

УДК 599.323.42:591.111.1:591.147.5:591.542

## ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СВЕТОВОГО ДНЯ И МЕЛАТОНИНА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ЛЕЙКОЦИТОВ У СИРИЙСКИХ ХОМЯКОВ (*MESOCRICETUS AURATUS*)

В. О. Михеева (Фокина)\*, А. Г. Кижина, Е. П. Антонова,  
Э. Ф. Печорина, В. А. Илюха

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия, Россия, 185910), \*vlada.fokina.4545@list.ru

Изучено влияние фотопериодических условий Северо-Западного федерального округа России (Республика Карелия, г. Петрозаводск) и гормона эпифиза мелатонина (100 мкг/животное) на состав лейкоцитарной формулы и морфометрические параметры лимфоцитов периферической крови у самок и самцов сирийского хомяка (*Mesocricetus auratus*). Животные были разделены на две группы: контроль (LD: 12 ч свет / 12 ч темнота) и опыт (NL: снижение продолжительности световой фазы дня от 19:36/4:24 до 12/12, характерное для Республики Карелия в период с 25.06 по 25.09). Каждая группа была поделена на две подгруппы: хомяки 1-й подгруппы получали питьевую воду без мелатонина (LD, NL), 2-й – на ночь мелатонин (100 мкг/животное) (LDmel, NLmel). В результате проведенного эксперимента показано, что естественный для Северо-Запада фотопериод лишь незначительно изменял большинство параметров лейкоцитарной формулы самок и самцов. Влияние продолжительности светового дня на общее содержание лейкоцитов у самок не выявлено, но обнаружено снижение количества палочкоядерных нейтрофилов при сокращении фотопериода. Как у самок, так и у самцов в NLmel выявлено увеличение соотношения нейтрофилов к лимфоцитам по сравнению LD и NL. Морфометрический анализ лимфоцитов показал, что уменьшение продолжительности светового дня и мелатонин оказывают влияние на площадь лимфоцитов и ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦО): у самок и самцов в группах NL и LDmel площадь клетки уменьшалась к концу эксперимента, при этом ЯЦО сокращалось только у самок NL и NLmel со снижением продолжительности светового дня. Отмечаемые изменения изученных показателей могут быть опосредованы влиянием эндокринных желез, в частности тимуса, надпочечников и гонад, которые участвуют в регуляции лейкопоэза и клеточного метаболизма.

Ключевые слова: режимы освещения; фотопериод; лейкоциты; мелатонин; *Mesocricetus auratus*

Для цитирования: Михеева (Фокина) В. О., Кижина А. Г., Антонова Е. П., Печорина Э. Ф., Илюха В. А. Влияние продолжительности светового дня и мелатонина на морфофункциональную организацию лейкоцитов у сирийских хомяков (*Mesocricetus auratus*) // Труды Карельского научного центра РАН. 2022. № 7. С. 38–48. doi: 10.17076/eb1496

Финансирование. Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0218-2019-0073).

**V. O. Mikheeva (Fokina)\*, A. G. Kizhina, E. P. Antonova, E. F. Pechorina, V. A. Ilyukha. THE EFFECT OF LIGHT DURATION AND MELATONIN ON THE MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF LEUKOCYTES IN SYRIAN HAMSTERS (*MESOCRICETUS AURATUS*)**

*Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia), \*vlada.fokina.4545@list.ru*

We studied the effect of photoperiodic conditions in Northwestern Russia (Republic of Karelia, Petrozavodsk) and the pineal gland hormone melatonin (100 µg / animal) on the leukocyte formula and morphometric parameters of peripheral blood lymphocytes in female and male of Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). The animals were divided into 2 groups: control (LD: 12 h light / 12 h dark) and experiment (NL: decrease in daily light duration from 19:36/4:24 to 12/12, happening in the Republic of Karelia in the period from June 25<sup>th</sup> to September 25<sup>th</sup>). Each group was divided into 2 subgroups: hamsters of the 1<sup>st</sup> subgroup received drinking water without melatonin (LD, NL), the 2<sup>nd</sup> subgroup received melatonin for the night (100 µg/animal) (LDmel, NLmel). The experiment showed that the northwestern photoperiod changed most of the parameters of the leukocyte formula in females and males only slightly. No effect of daylight duration on the total leukocyte count in females was revealed, but the number of stab neutrophils was found to decline with a reduction in the photoperiod. Both females and males in NLmel showed an increase in the ratio of neutrophils to lymphocytes compared to LD and NL. The morphometric analysis of lymphocytes showed that a decrease in daylight duration and melatonin affect the area of lymphocytes and the nuclear-cytoplasmic ratio (NCR): the cell area in females and males in the NL and LDmel groups decreased by the end of the experiment, while the NCR decreased only in NL and NLmel females with a decrease in the duration of daylight. These changes in the studied parameters can be mediated by the function of endocrine glands, in particular the thymus, adrenal glands and gonads, which are involved in the regulation of leukopoiesis and cellular metabolism.

**Keywords:** light conditions; photoperiod; leukocytes; melatonin; *Mesocricetus auratus*

**For citation:** Mikheeva (Fokina) V. O., Kizhina A. G., Antonova E. P., Pechorina E. F., Ilyukha V. A. The effect of light duration and melatonin on the morphofunctional characteristics of leukocytes in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Trudy Karelskogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2022. No. 7. P. 38–48. doi: 10.17076/eb1496

**Funding.** The studies were funded from the federal budget through state assignment to the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences (0218-2019-0073).

Одним из важнейших регуляторов многих физиологических процессов и функций организма млекопитающих является свет. В северных регионах животные находятся в экстремальных фотопериодических условиях из-за продолжительного воздействия света в летний сезон (период белых ночей, полярный день) и постоянной темноты в зимний период (полярная ночь), в то время как оптимальный цикл освещения «12 ч свет / 12 ч темнота» (LD) отмечается только в течение нескольких дней в период весеннего и осеннего равноденствия. Присутствие света в темновую фазу суток оказывает негативное влияние на физиологические про-

цессы у млекопитающих и приводит к нарушениям многих функций организма, в частности к более быстрому развитию болезней, связанных со старением [Nelson, 2004; Анисимов и др., 2014]. Известно, что организм реагирует на изменение светового режима посредством пинеальной (шишковидной) железы, основным гормоном которой является мелатонин, обладающий антиоксидантным, иммуномодулирующим и противоопухолевыми свойствами [Reiter, 1987; Vinogradova, Anisimov, 2013; Camp et al., 2021]. В последние годы большое внимание уделяется иммуномодулирующим свойствам мелатонина [Stevenson, Prendergast, 2015; Xu et al., 2018].

Эволюционно грызуны *Mesocricetus auratus* Waterhouse, 1839 и *Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769 формировались в световых условиях, существенно отличающихся от таковых на севере, этот факт делает возможным оценить воздействие «экстремального» фотопериода на физиологическое состояние организма в модельных экспериментах. Также сирийские хомяки проявляют сезонные адаптивные изменения, связанные с репродуктивной функцией, поэтому можно предположить, что действие экзогенного гормона мелатонина, синхронизирующего сезонные и суточные ритмы, на метаболизм сирийских хомяков будет зависеть от светового режима.

Сезонные колебания продолжительности световой фазы дня вызывают сильные изменения различных показателей иммунной функции млекопитающих. Иммунная система по-разному реагирует на длинные и короткие световые периоды, при этом изменяя норму реакции и включая адаптивные ответы [Stevenson, Prendergast, 2015]. По проблеме адаптации иммунной системы лабораторных животных к различным световым режимам накоплен большой теоретический и экспериментальный материал. Исследования в этой области весьма разнообразны, при этом в большинстве случаев изучается влияние искусственно созданных в лабораторных условиях фотопериодов – постоянного освещения LL (24 ч свет, Light), постоянной темноты DD (24 ч темнота, Dark) или резкой смены фотопериодов, в то время как сведения об адаптациях млекопитающих в естественном световом режиме районов Севера крайне мало численны и фрагментарны. По состоянию лейкоцитов можно судить об иммунореактивности организма, кроме того, их содержание и состав являются теми динамическими показателями, которые зависят от многих факторов окружающей среды и от фотопериода. Для изучения формирования устойчивости и адаптации животных могут быть использованы показатели периферической крови, отличающиеся высокой чувствительностью к факторам среды.

Целью данного исследования являлось сравнительное изучение влияния фотопериодических условий Северо-Запада России (NL: постепенное снижение продолжительности световой фазы дня с «19:36 ч свет / 4:24 ч темнота» до «12 ч свет / 12 ч темнота», характерное для г. Петрозаводска (Республика Карелия), в период с 25.06.18 по 25.09.18) и гормона эпифиза мелатонина (100 мкг/животное) на состав лейкоцитарной формулы и морфометрические параметры лимфоцитов периферической крови у сирийского хомяка.

## Материалы и методы

В опыте использовались половозрелые самки и самцы сирийского хомяка конвенционального разведения, полученные в возрасте 3 месяцев из питомника лабораторных животных ООО «КролИнфо» (РФ, Московская область). Животные в питомнике содержались при регулярно чередующемся освещении (LD, 12/12) в соответствии с установленными нормативами разведения, выращивания, содержания и кормления лабораторных животных (имеется акт ветеринарно-санитарного обследования, проведенного Государственной ветеринарной службой, подтверждающий соответствие условий содержания животных для поставки в учреждения Министерства здравоохранения РФ, и Российской академией медицинских наук). После транспортировки в Петрозаводск сирийские хомяки были доставлены в виварий Петрозаводского государственного университета. Все животные содержались в течение 3,5 месяцев (до достижения фазы окончания прогрессивного роста массы тела) при стандартном освещении (LD, 12/12) в помещениях вивария площадью 25 м<sup>2</sup> в индивидуальных клетках размером 42×26×18,5 см при температуре 23 ± 1 °С и влажности в диапазоне от 45 до 55 %, в качестве подстилочного материала использовали древесную стружку. Хомяки получали стандартный готовый лабораторный корм (РФ, ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», ГОСТ Р50258-92) и фильтрованную водопроводную воду без ограничений.

После достижения необходимого возраста (6,5 месяца) и самки (n=40), и самцы (n=16) были рандомизированно разделены на две группы: контроль (LD, 12/12) и опыт (NL, снижение продолжительности световой фазы дня от 19:30/4:30 до 12/12, характерное для Республики Карелия в период с 25.06 по 25.09). После адаптации животных (14 дней) к указанным световым условиям каждую группу разделили на две подгруппы: хомяки одной были контрольными и получали плацебо (вода без мелатонина), а животные другой подгруппы получали 5 раз в неделю с питьевой водой в ночное время мелатонин (100 мкг на животное) (LDmel, NLmel). Экспериментальное моделирование фотопериода Севера включало ежедневное изменение световых условий (уменьшение светового дня). Исследование проводили с 25.06.18 (NL, 19:36 ч / 4:24 ч) по 25.09.18 (NL, 12 ч / 12 ч, день осеннего равноденствия). К концу эксперимента фотопериод NL соответствовал LD (по продолжительности и по времени начала светлой фазы суток).

Препарат мелатонин (Sigma-Aldrich, США), растворенный в этаноле, добавляли в питьевую воду в концентрации 10 мг/л, конечная концентрация этанола составляла < 0,01% для всех экспериментальных групп. Свежие растворы готовились два раза в неделю: в вечернее время в клетки устанавливались покрытые алюминиевой фольгой поилки (по 10 мл раствора на животное). В среднем хомяки выпивали около 10–15 мл воды в день, при этом 95% от этого общего суточного количества потреблялось в ночное время, таким образом, используемая дозировка была приблизительно 100 мкг мелатонина в день на животное.

Самок декапитировали после адаптации к световым режимам (подгруппы: LD (12/12) и NL (19:36/4:24)), через один (LD, LDmel, NL (18/6) и NLmel) и три (LD, LDmel, NL (12/12) и NLmel) месяца эксперимента и отбирали образцы крови (по 4 самки в каждой подгруппе). Самцов (n=16) декапитировали только в конце эксперимента (4 подгруппы (LD, LDmel, NL (12/12) и NLmel) по 4 самца в каждой). Мазки крови готовились непосредственно после взятия. Окрашенные по Паппенгейму [Кост, 1975] мазки исследовались при помощи светового микроскопа Axiscop 40 (Carl Zeiss, Германия) и программы анализа изображения «ВидеоТест 4.0» по стандартной методике [Мейер, Харви, 2007]. Производилось определение относительного содержания всех типов лейкоцитов, а также измерение морфометрических параметров лимфоцитов. Определяли площадь клетки, ядра и ядерно-цитоплазматическое отношение.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук». Содержание, питание животных, уход за ними и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», а также основываясь на положениях Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Полученные данные обрабатывали общепринятыми статистическими методами, используя пакеты программ MS Excel и Statgraphics 5.0. Для оценки влияния факторов «пол», «световой режим» и «препарат мелатонин» на изученные показатели применяли многофакторный анализ (MANOVA). Сравнение проводили с применением U-критерия Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В настоящее время установлено, что сезонные изменения фотопериода оказывают влияние на синтез мелатонина и активность иммунокомпетентных клеток млекопитающих [Xu et al., 2018]. При этом в большинстве работ продемонстрировано, что короткий фотопериод оказывает стимулирующее действие на иммунную функцию [Nelson, 2004; Wen et al., 2007; Walton et al., 2011]. У сирийских хомяков показано увеличение массы лимфоидных органов и усиление цитолитической активности клеток-киллеров при короткой продолжительности светового дня [Brainard et al., 1987; Yellon et al., 1999].

В ходе проведенного нами исследования под влиянием фотопериодических условий Северо-Запада России (летне-осенний период, NL) не было выявлено изменений общего содержания лейкоцитов, но при этом наблюдались перестройки в их составе и морфометрических параметрах. Прежде всего это касается уровня палочкоядерных нейтрофилов, количество которых достоверно снижалось при сокращении освещенности с 19:36 до 18 ч ( $p < 0,05$ ) и в дальнейшем оставалось постоянным. Аналогичное возрастное снижение уровня палочкоядерных нейтрофилов отмечено в группе LD (12 ч свет / 12 ч темнота) через месяц после начала эксперимента (рис. 1). Содержание других типов лейкоцитов крови не изменялось в группе NL по мере снижения уровня освещенности.

Несмотря на существующее мнение об усилении иммунологической защиты при уменьшении продолжительности дня [Walton et al., 2011], в работе на барабинском хомяке (*Cricetulus barabensis* Pallas, 1773) было продемонстрировано снижение общего содержания лейкоцитов и гуморального иммунитета при коротком (зимнем) фотопериоде [Xu, Hu, 2020]. Эти результаты указывают на видоспецифическую реакцию иммунной системы на изменение фотопериодических условий. В нашем исследовании мы не выявили активации иммунных свойств в связи с переходом на зимнее время у сирийского хомяка. По всей видимости, в естественных условиях на перестройку лейкопоза оказывают влияние и другие внешние факторы: температура и доступность пищевых ресурсов [Kuznetsova et al., 2016].

Для оценки влияния силы факторов среды помимо определения состава лейкоцитарной формулы очень информативным является показатель соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (Нф/Лф) [Tabuchi et al., 2011]. Зависимость Нф/Лф от возраста, выраженности

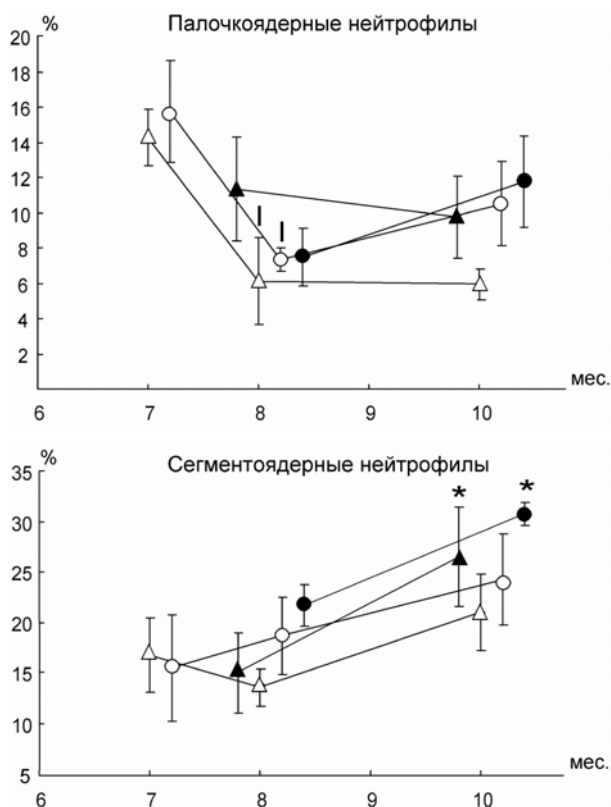


Рис. 1. Влияние различных режимов освещения на относительное содержание различных типов лейкоцитов в периферической крови сирийских хомяков.

Здесь и на рис. 2–4: LD – стандартное регулярно чередующееся освещение «12 ч свет / 12 ч темнота», NL – смоделированные фотопериодические условия Северо-Запада России, LDmel и NLmel – группы животных, которые получали мелатонин в ночное время; \* – различия достоверны по сравнению с LD-животными того же возраста ( $p < 0,05$ ). I – различия достоверны по сравнению с показателями 7-месячных животных в аналогичной экспериментальной группе ( $p < 0,05$ )

Fig. 1. Influence of different photoperiodic conditions on the relative content of different types of leukocytes in the peripheral blood of Syrian hamsters.

Here and in Fig. 2–4: LD – standard regularly alternating illumination “12 h light / 12 h dark”, NL – simulated photoperiodic conditions of the Northwest of Russia, LDmel and NLmel – groups of animals that received melatonin at night; \* – differences are significant in comparison with LD animals of the same age ( $p < 0.05$ ). I – the differences are significant in comparison with the indicators of 7-month-old animals in a similar experimental group ( $p < 0.05$ )

стресс-реакции, а также нарушения циркадной периодичности показана в многочисленных исследованиях [Казначеев и др., 1978; Бородин и др., 1987; Узенбаева и др., 2012]. Данные, полученные на разных видах млекопитающих и в клинических исследованиях на человеке [Greeley et al., 1996; Heaton et al., 2002; Prendergast et al., 2003; Абрашова и др., 2010], демонстрируют, что возрастное увеличение Нф/Лф совпадает

с ослаблением синтезирующей и функциональной способностей тимуса [Greeley et al., 1996]. Однако фотопериод может корректировать эти возрастные особенности у лабораторных крыс [Узенбаева и др., 2012]. У хомяков значимое увеличение соотношения Нф/Лф отмечено в группе NLmel (при сокращении световой фазы дня с добавлением экзогенного мелатонина) (рис. 2), что может служить косвенным доказательством зависимости пролиферативной активности тимуса от уровня освещенности.

В результате проведенного эксперимента показано, что естественный для Северо-Запада России фотопериод лишь незначительно изменял большинство параметров лейкоцитарной формулы. Ранее в длительном эксперименте на крысах (содержавшихся в специфических световых условиях с месячного возраста) также было установлено отсутствие различий в количестве лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов между NL- и LD-режимами, а наиболее выраженные изменения состава лейкоцитов по сравнению с этими двумя режимами обнаружены при содержании животных в условиях постоянной темноты или освещенности [Узенбаева и др., 2008]. Чувствительность иммунных реакций к смене условий среды, в том числе к фотопериоду, зависит от возраста [Cardinali et al., 2008]. Поддержание количества различных типов лейкоцитов у 7-месячных хомяков на физиологическом уровне в условиях неодинаковой освещенности обеспечивается, по всей видимости, устойчивостью их иммунной системы к световому воздействию.

Механизм иммуностимулирующего действия короткого фотопериода связывают с повышенной секрецией мелатонина, который усиливает иммунные реакции [Carrillo-Vico et al., 2005; Stevenson, Prendergast, 2015]. В нашем эксперименте применение мелатонина достоверно увеличивало содержание нейтрофилов крови у хомяков при самом коротком фотопериоде NLmel по сравнению с животными, не получавшими гормон (NL) (рис. 2). Наши результаты согласуются с ранее полученными данными о зависимости эффектов мелатонина на гемопоэтическую и иммунную функции от светового режима [Wen et al., 2007]. Так, уровень лимфоцитов снижался у хомяков, потреблявших мелатонин и находившихся в условиях сокращения световой фазы суток с 19:36 ч свет / 4:24 ч темнота до 18 ч свет / 6 ч темнота и не изменялся в группе LDmel (рис. 1). В то время как количество нейтрофилов, напротив, возрастало при снижении уровня освещенности и достигало максимальных значений к окончанию эксперимента. Противоположный

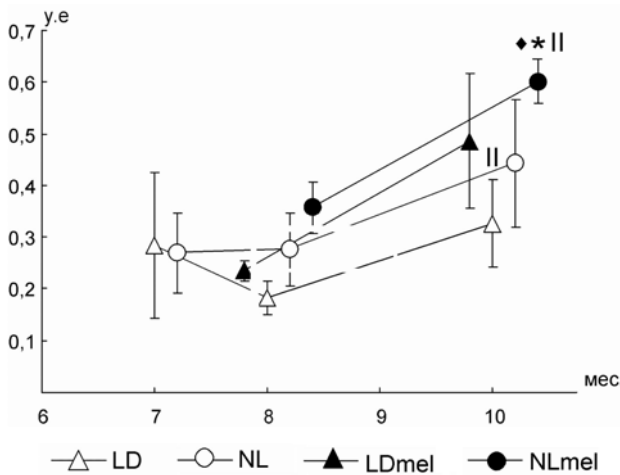


Рис. 2. Влияние различных режимов освещения на соотношение нейтрофилов и лимфоцитов (Нф/Лф) в периферической крови сирийских хомяков.

Здесь и на рис. 3, 4: II – различия достоверны по сравнению с показателями 8-месячных животных в аналогичной экспериментальной группе ( $p < 0,05$ ). ♦ – различия достоверны по сравнению с NL-животными ( $p < 0,05$ )

Fig. 2. Influence of different lighting modes on the ratio of neutrophils to lymphocytes (Nf / Lf) in the peripheral blood of Syrian hamsters.

Here and in Fig. 3, 4: II – the differences are significant in comparison with the indicators of 8-month-old animals in a similar experimental group ( $p < 0.05$ ). ♦ – differences are significant in comparison with NL-animals ( $p < 0.05$ )

эффект – снижение уровня содержания нейтрофилов у хомяков под влиянием мелатонина – установлен при регулярно чередующемся освещении (LDmel). Подобный результат применения мелатонина обнаружен и у 12-месячных крыс, для которых характерен достаточно высокий уровень лимфоцитов. Препарат приводил к достоверному снижению их количества [Узенбаева и др., 2012].

Следует отметить, что в ходе эксперимента половые различия исследуемых показателей найдены только для палочкоядерных нейтрофилов (рис. 1). Их значения были достоверно ниже у самцов по сравнению с самками в трех исследуемых группах – LD, LDmel и NL. Ранее у этих же животных [Antonova et al., 2020] было показано, что самцы сирийского хомяка более чувствительны к влиянию фотопериодических условий Северо-Запада России по сравнению с самками. В NL-условиях у них наблюдалось увеличение массы, повышение уровня общего холестерина и мочевины, а также уменьшение активности ферментов (ЛДГ, амилазы и АсАт) в сыворотке крови по сравнению с контрольными животными.

Лимфоциты, как объект исследований, привлекают внимание тем, что помимо контроля антигенного гомеостаза они аккумулируют, хранят и переносят информацию о реализации адаптивных и дезадаптивных процессов в иммунной системе. Известно, что лимфоидная система развивается и функционирует, претерпевая различные формообразовательные процессы – пролиферацию, миграцию и метаболизм – с определенными фазовыми взаимоотношениями на каждом этапе жизненного цикла. Морфофункциональные свойства лимфоцитов довольно лабильны и могут модифицироваться в зависимости от функционального состояния клетки, фазы ее клеточного цикла, возраста, степени дифференцировки и т. д. [Ватазин и др., 2009].

Все больше исследователей применяют морфометрические параметры лимфоцитов для оценки функциональной активности клеток, например, уровня пролиферации и дифференцировки [Давыдкин и др., 2010]. Активация метаболизма в клетке увеличивает размеры ее площади и ядра, которое становится более рыхлым [Новодержкина и др., 1996]. По результатам многофакторного анализа (MANOVA) установлено, что такие факторы, как пол, режим освещения и препарат мелатонин, влияют на площадь лимфоцита и на ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦО) (табл.). Так, в начале и через месяц эксперимента, когда разница в продолжительности светового дня была максимальна между группами, NL-самки имели лимфоциты большей площади по сравнению LD-самками. В конце опыта у самок не выявлено влияния светового режима на этот показатель, однако у самцов в NL-режиме размер лимфоцитов был значительно ниже, чем в контрольной группе (рис. 3). Достоверного изменения размеров лимфоцитов у самок в группе NL по мере снижения продолжительности световой фазы суток не найдено (рис. 3). По всей видимости, размерные характеристики клеток зависят не только от уровня освещенности, но и от длительности воздействия меняющихся световых условий.

Уменьшение ЯЦО рассматривают как признак активации лимфоцитов [Ватазин и др., 2009; Давыдкин и др., 2010]. Данный показатель снижался в ходе эксперимента и достигал минимальных значений в группе NL (12/12). Применение мелатонина вызывало схожий эффект, приводя к снижению ЯЦО, таким образом, наименьшие значения данного параметра выявлены у самок и самцов в NLmel (рис. 4). Необходимо отметить, что влияние мелатонина на размеры лимфоцитов зависело не только

Результаты многофакторного анализа (MANOVA) влияния светового режима и мелатонина на морфометрические параметры периферической крови самок и самцов сирийских хомяков

Results of multivariate analysis (MANOVA) of the effect of light and melatonin on the morphometric parameters of the peripheral blood parameters of female and male Syrian hamsters

Возраст (мес.), пол Age (months), sex	Фактор Factor	Площадь клетки Cell area			ЯЦО NCR		
		F	P	$\eta^2$	F	P	$\eta^2$
7, самки 7, females	A	4,96	0,02	1	56,14	0,000	10,4
8, самки 8, females	A	–	–	–	4,71	0,03	0,49
	Б	–	–	–	–	–	–
	АБ	5,27	0,02	0,54	–	–	–
10, самки 10, females	A	14,09	0,0002	2	48,64	0,000	7,25
	Б	14,78	0,0001	2,17	–	–	–
	АБ	23,93	0	3,52	–	–	–
10, самцы 10, males	A	–	–	–	–	–	–
	Б	–	–	–	–	–	–
	АБ	14,21	0,0002	2,53	–	–	–

Примечание. А – фактор «световой режим Северо-Запада России», Б – фактор «препарат мелатонин», АБ – совместное влияние факторов «световой режим Северо-Запада России» и «препарат мелатонин», F – критерий Фишера, P – уровень значимости,  $\eta^2$  – степень влияния фактора, «–» – влияние не выявлено.

Note. A – factor “light regime of the Northwest of Russia”, B – factor “melatonin preparation”, AB – combined influence of factors “light regime of the Northwest of Russia” and “melatonin preparation”, F – Fisher’s criterion, P – level significance,  $\eta^2$  – the degree of influence of the factor, «–» – no influence was revealed.

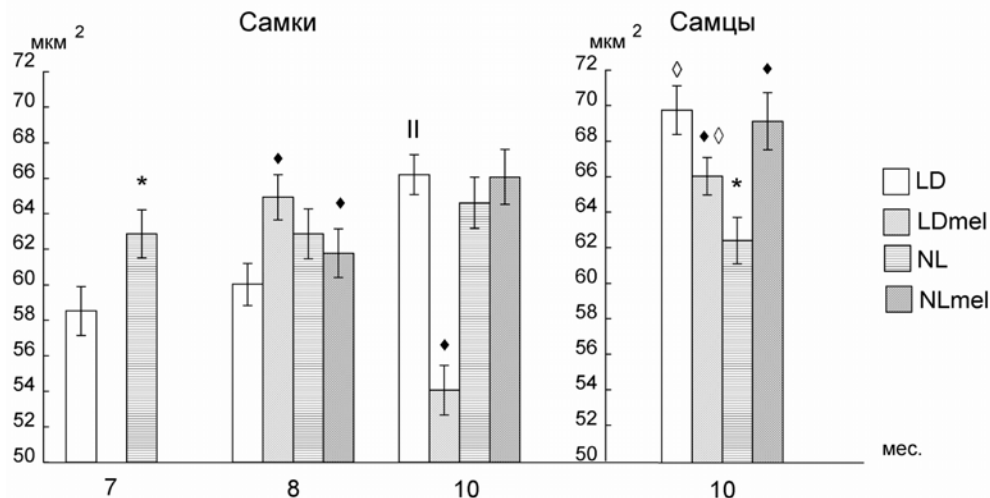


Рис. 3. Влияние различных режимов освещения на площадь лимфоцитов периферической крови самок и самцов сирийских хомяков.

Здесь и на рис. 4:  $\diamond$  – различия достоверны между самцами и самками одного возраста из того же светового режима ( $p < 0,05$ )

Fig. 3. Influence of different photoperiodic conditions on the area of peripheral blood lymphocytes in female and male Syrian hamsters.

Here and in Fig. 4:  $\diamond$  – differences between males and females of the same age from the same light regime are significant ( $p < 0.05$ )

от светового режима, но и от продолжительности приема препарата. Обнаружено, что у LD-самок экзогенный мелатонин увеличивал размеры лимфоцитов через месяц эксперимента, однако к концу опыта данный показатель был минимальным среди всех экспериментальных групп (рис. 3). В NLmel-режиме гормон действовал в другом направлении, увеличивая площадь клетки у самок и самцов в конце опыта. Усиление пролиферативных свойств лимфоцитов под влиянием мелатонина также подтверждается снижением ЯЦО в группах NL и NLmel (рис. 4), что, скорее всего, связано

с сокращением продолжительности светового дня, когда синтез мелатонина усиливается. Это согласуется с ранее опубликованными данными Zhou et al. [2002] на сирийском хомяке и сибирском хомяке (*Phodopus sungorus* Pallas, 1773): содержание их в условиях короткого дня приводило к значительному увеличению количества лимфатических узлов и росту клеточной пролиферации в ответ на стимуляцию конкавалином А (препарат, используемый при изучении иммунной регуляции различных иммунных клеток) по сравнению с животными, содержащимися в условиях длинного светового дня.

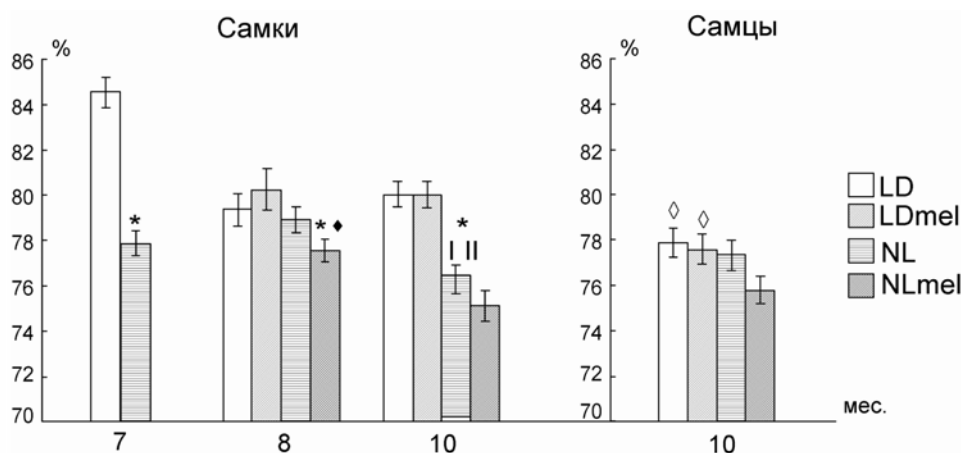


Рис. 4. Влияние различных режимов освещения на ядерно-цитоплазматическое соотношение лимфоцитов периферической крови самок и самцов сирийских хомяков  
Fig. 4. Influence of different lighting modes on the nuclear-cytoplasmic ratio of peripheral blood lymphocytes in female and male Syrian hamsters

Таким образом, изучаемые фотопериодические условия и введение экзогенного мелатонина повлияли на содержание некоторых типов лейкоцитов, однако в целом показатели сохранялись на физиологическом уровне. Морфометрический анализ указывает, что снижение продолжительности светового дня, а также введение мелатонина в ряде случаев обладают сходным эффектом и активируют лимфопоэз. Отмечаемые изменения в составе крови могут быть опосредованы влиянием эндокринных желез, в частности тимуса, надпочечников и гонад, которые участвуют в регуляции лейкопоэза и клеточного метаболизма.

## Литература

Абрашова Т. В., Соколова А. П., Селезнева А. И., Хуттунен О. Э., Макарова М. Н., Макаров В. Г. Вариабельность биохимических и гематологических показателей у лабораторных крыс в зависимости от ли-

нии и возраста (сообщение I) // Международный вестник ветеринарии. 2010. № 2. С. 55–60.

Анисимов В. Н., Виноградова И. А., Букалев А. В., Попович И. Г., Забежинский М. А., Панченко А. В., Тындык М. Л., Юрова М. Н. Световой десинхронизм и риск злокачественных новообразований у лабораторных животных: состояние проблемы // Вопр. онкологии. 2014. Т. 60, № 2. С. 15–27.

Бородин Ю. И., Григорьев В. Н., Летягин А. Ю. и др. Функциональная морфология иммунной системы. Новосибирск: Наука, 1987. 236 с.

Ватазин А. В., Василенко И. А., Валов А. Л., Метелин В. Б., Круглов Е. Е., Цалман А. Я. Витальная компьютерная морфометрия лимфоцитов в диагностике острого отторжения почечного аллотрансплантата // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2009. Т. 11, № 4. С. 18–25. doi: 10.15825/1995-1191-2009-4-18-25

Давыдкин И. Л., Федорова О. И., Захарова Н. О., Селезнев А. В. Компьютерная морфометрия лимфоцитов периферической крови у больных пневмонией различного возраста // Известия Самарского научного центра РАН. 2010. № 1–7. С. 1737–1741.



Казначеев В. П., Труфакин В. А., Козлов В. А., Шурлыгина А. В., Борукаева Л. А. Суточные колебания клеточного состава периферической крови у мышей разных генотипов // Физиол. журн. СССР. 1978. Т. 64, № 11. С. 1575–1580.

Кост Е. А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. М.: Медицина, 1975.

Мейер Д., Харви Д. Ветеринарная лабораторная медицина: интерпретация и диагностика / Под ред. Ю. М. Кеда; пер. с англ. Л. А. Певницкого. М.: Софин-он, 2007. 458 с.

Новодержкина Ю. К., Караштин В. В., Морук-ов Б. В. и др. Морфометрические показатели лимфоцитов периферической крови в условиях 120-суточной антиортостатической гипокинезии // Клиническая лабораторная диагностика. 1996. № 1. С. 40–41.

Узенбаева Л. Б., Виноградова И. А., Голубева А. Г., Нюппиева М. Г., Илюха В. А. Влияние мелатонина и эпиталона на состав лейкоцитарной формулы и активность щелочной фосфатазы лейкоцитов крови крыс при разных режимах освещения в онтогенезе // Успехи геронтологии. 2008. Т. 21, № 3. С. 394–401.

Узенбаева Л. Б., Виноградова И. А., Кижина А. Г., Прокопенко О. А., Малкиель А. И., Горанский А. И., Лапински С., Илюха В. А. Влияние мелатонина на соотношение нейтрофилов и лимфоцитов в крови млекопитающих зависит от возраста животных // Успехи геронтологии. 2012. Т. 25, № 3. С. 409–414.

Antonova E. P., Ilyukha V. A., Kalinina S. N. Effect of Northwest Russia's photoperiodic conditions and exogenous melatonin on physiological and biochemical parameters in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*) // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2020. Vol. 75, no. 3. P. 117–124. doi: 10.3103/S0096392520030013.

Brainard G. C., Knobler R. L., Podolin P. L., Lavasa M., Lublin F. D. Neuroimmunology: modulation of the hamster immune system by photoperiod // Life Sci. 1987. Vol. 40, no. 13. P. 1319–1326. doi: 10.1016/0024-3205(87)90589-3

Camp O. G., Bai D., Gonullu D. C., Nayak N., Abu-Soud H. M. Melatonin interferes with COVID-19 at several distinct ROS-related steps // J. Inorg. Biochem. 2021. Vol. 223. P. 111546. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2021.111546

Cardinali D. P., Esquifino A. I., Srinivasan V., Pandi-Perumal S. R. Melatonin and the immune system in aging // Neuroimmunomodulation. 2008. Vol. 15, no. 4–6. P. 272–278. doi: 10.1159/000156470

Carrillo-Vico A., Guerrero J. M., Lardone P. J., Reiter R. J. A review of the multiple actions of melatonin on the immune system // Endocrine. 2005. Vol. 27, no. 2. P. 189–200. doi: 10.1385/ENDO:27:2:189

Greeley E. H., Kealy R. D., Ballam J. M., Lawler D. F., Serge M. The influence of age on the canine immune system // Vet. Immunol. Immunopathol. 1996. Vol. 55. P. 1–10. doi: 10.1016/s0165-2427(96) 05563-8

Heaton P. R., Blount D. G., Mann S. J., Devlin P., Koelsch S., Smith B. H. E., Stevenson J., Harper E. J., Rawlings J. M. Assessing age-related changes in peripheral blood leukocyte phenotypes in domestic

shorthaired cats using flow cytometry // J. Nutr. 2002. Vol. 132. P. 1607S–1609S. doi: 10.1093/jn/132.6.1607S

Kuznetsova E. V., Feoktistova N. Y., Naidenko S. V., Surov A. V., Tikhonova N. B. Seasonal changes in blood cells and biochemical parameters in the mongolian hamster (*Allocrietulus curtatus*) // Biol. Bull. 2016. Vol. 43, no. 4. P. 344–349.

Nelson R. J. Seasonal immune function and sickness responses // Trends Immunol. 2004. Vol. 25. P. 187–192. doi: 10.1016/j.it.2004.02.001

Prendergast B. J., Hotchkiss A. K., Nelson R. J. Photoperiodic regulation of circulating leukocytes in juvenile Siberian hamsters: mediation by melatonin and testosterone // J. Biol. Rhythms. 2003. Vol. 18. P. 473–480. doi: 10.1177/0748730403258486

Reiter R. J. The melatonin message: Duration versus coincidence hypotheses // Life Sci. 1987. Vol. 40, no. 22. P. 2119–2131. doi: 10.1016/0024-3205(87)90001-4

Stevenson T. J., Prendergast B. J. Photoperiodic time measurement and seasonal immunological plasticity // Front. Neuroendocrinol. 2015. Vol. 37. P. 76–88. doi: 10.1016/j.yfrne.2014.10.002

Tabuchi T., Shimazaki J., Satani T., Nakachi T., Watanabe Y., Tabuchi T. The perioperative granulocyte/lymphocyte ratio is a clinically relevant marker of surgical stress in patients with colorectal cancer // Cytokine. 2011. Vol. 53. P. 243–248. doi: 10.1016/j.cyto.2010.10.004

Vinogradova I., Anisimov V. Melatonin prevents the development of the metabolic syndrome in male rats exposed to different light/dark regimens // Biogerontology. 2013. No. 14. P. 401–409. doi: 10.1007/s10522-013-9437-4

Walton J. C., Weil Z. M., Nelson R. J. Influence of photoperiod on hormones, behavior, and immune function // Front. Neuroendocrinol. 2011. Vol. 32, no. 3. P. 303–319. doi: 10.1016/j.yfrne.2010.12.003

Wen J. C., Dhabhar F. S., Prendergast B. J. Pineal-dependent and -independent effects of photoperiod on immune function in Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*) // Horm. Behav. 2007. Vol. 51, no. 1. P. 31–39. doi: 10.1016/j.yhbeh.2006.08.001

Xu D. L., Hu X. K. Season and sex have different effects on hematology and cytokines in striped hamsters (*Cricetulus barabensis*) // J. Comp. Physiol. B. 2020. Vol. 190, no. 1. P. 87–100. doi: 10.1007/s00360-019-01246-4

Xu X., Liu X., Ma S., Xu Y., Xu Y., Guo X., Li D. Association of melatonin production with seasonal changes, low temperature, and immuno-responses in hamsters // Molecules. 2018. Vol. 23, no. 3. P. 703. doi: 10.3390/molecules23030703

Yellon S. M., Teasley L. A., Fagoaga O. R., Nguyen H. C., Truong H. N., Nehlsen-Cannarella L. Role of photoperiod and the pineal gland in T cell-dependent humoral immune reactivity in the Siberian hamster // J. Pineal Res. 1999. Vol. 27. P. 243–248. doi: 10.1111/j.1600-079x.1999.tb00622.x

Zhou S., Cagampang F. R., Stirland J. A., London A. S., Hopkins S. J. Different photoperiods affect proliferation of lymphocytes but not expression of cellular, humoral, or innate immunity in hamsters // J. Biol. Rhythms. 2002. Vol. 17. P. 392–405. doi: 10.1177/074873002237133

## References

- Abrashova T. V., Sokolova A. P., Selezneva A. I., Khuttunen O. E., Makarova M. N., Makarov V. G. Variability of biochemical and hematological parameters in laboratory rats depending on the line and age (report I). *Mezhdunarod. vestnik veterinarii = Int. Bull. Vet. Medicine*. 2010;2:55–60. (In Russ.)
- Anisimov V. N., Vinogradova I. A., Bukalev A. V., Popovich I. G., Zabezinskiy M. A., Panchenko A. V., Tyndyk M. L., Yurova M. N. Light-induced desynchronization and risk of malignant tumors in laboratory animals: state of the problem. *Vopr. onkologii = Problems in Oncology*. 2014;60(2):15–27. (In Russ.)
- Antonova E. P., Ilyukha V. A., Kalinina S. N. Effect of Northwest Russia's photoperiodic conditions and exogenous melatonin on physiological and biochemical parameters in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2020;75(3):117–124. doi: 10.3103/S0096392520030013.
- Borodin Yu. I., Grigor'ev V. N., Letyagin A. Yu. et al. Functional morphology of the immune system. Novosibirsk: Nauka; 1987. 236 p. (In Russ.)
- Brainard G. C., Knobler R. L., Podolin P. L., Lavasa M., Lublin F. D. Neuroimmunology: modulation of the hamster immune system by photoperiod. *Life Sci.* 1987;40(13):1319–1326. doi: 10.1016/0024-3205(87)90589-3
- Camp O. G., Bai D., Gonullu D. C., Nayak N., Abu-Soud H. M. Melatonin interferes with COVID-19 at several distinct ROS-related steps. *J. Inorg. Biochem.* 2021;223:111546. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2021.111546
- Cardinali D. P., Esquifino A. I., Srinivasan V., Pandi-Perumal S. R. Melatonin and the immune system in aging. *Neuroimmunomodulation*. 2008;15(4-6):272–278. doi: 10.1159/000156470
- Carrillo-Vico A., Guerrero J. M., Lardone P. J., Reiter R. J. A review of the multiple actions of melatonin on the immune system. *Endocrine*. 2005;27(2):189–200. doi: 10.1385/ENDO:27:2:189
- Davydkin I. L., Fedorova O. I., Zakharova N. O., Seleznev A. V. Computer morphometry of peripheral blood lymphocytes in patients of different age with pneumonia. *Izv. Samarskogo nauch. tsentra RAN = Izvestia Samara Sci. Center RAS*. 2010;1–7:1737–1741. (In Russ.)
- Greeley E. H., Kealy R. D., Ballam J. M., Lawler D. F., Serge M. The influence of age on the canine immune system. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1996;55:1–10. doi: 10.1016/s0165-2427(96)05563-8
- Heaton P. R., Blount D. G., Mann S. J., Devlin P., Koelsch S., Smith B. H. E., Stevenson J., Harper E. J., Rawlings J. M. Assessing age-related changes in peripheral blood leukocyte phenotypes in domestic short-haired cats using flow cytometry. *J. Nutr.* 2002;132:1607S–1609S. doi: 10.1093/jn/132.6.1607S
- Kaznacheev V. P., Trufakin V. A., Kozlov V. A., Shurlygina A. V., Borukaeva L. A. The circadian rhythm of cell components in the peripheral blood of mice of different strains. *Fiziol. zhurn. SSSR = Physiol. J. of the USSR*. 1978;64(11):1575–1580. (In Russ.)
- Kost E. A. Clinical laboratory research guide. Moscow: Meditsina; 1975. (In Russ.)
- Kuznetsova E. V., Feoktistova N. Y., Naidenko S. V., Surov A. V., Tikhonova N. B. Seasonal changes in blood cells and biochemical parameters in the mongolian hamster (*Allocricetulus curtatus*). *Biol. Bull.* 2016;43(4):344–349.
- Meier D., Kharvi D. Veterinary laboratory medicine: Interpretation and diagnosis. Moscow: Sofion; 2007. 458 p. (In Russ., transl. from English.)
- Nelson R. J. Seasonal immune function and sickness responses. *Trends Immunol.* 2004;25:187–192. doi: 10.1016/j.it.2004.02.001
- Novoderzhkina Yu. K., Karashtin V. V., Morukov B. V. et al. Morphometric parameters of peripheral blood lymphocytes under conditions of 120-day antiorthostatic hypokinesia. *Klinicheskaya lab. diagnostika = Clinical Lab. Diagnostics*. 1996;1:40–41. (In Russ.)
- Prendergast B. J., Hotchkiss A. K., Nelson R. J. Photoperiodic regulation of circulating leukocytes in juvenile Siberian hamsters: mediation by melatonin and testosterone. *J. Biol. Rhythms*. 2003;18:473–480. doi: 10.1177/0748730403258486
- Reiter R. J. The melatonin message: Duration versus coincidence hypotheses. *Life Sci.* 1987;40(22):2119–2131. doi: 10.1016/0024-3205(87)90001-4
- Stevenson T. J., Prendergast B. J. Photoperiodic time measurement and seasonal immunological plasticity. *Front. Neuroendocrinol.* 2015;37:76–88. doi: 10.1016/j.yfrne.2014.10.002
- Tabuchi T., Shimazaki J., Satani T., Nakachi T., Watanabe Y., Tabuchi T. The perioperative granulocyte/lymphocyte ratio is a clinically relevant marker of surgical stress in patients with colorectal cancer. *Cytokine*. 2011;53:243–248. doi: 10.1016/j.cyto.2010.10.004
- Uzenbaeva L. B., Vinogradova I. A., Golubeva A. G., Nyuppieva M. G., Ilyukha V. A. The influence of melatonin and epithalon on blood leukocyte differential count and leukocyte alkaline phosphatase in rats under different light condition during ontogenesis. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*. 2008;21(3):394–401. (In Russ.)
- Uzenbaeva L. B., Vinogradova I. A., Kizhina A. G., Prokopenko O. A., Malkiel' A. I., Goranskii A. I., Lapinski S., Ilyukha V. A. Influence of melatonin on neutrophil-to-lymphocyte ratio in mammalian blood depending on age of the animal. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*. 2012;25(3):409–414. (In Russ.)
- Vatazin A. V., Vasilenko I. A., Valov A. L., Metelin V. B., Kruglov E. E., Tsalman A. Ya. Vital computer morphometry of lymphocytes in diagnosis of acute renal allograft rejection. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov = Russian J. of Transplantology and Artificial Organs*. 2009;11(4):18–25. doi: 10.15825/1995-1191-2009-4-18-25 (In Russ.)
- Vinogradova I., Anisimov V. Melatonin prevents the development of the metabolic syndrome in male rats exposed to different light/dark regimens. *Biogerontology*. 2013;14:401–409. doi: 10.1007/s10522-013-9437-4
- Walton J. C., Weil Z. M., Nelson R. J. Influence of photoperiod on hormones, behavior, and immune function. *Front. Neuroendocrinol.* 2011;32(3):303–319. doi: 10.1016/j.yfrne.2010.12.003
- Wen J. C., Dhabhar F. S., Prendergast B. J. Pineal-dependent and -independent effects of photoperiod on

immune function in Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Horm. Behav.* 2007;51(1):31–39. doi: 10.1016/j.yhbeh.2006.08.001

Xu D. L., Hu X. K. Season and sex have different effects on hematology and cytokines in striped hamsters (*Cricetulus barabensis*). *J. Comp. Physiol. B.* 2020;190(1):87–100. doi: 10.1007/s00360-019-01246-4

Xu X., Liu X., Ma S., Xu Y., Xu Y., Guo X., Li D. Association of melatonin production with seasonal changes, low temperature, and immuno-responses in hamsters. *Molecules.* 2018;23(3):703. doi: 10.3390/molecules23030703

Yellon S. M., Teasley L. A., Fagoaga O. R., Nguyen H. C., Truong H. N., Nehlsen-Cannarella L. Role of photoperiod and the pineal gland in T cell-dependent humoral immune reactivity in the Siberian hamster. *J. Pineal Res.* 1999;27:243–248. doi: 10.1111/j.1600-079x.1999.tb00622.x

Zhou S., Cagampang F. R., Stirland J. A., Loudon A. S., Hopkins S. J. Different photoperiods affect proliferation of lymphocytes but not expression of cellular, humoral, or innate immunity in hamsters. *J. Biol. Rhythms.* 2002;17:392–405. doi: 10.1177/074873002237133

Поступила в редакцию / received: 06.10.2021; принята к публикации / accepted: 27.10.2021.  
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

**Михеева (Фокина) Влада Олеговна**  
ведущий биолог

*e-mail: vlada.fokina.4545@list.ru*

**Кижина Александра Геннадьевна**  
канд. биол. наук, старший научный сотрудник  
*e-mail: golubewa81@yandex.ru*

**Антонова Екатерина Петровна**  
канд. биол. наук, старший научный сотрудник  
*e-mail: antonova88ep@mail.ru*

**Печорина Эльвира Филипповна**  
старший биолог  
*e-mail: Elvi1955@yandex.ru*

**Илюха Виктор Александрович**  
д-р биол. наук, директор  
*e-mail: ilyukha@bio.krc.karelia.ru*

### CONTRIBUTORS:

**Mikheeva (Fokina), Vlada**  
Leading Biologist

**Kizhina, Alexandra**  
Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

**Antonova, Ekaterina**  
Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher

**Pechorina, Elvira**  
Senior Biologist

**Ilyukha, Victor**  
Dr. Sci. (Biol.), Director