

A kutya, mint viselkedésgenetikai modell:

Az oxytocin receptor gén polimorfizmusainak és különböző szocio-kognitív kéességek asszociációjának vizsgálata

Tudományos Diákköri Dolgozat

XXXI. OTDK Biológia Szekció

Készítette: Földi Levente, Csáti Zsófia

Biológia BSc, III. évfolyam

Eötvös Loránd Tudományegyetem

Konzulens: Kis Anna, Lakatos Gabriella

ELTE Etológia Tanszék

2013

Tartalomjegyzék

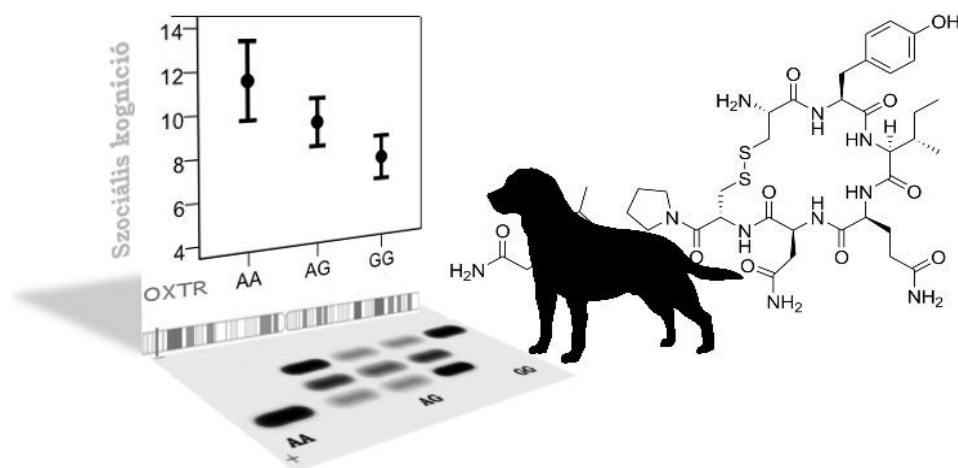
Összefoglaló	3
Abstract	4
Bevezetés	5
Módszer	7
Eredmények	9
Diskusszió	16
Szerzői hozzájárulás	17
Köszönetnyilvánítás	17
Irodalomjegyzék.....	18

Összefoglaló

A kutyák az emberrel való hosszú együttélésnek és az emberi környezethez történő alkalmazkodásnak köszönhetően kiváló modellnek bizonyultak a humán szociális interakciók vizsgálatában. Továbbá számos eddigi kutatás utal arra, hogy a kutya többek között viselkedésgenetikai modellnek is alkalmas. Az emberi szocialitás egyik meghatározó eleme az oxytocin rendszer; számos eredmény bizonyítja, hogy az oxytocin receptor polimorfizmusai ember esetében összefüggésben állnak komplex szociális viselkedésekkel. Mindezek alapján kutatásunk során a kutya szocio-kognitív képességeinek bizonyos aspektusait és az oxytocin receptor gén szabályozó (5' és 3' UTR) régióiban található polimorfizmusainak asszociációját vizsgáltuk. Eredményeink azt mutatták, hogy az oxytocin receptor gén polimorfizmusok összefüggésben állnak azzal, hogy a kutya hogyan reagál egy idegen emberre, milyen viselkedést mutat szeparáció alatt, és néz-e emberre probléma helyzetben. Mindezek alapján elmondhatjuk, hogy a kutya emberre irányuló szociális viselkedése, az ember esetében leírtakhoz hasonlóan, összefüggésben áll az oxytocin rendszerrel. Továbbá eredményeink megerősítik és kiterjesztik azt az elképzelést, hogy a kutya alkalmas viselkedésgenetikai modellnek.

Kulcsszavak: kutya (*Canis familiaris*), szociális kogníció, oxytocin receptor gén (OXTR), egy pontos polimorfizmus (SNP), át nem íródó régió (UTR)

Grafikus összefoglaló

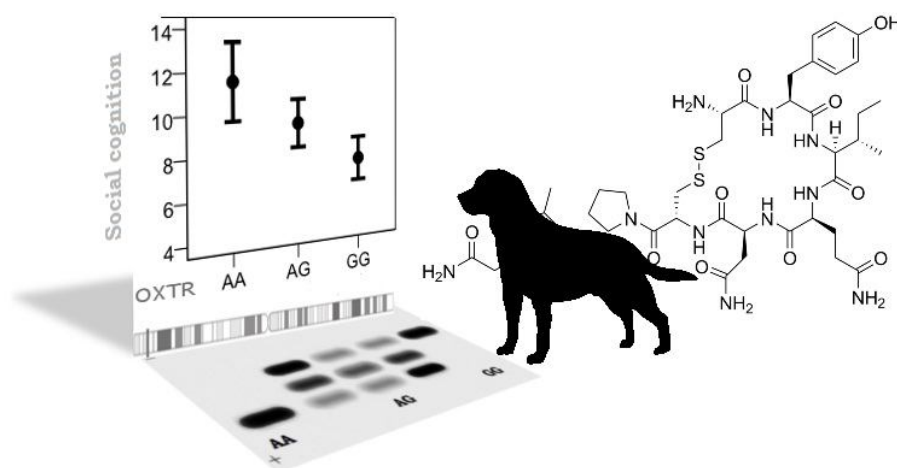


Abstract

Dogs' coevolution with humans, and their adaptation to the human environment, has made them the perfect model species to study human social interactions. Many previous research indicate that dogs are eligible models for behavioural genetic research as well. The oxytocin system has crucial role in human sociality; several results prove that polymorphisms of the oxytocin receptor gene are related to complex social behaviours in humans. Based on these results, our research investigated associations between certain socio-cognitive skills and polymorphisms in the regulatory regions (5' and 3' UTR) of the oxytocin receptor gene in dogs. Our results suggest that oxytocin receptor gene polymorphisms have an impact on how dogs react to an unfamiliar person, how dogs behave during separation from the owner, and whether dogs look at humans for help while solving a problem. Based on all these results, we conclude that the social behaviour of dogs towards humans is related to the oxytocin system, similarly to humans. Furthermore our research confirms and extends the view that dogs can be used as model animals for behavioural genetic researches.

Keywords: dog (*Canis familiaris*), social cognition, oxytocin receptor gene (OXTR), single nucleotide polymorphism (SNP), untranslated region (UTR)

Graphical abstract



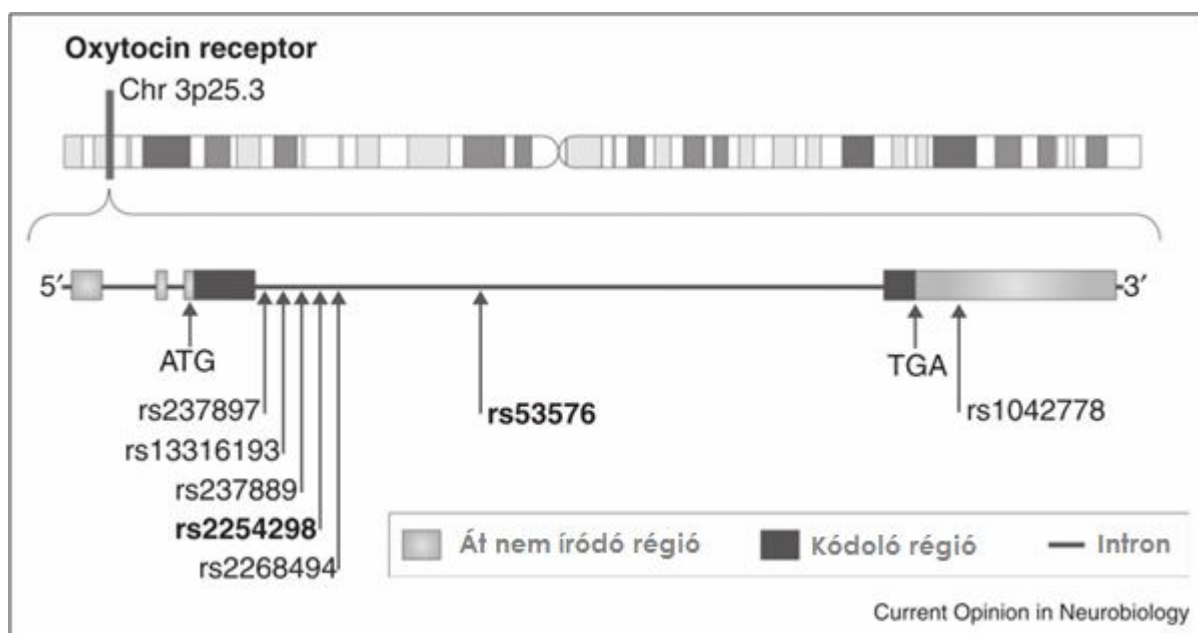
Bevezetés

A kutya és az ember kapcsolata hosszú évezredekre vezethető vissza (Vilá et al. 1997). Ezen együttélés alatt – feltehetőleg a domesztikáció során bekövetkező genetikai változások következtében (Hare et al. 2002; Hernádi et al. 2012) – a kutyák viselkedésében sok az emberek egyes szocio-kognitív képességeivel analóg elem alakult ki, mint például kötődés (Prato-Previde et al. 2003), emberi referenciális gesztusok követése (Bräuer et al. 2006; Lakatos et al. 2011), pedagógiai kulcsokra való érzékenység (Topál et al. 2009). Ennek köszönhető, hogy a kutya népszerű modellállat lett, amelyet többek között viselkedés-genetikai vizsgálatokban (Hejjas et al. 2009; Kubinyi et al. 2012) is alkalmaznak. Az emberhez való szoros kapcsolata, viselkedésének komplexitása, illetve genetikai állományának széleskörű ismerete (Kirkness et al. 2003) kiválóan alkalmas tesztalannyá teszi a kutyát ilyen jellegű kutatásokhoz. Nagy előny továbbá, hogy számos humán pszichiátriai betegség megfelelője kutyákban természetes módon is előfordul (Overall, 2000; Parker et al. 2010), szemben a korábban használt rágcsálómodellekkel, ahol ezeket mesterségesen idézték elő. Valamint kutyákban megtalálhatók olyan génpolimorfizmusok, melyek a humán genomban is felfedezhetők, a laboratóriumi rágcsálókban azonban nem.

Bár a humán szocialitás egy bonyolult viselkedési komplexum, az utóbbi években számos eredmény született, amely feltárja a mögöttes neurális, hormonális és genetikai hátteret. Különösen nagy figyelmet kapott ezen a területen az oxytocin rendszer (Lee et al. 2009). Az oxytocin hormon egy kilenc aminosavból álló, gyűrűt alkotó peptid, amely a hypothalamusban termelődik. Főként perifériás hatásai miatt ismert, például hogy serkenti a méh simaizmának összehúzódását. Az utóbbi években azonban fény derült az oxytocin centrális hatásaira is, így például reprodukív viselkedésben, szülő-gyermek, illetve szociális kötődés kialakulásában (Donaldson & Young 2008), szociális memória szabályozásában (Savaskan et al. 2008) betöltött szerepére. Bár a perifériális hatásai miatt az oxytocint női nemi hormonként tartják számon, ismeretes hogy a szocio-kognitív képességekre mind a nők (pl. Liu et al. 2012), mind a férfiak (pl. Stallen et al. 2012) esetében hatással van.

Az oxytocin evolúciós értelemben konzervatív, az emlősökre jellemző hormon nagyfokú egyezést mutat a más taxonokra jellemző homológokkal (pl. ízeltlábúaknál az inotocin, halaknál isotocin, madaraknál mesotocin) (Donaldson & Young 2008). Ennek következtében magát az oxytocin hormont kódoló gén kevésbé polimorf. Az oxytocin receptort – egy hét transzmembrán domaint tartalmazó, G-fehérjéhez kötött receptort – kódoló gén azonban jóval

variábilisabb (**1. ábra**), így számos humán viselkedésgenetikai vizsgálat célpontjául szolgált. Eddigi vizsgálatok azt mutatták, hogy az oxytocin receptor (OXTR) gén polimorfizmusai összefüggésben vannak olyan komplex emberi viselkedésformákkal, mint a kötődés (Gillath et al. 2008; Chen et al. 2011) vagy az empátia (Rodrigues et al. 2009). Továbbá az oxytocin rendszer számos neurológiai betegséggel is kapcsolatba hozható, úgy mint autizmus, depresszió, és különböző szociális szorongásos betegségek (Hollander et al. 2007).



1. ábra A humán oxytocin receptor gén szerkezete és a viselkedésgenetikai irodalomban vizsgált főbb egyponos polimorfizmusok (SNPk). Kumsta & Heinrichs, 2012 után módosítva

A DNS, így az OXTR gén (**1. ábra**) is három nagy régióra osztható. A humán génállomány kb. 5%-át kitevő exonikus, más néven átíródó- vagy kódoló régió fehérjéket kódol, mivel nem vágódik ki az mRNS-ből a splicing során. Az exonban végbemenő nukleotid változások amennyiben aminosavcserét okoznak, úgy általában durva betegségeket, rendellenességeket vonnak maguk után, mint amilyen például a közismert fenilketonuria (Scriver & Waters 1999). Amennyiben pedig a redundáns genetikai kód következtében az ebben a régióban bekövetkező nukleotid változások nem okoznak aminosavcserét, úgy ezen polimorfizmusokhoz nem köthető funkcióváltozás. Ez az oka, hogy az egészséges populáción belüli – pl. szociális viselkedésben megfigyelhető – variabilitás kutatásában az exonikus mutációk nem kaptak fontos szerepet. Az intronikus, vagy át nem íródó régió a splicing folyamán kivágódik az mRNS-ből. Bár fehérjéket nem kódolnak, az eltérő kivágódási módjaiknak köszönhetően hasonló funkciójú, de eltérő fehérjék keletkezhetnek. Mivel az intronok funkciója kevésbé ismert számunkra, így azt sem tudjuk, hogy a bennük végbemenő

nukleotid változások milyen módosulásokat eredményeznek. Gyakori előfordulásuk miatt azonban számos eddigi viselkedésgenetikai vizsgálat alapjául szolgáltak (pl. Saphire-Bernstein et al. 2011, Hejjas et al. 2009). Az exonikus szakaszok határán található UTR, azaz át nem íródó, régiók, bár nem vágódnak ki, de nem is transzlálódnak. Egyik fő feladatuk az mRNS stabilitásának szabályozása, ezen kívül feltehetőleg befolyásolják a fehérje termelődésének mennyiségét is. Ebből kifolyólag az ebbe a régióba eső nukleotid változások általában köthetőek valamilyen funkcióváltozáshoz, de az exonikus változásoknál kevésbé drasztikus következményekkel járnak.

Eddigi vizsgálatok bizonyították, hogy a kutya és a humán oxytocin receptor génjének hasonlósága igen nagy (Marx et al. 2011). A humán fehérje 389, míg a kutya 384 aminosavból áll. Huszonhat helyen található eltérő aminosav, mindezekből azonban nyolc aminosav főbb kémiai tulajdonságaiban (polaritás, saverősség) megegyezik.

Kevésbé kutatott azonban, hogy a kutya oxytocin receptor génállományában milyen polimorfizmusok találhatóak, illetve ezek funkciója sem ismert még egyelőre. Kutatásunk során a kutyák szociális viselkedésének változatosságát vizsgáljuk, az oxytocin receptor gén polimorfizmusainak függvényében. Keressük az összefüggést bizonyos emberre irányuló szocio-kognitív képességek és az OXTR gén szabályozó (5' és 3' UTR) régióiban található polimorfizmusai között.

Módszer

A vizsgálatban N=190 felnőtt (1 évnél idősebb, átlagéletkor: $4,2 \pm 2,97$ év), nem-rokon (nem azonos szülőktől származó) családi kutya vett részt az alábbi fajtákból: Német juhász (N=66), Border collie (N=51), Golden- és Labrador retriever (N=50), Beagle (N=23); 96 kan és 94 szuka.

A szociális viselkedés felmérésére szolgáló tesztsorozat hat részből állt, melyek során részletes képet kaphattunk a vizsgált kutyák emberre irányuló szocio-kognitív képességeiről. A teszteket szabadtéren hajtottuk végre, egy a kutya számára ismeretlen helyszínen. A tesztek során két kísérletvezető volt jelen, az egyik végrehajtotta a teszteket, a másik kamerán rögzítette azt, és egy kódlapon pontozta a kutya viselkedését egy 0-3 skálán minden egyes változóra (**1. táblázat**). A tesztsorozatot előre meghatározott sorrendben hajtottuk végre:

1. Barátságos megközelítés: A kísérletvezető megközelíti a gazdát, és a mellette pórázon tartott kutyát. Megáll a póráz távolságán kívül, majd ha nincs agresszív reakció a kutya részéről, odalép, és megsimogatja. Ezt követően ellép oldalra, és vár 3 másodpercet, ha a

kutya követte újra megsimogatja az állatot. Mért változók: kísérletvezető megközelítése (KözelKV), kísérletvezető követése (KövetKV).

Teszt megnevezése	Változó megnevezése	0-3 score definíciója			
<i>Barátságos megközelítés</i>	KözelKV	nem	hívásra	2	rögtön
	KövetKV	nem	hívásra	2	rögtön
<i>Szeparáció</i>	OriG1	nem	1	2	kizárólag
	KözelKV	nem	hívásra	2	rögtön
	KövetKV	nem	hívásra	2	rögtön
	OriG2	nem	1	2	kizárólag
	KözelG	nem	hívásra	2	rögtön
	KövetG	nem	hívásra	2	rögtön
<i>Problémamegoldás</i>	NézG1	nem	1	2	3
	NézKV1	nem	1	2	3
	NézG2	nem	1	2	3
	NézKV2	nem	1	2	3
<i>Fenyegető megközelítés</i>	Barátságos Hívás	elkerül	semleges	2	barátságos
		nem	10-30	<10	rögtön
<i>Elbújás</i>	OriG	nem	1	2	kizárólag
	MegközG	nem	hívásra	<5	rögtön

1. táblázat A tesztorozatban felvett viselkedési változók

2. *Szeparáció*: A gazda kiköti a kutyát egy 3 méteres pórázra, majd a kutya számára jól látható módon elbújik egy tereptárgy mögé. Egy perc eltelte után a kísérletvezető odalép az alanyhoz, majd a *Barátságos megközelítés*ben leírtak szerint üdvözlí, ezt követően pedig 30 másodpercen keresztül játszani próbál vele. További egy perc letelte után a gazda visszajön, szintén üdvözlí az állatot, és játékot kezdeményez vele. Mért változók: gazdára történő orientáció mielőtt a kísérletvezető üdvözlí a kutyát (OriG1), kísérletvezető megközelítése (KözelKV), kísérletvezető követése (KövetKV), gazdára történő orientáció miután a kísérletvezető játszott a kutyával (OriG2), gazda megközelítése (KözelG), gazda követése (KövetG).

3. *Probléma megoldás*: A kutya először egy megoldható problémafeladatot kap, amely során egy oldalán lyukas dobozból kell a jutalomfalatot kiszednie, melyre egy perc áll rendelkezésére. Ezt követően kap egy másik dobozt, melyből nem tudja kiszedni a jutalomfalatot, ebben a helyzetben szintén egy percig próbálkozhat. Mindeközben a gazda pórázon tartja a kutyát, és tőle 1 méterre, a dobozzal szemben helyezkedik el, a kísérletvezető pedig a doboztól 2 méterre. A kutyát a feladat megoldására a gazda csak egyszer, a próba elején, bízthatja hangutasítással és mutatással. Az idő letelte után, ha nem sikerült megoldania a kutyának a feladatot, a kísérletvezető odaadja neki a jutalomfalatot. Mért változók: gazdára nézések száma a megoldható (NézG1) illetve a nem megoldható (NézG2)

helyzetben, kísérletvezetőre nézések száma a megoldható (NézKV1) és a nem megoldható (NézKV2) helyzetben.

4. Fenygető megközelítés: A gazda a kutyát pórázon tartja maga mellett. Kísérletvezető 10 m távolságról lassan, kissé előredőlve, a kutya szemébe nézve közelít, míg az alany irányába agresszív reakciót nem mutat, vagy ő el nem éri a kutyát. Ezután a kísérletvezető eltávolodik, és barátságosan magához hívja az alanyt, melyet a gazda ekkor már elengedhet. Mért változók: a kutya mennyire reagál barátságosan (Barátságos), hívás során a kutya milyen gyorsan közelíti meg a kísérletvezetőt (Hívás).

5. Elbújás: A kutyát a kísérletvezető pórázon fogja, míg a gazda elbújik egy tereptárgy mögé. Fél perc elteltével a kísérletvezető elengedi a kutyát. Ha az alany öt másodpercen belül nem indul el a gazda keresésére, a gazda elkezd őt hívni. Mért változók: gazdára történő orientáció (OriG), gazda megközelítése (MegközG).

Tesztünkben minden egyedtől DNS mintát vettünk, melyet a Semmelweis Egyetem Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézetében elemeztek. A DNS mintavétel non-invazív módon, a kutyák számára fájdalommentesen történt. Vattapálcával a kutya pofájának belső részét 10 másodpercig gyengéden dörzsöltük, így szájnyalakharत्या-sejteket gyűjtöttünk. Ez elegendő mennyiségű DNS-t biztosított a genotipizáláshoz. A polimorfizmusok azonosítása DNS szekvenálással történt, ezt követően a polimorfizmus analízise PCR amplifikációval és elektroforetikus szeparációval történt.

A viselkedési teszt során kódolt változókból főkomponens analízissel három viselkedési skálát hoztunk létre. Az adatelemzés során az alanyokat – fajtától függetlenül – a polimorf lókuszon hordozott allél alapján csoportokba soroltuk, majd a csoportokat a három viselkedési skálán elért pontszám alapján hasonlítottuk össze (ANOVA). A viselkedésgenetikai vizsgálatokban elvárthoz képesti alacsony elemszám miatt csak egy polimorfizmus esetében végeztünk – előzetes elemzésként – átfogóbb összehasonlítást, melyben már a fajta feltehető hatását is figyelembe vettük (GLM). Itt a fajta és a genotípus főhatását, illetve ezen faktorok közti interakciót vizsgáltuk.

Eredmények

A kutya oxytocin receptor gén (OXTR) szabályozó régióiban (3' és 5' UTR régiók) N = 16 kutya DNS-ének szekvenálásával öt SNP (egypontos nukleotid polimorfizmus) került megállapításra. Mivel ezen polimorfizmusok korábban még nem kerültek leírásra, és – a fent

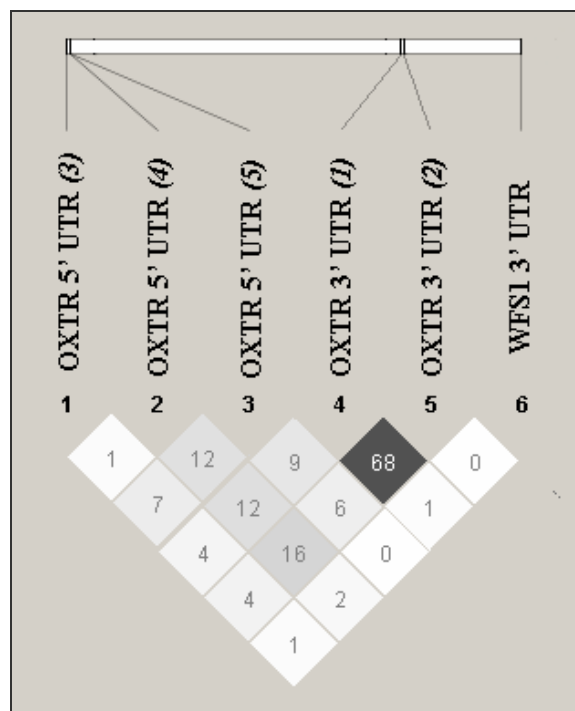
bemutatott humán OXTR génben található polimorfizmusokkal szemben – nem rendelkeznek adatbázisszámmal, így jelen dolgozatban 1-5 számokkal hivatkozunk rájuk (**2. táblázat**).

	SNP	OXTR 3' UTR (1)		OXTR 3' UTR (2)		OXTR 5' UTR (3)		OXTR 5' UTR (4)		OXTR 5' UTR (5)	
N	fajta	A	T	A	G	A	G	C	T	C	G
23	beagle	,00	1,00	,30	,70	,71	,29	,27	,73	,81	,19
51	border collie	,04	,96	,16	,84	,44	,56	,52	,48	,97	,03
66	német juhász	,64	,36	,65	,35	,36	,64	,11	,89	,98	,02
50	retriever	,08	,92	,16	,84	,52	,48	,58	,42	,92	,08

2. Táblázat Az OXTR gén 3' és 5' UTR régióiban található polimorfizmusok (SNP) esetében megfigyelhető allélgyakoriságok az egyes fajtákban. Az első oszlopban (N) a fajtánkénti elemszámot tüntettük fel. A 10%-nál alacsonyabb allélgyakoriságokat szürkével jelöltük

A genetikai állomány öröklődésekor egyes allélok egymáshoz kapcsoltnak öröklődnek. Minél közelebb helyezkedik el egymáshoz a két allél, annál nagyobb az esély a köztük fennálló kapcsoltságra, annál erősebb a kapcsoltsági fok. A gének közti távolság megállapításának módszere a géntérképezés (mértékegysége: centiMorgan). Az általunk vizsgált polimorfizmusok közül a 3' UTR-ben található (1-2) SNP 94 bp távolságra található egymástól, és erősen kapcsoltnak (2. ábra), így ezen két polimorfizmus közül csak a (2) került be az elemzésbe. Az 5' UTR-ben található (3-5) SNPk egymástól 117 illetve 34 bp távolságra találhatóak, és nincs közöttük jelentős kapcsoltság.

A fennmaradó négy SNP (2-5) közül az egyik (5) esetében 10% alatti allélgyakoriság figyelhető meg az általunk vizsgált fajták némelyikében, így a GG homozigóta és a CG heterozigóta alanyok viselkedési adatait egybevonva elemeztük. A többi SNP (2-4) esetében a három lehetséges genotípust külön csoportként kezeltük. Az összes fajtán belül a vizsgált polimorfizmusokra fennállt a Hardy-Weinberg egyensúly (χ^2 teszt, $p > 0,05$).



2. ábra Kapcsoltsági viszonyok a kutya OXTR gén szabályozó régióban leírt polimorfizmusok között. Negatív kontrollként egy a WFS1 gén 3' UTR régiójában található SNP-t tüntettünk fel

A viselkedési tesztben felvett nyersadatokon főkomponens analízist hajtottunk végre, majd az így kapott eredmények alapján három viselkedési skálát hoztunk létre. A viselkedési skálákhoz hozzárendelt változók összetartozását belső konzisztencia méréssel vizsgáltuk, melynek értéke Cronbach α -val jellemezhető.

1. Idegenre adott reakció (*Barátságos megközelítés*: KözelKV, KövetKV; *Szeeparáció*: KözelKV, KövetKV; *Fenyegető megközelítés*: Barátságos, Hívás; Cronbach $\alpha = 0,851$), **2.** Emberre nézés problémahelyzetben (*Problémamegoldás*: NézG1, NézG2, NézKV1, NézKV2; belső konzisztencia: Cronbach $\alpha = 0,809$), és **3.** Gazdától való szeeparáció alatt mutatott viselkedés (*Szeeparáció*: OriG1, OriG2, KözelG, KövetG; *Elbújás*: OriG, MegközG; Cronbach $\alpha = 0,726$).

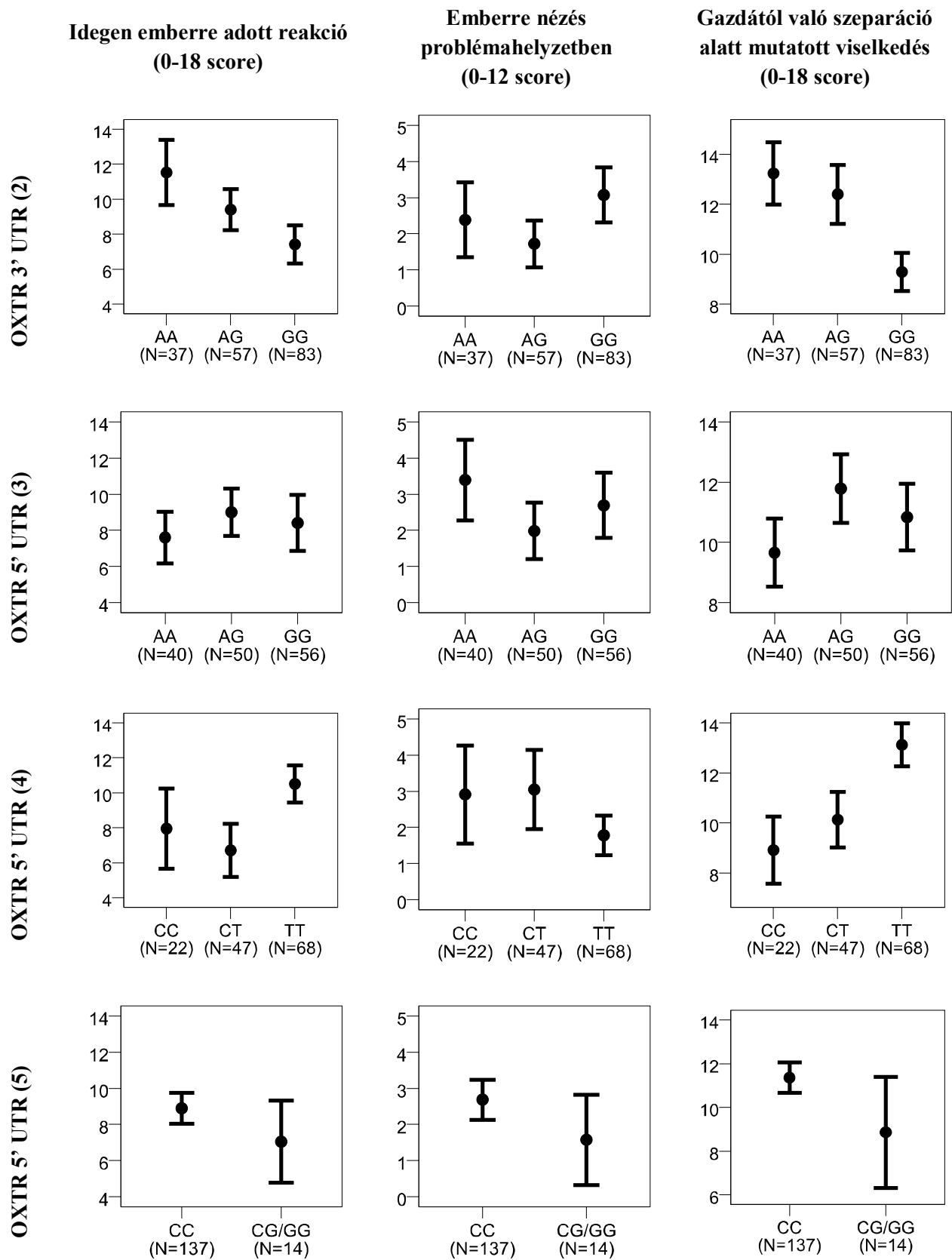
A skálák megbízhatóságának ellenőrzéseként a két kísérletvezető külön-külön lekódolt 11 tesztvideót. Az így kapott értékeket kísérletvezetőnként a három viselkedési skálának megfelelően összegeztük. A két kódoló közötti egyezést intraklassz korrelációval (Lessells & Boag, 1987) vizsgáltuk, melynek eredményeképp a kódolók között nagyfokú egyezést kaptunk mindhárom viselkedési skála esetében: Idegenre adott reakció: $r = 0,832$; $p < 0,001$; Emberre nézés problémahelyzetben: $r = 0,562$; $p = 0,029$; Gazdától való szeeparáció alatt mutatott viselkedés: $r = 0,705$; $p = 0,005$.

A tesztben mutatott viselkedés és a fent leírt SNP-k asszociációjának vizsgálatakor azt találtuk, hogy ezen polimorfizmusok befolyásolják, hogy a kutya miként reagál egy idegen emberre, hogy néz-e, és ha igen mennyit a gazdájára illetve egy idegen emberre – megoldható és megoldhatatlan – problémahelyzetben, illetve hogy miként viselkedik gazdától való szeparáció alatt (**3. táblázat**).

A **3' UTR** régióban található **(2)** polimorfizmus befolyásolta az *Idegenre adott reakciót* ($F_{(2)}=9,008$; $p<0,001$), az *Emberre nézést problémahelyzetben* ($F_{(2)}=3,263$; $p=0,041$) és a *Gazdától való szeparáció alatt mutatott viselkedést* ($F_{(2)}=17,576$; $p<0,001$). A Tukey post hoc teszt megmutatta, hogy az *Idegenre adott reakció* tekintetében az AA és az AG csoport egymástól nem különbözött ($p=0,113$), azonban a GG csoporttól mind az AA ($p<0,001$), mind az AG ($p=0,050$) csoport esetében pozitívabb reakció volt megfigyelhető. *Problémahelyzetben* az AG genotípusú egyedek kevesebbet néztek emberre, mint a GG genotípusúak ($p=0,032$), a többi csoport között azonban nem volt e tekintetben különbség ($p>0,05$). Az AA ($p<0,001$) és az AG ($p<0,001$) csoport egyedei intenzívebb gazdára irányuló viselkedést mutattak *Szeparáció* alatt, mint a GG csoport egyedei. Az AA és az AG csoportok között nem volt különbség ($p=0,575$).

A **5' UTR** régióban található **(3)** polimorfizmus csak a *Gazdától való szeparáció alatt mutatott viselkedést* befolyásolta ($F_{(2)}=3,354$; $p=0,038$), az *Idegenre adott reakcióra* ($F_{(2)}=0,915$; $p=0,403$) és az *Emberre nézésre problémahelyzetben* ($F_{(2)}=2,993$; $p=0,105$) nem volt hatással. A Tukey post hoc teszt megmutatta, hogy az AA csoport egyedeire kevésbé volt jellemző a gazdára irányuló viselkedés *Szeparáció* alatt, mint az AG csoport egyedeire ($p=0,028$), a többi csoport között azonban e tekintetben nem volt különbség ($p>0,05$).

A **5' UTR** régióban található **(4)** polimorfizmus az *Idegenre adott reakciót* ($F_{(2)}=9,207$; $p<0,001$) és a *Gazdától való szeparáció alatt mutatott viselkedést* ($F_{(2)}=16,245$; $p<0,001$) befolyásolta, az *Emberre nézésre problémahelyzetben* ($F_{(2)}=2,914$; $p=0,058$) nem volt hatással. A Tukey post hoc teszt megmutatta, hogy a TT egyedek pozitívabban *Reagáltak az idegenre*, mint a CT egyedek ($p<0,001$), a többi csoport között azonban e tekintetben nem volt különbség ($p>0,05$). *Szeparáció* alatt a TT csoport több a gazdára irányuló viselkedést mutatott, mint a CC ($p<0,001$) vagy a CT ($p<0,001$) csoport. A CC és a CT csoport között e tekintetben nem volt különbség ($p=0,385$).

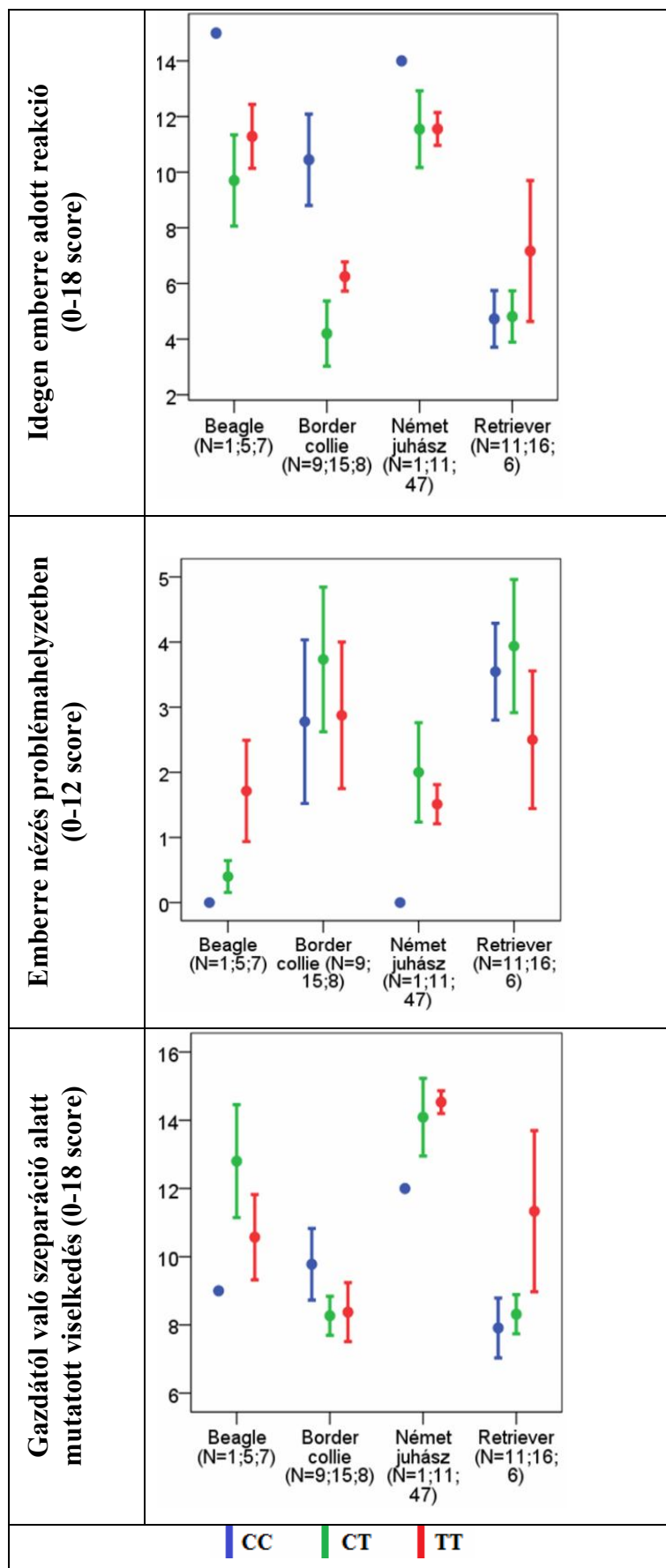


3. Táblázat Tesztben mutatott viselkedés az eltérő genotípussal rendelkező csoportokban. Átlag±Szórás

A 5' UTR régióban található (5) polimorfizmus a *Gazdától való szeparáció alatt mutatott viselkedést* ($t_{(149)}=2,134$; $p=0,035$) befolyásolta, a CC egyedek több gazdára irányuló viselkedést mutattak, mint a CG/GG egyedek. Ugyanez a polimorfizmus az *Idegenre adott reakcióra* ($t_{(149)}=1,322$; $p=0,185$) és az *Emberre nézésre problémahelyzetben* ($t_{(149)}=1,242$; $p=0,216$) nem volt hatással.

Amennyiben az egyes SNP-k hatását fajtákon belül külön-külön vizsgáltuk, úgy nem kaptunk szignifikáns különbségeket a különböző genotípusú csoportok viselkedése között. Ez a negatív eredmény valószínűleg a fajtánkénti alacsony elemszámmal magyarázható. A továbbiakban célunk, hogy az elemszám bővítése után az elemzéseket a fajták közötti eltérésekre kontrollálva vagy fajtánként külön-külön hajtsuk végre. Jelen adataink tükrében az 5'UTR (4) polimorfizmus allélgyakorisága (2. táblázat) volt a legalkalmasabb egy ilyen előzetes elemzés elvégzésére. Főhatásként a genotípus (CC, CT, TT) és a fajta (beagle, border collie, német juhász, labrador- és golden retriever) viselkedésre gyakorolt hatását elemeztük, illetve vizsgáltuk ezeknek a faktoroknak az interakcióit (4. táblázat).

A genotípus az *Idegenre adott reakciót* ($F_{(2)}=9,734$; $p<0,001$) és a *Gazdától való szeparáció alatt mutatott viselkedést* ($F_{(2)}=17,606$; $p<0,001$) befolyásolta, az *Emberre nézésre problémahelyzetben* ($F_{(2)}=2,897$; $p=0,058$) nem volt hatással. Ugyanakkor a fajta főhatásként nem volt hatással sem az *Idegenre adott reakcióra* ($F_{(1)}=3,465$; $p=0,065$), sem a *Gazdától való szeparáció alatt mutatott viselkedésre* ($F_{(1)}=0,196$; $p=0,658$) sem az *Emberre nézésre problémahelyzetben* ($F_{(1)}=1,691$; $p=0,196$). A genotípus $\times$ fajta interakció azonban szignifikánsnak adódott az *Idegenre adott reakció* ($F_{(2)}=3,346$; $p=0,038$), és a *Gazdától való szeparáció alatt mutatott viselkedés* ($F_{(2)}=5,547$; $p=0,005$) esetében, míg az *Emberre nézés problémahelyzetben* ($F_{(2)}=0,632$; $p=0,533$) skála esetében nem.



4. Táblázat Az 5'UTR (4) polimorfizmus és a fajta hatása a kutyák tesztben mutatott viselkedésére a három viselkedési skála szerint; score $\pm$ SE

Diszkusszió

Az oxytocin receptor gén polimorfizmusainak vizsgálata már több korábbi kísérlet témájaként is szolgált; eredményeink összhangban vannak ezen korábbi kutatásokkal. Azt találtuk, hogy az oxytocin receptor gén polimorfizmusai hatással vannak a kutyák gazdától való szeparáció alatt mutatott viselkedésre; ehhez hasonló következtetésre jutott egy humán kutatás is, amely a szülő-gyermek kötődést az Idegen Helyzet Teszt segítségével vizsgálta az oxytocin receptor gén polimorfizmusainak függvényében (Chen et al. 2011). Továbbá eredményeink szerint az oxytocin receptor gén polimorfizmusai befolyásolják, hogy a kutyák miként reagálnak egy idegen emberre, ami párhuzamba állítható azon korábbi elképzelésekkel miszerint az oxytocin az általában vett szociális ingerekkel áll összefüggésben (Wallner et al. 2006). Korábbi humán eye-trackeres vizsgálatok eredményei szerint az oxytocin növeli az arcon belül a szemi régióra történő nézést (Guastella et al. 2008); jelen vizsgálat eredményei nem konklúzívek tekintetben, hogy ezzel párhuzamosan az oxytocin receptor gén polimorfizmusai azt is befolyásolják-e, hogy a kutyák mennyit néznek emberre egy problémahelyzetben.

Kutatásunk jelentősége, hogy bár több kísérlet vizsgálta az oxytocin receptor gén polimorfizmusainak rágsálókban betöltött szerepét, kutyák esetében eddig erre nem volt példa, holott a kutya számos okból kifolyólag alkalmasabb viselkedésgenetikai modell lehet: például humán-analóg szocio-kognitív képességekkel rendelkezik (Hare & Tomasello 2005), valamint számos humán pszichiátriai betegség természetes módon is kialakul nála (Overall, 2000). Fontos továbbá kiemelni, hogy az eddigi – mind humán, mind rágsáló – vizsgálatok a fajon belüli szociális viselkedést, illetve az oxytocin receptor polimorfizmusainak ebben betöltött szerepét vizsgálták. Bár már korábban is felmerült, hogy az oxytocin hormonnak fontos szerepe lehet interspecifikus – ember-állat – interakciókban (Beetz et al. 2012), ez viselkedés-genetikai módszerekkel korábban még nem került vizsgálatra.

Eredményeink teljességéhez, illetve pontosabb következtetések levonásához azonban további tesztek elvégzésére van szükség, mivel a jelenlegi elemszám még nem kielégítő. Viselkedésgenetikai vizsgálatoknál különösen fontos, hogy eltérő populációk (esetünkben fajták) együttes vizsgálatakor a populációk közötti – mind genetikai mind viselkedésbeli – különbségek könnyen fals pozitív eredményekhez vezethetnek (Hamer & Sirota, 2000). Ezért szükséges, hogy az elemszám növelését követően az elemzéseket – az előzetes eredményként bemutatottakhoz hasonlóan – a fajták hatását illetve genotípussal való interakcióját is figyelembe véve, az egyes fajtákon belül külön-külön is elvégezzük.

A teszt során – korábbi vizsgálatokhoz hasonlóan (pl. Kubinyi et al. 2012) – arra kontrolláltunk, hogy egymással közvetlen rokonságban álló – azonos szülőktől származó – alanyokat ne teszteljünk, ám ezzel csak az 50%-os rokonokat zártuk ki, az adatok teljes függetlenségét nem tudtuk biztosítani. Továbbá az eredmények értelmezését nehezíti, hogy nem ismert számunkra a kutyák szociális háttere és környezete, illetve előzetes tréningezettsége. Az általunk vizsgált szociális viselkedések esetében feltehetőleg a környezeti hatások szerepe is jelentős (pl. ismert, hogy az embergyerekek kötődését a genetikai hatásokon túl az anya viselkedése is befolyásolja: Raby et al. 2012), így az alanyainkat a tesztet megelőzően érő szociális hatások ismerete hozzájárulhatott volna ahhoz, hogy árnyaltabb képet kaphassunk az általunk vizsgált polimorfizmusok hatásairól, illetve a gén-környezet interakciókról.

A fent leírt hiányosságok ellenére munkánk összegzéseként már jelenlegi állapotában is azt mondhatjuk, hogy kiterjeszti a kutya viselkedésgenetikai modellként betöltött szerepét, hiszen humán analóg szocio-kognitív képességek genetikai hátterére világít rá.

Szerzői hozzájárulás

Viselkedéses adatfelvétel: FL, CsZs (N=43 kutya tesztelése és kódolása), FL (további 27 korábban letesztelt kutya részleges kódolása); *jelen dolgozat eredményei ebből N=30 kutya adatait tartalmazzák, a többi minta esetében a genotipizálás még nem történt meg.* Adatelemzés: FL, CsZs. Dolgozat megírása: FL (Módszer, Eredmények), CsZs (Bevezetés, Diskusszió, Irodalomjegyzék). Ábrák elkészítése: CsZs.

Köszönetnyilvánítás

A korábban a tesztben részt vett kutyák (N=160) viselkedési adatait Kubinyi Enikő és mtsai bocsátotta a rendelkezésünkre, további N=27 korábban letesztelt kutya tesztfelvételeit és a viselkedési kódolás egy részét Brúder Ildikó bocsátotta rendelkezésünkre. A DNS minták genotipizálását Bence Melinda és mtsai (Semmelweis Egyetem), a kapcsoltsági számításokat Rónai Zsolt végezte. A kutatáshoz anyagi támogatást az MTA 01 031 projekt nyújtott.

Irodalomjegyzék

- Beetz, A., Uvnäs-Moberg, K., Julius, H., & Kotrschal, K. (2012). Psychosocial and psychophysiological effects of human-animal interactions: The possible role of oxytocin. *Frontiers in Psychology*, 3, 1–15.
- Bräuer, J., Kaminski, J., Riedel, J., Call, J., & Tomasello, M. (2006). Making inferences about the location of hidden food: social dog, causal ape. *Journal of Comparative Psychology*, 120(1), 38–47.
- Chen, F. S., Barth, M. E., Johnson, S. L., Gotlib, I. H., & Johnson, S. C. (2011). Oxytocin receptor (OXTR) polymorphisms and attachment in human infants. *Frontiers in Psychology*, 2, 200.
- Donaldson, Z. R. & Young, L. J. (2008). Oxytocin, vasopressin, and the neurogenetics of sociality. *Science*, 322(900), 900–4.
- Gillath, O., Shaver, P. R., Baek, J.-M., & Chun, D. S. (2008). Genetic correlates of adult attachment style. *Personality & Social Psychology Bulletin*, 34(10), 1396–405.
- Guastella, A. J., Mitchell, P. B., & Dadds, M. R. (2008). Oxytocin increases gaze to the eye region of human faces. *Biological Psychiatry*, 63(1), 3–5.
- Hamer D., & Sirota L. (2000). Beware the chopsticks gene. *Molecular Psychiatry* 5, 11–13.
- Hare, B. A., Brown, M., Williamson, C., & Tomasello, M. (2002). The domestication of social cognition in dogs. *Science*, 298, 1634–6.
- Hare, B. A., & Tomasello, M. (2005). Human-like social skills in dogs? *Trends in Cognitive Sciences*, 9(9), 439–44.
- Hejjas, K., Kubinyi, E., Ronai, Z., Szekely, A., Vas, J., Miklósi, Á., Sasvari-Szekely, M., et al. (2009). Molecular and behavioral analysis of the intron 2 repeat polymorphism in the canine dopamine D4 receptor gene. *Genes, Brain, and Behavior*, 8(3), 330–6.
- Hernádi, A., Kis, A., Turcsán, B., & Topál, J. (2012). Man's underground best friend: domestic ferrets, unlike the wild forms, show evidence of dog-like social-cognitive skills. *PLoS ONE*, 7(8), e43267.
- Hollander, E., Bartz, J., Chaplin, W., Phillips, A., Sumner, J., Soorya, L., Anagnostou, E., et al. (2007). Oxytocin increases retention of social cognition in autism. *Biological Psychiatry*, 61(4), 498–503.

- Kirkness, E. F., Bafna, V., Halpern, A. L., Levy, S., Remington, K., Rusch, D. B., Delcher, A. L., et al. (2003).** The dog genome: survey sequencing and comparative analysis. *Science*, 301(5641), 1898–903.
- Kubinyi, E., Vas, J., Hejjas, K., Ronai, Z., Brúder, I., Turcsán, B., Sasvari-Szekely, M., et al. (2012).** Polymorphism in the tyrosine hydroxylase (TH) gene is associated with activity-impulsivity in german shepherd dogs. *PLoS ONE*, 7(1), e30271.
- Kumsta, R., & Heinrichs, M. (2012).** Oxytocin, stress and social behavior: neurogenetics of the human oxytocin system. *Current Opinion in Neurobiology*, in press.
- Lakatos, G., Gácsi, M., Topál, J., & Miklósi, Á. (2011).** Comprehension and utilisation of pointing gestures and gazing in dog-human communication in relatively complex situations. *Animal Cognition*, 15(2), 18–22.
- Lessells, C. M. & Boag, P. T. (1987).** Unrepeatable repeatabilities: a common mistake. *Auk* 104, 116–21.
- Lee, H.-J., Macbeth, A. H., Pagani, J. H., & Young, W. S. (2009).** Oxytocin: The great facilitator of life. *Progress in Neurobiology*, 88(2), 127–51.
- Liu, J. C. J., Guastella, A. J., & Dadds, M. R. (2012).** Effects of oxytocin on human social approach measured using intimacy equilibriums. *Hormones and Behavior*, 62(5), 585–91.
- Marx, P., Arany, A., Ronai, Z., Antal, P., & Sasvari-Szekely, M. (2011).** Genetic variability of the oxytocine receptor: an in silico study. *Neuropsychopharmacologia Hungarica*, 13(3), 139–44.
- Overall, K. L. (2000).** Natural animal models of human psychiatric conditions: assessment of mechanism and validity. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 24(5), 727–76.
- Parker, H. G., Shearin, A. L., & Ostrander, E. a. (2010).** Man’s best friend becomes biology’s best in show: genome analyses in the domestic dog. *Annual Review of Genetics*, 44, 309–36.
- Prato-Previde, E., Custance, D. M., Spiezio, C., & Sabatini, F. (2003).** Is the dog–human relationship an attachment bond? An observational study using Ainsworth’s strange situation. *Behaviour*, 140, 225–54.
- Raby, K. L., Cicchetti, D., Carlson, E. A, Cutuli, J. J., Englund, M. M., & Egeland, B. (2012).** Genetic and caregiving-based contributions to infant attachment: unique associations with distress reactivity and attachment security. *Psychological Science*, 23(9), 1016–23.

- Rodrigues, S. M., Saslow, L. R., Garcia, N., John, O. P., & Keltner, D. (2009).** Oxytocin receptor genetic variation relates to empathy and stress reactivity in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(50), 21437–41.
- Saphire-Bernstein, S., Way, B. M., Kim, H. S., Sherman, D. K., & Taylor, S. E. (2011).** Oxytocin receptor gene (OXTR) is related to psychological resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(37), 15118–22.
- Savaskan, E., Ehrhardt, R., Schulz, A., Walter, M., & Schächinger, H. (2008).** Post-learning intranasal oxytocin modulates human memory for facial identity. *Psychoneuroendocrinology*, 33(3), 368–74.
- Sriver, C. R., & Waters, P. J. (1999).** Monogenic traits are not simple. *Trends in Genetics*, 15(7), 267–72.
- Stallen, M., De Dreu, C. K. W., Shalvi, S., Smidts, A., & Sanfey, A. G. (2012).** The herding hormone: Oxytocin stimulates in-group conformity. *Psychological Science*, 23, 1288–92.
- Topál, J., Gergely, G., Erdohegyi, A., Csibra, G., & Miklósi, Á. (2009).** Differential sensitivity to human communication in dogs, wolves, and human infants. *Science*, 325(5945), 1269–72.
- Vilá, C., Savolainen, P., Maldonado, J., Amorim, I. R., Rice, J. E., Honeycull, R. L., Crandall, K. A., et al. (1997).** Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science*, 276, 1687–9.
- Wallner, B., Dittami, J., & Machatschke, I. V. O. (2006).** Social stimuli cause changes of plasma oxytocin and behaviour in guinea pigs. *Biological Research*, 39, 251–8.