# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА МЕЛАТОНИНА, ОКСИДА АЛЮМИНИЯ И ПОЛИМЕТИЛСИЛОКСАНА НА КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ СЕЛЕЗЁНКИ МЫШЕЙ, СОДЕРЖАВШИХСЯ В УСЛОВИЯХ КРУГЛОСУТОЧНОГО ОСВЕЩЕНИЯ

#### **РЕЗЮМЕ**

Шурлыгина А.В. <sup>1</sup>, Мичурина С.В. <sup>1</sup>, Рачковская Л.Н. <sup>1</sup>, Серых А.Е. <sup>1</sup>, Мирошниченко С.М. <sup>1, 2</sup>, Рачковский Э.Э. <sup>1</sup>, Королев М.А. <sup>1</sup>, Летягин А.Ю. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, Россия)

<sup>2</sup> ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку: **Мичурина Светлана Викторовна**, e-mail: michurinasv3000@gmail.com Известно, что циркадный ритм продуцирования мелатонина зависит от интенсивности освещения. Нарушение светового режима приводит к подавлению синтеза мелатонина и развитию десинхроноза, что увеличивает риск развития ряда патологий. В связи с этим, актуален поиск возможностей восстановления нарушенных циркадианных ритмов и особенно коррекции иммунных дисфункций, которые возникают в этих ситуациях. **Целью** настоящего исследования явилось изучение влияния комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана на лимфоциты селезёнки мышей, содержавшихся при круглосуточном освещении.

**Материалы и методы.** Мыши линии C57Bl/6J в течение 14 суток содержались при круглосуточном освещении, на фоне которого им внутрижелудочно вводили дистиллированную воду, оксид алюминия с полидиметилсилоксаном, мелатонин и комплекс мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана (новый препарат, разработанный в Научно-исследовательском институте клинической и экспериментальной лимфологии – филиале ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; Патент РФ № 2577580, 2016), представленный комплексом пористого материала (оксид алюминия с полидиметилсилоксаном) и мелатонином, иммобилизованным в порах, из которых он постепенно высвобождается в жидкой среде. Контролем служили интактные животные, содержавшиеся при световом режиме СТ 12/12 и при круглосуточном освещении. Иммунофенотипирование В- и Т-лимфоцитов селезёнки проводили на проточном цитофлуориметре с моноклональными антителами APC CD3 и FITC CD19. Для изучения распределения клеток по стадиям клеточного цикла в спленоцитах измеряли количество внутриядерной ДНК по уровню включения иодид пропидия.

**Результаты.** Проточная цитометрия распределения В- и Т-лимфоцитов селезёнки у самцов мышей линии C57Bl/6J, содержавшихся в условиях круглосуточного освещения (КО 24/0 ч), выявила снижение процентного содержания количества В-лимфоцитов и повышение количества Т-лимфоцитов по сравнению с животными, содержавшимися в условиях стандартного режима освещения (фотопериод свет/темнота — 14/10 ч). Соотношение CD19+/CD3+-лимфоцитов селезёнки у мышей, находившихся в условиях КО, значительно понижается (в 1,5 раза) по сравнению с интактными животными ( $p \le 0,001$ ).

Введение чистого и модифицированного мелатонина (Комплекса М) животным, содержавшимся в условиях круглосуточного освещения, оказывает одинаково выраженный нормализующий эффект на клеточный состав B- (CD19) и T- (CD3) лимфоцитов селезёнки, приводя значения исследуемых показателей к значениям контрольных величин у интактных животных ( $p \le 0,001$ ). Круглосуточное освещение влияет на пролиферативный потенциал спленоцитов, снижая количество клеток в фазе G2/M, по сравнению с животными, получавшими мелатонин ( $p \le 0,050$ ). Введение мелатонина приводит к повышению процента клеток в фазе G2/M по отношению к группе плацебо ( $p \le 0,050$ ). В группе мышей, получавших Комплекс M, выявлено наибольшее повышение клеток в фазах S + G2/M и наибольший процент клеток в фазе G2/M по сравнению с группой контроль плацебо ( $p \le 0,050$ ).

Статья поступила: 09.06.2021 Статья принята: 24.08.2021 Статья опубликована: 12.10.2021 Заключение. Комплекс мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана обладает дополнительными иммунотропными свойствами по отношению к молекуле-модификатору, которые, по-видимому, обусловлены совместным иммуностимулирующим действием мелатонина и лимфостимулирующим действием сорбента. Мелатонин в составе комплекса более стабильно проявляет свои свойства.

**Ключевые слова:** лимфоциты, селезёнка, клеточный цикл, мелатонин, оксид алюминия, полидиметилсилоксан, круглосуточное освещение

**Для цитирования:** Шурлыгина А.В., Мичурина С.В., Рачковская Л.Н., Серых А.Е., Мирошниченко С.М., Рачковский Э.Э., Королев М.А., Летягин А.Ю. Влияние комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана на клеточный состав селезёнки мышей, содержавшихся в условиях круглосуточного освещения. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 252-264. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.23

# THE EFFECT OF A COMPLEX OF MELATONIN, ALUMINUM OXIDE AND POLYMETHYLSILOXANE ON THE CELLULAR COMPOSITION OF THE MICE SPLEEN KEPT IN ROUND-THE-CLOCK LIGHTING CONDITIONS

#### **ABSTRACT**

Shurlygina A.V.<sup>1</sup>, Michurina S.V.<sup>1</sup>, Rachkovskaya L.N.<sup>1</sup>, Serykh A.E.<sup>1</sup>, Miroshnichenko S.M.<sup>1,2</sup>, Rachkovsky E.E.<sup>1</sup>, Korolev M.A.<sup>1</sup>, Letyagin A.Yu.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Timakova str. 2, Novosibirsk 630060, Russian Federation) <sup>2</sup> Federal Research Center of Fundamental and Translational

Medicine (Timakova str. 2, Novosibirsk

630060, Russian Federation)

Corresponding author: **Svetlana V. Michurina,** e-mail: michurinasv3000@gmail.com It is known that the circadian rhythm of melatonin production depends on the intensity of illumination. Violation of the light regime leads to suppression of melatonin synthesis and the development of desynchronosis, which increases the risk of developing a number of pathologies. In this regard, it is relevant to search for opportunities to restore disturbed circadian rhythms and, especially, to correct immune dysfunctions that occur in these situations.

**The aim** of this study was to examine the effect of a complex of melatonin, aluminum oxide and polymethylsiloxane on the lymphocytes of the spleen of mice kept under round-the-clock lighting.

Materials and methods. Mice of the C57Bl/6J line were kept under round-the-clock lighting for 14 days, against which they were intragastrically injected with distilled water, aluminum oxide with polydimethylsiloxane, melatonin and a complex of melatonin, aluminum oxide and polymethylsiloxane (a new drug developed by the Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS; Patent of Russian Federation No. 2577580, 2016), represented by a complex of porous material (aluminum oxide with polydimethylsiloxane) and melatonin, immobilized in the pores, from which it is gradually released in a liquid medium. Intact animals kept under the light regime of ST 12/12 and under round-the-clock lighting served as a control. Immunophenotyping of spleen B- and T-lymphocytes was performed on a flow cytofluorimeter with monoclonal antibodies APC CD3 and FITC CD19. For studying the distribution of cells by stages of the cell cycle in splenocytes, the amount of intracellular DNA was measured by the level of inclusion of propidium iodide.

**Results.** Flow cytometry of the distribution of B- and T-lymphocytes of the spleen in male mice of the C57BI/6J line kept under round-the-clock lighting conditions (KO 24/0 h) revealed a decrease in the percentage of B-lymphocytes and an increase in the number of T-lymphocytes, compared with animals kept under standard lighting conditions (the light/dark photoperiod – 14/10 hours). The ratio of CD19+/ CD3+ lymphocytes of the spleen in mice under the conditions of KO significantly decreases (1.5 times) compared to intact animals ( $p \le 0.001$ ). The administration of pure and modified melatonin (Complex M) to animals kept under round-the-clock lighting conditions has an equally pronounced normalizing effect on the cellular composition of B- (CD19) and T- (CD3) lymphocytes of the spleen, bringing the values of the studied parameters to the control values of the intact animals ( $p \le 0.001$ ). Round-the-clock lighting affects the proliferative potential of splenocytes, reducing the number of cells in the G2/M phase, compared with animals treated with melatonin  $(p \le 0.050)$ . The introduction of melatonin leads to an increase in the percentage of cells in the G2/M phase relative to the placebo group ( $p \le 0.050$ ). In the group of mice treated with Complex M, the greatest increase in cells at the S + G2/M phases and the highest percentage of cells at the G2/M phase were revealed compared to the placebo control group ( $p \le 0.050$ ).

**Conclusion.** The complex of melatonin, aluminum oxide and polymethylsiloxane has additional immunotropic properties in relation to the modifier molecule, which, apparently, are due to the joint immunostimulating effect of melatonin and the lymphostimulating effect of the sorbent. Melatonin in the composition of the complex shows its properties more stably.

Received: 09.06.2021 Accepted: 24.08.2021 Published: 12.10.2021 **Key words:** lymphocytes, spleen, cell cycle, melatonin, aluminum oxide, polydimethylsiloxane, round-the-clock lighting

**For citation:** Shurlygina A.V., Michurina S.V., Rachkovskaya L.N., Serykh A.E., Miroshnichenko S.M., Rachkovsky E.E., Korolev M.A., Letyagin A.Yu. The effect of a complex of melatonin, aluminum oxide and polymethylsiloxane on the cellular composition of the mice spleen kept in round-the-clock lighting conditions. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 252-264. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.23

#### **ВВЕДЕНИЕ**

Мелатонин является индоламином, вырабатывающимся в шишковидной железе головного мозга или эпифизе в тёмное время суток. Этот гормон регулирует циркадные ритмы, такие как ритм сна и бодрствования, нейроэндокринные ритмы, температурные циклы тела посредством своего действия на рецепторы МТ1 и МТ2 [1]. Употребление мелатонина per os вызывает усталость, сонливость и уменьшение латентности сна. Нарушения циркадных ритмов связаны с нарушениями сна и развитием ряда патологических состояний, среди которых можно назвать иммунодепрессию, психоэмоциональные и метаболические нарушения, сердечно-сосудистые заболевания, рак [2]. Помимо хорошо известных эффектов мелатонина на регуляцию ритмов сна и бодрствования, мелатонин рассматривается как эндогенный синхронизатор и хронобиотическая молекула, то есть вещество, которое усиливает колебания или регулирует синхронизацию центральных биологических часов, расположенных в супрахиазматических ядрах гипоталамуса, повышая стабилизацию ритмов различных функций организма. Мелатонин рассматривают как внутренний времязадатель в сложной сети циркадных часов: в качестве основного гормонального сигнала мелатонин через свой ежедневный ритм секреции посылает временные сигналы к многочисленным тканевым мишеням, где присутствуют рецепторы мелатонина, стимулируя циркадные ритмы в некоторых тканевых структурах, таких как аденогипофиз, или синхронизирующие периферические осцилляторы, такие как надпочечники, органы иммунной системы, поджелудочная железа, печень, почки, сердце, лёгкие, жир, кишечник и т. д. Циркадные ритмы, а точнее сеть циркадных часов, обеспечивают временную организацию биологических функций в связи с периодическими изменениями окружающей среды и, следовательно, отражают адаптацию к окружающей среде. Так, например, ритм сна/бодрствования, связанный с биологическими циркадными ритмами, можно считать адаптацией к циклу смены дня и ночи. Кроме того, синхронизация мелатонином периферических осцилляторов отражает адаптацию индивидуума к внутренней и внешней среде [1, 2].

Что касается роли мелатонина в регуляции иммунитета, то мелатонин оказывает прямое иммуностимулирующее действие на животных и человека [3]. Действительно, мелатонин стимулирует выработку цитокинов и, в частности, интерлейкинов (IL-2, IL-6, IL-12) [4]. Кроме того, мелатонин усиливает иммунный ответ Т-хелперов [5]. Антиоксидантные эффекты мелатонина также способствуют его иммуностимулирующему действию [4] и оказывают косвенное влияние на иммунную систему, уменьшая образование оксида азота, что способствует снижению воспалительного ответа [6]. Как предполагают А.І. Esquifino et al. [7], мелатонин может представлять собой сигнал времени для иммунной сети.

В современных реалиях увеличилась распространённость ситуаций, при которых в повседневной жизни человека нарушается световой режим. Это влечёт за со-

бой снижение синтеза мелатонина в тёмное время суток и повышает частоту развития рака, возникновения психоэмоциональных расстройств, ведёт к ускоренному старению, нарушению иммунитета и др. [8]. Мелатонин влияет на дифференцировку лимфоцитов, активность воспаления, силу иммунного ответа. Мелатонин может регулировать активацию Т/В-клеток, играя критическую роль в регуляции иммунного баланса [9]. В связи с этим важно изучить влияние нарушения светового режима на органы иммунной системы и возможности коррекции иммунных нарушений при помощи нового мелатонин-содержащего препарата (Комплекс М), синтезированного в лаборатории фармацевтических технологий Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН) [10].

Необходимость создания нового препарата мелатонина была обусловлена следующими причинами. После внутривенного введения мелатонин быстро выводится из организма (период полувыведения составляет от 0,5 до 5,6 минуты). После внутривенного или перорального введения мелатонин быстро метаболизируется, главным образом, в печени и вторично в почках. После приёма внутрь пик концентрации в плазме возникает в течение 60 минут. Последующее уменьшение концентрации мелатонина в плазме является двухфазным с периодом полураспада соответственно 2 и 20 минут [11]. Потребление обычной дозы (то есть от 1 до 5 мг) позволяет в течение часа после приёма пищи получать концентрации мелатонина в 10-100 раз выше, чем физиологический ночной пик, с возвратом к базальным концентрациям через 4-8 часов. Биодоступность варьировала от 10 до 56 % (в среднем – 33 %). Однако для применения в терапевтических целях такого кратковременного содержания повышенных концентраций мелатонина в крови оказывается явно недостаточно.

#### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана на лимфоциты селезёнки мышей, содержавшихся при круглосуточном освещении.

#### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

# Дизайн эксперимента

Самцов мышей C57BI/6J SPF статуса (n = 36), в возрасте 10–12 недель, содержали в контролируемых барьерных помещениях ЦКП «SPF-виварий» (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI62114X0010) ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики CO PAH». Еду (сбалансированный гранулированный корм SSNIFF, Германия) и воду животным предоставляли at libitum.

Были сформированы следующие группы:

- 1. Интактные животные (n = 6) содержались при стандартном режиме освещения фотопериод свет/ темнота: 14/10 ч, при этом к светлой фазе суток относили плавное увеличение освещённости до дневных значений в течение 1 часа (рассвет) и плавное уменьшение значений освещённости до полного выключения в течение 1 часа (закат);
- 2. Мыши группы KO (n=6) содержались в течение 14 суток в условиях круглосуточного освещения (фотопериод свет/темнота 24/0 ч, модель светового десинхроноза);
- 3. *Мыши группы «КО + ВОДА» (п* = 6) содержались при круглосуточном освещении и ежедневно внутрижелудочно через зонд получали дистиллированную воду в объёме 200 мкл (контроль плацебо);
- 4. Группа «KO+C» (n=6) включала мышей, содержавшихся при круглосуточном освещении, которым внутрижелудочно через зонд вводили водную суспензию «С» (оксида алюминия с полидиметилсилоксаном) из расчёта 0,664 г/кг массы тела животного;
- 5. Мыши группы «КО + М» содержались при круглосуточном освещении и получали внутрижелудочно через зонд мелатонин (САТ № 102254, MP Biomedical, LLC, Франция) в дозе 1 мг/кг массы тела в 200 мкл воды (n=6);
- 6. Группа «KO + C + M» (n = 6) включала мышей, содержавшихся при круглосуточном освещении, которым внутрижелудочно через зонд вводили комплекс мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана из расчёта 0,664 г/кг массы тела животного. Процедуру введения проводили в 16:00 местного времени (с наступлением тёмной фазы суток).

Все эксперименты проводились с соблюдением принципов гуманности и выполнялись в соответствии с «Правилами работ с экспериментальными животными» (Приложение к Приказу Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977) и директивой Европейского сообщества (86/609/EEC). Эксперименты были одобрены локальным этическим комитетом (протокол № 128 от 15.03.2017).

Синтезированный в НИИКЭЛ – филиале ФИЦ ИЦИГ СО РАН новый препарат «Комплекс М», содержащий мелатонин, представляет собой порошок белого цвета с размером частиц до 0,1 мм, с насыпной плотностью близкой к единице, со средним объёмом пор порядка до 0,26 см<sup>3</sup>/г, величиной удельной поверхности до 160 м<sup>2</sup>/г. Содержание мелатонина в Комплексе M – 0,15 %. Комплекс М имеет мезо-, макропористую структуру с преимущественным размером пор 10–100 нм, поверхность характеризуется набором гидрофильных участков за счёт матрицы оксида алюминия и гидрофобных участков за счёт кремний-содержащего полимера, что создаёт условия для многоточечного связывания различных средне- и высокомолекулярных токсических агентов на поверхности Комплекса М и последующего их выведения из организма естественным путём, что и обеспечивает детоксицирующий эффект. Комплекс оксида алюминия с полидиметилсилоксаном имеет достаточную сорбционную ёмкость. Заданные параметры структуры и химической природы поверхности создают возможность постепенного высвобождения гормона мелатонина, что позволяет добиться эффекта «протезирования» мелатонин-продуцирующей функции эпифиза, т. е. пик повышенной концентрации мелатонина в крови оказывается не кратковременным, а распределённым в течение всей ночи при условии приёма препарата в вечернее время. Композиция создаёт условия для моделирования физиологического суточного ритма содержания мелатонина в организме, проявляет детоксицирующий и противоотёчный эффект за счёт регуляции баланса тканевой жидкости. При этом показана практически полная безопасность препарата (Патент РФ № 2577580, 2016).

#### Методики

Животных забивали на следующий день после последнего введения препаратов и воды. Извлекали селезёнку, из которой приготавливали клеточную суспензию мягким раздавливанием в стеклянном гомогенизаторе. Для изучения распределения клеток по стадиям клеточного цикла измеряли количество внутриядерной ДНК по уровню включения иодид пропидия (РІ), уровень флуоресценции которого пропорционален количеству ДНК, с которым он связался. Спленоциты фиксировали в ледяном 70%-м этаноле и хранили при 20 °C до использования (в течение недели). После центрифугирования клетки промывали холодным PBS и инкубировали в течение 10 мин в гипотоническом растворе буфера экстракции для удаления низкомолекулярной ДНК с целью определения гиподиплоидного пика (SubG1) с последующей инкубацией клеток в течение 30 минут в буфере окраски, содержащем 50 мкг/мл пропидия йодида (PI, Sigma, США) и 200 мкг/мл РНКазы-А (Invitrogen, США). Флуоресценцию РІ определяли на проточном цитофлуориметре («CYTOFLEX S100», «Beckman Coulter», США; r, λEm = 670 нм). Оценивали количество клеток с различным содержанием ДНК в фазах клеточного цикла: G0/G1, S, G2/M. Иммунофенотипирование В- и Т-лимфоцитов селезёнки проводили по стандартной методике на проточном цитофлуориметре («CYTOFLEX S100», «Beckman Coulter», США). Окраску клеток проводили согласно рекомендациям производителя. К 50 мкл каждого образца добавляли по 3 мкл антител APC CD3 и FITC CD19 в присутствии 1%-го альбумина. Далее проводили инкубацию в течение 30 мин, при комнатной температуре, в темноте. Затем отмывали дважды в фосфатно-забуференном физиологическом растворе с добавлением 1%-го альбумина. После этого образцы исследовали с помощью проточной цитометрии.

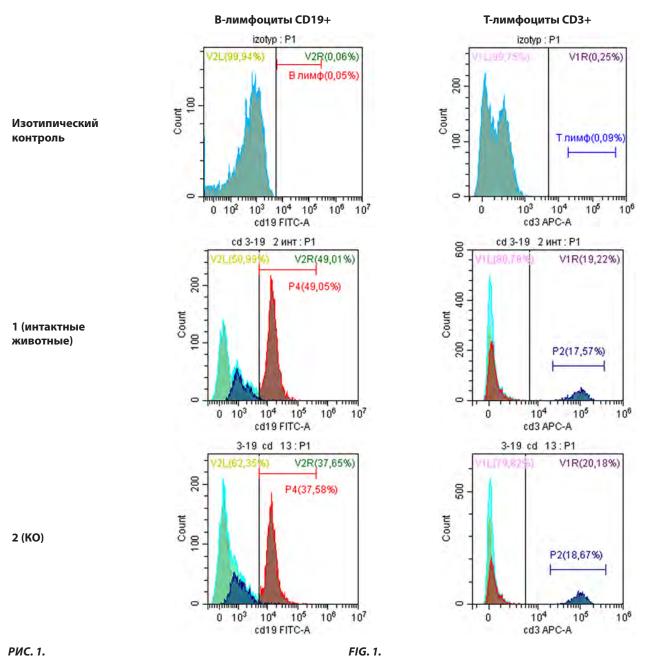
#### Статистическая обработка

Статистическая обработка проводилась с помощью пакета программ «Statistica 12». Определялась медиана с указанием первого и третьего квартиля. Статистическую значимость различий сравниваемых величин между группами определяли с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p \le 0,05$ .

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ**

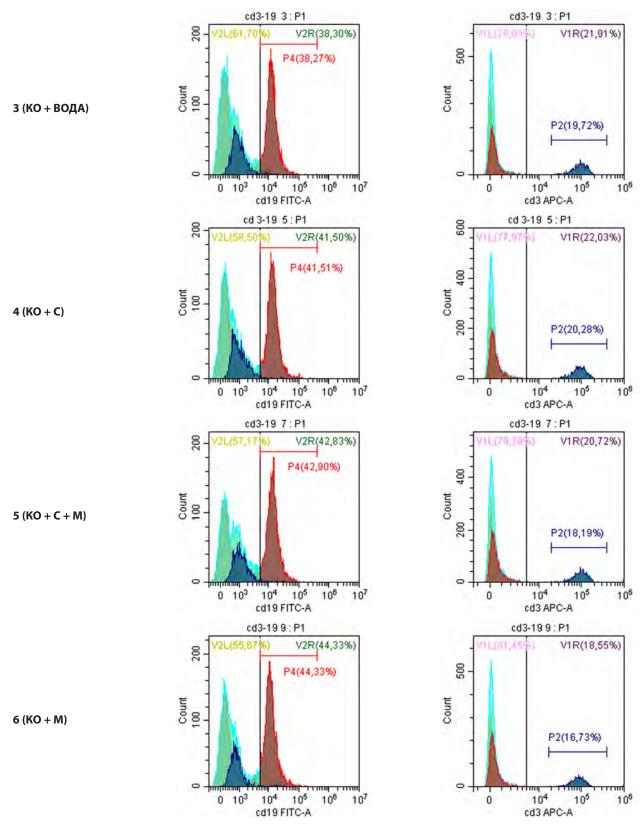
Количество В- и Т-лимфоцитов интактных животных группы 1, находившихся при стандартном режиме освещения (фотопериод свет/темнота – 14/10 ч), составило 41,6 (37–45,4) и 14,95 (12,6–16,65) % соответственно. Соотношение количества В-лимфоцитов к Т-лимфоцитам составило 2,90 (2,85–3,1) %. Установлено, что перевод самцов мышей линии C57BI/6J на кру-

глосуточное освещение в течение 14 суток (группа 2, КО) приводит к понижению процентного содержания В-лимфоцитов до 34,05 (31,9–36,6) % и повышению количества Т-лимфоцитов до 17,05 (16,4–17,85) % (рис. 1, 2), соответственно соотношение CD19+/CD3+лимфоцитов селезёнки у мышей, находившихся в условиях КО, значительно понижается (в 1,5 раза по сравнению с интактными животными,  $p \le 0,001$ ) (рис. 3). Такие перестройки можно объяснить нарушением суточных биоритмов



Гистограммы проточной цитометрии распределения Ви Т-лимфоцитов селезёнки мышей линии С57ВІ/6Ј при круглосуточном освещении в группах: 1 – контроль, интактные животные; 2 – животные при круглосуточном освещении (КО). По оси ординат – количество клеток; по оси абсцисс: слева – интенсивность флуоресценции CD19 Fitc (красный цвет), справа – CD3 APC (зелёный цвет)

Flow cytometry histograms of the distribution of B- and T-lymphocytes of the spleen of C57Bl/6J mice under round-the-clock lighting in groups: 1 – control, intact animals; 2 – animals with round-the-clock lighting (KO). On the ordinate – the number of cells; on the abscissa: on the left – the fluorescence intensity of CD19 Fitc (red), on the right – CD3 APC (green)



#### РИС. 1. (продолжение)

3 — животные при введении воды (КО + ВОДА); 4 — животные при введении оксида алюминия и полиметилсилоксана (КО + С); 5 — введение комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана (КО + С + М); 6 — введение мелатонина (КО + М). По оси ординат — количество клеток; по оси абсцисс: слева — интенсивность флуоресценции CD19 Fitc (красный цвет), справа — CD3 APC (зелёный цвет)

FIG. 1. (continued)

3 – animals with water injection (KO + BOJA); 4 – animals with the introduction of aluminum oxide and polymethylsiloxane (KO + C); 5 – the introduction of a complex of melatonin, aluminum oxide and polymethylsiloxane (KO + C + M); 6 – the introduction of melatonin (KO + M). On the ordinate – the number of cells; on the abscissa: on the left – the fluorescence intensity of CD19 Fitc (red), on the right – CD3 APC (green)

пролиферации и миграции клеток иммунной системы при изменённом световом режиме.

Введение воды животным, содержавшимся при круглосуточном освещении (контроль плацебо), не влияло значительно на соотношение CD19+/CD3+-лимфоцитов селезёнки по сравнению с просто круглосуточным освещением (рис. 1–3) и является хорошим контролем для опытных групп с внутрижелудочным введением.

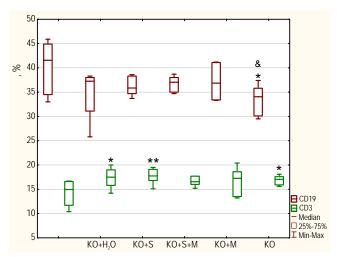


РИС. 2.

Клеточный состав В- (CD19) и Т- (CD3) лимфоцитов селезёнки у интактных мышей линии C57Bl/6J, при круглосуточном освещении (KO), при введении воды (KO + ВОДА), оксида алюминия и полиметилсилоксана (KO + C), мелатонина (KO + M) и комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана (KO + C + M): KO - KPYZNOCYMOVHOP OCBEME - KOMNOSUMUN OKCUDA АЛЮМИНИЯ И ПОЛИДИМЕТИЛСИ-ЛОКСАНА; М - МЕЛАТОНИН. Статистически значимые отличия: \* — от интактных животных; \* — от группы <math>KO + C + M (\*, \* —  $P \le 0,050$ ; \*\* —  $P \le 0,010$ ; KPVMOV = MANDE - MANDE -

Cell composition of B- (CD19) and T- (CD3) spleen lymphocytes in intact C57Bl/6J mice, under 24-hour illumination (KO), with the introduction of water (KO + BOДA), aluminum oxide and polymethylsiloxane (KO + C), melatonin (KO + M) and a complex of melatonin, aluminum oxide and polymethylsiloxane (KO + C + M): KO – round-the-clock lighting; C – composition of aluminum oxide and polydimethylsiloxane; M – melatonin. Statistically significant differences: \* – from intact animals; & – from KO + C + M group (\*, & –  $p \le 0.050$ ; \*\* –  $p \le 0.010$ ; Mann – Whitney test)

Введение оксида алюминия и полиметилсилоксана, по сравнению с интактными животными, приводит к повышению процентного содержания CD3+-спленоцитов до 17,75 (17,2–19,3) % ( $p \le 0,010$ ) (рис. 1, 2). У животных этой группы выявлено возрастание соотношения CD19+/ CD3+ по сравнению с животными группы 2 с 1,9 (1,88–2,05) до 2,05 (2–2,24) % ( $p \le 0,050$ ), однако значения этого показателя не достигают контрольных величин группы 1 «Интактные животные» ( $p \le 0,001$ ) (рис. 3).

Введение чистого мелатонина (группа 6) и модифицированного мелатонина (КО + М, группа 5) животным,

содержавшимся в условиях круглосуточного освещения, оказывает одинаково выраженный нормализующий эффект на клеточный состав В- (CD19) и Т- (CD3) лимфоцитов селезёнки, приводя значения исследуемых показателей к значениям контрольных величин группы 1 «Интактные животные» ( $p \le 0,001$ ) (рис. 1, 2). Выявлено возрастание соотношения CD19+/CD3+ при введении мелатонина – 2,1 (2–2,75) (p ≤ 0,010) и Комплекса М – 2,2 (2,2–2,3)  $(p \le 0,001)$ , по сравнению с животными групп 2 и 3 (рис. 3), однако значения этого показателя не достигают контрольных величин группы 1 «Интактные животные» ( $p \le 0,001$ ). Стоит отметить, что введение комплекса с мелатонином стабилизирует данные соотношения CD19/CD3, уменьшая разброс данных и статистически значимо отличаясь от трёх групп: от интактных; от животных, получавших воду на фоне КО; и от животных, получавших оксид алюминия и полиметилсилоксан (рис. 3). Возможно пролонгированное действие модифицированного мелатонина обеспечивает эту стабильную тенденцию к нормализации соотношения В- и Т-лимфоцитов, повышая количество В-лимфоцитов и снижая повышенное круглосуточным освещением количество Т-лимфоцитов – 16,55 (16,25–17,7) %.

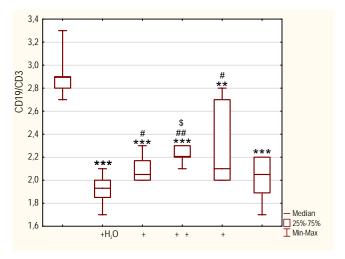
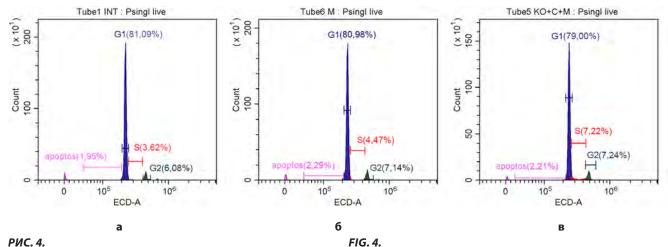


РИС. 3.

Соотношение CD19+/CD3+-лимфоцитов селезёнки мышей линии C57Bl/6J при круглосуточном освещении, при введении воды, оксида алюминия и полиметилсилоксана, мелатонина (KO + M) и комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана: KO – круглосуточное освещение; C – композиция оксида алюминия и полидиметилсилоксана; M – мелатонин. Статистически значимые отличия: \* – от интактных животных; \* – от группы KO + BOДА;  $^{\varsigma}$  – от группы KO + C (\*,  $^{\varsigma}$  –  $^{\varsigma}$  – 0,050; \*\*, \*\* +  $^{\varsigma}$  –  $^{\varsigma}$  0,010; \*\*\* –  $^{\varsigma}$  0,001; критерий Манна – Уитни)

#### FIG. 3.

The ratio of CD19+/CD3+-lymphocytes of the spleen of C57Bl/6J mice, under round-the-clock lighting, with the introduction of water, aluminum oxide and polymethylsiloxane, melatonin (KO + M) and a complex of melatonin, aluminum oxide and polymethylsiloxane: KO – round-the-clock lighting; C – a composition of aluminum oxide and polydimethylsiloxane; M – melatonin. Statistically significant differences: \* – from intact animals; # – from KO + BOJJA group;  $^{\$}$  – from KO + C group ( $^{\#}$ ,  $^{\$}$  –  $^{\$}$  = 0.010; \*\*\* –  $^{\$}$  = 0.001; Mann – Whitney test)



Гистограммы проточной цитометрии клеточного цикла в селезёнке мышей линии C57Bl/6J: **a** – у интактных животных; **6** – у животных, получавших мелатонин; **в** – у животных, получавших комплекс мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана. По оси ординат – количество клеток; по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции пропидия иодида (слева)

Histograms of flow cytometry of the cell cycle in the spleen of C57Bl/6J mice:  $\mathbf{a}$  – in intact animals;  $\mathbf{6}$  – in animals receiving melatonin;  $\mathbf{B}$  – in animals receiving a complex of melatonin, aluminum oxide and polymethylsiloxane. On the ordinate – the number of cells, on the abscissa – the fluorescence intensity of propidium iodide (on the left)

Таким образом выявлено, что добавление в рацион мышей, содержавшихся в условиях круглосуточного освещения, Комплекса М нормализует пул В-лимфоцитов, повышая их процентное содержание до 37,05 (35,95—38,35) %. Снижение количества Т-лимфоцитов нормализует соотношение В- к Т-лимфоцитам по сравнению с группой, получавшей плацебо.

# ТАБЛИЦА 1

СОДЕРЖАНИЕ КЛЕТОК В РАЗНЫХ ФАЗАХ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА В СЕЛЕЗЁНКЕ У ИНТАКТНЫХ МЫШЕЙ ПРИ КРУГЛОСУТОЧНОМ ОСВЕЩЕНИИ И ПРИ ВВЕДЕНИИ ВОДЫ, ОКСИДА АЛЮМИНИЯ И ПОЛИМЕТИЛСИЛОКСАНА, МЕЛАТОНИНА, КОМПЛЕКСА МЕЛАТОНИНА, ОКСИДА АЛЮМИНИЯ И ПОЛИМЕТИЛСИЛОКСАНА (МЕ [25 %; 75 %]) ТABLE 1

THE CONTENT OF CELLS IN DIFFERENT PHASES OF THE CELL CYCLE IN THE SPLEEN OF INTACT MICE UNDER ROUND-THE-CLOCK LIGHTING AND WITH THE INTRODUCTION OF WATER, ALUMINUM OXIDE AND POLYMETHYLSILOXANE, MELATONIN, MELATONIN, ALUMINUM OXIDE AND POLYMETHYLSILOXANE COMPLEX (ME [25 %; 75 %])

Группы	S	G2/M
Интактные	5,35 [4,45; 6,1]	6,6 [5,95; 8,1]
КО + ВОДА	5,25 [4,65; 7,35]	5,25 [4,8; 5,9]
KO + C	5,1 [4,85; 8,25]	5,85 [5,3; 7,9]
KO + C + M	6,2 [5,1; 9,2]	7,15 [6,35; 8,05]#
KO + M	5,4 [5,2; 8,8]	6,95 [6,4; 9,1]#
КО	5,65 [4,75; 6,8]	5,65 [5,6; 6,25] <sup>^</sup>

Примечание. КО — круглосуточное освещение; С — композиция оксида алюминия и полидиметилсилоксана; М — мелатонин. Статистически значимые отличия:  $^{\sharp}$  — от группы КО + ВОДА;  $^{\wedge}$  — от группы КО + М (p ≤ 0,050; критерий Манна — Уитни).

Исследование клеточного цикла спленоцитов показало (рис. 4, табл. 1), что при круглосуточном освещении снижается количество клеток в фазе G2/M, по сравнению с группой животных, получавших мелатонин ( $p \le 0,050$ ). Введение воды, как и введение оксида алюминия и полиметилсилоксана, не оказывает никакого действия на соотношение в селезёнке клеток в разных фазах клеточного цикла (табл. 1). Введение мелатонина приводит к повышению процента клеток в фазе G2/M по отношению к группе с введением воды ( $p \le 0,05$ ).

В группе мышей, получавших Комплекс М, выявлено наибольшее повышение процента спленоцитов в фазе G2/M по сравнению с животными группы 3 (КО + ВОДА), получавших воду (р ≤ 0,050) (табл. 1). Суммарно S + G2/M имеет максимальные значения в присутствии комплекса с мелатонином, что свидетельствует о повышении пролиферативного потенциала клеток.

# **ОБСУЖДЕНИЕ**

Функциональная связь между пинеальной железой и иммунной системой широко описывается с помощью двух основных экспериментальных подходов: пинеалэктомии и ритмической синхронизации между синтезом мелатонина и иммунной системой. Удаление эпифиза способствует массовой потере веса в первичных и вторичных лимфоидных органах и снижению функций клеток, связанных с врождёнными и специфическими реакциями. Кроме того, есть многочисленные публикации о синхронизации между ритмичностью продуцирования мелатонина и циркадными и сезонными изменениями в иммунной системе [12]. Важным фактом, который также поддерживает связь между мелатонином и иммунной системой, является присутствие рецепторов

мелатонина в самых разных органах и иммунных клетках различных видов млекопитающих и птиц. В настоящее время имеется достаточно доказательств, чтобы утверждать, что мелатонин не только взаимодействует с мембранно-ассоциированными и внутриклеточными мишенями, но и что это взаимодействие обеспечивает важные регуляторные воздействия на иммунную систему. Большое количество доказательств подтвердило иммуномодулирующее действие введения мелатонина как в моделях *in vivo*, так и *in vitro* [12]. Некоторые исследования показали, что применение мелатонина способствует увеличению веса иммунных органов, как при базальных, так и при иммуносупрессивных состояниях [13]. Наоборот, антипролиферативные эффекты мелатонина наблюдались in vitro в PHA-стимулированных лимфоцитах человека [14]. Мелатонин также модулирует как врождённые, так и специфические иммунные ответы посредством регуляции пролиферации иммунокомпетентных клеток [15, 16] и секреции иммунных медиаторов, таких как цитокины [17].

Из результатов проведённого исследования можно заключить, что использованный модифицированный сорбент обладает определёнными особенностями действия на состав иммунокомпетентных клеток в таком органе лимфоидной системы как селезёнка. Селезёнка – вторичный орган иммунитета, в котором формируется системный иммунный ответ при попадании антигена в кровь. Таким образом, состояние лимфоцитов селезёнки (спленоцитов) определяет возможности иммунной системы реагировать на антигенное воздействие, нейтрализовать и элиминировать антиген из организма.

Известно, что иммунная система функционирует в режиме суточной периодичности. В течение 24-часового цикла закономерно меняются процессы пролиферации и дифференцировки лимфоцитов, сила иммунного ответа, метаболический статус лимфоидных клеток. Нарушение светового режима приводит к рассогласованию циркадных ритмов в иммунной системе и, соответственно, к потере способности адекватно отвечать на антигенное воздействие, исходящее из внешней или внутренней среды организма [18]. Это приводит к таким серьёзным заболеваниям, как аутоиммунные, аллергические, онкологические.

В настоящей работе показано, что содержание экспериментальных животных при круглосуточном освещении меняет клеточный состав селезёнки со снижением общего количества лимфоцитов и повышением содержания в органе Т-клеток, со снижением количества В-лимфоцитов и снижением количества клеток в Sи G2/M-фазах клеточного цикла. Эти изменения можно объяснить изменением суточных биоритмов пролиферации и миграции клеток иммунной системы при световом режиме, отличающихся от нормального [19]. Введение комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана привело к повышению пролиферативного потенциала клеток и нормализации соотношения В-кТ-лимфоцитам, но также к некоторому снижению общего числа лимфоцитов. Возможно, это действие обусловлено лимфостимулирующим влиянием сорбента [20, 21], за счёт чего может усиливаться миграция жизнеспособных клеток из органа. Введение комплекса с мелатонином нормализовало соотношение В- к Т-лимфоцитам более стабильно, чем мелатонин. В группе животных, получавших мелатонин, наблюдался большой разброс данных, что возможно объяснимо, учитывая короткий период полужизни этого гормона. Стабильное пролонгированное поступление мелатонина из Комплекса М обеспечило более стабильный результат. Активация спленоцитов, скорее всего, объясняется иммуностимулирующим действием мелатонина, входящего в состав препарата [9].

# **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Можно заключить, что использованный модифицированный сорбент обладает дополнительными иммунотропными свойствами по отношению к молекуле-модификатору, которые, по-видимому, обусловлены совместным иммуностимулирующим действием мелатонина, пролонгированным его действием в составе Комплекса М и лимфостимулирующим действием сорбента.

#### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

# **ЛИТЕРАТУРА**

- 1. Liu J, Clough SJ, Hutchinson AJ, Adamah-Biassi EB, Popovs-ka-Gorevski M, Dubocovich ML. MT1 and MT2 melatonin receptors: A therapeutic perspective. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2016; 56: 361-383. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010814-124742
- 2. Arendt J. Melatonin: Characteristics, concerns, and prospects. *JBiol Rhythms*. 2005; 20(4): 291-303. doi: 10.1177/0748730405277492
- 3. Pandi-Perumal SR, Esquifino A, Cardinali DP. The role of melatonin in immunoenhancement: Potential application in cancer. *Int J Exp Pathol*. 2006; 87(2): 81-87. doi: 10.1111/j.0959-9673.2006.00474.x
- 4. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Maestroni GJ, Esquifino Al, Hardeland R, Cardinali DP. Role of melatonin in neurodegenerative diseases. *Neurotox Res.* 2005; 7(4): 293-318. doi: 10.1007/BF03033887
- 5. Regodon S, Martin-Palomino P, Fernadez-Montesinos R, Herrera JL, Carrascosa-Salmoral MP, Piriz SS, et al. The use of melatonin as a vaccine agent. *Vaccine*. 2005; 23(46-47): 5321-5327. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.07.003
- 6. Hardeland R, Pandi-Perumal SR. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: Actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug. *Nutr Metab (Lond)*. 2005: 2: 22. doi: 10.1186/1743-7075-2-22
- 7. Esquifino Al, Cano P, Jiménez-Ortega V, Fernández-Mateos P, Cardinali DP. Neuroendocrine-immune correlates of circadian physiology: Studies in experimental models of arthritis, ethanol feeding, aging, social isolation, and calorie restriction. *Endocrine*. 2007; 32(1): 1-19. doi: 10.1007/s12020-007-9009-y

- 8. Borugian MJ, Gallagher RP, Friesen MC, Switzer TF, Aronson KJ. Twenty-four-hour light exposure and melatonin levels among shift workers. *J Occup Environ Med*. 2005; 47(12): 1268-1275. doi: 10.1097/01.jom.0000184855.87223.77
- 9. Luo J, Zhang Z, Sun H, Song J, Chen X, Huang J, et al. Effect of melatonin on T/B cell activation and immune regulation in pinealectomy mice. *Life Sci.* 2020; 242: 117191. doi: 10.1016/j.lfs.2019.117191
- 10. Мичурина С.В., Рачковская Л.Н., Ищенко И.Ю., Рачковский Э.Э., Климонтов В.В., Коненков В.И. *Пористый сорбент с хронотропными свойствами на основе оксида алюминия:* Патент № 2577580 Рос. Федерация; МПК В01J 20/08 (2006.01) В01J 20/22 (2006.01); заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии». № 2015100920/05; заявл. 12.01.2015; опубл. 20.03.2016. 2016; (8).
- 11. Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev.* 2005; 9(1): 11-24. doi: 10.1016/j.smrv.2004.08.001
- 12. Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Lardone PJ, Reiter RJ. 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
- 13. Rai S, Haldar C. Pineal control of immune status and hematological changes in blood and bone marrow of male squirrels (funambulus pennanti) during their reproductively active phase. *Comp Biochem Physiol Toxicol Pharmacol.* 2003; 136(4): 319-328. doi: 10.1016/j.cca.2003.10.008
- 14. Capelli E, Campo I, Panelli S, Damiani G, Barbone V, Lucchelli A, et al. Evaluation of gene expression in human lymphocytes activated in the presence of melatonin. *Int Immunopharmacol.* 2002; 2(7): 885-892. doi: 10.1016/s1567-5769(02)00021-8
- 15. Sze SF, Liu WK, Ng TB. Stimulation of murine splenocytes by melatonin and methoxytryptamine. *J Neural Transm Gen Sect*. 1993; 94(2): 115-126. doi: 10.1007/BF01245005
- 16. Demas GE, Nelson RJ. Exogenous melatonin enhances cell-mediated, but not humoral, immune function in adult male deer mice (peromyscus maniculatus). *J Biol Rhythms*. 1998; 13(2): 245-252. doi: 10.1177/074873098129000084
- 17. Carrillo-Vico A, Reiter RJ, Lardone PJ, Herrera JL, Fernandez-Montesinos R, Guerrero JM, et al. The modulatory role of melatonin on immune responsiveness. *Curr Opin Investig Drugs*. 2006; 7(5): 423-431.
- 18. Труфакин В.А., Шурлыгина А.В. Проблемы гистофизиологии иммунной системы. *Иммунология*. 2002; 23(1): 4-8.
- 19. Brazão V, Santello FH, Colato RP, Duarte A, Goulart A, Sampaio PA, et al. Melatonin down-regulates steroidal hormones, thymocyte apoptosis and inflammatory cytokines in middle-aged T. cruzi infected rats. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020; 1866(11): 165914. doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165914
- 20. Бородин Ю.И., Коненков В.И., Пармон В.Н., Любарский М.С., Рачковская Л.Н., Бгатова Н.П., и др. Биологические свойства сорбентов и перспективы их применения. *Успехи современной биологии*. 2014; 134(3): 236-248.
- 21. Мичурина С.В., Ищенко И.Ю., Архипов С.А., Климонтов В.В., Рачковская Л.Н., Коненков В.И., и др. Влияние комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана на экспрессию LYVE-1 в печени мышей с моделью ожирения и сахарного диабета 2-го типа. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016; 162(8): 238-242. doi: 10.1007/s10517-016-3592-y

#### **REFERENCES**

- 1. Liu J, Clough SJ, Hutchinson AJ, Adamah-Biassi EB, Popovs-ka-Gorevski M, Dubocovich ML. MT1 and MT2 melatonin receptors: A therapeutic perspective. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2016; 56: 361-383. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010814-124742
- 2. Arendt J. Melatonin: Characteristics, concerns, and prospects. *J Biol Rhythms*. 2005; 20(4): 291-303. doi: 10.1177/0748730405277492
- 3. Pandi-Perumal SR, Esquifino A, Cardinali DP. The role of melatonin in immunoenhancement: Potential application in cancer. *Int J Exp Pathol*. 2006; 87(2): 81-87. doi: 10.1111/j.0959-9673.2006.00474.x
- 4. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Maestroni GJ, Esquifino Al, Hardeland R, Cardinali DP. Role of melatonin in neurodegenerative diseases. *Neurotox Res.* 2005; 7(4): 293-318. doi: 10.1007/BF03033887
- 5. Regodon S, Martin-Palomino P, Fernadez-Montesinos R, Herrera JL, Carrascosa-Salmoral MP, Piriz SS, et al. The use of melatonin as a vaccine agent. *Vaccine*. 2005; 23(46-47): 5321-5327. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.07.003
- 6. Hardeland R, Pandi-Perumal SR. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: Actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug. *Nutr Metab (Lond)*. 2005: 2: 22. doi: 10.1186/1743-7075-2-22
- 7. Esquifino AI, Cano P, Jiménez-Ortega V, Fernández-Mateos P, Cardinali DP. Neuroendocrine-immune correlates of circadian physiology: Studies in experimental models of arthritis, ethanol feeding, aging, social isolation, and calorie restriction. *Endocrine*. 2007; 32(1): 1-19. doi: 10.1007/s12020-007-9009-y
- 8. Borugian MJ, Gallagher RP, Friesen MC, Switzer TF, Aronson KJ. Twenty-four-hour light exposure and melatonin levels among shift workers. *J Occup Environ Med*. 2005; 47(12): 1268-1275. doi: 10.1097/01.jom.0000184855.87223.77
- 9. Luo J, Zhang Z, Sun H, Song J, Chen X, Huang J, et al. Effect of melatonin on T/B cell activation and immune regulation in pinealectomy mice. *Life Sci.* 2020; 242: 117191. doi: 10.1016/j.lfs.2019.117191
- 10. Michurina SV, Rachkovskaya LN, Ishchenko IYu, Rachkovsky EE, Klimontov VV, Konenkov VI. *Porous sorbent with chronotropic properties based on aluminum oxide*: Patent N 2577580 of the Russian Federation; 2016; (8). (In Russ.).
- 11. Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev.* 2005; 9(1): 11-24. doi: 10.1016/j.smrv.2004.08.001
- 12. Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Lardone PJ, Reiter RJ. 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
- 13. Rai S, Haldar C. Pineal control of immune status and hematological changes in blood and bone marrow of male squirrels (funambulus pennanti) during their reproductively active phase. *Comp Biochem Physiol Toxicol Pharmacol*. 2003; 136(4): 319-328. doi: 10.1016/j.cca.2003.10.008
- 14. Capelli E, Campo I, Panelli S, Damiani G, Barbone V, Lucchelli A, et al. Evaluation of gene expression in human lymphocytes activated in the presence of melatonin. *Int Immunopharmacol.* 2002; 2(7): 885-892. doi: 10.1016/s1567-5769(02)00021-8
- 15. Sze SF, Liu WK, Ng TB. Stimulation of murine splenocytes by melatonin and methoxytryptamine. *J Neural Transm Gen Sect*. 1993; 94(2): 115-126. doi: 10.1007/BF01245005

- 16. Demas GE, Nelson RJ. Exogenous melatonin enhances cell-mediated, but not humoral, immune function in adult male deer mice (peromyscus maniculatus). *J Biol Rhythms*. 1998; 13(2): 245-252. doi: 10.1177/074873098129000084
- 17. Carrillo-Vico A, Reiter RJ, Lardone PJ, Herrera JL, Fernandez-Montesinos R, Guerrero JM, et al. The modulatory role of melatonin on immune responsiveness. *Curr Opin Investig Drugs*. 2006: 7(5): 423-431.
- 18. Trufakin VA, Shurlygina AV. Problems of histophysiology of the immune system. *Immunologiya*. 2002; 23(1): 4-8. (In Russ.).
- 19. Brazão V, Santello FH, Colato RP, Duarte A, Goulart A, Sampaio PA, et al. Melatonin down-regulates steroidal hormones,

thymocyte apoptosis and inflammatory cytokines in middle-aged T. cruzi infected rats. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020; 1866(11): 165914. doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165914

- 20. Borodin Yul, Konenkov VI, Parmon VN, Lyubarsky MS, Rachkovskaya LN, Bgatova NP, et al. Biological properties of sorbents and prospects for their application. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2014; 134(3): 236-248. (In Russ.).
- 21. Michurina SV, Ishchenko IYu, Arkhipov SA, Klimontov VV, Rachkovskaya LN, Konenkov VI, et al. Effects of melatonin, aluminum oxide, and polymethylsiloxane complex on the expression of LYVE-1 in the liver of mice with obesity and type 2 diabetes mellitus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016; 162(2): 269-272. (In Russ.). doi: 10.1007/s10517-016-3592-y

#### Сведения об авторах

**Шурлыгина Анна Вениаминовна** — доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории фармацевтических технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, https://orcid.org/0000-0002-3576-9456

Рачковская Любовь Никифоровна — кандидат химических наук, руководитель лаборатории фармацевтических технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: noolit@niikel.ru, https://orcid.org/0000-0001-9622-5391

**Мичурина Светлана Викторовна** — доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, руководитель группы экспериментальной фармакологии, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: michurinasv3000@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3630-4669

Серых Анастасия Евгеньевна— лаборант-исследователь лаборатории фармацевтических технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии— филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: rasiel1996@yandex.ru

**Мирошниченко Светплана Михайловна** — младший научный сотрудник лаборатории фармакологически активных соединений, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; научный сотрудник, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; научный сотрудник, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Фундаментальной и трансляционной медицины», e-mail: svmiro@yandex.ru https://orcid.org/0000-0001-5115-864X

Рачковский Эдмунд Эдмундович — кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармацевтических технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: noolit@niikel.ru, https://orcid.org/0000-0003-3756-4873

Королев Максим Александрович — кандидат медицинских наук, руководитель лаборатории патологии соединительной ткани, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: kormax@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-0471-652X

**Летягин Андрей Юрьевич** — доктор медицинских наук, профессор, руководитель, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru https://orcid.org/0000-0002-9293-4083

# Information about the authors

Anna V. Shurlygina — Dr. Sc. (Med.), Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Pharmaceutical Technologies, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, https://orcid.org/0000-0002-3576-9456

**Lyubov N. Rachkovskaya** — Cand. Sc. (Chem.), Head of the Laboratory of Pharmaceutical Technologies, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: noolit@niikel.ru, https://orcid.org/0000-0001-9622-5391

**Svetlana V. Michurina** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Research Officer, the Head of the Group of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: michurinasv3000@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3630-4669

Anastasia E. Serykh — Assistant Researcher at the Laboratory of Pharmaceutical Technologies, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: rasiel 1996@yandex.ru

Svetlana M. Miroshnichenko — Junior Research Officer at the Laboratory of Pharmacologically Active Compounds, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Research Officer, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: svmiro@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-5115-864X

Edmund E. Rachkovsky — Cand. Sc. (Chem.), Senior Research Officer at the Laboratory of Pharmaceutical Technologies, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: noolit@niikel.ru, https://orcid.org/0000-0003-3756-4873

Maxim A. Korolev — Cand. Sc. (Med.), the Head of the Laboratory of Connective Tissue Pathology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. e-mail: kormax@bk.ru. https://orcid.org/0000-0002-0471-652X

Andrey Yu. Letyagin — Dr. Sc. (Med.), Professor, Head, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-9293-4083