

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Médicas
Maestría en Investigación Biomédica

TESIS

“Asociación entre el polimorfismo rs1801260 del gen CLOCK y los patrones de alimentación, la composición corporal y cronotipo”.

Maestrando: Lic. Fernando Luna

Directores: Dra. Magali Pellón Maison, Dr. Hernán Dopazo

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUIMICAS DE LA PLATA "PROF. DR. RODOLFO R. BRENNER" (INIBIOLP)

Índice

1. Justificación.....	3
2. Hipótesis	5
3. Objetivos.....	6
4. Marco Teórico.....	7
5. Materiales y métodos.....	23
6. Análisis estadístico.....	27
7.Resultados	31
8.Discusión.....	46
9. Conclusiones	49
10. Bibliografía.....	50
11. Anexos y material adicional.....	63

1. Justificación

La obesidad es una enfermedad crónica compleja en la que la grasa corporal anormal o excesiva perjudica la salud, aumenta el riesgo de complicaciones médicas a largo plazo y reduce la esperanza de vida (Wharton et al., 2020).

La prevalencia de obesidad se ha incrementado mundialmente en los últimos 50 años alcanzando niveles Pandémicos (Blüher, 2019). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2016 la prevalencia de obesidad había triplicado los valores observados en 1975, mientras que las previsiones para 2030, indican que 1 de cada 5 mujeres y 1 de cada 7 hombres vivirán con obesidad, lo que equivale a más de mil millones de personas en todo el mundo (Barata Cavalcanti et al., 2022).

En nuestro país, en 2018, el exceso de peso (sumatoria de sobrepeso y obesidad) alcanzó el 61,6% según la cuarta Encuesta Nacional de Factores de Riesgo (ENFR), observándose un aumento significativo en comparación al año 2013. Por su parte, el Atlas de Obesidad mundial publicado en 2022, señaló que nuestro país estará entre los 20 países con más obesidad para 2030 (Barata Cavalcanti et al., 2022)

La pandemia de obesidad representa un desafío para la salud en el sentido que incrementa sustancialmente el riesgo de desarrollar enfermedades tales como diabetes tipo 2, hígado graso, hipertensión arterial, infarto agudo de miocardio, enfermedad cerebrovascular, demencia, osteoartritis, apnea obstructiva de sueño y varios tipos de cáncer, contribuyendo así en una desmejora significativa de la calidad y de la expectativa de vida (Blüher, 2019). Pero además, las personas con obesidad experimentan un estigma y un sesgo generalizado sobre su peso, lo que también contribuye a una mayor morbilidad y mortalidad (Wharton et al., 2020).

Se entiende que la obesidad es consecuencia de un desequilibrio energético en el que la ingesta de energía que excede el gasto de energía (Romieu et al., 2017; Blüher, 2019). Si bien esta cuestión parece simple, lo intrincado es tratar de dilucidar qué factores conducen a tal desequilibrio. En este sentido, la concepción actual de la obesidad, considera a esta como una patología etiológicamente compleja, que incluye la combinación e interacción de factores genéticos, metabólicos, hormonales, psicológicos, conductuales, ambientales, económicos y sociales (Hall, Guyenet, Leibel, 2018; Wharton et al., 2020).

Puntualmente, los factores genéticos nos permiten comprender las diferencias en la susceptibilidad interindividual para desarrollar obesidad. Al respecto, se han descrito más de 100 genes que pueden intervenir en la regulación del peso corporal (Hinney, Vogel, & Hebebrand, 2010). Estas variantes han sido identificadas durante las últimas décadas a partir de estudios de asociación de genes candidatos, estudios de ligamento del genoma completo (genoma-wide linkage scan, GLWS) y estudios de asociación de genoma completo (genoma-wide association study, GWAS) (Rubio, Ballesteros, Sánchez-Pernaute, & Torres, 2015). Justamente, uno de los genes asociados a la obesidad es el gen CLOCK (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput), y dentro de este, el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) más estudiado es el rs1801260, también denominado *CLOCK* 3111 T>C (Valladares, Obregón, & Chaput, 2015). La variante de riesgo C para este SNP no solo se asocia a un mayor riesgo de desarrollar obesidad, sino también a la resistencia a la pérdida de peso, a un patrón de descanso inadecuado, (Garaulet et al., 2011), a un cronotipo de tipo vespertino y a mayores concentraciones de ghrelina (Garaulet et al., 2012). Desde el punto de vista de las preferencias alimentarias se ha observado que los portadores del SNP de riesgo poseen una tendencia a una mayor ingesta de energía, así como de carbohidratos y grasas (Rahati et al., 2021). La frecuencia a nivel global para los portadores de este SNP es de 23%, y si tomamos como referencia a la población europea la misma asciende a 30,5%¹.

A la fecha, en nuestro país no existen estudios que hayan determinado la frecuencia del alelo de riesgo para *CLOCK* rs1801260, así como tampoco estudios que hayan explorado la relación de este SNP con los diferentes cronotipos, la composición corporal, ni con diferentes preferencias alimentarias. Al mismo tiempo, tampoco se han descrito posibles interacciones gen*nutriente para este polimorfismo. El conocimiento de estas cuestiones permitiría un abordaje mucho más personalizado de los pacientes según su genotipo, pudiendo enfatizar sobre aquellas cuestiones alimentarias, conductuales y cronobiológicas más problemáticas, permitiendo de esta manera la construcción de modelos de prevención y/o tratamientos mucho más efectivos.

1 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1801260#frequency_tab

2. Hipótesis

2.1 Hipótesis de trabajo 1

La variante C del SNP rs1801260 en el gen CLOCK contribuye a la variabilidad de la ingesta alimentaria.

2.2 Hipótesis de trabajo 2

La variante C del El SNP CLOCK rs1801260 en el gen CLOCK se asocia con un cronotipo vespertino.

3. Objetivos

3.1 Objetivo General:

- Contribuir a la generación de conocimiento en el campo de la nutrigenética.
- Replicar hallazgos obtenidos en otras poblaciones con el objetivo de incrementar la solidez científica de los mismos.

3.2 Objetivos específicos:

- Establecer la frecuencia alélica y genotípica de la variante de riesgo C del SNP rs1801260 en el gen CLOCK en nuestra población.
- Determinar la asociación entre el genotipo CLOCK rs1801260 y las preferencias alimentarias
- Determinar la influencia de las posibles interacciones gen*dieta sobre el índice de masa corporal
- Determinar si existe asociación entre el SNP con el cronotipo de tipo vespertino.

4. Marco Teórico

4.1 Obesidad

La obesidad es una enfermedad crónica compleja, en la que el exceso de adiposidad perjudica la salud aumentando el riesgo de morbimortalidad, y que operativamente puede definirse como un índice de masa corporal (IMC) superior a 30 kg/m² (Wharton et al., 2020). A su vez, el grado de obesidad se puede subcategorizar en clase 1 (IMC de 30 a 34,9 kg/m²), clase 2 (IMC de 35 a 39,9 kg/m²) y clase 3 (IMC mayor a 40 kg/m²). Si bien la cuantificación confiable de la masa grasa requiere herramientas sofisticadas que no están ampliamente disponibles (p. ej. imágenes por resonancia magnética o absorciometría de rayos X de energía dual), lo cual ha obstaculizado los esfuerzos para llegar a una definición más específica, un IMC elevado como medida sustituta de la grasa corporal, es la definición de obesidad más ampliamente aceptada (Schwartz et al., 2017).

En relación a los riesgos vinculados a la obesidad, está bien evidenciado que esta incrementa el riesgo de morbimortalidad. En relación a esto, se estima que la obesidad se asocia a una disminución de la esperanza de vida de entre 5 y 20 años, dependiendo de la severidad de la condición y de la presencia o no de comorbilidades (Blüher, 2019). De hecho, a partir de un IMC de 25 kg/m² parecería existir una relación lineal positiva entre la mortalidad y el IMC. Así por ejemplo, en un metaanálisis de estudios prospectivos con 10.625.411 participantes de Asia, Australia, Nueva Zelanda Europa y Norteamérica, el Hazard Ratio (HR), para mortalidad por todas causas en sobrepeso fue de 1,11; de 1,44 para obesidad tipo I, de 1,92 para obesidad tipo II, mientras que para obesidad tipo III fue de 2,71 (di Angelantonio et al., 2016). La epidemia de COVID-19 fue otro ejemplo del mayor riesgo que portan las personas con obesidad, siendo que esta constituyó el segundo predictor principal de complicaciones y mortalidad por COVID-19 después del factor edad (Barata Cavalcanti et al., 2022).

En lo que respecta a la morbilidad, la obesidad aumenta el riesgo de enfermedades metabólicas (como el hígado graso o la diabetes tipos 2), de enfermedades cardiovasculares (hipertensión, infarto agudo de miocardio y accidente cerebrovascular), de enfermedades musculoesqueléticas, de enfermedad de Alzheimer, de depresión, así como también de ciertos tipos de cáncer (por ejemplo, de mama, ovario, próstata, hígado, riñón y colon)

(Blüher, 2019). En este sentido, se estima que por cada incremento de 5 kg/m² en el IMC el riesgo de mortalidad por enfermedad cardiovascular aumenta en un 40% , entre un 60–120% el riesgo de mortalidad diabética, renal y hepática, en un 10% el riesgo de mortalidad neoplásica y en un 20% el riesgo de mortalidad por enfermedad respiratoria (Studies Collaboration, 2007). Adicionalmente, se calcula que unos 2,8 millones de muertes al año se asocian a la obesidad y que el 44% de la carga de diabetes, el 23% de la enfermedad isquémica cardíaca y entre el 7 y el 41% de algunos tipos de cáncer son atribuibles a la misma (Rubio, Ballesteros, Sánchez-Pernaute, & Torres, 2015).

Por otro lado, se ha sido evidenciado que incluso las personas con sobrepeso y obesidad metabólicamente saludables tienen un riesgo significativamente mayor a desarrollar enfermedades cardiovasculares y diabetes de tipo 2 en comparación a sujetos normopeso metabólicamente sanos (Hashimoto et al., 2017; Opio et al., 2020).

La obesidad también afecta la salud mental y el bienestar de las personas. La evidencia indica que las personas con obesidad están sujetas a la estigmatización y al bullying, tienen oportunidades reducidas en el lugar de trabajo y enfrentan barreras personales o sistémicas persistentes para alcanzar o tener éxito educativo (Wharton et al., 2020). En esta línea, múltiples estudios demostraron que personas con obesidad sufren discriminación incluso por parte del personal de salud. Es así que por ejemplo, se ha observado que la percepción de los médicos hacia los pacientes obesos suele ser mucho más negativa, que el tiempo de consulta invertido es menor con este tipo de pacientes, y que paradójicamente, incluso en los profesionales especializados en trastornos alimentarios, se ha observado que el prejuicio sobre el peso está presente en niveles similares a los observados en otras especialidades médicas (Puhl, Latner, King & Luedicke, 2014). En el ámbito laboral se observa que las personas con obesidad tienen problemas en los procesos de selección de personal, perciben una menor remuneración económica para puestos de igual categoría y suelen ocupar puestos de menor jerarquía (Rubio, Ballesteros, Sánchez-Pernaute, & Torres, 2015). En el área educativa ocurre algo similar, donde el rechazo hacia niños y niñas con obesidad inicia a edades muy tempranas, sufriendo problemas como el aislamiento y la ridiculización (Rubio, Ballesteros, Sánchez-Pernaute, &

Torres, 2015). Los episodios de discriminación que sufren las personas con obesidad en diferentes ámbitos sociales influyen en cuestiones como la autoaceptación, el bienestar psicológico y la calidad de vida. Como ejemplo de esta problemática, en un estudio con 3000 sujetos con Obesidad tipo II y III, la autoaceptación estuvo mediada por el número de episodios de discriminación sufridos y no por el peso corporal (Carr & Friedman, 2005). En la misma línea, otro estudio con pacientes con obesidad señaló que el bienestar psicológico estaba determinado principalmente por los episodios de exclusión y discriminación (Ashmore et al., 2007). Considerando que estadísticamente las personas con obesidad suelen tener niveles socioeconómicos y educativos más bajos que las personas con peso normal, surge la pregunta respecto a si la obesidad es consecuencia de un nivel socioeconómico y educativo menor, o bien, si la discriminación y exclusión que sufren estas personas en el ámbito educativo y laboral conduce al desarrollo o empeoramiento de esta enfermedad (Rubio, Ballesteros, Sánchez-Pernaute, & Torres, 2015).

4.2 Epidemiología de la Obesidad

La prevalencia de obesidad se ha incrementado mundialmente en los últimos 50 años alcanzando niveles de pandemia (Blüher, 2019). Según la OMS desde 1975 su prevalencia a nivel mundial se ha triplicado. La misma entidad señaló que en el año 2016 el 39% de las personas mayores a 18 años tenía sobrepeso y el 13%, obesidad. Por otro lado, para 2030 se estima que a nivel global el 30% de los hombres y el 20% de las mujeres tendrán obesidad, y que específicamente la prevalencia de obesidad tipo 1 será del 18 % (alcanzando a 1025 millones de personas), la de obesidad tipo 2 y 3 será del 6 % (333 millones de personas), mientras que la de obesidad tipo 3 será del 2% (111 millones de personas)(Barata Cavalcanti et al., 2022).

Más allá de que a nivel global existe una tendencia creciente en la prevalencia de la obesidad, algunas regiones, como partes de Europa y América del Norte, muestran un estancamiento en niveles elevados, mientras que en otros países el mayor impacto aún está por llegar (Barata Cavalcanti et al., 2022). En esta línea, la OMS declara que la obesidad dejó de ser un problema exclusivo de países de altos ingresos aumentando exponencialmente en países de ingresos medios y bajos, los cuales deben soportar una doble carga de

mortalidad al coexistir una alta prevalencia de enfermedades infecciosas y desnutrición, en paralelo con un incremento en la incidencia de obesidad y de las enfermedades crónicas no transmisibles relacionadas a esta última.

En relación a la situación epidemiológica de nuestro país, la Encuesta Nacional de Factores de Riesgo del año 2018 (ENFR 2018) observó que en sujetos mayores de 18 años, la prevalencia por autoreporte de exceso de peso (sumatoria de sobrepeso y obesidad) fue del 61,6%, con una prevalencia de sobrepeso y obesidad del 36,2% y 25,4% respectivamente, observándose un aumento significativo en comparación al año 2013 tanto en el exceso de peso como en la obesidad (3,7% y 4,6 %, respectivamente). Si tomamos los datos de las mediciones objetivas que se hicieron en la ENFR 2018, la prevalencia de exceso de peso asciende al 66,1% y la de obesidad al 32,4%. A diferencia de lo observado con el exceso de peso y la obesidad no se observaron diferencias significativas entre la prevalencia de sobrepeso al comparar a la ENFR del año 2013 con la ENFR de 2018 (37,1 % en 2013 y 36,2 % en 2018). Los autores explican que el sobrepeso se mantuvo estable en la medida en que un número significativo de personas que tenían sobrepeso pasaron a la categoría de obesidad, y que una proporción similar de quienes tenían peso normal pasaron a la categoría sobrepeso.

Por otro lado, en 2018 también se publicaron los datos del programa SUMAR, con los índices antropométricos de más de 3 millones de niños, niñas y adolescentes (NNyA) de 0 a 19 años que se atendieron en el subsector público en 2016. Estos datos muestran que el 31,1% de los NNyA presentaban exceso de peso, con un aumento del 4,1 % en comparación a 2014. La prevalencia fue mayor en el grupo de niños y niñas de 6 a 9 años en los que el sobrepeso fue del 18,8 % y la obesidad del 18%, y en adolescentes (10 a 18 años) donde la prevalencia de sobrepeso y obesidad fue del 21,9% y del 15%, respectivamente. En este último grupo se observó que la problemática del exceso de peso alcanzó a alrededor de la mitad de la población en varias provincias, como es el caso de Santa Cruz (53%), Tierra del Fuego (49,7%) y Río Negro (49,5%).

Por su parte, la proyección en la prevalencia de obesidad para 2025 según la NCD Risk Factor Collaboration (<http://ncdrisc.org>) para nuestro país, se estima en un 35% y un

34,4%, en mujeres y hombres respectivamente. Se destaca además, que Argentina se encuentra dentro de las regiones en las cuales la NCD observó una aceleración muy marcada a nivel poblacional del IMC. Por último, los resultados del último World Obesity Atlas indican que el incremento anual de adultos con obesidad en nuestro país es del 1,6%, además de que para 2030 se prevé que Argentina estará entre los 20 países con mayor prevalencia de esta enfermedad (Barata Cavalcanti et al., 2022).

4.3 Etiología de la obesidad

El modelo convencional de la obesidad establece que la ingesta y el gasto energético son procesos independientemente funcionales que no reciben información sobre combustibles circulantes ni señales endocrinas, considerando que tanto la ingesta de alimentos como la actividad física se encuentran bajo estricto control consciente, y que por lo tanto, la prevención y el tratamiento de la obesidad requeriría simplemente de la voluntad del sujeto para comer menos y moverse más (Hall et al., 2018). La concepción actual se aleja de este modelo, y considera que la obesidad tiene una naturaleza multifactorial resultante de factores genéticos, epigenéticos, fisiológicos, conductuales, socioculturales y ambientales que conducen a un desbalance entre la ingesta y el gasto de energía durante un periodo de tiempo prolongado (Bray, Frühbeck, Ryan, & Wilding, 2016).

Actualmente el modelo de obesidad más aceptado es el modelo de balance energético (EBM) el cual propone que el cerebro es el principal órgano responsable de la regulación del peso corporal a través de complejas señales endocrinas, metabólicas y del sistema nervioso para controlar la ingesta de alimentos y el gasto de energía. Regiones específicas del cerebro, como el hipotálamo, los ganglios basales y el tronco encefálico, modulan la ingesta a nivel subconsciente a través de señales endocrinas, metabólicas y del sistema nervioso que actúan en respuesta tanto a señales ambientales como también a las necesidades energéticas internas (Hall et al., 2022). Según este modelo, la homeostasis energética se produce a través de señales a corto plazo, como la secreción de ghrelina y el péptido YY, involucradas en el inicio y el cese de la alimentación respectivamente, así como a través de señales a largo plazo, sobre todo a través de la síntesis de leptina, modulando

la actividad del sistema a corto plazo, y la ingesta total de energía (Hall et al., 2022). El EBM propone además que el aumento de la prevalencia de la obesidad en la población en las últimas décadas se debe principalmente a los cambios en el entorno alimentario, a partir de por ejemplo, un aumento en la disponibilidad y el mercadeo de alimentos ultraprocesados, de alta densidad energética, altos en grasas y azúcares, bajos en proteína y fibra, que además se caracterizan por ser baratos y convenientes. Estas características aumentan el valor de recompensa en estos alimentos, incrementando el deseo y la motivación que operan a nivel subconsciente para consumirlos (Hall et al., 2022).

Adicionalmente, es importante considerar la relevancia que le da este modelo a los factores genéticos, sobre todo por su impacto en áreas cerebrales relevantes para el control de la homeostasis energética, siendo que los estudios de asociación del genoma completo y de expresión génica, han determinado que las variaciones interindividuales en la adiposidad total se deben mayormente a diferencias en genes que se expresan principalmente a nivel cerebral (Hall et al., 2018; Hall et al., 2022).

4.4 Genética y Obesidad

Ante los mismos factores ambientales, existe una susceptibilidad para desarrollar obesidad diferente para cada sujeto, que puede atribuirse a factores genéticos. Los estudios realizados con familiares y gemelos han permitido establecer el peso de los factores ambientales y genéticos, y de esa manera, establecer la heredabilidad. Los mismos sugieren que los factores genéticos pueden ser responsables de entre un 40 a un 70 % de la varianza en el peso (Locke et al., 2015). Más de 100 genes pueden intervenir en la regulación del peso corporal (Hinney, Vogel, & Hebebrand, 2010). Estas variantes han sido identificadas durante las últimas décadas a partir de estudios de asociación de genes candidatos, estudios de ligamento del genoma completo (genoma-wide linkage scan, GLWS) y estudios de asociación de genoma completo (genoma-wide Association study, GWAS) (Rubio, Ballesteros, Sánchez-Pernaute, & Torres, 2015). Para 2017, los estudios de asociación genética ya habían identificado 63 loci relacionados con la obesidad sindrómica monogénica, 12 relacionados con la obesidad monogénica no sindrómica y 157

relacionados a formas poligénicas de obesidad (Qasim et al., 2018). Mas allá de la influencia específica que ciertas variantes genéticas puedan tener en la etiología de enfermedades como la obesidad, debemos además considerar las posibles interacciones gen*dieta, es decir, como ciertos componentes de la dieta pueden modular el riesgo de desarrollar una patología. La nutrigenética justamente es la disciplina científica que tiene como objeto de estudio a esto último, o dicho de otra manera, es la ciencia que analiza los distintos efectos de la dieta según el genotipo (Corella & Ordovaz, 2009).

4.5 Cronobiología y ritmos biológicos

La mayoría de las funciones biológicas no son constantes, sino que alternan momentos de mayor y de menor expresión. Estas oscilaciones predecibles dentro de un periodo de tiempo determinado son conocidas como ritmos biológicos. La cronobiología, justamente, es la ciencia que se dedica al entendimiento de los ritmos biológicos (Garaulet & Gómez-Abellán, 2013). Dentro de estos ritmos, existen aquellos que se desarrollan en periodos de tiempo de una duración mayor a 24 horas, conocidos como ritmos ultradianos (por ej. el ciclo menstrual), otros que se desarrollan en periodos menores a 24 horas, que son denominados infradianos (por ej. el ciclo de descanso) y por último los ritmos circadianos² que constituyen los ritmos más estudiados dentro de la cronobiología y que se pueden definir como aquellos ritmos biológicos que tienen una duración aproximada de 24 horas (Garaulet & Gómez-Abellán, 2013). La temperatura corporal, los niveles de cortisol o de insulina plasmática, que alcanzan su mayor expresión (o acrofase) durante el día, y que tienen su menor expresión (o nadir) por la noche, o bien, las hormonas melatonina y lipasa hormono sensible que tienen su acrofase por la noche y su nadir durante el día, son claros ejemplos de funciones fisiológicas con ritmicidad circadiana. El correcto funcionamiento de los ritmos circadianos le concede al organismo la capacidad de predecir y anticiparse a los cambios del entorno externo adaptando sus funciones conductuales y fisiológicas a los mismos (Gómez-Abellán, Madrid, Ordovás, & Garaulet, 2012). Esta ritmicidad de las funciones fisiológicas observada en la mayoría de los organismos vivos está asegurada por

² El termino circadiano proviene del latín y significa “cerca de un día”

la presencia a nivel molecular de relojes biológicos. El más importante de estos, conocido también como reloj maestro o marcapasos central, está constituido por una red de más de 20 mil neuronas que se localizan en el hipotálamo, más específicamente en el núcleo supraquiasmático (NSQ) (Garaulet & Madrid, 2010; Flanagan et al., 2021). Este reloj coordina los sistemas endocrinos, fisiológicos y celulares, sincronizándose con el exterior principalmente a través de la luz solar (Bass & Lazar, 2016). El NSQ coordina dichos ritmos mediante mecanismos hormonales y autónomos, permitiendo de esta forma que la señal horaria llegue a las células que no están directamente expuestas a la luz. La sincronización entre el NSQ y el medio externo, a partir de la luz, tiene su epicentro en la retina, cuyo tejido que no solo tiene la capacidad de formar imágenes a través de los conos y bastones, sino que cuenta con otro tipo de células especializadas conocidas como células ganglionares, las cuales expresan el fotorpigmento melanopsina. Este fotorpigmento funciona como sensor que permite registrar la intensidad de luz ambiental, información que posteriormente alcanza al NSQ a través del nervio óptico (Moreira, 2015).

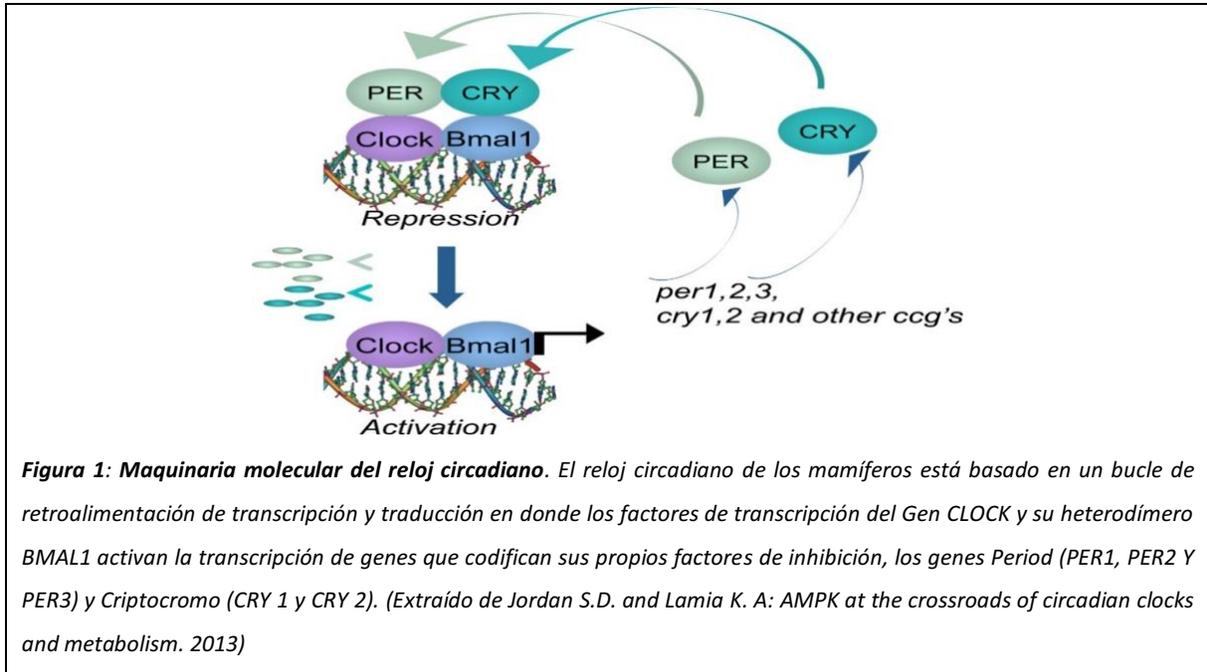
Hoy se sabe que además del reloj central, la mayoría de los órganos y tejidos presentan relojes periféricos que son coordinados por el reloj central y sincronizados por otros factores externos, a partir de lo cual se entiende que, aunque los relojes periféricos pueden oscilar a través de los ritmos generados desde el NSQ, también tienen la capacidad de generar su propia ritmicidad y de sincronizarse con el medio externo a través de otras entradas periódicas, como por ejemplo el horario de la ingesta de alimentos (Rubio, Ballesteros, Sánchez-Pernaute, & Torres, 2015; Flanagan et al., 2021).

4.6 La maquinaria molecular de los relojes biológicos

Más allá de que para su correcto funcionamiento el reloj central necesita sincronizarse y responder a estímulos ambientales, este también tiene la capacidad de continuar oscilando ante la posibilidad de encontrarse aislado de estímulos externos, pudiendo entonces generar ritmicidad en condiciones ambientales constantes (Garaulet & Madrid, 2010). Esta capacidad se debe a la presencia de un mecanismo molecular que involucran principalmente a cuatro genes: Clock, Bmal, Cry y Per. Estos genes, en conjunto

conocidos como genes reloj, funcionan como factores de transcripción que en última instancia activan o inhiben su propia expresión en una serie de cascadas de retroalimentación (Loros & Dunlap, 1991). Mas específicamente, el mecanismo molecular del reloj circadiano central (Fig.1) y los osciladores circadianos periféricos, involucran la interacción de señales positivas y negativas que regulan la transcripción rítmica de los genes reloj. El componente positivo (o de activación del reloj) está compuesto por los genes Clock y Bmal1, que sintetizan sus proteínas CLOCK y BMAL1, las cuales al dimerizarse inducen la expresión de los genes Per y Cry (componente negativo o de desactivación del reloj), que activan su maquinaria transcripcional y consecuentemente aumentan la síntesis de sus proteínas, PER y CRY, en el citosol (Garaulet & Gómez-Abellán, 2013; Garaulet & Madrid, 2010). Estas proteínas, también se dimerizan y se translocan al interior del núcleo donde, acto seguido, van a inhibir la unión de los heterodímeros CLOCK y BMAL1, disminuyendo así la expresión de los genes Per y Cry, e inhibiendo de esta manera su propia transcripción y síntesis (Garaulet & Gómez-Abellán, 2013).

Si situamos el funcionamiento de la maquinaria del NSQ en el contexto de un día, ocurre lo siguiente: al inicio del día la transcripción de los genes Per y Cry se activa por los heterodímeros que forman las proteínas CLOCK: BMAL1, y hacia la mitad del día (comienzo de la noche biológica), las proteínas PER y CRY, una vez dimerizadas se translocan al núcleo e inhiben su propia transcripción. Estas proteínas se degradan aproximadamente a las 24 horas de haberse iniciado el ciclo, momento a partir del cual, nuevamente se presentarán las condiciones favorables para la formación de los heterodímeros CLOCK: BMAL1, los cuales activarán la transcripción de los genes Per y Cry para reiniciar nuevamente el ciclo.



4.7 Cronodisrupción y salud metabólica

Se habla de robustez circadiana cuando los ritmos del reloj central y los relojes periféricos se encuentran alineados entre sí y con el entorno externo, situación beneficiosa para nuestra salud (Ortiz-Tudela et al., 2012). Por el contrario, la evidencia emergente señala que la desincronización de los relojes biológicos entre sí y/o con los ciclos de 24 hs. del ambiente externo, también denominada cronodisrupción (CD), podría constituir un factor etiológico importante en el desarrollo de distintos tipos de enfermedades (Garaulet & Madrid, 2010; Rubio, Ballesteros, Sánchez-Pernaute, & Torres, 2015). Actualmente existe evidencia sobre la relación existente entre la CD y el aumento de riesgo de desarrollar o provocar un empeoramiento en patologías preexistentes, como el envejecimiento prematuro, el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes mellitus tipo 2, la obesidad o el síndrome metabólico (Garaulet & Madrid, 2010; Gómez-Abellán et al., 2012; Ortiz Tudela et al., 2012).

Como se mencionó anteriormente para el correcto funcionamiento del NSQ son necesarias una serie de entradas periódicas de información, dentro de las cuales los ciclo de luz-oscuridad son las más importante. A su vez, existen multitud de salidas nerviosas y endocrinas que informan de la actividad del marcapasos central al resto del organismo.

Entre las salidas de información del marcapasos sobresalen algunos ritmos manifiestos como el ritmo de actividad-reposo, el ritmo en la secreción de distintas hormonas o el ritmo de temperatura corporal, entre otros (Ortiz Tudela et al., 2012). Justamente, la CD puede ser el resultado de alteraciones en diferentes niveles de este sistema, pudiendo ser consecuencia del empeoramiento en las entradas al oscilador central (por ejemplo, por inadecuación del descanso, pobre exposición a luz durante el día, por la exposición a la luz artificial durante la noche o por cambios en el horario de las comidas); fallos en las salidas del reloj circadiano (anormal producción de melatonina, por ejemplo) y/o fallos en el propio oscilador central (mutaciones o polimorfismos a nivel de los genes reloj) (Ortiz-Tudela et al., 2012; Rubio, Ballesteros, Sánchez-Pernaute, & Torres, 2015).

4.8 Inadecuación del descanso, cronodisrupción y salud metabólica

La inadecuación del descanso es un claro ejemplo de CD a nivel de las entradas. La prolongación del período de actividad durante la noche supone una reducción del tiempo destinado al sueño, hecho que a su vez también contribuye a la disrupción del sistema circadiano (Ortiz Tudela et al., 2012). Estudios transversales y longitudinales han demostrado la asociación entre una menor duración del sueño con la obesidad, diabetes y la hipertensión (Gangwisch, 2009). Como ejemplo de esto, un metaanálisis de 2017 con más de 150 estudios y 5 millones de personas, observó que la restricción de sueño no solo aumenta el riesgo de mortalidad por todas las causas, sino también de enfermedad cardiovascular, accidente cerebrovascular, hipertensión arterial, dislipemia, diabetes y obesidad (Itani et al., 2017). Curiosamente, la restricción de sueño puede ejercer rápidos efectos sobre la salud metabólica, siendo que solo una semana de déficit de sueño puede inducir un aumento significativo de marcadores de inflamación como la interleuquina 6 y el factor de crecimiento tumoral alfa (Vgontzas et al., 2004), una desmejora significativa en la sensibilidad en la insulina (Buxton et al., 2010), mayor actividad del sistema nervioso simpático, aumentos de niveles nocturnos de cortisol y reducción de los niveles de la hormona tiroestimulante (Spiegel et al., 2004).

Por su parte, la asociación de la restricción de sueño y la obesidad está ampliamente documentada. Este vínculo parece explicarse en gran parte, en que el déficit de sueño parece influir rápidamente en el aumento de la ingesta energética. Como ejemplo de esto, en un estudio de intervención, solo 5 días con una restricción de sueño de 5 horas bastaron para que la ingesta calórica se incremente en más de 300 kcal por día en comparación a los sujetos del grupo control que durmieron 9 horas (St-Onge et al., 2011). Posteriormente en un metaanálisis con estudios de intervención se determinó que las personas con descanso inadecuado tenían una ingesta de 385 kcal por encima de las personas con descanso normal (Al Khatib et al., 2017). Los mecanismos a partir de los cuales la restricción de sueño estimula una mayor ingesta son múltiples, y dentro de estos se destacan una mayor actividad en las vías de recompensas (lo que hace a los sujetos más vulnerables al incremento en la ingesta sobre todo ante la exposición a alimentos de alto poder de reforzamiento como los ultrapalatables), extensión de la ventana de tiempo para la ingesta, aumento en los niveles de hormonas orexígenas, así como caída en los niveles de hormonas anorexígenas (Magee et al., 2009; Zimberg et al., 2012). En relación a esto, existen ensayos clínicos que han señalado que tan solo 2 noches de restricción de sueño podrían producir un incremento significativo en la síntesis de ghrelina, una reducción significativa de péptido YY y de leptina, con un consecuente aumento significativo en los scores de apetito (Spiegel, Tasali, et al., 2004; Magee et al., 2009).), mientras que 1 noche de privación total del sueño puede incrementar significativamente la actividad en centros importantes de la regulación hedónica como la amígdala, con una disminución en paralelo de la actividad en la corteza prefrontal, lo que en conjunto puede conducir a consumos de tipo impulsivos y compulsivos de alimentos con alto poder de reforzamiento (Greer et al., 2013).

Otra de las posibles consecuencias que podrían explicar la asociación del acortamiento del sueño con la obesidad es la disminución en el gasto de energía asociado a una caída tanto en la termogénesis como en la temperatura corporal central (Patel et al., 2006), aunque la evidencia al respecto es contradictoria (Al Khatib et al., 2017).

Por último, es importante considerar que un descanso inadecuado puede afectar la calidad de los resultados de las intervenciones que tienen como objeto la disminución del

peso, siendo que existe evidencia que ha señalado que los sujetos con restricción en las horas de sueño que siguen una intervención nutricional con restricción calórica pierden menos grasa corporal y más masa libre de grasa en comparación a los sujetos que siguen la misma intervención nutricional, pero con un descanso adecuado (Nedeltcheva et al., 2009).

4.9 Cronotipos

Otra cuestión importante en el estudio de los ciclos circadianos y la CD es el conocimiento de los patrones de actividad individuales. Las preferencias por los horarios de acostarse y levantarse, así como para la realización de otras actividades tiene un rasgo estable en cada individuo y se conoce como cronotipo. El mismo puede determinarse por herramientas como el cuestionario de Horne (Horne & Ostberg, 1976), que permite clasificar a los sujetos en cronotipos nocturnos, intermedios o matutinos. En 2001 a partir de un trabajo con gemelos se demostró que aproximadamente el 50% de las características del cronotipo son heredables (Vink et al., 2001), quedando de manifiesto que más allá del componente genético, el cronotipo también puede verse influenciado por factores como la edad, el género y la etnia. Además de esto, es importante considerar que en la sociedad moderna el tiempo para dormir está fuertemente influenciado por las normas sociales, como sucede por ejemplo con los horarios en días laborales o académicos.

Algunos estudios han señalado que el cronotipo nocturno se asocia a mayor riesgo de obesidad, (Lucaseen et al., 2013; Arora & Taheri., 2014) menores niveles de HDL, aumento en niveles de hormonas de stress y mayor riesgo de apnea de sueño (Lucaseen et al., 2013), mayor riesgo de diabetes, síndrome metabólico y sarcopenia (Yu et al., 2014), así como también mayores problemas de sueño y mayor riesgo de depresión (Eid et al., 2020). En lo que refiere a hábitos de alimentación se ha asociado al cronotipo nocturno con patrones de alimentación menos saludables, aumento de la ingesta de sacarosa, dulces, cafeína y alcohol, y al desvío de mayores niveles de ingesta hacia la noche (Mazri et al., 2020).

4.10 CLOCK rs1801260

Como se mencionó anteriormente, las alteraciones a nivel molecular pueden ser causa de CD. Dentro de las posibles alteraciones en los genes reloj, las más estudiada en los últimos años son aquellas que afectan al gen CLOCK (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput) (López -Mínguez et al., 2016). El gen CLOCK juega un papel clave en el sistema circadiano de los mamíferos, afectando el metabolismo energético y varias vías metabólicas, como el metabolismo de la glucosa y los lípidos en órganos diana que incluyen a los músculos, el hígado y el tejido adiposo (Rahati et al., 2021).

En el año 2005 Turek y cols. demostraron que ratones homocigotos para la mutación del gen CLOCK desarrollaban obesidad, esteatosis hepática, alteraciones en los niveles de leptina, comportamiento hiperfágico, hipertrofia adipositaria y síndrome metabólico. Aunque las mutaciones son raras en seres humano, existen otras variaciones genéticas, como los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del inglés “single nucleotide polymorphism”), con una prevalencia significativamente mayor. Los SNP se definen como una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina(C) o guanina (G)) y que tienen una frecuencia poblacional mayor al 1% (Azizzadeh-Roodpish et al., 2021). Estos SNPs pueden explicar diferencias interindividuales respecto a la vulnerabilidad hacia ciertas enfermedades, la interacción entre ciertos genes y determinados nutrientes, así como la tendencia hacia determinados hábitos (por ej. patrones de alimentación o de descanso determinados). De los distintos SNP del gen CLOCK, el rs1801260 (también llamado *CLOCK* 3111 T>C), es uno de los de mayor interés. La frecuencia a nivel global para los portadores de este SNP es de 23%, y si tomamos como referencia a la población europea la misma asciende a 30,5%³.

Se ha documentado que la variante de riesgo C de este SNP se asocia con un mayor IMC, peso y perímetro de cintura (Rahati et al., 2022), con un mayor riesgo de obesidad y resistencia a la pérdida de peso ante la intervención dietética (Garaulet et al., 2011), y a un riesgo aumentado de diabetes mellitus tipo 2 (Garaulet et al., 2009; Uemura et al., 2016). Adicionalmente, existe evidencia que asocia a los portadores de la variante de riesgo con

³ https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1801260#frequency_tab

niveles significativamente más altos de ghrelina (Garaulet et al., 2011; López Guimera et al., 2014; Rahati et al., 2021) y niveles más bajos en GLP-1 (Rahati et al., 2021) en comparación a los sujetos no portadores TT. En cuanto a la contribución del este polimorfismo en la variabilidad de la ingesta, existe evidencia que indica que los portadores poseen un mayor consumo de energía, carbohidratos y grasas (Rahati et al., 2021). En lo que concierne a la salud cardiometabólica, dos metaanálisis recientes del mismo grupo de estudio, determinaron que la variante de riesgo C se asociaba significativamente con un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular (OR = 1.32, 95% CI: 1.16–1.50, $p < 0.001$) (Škrlec et al., 2021) pero no así a una mayor susceptibilidad al Síndrome Metabólico (Škrlec et al., 2022).

Por último, las variantes de riesgo de CLOCK rs1801260 también se han asociado a cronodisrupción y a un cronotipo nocturno. Así por ejemplo, en un estudio con mujeres con sobrepeso, las portadoras de la variante C mostraron ser menos activas durante la mañana, presentar mayores niveles de somnolencia durante el día y retraso de la acrofase, lo cual es característico en un cronotipo nocturno (Bandín et al., 2013). Un estudio anterior, señaló que los portadores tendían a incrementar su nivel de actividad durante la noche, pero además, se caracterizaban por un inicio tardío del sueño (en promedio 79 minutos más tarde) y una reducción de la cantidad total de tiempo de sueño (en promedio 75 minutos menos) en comparación a los portadores del alelo protector (Benedetti et al., 2007). La potencial influencia negativa de este SNP sobre el descanso no es una cuestión menor, ya que como se exploró anteriormente, los antecedentes provenientes tanto de estudios observacionales y de intervención sugieren que la inadecuación del sueño puede tener un rol significativo en la etiología de la obesidad y enfermedades asociadas.

4.11 CLOCK rs1801260 y preferencias alimentarias: Interacción Gen*Nutriente CLOCK rs1801260

Los antecedentes que han explorado la interacción gen*nutriente para el SNP rs 1801260 del gen CLOCK apuntan a que la cantidad y el tipo de grasa de la dieta podría interactuar con este SNP en lo que refiere a composición corporal y factores de riesgo

metabólicos. En sujetos con síndrome metabólico que participaron del estudio CARDIOPREV se observó que luego de un año de seguimiento, una dieta baja en grasas mejora la sensibilidad a la insulina, el índice HOMA y los niveles de insulina en los no portadores TT en comparación a los portadores de las variantes de riesgo. No obstante, cuando ambos grupos siguieron un patrón de alimentación mediterránea rica en grasas monoinsaturadas no se observaron estas diferencias (García Ríos et al., 2014). Por otro lado, el estudio GOLDN (Genetics of Lipid Lowering Drugs and Diet Network), indicó que el consumo de grasas saturadas (SFA) también podría interactuar con este SNP. Mas específicamente, este estudio transversal con 1100 hombres y mujeres, demostró que cuando la ingesta de SFA fue menor al 11,8% de la ingesta energética, no se encontraban diferencias significativas para la circunferencia de la cintura entre portadores y no portadores del alelo de riesgo ($P = 0,153$), pero cuando la ingesta de SFA superaba este valor, los portadores del alelo de riesgo tenían valores en la circunferencia de cintura significativamente más altos que los no portadores ($P = 0,028$) (Garaulet et al., 2009). Llamativamente, en el Boston Puerto Rican Health Study se observó una interacción gen*dieta protectora en los portadores del alelo de riesgo a mayor consumo de SFA, más específicamente, los portadores del alelo de riesgo con un consumo de SFA de al menos 21g por día tuvieron niveles de colesterol LDL plasmático menores que los de los portadores del alelo protector con similar consumo de SFA ($P = 0.02$) (Dashti et al., 2013). Por último, un trabajo de publicación reciente señaló que los portadores del alelo de riesgo para este SNP, tenían un mayor score de apetito cuando el consumo de grasas era alto ($P= 0.041$) (Rahati et al., 2021).

5. Materiales y métodos

5.1 Diseño del estudio

Se llevó adelante un estudio transversal analítico, donde el reclutamiento de voluntarios se realizó entre octubre de 2018 y febrero de 2020 en la ciudad de La Plata y alrededores convocados a través de redes sociales. La recolección de datos y las evaluaciones se llevaron a cabo en un consultorio acondicionado para tal fin en el Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), situado en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata. Allí, a cada participante, y luego de la firma voluntaria del consentimiento informado, se le realizó una encuesta inicial sobre sus datos personales, socioeconómicos, demográficos, de actividad física y de hábitos de descanso, se le practicó una serie de evaluaciones antropométricas, se le administró el cuestionario de cronotipos de Horne y un cuestionario validado de frecuencia de consumo de alimentos, y en última instancia, se le pidió que recolecten una muestra de saliva para la posterior obtención del genotipo.

5.2 Características de los participantes

Los participantes del estudio fueron adultos aparentemente sanos de ambos sexos, con edades comprendidas entre 19 y 64 años, residentes en la ciudad de La Plata y alrededores. Se excluyeron del estudio las personas embarazadas o en período de lactancia, padecimiento de cualquier enfermedad infecto-contagiosa, enfermedades físicas o psíquicas invalidantes, con diagnóstico de cáncer o enfermedad de Cushing o personas que hayan cambiado sus hábitos alimentarios en el último año.

El muestreo fue no probabilístico voluntario a través de una convocatoria abierta por las redes sociales Instagram y Facebook, utilizando el protocolo de trabajo aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas (COBIMED) de la Universidad Nacional de La Plata (protocolo de aprobación número 46, año 2018). A los individuos interesados en participar como voluntarios del estudio se les informó sobre el mismo, se les leyó y explicó el consentimiento informado, el cual firmaron voluntariamente para expresar su acuerdo de participar de la investigación y su autorización para publicar los resultados.

A su vez, se les informo sobre su derecho de retirarse de la investigación en cualquier momento. A cada uno de los participantes se les asigno un código único de identificación con el fin de anonimizar la información personal y preservar su derecho a la privacidad.

5.3 Tamaño muestral

Se incluyeron para el análisis del presente estudio transversal los datos de 95 participantes. A partir de este dato se utilizó el software OpenEpi para detectar una diferencia del 25% en la ingesta alimentaria entre portadores del alelo C para el genotipo en CLOCK y homocigotas T, basado en la frecuencia del alelo minoritario C y con un intervalo de confianza del 95% bilateral, se obtuvo un poder estadístico del 81,53%. Se consideró adecuado un poder estadístico mayor o igual a 80% . Es decir, que el valor obtenido significa que existe un 81,5% de posibilidades de detectar una diferencia entre grupos como estadísticamente significativa, si existe.

5.4 Variables analizadas

Mediante la encuesta inicial (Anexo I) se obtuvieron datos socioeconómicos y demográficos que comprendieron las variables edad, sexo, nivel educativo y nivel socioeconómico. A su vez, se recolectaron datos sobre antecedentes clínicos familiares y personales, nivel de actividad física, horas de sueño por día y nivel de descanso. Para la determinación del cronotipo de cada sujeto se utilizó el cuestionario de Horne and Ostberg (Horne & Ostberg, 1976), el cual permite clasificar a los sujetos en “cronotipo vespertino”, “cronotipo matutino” y “cronotipo intermedio”. Tomando las recomendaciones de la Sociedad española de sueño (Jurado Luque, 2016), se consideró al descanso como adecuado cuando los sujetos refirieron tener entre 7-9 hs. de sueño por día como, “Inadecuado” cuando las horas de sueño referidas fueron menores a 7 hs. y “Excesivo” cuando refirieron tener más de 9 hs. de sueño diarias.

De acuerdo con los Descriptores en Ciencias de la Salud (<https://decs.bvsalud.org/es/>), los individuos se dividieron según la edad en “Adultos” (≤ 44 años) y “Personas de mediana edad” (≥ 45 años)) y según el sexo en “Femenino” y “Masculino”. En relación al nivel de actividad física, se dividió a los individuos en “Activos”

y “Sedentarios” de acuerdo con los criterios de la OMS (<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity>). Se consideraron activos aquellos individuos que realizaron 150 minutos semanales o más de ejercicio aeróbico moderado, o 75 minutos semanales o más de ejercicio intenso, o una combinación equivalente de actividades moderadas e intensas; y sedentarios a aquellos sujetos que realizaron menos de 150 minutos semanales de ejercicio aeróbico moderado, o menos 75 minutos semanales de ejercicio intenso.

La evaluación antropométrica incluyó la medición de la talla en cm, con un estadiómetro de pared con cinta métrica de metal inextensible, marca Seca 206; y la determinación del peso en kg, índice de masa corporal (kg/m^2), porcentaje de masa grasa, nivel de grasa visceral y porcentaje de masa muscular, a través de del método de bioimpedancia (balanza de bioimpedancia Omron HBF-514C).

Se citó a los voluntarios por la mañana, teniendo en cuenta que no hayan comido ni tomado nada en la última hora, que se encuentren con la vejiga vacía, y que no estuviesen en contacto con ningún objeto metálico en el momento de la evaluación. El estado nutricional de acuerdo con el valor de IMC, se categorizó en “Normopeso”, cuando el IMC se comprendió entre 18,5 y 24,99 kg/m^2 , “Sobrepeso”, cuando el IMC se comprendió entre 25 y 29,99 kg/m^2 , y “Obesidad” cuando el IMC fue $\geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ (<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).

El porcentaje de masa grasa y el nivel de grasa visceral se dividió en “normal” y “alto”; y el porcentaje de masa muscular se clasificó en “Bajo” y “Normal” (Omron Healthcare, 2017; Gallagher et al., 2000).

Por su parte, la evaluación de la ingesta alimentaria se realizó utilizando el cuestionario validado de frecuencia de consumo de alimentos CFA-UP (Olmedo et al., 2022). A partir del mismo se obtuvieron como variables de salida para el análisis: la ingesta de kilocalorías diarias, así como el porcentaje, y la cantidad en gramos diarios consumidos de carbohidratos, azúcares totales, azúcares libres, proteínas, grasa total, ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos poliinsaturados, colesterol y fibra. A su vez, se calcularon los gramos diarios consumidos de 17 grupos de alimentos (Lácteos;

productos de panadería; comidas elaboradas; hortalizas; caldos sopas salsas y aderezos; cereales de desayuno y galletitas; carnes y huevos; cereales y legumbres; bebidas azucaradas e infusiones; bebidas alcohólicas; carnes procesadas; aceites y grasas; productos de copetín; frutas; frutos secos y semillas; postres, helados y golosinas; endulzantes, dulces y mermeladas). Adicionalmente, en concordancia con el Modelo de Perfil de Nutrientes de la OPS, se clasificaron a los alimentos ultraprocesados en ricos en azúcares, ricos en grasas y ricos en azúcares y grasas.

Por último, la muestra de saliva para la posterior extracción del ADN y genotipificación fue recolectada por el mismo participante en un tubo falcon de 15 milímetros totalmente estéril, luego de la higienización de la cavidad bucal con agua. Para la extracción de ADN a partir de la muestra de saliva, se utilizó un protocolo optimizado del kit comercial DNeasy para sangre y tejidos de la empresa Qiagen dentro de los tres días posteriores a la recolección de saliva, mediante el cual se logró la obtención de 5 µg de ADN a partir de 2 ml de saliva, con un alto grado de pureza. Para almacenar la muestra, cada participante fue identificado con un # seguido por un número. La genotipificación para el polimorfismo rs1801260 (T/C) del gen CLOCK se realizó mediante la técnica de discriminación alélica por PCR en tiempo real (equipo StepOne de Termofisher Scientific), utilizando sondas Taqman de Applied Biosystems, mediante la cual se obtuvo el genotipo de cada participante: TT, TC o CC. Se utilizó el modelo genético dominante, a partir del cual se consideró por un lado a los homocigotas más frecuentes (TT) y, por el otro lado, a los portadores del alelo de riesgo C (TC+CC)

6. Análisis estadístico

6.1 Análisis descriptivo y genético:

El análisis estadístico se realizó utilizando los softwares SSPS Statistics 25 y R (versión 4.0). En primer lugar, se llevó a cabo un análisis descriptivo de variables socioeconómicas, demográficas y de estilo de vida, de la ingesta alimentaria y del estado nutricional de la muestra. Para determinar si las variables cuantitativas presentaban una distribución simétrica se realizó el análisis de Kolmogorov-Smirnov, considerándose una distribución normal cuando los valores p eran mayores a 0,05 y una distribución asimétrica cuando los valores p eran menores a 0,05. Luego de la eliminación de datos atípicos, las variables cuantitativas con distribución normal se evaluaron de acuerdo a la media y a su desviación estándar, las variables cuantitativas con distribución asimétrica se analizaron por medio de la mediana, y el rango o rango intercuartílico, mientras que las variables categóricas se analizaron por medio de porcentajes. Las variables cuantitativas continuas que no presentaron una distribución simétrica se transformaron logarítmicamente o por medio de raíz cuadrada para la ejecución de los posteriores análisis estadísticos, verificándose la normalización de las mismas.

Se estimaron las frecuencias alélicas y genotípicas para el SNP rs1801260 ubicado en el gen CLOCK, y, mediante el test χ^2 se determinó si las mismas se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg. En este sentido, la obtención de valores $p < 0,05$ indican que las frecuencias genotípicas observadas son significativamente distintas de las predichas para una población en equilibrio, y por lo tanto la muestra no se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg, mientras que valores $p \geq 0,05$ indican que las frecuencias genotípicas observadas no son significativamente diferentes de las de una población en equilibrio, por lo que la muestra se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg. A su vez, utilizando el test χ^2 , se determinó si existía una diferencia significativa entre el número de individuos que presentaron cada uno de los genotipos y alelos en el proyecto 1000 genomas y en el presente estudio. Los valores $p \geq 0,05$ indican que las frecuencias genotípicas y alélicas observadas no son significativamente diferentes de las de la muestra del proyecto 1000 genomas (Sudmant et al., 2015)

6.2 Comparación de las variables antropométricas y de estilo de vida y del estado nutricional según el genotipo en el gen CLOCK

La comparación de las variables categóricas entre genotipos empleando el modelo dominante se realizó mediante el análisis de regresión logística, el cual se ajustó por las variables de confusión edad, sexo, nivel de actividad física y estado nutricional. En el caso de tratarse del análisis de alguna de estas como variable dependiente, se utilizó como variables confusoras a las tres restantes. Para comparar el IMC, los porcentajes de masa grasa y masa muscular y el nivel de grasas visceral entre genotipos según el modelo dominante, se emplearon las pruebas t-test y ANOVA unifactorial.

La probabilidad de presentar sobrepeso y/u obesidad, porcentaje de masa grasa o nivel de grasa visceral altos, y porcentaje de masa muscular bajo en los portadores del alelo de riesgo C en comparación con el genotipo TT, se determinó mediante el empleo del modelo de regresión logística y la obtención de la razón de posibilidades Odd Ratios (OR o $\exp(B)$) con su correspondiente intervalo de confianza del 95% y nivel de significancia estadística (valor p), utilizando el modelo dominante. Se establecieron diferencias estadísticamente significativas cuando los valores p eran $<0,05$.

6.3 Preferencias alimentarias en la población general y según el genotipo en CLOCK

La comparación de la ingesta de energía total, nutrientes y grupos de alimentos de acuerdo al genotipo se determinó mediante las pruebas de t-test y ANOVA unifactorial, se normalizaron aquellas variables con distribución asimétrica mediante la aplicación del logaritmo natural y de la raíz cuadrada. La ingesta de nutrientes se analizó como porcentaje de energía total diaria y en gramos ajustados por la energía total, y la ingesta de grupos de alimentos se analizó en gramos diarios. El ajuste de los gramos de nutrientes por ingesta energética se realizó mediante el método residual, utilizando la siguiente fórmula: $\text{Ingesta ajustada} = (\text{ingesta observada del nutriente} - \text{cantidad de nutriente que el individuo debería consumir para sus calorías según el consumo medio de energía de la población}) + \text{ingesta de nutriente esperada para una persona con una ingesta calórica media (Willet et al., 1997)}$.

Por un lado, por medio de las pruebas t test, y empleando un modelo dominante (TC+CC vs TT), se estableció si las diferencias de las medias de las variables cuantitativas continuas estudiadas eran estadísticamente significativas (valor $p < 0,05$) entre los portadores del alelo de riesgo C y los homocigotas más frecuentes TT. Adicionalmente, se calcularon las medias con su desvió estándar o las medianas con su rango intercuartílico para cada variable cuantitativa continua según el genotipo.

6.4 Interacciones gen*dieta

La evaluación del efecto diferencial que ejerce ingesta de nutrientes y alimentos sobre el IMC, el porcentaje de masa grasa y de masa muscular y el nivel de grasa visceral según el genotipo rs1801260 en el gen CLOCK, se generó mediante dos tipos de análisis estadísticos: ANOVA multifactorial con interacción, y regresión lineal múltiple. Para el análisis de ANOVA multifactorial con interacción se estableció como variable dependiente al IMC (trasformado logarítmicamente); como factores potenciales de diseño a la ingesta porcentual de nutrientes, a la ingesta de nutrientes en gramos (ajustados por la energía total) y a la ingesta por grupos de alimentos (como porcentaje de la ingesta energética total), todos ellos divididos por la media o la mediana en las categorías “Baja ingesta” y “Alta ingesta”, y al genotipo, el cual fue analizando mediante el modelo dominante (TC+ TT); se agregó como variable independiente el término de interacción entre la ingesta de nutrientes o grupos de alimentos y el genotipo. El modelo se ajustó por edad, sexo, nivel de actividad física, horas de sueño por día y energía total, excluyendo a este último factor perturbador cuando se analizó la ingesta de nutrientes en gramos ajustados por energía. El análisis de cada modelo se realizó considerando la significancia del término de interacción y de cada una de las combinaciones posibles para las categorías de ingesta y genotipo obtenidas a partir del test de comparaciones post-hoc de Tukey del término de interacción ingesta*genotipo. Los valores $p < 0,05$ permiten corroborar la existencia de una diferencia significativa en el IMC en función del nivel ingesta de nutrientes o grupos de alimentos según el genotipo.

En el análisis de regresión lineal múltiple, se incluyó como variables dependiente al IMC transformado logarítmicamente, como covariable a la ingesta de nutrientes (% de la energía total y gramos ajustados por la energía total) y a la ingesta por grupos de alimentos (porcentaje de la ingesta de energía), como factor potencial de diseño al genotipo, el cual fue analizando a través del modelo dominante (TC+CC vs. TT); adicionalmente, se agregó como regresor el término de interacción entre la ingesta de nutrientes o grupos alimentos y el genotipo. El ajuste del modelo se realizó por las variables edad, sexo, nivel de actividad física, horas de sueño por día y energía total, excluyendo a este último factor perturbador cuando se analizó la ingesta de nutrientes en gramos ajustados por energía. El análisis de cada modelo se realizó considerando la significancia del término de interacción para determinar si la influencia que tiene la ingesta de nutrientes o grupos de alimentos sobre el IMC es significativamente diferente (valor $p < 0,05$) según el genotipo en CLOCK. A su vez, se consideró la significancia de los efectos individuales de la ingesta de nutrientes o grupos de alimentos según el genotipo, para determinar si cada una de las pendientes correspondientes a los distintos genotipos son distintas de cero (valor $p < 0,05$).

7.Resultados

7.1 Características generales de la muestra

7.1.1 Variables sociodemográficas: Un total de 95 voluntarios que cumplieron con los criterios de inclusión participaron del estudio. Del total de la muestra, el 64,2 % fue de sexo femenino y 35,8% de sexo masculino. La mediana de la edad fue de 30 años (con un mínimo de 19 años y un máximo de 64). El nivel socioeconómico de todos los participantes de la muestra fue medio-alto, mientras que en lo referente al nivel educativo, un 33,7% de los participantes refirió haber finalizado el nivel universitario, un 9,5% el nivel terciario, un 48,4% el nivel secundario, mientras que un 8,4% refirió haber finalizado los estudios primarios .

7.1.2 Cronotipo y nivel de descanso: la mediana para las horas de sueño fue de 7 horas, con un mínimo de 5 horas y un máximo de 8 horas. Un 59,6% de los participantes tuvo niveles de descanso adecuado, mientras que el 40,4% no cumplió con las horas de sueño recomendadas. Adicionalmente se determinó que el 54,9 % de la muestra presentó un cronotipo intermedio, un 32,9 % un cronotipo matutino y un 12,2 % cronotipo vespertino.

7.1.3 Variables antropométricas: Respecto a las variables antropométricas analizadas, la mediana para el IMC fue de 24,7 kg/m² (mínimo 19 kg/m², máximo 36,2 kg/m²), a su vez, el 68,4 % de la muestra presentó niveles de grasa corporal altos y el 31,6 % niveles normales, mientras que en lo que refiere a grasa visceral, el 80,2% presentó niveles normales, y el 19,8 % niveles altos. Por último, en relación a la masa muscular, el 65,2 % de los participantes presento valores normales, mientras que el 6,5% y el 28,3 % presento valores altos y bajos respectivamente.

7.1.4 Nivel de actividad física: según parámetros de la Organización mundial de la salud se determinó que el 51,1% de los participantes eran físicamente activos y el 48,9% sedentarios.

7.1.5 Ingesta de nutrientes y grupos de alimentos: los resultados de ingesta energética y de macronutrientes se muestran en la Tabla 1. La mediana observada respecto al consumo energético diario de la muestra fue de 2320 kcal por día (mínimo 1258 y máximo 3929 kcal/día). La ingesta de macronutrientes expresada como porcentaje de la ingesta calórica total fue de 45 % (DE ± 6%), para los carbohidratos, 17,1 % (DE ± 2,64) para proteínas y 39,3% (DE ± 6) para las grasas. Asimismo, la ingesta de grasas saturadas fue del 13,3% (DE

± 2,4), y el consumo de Azúcares totales del 15,5 % (DE ± 4,79) mientras que la mediana observada en el consumo de azucares libres fue del 7.8 % (min y máx. 0,3- 36,4). En cuanto al aporte de energía de los diferentes grupos de alimentos (Tabla 2), se observó que los grupos de mayor aporte de energía fueron las comidas elaboradas, los lácteos, los productos de panadería, las carnes y huevos y los cereales y galletitas, mientras que los grupos de menor aporte fue el de los frutos secos y semillas.

Tabla 1. Ingesta energética y de macronutrientes de la muestra general

	Media	Desvío estándar	Mediana (mín-máx)	RIQ
Energía total (Kilocalorías/día)	2361	660	2320 (1258-3929)	934
CHO (gr ajustados/día)	265	30,3	268(194-332)	40
CHO (% Kcal Totales)	45	6	45,2(31,5-59,9)	
Grasas (gr ajustados /día)	184	27,9	183(132-251)	46
Grasas (% Kcal Totales)	39,3	5,7	39,8(24,2-52)	
Proteínas (gr ajustados/día)	165	24,8	161(106-225)	31
Proteínas (% Kcal Totales)	17,1	2,64	17,1(11,9-23,5)	
Azúcares totales (gr ajustados/día)	85,7	18,5	83,1(40,9-132)	24,1
Azúcares totales (% Kcal Totales)	15,9	4,3	15,5(6,8-28,1)	
SFA (gr ajustados/día)	33,1	5,57	32,8(20,3-46)	7,3
SFA (% Kcal Totales)	13,3	2,4	13,2(7,3-18,3)	
MUFA (gr ajustados/día)	36,7	7,1	36,8(21,7-54,3)	10,6
MUFA (% Kcal Totales)	9,9	3,2	9,3(4,2-18,4)	
PUFA (gr ajustados/día)	19,1	4,16	18,9(10,2-28,5)	4,8
PUFA (% Kcal Totales)	5,7	1,8	5,8 (1,9-10,5)	
Colesterol (mg ajustados/día)	398	101	387(207-657)	137
Fibra (gr ajustados/día)	26,2	6,9	25,5(10,9-42,2)	8,6

SFA: ácidos grasos saturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados.

Tabla 2. Ingesta de grupos de alimentos de la muestra general

Grupos de alimentos (% Energía)	Media	Desvío estándar	Mediana (mín-máx)	RIQ
Lácteos	10	4,52	9,27 (0,85-21)	6,53
Cereales de desayuno y galletitas	6,99	5,71	5,25(0-22,3)	8
Productos de panadería	9,68	5,34	9,44(0-21,5)	7,50
Comidas elaboradas	18,5	7,96	18,5(2,68-38,7)	10,3
Carnes y huevos	8,02	4,21	7,5% (0,36-16,8)	5,86
Carnes procesadas	2,31	1,73	2,19%(0-7,11)	2,50
Cereales y legumbres	6,52	4,21	5,96 (0-18,2)	6,20
Hortalizas	3,55	1,99	3,38 (0-8,53)	2,79
Caldos, sopas, salsas y aderezos	1,01	0,65	1(0-2,67)	0,91
Aceites y grasas	5,78	3,82	5,41 (0-15,1)	5,90
Productos de copetín	1,69	1,88	1% (0 a 6,48)	2,92
Frutas	6,53	4,30	6 % (0 -18.1)	6,49
Frutos secos y semillas	1,32	1,85	0,19 % (0-5,96)	2,47
Postres, helados y golosinas	4,7	3,86	3,9% (0-16)	6,12
Endulzantes, dulces y mermeladas	2,35	2,07	1,89% (0-7,58)	3,08
Bebidas azucaradas e infusiones	2,84	6,86	0,2% (0-43)	2,21
Bebidas alcohólicas	2,66	4,54	1% (0 a 26,2 %)	3,45

7.2 Asociación entre el genotipo rs1801260 en el gen CLOCK y las variables antropométricas, el cronotipo y la ingesta de nutrientes.

7.2.1 Frecuencias alélicas y genotípicas para el polimorfismo rs1801260 en el gen CLOCK:

Las frecuencias genotípicas observadas fueron de 57,9 % para el genotipo homocigota TT, 37,9 % para el genotipo heterocigota TC y de 4,2 % para el genotipo homocigota CC (Figura 2A). En lo referido al análisis de la frecuencia alélica, se determinó que la frecuencia del alelo de riesgo C fue del 23 %, en tanto que para el alelo T fue del 77 % (Figura 2B). A partir de la prueba χ^2 se estableció que las frecuencias alélicas observadas no son significativamente diferentes de las de una población en equilibrio, y que la muestra se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg (valor prueba $\chi^2 = 0,42$ y valor $p = 0,51$).

Al compararse con datos del proyecto 1000 genomas (Sudmant et al., 2015a) no se observaron diferencias significativas con la frecuencia alélica global ($p=0,96$), la frecuencia alélica americana ($p=0,89$) ni europea ($p=0,13$).

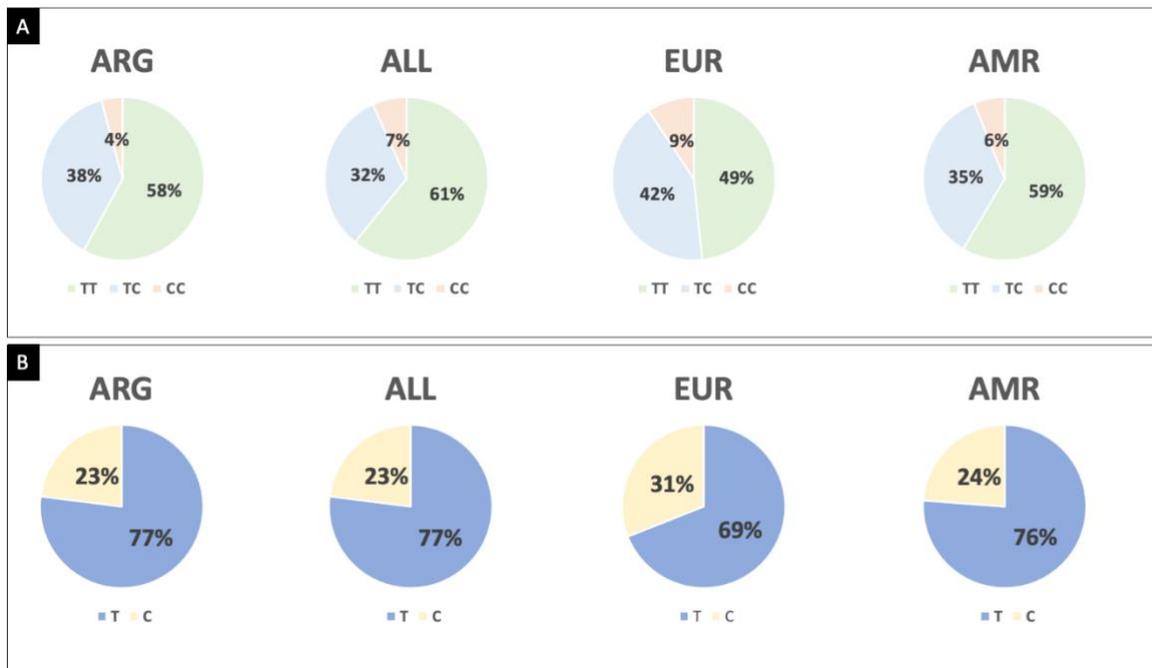


Figura 2. A) Frecuencias genotípica del SNP rs1801260 observada en el presente trabajo (ARG), a nivel global (ALL); en población europea (EUR) y en población americana (AMR) (Sudmant et al., 2015) B) Frecuencias alélica del SNP rs1801260 observada en el presente trabajo (ARG), a nivel global (ALL); en población europea (EUR) y en población americana (AMR). (Sudmant et al., 2015)

7.2.2 Asociación con variables antropométricas: La mediana para IMC en los portadores de la variante de riesgo fue de 24.8 kg/m², (min: 19,2 y máx.: 36,2) mientras que la misma fue de 24.2 kg/m² (min: 19 y máx: 34,5) para los no portadores TT. Los resultados de la prueba Mann Whitney determinaron que no hubo diferencias estadísticamente significativas en el IMC entre ambos grupos (p=0,58), así como tampoco en el porcentaje masa muscular (p=0,85) y nivel de grasa visceral (p=0,50), en lo que respecta al porcentaje de masa grasa utilizando la prueba T de Student se determinó que tampoco existían diferencias significativas en esta categoría entre ambos grupos (p=0,58). Por otra parte, al explorar la proporción de individuos con distintos niveles de masa muscular (bajo, normal y alto) se observó una diferencia al borde de la significancia estadística (p=0,051) siendo la tendencia en los portadores del alelo de riesgo una mayor proporción de individuos con niveles de masa muscular baja. Más específicamente el 36,8 % de individuos portadores del alelo C tenían una baja masa muscular, mientras que para los portadores del alelo T la proporción de individuos con baja masa muscular era del 22,2 %. Adicionalmente se analizaron las proporciones de individuos con niveles altos o normales tanto de grasa corporal como de grasa visceral según el genotipo, sin observarse diferencias estadísticamente significativas.

Tabla3. Composición según genotipo (modelo dominante)

	Media General	Mediana General	Media TT	Media TC+CC	Mediana TT	Mediana TC+ CC	Valor p
IMC	25,3	24,7	25	25,7	25	25,7	0,13 *
% masa muscular	29,1	28,3	29,3	28,9	28	28,85	0,79*
% individuos masa muscular baja	65,2		66,6	63,1			
% individuos masa muscular normal	28,2		22,2	36,8			
% individuos masa muscular alta	6,5		11,1	0			
% grasa corporal	33,1	32,2	32,7	33,7	32,6	31,8	0,58**
% individuos grasa corporal alta	68,4		69,1	67,5			
% individuos grasa corporal normal	31,6		30,9	32,5			
% grasa visceral	6,2	6	6	6,74	5	6	0,23 *
% individuos grasa visceral alta	19,8		14,3	28,1			
% individuos grasa visceral normal	80,2		85,7	71,9			

*valor p según prueba t de Student; ** valores p según test Mann Whitney

7.2.3 Horas de sueño y cronotipo: En lo que respecta a las horas de sueño, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los portadores del alelo de riesgo C y los no portadores ($p=0,69$) con una mediana en esta variable similar en ambos grupos (7 hs). En cuanto a la inadecuación del descanso tampoco se observaron diferencias significativas ($p=0,117$) entre portadores y no portadores de la variante de riesgo. Finalmente a través del test χ^2 se determinó que no existía una diferencia en el cronotipo entre las variables alélicas analizadas ($p=0,200$)

7.2.4 Nivel de actividad física: se determinó que el 40 % de los portadores del alelo C fueron físicamente activos mientras que el 60% eran sedentarios, en tanto que en los no portadores un 59,3 % y un 40,7 % se categorizaron como físicamente activos y sedentarios respectivamente. Según el test χ^2 , no se observaron diferencias significativas en los niveles de actividad física entre los portadores y no portadores ($P=0,65$)

7.2.5 Ingesta de energía y nutrientes según genotipo: los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4. Si bien no se observaron diferencias en la ingesta calórica total entre los portadores del alelo de riesgo y los no portadores según la prueba t , a través de la comparación de medias de los tres genotipos mediante el análisis el test ANOVA unifactorial se encontró una mayor ingesta calórica para los heterocigotas TC con respecto a los homocigotas TT (media TC 2562 kcal/día, media TT 2260 kcal/día, $p=0,049$)(Fig. 4A). Cuando se comparó la ingesta de nutrientes entre portadores y no portadores del alelo de riesgo (TC + CC vs. TT), expresada como porcentaje de la energía total, se encontró una diferencia estadísticamente significativa en la ingesta de proteínas. Los portadores, tuvieron una menor ingesta de proteínas en relación a los no portadores (TC+CC= 16%; TT=17,8%; $p=0,001$)(Fig. 4B). Asimismo, cuando la ingesta de nutrientes se expresó en gramos ajustados por la ingesta calórica, se encontró una diferencia significativa en la ingesta de carbohidratos, siendo ésta menor para los portadores (TC+CC= 255,4 gr; TT: 271,1 gr ; $p=0,022$)(Fig. 4C). Por otro lado, cuando se compararon las ingestas de nutrientes de los tres genotipos mediante el test de ANOVA, se observó una diferencia significativa en la ingesta de proteínas, determinándose a través del test de Tukey que los heterocigotas TC tuvieron un consumo de proteínas significativamente menor que los no portadores TT (TC:15,9%; TT 17,8%; $p=0,003$)

Tabla 4. Ingesta energética y de macronutrientes por genotipos (según modelo dominante)

	Media General	Media TT	Media TC+CC	P valor
Kilocalorías/día	2361	2260	2500	0,082
CHO (gr ajustados)	265	271,1	255,4	0,022
CHO (% Kcal Totales)	45	45,5	44,2	0,291
Grasas (gr ajustados)	184	179,3	190,2	0,064
Grasas (% Kcal Totales)	39,3	38,7	40	0,295
Proteínas (gr ajustados)	165	166,9	163	0,481
Proteínas (% Kcal Totales)	17,1	17,8	16	0,001
Azucares totales (gr ajustados)	85,7	84,5	87,9	0,455
Azucares totales (% Kcal Totales)	15,9	16,3	15,3	0,278
Azucares libres (gr ajustados)	44,2	47,4	39,5	0,069
Fibra (gr ajustados)	22,3	26,8	35,6	0,429
SFA (gr ajustados)	33,1	32,2	34,4	0,065
SFA (% Kcal Totales)	13,3	13,1	13,6	0,357
MUFA (gr ajustados)	36,7	36,1	37,4	0,419
MUFA (% Kcal Totales)	9,91	9,9	9,9	0,987
PUFA (gr ajustados)	19,1	18,9	19,5	0,491
PUFA (% Kcal Totales)	5,79	5,5	6,1	0,153
Colesterol (mg ajustados)	398	397,7	398,4	0,974
Fibra (gr ajustados)	22,3	26,8	35,6	0,429

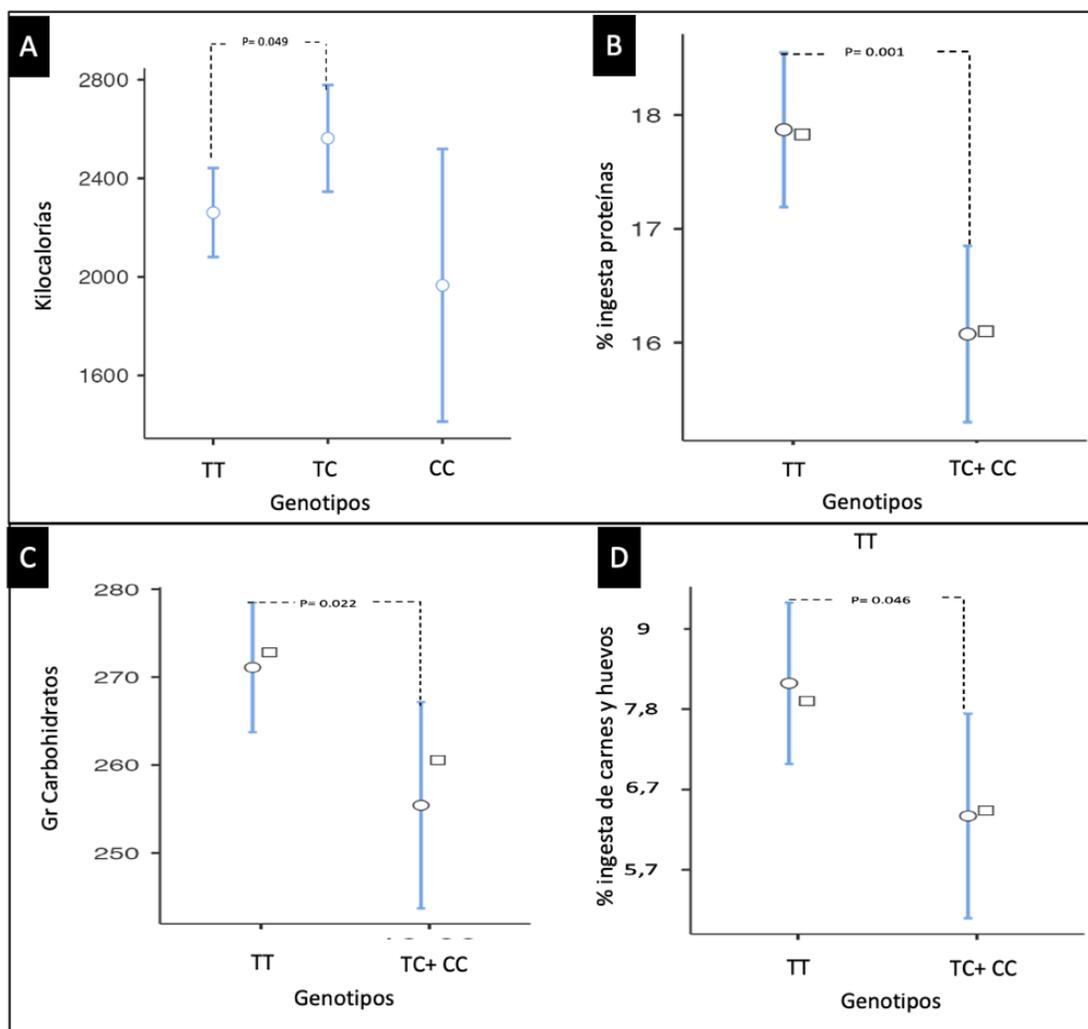


Figura 4. A: diferencias ingesta calórica por genotipo; B: ingesta porcentual de proteínas según genotipo (modelo dominante); C: ingesta gr de carbohidratos según genotipo (modelo dominante); D: ingesta porcentual de carnes y huevos según genotipo (modelo dominante)

7.2.6 Ingesta de grupo de alimentos según genotipo: En el análisis de la ingesta de grupos de alimentos (Tabla 5) se identificó una diferencia estadísticamente significativa en el consumo del grupo carnes y huevos ($p = 0.046$) (Fig. 4, D), siendo ésta del 8,7% para los no portadores y del 7% en los portadores del alelo C. El análisis con ANOVA de un factor no determinó que existiesen diferencias en el consumo de los diferentes grupos de alimentos analizados entre los 3 genotipos (TT, TC y CC).

Tabla 5. Ingesta por grupos de alimentos según genotipos (según modelo dominante)

Ingesta por grupo de alimentos (%)	Media General	Media TT	Media TC+CC	P valor
Lácteos	10	10,2	9,68	0,56
Cereales de desayuno y galletitas	6,9	6,57	7,55	0,55
Productos de panadería	9,6	9,55	9,87	0,77
Comidas elaboradas	18,5	17,4	20	0,11
Carnes y huevos	8	8,74	7,06	0,04
Carnes procesadas	2,3	2,43	2,15	0,46
Cereales y legumbres	6,5	6,89	6,01	0,11
Hortalizas	3,5	3,57	3,53	0,92
Caldos, sopas, salsas y aderezos	1	0,94	1,11	0,278
Aceites y grasas	5,7	5,72	5,87	0,85
Productos y copetín	1,6	1,86	1,47	0,33
Frutas	6,5	6,69	6,32	0,68
Frutos secos y semillas	1,3	1,21	1,47	0,52
Postres helados y golosinas	4,7	4,64	4,80	0,84
Endulzantes, dulces y mermeladas	2,3	2,35	2,37	0,96
Bebidas azucaradas e infusiones	2,8	2,50	3,39	0,86
Bebidas alcohólicas	2,6	2,68	2,62	0,40

7.2.7 Interacciones gen*nutriente: para analizar la dependencia de las variables antropométricas con las variables genéticas y nutricionales, se utilizó el modelo de regresión lineal múltiple, incluyendo el término de interacción gen*nutriente. No se obtuvieron términos de interacción estadísticamente significativos para la ingesta de energía y nutrientes. Sin embargo, a partir del análisis de efectos simples se observó que los portadores del alelo de riesgo (TC+ CC) tenían un menor IMC a mayor consumo de colesterol($p=0,043$)(Figura 5), relación que no fue observada para los no portadores ($p=0,7$). Adicionalmente, también con el análisis de efectos simples, se observó que los no portadores TT tenían mayor masa muscular a mayor consumo de colesterol ($p= 0,04$) y que la masa muscular aumentaba tanto en TT ($p= 0,014$) como en TC + CC ($0,04$) a mayor consumo de kilocalorías.

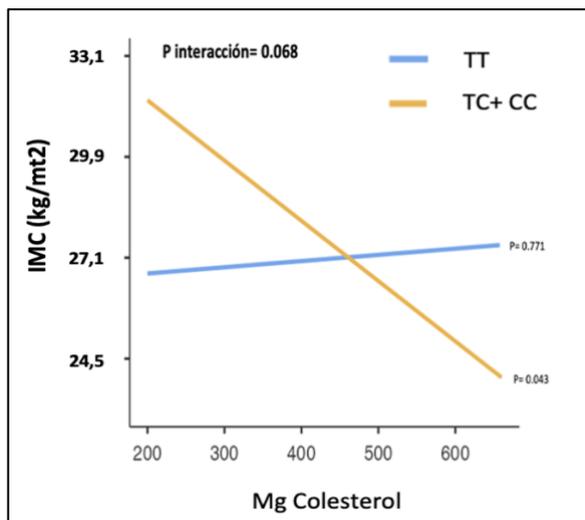


Figura 5. Interacción gen* ingesta mg de colesterol

7.2.8 Interacciones gen* grupo de alimentos: En primer lugar, los resultados del análisis de regresión lineal múltiple realizados para modelar la dependencia del IMC con las variables genéticas y de ingesta de grupos de alimentos determinaron la existencia de términos de interacción estadísticamente significativos para el consumo de bebidas alcohólicas($p=0,036$), determinándose con el análisis post hoc, que los portadores de la variante de riesgo, y no así los portadores del alelo T, incrementaban su IMC a mayor consumo de alcohol($p=0,012$) (Figura 5). Adicionalmente, se observó en los portadores C

un incremento significativo en los niveles de grasa visceral a mayor consumo de alcohol según el modelo de efectos simples ($p=0,01$) (Figura 5).

Por otro lado, si bien no se observó interacción entre el grupo carnes y huevos y el genotipo para el IMC, el desglosar el grupo carnes y huevos en las categorías en carnes, víscera y huevos, y analizarlas por separado, permitió el hallazgo de una interacción entre el genotipo y el consumo de huevos (p de interacción = $0,014$) con una reducción en el IMC a mayor consumo de huevos en los portadores C según el análisis post hoc ($p=0,025$). En la misma línea, utilizando la prueba ANOVA con interacción se observó una interacción significativa entre el consumo de huevo, categorizado en consumo alto y bajo, y el IMC ($p=0,028$), sin encontrarse ningún valor significativo en el análisis post hoc.

No se observó a través del análisis de regresión lineal múltiple que el resto de los grupos de alimentos influyera de manera significativamente diferencial sobre el IMC según el Genotipo. Sin embargo, los análisis post hoc, utilizando el modelo de efectos simples, determinaron que los individuos portadores del genotipo TT presentaban valores más bajos en su IMC cuanto más bajo era su consumo de comidas elaboradas ($p=0,047$) mientras que los portadores del alelo de riesgo tenían un menor el IMC a mayor consumo de cereales de desayuno y galletitas ($P=0,025$). Por su parte se observó que los portadores de la variante T tenían mayores niveles de masa muscular a mayor consumo del lácteos de ($p=0,02$) además de que este grupo presentaba una interacción significativa entre la categoría mayor consumo de lácteos con los niveles de masa muscular según el test ANOVA con interacción ($p=0,02$).

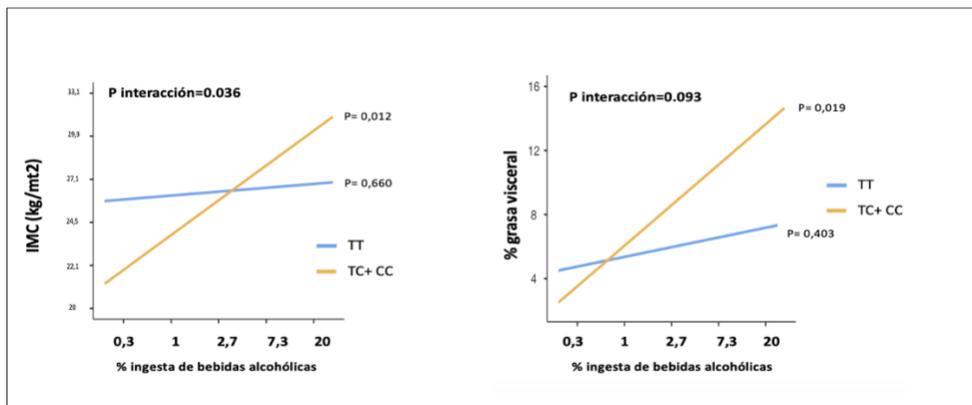


Figura 5. Interacción gen* % ingesta bebidas alcohólicas para IMC y grasa visceral

Tabla 6. Determinación de interacción gen*ingesta calórica y gen*nutriente sobre IMC por regresión lineal múltiple.

Nutrientes	TT		TC+CC		Interacción gen-dieta (Valor p)
	β (IC 95%)	Valor p	β (IC 95%)	Valor p	
Kilocalorías (kcal/d)	0,0000173 (0,0000474; 0,0000821)	0,596	0,0000526(0,0000283; 0,000134)	0,200	0,502
Carbohidratos					
%	-0,000770(-0,00782; 0,00628)	0,828	-0,00476 (-0,01278; 0,00326)	0,241	0,465
g/d	1,71e4(0,00138; 0,00172)	0,827	-0,00133(-0,00297; 0,000314)	0,112	0,200
Azúcares totales					
%	-0,0470 (-0,188; 0,0940)	0,509	0,0751 (-0,123; 0,2728)	0,452	0,321
g/d	-0,00148(-0,00332; 0,000353)	0,112	0,00224(-0,00479; 0,000307)	0,426	0,215
Azúcares libres					
%	0,00501 (-0,180; 0,00802)	0,446	0,00292 (-0,0101; 0,01597)	0,657	0,392
g/d	-0,000380(-0,00257; 0,00181)	0,730	-0,00224(-0,00479; 0,000307)	0,084	0,273
Proteínas					
%	0,00730(-0,01008; 0,0247)	0,406	0,01294 (-0,00873; 0,0346)	0,238	0,687
g/d	-0,0000509(-0,00196; 0,00186)	0,958	-0,000423(-0,00262; 0,00177)	0,702	0,796
Grasas totales					
%	-0,00109(-0,0120; 0,00984)	0,843	-0,00394(-0,0113; 0,00346)	0,293	0,664
g/d	-0,000622(-0,00224; 0,00100)	0,448	-0,00106(-0,00300; 0,000875)	0,279	0,722
AGS					
%	-0,00541(-0,0261; 0,0153)	0,605	0,00120(-0,0186; 0,0210)	0,905	0,637
g/d	-0,00385(-0,0133; 0,00561)	0,420	-0,00193(-0,0106; 0,00673)	0,659	0,763
AGMI					
%	0,00134(-0,0115; 0,01414)	0,836	-0,00922(-0,0253; 0,00691)	0,259	0,311
g/d	0,00193(-0,00857; 0,00470)	0,564	-0,00377(-0,00995; 0,00241)	0,228	0,687
AGPI					
%	0,0000809(-0,0250; 0,0251)	0,995	-0,00218(-0,0284; 0,0241)	0,869	0,902
g/d	0,000704(-0,00924; 0,01064)	0,889	-0,00409(-0,01728; 0,00909)	0,538	0,564
Colesterol (g/d)	0,0000615(-0,000357; 0,000480)	0,771	-0,000597(-0,00118; 0,0000191)	0,043	0,068
Fibra (g/d)	-0,00313(-0,01082; 0,00455)	0,419	-0,00104(-0,00821; 0,00613)	0,773	0,685

Tabla 7. Determinación de interacción gen*grupo de alimentos sobre IMC por regresión lineal múltiple.

Grupo de Alimento	TT		TC+CC		Interacción gen-dieta (Valor p)
	β (IC 95%)	Valor p	β (IC 95%)	Valor p	
Lácteos	0,00134(-0,00821; 0,0109)	0,782	0,00234(-0,01131; 0,0160)	0,734	0,905
Carnes y Huevos	0,0148(-0,0404; 0,0700)	0,595	0,0110(-0,0471; 0,0691)	0,708	0,925
Comidas Elaboradas	-0,00502(-0,00997; -0,0000702)	0,047	0,000947(-0,00504; 0,00693)	0,754	0,130
Productos de Panadería	-0,00411(-0,0115; 0,00324)	0,269	-0,00646(-0,0152; 0,00226)	0,145	0,684
Cereales de desayuno y galletitas	-0,0300(-0,0626; 0,00262)	0,071	-0,0398(-0,0747; -0,00501)	0,025	0,603
Cereales y legumbres	0,0297(-0,0259; 0,0853)	0,291	-0,0356(-0,0831; 0,0120)	0,140	0,069
Hortalizas	-0,00132(-0,0219; 0,01928)	0,899	-0,01533(-0,0382; 0,00755)	0,186	0,367
Bebidas azucaradas	-0,01295(-0,0431; 0,0172)	0,392	0,00594(-0,0294; 0,0412)	0,737	0,404
Bebidas Alcohólicas	0,00903(-0,0333; 0,0514)	0,670	0,08081(0,0183; 0,1433)	0,012	0,037
Caldos, salsas y aderezos	-0,00757(-0,0730; 0,0578)	0,818	0,00539(-0,0741; 0,0849)	0,893	0,803

Tabla 8. Interacción gen*nutriente sobre IMC según ANOVA de dos factores.

Nutrientes	Nivel de ingesta	TT		TC+CC		Interacción gen-dieta (Valor p)	Test de Tukey (valor p)
		IMC*	IC 95%	IMC*	IC 95%		
Kilocalorías	Baja (<2319 kcal)	3,29	3,22-3,35	3,33	3,25-3,41	0,835	N/S
	Alta (≥2319 kcal)	3,31	3,23-3,38	3,34	3,27-3,41		
Carbohidratos							
%	Baja (<45%)	3,28	3,21-3,35	3,33	3,26-3,40	0,611	N/S
	Alta (≥45%)	3,29	3,23-3,35	3,31	3,23-3,31		
g/d	Baja (<265 g/d)	3,29	3,22-3,37	3,31	3,23-3,38	0,828	N/S
	Alta (≥265 g/d)	3,29	3,22-3,35	3,29	3,19-3,38		
Azúcares totales							
%	Baja (<15,9%)	3,28	3,21-3,35	3,33	3,26-3,41	0,843	N/S
	Alta (≥15,9%)	3,31	3,24-3,39	3,35	3,26-3,44		
g/d	Baja (<85,7 g/d)	3,30	3,23-3,36	3,31	3,21-3,41	0,650	N/S
	Alta (≥85,7 g/d)	3,28	3,18-3,37	3,32	3,23-3,41		
Azúcares libres							
%	Baja (<7,9%)	3,30	3,23-3,37	3,35	3,27-3,42	0,898	N/S
	Alta (≥7,9%)	3,29	3,22-3,37	3,33	3,25-3,42		
g/d	Baja (<44,2 g/d)	3,31	3,25-3,38	3,34	3,28-3,41	0,292	N/S
	Alta (≥44,2 g/d)	3,31	3,24-3,37	3,27	3,18-3,36		
Proteínas							
%	Baja (<17,1%)	3,27	3,20-3,35	3,34	3,27-3,42	0,747	N/S
	Alta (≥17,1%)	3,31	3,24-3,37	3,35	3,27-3,44		
g/d	Baja (<97,2 g/d)	3,29	3,21-3,36	3,34	3,27-3,41	0,532	N/S
	Alta (≥97,2 g/d)	3,29	3,23-3,36	3,30	3,20-3,40		
Grasas totales							
%	Baja (<39,3%)	3,28	3,21-3,35	3,30	3,22-3,37	0,516	N/S
	Alta (≥39,3%)	3,34	3,36-3,43	3,32	3,24-3,39		
g/d	Baja (<101g/d)	3,30	3,24-3,37	3,36	3,27-3,45	0,880	N/S
	Alta (≥101g/d)	3,27	3,19-3,34	3,31	3,24-3,39		
AGS							
%	Baja (<13,3%)	3,29	3,22-3,36	3,34	3,26-3,43	0,810	N/S
	Alta (≥13,3%)	3,29	3,22-3,36	3,33	3,26-3,41		
g/d	Baja (<33,1 g/d)	3,31	3,24-3,38	3,35	3,26-3,45	0,817	N/S
	Alta (≥33,1 g/d)	3,28	3,20-3,36	3,31	3,23-3,39		
AGMI							
%	Baja (<9,9%)	3,31	3,25-3,38	3,35	3,28-3,43	0,821	N/S
	Alta (≥9,9%)	3,27	3,20-3,34	3,33	3,25-3,40		
g/d	Baja (<33,6 g/d)	3,31	3,24-3,38	3,33	3,25-3,41	0,439	N/S
	Alta (≥33,6 g/d)	3,27	3,20-3,34	3,34	3,27-3,41		
AGPI							
%	Baja (<5,7%)	3,29	3,22-3,36	3,34	3,25-3,42	0,911	N/S
	Alta (≥5,7%)	3,27	3,20-3,35	3,31	3,23-3,39		
g/d	Baja (<19,1g/d)	3,29	3,22-3,35	3,34	3,25-3,42	0,419	N/S
	Alta (≥189,1 g/d)	3,33	3,26-3,41	3,33	3,25-3,40		
Colesterol (g/d)	Baja (<398 mg/d)	3,29	3,23-3,35	3,38	3,31-3,46	0,038	N/S
	Alta (≥398 mg/d)	3,32	3,23-3,41	3,27	3,18-3,36		
Fibra (g/d)	Baja (<26,2 g/d)	3,32	3,25-3,40	3,31	3,24-3,39	0,313	N/S
	Alta (≥26,2 g/d)	3,30	3,22-3,37	3,36	3,27-3,45		

8. Discusión

El presente trabajo es el primero, al menos desde nuestro conocimiento, en establecer la frecuencia alélica del SNP rs1801260 en el gen CLOCK en una población urbana argentina, corroborando que la misma es similar a la frecuencia global, americana y europea de este SNP descrita en el proyecto 1000 genomas (Sudmant et al., 2015).

Con respecto a la asociación entre el genotipo en rs1801260 y variables fenotípicas asociadas a obesidad, tales como el IMC, el porcentaje de masa grasa, o el cronotipo vespertino, no se han podido replicar hallazgos previos que asociaron al alelo de riesgo C con un mayor IMC, perímetro de cintura y una mayor prevalencia de obesidad (Rahati et al., 2021; Garaulet et al., 2011). Sin embargo, se ha encontrado una tendencia al límite de la significancia estadística en el porcentaje de masa muscular, siendo la misma menor para los portadores del alelo de riesgo C. En este sentido, es interesante destacar la existencia de evidencia que ha establecido un fuerte vínculo entre los relojes moleculares y la estructura y función del músculo esquelético. Mas específicamente, hallazgos previos en estudios preclínicos han documentado que las mutaciones tanto en el gen Bmal como en CLOCK se vinculan tanto a la pérdida de fuerza como también a alteraciones en la arquitectura de la miofibrilla y en el número de mitocondrias musculares (Aoyama & Shibata, 2017). El mecanismo propuesto detrás de estas afecciones sería la alteración en la expresión de la proteína 1 de diferenciación miogénica (Myod), un factor de transcripción perteneciente a la familia de los factores reguladores miogénicos, que modula la miogénesis y la reparación del tejido muscular, además de inducir la transformación de las células satélites en células de linaje muscular maduras (Fernández-Lázaro et al., 2022). Myod guarda ritmicidad circadiana y está regulado por los factores de transcripción CLOCK y Bmal, lo que explicaría por que las alteraciones en los genes reloj se han vinculado tanto a la pérdida de ritmicidad circadiana en Myod como a los déficits funcionales, estructurales y disminución de la densidad mitocondrial en el tejido muscular (Andrews et al., 2010). Seguir explorando como los genes reloj regulan a Myod es fundamental siendo que la alteración de la expresión de esta última se vincularía a condiciones como la distrofia muscular (Amack et al., 2002), la sarcopenia y la pérdida de masa muscular asociada con la edad (Fernández-Lázaro et al., 2022).

Por otro lado, se encontró que el genotipo en rs1801260 en el gen CLOCK se asocia con determinadas preferencias alimentarias, siendo que los portadores del alelo de riesgo C tuvieron una mayor ingesta calórica y de carbohidratos y un menor consumo de proteínas en relación a los homocigotas TT, consistente con un menor consumo del grupo “carnes y huevos”. Si bien la mayor ingesta energética y de carbohidratos ha sido reportada previamente para los portadores del alelo de riesgo (Rahati et al., 2021), la menor ingesta de proteínas es un hallazgo novedoso.

Adicionalmente, los resultados obtenidos permitieron describir diversas interacciones entre la ingesta de nutrientes y el genotipo sobre el IMC y otros desenlaces antropométricos. Al respecto, una de las interacciones observadas fue que los portadores de la variante de riesgo tenían un mayor IMC y mayores niveles de grasa visceral a mayor consumo de alcohol. Si bien, al menos desde nuestro conocimiento, no existen antecedentes en estudios con humanos sobre esta interacción, sí existen antecedentes preclínicos que señalan que ratones con alteraciones en el gen CLOCK, en comparación a los ratones control, desarrollan un mayor peso hepático, esteatosis hepática y una mayor permeabilidad intestinal con el consumo de alcohol (Bailey, 2018; Kudo et al., 2009; Summa et al., 2013). Llamativamente la relación entre el consumo de alcohol y las alteraciones de los genes reloj parece ser de tipo bidireccional. Más allá de las interacciones gen*alcohol antes descritas y de que además existen antecedentes que vinculan a ciertos SNPs de los genes reloj a una mayor predisposición al consumo de bebidas alcohólicas (Udoh et al., 2015), el consumo de alcohol podría afectar el funcionamiento de los relojes biológicos. Más específicamente, el consumo de alcohol afectaría el equilibrio redox (NAD⁺/NADH) impactando negativamente sobre el heterodímero CLOCK-BMAL 1 y consecuentemente sobre la expresión de los genes reloj en el tejido hepático, promoviendo cronodisrupción al desincronización la ritmicidad del SNQ y los relojes periféricos hepáticos (Bailey, 2018; Udoh et al., 2015).

Otra de las interacciones observadas fue la de los portadores del alelo de riesgo del gen CLOCK rs18012160 con el consumo de colesterol, donde a mayor consumo de colesterol se observaba un menor IMC, posiblemente vinculado a que los portadores de la variante de

riesgo también demostraron un menor IMC a mayor consumo de huevo. Consideramos a este hallazgo como el más controvertido de nuestro estudio, siendo que no existen antecedentes ni mecanismos fisiológicos que expliquen esta interacción por lo que creemos que será importante, si estos resultados se replican en futuros estudios, la construcción y puesta a prueba de hipótesis que potencialmente expliquen esta relación.

Por último, vale destacar que no se observaron algunas de las preferencias alimentarias e interacciones gen*nutriente documentadas anteriormente para este SNP. En lo que refiere a preferencias alimentarias, no se detectó la tendencia a un mayor consumo de grasas en los portadores del alelo de riesgo descrita recientemente por Rahati et al. En cuanto a las interacciones gen*nutriente, se han descrito una serie de interacciones de este SNP con el consumo de grasas que no fueron observadas en nuestro estudio. Garaulet et al, por ejemplo, determinaron que un consumo de grasas saturadas superior al 11,8% respecto a la ingesta energética total se asociaba a un mayor perímetro de cintura en los portadores del alelo de riesgo y no así en los portadores del alelo mayoritario (Garaulet et al., 2009). Posteriormente, otro estudio español indicó que una dieta baja en grasas interactuaba con los portadores del alelo de riesgo asociándose a mejoras en los niveles de insulina, índice HOMA y en la sensibilidad a la insulina (García-Ríos et al., 2014). Finalmente, un estudio reciente determinó que una dieta alta en grasa interactuaba con los portadores del alelo de riesgo asociándose a una mayor ingesta energética (Rahati et al., 2021).

Consideramos que las diferencias observadas entre nuestro estudio probablemente estén influenciadas por el tamaño de la muestra y la menor potencia estadística, así también como a las diferencias étnicas y a las diferentes condiciones de salud con las poblaciones analizadas en trabajos anteriores.

9. Conclusiones

La frecuencia alélica observada en una muestra de la ciudad de La Plata, Argentina, en el SNP rs 1801260 del gen CLOCK es similar a la a la frecuencia global de este SNP descripta por el proyecto 1000 genomas ($p=0,96$). No se observaron diferencias significativas en las variables de composición corporal analizadas entre los portadores del alelo T y los portadores del alelo C. Tampoco se encontraron diferencias en lo que respecta a los niveles de actividad física, cronotipo, horas de descanso y adecuación del descanso. En lo que refiere al análisis de la ingesta, en comparación a los portadores del alelo T, se observó una menor ingesta de proteínas en los sujetos portadores del alelo C. Además de determino que los individuos con genotipo TC tenían una ingesta energética significativamente más alta que aquello con genotipo TT.

Respecto al consumo de grupos de alimentos se observó que los sujetos portadores del alelo de riesgo, tenían un consumo significativamente más bajo en el grupo carnes y huevo en comparación a los portadores T. Además se observó que los portadores del alelo C tenían un menor IMC a mayor consumo de huevos como también de comidas elaboradas como de cereales de desayuno, mientras que su IMC aumentaba con un mayor consumo de bebidas alcohólicas. Se observó además una interacción en los portadores de la variante de riesgo donde a mayor consumo de alcohol mayor eran los niveles de grasa visceral

Por último se detectó una interacción entre los portadores del alelo C y el consumo de colesterol, siendo que el mayor consumo de este nutriente se asocia a un menor IMC.

El conocimiento de estos resultados permitiría un abordaje mucho más personalizado del paciente portador de las variables de riesgo para este gen, colaborando de esta manera con la elaboración de modelos de prevención y/o tratamientos más efectivos, no obstante esto, el pequeño tamaño de la muestra nos invita por un lado a ser precavidos respecto a la validez externa que puedan tener estos resultados, y por otro lado a continuar explorando con estudios de mayor magnitud las posibles asociaciones de este SNP con variables metabólicas de interés, patrones de descanso y actividad física así también con las posibles interacciones con diferentes variables de la alimentación, a fin de generar aportes que permitan la confección abordajes más efectivos en materia de prevención y tratamiento de enfermedades crónicas no transmisibles y otras afecciones.

10. Bibliografía

1. Al Khatib, H. K., Harding, S. V., Darzi, J., & Pot, G. K. (2017). The effects of partial sleep deprivation on energy balance: A systematic review and meta-analysis. In *European Journal of Clinical Nutrition* (Vol. 71, Issue 5, pp. 614–624). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2016.201>
2. Amack, J. D., Reagan, S. R., & Mahadevan, M. S. (2002). Mutant DMPK 3'-UTR transcripts disrupt C2C12 myogenic differentiation by compromising MyoD. *Journal of Cell Biology*, 159(3), 419–429. <https://doi.org/10.1083/jcb.200206020>
3. Andrews, J. L., Zhang, X., McCarthy, J. J., McDearmon, E. L., Hornberger, T. A., Russell, B., Campbell, K. S., Arbogast, S., Reid, M. B., Walker, J. R., Hogenesch, J. B., Takahashi, J. S., & Esser, K. A. (2010). CLOCK and BMAL1 regulate MyoD and are necessary for maintenance of skeletal muscle phenotype and function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(44), 19090–19095. <https://doi.org/10.1073/pnas.1014523107>
4. Aoyama, S., & Shibata, S. (2017). The role of circadian rhythms in muscular and osseous physiology and their regulation by nutrition and exercise. In *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 11, Issue FEB). Frontiers Research Foundation. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00063>
5. Ashmore J A, Friedman K. E, Reichmann S. K, Musante G. J (2007). Weight-based stigmatization, psychological distress, & binge eating behavior among obese treatment-seeking adults. *Eating Behaviours*, 9 (2), 203-209. <https://doi.org/10.1016/j.eatbeh.2007.09.006>
6. Azizzadeh-Roodpish, S., Garzon, M. H., & Mainali, S. (2021). Classifying single nucleotide polymorphisms in humans. *Molecular Genetics and Genomics*, 296(5), 1161–1173. <https://doi.org/10.1007/s00438-021-01805-x>
7. Bandín C, Martínez-Nicolas, A, OrdovásJ. M, Ros Lucas J. A, Castell, P, Silvente T, Garaulet, M. (2013). Differences in circadian rhythmicity in CLOCK 3111T/C genetic variants in moderate obese women as assessed by thermometry, actimetry and body

- position. *International Journal of Obesity*, 37(8), 1044–1050. <https://doi.org/10.1038/ijo.2012.180>
8. Barata Cavalcanti, O., Barquera, S., Baur, L., Busch, V., Buse, K., Dietz, B., French, A., Jackson Leach, R., van Opzeeland, B., Powis, J., Ralston, J., Roberts, K., Rudolf, M., Swinburn, B., Trayner, R., & Wilding, J. (2022). *Compiled by Tim Lobstein, Hannah Brinsden and Margot Neveux, with input and review from Acknowledgments*. www.worldobesity.org/worldobesityatlas
 9. Barclay, J. L., Tsang, A. H., & Oster, H. (2012). *Interaction of central and peripheral clocks in physiological regulation*. *Progress in Brain Research* (1st ed., Vol. 199). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59427-3.00030-7>
 10. Bass, J., & Lazar, M. A. (2016). Transformed More Than 14 Years Later with Positional Cloning of Core Clock Genes and Recognition. *Science*, 354(6315). <https://doi.org/10.1126/science.aah4965>
 11. Benedetti, F., Dallaspezia, S., Fulgosi, M. C., Lorenzi, C., Serretti, A., Barbini, B., Smeraldi, E. (2007). Actimetric evidence that CLOCK 3111 T/C SNP influences sleep and activity patterns in patients affected by bipolar depression. *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 144(5), 631–635. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30475>
 12. Blüher, M. (2019). Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(5), 288–298. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>
 13. Bray, G. A., Frühbeck, G., Ryan, D. H., & Wilding, J. P. H. (2016). *Management of obesity*. 1947–1956. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00271-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00271-3)
 14. Buxton, O. M., Pavlova, M., Reid, E. W., Wang, W., Simonson, D. C., & Adler, G. K. (2010). Sleep restriction for 1 week reduces insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes*, 59(9), 2126–2133. <https://doi.org/10.2337/db09-0699>
 15. Carr D, Friedman, M. A. (2005). *Is Obesity Stigmatizing? Body Weight, Perceived Discrimination, and Psychological Well-Being in the United States*. *Journal of Health and Social Behavior* 2005, 46 (3):244–259. <https://doi.org/10.1177/002214650504600303>

16. Chen, X., Beydoun, M. A., & Wang, Y. (2008). Is sleep duration associated with childhood obesity? A systematic review and meta-analysis. *Obesity*, *16*(2), 265–274. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.63>
17. Corella, D., & Ordovás, J. M. A. (2018). The role of omics in precision nutrition: Strengths and weaknesses. *Nutricion Hospitalaria*, *35*(4), 10–18. <https://doi.org/10.20960/nh.2119>
18. Dashti, H. S., Follis, J. L., Smith, C. E., Tanaka, T., Garaulet, M., Gottlieb, D. J., Hruby, A., Jacques, P. F., Kiefte-De Jong, J. C., Lamon-Fava, S., Scheer, F. A. J. L., Bartz, T. M., Kovanen, L., Wojczynski, M. K., Frazier-Wood, A. C., Ahluwalia, T. S., Perälä, M. M., Jonsson, A., Muka, T., ... Ordovás, J. M. (2015). Gene-environment interactions of circadian-related genes for cardiometabolic traits. *Diabetes Care*, *38*(8), 1456–1466. <https://doi.org/10.2337/dc14-2709>
19. di Angelantonio, E., Bhupathiraju, S. N., Wormser, D., Gao, P., Kaptoge, S., de Gonzalez, A. B., Cairns, B. J., Huxley, R., Jackson, C. L., Joshy, G., Lewington, S., Manson, J. A. E., Murphy, N., Patel, A. v., Samet, J. M., Woodward, M., Zheng, W., Zhou, M., Bansal, N., ... Hu, F. B. (2016). Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *The Lancet*, *388*(10046), 776–786. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30175-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30175-1)
20. Dimitrova, N., Zamudio, J. R., Jong, R. M., Soukup, D., Resnick, R., Sarma, K., Jacks, T. (2017). Public Access NIH Public Access. *PLoS ONE*, *32*(7), 736–740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178059>
21. Domínguez-Solís, C. A., & Pérez-León, J. A. (2015). Mecanismo de fototraducción de la melanopsina en las células ganglionares retinianas intrínsecamente fotosensibles (lpRGC). *Gaceta Médica de Mexico*, *151*(6), 764–776.
22. Fernández-Lázaro, D., Garrosa, E., Seco-Calvo, J., & Garrosa, M. (2022). Potential Satellite Cell-Linked Biomarkers in Aging Skeletal Muscle Tissue: Proteomics and Proteogenomics to Monitor Sarcopenia. In *Proteomes* (Vol. 10, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/proteomes10030029>

23. Flanagan, A., Bechtold, D. A., Pot, G. K., & Johnston, J. D. (2021). Chrono-nutrition: From molecular and neuronal mechanisms to human epidemiology and timed feeding patterns. In *Journal of Neurochemistry* (Vol. 157, Issue 1, pp. 53–72). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jnc.15246>
24. Froy, O., & Garaulet, M. (2018). The circadian clock in white and brown adipose tissue: Mechanistic, endocrine, and clinical aspects. *Endocrine Reviews*, 39(3), 261–273. <https://doi.org/10.1210/er.2017-00193>
25. Gallagher D, Heymsfield S. B, Heo M, Jebb S. A, Murgatroyd P. R, Sakamoto. (2000) Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(3):694-701. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.3.694>
26. Gangwisch, J. E. (2009). *Epidemiological evidence for the links between sleep, circadian rhythms and metabolism*. 10(1), 37–45. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2009.00663.x>
27. Garaulet M. (2015). La cronobiología, la alimentación y la salud. *Mediterraneo económico*,27,101-122. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5252989>
28. Garaulet, M., Canteras, M., Morales, E., López-Guimera, G., Sánchez-Carracedo, D., & Corbalán-Tutau, M. D. (2012). Validación de un cuestionario de comedores emocionales para uso en casos de obesidad; cuestionario de comedor emocional (CCE). *Nutricion Hospitalaria*, 27(2), 645–651. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.2.5659>
29. Garaulet, M., Hernández-Morante, J. J., De Heredia, F. P., & Tébar, F. J. (2007). Adiponectin, the controversial hormone. *Public Health Nutrition*, 10(10 A), 1145–1150. <https://doi.org/10.1017/S1368980007000638>
30. Garaulet, M., Lee, Y. C., Shen, J., Parnell, L. D., Arnett, D. K., Tsai, M. Y., Ordovas, J. M. (2009). CLOCK genetic variation and metabolic syndrome risk: Modulation by monounsaturated fatty acids. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(6), 1466–1475. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27536>

31. Garaulet, M., Ordovás, J. M. (2013). Chronobiology and obesity. *Chronobiology and Obesity*, 28, 1–187. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5082-5>
32. Garaulet, M., Ordovás, J. M., & Madrid, J. A. (2010) The chronobiology, etiology and pathophysiology of obesity. *Int J Obes (Lond)*.34(12): 1667–1683. <https://doi.org/10.1038%2Fijo.2010.118>
33. Garaulet, M., Sánchez-Moreno, C., Smith, C. E., Lee, Y. C., Nicolás, F., & Ordovás, J. M. (2011). Ghrelin, sleep reduction and evening preference: Relationships to clock 3111 T/C SNP and weight loss. *PLoS ONE*, 6(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017435>
34. García-Ríos, A., Gomez-Delgado, F. J., Garaulet, M., Alcalá-Díaz, J. F., Delgado-Lista, F. J., Marin, C., Rangel-Zuñiga, O. A., Rodríguez-Cantalejo, F., Gomez-Luna, P., Ordovas, J. M., Perez-Jimenez, F., López-Miranda, J., & Pérez-Martinez, P. (2014). Beneficial effect of CLOCK gene polymorphism rs1801260 in combination with low-fat diet on insulin metabolism in the patients with metabolic syndrome. *Chronobiology International*, 31(3), 401–408. <https://doi.org/10.3109/07420528.2013.864300>
35. Greer, S. M., Goldstein, A. N., & Walker, M. P. (2013). The impact of sleep deprivation on food desire in the human brain. *Nature Communications*, 4. <https://doi.org/10.1038/ncomms3259>
36. Gómez-Abellán, P., Hernández-Morante, J. J., Luján, J. A., Madrid, J. A., & Garaulet, M. (2008). Clock genes are implicated in the human metabolic syndrome. *International Journal of Obesity*, 32(1), 121–128. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803689>
37. Gómez-Abellán, P., Madrid, J. A., Ordovás, J. M., & Garaulet, M. (2012). Aspectos cronobiológicos de la obesidad y el síndrome metabólico. *Endocrinología y Nutrición*, 59(1), 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2011.08.002>
38. Hall, K. D., Farooqi, I. S., Friedman, J. M., Klein, S., Loos, R. J. F., Mangelsdorf, D. J., O’rahilly, S., Ravussin, E., Redman, L. M., Ryan, D. H., Speakman, J. R., & Tobias, D. K. (2022). *The Energy Balance Model of Obesity: Beyond Calories In, Calories Out*. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac031/6522166>

39. Hall K. D, Guyenet S. J, Leibel R. L: The Carbohydrate-Insulin Model of Obesity Is Difficult to Reconcile with Current Evidence. *JAMA Intern Med.* 2018;178(8):1103-1105. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2018.2920>
40. Hashimoto, Y., Hamaguchi, M., Tanaka, M., Obora, A., Kojima, T., & Fukui, M. (2018). Metabolically healthy obesity without fatty liver and risk of incident type 2 diabetes: A meta-analysis of prospective cohort studies. In *Obesity Research and Clinical Practice* (Vol. 12, Issue 1, pp. 4–15). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2017.12.003>
41. Hinney, A., Vogel, C. I. G., & Hebebrand, J. (2010). From monogenic to polygenic obesity: Recent advances. *European Child and Adolescent Psychiatry*, 19(3), 297–310. <https://doi.org/10.1007/s00787-010-0096-6>
42. Horne, J. A., & Ostberg, O: A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms (1976). *International Journal of Chronobiology*.
43. Itani, O., Jike, M., Watanabe, N., & Kaneita, Y. (2017). Short sleep duration and health outcomes: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Sleep Medicine*, 32, 246–256. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2016.08.006>
44. Jordan S. D. & Lamia K. A. (2013). AMPK at the crossroads of circadian clocks and metabolism. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 366(2): 163–169. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.06.017>
45. Jurado Luque, M. (2016). Revista de Neurología Sueño saludable: evidencias y guías de actuación. Documento oficial de la Sociedad Española de Sueño. *REV NEUROL*, 63(2), 1–27. www.neurologia.com
46. Kim, D. M., Yoon, S. J., Ahn, C. W., Cha, B. S., Lim, S. K., Kim, K. R., Huh, K. B. (2004). Sibutramine improves fat distribution and insulin resistance and increases serum adiponectin levels in Korean obese nondiabetic premenopausal women. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 66(SUPPL.), 101–122. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2003.12.008>

47. Landgraf, D., Shostak, A., & Oster, H. (2012). Clock genes and sleep. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, 463(1), 3–14. <https://doi.org/10.1007/s00424-011-1003-9>
48. Locke, A. E., Kahali, B., Berndt, S. I., Justice, A. E., Pers, T. H., Day, F. R., Powell, C., Vedantam, S., Buchkovich, M. L., Yang, J., Croteau-Chonka, D. C., Esko, T., Fall, T., Ferreira, T., Gustafsson, S., Kutalik, Z., Luan, J., Mägi, R., Randall, J. C., ... Econs, M. J. (2015). Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature*, 518(7538), 197–206. <https://doi.org/10.1038/nature14177>
49. López-Guimerà, G., Dashti, H. S., Smith, C. E., Sánchez-Carracedo, D., Ordovas, J. M., & Garaulet, M. (2014). CLOCK 3111 T/C SNP interacts with emotional eating behavior for weight-loss in a mediterranean population. *PLoS ONE*, 9(6), 20–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099152>
50. Lopez-Minguez, J., Gómez-Abellán, P., & Garaulet, M. (2016). Circadian rhythms, food timing and obesity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(4), 501–511. <https://doi.org/10.1017/S0029665116000628>
51. Loros, J. J., & Dunlap, J. C. (1991). Neurospora crassa clock-controlled genes are regulated at the level of transcription. *Molecular and Cellular Biology*, 11(1), 558–563. <https://doi.org/10.1128/mcb.11.1.558>
52. Lucassen, E. A., Zhao, X., Rother, K. I., Mattingly, M. S., Courville, A. B., de Jonge, L., Cizza, G. (2013). Evening Chronotype Is Associated with Changes in Eating Behavior, More Sleep Apnea, and Increased Stress Hormones in Short Sleeping Obese Individuals. *PLoS ONE*, 8(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056519>
53. Magee, C. A., Huang, X. F., Iverson, D. C., & Caputi, P. (2009). Acute sleep restriction alters neuroendocrine hormones and appetite in healthy male adults. *Sleep and Biological Rhythms*, 7(2), 125–127. <https://doi.org/10.1111/j.1479-8425.2009.00396.x>

54. Marsh, D. R., Criswell, D. S., Carson, J. A., & Booth, F. W. (1997). Myogenic regulatory factors during regeneration of skeletal muscle in young, adult, and old rats. In *J. Appl. Physiol* (Vol. 83, Issue 4). <http://www.jap.org>
55. Mendoza, J., Pévet, P., & Challet, E. (2008). High-fat feeding alters the clock synchronization to light. *Journal of Physiology*, 586(24), 5901–5910. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.159566>
56. Ministerio de Salud y Desarrollo Social (2018). Cuarta Encuesta Nacional de Factores de Riesgo, principales resultados. http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000001444cnt-2019-04_4ta-encuesta-nacional-factores-riesgo.pdf
57. Ministerio de Salud y Desarrollo Social (2018). Sobrepeso y obesidad en niños, niñas y adolescentes según datos del primer nivel de atención en la Argentina. https://bancos.salud.gov.ar/sites/default/files/2020-01/4ta-encuesta-nacional-factores-riesgo_2019_principales-resultados.pdf
58. Monteleone, P., Tortorella, A., Docimo, L., Maldonato, M. N., Canestrelli, B., De Luca, L., & Maj, M. (2008). Investigation of 3111T/C polymorphism of the CLOCK gene in obese individuals with or without binge eating disorder: Association with higher body mass index. *Neuroscience Letters*, 435(1), 30–33. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.02.003>
59. Moreira, O. C., Alonso-Aubin, D. A., De Oliveira, C. E. P., Candia-Luján, R., & De Paz, J. A. (2015). Métodos de evaluación de la composición corporal: Una revisión actualizada de descripción, aplicación, ventajas y desventajas. *Archivos de Medicina Del Deporte*, 32(6), 387–394.
60. Nedeltcheva, A. V, Kilkus, J. M., Imperial, J., Kasza, K., Schoeller, D. A., & Penev, P. D. (2009). *Sleep curtailment is accompanied by increased intake of calories from snacks 1–3*. 126–133. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26574.1>

61. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC): Proyecciones de obesidad y diabetes según país para el año 2025. <http://ncdrisc.org/country-profile.html>
62. Olmedo, L., Henning, M. F., García, S. M., & Pellon Maison, M. (2022). Validación de un cuestionario de frecuencia alimentaria para estimar la ingesta de azúcares libres y alimentos ultraprocesados en población argentina. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 26(2), 137–146. <https://doi.org/10.14306/renhyd.26.2.1565>
63. Opio, J., Croker, E., Odongo, G. S., Attia, J., Wynne, K., & McEvoy, M. (2020). Metabolically healthy overweight/obesity are associated with increased risk of cardiovascular disease in adults, even in the absence of metabolic risk factors: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. In *Obesity Reviews* (Vol. 21, Issue 12). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/obr.13127>
64. Ortiz-Tudela, E., Bonmati-Carrion, M. A., De la Fuente, M., & Mendiola, P. (2012). La cronodisrupción como causa de envejecimiento. In *Revista Espanola de Geriatria y Gerontologia* (Vol. 47, Issue 4, pp. 168–173). Ediciones Doyma, S.L. <https://doi.org/10.1016/j.regg.2011.09.013>
65. Organización Mundial de la Salud: Obesidad y sobrepeso (2018). <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
66. Patel S. R, Malhotra A, White D. P, Gottlieb D. J. & Hu F. B. (2006). Association between Reduced Sleep and Weight Gain in Women. *American Journal of Epidemiology*, 164(10): 947–954. <http://doi.org/10.1093/aje/kwj280>
67. Pilorz, V., Helfrich-Förster, C., & Oster, H. (2018). The role of the circadian clock system in physiology. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 470(2), 227–239. <https://doi.org/10.1007/s00424-017-2103-y>
68. Puhl, R. M., Latner, J. D., King, K. M., & Luedicke, J. (2014). *Weight Bias among Professionals Treating Eating Disorders: Attitudes about Treatment and Perceived Patient Outcomes*. 65–75. <https://doi.org/10.1002/eat.22186>
69. Qasim A, Turcotte M, de Souza R. J, Samaan M. C, Champredon D, Dushoff J, Speakman J. R. & Meyre D. (2017). On the origin of obesity: identifying the biological,

- environmental and cultural drivers of genetic risk among human populations. *Obesity reviews*, 19 (2), 121-149. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/obr.12625>
70. Rahati, S., Qorbani, M., Naghavi, A., Heidari Nia, M., & Pishva, H. (2021). *Association Between CLOCK 3111 T/C Polymorphism with Ghrelin, GLP-1, Food Timing, Sleep and Chronotype in Overweight and Obese Iranian Adults*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1092653/v1>
71. Reese, J. B., Bober, S. L., Daly, M. B., Program, C., Chase, F., Sciences, B., ... Neoplasms, B. (2018). HHS Public Access, 123(24), 4757–4763. <https://doi.org/10.1002/cncr.31084.Talking>
72. Romieu, I., Dossus, L., Barquera, S., Blottière, H. M., Franks, P. W., Gunter, M., Hwalla, N., Hursting, S. D., Leitzmann, M., Margetts, B., Nishida, C., Potischman, N., Seidell, J., Stepien, M., Wang, Y., Westerterp, K., Winichagoon, P., Wiseman, M., & Willett, W. C. (2017). Energy balance and obesity: what are the main drivers? *Cancer Causes and Control*, 28(3), 247–258. <https://doi.org/10.1007/s10552-017-0869-z>
73. Rubio, Ballesteros, Sanchez-Pernaute, & Torres (2015) *Manual de Obesidad Mórbida*. Ed. Panamericana.
74. Sánchez Muniz, F. J., Martín, C. S., & Sanchez Muniz, F. J. (2017). Mini Review *Curre Res Diabetes & Obes J Clock Genes, Chronodisruption, Nutrition and Obesity*, 3(2). <https://doi.org/10.19080/CRDOJ.2017.3.555607>
75. Schwartz, M. W., Seeley, R. J., Zeltser, L. M., Drewnowski, A., Ravussin, E., Redman, L. M., & Leibel, R. L. (2017). Obesity pathogenesis: An endocrine society scientific statement. *Endocrine Reviews*, 38(4), 267–296. <https://doi.org/10.1210/ER.2017-00111>
76. Scott, E. M., Carter, A. M., & Grant, P. J. (2008). Association between polymorphisms in the Clock gene, obesity and the metabolic syndrome in man. *International Journal of Obesity*, 32(4), 658–662. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803778>
77. Škrlec, I., Talapko, J., Džijan, S., Cesar, V., Lazić, N., & Lepeduš, H. (2022). The association between circadian clock gene polymorphisms and metabolic syndrome: A systematic

- review and meta-analysis. In *Biology* (Vol. 11, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biology11010020>
78. Škrlec, I., Talapko, J., Džijan, S., & Lepeduš, H. (2021). *The Association of Cardiovascular Disease with the T3111C Polymorphism in the CLOCK Gene*. 1. <https://doi.org/10.3390/iecmd2021-10314>
79. Sookoian S., Gemma C., Fernández T., Burgueño A., Castaño G., P. C. J. (2008). Genetic variants of Clock transcription factor are associated with individual susceptibility to obesity, Association between polymorphisms in the Clock gene, obesity and the metabolic syndrome in man. *International Journal of Obesity (2005)*, 87; 32(6; 4), 1606; 658. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803778>
80. Spiegel, K., Leproult, R., L'Hermite-Balériaux, M., Copinschi, G., Penev, P. D., & van Cauter, E. (2004). Leptin levels are dependent on sleep duration: Relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(11), 5762–5771. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-1003>
81. Spiegel, K., Tasali, E., Penev, P., & Cauter, E. van. (2004). *Brief Communication: Sleep Curtailment in Healthy Young Men Is Associated with Decreased Leptin Levels, Elevated Ghrelin Levels, and Increased Hunger and Appetite Background: Total sleep deprivation in rodents and in humans*. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-141-11-200412070-00008>
82. St-Onge, M. P., McReynolds, A., Trivedi, Z. B., Roberts, A. L., Sy, M., & Hirsch, J. (2012). Sleep restriction leads to increased activation of brain regions sensitive to food stimuli. *American Journal of Clinical Nutrition*, 95(4), 818–824. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.027383>
83. St-Onge, M. P., Roberts, A. L., Chen, J., Kelleman, M., O'Keefe, M., RoyChoudhury, A., & Jones, P. J. H. (2011). Short sleep duration increases energy intakes but does not change energy expenditure in normal-weight individuals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 94(2), 410–416. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.013904>

84. St-Onge, M. P., Wolfe, S., Sy, M., Shechter, A., & Hirsch, J. (2014). Sleep restriction increases the neuronal response to unhealthy food in normal-weight individuals. *International Journal of Obesity*, *38*(3), 411–416. <https://doi.org/10.1038/ijo.2013.114>
85. Sudmant, P. H., Rausch, T., Gardner, E. J., Handsaker, R. E., Abyzov, A., Huddleston, J., Zhang, Y., Ye, K., Jun, G., Fritz, M. H. Y., Konkkel, M. K., Malhotra, A., Stütz, A. M., Shi, X., Casale, F. P., Chen, J., Hormozdiari, F., Dayama, G., Chen, K., ... Korbel, J. O. (2015b). An integrated map of structural variation in 2,504 human genomes. *Nature*, *526*(7571), 75–81. <https://doi.org/10.1038/nature15394>
86. Taillard, J., Philip, P., Chastang, J. F., & Bioulac, B. (2004). Validation of Horne and Ostberg Morningness-Eveningness Questionnaire in a Middle-Aged Population of French Workers. *Journal of Biological Rhythms*, *19*(1), 76–86. <https://doi.org/10.1177/0748730403259849>
87. Tsang, A. H., Barclay, J. L., & Oster, H. (2013). Interactions between endocrine and circadian systems. *Journal of Molecular Endocrinology*, *52*(1). <https://doi.org/10.1530/JME-13-0118>
88. Turek, F. W., Joshu, C., Kohsaka, A., Lin, E., Ivanova, G., McDearmon, E., Laposky, A., Losee-Olson, S., Easton, A., Jensen, D. R., Eckel, R. H., Takahashi, J. S., & Bass, J. (2005). Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science*, *308*(5724), 1043–1045. <https://doi.org/10.1126/science.1108750>
89. Uemura, H., Katsuura-Kamano, S., Yamaguchi, M., Arisawa, K., Hamajima, N., Hishida, A., Kawai, S., Oze, I., Shinchi, K., Takashima, N., Suzuki, S., Nakahata, N., Mikami, H., Ohnaka, K., Kuriyama, N., Kubo, M., & Tanaka, H. (2016). Variant of the clock circadian regulator (CLOCK) gene and related haplotypes are associated with the prevalence of type 2 diabetes in the Japanese population. *Journal of Diabetes*, *8*(5), 667–676. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12344>
90. Valladares, M., Obregón, A. M., & Chaput, J. P. (2015). Association between genetic variants of the clock gene and obesity and sleep duration. *Journal of Physiology and Biochemistry*, *71*(4), 855–860. <https://doi.org/10.1007/s13105-015-0447-3>

91. Vgontzas, A. N., Zoumakis, E., Bixler, E. O., Lin, H. M., Follett, H., Kales, A., & Chrousos, G. P. (2004). Adverse Effects of Modest Sleep Restriction on Sleepiness, Performance, and Inflammatory Cytokines. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *89*(5), 2119–2126. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031562>
92. Vink, J. M., Groot, A. S., Kerkhof, G. A., & Boomsma, D. I. (2001). Genetic análisis of morningness and eveningness, *18*(5), 809–822. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1081/CBI-100107516>
93. Wharton, S., Lau, D. C. W., Vallis, M., Sharma, A. M., Biertho, L., Campbell-Scherer, D., Adamo, K., Alberga, A., Bell, R., Boulé, N., Boyling, E., Brown, J., Calam, B., Clarke, C., Crowshoe, L., Divalentino, D., Forhan, M., Freedhoff, Y., Gagner, M., ... Wicklum, S. (2020). Obesity in adults: A clinical practice guideline. *CMAJ*, *192*(31), E875–E891. <https://doi.org/10.1503/cmaj.191707>
94. Willet W. C, Howe G. R, Kushi L. H. (1997) Adjustment for total energy intake in emidemiologic studies. *American Jouranal of Clinical Nutrition*, *65*(4 Suppl):1220S-1228S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/65.4.1220s>
95. Zimberg, I. Z., Dâmaso, A., del Re, M., Carneiro, A. M., de Sá Souza, H., de Lira, F. S., Tufik, S., & de Mello, M. T. (2012). Short sleep duration and obesity: Mechanisms and future perspectives. In *Cell Biochemistry and Function* (Vol. 30, Issue 6, pp. 524–529). <https://doi.org/10.1002/cbf.2832>

11. Anexos y material adicional

11.1 Anexo 1 Encuesta inicial

ENCUESTA

ID participante:
Nombre y Apellido:
Fecha de nacimiento:
Estado civil:
Horas de sueño por día:
Genotipo FTO:
Tipo de comedor:
Cronotipo:
CLOCK:

DNI:
Celular:
E-mail:
Sexo:
Ocupación:
Nivel educativo:
DNA:
Genotipo

Antropometría:

Edad	
Talla	
Peso	
IMC	
% de masa grasa	
% masa muscular	
Metabolismo basal	
Nivel de grasa visceral	

Antecedentes clínicos:

-Personales:
hermano/a):

-Familiares (padre-madre-

	Si	No		Si	No
Hipertensión			Hipertensión		
Diabetes			Diabetes		
Dislipemia			Obesidad		
Enfermedad cardiovascular			Dislipemia		
Cáncer			Enfermedad cardiovascular		
Síndrome metabólico			Cáncer		

Nivel de Actividad Física:

	Sí	No	Tipo de actividad/frecuencia
Realiza actividad física en el trabajo			a) Ligera b) Moderada c) Pesada
En las horas de ocio camina			a) Menos de 20 min por día b) Más de 20 min por día
En las horas de ocio hace un ejercicio físico programado			Deporte/Tipo de ejercicio: _____ Cantidad de días en la semana: _____ Horas por día: _____

Consumo de Sustancias:

	Sí	No	
¿Fuma al menos un cigarrillo diario?			
¿Fuma ocasionalmente?			
¿Fumaba?			
¿Consume alguna otra sustancia de forma habitual?			¿Cuál? _____

MARCAR CON UNA X LAS OPCIONES QUE CORRESPONDAN:

Cantidad de aportantes en el hogar:

- 4 ó +
- 2 a 3
- 1

Ocupación del PRINCIPAL SOSTÉN DEL HOGAR	
Dueño o alta dirección de empresas(más de50 empleados)	
Dueño o alta dirección de empresas(6 a 50 empleados)	
Dueño o alta dirección de empresas (1 a 5 empleados)	
Profesional	
Técnico independiente o en relación de dependencia	
Comerciante sin personal, artesanos, encargados y supervisores	
Empleado sin jerarquía	
Supervisor	
Obrero calificado o especializado	
Trabajos autónomos u obreros no calificados	
Ocupación sin inserción en actividad económica genuina (changas)	
Pasivo e inactivo (jubilado)	
Desocupado	

Nivel educativo del PRINCIPAL SOSTEN DEL HOGAR:

- Universitario. Completo o postgrado
- Universitario Incompleto o Terciario o Secundario completo
- Secundario incompleto, primario completo o incompleto

Posesión de Bienes y Servicios:

- Conexión a internet en el hogar
- Computadora en el hogar
- Tarjeta de débito
- Cantidad de autos (de menos de 15 años de antigüedad)
 - 2 ó +
 - 1

Tipo de atención médica:

- Privada o con obra social o medicina prepaga
- Hospital público