



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Diabetes Mellitus y Melatonina: Potencial agente terapéutico y profiláctico

Diabetes Mellitus and Melatonin: Potential therapeutic and prophylactic agent

Autor

Víctor Sirbu Sirbu

Directores

**José Joaquín García García
Laura López Pingarrón**

Departamento de Farmacología, Fisiología y Medicina Legal y Forense
Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza
Curso académico 2022-2023

Abreviaturas

AGEs: Productos finales de la glicación avanzada
AVAD: Años de vida ajustados por discapacidad
DM: Diabetes Mellitus
ECA: Ensayo clínico aleatorizado
FFA: Ácidos grasos de cadena libre
ND: Neuropatía diabética
NFD: Nefropatía diabética
NF- κ B: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
$O_2^{\bullet-}$: Anión superóxido
ONOO $^{\bullet-}$: Anión peroxinitrito
p38 MAPK: Protein kinases p38 mitógenas activadas
RD: Retinopatía diabética
RNS: Especies reactivas de nitrógeno
ROS: Especies reactivas de oxígeno
T2DM: Diabetes Mellitus tipo 2
TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa

Índice

1. Resumen y palabras clave	1
2. Introducción.....	3
3. Justificación y objetivos.....	8
4. Material y métodos	9
4.1. Estrategia de búsqueda	9
4.2. Criterios de inclusión y exclusión	10
5. Resultados	10
5.1. Implicaciones del estrés oxidativo en la Diabetes Mellitus	10
5.2. Ritmo circadiano y Diabetes Mellitus.....	13
5.3. Papel del estrés oxidativo en las complicaciones de la DM.....	16
5.4. Efectos de la melatonina sobre el control glucémico y las complicaciones de la diabetes mellitus.....	21
5.5. Probable efecto sinérgico de la melatonina y otros fármacos antidiabéticos.....	26
6. Conclusiones	28
7. Bibliografía.....	30

1. Resumen y palabras clave

Resumen

La diabetes mellitus es una de las patologías más prevalentes del planeta, con un gran coste sanitario y elevados niveles de discapacidad secundarios a las complicaciones que ésta provoca. Su fisiopatología es muy compleja, interviniendo numerosos factores, entre los que destaca el exceso de estrés oxidativo y de inflamación debidas a la disrupción del ciclo circadiano, regulado principalmente por la melatonina. Esta hormona es una indolamina secretada tanto en la glándula pineal como en tejidos periféricos, desempeñando diversas funciones, entre las que destacan su capacidad reguladora de los bior ritmos y su elevado poder antioxidante. Gracias a esto, se han desarrollado múltiples vías de investigación para determinar su posible uso como agente profiláctico y/o terapéutico en la diabetes mellitus. Junto a ello, al actuar sobre el estrés oxidativo e, indirectamente, sobre el estado proinflamatorio de esta patología, es una molécula que podría frenar la evolución y el desarrollo de las grandes complicaciones de la diabetes, tales como la nefropatía, la retinopatía y la neuropatía diabética. Finalmente, podría ser una buena opción para su uso como adyuvante combinada con otros fármacos antidiabéticos, tales como la metformina o la insulina, pues presenta muy pocos efectos adversos y podría potenciar los resultados de dichos fármacos. Sin embargo, existe muy poca evidencia acerca del poder terapéutico de la melatonina en humanos diabéticos, requiriéndose un mayor número de ensayos clínicos aleatorizados doble ciego para poder postular conclusiones definitivas acerca de éste tema.

Palabras clave: Diabetes Mellitus, melatonina, estrés oxidativo, ciclo circadiano, inflamación.

Abstract

Diabetes mellitus is one of the most prevalent pathologies around the world, with a huge health cost and big levels of disability secondary to the complications that this disease produce. Its pathophysiology is very complex, involving several factors, among which stand out the excess of oxidative stress and of inflammation due to the disruption of the circadian cycle, which is mostly regulated by melatonin. This hormone is an indolamine secreted both in the pineal gland and in peripheral tissues, developing many functions, being the most important its ability to regulate the biorhythms and its great antioxidant power. Thanks to this, several lines of research have been developed to determine its possible use as a prophylactic and/or therapeutic agent in diabetes mellitus. In addition, by acting on oxidative stress and, indirectly, on the proinflammatory status of this disease, it is a molecule that could stop the evolution and the development of the biggest complications of the diabetes, such as the diabetic nephropathy, retinopathy and neuropathy. Finally, it could be a great option to be used as an adjuvant in combination with other antidiabetic drugs, such as metformin or insulin, as it presents very few adverse effects and it could empower the therapeutic results of these drugs. However, there are very few evidence about melatonin's therapeutic power in diabetic humans, being necessary a highest number of randomized, double blind controlled trials to be able to postulate definitive conclusions about this topic.

Keywords: Diabetes mellitus, melatonin, oxidative stress, circadian cycle, inflammation.

2. Introducción

La Diabetes Mellitus (DM) es una patología crónica caracterizada por una hiperglucemia mantenida, consecuencia de defectos en la función y/o secreción de la insulina por parte de las células beta pancreáticas. Estas son las encargadas de sintetizar y secretar insulina, una acción descrita por primera vez por Banting y Best en el año 1922.

Desde un punto de vista epidemiológico, su pico de incidencia se da alrededor de los 55-59 años y se distribuye de forma desigual por el planeta, en relación con el status socioeconómico de cada país. En términos globales, esta patología presenta una elevada incidencia, aunque actualmente se está estabilizando o incluso empezando a decrecer en países desarrollados, donde se encuentra la mayor prevalencia mundial de esta enfermedad, como consecuencia de las políticas de prevención primaria llevadas a cabo por dichas naciones y la mejora de las técnicas diagnósticas, lo que permite detectar una gran cantidad de personas infradiagnosticadas (Khan et al., 2020). Sin embargo, siguen existiendo extensas áreas mundiales con una gran incidencia, como son las islas del Pacífico, Oriente Medio y el sur de Asia; así como otras zonas, especialmente los países subdesarrollados, donde no existe información epidemiológica suficiente para poder establecer unas conclusiones definitivas (Magliano et al., 2019), por lo que se baraja la posibilidad de que un 75% de la población mundial con diabetes resida en estos últimos (Cuadros et al., 2021).

Al igual que en términos de incidencia, al ser una enfermedad crónica su prevalencia es muy elevada (*Tabla I*), pues en 2017 afectaba a alrededor de 462 millones de personas, lo que supone un 6,28% de la población mundial.

La morbimortalidad asociada a la diabetes y sus complicaciones es importante. En 2017, fallecieron 1 millón de personas por este motivo, suponiendo la novena causa de muerte a nivel mundial. En cuanto a años de vida ajustados por discapacidad (AVAD), la diabetes ha escalado desde el puesto decimonoveno en 1990, al séptimo en 2017. Este incremento de prevalencia y AVAD se debe al crecimiento de población mundial y a su mayor esperanza de vida.

Según las últimas predicciones, en el año 2030 se espera que la prevalencia global de diabetes ascienda a 7079 casos/100.000 habitantes, situándose en 2040 en 7862 casos/100.000 habitantes, IC 95% = 5821-9904 (Khan et al., 2020).

Tabla I. Prevalencia de la Diabetes Mellitus en 2017 y su distribución geográfica. España se sitúa, junto a Alemania, Italia y Estados Unidos, entre otros, con unos valores de prevalencia por encima de la tasa mundial (Khan et al., 2020).

<u>Continente</u>	<u>País</u>	<u>Prevalencia (nº casos/100.000 habitantes)</u>
Mundial		6059
Europa		8529
	Alemania	9091
	Francia	6843
	Italia	9938
	España	8796
	Rusia	6865
	Reino Unido	8663
Asia		5961
	China	6262
	India	4770
	Japón	6737
	Taiwán	10012
	Irán	7000
	Australia	5235
América		7060
	Estados Unidos	8911
	Canadá	7095
	Brasil	4240
Africa		3916
	Sudáfrica	7360

Hay dos tipos principales de DM: La tipo 1, causada por la destrucción autoinmune de las células beta pancreáticas. Supone el 5-10% de las DM y suele presentarse en pacientes jóvenes y delgados con otras enfermedades autoinmunes, así como con diversos HLA asociados, especialmente DR3 y DR4. Por otro lado, la tipo 2 se debe a un daño adquirido en el que existe un defecto en la secreción de insulina y/o resistencia periférica a la acción de ésta. Este tipo supone más del 90% de los casos de diabetes a nivel mundial, siendo el prototipo de paciente una persona con más de 50 años, obesa, sedentaria y, en general, con malos hábitos dietéticos.

Respecto de su patogenia, tiene una gran importancia la epigenética, relacionándose más de 83 genes, que pueden afectar tanto a la secreción de insulina por alteración en el desarrollo o disfunción de las células beta, como a su sensibilidad en los tejidos periféricos (pudiendo verse alterada por genes favorecedores de obesidad o por modificadores de la función insulínica). Junto a este componente genético, los factores ambientales como hábitos de vida, consumo de fármacos, obesidad, etc., tienen una gran influencia, siendo la

principal diana de las medidas preventivas poblacionales llevadas a cabo por los distintos gobiernos. (ADA, 2013; Cuadros et al., 2021; Kwak y Park, 2018).

En cuanto a la clínica, debe sospecharse diabetes mellitus en aquellos pacientes que presenten marcados síntomas de hiperglucemia, tales como poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso, sobre todo en DM tipo 1, infecciones frecuentes genitourinarias y cutáneas (ADA, 2013).

El incremento de la prevalencia de la diabetes conlleva un aumento del número de complicaciones agudas y, especialmente crónicas, lo que supone un detrimiento en la calidad de vida de los pacientes. Entre las complicaciones agudas, encontramos la cetoacidosis diabética, más típica de la DM tipo 1, y el coma hiperosmolar hiperglucémico, más frecuente en Diabetes Mellitus tipo 2 (T2DM), dos entidades prevenibles pero que, en caso de aparecer, suponen una alta morbimortalidad y un elevado coste sanitario.

Por otro lado, las complicaciones crónicas se pueden dividir en varios grupos: macrovasculares (enfermedad coronaria, ictus y enfermedad vascular periférica), microvasculares (insuficiencia renal crónica, retinopatía) y la neuropatía. Las cardiovasculares son la principal causa de muerte y discapacidad entre las personas con diabetes, teniendo un riesgo 4 veces superior a la población general. Además, la diabetes guarda relación con el desarrollo de ciertos cánceres, patologías asociadas a la vejez, infecciones y hepatopatías, entre otros (Harding et al., 2019).

Una vez establecida la sospecha clínica, se procederá al diagnóstico de la posible diabetes, existiendo diferentes criterios: 1. Glucemia venosa basal ≥ 126 mg/dL; 2. Glucemia venosa a las 2 horas tras sobrecarga oral con 75g de glucosa ≥ 200 mg/dL; 3. Hemoglobina glicada (HbA1c) $\geq 6,5\%$; 4. En pacientes con síntomas clásicos de hiperglucemia o crisis hiperglucémica, una determinación aleatoria de glucemia venosa ≥ 200 mg/dL. Los 3 primeros criterios requieren de una segunda confirmación para poder establecer el diagnóstico de Diabetes Mellitus (ADA, 2013).

La melatonina o 5-metoxi-N-acetiltriptamina es la principal hormona secretada por la glándula pineal, aunque también puede ser producida en otras localizaciones, como las células enterocromafines del tracto gastrointestinal, a partir del triptófano presente en los alimentos (Tordjman et al., 2017).

Se trata de una indolamina sintetizada principalmente por los pinealocitos mediante reacciones de hidroxilación y descarboxilación, para transformar el triptófano en serotonina. Ésta es acetilada por la N-acetiltransferasa y posteriormente metilada, formando finalmente la melatonina (*Figura 1*). Este proceso está controlado por mecanismos nerviosos, destacando el núcleo supraquiasmático hipotalámico quien, a través de la vía retinohipotalámica, recibe el estímulo luminoso, transformado en potencial de acción, procedente de la retina y manda estímulos reguladores de la síntesis de melatonina en la glándula pineal.

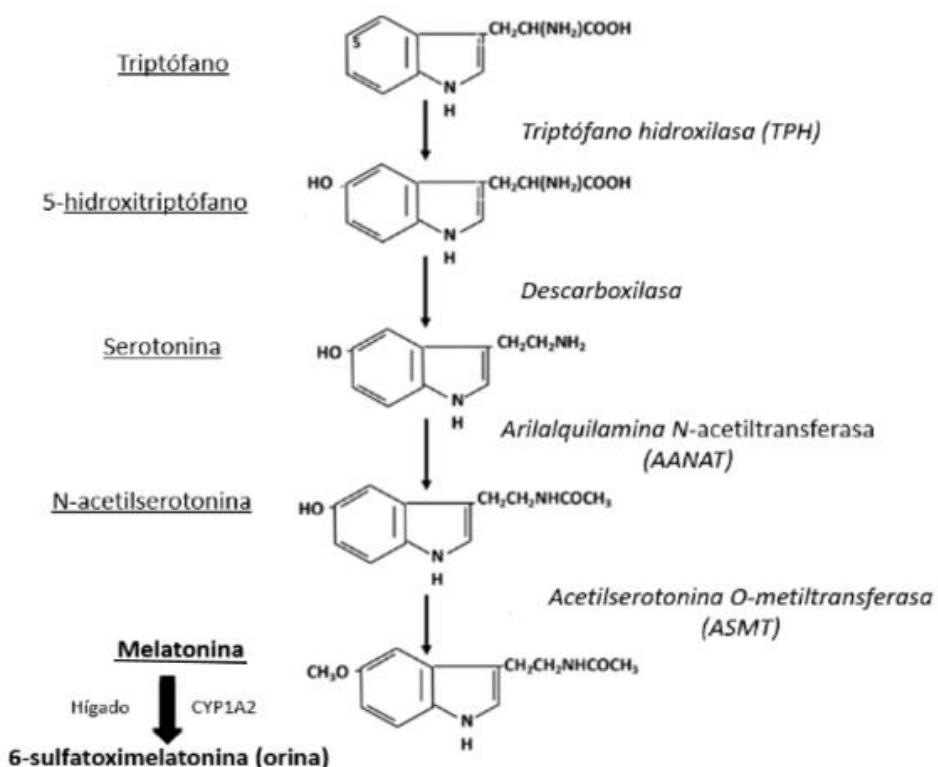


Figura 1. Proceso de síntesis, metabolismo y excreción de melatonina. En cursiva las enzimas implicadas en cada fase; y subrayados los productos resultantes de cada reacción (Amaral y Cipolla-Neto, 2018).

La secreción de melatonina depende del ciclo circadiano, siendo estimulada por la oscuridad e inhibida por la luz. Alrededor del 80% de la melatonina se produce por la noche. Sus concentraciones nocturnas varían entre 80-120 pg/mL, mientras que las diurnas son de 10-20 pg/ml, produciéndose la máxima secreción alrededor de las 2:00-4:00 am (*Figura 2*) (Tordjman et al., 2017).

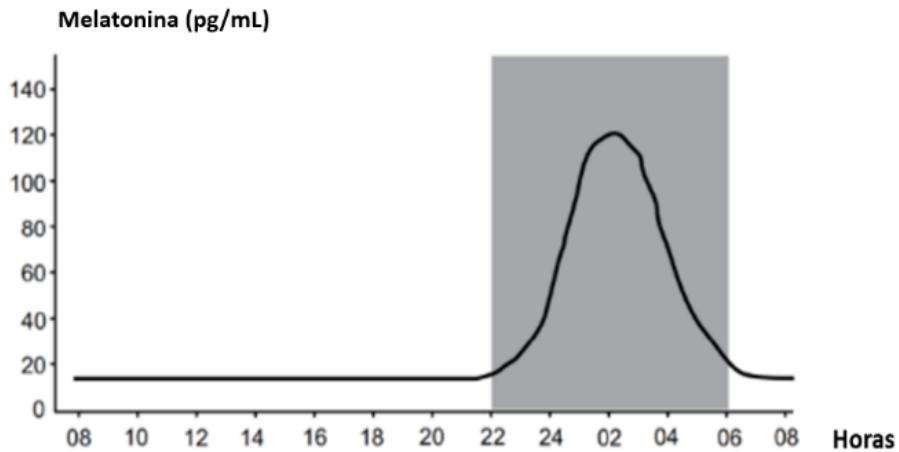


Figura 2. Representación de las concentraciones plasmáticas de melatonina a lo largo del día, en gris se representa el periodo nocturno de oscuridad.

Estas concentraciones de melatonina varían en función de la edad, siendo muy elevadas en neonatos debido al mantenimiento de la melatonina materna adquirida durante la vida intrauterina, en concreto desde la semana 28 de gestación. Estos niveles son transitorios, no controlados por las condiciones de luz, pues los neonatos desarrollan su ciclo circadiano a partir de los 3-4 meses de vida, momento en que se inicia la producción de melatonina por parte del bebé, alcanzándose los niveles máximos justo antes de la pubertad. Posteriormente se mantiene más o menos estable hasta los 40-45 años, momento en que empieza a disminuir paulatinamente hasta pasados los 70 años de edad, cuando las concentraciones de melatonina no superan el 10% de las cifras prepuberales (Muñoz-Hoyos et al., 2007; Poza et al., 2022).

Respecto a sus características farmacocinéticas, la melatonina es una molécula con ciertas características lipofílicas, lo que le permite atravesar fácilmente por difusión la bicapa lipídica de las membranas celulares y penetrar rápidamente a través de la barrera hematoencefálica y la placenta (Bubenik, 2002). Además, esto le facilita ser rápidamente metabolizada, principalmente a nivel hepático gracias a la enzima CYP1A2 del citocromo P450, que produce su hidroxilación, siendo después conjugada con ácido sulfúrico (90%) o glucurónico (10%) y, finalmente, excretada por la orina como 6-sulfatoxi-melatonina, que es la forma inactiva y cuyos niveles en orina matutina reflejan la concentración plasmática de melatonina nocturna (Tordjman et al., 2017).

Respecto a sus mecanismos de acción, la melatonina puede actuar de dos formas: una directa, mediante la interacción con otras moléculas y sistemas antioxidantes intracelulares, pudiendo además eliminar directamente las especies reactivas de oxígeno

(ROS) y de nitrógeno (RNS); e indirecta, mediante su unión específica a diversos receptores de membrana acoplados a proteína G, especialmente MT1 (inhibe la adenilato ciclase) y MT2 (induce la hidrólisis del inositol fosfato).

Estos receptores se han localizado tanto en el SNC como en tejidos periféricos como intestino, vesícula biliar, corazón, arterias, glándulas suprarrenales, riñón, pulmón, hígado, próstata, ovario, retina, etc; así como en células como los linfocitos T y B (Amaral et al., 2018; Ekmekcioglu, 2006; Tordjman et al., 2017). De esta localización y tipo de receptor dependen las funciones que puede desempeñar la melatonina. Por un lado, están los efectos debidos a la interacción directa de la melatonina con diversas moléculas efectoras, destacando su efecto antioxidante, y de señalización intracelular, como la capacidad de disminuir el AMPc, fosfoquinasa A (PKA), fijador de elementos de respuesta a AMPc (CREB) y GMPC; y aumentar el diacilglicerol (DAG), inositol 3 fosfato (IP3) y la actividad de la fosfoquinasa C (PKC), y regulación de los canales de K⁺ y Ca²⁺. Junto a ello, encontramos los efectos producidos por el día en ausencia de melatonina en el plasma, siempre que durante la noche previa haya habido secreción de melatonina, como la hipersensibilización de AMPc, PKA y CREB y la transcripción y traducción de los genes encargados del control de las funciones celulares durante las 24 horas del día, lo que promueve y favorece el sueño durante las horas de oscuridad. Además, la melatonina presenta efecto cronobiótico (permite sincronizar y ajustar los ritmos circadianos) y estacional (permite adaptar al organismo a las 4 estaciones del año en función de la duración de las horas de luz y oscuridad, pudiendo intervenir de este modo en eventos estacionales como la reproducción, la termogénesis, la respuesta inmune y el metabolismo). Otros efectos beneficiosos son los transgeneracionales (su gran capacidad de difusión a través de las membranas le permite atravesar fácilmente la barrera placentaria y, de este modo, ajustar los ritmos circadianos del feto y prepararlo para el ambiente exterior). Finalmente, también podemos destacar sus efectos sobre el ámbito reproductivo y sexual, el inmunológico y la masa ósea (la incrementa) y grasa (la disminuye) del organismo (Amaral y Cipolla-Neto, 2018; Tordjman et al., 2017).

3. Justificación y objetivos

La elevada prevalencia y costes socioeconómicos de la diabetes mellitus y sus complicaciones implican la necesidad de buscar terapias cada vez más seguras, eficaces y eficientes, lo que justifica la realización de este trabajo.

La melatonina es la principal reguladora del ciclo circadiano y constituye uno de los sistemas antioxidantes más potentes del organismo. Numerosos estudios sugieren que su déficit se relaciona con las alteraciones fisiopatológicas que desembocan en la diabetes mellitus, siendo propuesta en múltiples ocasiones como una posible arma terapéutica barata y con pocos efectos adversos, apoyando así la realización de esta revisión bibliográfica.

De este modo, los objetivos primordiales del trabajo son:

1. Determinar la fisiopatología oxidativa que subyace en la diabetes mellitus y los posibles puntos de actuación en ésta.
2. Analizar la importancia de la melatonina sobre el organismo y los ritmos circadianos; así como las repercusiones de la alteración de éstos sobre la fisiopatología de la diabetes mellitus.
3. Aplicar esta fisiopatología oxidativa y la alteración de los ciclos circadianos sobre las complicaciones de la diabetes mellitus.
4. Investigar si existe evidencia suficiente para aplicar la melatonina como agente terapéutico o profiláctico en la diabetes mellitus y sus complicaciones
5. Indagar acerca de los posibles efectos sinérgicos de la melatonina y otros fármacos antidiabéticos.

4. Material y métodos

4.1. Estrategia de búsqueda

Se utilizó un patrón de búsqueda diferente e independiente para la introducción y los resultados: Para la introducción, se utilizaron las herramientas de búsqueda Pubmed y Web of Science, donde se emplearon los términos “Diabetes Mellitus” y “Melatonin” unidos mediante el operador booleano AND, asociados a la vez a descriptores como “physiology”, “functions”, “pharmacology”, “global epidemiology”, “complications” “physiopathology”. Respecto a los resultados, se emplearon las bases de datos PubMed, Web of Science y SciELO, obteniéndose artículos de revistas de prestigio como *World Journal of Diabetes*, *Diabetes and Metabolism Journal*, *International Journal of Molecular Science*, entre otros. Los descriptores empleados fueron “Diabetes Mellitus” y “Melatonin”, unidos por el operador booleano “AND”. A su vez, estas palabras clave se combinaron con los descriptores “pathology”, “physiology”, “physiopathology”, “therapy”, “pharmacology”, “therapeutic use”; con el fin de obtener una búsqueda más acotada y precisa (*Figura 3*).

4.2. Criterios de inclusión y exclusión

Respecto de los criterios de inclusión, se han seleccionado artículos de tipo metaanálisis, revisiones sistemáticas y ensayos clínicos aleatorizados, llevados a cabo tanto sobre humanos como sobre modelos murinos y líneas celulares. De entre estos, se han priorizado aquellos que dispusieran de texto completo, estuvieran redactados en inglés y/o español, y se han publicado en los últimos 5 años.

Por otra parte, se han excluido los artículos con una calidad metodológica deficiente, que no trataran el tema a estudio o que aportasen insuficiente información al trabajo. Así mismo, se han desecharido los artículos que incumplían los criterios de inclusión descritos en el párrafo previo.

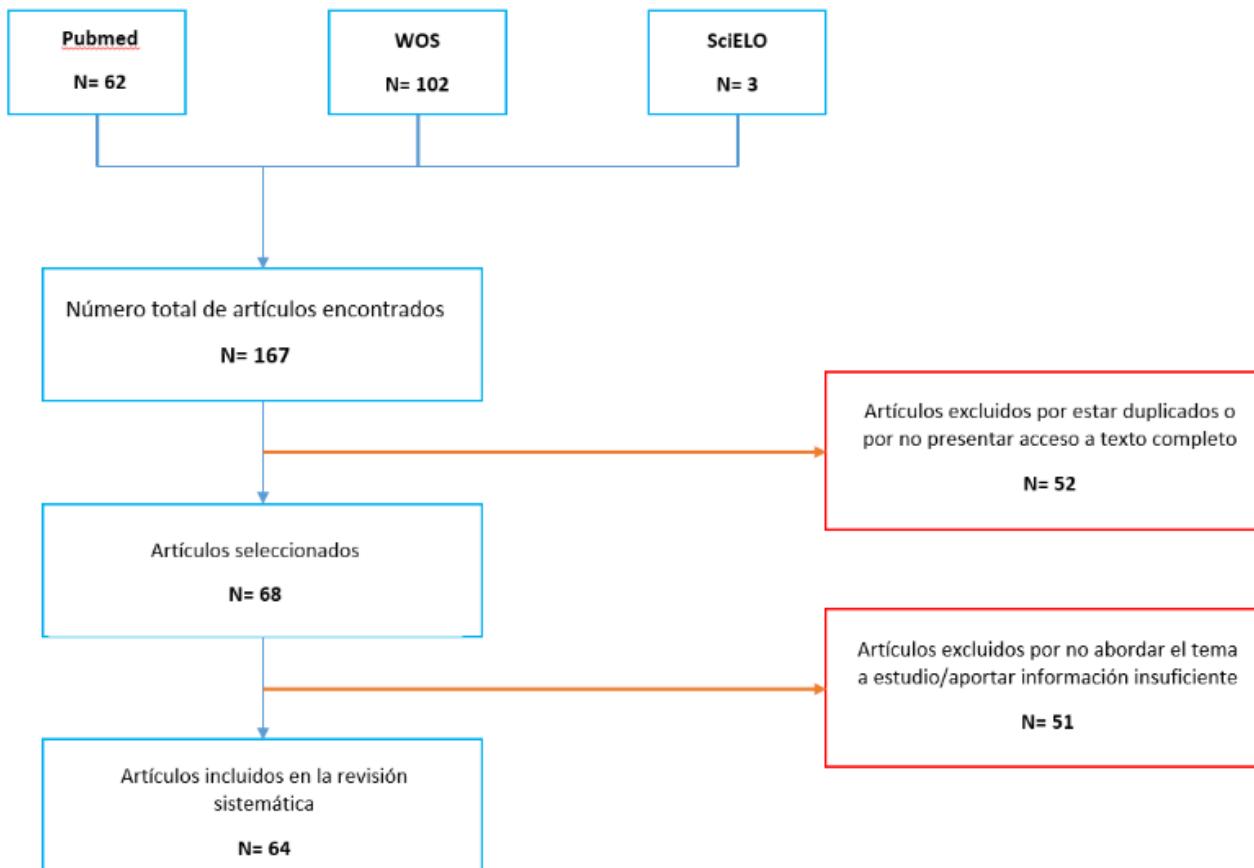


Figura 3. Diagrama de flujo de la búsqueda bibliográfica realizada.

5. Resultados

5.1. Implicaciones del estrés oxidativo en la Diabetes Mellitus

La Diabetes Mellitus es un trastorno crónico en cuya fisiopatología existe un desajuste entre la formación de ROS y su eliminación mediante los sistemas antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa, etc). Estos ROS, en especial el radical superóxido ($O_2^{•-}$), son producidos durante nuestro metabolismo aeróbico en las mitocondrias, formándose también con la beta oxidación de ácidos grasos, la fosforilación oxidativa necesaria para producir ATP, las vías de señalización biosintéticas, la mediación en la

muerte celular y la quelación de calcio, entre otras, lo que conlleva un daño en las células beta pancreáticas (García-Sánchez et al., 2020; Vezza et al., 2021). El daño por radicales libres puede ser directo, mediante la oxidación de lípidos, proteínas y ADN, lo que provoca disfunción y/o muerte a través de diversos procesos como cambios en la expresión génica, en la transducción de señales, actividad enzimática, cadena de transporte electrónico y apoptosis; así como indirecto, gracias a la activación de diversos mediadores de las vías de señalización intracelular sensibles al estrés, como las proteínas quinasas p38 mitógenas activadas (p38 MAPK) y el factor nuclear potenciador de las cadenas ligadas kappa de las células B activadas (NF-κB), que reducen la producción de ATP mitocondrial (Vezza et al., 2021). Ello conlleva una disminución de los niveles de insulina, lo que finalmente da lugar a una hiperglucemia crónica.

Esto se debe a que, en condiciones fisiológicas, la secreción de insulina por parte de las células beta es dependiente de la mitocondria, responsable del índice ATP/ADP. Cuando la glucemia es estable y en niveles de normalidad, la producción de ROS es baja y los niveles antioxidantes están elevados, lo que supone un ratio ATP/ADP elevado. Ello mantiene a los canales de K^+ dependientes de ATP cerrados, lo que conlleva la despolarización celular, abriéndose los canales de Ca^{2+} y entrando Ca^{2+} al interior celular, promoviendo la secreción de la insulina contenida en las vacuolas formadas por parte del retículo endoplásmico celular. Sin embargo, en condiciones de hiperglucemia, hay una gran producción de ROS y los niveles de antioxidantes son bajos, existiendo un gran ambiente pro-oxidativo que daña el retículo endoplásmico y disminuye el ratio ATP/ADP, habiendo menor secreción de insulina y no pudiendo entrar el calcio al compartimento intracelular, lo que impide en última instancia la secreción de la poca insulina sintetizada (*Figura 4*). Todo esto acaba dando un círculo vicioso que promueve el desarrollo de la T2DM (García-Sánchez et al., 2020; Rovira-Llopis et al., 2018).

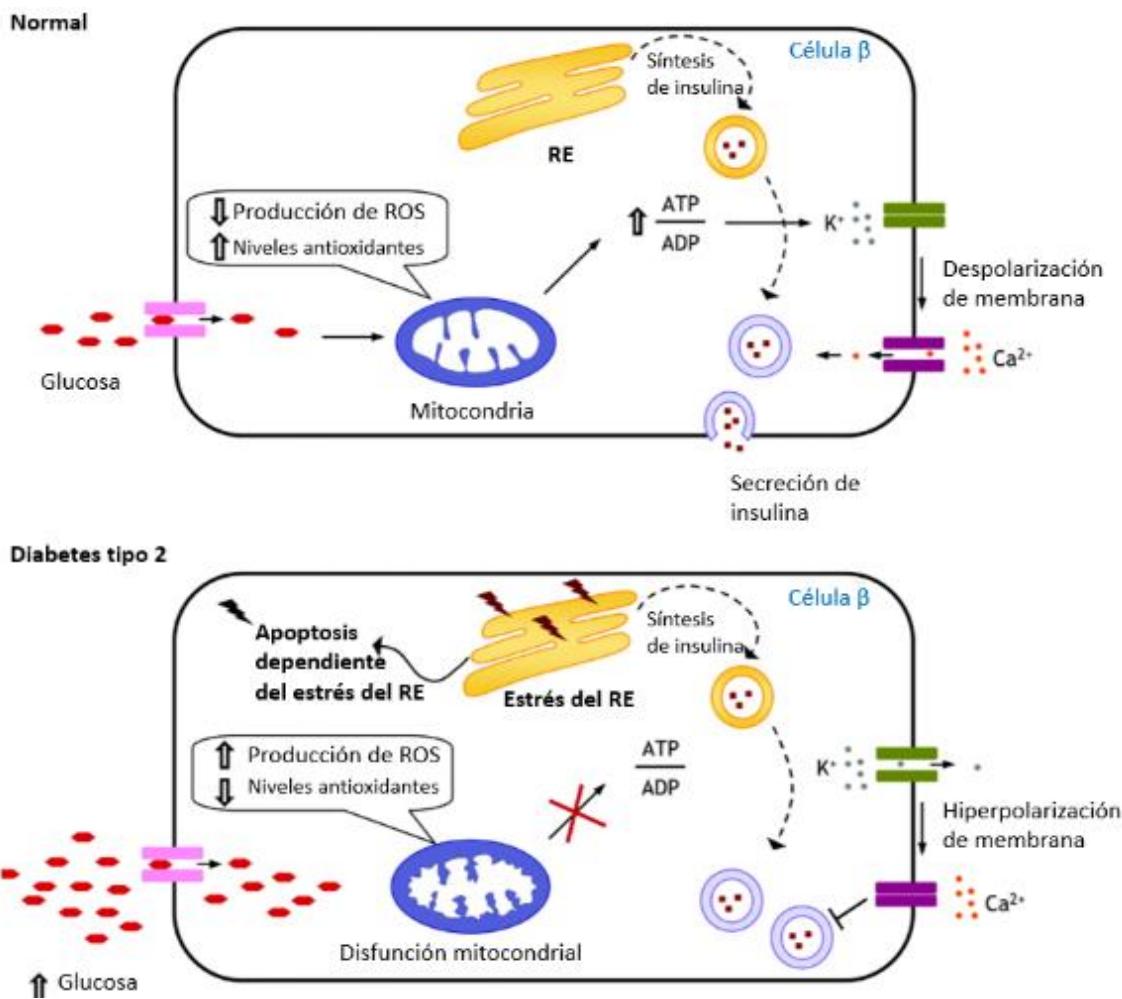


Figura 4. Funcionamiento de la célula beta pancreática en condiciones normales y en la diabetes mellitus tipo 2. ROS: Especies reactivas de oxígeno; ER: Retículo endoplásmico; Ca^{2+} : calcio; ATP: Adenosintrifosfato; ADP: adenosindifosfato (Rovira-Llopis et al., 2018).

Por otro lado, la hiperglucemia crónica también favorece la formación de ROS mediante vías metabólicas como la autoxidación de la glucosa, el aumento de la actividad de la vía de los polioles, la activación de la isoforma de la proteína kinasa C (PCK), el incremento de la actividad de la vía de los productos finales de la glicación avanzada (AGEs) y el aumento del flujo de glucosa a través de la vía de la hexosamina. El incremento de esta última vía supone la formación de uridina difosfato N-acetilglucosamina (UDP-GlcNAc), que se cataliza por la N-acetilglucosamina transferasa (OGT) unida a enlaces oxígeno (O), transfiriendo GlcNAc a través de enlaces covalentes de oxígeno a residuos de serina o treonina específicos de ciertas proteínas diana. Estas reacciones dan lugar a alteraciones de la vía de señalización de la insulina; así como a un estrés oxidativo y del retículo endoplásmico celular, produciendo como resultado final una inflamación crónica y una resistencia periférica a la insulina. Además, la hiperglucemia induce la transformación de la glucosa en sorbitol, lo

que conlleva una disminución del NADPH y glutatióñ (agentes antioxidantes), desembocando finalmente en un elevado estrés oxidativo intracelular. Por otro lado, respecto de la vía AGEs, el exceso de glucosa da lugar a glicosilación no enzimática de lípidos y proteínas, dando diversos metabolitos AGE, que reaccionan con su receptor (RAGE). Esta interacción promueve la activación de la vía del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B) y la NADPH oxidasa, desarrollando en última instancia un mayor estrés oxidativo e inflamación que contribuyen al daño vascular. Además, se ha observado que estos AGEs neutralizan el óxido nítrico (NO), reducen la actividad de la NO sintasa endotelial e incrementan el potencial vasoconstrictor de la endotelina 1 (ET-1), lo que, unido a lo anterior, potencian aún más el daño endotelial. Junto a ello, en condiciones de hiperglucemia, los niveles elevados de diacilglicerol (DAG) inducen la activación de la PKC, que activan la NADPH oxidasa, aumentando estos los niveles de diversos oxidantes, entre ellos el $O_2^{\bullet-}$ (Karunakaran y Park, 2013; Rotariu et al., 2022; Vezza et al., 2021). Adicionalmente, los aumentos de ácidos grasos libres en sangre inducen daños mitocondriales que llevan a un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa mitocondrial y la subsecuente producción de ROS. Además, los FFA ayudan a la formación de ceramidas, que producen fragmentación a nivel del DNA, con la consiguiente muerte celular y la formación de más ROS. Además, los FFA favorecen la activación de NF- κ B, que ayuda en la formación de citoquinas y conlleva la sobreproducción de NO. Este exceso tiene efectos deletéreos, pues puede reaccionar con los $O_2^{\bullet-}$, dando lugar al peroxinitrito (ONOO $^{\bullet}$), un producto aún más tóxico y dañino. En conclusión, la formación excesiva de ROS y RNS, con el consecuente aumento del estrés oxidativo y del retículo endoplásmico, puede jugar un papel importante en la producción de la diabetes a nivel molecular (Karunakaran et al., 2013) (*Figura 5*).

5.2. Ritmo circadiano y Diabetes Mellitus

Hay una buena correlación entre la aparición de la alteración del ciclo circadiano y el desarrollo de la diabetes mellitus. La secreción insulínica por parte de las células β pancreáticas está sujeta al ritmo circadiano, ejerciendo la melatonina un efecto supresor sobre dicha secreción, disminuyendo así la hiperinsulinemia. Por ello, en condiciones fisiológicas, la secreción de insulina es mayor y su sensibilidad es menor durante la tarde, cuando las concentraciones de dicha indolamina son mínimas. Existen evidencias de que estos patrones rítmicos y la secreción de melatonina están alterados en la diabetes mellitus, pues presentan cifras de hiperinsulinemia nocturna y en las primeras horas de la mañana, mejorando a lo largo del día. Esto también se ha observado en la secreción de glucagón y el péptido similar al glucagón 1, implicados en la regulación glucémica (Carroll et al., 1973; Mason et al., 2021). Junto a ello, los niveles bajos de melatonina suponen una disminución de los niveles antioxidantes del organismo, promoviendo un ambiente oxidativo que da lugar a alteraciones en la secreción de insulina, en el control glucémico y metabolismo lipídico (Onaolapo y Onaolapo, 2018). Investigaciones en modelos murinos han propuesto

alteraciones en los genes “reloj” implicados en el ciclo circadiano, tales como el Bmal1, Per, en órganos y tejidos como el hígado, el riñón, el tejido adiposo y los vasos sanguíneos (Hou et al., 2019), lo que promovería la resistencia periférica a la insulina de estos tejidos (Onaolapo y Onaolapo, 2018; Peng et al., 2022). Además, se ha establecido una relación entre los polimorfismos del gen MTNR1B, que codifica el receptor MT2 de la melatonina, con un riesgo aumentado de desarrollar DMT2, pues estos polimorfismos reducen la función de las células beta pancreáticas (Onaolapo et al., 2018).

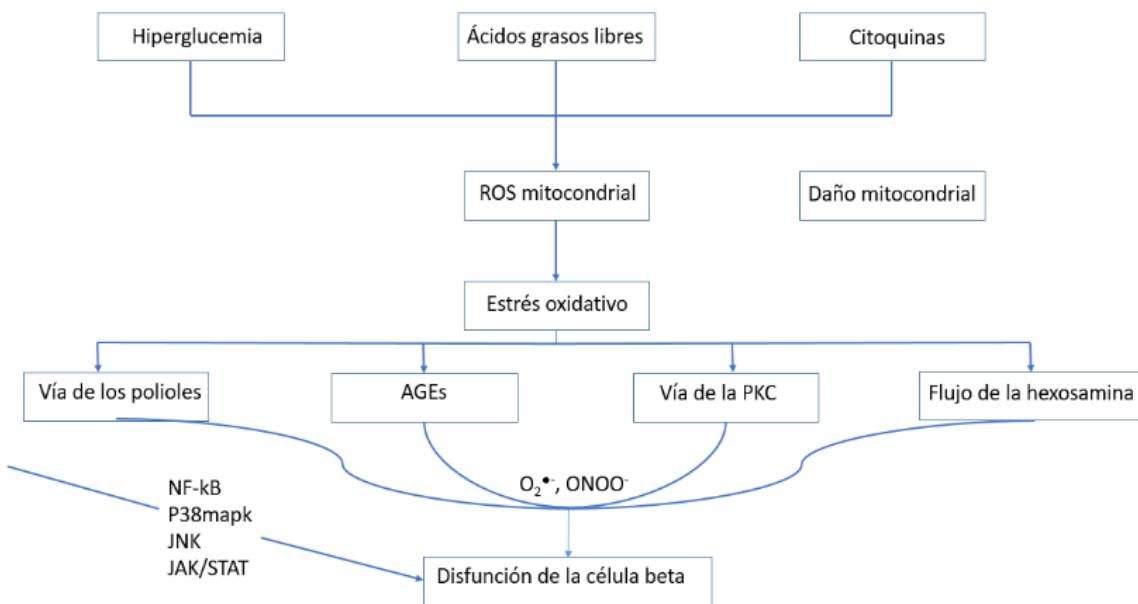


Figura 5. Modelo de producción de ROS mitocondrial a partir de las vías de la hiperglucemia, los ácidos grasos libres y las citoquinas proinflamatorias. ROS: Especies reactivas de oxígeno; NF-κB: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas; P38mapk: proteínas p38 mitógenas activadas; JNK: c-Jun-terminal kinasa; JAK/STAT: Kinasas Janus/ Señal de transducción y activación de la transcripción proteíca; AGEs: productos finales de la glicación avanzada; PKC: proteinquinasa C; O₂•-: anión superóxido; ONOO⁻: Anión peroxinitrito (Karunakaran et al., 2013).

Junto a ello, varios estudios han expuesto déficits en la secreción de insulina; así como aumentos de la resistencia periférica a esta, en sujetos con disrupción del ciclo circadiano (Morris et al., 2015). Por ejemplo, Garaulet et al. llevaron a cabo un ensayo clínico aleatorizado en el cual administraban glucosa a un grupo de sujetos 4 horas antes de irse a dormir y a otro grupo 1 hora antes de acostarse. Los niveles de melatonina eran superiores en estos últimos, así como los niveles de glucemia, mientras que la secreción de insulina estaba disminuida. Estos resultados indican que el consumo de comida durante períodos de elevadas concentraciones de melatonina provocan una reducción de la secreción

insulínica y, por ende, la necesidad de posponer la hora de acostarse respecto de la ingesta, con el fin de prevenir la hiperglucemia y la resistencia a la insulina (*Figura 6*) (Garaulet et al., 2022; Theofilis et al., 2022).

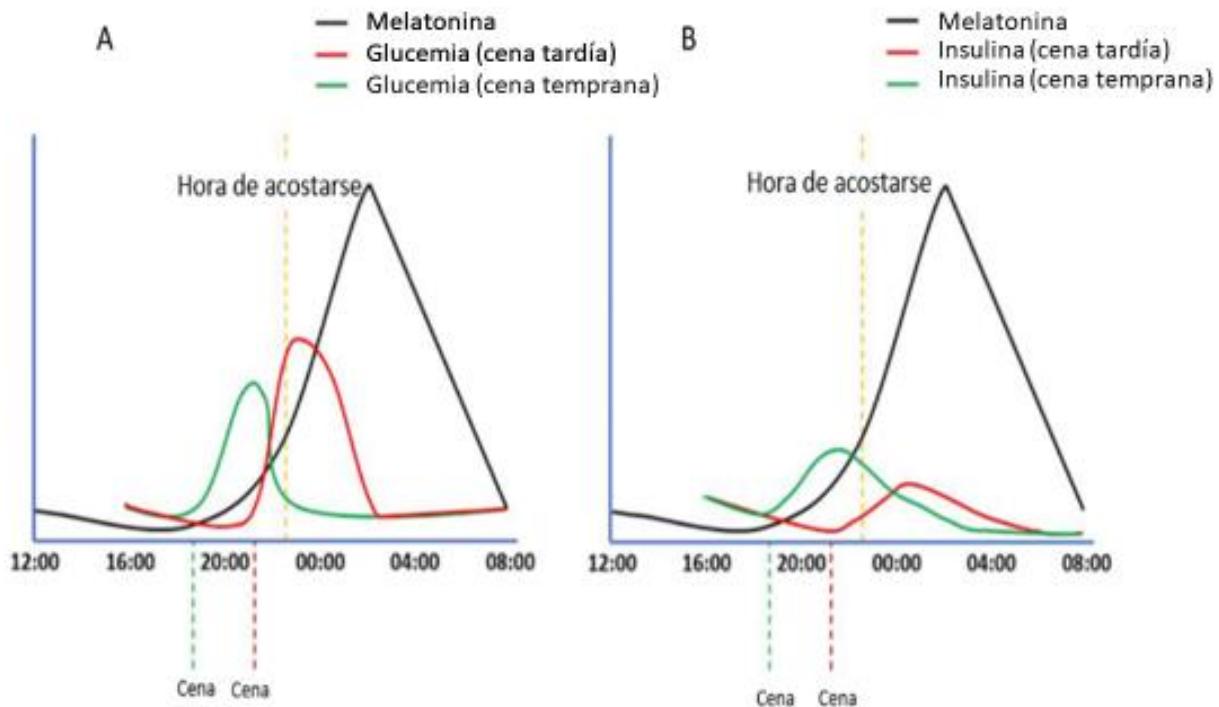


Figura 6. Efectos de la melatonina en los niveles de glucemia (A) e insulina (B) en función de la hora de la cena (Theofilis et al., 2022).

Por otro lado, al comparar dos grupos: uno con sueño de calidad mayor de 6 horas, y otro con sueño deficiente; se observó que existe una mayor prevalencia de DMT2 en el grupo de mala calidad y duración del sueño. Además, la mala calidad del sueño se asoció con un mal control glucémico en los sujetos diabéticos (Onaolapo y Onaolapo, 2018). En personas que trabajan en turnos nocturnos, se ha descrito que tienen un 9% más de riesgo de desarrollar DMT2 que los sujetos que trabajan en turnos diurnos, incrementándose este riesgo un 5% por cada 5 años trabajados en turnos nocturnos (Mason et al., 2021). También en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), que afecta al ciclo del sueño por reducción del sueño No REM, se puede alterar el ciclo circadiano y dar lugar a una menor secreción de melatonina, lo que se correlaciona con alteración de los ritmos circadianos, un pobre control glucémico y un mayor riesgo de desarrollar DMT2. En estos pacientes, los niveles bajos de melatonina alteran el ratio 6-sulfametoximelatonina/creatina, disminuyendo la excreción urinaria de 6-sulfametoximelatonina, lo que se asocia a un peor control glucémico (Reutrakul et al., 2017; Song et al., 2019). Sin embargo, son necesarios más estudios para determinar los mecanismos exactos por los que las alteraciones de los ritmos circadianos pueden degenerar en una DMT2.

5.3. Papel del estrés oxidativo en las complicaciones de la DM

La **retinopatía diabética (RD)** es una complicación microvascular muy prevalente, con 424,9 millones de personas afectadas en 2017, constituyendo una de las principales causas de ceguera del mundo. Se estima que alrededor de 1/3 de los pacientes diabéticos presentan cierto grado de afectación retiniana, debida al exceso de inflamación y estrés oxidativo. Todo comienza por la hiperglucemia crónica, que activa la producción de AGEs, PKC y c-Jun-terminal kinasa (JNK) y da lugar a un exceso de ROS que, interactuando con moléculas de adhesión como la molécula de adhesión endotelial 1 (ICAM-1), producen disrupción de la barrera hematorretiniana y la pérdida de células endoteliales por la adhesión leucocitaria, siendo considerados unos de los primeros eventos de la patogénesis de la RD. Junto a ello, hay un incremento de factores de transcripción como NF- κ B, p53 y receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR- γ), lo que promueve la expresión de genes implicados en la regulación de moléculas proinflamatorias como las citoquinas, las quimioquinas, factores de crecimiento, etc. (Al-Kharashi, 2018; Pourhanifeh et al., 2020). Este estrés oxidativo puede actuar produciendo la apoptosis de las células retinianas, que generarán una respuesta inflamatoria aún mayor (Coucha et al., 2015). Esto último, junto a unos niveles elevados de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) son factores críticos para el desarrollo y progresión de la RD (Al-Kharashi, 2018) (*Figura 7*).

Otra complicación con importante componente oxidativo es la **catarata diabética**, una de las principales causas de ceguera en el mundo, apareciendo en edades más tempranas que en la población general. En su fisiopatología intervienen tres mecanismos: se inicia con el aumento de la actividad de la vía de los polioles, que implica el acúmulo de sorbitol intracelular; y se desarrolla y potencia gracias al incremento de la glicación no enzimática de las proteínas del cristalino y la formación de AGEs, y del estado oxidativo por aumento del estrés del retículo endoplásmico. Esta combinación de factores da lugar a un estrés osmótico en el cristalino, lo que induce cambios morfológicos y bioquímicos como un aumento de la permeabilidad de su membrana con la consecuente entrada intralenticular de líquido; la disminución de glutatión y de la síntesis de proteínas, que desembocan en la apoptosis de las células epiteliales del cristalino, y en un colapso y licuefacción de las fibras de éste, formándose las opacificaciones típicas de esta patología (Borenshtein et al., 2001; Pollreisz y Schmidt-Erfurth, 2010).

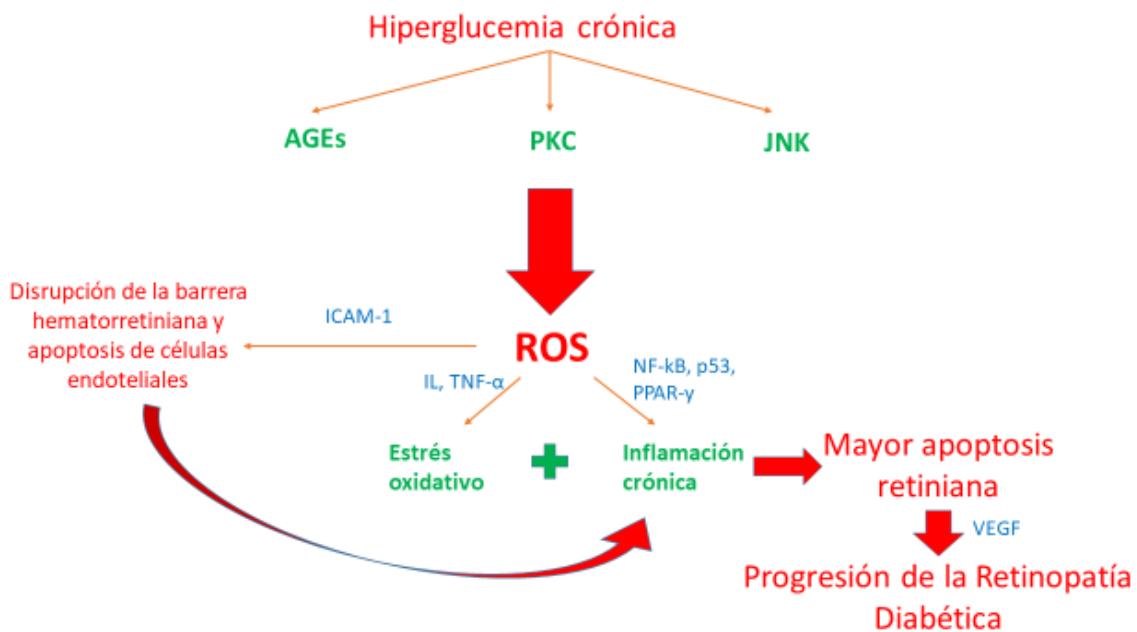


Figura 7. Fisiopatología de la Retinopatía Diabética. AGEs: productos finales de la glicación avanzada; PKC: proteín quinasa C; JNK: c-Jun- terminal kinasa; ROS: especies reactivas de oxígeno; ICAM-1: molécula de adhesión endotelial 1; IL: interleuquinas; TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa; NF- κ B: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas; p53: proteína supresora de tumores codificada por el gen p53; PPAR- γ : receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas; VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

Respecto de la **neuropatía diabética (ND)**, afecta alrededor del 50% de los pacientes a los 20 años de evolución de la enfermedad y, al igual que en la RD, el estrés oxidativo y la inflamación secundaria a la hiperglucemia crónica juegan un papel muy importante. La hiperglucemia crónica da lugar a la activación de diversas vías metabólicas (vía de los polioles, de la PKC, de los AGEs, de la hexosamina), que conlleva un déficit de agentes antioxidantes y un aumento de ROS y RNS, obteniéndose como resultado un elevado estrés oxidativo. Junto a ello, la inflamación crónica secundaria a la diabetes presenta un feedback positivo bilateral con el estrés oxidativo, de tal forma que este último daña los tejidos y activa factores de transcripción y reparación celular como NF- κ B y poli ADP ribosa polimerasa (PARP), que promueven la secreción de citoquinas y factores proinflamatorios (IL 6, TNF α); así como la apoptosis neuronal. Esto da lugar a la producción de ROS y RNS; así como a un empeoramiento del ambiente oxidativo por la activación de los macrófagos, agentes implicados en la eliminación de sustancias patógenas mediante la síntesis de ROS, y de las células gliales, con la consecuente destrucción de la vaina de mielina y un aumento

de la excitabilidad neuronal que conducen a un aumento de la neuroinflamación y edema. Como punto final, esta combinación de estrés oxidativo y ambiente inflamatorio desemboca en el daño de los nervios somáticos y autonómicos, produciendo dolor neuropático (*Figura 8*) (Busa et al., 2022; Pourhanifeh et al., 2020; Sandireddy et al., 2014). En esta alteración de la nocicepción tiene un gran papel la pérdida de la **inflamación neurogénica**, un mecanismo fisiológico que, mediante diversos neuropéptidos sensoriales como la sustancia P, la somatostatina y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), induce una vasodilatación y una quimiotaxis que provoca un aumento de la inflamación para facilitar que el estímulo nociceptivo llegue al SNC en el menor tiempo posible. En los sujetos diabéticos, el transporte axonal de neuropéptidos es defectuoso e implica una menor concentración de éstos a nivel del SNP, con una respuesta retardada al daño nervioso, lo que conlleva una amplificación del daño. Por ello, su déficit se considera un factor iniciador crítico de las neuropatías degenerativas distales (Németh et al., 1999; Scott et al., 2008).

Por otro lado, encontramos la **nefropatía diabética (NFD)**, una de las principales complicaciones microvasculares de la DM y la causa más frecuente de enfermedad renal en fase terminal. La NFD se caracteriza por el engrosamiento de la membrana basal glomerular, el daño de los podocitos, la proliferación de la matriz mesangial, la esclerosis glomerular y la fibrosis tubulointersticial, lo que finalmente da lugar a una disminución del filtrado glomerular. Al igual que el resto de complicaciones, la fisiopatología de la NFD depende del estrés oxidativo y de la inflamación crónica. Por las mismas vías comentadas anteriormente, se produce un exceso de estrés oxidativo, que aumenta el estado inflamatorio con la consecuente producción de interleuquinas, TNF- α , NF- $\kappa\beta$, proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1), factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), entre otras moléculas proinflamatorias, lo que junto al incremento de la actividad de los macrófagos, la sobreproducción de moléculas de adhesión leucocitaria, la disfunción endotelial asociada al aumento de ONOO $^-$, las alteraciones hemodinámicas por activación del sistema renina-angiotensina y la formación de cascadas de señalización VEGF, dan lugar a apoptosis celular, fibrosis y disfunción endotelial de los glomérulos característica de la NFD (*Figura 9*) (Badal y Danseh, 2014; Elmarakby y Sullivan, 2012; Pourhanifeh et al., 2020).

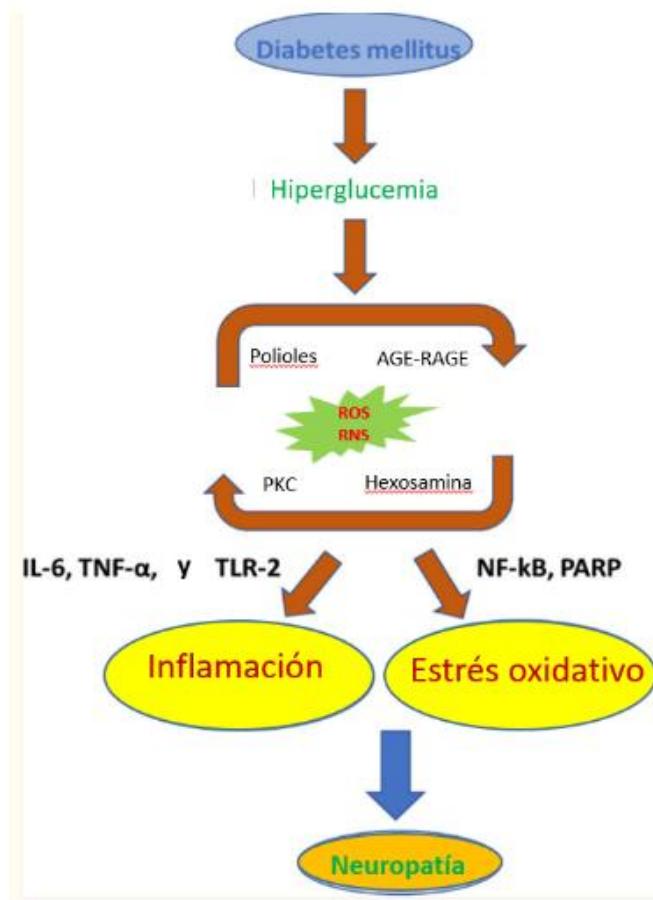


Figura 8. Fisiopatología de la neuropatía diabética. AGE-RAGE: productos finales de la glicación avanzada – receptor de los productos finales de la glicación avanzada; PKC: proteína C quinasa; ROS: especies reactivas de oxígeno; RNS: especies reactivas de nitrógeno; IL-6: Interleuquina 6; TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa; TLR-2: receptor tipo toll 2; NF- κ B: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas; PARP: poli ADP ribosa polimerasa (Busa et al., 2022).

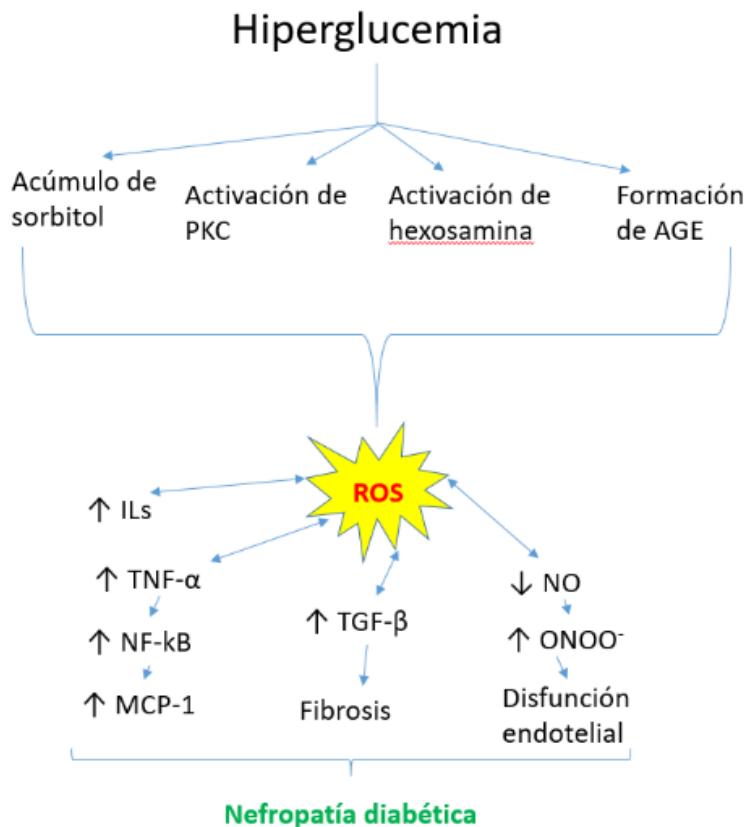


Figura 9. Fisiopatología de la nefropatía diabética. AGE: productos finales de la glicación avanzada; PKC: proteína C quinasa; ILs: Interleuquinas; TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa; NF- κ B: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas; MCP-1: proteína quimiotáctica de monocitos 1; TGF- β : factor de crecimiento transformante beta; NO: óxido nítrico; ONOO $^-$: Anión peroxinitrito (Elmarakby y Sullivan, 2012).

Una patología con graves repercusiones sistémicas es la **lesión por isquemia- reperfusión** renal, debida al retorno del flujo sanguíneo a un órgano que ha sido privado de éste durante cierto periodo de tiempo. Es una causa importante de disfunción renal postoperatoria, que conlleva complicaciones graves en pacientes hospitalizados. En su fisiopatología intervienen factores como el estrés oxidativo, el estrés del retículo endoplásmico, la disfunción mitocondrial, la apoptosis y la inflamación, entre otros. Durante la isquemia, los complejos I y III mitocondriales funcionan en su mínimo rendimiento por la falta de O₂, lo que implica un aumento de la producción de ROS, sobre todo de O₂ $^\bullet$, y la depleción de los agentes antioxidantes al intentar contrarrestarlos. Junto a ello, los ribosomas del retículo endoplásmico dan lugar a proteínas mal plegadas, lo que induce el estrés de este orgánulo celular y, con ello, la apoptosis, que también es debida a la activación de proteínas pro-

apoptóticas Bcl2. Esta muerte celular también se debe a la activación de las protein quinasas, como la PKC o p38 MAPK, que además promueven la secreción de citoquinas proinflamatorias como TNF- α e IL-1, siendo especialmente importante la inflamación durante la fase de reperfusión, en la cual hay un gran infiltrado neutrofílico por el masivo componente necrótico presente en el tejido renal, lo que conlleva una mayor producción de ROS por parte de dichos neutrófilos y, por ende, un círculo vicioso (Gong et al., 2019; Lejay et al., 2016).

5.4. Efectos de la melatonina sobre el control glucémico y las complicaciones de la diabetes mellitus

La melatonina ha sido concebida como un agente cronobiótico, al ser capaz de regular el ciclo circadiano, así como citoprotector, pues actúa como agente antioxidant que potencia otras moléculas y sistemas antioxidantes como el superóxido desmutasa (SOD), el glutatión peroxidasa, el NO sintasa, entre otros; y aumenta la eficiencia de la cadena de transporte electrónico mitocondrial (Wajid et al., 2020). Para tratar de determinar las posibles repercusiones de la melatonina como agente profiláctico y terapéutico en la DM, numerosos estudios en roedores y humanos se han diseñado, obteniéndose resultados beneficiosos respecto del control glucémico y perfil lipídico en aquellas investigaciones llevadas a cabo en ratones, mientras que los escasos estudios en humanos arrojan cifras menos esperanzadoras en este sentido, obteniéndose conclusiones contrapuestas (*Tabla II*):

Nishida et al. investigaron los efectos de la administración de melatonina durante 30 semanas en roedores diabéticos frente a placebo. Se encontró una disminución de los niveles plasmáticos de triglicéridos, colesterol total, leptina e insulina en el grupo experimental; así como un aumento del rendimiento de la Δ -5 desaturasa hepática. Sin embargo, los niveles de glucemia no fueron alterados significativamente, lo que sugiere que la reducción de los niveles de insulina fueron por una vía glucosa-independiente (Nishida et al., 2002). Zanuto et al. realizaron un estudio con ratas Wistar obesas y ancianas repartidas en tres grupos: el grupo control, el experimental que recibió melatonina durante 8 semanas, y el experimental que recibió melatonina 12 semanas. Se observó una disminución de tejido adiposo en éste último, no habiendo diferencias significativas entre los demás. Previamente a esto, en los grupos experimentales se demostró una mejoría en la vía de señalización de la insulina a nivel central y periférico, lo que se tradujo en un aumento en la sensibilidad a la insulina respecto del grupo control, sin existir relación con la disminución de obesidad. (Zanuto et al., 2013).

Tabla II. Resumen de estudios acerca de los efectos de la melatonina sobre el control glucémico

Estudio	Resumen del estudio	Resultados en el grupo experimental respecto del control
Nishida et al. (2002)	Murino, melatonina durante 30 semanas frente a placebo	↓ triglicéridos, colesterol total, leptina e insulina Glucemia sin diferencias significativas
Zanuto et al. (2013)	Murino, melatonina durante 8 semanas respecto de placebo; melatonina durante 12 semanas respecto de placebo	↑ Señalización insulina a nivel central y periférico ↓ tejido adiposo en el grupo tratado durante 12 semanas con melatonina
Agil et al. (2012)	Murino, 10mg/kg/día melatonina durante 6 semanas respecto de placebo	↓ niveles insulina plasmática, hiperglucemia en ayunas, HbA1c, ácidos grasos libres y leptina
Xu et al. (2017)	Murino, 50mg/kg/día melatonina durante 10 semanas frente a placebo	↓ hiperinsulinemia e hiperglucemia
Sarari et al. (2021)	ECA con n=30 sujetos con NFD, melatonina frente a placebo durante 12 semanas 1 hora antes de acostarse	↓ hiperinsulinemia, resistencia a insulina, glucemia en ayunas ↑ moléculas antioxidantes y HDL
Garfinkel et al. (2011)	2 cruzados, melatonina durante 3 y 5 semanas y, tras periodo de lavado, 3 y 5 semanas de placebo respectivamente.	↑ eficiencia y mantenimiento del sueño. ↓ HbA1c en el grupo melatonina 5 semanas Insulinemia sin diferencias significativas
Cagnacci et al. (2001)	ECA con n=22 mujeres postmenopáusicas, melatonina frente a placebo a las 8 a.m.	↓ tolerancia glucosa y sensibilidad insulina
Lauritzen et al. (2022)	ECA 10 mg melatonina en 2 periodos de 3 meses separados por 4 semanas frente a placebo.	↓ sensibilidad insulina

ECA: Ensayo clínico aleatorizado; n= tamaño muestral; HbA1c: Hemoglobina glicosilada;

NFD: Nefropatía diabética.

Agil et al. compararon los efectos de 10mg/kg/día de melatonina oral durante 6 semanas en 60 ratas diabéticas obesas respecto de placebo. Se observó una disminución de los niveles de insulina plasmática, de la hiperglucemia en ayunas en un 18'6% ($p<0,05$) y de la HbA1c en un 11% ($p<0,05$); así como de los niveles de ácidos grasos libres y leptina (Agil et al., 2012). En un estudio similar, Xu et al. administraron a 15 roedores 50 mg/kg/día de melatonina durante 10 semanas. Los resultados muestran que el grupo experimental disminuyó los niveles de hiperinsulinemia e hiperglucemia respecto del grupo control, lo que sugiere un posible aumento de la sensibilidad a la insulina secundaria a la terapia con melatonina (Xu et al., 2017). Sarari et al. desarrollaron un ECA con 30 sujetos diabéticos repartidos en un grupo control que recibió placebo una hora antes de acostarse y un grupo experimental que tomó melatonina a la misma hora, ambos durante 12 semanas. Se observó una reducción significativa de los niveles de insulina y resistencia a ésta, glucosa plasmática en ayunas y un aumento de los niveles antioxidantes y de HDL plasmáticos. Sin embargo, más estudios son necesarios, pues el tamaño muestral fue muy reducido y no se

tuvo en cuenta el estadio de enfermedad renal crónica en que se encontraba cada sujeto (Satari et al., 2021).

Garfinkel et al. llevaron a cabo un estudio cruzado con pacientes diabéticos donde se administró melatonina durante 3 semanas y, tras un periodo de lavado, se administró placebo otras 3 semanas. A su vez, a otro grupo de sujetos diabéticos se les administró melatonina durante 5 meses. En los grupos tratados con melatonina se observó una mejora en la eficiencia y en el mantenimiento del sueño. El grupo que recibió melatonina durante un largo periodo de tiempo (5 meses), mostró una mejoría significativa de los niveles de HbA1c, pasando de una concentración media basal de $9.13\% \pm 1.55\%$ a $8.47\% \pm 1.67\%$ con una $p=0,005$. Sin embargo, el péptido C se mantuvo inalterado, lo que sugiere que la melatonina no tuvo efecto sobre la secreción insulínica. No obstante, este estudio tiene limitaciones, pues el grupo tratado a largo plazo no tuvo un grupo control basado en placebo (Garfinkel et al., 2011).

Cagnacci et al. diseñaron un ensayo clínico aleatorizado con 22 mujeres postmenopáusicas que fueron divididas en 2 grupos: el primero recibió 1 mg de melatonina y el segundo placebo, ambos a las 8 de la mañana. Los resultados mostraron una reducción en la tolerancia a la glucosa y en la sensibilidad a la insulina. Sin embargo, la hora de administración y la baja dosis empleada podrían ser limitaciones de dicho estudio (Cagnacci et al., 2001). Lauritzen et al. llevaron a cabo otro ECA donde se analizó al grupo experimental tratado con 10 mg de melatonina en dos períodos de 3 meses separados por 4 semanas, con otro grupo control al que se le administró placebo en el mismo periodo de tiempo, con unos ciclos de sueño preestablecidos por los examinadores. El objetivo del estudio era determinar los efectos de dicha dosis de melatonina sobre la sensibilidad a la insulina. Se determinó que, a dicha dosis de melatonina, la sensibilidad a la insulina del grupo experimental disminuía un 12% respecto del grupo control, independientemente de los niveles de glucemia. No obstante, estos resultados pueden ser debidos a la elevada dosis empleada, por lo que nuevos estudios deben ser realizados con una menor dosificación de melatonina (Lauritzen et al., 2022).

Por otra parte, los estudios llevados a cabo acerca de las complicaciones de la DM han mostrado resultados esperanzadores, con disminución de los parámetros de inflamación, angiogénesis y oxidación retiniana de la RD; una mejoría del dolor y de la calidad de transmisión nerviosa y de los patrones de sueño en la ND; y un efecto protector renal y una mejora de los parámetros de filtración glomerular en el caso de la NFD (*Tabla III*). Sin embargo, se requieren más estudios en humanos para obtener una mayor evidencia y validez externa.

Tabla III. Resumen de estudios acerca de los efectos de la melatonina sobre las complicaciones de la diabetes mellitus.

Estudio	Resumen del estudio	Resultados del grupo experimental respecto del control
Retinopatía diabética		
Özdemir et al. (2014)	Murino, melatonina intraperitoneal frente a placebo	↓ niveles oxidantes en retina Modulación positiva de factores angiogénicos (HIF-1 α , PEDF y VEGF) No diferencias significativas respecto de glucemia y HbA1c
Ferreira de Melo et al. (2020)	Murino, 10 mg/Kg subcutáneo de melatonina frente a placebo	↓ IL-6, TNF- α , VEGF y exceso de apoptosis ↓ glucemia
Neuropatía diabética		
Maher et al. (2020)	Murino, melatonina frente a placebo durante 8 semanas	↓ TNF- α e IL-6 ↑ adiponectina
Negi et al. (2011)	Murino, melatonina frente a placebo	↓ expresión NF-Kb → ↓ daño nervios periféricos y ↑ velocidad y amplitud de conducción del impulso nervioso
Zhang et al. (2018)	Murino, melatonina frente a placebo durante 8 semanas	↓ niveles p38 MAPK y ↑ velocidad conducción nerviosa
Shokri et al. (2021)	ECA, melatonina junto a pregabalina frente a placebo con pregabalina.	Mejoría del dolor y patrones de sueño.
Huang et al. (2014)	Murino, melatonina frente a placebo	↓ activación microglía → ↓ dolor y moléculas proinflamatorias
Nefropatía diabética		
Luo et al. (2022)	Murino, melatonina frente a placebo	↓ creatinina, urea sérica y ratio proteína/creatinina
Fan et al. (2020)	Murino, melatonina intravenosa frente a placebo	↓ TNF- α y MCP-1 a nivel renal ↓ NF-kB y TGF- β renales → ↓ moléculas proinflamatorias y fibrosis renal
Sarari et al. (2021)	ECA, con n=30 sujetos con NFD, melatonina frente a placebo durante 12 semanas 1 hora antes de acostarse	↓ PPAR-Y No reducción significativa en los niveles de IL-1, TNF- α ni TGF- β .

HIF-1 α : factor 1-alfa inducible por hipoxia; PEDF: Factor derivado del epitelio pigmentario; VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular; HbA1c: hemoglobina glicosilada; IL-6: Interleuquina 6; TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa; NF-kB: Factor nuclear kappa B; p38 MAPK: Proteín kinasas p38 mitógenas activadas; MCP-1: Proteína quimiotáctica de monocitos 1; TGF- β : Factor de

crecimiento transformante beta; PPAR-Y: Receptores activados por proliferadores peroxisomales gamma; IL-1: Interleuquina 1; ECA: Ensayo clínico aleatorizado; n: tamaño muestral.

En cuanto a la RD, existen numerosos estudios acerca del efecto de la melatonina en ésta. Estudios murinos como el de Özdemir et al., donde al grupo experimental se le administró melatonina intraperitoneal, no mostraron diferencias significativas en los niveles de glucemia y HbA1c respecto del grupo control. Los niveles retinianos de nitrotirosina y malondialdehido, productos derivados de la acción de ROS y peroxidación lipídica, respondieron favorablemente a la melatonina, disminuyendo la oxidación de la retina. Junto a ello, restauró los valores normales de factores moduladores de la angiogénesis como factor 1-alfa inducible por hipoxia (HIF-1 α) y factor derivado del epitelio pigmentario (PEDF) y restringió la elevación de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (Özdemir et al., 2014). Ferreira de Melo et al. logró, con 10 mg/kg subcutáneo de melatonina, reducir la expresión de IL-6, TNF- α , VEGF y el exceso de apoptosis en ratas Wistar. Junto a ello, se observó que los niveles de glucemia disminuían ligeramente tanto en los roedores en los que se empezó a administrar melatonina durante la inducción de la DM con estreptozoquina y en aquellos en los que el tratamiento empezó tras ésta. Además, los niveles de insulina en aquellas ratas que recibieron melatonina durante la inducción de la DM eran similares al del grupo control, probablemente debido al papel antioxidante de ésta frente a la estreptozoquina (Ferreira de Melo et al., 2020; Oliveira-Abreu et al., 2022).

Respecto a la ND, Maher et al. notificaron que el tratamiento con melatonina durante 8 semanas en ratas redujo los niveles de moléculas proinflamatorias como TNF- α e interleuquina 6, junto a elevación en los niveles de adiponectina, agente antiinflamatorio. (Maher et al., 2020). Negi et al. comprobaron cómo, al administrar 3-10 mg/kg de melatonina a ratones, se inhibía la expresión de NF- κ B y su cascada proinflamatoria, lo que disminuía el daño inflamatorio de los nervios periféricos y aumentaba la velocidad de conducción y amplitud de éstos (Negi et al., 2011). Resultados similares obtuvo Zhang et al. quien observó cierta mejoría de la disfunción eréctil en roedores; así como una disminución de los niveles de p38 MAPK (proteín kinasas p38 mitógenas activadas) y un aumento de la velocidad de conducción nerviosa tras 8 semanas de tratamiento con melatonina (Zhang et al., 2018). Por otro lado, Shokri et al. llevaron a cabo un ensayo clínico aleatorizado para medir el efecto coadyuvante de la melatonina junto a la pregabalina en el dolor neuropático de pacientes con T2DM. El grupo experimental tuvo una mejora del dolor y de los patrones de sueño respecto al grupo control. Esta mejora nociceptiva puede ser debida a la capacidad del sueño reparador de reducir la percepción álgica (Shokri et al., 2021). Huang et al., en concordancia con lo anterior, demostraron que la falta de sueño empeora el dolor neuropático por activación de la microglía. La administración de melatonina disminuyó la acción de dicha microglía y el desarrollo de dolor; así como de los niveles de mediadores proinflamatorios (Huang et al., 2014). Además, Posa et al. determinaron que la acción de la melatonina sobre los receptores MT2 de las neuronas glutamatérgicas de la sustancia negra ventrolateral periacueductal potenciaba el mecanismo antinociceptivo, aliviando el dolor

(Posa et al., 2018). Sin embargo, se requiere que se realicen ensayos clínicos en pacientes con ND que apoyen los estudios experimentales en animales (Oliveira-Abreu et al., 2022).

Acerca de la NFD, estudios en modelos murinos en los que a un grupo se administraba melatonina y a otro placebo, demostraron una mejoría en las cifras de creatinina y urea sérica; así como en el ratio proteína/creatinina (Luo et al., 2022). Otro estudio con ratones a los que se les administraba melatonina intravenosa frente a placebo mostró una disminución en los niveles de TNF- α , proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) a nivel renal en el primer grupo, reduciendo así la progresión de la NFD. Junto a ello, se observó una reducción en los niveles NF- κ B y TGF- β renales en los sujetos tratados con melatonina, reduciéndose la sobreexpresión de moléculas proinflamatorias y la fibrosis tubulointersticial y glomerular, respectivamente (Fan et al., 2020). Sarari et al., en su ECA, observaron una reducción significativa de los niveles de poli ADP ribosa polimerasa gamma (PPAR-Y). Sin embargo, no se apreciaron diferencias significativas en las concentraciones de (interleuquina 1 (IL-1), TNF- α y TGF- β . Los autores afirman limitaciones por el reducido tamaño muestral (30 sujetos) y por no tenerse en cuenta el estadio de enfermedad renal crónica en que se encontraba cada sujeto (Satari et al., 2021).

5.5. Probable efecto sinérgico de la melatonina y otros fármacos antidiabéticos
La melatonina podría ser, por sus escasos efectos secundarios, un interesante agente adyuvante de otros fármacos antidiabéticos. En este sentido, no hay mucha evidencia, pero la existente mostró un gran beneficio a nivel del perfil glucémico, lipídico del tratamiento combinado de metformina y melatonina; así como del uso conjunto de insulina y melatonina, donde además de lo anterior, mostró mejoría a nivel de la función renal:

Hussain et al. llevaron a cabo un ECA durante 3 meses con 46 sujetos diabéticos cuya respuesta a la metformina era inadecuada. Estos individuos mantuvieron el tratamiento con metformina y fueron separados en 3 grupos: A, a los que se les administró placebo; B, que recibieron 10 mg melatonina y 50 mg de acetato de zinc; y C, que solo fue sometido a control dietético. El grupo experimental B mostró una respuesta de los tejidos a la metformina superior respecto del resto, con una mejoría del perfil glucémico, manifestada en la disminución en los niveles de glucemia en ayunas y postprandial; así como HbA1c. Estos resultados apoyan el uso de melatonina y zinc como terapia adyuvante de la melatonina (Hussain et al., 2006).

Thomas et al. llevó a cabo un estudio con roedores obesos y con disrupción del ciclo circadiano y analizó por grupos como les afecta el tratamiento diario durante 12 semanas con melatonina, metformina o una combinación de ambas. La melatonina restauró los ritmos circadianos, tuvo cierta mejora del perfil glucémico y disminuyó levemente el daño de las células β pancreáticas. La terapia con metformina sola mostró una mejora de la sensibilidad insulínica y del perfil glucémico. La combinación de metformina y melatonina

tuvo un gran efecto sinérgico, aunando los beneficios de ambas terapias por separado junto con una mejoría del perfil lipídico, adiposidad y disfunción metabólica en dichas ratas (Thomas et al., 2016).

Por otra parte, Hajam et al. usaron 54 roedores Wistar con nefropatía diabética, a las que dividieron en varios grupos de tratamiento durante 4 semanas: control, grupo experimental tratado con melatonina, grupo experimental tratado con insulina y grupo experimental que combinaba insulina y melatonina. El tratamiento combinado recuperó la morfología renal normal, eliminando la fibrosis y destrucción del glomérulo y túbulos renales; restauró los niveles de urea, ácido úrico y creatinina a valores normales, y mejoró la hipernatremia e hiperkaliemia presente en la nefropatía diabética. Además, se observó una disminución de la peroxidación lipídica y de las moléculas inflamatorias; así como la recuperación de los sistemas antioxidantes como la superóxido dismutasa, el glutatión peroxidasa, la catalasa etc. (Hajam et al., 2022). Un experimento similar llevó a cabo Oliveira et al., quienes, con 12 ratas repartidas entre los mismos grupos que el estudio de Hajam et al. durante 8 semanas de tratamiento, observaron que la administración conjunta de insulina y melatonina mejoró el perfil glucémico, la sensibilidad a la insulina, la glicación proteica y disminuyó la masa grasa de los roedores y la capacidad de los adipocitos de oxidar la glucosa y los ácidos grasos libres, disminuyendo por tanto el estrés oxidativo y el daño secundario a éste (*Tabla IV*) (Oliveira et al., 2018).

Son necesarios más estudios en humanos y con un mayor tamaño muestral para analizar los efectos sinérgicos de la melatonina administrada como adyuvante de distintos fármacos antidiabéticos. No obstante, los resultados obtenidos en los pocos experimentos que hay nos hace ser optimistas respecto del tema.

Tabla IV. Resumen de estudios acerca de los efectos sinérgicos de la melatonina y otros fármacos antidiabéticos.

Estudio	Resumen del estudio	Resultados del grupo experimental respecto del control
Melatonina + Metformina		
Hussain et al. (2006)	ECA, n=46 diabéticos con respuesta inadecuada a la metformina. 3 grupos que recibían insulina y: A con placebo, B con 10 mg melatonina y 50 mg Zinc, C con control dietético.	↓ niveles glucemia en ayunas, postprandial y HbA1c. Mejor respuesta a la metformina a nivel tisular
Thomas et al. (2016)	Murino, 3 grupos durante 12 semanas: uno recibió melatonina, otro metformina y el tercero ambos	El tratamiento combinado mostró un efecto resincronizador del ciclo circadiano y la mejora del perfil glucémico y de la sensibilidad a la insulina. Aparte, su efecto sinérgico mejoró el perfil lipídico y adiposidad de los roedores.
Melatonina + insulina		
Hajam et al. (2022)	Murino, 54 roedores con nefropatía diabética en 4 grupos: control, melatonina sola, insulina sola y combinado.	↓ creatinina, urea sérica, ácido úrico, Na ⁺ , K ⁺ . ↓ fibrosis y destrucción glomerular y tubular ↓ estrés oxidativo
Oliveira et al. (2018)	Murino, 12 ratas divididas en 4 grupos: control, melatonina sola, insulina sola y combinado	↓ estrés oxidativo ↓ glucemia y resistencia a la insulina ↓ adiposidad

ECA: Ensayo clínico aleatorizado; HbA1c: hemoglobina glicosilada.

6. Conclusiones

1. La diabetes mellitus es una de las patologías más prevalentes del mundo, con una gran cantidad de complicaciones que detrimientan la calidad de vida de los pacientes. En su patogenia está muy involucrado el estrés oxidativo, causado por la disfunción mitocondrial y la activación de diversas vías metabólicas como la de los AGEs, PCK, hexosamina, polioles y la autooxidación de la glucosa; y el exceso de inflamación. Estas alteraciones pueden ser usadas como posibles dianas terapéuticas que impidan el desarrollo y/o progresión de la diabetes.
2. La melatonina es una indolamina producida por la glándula pineal y otros tejidos, secretada principalmente de manera nocturna, cuya función principal es la regulación del ciclo circadiano, de la señalización intracelular, de su capacidad antioxidante, de la reproducción, sistema inmune, etc. Su capacidad como antioxidante sugiere su posible rol

como agente profiláctico o terapéutico en el desarrollo de la diabetes mellitus y sus complicaciones.

3. El estrés oxidativo, la disruptión circadiana y la inflamación provocan alteraciones moleculares y estructurales por vías análogas a las causantes de la diabetes, que se perpetúa mediante un círculo vicioso que propicia su desarrollo y empeoramiento, siendo afectados órganos y tejidos como la retina, riñón, el sistema nervioso periférico, etc. Ello conlleva grandes repercusiones en la calidad de vida de los enfermos, que da lugar a enormes costes económicos.

4. La mayoría de los estudios murinos llevados a cabo y ciertos ECA revelan una mejora en el perfil glucémico y la sensibilidad a la insulina; mientras que gran parte de los ECA demuestran un efecto negativo o neutro sobre dichos parámetros. Sin embargo, una cantidad relevante de los estudios muestran una mejoría en el perfil lipídico y de los niveles de antioxidantes. Estas diferencias se deben a la poca cantidad de estudios llevados a cabo en humanos, al pequeño tamaño muestral y al poco tiempo de seguimiento empleado en los estudios, tanto murinos como humanos, por lo que es necesario profundizar más en el tema mediante el desarrollo de nuevos ECA, con más sujetos estudiados y con un seguimiento mucho más amplio.

Las investigaciones llevadas a cabo acerca del papel de la melatonina en las complicaciones de la diabetes mellitus muestran muchas ventajas, pues disminuye la alteración estructural y funcional renal, la afectación retiniana y las moléculas angiogénicas, el daño de los nervios periféricos y el dolor neurogénico secundario al estrés oxidativo y exceso de inflamación. Además, se observaba una mejoría del control glucémico y lipídico, así como una pérdida de masa grasa, lo que evidencian resultados esperanzadores. No obstante, la mayoría de los estudios fueron realizados en roedores, lo que confiere menor validez externa y la necesidad de ampliar la evidencia mediante el desarrollo de ECA.

5. La asociación de melatonina con metformina o insulina mostró una mejora de la potencia antidiabética de éstos fármacos, con un efecto sinérgico sobre la mejora del perfil glucémico y la sensibilidad a la insulina, mejorando además el perfil lipídico y el daño renal. Estos resultados deberían incitar al desarrollo de ECA que traten este aspecto, pues la melatonina es una molécula sin efectos secundarios perjudiciales que puede aportar múltiples beneficios a los pacientes con una menor carga terapéutica y a un precio más razonable.

7. Bibliografía

- ADA. (2013). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 36(Suppl 1), S67. doi: 10.2337/DC13-S067
- Agil, A., Rosado, I., Ruiz, R., Figueroa, A., Zen, N., & Fernández-Vázquez, G. (2012). Melatonin improves glucose homeostasis in young Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Pineal Research*, 52(2), 203–210. doi: 10.1111/J.1600-079X.2011.00928.X
- Al-Kharashi, A. S. (2018). Role of oxidative stress, inflammation, hypoxia and angiogenesis in the development of diabetic retinopathy. *Saudi Journal of Ophthalmology*, 32(4), 318. doi: 10.1016/J.SJOPT.2018.05.002
- Amaral, F. G. Do, & Cipolla-Neto, J. (2018). A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 62(4), 472–479. doi: 10.20945/2359-3997000000066
- Badal, S. S., & Danesh, F. R. (2014). New Insights Into Molecular Mechanisms of Diabetic Kidney Disease. *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 63(2 0 2), S63. doi: 10.1053/J.AJKD.2013.10.047
- Borenshtein, D., Ofri, R., Werman, M., Stark, A., Tritschler, H. J., Moeller, W., & Madar, Z. (2001). Cataract development in diabetic sand rats treated with α -lipoic acid and its γ -linolenic acid conjugate. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 17(1), 44–50. doi: 10.1002/1520-7560(0000)9999:9999<::AID-DMRR153>3.0.CO;2-S
- Bubenik, G. A. (2002). Gastrointestinal melatonin: Localization, function, and clinical relevance. *Digestive Diseases and Sciences*, 47(10), 2336–2348. doi: 10.1023/A:1020107915919
- Busa, P., Kuthati, Y., Huang, N., & Wong, C. S. (2022). New Advances on Pathophysiology of Diabetes Neuropathy and Pain Management: Potential Role of Melatonin and DPP-4 Inhibitors. *Frontiers in Pharmacology*, 13. doi: 10.3389/FPHAR.2022.864088
- Cagnacci, A., Arangino, S., Renzi, A., Paoletti, A. M., Melis, G. B., Cagnacci, P., & Volpe, A. (2001). Influence of melatonin administration on glucose tolerance and insulin sensitivity of postmenopausal women. *Clinical Endocrinology*, 54(3), 339–346. doi: 10.1046/J.1365-2265.2001.01232.X
- Carroll, K. F., & Nestel, P. J. (1973). Diurnal variation in glucose tolerance and in insulin secretion in man. *Diabetes*, 22(5), 333–348. doi: 10.2337/diab.22.5.333
- Coucha, M., Elshaer, S. L., Eldahshan, W. S., Mysona, B. A., & El-Remessy, A. B. (2015). Molecular Mechanisms of Diabetic Retinopathy: Potential Therapeutic Targets. *Middle East African Journal of Ophthalmology*, 22(2), 135. doi: 10.4103/0974-9233.154386
- Cuadros, D. F., Li, J., Musuka, G., & Awad, S. F. (2021). Spatial epidemiology of diabetes:

Methods and insights. *World Journal of Diabetes*, 12(7), 1042–1056. doi: 10.4239/wjd.v12.i7.1042

Ekmekcioglu, C. (2006). Melatonin receptors in humans: biological role and clinical relevance. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60(3), 97–108. doi: 10.1016/J.BIOPHA.2006.01.002

Elmarakby, A. A., & Sullivan, J. C. (2012). Relationship between Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines in Diabetic Nephropathy. *Cardiovascular Therapeutics*, 30(1), 49–59. doi: 10.1111/J.1755-5922.2010.00218.X

Fan, Z., Qi, X., Yang, W., Xia, L., & Wu, Y. (2020). Melatonin Ameliorates Renal Fibrosis Through the Inhibition of NF-κB and TGF-β1/Smad3 Pathways in db/db Diabetic Mice. *Archives of Medical Research*, 51(6), 524–534. doi: 10.1016/J.ARCMED.2020.05.008

Ferreira de Melo, I. M., Martins Ferreira, C. G., Lima da Silva Souza, E. H., Almeida, L. L., Bezerra de Sá, F., Cavalcanti Lapa Neto, C. J., Paz de Castro, M. V., Teixeira, V. W., & Coelho Teixeira, Á. A. (2020). Melatonin regulates the expression of inflammatory cytokines, VEGF and apoptosis in diabetic retinopathy in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 327. doi: 10.1016/J.CBI.2020.109183

Garaulet, M., Lopez-Minguez, J., Dashti, H. S., Vetter, C., Hernández-Martínez, A. M., Pérez-Ayala, M., Baraza, J. C., Wang, W., Florez, J. C., Scheer, F. A. J. L., & Saxena, R. (2022). Interplay of Dinner Timing and MTNR1B Type 2 Diabetes Risk Variant on Glucose Tolerance and Insulin Secretion: A Randomized Crossover Trial. *Diabetes Care*, 45(3), 512. doi: 10.2337/DC21-1314

García-Sánchez, A., Guillermín Miranda-Díaz, A., Germán Cardona-Muñoz, E., & Santibañez, J. F. (2020). *The Role of Oxidative Stress in Physiopathology and Pharmacological Treatment with Pro- and Antioxidant Properties in Chronic Diseases*. doi: 10.1155/2020/2082145

Garfinkel, D., Zorin, M., Wainstein, J., Matas, Z., Laudon, M., & Zisapel, N. (2011). Efficacy and safety of prolonged-release melatonin in insomnia patients with diabetes: a randomized, double-blind, crossover study. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 4, 307. doi: 10.2147/DMSO.S23904

Gong, D. J., Wang, L., Yang, Y. Y., Zhang, J. J., & Liu, X. H. (2019). Diabetes aggravates renal ischemia and reperfusion injury in rats by exacerbating oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Renal Failure*, 41(1), 750. doi: 10.1080/0886022X.2019.1643737

Hajam, Y. A., Rai, S., Pandi-Perumal, S. R., Brown, G. M., Reiter, R. J., & Cardinali, D. P. (2022). Coadministration of Melatonin and Insulin Improves Diabetes-Induced Impairment of Rat Kidney Function. *Neuroendocrinology*, 112(8), 807–822. doi: 10.1159/000520280

Harding, J. L., Pavkov, M. E., Magliano, D. J., Shaw, J. E., & Gregg, E. W. (2019). Global

- trends in diabetes complications: a review of current evidence. *Diabetologia*, 62(1), 3–16. doi: 10.1007/S00125-018-4711-2
- Hou, T., Su, W., Guo, Z., & Gong, M. C. (2019). A novel diabetic mouse model for real-time monitoring of clock gene oscillation and blood pressure circadian rhythm. *Journal of Biological Rhythms*, 34(1), 51. doi: 10.1177/0748730418803719
- Huang, C. T., Chiang, R. P. Y., Chen, C. L., & Tsai, Y. J. (2014). Sleep Deprivation Aggravates Median Nerve Injury-Induced Neuropathic Pain and Enhances Microglial Activation by Suppressing Melatonin Secretion. *Sleep*, 37(9), 1513. doi: 10.5665/SLEEP.4002
- Hussain, S. A., Khadim, H. M., Khalaf, B. H., Ismail, S. H., Hussein, K. I., & Sahib, A. S. (2006). Effects of melatonin and zinc on glycemic control in type 2 diabetic patients poorly controlled with metformin. *Saudi Medical Journal*, 27(10), 1483–1488.
- Karunakaran, U., & Park, K.-G. (2013). *A Systematic Review of Oxidative Stress and Safety of Antioxidants in Diabetes: Focus on Islets and Their Defense*. doi: 10.4093/dmj.2013.37.2.106
- Khan, M. A. B., Hashim, M. J., King, J. K., Govender, R. D., Mustafa, H., & Kaabi, J. Al. (2020). Epidemiology of Type 2 diabetes - Global burden of disease and forecasted trends. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 10(1), 107–111. doi: 10.2991/JEGH.K.191028.001
- Kwak, S. H., & Park, K. S. (2018). Pathophysiology of type 2 diabetes in Koreans. *Endocrinology and Metabolism*, 33(1), 9–16. doi: 10.3803/ENM.2018.33.1.9
- Lauritzen, E. S., Kampmann, U., Pedersen, M. G. B., Christensen, L. L., Jessen, N., Møller, N., & Støy, J. (2022). Three months of melatonin treatment reduces insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes—A randomized placebo-controlled crossover trial. *Journal of Pineal Research*, 73(1). doi: 10.1111/JPI.12809
- Lejay, A., Fang, F., John, R., Van, J. A. D., Barr, M., Thaveau, F., Chakfe, N., Geny, B., & Scholey, J. W. (2016). Ischemia reperfusion injury, ischemic conditioning and diabetes mellitus. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 91, 11–22. doi: 10.1016/J.YJMCC.2015.12.020
- Luo, Q., Cai, Y., Zhao, Q., Jiang, Y., Tian, L., Liu, Y., & Liu, W. J. (2022). Renal Protective Effects of Melatonin in Animal Models of Diabetes Mellitus-Related Kidney Damage: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Diabetes Research*, 2022. doi: 10.1155/2022/3770417
- Magliano, D. J., Islam, R. M., Barr, E. L. M., Gregg, E. W., Pavkov, M. E., Harding, J. L., Tabesh, M., Koye, D. N., & Shaw, J. E. (2019). Trends in incidence of total or type 2 diabetes: systematic review. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 366. doi: 10.1136/BMJ.L5003
- Maher, A. M., Saleh, S. R., Elguindy, N. M., Hashem, H. M., & Yacout, G. A. (2020). Exogenous melatonin restrains neuroinflammation in high fat diet induced diabetic

- rats through attenuating indoleamine 2,3-dioxygenase 1 expression. *Life Sciences*, 247, 117427. doi: 10.1016/J.LFS.2020.117427
- Mason, I. C., Qian, J., Adler, G. K., Scheer, F. A. J. L., Program, C., & Disorders, C. (2021). *Impact of circadian disruption on glucose metabolism: Implications for Type 2 Diabetes*. 63(3), 462–472. doi: 10.1007/s00125-019-05059-6. Impact
- Morris, C. J., Yang, J. N., Garcia, J. I., Myers, S., Bozzi, I., Wang, W., Buxton, O. M., Shea, S. A., & Scheer, F. A. J. L. (2015). Endogenous circadian system and circadian misalignment impact glucose tolerance via separate mechanisms in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(17), E2225–E2234. doi: 10.1073/PNAS.1418955112/-/DCSUPPLEMENTAL
- Muñoz-Hoyos, A., Bonillo-Perales, A., Ávila-Villegas, R., González-Ripoll, M., Uberos, J., Florido-Navío, J., & Molina-Carballo, A. (2007). Melatonin levels during the first week of life and their relation with the antioxidant response in the perinatal period. *Neonatology*, 92(3), 209–216. doi: 10.1159/000102957
- Negi, G., Kumar, A., & Sharma, S. S. (2011). Melatonin modulates neuroinflammation and oxidative stress in experimental diabetic neuropathy: effects on NF-κB and Nrf2 cascades. *Journal of Pineal Research*, 50(2), 124–131. doi: 10.1111/J.1600-079X.2010.00821.X
- Németh, J., Thán, M., Sári, R., Peitl, B., Oroszi, G., Farkas, B., Szolcsányi, J., & Szilvássy, Z. (1999). Impairment of neurogenic inflammatory and anti-inflammatory responses in diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 386(1), 83–88. doi: 10.1016/S0014-2999(99)00724-4
- Nishida, S., Segawa, T., Murai, I., & Nakagawa, S. (2002). Long-term melatonin administration reduces hyperinsulinemia and improves the altered fatty-acid compositions in type 2 diabetic rats via the restoration of Delta-5 desaturase activity. *Journal of Pineal Research*, 32(1), 26–33. doi: 10.1034/J.1600-079X.2002.10797.X
- Oliveira-Abreu, K., Cipolla-Neto, J., & Leal-Cardoso, J. H. (2022). Effects of Melatonin on Diabetic Neuropathy and Retinopathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1). doi: 10.3390/IJMS23010100
- Oliveira, A. C. de, Andreotti, S., Sertie, R. A. L., Campana, A. B., de Proença, A. R. G., Vasconcelos, R. P., Oliveira, K. A. de, Coelho-de-Souza, A. N., Donato-Junior, J., & Lima, F. B. (2018). Combined treatment with melatonin and insulin improves glycemic control, white adipose tissue metabolism and reproductive axis of diabetic male rats. *Life Sciences*, 199, 158–166. doi: 10.1016/J.LFS.2018.02.040
- Onaolapo, A. Y., & Onaolapo, O. J. (2018). Circadian dysrhythmia-linked diabetes mellitus: Examining melatonin's roles in prophylaxis and management. *World Journal of Diabetes*, 9(7), 99–114. doi: 10.4239/wjd.v9.i7.99
- Özdemir, G., Ergün, Y., Bakarış, S., Kilinç, M., Durdu, H., & Ganiyusufoğlu, E. (2014).

Melatonin prevents retinal oxidative stress and vascular changes in diabetic rats. *Eye*, 28(8), 1020. doi: 10.1038/EYE.2014.127

Peng, X., Fan, R., Xie, L., Shi, X., Dong, K., Zhang, S., Tao, J., Xu, W., Ma, D., Chen, J., & Yang, Y. (2022). A Growing Link between Circadian Rhythms, Type 2 Diabetes Mellitus and Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1). doi: 10.3390/ijms23010504

Pollreisz, A., & Schmidt-Erfurth, U. (2010). Diabetic Cataract—Pathogenesis, Epidemiology and Treatment. *Journal of Ophthalmology*, 2010, 1–8. doi: 10.1155/2010/608751

Posa, L., De Gregorio, D., Gobbi, G., & Comai, S. (2018). Targeting Melatonin MT2 Receptors: A Novel Pharmacological Avenue for Inflammatory and Neuropathic Pain. *Current Medicinal Chemistry*, 25(32), 3866–3882. doi: 10.2174/0929867324666170209104926

Pourhanifeh, M. H., Hosseinzadeh, A., Dehdashtian, E., Hemati, K., & Mehrzadi, S. (2020). Melatonin: new insights on its therapeutic properties in diabetic complications. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 12(1), 30. doi: 10.1186/S13098-020-00537-Z

Poza, J. J., Pujol, M., Ortega-Albás, J. J., & Romero, O. (2022). Melatonina en los trastornos de sueño. *Neurología*, 37(7), 575–585. doi: 10.1016/j.nrl.2018.08.002

Reutrakul, S., Siwasaranond, N., Nimitphong, H., Saetung, S., Chirakalwasan, N., Chailurkit, L. or, Srijaruskul, K., Ongphiphadhanakul, B., & Thakkinstian, A. (2017). Associations between nocturnal urinary 6-sulfatoxymelatonin, obstructive sleep apnea severity and glycemic control in type 2 diabetes. *Chronobiology International*, 34(3), 382–392. doi: 10.1080/07420528.2016.1278382

Rotariu, D., Babes, E. E., Tit, D. M., Moisi, M., Bustea, C., Stoicescu, M., Radu, A. F., Vesa, C. M., Behl, T., Bungau, A. F., & Bungau, S. G. (2022). Oxidative stress – Complex pathological issues concerning the hallmark of cardiovascular and metabolic disorders. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 152(August), 113238. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113238

Rovira-Llopis, S., Apostolova, N., Bañuls, C., Muntané, J., Rocha, M., & Victor, V. M. (2018). Mitochondria, the NLRP3 Inflammasome, and Sirtuins in Type 2 Diabetes: New Therapeutic Targets. *Antioxidants & Redox Signaling*, 29(8), 749–791. doi: 10.1089/ARS.2017.7313

Sandireddy, R., Yerra, V. G., Areti, A., Komirishetty, P., & Kumar, A. (2014). Neuroinflammation and Oxidative Stress in Diabetic Neuropathy: Futuristic Strategies Based on These Targets. *International Journal of Endocrinology*, 2014. doi: 10.1155/2014/674987

Satari, M., Bahmani, F., Reiner, Z., Soleimani, A., Aghadavod, E., Kheiripour, N., & Asemi, Z. (2021). Metabolic and anti-inflammatory response to melatonin administration in patients with diabetic nephropathy. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 15(1), 22–30.

- Scott, J. R., Tamura, R. N., Muangman, P., Isik, F. F., Xie, C., & Gibran, N. S. (2008). Topical Substance P Increases Inflammatory Cell Density in Genetically Diabetic Murine Wounds. *Wound Repair and Regeneration : Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 16(4), 529. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00400.X
- Shokri, M., Sajedi, F., Mohammadi, Y., & Mehrpooya, M. (2021). Adjuvant use of melatonin for relieving symptoms of painful diabetic neuropathy: results of a randomized, double-blinded, controlled trial. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 77(11), 1649–1663. doi: 10.1007/s00228-021-03170-5/TABLES/4
- Song, S. O., He, K., Narla, R. R., Kang, H. G., Ryu, H. U., & Boyko, E. J. (2019). Metabolic consequences of obstructive sleep apnea especially pertaining to diabetes mellitus and insulin sensitivity. *Diabetes and Metabolism Journal*, 43(2), 144–155. doi: 10.4093/dmj.2018.0256
- Theofilis, P., Vordoni, A., & Kalaitzidis, R. G. (2022). The Role of Melatonin in Chronic Kidney Disease and Its Associated Risk Factors: A New Tool in Our Arsenal? *Depth Topic Review Am J Nephrol*, 53, 565–574. doi: 10.1159/000525441
- Thomas, A. P., Hoang, J., Vongbunyong, K., Nguyen, A., Rakshit, K., & Matveyenko, A. V. (2016). Administration of melatonin and metformin prevents deleterious effects of circadian disruption and obesity in male rats. *Endocrinology*, 157(12), 4720–4731. doi: 10.1210/en.2016-1309/SUPPL_FILE/EN-16-1309.PDF
- Tordjman, S., Chokron, S., Delorme, R., Charrier, A., Bellissant, E., Jaafari, N., & Fougerou, C. (2017). Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. *Current Neuropharmacology*, 15(3), 434–443. doi: 10.2174/1570159X14666161228122115
- Vezza, T., Marañ, A. M. De, Canet, F., Pedro, D., Marti, M., Ocon, P. D., Apostolova, N., Rocha, M., & V, M. (2021). *MicroRNAs and Oxidative Stress : An Intriguing Crosstalk to Be Exploited in the Management of Type 2 Diabetes*. 1–19.
- Wajid, F., Poolacherla, R., Mim, F. K., Bangash, A., & Rutkofsky, I. H. (2020). Therapeutic potential of melatonin as a chronobiotic and cytoprotective agent in diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 19(2), 1797. doi: 10.1007/s40200-020-00585-2
- Xu, P., Wang, J., Hong, F., Wang, S., Jin, X., Xue, T., Jia, L., & Zhai, Y. (2017). Melatonin prevents obesity through modulation of gut microbiota in mice. *Journal of Pineal Research*, 62(4). doi: 10.1111/jpi.12399
- Zanuto, R., Siqueira-Filho, M. A., Caperuto, L. C., Bacurau, R. F. P., Hirata, E., Peliciari-Garcia, R. A., Do Amaral, F. G., Marcal, A. C., Ribeiro, L. M., Camporez, J. P. G., Carpinelli, A. R., Bordin, S., Cipolla-Neto, J., & Carvalho, C. R. O. (2013). Melatonin improves insulin sensitivity independently of weight loss in old obese rats. *Journal of Pineal Research*, 55(2), 156–165. doi: 10.1111/jpi.12056

Zhang, J. lei, Hui, Y., Zhou, F., & Hou, J. Q. (2018). Neuroprotective effects of melatonin on erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Urology and Nephrology*, 50(11), 1981–1988. doi: 10.1007/S11255-018-1989-4