

**Zinātniskiem mērķiem izmantojamo dzīvnieku aizsardzības
Nacionālās Komitejas vadlīnijas**

**Vadlīnijas lokomotoro testu veikšanai grauzējiem un nosakāmo
rādītāju apraksts**

Rotējošā stieņa tests žurkām un pelēm

Visbiežāk motorās koordinācijas, līdzsvara un muskuļu spēka novērtēšanai pelēm un žurkām izmanto rotējošā stieņa testu.

Tiek izmantots aparāts ar neslīdošu rotējošu stieni, kura diametrs ir 3 cm pelēm un 6 cm - žurkām, tā griešanās ātrums var būt konstants, piemēram, pelēm tas būtu 8 apgriezieni minūtē un žurkām 10 apgriezieni minūtē. Tomēr atkarībā no eksperimenta dizaina var tikt piemērots arī griešanās ātrums ar paātrinājumu laikā: piemēram, peļu eksperiments uzsākot ar 5 apgriezieniem minūtēm, kas pakāpeniski tiek palielināts līdz sasniedz 20 apgriezieniem minūtē, savukārt žurkām iesāk līdzīgi ar 5 apgriezieniem minūtē tos pakāpeniski palielinot līdz 40 apgriezieniem minūtē. Maksimālais testēšanas ātrums ir 40 apgriezieni minūtē. Testēšanas ilgums ir vidēji no 3 līdz 5 minūtēm. Eksperimentā novērtē laiku (sekundēs), cik ilgi dzīvnieks noturas uz rotējošā stieņa, lai dzīvnieks varētu noturēties uz stieņa, tam ir jāveic nepārtraukta kustība, it kā dzīvnieks virzītos uz priekšu. Ja pētījums paredz testējamo vielu ievadi vai dažāda veida ķirurģiskas manipulācijas, tad pirms šo manipulāciju uzsākšanas veic dzīvnieka apmācību (4 reizes divas dienas pēc kārtas) noturēties uz rotējošā stieņa ar nelielu, bet konstantu griešanās ātrumu. Tas ļauj dzīvnieku pieradināt pie šī testa, mazinot manipulācijas radīto stresa līmeni pētījuma laikā un atļauj pētniekam ievākt dzīvnieka sākotnējos motorās koordinācijas rādītājus pirms tiek uzsākta pētāmo vielu ievade vai citas manipulācijas. (Deacon, 2013; Kamdi et al., 2020)

Manipulācijas smaguma klasifikācija: viegla

Grauzēju ķepu trakcijas jeb satvēriena spēka noteikšanas tests

Šo neinvazīvo testu plaši izmanto, lai novērtētu priekšējo un aizmurējo ķepu skeleta muskuļu funkciju grauzējiem, izmantojot peles dabisko vēlmi saķert un turēt priekšmetu (stiepli) brīdī, kad tā tiek maigi pavilkta aiz astes. Šādi novērtē dažādas muskuļu patoloģijas, kā arī iedzimtu muskuļu slimību defektu smaguma pakāpi. Ilgtermiņa pētījumos šo testu var veikt atkārtoti, ievērojot atstarpi starp atkārtotiem eksperimentiem 5 līdz 7 dienas.

Peli vai žurku ar priekšējam ķepām pieliek pie horizontālas stieples (diametrā 2 mm pelēm un 3 mm žurkām), pie kuras tie pieķeras vai uzliek uz metāliska režģa. Lēnām, maigi un ar vienmērīgu ātrumu dzīvnieku velkot uz savu pusi aiz astes, novērtē, cik spēcīgs ir grauzēja priekšķepu satvēriens ar stiepli vai režģi. Dzīvniekam atlaižot satverto stiepli vai režģi, testa aparāts (piemēram, *Ugo Basile Grip-Strength Meter*, Itālija) automātiski uzrāda mērījumu, kas norāda uz maksimālo spēku, ar kādu dzīvnieks bija pieķēries pie stieples. Katram dzīvniekam mērījumu atkārtoti 3 reizes, ar 1 – 2 minūšu pauzēm starp mērījumiem. Ja dzīvnieks mērījuma laikā stieņa vilkšanai izmantoja tikai vienu no priekšķepām (otra tikusi noņemta no stieņa) vai pieķērās ar pakaļķepām, šādus mērījumus neuzskatīja par korektiem un veica mērījuma atkārtojumu. Aprēķiniem izmanto vidējo radītāju no trīs korekti veiktiem mērījumiem. Veicot jaunu savienojumu pārbaudi un ķirurģiskas manipulācijas ķepu trakcijas testu vismaz divus atkārtojumus veica pirms pētījuma, šie mērījumi bija bazālās vērtības, kas tika pieņemtas kā 100% un atskaites skaitlis nākamajiem mērījumiem tālākā pētījuma gaitā (Takeshita *et al.*, 2017; Montilla-García *et al.*, 2017).

Manipulācijas smaguma klasifikācija: viegla

Montilla-García et al., 2017. Grip strength in mice with joint inflammation: A rheumatology function test sensitive to pain and analgesia. *Neuropharmacology* 125 (2017) 231e242.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.07.029>

Gaitas novērtēšanas tests grauzējiem (CatWalk)

Gaitas tests (CatWalk XT) ir viens no biežākajiem pirmsklīniskajiem testiem, ko izmanto dzīvnieka gaitas patoloģiju analīzei. Šis tests minimizē pētnieka mijiedarbību ar izmēģinājuma dzīvnieku, jo datu iegūšanas veids ir automatizēts. Šo metodi izmanto tādu motoro traucējumu izpētes gadījumos kā, piemēram, Parkinsona slimības, galvas smadzeņu traumatisku bojājumu, neiropātiskās sāpju.

Gaitas tests (CatWalk XT) sastāv no stikla platformas, kas ievietota tumšā nodalījumā un kuru izgaismo LED gaisma tā, lai gaisma atspoguļotu tikai tos grauzēja ķepu punktus, kuri ir saskārušies ar stikla materiāla celiņu. Pa stikla celiņa (tuneļa formas) platformu dzīvniekam ir brīva iespēja pārvietotos no viena tā gala līdz otram. Zem celiņa ir novietota video kamera, kura reģistrē dzīvnieka ķepas nospiedumus spilgtu, skaidru attēlu veidā. Dzīvnieku ievieto celiņa sākumā un ļauj pāris minūtes iepazīties ar celiņu, un brīvi pārvietoties pa celiņu no viena gala līdz otram (celiņa garums ap 1 m). Tests ir pabeigts, kad tiek reģistrēti 3 precīzi gājieni jeb tas nozīmē, ka, noteiktā zona šķērsota vienmērīgi, neapstājoties visa celiņa garumā. Gaitas funkciju novērtēšanu veic datorprogramma, izvērtējot vairākus parametrus: ķepas nospieduma laukumu, intensitāti, soļa garumu, regularitāti. Gaitas tests ir neinvazīva, viegla manipulācija un šo testu parasti veic 5-7 dienas pirms ķirurģiskas manipulācijas, ja tāda paredzēta, piemēram, pirms intrakraniālas vielu ievadīšanas, pirms insulta modelēšanas, pirms neiropātisko sāpju modelēšanas utml., lai pieradinātu dzīvniekus pie pārvietošanās pa gaitas testa celiņu. Gaitas testa mērījums var veikt atkārtoti, piemēram, 7. (un/vai 14., un/vai 21. dienā) pēc ķirurģiskām manipulācijām, lai pārlicinātos par dzīvnieka gaitas funkciju dažādos eksperimenta laika posmos. (Walter et al., 2020; Jacquez et al., 2021)

Manipulācijas smaguma klasifikācija: viegla

Jacquez et al., 2021. Characterization of motor function in mice developmentally exposed to ethanol using the Catwalk system: Comparison with the triple horizontal bar and rotarod tests. *Behavioural Brain Research*, 396: 112885.

Walter et al., 2020. The CatWalk XT® is a valid tool for objective assessment of motor function in the acute phase after controlled cortical impact in mice. *Behavioural Brain Research*, 392: 112680.

Piespiedu vingrinājumu/staigāšanas tests

Tests tiek izmantots, lai izvērtētu graužēju fizisko aktivitāti dažādos apstākļos, piemēram, lai noteiktu neiroloģisku atveseļošanās procesu gaitu, piemēram pēc insulta, kā arī sniedz iespēju novērtēt, kā fiziskā aktivitāte ietekmē citu saslimšanu gaitu vai atveseļošanās procesus, piemēram, diabēta. Piespiedu vingrinājumu testa sistēma sastāv no ritentiņa, kuriem darbojoties, dzīvnieks veic piespiedu staigāšanas vingrinājumu pa rata iekšpusi. Rata parametri pelēm: diametrs 15 cm, platums 5.7 cm, skriešanas distance 0.47 metri/rotācijā, savukārt žurku skriešanas rata diametrs ir 34 cm, platums - 11 cm, skriešanas distance - 1.06 metri/rotācijā. Piespiedu staigāšanas rata sistēma ir savienota ar elektronisku vadības paneli, kas ļauj programmēt plašu parametru spektru, piemēram, vingrinājumu laiks, atpūtas laiks, ciklu skaits un vingrinājumu ātrumu, šie parametri tiek monitorēti izmantojot *Activity Wheel Monitor* datorprogrammu. Testa sākumā dzīvnieku ievieto ratā. Ieslēdzot rata motorizēto kustību, dzīvnieks ir spiests veikt iešanas kustību ar ātrumu žurkām līdz 30 m/min, savukārt pelēm līdz 15 m/min. Pirmajās pētījuma dienās visbiežāk izmanto mazāks ātrums, lai dzīvnieks pierod pie attiecīgās fiziskās slodze un testa aparāta. Eksperimenta uzsākot, tā pirmajā dienā treniņa ilgums ir 10 minūtes un rata ātrums tiek palielināts pakāpeniski. Otrajā dienā testa ilgums ir 20 minūtes un rata griešanās ātrums pelēm ir līdz 15 m/min Pēc atkārtotiem vingrinājumiem ātrums tiek pakāpeniski palielināts līdz pētījumam optimālajam ātrumam. Ar trešo dienu dzīvnieks tiek trenēts jau 30 min dienā ar rata ātrumu līdz 15 m/min, apmēram 3 līdz 5 reizes nedēļā līdz pat 5 nedēļām. Ja dzīvniekam ir ģenētiskas muskuļu patoloģijas vai citi traucējumi, kuru dēļ tas nespēj izpildīt piespiedu staigāšanas vingrinājumu ar pētījumā sākotnēji iepiņānoto ātrumu, tad rata ātrumu samazina vai arī dzīvnieku izslēdz no tālākās pētījuma gaitas (Audrain et al., 2016).

Manipulācijas smaguma klasifikācija: viegla

Audrain M., et al. Alzheimer's disease-like APP processing in wild-type mice identifies synaptic defects as initial steps of disease progression. *Mol. Neurodegener.*, 2016, 11 (1), 5.