

Потенциал использования хомячков для оценки репродуктивной токсичности

Перебоева Анна Юрьевна, ветеринарный фельдшер

АО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»

2025

Актуальность

У самок хомячков короткий и постоянный эстральный цикл (4 дня), предсказуемое время овуляции и короткий период беременности (16 дней), короче, чем у крыс и мышей.

Их использование может быть оправдано, при низком прогнозе репродуктивной токсичности, например, для препаратов применяемых однократно, препаратов природного происхождения или биологических препаратов и др.

Снижение стоимости и продолжительности исследования

Цель и задача исследования

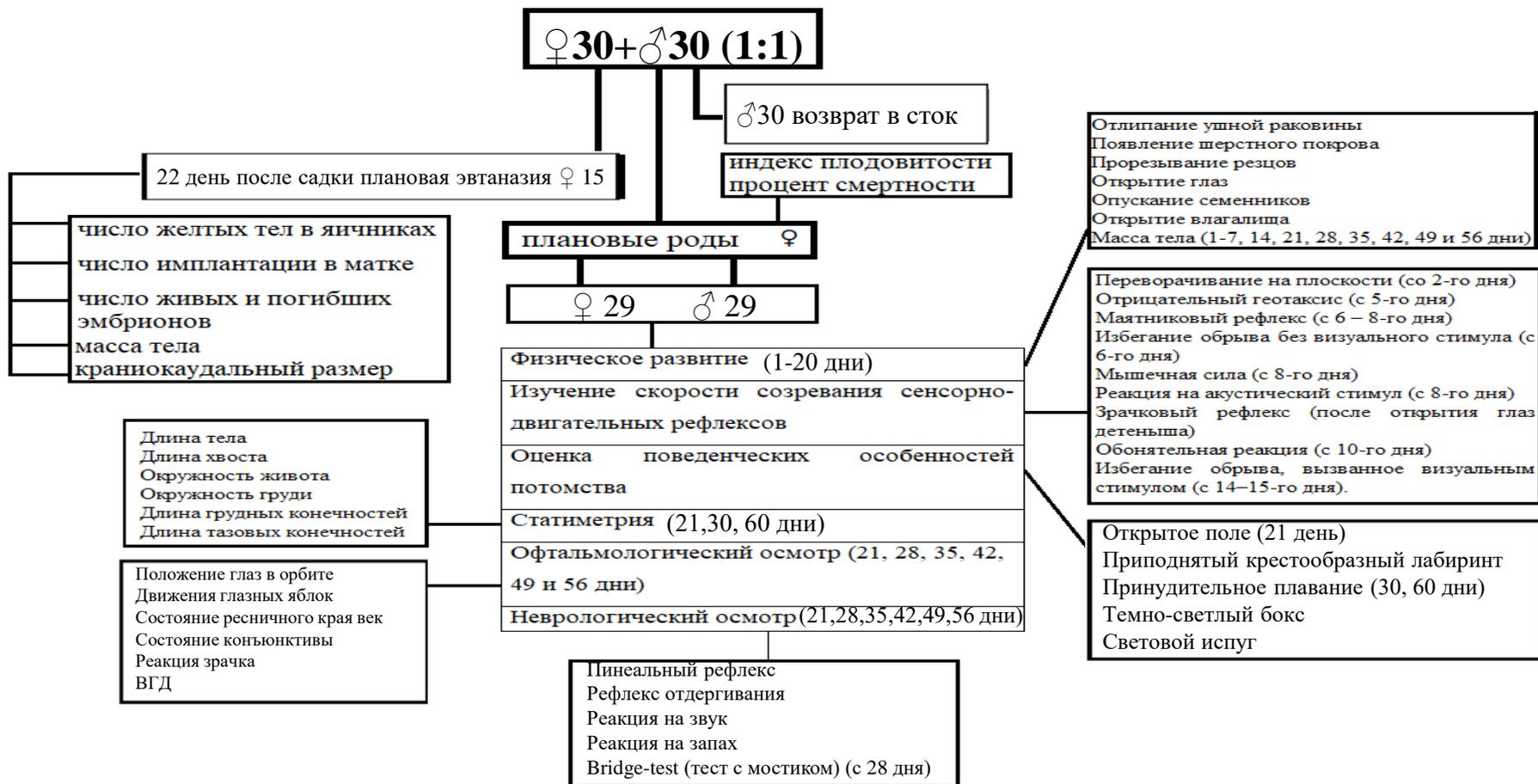
Целью настоящего исследования было изучение потенциала сирийских хомячков как тест-системы для использования в экспериментах по оценке репродуктивной токсичности.

Задача исследования:

Отработка методики тестирования и накопление массива данных для оценки физического, физиологического и нейроповеденческого развития потомства сирийских хомячков с целью дальнейшего их использования в исследованиях по репродуктивной токсичности.



Дизайн исследования



Отлипание ушной раковины

- Показатель определялся со 2-го дня после рождения.
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- **Результат:** $3 \pm 0,1$ день после рождения



Появление первичного волосяного покрова

- Показатель определялся с 3-го дня после рождения.
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- **Результат:** $4 \pm 0,1$ день после рождения



Прорезывание резцов

- Показатель определялся с 4-го дня после рождения.
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- **Результат: $5 \pm 0,1$ день** после рождения



Открытие глаз

- Показатель определялся с 11-го дня после рождения.
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- **Результат:** $17 \pm 0,5$ день после рождения



Опускание семенников

- Показатель определялся с 35-го дня после рождения.
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- **Результат:** $33 \pm 2,5$ день после рождения



Открытие влагалища

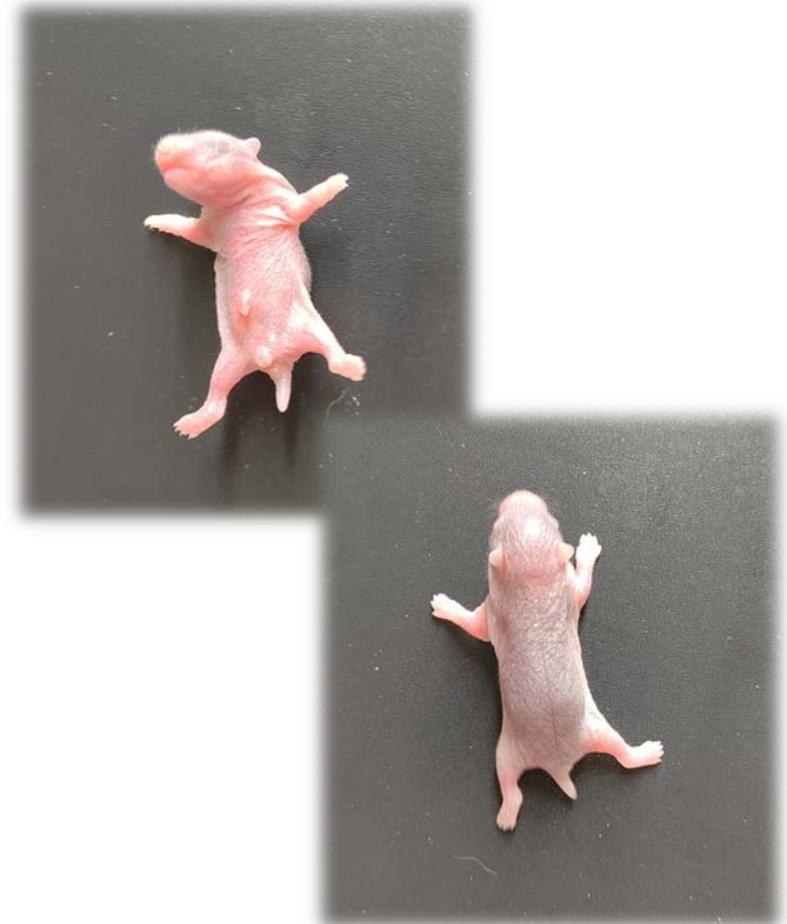
- Показатель определялся с 35-го дня после рождения.
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- **Результат:** $34 \pm 2,2$ день после рождения



Переворачивание на плоскости

Методология

- Тест проводили с 1-го дня после рождения
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- Продолжительность – не более 30 секунд
- Хомячка помещали на стол, переворачивали на спину и, затем, быстро отпускали.
- Визуально регистрировали возвращение животного в нормальное положение на все 4 лапы.
- **Результат:** $2 \pm 0,1$ день после рождения



Отрицательный геотаксис

Методология

- Тест проводили со 5-го дня после рождения
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- Продолжительность теста - не более 60 секунд
- Использовалась платформа «Geotax» и стойка, обеспечивающая ее наклон в 25 градусов.
- Хомячка помещали на платформу головой вниз. Визуально регистрировали разворот животного на 180° относительно начального положения (должен оказаться головой вверх).
- **Результат:** $8 \pm 0,1$ день после рождения



Маятниковый рефлекс

Методология

- Тест проводили с 6-го дня после рождения
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- Продолжительность теста – не более 60 секунд
- Хомячка клали на стол, фиксировали задние конечности (они должны быть поджаты и неподвижны во время проведения теста), фиксировали поворачивание головы и туловища детеныша в горизонтальной плоскости приблизительно на 90° за счет перемещения передних лап.
- **Результат:** $8 \pm 0,1$ дней после рождения



Избегание обрыва без визуального стимула

Методология

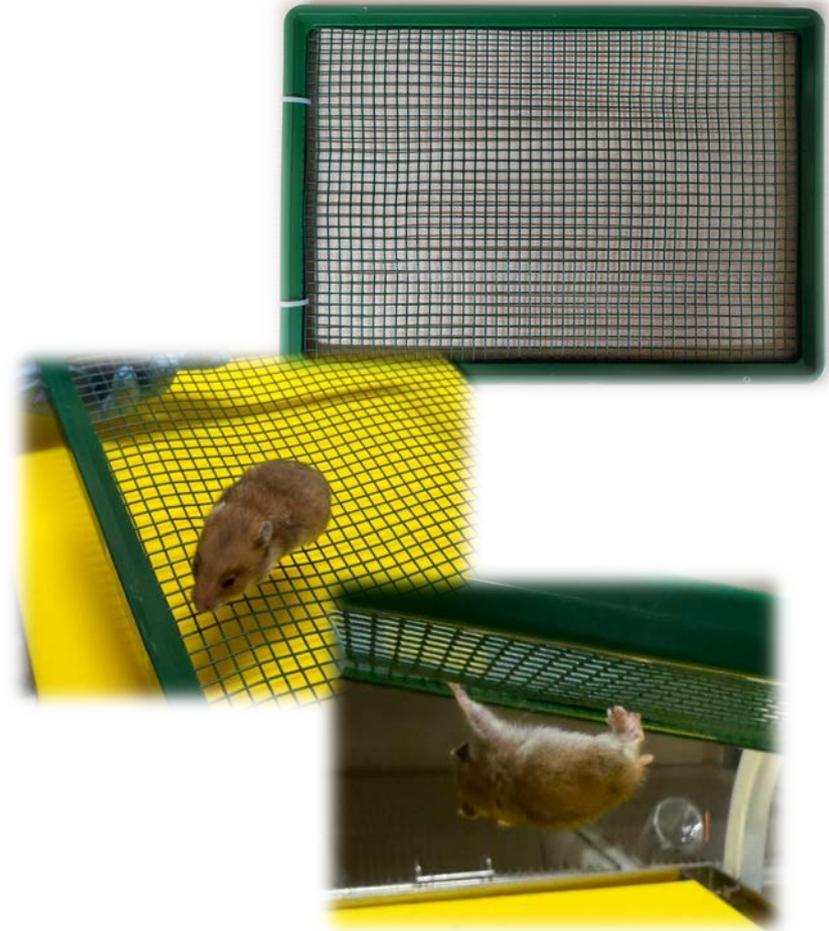
- Тест проводили с 6-го дня после рождения
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- Продолжительность теста - не более 10 секунд
- Хомячка помещали передними лапами к краю стола. Избегание падения считали за положительное решение.
- **Результат:** $10 \pm 0,3$ день после рождения



Мышечная сила

Методология

- Тест проводили с 6-го дня после рождения
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- Хомячка помещали на платформу «Flip-test» - решетку с размерами ячеек 0,6×0,6 см, медленно поворачивали на 180° и регистрировали удержание детеныша под сеткой не менее 15 секунд.
- **Результат:** 16±0,4 день после рождения



Реакция на акустический стимул

Методология

- Тест проводили с 8-го дня после рождения.
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- Хомячка помещали на стол. В стороне от головы животного делали щелчок кликером. Фиксировали проявление видимой реакции (вздрагивание, поворот или движение в сторону стимула).
- **Результат:** $19 \pm 0,4$ день после рождения



Зрачковый рефлекс

Методология

- Тест проводили при отсутствии рабочего освещения
- Тест проводили после открытия глаз детеныша
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- Хомячка помещали в отдельную клетку, затем светили фонариком сбоку животного. Фиксировали поворот головы животного в сторону света
- **Результат:** $20 \pm 0,2$ день после рождения



Обонятельная реакция

Методология

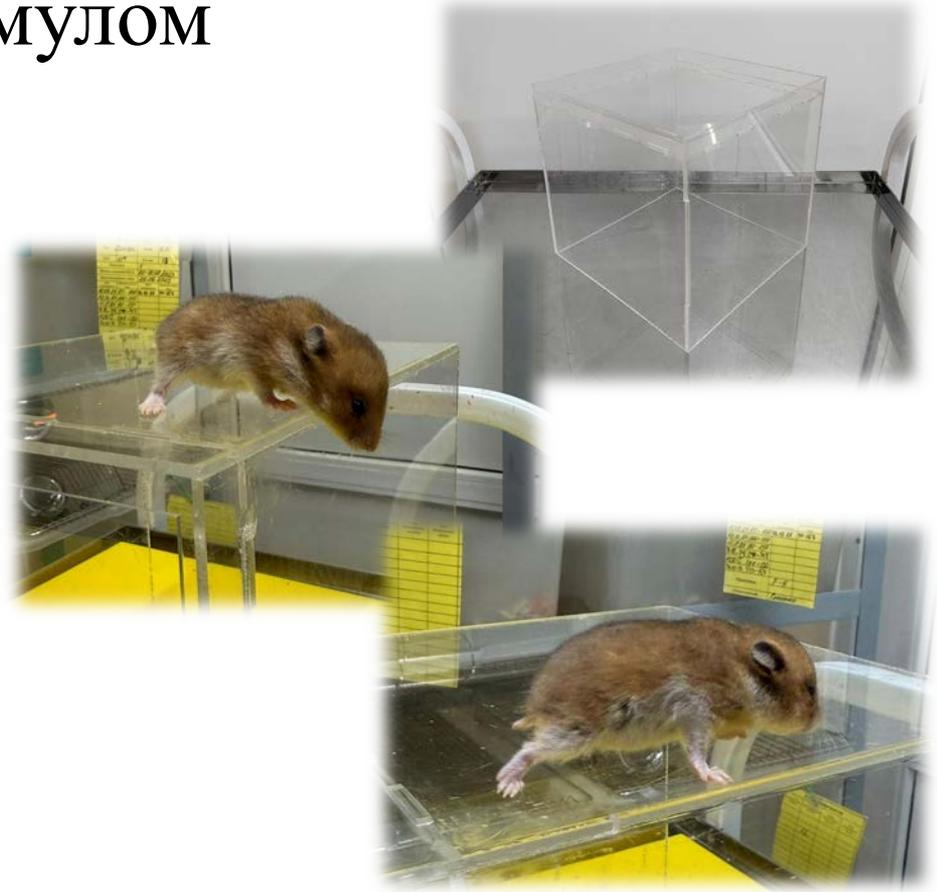
- Тест проводили с 10-го дня после рождения.
- Число животных в экспериментальной группе: **n=58**
- Брали 2 клетки – клетку с тестируемым пометом и самкой и клетку с другой самкой; между ними клали платформу «Direction-test» - рейка шириной 6 см.
- Хомячка ставили на середину рейки, затем фиксировали выбор направления движения детеныша в сторону клетки с матерью и сиблингами.
- Результат: $15 \pm 0,3$ день после рождения



Избегание обрыва, вызванное визуальным стимулом

Методология

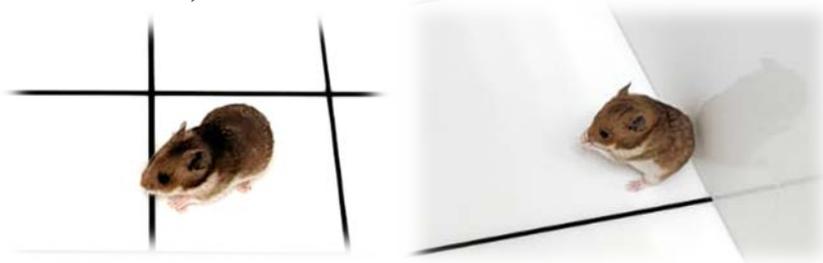
- Тест проводили после открытия глаз
- Число животных в экспериментальной группе: $n=58$
- Хомячков помещали передними лапами к краю платформы «Cliff» - прозрачный куб со стороной 20 см. Избегание падения считали за положительное решение.
- Результат: $19 \pm 0,4$ день после рождения



Тест «Открытое поле»

Методология

- Тест проводили на 21-й день после рождения
- Число животных в экспериментальной группе: **самки n=29, самцы n=29**
- Хомячка помещали в центр арены
- Время фиксации параметров: 3 минуты
- Параметры: число посещений центра, остальных квадратов, число пристеночных стоек, число свободных стоек, число случаев аутогруминга, число болюсов уринации и дефекации.
- Дезинфекция арены между тестами (удаление запахов)



Результаты:

Показатели	Среднее значение	
	Самки n=29	Самцы n=29
Количество центровых посещений	2,6±0,4	3,5±0,6
Количество посещений квадратов	61,1±4,1	75,9±3,1
Количество пристеночных стоек	3,2±0,5	3,6±0,5
Количество свободных стоек	0,3 ± 0,1	0,3±0,1
Количество грумингов	0,2 ± 0,1	0,1±0,1
Количество мочевых точек	0,1 ± 0,1	0,1±0,1
Количество болюсов дефекации	0,1 ± 0,1	0,1±0,1

Тест приподнятый крестообразный лабиринт

Методология

- Тест проводили на 21-й день после рождения
- Число животных в экспериментальной группе: **самки n=29, самцы n=29**
- Хомячка помещали в центр лабиринта (голова в сторону открытого рукава)
- Время фиксации параметров: 3 минуты
- Параметры: выбор типа рукава, число посещений, заглядываний за край, пребывание на центральной платформе
- Дезинфекция между тестами (удаление запахов)



Результаты:

Показатель	Среднее значение	
	Самки n=29	Самцы n=29
Число выбора открытого рукава	4,5 ± 0,5	5,1 ± 0,6
Число выбора закрытого рукава	4,7 ± 0,5	4,3 ± 0,5
Число посещений концов открытых рукавов	2,0 ± 0,3	2,7 ± 0,4
Число свешиваний головы	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,3
Длительность в центральной площадке, сек.	13 ± 2,0	13,4 ± 2,1

Тест темно-светлый бокс

Методология

- Тест проводили на 30-й и 60-й день после рождения
- Число животных в экспериментальной группе: **самки n=29, самцы n=29**
- Хомячка помещали в светлую зону (мордочкой к отверстию)
- Фиксация параметров в течение 3 минут:
- Параметры: время в темной/светлой зонах, время до первого перехода в темную зону, количество переходов
- Дезинфекция между тестами



Результаты:

Параметр	Самки n=29		Самцы n=29	
	30 дней	60 дней	30 дней	60 дней
Время в темном отсеке, сек.	81± 6,9	97± 5,4	71± 9,2	91± 6,8
Время в светлом отсеке, сек.	100± 6,9	83± 5,4	109± 9,2	89± 6,8
Первый переход, сек.	58± 5,9	53± 5,1	41± 7,2	61± 6,8
Всего переходов, шт.	3,0 ± 0,2	2,9 ± 0,3	2,3 ± 0,3	2,6 ± 0,3

Тест принудительное плавание

Методология

- Тест проводили на 30-й и 60-й день после рождения
- Число животных в экспериментальной группе: **самки n=29, самцы n=29**
- Хомячка помещали в центр цилиндра
- Параметры: активное плавание в течение 5 минут
- Прекращение теста при погружении носа под воду >5 секунд



Результаты:

Группа	Возраст	Активное плавание, сек.
Самки n=29	30 дней	269±11,4
	60 дней	295±2,6
Самцы n=29	30 дней	297±2,4
	60 дней	300±0,5

Световой испуг (Light-Startle Test)

Методология

- Тест проводили на 30-й и 60-й день после рождения
- Хомячка помещали в клетку на 2 минуты при красном свете
- Резко включали основное освещение
- Фиксировали поведенческие реакции (замирание, бег, прыжок)

Результаты

- Реакция отмечена только у 2-х из 58-и исследованных хомячков на 30 день после рождения. Остальные хомячки никак не реагировали на включение света ни на 30-й день, ни на 60-й день



Неврологический осмотр

Методология

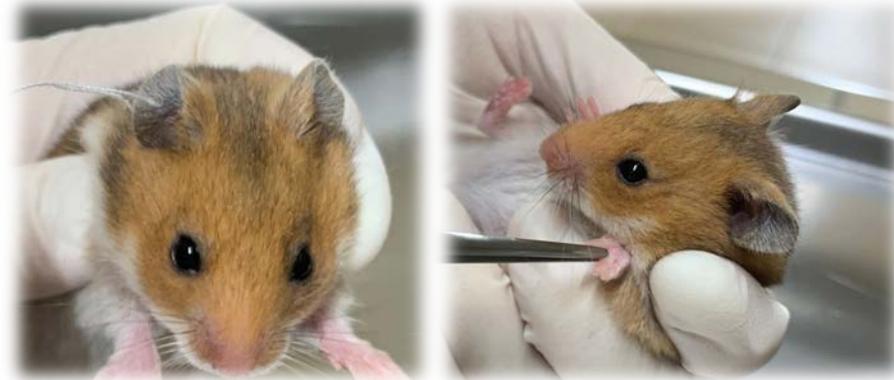
Неврологический осмотр проводился, начиная с 21-го дня после рождения, с последующей еженедельной оценкой до 56-го дня после рождения включительно.

Оцениваемые параметры:

- Пинеальный рефлекс
 - Рефлекс отдергивания
 - Реакция на звук
 - Реакция на запах
-
- С 28-го дня после рождения в осмотр был добавлен Bridge-test (тест с мостиком).
 - Число животных в экспериментальной группе: **n=58**

Результаты:

- Все исследуемые рефлексы и реакции сохранялись с 21-го дня по 56-й день после рождения у всех животных.



Bridge-test (тест с мостиком)

Методология

- Хомячка помещали на край мостика
- Число животных в экспериментальной группе: **самки n=29, самцы n=29**
- Параметры: количество промахов конечностей
- Дезинфекция мостика между тестами

Результаты:

Пол	Возраст (дни)/ количество промахов, шт.				
	28	35	42	49	56
Самки n=29	9,4±0,7	3,8±0,5	1,4±2	0,5±0,1	0
Самцы n=29	11,8±0,9	4,3±0,3	1,5±0,2	0,4±0,1	0



Офтальмологический осмотр

Методология

Офтальмологический осмотр проводили начиная с 21-го дня после рождения с последующими еженедельными исследованиями до 56-го дня после рождения включительно.

Число животных в экспериментальной группе: **самки n=29, самцы n=29**

Оцениваемые параметры:

- Положение глаз в орбите
- Движения глазных яблок
- Состояние ресничного края век
- Состояние конъюнктивы
- Реакция зрачка

С 28-го дня после рождения в осмотр было добавлено измерение внутриглазного давления с использованием тонометра iCare Tonovet Plus (Финляндия).

Результаты:

На протяжении всего периода исследования все оцениваемые показатели у животных оставались неизменными, патологические признаки отсутствовали.

Результаты измерения ВГД:

Возраст (дни)	Самки n=29 (L), мм рт. ст	Самки n=29 (R), мм рт. ст	Самцы n=29 (L), мм рт. ст	Самцы n=29 (R), мм рт. ст
28	20,5 ± 0,9	20,3 ± 0,8	20,0 ± 1,1	19,8 ± 1,8
35	13,3 ± 0,7	12,9 ± 0,7	13,4 ± 0,8	13,1 ± 0,7
42	12,8 ± 0,7	13,6 ± 0,7	14,1 ± 0,5	13,4 ± 0,5
49	14,8 ± 0,6	14,7 ± 0,7	15,1 ± 0,7	15,1 ± 0,7
56	14,1 ± 0,6	13,6 ± 0,4	14,4 ± 0,6	14,8 ± 0,4



Статиметрия

Методология

- Статиметрия проводилась на 21-й, 30-й, 60-й дни после рождения
- Для измерения использовалась сантиметровая лента
- Параметры: длина тела, окружность живота, окружность груди, длина правой и левой грудной и тазовой конечностей

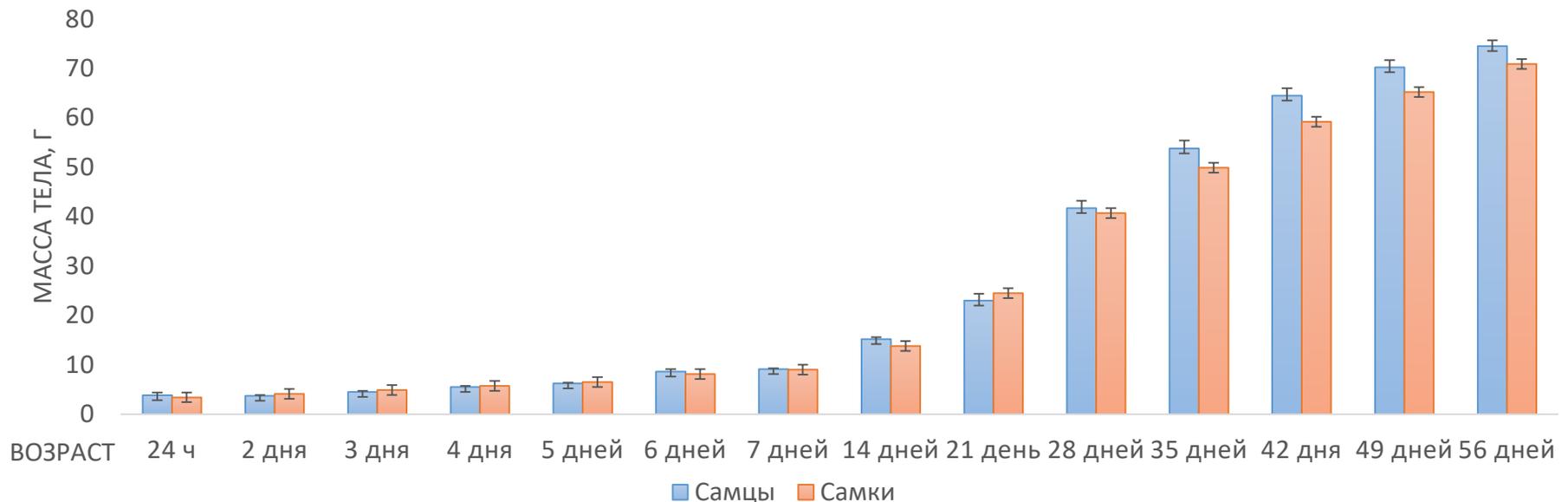


Показатель	21 день		30 дней		60 дней	
	Самки n=29	Самцы n=29	Самки n=29	Самцы n=29	Самки n=29	Самцы n=29
Длина тела, см	6,4 ± 0,2	6,4 ± 0,2	7,5 ± 0,1	7,7 ± 0,1	8,8 ± 0,1	8,9 ± 0,1
Окружность живота, см	6,1 ± 0,3	5,9 ± 0,3	7,9 ± 0,2	7,8 ± 0,2	10,3 ± 0,1	10,2 ± 0,1
Окружность груди, см	5,8 ± 0,3	5,7 ± 0,3	7,4 ± 0,3	7,3 ± 0,2	9,6 ± 0,2	9,6 ± 0,1
Длина грудных конечностей, см (R)	2,1 ± 0,2	1,9 ± 0,2	3,3 ± 0,1	3,4 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,1 ± 0,1
Длина грудных конечностей, см (L)	2,1 ± 0,2	1,9 ± 0,2	3,3 ± 0,1	3,4 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,1 ± 0,1
Длина тазовых конечностей, см (R)	2,5 ± 0,2	2,4 ± 0,1	3,9 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,9 ± 0,1	4,9 ± 0,1
Длина тазовых конечностей, см (L)	2,5 ± 0,2	2,4 ± 0,1	3,9 ± 0,1	4,1 ± 0,1	4,9 ± 0,1	4,9 ± 0,1

Динамика изменения массы тела

Методология

- Взвешивание проводили на 1-7 день после рождения и далее еженедельно до 56-го дня после рождения включительно (использовали электронные весы с точностью до 0,1 г).



Заключение

- Настоящее исследование представляет собой лишь начальный этап разработки и адаптации тестовых методик для сирийских хомячков.
- Нами были получены данные на 58 хомячках (29 самок и 29 самцов), мы опробовали и применили на них наиболее распространенные поведенческие тесты, а также адаптировали методики, обычно используемые для оценки репродуктивной токсичности в исследованиях на крысах и мышах.



Спасибо за внимание

Мы работаем над совершенствованием тестов, накоплением данных и установлением референсных интервалов, чтобы в будущем сделать хомячков такой же востребованной моделью для оценки репродуктивной токсичности, как и классические модели - мыши и крысы.