

ФИЗИОЛОГИЯ
ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

УДК 591.15:91.545

ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СВЕТОВОГО ДНЯ
НА ВРОЖДЕННУЮ И ПРИОБРЕТЕННУЮ ГУМОРАЛЬНУЮ
ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ ХОМЯЧКА КЭМПБЕЛЛА
(*Phodopus campbelli* Thomas, 1905)

© 2023 г. А. М. Хрушова*, @, Н. Ю. Васильева*, О. Н. Шекарова*, К. А. Роговин*

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

@E-mail: cricetulus@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.03.2023 г.

После доработки 31.05.2023 г.

Принята к публикации 31.05.2023 г.

У самцов хомячка Кэмпбелла (*Phodopus campbelli* Thomas, 1905), содержащихся при долгом (LD, 16С : 8Т) и коротком (SD, 6С : 18Т) световом дне, исследовали врожденную гуморальную иммунореактивность (ВГИ) — гемолиз кроличьих эритроцитов белками комплемента, приобретенный гуморальный (В-клеточный) иммунный ответ (ПГИ) на внутрибрюшинную инъекцию эритроцитов барана, морфологические и гормональные репродуктивные характеристики и уровень стресса (кортизол в крови). Через два месяца экспозиции SD самцы имели меньшую относительно LD массу тела, уменьшенное аногенитальное расстояние и размер специфической среднебрюшной железы, более низкий уровень тестостерона, но не уровень кортизола в крови. Результаты свидетельствуют об усилении ВГИ, но не ПГИ на коротком дне. Сравнение SD фоторефрактерных, SD фоточувствительных и LD особей продемонстрировало статистически значимое усиление ВГИ у SD фоточувствительных хомячков по сравнению с LD. Связь между ВГИ и ПГИ отсутствовала, что свидетельствует о независимой реакции на фотопериод разных ветвей системы иммунитета.

Ключевые слова: фотопериодизм, гуморальный врожденный иммунитет, гуморальный приобретенный иммунитет, зимнее усиление иммунитета, *Phodopus campbelli*

DOI: 10.31857/S1026347023600280, **EDN:** GFFOPS

Известное явление зимнего усиления иммунитета у сезонно размножающихся млекопитающих умеренных и холодных климатических зон (Sinclair, Lochmiller, 2000) может рассматриваться как адаптация к противодействию сезонным инфекциям, чаще встречающимся в осеннее и зимнее время (Nelson, 2004). Механизм зимнего усиления иммунитета обычно объясняется с позиции двух не исключающих одна другую гипотез — гипотезы эндогенных компенсаторных механизмов, усиливающих иммунную функцию зимой в условиях действия зимних стрессоров (бескормица, низкие температуры) (Nelson, Demas, 1996; Sinclair, Lochmiller, 2000; Nelson, 2004), и гипотезы компромисса жизненных интересов (tradeoff hypothesis), согласно которой усиление иммунитета зимой происходит в результате снижения конкурентного давления со стороны репродуктивной системы и сопутствующих размножению ресурсозатратных функций (Martin *et al.*, 2004, 2006; Greenman *et al.*, 2005). Действительно, хорошо известно, что у сезонно размножающихся млекопитающих продолжительность светлого

времени суток является сигнальным фактором, определяющим ряд функций, в первую очередь репродуктивную (обзор: Prendergast *et al.*, 2002; Hazlerigg 2012). В отношении иммунитета эффекты влияния фотопериода не столь однозначны, результаты исследований и выводы из них противоречивы (Martin *et al.*, 2008; Ter Horst *et al.*, 2021). Так, в природе эффект усиления иммунитета зимой может быть замаскирован действием внешних зимних стрессоров, а летом внутренними стрессовыми ситуациями (репродукция, линька, подготовка к зиме) (Martin *et al.*, 2008). Различия в образе жизни и местообитаниях могут также объяснить усиление иммунитета зимой у одних видов и его отсутствие у других (Nelson, 2004; Lee, 2006; Martin *et al.*, 2008).

Работы, посвященные изучению сезонной изменчивости иммунитета, касаются, как правило, одной, реже двух ветвей многоуровневой, глубоко эшелонированной системы иммунной защиты организма (Martin *et al.*, 2008). Вопрос о том, в какой степени разные звенья иммунной системы подвержены сезонной изменчивости и насколько

может различаться глубина таких изменений у разных видов, продолжает оставаться дискуссионным (Лохмиллер, Мошкин, 1999; Martin *et al.*, 2008; Scheiermann *et al.*, 2018; Onishi *et al.*, 2020). Результаты исследований могут зависеть от того, какая ветвь сложной системы иммунной защиты организма исследуется (врожденный, приобретенный клеточный, приобретенный гуморальный) и особенностей используемых методических приемов (Martin *et al.*, 2008; Zysling *et al.*, 2009; Adelman *et al.*, 2013; Stevenson, Prendergast 2015; Schults *et al.*, 2017).

Наиболее простой вариант сравнения реакции разных ветвей иммунной системы на сезонные факторы — лабораторный эксперимент с изменением продолжительности светового дня при стандартизации и оптимизации всех других условий содержания животных (Nelson, 2004). Несомненно, что особенности зимней биологии видов, на которых проводятся исследования, могут определять результаты экспериментов. Поэтому для решения спорных вопросов, касающихся сезонных изменений иммунитета, представляется перспективным изучение таксономически близких видов, отличающихся по характеру адаптаций к зимним условиям. Удобной моделью для подобного рода исследований являются хомячки рода *Phodopus*.

Джунгарский хомячок (*Phodopus sungorus* Pallas, 1773) используется в хронобиологических исследованиях с середины прошлого века. В условиях короткого дня у самцов происходит ослабление репродуктивной функции с одновременным усилением агрессивности (Jasnow *et al.*, 2000; Scotti *et al.*, 2007; Bedrosian *et al.*, 2012; Rendon *et al.*, 2016) и повышением концентрации глюкокортикоидов в крови (Bilbo *et al.*, 2002). У хомячков наблюдается подавление вторичного приобретенного В-клеточного иммунного ответа на KLH-антиген (Prendergast *et al.*, 2004). При этом разные показатели, отражающие состояние врожденного иммунитета, в условиях короткого дня меняются разнонаправленно. Так, в условиях эксперимента у самцов усиливалась выраженность реакции воспаления в ответ на внутрикожное введение DNFB антигена, возрастало абсолютное количество циркулирующих в крови лейкоцитов и лимфоцитов (Bilbo *et al.*, 2002; Prendergast *et al.*, 2004). В то же время, ослабевала выраженность синдрома болезненного поведения, определяемого воздействием на мозг высвобождаемых Т-лимфоцитами цитокинов в ответ на антигены разного происхождения (Baillie, Prendergast, 2008), не развивался перитонит в ответ на внутрибрюшинное введение зимозана (Pawlak *et al.*, 2009). Эти данные свидетельствуют о наличии сложной связи между разными физиологическими процессами, участвующими в регуляции врожденного иммунитета

и запускаемыми снижением длины светового дня (Pawlak *et al.*, 2009).

Результаты экспериментов по влиянию короткого светового дня на иммунитет хомячка Роборовского (*Phodopus roborovskii* Satunin, 1903) также противоречивы. Так, у самцов режим короткого дня вызывал снижение массы тела, усиление удельного основного и удельного максимального обмена, инволюцию репродуктивных органов, повышал фоновый уровень стресса, однако не отражался на интенсивности приобретенного гуморального иммунного ответа на введение бараньих эритроцитов. В то же время у экспериментальных животных уменьшалось число гранулоцитов в профилях периферической крови, но при этом возрастало число лимфоцитов (Vasilieva *et al.*, 2020).

Данные о влиянии длины светового дня на показатели иммунитета представителей третьего вида рода, хомячка Кэмпбелла (*Phodopus campbelli* Thomas, 1905) — обитателя сухих степей и полупустынь Центральной Азии, вида с сезонным размножением (Соколов, Орлов, 1980; Rogovin *et al.*, 2014a), не известны. Показано, однако, что половозрелые особи разных лабораторных популяций, происходящих от животных из разных частей ареала, различаются по реакции на содержание в условиях короткого светового дня. Так, выраженное торможение роста и развития половой системы демонстрировали молодые особи, полученные от животных из крайней западной части ареала, Чуйской степи (Васильева, Парфенова, 2003), представляющих по результатам анализа митохондриальной ДНК самостоятельную кладогруппу (Мещерский, Феоктистова, 2009). Поэтому хомячки этой линии были выбраны в качестве модели для работы, целью которой была проверка предположения о том, что индуцированное содержанием на коротком световом дне угнетение половой системы может привести к повышению иммунокомпетентности животных.

В задачи исследования входило оценить: 1) влияние экспозиции короткого светового дня на врожденную и приобретенную иммунореактивность, репродуктивные и размерные характеристики хомячков, 2) возможное наличие и направление связи показателей активности двух сравниваемых ветвей иммунной системы, 3) связь каждого из иммунных показателей с состоянием репродуктивной системы самцов, содержащихся на коротком и длинном световом дне.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Экспериментальные хомячки происходили из лабораторной популяции ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, ведущей начало от особей, вывезенных в 1980–1990-е гг. из популяции

окрестностей села Кош-Агач (Кош-Агачский район Республики Алтай). Животных содержали в стандартных условиях, при фотопериоде 16С : 8Т и температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Корм (комбикорм для крыс, мышей и хомячков, овес, семена подсолнечника, черный хлеб, свежие овощи) и вода всегда были *ad libitum*. В качестве подстилки использовали древесную стружку. Смену подстилки производили раз в 10 дней, 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 мес. Затем их содержали в садках из пластика ($70 \times 40 \times 40$ см) однополыми группами по 10 особей. Первого июля 2021 г. у всех хомячков, возраст которых составил к этому времени 2–3 мес., определили массу и длину тела, аногенитальное расстояние (АГР) и размер среднебрюшной железы (СБЖ) ($L \times l$), отражающей репродуктивный статус самцов (Соколов и др., 1990). Затем животных разделили на небольшие группы по 4–5 особей, подобрав их состав таким образом, чтобы по указанным морфометрическим параметрам и возрасту группы были попарно выровнены. Через 25 дней подобранные таким образом пары групп были равномерно распределены на экспериментальные (короткий световой день, SD, 6С : 18Т) (37 самцов) и контрольные группы, которые продолжали находиться на длинном световом дне (LD, 16С : 8Т) (40 самцов). Свет в обоих помещениях включался в 8 ч утра. На момент начала эксперимента различия между SD и LD выборками по морфометрическим показателям и возрасту отсутствовали.

Через два месяца, в период между 24 и 27 сентября 2021 г., у самцов были взяты пробы крови для определения уровня тестостерона и кортизола в сыворотке крови и для характеристики активности нативного врожденного гуморального иммунитета (подробнее см. ниже).

Кровь (около 350 мкл) брали из подъязычного синуса по модифицированной методике Б.М. Граевской (Graievskaia *et al.*, 1986) в одно и то же время в начале световой фазы (в промежутке 1–2 ч после включения света). На процедуру взятия пробы у одного животного затрачивали не более 1.5 мин, что в 2 раза меньше времени выброса глюкокортикоидов в кровь в ответ на стрессовое воздействие (Rogovin *et al.*, 2014b). Сыворотку отделяли путем центрифугирования в течение 15 мин при относительном центробежном ускорении ротора $\text{RCF} = 800$, замораживали и до анализа хранили при -20°C .

После взятия крови хомячков взвешивали с точностью до 0.1 г, измеряли у них длину тела, АГР, длину и ширину СБЖ с точностью до 0.1 мм цифровым штангенциркулем.

Иммунизацию хомячков бараными эритроцитами из дефибринированной крови, законсервированной в растворе Олсвера (производитель ООО “КролИнфо”, Орехово-Зуево, Московская обл., РФ), проводили 11–12.10.2021 и 13–14.10.2021. В интервале с 18 до 19 ч вечера самцам вводили внутрибрюшинно 2%-ную по объему суспензию эритроцитов барана (ЭБ) в физиологическом растворе из расчета 2 мкл/г веса. Предварительно ЭБ трижды отмывали физиологическим раствором от консерванта, центрифугируя при $\text{RCF} = 800$ в течение 15 мин. Полученную эритроцитарную массу суспендировали в физиологическом растворе до необходимой концентрации. На 7-е сут после иммунизации брали вторую порцию крови из подъязычной вены для оценки титра антител к ЭБ на пике иммунного ответа (Rogovin *et al.*, 2014b). После взятия крови хомячков взвешивали, измеряли у них длину тела, аногенитальное расстояние, длину и ширину среднебрюшной железы.

Врожденная иммунореактивность. Метод гемолиза-гемагглютинации EAT (hemolysis-hemagglutination assay) эритроцитов был впервые предложен для характеристики состояния конституционального врожденного иммунитета у разных видов птиц К. Матсоном с соавторами (Matson *et al.*, 2005). С тех пор метод был многократно применен орнитологами в неизменном виде (Butler *et al.*, 2013). В исследованиях млекопитающих методика К. Матсона с соавторами использовалась значительно реже и с дополнительными модификациями, что было связано с физиолого-биохимическими отличиями исследованных видов млекопитающих от птиц (Gilot-Fromont *et al.*, 2012; Racca *et al.*, 2014; Heinrich *et al.*, 2017; Ruoss *et al.*, 2019 и др.).

В настоящей работе использовали частично модифицированную нами методику К. Матсона с соавторами (Matson *et al.*, 2005). Мы оценивали исключительно реакцию гемолиза (лизиса) чужеродных эритроцитов сывороткой крови хомячков. Мы отказались от использования гепарина при взятии крови из-за слабой выраженности реакции геагглютинации, перекрываемой лизисом. Добавление эритроцитов в качестве антигена к сыворотке крови неиммунизированных хомячков дает хорошо выраженную картину гемолитической активности, что также может быть связано с развитием каскада реакций активации комплемента по альтернативному пути без участия антител.

В качестве чужеродных красных кровяных клеток были выбраны эритроциты кролика (ЭК) (Seto, Henderson, 1968; Matson *et al.*, 2005), поскольку в предварительном тесте было показано, что их использование дает более высокие показатели гемолитической активности по сравнению с традиционно используемыми в исследованиях приобретенной гуморальной иммунореактивно-

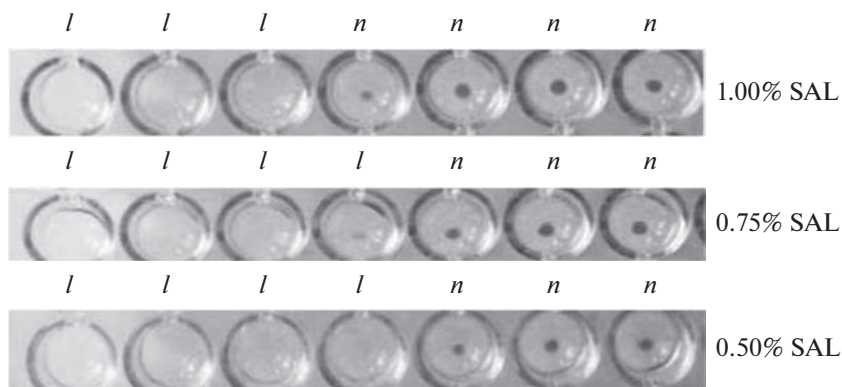


Рис. 1. Пример реакции гемолиза эритроцитов кролика сывороткой крови самцов хомячка Кэмпбелла. Цифровое фото. SAL – физиологический раствор; *l* – лизис, *n* – отсутствие реакции.

сти ЭБ (Wilcoxon Matched Pairs Test; $Z = 2.49$; $N_1 = N_2 = 11$; $p = 0.01$)

ЭК получали из дефибринированной крови, законсервированной в растворе Олсвера (1 : 1; производитель: ООО “КролИнфо” Орехово-Зуево, Московская обл., РФ). Эритроциты отмывали четыре раза физиологическим раствором с центрифугированием взвеси при шадящем режиме ($RCF = 200$) в течение 5 мин. Рабочую объемную концентрацию взвеси эритроцитов рассчитывали с использованием гематокритных капилляров. Вместо рекомендованного 0.01 М фосфатно-солевого буферного раствора (Matson *et al.*, 2005) использовали физиологический раствор, поскольку он обеспечивал лучшее разрешение при визуальной оценке гемолиза. Предварительно проверяли три концентрации добавляемой к сыворотке крови хомячков взвеси эритроцитов: 0.5% (Rogovin *et al.*, 2014b), 1% (Matson *et al.*, 2005) и 0.75%. При оценке гемолитической активности сыворотки чувствительность метода оказалась более высокой при использовании 0.5% взвеси ЭК в физиологическом растворе по сравнению с рекомендованной 1% суспензией (Wilcoxon Matched Pairs Test: $Z = 2.2$, $p = 0.028$, $N_1 = N_2 = 10$). Учитывая низкие в норме показатели гемолиза, концентрация 0.5% может быть предпочтительной, т.к. обеспечивает большую чувствительность метода. С другой стороны, 1% суспензия ЭК дает лучшую воспроизводимость результата и более четкую оценку границы реакции, упрощая визуальную оценку в ущерб чувствительности метода (рис. 1). Мы остановились на промежуточном варианте – 0.75% по объему. Эта концентрация также обеспечивает хорошую воспроизводимость оценки ($y = 0.97x - 0.11$; $R^2 = 0.93$; $n = 14$).

Использовали 96-луночный иммунологический планшет из полистирола с U-образными лунками. Автоматической пипеткой-дозатором в лунки 1 и 2 вносили по 25 мкл сыворотки крови хомячка, в лунки 2–9 – по 25 мкл физиологическо-

го раствора. Титрование начинали со 2-й лунки, переноса по 25 мкл перемешанного содержимого из лунки в лунку. Из 8-й лунки 25 мкл жидкости после перемешивания удаляли. Девятая лунка служила отрицательным контролем. В лунки 1–9 добавляли по 25 мкл взвеси эритроцитов кролика в физиологическом растворе в концентрации 0.75% по объему. Планшет после легкого перемешивания закрывали крышкой, помещали в полиэтиленовый пакет и ставили на инкубацию при температуре 38°C на 90 мин. Температурный режим был подобран как оптимальный для вида ранее при оценках реакции гемагглютинации после иммунизации хомячков Кэмпбелла ЭБ (Rogovin *et al.*, 2014b). Через 90 мин планшет вынимали и оставляли при комнатной температуре для визуализации максимума гемолитической реакции на 20 мин в наклонном положении под углом 45° и затем еще на 70 мин в горизонтальном положении (Matson *et al.*, 2005). Критерием оценки интенсивности гемолиза внесенных эритроцитов служил номер лунки, после которого реакция уже не наблюдалась (рис. 1).

Приобретенная гуморальная (В-клеточная) иммунореактивность. 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 ЭБ в физиологическом растворе (производитель: ООО “КролИнфо” Орехово-Зуево, Московская обл., РФ). Эритроциты из законсервированной раствором Олсвера дефибринированной бараньей крови были предварительно трижды отмыты от консерванта с центрифугированием при $RCF = 800$. Принимая во внимание в норме хорошо выраженный индуцированный иммунизацией гуморальный иммунный ответ, с целью экономии сыворотки крови хомячков раскапывание начинали

с 3-й ячейки ряда. Предварительно в ячейки, начиная с 4-й, вносили по 50 мкл физиологического раствора. В третью ячейку вносили 25 мкл образца сыворотки и 75 мкл физиологического раствора, тщательно перемешивали пипеткой-дозатором и переносили 50 мкл суспензии в следующую лунку, тщательно перемешивали и т.д. Из последней лунки ряда 50 мкл содержимого удаляли. В лунку добавляли по 50 мкл суспензии эритроцитов. Герметично закрытый планшет инкубировали в течение 120 мин при $+38^{\circ}\text{C}$. Титр антител (ТАТ) в сыворотке крови оценивали визуально по номеру последней лунки планшета, в которой при последовательных кратных разведениях содержалось еще достаточное для агглютинации 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. В редких случаях, когда реакция в 3-й лунке отсутствовала, проводили оценку для больших концентраций сыворотки крови: первая лунка — 50 мкл сыворотки, вторая лунка — 50 мкл сыворотки + 50 мкл физиологического раствора.

Гормоны. Концентрации тестостерона и кортизола в сыворотке крови оценивали методом прямого конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Использовали готовые тест-системы “ИФА-ТС (тестостерон)” и “ИФА-кортизол” (ЗАО “НВО Иммунотех”, Москва, Россия). Перекрестная реакция кортизола с тестостероном для указанных наборов составляла 0.08%. Оптическую плотность измеряли на планшетном спектрофотометре Multiskan FC ThermoScientific при длине волны 450 нм. Концентрации гормонов были рассчитаны автоматически сразу после измерения с помощью программного обеспечения ScanIt Software 6.0.1. В случае, если концентрация тестостерона оказывалась выше предлагаемого производителем предела чувствительности тест-системы, сыворотку разводили буферным “Раствором для разведения сыворотки крови” того же производителя.

Статистика. Статистический анализ был проведен на базе пакета программ STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., USA). Сравнения независимых выборок самцов, после содержания на SD и LD режимах, были проведены по следующим переменным: 1) врожденный иммунитет (гемолиз, у. е.), 2) приобретенный В-клеточный иммунитет (у. е.), 3) фоновый уровень тестостерона (до иммунизации ЭБ; Лг, нмоль/л), 4) фоновый уровень кортизола (до иммунизации ЭБ; Лг, нмоль/л), 5) масса тела (г), 6) длина тела (мм), 7) отношение массы к длине тела, 8) аногенитальное расстояние, АГР (мм), 9) среднебрюшная железа, СБЖ (мм²).

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. Для оценки гомогенности распределений использовали тест Левена (Levene’s test for homogeneity of variances). Значения 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, распределение которых удовлетворяло критерию Колмогорова—Смирнова, но не проходивших по критерию Шапиро—Уилка, приведены значения критериев оценки различий параметрическими и непараметрическими методами. Средние и медианы с пределами изменчивости приведены в табл. 1 для всех случаев. Связь индивидуальных показателей врожденного и приобретенного иммунитета у хомячков в SD и LD группах оценена с помощью непараметрического коэффициента корреляции Спирмена, поскольку распределения по критерию Шапиро—Уилка отличались от нормальных.

Поскольку масса и длина тела, уровень тестостерона, АГР и размер СБЖ оказались взаимосвязанными характеристиками, мы использовали Метод главных компонент (PCA) для объединения этих переменных в одну интегральную переменную, в целом характеризующую состояние репродуктивной функции. Данные были предварительно стандартизированы. Поскольку первая компонента объясняла 60.3% вариации внутри выборки, а факторные нагрузки всех включенных в анализ переменных находились в пределах от -0.86 (АГР) до -0.63 (СБЖ), мы использовали эту интегральную переменную для отделения фоторефрактерных особей в SD группе от чувствительных к SD режиму. Это было сделано сравнением распределений вдоль интегральной факторной оси PC1 полученных значений в SD и LD группах. Вторая компонента объясняла лишь 16.9% внутривыборочной дисперсии и была плохо интерпретируема (рис. 2). Фоточувствительными SD считали животных, у которых индивидуальные значения интегрального показателя находились за пределами области распределения индивидуальных значений в LD группе. Использовали однофакторный дисперсионный анализ (One-way ANOVA) для оценки эффекта фотопериода на врожденную и приобретенную гуморальную иммунореактивность, и тест Тьюки (Tukey HSD test) для последующих парных сравнений.

Этические принципы работы с животными. В нашем исследовании мы руководствовались рекомендациями “Guidelines for the treatment of animals in

Таблица 1. Морфофизиологические характеристики самцов хомячка Кэмпбелла, содержащихся при коротком (SD) и долгом (LD) дне. Фотоперфрактерные особи в SD группе включены в анализ (полная выборка)

Характеристика	Короткий день (SD)			Долгий день (LD)			t_{St}	p	Z_{MW-U}	p
	mean $\pm SE^{\dagger}$	median (min–max) [‡]	N	mean $\pm SE$	median (min–max)	N				
Врожденный иммунитет	2.69 $\pm$ 0.23	2.5 (0–7)	37	1.80 $\pm$ 0.19	2 (0–5)	40	2.98	0.004	2.851	0.004
Приобретенный иммунитет	6.32 $\pm$ 0.27	6 (1.5–9)	37	6.42 $\pm$ 0.35	6.25(0–10)	40	–0.22	0.82	–0.67	0.50
Тестостерон (Lg, nm/L)	0.12 $\pm$ 0.11	0.11 (–3.0–1.34)	37	0.83 $\pm$ 0.06	0.83 (0.21–1.48)	40	–5.72	<0.001	–5.41	<0.001
Кортизол (Lg, nm/L)	1.54 $\pm$ 0.05	1.51 (0.86–2.27)	37	1.63 $\pm$ 0.06	1.60 (1.06–2.43)	40	–0.95	0.34		
Масса тела, г	45.07 $\pm$ 1.55	45 (32.0–69.5)	37	56.88 $\pm$ 0.95	56.7 (44.5–69.0)	40	–6.62	<0.001		
Длина тела, мм	97.3 $\pm$ 0.9	98 (88–114)	37	102.7 $\pm$ 0.8	103 (95–115)	40	–4.39	<0.001		
Масса/Длина	0.46 $\pm$ 0.01	0.45 (0.35–0.66)	37	0.55 $\pm$ 0.01	0.54 (0.45–0.68)	40	–6.08	<0.001		
Аногенитальное расстояние, мм	15.16 $\pm$ 0.53	15 (7–22)	37	18.82 $\pm$ 0.26	19 (15–23)	40	–6.32	<0.001		
Среднебрюшная железа, мм ²	19.65 $\pm$ 1.71	16 (4–36)	37	30.55 $\pm$ 1.91	25 (9–64)	40			–3.66	<0.001

Примечание. [†] Среднее и ошибка. [‡] медиана и пределы изменчивости (в скобках). N – размер выборки. t_{St} – значения t -критерия Стьюдента для независимых выборок, Z_{MW-U} – Z -статистика в тесте Манна–Уитни, p – вероятность ошибочного прогноза.

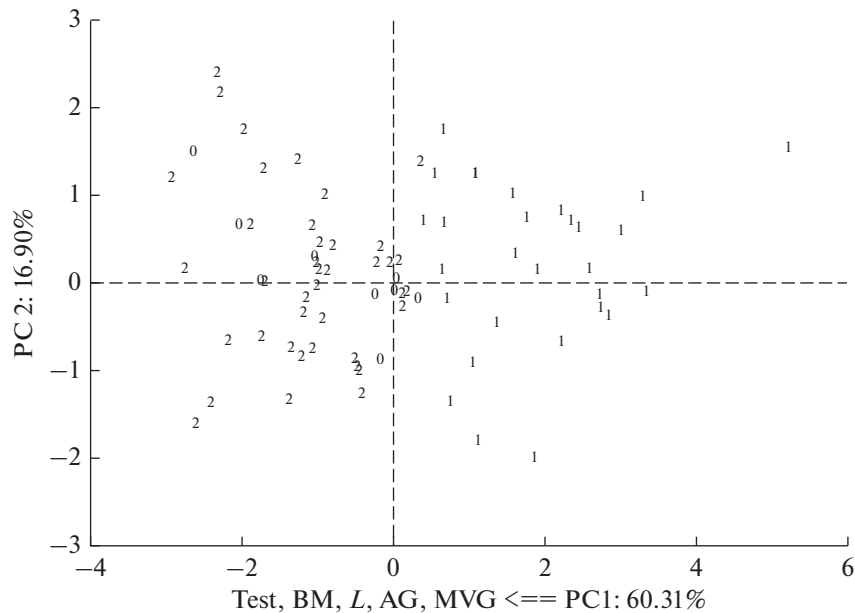


Рис. 2. Положение индивидуальных проб фоторефрактерных SD (0), фоточувствительных SD (1) и LD (2) хомячков в пространстве двух главных компонент (PC1 и PC2) по результатам анализа Методом главных компонент взаимосвязанных репродуктивных характеристик самцов после содержания на коротком (SD) и длинном (LD) дне: Test – фоновый уровень тестостерона, BM – масса тела, L – длина тела, AG – аногенитальное расстояние, MVG – среднебрюшная железа. Величина значений нарастает справа налево. PC1 объясняет 60.31%, PC2 – 16.9% внутривыборочной дисперсии и плохо интерпретируема.

behavioural research and teaching. ASAB/ABS 2012” (Buchanan *et al.*, 2012) и законодательством РФ. Схема исследования одобрена Комиссией по биоэтике при ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, протокол № 23 от 31.01.2018.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У самцов, содержавшихся в условиях короткого светового дня (SD), средние значения массы и длины тела, отношения массы к длине тела, АГР, размера СБЖ и уровня тестостерона в крови были значительно ниже, чем у особей, находившихся в условиях длинного светового дня (LD). При этом у хомячков группы SD показатели ВГИ были значимо выше, чем у особей LD группы (табл. 1). Различия между группами по величине ПГИ в ответ на иммунизацию хомячков ЭБ отсутствовали. Уровень стресса у самцов, оцененный по содержанию кортизола в крови, не различался статистически у самцов SD и LD групп (табл. 1). У экспериментальных животных была хорошо выражена индивидуальная вариабельность морфофизиологических параметров, связанных с репродуктивной системой (рис. 2). Сравнение ВГИ фоторефрактерных SD ($n = 9$), фоточувствительных SD ($n = 28$) и LD ($n = 40$) особей свидетельствует о влиянии на нее фотопериода (One-way ANOVA: $F_{(2, 74)} = 4.607, p = 0.013$). При этом только фоточувствительные SD особи (75.6%) статистически

значимо превосходили самцов LD группы по показателям ВГИ (Tukey HSD test: $p = 0.011$; рис. 3а). Различия между всеми тремя группами по ПГИ отсутствовали (One-way ANOVA: $F_{(2, 74)} = 0.203, p = .816$; рис. 3б).

Показатели состояния врожденного иммунитета и приобретенного В-клеточного не коррелировали друг с другом как внутри SD и LD выборок без выделения фоторефрактерных и фоточувствительных особей (SD: $R_{Sp} = -0.014, p = 0.93, N = 37$; LD: $R_{Sp} = 0.14, p = 0.39, N = 40$), так и внутри групп фоторефрактерных SD ($R_{Sp} = -0.30, p = 0.43, N = 9$) и фоточувствительных SD особей ($R_{Sp} = 0.13, p = 0.52, N = 28$).

Показатель состояния ВГИ не коррелировал с интегральной переменной (PC1), характеризующей репродуктивное состояние как в целом SD и LD групп (SD: $R_{Sp} = 0.03, p = 0.84, N = 37$; LD: $R_{Sp} = -0.17, p = 0.29, N = 40$), так и внутри группы фоторефрактерных SD ($R_{Sp} = 0.27, p = 0.48, N = 9$) и фоточувствительных SD особей ($R_{Sp} = -0.26, p = 0.17, N = 28$). Показатель состояния ПГИ не был связан с интегральной репродуктивной переменной (PC1) как у хомячков SD в целом ($R_{Sp} = -0.12, p = 0.44, N = 37$), так и внутри групп фоторефрактерных SD ($R_{Sp} = 0.07, p = 0.86, N = 9$) и фоточувствительных SD особей ($R_{Sp} = -0.09, p = 0.67, N = 28$). В LD группе наблюдалась достоверная, хотя и слабая отрицательная связь показателя со-

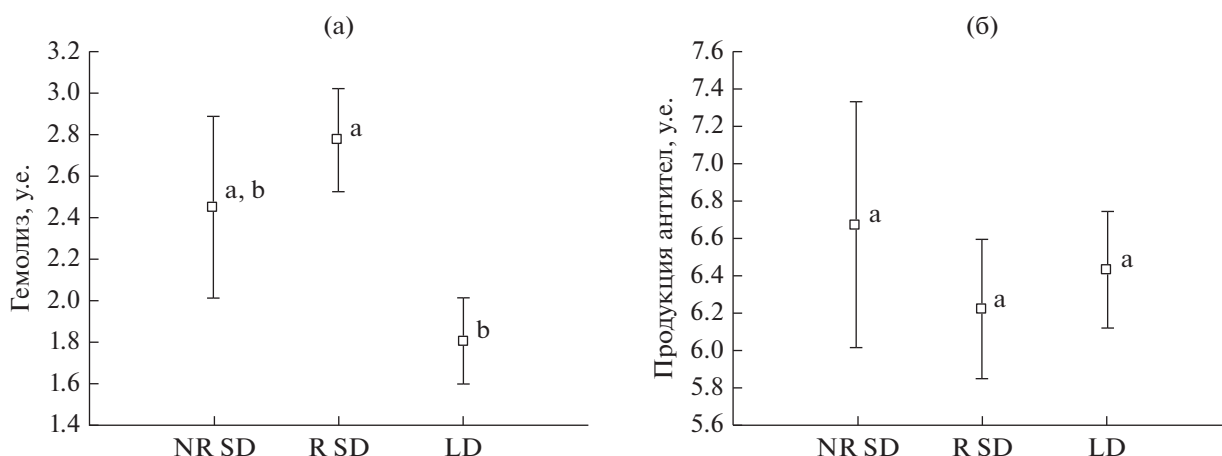


Рис. 3. Гемолитическая активность сыворотки крови до иммунизации (а) и продукция антител после иммунизации хомячков бараными эритроцитами (б) в группах SD и LD самцов: у фоторефрактерных (NR) SD, фоточувствительных (R) SD и LD особей по окончании режимов экспозиции короткого и длинного дня. Приведены средние значения и стандартные ошибки. Разные буквы на графике указывают на статистически значимое отличие (Tukey HSD test: $p < 0.05$).

стояния ПГИ и интегрального показателя репродуктивной активности (PC1) ($R_{Sp} = -0.36$, $p = 0.024$, $N = 40$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Содержание самцов хомячка Кэмпбелла в условиях, имитирующих зимний фотопериод (короткий световой день), приводит к изменению ряда морфофизиологических параметров, свидетельствующих о замедлении роста и угнетении репродуктивной системы. Эти данные согласуются с результатами наблюдений за динамикой морфометрических показателей и размножения хомячков Кэмпбелла, содержащихся в течение круглого года в условиях естественных температур и освещенности (уличная вольера) (Khrushchova *et al.*, 2023), и свидетельствуют о том, что экспозиция короткого светового дня является адекватным методическим приемом для изучения разных аспектов зимней экологии этого вида. Полученные данные также согласуются с классическими представлениями о реакции на экспозицию короткого светового дня и перестройках организма на режим зимней физиологии, в частности, у джунгарского хомячка (Scherbarth, Steinlechner, 2010).

Полученные данные свидетельствуют о том, что на фоне депрессии репродуктивной функции у SD самцов хомячка Кэмпбелла регистрируется повышенный (по сравнению с группой LD) уровень ВГИ. Разделение SD самцов на фоторефрактерных и фоточувствительных показало, что последние значимо превосходили по ВГИ хомячков группы LD.

В основе усиления врожденной компоненты иммунного реагирования у SD особей могут лежать разные причины, в частности — конфликт

между иммунной системой и репродуктивной, подавление функции которой происходит в условиях короткого дня. Недавние обзоры публикаций о влиянии тестостерона на показатели активности разных ветвей иммунной системы у разных видов животных в целом подтверждают негативный эффект тестостерона в отношении приобретенного В-клеточного иммунитета, но сведения о влиянии тестостерона на врожденный иммунитет противоречивы (Foo *et al.*, 2016; Roved *et al.*, 2017). Противоречивость результатов в отношении врожденного иммунитета может быть связана с вовлеченностью в механизм регуляции посредников. В частности, таким посредником является мелатонин, концентрация которого увеличивается при коротком световом дне (Goldman, 2001). У сезонно размножающихся видов млекопитающих при коротком фотопериоде мелатонин подавляет сезонно зависимую секрецию гонадотропинов (Martin *et al.*, 2008) и вызывает регрессию гонад (Bartness *et al.*, 1993). Повышенная секреция мелатонина при коротком дне может быть непосредственной причиной снижения уровня тестостерона (Hotchkiss, Nelson 2002; Li, Zhou, 2015). В отношении иммунных функций эффекты мелатонина разнообразны и их направленность может быть различной (Prendergast *et al.*, 2001; Martin, 2008; Calvo, 2013). Однако роль мелатонина как важнейшего антиоксиданта и значимого иммуномодулятора, не вызывает сомнений. Не исключено, что в нашем случае повышенная врожденная иммунореактивность при SD режиме на фоне пониженного уровня тестостерона могла быть опосредована именно мелатонином.

С другой стороны, если в основе зимнего усиления иммунитета лежит эндогенный, генетически детерминированный механизм (Nelson, De-

mas, 1996; Nelson, 2004), содержание хомячков на коротком дне вполне может усиливать не дорогостоящую приобретенную гуморальную иммунореактивность, а “недорогие” врожденные механизмы защиты быстрого реагирования, направленные на переживание неблагоприятных условий зимы в преддверии будущего размножения (McDode *et al.*, 2016), которое у хомячка Кэмпбелла при содержании на улице начинается уже во второй половине зимы (Khrushchova *et al.*, 2023).

Если в основе различий в иммунореактивности SD и LD групп лежит конфликт (tradeoff) между соматическими инвестициями и репродуктивной функцией (Martin *et al.*, 2004, 2006, 2008), то на долгом световом дне антителообразование могло быть ослаблено конкуренцией с последней. Наше предположение, что на фоне снижения активности репродуктивной системы у SD самцов будет наблюдаться более интенсивный иммунный ответ на введение ЭБ, требующий затрат как на пролиферацию В-лимфоцитов, так и на продукцию антител, не оправдалось. Однако, хотя мы не получили ожидаемых различий по интенсивности ответа на иммунизацию ЭБ между SD и LD группами, наличие слабой, но статистически значимой отрицательной связи между этим параметром и интегральным показателем репродуктивной активности в LD группе, не противоречит гипотезе компромисса (tradeoff hypothesis) между репродукцией и иммунитетом.

Косвенным свидетельством в пользу наличия конкурентных отношений между иммунной и репродуктивной системами у хомячка Кэмпбелла могут служить результаты экспериментов, проведенных на животных, происходящих из восточной части ареала (Монголия). Иммунизация ЭБ кастрированных самцов не приводила к ожидаемому росту интенсивности иммунного ответа при повторной иммунизации. Правда на фоне последней заместительной гормонотерапии, поднявшийся уровень тестостерона у кастрированных животных, иммунореактивность к ЭБ по сравнению с контролем, получавшим плацебо, все же снижалась (Васильева и др., 2015). В другой работе, при сравнении интенсивности антителообразования в ответ на иммунизацию ЭБ самцов весенней и осенней генераций, у последних, при более низких концентрациях тестостерона и размерах семенников, все же наблюдалась слабая тенденция ($p = 0.13$) к более интенсивному иммунному ответу. В том же эксперименте реакция гиперчувствительности замедленного типа на внутрикожное введение РНА-митогена была более высокой у самцов весенней генерации на фоне повышенной активности половой системы (Rogovin *et al.*, 2014b). Как видно, данные разных экспериментов дают неоднозначные результаты, что свидетельствует о сложной системе связей между иммунитетом и репродуктивными функциями.

Еще одним примером этому служат результаты экспериментов по селекции в трех поколениях хомячков Кэмпбелла на низкий и высокий гуморальный иммунный ответ на ЭБ, которая при стабильном закреплении признака не отразилась ни на АГР, ни на уровне тестостерона в крови. Вопреки ожиданиям, тестостерон-зависимая СБЖ у половозрелых самцов двухмесячного возраста оказалась менее развитой в группе низкоиммунных животных (Роговин и др. 2014).

Следует отметить, что в настоящей работе показатели ВГИ и ПГИ у самцов хомячка Кэмпбелла не коррелировали друг с другом. Это еще одно свидетельство разной и независимой реакции на длину светового дня разных ветвей общей системы иммунитета. Существующие данные о реакции иммунной системы на имитацию зимних условий по другим видам, в частности, по близкородственному — джунгарскому хомячку, также свидетельствуют об этом. В экспериментах, в которых для оценки врожденного иммунитета использовали синдром болезненного поведения и выраженность реакции перитонита в ответ на введение разных антигенов, были сделаны выводы о его снижении в условиях короткого дня (Wen *et al.*, 2007; Baillie, Prendergast, 2008; Pawlak *et al.*, 2009). В то же время у SD самцов была более выражена реакция кожного воспаления в ответ на внутрикожное введение DNFB антигена, что свидетельствует об усилении врожденного звена иммунной защиты (Bilbo *et al.*, 2002; Prendergast *et al.*, 2005). Хотя внутрикожное введение DNFB антигена или растительных митогенов (РНА, ConA) активирует в основном врожденные механизмы иммунного реагирования (Vinkler *et al.*, 2014), интенсивность кожной реакции гиперчувствительности замедленного типа может также свидетельствовать и о состоянии приобретенного Т-клеточного иммунитета, и используется также в качестве теста на Т-клеточную иммунореактивность (Bilbo *et al.*, 2002; Tella *et al.*, 2008). Если при коротком световом дне у джунгарского хомячка происходило усиление реакции кожного воспаления (Bilbo *et al.*, 2002), то приобретенный В-клеточный иммунный ответ на KLH-антиген при повторной иммунизации на коротком дне подавлялся (Prendergast *et al.*, 2004). В той же статье авторы указывают, что первичный ответ на иммунизацию ЭБ, а также на KLH-антиген был одинаков у SD и LD хомячков, что соответствует результатам нашего эксперимента. Мы не исключаем, что и у хомячка Кэмпбелла могут быть получены различия между SD и LD группами по В-клеточной иммунореактивности при повторной иммунизации, от которой в данной работе мы отказались, поскольку ставилась задача оценить врожденную иммунореактивность до контакта с антигеном. Несомненно, однако, что видовая специфика может играть роль в характере ответа на введение антигенов.

Так, у SD и LD самцов хомячка Роборовского, в отличие от джунгарского, различия во вторичном иммунном ответе на ЭБ отсутствовали (Vasilieva *et al.*, 2020).

Полученные данные по усилению врожденной гуморальной компоненты в целом согласуются с концепцией зимнего усиления иммунитета. Следует помнить, что в настоящем эксперименте мы помещали животных в условия, лишь частично имитирующие переход на зимний режим. Нельзя исключить, что при естественной температуре, влажности и нехватке корма у животных могут происходить как более существенное внутреннее перераспределение ресурсов, так и более глубокие физиологические перестройки, затрагивающие как врожденную, так и приобретенную компоненту иммунной системы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в соответствии с планом НИР ИПЭЭ РАН, тема “Экология организмов и сообществ”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Васильева Н.Ю., Парфенова В.М. Есть ли зимняя спячка у хомячка Кэмпбелла (*Phodopus campbelli*)?: экспериментальный подход к решению вопроса // Териологические исследования. 2003. № 3. С. 105–123.
- Васильева Н.Ю., Хрущова А.М., Шекарова О.Н., Роговин К.А. Тестостерон и индуцированный гуморальный иммунитет у самцов хомячка Кэмпбелла (*Phodopus campbelli* Thomas, 1905, Rodentia, Cricetidae). Модуляция уровня гормона в эксперименте // Изв. РАН. Сер. биол. 2015. № 3. С. 278–278. <https://doi.org/10.7868/S0002332915030133>
- Лохмиллер Р.Л., Мошкин М.П. Экологические факторы и адаптивная значимость изменчивости иммунитета мелких млекопитающих // Сибирский экологический журнал. 1999. Т. 1. С. 37–58.
- Мещерский И.Г., Феоктистова Н.Ю. Внутривидовая структура мохноногих хомячков *Phodopus campbelli* и *Phodopus sungorus* (Rodentia: Cricetinae) по данным анализа митохондриальной ДНК // Доклады Академии Наук. 2009. Т. 424. № 2. С. 279–282.
- Роговин К.А., Хрущова А.М., Шекарова О.Н., Бушуев А.В., Соколова О.В., Васильева Н.Ю. Имунокомпетентность и репродуктивные качества самцов хомячка Кэмпбелла, селекционированных на низкий и высокий гуморальный иммунный ответ на эритроциты барана (SRBC). К проверке гипотезы “иммунного гандикапа” // Журн. общей биологии. 2014. Т. 75. Вып. 5. С. 372–384.
- Соколов В.Е., Орлов В.Н. Определитель млекопитающих Монгольской Народной Республики. М.: Наука, 1980. 351 с.
- Соколов В.Е., Демина Н.И., Васильева Н.Ю. Формирование специфических кожных желез сального типа в раннем постнатальном онтогенезе // Доклады Академии Наук СССР, 1990. Т. 312. № 6. С. 1486–1490.
- Adelman J.S., Ardia D.R., Schat K.A. Ecoimmunology // Avian Immunology / Eds Schat K.A., Kaspers B., Kaiser P. Academic Press. 2013. 2nd ed. Chapter 22. P. 391–411. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396965-1.00022-4>
- Baillie S.R., Prendergast B.J. Photoperiodic regulation of behavioral responses to bacterial and viral mimetics: a test of the winter immunoenhancement hypothesis // Journal of Biological Rhythms. 2008. V. 23. P. 81–90. <https://doi.org/10.1177/0748730407311518>
- Bartness T.J., Powers J.B., Hastings M.H., Bittman E.L., Goldman B.D. The timed infusion paradigm for melatonin delivery: what has it taught us about the melatonin signal, its reception, and the photoperiodic control of seasonal responses? J. Pineal. Res. 1993. Nov; 15 (4): 161–90. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1993.tb00903.x>
- Bedrosian T.A., Fonken L.K., Demas G.E., Nelson R.J. Photoperiod-dependent effects of neuronal nitric oxide synthase inhibition on aggression in Siberian hamsters // Hormones and Behavior. 2012. V. 61. P. 176–180. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2011.11.011>
- Bilbo S.D., Dhabhar F.S., Viswanathan K., Saul A., Yellon S.M., Nelson R.J. Short day lengths augment stress-induced leukocyte trafficking and stress-induced enhancement of skin immune function // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2002. V. 99. № 6. P. 4067–4072. <https://doi.org/10.1073/pnas.062001899>
- Buchanan K., Perera T.B., Carere C., Carter T., Hailey A., Hubrecht R., Jennings D., Metcalfe N., Pitcher T., Péron F., Sneddon L., Sherwin C., Talling J., Thomas R., Thompson M. Guidelines for the treatment of animals in behavioural research and teaching // Animal Behaviour. 2012. V. 83. № 1. P. 301–309. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.10.031>
- Butler M.W., Stahlschmidt Z.R., Ardia D.R., Davies S., Davis J., Guille Jr.L.J., Johnson N., McCormick S.D., McGraw K.J., DeNardo D.F. Thermal sensitivity of immune function: evidence against a generalist-specialist trade-off among endothermic and ectothermic vertebrates // American Naturalist. 2013. V. 181. № 6. P. 761–774. <https://doi.org/10.1086/670191>
- Calvo J.R., González-Yanes C., Maldonado M.D. The role of melatonin in the cells of the innate immunity: a review // Journal of Pineal Research. 2013. V. 55. № 2. P. 103–120. <https://doi.org/10.1111/jpi.12075>
- Foo Y.Z., Nakagawa S., Rhodes G., Simmons L.W. The effects of sex hormones on immune function: a meta-analysis // Biological Reviews. 2016. V. 92. № 1. P. 551–571. <https://doi.org/10.1111/brv.12243>
- Gilot-Fromont E., Jégo M., Bonenfant C., Gibert P., Rannou B., Klein F., Gaillard J.M. Immune phenotype and body condition in Roe deer: Individuals with high body con-

- dition have different, not stronger immunity // PLoS ONE. 2012. V. 7. P. e45576.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045576
- Goldman B.D. Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement // J. Biol. Rhythms. 2001. V. 16. P. 283–301.
https://doi.org/10.1177/074873001129001980
- Graievskaya B.M., Surov A.V., Mesherski I.G. The tongue vein as a source of blood in the golden hamster // Zeitschrift für Versuchstierkunde. 1986. № 28. P. 41–43.
- Greenman C.G., Martin L.B., Hau M. Reproductive state, but not testosterone, reduces immune function in male house sparrows (*Passer domesticus*) // Physiological and Biochemical Zoology. 2005. V. 78. P. 60–68.
https://doi.org/10.1086/425194
- Hazlerigg D. The evolutionary physiology of photoperiodism in vertebrates // Progress in Brain Research. 2012. V. 199. P. 413–422.
https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59427-3.00023-X
- Heinrich S.K., Hofer H., Courtiol A., Melzheimer J., Dehnhard M., Cziráj G.Á., Wachter B. Cheetahs have a stronger constitutive innate immunity than leopards // Scientific Reports. 2017. V. 7. № 1. P. 1–11 (44837).
https://doi.org/10.1038/srep44837
- Hotchkiss A.K., Nelson R.J. Melatonin and immune function: hype or hypothesis? // Critic. Rev. Immunol. 2002. V. 22. P. 351–371.
https://doi.org/10.1615/CritRevImmunol.v22.i5-6.10
- Jasnow A.M., Huhman K.L., Bartness T.J., Demas G.E. Short-day increases in aggression are inversely related to circulating testosterone concentrations in male Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*) // Hormones and Behavior. 2000. V. 38. P. 102–110.
https://doi.org/10.1006/hbeh.2000.1604
- Khrushchova A.M., Vasilieva N.Yu., Shekarova O.N., Vasilieva N.A., Rogovin K.A. Daily torpor in Campbell's hamster (*Phodopus campbelli* Thomas, 1905): proximate factors and ultimate fitness consequences // Russian Journal of Theriology. 2023. V. 22. № 1. P. 32–43.
https://doi.org/10.15298/rusjtheriol.22.1.04
- Lee K.A. Linking immune defenses and life history at the levels of the individual and the species // Integrative and Comparative Biology. 2006. V. 46. № 6. P. 1000–1015.
https://doi.org/10.1093/icb/icl049
- Li C., Zhou X. Melatonin and male reproduction // Clinica Chimica Acta. V. 2015. 446. P. 175–180.
https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.04.029
- McDade T.W., Georgiev A.V., Kuzawa C.W. Trade-offs between acquired and innate immune defenses in humans // Evolution, medicine, and public health. 2016. V. 2016. № 1. P. 1–16.
https://doi.org/10.1093/emph/eov033
- Matson K.D., Ricklefs R.E., Klasing K.C. A hemolysis–hemagglutination assay for characterizing constitutive innate humoral immunity in wild and domestic birds // Developmental and Comparative Immunology. 2005. V. 29. № 3. P. 275–286.
https://doi.org/10.1016/j.dci.2004.07.006
- Martin L.B., Pless M., Svoboda J., Wikelski M. Immune activity in temperate and tropical house sparrows: A common-garden experiment // Ecology. 2004. V. 85. P. 2323–2331.
https://doi.org/10.1890/03-0365
- Martin L.B., Han P., Kwong J., Hau M. Cutaneous immune activity varies with physiological state in female house sparrows (*Passer domesticus*) // Physiological and Biochemical Zoology. 2006. V. 79. P. 775–783.
https://doi.org/10.1086/504608
- Martin L.B., Weil Z.M., Nelson R.J. Seasonal changes in vertebrate immune activity: mediation by physiological trade-offs // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 2008. V. 363. № 1490. P. 321–339.
https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2142
- Nelson R.J. Seasonal immune function and sickness responses // Trends in immunology. 2004. V. 25. P. 187–192.
https://doi.org/10.1016/j.it.2004.02.001
- Nelson R.J., Demas G.E. Seasonal changes in immune function // The Quarterly Review of Biology. 1996. V. 71. P. 511–548.
https://doi.org/10.1086/419555
- Onishi K.G., Maneval A.C., Cable E.C., Tuohy M.C., Scasny A.J., Sterina E., Love J.A., Riggle J.P., Malamut L.K., Mukerji A., Novo J.S., Appah-Sampong A., Gary J.B., Prendergast B.J. Circadian and circannual timescales interact to generate seasonal changes in immune function // Brain, Behavior, and Immunity. 2020. V. 83. P. 33–43.
https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.07.024
- Pawlak J., Golab M., Markowska M., Majewski P., Skwarlo-Sonta K. Photoperiod-related changes in hormonal and immune status of male Siberian hamsters, *Phodopus sungorus* // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology. 2009. V. 152. № 3. P. 299–303.
https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.10.016
- Prendergast B.J., Bilbo S.D., Nelson R.J. Photoperiod controls the induction, retention, and retrieval of antigen-specific immunological memory // American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2004. V. 286. P. R54–R60.
https://doi.org/10.1152/ajpregu.00381.2003
- Prendergast B.J., Bilbo S.D., Nelson R.J. Short day lengths enhance skin immune responses in gonadectomized Siberian hamsters // Journal of Neuroendocrinology. 2005. V. 17. P. 18–21.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2005.01273.x
- Prendergast B.J., Nelson R.J., Zucker I. Mammalian seasonal rhythms: behavior and neuroendocrine substrates // Hormones, brain and behavior / Eds Pfaff D.W., Arnold A.P., Etgen A.M., Fahrbach S.E., Rubin R.T.; Academic Press. 2002. P. 507–540.
https://doi.org/10.1016/B978-008088783-8.00014-0
- Prendergast B.J., Yellon S.M., Tran L.T., Nelson R.J. Photoperiod modulates the inhibitory effect of in vitro mela-

- tonin on lymphocyte proliferation in female Siberian hamsters // J. Biol. Rhythms. 2001. V. 16. P. 224–233. <https://doi.org/10.1177/074873040101600305>
- Racca A.L., Eberhardt A.T., Moreno P.G., Baldi C., Beldomenico P.M. Differences in natural antibody titres comparing free-ranging guanacos (*Lama guanicoe*) and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) // The Veterinary Journal. 2014. V. 199. № 2. P. 308–309. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.10.036>
- Rendon N.M., Soini H.A., Scotti M.A.L., Weigel E.R., Novotny M.V., Demas G.E. Photoperiod and aggression induce changes in ventral gland compounds exclusively in male Siberian hamsters // Hormones and Behavior. 2016. V. 81. P. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2016.02.005>
- Rogovin K.A., Khrushcheva A.M., Shekarova O.N., Ushakova M.V., Manskikh V.N., Sokolova O.V., Vasilieva N.Yu. Effects of mitochondria-targeted plastoquinone derivative antioxidant (SkQ1) on demography of free-breeding Campbell dwarf hamsters (*Phodopus campbelli*) kept in outdoor conditions. Reproduction and lifespan: Explanation in the framework of ultimate loads // Biochemistry (Moscow). 2014a. V. 79. № 10. P. 1117–1129. <https://doi.org/10.1134/S0006297914100125>
- Rogovin K.A., Bushuev A.V., Khrushcheva A.M., Vasilieva N.Y. Resting metabolic rate, stress, testosterone, and induced immune response in spring- and fall-born males of Campbell's dwarf hamsters: Maintenance in long-day conditions // Biology Bulletin Reviews. 2014b. V. 4. № 3. P. 181–191. <https://doi.org/10.1134/S2079086414030062>
- Roved J., Westerdahl H., Hasselquist D. Sex differences in immune responses: hormonal effects, antagonistic selection, and evolutionary consequences // Hormones and Behavior. 2017. V. 88. P. 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2016.11.017>
- Ruoss S., Becker N.I., Otto M.S., Czirájk G.Á., Encarnação J.A. Effect of sex and reproductive status on the immunity of the temperate bat *Myotis daubentonii* // Mammalian Biology. 2019. V. 94. № 1. P. 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2018.05.010>
- Scherbarth F., Steinlechner S. Endocrine mechanisms of seasonal adaptation in small mammals: from early results to present understanding // Journal of Comparative Physiology B. 2010. V. 180. P. 935–952. <https://doi.org/10.1007/s00360-010-0498-2>
- Scheiermann C., Gibbs J., Ince L., Loudon A. Clocking in to immunity // Nature Reviews Immunology. 2018. V. 18. № 7. P. 423–437. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0008-4>
- Schultz E.M., Hahn T.P., Klasing K.C. Photoperiod but not food restriction modulates innate immunity in an opportunistic breeder, *Loxia curvirostra* // Journal of Experimental Biology. 2017. V. 220. P. 722–730. <https://doi.org/10.1242/jeb.149898>
- Scotti M.-A.L., Place N.J., Demas G.E. Short-day increases in aggression are independent of circulating gonadal steroids in female Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*) // Hormones and Behavior. 2007. V. 52. P. 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.03.029>
- Seto F., Henderson W.G. Natural and immune hemagglutinin forming capacity of immature chickens // Journal of Experimental Zoology. 1968. V. 169. P. 501–511. <https://doi.org/10.1002/jez.1401690412>
- Sinclair J.A., Lochmiller R.L. The winter immunoenhancement hypothesis: Associations among immunity, density, and survival in prairie vole (*Microtus ochrogaster*) populations // Canadian Journal of Zoology. 2000. V. 78. P. 254–264. <https://doi.org/10.1139/z99-203>
- Stevenson T.J., Prendergast B.J. Photoperiodic time measurement and seasonal immunological plasticity // Frontiers in Neuroendocrinology. 2015. T. 37. C. 76–88. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.10.002>
- Tella J.L., Lemus J.A., Carrete M., Blanco G. The PHA test reflects acquired T-cell mediated immunocompetence in birds // PLoS ONE. 2008. V. 3. P. e3295. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003295>
- Ter Horst R., Jaeger M., van de Wijer L., van der Heijden W.A., Janssen A.M., Smeekens S.P., Brouwer M.A., van Cranenbroek B., Aguirre-Gamboa R., Netea-Maier R.T., van Herwaarden A.E., Lemmers H., Dijkstra H., Joosten I., Koenen H., Netea M.G., Joosten L.A. Seasonal and non-seasonal longitudinal variation of immune function // Journal of Immunology. 2021. V. 207. № 2. P. 696–708. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2000133>
- Vasilieva N.Y., Khrushchova A.M., Kuptsov A.V., Shekarova O.N., Sokolova O.V., Wang D., Rogovin K.A. On the winter enhancement of adaptive humoral immunity: hypothesis testing in desert hamsters (*Phodopus roborovskii*: Cricetidae, Rodentia) kept under long-day and short-day photoperiod // Integrative Zoology. 2020. V. 15. № 3. P. 232–247. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12419>
- Wegmann T.G., Smithies O. A simple hemagglutination system requiring small amounts of red cells and antibodies // Transfusion. 1966. V. 6. № 1. P. 67–73. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.1966.tb04696.x>
- Wen J.C., Dhabhar F.S., Prendergast B.J. Pineal-dependent and-independent effects of photoperiod on immune function in Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*) // Hormones and Behavior. 2007. V. 51. № 1. P. 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2006.08.001>
- Vinkler M., Svobodova J., Gabrielova B., Bainova H., Bryjova A. Cytokine expression in phytohaemagglutinin induced skin inflammation in a galliform bird // Journal of Avian Biology. 2014. V. 45. P. 43–50. <https://doi.org/10.1111/j.1600-048X.2011.05860.x>
- Zysling D.A., Garst A.D., Demas G.E. Photoperiod and food restriction differentially affect reproductive and immune responses in Siberian hamsters *Phodopus sungorus* // Functional Ecology. 2009. V. 23. № 5. P. 979–988. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01572.x>

The Effect of Photoperiod Duration on Humoral Innate and Humoral Adaptive Immune Responsiveness in Campbell's Dwarf Hamster

A. M. Khrushchova^{1, #}, N. Yu. Vasilieva¹, O. N. Shekarova¹, and K. A. Rogovin¹

¹ Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Leninskii prospect, 33, Moscow 119071 Russia

[#]e-mail: cricetulus@yandex.ru

We studied the humoral innate immune responsiveness (HII), i.e. a hemolysis of rabbit erythrocytes by complement proteins, and adaptive humoral (antibody production) immune responsiveness (AHI) to SRBC, morphological and hormonal reproductive characteristics and stress level in male Campbell hamsters kept under long-day (LD; 16D: 8N) and short-day (SD; 8D: 16N) photoperiods. The results indicate lower HII, but not AHI in SD. In SD males we observed body mass, anogenital distance, midventral gland size and level of testosterone in the peripheral blood (but not the level of cortisol) decreased. Comparison of SD non-responders, SD responders and LD individuals demonstrated a statistically significant increase of HII in SD photosensitive hamsters, but not in non-responders compared to LD. There was no link between HII and AHI, which indicates an independent photoperiodic responsiveness of different branches of the immune system in Campbell's hamster.

Keywords: photoperiodism, constitutive innate immunity, acquired B-cell immunity, winter immunity enhancement, *Phodopus campbelli*