

УДК 57.084.1:57.053:615.357:616-018
doi:10.22494/cot.v6i1.83

Вплив різних режимів введення мелатоніну на диференціацію та функціональний стан бурих адипоцитів *in vivo*



Калмикова О. О., Дзержинський М. Е.

Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

e-mail: olesiakalmukova28@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Останнім часом численні дослідження вказують на те, що мелатонін, як гормон епіфізу, впливає на процеси диференціації багатьох типів клітин, зокрема і преадипоцитів на бурі, бежеві та білі адипоцити. Тому актуальним є вивчення можливостей використання мелатоніну як фактора диференціації преадипоцитів для контролю функціональної активності жирової тканини в боротьбі з різноманітними захворюваннями, в тому числі і з ожирінням.

МЕТОЮ РОБОТИ було оцінити морфофункціональний стан бурої жирової тканини за умов дії різних режимів введення мелатоніну.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Нелінійних щурів було розподілено на три експериментальні групи: контроль, введення мелатоніну за 1 год після ввімкнення світла ZT01 (Zeitgeber time), введення мелатоніну за 1 год до вимкнення світла ZT11. Мелатонін вводили щоденно перорально протягом 7 тижнів за стандартної тривалості світлового дня (12:12 год). У тварин визначали відносну масу бурої жирової тканини, на гістологічних препаратах підраховували площу поперечного перерізу клітини, ядра та ліпідних включень, ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС), кількість ліпідних включень на клітину та оптичну щільність тканини.

РЕЗУЛЬТАТИ. Застосування мелатоніну впливало на морфофункціональний стан бурих адипоцитів незалежно від часу введення: зростало ядерно-цитоплазматичне співвідношення за рахунок збільшення площі ядра при незмінній площі клітини; зростала кількість ліпідних крапель на один адипоцит, проте їх розміри зменшувались. Ефект від різного часу введення мелатоніну проявився у збільшенні маси бурої жирової тканини за умови вечірніх введень.

ВИСНОВКИ. Ефекти різних режимів введення мелатоніну на цитологічному рівні проявляються майже однаково на функціональному стані бурих адипоцитів, а на рівні організму при вечірніх введеннях спостерігається збільшення відносної маси бурої жирової тканини. Оскільки при цьому лінійні розміри бурих адипоцитів не змінюються, це може свідчити про активацію диференціації бурих адипоцитів з клітин-попередників.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: жирова тканина; бурі адипоцити; диференціація клітин; мелатонін; хронобіологія

Мелатонін – гормон епіфізу, який окрім основної функції регуляції циркадної ритміки організму має багато додаткових функцій: імуномодуляторна, антиоксидантна, антиапоптична, регуляція енергетичного метаболізму та інші [1]. Реалізація різноманітних ефектів мелатоніну здійснюється через залучення багатьох механізмів:

- інтеграція циркадної ритміки всього організму – із залученням тонкої взаємодії супрахізматичного ядра гіпоталамуса, як ендогенного водія добової ритміки, та синхронізованої секреції мелатоніну епіфізом [2];
- пряме знешкодження вільних радикалів – мелатонін та його безпосередні метаболіти (циклічний гідроксимелатонін,

N-ацетил-N-форміл-метоксикінурамін, N-ацетил-метоксикінурамін) забезпечують зменшення окисного стресу в ряді реакцій послідовної дегідрогенізації, утворенні стійких продуктів з вільними радикалами і збільшенні донорно-акцепторних властивостей для певного впорядкованого потоку електронів [3];

- решта функцій (імуномодулююча, антиоксидантна, антиапоптична, терморегуляторна, антивікова, нейротрофічна та ін. [4]) реалізуються шляхом активації мелатонінових рецепторів, які експресуються майже на усіх клітинах організму [5, 6], в тому числі і на стовбурових клітинах різного походження.

Рецептори до мелатоніну представлені двома типами мембранних рецепторів, які спряжені з G-білками (MT₁, MT₂) [7, 8], та одним ядерним, з суперродини орфанних рецепторів ретиноївої кислоти RORa [9, 10]. Поверхневі рецептори були виявлені у багатьох типах стовбурових клітин – нейральних [11, 12, 13, 14], мезенхімальних (з кісткового мозку [15, 16], жирової тканини [17], кордової крові [18]), ембріональних [19], індукованих плюрипотентних [20], стовбурових клітин пульпи зубів [21]. Наявність даних рецепторів свідчить про можливість впливу мелатоніну на проліферацію, диференціацію та функціональну активність цих клітин, а в подальшому – і на репарацію та відновлення тканин та організму [22, 23].

У зв'язку з нещодавнім відкриттям у дорослої людини функціонально активної бурої жирової тканини (БЖТ) [24, 25] тривають активні дослідження механізмів регуляції її метаболічного стану. Ця тканина може виступати потенційною мішенню для терапії метаболічних порушень, що можуть проявлятися в розвитку ожиріння, зниженні чутливості до інсуліну (оскільки жирова тканина є інсулін-чутливою) та дисліпідемії [26, 27].

Наразі пропонуються різні підходи для модуляції фізіології БЖТ:

- катехоламіни – в нормі підвищують теплопродукуючі властивості БЖТ після активації холодом центру терморегуляції в гіпоталамусі та стимуляції роботи симпатичної нервової системи, проте вони мають ряд побічних ефектів [28, 29];
- ірісін – міокін, який секретується міоцитами під час фізичних навантажень та стимулює біогенез мітохондрій як в м'язах, так і жировій тканині, що спричиняє появу класичних бурих адипоцитів та бежевих адипоцитів в білій жировій тканині [30, 31];
- мелатонін – не тільки підвищує кількість мітохондрій в бурих адипоцитах, але і сприяє збільшенню кількості БЖТ. Раніше вважали, що така дія мелатоніну опосередкована впливом на супрахіазматичне ядро гіпоталамуса і активацією в подальшому симпатичної нервової системи. Яскравим прикладом цього може слугувати сезонна ритміка зростання маси БЖТ у видів, що впадають у гібернацію взимку – бурих ведмедів, гризунів та інших [32]. Проте пізніше було показано наявність рецепторів до мелатоніну безпосередньо і на бурих адипоцитах, що робить мелатонін цікавим агентом для регуляції життєдіяльності цих клітин, а також преадипоцитів [33, 34];
- клітинна терапія та тканинна інженерія – передбачає трансплантацію в міжлопаткову ділянку бурих адипоцитів (наприклад, з прогеніторів жирової клітковини), диференційованих за допомогою транскрипційних факторів BMP7, PRDM16 або генної трансфекції аденовірусом, для збільшення маси функціонально активної БЖТ у людини [35-37], що може бути корисним при терапії ожиріння та метаболічного синдрому [26, 27, 38]. Були проведені успішні трансплантації таких клітин мишам та щурам, проте їх ефективність потребує подальшого дослідження [39, 40]. Крім цього, для успішного приживлення великих трансплантатів та уникнення пост-трансплантаційного некрозу потрібно використовувати синтетичні матриці та скаффолди [41, 42].

Фізіологія БЖТ суттєво регулюється мелатоніном, який не тільки збільшує її масу, але також підвищує метаболічну активність бурих адипоцитів. Таким чином, мелатонін – нетоксична речовина природного походження, яка є висококонсервативною молекулою, що реалізує біологічні ефекти майже у всіх живих організмах, починаючи з антиоксидантної функції у бактерій, та не має побічної дії [43, 44], а тому може служити новим підходом для активації функцій БЖТ [38]. Окрім опосередкованого впливу через гіпоталамус, мелатонін стимулює свої мембранні рецептори на бурих адипоцитах [45] та може стимулювати експресію термогеніну (UCP1) – білка, що роз'єднує дихальний ланцюг в мітохондріях та забезпечує недріжальний термогенез. Також мелатонін стимулює експресію рецептора PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptors gamma), що

активується проліфератором пероксисом, та його ко-активатора PGC1 α – ключових факторів для диференціації нових бурих адипоцитів та біогенезу мітохондрій [46]. Підтвердженням цього є ряд дослідів *in vitro* на культурі ембріональних фібробластів, які були направлено диференційовані в преадипоцити [47]. Проте є також і протилежні свідчення: на культурі людських мезенхімальних стовбурових клітин під впливом мелатоніну показано послаблення адипогенезу через інгібування кінази глікоген-синтетази GSK-3 β [48], підсилення остеогенезу через підвищення експресії Runx2 та зниження PPAR γ [49]. На культурі ембріональних фібробластів, які були направлено диференційовані в преадипоцити, показано інгібування транскрипційного фактора C/EBP β , що активує експресію PPAR γ [50]. Такі неоднозначні дані, отримані на культурах клітин, потребують подальших досліджень *in vivo* з детальною характеристикою змін морфології бурих адипоцитів та врахування відносної маси бурої жирової тканини.

Окремим цікавим питанням є різна чутливість організму до мелатоніну впродовж доби, що проявляється відмінностями експресії його мембранних та ядерних рецепторів клітинами [51, 52]. Одним з актуальних питань хронофармакології є вибір ефективного часу введення препарату для збільшення корисного результату та зменшення побічної дії [53, 54, 55]. Тому метою нашого дослідження було оцінити морфофункціональні зміни бурої жирової тканини за умов дії різних режимів введення мелатоніну.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Усі експерименти на тваринах виконані з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.), статті 26 Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№3447-IV, від 21.02.2006 р.), а також усіх норм біоетики, біологічної безпеки та загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 р.).

У нашому дослідженні ми використовували білих нелінійних щурів масою 130-140 г, які утримувались при постійному температурному режимі за стандартних умов віварію та раціону харчування з вільним доступом до води та їжі. Як зовнішній синхронізатор часу використовували штучне освітлення. Добовий ритм (Zeitgeber time – ZT) складався з 12 годин світла та 12 годин темряви з ввімкненням світла о 7-й годині ранку (ZT00) та вимкненням о 19:00 (ZT12). Щури були випадковим чином розподілені на три групи по 7 тварин в кожній: 1) контрольна група; 2) введення мелатоніну за 1 год після ввімкнення світла – M ZT01; 3) введення мелатоніну за 1 год до вимкнення світла – M ZT11 (рис. 1, див. с. 76). Мелатонін (Alcon Biosciences, США) вводили щоденно перорально через зонд протягом 7 тижнів в дозі 30 мг/кг/день в зазначений час.

Підрахунок споживання води та корму проводили щодня о 10:00 та обчислювали відносно денне споживання води (мл/день/кг маси тіла) та корму (ккал/день/кг маси тіла) для кожної тварини. Масу тіла вимірювали один раз на тиждень та підраховували приріст маси тіла. В останній день експерименту тварин декапітували, після чого виділяли та зважували бурю жирову тканину з міжлопаткової ділянки для визначення її відносної маси.

Для характеристики морфофункціонального стану бурої жирової тканини було проведено гістологічне дослідження. Фрагменти бурої жирової тканини розміром 1x1 см фіксували в 4 % розчині параформальдегіду на 0,1 М фосфатному буфері протягом 72 годин, після чого зневоднювали та заливали в парафін за загальноприйнятою методикою. З парафінових блоків на мікромомі виготовляли зрізи товщиною 5 мкм, які потім фарбували гематоксиліном Бемера та еозиною. Подальше дослідження препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа BX41 (Olympus, Японія). Мікрофотографії

отримували з використанням цифрової камери DP20 (*Olympus*, Японія) та програмного забезпечення QuickPHOTO MICRO (*Promicra*, Чехія).

Як критерії оцінки морфофункціонального стану бурих адипоцитів використовували площу поперечного перерізу клітини, ядра та ліпідних включень; ядерно-цитоплазматичне співвідношення (ЯЦС); кількість ліпідних включень на одну клітину та оптичну щільність тканини. Усі параметри вимірювали з використанням програми ImageJ (*National Institutes of Health*, США).

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою програмного забезпечення Statistica 6.0 (*StatSoft*, США) та Microsoft Excel 2010 (*Microsoft*, США). Характер розподілу числових значень оцінювали з використанням W-критерія Шапіро-Уїлка. Оскільки відхилення розподілу цих значень від нормальності були несуттєвими, перевірку для оцінки відмінностей між значеннями виконували з застосуванням параметричних (t-критерія Стюдента) методів варіативної статистики. Достовірними вважали відмінності при ймовірності нульової гіпотези $p < 0,05$. Отримані результати представлені у вигляді середнього значення \pm стандартна похибка середнього.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За морфологією бурі адипоцити суттєво відрізняються від білих центральним розташуванням овального ядра (на відміну від периферійного розташування сплющеного ядра білих адипоцитів), полігональною формою клітин (білі адипоцити – округлі), мультилокулярною локалізацією численних ліпідних включень (у білих адипоцитах – одна велика крапля), а також в рази більшою кількістю мітохондрій та меншими лінійними розмірами клітин (рис. 2).

При введенні тваринам мелатоніну локалізація та форма ядра не змінюється, проте колір стає світлим, тобто менше базофільним. При цьому морфологія клітин залишається полігональною з яскраво еозинофільною цитоплазмою (рис. 3).

За даними морфометричного аналізу при введенні мелатоніну площа поперечного перерізу ядра бурих адипоцитів збільшується на 46 % в групі M ZT01 і на 60 % в M ZT11, причому вечірні введення індукують ці зміни на 10 % більше в порівнянні за ранкові (рис. 4, див. с. 77). Площа поперечного перерізу клітини за впливу

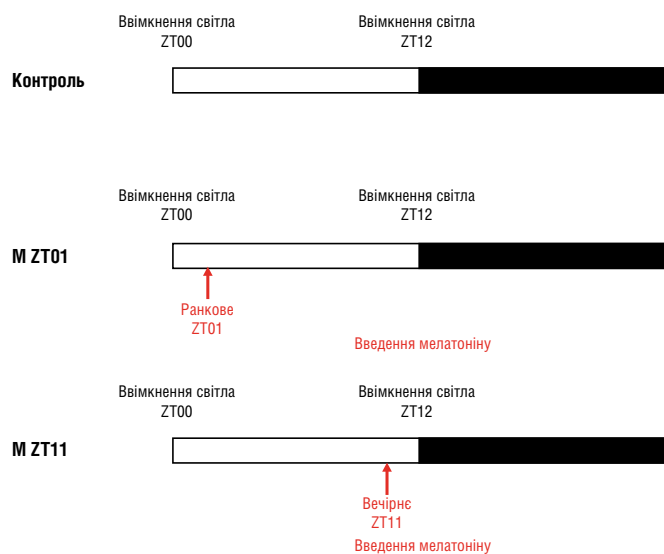


Рис. 1. Схема протоколу введення мелатоніну в експериментальних групах щурів.

мелатоніну достовірно не змінювалась. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення після дії мелатоніну значно зростало за обох режимів введення – у M ZT01 на 53 %, у M ZT11 на 68 % відповідно. Різниця між групами, що отримували мелатонін, становить більше 10 % у M ZT11 в порівнянні за ранкові введення. Це свідчить про підвищення функціональної активності бурих адипоцитів за рахунок стимуляції синтетичних процесів в ядрі, що може бути пов'язано з експресією ряду генів, в тому числі і термогеніну [56].

За стандартної гістологічної обробки матеріалу ліпіди, що депонуються в адипоцитах у вигляді включень, вимиваються під час зневоднення тканини. Тому місця їх локалізації у цитоплазмі клітини після фарбування еозином залишаються незабарвленими. На меншому збільшенні об'єктива можна оцінити загальну яскравість, що напряму залежить від кількості ліпідів в тканині – оптично темніше виглядає тканина після впливу мелатоніну (рис. 5, див. с. 77).

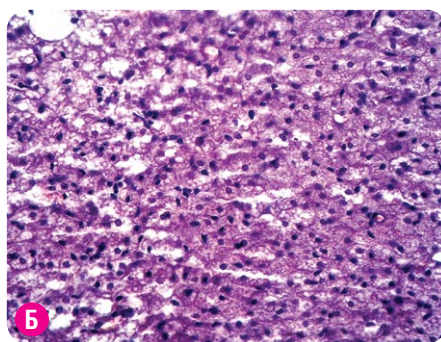
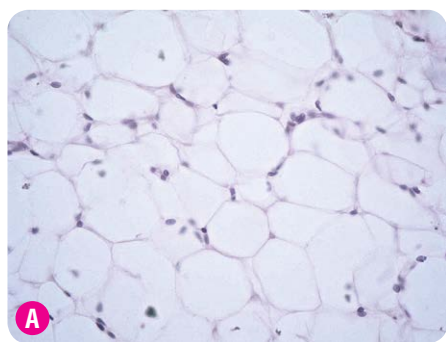


Рис. 2. Мікрофотографії зрізів жирової тканини щурів: А – білої, Б – бурої; забарвлення гематоксилін-еозином, світлова мікроскопія, ок. x10, об. x40.

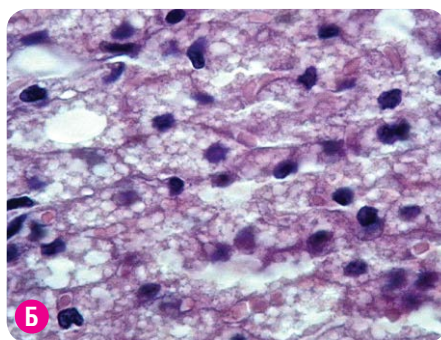
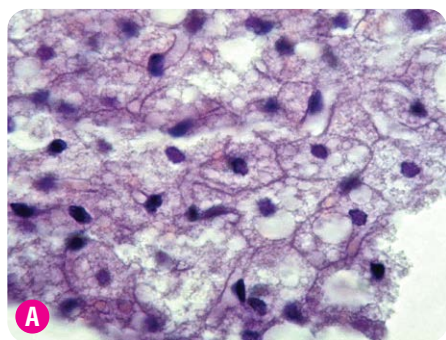


Рис. 3. Мікрофотографії зрізів бурої жирової тканини щурів: А – контроль, Б – група M ZT01, В – група M ZT11; забарвлення гематоксилін-еозином, світлова мікроскопія, ок. x10, об. x100.

Дані морфометричного аналізу є цьому підтвердженням: у групі M ZT01 оптична щільність БЖТ зростає на 29 %, у M ZT11 – на 21 % (рис. 6). Такий результат спостерігається, оскільки збільшується кількість ліпідних включень на кожен адипоцит: у M ZT01 на 70 % і у M ZT11 на 60 %. При цьому зменшується площа їх поперечного перерізу – у M ZT01 на 50 % і у M ZT11 на 45 %. Оскільки оптична щільність БЖТ підвищується, а ліпідних включень стає більше при зменшенні їх розмірів за умови незмінної площі адипоцита, за літературними даними [57, 58] це може бути опосередкованим свідченням зростання кількості мітохондрій в клітинах. Даний факт пояснюється тим, що більша кількість мітохондрій забезпечує значне розщеплення триацилгліцеридів, що веде до поступового зменшення розміру ліпідних включень. Дані про зменшення розмірів ліпідних включень узгоджуються з результатами, що були отримані на культурі клітин ембріональних фібробластів мишей лінії 3T3-L1 після додавання

в середовище культивування мелатоніну [47]. При цьому авторами було показано підвищену експресію PPAR α .

Відносна маса БЖТ після введення мелатоніну значно зростає: у групі M ZT01 на 20 % і у M ZT11 на 56 %, причому відмічена достовірна різниця між групами, що отримували мелатонін – на 30 % більше у M ZT11 в порівнянні з M ZT01. Проте при вплив на приріст загальної маси був відсутнім (табл. 1). Ми вважаємо, що такі зміни відбулися не за рахунок підвищення споживання корму, а через стимулювання мелатоніном диференціації преадипоцитів в напрямку бурих адипоцитів, оскільки гіпертрофія адипоцитів не спостерігалась (лінійні розміри бурих адипоцитів не змінювались).

При цьому різниця в дії мелатоніну при різних режимах введення може пояснюватись залученням не лише мелатонінових рецепторів на адипоцитах, але і опосередкованих шляхів сигналіну через включення гіпоталамічних ядер та периферичної нервової системи.

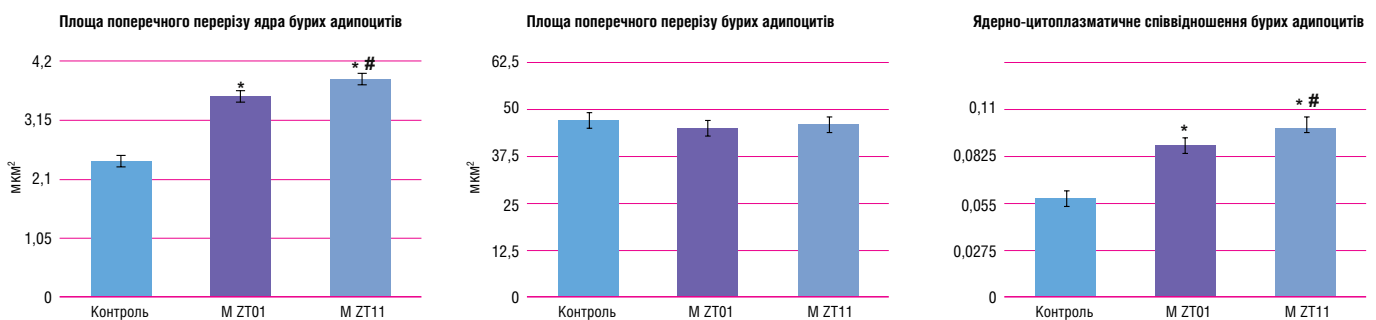


Рис. 4. Дані морфометричного аналізу площі поперечного перерізу клітини, ядра та ядерно-цитоплазматичного співвідношення бурих адипоцитів щурів.

Примітки: * – відмінності достовірні між контрольною та дослідними групами, $p \leq 0,05$; # – відмінності достовірні між групами M ZT01 та M ZT11, $p \leq 0,05$.

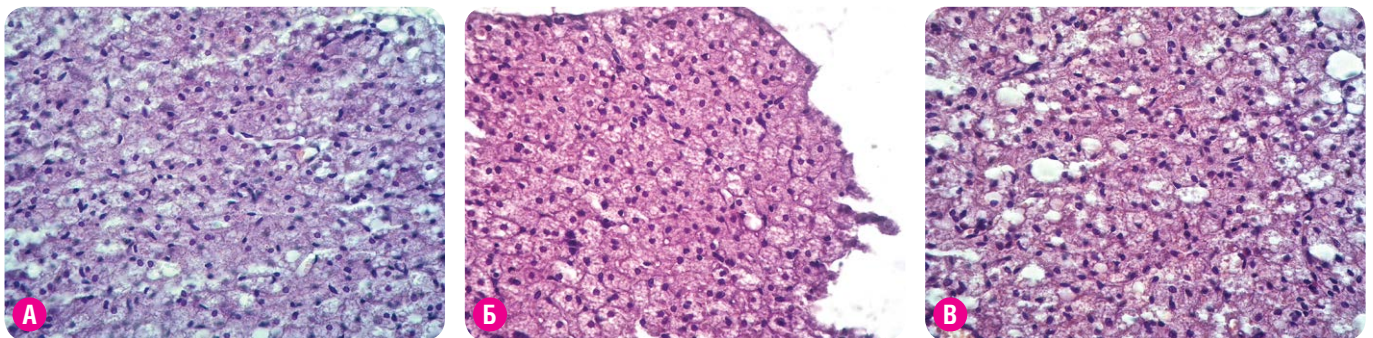


Рис. 5. Мікрофотографії зрізів бруї жирової тканини щурів: А – контроль, Б – група M ZT01, В – група M ZT11; забарвлення гематоксилін-еозин, світлова мікроскопія, ок. $\times 10$, об. $\times 40$.

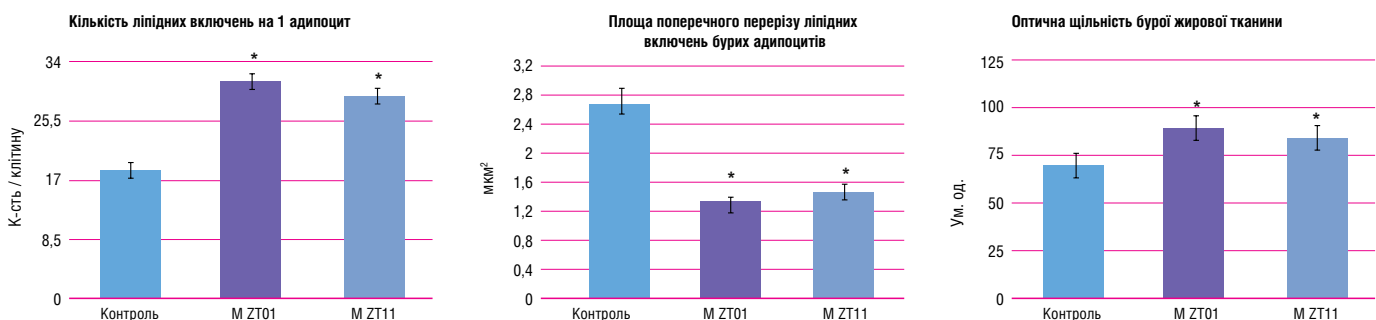


Рис. 6. Дані морфометричного аналізу кількості, площі поперечного перерізу ліпідних включень бурих адипоцитів та оптичної щільності БЖТ щурів.

Примітки: * – відмінності достовірні між контрольною та дослідними групами, $p \leq 0,05$; # – відмінності достовірні між групами M ZT01 та M ZT11, $p \leq 0,05$.

Шкала в умовних одиницях: 100 – чорне, 0 – біле.



Таблиця 1. Загальна характеристика змін маси бурої жирової тканини, тіла і споживання їжі у щурів експериментальних груп.

ПАРАМЕТР	К	М ЗТ01	М ЗТ11
Відносна маса бурої жирової тканини, %	0,068 ± 0,005	0,082 ± 0,011 *	0,106 ± 0,011* #
Приріст маси тіла, %	195 ± 23	236 ± 16	207 ± 23
Споживання їжі, ккал/г маси тіла за день	0,247 ± 0,002	0,258 ± 0,005	0,245 ± 0,003
Споживання води, мл/ г маси тіла за день	38,9 ± 0,8	39,3 ± 0,9	39,3 ± 0,6

ВИСНОВКИ

За даними морфофункціонального аналізу мелатонін підсилює адипогенез бурої жирової тканини та активує роботу бурих адипоцитів, що проявляється у зміні відносної маси тканини і кількості ліпідних включень в клітині.

Даний ефект має залежність від часу введення. Ефективним режимом введення мелатоніну для активації функції ліполізу бурої жирової тканини є вечірнє введення за годину до вимкнення світла, оскільки при цьому збільшується площа поперечного перерізу ядра бурих адипоцитів, ядерно-цитоплазматичне співвідношення та відносна маса бурої жирової тканини в порівнянні з ранковим введенням за годину після ввімкнення світла.

Ефекти різних режимів введення мелатоніну на цитологічному рівні проявляються майже однаково на функціональному стані бурих адипоцитів, проте на рівні організму при вечірніх введеннях спостерігається збільшення відносної маси бурої жирової тканини.

СПИСОК ЦИТОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

- Hardeland R., Cardinali D., Srinivasan V., et al. Melatonin—A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Prog Neurobiol.* 2011. **93**, № 3. P. 350-384.
- Pfeffer M., Korf H., Wicht H. Synchronizing effects of melatonin on diurnal and circadian rhythms *Gen Comp Endocrin.* 2017. **258**. P. 215-221.
- Reina M., Martínez A. A new free radical scavenging cascade involving melatonin and three of its metabolites (3OHM, AFMK and AMK). *Comput Theoret Chem.* 2018. **1123**. P. 111-118.
- Acuña-Castroviejo D., Escames G., Venegas C., et al. Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cell Mol Life Sci.* 2014. **71**, № 16. P. 2997-3025.
- Ekmekcioglu C. Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance. *Biomed Pharmacother.* 2006. **60**, № 3. P. 97-108.
- Slominski R. M., Reiter R., Schlabritz-Loutsevitch N., et al. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. *Mol Cell Endocrinol.* 2012. **351**, № 2. P. 152-166.
- Tosini G., Owino S., Guilleme J-L., et al. Melatonin receptors: latest insights from mouse models. *BioEssays.* 2014. **36**, № 8. P. 778-787.
- Liu J., Clough S. J., Hutchinson A. J., et al. MT1 and MT2 Melatonin Receptors: A Therapeutic. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2016. **56**. P. 361-383.
- Becker-Andre M., Wiesenberg I., Schaeren-Wiemers N., et al. Pineal gland hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear receptor superfamily. *J Biol Chem.* 1994. **269**. P. 28531-28534.
- Pandi-Perumal S., Trakht I., Srinivasan V., et al. Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol.* 2008. **85**. P. 335-353.
- Niles L. P., Armstrong K. J., Castro L. M., et al. Neural stem cells express melatonin receptors and neurotrophic factors: colocalization of the MT 1 receptor with neuronal and glial markers. *BMC neurosci.* 2004. **5**, № 1. P. 41.
- Kong X., Li X., Cai Z., et al. Melatonin regulates the viability and differentiation of rat midbrain neural stem cells. *Cell Mol Neurobiol.* 2008. **28**, № 4. P. 569-579.
- Sotthibundhu A., Phansuwan-Pujito P., Govitrapong P. Melatonin increases proliferation of cultured neural stem cells obtained from adult mouse subventricular zone. *J Pineal Res.* 2010. **49**, № 3. P. 291-300.
- Fu J., Zhao S., Liu H., et al. Melatonin promotes proliferation and differentiation of neural stem cells subjected to hypoxia in vitro. *J Pineal Res.* 2011. **51**, № 1. P. 104-112.
- Shuai Y., Liao L., Su X., et al. Melatonin Treatment Improves Mesenchymal Stem Cells Therapy by Preserving Stemness during Long-term In Vitro Expansion. *Theranostics.* 2016. **6**, № 11. P. 1899-1917.
- Mias C., Trouche E., Seguelas M., et al. Ex vivo pretreatment with melatonin improves survival, proangiogenic/mitogenic activity, and efficiency of mesenchymal stem cells injected into ischemic kidney. *Stem cells.* 2008. **26**, № 7. P. 1749-1757.
- Zaminy A., Ragerdi Kashani I., Barbarestani M., et al. Osteogenic differentiation of rat mesenchymal stem cells from adipose tissue in comparison with bone marrow mesenchymal stem cells: melatonin as a differentiation factor. *Iranian Biomed J.* 2008. **12**, № 3. P. 133-141.
- Lee S., Jung Y., Oh S., et al. Melatonin enhances the human mesenchymal stem cells motility via melatonin receptor 2 coupling with Gαq in skin wound healing. *J Pineal Res.* 2014. **57**, № 4. P. 393-407.
- Wu H., Song C., Zhang J., et al. Melatonin-mediated upregulation of GLUT1 blocks exit from pluripotency by increasing the uptake of oxidized vitamin C in mouse embryonic stem cells. *FASEB J.* 2017. **31**, № 4. P. 1731-1743.
- Shu T., Fan L., Wu T., et al. Melatonin promotes neuroprotection of induced pluripotent stem cells-derived neural stem cells subjected to H2O2-induced injury in vitro. *Eur J Pharmacol.* 2018. **825**. P. 143-150.
- Cho Y. A., Noh K., Jue S. S., et al. Melatonin promotes hepatic differentiation of human dental pulp stem cells: clinical implications for the prevention of liver fibrosis. *J Pineal Res.* 2015. **58**, № 1. P. 127-135.
- Majidinia M., Reiter R. J., Shakouri S. K., et al. The multiple functions of melatonin in regenerative medicine. *Ageing Res. Rev.* 2018. URL: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.04.003>
- Luchetti F., Canonico B., Bartolini D., et al. Melatonin regulates mesenchymal stem cell differentiation: a review. *J Pineal Res.* 2014. **56**, № 4. P. 382-397.

24. Nedergaard J., Bengtsson T., Cannon B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007. **293**, № 2. P. E444-E452.
25. Saito M., Okamatsu-Ogura Y., Matsushita M., et al. High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity. *Diabetes.* 2009. **58**, № 7. P. 1526-1531.
26. Townsend K., Tseng Y. H. Brown adipose tissue: recent insights into development, metabolic function and therapeutic potential. *Adipocyte.* 2012. **1**, № 1. P. 13-24.
27. Roman S., Agil A., Peran M., et al. Brown adipose tissue and novel therapeutic approaches to treat metabolic disorders. *Transl Res.* 2015. **165**, № 4. P. 464-479.
28. Wang Q., Zhang M., Ning G., et al. Brown adipose tissue in humans is activated by elevated plasma catecholamines levels and is inversely related to central obesity. *PLoS one.* 2011. **6**, № 6. P. e21006.
29. Vosselman M. J., Van der Lans A. A., Brans B., et al. Systemic β -adrenergic stimulation of thermogenesis is not accompanied by brown adipose tissue activity in humans. *Diabetes.* 2012. **61**, № 12. P. 3106-3113.
30. Boström P., Wu J., Jedrychowski M. P., et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature.* 2012. **481**, № 7382. P. 463-468.
31. Moreno-Navarrete J. M., Ortega F., Serrano M., et al. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013. **98**, № 4. P. E769-E778.
32. Bartness T. J., Demas G. E., Song C. K. Seasonal changes in adiposity: the roles of the photoperiod, melatonin and other hormones, and sympathetic nervous system. *Exp Biol Med.* 2002. **227**, № 6. P. 363-376.
33. Brydon L., Petit L., Delagrègne P., et al. Functional expression of MT2 (Mel1b) melatonin receptors in human PAZ6 adipocytes. *Endocrinology.* 2001. **142**, № 10. P. 4264-4271.
34. Alonso-Vale M. I., Anhe G. F., das Neves Borges-Silva C., et al. Pinealectomy alters adipose tissue adaptability to fasting in rats. *Metabolism.* 2004. **53**, № 4. P. 500-506.
35. Elabd C., Chiellini C., Carmona M., et al. Human Multipotent Adipose-Derived Stem Cells Differentiate into Functional Brown Adipocytes. *Stem cells.* 2009. **27**, № 11. P. 2753-2760.
36. Ahfeldt T., Schinzel R. T., Lee Y. K., et al. Programming human pluripotent stem cells into white and brown adipocytes. *Nature cell biology.* 2012. **14**, № 2. P. 209-219.
37. Nishio M., Yoneshiro T., Nakahara M., et al. Production of functional classical brown adipocytes from human pluripotent stem cells using specific hemopoietin cocktail without gene transfer. *Cell metabolism.* 2012. **16**, № 3. P. 394-406.
38. Tan D. X., Manchester L. C., Fuentes-Broto L., et al. Significance and application of melatonin in the regulation of brown adipose tissue metabolism: relation to human obesity. *Obes Rev.* 2011. **12**, № 3. P. 167-188.
39. Rieck B., Schlaak S. In vivo tracking of rat preadipocytes after autologous transplantation. *Ann Plast Surg.* 2003. **51**, № 3. P. 294-300.
40. Tseng Y. H., Kokkotou E., Schulz T. J., et al. New role of bone morphogenetic protein 7 in brown adipogenesis and energy expenditure. *Nature.* 2008. **454**, № 7207. P. 1000-1004.
41. Tanzi M. C., Farè S. Adipose tissue engineering: state of the art, recent advances and innovative approaches. *Expert Rev Med Devices.* 2009. **6**, № 5. P. 533-551.
42. Itoi Y., Takatori M., Hyakusoku H., et al. Comparison of readily available scaffolds for adipose tissue engineering using adipose-derived stem cells. *JPRAS.* 2010. **63**, № 5. P. 858-864.
43. Bonnefont-Rousselot D., Collin F. Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. *Toxicology.* 2010. **278**, № 1. P. 55-67.
44. Reiter R. J., Tan D. X., Herman T. S., et al. Melatonin as a radioprotective agent: a review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004. **59**, № 3. P. 639-653.
45. Le Gouic S., Atgji C., Viguier-Bascands N., et al. Characterization of a melatonin binding site in Siberian hamster brown adipose tissue. *Eur J Pharmacol.* 1997. **339**, № 2-3. P. 271-278.
46. Prunet-Marcassus B., Ambid L., Viguier-Bascands N., et al. Evidence for a direct effect of melatonin on mitochondrial genome expression of Siberian hamster brown adipocytes. *J Pineal Res.* 2001. **30**, № 2. P. 108-115.
47. Kato H., Tanaka G., Masuda S., et al. Melatonin promotes adipogenesis and mitochondrial biogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *J Pineal Res.* 2015. **59**, № 2. P. 267-275.
48. Rhee Y. H., Ahn J. C. Melatonin attenuated adipogenesis through reduction of the CCAAT/enhancer binding protein beta by regulating the glycogen synthase 3 beta in human mesenchymal stem cells. *J Physiol Biochem.* 2016. **72**, № 2. P. 145-155.
49. Zhang L., Su P., Xu C., et al. Melatonin inhibits adipogenesis and enhances osteogenesis of human mesenchymal stem cells by suppressing PPAR γ expression and enhancing Runx2 expression. *J Pineal Res.* 2010. **49**, № 4. P. 364-372.
50. Alonso-Vale M. I. C., Peres S. B., Vernochet C., et al. Adipocyte differentiation is inhibited by melatonin through the regulation of C/EBP β transcriptional activity. *J Pineal Res.* 2009. **47**, № 3. P. 221-227.
51. Laitinen J. T., Castrén E., Vakkuri O., et al. Diurnal rhythm of melatonin binding in the rat suprachiasmatic nucleus. *Endocrinology.* 1989. **124**, № 3. P. 1585-1587.
52. Acuña-Castroviejo D., Reiter R. J., Menendez-Pelaez A., et al. Characterization of high-affinity melatonin binding sites in purified cell nuclei of rat liver. *J Pineal Res.* 1994. **16**, № 2. P. 100-112.
53. Dallmann R., Brown S. A., Gachon F. Chronopharmacology: new insights and therapeutic implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2014. **54**. P. 339-361.
54. McKenna H., van der Horst G. T., Reiss I., et al. Clinical chronobiology: a timely consideration in critical care medicine. *Crit Care.* 2018. **22**, № 1. P. 124.
55. Dyar K. A., Eckel-Mahan K. L. Circadian Metabolomics in Time and Space. *Front Neurosci.* 2017. **11**. P. 369.
56. Yang F., Zhang L., Zhu W. Adaptive thermogenesis of brown adipose tissue in tree shrews (*Tupaia belangeri*): Role of melatonin. *J Zool Biosci Res.* 2017. **1**, № 4. P. 1-7.
57. Gao A. W., Houtkooper R. H. Mitochondrial fission: firing up mitochondria in brown adipose. *EMBO J.* 2014. **33**, № 5. P. 401-402.
58. Contreras C., Nogueiras R., Diéguez C., et al. Hypothalamus and thermogenesis: heating the BAT, browning the WAT. *Mol Cell Endocrinol.* 2016. **438**. P. 107-115.



СТАТТЯ НА САЙТІ
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Автори підтверджують відсутність можливих конфліктів інтересів.

Надійшла до редакції 14.04.2018 р.

Прийнята до друку 30.05.2018 р.