

Metaboliahäkkien käyttö hiirillä ja rotilla

26.9.2019 Sakari Laaksonen

Metaboliahäkki poikkeaa voimakkaasti eläinten tavanomaisesta ympäristöstä. Häkissä on metalliritiläpohja, kuivikkeita tai pesämateriaaleja ei ole ja pääsääntöisesti eläimet ovat metaboliahäkissä yksin. Eristävää materiaalia ei ole mahdollista käyttää lämmönsäätelyn apuna, jolloin eläin joutuu nostamaan metabolista lämmöntuotantoaan. Lisääntynyt lämmöntuotannon tarve ja stressi vaikuttavat eläimen fysiologiaan monin tavoin. Nämä olosuhdetekijät on monissa tutkimuksissa todettu stressaaviksi sekä hiirillä että rotilla.

Koe-eläinlainsäädännön vakavuusluokitusohjeissa metaboliahäkissä pidon vaikutus on määritelty seuraavasti:

- Lievä: lyhytaikainen (< 24 tuntia) metaboliahäkissä pito.
- Kohtalainen: pitempiaikainen metaboliahäkkien käyttö (enintään 5 päivää), johon liittyy liikkumisen kohtalainen rajoittaminen.
- Vakava: metaboliahäkkien käyttö, johon liittyy eläimen liikkumisen vakava rajoittaminen pitkäaikaisesti.

Tutkimustuloksia metaboliahäkin käytöstä hiirillä:

- 37 vk ikäisillä uros- ja naarashiirillä (C57Bl/6J / 129SV) 2 vrk metaboliahäkkijakson aikana verenpaine nousi alussa 3–7 tunnin ajaksi 18–22 %. Sydämen syke nousi alussa n. 27 % ja pysyi huomattavasti koholla koko 2 vrk jakson ajan. Hiiret olivat 1–2 vk aiemmin totuttautuneet metaboliahäkkiin 1 vrk ajan. Verenkiertoelimistön toiminnan muutos saattaa vaikuttaa huomattavasti neurohumoraaliseen säätelyyn ja munuaisten toimintaan.¹

- 30 vrk ikäisiä C57Bl/6J, BALB/cAnNCrI ja C3H/HeH-hiiriä pidettiin metaboliahäikeissä enintään 7 päivän ajan. Hiirien painot laskivat kahdessa päivässä 5–10 %, jolle tasolle painot vakiintuivat. Rehun ja veden kulutus ja virtsan määrä nousivat 3–4 päivän ajan, minkä jälkeen ne vakiintuivat.²

- BALB/c-uroshiiriä laitettiin 3 viikon ajaksi metaboliahäikeisiin. Hiiret laihtuivat ensimmäisenä päivänä keskimäärin 2 g, minkä jälkeen paino vähitellen nousi ja oli kontrollien tasolla 15. päivänä. Ensimmäisenä päivänä hiiret söivät ja joivat kontrolleja vähemmän, mutta kokeen aikana niiden rehun- ja vedenkulutus nousi kontrolleja korkeammaksi. Metaboliahäikissä hiirien ruumiinlämpö oli koholla. Hiirien turkki oli kontrolleja pörröisempi koko kokeen ajan. Metaboliahäikissä hiirien virtsan kreatiniinieritys nousi jatkuvasti, ja ulosteen kortikosteronipitoisuus oli alusta loppuun kymmenkertainen verrattuna kontrolleihin. Kokeen perusteella hiiret eivät sopeutuneet metaboliahäikeisiin kolmessa viikossa, vaan stressi- ja metaboliataso olivat huomattavasti koholla loppuun asti.³

- Hiiret pantiin metaboliahäikkiin 12 tunnin ajaksi joko pimeänä tai valoisaan aikana viitenä peräkkäisenä päivänä. Hiirille juotettiin pelkkää vettä tai 2 %, 5 % tai 10 % sokeriliuosta. Virtsan erityys oli sitä korkeampi ja ruumiinpainon lasku sitä vähäisempi mitä enemmän juomassa oli sokeria. Sokeriveden juottaminen voi olla hyödyllistä kokeissa, joissa on vaikeaa saada hiiriltä riittävästi virtsaa. Sokeri nosti virtsan albumiini/kreatiniini -suhdetta. Kokeesta ei kuitenkaan voida päätellä tarkemmin sokerin vaikutusta munuaisten toimintaan.⁴

Tutkimustuloksia metaboliahäikin käytöstä rotilla:

- Wistar-urosrotat 30 vrk metaboliahäikissä → avokenttä- ja pakotettu uinti - testi 27.–29. päivänä. Lopetusverinäytteestä kortikosteroni ja paastosokeri. Tulokset viittasivat rotilla olevan metaboliahäikissä depression / ahdistukseen liittyviä käyttäytymismuutoksia ja stressiä.⁵

- SD-uros- ja naarasrottia metaboliahäkissä viikon ajan. Kognitiivisen harhan testaus: Osoittavatko rotat optimistista vai pessimististä asennetta tulkinnanvaraisessa tilanteessa, jossa on tarjolla joko voimakkaasti tai heikosti palkitseva makupala. Metaboliahäkissä pidetyt urosrotat tekivät merkittävästi enemmän pessimistisiä valintoja kuin kontrollit, mikä viittaa negatiiviseen tunnetilaan (depressio). Naaraiden samansuuntainen mutta pienempi ero ryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää. Kirjoittajat suosittelevat kokeen uusimista suuremmalla otoskoolla.⁶

- SD-urosrottia metaboliahäkissä 8 vrk. Häkkikäyttäytymisanalyysi ja sosiaalisen kanssakäymisen testaus. Tulokset viittaavat todennäköisesti heikentyneeseen hyvinvointiin, mutta vaikutuksen voimakkuutta on vaikea arvioida.⁷

- 8 vk ikäisiä SD-urosrottia metaboliahäkissä 3 vrk. Painon kasvu heikentyi lievästi verrattuna kontrolleihin. Ulosteen IgA-määrä laski metaboliahäkkijakson aikana erittäin merkittävästi, mutta ulosteen kortikosteronissa ei havaittu eroa. Kirjoittajat tulkitsevat tulosten viittaavaan lievään stressiin.⁸

- 3 ja 12 kk ikäisiä Wistar-urosrottia metaboliahäkissä 7 vrk. Virtsan adrenaliini-, noradrenaliini- ja monoamiinioksidaasimääritykset päivittäin. Avokenttä- ja kuumalevytestit alussa ja lopussa. Tulokset viittaavat stressiin, joka oli voimakkaampaa 3 kk kuin 12 kk ikäisillä rotilla.⁹

- Tiineitä SD-naarasrottia parituksen jälkeen 20 vrk metaboliahäkissä → keisarileikkaus. Metaboliahäkeissä rottien paino laski ja rehunkulutus pieneni merkittävästi verrattuna kontrolleihin. Poikasissa todettiin "kohtalaisesti" enemmän luustomuutoksia kuin kontrollipoikueissa.¹⁰ (Tiedot abstraktista.)

Johtopäätöksiä ja suosituksia

- Metaboliahäkissä pitoon on aiemmin suositeltu eripituisia sopeutumisjaksoja. Tutkimuksissa on havaittu, että joidenkin muuttujien arvot saattavat vakiintua metaboliahäkissä tietyn ajan kuluessa. Tulosten vakiintuminen kuitenkin ei välttämättä tarkoita olosuhteisiin sopeutumista vaan elimistön hakeutumista uuteen tasapainotilaan, joka poikkeaa normaalista. Osassa fysiologisista

parametreista voi tapahtua jatkuvaa muutosta pitkälläkin aikavälillä. Tutkimustulokset viittaavat siihen, että metaboliahäkissä pito aiheuttaa stressiä, masennusta ja ahdistusta, jonka voimakkuuteen voivat vaikuttaa häkissä pidon kesto, eläinlaji ja -kanta, sukupuoli ja ikä. Haitalliset vaikutukset näyttävät voimistuvan metaboliahäkijakson pitkittyessä. Normaalista poikkeava fysiologinen tila ja heikentynyt hyvinvointi saattavat vaikuttaa huomattavasti koetuloksiin, mikä on otettava huomioon koesuunnittelussa.

- On suositeltavaa pitää eläimiä metaboliahäkissä lyhin mahdollinen aika, jota luotettavat tutkimustulokset edellyttävät.
- Mahdollinen sopeutumis aika metaboliahäkissä ennen mittausjaksoa tulee perustella koekohtaisesti.
- Jos on tarpeen pitää eläimiä metaboliahäkissä kauemmin kuin 1 vrk siksi että analyysiin tarvitaan suuri määrä virtsaa, on suositeltavaa jakaa koe useampaan lyhyeen jaksoon ja pitää väleissä lepoajat normaaliolosuhteissa (mikäli se on tutkimuksen kannalta mahdollista).
- Jos halutaan varmistaa riittävä virtsamäärä, kannattaa harkita sokeriveden juottamista, ellei siitä ole tutkimuksellista haittaa.
- Ellei ole tutkimuksellista estettä, metaboliahäkissä tulee olla (muovinen) mökki, joka antaa suojaa ja helpottaa ruumiinlämmön ylläpitoa. Myös muut virike-esineet ovat suositeltavia.
- Erityisesti hiirillä tavanomaista korkeampi huonelämpötila helpottaa normaalin ruumiinlämmön ylläpitoa ja saattaa olla hyvinvoinnin kannalta suotuisa. Toisaalta korkeampi lämpö voimistaa virtsan haihtumista, mikä saattaa haitata näytteiden keruuta.
- On suositeltavaa pitää eläimiä metaboliahäkissä pareittain, mikäli kokeen kannalta ei ole välttämätöntä saada yksilöllisiä virtsa- tai ulostenäytteitä.

Häkkikaveri oletettavasti auttaa sosiaalisen eläimen henkistä hyvinvointia ja helpottaa ruumiinlämmön ylläpitoa. Pareittain pito voi koeasetelmasta riippuen nostaa tarvittavaa otoskokoa, minkä vaikutus on punnittava eläinten parantunutta hyvinvointia vastaan.

Lähteet

1 Hoppe CC, Moritz KM FAU - Fitzgerald, S M., Fitzgerald SM FAU - Bertram, J F., Bertram JF FAU - Evans, R G., Evans RG. Transient hypertension and sustained tachycardia in mice housed individually in metabolism cages. *Lab Anim* 2009; 58: 69-75

2 Stechman MJ, Ahmad BN, Loh NY, et al. Establishing normal plasma and 24-hour urinary biochemistry ranges in C3H, BALB/c and C57BL/6J mice following acclimatization in metabolic cages. *Lab. Anim.* 2010; 44(3): 218-225

3 Kalliokoski O, Jacobsen KR, Dariusman HS, et al. Mice do not habituate to metabolism cage housing--a three week study of male BALB/c mice. *PloS one* 2013; 8(3): e58460-e58460

4 Kovalčíková A, Gyurászová M, Gardlík R, Boriš M, Celec P, Tóthová Ľ. The effects of sucrose on urine collection in metabolic cages. *Lab. Anim.* 2019; 53(2): 180-189

5 Sahin Z, Solak H, Koc A, et al. Long-term metabolic cage housing increases anxiety/depression-related behaviours in adult male rats. *Arch. Physiol. Biochem.* 2019; 125(2): 122-127

6 Barker TH, Howarth GS, Whittaker AL. The effects of metabolic cage housing and sex on cognitive bias expression in rats. *Applied Animal Behaviour Science* 2016; 177: 70-76

7 Whittaker AL, Lymn KA, Howarth GS. Effects of Metabolic Cage Housing on Rat Behavior and Performance in the Social Interaction Test. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 2016; 19(4): 363-374

8 Eriksson E, Royo F, Lyberg K, Carlsson H, Hau J. Effect of metabolic cage housing on immunoglobulin A and corticosterone excretion in faeces and urine of young male rats. *Exp. Physiol.* 2004; 89(4): 427-433

9 Gil MC, Aguirre JA, Lemoine AP, Segura ET, Barontini M, Armando I. Influence of Age on Stress Responses to Metabolic Cage Housing in Rats. *Cell. Mol. Neurobiol.* 1999; 19(5): 625-633

10 Bosque MA, Domingo JL, Corbella J. Housing of pregnant rats in metabolism cages: Maternal and developmental effects. *Experimental and Toxicologic Pathology* 1994; 46(4): 303-306