

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Neurologie

Prof. Dr. Christian Gerloff

Behavioral examination of imitative responses mediated by the mirror neuron system in adults with autism spectrum disorders

Verhaltensstudie zu durch das Spiegelneuronsystem vermittelten imitativen Reaktionen bei Erwachsenen mit Autismus-Spektrum-Störung

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Odette Schunke
aus Bad Saarow-Pieskow

Hamburg 2015

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 04.12.2015**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. A.Münchau

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. J. Gallinat

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassende Darstellung der Publikation

2. Erklärung des Eigenanteils an der Publikation

3. Literaturverzeichnis

4. Danksagung

5. Eidesstattliche Versicherung

6. Kopie der Publikation (accepted version¹) „Mirror me: Imitative Responses in adults with autism“ veröffentlicht im Fachjournal „Autism“ Februar 2016 (Epub 13.März 2015)²

7. Letter of Acceptance des Fachjournals „Autism“

¹ „Autism“ gehört zur Gruppe der SAGE Journals nach deren „Copyright and Permissions“ Regelungen nur die „accepted version“ des eingereichten Manuskripts anderweitig veröffentlicht werden darf, nicht aber der publizierte Artikel (for further information see: <https://uk.sagepub.com/en-gb/eur/copyright-and-permissions#7>)

² Die veröffentlichte Version des Artikels ist auf der Internetseite von „Autism“ (<http://aut.sagepub.com/content/20/2/134.abstract>) oder über www.pubmed.com zugänglich.

1. Zusammenfassende Darstellung der Publikation

1.1. Einleitung

Eine Fehlfunktion des menschlichen Spiegelneuronsystems, einem neuronalen Netzwerk, das bei der Imitation von Mimik, Gestik und Handlungen sowie beim Erlernen von sozialen Fähigkeiten eine große Rolle spielt, wird als eine der möglichen Ursachen der Entstehung von Autismus-Spektrum-Störungen (ASS) postuliert (Iacoboni und Dapretto, 2006). Frühere Arbeiten zur - insbesondere imitativen - Funktion des Spiegelneuronsystems, dessen Kernregionen im inferior-frontalen Gyrus, dem inferior-parietalen sowie dem superior-temporalen Lappen vermutet werden (Iacoboni und Dapretto, 2006), erbrachten teils widersprüchliche Ergebnisse, die von einer kompletten Fehlfunktion (Iacoboni und Dapretto, 2006), über nur teilweise gestörte Prozesse vor allem der s.g. „automatisierten Imitation“ von einfachen, bedeutungslosen, Objekt-ungebundenen Handlungen (Hamilton, 2008) bis hin zu einer gänzlich intakten imitativen Spiegelneuron-Aktivität reichen (Bird et al., 2007).

Ziel der hier vorliegenden Studie war es, anhand von Reaktionszeit-Daten im Rahmen eines bereits in Vorstudien validierten Verhaltensexperiments aus drei Teilerperimenten (Biermann-Ruben et al., 2008a, Jonas et al., 2010) die Funktion des Spiegelneuronsystems bei der „automatisierten Imitation“ von (Finger-) Bewegungen in einfachen und komplexen Situationen zu untersuchen. Unter der Hypothese einer Fehlfunktion des Spiegelneuronsystems erwarteten wir, dass in Vorstudien an gesunden Probanden gezeigte Verhaltensvorteile, die durch das Spiegelneuronsystem vermittelt werden und sich anhand schnellerer Reaktionszeiten und s.g. Interferenzeffekten zeigen (Biermann-Ruben et al., 2008a, Jonas et al., 2010), bei Patienten mit ASS nicht auftreten würden. Zudem wurden Zusammenhänge zwischen parallel erhobenen neuropsychiatrischen Testergebnissen und den Reaktionszeit-Daten untersucht. Die detaillierten Hypothesen der Studie - stets unter der Hauptannahme eines dysfunktionalen Spiegelneuronsystems - werden für jedes Experiment gesondert im folgenden Abschnitt formuliert.

1.2. Material und Methoden

Nach Überprüfung aller Einschlusskriterien und nach Erfassung von neuropsychiatrischen Testergebnissen (beides siehe 1.2.1.) wurde das bereits in Vorstudien (Biermann-Ruben et al., 2008a, Jonas et al., 2010) validierte Verhaltensexperiment bestehend aus drei Teilexperimenten (siehe 1.2.2.) bei insgesamt 20 Patienten mit einer hochfunktionalen ASS und 20 gesunden Kontrollprobanden, die nach Alter, Geschlecht und Schulbildung der Patientengruppe angeglichen waren, durchgeführt.

1.2.1. Einschlusskriterien und neuropsychiatrische Tests

Sowohl für Patienten als auch Kontrollen galten folgende Einschlusskriterien: Alter zwischen 18 und 65 Jahre, orientierend normale (verbale) IQ-Werte (>70), Rechtshändigkeit, freiwillige Teilnahme an der Studie nach Unterzeichnung der Einwilligungserklärung, Fehlen von neurologischen Grunderkrankungen (z.B. Epilepsie) sowie unauffällige neurologische Standard-Untersuchung im Rahmen der Studie. Im Rahmen letzterer wurde das Auftreten von Tics in beiden Gruppen analysiert, da diese möglicherweise mit den Verhaltensdaten interagieren. Beide Gruppen wurden zudem mittels des Strukturierten Klinischen Interviews für DSM-IV Achse 1 und 2 Störungen (SKID, Wittchen et al., 1997) sowie mittels Fragebögen zu Depression, Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom (ADHS) und Zwangsstörungen auf psychiatrische Erkrankungen untersucht. Gesunde Probanden mit Hinweisen auf eine psychiatrische Erkrankung oder Einnahme von neurologischen/psychiatrischen Medikamenten wurden von der Studie ausgeschlossen; bei Probanden mit ASS wurde die Schwere der psychiatrischen Erkrankung (Fragebögen) später mit den experimentellen Daten korreliert. Die Diagnose einer hochfunktionalen ASS wurde mittels ICD-10-Kriterien (Dilling et al., 2008) evaluiert und die Schwere anhand von gängigen Autismus-Fragebögen ermittelt. Zudem wurde ein Test zur Erkennung von Gesichtsausdrücken, in dem Patienten mit ASS klassischerweise Defizite aufweisen, durchgeführt. Die verbale Flüssigkeit, die bei Patienten mit Autismus mit der Arbeitsgeschwindigkeit korreliert, wurde ebenfalls ermittelt (Supermarkt-Aufgabe, Mattis, 1988).

1.2.2. *Verhaltensexperiment*

Für das Experiment wurden die Probanden in einem abgedunkelten, ruhigen Raum für die Dauer von insgesamt ca. 35 Minuten vor einen PC mit Bildschirm platziert, auf dem kurze Videosequenzen einer von frontal aufgenommenen, linken, männlichen Hand gezeigt wurden. Die Probanden wurden aufgefordert, auf im Folgenden näher erläuterte visuelle und akustische Stimuli durch schnellstmögliches Heben ihres kleinen oder Zeigefingers zu reagieren, der sich in einer Infrarot-Lichtschranke befand, um - nach einer kurzen Trainingsphase vor jedem Experiment - die individuellen Reaktionszeiten der Probanden aufzuzeichnen (Biermann-Ruben et al., 2008a, Jonas et al., 2010).

In Experiment 1 war die schnellstmögliche Reaktion auf visuelle Stimuli in Form von 1.) Bewegungen des kleinen oder Zeigefingers der Hand (=„biologischer Stimulus“) mit dem entsprechenden eigenen Finger, 2.) auf kinematisch der Fingerbewegung identischen Bewegungen von roten Punkten (=„nicht-biologischer Stimulus“) in Position der beiden vorgenannten Finger sowie 3.) auf eine Kombination aus Finger- und Punktbewegung gefordert (siehe Abbildung 1a). Hypothese in Hinblick auf ein defektes Spiegelneuronsystem war, dass sich Reaktionszeitbeschleunigungen auf biologische Stimuli, die sich in Vorstudien bei Gesunden zeigen ließen (Biermann-Ruben et al., 2008a, Jonas et al., 2010), bei Patienten mit ASS nicht finden lassen.

Das akustische Experiment 2 diente als Vorbereitung für das komplexe Experiment 3 und verlangte bei Fehlen eines bewegten visuellen Reizes die schnellstmögliche Reaktion (Heben eines Fingers) auf zwei Töne (500 und 1000Hz). Da hierfür keine imitativen Funktionen benötigt werden, sollten sich die Reaktionszeiten hypothetisch nicht zwischen den Gruppen unterscheiden.

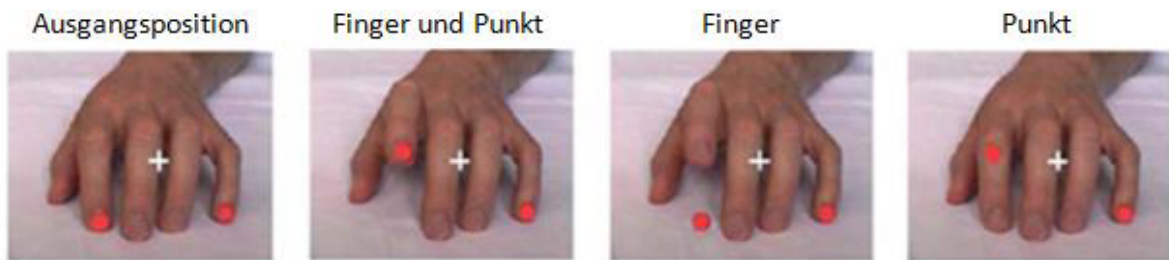
In Experiment 3 sollten die Probanden - wie in Experiment 2 erlernt - schnellstmöglich nur auf den akustischen Reiz reagieren, wobei ihnen parallel auf dem Bildschirm visuelle Reize in Form von repetitiven biologischen Finger- und nicht-biologischen Punktbewegungen ähnlich denen aus Experiment 1 gezeigt wurden, die keiner Reaktion bedurften, aber das imitative System anregten. Die visuellen und akustischen Reize wurden entweder synchron (=Onset) oder asynchron (=Offset) präsentiert und führten inhaltlich zu derselben Reaktion (Heben des gleichen Fingers

= kompatibel) oder zu einer abweichenden Reaktion (Heben unterschiedlicher Finger = inkompatibel, siehe Abbildung 1b). Die Vermutung in Bezug auf ein hypothetisch defektes Spiegelneuronsystem war hier, dass 1.) erneut kein Unterschied in den Reaktionszeiten auf biologische und nicht-biologische Reize bei den Probanden mit ASS zu finden ist, dass 2.) in Vorstudien gezeigte Interferenzeffekte, d.h. Reaktionszeitverlangsamung durch inkompatible Reize bei Probanden mit ASS nicht auftreten würden und dass 3.) eventuell Gruppen-Unterschiede bezüglich der zeitlichen Verarbeitung von Reizen vorliegen könnten, da Vorstudien auf Abweichungen in der Wahrnehmung von synchronen/asynchronen Reizen hinweisen (Foss-Feig et al., 2010).

Die statistische Analyse der Ergebnisse erfolgte mittels der Software IBM® SPSS® Statistics 20 (www.ibm.com/software/de/analytics/spss/products/statistics/). Gruppenvergleiche der neuropsychiatrischen Testergebnisse erfolgten mittels unabhängigem t-Test oder nicht-parametrischem Mann-Whitney-U-Test. Die Reaktionszeitdaten wurden mit Hilfe von linearen Mixed-Model-Analysen und die Fehlerraten anhand von negativ-binominalen Regressionsmodellen ausgewertet. Mit Hilfe des Spearman-Koeffizienten wurden die Reaktions- und Fehlerdaten sowie neuropsychiatrischen Testergebnisse korreliert, wobei stets ein p-Wert von $< 0,05$ als statistisch signifikant galt.

Abbildung 1

(a) Experiment 1



(b) Experiment 3

Zeitliche Abläufe von visueller repetitiver Bewegung und Ton

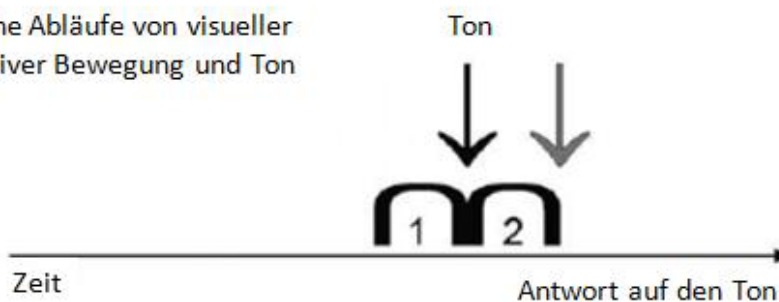


Abbildung 1a veranschaulicht die visuelle Darstellung des Experiments 1. Die einzelnen Bewegungstypen (Fingerbewegung, Punktbewegung und kombinierte Finger-/Punktbewegung) werden im Vergleich zur Ausgangsposition gezeigt.

Abbildung 1b verdeutlicht den zeitlichen Ablauf von visueller repetitiver Bewegung (pro kompletter Auf- und Abwärtsbewegung des visuellen Stimulus ist ein Bogen angegeben) zum Ton, der entweder synchron (=Onset) zur 2. Bewegung (schwarzer Pfeil) oder asynchron (=Offset) zu diesem (grauer Pfeil) auftreten kann.

1.3. Ergebnisse

20 Patienten mit hochfunktionaler ASS (9 Männer, mittleres Alter 32,6 Jahre +/- SD 8,15 Jahre) und 20 gleichaltrige gesunde Kontrollen (mittleres Alter 33,1 +/- 7,90 Jahre; $p=0,830$) wurden in die Studie eingeschlossen. Erwartungsgemäß fanden sich bei der ASS-Gruppe signifikant höhere Scores in den Autismus-spezifischen Fragebögen sowie den Fragebögen zu Komorbiditäten wie Depression, ADHS und Zwangserkrankungen (alle $p < 0,05$). Tics traten signifikant häufiger in der ASS-Gruppe auf. Die Kontrollgruppe erzielte hingegen bessere Ergebnisse im Gesichtserkennungstest ($p=0,022$) und der verbalen Flüssigkeit ($p=0,001$).

Die Mixed-Model-Analyse in Experiment 1 erbrachte einen signifikanten Effekt für „Gruppe“ ($F(1, 37,70)=8.358$; $p=0,006$) mit insgesamt schnelleren Reaktionszeiten in der Kontroll- (391ms) im Vergleich zur ASS-Gruppe (518ms). Zudem zeigte sich ein signifikanter Effekt für den „Bewegungstyp“ ($F(2, 40,17)=30,681$; $p<0.001$) mit langsameren Reaktionszeiten auf Punktbewegungen (476ms) im Vergleich zu Finger- (443ms) und kombinierten Finger-/Punktbewegungen (445ms). Die Reaktionszeiten für einzelne Finger- und kombinierte Finger-/Punktbewegungen waren vergleichbar ($p=0,599$). Diesen „biologischen Reaktionsvorteil“ zeigten - entgegen der initialen Hypothese - beide Gruppen gleichermaßen (siehe Abbildung 2).

Hinsichtlich der Fehlerraten fanden sich keine signifikanten Gruppenunterschiede oder Unterschiede zwischen den einzelnen Bewegungstypen. Reaktionszeiten und Fehlerraten zeigten keine Korrelation miteinander.

Abbildung 2

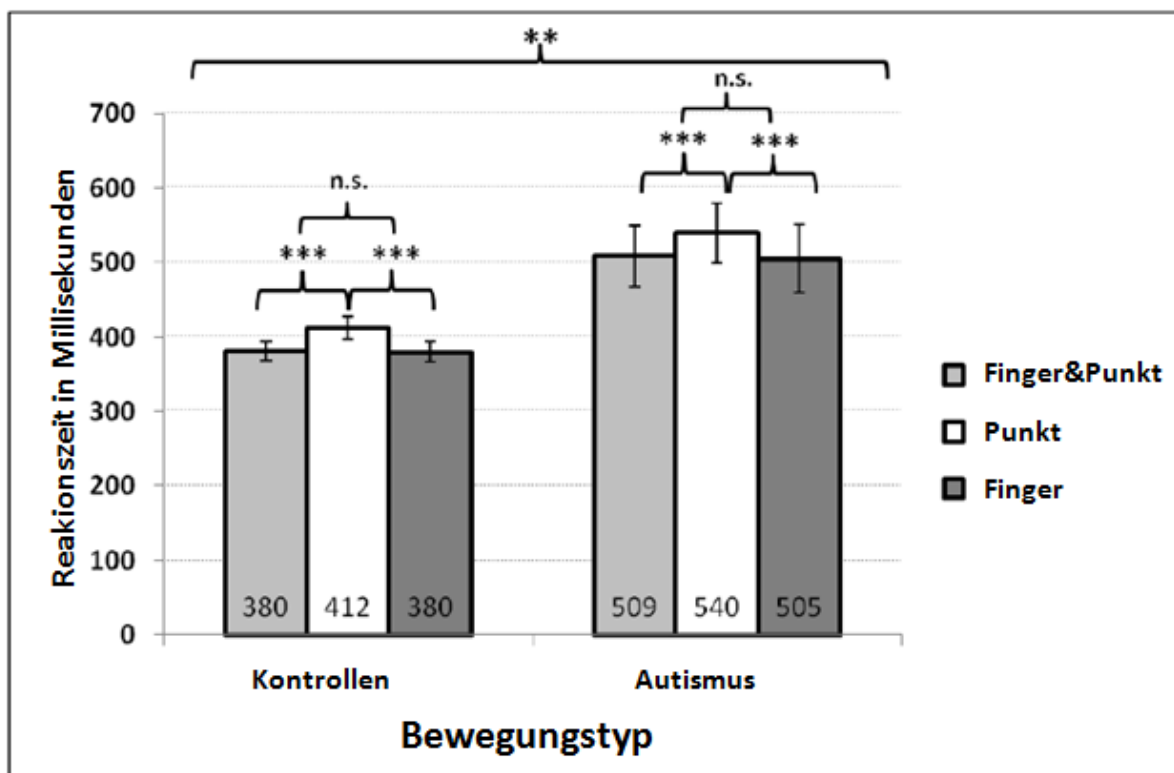


Abbildung 2 zeigt die Reaktionszeiten in Millisekunden von Kontrollen (links) und Probanden mit Autismus-Spektrum-Störung (rechts) separat für jeden der drei Bewegungstypen. Die Fehlerbalken entsprechen dem Standardfehler des

Mittelwertes (SEM). Signifikante p-Werte wurden durch Symbole ersetzt:
 $p < 0.001$ (***) and $p = 0.001$ bis 0.01 (**). n.s.: nicht signifikant.

Der initialen Hypothese entsprechend fanden sich in Experiment 2 vergleichbare Reaktionszeiten zwischen Kontrollen (421ms) und Probanden mit ASS (475ms), ohne signifikanten Gruppeneffekt ($p = 0,112$). Ähnlich vergleichbare Ergebnisse erbrachte auch die Analyse der Fehlerraten (Kontrollen: 2,2 Fehler / ASD: 2,8; $p = 0,493$). Wiederum zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen Reaktionszeiten und Fehlerraten.

Zur Vereinfachung der Ergebnisse aus Experiment 3 verwenden wir den Begriff „Bewegungstyp“ für biologische Finger- und nicht-biologische Punktbewegungen, „Kompatibilität“ für kompatible und inkompatible Reize und „Präsentationsmodus“ für synchrone (=Onset) und asynchrone (=Offset) Reize. Die Mixed-Model-Analyse erbrachte folgende Ergebnisse:

Es fand sich keine signifikante Interaktion, die sowohl den Term „Bewegungstyp“ als auch „Gruppe“ beinhaltete, was darauf hinweist, dass in beiden Gruppen biologische und nicht-biologische Reize in vergleichbarer Art und Weise verarbeitet werden.

Der Interaktions-Term aus „*Präsentationsmodus*Kompatibilität*Bewegungstyp*“ wurde signifikant ($F(1, 210,38) = 5,185$, $p = 0,024$). Dies spiegelte sich darin wieder, dass beide Gruppen einen s.g. „Interferenzeffekt“ zeigten, der mit schnelleren Reaktionszeiten auf kompatible im Vergleich zu inkompatiblen Reizen einherging, was sowohl im Onset- (Finger: Differenz=59ms, $p < 0,001$ / Punkt: Differenz=29ms, $p = 0,066$) als auch Offset-Modus (Finger: Differenz=37ms, $p = 0,030$ / Punkt: Differenz=40ms, $p = 0,018$) galt.

In Hinblick auf Unterschiede zwischen beiden Gruppen zeigte sich die Dreifachinteraktion „*Präsentationsmodus*Kompatibilität*Gruppe*“ signifikant ($F(1, 211,41) = 8,115$, $p = 0,005$), was sich zum einen darin äußerte, dass Probanden mit ASS über alle Durchgänge hinweg langsamere Reaktionszeiten zeigten als Kontrollen (alle p-Werte ≤ 0.020). Zudem zeigte sich, dass Patienten mit ASS einen grenzwertig signifikanten Interferenzeffekt im Onset (Differenz=39ms, $p = 0,072$) und einen signifikanten Interferenzeffekt im Offset zeigten (Differenz=53ms, $p = 0,017$), wohingegen sich bei den Kontrollen nur ein Interferenzeffekt im Onset finden lässt (Differenz=49ms, $p = 0,022$). Hinsichtlich der Größe des Interferenzeffektes fanden

sich mittels Mann-Whitney-U-Test Hinweise darauf, dass nur Kontrollen einen stärkeren Interferenzeffekt für biologische Bewegungen zeigen, wenn diese synchron präsentiert werden (Onset) im Vergleich zum asynchronen Offset-Modus (Kontrollen: $z=-3,099$, $p=0,002$, ASS: $z=-0,709$, $p=0,478$). Bei Probanden mit ASS fand sich in beiden dieser Präsentationsmodi ein ähnlich starker Interferenzeffekt ($z=-1,307$, $p=0,191$), der für Punktbewegungen im Offset- sogar größer als im Onset-Modus war ($z=2,165$, $p=0,030$). Dies deutet darauf hin, dass - im Gegensatz zu gesunden Kontrollen - Probanden mit ASS auch bei asynchronen Reizen einen starken Interferenzeffekt sowohl für biologische als auch nicht-biologische Reize zeigen (Abbildung 3).

Abbildung 3

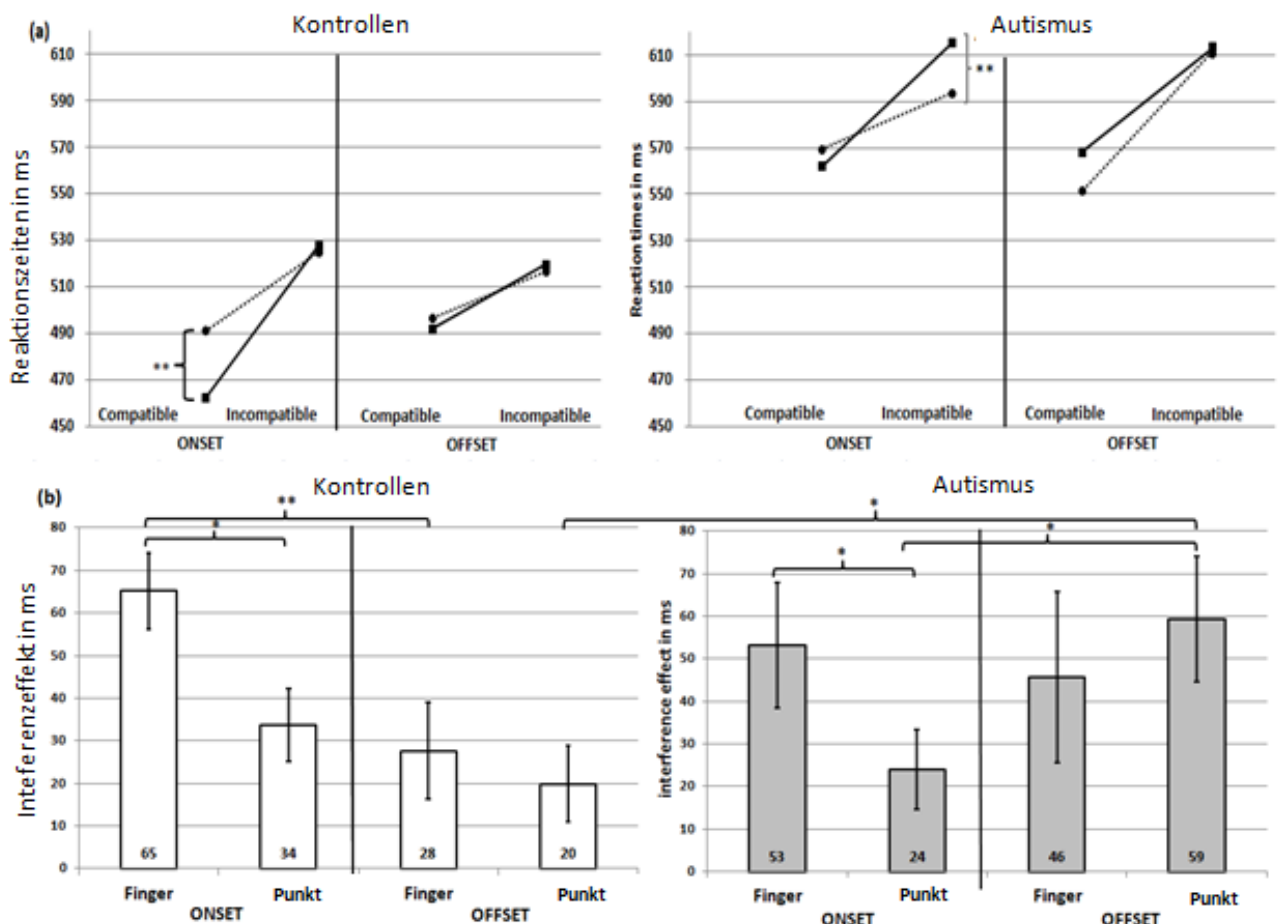


Abbildung 3 zeigt die Reaktionszeiten in Experiment 3.

a) Dargestellt sind die jeweiligen Reaktionszeiten beider Gruppen (Kontrollen links, Autismus rechts) in den insgesamt 8 verschiedenen experimentellen Bedingungen.

Präsentationsmodus (Onset/Offset), Kompatibilität (kompatibel/inkompatibel) und Bewegungstyp (Finger = durchgezogene Linie / Punkt = gepunktete Linie) sind einzeln dargestellt.

*b) Dargestellt sind die Interferenzeffekte (= Differenz zwischen inkompatiblen – kompatiblen Trials) während der Finger-und Punktbewegungs-Bedingungen sowohl im Onset als auch Offset für beide Gruppen (Kontrollen links, Autismus rechts). Signifikante p-Werte wurden durch Symbole ersetzt: $p < 0.001$ (***) , $p = 0.001$ bis 0.01 (**) und $p = 0.5-0.1$ (*).*

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen Reaktionszeiten und klinischen Daten der Teilnehmer, v.a. der Patienten mit Autismus, zu erkennen, wurden Korrelationen der Verhaltensdaten mit den neuropsychiatrischen Testergebnissen als indirektes Maß der Symptomschwere ermittelt. Interessanterweise fanden sich hier vor allem negative Korrelationen der mittleren Reaktionszeiten der Patienten mit Autismus in allen drei Experimenten mit der Supermarktaufgabe (verbale Flüssigkeit). Patienten mit insgesamt schnelleren Reaktionszeiten erzielten also bessere Ergebnisse in der Aufgabe zur verbalen Flüssigkeit.

1.4. Diskussion

Ziel der hier vorliegenden Studie war es, die kontrovers diskutierte Hypothese eines dysfunktionalen menschlichen Spiegelneuronsystems als Ursache von ASS zu überprüfen anhand dreier bereits in Vorstudien validierter Verhaltensexperimente.

Die Hauptergebnisse der Studie lassen sich wie folgt zusammenfassen:

a) Entgegen der initialen Hypothese unterschieden sich die beiden untersuchten Gruppen nicht hinsichtlich der Verhaltensvorteile auf biologische Reize, die dem menschlichen Spiegelneuronsystem zugeschrieben werden. Eine generelle Dysfunktion des Spiegelneuronsystems bei Patienten mit Autismus scheint somit nicht vorzuliegen.

b) Interferenzeffekte - ebenso mediiert durch das Spiegelneuronsystem - lassen sich in beiden Gruppen finden. Diese waren bei Kontrollen jedoch vermehrt abhängig vom Präsentationsmodus, wohingegen dieser Aspekt bei Patienten mit Autismus weniger stark ausgeprägt war. Dies lässt vermuten, dass eher die imitative Kontrolle, v.a. in

Hinblick auf den zeitlichen Zusammenhang von zwei Stimuli, oder aber die zeitliche Verarbeitung von sukzessiven Reizen bei Patienten mit ASS beeinträchtigt ist.

c) Patienten mit ASS zeigten v.a. in visuo-motorischen Aufgaben signifikant langsamere Reaktionszeiten.

Im Folgenden werden die wichtigsten Ergebnisse näher beleuchtet und diskutiert.

Die Verhaltensmuster beider Gruppen in Experiment 1 mit schnelleren Reaktionszeiten auf biologische Reize waren vergleichbar (Biermann-Ruben et al., 2008a, Jonas et al., 2010, Brass et al., 2000), was darauf hindeutet, dass die Verarbeitung von biologischen Stimuli in temporal-okzipitalen, superior-temporalen und ventral-motorischen/prämotorischen Arealen (Biermann-Ruben et al., 2008b) als Teilen des Spiegelneuronsystems intakt zu sein scheint. Dies wird auch dadurch gestützt, dass in Experiment 3 keine signifikante Interaktion der „Gruppe“ mit dem Faktor „Bewegungstyp“ auftritt, ebenfalls als Zeichen dafür, dass biologische und nicht-biologische Stimuli in beiden Gruppen ähnlich verarbeitet werden. Es besteht also, wie schon von Hamilton (Hamilton, 2009, Hamilton, 2013) vermutet, bei ASS keine generelle Dysfunktion des Spiegelneuronsystems. Entgegen einiger Vorstudien erweist sich in unseren Experimenten die automatische Imitation von einfachen, nicht-zielgerichteten Handlungen als intakt. Ein weiterer Hinweis auf ein intaktes imitatives System sowohl bei Gesunden (Brass et al., 2000) als auch Autisten (Bird et al., 2007, Spengler et al., 2014) ist das Vorhandensein eines Interferenzeffektes, der sich in schnelleren Reaktionszeiten auf kompatible im Vergleich zu inkompatiblen Stimuli zeigt.

Hinsichtlich des Interferenzeffektes offenbaren sich jedoch Gruppenunterschiede:

Obwohl in beiden Gruppen der Interferenzeffekt im Onset für den Finger größer ist als für den Punkt, finden sich in beiden Gruppen im Offset keine Unterschiede in Bezug auf den Bewegungstyp. Allerdings zeigt sich hier ein starker Interferenzeffekt für Finger-/Punktbewegungen bei den Patienten mit ASS, ein Aspekt, der sich bei Gesunden nicht widerspiegelt. Daher ist davon auszugehen, dass Patienten mit ASS noch längere Zeit durch den visuellen Reiz angesprochen und beeinflusst werden, der dem imperativen Ton voranging. Möglicherweise ist also die imitative Kontrolle - also die Unterdrückung einer automatischen Imitation von visuellen Reizen - bei Patienten mit ASS gestört. Da dies unabhängig vom Bewegungstyp auftritt, wäre denkbar, dass nicht nur die Kontrolle von imitativem Verhalten, sondern

auch die Inhibition von Reaktionen auf andere erlernte senso-motorische Reize (z.B. Reaktion auf Objekte, wie den Punkt) bei Patienten mit ASS verändert ist.

Desweiteren deuten die hier vorliegenden Ergebnisse darauf hin, dass gesunde Kontrollen besser zwischen zwei zeitlich aufeinanderfolgenden Reizen unterscheiden können, als Patienten mit ASS, die diese möglicherweise als zeitlich gekoppelt empfinden. Dazu passend wurde in Vorstudien gezeigt, dass das zeitliche Fenster, in dem visuelle und akustische Reize als gekoppelt empfunden wurden, bei Patienten mit ASS verlängert war (Foss-Feig et al., 2010). Als ursächlich wären z.B. Veränderungen im Kleinhirn denkbar (Sears et al., 1994, Salman, 2002).

Interessanterweise führten im Onset-Modus biologische Stimuli bei gesunden Kontrollen zu einem Verhaltensvorteil mit schnelleren Reaktionszeiten in kompatiblen Trials, wohingegen sich die Reaktionszeiten auf biologische Reize bei Patienten mit ASS in inkompatiblen Trials deutlich verlangsamten. Ein ähnliches Verhaltensmuster zeigten in einer Vorstudie Patienten mit dem Gilles de la Tourette-Syndrom (GTS), einer neuropsychiatrischen Erkrankung, die durch das Vorhandensein von vokalen und motorischen Tics sowie Echophänomenen charakterisiert ist (Jonas et al., 2010, Ganos et al., 2012). In der damaligen Studie wurde argumentiert, dass möglicherweise motorische Areale, die während der Beobachtung von Handlungen (und so auch in „echogenen Situationen“) aktiv sind, bei dieser Patientengruppe eine stärkere tonische Aktivierung zeigen, was wiederum durch stärkere inhibitorische Gegenregulation kompensiert werden muss. Die Gegenregulation der Überaktivität dieser Areale ist vor allem in potentiell „echogenen“ Situationen wie z.B. Experiment 3 wichtig, in dem die beobachteten biologischen Stimuli zwar nicht imitiert werden sollen, jedoch unbewusst und unwillkürlich imitatives Verhalten auslösen können. Solche Reaktionen könnten bei Patienten mit Tourette daher - v.a. in kompatiblen Trials - besonders anfällig sein für verstärkte inhibitorische Prozesse und daher den biologischen Verhaltensvorteil abschwächen, wohingegen umgekehrt in inkompatiblen Trials eine Überaktivität im imitativen System zu stärkeren (ungehemmten) Interferenzeffekten führen kann (Jonas et al., 2010).

Imitative Tendenzen wie Echolalie und Echopraxie werden in gehäufte Frequenz auch bei Patienten mit ASS beschrieben, wobei hier eine insuffiziente Top-Down-Regulierung des imitativen Verhaltens vermutet wird (Hamilton, 2008, Spengler et al., 2010). Dieses Defizit der imitativen Kontrollfunktionen könnte bei Patienten mit ASS wiederum zu stärkeren Interferenzeffekten führen, da die Neigung, auf (biologische)

Reize zu reagieren möglicherweise dominiert gegenüber der Fähigkeit des Patienten, die imitative Handlung zu unterbinden. Alternativ wäre auch denkbar, dass bei Patienten mit ASS auf Grund eines Imitationsdefizites in der frühkindlichen Entwicklung oder einer Entwicklungsverzögerung ein kompensatorisch überschießendes imitatives Verhalten resultiert (Biscaldi et al., 2013).

Reaktionszeiten und Fehlerraten in der vorliegenden Studie korrelierten nicht miteinander.

In Experiment 2, wenn auch nur numerisch und nicht statistisch signifikant wie in Experiment 1 und 3, erwiesen sich die Reaktionszeiten der Patienten mit ASS als langsamer im Vergleich zu denen der Kontrollgruppe. Neben einem Defizit der rein visuo-motorischen Verarbeitung im Gehirn wäre daher auch eine darüber hinausgehende Störung im globalen senso-motorischen System (z.B. auch das auditiv-motorische System eingeschlossen) denkbar. Passend zu Vorarbeiten könnte auch eine insgesamt langsamere motorische Leistungsfähigkeit/Arbeitsgeschwindigkeit als Erklärung für die langsameren Reaktionszeiten dienen (Biscaldi et al., 2013), wofür z.B. das schlechtere Abschneiden der ASS-Patienten in der Supermarkt-Aufgabe stehen könnte. Eine langsame verbale Flüssigkeit während dieser Aufgabe war in einer Vorstudie mit einer insgesamt verlangsamten Arbeitsgeschwindigkeit assoziiert (Spek et al., 2009). Auch der Aspekt, dass in der hier vorliegenden Studie eine negative Korrelation zwischen den Testergebnissen der Supermarkt-Aufgabe und den Reaktionszeiten besteht (= mehr verbale Flüssigkeit geht mit schnelleren Reaktionszeiten einher), deutet in diese Richtung.

Letztendlich sind als Ursachen der Reaktionszeitunterschiede beider Gruppen auch Set-up-bedingte Faktoren wie eine „Verhaltensirritation“ durch die spiegelbildliche Präsentation der Hand auf dem Bildschirm denkbar (Avikainen et al., 2003), wobei diese Art der visuellen Darstellung bei gesunden Kontrollen eher die Aktivität in den Spiegelneuron-Arealen verstärkte (Koski et al., 2003). Aufmerksamkeitsbezogene Faktoren sollten ebenfalls bedacht werden bei der Interpretation der Ergebnisse (Anderson et al., 2006, Rice et al., 2012).

Als Limitationen der Studie lassen sich folgende Aspekte nennen:

Die Untersuchung von Patienten mit hochfunktionalem Autismus ermöglichte zwar einerseits, bestimmte Störfaktoren (z.B. Einfluss von kognitiven Defiziten) zu

minimieren, eine allgemeingültige Aussage für die heterogene Gruppe der Autismus-Spektrum-Störungen kann dadurch jedoch nicht getroffen werden. Der Einfluss von visuellen Fähigkeiten der Teilnehmer sowie der der psychoaktiven Medikation einiger Patienten wurde nicht untersucht, könnte jedoch die Ergebnisse beeinflussen. Es handelt sich insgesamt um eine kleine, ausgewählte Patientengruppe, die zudem nicht das übliche Geschlechtsverhältnis von 4-5 betroffenen Männern auf 1 an ASS erkrankte Frau widerspiegelt (Centers for Disease Control and Prevention, 2014) und nur erwachsene Patienten untersucht.

Nichtsdestotrotz handelte es sich um ein gut selektiertes Patientenkollektiv und eine bereits standardisierte Methode.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass auf Grund von in beiden Gruppen vorhandenen Verhaltensvorteilen in der Reaktion auf biologische Stimuli sowie bei in beiden Gruppen vorhandenen Interferenzeffekten eine globale Dysfunktion des imitativen Systems unwahrscheinlich ist. Es fanden sich eher Hinweise auf eine beeinträchtigte Top-Down-Regulation und Kontrolle imitativer Reaktionen in potentiell echogenen Situationen bzw. auf Probleme bezüglich der zeitlichen Verarbeitung von aufeinanderfolgenden Reizen, die auf zerebellären Störungen beruhen könnten.

2. Erklärung des Eigenanteils an der Publikation

In der vorliegenden Publikation mit dem Titel „Behavioral examination of imitative responses mediated by the mirror neuron system in adults with autism spectrum disorders - Verhaltensstudie zu durch das Spiegelneuronsystem vermittelten imitativen Reaktionen bei Erwachsenen mit Autismus-Spektrum-Störung“, im Original benannt als „Mirror me: imitative responses in adults with autism“, die am 13. Januar 2015 von der Fachzeitschrift „*Autism: International Journal of Research and Practice*“ angenommen wurde und in Kürze veröffentlicht werden wird*, fungiere ich als alleinige Erstautorin. Bei bereits aus Vorstudien meiner Kollegen Prof. Alexander Münchau und Dr. Tobias Bäumer existierendem Verhaltensparadigma habe ich das sonstige Studiendesign gemeinsam mit meinem Doktorvater und Letztautor Prof. Dr. med. Alexander Münchau sowie den Co-Autoren Dr. Nicole David und Dr. Daniel Schöttle entworfen. Die Vorbereitung der Studie, die Patientenrekrutierung und -aufklärung sowie die Durchführung der Versuche und Erhebung der Daten habe ich in eigener Verantwortung selbständig vorgenommen. Gemeinsam mit meinem Doktorvater habe ich zudem den Ethikantrag an die Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg sowie einen Förderantrag an die Else Kröner-Fresenius-Stiftung erarbeitet und eingereicht. Einzelne Fragebogendaten wurden - zur Verringerung des Arbeitsaufwandes für die Patienten - von Ina Peiker erhoben, bei der sich einige wenige Probanden für eine weitere Studie zu Autismus mit ähnlichem Design angemeldet hatten. Bei der Video-Analyse der Tics unterstützte mich meine Kollegin Ursula Kahl. Anschließend habe ich vorwiegend selbstständig und unter Entwicklung eigener Analyse- und Statistikmodelle die Verhaltensdaten analysiert, diese mit Hilfe des Statistikers Eik Vettorazzi (dieser übernahm die graphische Darstellung der Fehlerraten) und meiner Kollegin Valerie Brandt optimiert und die Daten gemeinsam mit meinen Kollegen und Co-Autoren Prof. Alexander Münchau, Dr. Christos Ganos, Prof. Andreas K. Engel und Prof. Dr. Marcel Brass interpretiert. Das Manuskript habe ich in der Erstversion selbständig verfasst und im Anschluss mit allen Co-Autoren gemeinsam vervollständigt und optimiert. Die hier vorliegende deutschsprachige Zusammenfassung habe ich selbstständig erstellt und mit meinem Doktorvater abgestimmt.

*Mirror me: Imitative responses in adults with autism. Schunke O et al., Autism. 2015 Mar 13. DOI: 10.1177/1362361315571757. [Epub ahead of print]

3. Literaturverzeichnis

Anderson CJ, Colombo J and Jill Shaddy D. (2006) Visual scanning and pupillary responses in young children with Autism Spectrum Disorder. *J Clin Exp Neuropsychol.* 28(7): 1238-1256.

Avikainen S, Wohlschlager A, Liuhanen S, et al. (2003) Impaired mirror-image imitation in Asperger and high-functioning autistic subjects. *Curr Biol.* 13(4): 339-341.

Biermann-Ruben K, Jonas M, Kessler K, et al. (2008a) Observing repetitive finger movements modulates response times of auditorily cued finger movements. *Brain Cogn.* 68(1): 107-113.

Biermann-Ruben K, Kessler K, Jonas M, et al. (2008b) Right hemisphere contributions to imitation tasks. *Eur J Neurosci.* 27(7): 1843-1855.

Bird G, Leighton J, Press C, et al. (2007) Intact automatic imitation of human and robot actions in autism spectrum disorders. *Proc Biol Sci.* 274(1628): 3027-3031.

Biscaldi M, Rauh R, Irion L, et al. (2013) Deficits in motor abilities and developmental fractionation of imitation performance in high-functioning autism spectrum disorders. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 23(7):599-610.

Brass M, Bekkering H, Wohlschlager A, et al. (2000) Compatibility between observed and executed finger movements: comparing symbolic, spatial, and imitative cues. *Brain Cogn.* 44(2): 124-143.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. (2014) Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years - autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. *MMWR. Surveillance Summaries* 63(2): 1-21.

Dilling H, Freyberger HJ and WHO. (2008) Taschenführer zur ICD-10-Klassifikation psychischer Störungen. Mit Glossar und Diagnostischen Kriterien ICD-10:DCR-10 und Referenztabellen ICD-10 v.s. DSM-IV-TR. Nach dem englischsprachigen Pocket Guide von J.E. Cooper, Bern: Huber.

Foss-Feig JH, Kwakye LD, Cascio CJ, et al. (2010) An extended multisensory temporal binding window in autism spectrum disorders. *Exp Brain Res.* 203(2): 381-389.

Ganos C, Ogrzal T, Schnitzler A, et al. (2012) The pathophysiology of echopraxia/echolalia: relevance to Gilles de la Tourette syndrome. *Mov Disord.* 27(10): 1222-1229.

Hamilton AF. (2008) Emulation and mimicry for social interaction: a theoretical approach to imitation in autism. *Q J Exp Psychol (Hove)* 61(1): 101-115.

Hamilton AF. (2009) Goals, intentions and mental states: challenges for theories of autism. *J Child Psychol Psychiatry*. 50(8): 881-892.

Hamilton AF. (2013) Reflecting on the mirror neuron system in autism: a systematic review of current theories. *Dev Cogn Neurosci* 3: 91-105.

Iacoboni M and Dapretto M. (2006) The mirror neuron system and the consequences of its dysfunction. *Nat Rev Neurosci* 7(12): 942-951.

Jonas M, Thomalla G, Biermann-Rubén K, et al. (2010) Imitation in patients with Gilles de la Tourette syndrome--a behavioral study. *Mov Disord*. 25(8): 991-999.

Koski L, Iacoboni M, Dubeau MC, et al. (2003) Modulation of cortical activity during different imitative behaviors. *J Neurophysiol*. 89(1): 460-471.

Mattis S. (1988) *Dementia Rating Scale professional manual*. Odessa, FL: Psychological Assessment Resources.

Rice K, Moriuchi JM, Jones W, et al. (2012) Parsing heterogeneity in autism spectrum disorders: visual scanning of dynamic social scenes in school-aged children. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 51(3): 238-248.

Salman MS. (2002) The cerebellum: it's about time! But timing is not everything--new insights into the role of the cerebellum in timing motor and cognitive tasks. *J Child Neurol*. 17(1):1-9.

Sears LL, Finn PR and Steinmetz JE. (1994) Abnormal classical eye-blink conditioning in autism. *J Autism Dev Disord*. 24(6): 737-751.

Spek A, Schatorje T, Scholte E, et al. (2009) Verbal fluency in adults with high functioning autism or Asperger syndrome. *Neuropsychologia* 47(3): 652-656.

Spengler S, Bird G and Brass M. (2010) Hyperimitation of actions is related to reduced understanding of others' minds in autism spectrum conditions. *Biol Psychiatry*. 68(12): 1148-1155.

Wittchen HU, Zaudig M and Fydrich T. (1997) *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV*: Göttingen: Hogrefe.

4. Danksagung

Ich bedanke mich ausdrücklich bei meinem stets mit Rat, Tat und menschlichem Einfühlungsvermögen zur Seite stehenden Betreuer und Doktorvater Prof. Dr. med. Alexander Münchau, der mir die Chance gegeben hat, in einer engagierten, dynamischen, innovativen und Horizont-erweiternden Arbeitsgruppe meine Doktorarbeit zu schreiben und an einem mir am Herzen liegenden, hochinteressanten Thema zu forschen. Daneben danke ich sehr meinen Kollegen Christos Ganos, Valerie Brandt, Tobias Bäumer, Simone Zittel und Agnes Modzydowski und weiteren, die ebenfalls immer für mich ansprechbar waren und mich stets unterstützten. Ich hatte das große Glück, dadurch die Forschungswelt ausführlich kennenzulernen, bereits einige Publikationen gemeinsam mit meinen Kollegen veröffentlichen zu können und mein wissenschaftliches Interesse und Wissen weiter auszubauen. Dank gilt auch unserem Statistik-Experten Eik Vettorazzi, der viel Geduld für zahlreiche tiefgründige Statistik-Fragen aufgebracht hat.

Positiven Antrieb erhielt ich von meinen Großeltern, denen ich sehr dankbar bin. Intensiv bedanken möchte ich mich bei meinem Freund Boris Fründt, der mich oft zeitlich entbehren musste während der Promotionszeit, mich jedoch stets verständnisvoll unterstützte, mich technisch auf den neuesten Stand brachte, mir stets Mut machte und mich motivierte. Meine Eltern und mein Bruder Martin waren mir ebenso stets ein starker Rückhalt, höchstgradigste Motivatoren sowie liebe- und verständnisvoller Rückzugsort und ich bin ihnen für wichtige Hinweise/Kritiken und viele anregende Diskussionen zu dem Thema sehr dankbar.

Schlussendlich möchte ich den Patienten für ihre Teilnahme und ihr Engagement sowie der Else Kröner-Fresenius-Stiftung für ihre großzügige finanzielle Unterstützung danken (grant 2011_A37).

5. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift:

6. Kopie der Publikation (accepted version³) „Mirror me: Imitative Responses in adults with autism“ veröffentlicht im Fachjournal „Autism“ Februar 2016 (Epub 13.März 2015)⁴

³ „Autism“ gehört zur Gruppe der SAGE Journals nach deren „Copyright and Permissions“ Regelungen nur die „accepted version“ des eingereichten Manuskripts anderweitig veröffentlicht werden darf, nicht aber der publizierte Artikel (for further information see: <https://uk.sagepub.com/en-gb/eur/copyright-and-permissions#7>)

⁴ Die veröffentlichte Version des Artikels ist auf der Internetseite von „Autism“ (<http://aut.sagepub.com/content/20/2/134.abstract>) oder über pubmed.com zugänglich.

Mirror me: imitative responses in adults with autism

Journal:	<i>Autism</i>
Manuscript ID:	AUT-14-0122.R2
Manuscript Type:	Original Article
Keywords:	Autism, Imitation , mirror neurons, reaction times, interference
Abstract:	<p>Dysfunctions of the human mirror neuron system (MNS) have been postulated to underlie some deficits in autism spectrum disorders (ASD) including poor imitative performance and impaired social skills. Using three reaction time (RT) experiments addressing MNS functions under simple and complex conditions, we examined 20 adult ASD participants and 20 healthy controls matched for age, gender and education. Participants performed simple finger-lifting movements in response to 1) biological finger and non-biological dot movement stimuli, 2) acoustic stimuli and 3) combined visual-acoustic stimuli with different contextual (compatible/incompatible) and temporal (simultaneous/asynchronous) relation. Mixed model analyses revealed slower RTs in ASD. Both groups responded faster to biological compared to non-biological stimuli (Experiment 1) implying intact processing advantage for biological stimuli in ASD. In Experiment 3 both groups had similar "interference effects" when stimuli were presented simultaneously. However, ASD participants had abnormally slow responses particularly when incompatible stimuli were presented consecutively. Our results suggest imitative control deficits rather than global imitative system impairments.</p>

SCHOLARONE™
Manuscripts

Original Article

Abstract

Dysfunctions of the human mirror neuron system (MNS) have been postulated to underlie some deficits in autism spectrum disorders (ASD) including poor imitative performance and impaired social skills. Using three reaction time (RT) experiments addressing MNS functions under simple and complex conditions, we examined 20 adult ASD participants and 20 healthy controls matched for age, gender and education. Participants performed simple finger-lifting movements in response to 1) biological finger and non-biological dot movement stimuli, 2) acoustic stimuli and 3) combined visual-acoustic stimuli with different contextual (compatible/incompatible) and temporal (simultaneous/asynchronous) relation. Mixed model analyses revealed slower RTs in ASD. Both groups responded faster to biological compared to non-biological stimuli (Experiment 1) implying intact processing advantage for biological stimuli in ASD. In Experiment 3 both groups had similar “interference effects” when stimuli were presented simultaneously. However, ASD participants had abnormally slow responses particularly when incompatible stimuli were presented consecutively. Our results suggest imitative control deficits rather than global imitative system impairments.

Keywords

Autism, mirror neurons, imitation, reaction times, interference

Introduction

Autism spectrum disorders (ASD) are characterised by good performance on tasks requiring systemizing and the perception of detail (Baron-Cohen et al., 2009), and poor performance on

tasks requiring an understanding of mental states, emotional processing and imitation (for reviews see (Williams et al., 2001; Williams et al., 2004; Vivanti and Hamilton, 2014)). To imitate, observed actions are matched onto motor representations in the observer's motor system (Rizzolatti and Craighero, 2004) via an action observation-execution matching system (AOEM) engaging, among other neuronal circuits, the mirror neuron system (MNS). The MNS, first described in primates, predominantly comprises the inferior frontal gyrus, the inferior parietal and superior temporal lobe (Iacoboni and Dapretto, 2006) and is closely linked to the anterior cingulate cortex and insula (Rizzolatti and Fabbri-Destro, 2008), areas that are implicated in empathy and understanding others' emotions and intentions - some of the core problems in ASD. There is an ongoing debate whether MNS dysfunctions are relevant in the pathophysiology of ASD (Hamilton, 2013; Iacoboni and Dapretto, 2006). Results of studies addressing MNS functioning in ASD are conflicting. Some suggested global MNS dysfunction (review: (Iacoboni and Dapretto, 2006)), others partial dysfunction, mainly related to the imitation of non-goal directed actions (Hamilton, 2008), normal functioning (Bird et al., 2007) or even MNS hyperactivity, probably as a consequence of impaired imitative top-down control (Spengler et al., 2010; Hamilton, 2008). Incorporating data on behavioural, neurophysiological and neuroimaging studies examining the MNS in ASD Hamilton (Hamilton, 2008; Hamilton, 2013) suggested replacing the somewhat imprecise "broken mirror hypotheses" in ASD with a more specific model of partially disturbed imitation in these patients. Thus, whereas ASD patients show normal performance and normal brain activity on meaningful "emulation" tasks that involve a goal or object, i.e. goal-directed imitation (for review see (Gowen, 2012)), they have performance deficits predominantly in "imitation/mimicry" tasks (Wild et al., 2012). The latter require spontaneous copying of low-level, kinematic features of an action that does not normally involve an object or goal, but are either meaningless gestures or facial expressions.

Spontaneous mimicry of meaningless actions - also referred to as automatic imitation - appears to be lacking in ASD (Gowen, 2012; Wild et al., 2012; Hamilton, 2008).

To this end, we tested reaction times (RT) of ASD patients and healthy controls in previously validated tasks involving the automatic imitation of simple, meaningless movements (Biermann-Ruben et al., 2008a; Jonas et al., 2010). In the main experiment, participants were asked to immediately respond to meaningless finger lifting or dot movements with their corresponding finger. We hypothesized that in ASD the observation of biological (finger) movements, known to lead to reaction time decreases in healthy controls, would not convey behavioural advantages reflecting their difficulty in mimicry tasks. In a more complex visuo-acoustic experiment we used two different either contextually compatible or incompatible stimuli to study "interference effects". These could result from co-activation of different elements within the MNS (Blakemore and Frith, 2005) and might therefore be attenuated if the MNS was organized abnormally. On the other hand, "interference effects" are influenced by top-down control of imitation (Hamilton, 2008) and might therefore be more pronounced if such top-down control was reduced.

Importantly, in the complex visuo-acoustic experiment, compatible and incompatible stimuli were either presented simultaneously or consecutively (Biermann-Ruben et al., 2008a). In healthy subjects, only simultaneous stimulus presentation led to significant interactions of the type of stimuli (finger vs. dot) and compatibility effects indicating that such interaction crucially depends on the timing of the presentation (Jonas et al., 2010; Biermann-Ruben et al., 2008a).

Abnormalities in the perception of stimulus onset synchrony/asynchrony have previously been found in ASD in a flash-beep illusion paradigm (Foss-Feig et al., 2010). In addition, problems with respect to timing probably related to cerebellar abnormalities in ASD (Sears et al., 1994) may lead to abnormal "interference effects" particularly with respect to the presentation mode (simultaneously or consecutively) in these patients.

Patients included in this study were thoroughly assessed clinically. Reaction times were related to neuropsychiatric measures to explore the relationship between behavioural data and neuropsychiatric (autistic) traits.

Methods

Participants

All clinical instruments described below were applied in both ASD participants and healthy controls. Neuropsychiatric assessment included a Structured Clinical Interview for DSM-IV axis 1 and 2 disorders (SKID; (Wittchen et al., 1997)) and a standard neurological examination.

Healthy controls with manifest psychiatric diseases according to the SKID or neurologic comorbidities were excluded.

Initially, 24 patients with suspected ASD were assessed in a psychiatric interview using the ICD-10 criteria (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision (Dilling et al., 2008)). Participants with the diagnostic categories F84.0 (criterion A [at least 1 criterion], B [at least 6 symptoms with 2 out of the first domain and one from each of the other two domains] and C had to be fulfilled) and F84.5 (categories A-D) were included. In 9 of them, an additional third-party history by a family member or friends was included.

Three of the 24 patients recruited for this study were excluded because suspected ASD was not confirmed. Another patient was excluded because he was left-handed (the experiment was designed for right-handed participants). One of the initially recruited 21 healthy controls was excluded because of present alcohol abuse.

Thus, 20 ASD patients (9 male) were included in the study. They were aged between 20 and 48 years (mean age 32.6 years +/- SD 8.15). Eight were diagnosed with high-functioning autism (4 male) and 12 with Asperger syndrome (5 male). The control group consisted of 20 healthy

participants matched for age (33.1+/-7.90 years; $p=0.830$), gender (9 male) and education (each group: 'no A level' (n=9), 'A level' (n=2) and 'university' (n=9)). IQ-values did not differ between ASD (mean=109.5+/-14.28 ranging from 92 to 130) and control participants (mean=106.2+/-13.41 [92-136]; $U=226.00$, $z=0.706$, $p=0.480$). All participants were right-handed (except one ambidextrous) according to the Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1971). Eleven ASD participants had comorbid psychiatric disorders at the time of the study (two each had depression, OCD, ADHD, combined ADHD and OCD, combined ADHD, dysthymia and OCD and one had ADHD and dysthymia). Two ASD participants with a history of chronic cannabis abuse were abstinent for at least 1 year prior to the study. Hearing was intact in every participant. No control but six ASD participants took psychiatric medication (2 SSRI, 1 SSNRI, 1 opipramole, 1 promethazine, 1 fluvoxamine, pregabalin and methylphenidate).

All participants gave their written informed consent in accordance with the Declaration of Helsinki (1964). The study was approved by the ethics committee of the medical council of Hamburg (PV3506).

Neuropsychiatric tests

The German Multiple Choice Word Test (MWT-B; (Lehrl, 2005) was used to calculate individual verbal IQ levels and the supermarket fluency task (Mattis, 1988) to evaluate semantic verbal fluency that is said to be impaired in ASD and to be associated with low processing speed (Spek et al., 2009). It might be associated with low processing speed in ASD in the present experiment because both processes likely engage the ventral premotor cortex. The Autism Quotient (AQ; (Baron-Cohen et al., 2006), Empathy Quotient (EQ, (Baron-Cohen and Wheelwright, 2004), Systemizing Quotient (SQ; (Baron-Cohen et al., 2003)) and the Reading the mind in the eyes test (Baron-Cohen et al., 2001) were used to quantify autistic trait severity.

Each participant completed questionnaires assessing comorbidities potentially interfering with experimental results e.g. depression (Beck depression inventory (BDI); (Beck et al., 1961), attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) (German self assessment scale (ADHS-SB; (Rosler et al., 2004)) and obsessive compulsive disorder (OCD; Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale (Y-BOCS), (Goodman et al., 1989)). Although no participant had a diagnosis of a tic disorder prior to the study, tics, a common comorbidity in ASD (Canitano and Vivanti, 2007) that could influence task performance (Jonas et al., 2010), were assessed using the modified Rush video protocol (Goetz et al., 1999). They were distinguished from stereotypies using criteria mentioned by Cath et al. (Cath et al., 2011). The total Rush score and the Yale Global Tic Severity Scale (YGTSS; (Leckman et al., 1989)) were calculated. All clinical parameters were correlated with behavioural data.

Experimental setup

Stimuli and setup were presented with Presentation software version 14.1. (<http://www.neurobs.com/>). Participants were seated in front of a PC screen at a distance of 70 cm in a dimmed, acoustically shielded room and performed three behavioural experiments lasting a total of ≈35 minutes (Biermann-Ruben et al., 2008a; Jonas et al., 2010). Before each experiment, they completed a short training phase. Participants observed video clips showing movement sequences performed by either the index or the little finger of a left male hand (front view). Movements of the fingers are referred to as the “biological (socially biased) stimulus”. Additionally, red dots were attached to both index and little fingertips of the video-recorded hand. Dot movements are referred to as the “non-biological stimuli” as they are not socially biased. Dot movements had an identical kinematic profile as finger movement to ensure comparability of stimuli used.

Participants were asked to constantly fixate a white cross located centrally arranged in equal distance from both fingertips. They were instructed to imitate the presented movement sequence as fast as possible using the corresponding fingers of their own right hand (placed in photoelectric barriers recording RTs) thereby creating a “mirror effect” which typically increases MNS activation (Koski et al., 2003). The stimulus setting comprised movements of two different fingers in order to prevent expectancy effects.

Experiments

Experiment 1. Participants were instructed to imitate the following three different types of movement (TM) stimuli by lifting their corresponding index or little finger (Figure 1(a), (Jonas et al., 2010)):

- (a) finger = an isolated movement (lifting and lowering) of the presented index or little finger was shown = “biological” stimulus;
- (b) dot = isolated movement (lifting and lowering) of presented red dot on either the index or littler fingertip = “non-biological” stimulus (fingers do not move in this condition);
- (c) finger & dot = finger and dot are moving together.

[insert Figure 1.]

Each type of movement (composed of 12 single pictures) lasted about 0.4 seconds and was presented randomly 24 times (= total of 72 trials). Before and after the movement a static hand was presented (1.5 seconds). Inter-trial intervals (=black screen) lasted 2 seconds.

Experiment 2. This was a simple acoustic reaction time task (40 trials, each lasting 3.5 seconds; inter-trial interval = 2 seconds) where participants fixated the motionless, static hand and were

asked to respond to two tones (500 or 1000 Hz) as quickly as possible. They were randomly assigned to respond to the low tone by lifting their index and to the high tone by lifting their little finger or vice versa. In 4 catch trials only the static hand but no tone was given to ensure persistent attention to the task. This task always preceded Experiment 3 and served as a preparatory training for the acoustic part of the experiment.

Experiment 3.

The third paradigm was used as previously described (Biermann-Ruben et al., 2008a; Jonas et al., 2010) and combined visual and acoustic stimuli. Participants viewed stimuli showing either two consecutive “finger & dot movements” or two “dot movements” (“type of movement”: TM) and were instructed to watch the movements closely but only to react in response to a tone (see Experiment 2), but not to the movement on the screen. Movements displayed on the screen could be either compatible (different stimuli; same action) or incompatible (different stimuli; different action) with the participants’ “reactive” movement instructed by the tone (Figure 1b). We subsequently refer to this aspect as “compatibility” (Comp). Tones were presented either at the beginning (onset presentation, i.e. simultaneously) or after completion of the second movement (offset presentation, i.e. consecutively), which is referred to as “presentation mode” (PM). This experiment comprised of five blocks with 160 main and 40 catch trials (static hand without movement sequence or tone). Finger lifting and lowering (13 pictures, each with duration of 32ms) was preceded and followed by presentation of the static hand (1.5 seconds) and an intertrial-interval. For all 3 experiments RT and error rates were recorded.

As previous studies showed that “finger” and “finger and dot” movements lead to similar RT in healthy subjects (Jonas et al., 2010), the “finger and dot” movements in Experiment 3 are - for

simplicity - equated with “finger” movements to point to the difference between biological and non-biological movements.

Statistical analysis

Analyses were performed with IBM® SPSS® Statistics 20 (www.ibm.com/software/de/analytics/spss/products/statistics/).

RT represents the duration between stimuli onset and the subject’s lifting response. Results of index and little finger were averaged. RT outliers (RT < and > 2.5 SD and RT < 100ms), omissions and false responses were excluded. Group comparisons of neuropsychiatric tests were analysed using independent t-tests or non-parametric Mann-Whitney tests. As we matched ASD-control couples for age, gender and education we introduced the variable “pairs” in our linear mixed model analyses (1:1 matching, both ASD and control subjects got the identical “pairs” number). Fixed and random effects are given separately for each experiment below. Random effects were constructed using QQ-plots of the residuals. Including factors explaining variance heterogeneity as random effects, normal distribution of residuals was established. Competing models were judged using the Akaike information criterion. A diagonal covariance structure suitable for repeated measures was applied. In the final model, restricted maximum likelihood and type III tests were used to estimate parameters. Finally, paired comparisons of estimated marginal means were conducted.

For error rates measured as counts we generally used negative binomial regressions models. Because we expected controls to make fewer errors we also used zero-inflated models which are available in the R package `pscl` (<http://www.r-project.org/>; (Zeileis et al., 2008)). Model selection was based on likelihood ratio tests (nested models) or Vuong’s test for non-nested

models (see also (Karazsia and van Dulmen, 2008)). The Spearman coefficient was used to correlate RTs, error rates and clinical parameters.

Results

Neuropsychiatric assessment

As expected, ASD participants scored higher in autism questionnaires and comorbidity scores for depression, ADHD and OCD and showed poorer performance in the Reading mind and supermarket task. Tics occurred more often in ASD participants. Details of neuropsychiatric assessment are given in Table 1.

Table 1. Neuropsychiatric assessment.

Test (mean [range]+/- standard deviation)	Controls	Autism	Group comparison (<i>p</i>-value)
Autism Quotient:	13.40 [6-25]+/-3.90	38.80 [24-48]+/-5.50	p=0.000
Empathy Quotient:	43.85 [28-66]+/-9.68	18.10 [4-42]+/-9.39	p=0.000
Systemizing Quotient:	19.90 [8-42]+/-8.23	35.05 [5-56]+/-15.62	p=0.000
Reading the mind in the eyes test ^a :	24.45 [17-31]+/-3.78	21.00 [8-29]+/-5.15	p=0.022
Supermarket task:	30.15 [17.0-44.0]+/-7.5	20.6 [13.0-28.0]+/-4.2	p=0.001
Beck depression inventory ^a :	4.05 [0-10]+/-2.50	9.95 [0-30]+/-9.25	p=0.045
“ADHS- Selbstbeurteilungs- Skala” ^{ab} :	12.70 [0-46]+/-11.43	22.85 [0-41]+/-12.07	p=0.006
Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale:	0.05 [0-1]+/-0.22	7.65 [0-21]+/-7.44	p=0.000

Tics:	n=1	n=9	-
Yale global tic severity scale:	all: 0.60 [0-12]+/-2.68 (with tics: 12.0)	all: 4.20 [0-21]+/-6.04 (with tics: 9.33 [4-21]+/-5.72)	all: p=0.005
Total Rush Score:	all: 0.30 [0-6]+/-1.34 (with tics: 6.0)	all: 1.85 [0-8]+/-2.46 (with tics: 4.11 [3-8]+/-1.97)	all: p=0.019

Abbreviations: n: number of patients.

^a Data of 1 patient is missing.

^b No manifest ADHD in controls during interview.

Experiment 1

A mixed model analysis “RTs” by “TM” (finger vs. dot vs. finger & dot) and “group” (controls vs. ASD) was performed. Fixed effects were “group”, “TM” and their interaction. “Group” in conjunction with “pairs” was also used as random effect to retain the matched ASD-control structure. Below, the estimated means of RTs and their confidence intervals [CI] are given. There was no interaction, but a significant main effect of “group” ($p=0.006$) with paired comparisons showing faster total mean RTs in controls (391ms) compared to ASD participants (518ms; difference=127ms[38-215ms]). There was an effect of “TM” ($p<0.001$) with slower RTs to dot (476ms) as compared to finger (443ms; difference=33ms[25-42ms]; $p<0.001$) and finger & dot movement stimuli (445ms; difference=32ms[20-42ms]; $p<0.001$). RTs to finger or combined finger & dot stimuli were similar ($p=0.599$). This “biological advantage” applied to both groups (Table 2/Figure 2).

Table 2. Error rates and reaction times in Experiment 1

	Controls	Autism
Reaction times		
Observed reaction time in milliseconds: mean+/-standard deviation		
Total	391+/-61.87	518+/-188.68
Finger & Dot	380+/-57.49	509+/-183.35

Finger	380+/-60.86	505+/-181.57
Dot	412+/-70.62	540+/-203.32
Mixed Model Effects (F-statistics, p-value)		
Type of movement	F(2,40.17)=30.681, p<0.001	
Group	F(1,37.70)=8.358, p=0.006	
Error rates		
Observed error rate (absolute): mean+/-standard deviation		
Total	2.2+/-2.2	1.8+/-2.3
Finger & Dot	0.9+/-1.1	0.6+/-0.9
Finger	0.6+/-0.9	0.5+/-0.7
Dot	0.7+/-0.9	0.7+/-1.2
Negative binomial model (p-values)		
Type of movement	p=0.685	
Group	p=0.403	

A similar mixed model analysis including comorbidity test scores of ADHS-SB, BDI and Y-BOCS as covariates did not reveal any significant effects. Thus, comorbidities were omitted in subsequent analyses.

[insert Figure 2.]

A negative binomial regression model showed no differences in error rates (see supplement 1) for "group" ($p=0.40$) or "TM" ($p=0.69$). RTs and error rates did not correlate.

No group differences were found concerning the learning effect in the preceding training phase. In experiment 1 only, RT variance in ASD was greater and scatter plots revealed 7 ASD participants with aberrant high RTs. We found no pattern in epidemiologic or neuropsychiatric tests mentioned above characterising this subgroup (see supplement 2).

Experiment 2

A mixed model analysis “RTs” by “group” was performed with “group” as fixed and in conjunction with “pairs” also as random effect. Although mean RTs differed numerically between controls (421ms[373-469ms]) and ASD participants (475ms[427-523ms], difference≈54ms), there was no significant effect of “group” ($p=0.112$). For error counts, we did not find group differences (controls: 2.2 errors / ASD: 2.8; $p=0.493$; see supplement 3). RTs and error rates did not correlate.

Experiment 3

We set up a linear mixed model for RTs using “PM” (onset vs. offset), “Comp” (compatible vs. incompatible), “TM” (finger vs. dot) and “group” (controls vs. ASD) as fixed effects. The interaction of “Comp” and “group” was identified as the main explanation for variance heterogeneity and was included as random effect resulting in normal distribution of residuals. For “PM”, “Comp” and “TM” repeated measures were conducted.

Analysis of RTs revealed no significant fourfold interaction. The interaction “ $PM*Comp*TM$ ” was significant ($F(1,210.38)=5.185$, $p=0.024$) indicating that RTs in *both groups* vary in response to finger and dot movement stimuli as a function of stimulus compatibility and temporal presentation. Paired comparisons of estimated means and their confidence intervals [CI] revealed the following. There was an overall “interference effect” (= faster RTs in compatible compared to incompatible trials) for finger and dot movement stimuli in the onset (finger: difference=59ms[28-90ms], $p<0.001$ / dot: difference=29ms[2-60ms], $p=0.066$) and offset mode (finger: difference=37ms[4-70ms], $p=0.030$ / dot: difference=40ms[7-72ms], $p=0.018$). Onset (513ms) outpaced offset stimuli (531ms) significantly only in the compatible finger movement condition (difference=18ms[3-32ms], $p=0.020$). This “simultaneity effect” was absent in incompatible or dot conditions. For the onset mode, there was a “biological advantage” with

faster RTs to compatible finger (513ms) compared to compatible dot (531ms) movement stimuli (difference=18ms[4-31ms], $p=0.014$). In contrast, the onset incompatible finger (572ms) condition led to slower RTs as compared to the dot condition (560ms, difference=12ms[1-24ms], $p=0.035$). The offset mode did not show any significant differences.

Focusing on *group differences*, we found that the three-way interaction “*PM*Comp*group*” was significant ($F(1,211.41)=8.115$, $p=0.005$) indicating that groups differed with respect to compatible and incompatible stimuli in the on- and offset condition. In paired comparisons of estimated means ASD participants had slower RTs in all experimental conditions compared to controls (all p -values ≤ 0.020 , Figure 3(a)). Controls showed a “simultaneity effect” with faster RTs to compatible onset (477ms) compared to compatible offset (495ms) stimuli (difference=17ms[3-32ms], $p=0.022$). This was not true for incompatible stimuli or the ASD group. When responses (to either finger or dot movements) were combined ASD participants revealed a marginally significant “interference effect” in the onset (difference incompatible-compatible=39ms[4-81ms], $p=0.072$) and a significant “interference effect” in the offset condition (difference=53ms[10-97ms], $p=0.017$). By contrast, controls showed this “interference effect” only in the onset mode (difference=49ms[7-92ms], $p=0.022$).

To further investigate this “interference effect”, we analysed its magnitude (=difference between incompatible and compatible trials) for both finger and dot movement stimuli in the onset and the offset mode (Figure 3(b)) using Wilcoxon tests for inner group and Mann-Whitney tests for between group comparisons. In the onset mode, both groups revealed a greater “interference effect” for biological finger movement stimuli compared to dot movement stimuli (controls: $z=-2.389$, $p=0.017$ / ASD: $z=-2.091$, $p=0.037$) whereas in the offset mode the “interference effect” of finger and dot was similar (controls: $z=-0.709$, $p=0.478$ / ASD: $z=1.008$, $p=0.313$). Controls, but

not ASD participants, showed a greater “interference effect” for the finger when stimulus presentation was simultaneous as compared to consecutive presentation (controls: $z=-3.099$, $p=0.002$, ASD: $z=-0.709$, $p=0.478$). In contrast, ASD participants had “interference effects” in both conditions. In contrast to controls ($z=-1.307$, $p=0.191$), ASD participants even showed a greater “interference effect” for the dot when stimulus presentation was consecutive as compared to simultaneous ($z=2.165$, $p=0.030$). This indicates that in ASD only consecutive stimulus presentation interfered with both biological and non-biological conditions. Comparing both groups, only the “interference effect” during the offset dot condition differed significantly being larger in the ASD group ($U=277.00$, $z=-2.083$, $p=0.037$).

There was no significant interaction including “TM” and “group” indicating a similar processing of biological and non-biological stimuli in both groups. Nevertheless, we exploratory used paired comparisons of estimated means for each of the performed eight conditions to investigate minor differences between RTs to finger as compared to dot movement stimuli (Figure 3(a)). Whereas controls benefited from the presentation of finger as compared to dot movement stimuli in the compatible onset condition (difference=26ms[11-41ms], $p=0.002$), ASD participants showed a reversed pattern in the incompatible offset condition in which RTs to dot movement stimuli were shorter than those to finger movement stimuli (difference=21ms[7-35ms], $p=0.003$).

[insert Figure 3.]

Using a negative binominal model we found error rate differences between both groups ($p<0.001$) in general with higher error counts in ASD (mean=1.2[1.0-1.5]) compared to controls (0.5[0.4-0.7]), but no effect of “PM”, “Comp”, “TM” or their interactions (see supplement 4). RTs and error rates were not correlated.

Correlations

Correlations between RT and clinical parameters were performed mainly to explore potential relationships between behavioural results and severity of symptoms. All significant correlations are given in Table 3. Most importantly, total mean RTs in ASD in all three experiments correlated negatively with the supermarket task indicating that ASD participants with faster RTs perform better in the supermarket task.

Table 3. Significant correlations (Spearman's coefficient r_s and p-values) of reaction times per experiment (upper part) and interference effects (=difference of incompatible - compatible trials) in the onset and offset condition (lower part) with clinical parameters.

Correlations of clinical parameters with total mean reaction times (RT)				
Autism				
Parameter	RT Experiment 1	RT Experiment 2	RT Experiment 3	
Supermarket task	$r_s=-0.546$, $p=0.013$	$r_s=-0.622$, $p=0.003$	$r_s=-0.476$, $p=0.034$	
Controls				
Age	$r_s=0.455$, $p=0.044$	-	-	
IQ	-	$r_s=-0.489$, $p=0.029$	-	

Significant correlations of clinical parameters with the interference effects				
Autism				
Parameter	Onset		Offset	
	Interference effect Finger	Interference effect Dot	Interference effect Finger	Interference effect Dot
Supermarket task	-	-	$r_s=-0.545$, $p=0.013$	-
Read the mind in the eyes test ^a	-	-	-	$r_s=-0.496$, $p=0.026$

Controls				
Age	-	-	$r_s=0.461,$ $p=0.041$	-
IQ	-	-	$r_s=-0.550,$ $p=0.012$	-
Beck depression inventory (BDI)**	-	$r_s=-0.517,$ $p=0.020$	-	-

^a Data of one patient is missing.

Discussion

The current study aimed at contributing to the frequently disputed hypothesis of a MNS dysfunction in ASD by using three behavioural experiments addressing its functioning. The main findings of the present series of experiments are i) that, contrary to our initial hypotheses, behavioural advantages conveyed by the observation of biological (finger) movements attributable to the human MNS did not differ between groups arguing against a general MNS dysfunction in ASD and ii) that interference of compatibility effects and type of stimuli depended on the presentation mode (onset vs. offset) in healthy controls but less so in ASD. The latter suggests impaired control of imitation, particularly with respect to the timing of presented stimuli, in these patients.

Response patterns in Experiment 1 were identical in both groups with faster RTs in response to biological finger compared to non-biological dot movement stimuli (see also (Brass et al., 2000)) indicating that the processing of biological stimuli, mainly mediated by temporo-occipital, superior temporal and ventral motor/premotor areas (Biermann-Ruben et al., 2008b) as parts of the human MNS is not impaired in ASD. This lends support to the notion that there is no general

dysfunction of the MNS in ASD (Hamilton, 2013; Hamilton, 2009). Moreover, these results also show that even spontaneous copying of low-level, kinematic features of an action that are not goal-directed, i.e. automatic mimicry, is not necessarily abnormal in ASD, at least in an experimental context we used.

Similarly, in the complex, visuo-acoustical set-up (Experiment 3) with temporally (simultaneous/consecutive) and contextually (compatible/incompatible) varying stimuli there were no significant interactions including the factor “TM” indicating that biological and non-biological movements are generally processed similarly in both groups. In accordance with previous studies, both healthy controls (Brass et al., 2000) and ASD participants (Bird et al., 2007; Spengler et al., 2010) showed an “interference effect” (=faster RTs to compatible compared to incompatible trials). Responses to the imperative tone were facilitated by simultaneous presentation of compatible visual stimuli further supporting the main finding that automatic imitation of meaningless stimuli is normal in ASD.

During simultaneous stimulus presentation (onset) the “interference effect” was larger in response to biological stimuli in both groups. In the offset condition, there was no difference between the “interference effects” in response to finger and dot movement conditions in either group. However, here strong “interference effects” in response to both finger and dot movement stimuli were present in ASD but not in controls. Thus, only ASD participants are still affected by the visual stimulus preceding the imperative tone. Intriguingly, in ASD both the biological finger and the non-biological dot movement resulted in a large “interference effect” in the offset mode. The latter was even larger in the offset as compared to the onset mode. The visual input preceding the imperative tone seems to affect responses in ASD regardless of the type of

movement. Thus, perhaps not only the inhibition of imitative behaviour but also the inhibition of other acquired sensory-motor reactions (e.g. reaction to dot) is altered in ASD.

Our results further indicate that healthy controls are more capable to discriminate two consecutively applied stimuli whereas ASD participants still perceive them as bound together. Recent findings suggested that the temporal window in which visual-acoustical stimuli are perceived as bound might be larger in ASD (Foss-Feig et al., 2010). Such problems of temporal discrimination might be related to cerebellar pathology and dysfunction in ASD (Sears et al., 1994).

Interestingly, in the onset mode, finger movement stimuli led to behavioural advantages in compatible trials in healthy controls but caused slowing of RT in incompatible trials in ASD. This response pattern is reminiscent of that previously described in Gilles de la Tourette syndrome patients that are characterized by the presence of vocal and motor tics and echophenomena (Ganos et al., 2012; Jonas et al., 2010). In these patients, it has been argued that motor-related areas responsive to action observation (and echophenomena) have a higher “tonic” activation, which is compensated for by increased inhibition. Down-regulation of overactivity might be particularly important to suppress echophenomena in potentially “echogenic” situations as in Experiment 3, in which biological movements are not to be imitated but nevertheless can trigger involuntary imitation. Such responses (in compatible trials) may be particularly prone to inhibition in Tourette patients reducing behavioural advantages of biological stimuli in compatible trials. On the other hand, over-activity of an action observation matching system in Tourette patients may likewise lead to stronger (uninhibited) “interference effects” in incompatible trials with biological stimuli.

Imitative response tendencies including echolalia/echopraxia also appear to be increased in ASD, which might be caused by an insufficient top-down control of imitative behaviour

(Hamilton, 2008; Spengler et al., 2010). This imitative control deficit might lead to stronger interference effects in ASD as the tendency to respond to biological stimuli might then predominate the participants' capacity to inhibit their motor actions. Alternatively, adaptation to a deficit of imitation related to a developmental delay in children with ASD could lead to exaggerated imitative response tendencies in adults with ASD (Biscaldi et al., 2013).

In the present study, slow RT in ASD did not correlate with error rates, i.e. they cannot be explained by a speed-accuracy trade off, which might be related to the fact that the task per se was not very demanding.

RTs were slower, albeit non-significantly, in ASD in Experiment 2 consistent with a previous study in ASD children (James and Barry, 1983) suggesting a global impairment of sensorimotor processing. Responses of ASD patients were significantly slower though in experiments 1 and 3. Responses involving visuo-motor processing might be more impaired than those mediated by other e.g. audio-motor systems. Indeed, there are studies demonstrating deficits in the use of observed motor information to plan one's own motor actions in ASD (review: (Becchio and Castiello, 2012)). Also, in keeping with previous work, slower motor performance is a possible explanation (Biscaldi et al., 2013). The poorer performance in the supermarket task as an indicator for slow verbal fluency which has been found to be associated with slow processing speed (Spek et al., 2009) and its negative correlations with RTs in all three experiments could also point in the same direction. In addition, overall slow RTs of ASD participants in both visuo-motor experiments might result from "behavioural confusion" induced by the counterintuitive, mirrored presentation of visual stimuli (observing left while responding with right hand; (Avikainen et al., 2003)) although in healthy controls this "mirror effect" increases MNS activation (Koski et al., 2003). Finally, attentional deficits have to be considered as a

confounder. Attention to both social and non-social stimuli is impaired in ASD (Rice et al., 2012; Anderson et al., 2006). Thus, it is conceivable that reduced attention to stimuli (measured e.g. by fixation duration) could lead to decreased brain activation and increased reaction times.

Our study has limitations. Selecting a group of high functioning adult ASD participants assured limited influence of potential confounders on behavioural data. On the other hand, results cannot be generalized to the larger population of ASD patients with cognitive impairment. We did not specifically assess visual abilities. There was no evidence of visual impairment in any participant but because the task relied on vision, it is important to note that no vision assessments were completed. Some ASD participants were taking psychoactive medications; the potential impact of this cannot be completely discounted, but we feel influence of medication is limited. The number of patients was relatively small. However, behavioural data appear to be robust and not minimal. Although ASD prevalence is 4–5 times higher in boys (CDC, 2014), in our study the number of male and female participants was nearly equal. This can be explained by a higher number of female volunteers and by the fact that 2 of the 4 participants that had to be excluded were male. As our participants were well-selected and gender comparisons in our study did not reveal any differences, we think it is unlikely that the sex distribution has biased our results. Finally, future studies should also include children and adolescents with ASD because behavioural abnormalities described here might be age dependent.

To conclude, given normal advantages conveyed by biological stimuli and physiological “interference effects” during simultaneous stimulus presentation in ASD, our study suggests that their AOEM system is not globally dysfunctional. In contrast, data presented here suggest that processing of successive visual and acoustic stimuli is impaired in ASD, which may be related to

reduced top down control causing hyperimitative behaviour and/or cerebellar pathology resulting in timing problems.

Funding acknowledgements

This work was supported by the Else Kröner-Fresenius-Stiftung [grant 2011_A37] and by the European Union [EU grant FP7-ICT-270212].

Conflicts of Interest Statement

The Authors declare that there is no conflict of interest.

References

- Anderson CJ, Colombo J and Jill Shaddy D. (2006) Visual scanning and pupillary responses in young children with Autism Spectrum Disorder. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology* 28(7): 1238-1256.
- Avikainen S, Wohlschlager A, Liuhanen S, et al. (2003) Impaired mirror-image imitation in Asperger and high-functioning autistic subjects. *Current Biology* 13(4): 339-341.
- Baron-Cohen S, Ashwin E, Ashwin C, et al. (2009) Talent in autism: hyper-systemizing, hyper-attention to detail and sensory hypersensitivity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 364(1522): 1377-1383.
- Baron-Cohen S, Hoekstra RA, Knickmeyer R, et al. (2006) The Autism-Spectrum Quotient (AQ)--adolescent version. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 36(3): 343-350.
- Baron-Cohen S, Richler J, Bisarya D, et al. (2003) The systemizing quotient: an investigation of adults with Asperger syndrome or high-functioning autism, and normal sex differences. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 358(1430): 361-374.
- Baron-Cohen S and Wheelwright S. (2004) The empathy quotient: an investigation of adults with Asperger syndrome or high functioning autism, and normal sex differences. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 34(2): 163-175.
- Baron-Cohen S, Wheelwright S, Hill J, et al. (2001) The "Reading the Mind in the Eyes" Test revised version: a study with normal adults, and adults with Asperger syndrome or high-functioning autism. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines* 42(2): 241-251.

- Becchio C and Castiello U. (2012) Visuomotor resonance in autism spectrum disorders. *Front Integr Neurosci* 6: 110.
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, et al. (1961) An inventory for measuring depression. *Archives of General Psychiatry* 4: 561-571.
- Biermann-Ruben K, Jonas M, Kessler K, et al. (2008a) Observing repetitive finger movements modulates response times of auditorily cued finger movements. *Brain and Cognition* 68(1): 107-113.
- Biermann-Ruben K, Kessler K, Jonas M, et al. (2008b) Right hemisphere contributions to imitation tasks. *European Journal of Neuroscience* 27(7): 1843-1855.
- Bird G, Leighton J, Press C, et al. (2007) Intact automatic imitation of human and robot actions in autism spectrum disorders. *Proc Biol Sci* 274(1628): 3027-3031.
- Biscaldi M, Rauh R, Irion L, et al. (2013) Deficits in motor abilities and developmental fractionation of imitation performance in high-functioning autism spectrum disorders. *European Child and Adolescent Psychiatry*.
- Blakemore SJ and Frith C. (2005) The role of motor contagion in the prediction of action. *Neuropsychologia* 43(2): 260-267.
- Brass M, Bekkering H, Wohlschlagel A, et al. (2000) Compatibility between observed and executed finger movements: comparing symbolic, spatial, and imitative cues. *Brain and Cognition* 44(2): 124-143.
- Canitano R and Vivanti G. (2007) Tics and Tourette syndrome in autism spectrum disorders. *Autism* 11(1): 19-28.
- Cath DC, Hedderly T, Ludolph AG, et al. (2011) European clinical guidelines for Tourette syndrome and other tic disorders. Part I: assessment. *European Child and Adolescent Psychiatry* 20(4): 155-171.
- CDC CfDCaP. (2014) Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years - autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. *MMWR. Surveillance Summaries* 63(2): 1-21.
- Dilling H, Freyberger HJ and WHO. (2008) *Taschenführer zur ICD-10-Klassifikation psychischer Störungen. Mit Glossar und Diagnostischen Kriterien ICD-10:DCR-10 und Referenztabellen ICD-10 v.s. DSM-IV-TR. Nach dem englischsprachigen Pocket Guide von J.E. Cooper*, Bern: Huber.
- Foss-Feig JH, Kwakye LD, Cascio CJ, et al. (2010) An extended multisensory temporal binding window in autism spectrum disorders. *Experimental Brain Research* 203(2): 381-389.
- Ganos C, Ogrzal T, Schnitzler A, et al. (2012) The pathophysiology of echopraxia/echolalia: relevance to Gilles de la Tourette syndrome. *Movement Disorders* 27(10): 1222-1229.
- Goetz CG, Pappert EJ, Louis ED, et al. (1999) Advantages of a modified scoring method for the Rush Video-Based Tic Rating Scale. *Movement Disorders* 14(3): 502-506.
- Goodman WK, Price LH, Rasmussen SA, et al. (1989) The Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale. I. Development, use, and reliability. *Archives of General Psychiatry* 46(11): 1006-1011.

- Gowen E. (2012) Imitation in autism: why action kinematics matter. *Front Integr Neurosci* 6: 117.
- Hamilton AF. (2008) Emulation and mimicry for social interaction: a theoretical approach to imitation in autism. *Q J Exp Psychol (Hove)* 61(1): 101-115.
- Hamilton AF. (2009) Goals, intentions and mental states: challenges for theories of autism. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines* 50(8): 881-892.
- Hamilton AF. (2013) Reflecting on the mirror neuron system in autism: a systematic review of current theories. *Dev Cogn Neurosci* 3: 91-105.
- Iacoboni M and Dapretto M. (2006) The mirror neuron system and the consequences of its dysfunction. *Nat Rev Neurosci* 7(12): 942-951.
- James AL and Barry RJ. (1983) Developmental effects in the cerebral lateralization of autistic, retarded, and normal children. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 13(1): 43-56.
- Jonas M, Thomalla G, Biermann-Ruben K, et al. (2010) Imitation in patients with Gilles de la Tourette syndrome--a behavioral study. *Movement Disorders* 25(8): 991-999.
- Karazsia BT and van Dulmen MH. (2008) Regression models for count data: illustrations using longitudinal predictors of childhood injury. *Journal of Pediatric Psychology* 33(10): 1076-1084.
- Koski L, Iacoboni M, Dubeau MC, et al. (2003) Modulation of cortical activity during different imitative behaviors. *Journal of Neurophysiology* 89(1): 460-471.
- Leckman JF, Riddle MA, Hardin MT, et al. (1989) The Yale Global Tic Severity Scale: initial testing of a clinician-rated scale of tic severity. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 28(4): 566-573.
- Lehrl. (2005) *Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest MWT-B*: Balingen: Spitta Verlag.
- Mattis S. (1988) *Dementia Rating Scale professional manual.*, Odessa, FL: Psychological Assessment Resources.
- Oldfield RC. (1971) The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 9(1): 97-113.
- Rice K, Moriuchi JM, Jones W, et al. (2012) Parsing heterogeneity in autism spectrum disorders: visual scanning of dynamic social scenes in school-aged children. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 51(3): 238-248.
- Rizzolatti G and Craighero L. (2004) The mirror-neuron system. *Annual Review of Neuroscience* 27: 169-192.
- Rizzolatti G and Fabbri-Destro M. (2008) The mirror system and its role in social cognition. *Current Opinion in Neurobiology* 18(2): 179-184.
- Rosler M, Retz W, Retz-Junginger P, et al. (2004) [Tools for the diagnosis of attention-deficit/hyperactivity disorder in adults. Self-rating behaviour questionnaire and diagnostic checklist]. *Nervenarzt* 75(9): 888-895.
- Sears LL, Finn PR and Steinmetz JE. (1994) Abnormal classical eye-blink conditioning in autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 24(6): 737-751.

- Spek A, Schatorje T, Scholte E, et al. (2009) Verbal fluency in adults with high functioning autism or Asperger syndrome. *Neuropsychologia* 47(3): 652-656.
- Spengler S, Bird G and Brass M. (2010) Hyperimitation of actions is related to reduced understanding of others' minds in autism spectrum conditions. *Biological Psychiatry* 68(12): 1148-1155.
- Vivanti G and Hamilton A. (2014) CHAPTER 12 Imitation in Autism Spectrum Disorders. In: Volkmar F, Rogers SJ, Paul R, et al. (eds) *Handbook of Autism and Pervasive Developmental Disorders, Assessment, Interventions, and Policy (Volume 2)*. Fourth Edition ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley and Sons, Inc.
- Wild KS, Poliakoff E, Jerrison A, et al. (2012) Goal-directed and goal-less imitation in autism spectrum disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 42(8): 1739-1749.
- Williams JH, Whiten A and Singh T. (2004) A systematic review of action imitation in autistic spectrum disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 34(3): 285-299.
- Williams JH, Whiten A, Suddendorf T, et al. (2001) Imitation, mirror neurons and autism. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25(4): 287-295.
- Wittchen HU, Zaudig M and Fydrich T. (1997) *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV*: Göttingen: Hogrefe.
- Zeileis A, Kleiber C and Jackman S. (2008) Regression Models for Count Data in R. *Journal of Statistical Software* 27(8).

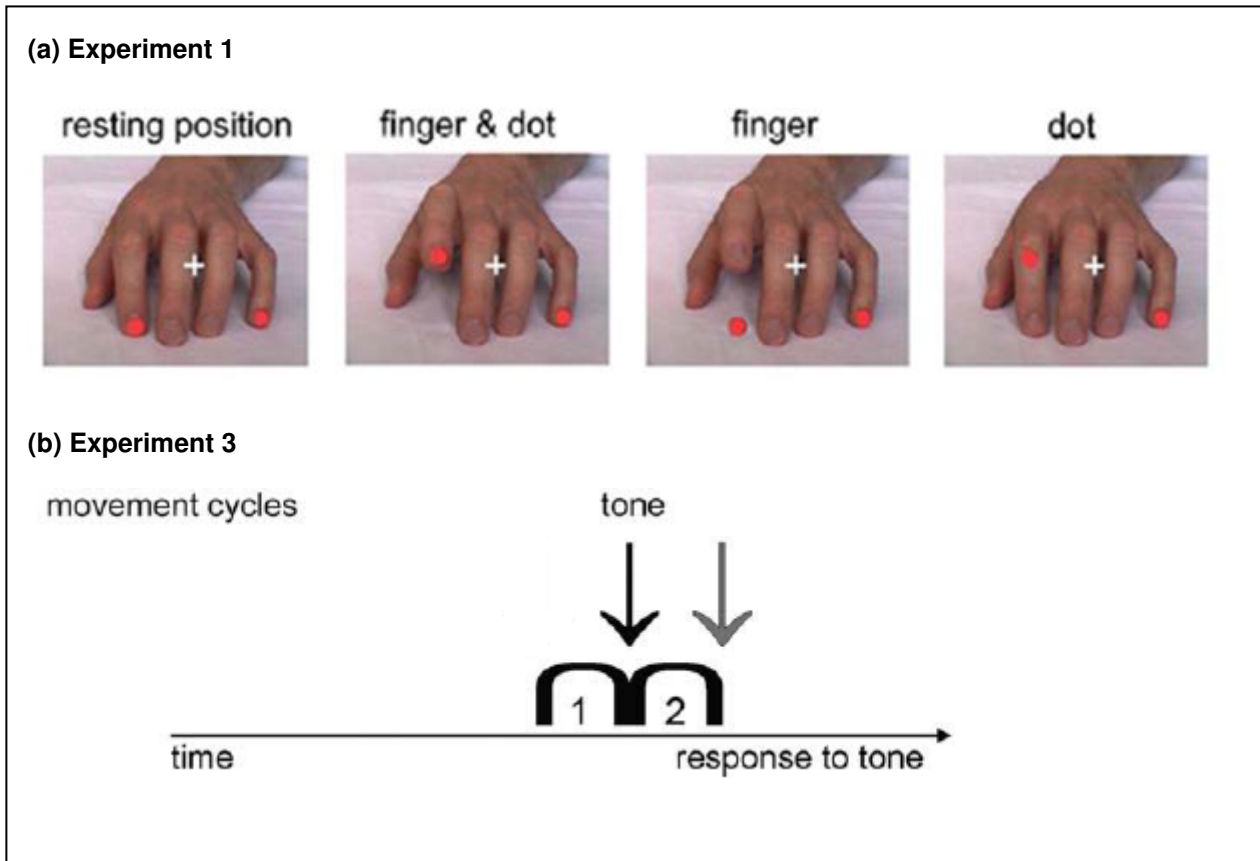


Figure 1. Visual cues in Experiment 1 (a) and combined cues in Experiment 3 (b).

(a): Different types of movement at their maximum movement amplitude compared to the resting position (left).

(b): One arc represents one visual movement (lifting-lowering) stimulus. The arrows symbolize the onset of the tone in relation to the movement stimulus (black arrow: onset / gray arrow: offset). Source: adapted with the permission from Wiley & Sons, 2014, reference: 3374061094321, Jonas et al., 2010.

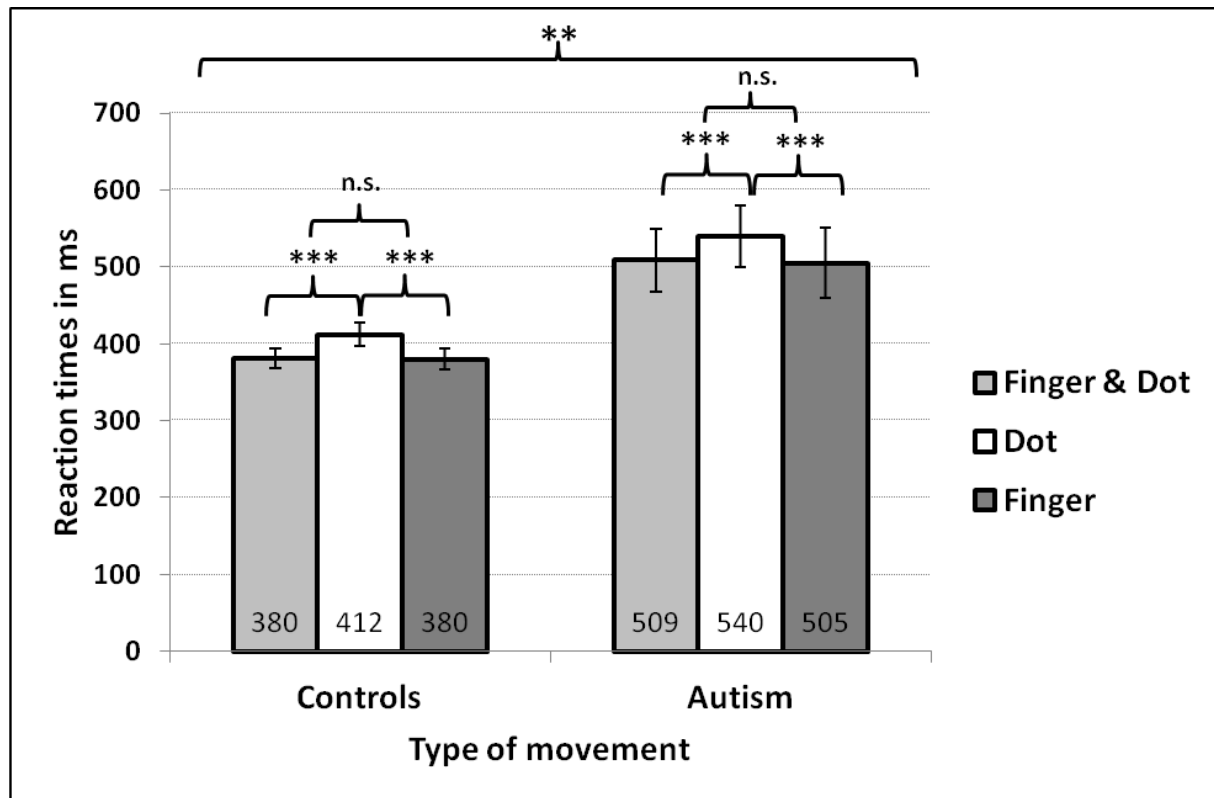


Figure 2. Reaction times in Experiment 1.

Error bars indicate standard errors of the means. Significant p-values are given as symbols: *** $p < 0.001$ (***) and $p = 0.001$ to 0.01 (**).

n.s.: not significant.

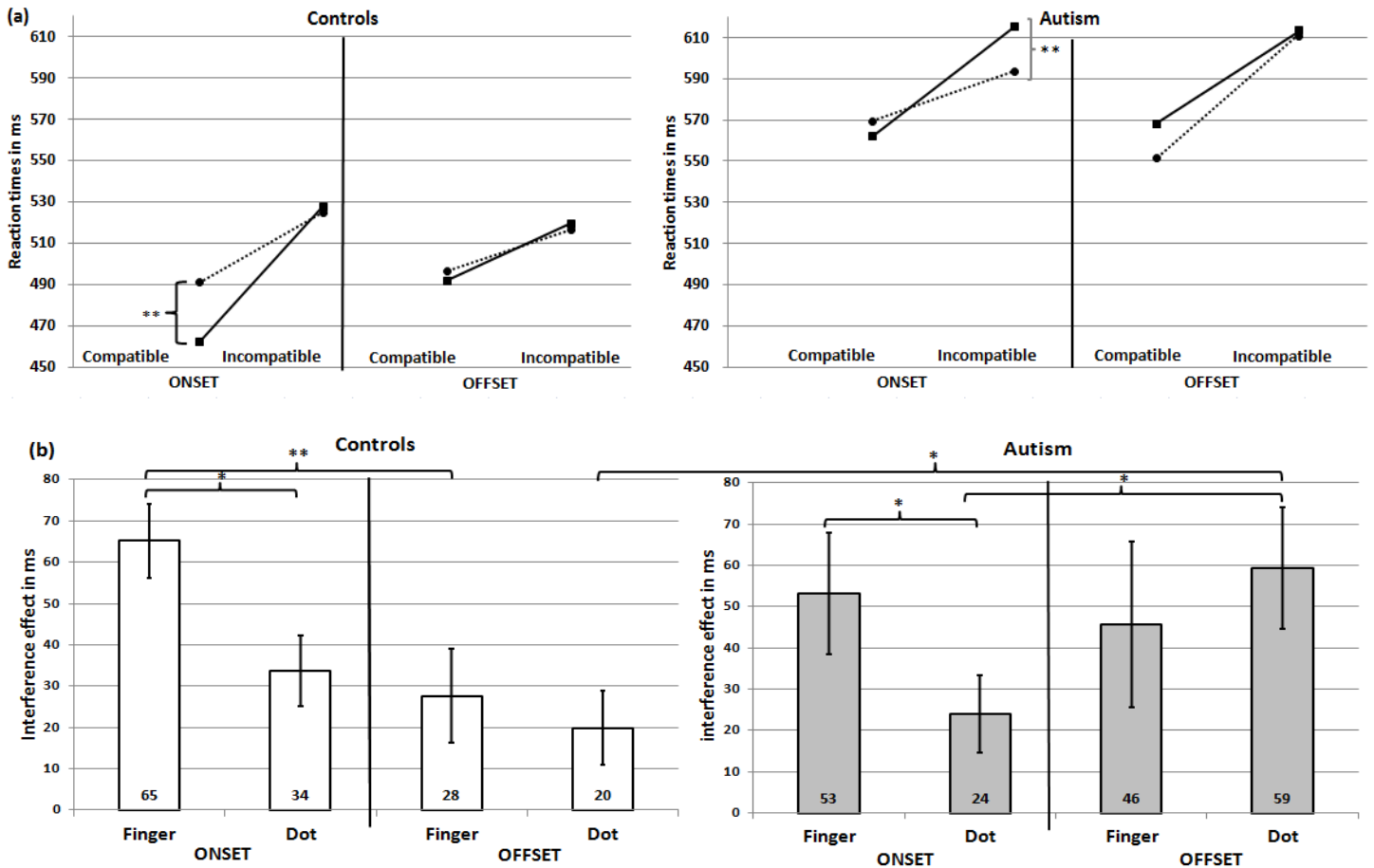
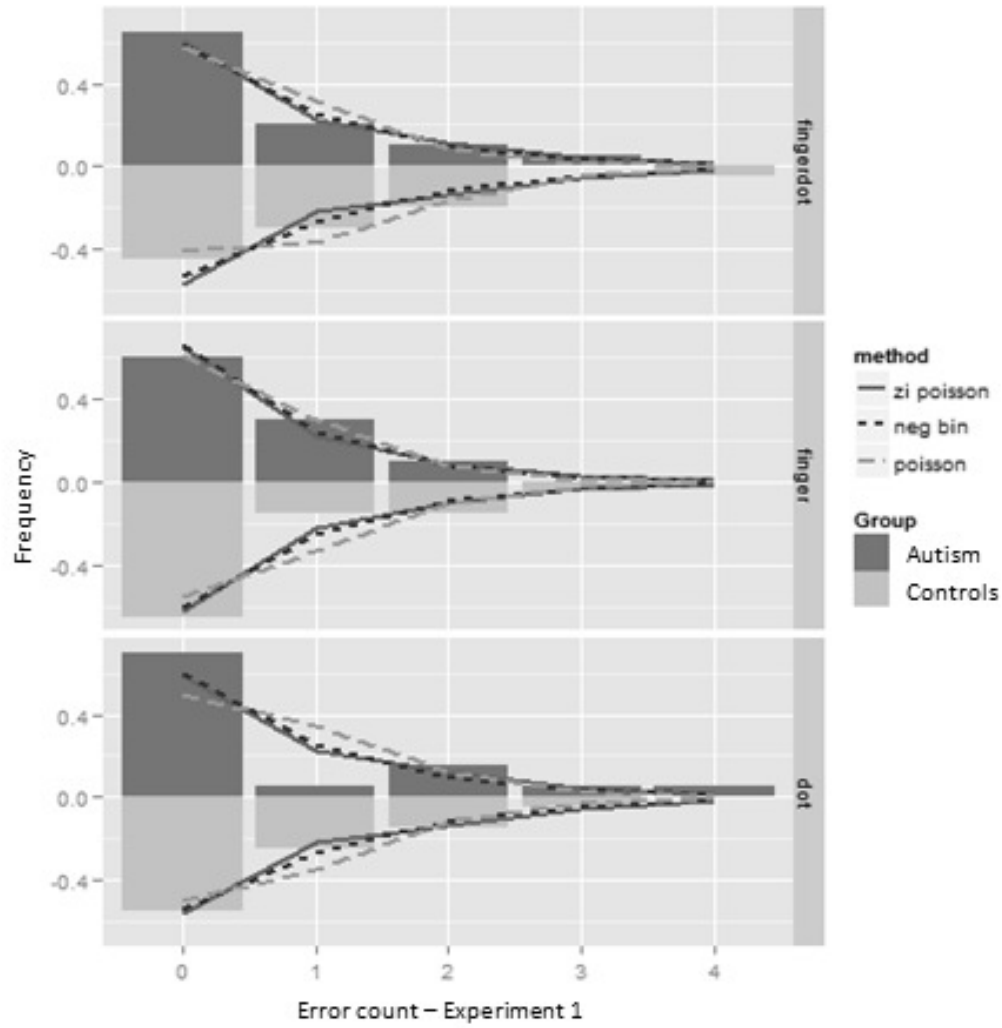


Figure 3. Mean reaction times in Experiment 3.

(a) Reaction times in the 8 experimental conditions for both groups (controls left, autism right).

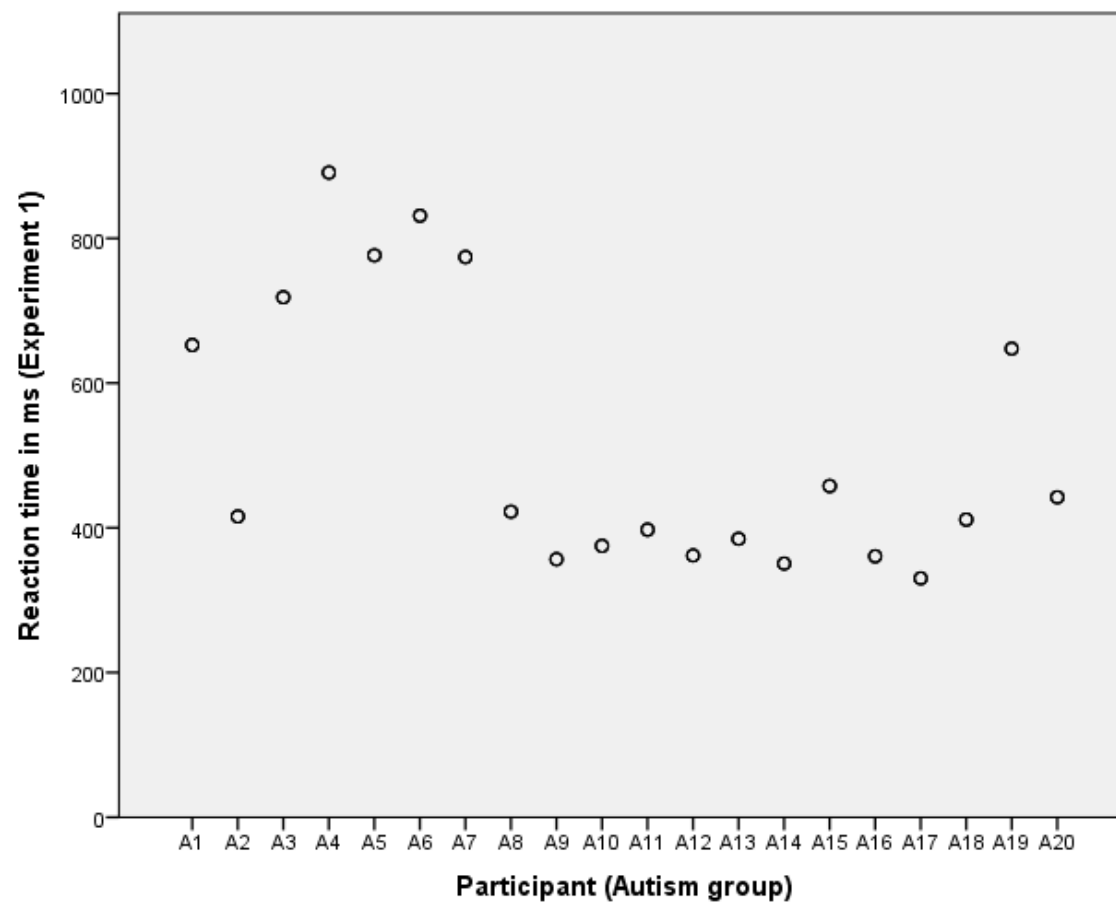
Presentation mode (onset/offset), compatibility (compatible/incompatible) and type of movement (finger (F; solid line) / dot (D, dashed line)) are presented separately.

(b) Interference effects (difference incompatible – compatible trials) in response to finger and dot movement conditions are given in the onset and offset condition for both the control (left) and autism group (right). Significant p-values are given as symbols: $p < 0.001$ (***) , $p = 0.001$ to 0.01 (**) and $p = 0.5$ to 0.1 (*).



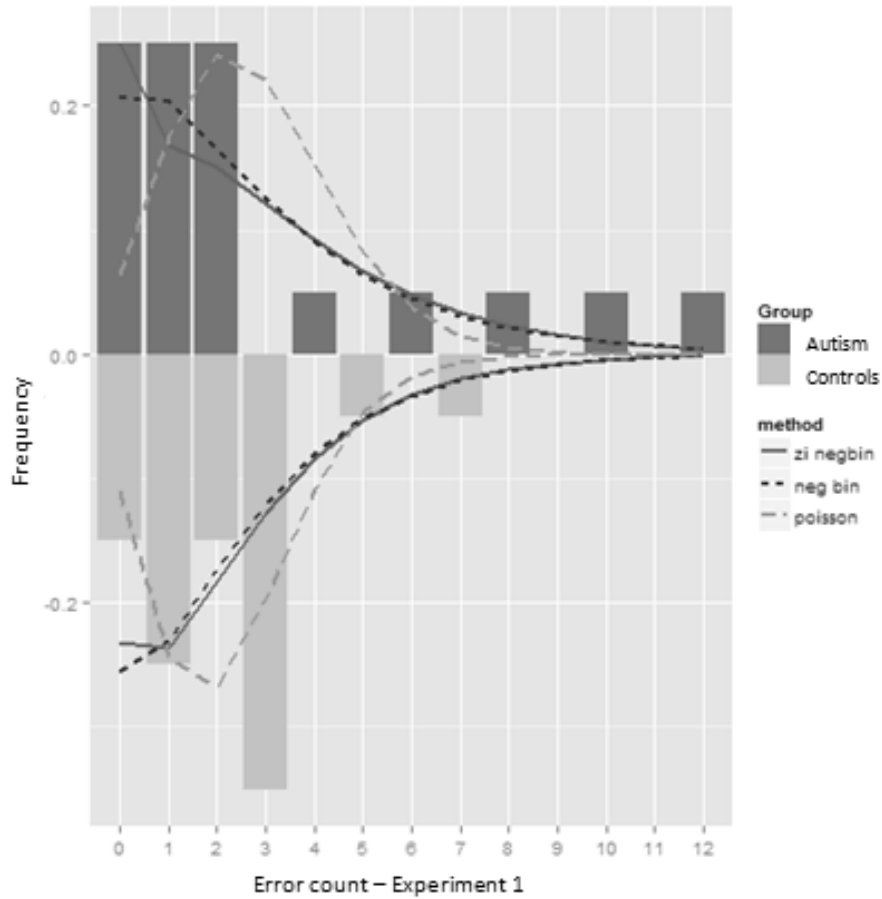
Supplement 1. Error rates in Experiment 1.

Frequency of error rates for each type of movement are shown for autism (dark grey) and control subjects (light grey) separately. Dashed line (- - -) represents results of the negative binominal model (neg bin).



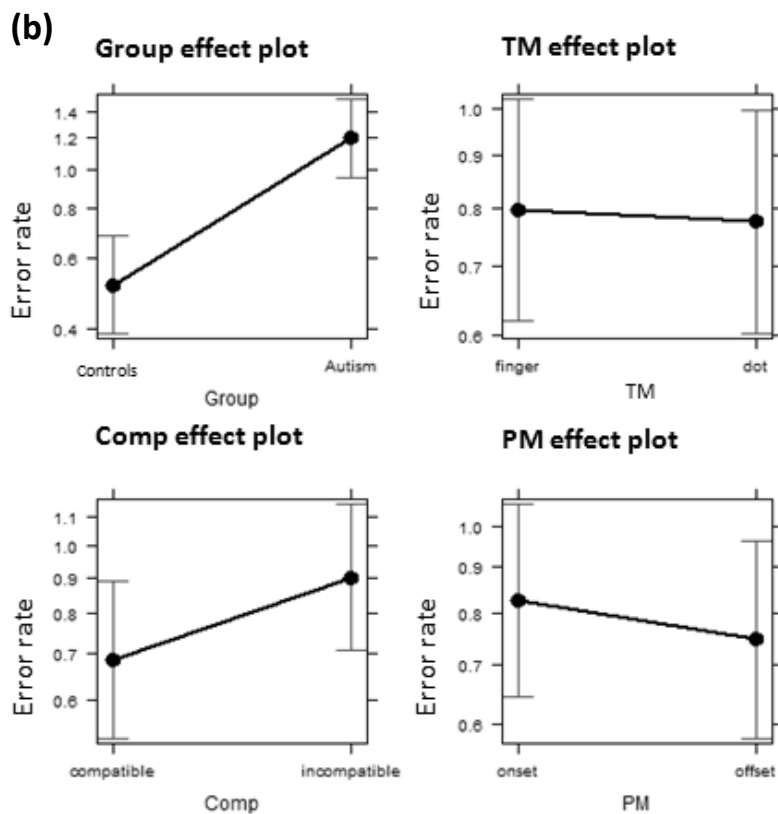
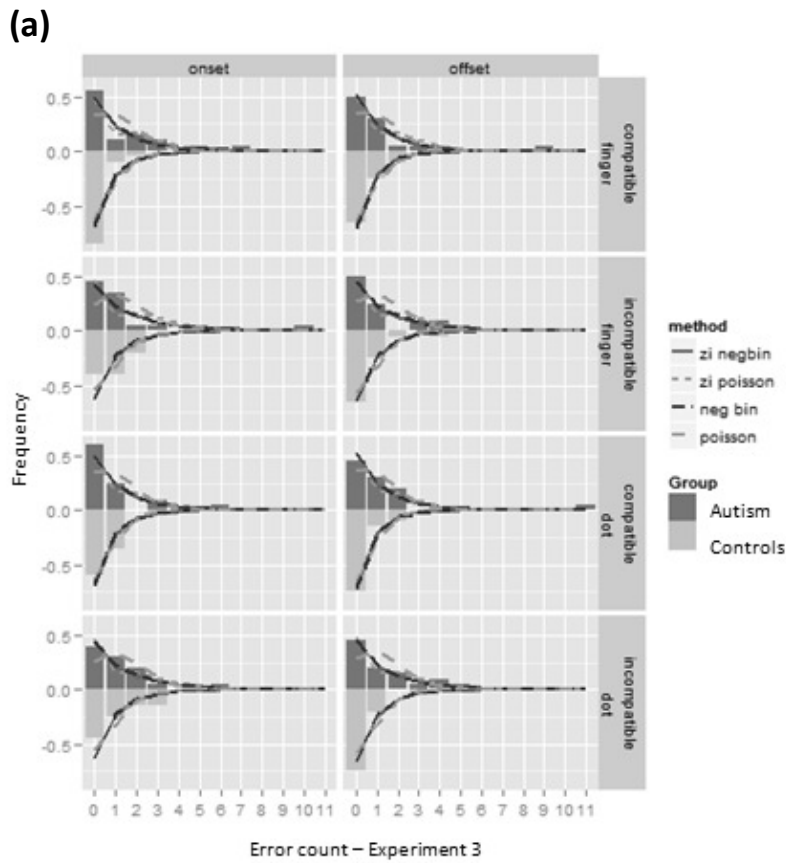
Supplement 2. Scatter plot of reaction times in Experiment 1.

Reaction times in milliseconds are shown for each of the 20 autism participants (A1-A20) separately. Seven autism participants had aberrant high reaction times.



Supplement 3. Error rates in Experiment 2.

Frequency of error rates for each type of movement are shown for autism (dark grey) and control subjects (light grey) separately. Dashed line (- -) represents results of the negative binominal model (neg bin).



Supplement 4. Error rates frequency (a) calculated with negative binominal model (– • –) for autism (dark grey) and control subjects (light) separately and effect plots (b) of the different factors group, type of movement (TM), compatibility (comp) and presentation mode (PM).

7. Letter of Acceptance des Fachjournals „Autism“

Autism

Decision Letter (AUT-14-0122.R2)

From: astahmer@ucsd.edu

To: o.schunke@uke.de

CC:

Subject: Autism - Decision on Manuscript ID AUT-14-0122.R2

Body: 13-Jan-2015

Dear Author,

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Mirror me: imitative responses in adults with autism" in its current form for publication in the Autism: International Journal of Research and Practice.

Further correspondence regarding publication of this article should be directed to Jo O'Brien (jo.obrien@sagepub.co.uk).

Please note that we now require a 'lay abstract' for all accepted manuscripts. Lay abstracts are brief (max 250 words) descriptions of the paper that are easily understandable. These abstracts will be made available to researchers and clinicians, as well as the general public (including individuals with autism spectrum disorders and their families).

These abstracts should avoid both technical terminology and the reporting of statistics. Please submit your abstract written in lay terms to our Social Media Editor, Laura Crane (journalautism@gmail.com) by Feb 1.


If you would like your article to be freely available online immediately upon publication (as some funding bodies now require), you can opt for it to be published under the SAGE Choice Scheme on payment of a publication fee. Please simply follow the link to the Contributor Agreement form in the next email and you will be able to access instructions and further information about this option within the online form.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of Autism, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Aubyn Stahmer
Editor, Autism: International Journal of Research and Practice
astahmer@ucsd.edu

Reviewer(s)' Comments to Author:

Date Sent: 13-Jan-2015

 Close Window