

ПРОУЧВАНЕ НА ВЛИЯНИЕТО НА ЕКЗОГЕНЕН МЕЛАТОНИН ВЪРХУ ИНДЕКСА НА ТЕЛЕСНА МАСА ПРИ ПЛЪХОВЕ С АЛИМЕНТАРЕН МОДЕЛ НА ЗАТЛЪСТЯВАНЕ

Дария Чивчибаши-Павлова, Диана Кючукова, Ганка Бекярова,
Камелия Братоева

УС по патофизиология, Катедра по физиология и патофизиология,
Факултет по медицина, Медицински университет – Варна

EFFECTS OF MELATONIN SUPPLEMENTATION ON BODY MASS INDEX IN A DIET-INDUCED OBESITY RAT MODEL

Dariya Chivchibashi-Pavlova, Diyana Kyuchukova, Ganka Bekyarova,
Kamelia Bratoeva

Pathophysiology Division, Department of Physiology and Pathophysiology,
Faculty of Medicine, Medical University of Varna

РЕЗЮМЕ

Световната здравна организация разглежда затлъстяването като „неинфекциозна епидемия на нашето време“, защото е свързана с усложнения от сърдечносъдови заболявания, захарен диабет тип 2, тумори и много други, а същевременно познатите терапии за лечение и превенция в голяма степен са неефективни. За оценяване на степента и диагностициране на затлъстяването се използват различни показатели, един от които е индексът на телесна маса (ИТМ). Според редица *in vivo* и *in vitro* изследвания екзогенният мелатонин оказва положително влияние върху обмяната на въглехидрати и липиди в организма, намалява оксидативния стрес и инсулиновата резистентност, с което вероятно допринася за протекцията срещу хипертрофията на мастната тъкан при затлъстяване.

Целта на настоящото проучване е да се оцени действието на екзогенен мелатонин върху ИТМ и тегло на ретроперитонеална мастна тъкан (РПМТ) при плъхове с алиментарен модел на затлъстяване.

Материали и методи: Бяха използвани мъжки плъхове от порода Wistar ($n=32$), разделени поравно в 4 експериментални групи – контролна, на традиционна храна; контролна, суплементирана с мелатонин (приеман *per os*, 4 мг/кг/24 ч); група с модел на затлъстяване (високофруктозна диета (ВФД) - 20 % разтвор на фруктоза във водата за пиене, ежедневно) и група, суплементирана с мелатонин и фруктоза. Животните от

ABSTRACT

Introduction: Obesity has been labelled as a “non-infectious pandemic of our time”. It increases the risk of several debilitating diseases, including cardiovascular disorders, diabetes mellitus, tumors, and other pathologies. Up to date both therapeutic and preventive approaches have been largely unsuccessful. At the present time body mass index (BMI) is considered the most common anthropometric method to diagnose obesity. According to a variety of *in vivo* and *in vitro* studies, exogenous melatonin has a pronounced effect on carbohydrate and lipid metabolism. Furthermore, supplementation with melatonin improves oxidative stress and insulin resistance preventing hypertrophy of the adipose tissue and body weight gain.

Aim: We evaluated the effect of melatonin supplementation on BMI and retroperitoneal fat mass in diet-induced obesity rat model.

Materials and Methods: Male Wistar rats ($n=32$), provided with standard rat chow and tap water freely available, were randomly divided into four groups as follows: control group – rats received standard rodent diet and tap water; melatonin group – rats received standard rodent diet and tap water, and melatonin administered *per os* (4 mg/kg/24h); fructose group – rats received standard rodent diet and tap water supplemented with 20% fructose; and fructose plus melatonin group – rats received standard rodent diet and tap water supplemented with 20% fructose, and melatonin administered *per os* (4 mg/kg/24 h). At the end of the experimental period, the animals were sac-

всички изследвани групи приемаха стандартна храна и вода на воля през цялото денонощие, а всяка седмица се отчиташе телесното тегло. В края на експеримента се направиха зоометричните измервания на всяко животно.

Резултати: Установено беше статистически значимо увеличение на РПМТ, телесно тегло и ИТМ при плъховете на фруктозна диета спрямо контролната група, докато при плъховете от групата, суплементирана с мелатонин, както и при групата с мелатонин и фруктоза се отчете статистическо значимо намаляване на ИТМ и РПМТ.

Заключение: Нашите резултати показват, че фруктозоиндуцираното затлъстяване се повлиява от екзогенно приложение мелатонин, който значително намалява основни показатели на затлъстяване като ИТМ и количество на ретроперитонеалната мастна тъкан, включително и при плъхове от контролната група, суплементирана само с мелатонин.

Ключови думи: затлъстяване, фруктоза, мелатонин, ИТМ

rified, zoometric measurements were taken and BMI was calculated.

Results: Statistically significant differences were observed between the anthropometric parameters of the experimental groups. When compared with the control group, fructose-supplemented rats showed a remarkable increase in retroperitoneal fat mass and BMI. In contrast, groups supplemented with melatonin showed significant reductions in these parameters.

Conclusion: Melatonin supplementation reduces fructose-induced obesity. In particular, body weight, retroperitoneal fat mass and BMI were remarkably decreased in melatonin-treated groups.

Keywords: obesity, fructose, melatonin, BMI

ВЪВЕДЕНИЕ

Затлъстяването е състояние, при което има значително увеличение на подкожната и висцералната мастна тъкан поради натрупване на излишък от триацилглицероли в резултат на положителен енергиен баланс. Най-честата доказана причина за нарушеното енергийно равновесие е повишеният прием на високоенергийни храни и напитки с високо съдържание на фруктоза (подсладител и консерванти за напитки, сладкарски изделия и др.) и ниската двигателна активност, както и промени в експресията на гени, регулиращи приема на храна и разход на енергия (14). Взаимодействието на генетичните с хранителните фактори са оформили начин на живот сред световното население, допринасящ за разпространение на затлъстяването с повишените липидни отлагания в организма до степен да предизвикват здравословни проблеми.

Световната здравна организация разглежда затлъстяването като „неинфекциозна епидемия на нашето време“ (16). Според литературни данни наднорменото тегло и затлъстяването предопределят развитие на 44-57% от всички случаи на захарен диабет тип 2, 17-23% случаи на исхе-

мична болест на сърцето (ИБС), 17% - артериална хипертония, и 11% - малигнени тумори (16,19). Тази тенденция се наблюдава и при деца и юноши, в резултат на което се очаква да развият коморбидните прояви на затлъстяването като възрастни. Същевременно познатите терапии за лечение и превенция на затлъстяване в голяма степен са неефективни.

Световната здравна организация определя затлъстяването като свръх покачване на телесното тегло за определен ръст, т.нар. индекс на телесна маса – ИТМ ≥ 30 кг/м² (ИТМ = Тегло (кг)/Ръст (м²). Недостатък на този показател е, че не отразява реалното съдържание на мастна тъкан (м.т.) в организма, особено при хора с по-голяма мускулна маса. Именно излишъкът от висцерални мазнини е показател за влошено здраве. Затова е по-коректно да се използва съчетание на ИТМ с други антропометрични показатели: коремна обиколка (КО), отношението коремна обиколка към бедрената обиколка (КО/БО) и др., а в експерименталните модели с животни е количеството на ретроперитонеална или епидидимална мастна тъкан (7,12,15).

Според редица проучвания храненето с високофруктозен царевичен сироп на експериментални животни промотира депозиция на липиди във висцерална мастна тъкан, покачване на телесното тегло, чернодробна стеатоза, оксидативен стрес и инсулинова резистентност (1,10,13), което го прави подходящ модел за изследване на затлъстяването (5,6). За оценка на степента на затлъстяване се използват зоометрични показатели като ИТМ, дължина на тялото, телесно тегло, коремна обиколка (КО), гръдна обиколка (ГО), тегло на РПМТ и др. (9,11).

Според редица *in vivo* и *in vitro* изследвания екзогенният мелатонин оказва положително влияние върху обмяната на въглехидрати и липиди в организма, намалява оксидативния стрес и инсулинова резистентност, с което вероятно допринася за протекцията срещу увеличаване на мастната тъкан при затлъстяване. Суплементацията с мелатонин намалява телесната маса на плъхове след пинеалектомия (18). Мелатонинът повлиява секреторната активност на β -клетки, увеличава чувствителността към инсулин и толерантността към глюкоза при животни, подложени на диета с високо съдържание на въглехидрати (17). Също така се предполага, че мелатонинът влияе върху активността на ензими, регулиращи липо- и термогенезата (8).

Целта на настоящото проучване е да се оцени действието на екзогенен мелатонин върху ИТМ и тегло на РПМТ при плъхове с фруктозоиндуциран модел на затлъстяване.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Експериментален модел

В експеримента с продължителност 12 седмици се използваха мъжки плъхове от порода Wistar ($n=32$), разделени поравно в 4 експериментални групи според диетата, която се прилага – контролна група на традиционна храна; контролна група, суплементирана с мелатонин (приеман *per os*, в количества 4 мг/кг/24 ч); група с модел на затлъстяване - на високофруктозна диета - ВФД (прием на 20 % разтвор на фруктоза във водата за пиене), и група, суплементирана с мелатонин и фруктоза. Разтворът на диетичната фруктоза е прогответен от високофруктозен царевичен сироп (Амилум - Разград). Животните от всички изследвани групи приемаха стандартна храна и вода на воля през цялото денонощие, а всяка седмица се отчиташе телесното тегло. В края на експеримента се направиха антропометричните измервания на всяко животно за определя-

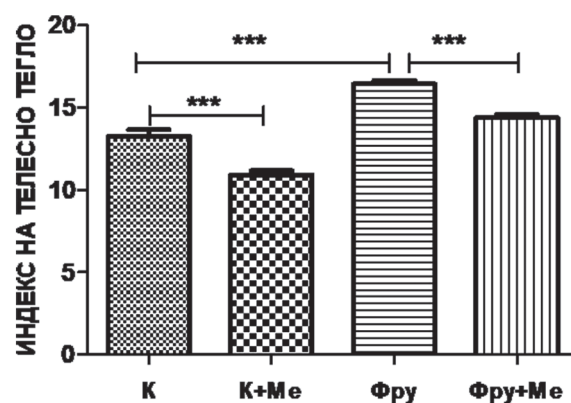
не на ИТМ - съотношение телесно тегло (g)/назо-анално разстояние (cm)² по групи и теглото на РПМТ като допълнителен зоометричен показател на затлъстяване.

Статистическа обработка на резултатите

T-тест бе използван за сравняване на средните величини на две групи при проследяване на ефекта на мелатонина върху третираните и здравите плъхове. Статистически значими бяха разликите между групите, при $p \leq 0,05$. Статистическата обработка на данните и построяване на графиките се извърши с програма Graph Pad Prism 7.0.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

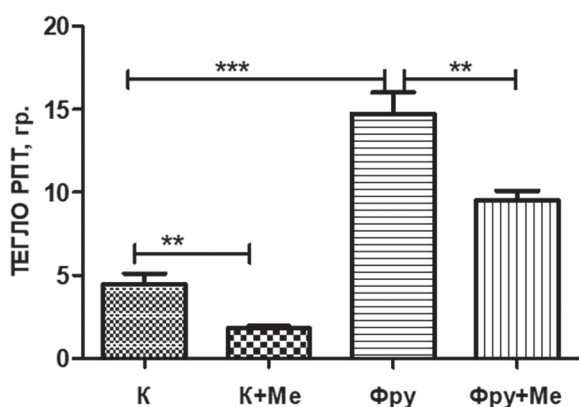
Резултатите от настоящото изследване демонстрират статистически значими разлики между изследваните групи по отношение и на двата показателя - ИТМ и тегло на ретроперитонеална мастна тъкан. Особено правят впечатление значителни разлики в ИТМ между животните в контролната група (К) и група със затлъстяване (Фру), което доказва, че фруктозата като елемент от диетата води до покачване на телесно тегло (фиг. 1). Нарушенията в метаболизма при плъхове на ВФД е широко документирано в литературата и също е установено в предишни наши експерименти, показващи, че диетата води до висцерално затлъстяване, покачване на серумните и чернодробните триглицериди, глюкоза и телесно тегло (1,2,13). Известно е, че увеличението на мастната тъкан и съответно покачване на телес-



Фиг. 1. Изследване на индекса на телесна маса - ИТМ
 Легенда: Данните са представени като средна стойност \pm стандартна грешка на средната (SEM), ($N=8$); К - контролна група; К+Me - контролна група, суплементирана с мелатонин; Фру - група на фруктозна диета; Фру+Me - група, суплементирана с мелатонин и фруктоза; *** $p < 0.0005$

ното тегло се развива при хипертрофия или хиперплазия на мастните клетки поради отлагане и съхранение на липиди след прекомерен прием на енергия (4). Предполага се, че развитието на затлъстяване при консумацията на фруктоза е липсата на чувство за ситост, водещо до хиперфагия, повишен прием на храна, положителен енергиен баланс и повишено телесно тегло (6). Нашите резултати показват, че ВФД води и до значително увеличение на теглото на РПМТ спрямо контролната група (фиг. 2). Това съответства с предположението на Bray et al. (2004) за *de novo* липогенеза в адипоцитите на висцералната мастна тъкан при натоварване с фруктоза (6).

Фруктозоиндуцираното повишено тегло на висцералната мастна тъкан беше значително пониско в групата, приемаща мелатонин (Фру+Ме) (фиг. 2). Според литературни данни лечението с мелатонин оказва положително влияние върху обмяната на въглехидрати и липиди в организма, намалява оксидативния стрес и инсулиновата резистентност, с което вероятно допринася за протекцията срещу хипертрофията на мастната тъкан при затлъстяване (8,17,18).



Фиг. 2. Тегло на ретроперитонеалната мастна тъкан в изследваните групи

Легенда: Данните са представени като средна стойност \pm стандартна грешка на средната (SEM), (N=8); К - контролна група; К+Ме - контролна група, суплементирана с мелатонин; Фру - група на фруктозна диета; Фру+Ме - група, суплементирана с мелатонин и фруктоза; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$

Резултатите от настоящото изследване показват, че лечението с мелатонин има статистически значими резултати, свързани с намаляване на телесно тегло в групата (Фру+Ме) спрямо групата на ВФД и съответно ИТМ (фиг. 1). Патогенетичните механизми, чрез които лечението с мелатонин понижава телесното тегло, не са изяснени. Може да се предположи, че терапевтични-

те ефекти на мелатонина въздействат върху фактори, регулиращи приема на храна или енергиен разход и затова телесното тегло на животните във всички групи е статистически редуцирано, включително и теглото на ретроперитонеалната мастна тъкан. Вероятно антиоксидантната активност на мелатонина протектира срещу дисфункцията на висцералната мастна тъкан при обременяване с фруктоза (3), което възстановява адекватна секреция на адипоцитокини, удряващи контрол и върху енергийния метаболизъм.

Интересно е да се отбележи, че мелатонинът има ефект и върху ИТМ на плъховете, суплементирани с мелатонин (К+Ме), спрямо хранените с традиционна храна (група К). Наблюдават се статистически значими разлики между ИТМ (фиг. 1) и теглото на ретроперитонеалната мастна тъкан (фиг. 2) в двете групи, което предполага за влиянието на мелатонин върху липогенезата и намаление на ИТМ и при здрави контроли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нашите резултати показват, че фруктозоиндуцираното затлъстяване се повлиява от екзогенно приложението мелатонин, който значително намалява ИТМ и количеството на РПМТ, включително и при плъхове от контролната група, суплементирана само с мелатонин.

Тези данни позволяват лечението с мелатонин да се разглежда в качеството му на перспективно средство за лечение на затлъстяване. Проучването на ефектите на мелатонина и неговата многообразна роля в организма все още има много неясноти, което прави клинично-експерименталните изследвания, посветени на този уникален хормон, изключително актуални.

ЛИТЕРАТУРА

1. Allen RJ, Leahy JS. Some effects of dietary dextrose, fructose, liquid glucose and sucrose in the adult male rat. *Br J Nutr.* 1966; 20(2):339-47.
2. Bratoeva K, G Bekyarova, Y Kiselova, D Ivanova. Effect of Bulgarian herb extracts of polyphenols on metabolic disorders-induced by high fructose diet. *Trakia Journal of Sciences*, 2010; 8(2): 56-60).
3. Bratoeva K, Radanova M, Merdzhanova A. Effect of allopurinol on oxidative stress in obesity and liver content of free fatty acids. *J Biosci Biotechnol.* 2015;91-96.
4. Bratoeva, K.; Radanova, M.; Merdzhanova, A.; Donev, I. Protective role of S-Adenosylmethionine against fructose-induced

- oxidative damage in obesity. *J. Mind Med. Sci.* 2017, 4, 163–171).
5. Bratoeva K, Nikolova S, Merdzhanova A, Stoyanov GS, Dimitrova E, Kashlov J, et al. Association between serum CK-18 levels and the degree of liver damage in fructose-induced metabolic syndrome. *Metab Syndr Relat Disord* 16: 350–357, 2018
 6. Bray G, Nielsen S, Popkin B. Consumption of High-Fructose Corn Syrup in Beverages May Play a Role in the Epidemic of Obesity. *The American journal of clinical nutrition.* 2004; 79: 537-43. 10.1093/ajcn/79.4.537.
 7. de Moura E Dias M, Dos Reis SA, da Conceição LL, Sedyama CMNO, Pereira SS, de Oliveira LL et al. Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers. *Diabetol Metab Syndr.* 2021 Mar 18;13(1):32.
 8. Genario R, Cipolla-Neto J, Bueno AA, Santos HO. Melatonin supplementation in the management of obesity and obesity-associated disorders: A review of physiological mechanisms and clinical applications. *Pharmacol Res.* 2021 Jan; 163:105254.
 9. Kim JH, Kim S, Lee AY, Yang Y, Davaadamdin O, Hong H et al. The Effects of *Gymnema sylvestris* in High-Fat Diet-Induced Metabolic Disorders. *The American Journal of Chinese Medicine.* 2017; 45,04.
 10. Kleinert M, Clemmensen C, Hofmann SM, Moore MC, Renner S, Woods SC et al. Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2018; Mar;14(3):140-162.
 11. Novelli EL, Diniz, YS, Galhardi C, Ebaid GM, Fernandes A, Cicogna A et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory animals.* 2007; 41: 111-9. 10.1258/00236770779399518.
 12. Osto M, Lutz TA. Translational value of animal models of obesity-Focus on dogs and cats. *Eur J Pharmacol.* 2015 Jul 15;759:240-52.
 13. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest.* 2009 May;119(5):1322-34.
 14. Tappy L, Lê KA. Metabolic effect of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev,* 90:23-46, 2010.
 15. Vickers SP, Jackson HC, Cheetham SC. The utility of animal models to evaluate novel anti-obesity agents. *Br J Pharmacol.* 2011 Oct;164(4):1248-62.
 16. WHO Consultation on Obesity (1997: Geneva, Switzerland), Geneva, 3-5 June 1997. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/63854>
 17. Мичурина, СВ, Васендин ДВ, Ищенко ИЮ. Физиологические и биологические эффекты мелатонина: некоторые итоги и перспективы изучения. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* 2018; 104, 257–271.
 18. Смирнова ВО. Возможности коррекции компонентов метаболического синдрома препаратом мелатонина. «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 2018
 19. Шляхто ЕВ, Недогода СВ, Конради АО, Баранова ЕИ, Фомин ВВ et al. Концепция новых национальных клинических рекомендаций по ожирению. *Российский кардиологический журнал.* 2016;(4):7-13.

Адрес за кореспонденция:
Дария Леонидовна Чивчибаши
Катедра “Физиология и патофизиология”
ул. “Проф. Марин Дринов” 55
Варна, 9000
e-mail: dariya.chi@gmail.com