

УДК 577.24

**ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ИСПЫТАНИЯ
МИТОХОНДРИАЛЬНО-ОРИЕНТИРОВАННОГО
АНТИОКСИДАНТА ИЗ ГРУППЫ ПЛАСТОХИНОНОВ
НА СВОБОДНО РАЗМНОЖАЮЩИХСЯ ХОМЯЧКАХ
КЭМПБЕЛЛА (*Phodopus campbelli*) В УСЛОВИЯХ,
ПРИБЛИЖЕННЫХ К ЕСТЕСТВЕННЫМ. РЕПРОДУКЦИЯ
И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ – ОБЪЯСНЕНИЕ
В КОНТЕКСТЕ КОНЕЧНЫХ ЗАТРАТ**

© 2014 К.А. Роговин^{1,2*}, А.М. Хрущева¹, О.Н. Шекарова¹,
М.В. Ушакова¹, В.Н. Манских³, О.В. Соколова⁴, Н.Ю. Васильева¹

¹ Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН,
119071 Москва, Ленинский просп., 33; электронная почта: krogovin@yandex.ru

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, 119991 Москва

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, 119991 Москва

⁴ Гематологический научный центр МинЗдрава РФ,
125167 Москва

Поступила в редакцию 09.04.14

Демографические эффекты митохондриально-ориентированного антиоксиданта SkQ1 исследовали на свободно размножающихся хомячках Кэмпбелла (*Phodopus campbelli*, Thomas, 1905, Rodentia, Cricetidae) в уличном виварии в условиях с сезонной изменчивостью освещенности и температуры воздуха. Животных с молодого возраста содержали парами. Выводки удаляли от родителей через 25 дней после рождения. Хомячки ежедневно в течение жизни получали перорально по 50 нмоль/кг SkQ1 в водном растворе. Контрольные животные получали аналогично воду. SkQ1 не оказывал влияния на продолжительность жизни самцов и самок в репродуктивных парах. Большая гибель самок по сравнению с самцами наблюдалась как в опыте, так и в контроле и была связана, вероятно, с большими затратами самок на репродукцию. Однако SkQ1 увеличивал рождаемость в парах хомячков в первой половине репродуктивного периода года. Хотя статистически значимые различия в весе самцов и самок между опытом и контролем отсутствовали на протяжении большей отрезка жизни, тенденция к большему весу получавших SkQ1 самцов наблюдалась к концу их жизни. Среди самок к концу жизни тенденция была противоположной. Годовалые самцы и самки в опыте и контроле не отличались по силе гуморального иммунного ответа на внутрибрюшинное введение эритроцитов барана. Однако кожная реакция ГЗТ на фитогемагглютинин (тест на состояние клеточного иммунитета) была более высокой у получавших SkQ1 годовалых и полугодовалых самцов, но не самок. У годовалых самцов, получавших SkQ1, наблюдалась близкая к статистически значимой тенденция к повышенной плотности популяции нейтрофилов в профилях белой крови. При этом они не отличались от контрольных самцов по цитохимическому индексу активности системы «пероксидаза—эндогенный пероксид водорода» в нейтрофилах. Фоновый уровень стресса, оцененный по концентрации кортизола в сыворотке крови, был значимо более низким у самцов, получавших SkQ1 в период осенней адаптационной перестройки организма. Аналогичная тенденция наблюдалась и во время январских морозов на фоне общего высокого уровня стресса. Различия по кортизолу между опытом и контролем не были выражены во время репродуктивного периода ранней весной и в середине лета. Мы предполагаем, что отсутствие геропротекторного эффекта SkQ1 на свободно размножающихся хомячках определяется его способностью интенсифицировать размножение. Ранее нами была продемонстрирована способность SkQ1 увеличивать продолжительность жизни самок, лишенных возможности размножаться.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: SkQ1, антиоксиданты, митохондрии, старение, продолжительность жизни, плодовитость, хомячок Кэмпбелла.

Принятые сокращения: SkQ1 — 10-(6'-пластохинонил)децилтрифенилфосфоний; ГЗТ — реакция гиперчувствительности замедленного типа; SRBC — sheep red blood cells; эритроциты барана; ЦХИ ПЭПВ — цитохимический индекс, характеризующий активность системы «пероксидаза — эндогенный пероксид водорода» в нейтрофилах; РНА-Р — фитогемагглютинин Р; АКТГ — адренокортикотропный гормон.

* Адресат для корреспонденции.

Сигнальные пути, завязанные на свободные радикалы могут обуславливать механизмы, регулирующие продолжительность жизни, старение и репродукцию организмов. В этой связи интегральные эффекты антиоксидантов, адресно нейтрализующие повреждающие воздействия свободных радикалов на клетки и ткани могут рассматриваться как способ разрушения программы старения целостного организма и его гибели [1, 2, 3], программы, получившей по аналогии с апоптозом (запрограммированной гибелью клеток) название феноптоз [4, 5].

Митохондриально-ориентированный антиоксидант SkQ1 [10-(6'-plastoquinonyl)decyltriphenylphosphonium] представляет собой выделенный из хлоропластов растительной клетки пластохинон, конъюгированный с проникающим через митохондриальную мембрану ионом децилтрифенилфосфония, в котором положительный заряд атома фосфора строго делокализован между тремя замещающими ароматическими группами [6, 7]. Способность SkQ1 увеличивать продолжительность жизни, сдвигая медиану распределения продолжительностей жизни в сторону больших возрастов, была исследована и подтверждена на представителях эволюционно далеких таксонов: на культуре грибов (*Podospora anserine*), ветвистоусых ракообразных (*Ceriodaphnia affinis*), насекомых (*Drosophila melanogaster*) и грызунах [6, 3, 8–13]. У мышей выживаемость увеличивалась в первую очередь на ранних стадиях жизненного цикла [9, 10]. В загрязненном патогенами виварии (non-LP vivarium) медианная продолжительность жизни самок аутбредных мышей SHR, получавших SkQ1, была выше, чем у контрольных, и соответствовала продолжительности жизни таких же самок мышей в виварии с низким уровнем патогенов (LP vivarium). Самцы мышей линии BALB/c, содержащиеся в стерильном SPF виварии, жили меньше, чем самки, но SkQ1 увеличивал продолжительность жизни самцов до продолжительности жизни самок. Продолжительность жизни самцов и самок C57Bl/6 мышей, содержащихся изолированно друг от друга в SPF виварии, была одинаковой; SkQ1 увеличивал продолжительность жизни самцов, но не самок. У девственных самок хомячков Кэмпбелла, содержащихся в уличном виварии с сезонными изменениями освещенности и температуры SkQ1 увеличивал продолжительность жизни.

В описанных выше случаях самцы и самки содержались отдельно, и грызуны были лишены возможности размножаться. Исследование эффекта SkQ1 на свободно размножавшихся грызунах в лаборатории с контролируемым (по аналогии с природой) температурным режимом

было проведено лишь на обыкновенной слепушонке (*Ellobius talpinus*). Оказалось, что эффект увеличения продолжительности жизни наблюдался как у самцов, так и у самок, и сопровождался существенным увеличением рождаемости у получавших препарат животных. К сожалению, в этом эксперименте возраст слепушонок к началу скормливания препарата различался, поскольку животных брали непосредственно из природы. Абсолютный возраст оценивали посмертно. Часть животных погибала еще на начальном этапе эксперимента, по-видимому, в результате возрастной неоднородности выборки [10].

Описанные выше исследования проводили в контролируемых условиях лабораторного эксперимента, главным образом на лабораторных животных, в том числе линейных. Однако, очевидно, что полномасштабная программа исследования возможностей биологически активных геропротекторов должна предполагать на конечном этапе оценку эффектов на популяциях животных в естественных условиях обитания. Это означает, что эффективность препарата оцениваться на выборках генетически разнокачественных особей и в условиях, при которых может быть реализован весь комплекс свойственных виду патогенезов и функциональных изменений в ходе реализации индивидуальных жизненных циклов. Применительно к млекопитающим это требование трудно выполнимо, поскольку из-за разнокачественности условий обитания практически невозможно подобрать одинаковые (обеспечивающие равную приспособленность особей) опытные и контрольные участки. Кроме того необходимое требование к эксперименту — контроль потребления препарата и состояния животных. Это практически невозможно в природе при работе с мелкими, короткоживущими млекопитающими, дающими возможность получения в относительно короткие сроки удовлетворяющего требованиям статистики материала. Выход может быть найден, если тестирование потенциальных геропротекторов проводить на животных дикого типа, взятых из природы и содержащихся в неволе, но в условиях, приближенных к естественным.

Для испытания SkQ1 были выбраны хомячки Кэмпбелла (*Phodopus campbelli* Thomas, 1905, Cricetidae, Rodentia). Выбор определялся следующими требованиями: а) короткая продолжительность жизни при высоком темпе воспроизводства; б) круглогодичная активность в природе; в) способность переносить сезонные перепады температур и влажности на широте Москвы; г) низкая агрессивность при относительно высокой устойчивости к воздействию стрессоров

(в первую очередь связанных с беспокойством, манипуляциями животными).

Хомячок Кэмпбелла — мелкий грызун весом до 50 г. В природе активны в течение круглого года. При низких температурах могут впадать в кратковременные состояния оцепенения (торпор). Обитатели сухих степей и полупустынь Центральной Азии. Суточная активность полифазная, но в природе в теплое время года активны в ранние утренние часы, после захода солнца и ночью. Питание — семена, корма животного происхождения, а в теплое время года и зеленые части растений [14, 15]. В холодное время года питается почти исключительно семенным кормом, и вне периода размножения, по-видимому, может продолжительное время довольствоваться метаболической водой. Снижение влагопотерь достигается очень высокой концентрирующей способностью почек [16]. Полиэстральный вид. Беременность 18–20 дней. Живет поодиночке и парами (самка + самец) в простых, неглубоких норах. Предельная продолжительность жизни в неволе до трех лет, в природе — 1–1,5 года [14]. В отличие от близкого джунгарского хомячка (*Phodopus sungorus*) не белеет на зиму. Хомячок Кэмпбелла — частый обитатель бесснежных полупустынь [17]. В сравнении с джунгарским хомячком менее агрессивный вид, быстро привыкает к рукам. Это значительно облегчает работу с животными. Тем не менее, содержание взрослых самцов группой невозможно.

Цель исследования состояла в оценке способности SkQ1 служить геропротектором для грызунов дикого типа при содержании их в условиях, приближенных к естественным: 1) не противоречащих социодемографической организации вида; 2) воспроизводящих сезонную изменчивость климата. В соответствии с условиями проведения эксперимента мы искали ответы на вопросы о том, как влияет SkQ1 на репродуктивные особенности животных, на продолжительность жизни, показатели здоровья (как внешние признаки здоровья, так и на характеристики состояния иммунитета), на устойчивость к воздействию сезонных факторов стресса.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При планировании эксперимента были учтены условия жизни зверьков в природе. Животные жили круглый год на улице в специально выстроенном помещении из металлической сетки под крышей. Пары (самка и самец) содержали в просторных пластиковых садках 70 × 40 × 40 см с заменяемой подстилкой (сухие опилки, гнездовой материал из технической ваты). Освеще-

ние — естественный световой день. Температура, влажность — уличные условия в течение круглого года. Вода, корм (комбикорм для крыс и мышей, овес с добавкой семян подсолнечника, овощи, сухой черный хлеб, белковые добавки в виде творога пониженной жирности) *ad libitum*. Зимой воду животные получали из овощей (свекла, капуста). Животные свободно размножались. Выводок оставался с родителями до достижения детенышами двадцатипятидневного возраста. Затем выводок изымали. В случае естественной гибели одного из пары взрослых хомячков к оставшемуся в живых зверьку подсаживали партнера из состава резервных животных. В случае гибели обоих основателей (самца и самки) садок изымали. В эксперимент первоначально были включены 37 пар животных в возрасте 10–13 недель, получавших ежедневно водный раствор SkQ1 в дозировке 50 нмоль/кг живого веса (опыт) и 37 пар животных, получавших воду (контроль). Животные получали препарат *per os* путем раскапывания пипеткой. Скармливание препарата было начато с 15 октября 2010 г. Эта дозировка была выбрана нами по результату предварительного исследования эффекта концентраций в 50 и 5 нмоль/кг на девственных самках [10], а также в ходе предварительного эксперимента с репродуктивными парами. В последнем случае хомячки, получавшие SkQ1 в дозировке 50 нмоль/кг, принесли в течение 2 мес (осень 2008 г.) значительно больше выводков, чем получавшие 5 нмоль/кг (*t*-тест для независимых выборок: $t = 2,54$; $df = 61$; $n_1 = 29$; $n_2 = 34$; $p = 0,014$).

Путем ежедневного обследования садков регистрировали следующие показатели: 1) ежедневно оценивали состояние наружных половых органов у животных, наличие беременности (по внешним признакам), факт рождения выводка, его размер, вес детенышей, факт смерти взрослой особи (в случае гибели зверька его взвешивали, замораживали при -18° для последующего выяснения причины смерти; 2) ежемесячно взвешивали самцов и самок. Самок также взвешивали после рождения выводка; 3) на 25-й день после рождения подсчитывали число выживших детенышей, самцов и самок, их вес, число молодых самок с открытым влагалищем. Затем выводок изымали из родительского садка; 4) внешние признаки (качество волосяного покрова, вибрисс, зубов, брюшных специфических кожных желез и др. регистрировали с помощью цифровой фотосъемки зверьков один раз в сезон в стандартных положениях. Оценки делали по цифровым снимкам; 5) концентрация гормонов стресса, выделяемых корой надпочечников (у хомячков Кэмпбелла — это кортизол), в крови

была измерена у самцов и самок в период адаптационной перестройки физиологии осенью (первые заморозки), у самцов также в период зимних морозов, весной и летом (в репродуктивный период жизни); 6) в годовалом возрасте были получены характеристики состояния иммунитета.

Для характеристики состояния системы индуцированного гуморального иммунитета нами был использован SRBC-тест — оценка иммунореактивности в ответ на иммунизацию хомячков 2%-ной суспензией эритроцитов барана в физиологическом растворе. Пробы крови брали из подязычной вены через 7 сут после иммунизации. Уровень антител в сыворотке крови иммунизированных эритроцитами хомячков определяли методом реакции гемагглютинации в лунках 96-луночного иммунологического планшета путем титрования образцов сыворотки крови в лунках и добавления к последовательно разведенным физиологическим раствором пробам сыворотки 0,5%-ной суспензии в физиологическом растворе бараньих эритроцитов. Иммунный ответ оценивали визуально по номеру последней лунки, в которой при последовательных кратных разведениях содержалось еще достаточное для гемагглютинации количество антител [18].

Т-клеточный иммунный ответ оценивали через 24 ч после введения внутрикожно (пяточная мозоль задней лапы) порции фитогемагглютина (РНА-Р) по величине припухлости. РНА-тест представляет собой реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) в ответ на внутрикожное введение митогена, вызывающего привлечение и быструю пролиферацию в очаге воспаления Т-лимфоцитов [19].

Для характеристики состояния неспецифического, врожденного иммунитета у хомячка Кэмпбелла использована цитохимическая методика, выявляющая активность системы «пероксидаза—эндогенный пероксид водорода» (ПЭПВ) в нейтрофилах на мазках периферической крови [20]. Степень активации системы определяется плотностью окрашенных 3,3'-диаминобензидинтетрагидрохлоридом гранул. Эта реакция характеризует биохимический потенциал фагоцитарной активности нейтрофилов. Для оценки интенсивности реакции нейтрофилы (100 клеток) в мазке ранжировали по плотности гранул на 3 категории: низкая (N_1 — единичные изолированно расположенные гранулы), средняя (N_m — гранул много, но они не сливаются) и высокая (N_h — плотные скопления гранул). Цитохимический индекс рассчитывали на 100 нейтрофилов по формуле: $CCI = 1N_1 + 2N_m + 3N_h$. Одновременно с этим у хомячков исследовали про-

фили форменных элементов белой крови по мазкам, окрашенным по методу Май—Грюнвальда. Подсчет форменных элементов белой крови проводили по стандартной методике на 100 лейкоцитов.

Для оценки уровня кортизола в сыворотке крови хомячков использован твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA). Применяли наборы реагентов кортизола в сыворотке крови человека фирмы «НВО Иммунотех» (Россия). Необходимым условием использования тест-системы (антител) для оценок концентрации гормонов в крови и экскретах у разных видов животных является тестирование ее применимости к конкретному виду [21]. Необходимые проверки были сделаны и подтвердили возможность использования наборов реагентов для оценок концентрации кортизола в сыворотке крови хомячков Кэмпбелла (тест на параллелизм, ответ на воздействие острого стресс-фактора (социальный конфликт, введение АКТГ). Во всех случаях кровь у зверьков брали из подязычной вены в течение первых двух минут с момента взятия зверька в руки, что в два раза короче времени выброса кортизола в кровь при воздействии острого стресс-фактора (эффект манипуляции со зверьком).

Статистические оценки проведены с использованием пакета программ Statistica 6. Stat Soft Inc. Соответствие распределений модели нормального распределения проверяли с помощью теста Шапиро—Уилка (Shapiro-Wilk W test). Для нормализации распределений уровня кортизола в крови применяли логарифмирование. Для парных сравнений использовали *t*-тест Стьюдента для зависимых и независимых выборок для нормально распределенных признаков; при отличии распределений от нормальных для парных сравнений использовали непараметрический критерий Вилкоксона для зависимых выборок (Wilcoxon Matched Pairs Test) и Манна—Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney U test). Различие пропорций оценивали по критерию различия долей и по методу χ^2 .

Для оценки влияния SkQ1 и других вероятных факторов на продолжительность жизни или репродуктивные характеристики хомячков использовали общую линейную модель (General Lineal Model, GLM). Продолжительность жизни представляли как зависимую переменную. В качестве независимых переменных была использована серия эксперимента (категориальная переменная: 1 — опыт, 2 — контроль) и континуальные переменные (число выводков, средний размер выводка, вес в возрасте четырех месяцев, характеристики иммунитета и т.п., а также взаимодействия некоторых из них).

Для построения и анализа кривых выживания использовали метод Kaplan-Meier. Сравнения выживаемости в опытной и контрольной сериях эксперимента проведено с использованием адаптированного для анализа выживаемости теста Вилкоксона (Gehan's Wilcoxon Test).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Размножение. Тенденция к опережающему размножению хомячков, получавших SkQ1, наблюдалась после осенне-зимней задержки как в 2011 г., так и в 2012 г. В 2012 г. в учет принимали молодых самок, подсаженных к старым самцам взамен погибших старых самок (подсаженные хомячки также получали SkQ1 в опыте и воду в контроле по стандартной схеме со дня подсадки). Это было возможно сделать, поскольку различия в смертности между опытом и контролем отсутствовали и, соответственно, количество подсаженных самок взамен погибших в опыте и контроле было одинаковым. Из числа старых самок в весенне-летнем размножении 2012 г. приняли участие уже только две самки из опытной и две самки из контрольной серий эксперимента. В 2011 г. максимальное различие по числу родивших самок приходилось на вторую декаду февраля: в опытной серии родили 25 самок из 35 репродуктивных пар (71%), в контроле — 19 из 35 (54%); различие долей: $p = 0,14$. В 2012 г. максимальное различие по числу родивших самок (7 самок) приходилось на первую декаду апреля. К этому времени в опыте родили 12 самок из 24 (50%), в контроле — 5 из 24 (20,8%); различие долей: $p = 0,04$; χ^2 с поправкой Йетса для малых выборок: $\chi^2_{\text{Yates corrected}} = 3,28$; $p = 0,07$.

Максимальное различие по накопленному числу выводков между опытом и контролем наблюдалось в третьей декаде апреля 2012 г. ($\Delta = 23$). Значимые различия долей всех произведенных на свет выводков на конкретную дату от общего числа выводков наблюдались между второй декадой декабря 2011 г. и первой декадой августа 2012 г. (рис. 1, а и рис. 2, а). Максимальное различие по накопленному числу детенышей между опытом и контролем в 2012 г. наблюдалось во второй декаде апреля ($\Delta = 102$). Значимые различия долей всех детенышей, рожденных на конкретную дату от общего числа детенышей, наблюдались в период между третьей декадой января 2011 г. и третьей декадой августа 2012 г. (рис. 1, б и рис. 2, б). К концу 2012 г. разность между суммой выводков и разность между суммой детенышей в опыте и контроле постепенно приблизилась к нулю. Размножение в контроль-

ной серии эксперимента даже продолжалось в октябре—ноябре 2012 г. (рис. 2, а и б).

Средние размеры выводков уменьшались в опыте и в контроле от весны к осени 2011 г. Статистически значимое отличие в сторону большего по размеру выводка (t -тест: $t = 2,26$, $n_1 = 12$, $n_2 = 14$, $p < 0,05$) наблюдалось у получавших SkQ1 самок в первой декаде мая 2011 г. — период максимального различия по числу рожденных детенышей между опытом и контролем. Размер первых выводков самок в опыте и в контроле был одинаковым: SkQ1 $5,26 \pm 0,33$ детеныша; контроль — $5,26 \pm 0,38$, $t = -0,01$, $n_1 = 31$, $n_2 = 34$, $p = 0,99$. Однако наблюдалась тенденция к большему размеру последних в жизни выводков в контроле: SkQ1 — $2,39 \pm 0,30$, контроль — $3,24 \pm 0,35$, $t = -1,84$, $n_1 = 28$, $n_2 = 29$, $p = 0,07$.

В общую линейную модель (GLM) в качестве зависимой переменной включали число произведенных за жизнь выводков или детенышей, а в качестве вероятных факторов (независимые переменные) серию эксперимента, характеристики состояния иммунитета, вес в начальный период жизни (4 мес) и продолжительность жизни, а также учитывали возможность взаимодействия факторов. Анализ показал, что только продолжительность жизни оставалась в итоговой модели в качестве значимого фактора как для самцов (сумма выводков: $F_{1,53} = 19,9$, $p < 0,001$; сумма детенышей: $F_{1,53} = 14,18$, $p < 0,001$), так и для самок (сумма выводков: $F_{1,38} = 6,57$, $p < 0,014$; сумма детенышей: $F_{1,38} = 6,57$, $p < 0,014$).

Продолжительность жизни. Первоначально в эксперименте были задействованы 37 пар хомячков Кэмпбелла, получавших препарат перорально с 15 октября 2010 г. в дозировке 50 нмоль/кг (опытная серия), и 37 пар, получавших воду (контрольная серия). К 31 декабря 2012 г. остались живыми: в опыте — самок 0, самцов 6, в контроле — самок 1, самцов 6. Отличия в смертности между опытом и контролем отсутствовало как среди самцов, так и среди самок (Survival Analysis: Gehan's Wilcoxon Test: $p > 0,05$). Отсутствие отличия опыта от контроля сохранялось и после строгого исключения всех случаев «случайной» утраты зверьков (включая случаи гибели самок при родах): самцы: Gehan's Wilcoxon Test Statistics = $-0,18$, $p = 0,85$, $n_{\text{опыт}} = 35$, $n_{\text{контроль}} = 33$; самки: Gehan's Wilcoxon Test Statistics = $-0,18$, $p = 0,85$, $n_{\text{опыт}} = 33$, $n_{\text{контроль}} = 32$ (рис. 3). Повышенная смертность самцов, получавших SkQ1, наблюдалась в возрасте 1–1,5 года ($\chi^2_{\text{Yates corrected}} = 3,88$; $p < 0,05$). Однако это могло быть следствием более интенсивного размножения получавших SkQ1 хомячков весной 2011 г.

Большая гибель самок, по сравнению с самцами, наблюдалась как в опыте, так и в контро-

ле и была связана, по-видимому, с большими затратами самок на репродукцию: опыт: Gehan's Wilcoxon Test Statistics = 2,25, $p = 0,02$, $n_{\text{самцы}} = 35$, $n_{\text{самки}} = 33$; контроль: Gehan's Wilcoxon Test Statistics = 2,59, $p = 0,01$, $n_{\text{самцы}} = 33$, $n_{\text{самки}} = 32$.

Возрастная динамика веса тела. В динамике веса хомячков опытной и контрольной серий

эксперимента, как самцов, так и самок, велика роль сезонного фактора (рис. 4). С сентября по декабрь наблюдалось снижение веса зверьков, а с января по апрель нарастание. Максимальный вес наблюдался у самцов и самок с мая по август 2011 г. Вес тела у самцов и самок в опыте и контроле уменьшался к концу жизни. Статистически

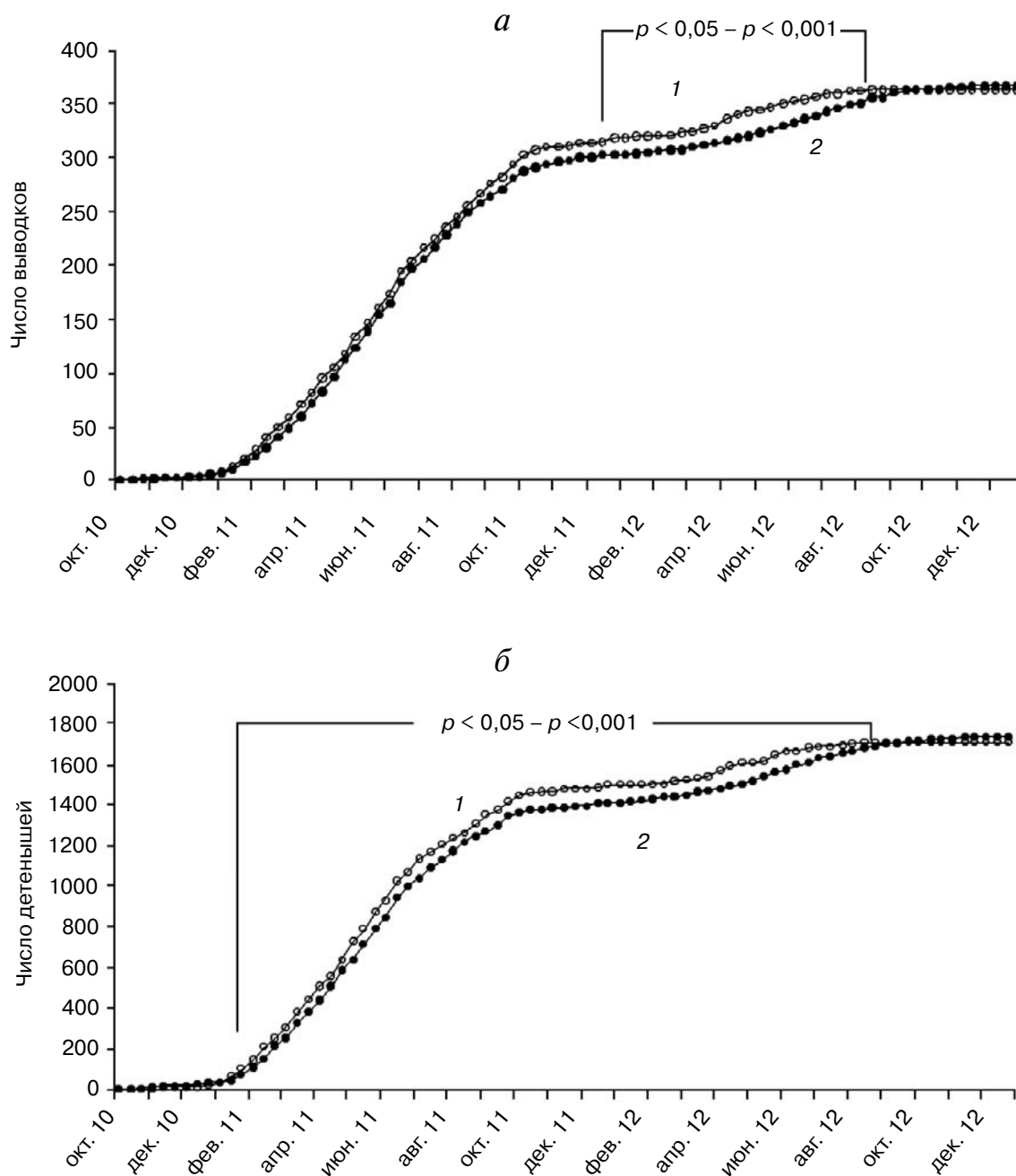


Рис. 1. Кумулятивные кривые (а) числа выводков и (б) числа рожденных детенышей по декадам за период с октября 2010 г. по декабрь 2012 г., включая основных и вновь добавленных самок взамен погибших ($n_{\text{опыт}} = 56$, $n_{\text{контроль}} = 58$). Статистическая оценка – различие долей накопленных детенышей или выводков на конкретную дату от общего числа рожденных детенышей или выводков

значимые различия в динамике веса тела между опытом и контролем отсутствуют на протяжении большей части эксперимента. Однако в конце эксперимента прослеживалась тенденция к большему весу получавших SkQ1 самцов. Большой вес самцов в опытной серии в конце эксперимента не связан с лучшей выживаемостью их в конце жизни. Среди самок к концу эксперимента в отличие от самцов тенденция была противоположной. Получавшие SkQ1 самки имели меньший вес к концу жизни. Это может быть связано с их большими затратами на репродукцию. Большой вес самок в контроле также не был связан с их повышенной выживаемостью. Исследование изменчивости во времени состояния специфической брюшной железы и наружных половых органов (аногенитальное расстояние у самцов, размер семенников по их внешним очертаниям), а также окраски и качества волосяного покрова по цифровым фотоснимкам не выявило различий между опытной и контрольной сериями эксперимента.

Состояние иммунитета. Индуцированный эритроцитами барана гуморальный иммунитет (анти-телообразование). Формирование пар на размножение в 2010 г. в уличном виварии было проведено из молодых зверьков с измеренным иммунным ответом на полифакториальную антигенную нагрузку (SRBC). Зверьки в опытной и контрольной сериях эксперимента не отличались по силе первичного иммунного ответа на бараньи эритроциты. Проведенная в возрасте года повторная иммунизация самцов показала увеличение силы вторичного иммунного ответа как в опыте, так и в контроле (t -тест для зависимых выборок: SkQ1: $t = -2,198$; $p = 0,035$; $n_1 = n_2 = 31$; контроль: $t = -1,94$; $p = 0,064$; $n_1 = n_2 = 34$). При этом опытная серия эксперимента не отличалась от контрольной по силе вторичного иммунного ответа (таблица). В отличие от самцов распределения титров антител у самок как после первой иммунизации, так и после второй, через год были резко асимметричными с преобладанием низких титров. У самок увеличение силы

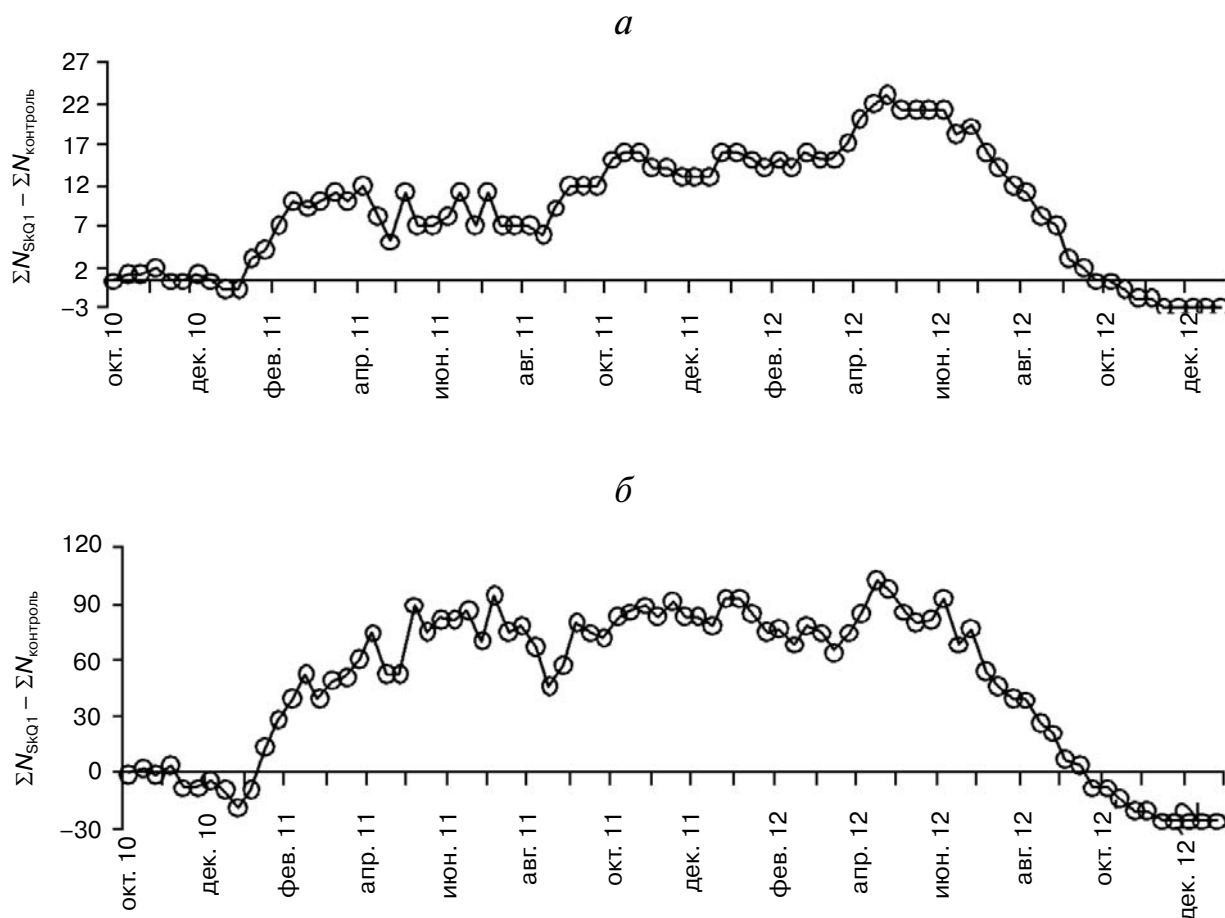


Рис. 2. Разница по накопленному числу (а) выводков, (б) детенышей по декадам ($\Delta = \Sigma N_{\text{SkQ1}} - \Sigma N_{\text{контроль}}$) за период с октября 2010 г. по декабрь 2012 г., включая основных и вновь добавленных самок взамен погибших ($n_{\text{опыт}} = 56$, $n_{\text{контроль}} = 58$)

вторичного иммунного ответа как в опыте, так и в контроле не было статистически значимым (Wilcoxon Matched Pairs Test: опыт: $Z = 1,23$; $p = 0,22$; $n_1 = n_2 = 28$; контроль: $Z = 0,94$; $p = 0,34$; $n_1 = n_2 = 25$). Отличие опыта от контроля по силе вторичного иммунного ответа на эритроциты также отсутствовало (таблица). Низкая иммунореактивность многих самок не отразилась на успешности их размножения.

Индуктированный Т-клеточный иммунитет. В качестве теста на состояние Т-клеточного иммунитета была использована кожная реакция гиперчувствительности замедленного типа на внутрикожное введение порции фитогемагглютина. Реакция гиперчувствительности оказалась статистически значимо более высокой у получавших SkQ1 годовалых самцов хомячков (таблица). Различия сохранились и при повторном введении РНА у полугодовалых самцов ($t = 2,23$, $p = 0,033$, $n_1 = 20$, $n_2 = 17$). При этом у получавших SkQ1 самцов вторичный ответ на РНА был значимо положительно связан с первичным (годовалые самцы) ответом ($r = 0,65$, $p = 0,002$), в отличие от контрольной группы, где

связь отсутствовала ($r = -0,04$, $p = 0,87$). У годовалых самок статистически значимое отличие опыта от контроля отсутствовало (таблица).

Состояние неспецифического иммунитета. У самцов в годовалом возрасте отсутствовали различия между опытной и контрольной сериями эксперимента как по цитохимическому индексу активности системы ПЭПВ, так и по профилям форменных элементов белой крови, за исключением близкого к статистически значимому увеличению числа нейтрофилов у получавших SkQ1 самцов (таблица). У самок это исследование не проводили.

Иммунитет и продолжительность жизни. Использование применительно к самцам общей линейной модели (GLM), в которой зависимой переменной была продолжительность жизни, а вероятными факторами были серия эксперимента (опыт и контроль), первичный и вторичный ответ (титры антител) на SRBC, кожная реакция ГЗТ на фитогемагглютинин, ЦХИ ПЭПВ нейтрофилов, гранулоцитарно-лимфоцитарный индекс, число лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов на 100 клеток белой крови и вес, пока-

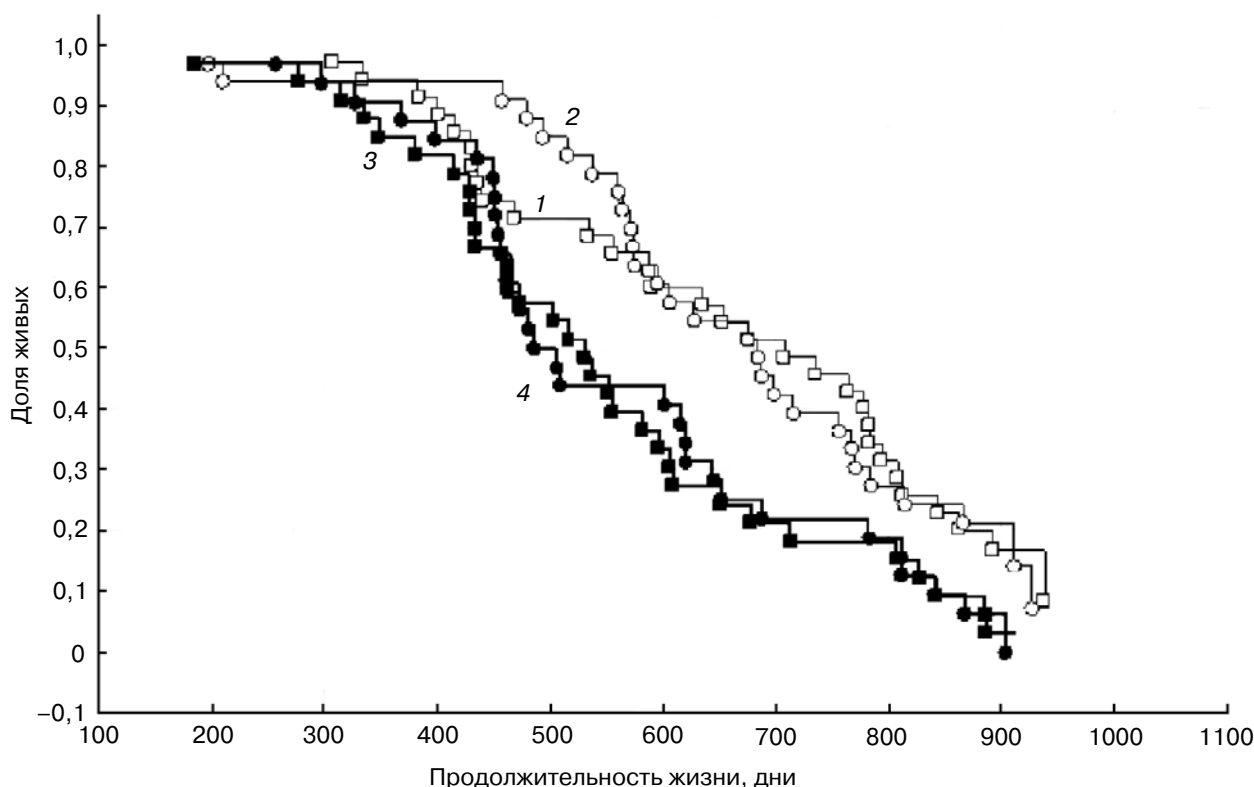


Рис. 3. Продолжительность жизни хомячков в уличном виварии с октября 2010 г. по декабрь 2012 г.: 1 – самцы, получавшие SkQ1, 2 – самцы контрольные, 3 – самки, получавшие SkQ1, 4 – самки контрольные. Исключены все случаи случайной утраты животных (гибель самки при родах, убежавший зверек); SkQ1: 35 самцов и 33 самки, контроль: 33 самца и 32 самки. Построение кривых по Kaplan-Meier product limit method, Statistica 6. StatSoft Inc.

зало, что только сила гуморального иммунного ответа на SRBC в годовалом возрасте оказывала слабый, близкий к статистически значимому положительный эффект на продолжительность жизни: $F_{1,54} = 3,57, p < 0,064$.

GLM анализ в отношении самок не выявил влияния ни SkQ1, ни характеристик иммунитета на продолжительность их жизни.

Устойчивость к воздействию физических стрессоров. Уровень кортизола у самцов, измеренный в связи с приходом осенних заморозков в октябре 2011 г., показал значимо более низкий уровень этого основного глюкокортикоида коры надпочечников у получавших SkQ1 самцов (t -test: $t = -2,29; p = 0,025; n_1 = 32; n_2 = 33$; рис. 5). Аналогичное измерение у самок не показало значи-

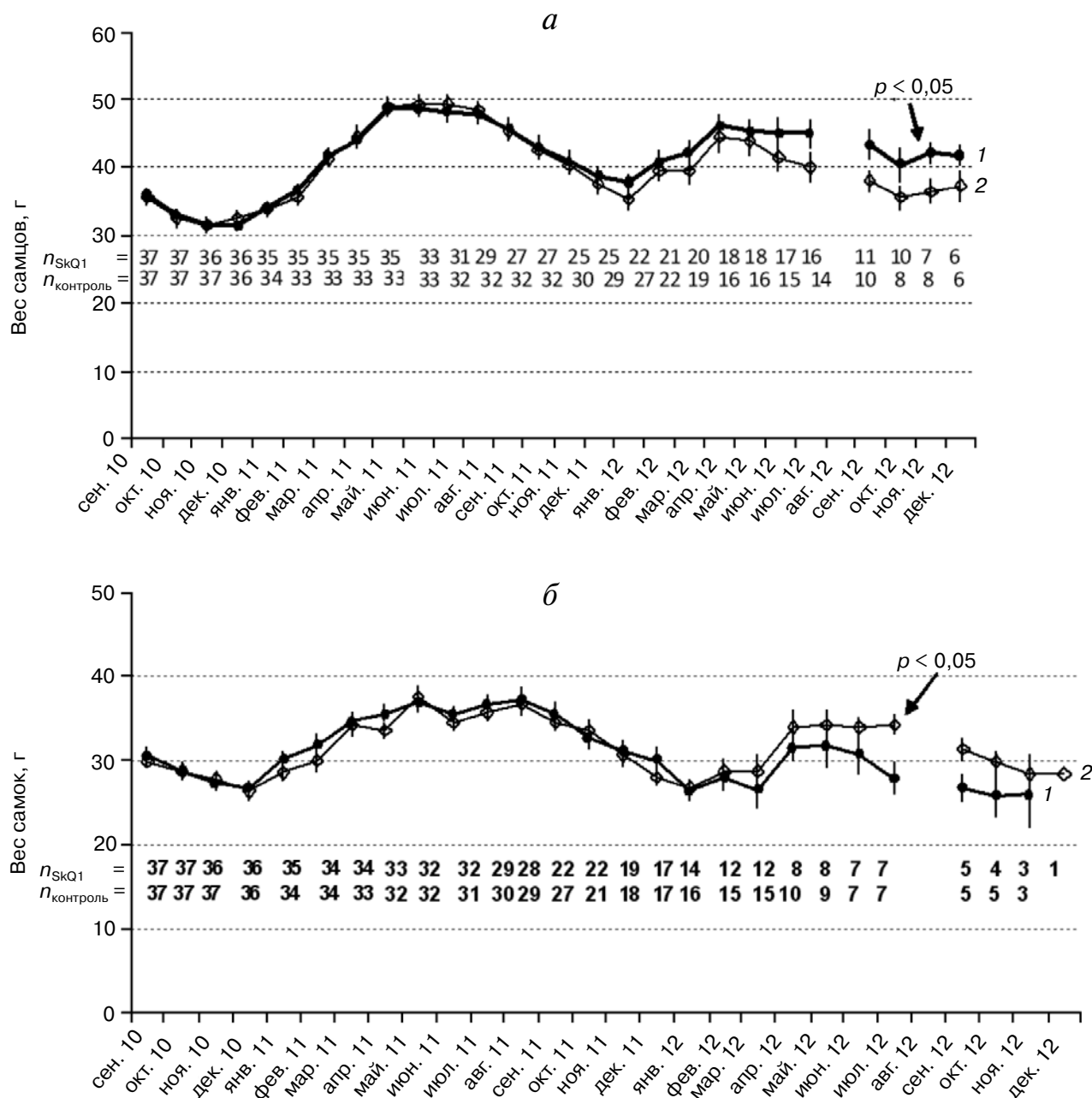


Рис. 4. Динамика веса (а) самцов и (б) самок (1) в опыте и (2) в контроле. Цифрами указан размер выборок на дату взвешивания в конце месяца

Показатели состояния иммунитета годовалых хомячков, получавших SkQ1 и чистую воду в уличном виварии

Показатели	Пол	Возраст	SkQ1	N	Контроль	N	t_{St}	p	Z_{M-W}	p
SRBC-тест, титр антител после повторной иммунизации в возрасте 1 года	самцы самки	1 год »	7 (2–12)* 1,8 (0–11)	34 32	7,4 (0–10) 1,8 (0–11)	34 28			–0,14 –0,62	0,887 0,533
РНА-тест (характеристика состояния клеточного иммунитета), мм	самцы самки	» »	2,68 ± 0,14** 2,20 ± 0,10	27 24	2,29 ± 0,13 2,35 ± 0,12	32 27	2,03 –0,92	0,046 0,359		
Цитохимический индекс активности системы ПЭПВ нейтрофилов	самцы	»	178,5 ± 6,75	33	186 ± 5,67	33	–0,85	0,395		
Нейтрофилы (n на 100 WBS)	самцы	»	35,12 ± 2,02	»	29,59 ± 1,94	32	1,96	0,053		
Эозинофилы (n на 100 WBS)	самцы	»	5 (1–18)	»	5,5 (2–13)	»			–0,95	0,341
Базофилы (n на 100 WBS)	самцы	»	0 (0–1)	»	0 (0–1)	»			0,40	0,689
Моноциты (n на 100 WBS)	самцы	»	3 (1–7)	»	3 (0–7)	»			–0,40	0,689
Лимфоциты (n на 100 WBS)	самцы	»	55,72 ± 1,86	»	57,34 ± 2,34	»	–0,54	0,589		
H/L	самцы	»	0,74 (0,2–2)	»	0,65 (0,19–2,09)	»			1,30	0,192

Примечание. n на 100 WBS – число клеток данного типа в выборке из 100 лейкоцитов; H/L – гранулоцитарно-лимфоцитарный индекс; t_{St} – t -критерий в тесте Стьюдента; Z_{M-W} – Z статистика в тесте Манна–Уитни; p – вероятность.

* Медиана и размах изменчивости (в скобках) для распределений, отличных от нормальных.

** Среднее значение и ошибка для нормально распределенных данных.

мых различий в уровне кортизола в крови между получавшими и не получавшими SkQ1 животными (t -test: $t = -0,34$; $p = 0,73$; $n_1 = 32$; $n_2 = 27$). Повторное измерение кортизола в периферической крови у самцов в период январских морозов 2012 г. (суточный диапазон температур от -20 до -15°) вновь продемонстрировало более низкие значения уровня кортизола в крови у получавших SkQ1 животных, но вероятность безошибочного прогноза в данном случае находилась в диапазоне между 90 и 95% (t -test: $t = -1,87$, $n_1 = 25$, $n_2 = 24$, $p = 0,068$). Менее выраженные различия между получавшими и не получавшими SkQ1 самцами наблюдались на фоне повышенного уровня стрессированности всех самцов в мороз по сравнению с другими периодами ($p < 0,05 - p < 0,01$). В репродуктивный период различия между самцами по уровню кортизола в крови между опытом и контролем отсутствовали (рис. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

SkQ1 в дозировке 50 нмоль/кг в сут не оказывал влияния на выживаемость самцов и самок хомячков Кэмпбелла, круглогодично содержащихся репродуктивными парами в уличном виварии. Животные, которым была предоставлена возможность свободно размножаться, а подавляющий репродукцию эффект социальной плотности исключался изъятием выводков в двадцатипятидневном возрасте, не различались в опыте и в контроле по продолжительности жизни. Большая гибель самок по сравнению с самцами наблюдалась как в опыте, так и в контроле и естественным образом объяснима большими затратами самок на репродукцию. Однако SkQ1 увеличивал рождаемость в парах хомячков Кэмпбелла при их уличном содержании. Хотя суммарное количество выводков и количество

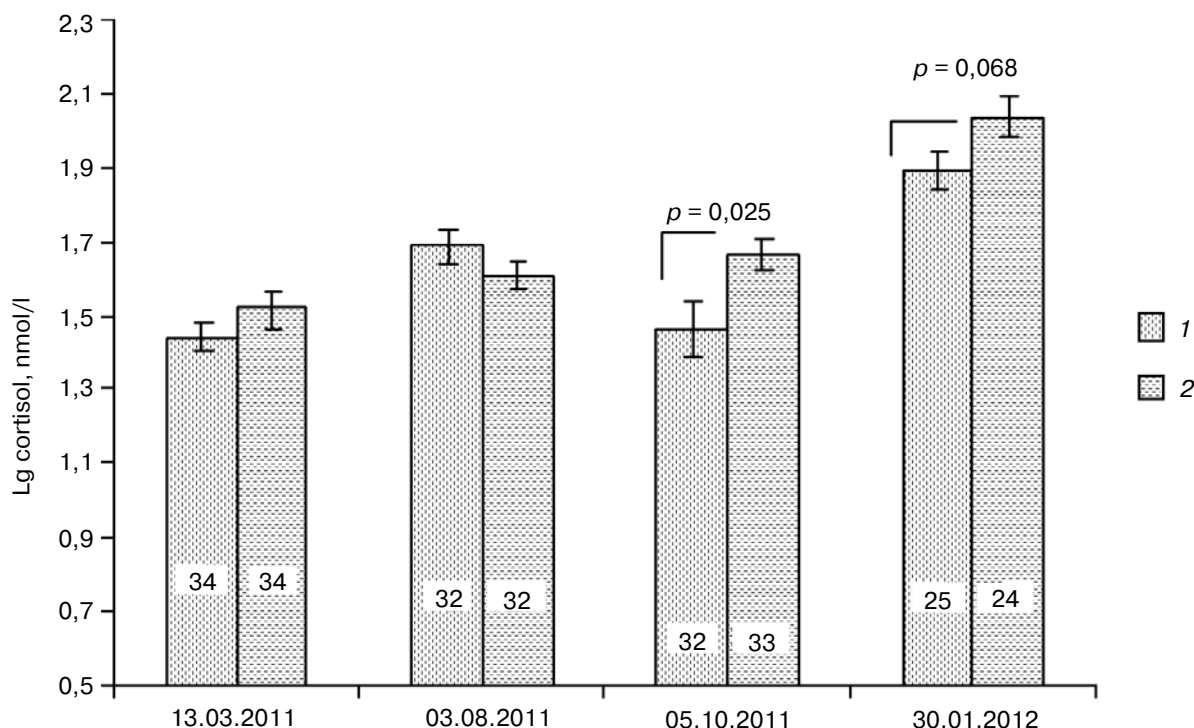


Рис. 5. Сезонные различия фонового уровня кортизола в сыворотке крови самцов хомячков, получавших (1) SkQ1 и (2) воду

рожденных детенышей за всю жизнь в опыте и в контроле не различались, получавшие SkQ1 пары раньше приступали к размножению. В результате в первую половину года наблюдался повышенный темп воспроизводства в парах, получавших препарат, а во второй половине года — в контрольных парах, получавших воду. Опережающее размножение после зимней паузы в опытной серии эксперимента наблюдалось как в 2011 г., так и в 2012 г. Сезонные условия и возраст оказывали сходное влияние на динамику веса самцов и самок в опыте и контроле. Тем не менее тенденция к большему весу получавших SkQ1 самцов все же наблюдалась в конце эксперимента. Среди самок же к концу эксперимента большим весом обладали контрольные самки, по-видимому, менее истощенные репродукцией. Вполне вероятно, что репродуктивные затраты в опытной серии эксперимента были в реальности большими, чем мы имели возможность наблюдать по фактам рождения детенышей. Мы не имели возможности учитывать случаи эмбриональной гибели, равно как и безошибочно регистрировать гибель детенышей во время родов или непосредственно после родов, поскольку самки их съедают. Это было возможным оценить лишь по факту беременности.

Отсутствие различия в продолжительности жизни получавших и не получавших SkQ1 хомячков поддержано отсутствием различий по ряду характеристик приобретенного и врожденного иммунитета, за исключением показателя активности системы клеточного иммунитета. В качестве характеристики состояния последнего была использована кожная реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на фитогемагглютинин Р. У получавших SkQ1 годовалых самцов хомячков кожная реакция была статистически более высокой. Этот результат согласуется со свидетельствами замедления возрастной инволюции тимуса и фолликулярных структур селезенки у крыс линии OXIS, получавших SkQ1 [3, 22]. Сила гуморального иммунного ответа на SRBC в годовалом возрасте оказывала слабый, близкий к статистически значимому, положительный эффект на продолжительность жизни самцов хомячков вне связи со скормливанием SkQ1. У самок этот эффект вообще не прослеживался.

В нашем первом эксперименте с девственными самками хомячков Кэмпбелла, содержавшихся группами круглогодично на улице в условиях насыщенной патогенами среды было продемонстрировано, что SkQ1 в дозировках 5 и 50 нмоль/кг

увеличивал медианную продолжительность их жизни [10].

Отсутствие же влияния SkQ1 на продолжительность жизни размножающихся хомячков по нашему мнению не противоречит полученным ранее данным о положительном геропротекторном эффекте SkQ1 в отсутствие репродуктивных нагрузок. В нашем эксперименте возможность свободно размножаться обусловила повышенные нагрузки на организм и естественным образом обострила главное противоречие жизненного цикла любого вида животных — противоречие и как следствие трейдофф между репродукцией и как следствием. Конкуренция основных жизненных функций (функциональных систем) за энергию и субстраты обуславливает их сопряженную эволюцию [23, 24]. Под действием естественного отбора обеспечивается в эволюционном масштабе времени уровень экспрессии функции (признака) оптимальный для каждого периода жизненного цикла, и проявляющийся в форме трейдоффа, в допускаемых трейдоффом пределах [23, 25]. В ходе эволюции жизненного цикла складывается оптимальное для каждого этапа жизни распределение лимитированных пластических и энергетических ресурсов организма между жизненно важными функциональными системами, что и обеспечивает адаптацию и максимизирует приспособленность. Примером служит перераспределение ресурсов энергии и субстратов между конкурирующими системами репродукции, обеспечивающей продолжение рода, и иммунитета, обеспечивающего выживание [26, 27, 28]. Если рассматривать полученный нами результат в контексте этих представлений, то вряд ли оправданно предполагать одновременно положительный эффект SkQ1 на продолжительность жизни и репродукцию у мелкого грызуна с очень высоким репродуктивным потенциалом, каким является хомячок Кэмпбелла. Репродуктивный возраст у хомячка Кэмпбелла практически совпадает с абсолютным. Животные размножаются практически до смерти, причем размножение наиболее истощительно для самок. Симптоматично, что и у мышей даже в отсутствие репродуктивных нагрузок увеличение продолжительности жизни под влиянием SkQ1 демонстрировали больше самцы, чем самки [10]. Так, в виварии с низким уровнем патогенов (LP conditions) эффект SkQ1 на аутбредных самках мышей SHR отсутствовал, но продолжительность их жизни была такой же, как у SHR мышей в «грязном» (Non-LP conditions) виварии, получавших SkQ1. Исследования инбредных самцов и самок мышей BALB/c и C57Bl/6 в условиях стерильных SPF вивариев показали отсутствие влияния SkQ1 на медиан-

ную продолжительность жизни самок, но продемонстрировали положительное статистически значимое влияние SkQ1 на самцов.

Полученный нами результат все же не совпадает с результатом, полученным нашими коллегами на обыкновенной слепушонке (*Ellobius talpinus*) [10]. SkQ1 в дозировке 50 нмоль/кг в день оказывал положительное влияние как на репродуктивную функцию, так и на продолжительность жизни отловленных в природе и содержавшихся репродуктивными группами слепушонок. Однако и это вполне объяснимо. Размножение у слепушонок не является столь же истощительным как у хомячка Кэмпбелла — типичного *r*-стратега среди грызунов. Обыкновенная слепушонка — специализированный, долгоживущий грызун-землерой, у которого репродуктивные нагрузки растянуты по ходу жизненного цикла на годы. Для обыкновенной слепушонки характерен набор адаптаций обеспечивающих весьма экономное расходование энергоресурсов в сравнении с наземными грызунами сходных размеров [29]. Несовпадение нашего результата с результатом по обыкновенной слепушонке служит веским свидетельством необходимости учета особенностей биологии вида и, соответственно, условий, в которых мы вправе ожидать реализации геропротекторных свойств митохондриально-ориентированных антиоксидантов, таких как SkQ1.

Основной результат нашего испытания — положительный эффект SkQ1 на репродуктивную функцию хомячков. Эти данные согласуются с ранее полученными результатами на слепушонках, аутбредных SHR мышах (SkQ1 тормозил возрастное прекращение эстральных циклов у самок и провоцировал раннее наступление регулярной циклики) [3, 10]. Этот результат поддержан результатом специально проведенного нами исследования развития детенышей в выводках хомячков Кэмпбелла у родителей, получавших и не получавших SkQ1. Исследование показало наличие положительного эффекта SkQ1 на скорость созревания молоденьких самцов и самок [30]. В разгар репродуктивного периода в мае—июле у двадцатипятидневных самцов из выводков, родители которых получали SkQ1, придатки семенников имели больший вес по сравнению с контролем, а у 25-дневных опытных самок наблюдалась тенденция к большему весу матки. Показательно, что эффект SkQ1, оказываемый на вес придатка семенника и вес матки, сохранялся при контроле размера выводка и соотношения полов в выводке. Помимо этого в параллельном эксперименте показано, что у самок, которым с десятидневного возраста скармливали препарат в дозировке 50 нмоль/кг, раньше открывались влагалища.

Одним из объяснений активного раннего размножения получавших SkQ1 хомячков (после осенне-зимней паузы) может быть его воздействие на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему в условиях действия сезонных стрессоров. Увеличение репродуктивной активности под воздействием SkQ1 может быть связано со снижением уровня глюкокортикоидных гормонов у получающих препарат животных или со снижением чувствительности к ним гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы. Со времени классических работ Дж. Кристиана [31, 32, 33] накоплено немало данных, свидетельствующих о важной роли стресса как механизма разрешения конфликта между сиюминутным репродуктивным усилием организма и отсроченным размножением, как фактора регуляции рождаемости и смертности в популяциях млекопитающих [34, 35]. С другой стороны, SkQ1 может иметь важное защитное влияние на организм в условиях острых стрессовых состояний при необходимости быстрой сезонной перестройки физиологии, например, в процессе адаптации к сезонному понижению температуры. Мы оценивали уровень стресс-реакции у хомячков как показатель их способности адаптироваться к наступлению первых заморозков (интенсивная линька, снижение репродуктивной активности, начало накопления жировых запасов) и к низким температурам в период наступления январских морозов по концентрации кортизола в сыворотке крови.

В обоих случаях наши ожидания подтвердились в отношении самцов. Фоновый уровень стресс-реакции, оцененный по концентрации кортизола в сыворотке крови был значимо более низким у получавших SkQ1 самцов в период осенней адаптационной перестройки организма. Аналогичная тенденция наблюдалась и во время январских морозов на фоне высокого уровня стресс-реакции. У самок во время осенней адаптации (в январские морозы у них кровь решено было не брать) различие между опытом и контролем отсутствовало при более высоком, чем у самцов фоновом уровне стресс-реакции, что может быть связано с не закончившимся

размножением и высокими репродуктивными тратами. Во время активного репродуктивного периода ни в начале весны, ни в середине лета различия между получавшими и не получавшими SkQ1 хомячками не были выражены.

Таким образом, отсутствие влияния SkQ1 на продолжительность жизни хомячков Кэмпбелла в репродуктивных парах, которым была предоставлена возможность свободного размножения в условиях уличного содержания, может быть объяснена показанным нами положительным эффектом SkQ1 на репродуктивную функцию. Не увеличивая суммарный репродуктивный успех, SkQ1 оказался способным активировать репродукцию в начале репродуктивного сезона, что также согласуется с положительным эффектом SkQ1 на темп постнатального развития хомячков. Полученные нами результаты хорошо согласуются с результатами, полученными на насекомых. В опытах с плодовой мушкой *Drosophila melanogaster* SkQ1 увеличивал продолжительность жизни девственных самок и самцов, причем максимальный эффект он оказывал на выживание самок в раннем возрасте [9]. Однако, если самцам и самкам давали возможность размножаться, раствор SkQ1 в той же концентрации не увеличивал продолжительность жизни тех и других, а воздействие на выживание самок в раннем возрасте отсутствовало [36]. При этом плодовитость в раннем возрасте и суммарное число потомков у обработанных мух возрастали. Интересно, что у самцов *D. melanogaster* активация репродуктивной функции феромоном самки без предоставления возможности спаривания сокращала запасы жира, устойчивость к голоданию и продолжительность жизни, но объединение с самкой снимало этот эффект [37].

Работа выполнена при финансовой поддержке НИИ Митотехнологии МГУ им. М.В. Ломоносова.

Мы глубоко признательны академику В.П. Скулачеву, который инициировал это исследование и поддерживал нас своим неизменным интересом к работе и ценными советами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скулачев В.П. (2005) Старение как атавистическая программа, которую можно попытаться отменить, *Вестник РАН*, **75**, 831–843.
2. Skulachev, V.P. (2010) How to cancel the program of body aging? *J. General Chem.*, **80**, 1523–1541.
3. Skulachev, V.P., Anisimov, V.N., Antonenko, Yu.N., Bakeeva, L.E., Chernyak, B.V., Erchev, V.P., Filenko, O.F., Kalinina, N.I., Kapelko, V.I., Kolosova, N.G., Kopnin, B.P., Korshunova, G.A., Lichinitser, M.R., Obukhova, L.A., Pasyukova, E.G., Pisarenko, O.I., Roginsky, V.A., Ruuge, E.K.,

- Senin, I.I., Severina, I.I., Skulachev, M.V., Spivak, I.M., Tashlitsky, V.N., Tkachuk, V.A., Vyssokikh, M.Yu., Yaguzhinsky, L.S., and Zorov, D.B. (2009) An attempt to prevent senescence: A mitochondrial approach, *Biochim. Biophys. Acta*, **1787**, 437–461.
4. Skulachev, V.P. (1999) Phenoptosis: programmed death of an organism, *Biochemistry (Moscow)*, **64**, 1418–1426.
 5. Skulachev, V.P. (2012) What is «phenoptosis» and how to fight it? *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 689–706.
 6. Skulachev, V.P. (2007) A biochemical approach to the problem of aging: «megaproject» on membrane-penetrating ions. The first results and prospects, *Biochemistry (Moscow)*, **72**, 1385–1396.
 7. Антоненко Ю.Н., Аветисян А.В., Бакеева Л.Е., Черняк Б.В., Чертков В.А., Домнина Л.В., Иванова О.Ю., Изюмов Д.С., Хайлова Л.С., Клишин С.С., Коршунов С.С., Коршунова Г.А., Лямзаев К.Г., Мунтян М.С., Непряхина О.К., Пашковская А.А., Плетюшкина О.Ю., Пустовидко А.В., Рогинский В.А., Рокитская Т.И., Рууге Э.К., Сапрунова В.Б., Северина И.И., Симонян Р.А., Скулачев И.В., Скулачев М.В., Сумбатян Н.В., Свириева И.В., Ташлицкий В.Н., Васильев Ю.М., Высоких М.Ю., Ягузинский Л.С., Замятнин А.А. (мл.), Скулачев В.П. (2008) Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. 1. Катионные производные пластохинона: синтез и исследование *in vitro*, *Биохимия*, **73**, 1589–1606.
 8. Agarova, L.S., Chernyak, B.V., Domnina, L.V., Dugina, V.B., Efimenko, A.Y., Fetisova, E.K., Ivanova, O.Y., Kalinina, N.I., Khromova, N.V., Kopnin, B.P., Kopnin, P.B., Korotetskaya, M.V., Lichinitser, M.R., Lukashov, A.L., Pletjushkina, O.Yu., Popova, E.N., Skulachev, M.V., Shagieva, G.S., Stepanova, E.V., Titova, E.V., Tkachuk, V.A., Vasiliev, J.M., and Skulachev, V.P. (2008) Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 3. Inhibitory effect of SkQ1 on tumor development from p53-deficient cells, *Biochemistry (Moscow)*, **73**, 1300–1316.
 9. Anisimov, V.N., Bakeeva, L.E., Egormin, P.A., Filenko, O.F., Isakova, E.F., Manskikh, V.N., Mikhelson, V.M., Panteleeva, A.A., Pasyukova, E.G., Pilipenko, D.I., Piskunova T.S., Popovich, I.G., Roshchina, N.V., Rybina, O.Yu., Samoylova, T.A., Saprunova, V.B., Semenchenko, A.V., Skulachev, M.V., Spivak, I.M., Tsybul'ko, E.A., Tyndyk, M.L., Vyssokikh, M.Yu., Yurova, M.N., Zabezinsky, M.A., and Skulachev, V.P. (2008) Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of an aging program. 5. SkQ1 prolongs the lifespan and prevents development of traits of senescence, *Biochemistry (Moscow)*, **73**, 1329–1342.
 10. Anisimov, V.N., Egorov, M.V., Krasilschikova, M.S., Lyamzaev, K.G., Manskikh, V.N., Moshkin, M.P., Novikov, E.A., Popovich, I.G., Rogovin, K.A., Shabalina, I.G., Shekarova, O.N., Skulachev, M.V., Titova, T.V., Vigodin, V.A., Vyssokikh, M.Yu., Yurova, M.N., Zabezinsky, M.A., and Skulachev, V.P. (2011) Effects of mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on lifespan of rodents, *Aging*, **3**, 1–10.
 11. Bakeeva, L.E., Barskov, I.V., Egorov, M.V., Isaev, N.K., Kapelko, V.I., Kazachenko, A.V., Kirpatovsky, V.I., Kozlovsky, S.V., Lakomkin, V.L., Levina, S.B., Pisarenko, O.I., Plotnikov, E.Y., Saprunova, V.B., Serebryakova, L.I., Skulachev, M.V., Stelmashook, E.V., Studneva, I.M., Tskitishvili, O.V., Vasilyeva, A.K., Victorov, I.V., Zorov, D.B., and Skulachev, V.P. (2008) Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 2. Treatment of some ROS- and Age-related diseases (heart arrhythmia, heart infarctions, kidney ischemia, and stroke), *Biochemistry (Moscow)*, **73**, 1288–1299.
 12. Neroev, V.V., Archipova, M.M., Bakeeva, L.E., Fursova, A.Zh., Grigorian, E.N., Grishanova, A.Y., Iomdina, E.N., Ivashchenko, Zh.N., Katargina, L.A., Khoroshilova-Maslova, I.P., Kilina, O.V., Kolosova, N.G., Kopenkin, E.P., Korshunov, S.S., Kovaleva, N.A., Novikova, Yu.P., Philippov, P.P., Pilipenko, D.I., Robustova, O.V., Saprunova, V.B., Senin, I.I., Skulachev, M.V., Sotnikova, L.F., Stefanova, N.K., Tikhomirova, N.K., Khoroshilova-Maslova, I.P., Tsapenko, I.V., Shchipanova, A.I., Zinovkin, R.A., and Skulachev, V.P. (2008) Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 4. Age-related eye disease. SkQ1 returns vision to blind animals, *Biochemistry (Moscow)*, **73**, 1317–1328.
 13. Skulachev, M.V., Antonenko, Y.N., Anisimov, V.N., Chernyak, B.V., Cherepanov, D.A., Chistyakov, V.A., Egorov, M.V., Kolosova, N.G., Korshunova, G.A., Lyamzaev, K.G., Plotnikov, E.Y., Roginsky, V.A., Savchenko, A.Y., Severina, I.I., Severin, F.F., Shkurat, T.P., Tashlitsky, V.N., Shidlovsky, K.M., Vyssokikh, M.Y., Zamyatnin, A.A., Zorov, D.B., and Skulachev, V.P. (2011) Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives. Effect on senescence and acute age-related pathologies, *Curr. Drug Targets*, **12**, 800–826.
 14. Феоктистова Н.Ю. (2008) *Хомячки рода Phodopus. Систематика, филогеография, экология, физиология, поведение, химическая коммуникация*, Товарищество научных изданий КМК, Москва.
 15. Флинт В.Е., Головкин А.Н. (1961) *Очерк сравнительной экологии хомячков Тувы*, Бюл. МОИП. Отд. биол., **66**, 57–75.
 16. Феоктистова Н.Ю., Мещерский И.Г. (2008) *Хомячки рода Phodopus. Систематика, филогеография, экология, физиология, поведение, химическая коммуникация* (ред. Н.Ю. Феоктистова), Товарищество научных изданий КМК, Москва, 259–272.
 17. Соколов В.Е., Орлов В.Н. (1980) *Определитель млекопитающих Монгольской Народной Республики*, Наука, Москва.
 18. Ройт А., Бростовф Дж., Мейл Д. (2000) *Иммунология*, Мир, Москва.
 19. Tella, J.L., Lemu, J.A., Carrete, M., and Blanco, G. (2008) The PHA test reflects acquired T-cell mediated immunocompetence in birds, *PLoS ONE*, **3**, 1–9, DOI:10.1371.
 20. Роговин В.Б., Бут П.Г. (1989) *Способ определения активности системы пероксидаза-эндогенная перекись водорода в лейкоцитах крови на мазках*, Россия, Москва, Патенты № 20-21-208, № 20-22-241, 1989.
 21. Palme, R. (2005) Measurement of corticosterone metabolites in birds' droppings: an analytical approach, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1046**, 17–34.
 22. Obukhova, L.A., Skulachev, V.P., and Kolosova, N.G. (2009) Mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 inhibits age-dependent involution of the thymus in normal and senescence-prone rats, *Aging*, **1**, 389–401.
 23. Roff, D.A. (1992) *The evolution of life histories: Theory and analysis*, Chapman and Hall, N.Y.
 24. Stearns, S.C. (1992) *The evolution of life histories*, Oxford University Press, Oxford.
 25. Roff, D., and Fairbairn, D.J. (2007) The evolution of trade-offs: where are we? *J. Evol. Biol.*, **20**, 433–447.
 26. Roberts, M.L., Buchanan, K.L., and Evans, M.R. (2004) Testing the immunocompetence handicap hypothesis: A review of the evidence, *Anim. Behav.*, **68**, 227–239.
 27. Martin, L.B., Weil, Z.M., and Nelson, R.J. (2008) Seasonal changes in vertebrate immune activity: mediation by physiological trade-offs, *Phil. Trans. R. Soc. London [Biol.]*, **363**, 321–339.

28. Boonekamp, J.J., Ros, A.H.F., and Verhulst, S. (2008) Immune activation suppresses plasma testosterone level: a meta-analysis, *Biol. Lett.*, **4**, 741–744.
29. Новиков Е.А. (2008) Физиологическая цена адаптаций к подземному образу жизни: обыкновенная слепушонка (*Ellobius talpinus* Pall.) в сравнении с наземными грызунами, Автореф. дис. докт. биол. наук, Новосибирск.
30. Роговин К.А., Хрущева А.М., Шекарова О.Н., Ушакова М.В., Манских В.Н., Васильева Н.Ю. (2014) Митохондриально-ориентированный антиоксидант SkQ1 ускоряет наступление половой зрелости у хомячков Кэмпбелла (*Phodopus campbelli*, Thomas, 1905, Rodentia, Cricetidae), *Биохимия*, **79**, 1367–1373.
31. Christian, J.J. (1950) The adreno-pituitary system and population cycles in mammals, *J. Mammal.*, **31**, 247–259.
32. Christian, J.J. (1963) Endocrine adaptive mechanisms and the physiologic regulation of population growth, in *Physiological Mammalogy* (Mayer, W.V., van Gelder, R.G., eds), Academy Press, N.Y., pp. 189–359.
33. Christian, J.J. (1968) Endocrine-behavioral negative feed-back responses to increased population density, *Colloques International Centre National Recherche Scientifique, Paris*, **173**, 289–316.
34. Роговин К.А., Мошкин М.П. (2007) Авторегуляция численности в популяциях млекопитающих и стресс (штрихи к давно написанной картине), *Журнал общей биологии*, **68**, 244–267.
35. Новиков Е.А., Мошкин М.П. (2009) Роль стресса в модификации онтогенетических программ, *Успехи современной биологии*, **129**, 1–12.
36. Цыбулько Е.А., Рощина Н.В., Рыбина О.Ю., Пасюкова Е.Г. (2010) Адресованное в митохондрии производное пластохинона SKQ1 увеличивает плодовитость за счет выживания у молодых особей *Drosophila melanogaster*, *Биохимия*, **75**, 325–330.
37. Gendron, C.M., Kuo, T.-H., Harvanek, Z.M., Chung, B.Y., Yew, J.Y., Dierick, H.A., and Pletcher, S.D. (2014) *Drosophila* life span and physiology are modulated by sexual perception and reward, *Science*, **343**, 544–548.

EFFECTS OF MITOCHONDRIA-TARGETED PLASTOQUINONE DERIVATIVE ANTIOXIDANT (SKQ1) ON DEMOGRAPHY OF FREE BREEDING CAMPBELL DWARF HAMSTERS (*Phodopus campbelli*) KEPT IN OUTDOOR CONDITIONS. REPRODUCTION AND LIFE SPAN: EXPLANATION IN THE FRAMEWORK OF ULTIMATE LOADS

K. A. Rogovin^{1,2*}, A. M. Khrushcheva¹, O. N. Shekarova¹,
M. V. Ushakova¹, V. N. Mansikh³, O. V. Sokolova⁴, N. Yu. Vasilieva¹

¹ A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Leninsky prosp., 33, Moscow 119071, Russia

² M. V. Lomonosov Moscow State University, Biological Department, Moscow 119991, Russia; E-mail: krogovin@yandex.ru

³ M. V. Lomonosov Moscow State University, A. N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow 119991, Russia

⁴ National Hematology Research Center, Novozykovsky proezd, 4, Moscow 125167, Russia

Received April 9, 2014

We studied demographic effects of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on free breeding Campbell dwarf hamsters (*Phodopus campbelli*, Thomas, 1905, Rodentia, Cricetidae) in an outdoor vivarium with seasonally varying day length and temperatures. The animals were kept in pairs from their young age. We removed litters from parental cages at the age of 25 days. Experimental hamsters received 50 nmol/kg SkQ1 with water by oral dosing each day during their entire life, whereas control animals received the corresponding amount of water. SkQ1 did not affect lifespan of males or females in reproductive pairs. Mortality among females was higher than among males irrespective to SkQ1 treatment, being related to higher costs of reproduction in females. At the same time, SkQ1 accelerated breeding in pairs at the earlier part of the reproductive period of a year. Although there were no statistical differences in body mass of males and females between experimental and control animals during most of their lives, the males receiving SkQ1 had higher body mass at the end of their lives. The opposite tendency was pronounced among old females. One year old males and females of the experimental and control groups did not differ in intensity of immune response to sheep erythrocytes. The skin hypersensitivity response to phytohemagglutinin (test for T-cell immunity) was significantly higher in one-year-old and 1.5-year-old experimental males treated with SkQ1. This was not true for females. There was a tendency to higher density of neutrophils in blood in one-year-old SkQ1-treated males. The experimental males did not differ from the control males in activity of the «peroxidase—endogenous hydrogen peroxide system» of neutrophils. The basal level of stress indicated by the concentration of cortisol in blood serum was lower in males receiving SkQ1 treatment at the time of seasonal adaptation for autumn frosts. Some increase in blood cortisol in SkQ1-treated males was also registered in the period of January frosts, being associated with higher cortisol both in experimental and control males. We tend to interpret the absence of geroprotective effect of SkQ1 of free-breeding dwarf hamsters by its ability to intensify breeding. Earlier we demonstrated the ability of SkQ1 to extend lifespan in non-breeding females.

Key words: mitochondria-targeted antioxidant SkQ1, Campbell dwarf hamster, sheep erythrocytes, skin hypersensitivity response to phytohemagglutinin (DTH response to phytohemagglutinin), T-cell immunity, «peroxidase—endogenous hydrogen peroxide system» of neutrophils