

УДК 591.15:91.545

РЕПРОДУКЦИЯ, СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ И СТРЕСС. ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СВЕТОВОГО ДНЯ НА ХОМЯЧКА РОБОРОВСКОГО (*PHODOPUS ROBOROVSKII*; RODENTIA: CRICETIDAE)

© 2019 г. Н. Ю. Васильева¹, А. М. Хрущова¹, А. В. Купцов¹,
О. Н. Шекарова¹, К. А. Роговин¹, *

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
119071 Москва, Ленинский просп., 33, Россия

*E-mail: krogovin@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.10.2018 г.

После доработки 12.01.2019 г.

Принята к публикации 03.02.2019 г.

У самцов хомячка Роборовского, содержащихся при долгом (LD режим – 16С : 8Т) и коротком (SD режим – 8С : 16Т) световом дне, исследовали репродуктивные характеристики, вторичный иммунный ответ на введение эритроцитов барана (SRBC), метаболизм покоя (RMR), максимальный энергетический обмен в тесте острого охлаждения (MMR) и уровень стрессированности по концентрации кортизола в крови. Результаты не подтвердили гипотезу усиления иммунореактивности на фоне подавления репродуктивной функции при SD режиме. У SD самцов был повышен удельный RMR, удельный MMR и уровень кортизола в крови. На существование конкурентных отношений (трейдоффа) между гуморальной иммунореактивностью и репродуктивным качеством самца указывают результаты анализа обобщенных линейных и нелинейных моделей (GLZ), а именно отрицательное влияние на вторичную иммунореактивность к SRBC размера среднебрюшной железы (показателя активности репродуктивной системы). Свободный от влияния массы тела MMR также был отрицательно связан с иммунореактивностью, что может говорить о трейдоффе между максимальным уровнем аэробной производительности и иммунной функцией. Одной из наиболее вероятных причин отсутствия влияния на иммунореактивность долготы дня в эксперименте может быть физиологический стресс. Обсуждаются и другие возможные причины.

DOI: 10.1134/S0044459619030072

Хорошо известно, что у сезонно размножающихся видов млекопитающих продолжительность светлого времени суток является фактором, запускающим и регулирующим репродуктивные функции (Bronson, 1988). В отношении иммунитета роль продолжительности светового дня исследована в меньшей степени, а результаты исследований неоднозначны (Martin et al., 2008). Существуют две не взаимоисключающие гипотезы, объясняющие сезонную изменчивость иммунитета у видов с сезонным размножением: 1) гипотеза зимнего усиления иммунитета (Nelson, Demas, 1996; Sinclair, Lochmiller, 2000; Nelson, 2004) и 2) гипотеза трейдоффа (Martin et al., 2004, 2006; Greenman et al., 2005). Первая гипотеза основана на предположении о том, что зимние стрессоры усиливают кортикостероидную активность надпочечников. Известно, что высокий уровень глюкокортикоидов (гормонов стресса) подавляет иммунитет (McEwen et al., 1997). Гипотеза зимнего

усиления предполагает существование эндогенного буферного механизма, усиливающего иммунитет зимой при высокой интенсивности воздействия физических стрессоров. Вторая гипотеза основана на представлении о высокой стоимости механизмов иммунной защиты. Согласно этой гипотезе текущий уровень иммунной активности есть компромиссное решение, или трейдофф, — результат конфликта с другими функциями, конкурирующими за общие и ограниченные ресурсы. В первую очередь, это конфликт между репродукцией и иммунитетом.

Отдать предпочтение одной из двух гипотез, объясняющих механизм зимнего усиления иммунитета, при наблюдениях в природе принципиально невозможно (Martin et al., 2008). Наблюдать же зимнее усиление в природе проблематично. Повышение уровня стрессированности зимой, обусловленное низкими температурами и дефицитом кормов, может не позволить наблюдать эффект. Ле-

том же иммунитет подавлен репродукцией, линькой, их взаимодействием. Иммунореактивность летом может быть ниже, чем зимой, из-за высокой стоимости репродукции и повышенного в связи с размножением уровня стрессированности, либо выше, чем зимой, в случае, если зимние стрессоры подавляют иммунитет сильнее, нежели прямые затраты на репродукцию и связанный с репродукцией и сопутствующими факторами стресс. Наконец, иммунореактивность летом может быть неотличима от таковой зимой, если стресс-эффект репродукции и сопутствующих факторов летом и зимних стрессоров одинаков.

В лабораторном виварии, где условия, за исключением продолжительности светлого времени суток, стандартизированы, мы вправе с большей вероятностью ожидать, что при коротком световом дне, независимо от того, действует или нет механизм зимнего усиления, иммунитет будет более сильным, поскольку в лаборатории снят пресс физических стрессоров и дефицита корма, но при длинном световом дне механизмы иммунной защиты организма будут подавлены активностью репродуктивной системы.

Мы проверяли это предположение в эксперименте, исследуя влияние продолжительности светлого времени суток на одновозрастных, не принимавших участия в размножении половозрелых самцов из лабораторной популяции хомячка Роборовского. Мы ожидали, что при коротком световом дне репродуктивные функции будут подавлены, а специфический иммунный ответ на антигенную нагрузку будет более сильным. При этом фоновый уровень стрессированности организма будет выше при длинном световом дне, поскольку действие внешних стрессоров, не связанных с репродуктивным состоянием, исключено. Мы также предполагали, что энергетическая стоимость активации специфического (приобретенного) гуморального иммунитета достаточно высока, поскольку связана с пролиферацией антителообразующих клеток и продукцией антител в ответ на паразитарную, микробную инвазию (Demas et al., 1997; Svensson et al., 1998; Pmonen et al., 2000; Ots et al., 2001). В связи с этим мы оценивали эффект продолжительности светлого времени суток на систему приобретенного (специфического) гуморального иммунитета.

Хомячок Роборовского — мелкий полиэстральный, незимоспящий грызун с выраженными признаками полового диморфизма, обитающий в пустынях и полупустынях Центральной Азии — на юге Тувы, в Монголии и Китае (Флинт, Головкин, 1961; Соколов, Орлов, 1980; Ma et al., 1987; Ross, 1994). Готовые к спариванию молодые самки весят 18–22 г, самцы 20–28 г. Самцы имеют крупную продольно расположенную специфическую железу в середине брюшка, секретом которой

они метят территорию. Опубликованные сведения о размножении, системе спариваний и территориальных отношениях в природе отсутствуют. Судя по нашим наблюдениям, в Заалтайской Гоби Монголии размножение приурочено к теплому периоду года. О сезонности размножения также свидетельствуют наблюдения за размножением и динамикой концентрации половых гормонов у хомячков при круглогодичном содержании их на улице (Feoktistova, Meschersky, 2005; Feoktistova et al., 2010), а также сезонная изменчивость гормонального ответа на конспецифичные запахи (Feoktistova, Naidenko, 2006).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Животные. Экспериментальные хомячки были получены от родительских пар из лабораторной популяции ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, ведущей происхождение от основателей, вывезенных в 1980-е годы из Монголии. Зверьки родились и выросли в стандартных условиях, при фотопериоде 14С : 10Т и температуре $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Корм (комбикорм для крыс, мышей и хомячков, овес, черный хлеб, свекла, капуста, с добавлением раз в неделю семян подсолнечника и обезжиренного творога) и вода *ad libitum*. В качестве подстилки использовали древесную стружку. Смену подстилки производили раз в 10 дней, но не менее чем за неделю до любых манипуляций с животными. Все клетки были снабжены укрытиями и беговыми колесами.

Схема эксперимента. Экспериментальные самцы находились с родителями и сибсами до возраста 1.5 мес. Затем их содержали в садках ($70 \times 40 \times 40$ см) однополыми группами по 10 особей. В возрасте 3.5–4.5 мес. самцы были рассажены поодиночке в пластиковые садки размером $34 \times 26 \times 22$ см. Через месяц у самцов определили первичный иммунный ответ на эритроциты барана (SRBC; см. ниже) и разделили их на две одинаковые по распределению интенсивности иммунного ответа и массы тела группы. В дальнейшем 35 самцов содержали в индивидуальных садках в помещении с режимом освещенности 8С : 16Т (SD-режим), 34 самца — в помещении с режимом освещенности 16С : 8Т (LD-режим). В обоих помещениях температура воздуха поддерживалась на уровне $23 \pm 2^\circ\text{C}$ и колебалась синхронно.

По окончании двухмесячного периода адаптации к режиму освещенности у животных обеих групп определяли метаболизм покоя (resting metabolic rate, RMR), используя при измерениях в разные дни в равной пропорции SD и LD особей и проводя тестирование в светлое время, когда активность животных минимальна. После окончания измерений RMR, по аналогичной схеме определяли максимальный обмен (maximal metabolic rate, MMR) в тесте острого охлаждения.

Через 9–10 дней после окончания измерений обмена у животных были взяты пробы крови для оценки остаточного первичного иммунного ответа и фоновых концентраций кортизола и тестостерона.

Повторную иммунизацию хомячков проводили через месяц после окончания измерений максимального обмена и спустя три недели после взятия крови на фоновый уровень гормонов. На 7-е сутки после повторной иммунизации брали кровь для оценки титра антител, а также концентрации кортизола и тестостерона в сыворотке крови на пике иммунного ответа.

Всего за время эксперимента у каждого хомячка было взято три пробы крови объемом 300–350 мкл. Кровь у животных всегда брали из подъязычной вены по модифицированной методике Граевской (Graievskaya et al., 1986) в одно и то же время в начале световой фазы. На процедуру взятия пробы у одного животного затрачивали не более 1.5 мин, что в 2 раза меньше времени глюкокортикоидного сигнала в крови в ответ на стрессовое воздействие. Сыворотку отделяли от форменных элементов путем центрифугирования в течение 15 мин при 3000 оборотах, замораживали и до анализа хранили при -19°C .

После взятия крови у повторно иммунизированных самцов их фотографировали зеркальной фотокамерой Nikon D7000 на фоне шкалы линейки в фиксированных стандартных положениях брюшком вверх. Измерение длины тела (от кончика носа до анального отверстия, мм), размера среднебрюшной железы (произведение длины на ширину по внешним очертаниям секретирующей области, мм^2), аногенитального расстояния (мм) проводили затем на экране компьютера по цифровым снимкам (Шекарова и др., 2011). Массу тела с точностью до 0.1 г оценивали при измерениях метаболизма.

Метаболизм покоя. RMR хомячков оценивали путем непрямой проточной калориметрии с 10:00 до 16:00 ч. Животных сажали в цилиндрические камеры из полипропилена объемом 1.3 л, которые помещали в термостат с установленной температурой в пределах термонейтральной зоны этого вида ($T = 30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$) (Zhan, Wang, 2004). В камеры клали немного подстилки из гнезда, чтобы животные скорее успокоились и заснули.

Пять независимых мембранных помп проталкивали уличный воздух со скоростью около 300 мл/мин через камеры с цветоиндикаторным силикагелем КСМГ (для осушения воздуха от паров воды) и далее через камеры с хомячками. Для оценки газообмена у нескольких животных за одну сессию использовали систему переключения воздушных потоков, которая в автоматическом режиме поочередно направляла в газоанализаторы воздух из камер с хомячками и из пустой камеры сравнения (подробнее см. Роговин и др., 2013). Система из-

мерения газообмена была собрана на основе двух респирометров FoxBox-C (Sable Systems International, USA), каждый из которых содержал встроенные мембранный насос, контроллер и измеритель скорости потока газа (массовый расходомер), O_2 и CO_2 газоанализаторы. Выходящий из камер с животными воздух сначала проходил через камеру с осушителем DrieriteTM ($V = 50$ мл), а затем через расходомер. После этого воздушный поток разделялся, и его часть со скоростью 100 мл/мин направлялась в O_2 и CO_2 газоанализаторы обоих респирометров FoxBox. Регистрация относительных концентраций кислорода и углекислого газа, а также скорости воздушного потока происходила раз в 3 с на обоих респирометрах.

В каждой сессии измерений были использованы четыре хомячка, газообмен каждого из них измерялся дважды по 35 мин. Объем потребленного кислорода рассчитывали из относительных концентраций O_2 и CO_2 в соответствии с принципом преобразования Холдейна (Роговин и др., 2013). В качестве показателя RMR (мл/мин) использовали 8-минутный участок кривой газообмена, который находили при помощи метода минимальной скользящей средней. После завершения опыта хомячков извлекали из камер и взвешивали с точностью до 0.1 г. Этот вес в дальнейшем использовали для расчета независимого от массы RMR (остатки регрессии на массу тела) и удельного (масс-специфичного) RMR, который оценивали как потребление кислорода (мл) на единицу массы (г) в час.

Максимальный метаболизм (MMR). Максимальный обмен оценивали в тесте острого охлаждения в гелиево-кислородной среде (Rosentmann, Morrison, 1974; Wang, 1980). Измерения были проведены в переносной установке, разработанной и изготовленной Д.В. Петровским (ИЦиГ СО РАН). Хомячков помещали в гелиево-кислородную (80 : 20) атмосферу на 15 мин при температуре среды 7°C . В аналогичных опытах с хомячками Роборовского не было обнаружено корреляции между потреблением кислорода и температурой окружающей среды в пределах $6\text{--}10^{\circ}\text{C}$ (Moshkin et al., 2002). Следовательно, значения потребления кислорода, полученные при 7°C , можно рассматривать как показатель максимальной аэробной производительности. После помещения животного в камеру объемом 1.2 л через нее в течение 3 мин с помощью насоса прокачивали тарированную гелиево-кислородную смесь, общий объем которой не менее чем в 3.5 раза превышал рабочий объем системы. После прекращения подачи смеси она циркулировала в течение 15 мин по замкнутому контуру, включающему камеру с животным, насос и контейнер. Каждую минуту давление в системе выравнивалось до атмосферного, и рабочая смесь обогащалась чистым кислоро-

дом. Показания потребления кислорода автоматически регистрировались ежеминутно и приводились к стандартным условиям (STPD). В качестве показателя MMR (мл/мин) использовали 5-минутный участок кривой потребления кислорода, найденный методом максимальной скользящей средней.

После завершения опыта хомячков взвешивали с точностью до 0.1 г. Этот вес использовали для расчета независимого от массы MMR (остатки регрессии на массу тела) и удельного (масс-специфического) MMR (мл O_2 /г · ч).

В-клеточная иммунореактивность. Для определения иммунного статуса зверькам внутрибрюшинно вводили 2%-ную суспензию SRBC в физиологическом растворе из расчета 2 мкл/г массы и на 7-е сутки после иммунизации брали пробу крови. Уровень антител в сыворотке крови иммунизированных хомячков определяли по реакции гемагглютинации (Wegmann, Smithies, 1966) в лунках 96-луночного иммунологического планшета путем титрования образцов сыворотки крови в лунках и добавления к пробам сыворотки в кратных разведениях 0.5% суспензии SRBC в физиологическом растворе. Титр антител (TAT) в сыворотке крови оценивали визуально по номеру последней лунки планшета, в которой при последовательных кратных разведениях содержалось еще достаточное для гемагглютинации количество антител. Порядковый номер лунки использовали как показатель интенсивности иммунного ответа. В случае значения, промежуточного между двумя соседними лунками, к номеру предыдущей лунки прибавляли 0.5.

Гормоны. Концентрации тестостерона и кортизола в сыворотке крови оценивали методом конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Использовали готовые тест-системы “ИФА-ТС (тестостерон)” и “ИФА-кортизол” (ЗАО “ПО Иммунотех”, Москва, Россия). Перекрестная реакция кортизола с тестостероном для указанных наборов составляла 0.08%. Оптическую плотность измеряли планшетным спектрофотометром “iMark” на длине волны 450 нм. В случае, если концентрация тестостерона оказывалась выше предлагаемого производителем предела чувствительности тест-системы, сыворотку разводили буферным “Раствором для разведения сыворотки крови” того же производителя.

Материал для анализа. Из 69 самцов в эксперименте по причине случайной гибели были утрачены три самца. В единичных случаях не удалось измерить обмен, иммунитет или концентрацию гормонов. Размеры сравниваемых выборок приведены в табл. 1. Анализ влияния набора переменных-предикторов на иммунореактивность

самцов проведен по наиболее полному массиву данных, включавшему 60 особей (29 SD и 31 LD).

Статистика. Статистический анализ был проведен на базе пакета программ STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., USA). Сравнения независимых выборок самцов, содержащихся на SD и LD режимах, были проведены по следующим переменным: 1) интенсивность иммунного ответа на SRBC после повторной иммунизации (TAT 2, у.е.), 2) разность между величиной ответа после повторной иммунизации и остаточным первичным ответом, измеренным до повторной иммунизации (ΔTAT_{1-2} , у.е.), 3) фоновый уровень кортизола (Cort 1, нм/л), 4) фоновый уровень тестостерона (Testr 1, нм/л), 5) уровень кортизола после повторной иммунизации SRBC (Cort 2, нм/л), 6) уровень тестостерона после повторной иммунизации SRBC (Testr 2, нм/л), 7) метаболизм покоя, оцененный через объем потребленного кислорода в минуту (RMR, мл O_2 /мин), 8) удельный метаболизм покоя (SRMR, мл O_2 /г · ч), 9) максимальный метаболизм (MMR, мл O_2 /мин), 10) удельный максимальный метаболизм (SMMR, мл O_2 /г · ч), 11) масса тела при измерении метаболизма покоя (BMAS RMR, г), 12) масса тела при измерении максимального метаболизма (BMAS MMR, г), 13) длина тела (L , мм), 14) площадь брюшной железы (MVG, произведение длины на ширину в mm^2), 15) аногенитальное расстояние (AnGen, мм).

Для оценки отклонений от нормальных распределений использовали в качестве основного тест Шапиро–Уилка (Shapiro–Wilk test) и как дополнительный, параллельно с визуальной оценкой гистограмм, – тест Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса (Lilliefors, 1967). Для оценки гомогенности распределений использовали тест Левена (Levene’s test for homogeneity of variances). Концентрации гормонов с целью нормализации распределений логарифмировали. Для сравнения нормально распределенных характеристик SD и LD самцов использовали средние с ошибкой и t -критерий Стьюдента для независимых выборок. В случаях значимых отклонений от нормального распределения по критерию Шапиро–Уилка использовали непараметрический тест Манна–Уитни (Mann–Whitney U test). В табл. 1 для переменных, распределения которых удовлетворяли критерию Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса, но не проходивших по критерию Шапиро–Уилка, приведены как параметрическая, так и непараметрическая статистики. Средние и медианы с пределами изменчивости приведены в табл. 1 для всех случаев.

Для оценки влияния набора независимых переменных (вероятных предикторов) на иммунореактивность самцов хомячков использовали модуль обобщенных линейных и нелинейных моделей (Generalized Linear/Nonlinear Model, GLZ) в

Таблица 1. Морфо-физиологические и физиологические характеристики самцов хомячка Роборовского, содержащихся при SD и LD режимах освещения

Характеристики	Короткий день (SD)			Длинный день (LD)			Статистика			
	mean \pm SE*	median (min–max)**	N	mean \pm SE	median (min–max)	N	t _{st}	p	Z _{M-W}	p
Testr 1, нм/л	0.58 \pm 0.14 ^a	2 (0–130)	32	1.06 \pm 0.14 ^a	15 (0–163)	33	-2.22	0.03	-2.15	0.03
Testr 2, нм/л	0.81 \pm 0.12 ^a	7 (1–125)	32	1.18 \pm 0.09 ^a	15 (1–135)	34	-2.43	0.018		0.018
MVG, мм ²	97.8 \pm 7.3	97.8 (32–182)	32	132.6 \pm 7.3	138 (30–208)	34	-3.38	0.001		0.001
AnGen, мм	10.4 \pm 0.3	10.3 (6.0–14.5)	32	12.1 \pm 0.3	12.0 (8.5–14.0)	33	-4.37	<0.001	-4.00	<0.001
L, мм	84.7 \pm 0.5	85 (78–94)	32	87.9 \pm 0.6	88 (80–95)	34	-4.07	<0.001		<0.001
BMAS RMR, г	21.5 \pm 0.8	20.4 (16.7–45.0)	34	26.6 \pm 0.9	25.8 (19.0–38.0)	33	-4.29	<0.001	-5.04	<0.001
BMAS MMR, г	22.2 \pm 0.8	21.3 (17.0–46.1)	34	26.3 \pm 0.8	24.8 (19.4–36.8)	33	-3.50	<0.001	-4.31	<0.001
RMR, мл O ₂ /мин	0.52 \pm 0.01	0.51 (0.35–0.84)	34	0.58 \pm 0.02	0.58 (0.39–0.80)	33	-2.91	0.005	-3.07	0.002
SRMR, мл O ₂ /г · ч	1.45 \pm 0.03	1.45 (1.11–1.71)	34	1.31 \pm 0.02	1.31 (1.14–1.53)	33	4.57	<0.001		<0.001
MMR, мл O ₂ /мин	5.41 \pm 0.21	5.39 (2.43–7.94)	34	5.69 \pm 0.18	5.80 (3.5–7.54)	33	-0.93	0.356		0.356
SMMR, мл O ₂ /г · ч	14.78 \pm 0.49	15.46 (7.24–19.38)	34	13.18 \pm 0.43	13.17 (8.34–17.14)	33	2.47	0.016	2.58	0.01
Cort 1, нм/л	2.06 \pm 0.05 ^a	126 (25–439)	32	1.67 \pm 0.05 ^a	40 (20–323)	33	5.73	<0.001		<0.001
Cort 2, нм/л	2.04 \pm 0.06 ^a	113 (36–498)	32	1.82 \pm 0.04 ^a	63 (16–218)	34	3.07	0.003		0.003
TAT 2, у.е.	10.1 \pm 0.2	10 (7–12)	32	9.9 \pm 0.3	10 (2–13)	34	0.43	0.67	0.17	0.87
Δ TAT ₁₋₂ , у.е.	6.2 \pm 0.4	6.5 (2.5–11.5)	29	6.1 \pm 0.3	6 (1–10)	33	0.28	0.78		0.78

Примечание. Обозначение сравниваемых характеристик здесь и в табл. 2 см. в разделе “Материал и методы”, t_{st} – значения t критерия Стьюдента для независимых выборок, Z_{M-W} – Z статистика в тесте Манна–Уитни, p – доверительная вероятность, N – объем выборки, * – среднее значение и ошибка, ** – медиана и размах изменчивости (в скобках), ^a – десятичный логарифм концентрации.

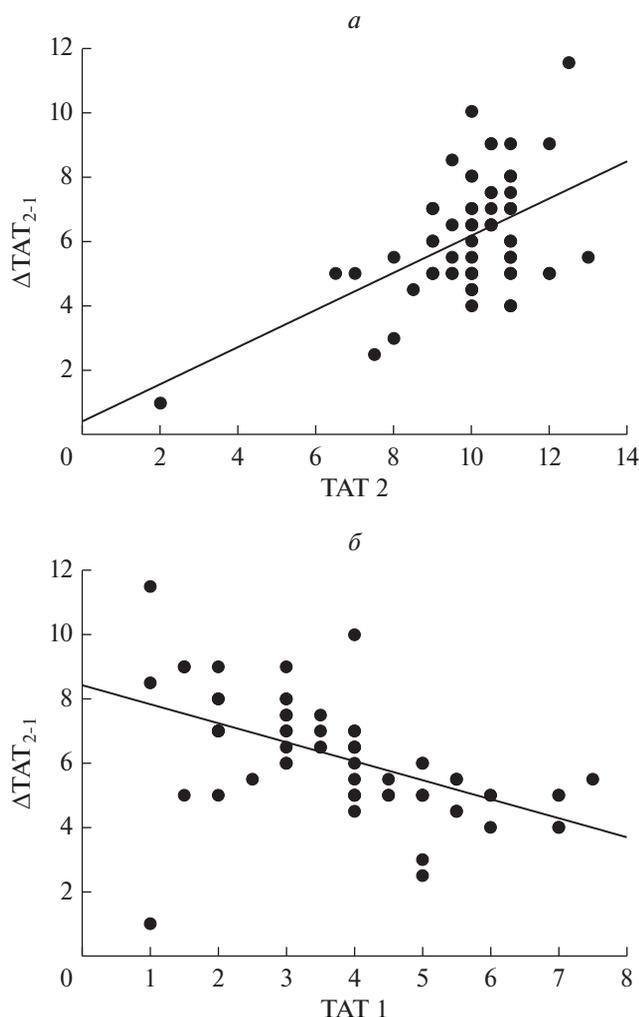


Рис 1. Зависимость (а) чистого вторичного иммунного ответа (ΔTAT_{2-1}) от совокупного иммунного ответа (TAT2) после повторной иммунизации самцов хомячка Роборовского SRBC ($y = 0.44 + 0.57x$; $r = 0.50$; $p < 0.001$) и (б) чистого вторичного иммунного ответа от иммунного ответа, остаточного после первой иммунизации SRBC ($y = 8.43 - 0.59x$; $r = -0.53$; $p < 0.001$).

программе Statistica 7.0 с условием для “normal distribution with identity link function”. Интенсивность вторичного гуморального иммунного ответа и разность между вторичным и остаточным первичным ответами были использованы в качестве зависимых переменных. Набор потенциальных предикторов включал режим освещенности (категориальная переменная, представленная двумя состояниями — SD и LD) и ряд континуальных переменных, приведенных выше, а также остатки регрессии показателей метаболизма покоя и максимальной на соответствующие показатели массы тела. В моделях использовали десятичные логарифмы концентраций гормонов, значений массы и метаболизма. Используются стандартизован-

ные значения переменных. Статистическая значимость предикторов оценивалась по статистике Вальда (Wald statistic). Для выбора наилучшей модели среди моделей-кандидатов использован метод пошагового исключения переменных (Backward stepwise elimination).

ЭТИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ РАБОТЫ С ЖИВОТНЫМИ

В нашем исследовании мы руководствовались рекомендациями “Guidelines for the treatment of animals in behavioural research and teaching. ASAB/ABS 2012” (Buchanan et al., 2012) и законодательством РФ. Проект исследования одобрен Комиссией по биоэтике при ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, протокол № 23 от 31.01.2018.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Признаки, характеризующие активность репродуктивной системы, были более выражены у самцов при LD режиме. LD самцы отличались более высоким уровнем тестостерона в сыворотке крови, большим аногенитальным расстоянием, большей по размеру брюшной железой (на качественном уровне оценки интенсивнее выделявшей секрет), большими длиной и массой тела. У них был более интенсивный метаболизм покоя, оцененный по количеству потребленного в 1 мин кислорода. Однако удельный метаболизм покоя и удельный максимальный метаболизм были более высокими у самцов в SD режиме. Уровень кортизола в сыворотке крови (гуморальный показатель стрессированности) был также значимо более высоким при SD режиме (табл. 1).

Мы не получили значимых различий между SD и LD самцами по интенсивности гуморального иммунного ответа на SRBC после повторной иммунизации как в случае использования совокупного показателя вторичного ответа, так и после исключения остаточных значений первичного иммунного ответа. Разница между титром антител после повторной иммунизации SRBC и титром, остаточным после первой иммунизации (ΔTAT_{1-2}), характеризует непосредственную продукцию антител после повторной иммунизации. Показатель ΔTAT_{1-2} находился в обратной зависимости от остаточного первичного иммунного ответа (рис. 1).

GLZ анализ влияния на интенсивность совокупного вторичного иммунного ответа (TAT 2) набора потенциальных предикторов — характеристик самцов, содержащихся на SD и LD режимах, и самого режима освещенности (категориальная переменная) — не выявил значимых влияний ни в одном из вариантов включения переменных в модель. При использовании в качестве зависимой переменной разности между совокупным вторич-

Таблица 2. Результат GLZ анализа влияния на интенсивность чистого вторичного гуморального иммунного ответа набора морфо-физиологических и физиологических характеристик самцов хомячка Роборовского, содержащихся при SD и LD режимах освещенности

Переменные	Коэффициент	SE	Статистика Вальда (Wald statistic)	<i>p</i>
Интерсепта	4.52	4.64	0.95	0.33
Режим SD/LD	0.04	0.16	0.07	0.79
MVG	-0.50	0.19	7.30	0.01
AnGen	0.35	0.21	2.69	0.10
Cort 1	0.02	0.15	0.02	0.88
Testr 1	0.19	0.12	2.39	0.12
Cort 2	0.06	0.14	0.18	0.67
Testr 2	0.08	0.12	0.39	0.53
BMASS	0.34	0.23	2.15	0.14
RMR	-3.32	3.38	0.96	0.33
MMR	-0.32	0.15	4.69	0.03

ным иммунным ответом и остаточным первичным ответом статистическую поддержку получили размер брюшной железы и максимальный метаболизм. При этом статистически значимое влияние массы тела отсутствовало (табл. 2). Включение в модель вместо показателей обмена и массы тела остатков регрессии показателей метаболизма покоя и максимального метаболизма на соответствующие показатели массы дало сходный результат (MMR residual: $b = -0.26 \pm 0.13$, $Wald\ st = 4.1$, $p = 0.04$; MVG: $b = -0.48 \pm 0.18$, $Wald\ st = 6.46$, $p = 0.01$). То же и при включении в модель показателей удельного метаболизма (SMMR: $b = -0.83 \pm 0.34$, $Wald\ st = 5.93$, $p = 0.01$; MVG: $b = -0.64 \pm 0.28$, $Wald\ st = 5.22$, $p = 0.02$). Процедура автоматизированного выбора наилучшей модели методом пошагового исключения оставляет в итоговой модели только эти две переменные. При этом знаки коэффициентов отрицательны, что указывает на наличие отрицательной зависимости между интенсивностью вторичного иммунного ответа и выявленными предикторами. Хотя значимость статистической поддержки результата невысокая, можно говорить о выраженной тенденции к обратной зависимости между активностью среднебрюшной железы и максимальным метаболизмом с одной стороны и вторичной гуморальной иммунореактивностью с другой. Режим освещенности, использованный в качестве категориальной переменной, не оказывал влияния на интенсивность вторичного иммунного ответа ни в одном из вариантов включения переменных в модель (ни сам по себе, ни с учетом его возможного взаимодействия с другой переменной).

ОБСУЖДЕНИЕ

Мы ожидали, что при коротком световом дне специфический гуморальный иммунитет будет более сильным, поскольку в условиях лабораторного содержания отсутствует пресс физических стрессоров и дефицит корма, в то время как при длинном световом дне механизмы иммунной защиты организма должны быть подавлены активностью репродуктивной системы. В недавнем исследовании влияния фотопериода на потребление энергии, термогенез и репродукцию у хомячка Роборовского было показано, что в условиях короткого светового дня у них снижается масса тела, угнетается репродуктивная функция, происходит интенсификация адаптивного несократительного термогенеза (Zhan et al., 2015). Эти результаты соответствуют полученным нами. Однако в результате проведенного эксперимента мы не получили ожидаемых различий в иммунореактивности самцов хомячка Роборовского, содержащихся на SD и LD режимах освещенности. Различия в иммунореактивности отсутствовали, несмотря на активацию репродуктивной функции у LD самцов. Последнее подтверждается повышенным уровнем тестостерона, большей экспрессией вторичных половых признаков (брюшная железа, аногенитальное расстояние), большей массой и длиной тела.

Признаки конфликта между репродукцией и антителообразованием все же имеются. Об этом говорят результаты GLZ анализа. Существует статистически значимая тенденция к отрицательной связи между размером брюшной железы — органа, зависящего от андрогенов и отражающего активность репродуктивной системы, — и чистым вторичным иммунным ответом на антиген (ΔTAT_{1-2}).

Интерпретировать отрицательный эффект максимального метаболизма сложнее. Показатели метаболизма и иммунная функция могут быть связаны, поскольку обе системы используют одни и те же сигнальные молекулы (в частности глюкокортикоиды) (Zera, Harshman, 2001; Martin et al., 2008; Robinson et al., 2010) и могут конкурировать за ресурсы – энергию и субстраты (Sibly, Calow, 1986; Stearns, 1989).

Связь показателей базального метаболизма (BMR) и близкого к нему метаболизма покоя (RMR) с иммунной функцией отмечена в нескольких работах (Książek et al., 2003; Tieleman et al., 2005; Robinson et al., 2010; Versteegh et al., 2012). Однако, в отличие от максимального уровня аэробной производительности (MMR), мы не обнаружили связи RMR со специфическим гуморальным иммунным ответом. Наши результаты в целом поддерживают недавние результаты, полученные при изучении дикой популяции красных полевков (*Myodes rutilus*) (Novikov et al., 2015). У красных полевков в природной обстановке зараженность цестодами *Arostrilepis horrida* значительно влияла на уровень базального метаболизма, однако иммунизация бараньими эритроцитами, зараженность таежным клещом (*Ixodes persulcatus*) и нематодой (*Heligmosomum mixtum*) самостоятельного влияния не оказывали. Вместе с тем красные полевки – носители нематод – после иммунизации SRBC демонстрировали значительно более низкий максимальный уровень потребления кислорода в тесте острого охлаждения по сравнению с зараженными нематодой полевками, инъецированными физиологическим раствором. Зараженные нематодой полевки демонстрировали значительно более низкий уровень потребления кислорода на последней минуте теста острого охлаждения и большее снижение температуры тела по сравнению с полевками, свободными от гельминтов (Novikov et al., 2015).

Аналогично результату, полученному нами, в опытах с лабораторными мышами, отобранными в нескольких поколениях по признаку высокого и низкого MMR, также не было обнаружено связи BMR с адаптационным (специфическим, приобретенным) и неспецифическим (врожденным) иммунитетом. В то же время мыши, селекционированные по признаку высокого MMR (предельная локомоторная нагрузка), демонстрировали более низкий уровень врожденного иммунитета, но не специфического гуморального (антителообразование в ответ на KLH антиген). Однако анализ на уровне индивидуальных значений переменных, как и в нашем случае, свидетельствовал о существовании отрицательной связи между MMR и антителообразованием (Downs et al., 2013). Авторы полагают, что усиление аэробной

производительности может поддерживаться отбором, поскольку повышает выносливость, однако может параллельно вести к ослаблению энергоемких иммунных функций. Высокий MMR может быть связан с низкой иммунореактивностью, если иммунный ответ и MMR конкурируют за ограниченные энергетические ресурсы.

Почему продолжительность светлого времени в проведенном нами эксперименте не оказала влияния на специфическую гуморальную иммунореактивность хомячков? Причин этому может быть несколько, но одна из них представляется наиболее вероятной. Это повышенный уровень стрессированности хомячков при коротком световом дне. Физиологический стресс обеспечивает мобилизацию ресурсов для выживания за счет других жизненно важных процессов (Wingfield et al., 1998) и обеспечивает перенастройку физиологических функций при изменениях условий среды, направленную на сохранение гомеостаза (McEwen, Wingfield, 2003). Острый стресс и стресс на коротких временных интервалах в ряде случаев способны приводить к усилению иммунных функций (Dhabhar, 2009). Однако на длительных временных интервалах хронический стресс имеет негативное влияние на системы как репродукции, так и иммунитета (Wingfield, Romero, 2001; Romero, 2002; Nelson et al., 2002; Padgett, Glaser, 2003).

Мы ожидали, что при SD режиме в отсутствие зимних стрессоров уровень глюкокортикоидов будет понижен по сравнению с LD. Однако в эксперименте мы наблюдали повышенный уровень глюкокортикоидов у SD самцов хомячков. Повышенный уровень стрессированности проявился на фоне более высокого у SD самцов удельного метаболизма покоя и максимального удельного метаболизма (SMMR) и, возможно, связан с функционированием организма по зимнему сценарию. Вполне вероятно, что повышенный уровень глюкокортикоидов нивелировал непосредственный эффект короткого светового дня на систему гуморального специфического иммунитета самцов хомячков. Усиление иммунитета при коротком световом дне может быть обусловлено как снятием репродуктивной нагрузки как таковой (отсутствие конкуренции за ресурсы – энергетические и субстраты; Martin et al., 2004, 2006; Greenman et al., 2005), так и механизмом зимнего усиления (Nelson, Demas, 1996; Sinclair, Lochmiller, 2000) в условиях отсутствия зимних стрессоров. В нашем случае отсутствие различий в иммунореактивности между SD и LD самцами могло быть следствием того, что у LD самцов иммунореактивность была подавлена активностью репродуктивной системы, а у SD самцов стрессом, обусловленным функционированием обменных процессов по зимнему сценарию.

Другими объяснениями отсутствия в эксперименте влияния долготы дня на специфическую гуморальную иммунореактивность хомячков могут быть следующие.

1. Основным медиатором сезонных перестроек репродуктивной системы принято считать мелатонин. Мелатонин вырабатывается эпифизом в темное время суток, и его основная функция состоит в преобразовании информации о продолжительности светлого времени в физиологический сигнал. При этом значение имеет не амплитуда, а продолжительность секреции мелатонина (Goldman, Nelson, 1993; Goldman, 2001). Рецепторы мелатонина имеются и в клетках иммунной системы, однако его влияние на иммунную систему имеет видовую специфику и может быть опосредовано влиянием репродуктивной активности (Martin et al., 2008). В нашем случае не исключено, что долгота дня, будучи сигнальным фактором в отношении репродуктивной системы, не была таковым непосредственно в отношении системы специфического гуморального иммунитета.

2. Тестостерон и другие андрогены долгое время рассматривались в качестве иммуносупрессоров, поскольку гонадоэктомированные самцы демонстрировали тенденцию к более интенсивным иммунным ответам по сравнению с интактными (Klein, 2000). Действительно, в ряде случаев снижение уровня циркулирующих в крови андрогенов на коротком дне сочеталось с ростом иммунной активности (Nelson et al., 2002; Nelson, 2005). Однако влияние андрогенов на иммунитет неоднозначно и может различаться в отношении разных систем иммунной защиты (Roberts et al., 2004; Prendergast et al., 2005). Даже если тестостерон и способен оказывать непосредственный ингибирующий эффект на систему специфического гуморального иммунитета, то остается вопрос, при каких пороговых уровнях этот эффект проявляется. На фоне усиления репродуктивной функции на долгом дне в нашем эксперименте порог реагирования системы специфического гуморального иммунитета, возможно, не был достигнут.

3. Гипотеза трейдоффа между репродукцией и иммунитетом (Martin et al., 2004) предполагает высокую стоимость активации и поддержания иммунитета. Конкретные оценки энергетической стоимости активации разных звеньев общей системы иммунной защиты организма сильно разнятся, немногочисленны и противоречивы (Ksiażek et al., 2003; Martin et al., 2008). Эти затраты имеют видовую и ситуационную специфику, что накладывает отпечаток на сезонную вариацию и низкую воспроизводимость оценок (Ksiażek et al., 2003). К этому необходимо добавить, что снижение метаболизма в некоторых случаях может быть ча-

стью самой стратегии защиты организма (Klasing, 2004). В своем исследовании мы исходили из предположения о высокой стоимости активации гуморального специфического иммунитета (Demas et al., 1997; Svensson et al., 1998; Ilmonen et al., 2000; Ots et al., 2001; Hanssen et al., 2004; Muehlenbein et al., 2010; см. критику у Ksiażek et al., 2003; McKean, Lazzago, 2011). Если в действительности стоимость продукции антител при повторной иммунизации SRBC невысока, то нет серьезных оснований ожидать проявления конфликта между специфическим гуморальным иммунитетом и репродукцией. Возможно, отличие SD от LD хомячков следует искать среди индикаторов активности других систем иммунной защиты.

4. Принято считать, что признаки восстановления репродуктивной активности у фотопериодичных грызунов начинают проявляться после 20 нед. содержания на коротком световом дне (Prendergast, Nelson, 2001; Prendergast et al., 2002). Это на 3 нед. превышает продолжительность нашего эксперимента. Однако нельзя исключить, что у наших самцов, 4 мес. содержавшихся при SD режиме, к концу эксперимента на молекулярном уровне все же могла начаться спонтанная активация репродуктивной функции, сопряженная с подавлением иммунной активности (Lincoln et al., 2005).

Резюмируя вышесказанное, нам представляется, что более перспективным подходом в дальнейшем исследовании механизма влияния продолжительности дня на иммунитет хомячка Роборовского, как и других фотопериодичных грызунов, может быть исследование изменений иммунной активности в ситуации, когда эта активность модулируется дополнительными воздействиями, например кастрацией самцов с последующей терапией их андрогенами. При этом возникает возможность исключить влияние как непосредственно тестостерона, так и репродуктивной активности в целом. Важным также представляется исследование ответов и других систем (подсистем) иммунной защиты организма.

Авторы благодарны А.В. Бушуеву за предоставленную возможность использовать оборудование для измерения энергообмена покоя, за консультации по измерению RMR и анализу данных, а также Д.В. Петровскому за специально изготовленную им установку для измерения MMR в тесте острого охлаждения. Авторы глубоко признательны обоим рецензентам за ценные замечания. Работа выполнена при поддержке РФФИ в рамках программы совместных международных проектов: РФФИ – Государственный фонд естественных наук Китая. Грант РФФИ – ГФЕН № 17-54-53206.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Роговин К.А., Бушуев А.В., Хрущова А.М., Васильева Н.Ю., 2013. Энергообмен в покое, стресс, тестостерон и индуцированный иммунный ответ у “весенних” и “осенних” хомячков Кэмпбелла, выращенных в условиях длинного дня // Журн. общ. биологии. Т. 74. № 5. С. 366–378.
- Соколов В.Е., Орлов В.Н., 1980. Определитель млекопитающих Монгольской Народной Республики. М.: Наука. 351 с.
- Флинт В.Е., Головкин А.Н., 1961. Очерк сравнительной экологии хомячков Тувы // Бюл. МОИП. Отд. биол. Т. 66. Вып. 5. С. 57–75.
- Шекарова О.Н., Хрущова А.М., Роговин К.А., 2011. О возможности неинвазивной оценки репродуктивного статуса самцов хомячка Кэмпбелла (*Phodopus campbelli*) по цифровым фотоснимкам // Зоол. журн. Т. 90. № 1. С. 67–70.
- Bronson F.H., 1988. Mammalian reproductive strategies – genes, photoperiod and latitude // *Reprod. Nutr. Dev.* V. 28. P. 335–347.
- Buchanan K., Burt de Perera T., Carere C., Carter T., Hailey A. et al., 2012. Guidelines for the treatment of animals in behavioural research and teaching // *Anim. Behav.* V. 83. № 1. P. 301–309.
- Demas G.E., Chefer V., Talan M.I., Nelson R.J., 1997. Metabolic costs of mounting an antigen-stimulated immune response in adult and aged C57BL/6J mice // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* V. 42. P. R1631–R1637.
- Dhabhar F.S., 2009. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: Implications for immunoprotection and immunopathology // *Neuroimmunomodulation.* V. 16. № 5. P. 300–317.
- Downs C.J., Brown J.L., Wone B., Donovan E.R., Hunter K., Hayes J.P., 2013. Selection for increased mass-independent maximal metabolic rate suppresses innate but not adaptive immune function // *Proc. R. Soc. B.* V. 280. P. 20122636.
- Feoktistova N.Yu., Meschersky I.G., 2005. Seasonal changes in desert hamster *Phodopus roborovskii* breeding activity // *Acta Zool. Sinica.* V. 51. № 1. P. 1–6.
- Feoktistova N.Yu., Naidenko S.V., 2006. Hormonal response to conspecific chemical signals as an indicator of seasonal reproduction dynamics in the desert hamster, *Phodopus roborovskii* // *Russ. J. Ecol.* V. 37. № 6. P. 426–430.
- Feoktistova N.Yu., Kropotkina M.V., Naidenko S.V., 2010. Seasonal changes of steroid levels in blood plasma of three *Phodopus* species (Mammalia, Cricetinae) // *Biol. Bull.* V. 37. № 6. P. 659–664.
- Goldman B.D., 2001. Mammalian photoperiodic system: Formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement // *J. Biol. Rhythms.* V. 16. P. 283–301.
- Goldman B.D., Nelson R.J., 1993. Melatonin and seasonality in mammals // *Melatonin: Biosynthesis, Physiological Effects, and Clinical Applications* / Ed. Reiter R.J. Boca Raton. FL: CRC. Press. P. 225–252.
- Graievskaya B.M., Surov A.V., Mesherski I.G., 1986. The tongue vein as a source of blood in the golden hamster // *Z. Versuchstierkd.* № 28. P. 41–43.
- Greenman C.G., Martin L.B., Hau M., 2005. Reproductive state, but not testosterone, reduces immune function in male house sparrows (*Passer domesticus*) // *Physiol. Biochem. Zool.* V. 78. P. 60–68.
- Hanssen S.A., Hasselquist D., Folstad I., Erikstad K.E., 2004. Costs of immunity: Immune responsiveness reduces survival in a vertebrate // *Proc. R. Soc. B.* V. 271. P. 925–930.
- Ilmonen P., Taarna T., Hasselquist D., 2000. Experimentally activated immune defence in female pied flycatchers results in reduced breeding success // *Proc. R. Soc. B.* V. 267. P. 665–670.
- Klasing K.C., 2004. The costs of immunity // *Acta Zool. Sinica.* V. 50. P. 961–969.
- Klein S.L., 2000. The effects of hormones on sex differences in infection: From genes to behavior // *Neurosci. Biobehav. Rev.* V. 24. P. 627–638.
- Ksiażek A., Konarzewski M., Chadzińska M., Cichoń M., 2003. Costs of immune response in cold-stressed laboratory mice selected for high and low basal metabolism rates // *Proc. R. Soc. B.* V. 270. P. 2025–2031.
- Lilliefors H.W., 1967. On the Kolmogorov–Smirnov test for normality with mean and variance unknown // *J. Amer. Statist. Assoc.* V. 62. № 318. P. 399–402.
- Lincoln G.A., Johnston J.D., Andersson H., Wagner G., Hartzlerigg D.G., 2005. Photorefractoriness in mammals: Dissociating a seasonal timer from the circadian-based photoperiod response // *Endocrinology.* V. 146. № 9. P. 3782–3790.
- Ma Y., Wang F., Jin S., Li S., 1987. Glires (rodents and lagomorphs) of Northern Xinjiang and their zoogeographical distribution. Beijing: Academia Sinica. 274 p. (in Chinese).
- Martin L.B., Weil Z.M., Nelson R.J., 2008. Seasonal changes in vertebrate immune activity: mediation by physiological trade-offs // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* V. 363. P. 321–339.
- Martin L.B., Pless M., Svoboda J., Wikelski M., 2004. Immune activity in temperate and tropical house sparrows: A common-garden experiment // *Ecology.* V. 85. P. 2323–2331.
- Martin L.B., Han P., Kwong J., Hau M., 2006. Cutaneous immune activity varies with physiological state in female house sparrows (*Passer domesticus*) // *Physiol. Biochem. Zool.* V. 79. P. 775–783.
- McEwen B.S., Wingfield J.C., 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine // *Horm. Behav.* V. 43. P. 2–15.
- McEwen B.S., Biron C.A., Brunson K.W., Bulloch K., Chambers W.H. et al., 1997. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease:

- neural, endocrine and immune interactions // *Brain Res. Rev.* V. 23. P. 79–133.
- McKean K.A., Lazzaro B.P., 2011. The costs of immunity and the evolution of immunological defense mechanisms // *Mechanisms of Life History Evolution* / Eds Heyland A., Flatt T. Oxford: Oxford Univ. Press. P. 299–310.
- Moshkin M.P., Novikov E.A., Kolosova I.E., Surov A.V., Telitsina A.Y., Osipova O.A., 2002. Adrenocortical and bioenergetic responses to cold in five species of murine rodent // *J. Mammal.* V. 83. P. 458–466.
- Muehlenbein M.P., Hirschtick J.L., Bonner J.Z., Swartz A.M., 2010. Toward quantifying the usage costs of human immunity: Altered metabolic rates and hormone levels during acute immune activation in men // *Am. J. Hum. Biol.* V. 22. Is. 4. P. 546–556.
- Nelson R.J., 2004. Seasonal immune function and sickness responses // *Trends Immunol.* V. 25. P. 187–192.
- Nelson R.J., 2005. *An Introduction to Behavioral Endocrinology*. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 822 p.
- Nelson R.J., Demas G.E., 1996. Seasonal changes in immune function // *Q. Rev. Biol.* V. 71. P. 511–548.
- Nelson R.J., Demas G.E., Klein S.L., Kriegsfeld L.J., 2002. *Seasonal Patterns of Stress, Immune Function, and Disease*. N.Y.: Cambridge Univ. Press. 308 p.
- Novikov E., Kondratyuk E., Petrovski D., Krivopalov A., Moshkin M., 2015. Effects of parasites and antigenic challenge on metabolic rates and thermoregulation in northern red-backed voles (*Myodes rutilus*) // *Parasitol. Res.* V. 114. P. 4479–4486.
- Ots I., Kerimov A.B., Ivankina E.V., Hyina T.A., Hōrak P., 2001. Immune challenge affects basal metabolic activity in wintering great tits // *Proc. R. Soc. B.* V. 268. P. 1175–1181.
- Padgett D.A., Glaser R., 2003. How stress influences the immune response // *Trends Immunol.* V. 24. № 8. P. 444–448.
- Prendergast B.J., Nelson R.J., 2001. Spontaneous “regression” of enhanced immune function in a photoperiodic rodent *Peromyscus maniculatus* // *Proc. R. Soc. B.* V. 268. P. 2221–2228.
- Prendergast B.J., Bilbo S.D., Nelson R.J., 2005. Short day lengths enhance skin immune responses in gonadectomized Siberian hamsters // *J. Neuroendocrinol.* V. 17. P. 18–21.
- Prendergast B.J., Wynne-Edwards K.E., Yellon S.M., Nelson R.J., 2002. Photorefractoriness of immune function in male Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*) // *J. Neuroendocrinol.* V. 14. P. 318–329.
- Roberts M.L., Buchanan K.L., Evans M.R., 2004. Testing the immunocompetence handicap hypothesis: A review of the evidence // *Anim. Behav.* V. 68. P. 227–239.
- Robinson W.D., Hau M., Klasing K.C., Wikelski M., Brawn J.D. et al., 2010. Diversification of life histories in New World birds // *Auk.* V. 127. P. 253–262.
- Romero L.M., 2002. Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates // *Gen. Comp. Endocrinol.* V. 128. P. 1–24.
- Rosenmann M., Morrison P., 1974. Maximum oxygen consumption and heat loss facilitation in small homeotherms by He-O₂ // *Am. J. Physiol.* V. 226. P. 490–495.
- Ross P.D., 1994. *Phodopus roborovskii* // *Mammalian Species.* V. 459. P. 1–4.
- Sibly R.M., Calow P., 1986. *Physiological Ecology of Animals: An Evolutionary Approach*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 179 p.
- Sinclair J.A., Lochmiller R.L., 2000. The winter immunoenhancement hypothesis: Associations among immunity, density, and survival in prairie vole (*Microtus ochrogaster*) populations // *Can. J. Zool.* V. 78. P. 254–264.
- Stearns S.C., 1989. Trade-offs in life-history evolution // *Funct. Ecol.* V. 3. P. 259–268.
- Svensson E., Raberg L., Koch C., Hasselquist D., 1998. Energetic stress, immunosuppression and the costs of an antibody response // *Funct. Ecol.* V. 12. P. 912–919.
- Tieleman I.B., Williams J.B., Ricklefs R.E., Klasing K.C., 2005. Constitutive innate immunity is a component of the pace-of-life syndrome in tropical birds // *Proc. R. Soc. B.* V. 272. P. 1715–1720.
- Versteegh M.A., Schwabl I., Jaquier S., Tieleman B.I., 2012. Do immunological, endocrine and metabolic traits fall on a single Pace-of-Life axis? Covariation and constraints among physiological systems // *J. Evol. Biol.* V. 25. P. 1864–1876.
- Wang L.C.H., 1980. Modulation of maximum thermogenesis by feeding in the white rat // *J. Appl. Physiol.* V. 49. P. 975–978.
- Wegmann T.G., Smithies O., 1966. A simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies // *Transfusion.* V. 6. № 1. P. 67–73.
- Wingfield J.C., Romero L.M., 2001. Adrenocortical responses to stress and their modulation in free-living vertebrates // *Handbook of Physiology: The Endocrine System* / Eds McEwen B.S., Goodman H.M. V. 4. Section 7. N.Y.: Oxford Univ. Press. P. 211–234.
- Wingfield J.C., Maney D.L., Breuner C.W., Jacobs J.D., Lynn S. et al., 1998. Ecological bases of hormone-behavior interactions: the “emergency life history stage” // *Am. Zool.* V. 38. P. 191–206.
- Zera A.J., Harshman L.G., 2001. The physiology of life history trade-offs in animals // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* V. 32. P. 95–126.
- Zhan X.M., Wang D.H., 2004. Energy metabolism and thermoregulation of the desert hamster (*Phodopus roborovskii*) in Hunshandake Desert of Inner Mongolia, China // *Acta Theriol. Sinica.* V. 24. № 2. P. 152–159.
- Zhan X., Zhao Z., Vasilieva N., Khrushchova A., Wang D., 2015. Effects of short photoperiod on energy intake, thermogenesis, and reproduction in desert hamsters (*Phodopus roborovskii*) // *Integr. Zool.* V. 10. P. 207–215.

Reproduction, humoral adaptive immunity, and stress: Effects of photoperiod manipulation on Roborovski dwarf hamsters (*Phodopus roborovskii*; Rodentia: Cricetidae).

N. Yu. Vasilieva^a, A. M. Khrushchova^a, A. V. Kuptsov^a, O. N. Shekarova^a, K. A. Rogovin^a, *

^a*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS,
119071 Moscow, Leninsky pr. 33, Russia*

**e-mail: krogovin@yandex.ru*

We studied reproductive characteristics, secondary humoral immune responsiveness to sheep red blood cells (SRBC), maximum (MMR) and resting (RMR) metabolic rates, and blood levels of stress hormones in Roborovski dwarf hamster males kept at long day (LD: 16D : 8N) and short day (SD: 8D : 16N) conditions. We assumed that under SD in a lab, the specific humoral immunity response would be higher due to the lack of influence of winter physical stressors and food deficiency, while at LD the immune responsiveness to the antigenic challenge would be suppressed by the tradeoff with activated reproduction. The results did not confirm an enhancement of immune responsiveness in SD, although the reproductive activity was suppressed. SD males had an increased mass-specific RMR, mass-specific MMR, and stress level. Nevertheless, an existence of the tradeoff between humoral immunoresponsiveness and reproduction was indicated by GLZ models analysis. Statistical models signify the negative effect on secondary immunoresponsiveness to SRBC of mid-ventral gland size, the organ characterizing individual reproductive quality. Body mass free MMR also negatively affected the secondary immunoresponsiveness. The latter could signify the tradeoff between maximal aerobic performance and the immune function. Stress could be the most likely reason for the lack of the effect of day duration on specific humoral immunoresponsiveness in dwarf hamster males. Other possible reasons are also discussed.