a lehetősége, hogy a főemlősök mellett a kutya is alkalmas lehet az ember szocio-kognitív folyamatainak modellezésére.

Ismert, hogy az emberek és a főemlősök esetében is a szociális csoport és az agy relatív mérete között pozitív korreláció áll fenn (Dunbar, 1992), illetve, hogy négy fő agyi struktúra tölt be kulcsszerepet a szociális viselkedés irányításában: az amygdala, a ventromediális frontális kéreg, a jobboldali szomatoszenzoros kéreg és a cingula (Adolphs, 1999).

Funkcionális mágneses rezonanciás képalkotás (fMRI)

A funkcionális MRI a mágneses rezonanciás képalkotás (MRI) egy fajtája. E modern képalkotó technika segítségével lehetőség nyílik egy jól ismert viselkedés „mögé tekinteni”, és megállapítani a megfigyelt jelenség neurológiai hátterét. „Hagyományos” MR-berendezésen (csak más mérési beállításokkal, ún. szekvenciával) végezhető képalkotó eljárás, melynek lényege az éber idegrendszerben például környezeti tényezők, öregedés, hormonok, gyógyszerek hatására létrejövő agyaktiváció változásoknak a vizsgálata. A „funkcionális” szó tehát arra utal, hogy egy adott agyterület működése vizsgálható ezzel az eljárással (Ferris és mtsai, 2006). Mérési elve az MR képalkotáséhoz hasonló: a hidrogén atommagokból származó jelet mérik, aminek az erőssége függ a kémiai környezettől. Ennek meghatározó alkotója az oxi- és deoxihemoglobin - ezek belső kontrasztanyagként a jelet módosítják.



Amikor valamilyen inger feldolgozását végzi az agy, akkor megváltozik az oxigént szállító oxihemoglobin koncentrációjának az aránya az oxigént nem kötő deoxihemoglobinéhoz képest. Ezt az arányváltozást lehet közvetetten mérni a funkcionális MRI során, melyet felhasználva lokalizálhatók az ingerfeldolgozásban résztvevő agyterületek.

A funkcionális MRI használható az agyrészek topografikus szerveződésének, egyes szenzoros, motoros, kognitív területek feltérképezésére, vagy akár kérgi területek preoperatív meghatározásához (például a daganat helyének pontos meghatározása, egy funkcionális központtól való távolságának megadása), illetve betegségek idegi hátterének feltárásához.

Állatokon funkcionális MRI vizsgálatot jóval ritkábban (és döntően alapkutatói céllal) végeznek, mint embereken. Ennek egyik fő oka, hogy az állatok esetében nagyobb a valószínűsége a mozgási műtermékek keletkezésének, amelyek a mérési adatok kiértékelését nehezítik, sokszor lehetetlenné teszik. Ha az fMRI során az alany elmozdul, akkor a jelintenzitásban is változás történik, amit tévesen inger-asszociált aktivitás-változásként értékelhetünk, pedig az nem az inger hatására, hanem a mozgás miatt jön létre (*Lahti és mtsai*, 1998). Mindezek elkerülése érdekében gyakran altatott vagy kábított állatokkal végeznek fMRI vizsgálatot. Ennek nagy hátránya, hogy számos olyan agyi aktivitás mérésére nincs lehetőség, mely az éber állat viselkedésének hátterében rejlik, illetve, hogy kimutathatóan csökken az agykérgi aktiváció mértéke, így ugyanarra az ingerre gyengébb, esetleg módosult reakciót kapunk, mint egy teljesen éber alany esetében (*Ogawa és mtsai*, 1990). A nem kívánt mozgások elkerülésére egy másik megoldás az állat rögzítése, például egy, a fejéhez erősített koronaszerű fejtartóval. Ennek előnye a kábítással, altatással szemben, hogy nem kap az állat olyan szert, mely az agyi aktivitást módosíthatja, ez ellen az eljárás ellen viszont állatvédelmi okok szólnak. Ekkor ugyanis az állatnak nincs, vagy csak korlátozott mértékben van lehetősége egy adott ingerre elmozdulással, például egy kellemetlen stimulustól való eltávolodással reagálni (*Zhang és mtsai*, 2000), illetve egy ilyen rögzítés fokozott stressz-szintet jelenthet az állat számára.

Az fMRI térhódításával és az etológiai ismertek bővülésével egy időben felvetődhet a kérdés, hogy vajon a kutyák esetében milyen agyi mechanizmusok játszanak szerepet a magasan fejlett szocio-kognitív képességek szervezésében. A fentebb ismertetett metodikai nehézségek következtében viszont nem altatott, kábított és/vagy rögzített kutyák fMRI vizsgálatára ismereteink szerint eddig még nem került sor. Kutatócsoportunk a Kaposvári Egyetem Diagnosztikai és Onkoradiológiai Intézetének és az ELTE Etológia Tanszékének kooperációjának keretében éber kutyák szociális kogníció szempontjából fontos agyterületeinek feltárását tűzte ki célul. Mivel sem a kábítást, sem pedig a fájdalmat okozó rögzítést nem tartjuk megfelelő módszernek, ezért egy új metodika kialakításán dolgozunk.



Anyag és módszer

Tréningprogramunk célja, hogy a kutyák 10-20 percig éber állapotban (nyitott szemmel), rögzítés és kábítás nélkül, nyugodtan és mozdulatlanul feküdjenek az MR-készülékben. A program több részből áll: a kutyákat szoktatjuk a mozdulatlanság elviselésére, az MR-berendezés által keltett zaj és rezgés eltűrésére.

A kiképzés során részben a klikker-tréning módszerét (Pryor, 1999), részben pedig egyéb pozitív megerősítésen alapuló technikákat alkalmazunk.

Jelenleg is folyó vizsgálataink során vizuális ingerekkel dolgozunk. Az agyi aktivitás-változást az emberen is alkalmazott elv szerint mutatjuk ki, azaz az alapaktivitás és a bemutatott inger(ek) hatására létrejövő megnövekedett/lecsökkent aktivitás közötti eltérések alapján következtetünk az aktivált agyi terület(ek) hollétére.

Az MR-vizsgálatokat a *Kaposvári Egyetem Diagnosztikai és Onkoradiológiai Intézetében* 1,5 Tesla térerejű Siemens Magnetom Avanto MR szkennelrel végezzük, a kiértékeléshez Statistical Parametrical Mapping programot használunk. Minden mérés során különböző szekvenciákkal dolgozunk: először egy lokalizáló mérést készítünk annak megállapítására, hogy a kutya feje pontosan milyen pozícióban és hol helyezkedik el az MR scanneren belül. Ezután a kutya agyáról egy nagy felbontású anatómiai képsorozat készül, melyre később rá tudjuk illeszteni a funkcionális mérésből származó aktivációs térképet, ezzel lokalizálva az aktiváció helyét (MP-RAGE szekvencia, kb. 5 perc). Ezen mérések után következnek a funkcionális mérések, ahol valamilyen ingert adunk a kutyának (EPI szekvencia, 5-10 perc). Az MR scanner rendkívül hangos zaja elleni védelem céljából a kutya fülébe fül dugót teszünk.

Kutatásunkban jelenleg 5 kutya vesz részt: 2 golden retriever, 1 belga juhászkutya és 2 keverék (2 szuka, 3 kan).

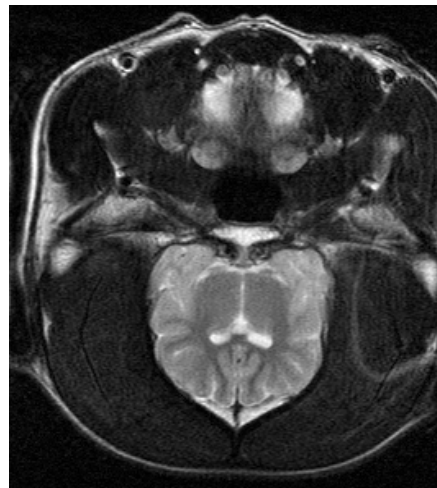
Eredmények és értékelés

Az eddigi eredményeink bizakodásra adnak okot a módszer sikerességét illetően. A tréningezett éber kutyák esetében mindenféle kényszerítés alkalmazása nélkül megfelelő minőségű anatómiai felvételeket tudunk készíteni, melyek mind diagnosztikai céllal, mind pedig a funkcionális MRI vizsgálatokhoz felhasználhatóak (1. ábra).



A tréningezés megfelelő fokára eljutott kutyák esetében funkcionális felvételeket is készítettünk már, mivel azonban a megfelelő adatfeldolgozási eljárás kidolgozása még folyamatban van, ezért ilyen jellegű eredményekről jelen írásban nem szólunk.

Eddigi vizsgálataink tapasztalatai összegezve, a következő metodikai megállapításokat tehetjük. Egy funkcionális MRI vizsgálat tervezésénél a vizsgálati paradigma megalkotása átgondolt tervezést igényel. A paradigmát (vizsgálati protokollt, „menetrendet”) úgy kell megalkotni, hogy a vizsgálat hossza, az ingerek száma, időtartama, ismétlésüknek száma, fajtája optimális legyen. A vizsgálat teljes hosszának megtervezésekor figyelemmel kell lenni arra, hogy minél hosszabb egy mérés, annál nagyobb az esélye annak, hogy a (nem rögzített) kutya elmozdul, és ezzel mozgási műtermékek keletkeznek. A túl rövid vizsgálat ellen szól viszont, hogy ebben az esetben a jel-zaj arány (SNR) nagyon kicsi, ami jelentősen megnehezíti, vagy akár lehetetlenné teszi a kiértékelést.



1. ábra: Éber kutya agyáról készült transzverzális síkú MR felvétel (Kaposvári Egyetem)

Figure 1. Transversal MR slice of awake dog's brain (University of Kaposvár)

A stimulusok kiválasztásánál szintén nagy odafigyeléssel kell eljárni. Ha olyan ingert adunk a kutyának, amire egyáltalán nem figyel, akkor fennáll a veszélye annak, hogy elalszik a mérés közben. Ha a kutya számára nem semleges ingereket adunk, akkor a kutya (az inger felé, vagy attól távolodó) elmozdulással reagálhat, ami szintén kiértékelhetetlenné teszi adatainkat. Akusztikus stimulusok esetén figyelni kell az adott hanginger erősségére, ugyanis mind a kutya fülébe helyezett fül dugó, mind az MR scanner zaja tompítja azt. Éppen ezért, a különböző hangingerek adásához a kutya fejére helyezett fülhallgatót érdemes alkalmazni.



Szagingerek alkalmazása a kutya esetén kézenfekvőnek látszik, ehhez azonban megfelelő szagadagoló készülékre van szükség, ami MR-kompatibilis, és biztosítja, hogy mindig csak az általunk adott szagingert érezze a kutya.

Az adatok kiértékelésével kapcsolatban elmondható, hogy a kutyák (az emberéhez viszonyítva) kicsi agymérete, illetve a kiértékelő szoftverek humánspecifikussága miatt az előzetes elvárásainkhoz képest lassabban haladunk.

Nehézséget okoz, hogy a kutyák agymérete és formája sokkal heterogénebb, mint az emberé, ezért a csoportanalízishez ugyanolyan fajta, ugyanolyan ivarú egyedeket kell a mintánknak tartalmaznia. A fajtát tekintve heterogén csoport esetén egyedi kiértékelés, saját anatómiai képre való illesztés lehet a megoldás (ismételt mérésekkel).

Következtetések és javaslatok

A funkcionális MR képalkotás előnye, hogy e képalkotó technika nem radioaktív izotópok segítségével lokalizálja az aktív területet, hanem a szervezetben természetesen előforduló hidrogénből, illetve hemoglobinnal származó jel felhasználásával, így egy-egy alany többször is vizsgálható fokozódó sugarerhelés nélkül (*Lahti és mtsai*, 1998). Ezen kívül előnye, hogy nem invazív és nagyobb tér- és időbeli felbontással rendelkezik, mint például a pozitron emissziós tomográfia (PET) (*Neil*, 1993).

Bár jelentős lépéseket tettünk új módszerünk alkalmazhatóságának tekintetében, mind a vizsgálati metodikát, mind pedig az adatok feldolgozását illetően vannak még továbbfejlesztésre szoruló részek. Így a különböző ingerlések technikai részleteit (pl. milyen ingert milyen módon, hányszor adjunk a kutyának), illetve a kiértékelési módszerünket (pl. megfelelő szoftverek kiválasztása, „kutyaspecifikus” paraméterek meghatározása, pl. hemodinamikai szignál) tovább kell tökéletesíteni. Ezen túl további (lehetőleg azonos fajtájú és ivarú) alanyokat lenne jó a kutatásunkba bevonni. Ezt azonban nehezíti, hogy egy kutya kiképzése több hónapos rendszeres tréningezést igényel, illetve, hogy az fMRI mérések időtartalma hosszabb egy átlagos etológiai tesztnél, így a kutya-gazda párostól többszöri és hosszas együttműködésre van szükség.

Amennyiben ezeken a nehézségeken sikeresen túljutunk, azon túl, hogy egy világviszonylatban is újdonságnak számító metodikát honosíthatunk meg, lehetőségünk nyílik a kutyák esetében megfigyelt jelenségek eddigi humán eredményekkel való összevetésére is. Ezzel nem csak a kutyákról szerzett ismeretanyag bővülne, de eredményeinket az emberek szocio-kognitív folyamatainak modellezéséhez, tökéletesebb megértéséhez is fel lehet használni.



Távoli céljaink között szerepel a funkcionális MRI állatorvosi gyakorlatban való bevezetése, mely a humán orvosi gyakorlathoz hasonlóan segíthetné a műtétek megtervezését, vagy például a döntően viselkedési tünetekben megnyilvánuló betegségek hátterének feltárását.

Irodalomjegyzék

- Adolphs, R.* (1999): Social cognition and the human brain. *Trends Cogn. Sci.*, 3. 469-479.
- Csányi, V.* (2000): The 'human behaviour complex' and the compulsion of communication: key factors of human evolution. *Semiotica*, 128. 45-60.
- Dunbar, R.* (1992): Neocortex size as a constraint on group size in primates. *J. Hum. Evol.*, 20. 469-493.
- Ferris, C.F., Febo, M., Luo, F. és mtsai* (2006): Functional Magnetic Resonance Imaging in Conscious Animals: A New Tool in Behavioural Neuroscience Research. *J. Neuroendocrinol.*, 18. 5. 307–318.
- Lahti, K.M., Ferris, C.F. és mtsai* (1998): Imaging brain activity in conscious animals using functional MRI. *J. Neurosci. Meth.*, 82. 1. 75–83.
- Miklósi, Á., Polgárdi, R., Topál, J., Csányi, V.* (2000): Intentional behaviour in dog-human communication: an experimental analysis of 'showing' behaviour in the dog. *Anim. Cogn.*, 3. 159-166.
- Neil, J.J.* (1993): Functional imaging of the central nervous system using magnetic resonance imaging and positron emission tomography. *Curr. Opin. Neurol.*, 6. 927–33.
- Ogawa, S., Lee, T.M. és mtsai* (1990): Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *PNAS, Biophysics*, 87. 9868-9872.
- Pongrácz, P., Miklósi, Á., Kubinyi, E., Gurobi, K., Csányi, V.* (2001): Social learning in Dogs: The Effect of a Human Demonstrator on the Performance of Dogs (*Canis familiaris*) in a Detour Task. *Anim. Behav.*, 62. 1109-1117.
- Pryor, K.* (1999): Clicker training for dogs. Sunshine Books, Inc. Waltham, MA.
- Soproni, K., Miklósi, Á., Topál, J., Csányi, V.* (2001): Comprehension of Human Communicative Signs in Pet Dogs (*Canis familiaris*). *J. Comp. Psychol.*, 115. 122-126.
- Topál, J., Miklósi, Á., és Csányi, V.* (1998): Attachment behaviour in the dogs: a new application of the Ainsworth's Strange Situation Test. *J. Comp. Psychol.*, 112. 219-229.
- Zhang, Z., Andersen, A. H., Avison, M.J., Gerhardt, G.A., Gash, D.M.* (2000): Functional MRI of apomorphine activation of the basal ganglia in awake rhesus monkey. *Brain Res.*, 852. 290-296.