



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Biologia

Memòria del Treball de Fi de Grau

Efectes de la qualitat del son d'un suplement diari de melatonina en humans joves

Lucía Loubet Oliver

Grau de Biologia

Any acadèmic 2014-15

DNI de l'alumne: 43183755J

Treball tutelat per Sara Aparicio Martínez
Departament de Fisiologia Animal

S'autoritza la Universitat a incloure el meu treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

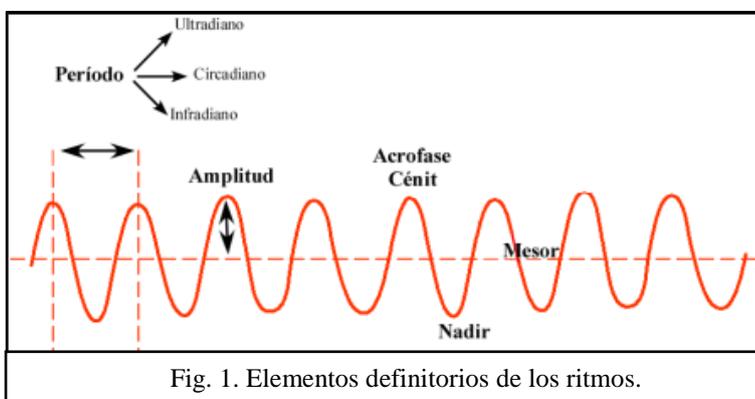
Paraules clau del treball:

Melatonina, Adultos jóvenes, Latencia de sueño, Eficiencia de sueño, ciclo vigilia-sueño.

Introducción

Los ritmos biológicos no constituyen un seguimiento pasivo de las condiciones ambientales, forman parte de una adaptación al entorno que es fundamental para la supervivencia de las especies. Un ciclo consiste en la sucesión de acontecimientos que tienen lugar de forma repetitiva siempre en el mismo orden sin tener en cuenta el tiempo en que tienen lugar. Cuando un ciclo se repite en un intervalo de tiempo constante y previsible se habla de ritmo. La frecuencia nos indica el número de ciclos que tienen lugar por unidad de tiempo, y el período es el tiempo que tarda en repetirse un ciclo. El ritmo puede ser endógeno o exógeno, según si es generado por el propio organismo o no, aunque hay autores que sólo lo consideran ritmo si es endógeno. La persistencia de ritmos biológicos en condiciones ambientales constantes, indica la presencia de un reloj interno o marcapasos que controla la periodicidad de ciertas variables (fig. 1).

Los ritmos se pueden dividir en tres tipos principales según su frecuencia (Díez-Noguera y Cambras, 1989; Haus y Touitou, 1992):



Ritmos circadianos son aquellos que tienen una frecuencia próxima a la diaria, es decir entre 20 y 28 horas. En este grupo se encuentra la mayoría de los ritmos que se estudian en cronobiología. En el ser humano se han descrito multitud de ritmos circadianos: Alimentación, depuración y excreción, temperatura corporal, secreción

hormonal, reproducción, actividad-reposo, vigilia-sueño.

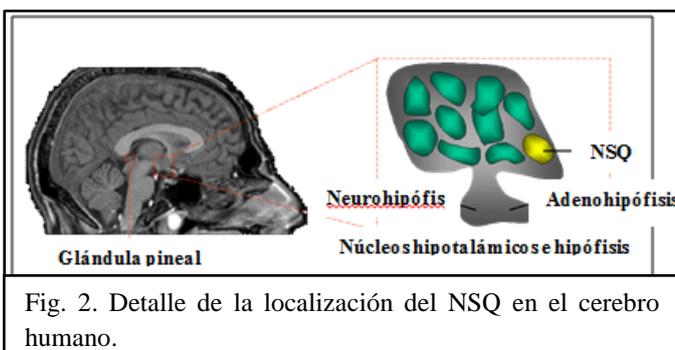
Ritmos ultradianos son aquellos que tienen una frecuencia superior a la diaria, es decir, un período inferior a las 20 horas. Los ejemplos más representativos son el latido cardíaco y la ventilación pulmonar.

Ritmos infradianos son aquellos cuya frecuencia es inferior a la diaria, es decir con un período superior a 28 horas, como es el caso del ciclo menstrual de la mujer.

El **sistema circadiano** es un conjunto de estructuras cuya misión consiste en organizar los ritmos de

determinados procesos fisiológicos (Minors y Waterhouse, 1981; Assenmacher, 1982). Este sistema consta de las siguientes estructuras:

Núcleo supraquiasmático (NSQ); es un núcleo localizado en el hipotálamo, cuyas neuronas exhiben ritmos de descarga de potenciales de acción que varía según ciclos circadianos; este núcleo constituye el reloj biológico o principal



marcapasos endógeno y su función es controlar las oscilaciones de los organismos (Moore y Eichler, 1972; Stephan y Zucker, 1972). En el hombre, el NSQ se encuentra localizado en las paredes del tercer ventrículo, por debajo del hipotálamo y encima del quiasma óptico (fig. 2).

Vías aferentes (de entrada); que conducen la información de señales externas al organismo, u otras zonas del sistema nervioso, al NSQ. Las vías aferentes más importantes son:

- a) Tracto retinohipotalámico, que transmite directamente las señales luminosas, desde las células ganglionares de la retina, al NSQ (Moore y Eichler, 1972).
- b) Tracto genículohipotalámico que transmite indirectamente los estímulos luminosos al NSQ (Card y Moore, 1989).
- c) Vías procedentes de los núcleos del rafe y de las neuronas tuberomamilares de la hipófisis posterior, vías encargadas de transmitir las señales no luminosas al NSQ (Azmitia y Segal, 1978; Hay-Schmidt y cols., 2003).

Vías eferentes (de salida), que acoplan el marcapasos con los sistemas efectores que producen los ritmos. Se pueden clasificar según la zona del sistema nervioso central a la que se proyectan. Entre las que se dirigen al hipotálamo destacan:

- a) Las vías eferentes del NSQ al núcleo paraventricular, presumiblemente involucrado en el control de los ritmos de funciones hormonales y autonómicas.
- b) Las vías eferentes del NSQ al área preóptica, involucrada en la regulación de la temperatura, balance de fluidos y la conducta sexual.
- c) Las vías eferentes del NSQ al área retroquiasmática, desde la cual se envían señales a los hemisferios cerebrales (regulación de la conducta), tronco encefálico (regulación autonómica) y a la médula espinal (control sensorial y motor).
- d) Las vías eferentes que se dirigen desde el NSQ hacia áreas fuera del hipotálamo incluyendo las que se proyectan al tálamo (locomoción), al sistema límbico (memoria y tono afectivo) y al núcleo geniculado lateral.

El sistema circadiano está modulado por una serie de neurotransmisores, siendo el GABA el más abundante en el NSQ y en sus vías eferentes. El NSQ también sintetiza neuropéptidos como el péptido intestinal vasoactivo, la vasopresina y la somatostatina.

El hecho de que el NSQ sea el principal marcapasos endógeno viene reforzado por experimentos que demuestran que la destrucción del NSQ produce alteraciones prácticamente en todos los ritmos circadianos, principalmente a los correspondientes a la actividad motora, ingestión, temperatura central, conducta sexual, ciclo vigilia-sueño (Welsh y cols., 1995).

El NSQ tiene unas características propias presentes en la mayoría de especies; se compone de neuronas de tamaño relativamente pequeño, axones cortos y campos dendríticos pequeños que presentan una frecuencia espontánea de descarga muy baja. La mayoría de las neuronas del NSQ varían su actividad espontánea en respuesta a la entrada de luz por la retina, generalmente aumentan su frecuencia de descarga de forma proporcional a la intensidad de la luz que llega a la retina.

Cuando un organismo se encuentra aislado de cualquier referencia temporal externa (condiciones ambientales constantes), decimos que sus ritmos se encuentran en **curso libre**. El período del ritmo que se manifiesta en curso libre se conoce como período endógeno y se designa con la letra griega tau (τ).

Es importante destacar que aunque el valor de tau es relativamente constante y determinado genéticamente, existen factores exógenos que pueden afectar este valor. Entre ellos el más importante, o al menos el más estudiado, es la luz ambiental. Cuando un animal se encuentra bajo condiciones ambientales periódicas manifiesta un ritmo circadiano con el mismo período que el entorno. En este caso se dice que el ritmo está **encarrilado o sincronizado**. Esto significa que el ritmo exógeno no genera ningún ritmo en el organismo, sino que encarrila ritmos endógenos ya existentes. Lo que es debido a la necesidad de adaptarse al entorno para un mayor aprovechamiento energético y de recursos. La existencia de un mecanismo específico de encarrilamiento es necesaria ya que los ciclos de luz varían en su duración a lo largo del año. Los elementos externos que utiliza el organismo como referencias temporales para poder encarrilar sus ritmos se conocen con el término alemán **Zeitgeber** (marcadores de tiempo) (Rusak, 1989). El más conocido y universal es, la alternancia de luz/oscuridad. Esta información accede al NSQ desde la retina

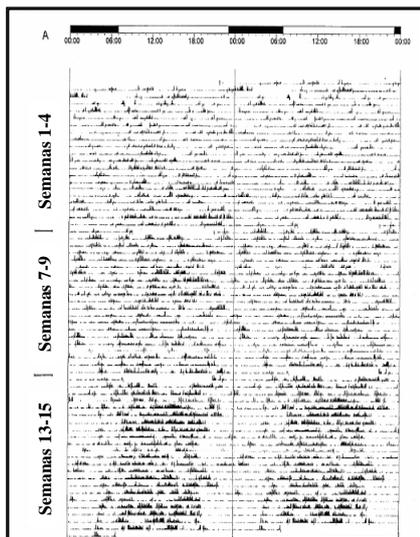


Fig. 3. Actograma tipo de un recién nacido; muestra como los ritmos de actividad-reposo presentan con un patrón ultradiano incluso aleatorio en el nacimiento y como lentamente se van ajustando a un patrón circadiano de 24 horas. (Redibujado de Rivkees, 2003).

principalmente a través del tracto **retinohipotalámico**. Existen otros elementos que pueden actuar como Zeitgebers en determinadas circunstancias y especies animales, como por ejemplo, el contacto social con seres de la misma especie, los ruidos, la disponibilidad de alimento y la actividad motora.

El sistema circadiano no está presente en el momento del nacimiento, sino que se desarrolla en el período postnatal. Tras el nacimiento la mayoría de animales presentan ritmos ultradianos en algunas variables, aunque también muchas de sus variaciones ocurren al azar, es decir son arrítmicas (fig.3). La maduración de los ritmos comporta un cambio de una ritmicidad ultradiana (de unas 4 ó 5 horas) a una circadiana (de 24 horas).

El **sueño** es por excelencia la condición fisiológica que ha recibido mayor atención a lo largo de la historia de la humanidad. Este término se utiliza para describir el periodo de actividad reducida que se observa periódicamente en el hombre y en la mayoría de los animales. Cada especie y cada edad muestra unas cantidades

diferentes de sueño, y existe una clara correlación entre el sueño y parámetros biológicos fundamentales. En 1913 Pierón definía el sueño como un estado periódicamente necesario que se caracteriza por la suspensión de las relaciones sensitivo-motoras que conectan al ser vivo con su entorno.

El sueño además, requiere la adopción de una postura estereotipada (Flanigan, 1973), uso de lugares específicos donde dormir y destaca especialmente la recurrencia circadiana del sueño (Bruce Durie, 1981).

El fenómeno del sueño no se entiende sin la vigilia, de modo que forman el denominado **ciclo vigilia-sueño** que en la mayoría de especies está acoplado al ciclo luz-oscuridad (fig.4).

La existencia de una regulación implica que el sueño cumple algún tipo de función necesaria en el organismo; aunque por el momento no hay acuerdo acerca de cuál es dicha función. Existen diferentes teorías que intentan darle una explicación a la función del sueño:

- 1) Conservación/protección de energía frente al agotamiento energético (Berger y Phillips, 1995).
- 2) Termorregulación (McGinty y Szymusiak, 1990).
- 3) Adaptación al nicho ecológico (Web, 1974).
- 4) Plasticidad neuronal (Krueger y cols., 1995).
- 5) Procesamiento de la memoria (Smith, 1995).

Uno de los modelos más conocidos para explicar las interacciones entre la homeostasis del sueño y los ciclos circadianos es el desarrollado por Borbely en 1982. Este modelo considera que la amplitud del proceso homeostático es dependiente del número de horas de vigilia previas al sueño. De la interacción de este proceso con las oscilaciones en la temperatura corporal se puede deducir la duración de un episodio de sueño determinado y los resultados que se obtienen aplicando este modelo están notablemente ajustados a los que se observan en la realidad en animales de experimentación y también en la especie humana.

A principio de los años cincuenta, Aserinsky y Kleitman (1953) descubrieron que existía un tipo de sueño muy común en niños que también aparecía de forma recurrente en el sueño de adultos (Dement y Kleitman, 1957). Llamado sueño REM, de *Rapid Eye Movements* (movimientos oculares rápidos), o Sueño Paradójico (SP). El otro tipo de sueño se denominó sueño de onda lenta (SWS, Slow Wave Sleep) atendiendo a que estaba asociado un electroencefalograma sincronizado con ondas lentas.

La cantidad total del sueño diario va disminuyendo progresivamente con la edad (Roffwarg y cols., 1966) así, el sueño en el recién nacido viene a ser de unas 17-18 horas, durante la adolescencia alcanzan las 7 u 8 horas típicas de la edad adulta y a partir de esta edad el tiempo de sueño va declinando progresivamente hasta las 5 o 6 horas en la vejez (fig.5).

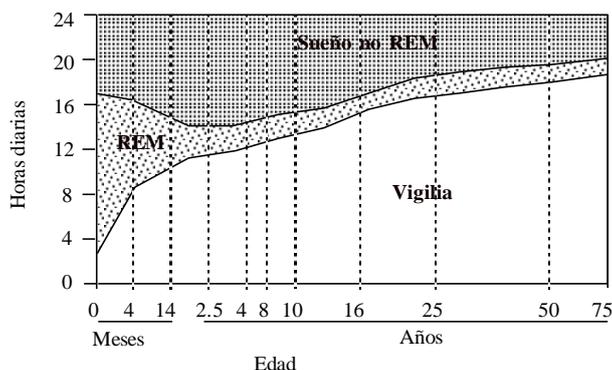
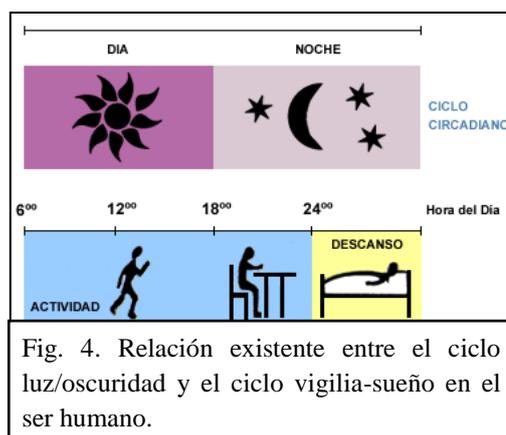


Fig. 5. Representación gráfica de los cambios que sufre el sueño con la edad en la especie humana. (Redibujado de Roffwarg y cols., 1966).

Pero, *¿Cómo se regula el sueño?* La idea de que el sueño estaba producido por la acumulación durante la vigilia de una sustancia que inducía al sueño es muy antigua. Pierón, en 1913 realizó los primeros experimentos en la búsqueda de un factor inductor del sueño, experimentos que no han dejado de realizarse con resultados diversos. Uno de los problemas de difícil solución reside en las múltiples formas en que una sustancia de tal tipo pueda presentarse.

Podemos encontrar numerosas sustancias encargadas de modular el sueño, las cuales podrían englobarse en dos grandes grupos de forma muy general:

- Sustancias con función inhibitoria, inactivan neuronas encargadas del mantenimiento de la vigilia. Las neuronas GABAérgicas juegan un papel muy importante en el control del sueño, ya que el GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central. Un ejemplo representativo son las neuronas colinérgicas directamente inhibidas por neuronas GABA y por tanto activadoras del sueño.
- Sustancias con función moduladora, la adenosina es un neuromodulador del sistema nervioso central con importantes efectos sobre la regulación del sueño, ya que tanto a la propia adenosina, como a sus agonistas selectivos se les han atribuido propiedades hipnóticas (Haulica y cols., 1973). Otra sustancia moduladora de importante interés en el control del sueño y de los ritmos circadianos es la hormona MELATONINA secretada por la glándula pineal. De sumo interés en los últimos años y sujeto de múltiples estudios, se considera una molécula muy conservada evolutivamente pudiéndose encontrar tanto el reino animal como vegetal (Dubbels, R. et al., 1995).

El órgano o **glándula pineal** aparece como una evaginación media del techo del diencéfalo en el cerebro embrionario. En muchos mamíferos la pineal se desplaza desde el techo del tercer ventrículo y pierde la conexión con el cerebro si se exceptúa un tallo muy delgado. Está innervada por fibras postganglionares que se originan en el ganglio cervical superior, por lo que se puede considerar un órgano efector del sistema nervioso autónomo (Wurtman, 1968).

El nombre pineal (epífisis), se debe a su forma, semejante a un piñón, siendo su tamaño aproximado en el hombre adulto al de un guisante. Pesa una media de 173 miligramos, oscilando según las personas entre los 41 y 804 miligramos.

Las células parenquimáticas de la pineal, los pinealocitos, derivan del forro ependimario del epitálamo y en mamíferos, pueden distinguirse tanto células claras como células oscuras poseedoras de pigmentos fotosensibles, como los existentes en las células fotosensibles. Las células oscuras contienen un pigmento de naturaleza desconocido y depósitos de glucógeno cuyo significado fisiológico tampoco está aclarado (Hadley, 1997). El resto de masa glandular está compuesta por elementos gliales y por fibroblastos.

La calcificación de la pineal humana se inicia durante la segunda década de la vida y, hacia los 60 años de edad el 70 % pueden estar al menos, parcialmente calcificadas (Hadley, 1997). A pesar de ello no existen evidencias de que la calcificación suponga pérdida de función.

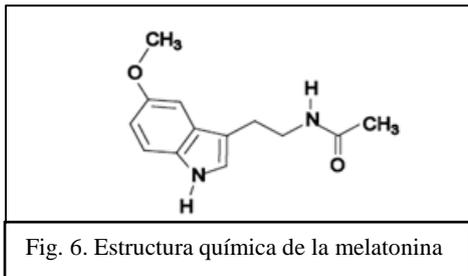


Fig. 6. Estructura química de la melatonina

La melatonina fue descubierta en 1958 por el dermatólogo y bioquímico Lerner, quien se basó en las observaciones hechas previamente por Cord y Allen en 1917.

La melatonina es una indolamina, derivada del indol (hidrocarburo que tiene un anillo hexagonal unido a uno pentagonal) que se produce en la glándula pineal o epífisis a partir

del Triptófano, uno de los 20 aminoácidos fundamentales que componen la materia viva (fig.6).

La existencia de variaciones luz/oscuridad en el contenido de melatonina está bien documentada en todas las clases de vertebrados, siendo los niveles de melatonina bastante más altos durante la noche que durante el día (Hasegawa y Ebihara, 1997; Reiter, 2003; Yellon y Hilliker, 1994).

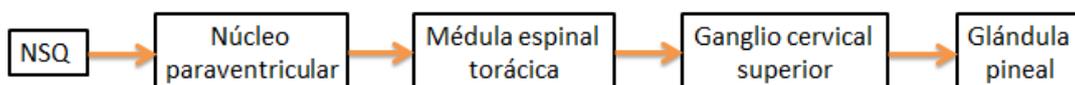
La biosíntesis pineal de melatonina es bien conocida (Wurtman, 1968) y ocurre en una serie de reacciones enzimáticas. Implica el uso del Triptófano, que se convierte en 5-hidroxitriptófano (5-HTP) por el enzima triptófano hidroxilasa. El enzima 5-hidroxitriptófano descarboxilasa actúa sobre el 5-HTP para formar 5-hidroxitriptamina (serotonina ó 5-HT), que se convierte en N-acetilserotonina por la acción de la N-acetiltransferasa. La N-acetilserotonina producida, sufre una O-metilación por medio de la hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT) para formar N-acetil-5-metoxitriptamina o melatonina.

La producción de melatonina está controlada, principalmente por la actividad de la enzima N-acetiltransferasa, que es el enzima limitante su producción (Klein y Weller, 1970). La melatonina es metabolizada en el hígado a 6-hidroximelatonina por la acción de la melatonina hidroxilasa, y posteriormente es convertida en sulfato o glucurónido para su eliminación por la orina.

Su síntesis en la pineal está controlada por las señales lumínicas recibidas por la retina. Durante la noche se produce un incremento de la actividad de la N-acetiltransferasa que presenta valores de 10 a 100 veces mayores que los que presenta durante el día. Como consecuencia se incrementa la concentración de N-acetilserotonina a valores entre 10 y 30 veces mayores (Klein y Moore, 1979).

La glándula pineal, es esencialmente, el intermediario entre el fotoperíodo externo y el medio interno, es donde la información sobre la luz y la oscuridad se transduce en un mensajero químico (Reiter 1991a; Reiter 1991b, Reiter, 1991c). También se ha sugerido que la biosíntesis de melatonina podría estar influida por el espectro electromagnético, siendo más efectiva la luz verde-azulada (Reiter y Lercher, 1993).

La estimulación postganglionar de los pinealocitos depende de la ausencia de estimulación luminosa en las retinas oculares. Las células fotorreceptoras encargadas de la visión, conos y bastones, no participan en la percepción lumínica que modula la producción de melatonina pineal. Existen en la retina unas células ganglionares especializadas, que contienen un único fotopigmento que responde a la luz (Brainard y cols., 2001). Esta información se transduce en un mensaje neuronal que es transmitido al NSQ del hipotálamo a través de una vía retinohipotalámica (Moore, 1978) de la siguiente manera:



Este circuito neuronal conduce la información luminosa ambiental hacia la glándula pineal determinando la síntesis cíclica de melatonina.

En respuesta a la oscuridad se libera noradrenalina en los primeros neurotransmisores. Se une en el

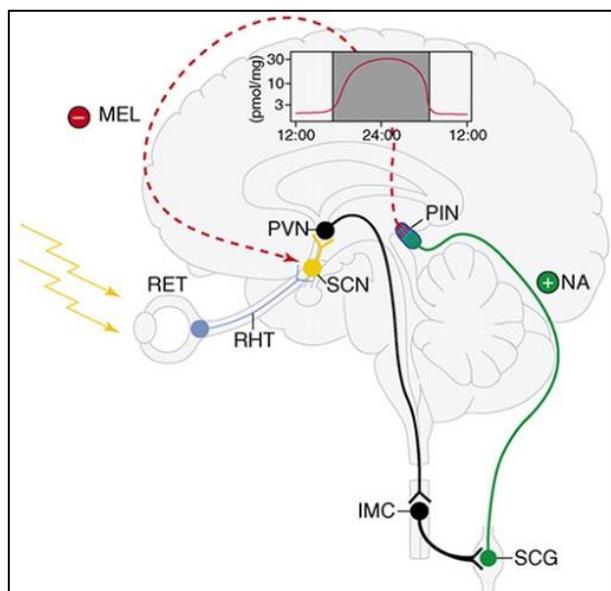


Fig. 7. Esquema de la vía polisináptica que controla la producción de melatonina por la glándula pineal. MEL: melatonina; RET: retina; RHT: tracto retinohipotalámico; SCN: núcleo supraquiasmático; PVN (núcleo paraventricular; IMC: columna intermediolateral de la médula cervical; SCG: ganglio cervical superior; NA: noradrenalina; PIN: pineal.

pinealocito a receptores β , produciéndose un aumento en los niveles de AMPc intracelulares. Este, estimula la síntesis proteica de novo de la enzima limitante NAAT, que cataliza la conversión de serotonina a N-acetilserotonina, paso metabólico limitante en la síntesis de melatonina (fig.7).

Asimismo, se ha verificado la amplia distribución de receptores para melatonina, indicada inicialmente mediante el empleo de 3H-melatonina. Existe también evidencia sobre la presencia de lugares periféricos de unión para la melatonina en la mayoría de los tejidos y órganos, como sistema inmune, intestino, riñón, glándulas endocrinas, pulmón... (Sugden y cols., 1998).

En base a sus propiedades cinéticas, especificidad y localización en el SNC se han identificado distintos receptores para la melatonina. Encontramos dos tipos de receptores de la melatonina

ML1 y ML2 basados en diferencias cinéticas y farmacológicas. La "International Union of Pharmacology" (IUPHAR) propuso más tarde una nomenclatura en concordancia con lo establecido para otros receptores (Dubocovich y cols., 1998). De los dos subtipos de receptores para melatonina clonados en mamíferos, MT1 y MT2 (inicialmente conocidos como Mel1a y Mel1b), el receptor MT1 podría mediar los efectos circadianos y reproductivos, ya que se expresa en el NSQ y en la *pars tuberalis*, considerados los lugares de acción circadiana y estacional. Considerando la naturaleza lipofílica de la melatonina, se presupone la existencia de receptores intracelulares. Uno de ellos, perteneciente a la superfamilia de receptores nucleares RZR/ROR, puede mediar varios efectos inmunológicos de la melatonina (Carlberg y Wiesenber, 1995).

Los receptores MT1 y MT2 pertenecen a la superfamilia de receptores asociados a proteínas G. La unión de a melatonina a estos receptores, induce la inhibición de adenilato ciclasa. Otros segundos mensajeros de la acción de la melatonina se han propuesto a distintos fosfoinositósidos, a derivados del ácido araquidónico y Ca^{2+} . La melatonina no sólo afecta la actividad neuronal sino también modifica diversas funciones en células gliales, tales como la acumulación de nucleótidos cíclicos y el influjo de Ca^{2+} .

La complejidad de la acción hormonal hace difícil todavía la formulación de un esquema coherente sobre el lugar y mecanismo de acción de la melatonina. La principal función en el hombre se basa en:

1. **Sincronización circadiana:** Se ha definido una típica curva de respuesta de fase para melatonina en la que administración matutina produce retardos de fase de los ritmos circadianos mientras que la administración vespertina produce adelantos de fase.
2. **Promoción del sueño:** La melatonina “abre las puertas” del sueño.
3. **Regulación de la temperatura corporal:** El aumento nocturno de melatonina reduce la temperatura corporal. Aproximadamente un 50-70 % del ritmo de temperatura corporal es secundario al ritmo de melatonina.

Pero no son las únicas, existen evidencias de otras muchas funciones como son:

- **Sistema inmune:** Acción inmunopotenciadora en pacientes con cáncer. En animales de experimentación distintos aspectos de la función inmune son afectados positivamente.
- **Antioxidante:** Un trabajo de Beton S. et al (1999), muestra que incluso en concentraciones fisiológicas la melatonina presentan una capacidad antioxidante significativa. La melatonina neutraliza radicales libres de forma dos veces más eficaz que la vitamina E (antioxidante más potente). Pudiendo ser por tanto utilizado para tratar o ralentizar enfermedades degenerativas, además Reiter R. J. et al. (1995) y Menendez A. et al. (1993) afirman que la melatonina puede difundir incluso hasta el núcleo.

Los niveles de melatonina varían en los mamíferos adultos decreciendo con la edad. En los humanos la producción de melatonina decrece de tal manera que en personas de avanzada edad es imperceptible la amplitud entre el día y la noche (fig.8), siendo esta atenuación común en todos los mamíferos (Reiter, R.J.; 1995). La clara disminución entre la amplitud día-noche de la concentración de melatonina comienza en adultos jóvenes que superan los 25 años de edad, llegando a la mitad de su pico máximo entre los 51 y 55 años, hasta ser imperceptible en personas de entre 82 y 86 años (fig.8).

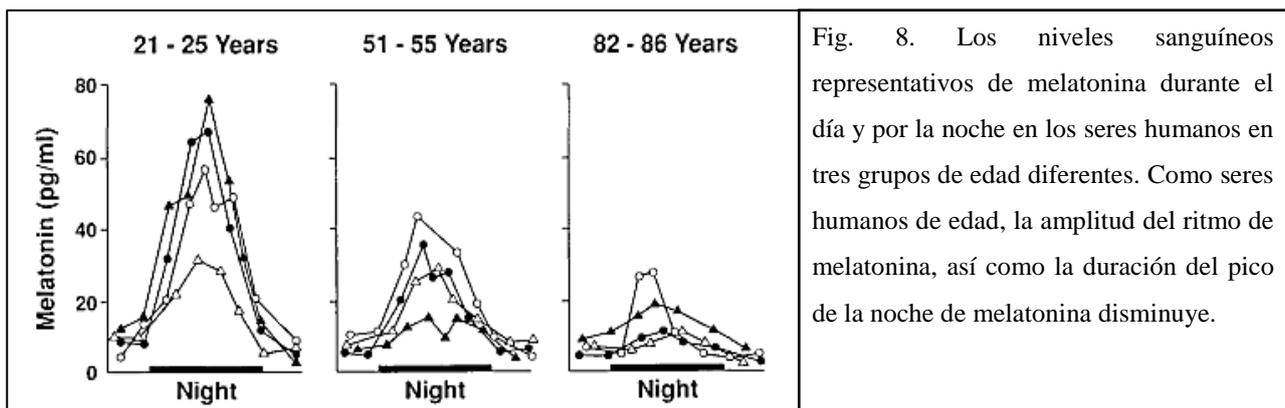


Fig. 8. Los niveles sanguíneos representativos de melatonina durante el día y por la noche en los seres humanos en tres grupos de edad diferentes. Como seres humanos de edad, la amplitud del ritmo de melatonina, así como la duración del pico de la noche de melatonina disminuye.

El suministro exógeno de melatonina es utilizado a día de hoy como **cronobiótico** en seres humanos, entre otro tipo de utilidades farmacológicas no certificadas. En el humano la melatonina administrada oralmente tiene tanto un efecto sincronizador del oscilador circadiano, como promotor del sueño (Dollins y cols., 1994; Kunz y Bes, 2001). Como todo agente que actúa sobre el reloj circadiano, la administración de melatonina produce una típica curva de respuesta de fase. Esta curva de respuesta es opuesta a la que se obtiene con la luz (Lewy y cols., 1992).

El insomnio observado en personas de edad avanzada, caracterizada por un cuadro de fase retardada del sueño, se ve mejorado con un aporte exógeno de melatonina vía oral. La administración de 2-5 mg de melatonina 30-60 minutos antes de dormir suele ser de gran utilidad para revertir estos trastornos, ya que produce un adelanto de fase del sistema circadiano y aumento de la amplitud de su principal señal sincronizadora del ritmo sueño-vigilia. Esto conduce a la mejora, no sólo de la calidad del sueño sino también de la vigilia, una diferencia sustancial con lo que normalmente se obtiene con hipnóticos como las benzodiazepinas, que en muchas ocasiones mejoran el sueño con deterioro de la alerta durante gran parte del día (Haimov y cols., 1994). Tal aplicación terapéutica de la melatonina ha sido verificada en distintas poblaciones de pacientes. En un estudio abierto controlado sobre la eficacia de la melatonina en los trastornos del sueño se examinaron 41 pacientes (de edad promedio 72 años) en el que recibían 3 mg de melatonina durante 21 días, 30 minutos antes del horario habitual para acostarse. Se observó a partir del segundo o tercer día de tratamiento como la melatonina aumentaba significativamente la evaluación subjetiva de la calidad de sueño y reducía el número de despertares nocturnos en los pacientes con trastornos del sueño (Fainstein y cols., 1997).

En los últimos años ha sido sugerida la posible relevancia terapéutica de la melatonina en la enfermedad de Alzheimer. En cultivos de neuronas, la melatonina protege contra la toxicidad del β -amiloide e inhibe su formación (Reiter, 1998). La probabilidad de detectar bajos niveles de melatonina en plasma es significativamente mayor en pacientes con demencia (Liu y cols., 1999). Iguales hallazgos fueron obtenidos en un estudio sobre un par de gemelos monocigóticos con enfermedad de Alzheimer de 8 años de evolución, uno de los cuales fue tratado con melatonina durante 3 años (Brusco y cols., 1998). En este paciente se observó una mejoría marcada de la agitación vespéral y de la calidad de sueño, con mínima afectación de la función amnésica comparada con su hermano gemelo.

Un aspecto de gran importancia de la melatonina es su baja toxicidad. Sin embargo, se carece de información sobre los efectos a largo plazo del tratamiento, por lo que, como en el caso de toda nueva medicación, es necesario un mecanismo eficaz de farmacovigilancia que permita su monitorización a lo largo del tiempo.

Sabemos que de forma generalizada los estudiantes universitarios no presentan unos buenos hábitos rutinarios, ya sean de alimentación, trabajo o sueño, los horarios universitarios no suelen estar equilibrados durante el año lo que no permite a los estudiantes llevar unos horarios constantes (Bennassar Veny, M.; 2011). Esto podría afectar a los patrones del sueño y a la mala calidad de este. Los niveles de melatonina endógenos de adultos jóvenes sanos es máxima dentro de los rangos de edad de los estudiantes universitarios, por lo tanto, no debería haber una mejor del sueño con un aporte exógeno de esta hormona. Sin embargo, en el caso de presentar algún desencarrilamiento de fase del ciclo vigilia-sueño por los malos hábitos generalizados por el estrés y otros factores, un aporte exógeno de melatonina permitiría una mejora del sueño y por tanto del ciclo.

Objetivos

- Estudio de los efectos en el ciclo vigilia-sueño de adultos jóvenes estudiantes universitarios, de entre 20-25 años, con un aporte exógeno de melatonina vía oral.
- Presentar datos concretos sobre la calidad del sueño de los adultos jóvenes universitarios, de entre 20-25 años, de la Universidad de las Islas Baleares, mediante actigrafía.
- Mostrar un posible desencarrilamiento de fase del ciclo vigilia-sueño en adultos jóvenes estudiantes, por los malos hábitos adoptados en el entorno social universitario.
- Evaluación, en caso de resultados positivos, de la modificación del sueño días después del tratamiento con melatonina exógena vía oral en adultos jóvenes.

Material

Adultos jóvenes estudiantes universitarios.

A través de la asignatura de Prácticas Integradas de fisiología animal y celular de tercer curso de grado de biología, siempre bajo información, cumplimiento y firma del consentimiento informado (anexo I), se seleccionaron estudiantes de entre 20 y 25 años de edad.

Fueron elegidos al azar proponiéndose ellos mismos voluntarios tras informarles del trabajo y estudio que estaba llevándose a cabo, fueron todos ellos estudiantes de Grado de Biología en la Universidad de las Islas Baleares en el curso académico 2014-2015.

El estudio se realizó durante todo el curso, a cada sujeto se le monitorizaron sus ritmos de actividad mediante actigrafía usando dispositivos colocados en la muñeca no dominante durante 12 días.

Fármaco administrado.

Se administró independientemente por cada sujeto por vía oral. El fármaco empleado fueron cápsulas de Melatonina, suministradas sin receta médica, las cantidades presentes por cápsula son las siguientes:

- 1,8 g de Melatonina en polvo.
- 200 mg de extracto seco de Pasiflora (*Passiflora incarnata*).
- 100 mg de extracto seco de Lúpulo (*Humulus lupulus*).
- Cubierta de la cápsula (gelatina).
- Agente de carga (maltodextrina).
- Peso total neto del contenido de la cápsula: 13 g
- Peso de la cápsula: 443 mg

Otros materiales.

Graphpad prism 5, utilizado para la bioestadística básica.

Métodos

1. Diseño experimental.

1.1. Procedimiento general.

Los adultos jóvenes universitarios presentan de forma general malos hábitos, que con suma seguridad se ven reflejados en los ciclos de vigilia-sueño y en la calidad de ambas fases del ciclo. Bennassar Veny, M. en su tesis doctoral, “Estilos de vida y salud en estudiantes universitarios: La universidad como entorno promotor de la salud” evalúa el estilo de vida de los estudiantes universitarios de la Universidad de las Islas Baleares, afirmando que “Un tercio de los estudiantes universitarios no practican ejercicio físico y/o deporte en su tiempo libre... con una relación inversa entre el tiempo que un individuo pasa ante el ordenador”, además de considerar en los estudiantes, malos hábitos alimenticios y un alto nivel de estrés. Recalca una diferencia significativa entre géneros. Siendo los hombres los que realizan más actividad física, prestan menos interés a la alimentación y consumen más alcohol; sin embargo las mujeres realizan menos actividad física, prestan más atención a la alimentación y fuman más.

Basándonos en los malos hábitos de los adultos jóvenes universitarios, se diseñó un estudio para evaluar el efecto en el sueño con un suplemento de melatonina exógena administrada vía oral.

Ocho adultos jóvenes estudiantes de la Universidad de las Islas Baleares, de los cuales 4 mujeres y 4 hombres, estando todos ellos comprendidos entre 20 y 25 años, fueron evaluados durante 12 días a lo largo del curso académico 2014/2015. Las dos semanas de tratamiento fueron divididas en tres subtratamientos, con una duración de 4 días cada uno de ellos:

- **CONTROL**: evaluación del sueño y vigilia de cada sujeto en sus condiciones habituales que previamente serán evaluadas mediante tests subjetivos especificados más adelante.
- **MELATONINA**: evaluación del sueño y vigilia de cada sujeto con un suplemento diario de melatonina 20-30 minutos antes de la hora habitual de acostarse.
- **POSTMELATONINA**: evaluación del sueño y vigilia de cada sujeto en sus condiciones habituales con el fin de observar los cambios tras el tratamiento con el suplemento de melatonina.

Durante el tratamiento, se evaluó el sueño mediante registros de actividad e inactividad, es una técnica no invasiva muy útil, ya que proporciona medios a los clínicos e investigadores para obtener datos diagnósticos con los que se pueden valorar diferentes problemas médicos, y puede proporcionar respuestas a muchas preguntas. Los niveles de actividad se relacionan con los patrones de sueño/vigilia, el nivel del dolor, el humor, gastos energéticos y otros parámetros cuantificables.

A cada sujeto se le realizaron:

- Cumplimentación de las agendas de sueño durante los 12 días de tratamiento.
- Medidas de la actividad motora.
- Medida de los principales parámetros definitorios de la calidad del sueño.
- Encuestas subjetivas realizadas por los mismos sujetos a cerca del sueño-vigilia.

1.2. Dispositivos empleados.

Primero se evaluó mediante agendas de sueño, cumplimentadas por ellos mismo, donde debían anotar como se puede ver en la tabla del anexo II:

- Hora de acostarse.
- Hora de despertarse.
- Hora de levantarse.
- Opinión subjetiva de cómo habían dormido.
- Otros: otras observaciones.

Mediante activímetros de muñeca (Actiwatch® Cambridge Neurotechnology Ltd.), se realizó la motorización de la actividad motora durante el tratamiento de cada uno de los sujetos. El registro fue ininterrumpido y continuo (los sujetos recibieron instrucciones para retirarse el dispositivo solamente durante el baño), durante las dos semanas de protocolo para cada uno de ellos.

La actigrafía es una técnica válida y muy útil para el estudio del sueño en seres humanos. Los resultados de Souza y colaboradores en 2003 demostraron que la actigrafía además de ser es una herramienta muy potente y útil para los estudios de sueño, presenta un nivel muy elevado de concordancia con los obtenidos mediante una polisomnografía, que aunque es el patrón perfecto para los estudios de sueño se descartó por exigir un elevado nivel de intervención y por obligar a la institucionalización de los sujetos.

El actiwatch es un dispositivo compacto y muy ligero que se lleva en la muñeca a modo de reloj, en los estudios realizados sobre adultos. Mide y registra los movimientos físicos. El tamaño compacto y el peso ligero (4-5 g) aseguran que pueda llevarse fácilmente, resultando un método poco invasivo de registro de la actividad motora. Los datos pueden ser transferidos a un ordenador y analizados por el programa adecuado de Cambridge Neurotechnology. Es importante destacar que los datos pueden ser recogidos por el activímetro a diferentes intervalos de tiempo, para nuestro estudio se seleccionó un intervalo de 2 minutos.

El sistema monitorizado Actiwatch de registro de actividad está formado por tres partes:

- Actiwatch.
- Reader/ lector conectado a un PC.
- El programa adecuado en el PC.

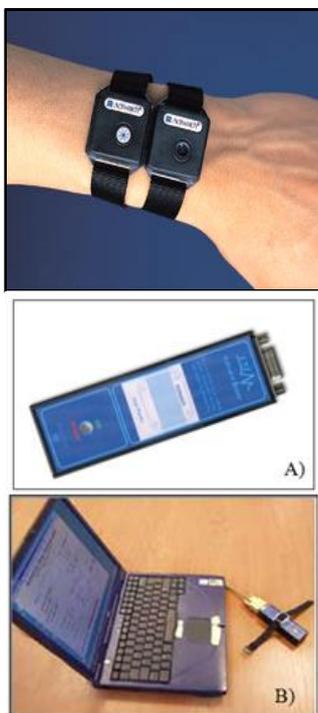


Fig. 9. A) Lector de los datos recopilados en el activímetro. B) Conexión Pc-reader-actiwatch.

La actividad se mide mediante un acelerómetro que registra la intensidad, la cantidad y la duración del movimiento en todas las direcciones. El correspondiente voltaje que se produce es convertido y almacenado como medida de actividad en la unidad de memoria del actiwatch. La frecuencia máxima que se puede

registrar es de unos 32 Hz. El actiwatch registra todos los movimientos que superaban una aceleración por encima de las 0,05 g. Este análisis permitió el cálculo de los parámetros sueño-vigilia de los datos registrados por el activímetro a lo largo del estudio de sujeto.

1.3. Parámetros estimados.

El programa ofrece una serie de algoritmos que hacen estimaciones sobre el movimiento, el sueño y vigilia para el periodo comprendido entre el comienzo y el final del sueño. Los tiempos de dormir y de despertar (equivalente a horas de luz y horas de oscuridad) se debían seleccionar de forma manual siguiendo las agendas rellenas por ellos mismos.

En la siguiente lista se muestra una descripción de los parámetros obtenidos en nuestro análisis del sueño:

- Hora de irse a la cama: determinado a partir de la agenda de sueño.
- Hora en la que se levantan: determinado a partir de la agenda de sueño.
- Tiempo de permanencia en la cama: es la diferencia entre los dos tiempos anteriores.
- Tiempo asumido como sueño: la diferencia entre el final y el principio del sueño.
- Tiempo real del sueño: determinado por algoritmos y es equivalente al tiempo de sueño asumido menos el tiempo de vigilia intrasueño.
- Tiempo no asumido como sueño: la diferencia entre el tiempo de permanencia en la cama y el tiempo real del sueño.
- Eficiencia de sueño: porcentaje de tiempo de sueño mientras el sujeto permanece en la cama.
- Latencia de sueño: tiempo que transcurre antes del inicio del sueño.
- Número de despertares.

Una vez calculados todos estos parámetros para una noche, el procedimiento se repetía para cada día registrado. De todos los parámetros calculados se seleccionaron aquellos que ofrecían información más relevante acerca de la calidad del sueño:

1. Latencia de sueño.
2. Despertares.
3. Tiempo no asumido como sueño.
4. Eficiencia de sueño.

El tiempo de permanencia en la cama no será evaluado ya que todos los sujetos deben cumplir unos horarios lectivos que no permitirán ver diferencias entre los tratamientos, ya que de forma aproximada sin tener en cuenta los fines de semana permanecerán las mismas horas en la cama.

1.4. Encuestas subjetivas.

- Índice de gravedad del insomnio: Insomnia Severity Index (Morin, C.M., 1993): método sencillo para evaluar el insomnio de cada sujeto (anexo III).
- Escala de Somnolencia de Epworth: permite evaluar de forma sencilla el grado de somnolencia diurna con el fin de detectar posibles problemas del sueño (anexo IV).

- Diferencia subjetiva de la calidad del sueño antes y durante el tratamiento: Sensación subjetiva de cada sujeto a la eficacia del tratamiento con melatonina (mejor, igual o peor), últimas acciones antes de irse a la cama y consumo durante el día de bebidas con cafeína.

2. Análisis estadístico

Los resultados globales se expresan como valores promedios \pm error estándar de la media (SEM). El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido del test “post hoc” de Bonferroni, cuando se compararon más de dos grupos experimentales diferentes. En todos los casos se consideró como estadísticamente significativo un nivel mínimo de probabilidad de (P) igual o inferior a 0,05.

Resultados:

1. Parámetros evaluados por actigrafía.

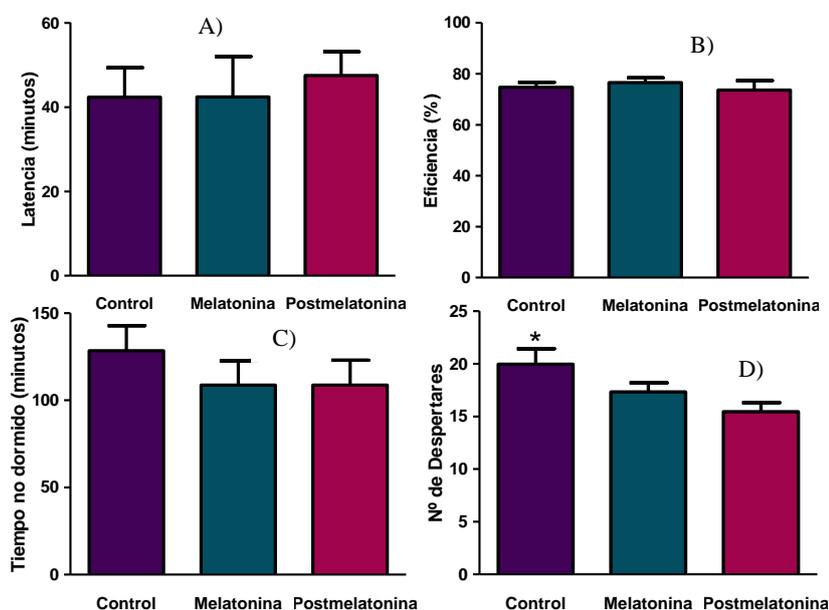
Se analizaron cuatro parámetros de la evaluación del sueño recopilados durante 2 semanas, mediante actigrafía, para cada uno de los sujetos, siendo un total de 8. De cada sujeto se representa en la Tabla 1. la media aritmética de cada uno de los parámetros evaluados, latencia de sueño (minutos), la eficiencia de sueño (%), el tiempo no asumido como sueño y el número de despertares nocturnos. Cada uno separado por subtratamiento, control, melatonina y postmelatonina. Con el fin de una evaluación global de sueño en los jóvenes universitarios y una posible mejora del sueño con un suplemento exógeno de melatonina vía oral.

Parámetros del sueño evaluados				
<u>CONTROL</u>	Latencia de sueño (minutos)	Eficiencia de sueño (%)	Tiempo no asumido como sueño (Minutos)	Número de despertares nocturnos
Sujeto 1	36,00	76,43	141,00	24,25
Sujeto 2	70,50	68,93	169,25	25,25
Sujeto 3	36,50	77,45	88,25	16,25
Sujeto 4	25,57	81,81	98,57	18,71
Sujeto 5	14,86	80,67	83,00	17,29
Sujeto 6	32,00	75,28	99,25	13,50
Sujeto 7	61,33	70,42	167,33	21,17
Sujeto 8	62,00	66,58	181,25	23,25
MEDIA TOTAL	42,35	74,69	128,49	19,96
<u>MELATONINA</u>	Latencia de sueño (minutos)	Eficiencia de sueño (%)	Tiempo no asumido como sueño (Minutos)	Número de despertares nocturnos
Sujeto 1	88,00	71,70	132,00	16,50
Sujeto 2	7,50	76,28	107,25	20,50
Sujeto 3	42,00	81,70	45,00	16,00
Sujeto 4	25,33	81,20	94,67	18,83
Sujeto 5	33,00	84,63	67,00	12,75
Sujeto 6	37,50	74,55	120,75	19,25
Sujeto 7	28,50	73,80	135,50	18,75

Sujeto 8	77,50	68,23	167,50	16,00
MEDIAS TOTAL	42,42	76,51	108,71	17,32
POST MELATONINA	Latencia de sueño (minutos)	Eficiencia de sueño (%)	Tiempo no asumido como sueño (Minutos)	Número de despertares nocturnos
Sujeto 1	44,50	75,58	112,00	15,50
Sujeto 2	37,93	53,86	120,94	14,64
Sujeto 3	36,00	80,72	49,20	16,00
Sujeto 4	29,00	84,08	84,50	15,00
Sujeto 5	40,50	84,18	76,25	12,75
Sujeto 6	51,00	74,15	100,00	14,50
Sujeto 7	64,00	73,20	163,00	21,00
Sujeto 8	77,00	63,13	164,00	14,25
MEDIAS TOTAL	48,83	75,59	112,33	15,88

Tabla 1. Parámetros del sueño evaluados para 8 adultos jóvenes cursando el Grado de Biología en la Universidad de las Islas Baleares, curso 2014/2015.

Los resultados ponen de manifiesto la mala calidad del sueño de los ocho sujetos evaluados durante el curso académico 2014/2015. La eficiencia de sueño más alta la presenta el sujeto 5 en el subtratamiento con melatonina siendo de 84,63% y la más baja representada por el sujeto 8 en el subtratamiento post melatonina siendo de un 63,13%. Además las medias de las latencias de sueño son superiores a 40 minutos, complementándose con el alto tiempo de sueño no asumido llegando a las dos horas de media en el subtratamiento control.



Gráfica 1. En todos los gráficos se representa la media de los 8 sujetos en cada subtratamiento. Con un ANOVA seguida de un test Bonferroni. * P-value < 0,05. A) Latencia de sueño media (minutos). B) Eficiencia de sueño media (%). C) Tiempo no asumido como sueño (minutos). D) Número de despertares nocturnos. P-value = 0,0305 entre los subtratamientos Control y Postmelatonina.

Se observa como tres de los parámetros evaluados, latencia de sueño, eficiencia de sueño y tiempo no asumido como sueño, permanecen invariables durante las dos semanas de tratamiento, no se encuentran diferencias significativas. Presentando valores de P-value muy superiores a 0,05, siendo de 0,8605 para la latencia de sueño, de 0,7452 para la eficiencia de sueño y de 0,5339 para el tiempo no asumido como sueño.

Únicamente presenta diferencias significativas el número de despertares nocturnos que se ven claramente disminuidos a lo largo del tratamiento, siendo de 19,96 en el subtratamiento control, de 17,32 en el subtratamiento melatonina y de 15,45 en el subtratamiento postmelatonina. Presentando diferencias significativas entre el subtratamiento control y postmelatonina con un P-value de 0,0305.

2. Evaluación encuestas subjetivos.

A) Índice de gravedad del insomnio (ISI)

Sujetos	ISI	Interpretación
Sujeto 1	9	Insomnio subclínico
Sujeto 2	9	Insomnio subclínico
Sujeto 3	7	Ausencia de insomnio
Sujeto 4	7	Ausencia de insomnio
Sujeto 5	0	Ausencia de insomnio
Sujeto 6	8	Insomnio subclínico
Sujeto 7	11	Insomnio subclínico
Sujeto 8	14	Insomnio subclínico
Media	8,25	

B) Escala de Somnolencia de Epworth

Sujetos	Escala de sueño de Epworth	Interpretación (somnolencia diurna)
Sujeto 1	7	media
Sujeto 2	7	media
Sujeto 3	9	media
Sujeto 4	1	ausente
Sujeto 5	6	ausente
Sujeto 6	6	ausente
Sujeto 7	12	excesiva
Sujeto 8	7	media
Media	7	media

C) Diferencia subjetiva de la calidad del sueño antes y durante el tratamiento y otras preguntas:

	Mejor	Igual	Peor	Usa móvil, ordenador... antes de acostarse	Buena higiene de sueño
Sujeto 1		X			No
Sujeto 2	X			X	No
Sujeto 3	X				No
Sujeto 4	X				Sí
Sujeto 5		X			Sí
Sujeto 6		X			No
Sujeto 7	X			X	No
Sujeto 8		X			No
Porcentaje	50%	50%			

Tabla 2. A) Resultados e interpretación del Índice de Gravedad del insomnio (ISI) en cada uno de los sujetos.

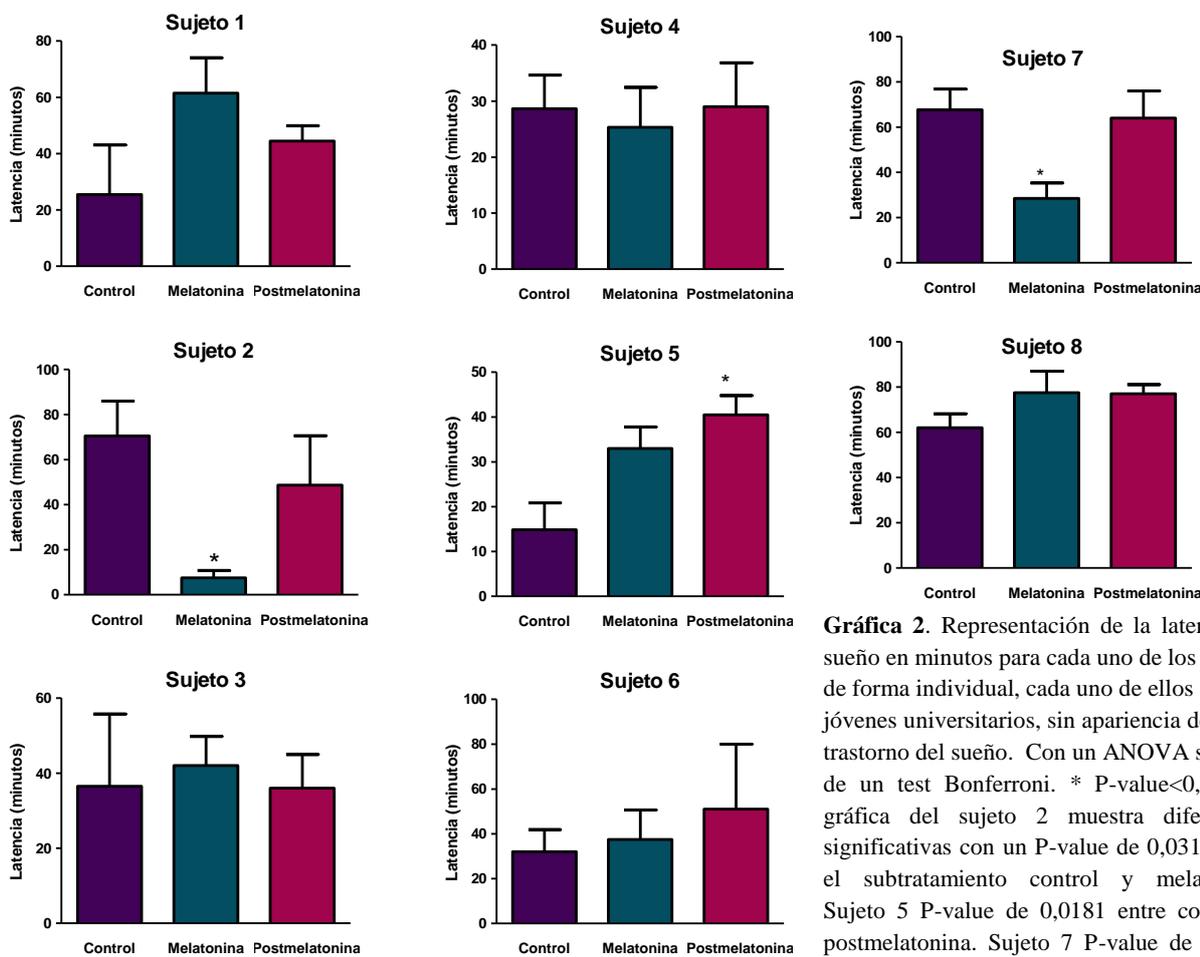
B) Resultados e interpretación de la escala de somnolencia de Epworth en cada uno de los sujetos. C) Opinión subjetiva de la calidad del sueño antes y después del tratamiento en cada uno de los sujetos. (Las preguntas del anexo V, con respuestas negativas para todos los sujetos, no han sido representadas ya que no son relevantes siendo negativas).

Siguiendo los criterios del Índice de gravedad del insomnio la mayoría de los sujetos no presentan insomnio o un insomnio subclínico es decir que no presentan ningún tipo de dolencia médica. Presentando de media un valor de 8,25 entrando dentro del grupo de insomnio subclínico, lo cual corresponde con los parámetros de actigrafía representados en la tabla 1, donde las eficiencias de sueño de los sujetos son bajas. En cuanto a la escala de somnolencia de Epworth, todos los sujetos menos el sujeto 7 se encuentra dentro de los valores normales de somnolencia (≤ 9), sin embargo el sujeto 7 presenta una somnolencia excesiva con un valor de 12 en la escala de Epworth, además es uno de los sujetos que considera una mejor valoración de su sueño durante el tratamiento, por lo cual será evaluado de forma independiente.

Se representan gráficamente los resultados de la latencia de sueño de los sujetos de forma individual, ya que es el parámetro en el cual el fármaco administrado debe presentar mayor efecto. En los parámetros de

eficiencia de sueño y tiempo no asumido como sueño, no hay ninguna diferencia significativa, por esta razón no se mostraran las gráficas individuales por sujeto. Y el parámetro de evaluación sobre el número de despertares nocturnos presenta diferencias significativas en la media de los sujetos evaluados, lo que refleja que se ha visto afectado en la gran mayoría de ellos.

3. Evaluación latencia de sueño en función a los resultados de las encuestas.



Gráfica 2. Representación de la latencia de sueño en minutos para cada uno de los sujetos de forma individual, cada uno de ellos adultos jóvenes universitarios, sin apariencia de algún trastorno del sueño. Con un ANOVA seguida de un test Bonferroni. * P-value < 0,05. La gráfica del sujeto 2 muestra diferencias significativas con un P-value de 0,0313 entre el subtratamiento control y melatonina. Sujeto 5 P-value de 0,0181 entre control y postmelatonina. Sujeto 7 P-value de 0,0296 entre control y melatonina.

Únicamente dos sujetos (2 y 7) han reducido de forma significativa su latencia de sueño en el subtratamiento con melatonina en comparación a los otros dos subtratamiento, son los dos sujetos que exponen utilizar aparatos electrónicos como teléfono móvil u ordenador justo antes de dormirse. El sujeto 2 presenta una latencia de 70,5 min. en el subtratamiento control y una latencia de 7 min. en el subtratamiento con melatonina. El sujeto 7 presenta una latencia de 61,33 min. en el subtratamiento control reduciéndose a la mitad en el subtratamiento con melatonina. Por otro lado, el sujeto 5 presenta diferencias entre el control y postmelatonina aumentando la latencia de sueño de forma muy importante en los últimos dos días del tratamiento, este sujeto específico en su agenda de sueño que pasó una “mala noche por un examen, estaba nervioso”; descartando así algún posible efecto negativo del fármaco. El resto de sujetos no presentan

ninguna diferencia significativa en la latencia de sueño a lo largo del tratamiento, manteniéndose relativamente alta como ya se ha comentado anteriormente.

Discusión:

El ciclo vigilia-sueño presenta una gran parte de su regulación por la producción endógena de la indolamina melatonina, en ausencia de luz donde presenta su pico máximo realiza la función de inductor del sueño, realizando una regulación homeostática (Reiter, 2003). La melatonina no es un somnífero, es un regulador del ciclo vigilia-sueño en desfase, lo que promueve de cierta manera la somnolencia (Erren et al; 2003). Como en otros estudios anteriores, la administración exógena de melatonina o precursores en adultos jóvenes sanos, no mejora los parámetros del sueño, latencia, eficiencia, tiempo de permanencia en la cama y número de despertares nocturnos (Howatson et al. 2012; Nogueira et al. 2001). A diferencia de estos, en nuestro estudio se encuentran diferencias significativas en el número de despertares nocturnos disminuyendo progresivamente a lo largo del tratamiento con melatonina exógena vía oral. Esto es probablemente debido a la presencia en las cápsulas administradas de *Passifloraincarnata* y *Humuluslupulus*, que son utilizados como somníferos naturales, algunos estudios muestran la mejora de algunos parámetros de evaluación de la calidad del sueño, siendo el más afectado el número de despertares nocturnos (Miroddi et al. 2013; Van Cleemput et al. 2009).

El parámetro del porcentaje de eficiencia de sueño es el que mejor resume la calidad de este, en los estudios en los que se evalúa este parámetro en adultos jóvenes sanos con edad comprendida entre 18 y 30 años en ningún caso la media es inferior al 80% de eficiencia (Howatson et al. 2012; Nogueira et al. 2001; Yoon et al. 2003). En este caso la media de los 8 sujetos adultos jóvenes estudiantes del grado de biología de la Universidad de las Islas Baleares presentan una eficiencia de sueño media inferior al 80%, resultados semejantes pero no analizados estadísticamente se encontraron en los alumnos de prácticas integradas de fisiología y biología celular (20126) del curso académico 2013/2014. En adultos mayores de 60 años de edad la eficiencia de sueño se encuentra comprendida entre el 75-80% datos recopilados en individuos sin problemas de insomnio (Yoon et al. 2003). Wade et al. en el 2010 realizó un estudio a doble ciego con melatonina exógena vía oral en sujetos seleccionados aleatoriamente comprendidos entre 18 y 80 años con insomnio primario (latencia de sueño superior a 20 minutos), donde el grupo de estudio presentaba una latencia de sueño media de 76 minutos, media superada o muy cercana a tres de nuestros sujetos. La eficiencia de sueño aumentó al igual que la reducción de la latencia de sueño de forma significativa únicamente en el grupo de sujetos que superaban los 65 años de edad. Este grupo de sujetos corresponden a los que presentan unos niveles de melatonina endógena desregulados, certificado en otras publicaciones en individuos de ese rango de edad (Kripke et al. 2005). Este fenómeno es definido como disrupción circadiana, cuando un factor endógeno o exógeno desencarra algún ciclo circadiano (Erren et al; 2003). Dos de nuestros sujetos tratados de forma individual presentan una disminución significativa de la latencia de sueño, entre el control y el tratamiento con melatonina, volviendo a aumentar significativamente en el

subtratamiento postmelatonina. Esto no permite afirmar que esta mejora de la calidad del sueño se deba al aporte exógeno de melatonina por una disfunción o desencarrilamiento de la melatonina endógena. Debería repetirse el tratamiento en estos dos sujetos y realizar mediciones en saliva o en orina de las concentraciones de melatonina en diferentes momentos del día, con el fin de confirmar esta suposición.

Por otro lado, numerosos estudios evalúan los efectos de la luz en la disrupción circadiana y en la supresión de la secreción de melatonina endógena. Los estudios son sumamente variados, pero todos afirman la supresión o la importante disminución de la secreción de la hormona, en todo tipo de sujetos, especialmente en adultos jóvenes con secreciones de melatonina exógena máxima (Brainard et al. 1988; Perrin et al. 2004; Brainard, G. 2008; Erren et al. 2003; Zeitzer et al. 2004; Chang et al. 2014). La melanopsina, el considerado recientemente como tercer fotorreceptor, es el encargado de dar la información lumínica del ambiente, entre otros procesos su activación promueve la producción de melatonina endógena (Ruby et al. 2002; Bailes et al. 2013). Según algunas publicaciones la longitud de onda de máxima activación de la melanopsina y de la reducción de la producción de melatonina endógena se encuentra entre longitudes de onda de 400-500nm (Bailes et al. 2013; Brainard, G. 2008), longitudes de onda emitidas por aparatos electrónicos muy comúnmente utilizados por los jóvenes antes de irse a dormir.

Uno de los estudios más recientes sobre el efecto en el sueño y en la secreción de melatonina, con la utilización de aparatos electrónicos en las últimas horas del día, muestra su efecto perjudicial. Este estudio publicado en el 2014 por Chang et al., evalúa el sueño y la concentración de melatonina en sangre de adultos jóvenes con una edad media de 24 años estandarizando las condiciones de iluminación de las habitaciones de los sujetos, los cuales pasan las últimas horas del día leyendo, un grupo un libro en papel y otro grupo un libro electrónico en una tablet o aparato electrónico semejante. El grupo de sujetos que leyeron en formato electrónico presentaron un aumento significativo de la latencia de sueño de más de 10 minutos de media y se redujo a más de la mitad la concentración de melatonina en sangre en las primeras horas del sueño y el resto de parámetros entre ellos la eficiencia de sueño no se vieron afectados. Lo que se traduce como un retraso de fase por exposición a la luz. Los dos sujetos de nuestro estudio que presentan una reducción significativa de la latencia de sueño en el subtratamiento con melatonina comparado con el control, hacían uso de dispositivos móviles, tablets o portátiles antes de iniciar el sueño y de la misma manera que en el estudio citado anteriormente la eficiencia de sueño no se vio modificada. Podríamos por tanto afirmar, que estos dos sujetos presentan de forma individual una respuesta al tratamiento con melatonina por presentar un retraso de fase en la secreción de melatonina endógena debido a la iluminación emitida por los dispositivos electrónicos utilizados en las últimas horas del día. Como se ha dicho anteriormente, sería importante una verificación de la secreción de melatonina en estos dos sujetos, para evaluar si el problema de insomnio primario que presentan es realmente debido a un retraso de fase del ciclo vigilia-sueño o los problemas vienen dados por otros factores no evaluados en el experimento.

Conclusiones:

- Los adultos jóvenes estudiantes del grado de Biología en la Universidad de las Islas Baleares presentan eficiencias de sueño más bajas de lo común en sujetos sanos del mismo rango de edad.
- El tratamiento con melatonina exógena vía oral no presenta efectos significativos en el grupo de sujetos evaluados, ya que se presupone que ninguno de ellos presenta ningún tipo de dolencia que modifique sus concentraciones de melatonina endógena.
- El tratamiento realizado en el experimento, según la bibliografía, solo presenta efectos positivos en la calidad del sueño cuando los sujetos tratados presentan un desencarrilamiento o disrupción circadiana, generalmente producida por la disminución del pico máximo de melatonina con la edad.
- La disrupción circadiana puede ser producida por factores exógenos, y la luz es uno de los que más afectan al desencarrilamiento del ciclo vigilia-sueño, según los datos obtenidos se presupone que dos de los sujetos evaluados presentan un posible desencarrilamiento del ciclo.

Bibliografía:

- Aserinsky, E., Kleitman, N. (1953). Regulator occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science*.118: 273-274.
- Assenmacher, I. (1982). CNS structures controlling circadian neuroendocrine and activity rhythms in rats. En: Aschoff J, Daan S, Groos GA. *Vertebrate circadian systems*. Berlin, Springer Verlag, pp: 87-96.
- Azmitia, E.C., Segal, M., (1978). An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *J. Comp. Neurol.* 79: 641-667.
- Bailes et al. (2013). Melanopsina humano forma un pigmento máximamente sensibles a la luz azul ($\lambda_{\text{max}} \approx 479 \text{ nm}$) la activación de apoyo de G q / 11 y G i / o cascadas de señalización. *Proceedings of the royal society B*. 280(1759). DOI: 10.1098/rspb.2012.2987
- Bennassar Veny, M. (2011). Estilos de vida y salud en los estudiantes universitarios: La universidad como entorno promotor de la salud. Universidad de las Islas Baleares. Palma de Mallorca.
- Berger, R.J., Phillips, N.H. (1995). Energy conservation and sleep. *Behav. Brain Res.* 69: 65-73.
- Beton et al. (1999). Physiological levels of melatonin contribute to the antioxidant capacity of human serum. *Journal of pineal research.* 27: 59-64.
- Borbely, A.A. (1982). A two process model of sleep regulation. *Hum. Neurobiol.* 1: 195-204.
- Brainard et al. (1988). Dose-response relationship between light irradiance and the suppression of plasma melatonin in human volunteers. *Brain Research.* 454(1–2): 212-218. DOI:10.1016/0006-8993(88)90820-7
- Brainard, G. (2008). Sensitivity of the Human Circadian System to Short-Wavelength (420-nm) Light. *Journal of Biological Rhythms.* 20(5): 379-386. DOI: 10.1177/0748730408323089
- Brainard, G.C., Hanifen, J.P., Greeson, J.M., Byrne, B., Glickman, G., Gerner, E., Rollag, M.D. (2001). Human melatonin regulation is not mediated by the three cone photopic visual system. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86: 433-436.
- Bruce Durie, D.J. (1981) Sleep in animals. En: *Psychopharmacology of sleep*. D. Wheatley (Ed). Raven Press (New York)
- Brusco, L.I., Marquez, M., Cardinali, D.P. (1998). Monozygotic twins with Alzheimer's disease treated with melatonin: Case report. *J. Pineal Res.* 25: 260-263.
- Card, J.P., Moore, R.Y., (1989). Organization of lateral geniculate-hypothalamic connections in the rat. *J. Comp. Neurol.* 284: 135-147.
- Carlberg, C, Wiesenberg, I. (1995). The orphan receptor family RZR/ROR, melatonin and 5-lipoxygenase: an unexpected relationship. *J. Pineal Res.*18: 171-218.
- Chang et al. (2014). Evening use of light-emitting eReaders negatively affects sleep, circadian timing, and next-morning alertness. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 112(4): 1232-1237. DOI: 10.1073 / pnas.1418490112

- Díez-Noguera, A., Cambras, T. (1989). Determinación de las características del ritmo en variables biológicas. Método de cosinor. *Inf. Med. Bio.* 1: 25-30.
- Dollins, A.B., Zhdanova, I.V., Wurtman, R.J., Lynch, H.J., Deng, M.H. (1994). Effect of inducing nocturnal serum melatonin concentrations in daytime on sleep, mood, body temperature, and performance. *Proc Natl. Acad. Sci. U S A.* 91: 1824-1828.
- Dubbels, R., Reiter, R.J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., Schiwara, H.W., Schloot, W., 1995. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Pineal Res.* 18 (1), 28–31.
- Dubocovich, M.L., Cardinali, D.P., Guardiola-Lemaitre, B., Hagan, R.M., Krause, D.N., Sugden, D., Vanhoutte, P.M., Yocca, F.D. (1998). Melatonin receptors. *The IUPHAR Compendium of Receptor Characterization and Classification*, Londres. pp: 187-193.
- Erren et al (2003). Light, timing of biological rhythms, and chronodisruption in man. *Naturwissenschaften.* 90(11): 485-494.
- Erren et al (2009). Defining chronodisruption. *Naturwissenschaften.* 46(3): 245–247. DOI: 10.1111/j.1600-079X.2009.00665.x
- Fainstein, I., Bonetto, A.J., Brusco, L.I., Cardinali, D.P. (1997). Effects of melatonin in elderly patients with sleep disturbance: A pilot study. *Current Ther. Res.* 58: 990-1000.
- Flanigan, W.F., Wilcox, R.H., Rechtschaffen, A. (1973). The EEG and behavioral continuum of the crocodilian *Caiman sclerops*. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 34: 521-538.
- Hadley, M.E. (1997). Papel endocrino de la glándula pineal. En: *Endocrinología*. Ed. Prentice Hall. pp: 535-557.
- Haimov, I., Laudon, M., Zisapel, N., Souroujon, M., Nof, D., Shlitner, A., Herer, P., Tzischinsky, O., Lavie, P. (1994). Sleep disorders and melatonin rhythms in elderly people. *BMJ.* 309: 167.
- Hasegawa, M., Ebihara, S. (1997). Circadian rhythms of pineal melatonin release in the pigeon measured by in vivo microdialysis. *Neurosci. Lett.* 145: 217-220.
- Haulica, I., Ababei, L., Branisteanu, D., Topoliceanu, F. (1973). Letter: Preliminary data on the possible hypnogenic role of adenosine. *J. Neurochem.* 21: 1019-1020.
- Haus, E., Touitou, Y. (1992). Principles of clinical chronobiology. En: Touitou y Haus E. *Biologic rhythms in clinical and laboratory medicine*. Berlin: Springer Verlag, pp: 6-27.
- Hay-Schmidt, A., Vrang, N., Larsen, P.J., Mikkelsen, J.D. (2003). Projections from the raphe nuclei to the suprachiasmatic nucleus of the rat. *J. Chem. Neuroanat.* 25: 293-310.
- Howatson et al. (2012). Effect of tart cherry juice (*Prunus cerasus*) on melatonin levels and enhanced sleep quality. *European Journal of Nutrition.* 51(8): 909-916. DOI: 10.1007/s00394-011-0263-7
- Klein, D.C., Weller, J.L. (1970). Indole metabolism in the pineal gland: a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyl transferase activity. *Science.* 177: 532-533.

- Kripke et al. (2005). Circadian Phase in Adults of Contrasting Ages. *The Journal of Biological and Medical Rhythm Research*. 22(4): 695-709. DOI:10.1080/07420520500180439.
- Krueger, J.M., Obal, F. Jr, Kapas, L., Fang, J. (1995). Brain organization and sleep function. *Behav. Brain Res*. 69: 177-185.
- Kunz, D., Bes, F. (2001). Exogenous melatonin in periodic limb movement disorder: an open clinical trial and a hypothesis. *Sleep*. 24: 183-187
- Lewy, A.J., Ahmed, S., Jackson, J.M., Sack, R.L. (1992). Melatonin shifts human circadian rhythms according to a phase- response curve. *Chronobiol. Int*. 9: 380-392.
- Liu, R.Y., Zhou, J.N., van Heerikhuize, J., Hofman, M.A., Swaab, D.F. (1999). Decreased melatonin levels in postmortem cerebrospinal fluid in relation to aging, Alzheimer's disease, and apolipoprotein E-epsilon4/4 genotype. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 84: 323-327.
- Mc Ginty, D., Szymusiak, R. (1990). Keeping cool: a hypothesis about mechanisms and functions of slow wave sleep. *Trends Neurosci*. 13: 480-487.
- McCord, C.P., Allen F.P. (1917). Evidence associating pineal gland function with alterations in pigmentation. *J. Exp. Zool*. 23: 207-224.
- Menendez A. et al. (1993). Distribution of melatonin in mammalian tissues: The relative importance of nuclear versus cytosolic localization. *Journal of pineal research*. 15: 59-69.
- Minors, D., Waterhouse, J. (1981). *Circadian rhythms and the human*. Ed. Wright PSG. London.
- Moore, R.Y. (1978). The innervation of the mammalian pineal gland. *Prog. Reprod.Biol*. 4: 1-29.
- Moore, R.Y., Eichler, V.B., (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res*. 42: 201-206.
- Morin CM; Vallières A; Ivers H. Dysfunctional Beliefs and Attitudes about Sleep (DBAS): Validation of a Brief Version (DBAS-16). *Sleep* 30: 1547-1554 (2007).
- Perrin et al. (2004). Nonvisual Responses to Light Exposure in the Human Brain during the Circadian Night. *Current Biology*. 14(20): 1842–1846. DOI:10.1016/j.cub.2004.09.082
- Pierón, H. (1913). *Le problème physiologique de sommeil*. Masson (Paris).
- Reiter, R.J. (1991a). Neuroendocrine effects of light. *Intern. J. Biometerol*. 35:169-175.
- Reiter, R.J. (1991b). Melatonin: the chemical expression of darkness. *Mol. Cell. Endocrinol*. 79: C153-C158.
- Reiter, R.J. (1991c). Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and its physiological interactions. *Endocr. Rev*. 12: 151-180.
- Reiter, R.J. (1995). The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Experimental Gerontology*, 30: 19-21.
- Reiter, R.J. (1998). Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin. *Prog. Neurobiol*. 56: 359-384.

- Reiter, R.J., Lercher, A. (1993). Regulation of mammalian pineal melatonin production by the electromagnetic spectrum. En: Melatonin: biosynthesis, physiological effects and clinical applications. Eds. H.-S. Yu y R.J. Reiter. CRC Press. Boca Raton. pp: 107-127.
- Roffwarg, H.P., Muzio, J.N., Dement, W.C. (1966). Ontogenetic development of the human sleep-dream cycle. *Science*. 152: 604-619.
- Ruby et al. (2002). Role of Melanopsin in Circadian Responses to Light. *Science*. 298(5601): 2211-2213. DOI: 10.1126/science.1076701
- Rusak, B., Zucker, I. (1979) Neural regulation of circadian rhythms. *Physiol. Rev.* 59: 449-526.
- Simonneaux, V.; Ribelayga C. (2003). Generation of the Melatonin Endocrine Message in Mammals: A Review of the Complex Regulation of Melatonin Synthesis by Norepinephrine, Peptides, and Other Pineal Transmitters. *Pharmacological*. 55(2): 325-395. DOI: 10.1124/pr.55.2.2
- Smith, C. (1995). Sleep states and memory processes. *Behav. Brain Res.* 69: 137-145.
- Stephan, F.K., Zucker, I., (1972). Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 69: 1583-1586.
- Sugden, D., Pickering, H., Teh, M.T., Garratt, P.J. (1998). Melatonin receptor pharmacology: toward subtype specificity. *Biol. Cell.* 89: 531-537.
- Wade et al. (2010). Nightly treatment of primary insomnia with prolonged release melatonin for 6 months: a randomized placebo controlled trial on age and endogenous melatonin as predictors of efficacy and safety. *BMC Medicine*. 8:51 doi:10.1186/1741-7015-8-51
- Webb, W.B. (1974). Sleep as an adaptive response. *Percept. Mot. Skills.* 38: 1023-1027.
- Welsh, D.K., Logothetis, D.E., Meister, M., Reppert, S.M. (1995). Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron*. 14: 697-706.
- Wurtman, R.J., Axelrod, J., Kelly, D.E. (1968). The pineal. Ed. Academic Press. New York.
- Wurtman, R.J., Axelrod, J., Kelly, D.E. (1968). The pineal. Ed. Academic Press. New York.
- Yellon, S.M., Hilliker, S. (1994). Influence of acute melatonin treatment and light on the circadian melatonin rhythm in the Djungarian hamster. *J. Biol. Rhythms*. 9: 71-81.
- Yoon et al. (2003). Actigraphy suggests age-related differences in napping and nocturnal sleep. *Journal of Sleep Research*. 12(2): 87–93. DOI: 10.1046/j.1365-2869.2003.00345.x
- Zeitzer et al. (2004). Sensitivity of the human circadian pacemaker to nocturnal light: melatonin phase resetting and suppression. *The Journal of Physiology*. 526(3): 695–702. DOI: 10.1111/j.1469-7793.2000.00695.x

ANEXO I: Consentimiento informado.

La persona sotasignant.....
amb DNI número

Declara amb aquest document:

- 1) Que accepta participar en l'Estudi "Efectes de la qualitat del son d'un suplement diari de melatonina en humans joves", corresponent al Treball de Fi de Grau en Biologia (2014-2015), portat a terme per l'estudiant Lucía Loubet Oliver i sota la supervisió de la Dra. Sara Aparicio.
- 2) Que mai intervindrà com a subjecte experimental actiu si abans no ha estat informat/da dels fonaments teòrics de l'experiment, i que els resultats obtinguts durant l'estudi seran confidencials.
- 3) Que ha estat informat/da del seu dret de no intervenir-hi com a subjecte experimental actiu en el curs del present experiment.
- 4) Que ha estat informat/da que fins i tot després d'haver signat el present document, en qualsevol moment de l'execució de l'experiment, podrà retirar-se de participar-hi com a subjecte experimental.
- 5) En conseqüència, declara lliurement que accepta ser sotmès/a als diferents punts del que consta el present experiment que li siguin proposats pels responsables d'aquesta investigació, sempre sota les restriccions descrites en els paràgrafs anteriors.

Palma de Mallorca, a 3 de Novembre de 2014

Anexo II: Agenda de sueño.

Día	Hora de acostarse	Hora despertarse	Hora de levantarse	Transcurso de la noche(Te ha costado dormirte?, te has despertado por la noche? O te has levantado?..)	¿Cómo crees que has dormido?
CONTROL					
1					
2					
3					
4					
MELATONINA					
5					
6					
7					
8					
POSTMELATONINA					
9					
10					
11					
12					

Anexo III: Índice de gravedad del insomnio: Insomnia Severity Index (Morin, C.M., 1993)

Name: _____ **Date:** _____

1. Please rate the current (i.e., last 2 weeks) **SEVERITY** of your insomnia problem(s).

	None	Mild	Moderate	Severe	Very
Difficulty falling asleep:	0	1	2	3	4
Difficulty staying asleep:	0	1	2	3	4
Problem waking up too early:	0	1	2	3	4

2. How **SATISFIED**/dissatisfied are you with your current sleep pattern?

Very Satisfied					Very Dissatisfied
0	1	2	3	4	

3. To what extent do you consider your sleep problem to **INTERFERE** with your daily functioning (e.g. daytime fatigue, ability to function at work/daily chores, concentration, memory, mood, etc.).

Not at all Interfering	A Little	Somewhat	Much	Very Much Interfering
0	1	2	3	4

4. How **NOTICEABLE** to others do you think your sleeping problem is in terms of impairing the quality of your life?

Not at all Noticeable	Barely	Somewhat	Much	Very Much Noticeable
0	1	2	3	4

5. How **WORRIED**/distressed are you about your current sleep problem?

Not at all	A Little	Somewhat	Much	Very Much
0	1	2	3	4

Guidelines for Scoring/Interpretation:

Add scores for all seven items (1a+1b+1c+ 2+3+4+5) = _____

Total score ranges from 0-28

0-7 = No clinically significant insomnia

8-14 = Subthreshold insomnia

15-21 = Clinical insomnia (moderate severity)

22-28 = Clinical insomnia (severe)

Anexo IV: Escala de Somnolencia de Epworth

Escala de somnolencia diurna de Epworth, intenta determinar o medir la somnolencia diurna a través de un cuestionario corto. Esto puede ser de ayuda en el diagnóstico de trastornos del sueño.

Escala de Somnolencia de Epworth

Escala de sueño de Epworth.

PREGUNTA ¿Con qué frecuencia se queda Ud. dormido en las siguientes situaciones? Incluso si no ha realizado recientemente alguna de las actividades mencionadas a continuación, trate de imaginar en qué medida le afectarían.

Utilice la siguiente escala y elija la cifra adecuada para cada situación.

0 = nunca se ha dormido

1 = escasa posibilidad de dormirse

2 = moderada posibilidad de dormirse

3 = elevada posibilidad de dormirse

Situación	Puntuación
Sentado y leyendo	
Viendo la T.V.	
Sentado, inactivo en un espectáculo (teatro...)	
En auto, como copiloto de un viaje de una hora	
Recostado a media tarde	
Sentado y conversando con alguien	
Sentado después de la comida (sin tomar alcohol)	
En su auto, cuando se para durante algunos minutos debido al tráfico	
Puntuación total (máx. 24)	

Anexo V: Anexo VI: Evaluación subjetiva del sueño.

1-¿Cómo valoras en conjunto la calidad de tu sueño?

Durante el tratamiento (días con Melatonina):

En general:

2-¿Qué actividad sueles realizar antes de meterte en la cama? (Ver la tele, “jugar” con el móvil, leer.....)

3-¿Consume bebidas con cafeína a diario? Y, ¿Durante el tratamiento?

4-¿Consume bebidas alcohólicas a diario? Y, ¿Durante el tratamiento?

5-¿Crees que tienes una buena higiene de sueño? (Sueles irte a dormir a la misma hora y levantarte a la misma).