

І.Г. Літовка, У.О. Мазепа-Крижанівська, В.Я. Березовський

## Вплив мелатоніну на метаболізм кісткової тканини

*В огляді сучасної літератури за період 2000–2013 рр. представлено дані про вплив мелатоніну на органічний та неорганічний матрикс кісткової тканини. Наведені результати дають підстави вважати, що мелатонін є важливим медіатором у формуванні кісткової тканини. Він може запобігати передчасному руйнуванню кісткової тканини та сприяти її відновленню за допомогою механізмів мелатонінопосередкованих рецепторів і рецепторів самостійної дії.*

*Ключові слова: мелатонін, кісткова тканина.*

### ВСТУП

Сполучна тканина відіграє важливу структурну та функціональну роль в організмі людини та тварин. Вона створює основу шкіри, судинної стінки, м'язів, фасцій, оболонки нервів тощо. Опорну функцію забезпечують кісткова, хрящова та сухожильна тканини.

Засновник учення про «фізіологічну систему сполучної тканини» О.О. Богомолець наголошував на важливості вивчення її реактивності [1, 2]. Він вважав, що старіння починається зі сполучної тканини, різновидом якої є кісткова тканина, яка по суті являє собою мінералізований позаклітинний матрикс і має спеціалізовані клітини: остеобласти, остецити і остеокласти. З віком у кістковій тканині змінюється клітинний склад, співвідношення основних структурних макромолекул міжклітинної речовини. Збільшується вміст колагену та змінюються його біофізичні властивості. Водночас зменшується концентрація глікопротеїдів, глікозаміногліканів, протеогліканів, еластичних волокон. Все це призводить до зниження інтенсивності метаболізму, швидкості мінералізації остеоїдної тканини, зменшення кількості клітин остеобластного ряду. Порушується співвідношення органічних та неорганічних компонентів,

мінералізація матриксу та структура і функції білкової матриці кістки [3].

Комплекс вікових змін кісткової тканини моделює початкові стадії проявів остеопорозу. В останні десятиліття ця форма клінічної патології набула істотного поширення серед населення багатьох розвинутих країн. За даними медичної статистики, станом на 2010 р. остеопороз становить близько 10 % від загальної захворюваності. Незважаючи на значні успіхи у створенні лікарських засобів, остеопороз залишається основною причиною переломів кісток, тимчасової або постійної втрати працездатності та інвалідизації населення. Якщо у минулі часи така патологія була типова лише для старших вікових груп, то нині вона вражає й молодь.

Фізіологічна регенерація кісткової тканини у ссавців відбувається безперервно протягом усього життя. Вона контролюється трофічними нейрогенними впливами та системними гормонами. Серед них найбільш дослідженими є паратиреоїдний гормон, кальцитонін та гормон росту. Існують також численні локальні гуморальні фактори росту – природні поліпептиди, близькі до гормонів, що діють на кісткову тканину через аутокринні, паракринні та ендокринні механізми [4–8].

© І.Г. Літовка, У.О. Мазепа-Крижанівська, В.Я. Березовський

В останні роки виявлені нові фактори росту та гормони, які здійснюють різноспрямовані впливи на процеси ремоделювання кісткової тканини та її масу. Серед них мелатонін – основний гормон епіфіза, який секретується шишкоподібною залозою. Проте в організмі виявлено і екстрапінеальний мелатонін, що синтезується поза епіфізом.

### **Мелатонін як індикатор циркадних ритмів метаболізму кісткової тканини**

Клітини-мішені мелатоніну виявлено у печінці, нирках, наднирникових залозах, жовчному міхурі, яєчниках, ендометрії, плаценті, тимусі, лейкоцитах, ендотелії, в сітківці ока, шлунково-кишковому тракті, кістковому мозку [9, 10]. Екстрапінеальну продукцію мелатоніну відкрили російські учені Кветний і Райхлін [11]. Екстрапінеальний мелатонін відіграє роль паракринної сигнальної молекули для локальної координації клітинної функції та міжклітинних зв'язків у нормі та патології. Він може діяти і як типовий гормон, сягаючи віддалених клітин-мішеней за допомогою кровотока. Функціонально всі клітини, що продукують мелатонін, мають відношення до так званої дифузної нейроендокринної системи, універсальної системи адаптації та підтримки гомеостазу організму.

Взаємодія мелатоніну з клітинами може відбуватися різними способами. За своєю природою мелатонін – це похідне індолу, має амфіфільні властивості. Його молекула в а.о.м. становить 232,3. Внаслідок цього він долає всі тканинні бар'єри, вільно проходить через клітинну мембрану. Мелатонін може впливати на внутрішньоклітинні процеси минаючи систему рецепторів і вторинних меседжерів або взаємодію з ядерними рецепторами. Він здатний впливати на клітинні системи шляхом зміни процесів міжклітинної взаємодії [12]. За своїми властивостями цей гормон належить до циркадно-залежних регуляторів метаболізму та кальцієвого гомеостазу кістки.

Біоритмологічна структура метаболізму кісткової тканини є досить пластичною

та легко модифікується змінами рухової активності, ритму світло/темрява, режиму харчування [13]. Показано, що порушення фотоперіодизму може призводити до інтенсифікації або гальмування ремоделювання кістки [14, 15]. В літературі існує точка зору, що мелатонін регулює циркадні ритми метаболізму кістки. Він діє опосередковано, через зміни концентрацій ендогенних факторів – паратиреоїдного та тиреоїдного гормонів, інсуліноподібного фактора росту 1.

Припускають, що, з одного боку, важливими синхронізаторами цих ритмів у щурів є паратиреоїдний гормон, мелатонін, гормон росту, інсуліноподібний фактор росту 1 [16]. З іншого боку, ці гормональні ритми у щурів самі обмежені співвідношенням періодів освітлення та темряви.

Дослідження, проведені на щурах, показали, що вміст маркерів формування кісткової тканини (лужної фосфатази та С-термінальних пропептидів колагену I типу (CICP) і показників руйнування (гідроксипроліну, кальцію, карбокситермінальних телопептидів колагену I типу) знижується з 8-ї до 17-ї години [13]. Концентрація паратиреоїдного гормону мінімальна з 5-ї до 8-ї і з 17-ї до 23-ї години. Концентрація інсуліноподібного фактора росту 1 була високою між 20-ю та 11-ю годинами. Разом із тим вміст CICP зростав з 20-ї до 11-ї, карбокситермінальних телопептидів колагену I типу – з 23-ї до 5-ї, гідроксипроліну – з 21.30 до 6.30, кальцію – з 3.30 до 9.30. Концентрація неорганічного фосфору зменшувалася з 14.00 до 23.00.

Протилежний ефект зафіксовано в інші періоди часу 24-годинного циклу. Збільшення секреції паратиреоїдного гормону та гормону росту спостерігали з 8-ї до 17-ї години. Вміст інсуліноподібного фактора росту 1 був знижений о 2-й, 14-й та 23-й годині.

Синхронність і магнітуда циркадних ритмів виявляється обмеженою періодом годування, циклом світло/темрява та ендокринними взаємозв'язками [17]. У дослідах, проведених на щурах [16], показано, що

вірогідними регуляторами циклічності є паратиреоїдний гормон, інсуліноподібний фактор росту 1, гідроксипролін і мелатонін [13, 18], які впливають на кістковий метаболізм *in vitro* та мають денний ритм (особливо інсуліноподібний фактор росту 1) *in vivo*. Ці гормональні ритми у щурів виявляються обмеженими періодичністю світла та темряви. Крім того, світловий цикл залишається основним синхронізатором кісткового ремоделювання [13, 16, 19].

Мелатонін також виконує функції модулятора диференціації остеобластів та остеокластів [20]. Він сприяє мінералізації матриксу у культурі, посилює синтез колагенових та неколагенових білків кісткового матриксу, гальмує розвиток остеопенії, активуючи секрецію гормону росту у щурів [10].

У модельних експериментах на трансгенній лінії (MMTV-Neu) сліпих мишей, але реагуючих на світло, було показано вплив замісної гормональної терапії або нічного прийому мелатоніну на маркери остеогенезу та його вміст у сироватці крові. Концентрація мелатоніну у цих мишей (FVB / N) з дегенерацією сітківки (RD-/-) змінюється в межах доби. Ефект хронічної замісної гормональної терапії (0,5 мг 17 $\beta$ -естрадіолу та 50 мг прогестерону в 1800 ккал раціону) окремо і в комбінації з мелатоніном (15 мг/л питної води) на якість та щільність кісток оцінювали гістоморфометрично та мікрокомп'ютерною томографією відповідно. Після 1-го року лікування щільність кістки вірогідно зросла на 22 % і на 20 % після прийому мелатоніну на ніч у порівнянні з контролем. Лише замісна гормональна терапія збільшила кісткову поверхню, зменшила трабекулярний простір, знизила кількість остеокластів, не впливаючи на кількість остеобластів порівняно з контролем, а у комплексі з мелатоніном дещо збільшила щільність кісткової тканини. Ці дані дають змогу припустити, що ендогенний ритм мелатоніну модулює важливі якісні та кількісні показники кісткової тканини. Замісна гормональна терапія з/або без додавання

мелатоніну на ніч у мишей проявляє унікальні впливи на маркери кісткової тканини та її щільність. Наслідки цих засобів корекції поодиночі і в поєднанні можуть поліпшити стан кісткової тканини у жінок у перименопаузі та у осіб із низьким вмістом введеного вночі мелатоніну від порушень глибини сну, надлишку освітлення або віку [21].

Досліджено вплив екзогенно введеного мелатоніну (у період мінімуму його природного синтезу приблизно 17.00) на ліпідний та амінокислотний склад органічного матриксу у 11- і 15-місячних щурів-самців лінії Вістар. Відмічено, вірогідне підвищення концентрації загальних фосфоліпідів у цих тварин на 19 і 26 % відповідно. Екзогенний мелатонін у концентрації 1 мг/кг вірогідно знижує концентрацію цистину – на 35 %, орнітину на 59 %, лізину на 33 % у кістковій тканині 11-місячних щурів. У 15-місячних тварин спостерігали вірогідне зниження концентрації серину й аспарагінової кислоти на 29 %. Висловлено думку, що екзогенний мелатонін опосередковано впливає на кістковий метаболізм за допомогою підвищення вмісту полярних ліпідів та зниження вільних амінокислот. Це свідчить про здатність мелатоніну активувати процеси ремоделювання кісткової тканини та інтенсифікувати в ній синтез колагену [22]. Аналогічними дослідженнями підтверджено, що ритми та амплітуда синтезу мелатоніну в організмі людей і тварин не обмежуються лише періодичністю світла та темряви, а залежать від експресії цього гормону, яка з віком знижується [23, 24].

*Вплив пінеалектомії на кістковий метаболізм.* Факт впливу пінеалектомії на кістковий метаболізм було показано на вівцях. Досліджено [25] чотири групи самоць овець: контрольну, з хірургічною оваріектомією, з хірургічною пінеалектомією та овець, яким було здійснено обидва втручання. До та через 6 міс після операції вивчали біоптат гребеня клубової кістки. Структурні показники вимірювали за допомогою мікротомографічної цифрової системи ( $\mu$ CT 40, Scanco

Medical, Bassersdorf, Switzerland). Визначали маркери формування та резорбції кістки. Для оцінки довгострокових змін після пінеалектомії, аналізували мінеральну щільність кістки через 0, 3, 9, 18 і 30 міс. Індекс об'єму губчастої кістки через 6 міс знизився на 13,3 % після пінеалектомії і на 21,5 % після оваріектомії та пінеалектомії. Зниження цього показника, на думку авторів, можуть бути зумовлені збільшенням частки губчастої частини, а також зменшенням її щільності. Кількісна гістоморфометрична оцінка та визначення продуктів деградації колагену підтвердили підвищення резорбції кісткової тканини після пінеалектомії. Оваріектомія призводить до тимчасової втрати маси нижньої третини променевої кістки з подальшим збільшенням її до вихідного рівня. Зміни після пінеалектомії у овець свідчать про втрату кісткової маси, яка не була тимчасовою, оскільки постійне зниження мінеральної щільності спостерігали до 30 міс. Таким чином, шишкоподібна залоза впливає на метаболізм кісткової тканини, а пінеалектомія може бути використана як модель деструкції скелета.

Досліджено радіологічні та гістологічні зміни в шийних хребцях курчат на моделі грудного сколіозу. Сорок бройлерів після вилуплення рендомізовано розподілено на чотири рівні групи: просто прооперовані (контроль), курчата після пінеалектомії, прооперовані з введенням мелатоніну і курчата з пінеалектомією, яким внутрішньоочеревинно вводили мелатонін. Пінеалектомію проводили тридобовим курчатам, а забивали в двомісячному віці. Вивчали гістологічні зразки відсканованого шийного хребця. Середньосагітальний зріз фарбували гематоксиліном і еозином та обробляли тар-тратрезистентною кислотою фосфатазою для оцінки кількості остеобластів і остеокластів відповідно. Сколіоз розвивався в грудному відділі хребта в усіх курчат після пінеалектомії і в двох після пінеалектомії з введенням мелатоніну. Дані мікротомографії показали, що курчата після пінеалектомії мали значний

ступінь загального остеопорозу порівняно з іншими птахами. Кількість остеобластів була значно нижчою після пінеалектомії, в той час як ніяких істотних відмінностей у числі остеокластів всіх інших особин не спостерігалося. Встановлено зниження проліферації остеобластів при дефіциті мелатоніну, що призводить до розвитку сколіозу та остеопорозу. Відновлення вмісту мелатоніну запобігає розвитку цих патологій. На думку авторів, цей показник може мати вирішальне значення для розвитку деформацій і остеопорозу при ідіопатичному сколіозі [26]. Подібні дані отримані в роботах Machida та співавт. [27], Man та співавт. [24], Oyama та співавт. [28].

*Вплив мелатоніну на неорганічний матрикс.* У другій половині ХХ сторіччя досліджено вплив мелатоніну на вміст кальцію в тканинах організму. Було відзначено, наприклад, зменшення концентрації кальцію в сироватці крові новонароджених щурів, яким гальмували синтез мелатоніну білим люмінесцентним світлом [29]. Після застосування екзогенного мелатоніну виявлено відновлення вихідного вмісту кальцію. Автори розглядають наслідки світлозалежної гіпокальціємії як результат недостатнього поглинання кальцію кістками за умов, коли вміст мелатоніну знижений після гальмування його синтезу світлом [29]. Крім того, коли секрецію мелатоніну пригнічували у щурів застосуванням  $\beta$ -адреноблокаторів, концентрація кальцію у сироватці крові знижувалася [30]. Після введення мелатоніну цей показник відновлювався. Автори дійшли до висновку, що зменшення концентрації мелатоніну викликає гіпокальціємію. Зроблено припущення, що мелатонін регулює концентрацію кальцію в крові. Оскільки стан кісткової тканини залежить від активності як остеобластів, так і остеокластів, доцільно розглянути вплив мелатоніну на ці клітини.

*Вплив мелатоніну на остеобласти.* Численні дослідження *in vitro* підтвердили гіпотезу стимулювального ефекту мелатоніну на диференціювання та активність

остеобластів. Преостеобласти культивовані за наявності мелатоніну, здійснювали ранне диференціювання і експресію білків кісткових маркерів порівняно з контрольними клітинами інкубованих без мелатоніну [31]. Ці ефекти блокуються лузиндолом, що є антагоністом рецепторів мелатоніну [31]. Вікове зниження продукції мелатоніну може змістити диференціацію клітин кісткового мозку від остеобластичної диференціації до адипоцитотичної лінії клітин. Це може мати відношення до розвитку остеопорузу при старінні [32]. Мелатонін також сприяє остеогенному диференціюванню стовбурових клітин кісткового мозку. Водночас він негативно впливає на диференціювання отриманих із жирової тканини стовбурових клітин [33, 34].

У культурах остеобластів людини [35, 36], мелатонін, у фармакологічних дозах (мкмоль/л): стимулює проліферацію та активність лужної фосфатази цих клітин; сприяє експресії колагену I типу, остеопонтину, кісткового сіалопротеїну й остеокальцину; стимулює формування мінералізованої матриці.

Чи опосередковують сигнальні механізми вплив мелатоніну на остеобласти – невідомо, хоча роль мітогенактивованої протеїнкінази вважається вірогідною [37].

Одним із важливих компонентів діяльності остеобластів є утворення вільних радикалів, які здійснюють процеси руйнування кісток і резорбції [38]. Мелатонін безпосередньо нейтралізує вільні радикали і стимулює активність антиоксидантних ферментів [20, 39], може гальмувати остеокластичну активність. Ці дії сприяють остеобластичній диференціації, активності та експресії остеопротегерину, який запобігає диференціюванню остеокластів, пригнічують вільні радикали, що утворюються при активності остеокластів та реалізують резорбцію кістки.

Існують і протилежні гіпотези щодо впливу мелатоніну на ремоделювання кісткової тканини та роль остеобластів у цьому процесі. Островська та співавт. [15] виявили кореляцію між високими концентраціями

мелатоніну в плазмі крові шурів-самців лінії Вістар і низьким вмістом маркерів формування кістки. В іншому дослідженні проаналізовано ефекти мелатоніну на культуру остеобластів за наявності остеокластів. Виявлено пригнічення активності обох типів клітин, що дало змогу зробити висновок про встановлення балансу між ними [9, 40]. Автори підкреслюють важливість міжклітинної взаємодії остеобластів і остеокластів для розуміння їх фізіологічної активності так само, як і реакції на мелатонін.

*Вплив мелатоніну на остеокласти.* Іншою можливою мішенню для мелатоніну можуть бути остеокласти. Мелатонін, за припущенням Сонсоні та співавт. [41], втручається у функцію остеокластів. Schroeder та співавт. [42] показали, що мелатонін може гальмувати резорбцію кісток. Виявлено, що мелатонін у фармакологічних дозах знижує резорбцію кісткової маси за рахунок пригнічення регуляції RANK-L [43, 44]. Отримані дані свідчать про остеогенний ефект мелатоніну і мають клінічне значення. Препарати мелатоніну використовують як терапевтичний агент при необхідності формування кістки (в лікуванні переломів, остеопенії або остеопорузу). Ці препарати також використовують для стимуляції біоактивної поверхні імплантату [45].

Активність остеокластів перебуває під контролем паракринних факторів, які продукуються остеобластами. Паратиреоїдний гормон і 1,25-дигідроксихолекальциферол стимулюють експресію диференціації фактора остеокластів (ODF) стромальних клітин і остеобластів кісткового мозку. ODF зв'язується з рецептором-активатором ядерного фактора kB (RANK) на поверхні гофрованої облямівки остеокластів – зони кісткової резорбції [4, 46]. Мелатонін, в мікромольних дозах, зменшує експресію RANK мРНК в остеобластах миші і збільшує як мРНК, так і вміст остеопротегерину, який є часткою суперродини TNFR (рецептора фактора некрозу пухлини), який інгібує диференціювання остеокластів зв'язуванням з ODF і запобіган-

ня зв'язування цього фактора з RANK [47]. За допомогою цього шляху, мелатонін може інгібувати кісткову резорбцію та сприяти зростанню маси кісткової тканини.

Показано [48], що пероральне введення екзогенного мелатоніну у дозі 1 мг/кг у період мінімуму його природного синтезу в організмі дає змогу значно підвищити загальну концентрацію цього гормону в сироватці крові 3- та 9-місячних щурів на 50 та 25,6 % відповідно. Збільшення вмісту мелатоніну у сироватці крові як молодих, так і дорослих щурів не супроводжується значними змінами остеометричних показників кістки. Проте інтенсифікує темпи резорбції кісткової тканини у молодих та дорослих щурів, про що свідчить підвищення активності кислоти фосфатази та концентрації глікозаміногліканів у сироватці крові. Автори вважають, що використання екзогенного мелатоніну може бути корисним для нормалізації процесу фізіологічної регенерації кісткової тканини сучасної людини, яка страждає від гіпокінезії та гіподинамії.

*Вплив мелатоніну на остеогенез.* Показано, що мелатонін здатний змінювати остеогенез і остеогенне диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин. Liu та співавт. [49] дослідили дію мелатоніну на проліферацію мезенхімальних стовбурових клітин і остеогенне диференціювання без або за наявності інтерлейкіну-1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), який використовували, щоб викликати запалення. Виявлено поліпшення життєздатності клітин і зменшення генерації активних форм кисню у мезенхімальних стовбурових клітинах залежно від дози мелатоніну. Для дослідження впливу мелатоніну на остеогенез, мезенхімальні стовбурові клітини культивували в середовищі остеогенної диференціації, доповненому IL-1 $\beta$  або мелатоніном. Після впливу IL-1 $\beta$  протягом 21 діб, 1 мкмоль/л мелатоніну значно підвищував вміст колагену I типу, активність лужної фосфатази та остеокальцину. Мелатонін у дозі 100 мкмоль/л максимально підвищував вміст остеопонтину, а також сприяв виживанню мезенхімальних

стовбурових клітин і остеогенному диференціюванню при запаленні в середовищі, індукованому IL-1 $\beta$ . Автори припускають, що мелатонін може бути перспективним для стимуляції регенерації кісткової тканини.

Наведені результати підтвердили, що мелатонін є важливим медіатором у формуванні кісткової тканини [9, 50]. Він може запобігати передчасному руйнуванню кісткової тканини та сприяти її відновленню за допомогою механізмів мелатоніноспосередкованих рецепторів і рецепторів самостійної дії. Налічують три основні механізми ефектів мелатоніну на функцію кісткової тканини, а саме сприяння:

диференціації остеобластів і їх активності; зростанню секреції остеопротегерину; зниженню диференціації та активності остеокластів, гальмування резорбції очищення вільних радикалів, що утворюються завдяки активності остеокластів [9].

Таким чином, виявлена можливість регуляції інтенсивності процесів фізіологічної регенерації кісткової тканини, змінюючи амплітуду та ритм добових флуктуацій концентрації мелатоніну в організмі.

**И.Г. Литовка, У.А. Мазепа-Крижанивская, В.А. Березовский**

#### **ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ**

В обзоре современной литературы за период 2000–2013 гг. представлены данные о влиянии мелатонина на органический и неорганический матрикс костной ткани. Приведенные результаты дают основания полагать, что мелатонин является важным медиатором в формировании костной ткани. Он может предотвращать преждевременное разрушение костной ткани и способствовать ее восстановлению с помощью механизмов мелатонинопосредованных рецепторов и рецепторов самостоятельного действия.

Ключевые слова: мелатонин, костная ткань.

**I.G. Litovka, U.O. Mazepa-Kryzhanivska, V.A. Berezovskii**

#### **THE EFFECT OF MELATONIN ON BONE TISSUE METABOLISM**

In a review of the current literature for the 2000–2013 period, the data of the effect of melatonin on organic and inorganic

matrix of bone tissue have been presented. These results suggest that melatonin is an important mediator in the formation of bone tissue. It can prevent the premature destruction of bone and promote its recovery through mechanisms of melatonin-related receptors and receptors of independent action.

Key words: melatonin, tissue bone .

*O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv*

## REFERENCES

1. Bogomolets A.A. Connective tissue physiological system and affect its function antireticular cytotoxic serum. Physiological system of connective tissue. Kiev: Academy of Sciences of the USSR, 1941. P.23-62.
2. Bogomolets A.A. Selected Works. K.: Science opinion, 1969. 422 p.
3. Podrushnyak E.P. Age-related changes and diseases of the human musculoskeletal system. K.: Health, 1987. 304 p.
4. Cardinali D.P., Ladizesky M.G., Boggio V., Cutrera R.A., Mautalen C. Melatonin effects on bone: experimental facts and clinical perspectives J. of Pineal Research. 2003; **34** (2): 81–87.
5. Fernández-Tresguerres Hernández-Gil I., Alobera-Gracia M. A., Mariano C. P., Jerez L. B. Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal. 2006; **1**: 151-157.
6. Markus R.P., Cecon E., Pires-Lapa M.A. Immune-Pineal Axis: Nuclear Factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) Mediates the Shift in the Melatonin Source from Pinealocytes to Immune Competent Cells. Int. J. Mol. Sci. 2013; **14** (10): 10979-10997.
7. Ohlsson C., Bengtsson B., Isaksson Olle G. Growth Hormone and Bone Endocrine Reviews. 1998; **19** (1): 55-79.
8. Zofková I. Neuro-skeletal biology and its importance for clinical osteology. Cesk Fysiol. 2012; **61** (2): 41-44.
9. Sanchez-Barcelo E.J., Mediavilla M.D., Tan D.X., Reiter R.J. Scientific basis for the potential use of melatonin in bone disease: osteoporosis and adolescent idiopathic scoliosis. J. of Osteoporosis. 2010; **2010** (1): 1-10.
10. Wolden-Hanson T., Mitton D. R., MCCants R. L., Yellon S. M., Wilkinson C. W., Matsumoto A. M., Rasmussen D. D. Daily melatonin administration to middle-Aged Male Rats Suppresses Body Weight, Intraabdominal Adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. Endocrinology. 2000; **41** (2): 487-497.
11. Kvetnoy I.M., Reichlin N.T., Yuzhakov V.V., Ingel I.E. Ekstrapinealny melatonin: the place and role in the neuroendocrine regulation of homeostasis. BEBiM . 1999; **127** (4): 364 – 370.
12. Anisimov V.N. Melatonin role in the body, the application in the clinic. St. Petersburg: Publisher «System», 2007. – 40 p.
13. Ostrowska Z, Kos-Kudla B, Nowak M, Swietochowska E, Marek B, Gorski J, Kajdaniuk D, Wolkowska K. The relationship between bone metabolism, melatonin and other hormones in sham-operated and pinealectomized rats. Endocr. Regul. 2003; **37** (4): 163-174.
14. Cutando A, Gómez-Moreno G, Arana C, Acuña-Castroviejo D, Reiter R.J. Melatonin: potential functions in the oral cavity. J Periodontol. 2007; **78** (6): 1094-1102.
15. Ostrowska Z, Wołkowska-Pokrywa K, Kos-Kudła B, Swietochowska E, Marek B, Kajdaniuk D. Melatonin and bone status. Pol. Merkur. Lekarski. 2006; **21** (124): 389-93.
16. Ostrowska Z., Kos-Kudla K., Marek B. et al. The relationship between the daily profile of chosen biochemical markers of bone metabolism and melatonin and other hormones secretion in rats under physiological conditions. Neuroendocrinol. Lett. 2002; **23** (5–6): 417– 425.
17. Shinoda H., Stern P.H. Diurnal rhythms in Ca transfer into bone, Ca release from bone, and bone resorbing activity in serum of rats. Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 1992; **262** (2): R.235 – R.240.
18. Sirotnin N.N. Effect of adaptation to hypoxia and acclimatization to high mountain climate on the resistance of animals to some extreme effects. Patol. Physiol. Exp. Ter. 1964; **33**: 12–15.
19. Shao P, Ohtsuka-Iso Y.A., Shinoda H. Circadian rhythms in serum bone markers and the relation to the effect of etidronate in rats. Chronobiol. Int. 2003; **20** (2): 325– 326.
20. Reiter R. J., Tan D.-X., Manchester L. C., Qi W. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species: a review of the evidence. Cell Biochemistry and Biophysics. 2001; **34** (2): 237–256.
21. Witt-Enderby P.A., Slater J.P., Johnson N.A., Bondi C.D., Dodda B.R., Kotlarczyk M.P., Clafshenkel W.P., Sethi S., Higginbotham S., Rutkowski J.L., Gallagher K.M., Davis V.L. Effects on bone by the light/dark cycle and chronic treatment with melatonin and/or hormone replacement therapy in intact female mice. J Pineal Res. 2012; **53** (4): 374-384.
22. Berezovskii V.A., Litovka I.G., Veselskii S.P., Zamorska T.M., Yanko R.V. The exogenous melatonin influence on the bone's organic matrix lipid and amino acid. Space Science and Technology. 2012; **18** (3): 78-82.
23. Karasek M. Melatonin, human aging, and age-related diseases. Experimental Gerontology. 2004; **39** (11-12): 1723–1729.
24. Man G.C., Wong J.H., Wang W.W., Sun G.Q. et al. Abnormal melatonin receptor 1B expression in osteoblasts from girls with adolescent idiopathic scoliosis. J. Pineal Res. 2011; **50** (4): 395-402.
25. Egermann M., Gerhardt C., Barth A., Maestroni G.J., Schneider E., Alini M. Pinealectomy affects bone mineral density and structure--an experimental study in sheep. BMC Musculoskelet Disord. 2011; **24** (12): 271-280.
26. Kono H., Machida M., Saito M., Nishiwaki Y., Kato H., Hosogane N., Chiba K., Miyamoto T., Matsumoto M., Toyama Y. Mechanism of osteoporosis in adolescent idiopathic scoliosis: experimental scoliosis in pinea-

- lectomized chickens. *J Pineal Res.* 2011; 51 (4): 387-393.
27. Machida M., Dubouset J., Yamada T. Experimental scoliosis in melatonin-deficient C57BL/6J mice without pinealectomy. *J. of Pineal Research.* 2006; 41 (1): 1-7.
  28. Oyama J., Murai I., Kanazawa K., Machida M. Bipedal ambulation induces experimental scoliosis in C57BL/6J mice with reduced plasma and pineal melatonin levels. *J. of Pineal Research.* 2006; 40 (3): 219–224.
  29. Hakanson D. O., Bergstrom W. H. Phototherapy-induced hypocalcemia in newborn rats: prevention by melatonin. *Science.* 1981; 214 (4522): 807–809.
  30. Hakanson D. O., Penny R., Bergstrom W. H. Calcemic responses to photic and pharmacologic manipulation of serum melatonin. *Pediatric Research.* 1987; 22 (4): 414–416.
  31. Roth J. A., Kim B.-G., Lin W.-L., Cho M.-I. Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. *J. of Biological Chemistry.* 1999; 274 (31): 22041–22047.
  32. Sanchez-Hidalgo M., Lu Z., Tan D.-X., Maldonado M. D., Reiter R.J., Gregerman R.I. Melatonin inhibits fatty acid-induced triglyceride accumulation in ROS17/2.8 cells: implications for osteoblast differentiation and osteoporosis. *Am. J. of Physiology.* 2007; 292 (6): R2208–R2215.
  33. Zaminy A., Kashani I. R., Barbarestani M., Hedayatpour A. 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 Biomedical Journal.* 2008; 12 (3): 133–141.
  34. Zaminy A., Kashani I., Barbarestani M. et al. Effects of melatonin on the proliferation and differentiation of rat adipose-derived stem cell. *Indian Journal of Plastic Surgery.* 2008; 41 (1): 8–14.
  35. Nakade O., Koyama H., Arijji H.Yajima, A., Kaku T. Melatonin stimulates proliferation and type I collagen synthesis in human bone cells in vitro. *J. of Pineal Research.* 1999; 27 (2): 106–110.
  36. Satomura K., Tobiume S., Tokuyama R. et al. Melatonin at pharmacological doses enhances human osteoblastic differentiation in vitro and promotes mouse cortical bone formation in vivo. *J. of Pineal Research.* 2007; 42 (3): 231–239.
  37. Radio N.M., Doctor J. S., A.Witt-Enderby P. Melatonin enhances alkaline phosphatase activity in differentiating human adult mesenchymal stem cells grown in osteogenic medium via MT2 melatonin receptors and the MEK/ERK (1/2) signaling cascade. *J. of Pineal Research.* 2006; 40 (4): 332–342.
  38. Fraser J. H. E., Helfrich M. H., Wallace H. M., Ralston S. H. Hydrogen peroxide, but not superoxide, stimulate bone resorption in mouse calvariae. *Bone* 1996; 19 (3): 223–226.
  39. Reiter R.J., Paredes S.D., Manchester L.C., Tan D.X. Reducing oxidative/nitrosative stress: a new discovered genre for melatonin. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology.* 2009; 44 (2): 175–200.
  40. Suzuki N. Hattori A. Melatonin suppresses osteoclastic and osteoblastic activities in the scales of goldfish. *J. of Pineal Research.* 2002; 33 (4): 253–258.
  41. Conconi S., Hertens E., Skwarlo-Sonta K., Markowska M., Maestroni G.J.M. Evidence for melatonin synthesis in mouse and human bone marrow cells. *J. of Pineal Research.* 2000; 28 (4): 193–202.
  42. Schroeder A., Van Der Zypen E., Stich H., Sutter F. The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces//*J. of Maxillofacial Surgery.* 1981; 9 (1): 15–25.
  43. Penarrocha Diago M., Oltra Moscardo M.J., Sanchis Bielsa J.M. *Implantologia Oral.* Barcelona, Spain: Ars Medica; 2005. *Conceptos generales de implantologia.* - 3–17.
  44. Stefflik D.E., Parr G.R., Sisk A.L. et al. Osteoblast activity at the dental implant-bone interface: transmission electron microscopic and high voltage electron microscopic observations. *J. of Periodontology.* 1994; 65 (5): 404–413.
  45. Lissoni P., Barni S., Cattaneo G. Clinical results with the pineal hormone melatonin in advanced cancer resistant to standard antitumor therapies. *Oncology.* 1991; 48 (6): 448–450.
  46. Krane S. M. Genetic control of bone remodeling-insights from a rare disease. *New England Journal of Medicine.* 2002; 347 (3): 210–212.
  47. Koyama H., Nakade O., Takada Y., Kaku T., Lau K.-H.W. Melatonin at pharmacologic doses increases bone mass by suppressing resorption through down-regulation of the RANKL-mediated osteoclast formation and activation//*J. of Bone and Mineral Research.* 2002; 17 (7): 1219–1229.
  48. Berezovskiy V.A., Litovka I.G., Kostjuchenko A.S., Yanko R.V. Influence of melatonin on the bone tissue physiological regeneration processes of young and adult rats. *Space Science and Technology.* 2008; 14 (3): 75-81.
  49. Liu X., Gong Y., Xiong K., Ye Y., Xiong Y., Zhuang Z., Luo Y., Jiang Q., He F. Melatonin mediates protective effects on inflammatory response induced by interleukin-1 beta in human mesenchymal stem cell. *J. Pineal Res.* 2013; 54 (1): 67-72.
  50. Magri F., Sarra S., Cinchetti W. Qualitative and quantitative changes of melatonin levels in physiological and pathological aging and in centenarians. *J. of Pineal Research.* 2004; 36 (4): 256–261.