



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
TRABAJO DE FIN DE GRADO

**IMPACTO DE LAS ALTERACIONES DEL RITMO
CIRCADIANO Y DEL NÚMERO DE HORAS EN
VIGILIA-SUEÑO SOBRE LAS HORMONAS Y EL
METABOLISMO: EFECTOS EN LA SALUD**

Autores: Laura Atienza Sánchez (DNI 51459351-W)
Rocío Celdrán Quecedo (DNI 50771241-Y)

Tutor: M^a Jesús Miró Obradors

Convocatoria: Junio de 2016

Índice

1. Resumen.....	3
2. Introducción y antecedentes.....	3
3. Objetivos.....	3
4. Metodología.....	4
5. Resultados y discusión.....	5
5.1 Ritmos circadianos.....	5
5.2 Hormonas implicadas en los ritmos circadianos	6
5.3 Regulación circadiana del metabolismo	10
5.4 Impacto del número de horas de sueño en metabolismo y hormonas	11
5.5 Perturbaciones del ciclo circadiano en la sociedad: el trabajo por turnos.....	14
5.6 Transcriptómica y metabolómica: implicaciones en la cronofarmacología	17
6. Conclusiones	18
7. Bibliografía.....	19

1. RESUMEN

Los ritmos circadianos son ritmos biológicos que se manifiestan con carácter periódico, de aproximadamente 24h de duración, y que tienen numerosas implicaciones a nivel metabólico y conductual. Diferentes estudios experimentales han tratado de elucidar los mecanismos fisiológicos y moleculares que tienen lugar durante el sueño, y de qué modo éstos influyen en los procesos hormonales y metabólicos. Los ritmos circadianos obedecen al denominado reloj interno (compuesto, a su vez, por un reloj central en el cerebro interrelacionado con los relojes periféricos en los tejidos) y también a señales ambientales, como la alternancia luz-oscuridad. La perturbación y desajuste del ciclo circadiano, habitualmente ocasionada por la falta de sueño o el trabajo por turnos, ha demostrado tener un impacto negativo sobre la salud. En esta revisión se discute el efecto de la disrupción circadiana sobre la secreción hormonal y el metabolismo, y de qué forma se traduce en un aumento de la incidencia de patologías de tipo metabólico y de cáncer en la población.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El sueño es un proceso fisiológico necesario para el normal funcionamiento del organismo. Gran cantidad de evidencia científica respalda que las alteraciones de los ciclos normales de sueño, tanto en la cantidad como en la calidad y período del mismo, tienen un impacto negativo sobre el metabolismo y la homeostasis, contribuyendo así al establecimiento de diferentes procesos patológicos, como la obesidad, la diabetes o el cáncer.

El estudio de los trastornos del sueño es un tema de plena actualidad, ya que la mayor parte de la población de las sociedades desarrolladas se ve sometida a factores susceptibles de modificar el ciclo sueño-vigilia, como son el trabajo por turnos y la constante exposición a la luz artificial. Numerosas investigaciones han obtenido importantes hallazgos sobre el modo en que estos ritmos circadianos actúan a nivel celular y fisiológico; otras han evaluado las repercusiones negativas de la perturbación de los ciclos circadianos sobre el metabolismo y la homeostasis. Finalmente, estudios recientes se cuestionan cómo la manipulación de estos ciclos circadianos puede utilizarse como herramienta terapéutica para actuar sobre determinadas patologías relacionadas con el reloj interno.

3. OBJETIVOS

1. Revisar el conocimiento actual sobre el funcionamiento y regulación de los ciclos circadianos y evaluar sus implicaciones sobre la secreción hormonal y el metabolismo.
2. Investigar los factores susceptibles de alterar los ciclos circadianos, en particular la restricción de sueño y la alteración de los ciclos de sueño-vigilia.

3. Evaluar la influencia de estas perturbaciones sobre la salud, hallando vínculos entre disrupción circadiana y estados patológicos.

4. METODOLOGÍA

Se ha llevado a cabo una revisión actualizada del material publicado referente a los ciclos circadianos y en relación a los objetivos planteados; a continuación, se han contrastado, sintetizado y organizado los datos, y posteriormente se han extraído conclusiones. El *modus operandi* ha sido:

1. Revisión, documentación e investigación bibliográfica.

1.1. Búsqueda, selección y lectura inicial de artículos científicos: Esta primera revisión bibliográfica se realizó empleando la base de datos de literatura científica PubMed del NCBI (National Center for Biotechnology Information) accesible online (www.ncbi.nlm.nih.gov). Las palabras clave utilizadas en el buscador fueron: "circadian rhythm", "sleep disorder", "sleep deprivation", "shift-work", etc.

Se seleccionaron aquellos artículos científicos que mejor describían la existencia de los ciclos circadianos y su regulación (con el descubrimiento de la existencia de los denominados "genes reloj", a priori responsables de la ritmicidad de diversos procesos fisiológicos), la relación entre sueño y metabolismo, sueño y secreción hormonal, etc.

Los criterios de selección fueron los siguientes: publicación reciente (dando prioridad a las revisiones más actualizadas), autoridad o renombre de la fuente (revistas científicas de reconocido prestigio, indexadas en el Journal Citation Report y con alto índice de impacto), cantidad de evidencias para respaldar los resultados, etc.

1.2. Búsqueda, selección y lectura sistemática de material sobre cuestiones concretas y problemas planteados durante la búsqueda inicial. Se recurrió a bases de datos de literatura científica en línea como la ya citada PubMed, y otras fuentes y sitios web como Medline, UpToDate, Google Scholar, Web of Knowledge, el catálogo online de la Biblioteca de la UCM, etc., y como resultado se recopiló un volumen importante de información. Siguiendo la metodología anterior, se seleccionaron las publicaciones de mayor interés y se clasificaron según su temática. Se realizó una lectura exhaustiva de la documentación disponible y se sintetizaron los hallazgos más importantes.

2. Estudio de los resultados obtenidos, organización y discusión de los mismos. Extracción de conclusiones con vistas al cumplimiento de los objetivos marcados en el trabajo.

3. Redacción del trabajo que en contenido y forma, dé respuesta al título planteado y cumpla con la normativa establecida para el Trabajo de Fin de Grado por la Facultad de Farmacia.

4. Redacción de la bibliografía, siguiendo el orden cronológico de aparición en el texto.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

1. Ritmos circadianos

Los ritmos circadianos (del latín “circa”: aproximadamente, y “dies”: día) son ritmos biológicos que transcurren con un periodo de repetición de aproximadamente 24 h, y garantizan que la fisiología interna está sincronizada con el ambiente externo. En los mamíferos, un gran número de procesos fisiológicos y conductuales muestran oscilaciones diarias. Estos procesos rítmicos están gobernados por señales ambientales (intensidad luminosa, temperatura, etc), un sistema circadiano interno, y las interacciones entre ambos.

El reloj biológico que genera y mantiene los ritmos circadianos tiene una arquitectura compleja, compuesta por un marcapasos central localizado en el cerebro y relojes periféricos distribuidos en las células de los distintos tejidos. El reloj central reside en el núcleo supraquiasmático (NSQ), un grupo heterogéneo de unas 20.000 neuronas ubicadas en el hipotálamo anterior.¹ En órganos periféricos, el ritmo de los procesos fisiológicos es controlado por señales sistémicas emanadas del NSQ (conexiones neuronales, hormonas y metabolitos), y también por mecanismos propios de los osciladores periféricos. De hecho, el sistema circadiano de los mamíferos está virtualmente compuesto por tantos relojes como células componen el organismo, ya que existen osciladores autónomos a nivel celular que actúan de forma independiente.

Los ritmos circadianos (RC) son susceptibles de ser modificados por señales externas (*zeitgebers*, que significa «temporizador», en alemán). La alternancia luz-oscuridad es el principal *zeitgeber* del reloj central ubicado en el NSQ:² la información luminosa es captada por los fotorreceptores de la retina y se transmite al sistema nervioso central a través del tracto retinohipotalámico.³ Se ha postulado que la melanopsina (un fotorpigmento especializado en captar la luz azul), desempeña un papel clave en la regulación del ciclo circadiano.⁴

La información del NSQ es entonces transmitida a través de señales neuronales (mediante el sistema nervioso autónomo) y humorales (por ej., los glucocorticoides)⁵ a los distintos tejidos periféricos, donde los relojes locales dirigen los procesos celulares de forma rítmica. Sin embargo, la luz no es el único factor externo que participa en el RC: factores tales como la conducta alimentaria, la temperatura corporal o el ejercicio también pueden servir como *zeitgebers* que pueden actuar sobre el reloj interno.⁶ Como resultado, la regulación circadiana en cualquier tejido es el dirigida por una combinación de señales locales y sistémicas; en circunstancias normales, las señales recibidas por el reloj central están en concordancia con aquellas derivadas del comportamiento, como los horarios de las comidas. La sincronización centro-periférica es un

medio para garantizar que los órganos y tejidos funcionen con la máxima eficacia (por ejemplo, para evitar ciclos metabólicos fútiles durante el período post-pandrial y el ayuno).

El siguiente esquema desarrollado por Dibner et al. (2010) introduce las vías por las cuales el reloj central del NSQ coordina a los relojes periféricos en el organismo (figura 1)⁷:

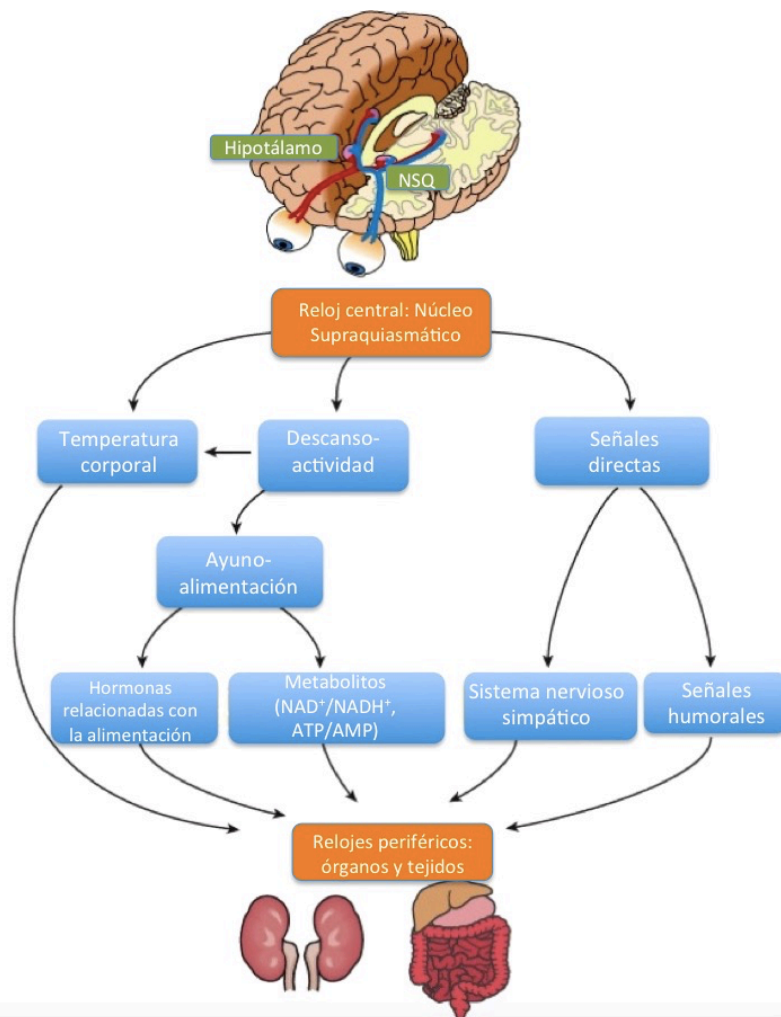


Figura 1: Vías de regulación de los relojes circadianos

Los ciclos de ayuno y alimentación parecen ser el *zeitgeber* dominante para varios órganos periféricos (incluyendo hígado, riñón, páncreas y corazón), de tal forma que los horarios de las comidas intervienen en la expresión de muchos genes circadianos en estos tejidos. Los mecanismos por los que la ingesta regula la expresión de los genes reloj incluyen la secreción hormonal (grelina, leptina, colecistoquinina, péptido YY), la acción de metabolitos alimentarios (glucosa, ácidos grasos), la elevación de temperatura pospandrial y el estado redox intracelular (ratio

NAD(P)H/NAD(P)⁺) que tienen lugar durante los ciclos ayuno-ingesta.⁸

A nivel celular, el RC se controla por la actividad transcripcional autorregulada de los denominados genes reloj (figura 2).⁹ A nivel molecular existen dos factores de transcripción, conocidos como CLOCK (*circadian locomotor output cycles caput*) y BMAL1 (*brain and muscle ARNT-like protein 1*), los cuales forman el heterodímero CLOCK/BMAL1 que regula la expresión de varios genes reloj. Los genes regulados por dicho complejo son principalmente los genes *Per1*, *2*, *3* (*period*) y *Cry1* y *2* (*cryptochrome*). CLOCK/BMAL1 activan la transcripción de PER y CRY, mientras que el heterodímero compuesto por las proteínas Per y Cry se transloca al núcleo para interactuar con el complejo CLOCK/BMAL1 inhibiendo su expresión por retroalimentación negativa. El heterodímero PER/CRY a su vez es degradado por fosforilación por la proteína

caseína kinasa 1 y así termina el ciclo de señalización circadiano. Por otro lado, el heterodímero CLOCK/BMAL1 también participa en un circuito regulatorio adicional activando la transcripción de *Rev-Erb α* (*reverse erythroblastosis virus α*) y *Ror α* (*retinoid-related orphan receptor α*). Estos genes a su vez compiten en la regulación de la expresión de *Bmal1* inhibiendo o activando su transcripción, respectivamente.¹⁰ La duración aproximada de este ciclo es de 24h.

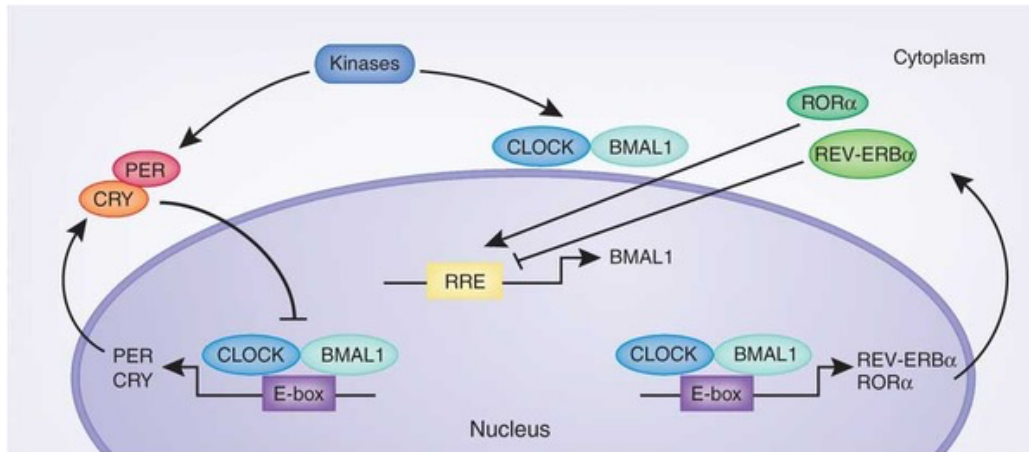


Figura 2: Mecanismo autorregulatorio de los genes reloj. Marsi et al (2010)⁹

Este mecanismo de regulación transcripcional existe en casi todas las células de los mamíferos, incluyendo corazón, hígado, páncreas, músculo y tejido adiposo blanco.¹

2. Hormonas implicadas en los ritmos circadianos

Los niveles de diversas hormonas sufren variaciones a lo largo del día, y su regulación está influenciada por los ciclos de luz/oscuridad y otros factores relativos al comportamiento, como el ejercicio o la alimentación. Se ha demostrado que los niveles de varias hormonas, como la hormona del crecimiento, el cortisol, la leptina y la grelina, entre otras, fluctúan de forma rítmica en un período de 24h.

La **melatonina** juega un papel fundamental, al ser a la vez mensajera y reguladora del NSQ.¹¹ Esta hormona se sintetiza de forma circadiana a partir del triptófano en la glándula pineal como resultado de la llegada de información nerviosa desde el NSQ, e inmediatamente se secreta a sangre.¹² Los niveles de melatonina circulante se consideran un indicador del ritmo circadiano,¹³ puesto que esta hormona confiere un efecto cronobiótico (capaz de ajustar los ritmos biológicos) y juega un papel esencial en la regulación del sueño. Su valor más elevado se alcanza durante la noche, en la oscuridad, ya que la luz disminuye su secreción.¹⁴

Además de su papel en la inducción y mantenimiento del sueño, la melatonina puede actuar en tejidos periféricos, influyendo en la regulación de otras hormonas y rutas metabólicas. Se ha señalado una correlación entre la administración de melatonina exógena y una disminución en la secreción de **insulina**, acoplada a un aumento en la secreción de **glucagon**,¹⁵ y otros

investigadores han indagado en la relación entre la secreción de melatonina y el metabolismo de la glucosa.

Un estudio realizado por AlBreiki (2016) evaluó la influencia de la luz intensa y de la alimentación nocturna sobre la secreción de melatonina y la respuesta a la glucosa. El resultado fue que la luz brillante no sólo reduce los niveles salivales de melatonina de forma significativa, sino que también aumenta los niveles de glucosa e insulina postprandial significativamente en comparación con la luz tenue (figura 3).

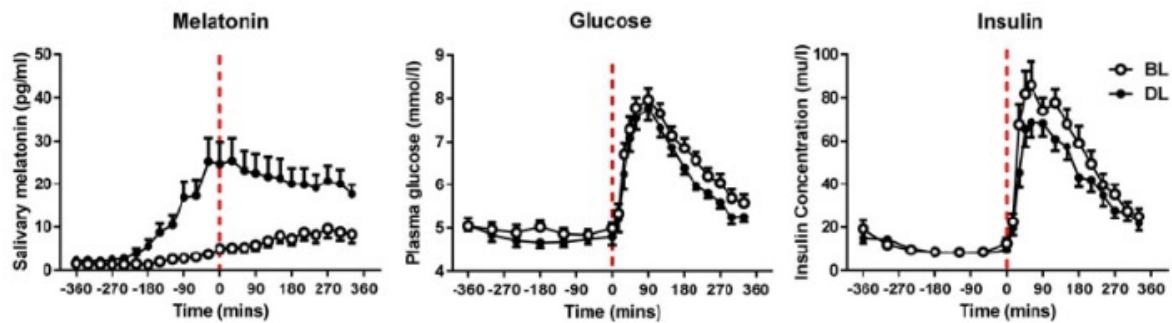


Figura 3: Efecto de la intensidad de la luz en los niveles de melatonina y la respuesta a la glucosa en 8 mujeres y 9 varones de peso normal normoglicémicos frente a una comida estandarizada consumida por la noche (AlBreiki, 2016). Leyenda: BL=Bright Light (luz intensa) y DL=Dim Light (luz tenue).

En condiciones normales, la respuesta a la administración de glucosa varía a lo largo del día. Tras la administración exógena de una misma cantidad de glucosa, se observan glucemias más elevadas por la tarde que por la mañana, de tal forma que la capacidad de utilización de glucosa se encuentra en su mínimo en medio de la noche.¹⁷ La menor “tolerancia” a la glucosa durante la noche se debe, al menos en parte, a una marcada disminución de la sensibilidad a la insulina que no va acompañada con una adecuada respuesta de las células beta pancreáticas, resultado en un elevado riesgo de diabetes.¹⁸

Existe además evidencia de que las distintas fases del sueño están relacionadas con la diferente utilización de la glucosa.¹⁹ Durante el sueño SWS (*slow-wave sleep*, sueño de ondas lentas), predominante durante la primera mitad de la noche, la utilización de glucosa es mínima y se asocia a un menor requerimiento energético cerebral. En la segunda mitad de la noche predomina el sueño REM (*rapid eye movement*), durante el cual la utilización de glucosa es intermedia entre la vigilia y el sueño SWS.¹⁹ Este efecto regulatorio del sueño sobre la glucemia también tiene lugar durante el sueño diurno.²⁰

El **cortisol** también muestra una fuerte ritmicidad circadiana: su secreción es pulsátil, aumenta progresivamente durante la noche y alcanza su pico máximo al comienzo de la mañana. Los niveles disminuyen a lo largo del día hasta hacerse mínimos al comienzo de la noche.²¹ Los trabajos de Steiger et al. evidenciaron además una correlación entre el SWS y niveles bajos de cortisol, demostrando así la interrelación entre el sueño y la secreción de esta hormona.

En cuanto a las hormonas tiroideas, la **TSH** (tirotropina u hormona estimulante de la tiroides) muestra la ritmicidad más evidente, alcanzando su valor máximo al comienzo de la noche. Respecto a las demás hormonas tiroideas (T_3 y T_4 -tri y tetrayodotironina, respectivamente-), no se ha demostrado con suficiente evidencia que se rijan por el reloj circadiano.

La ritmicidad circadiana de las hormonas responsables del apetito y la saciedad (**grelina** y **leptina**, respectivamente) ha sido evaluada por diversos autores. En condiciones normales, los niveles circulantes de grelina aumentan antes de los horarios habituales de comidas y descienden a continuación de éstos.²² Algunos autores han sugerido un vínculo entre la secreción de grelina y el SWS,²³ aunque otros estudios lo desmienten.²⁴ En lo referente a la leptina, los resultados obtenidos también son discordantes: un estudio sugería la existencia de una regulación circadiana de la leptina, siendo ésta máxima al comienzo de la mañana²⁵, mientras que los trabajos de Scheer et al. (2009)²⁶ descartaron esta hipótesis. No obstante, como se comentará más adelante, los patrones de sueño aberrantes han demostrado ocasionar una perturbación significativa en los niveles de leptina y grelina, con el consecuente efecto sobre el apetito y la ingesta global.

3. Regulación circadiana del metabolismo:

Desde la publicación de que ratones KO en genes reloj presentaban signos o síntomas de síndrome metabólico.^{28,29} han surgido numerosas investigaciones para elucidar la relación entre metabolismo y componentes del reloj circadiano. La eliminación genética de componentes de la red del reloj en modelos animales permite la identificación del papel de los genes reloj en la homeostasis de la glucosa y de los lípidos.

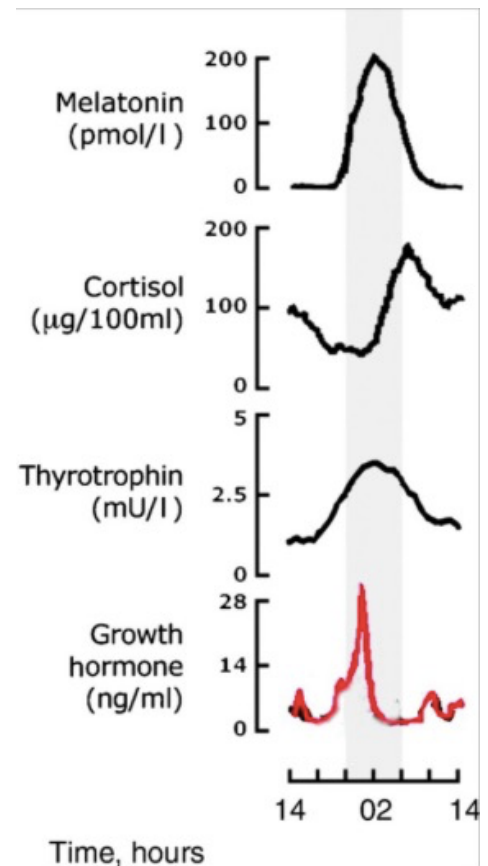


Figura 2: variaciones de concentración plasmática de hormonas sujetas a control circadiano en un ciclo de 24h. La franja gris representa el período de sueño.

Hastings M. (2007).²⁷

Distintas rutas metabólicas han demostrado estar reguladas por el reloj biológico, ya sea de manera directa (por ejemplo, la transcripción de una enzima clave en el proceso metabólico regulada por el heterodímero CLOCK/BMAL1) o de forma indirecta (la liberación de un factor endocrino en un momento determinado del día influye en los tejidos metabólicamente activos).³⁰

La primera evidencia genética entre ritmos circadianos y metabolismo fue descubierta en ratones portadores de la mutación de CLOCK^{Δ19/Δ19}.²⁸ Estos ratones exhiben unos ritmos de alimentación alterados, así como hiperfagia, hiperlipidemia, hiperleptinemia y esteatosis hepática. La perturbación observada en la homeostasis glucídica de estos ratones se caracteriza por hiperglucemia, y alteración en la secreción de insulina y en la proliferación de los islotes pancreáticos.²⁸ En cuanto al metabolismo del glucógeno, los estudios realizados por Doi et al. (2010) aportan evidencia de un descenso en los niveles de glucógeno hepático y de actividad/expresión de la glucógeno sintasa en ratones mutantes CLOCK^{Δ19/Δ19}.³¹ Pan et al. (2009) tratan el papel del gen CLOCK a nivel de la regulación de absorción de lípidos y colesterol, estableciendo una mayor tasa de absorción por parte de los enterocitos en ratones durante la noche.³² Sin embargo, ratones mutantes CLOCK^{Δ19} exhibían una pérdida de dicha ritmicidad, al absorber cantidades similares de macronutrientes tanto durante el día como durante la noche. En diversos estudios, ratones mutantes CLOCK mostraron hiperlipidemia, esteatosis hepática, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, posiblemente debido a una absorción intestinal aumentada y una sobreproducción hepática.³³

Por otra parte, ratones KO en el gen BMAL1 del hígado (L- Bmal1 KO) fueron los primeros en mostrar una hipoglucemia en la fase de ayuno y un aumento en la respuesta a la glucosa.³⁴ Según Shimba et al. (2005), BMAL1 juega un papel importante en la adipogénesis, contribuyendo al proceso de lipogénesis y diferenciación adipocítica, ya que fibroblastos embrionarios de ratones BMAL1 KO se mostraban incapaces de diferenciarse en adipocitos.³⁵ Por otro lado, plantean la posibilidad de que la sobreexpresión del gen Bmal1 en adipocitos 3T3-L1 dispare la síntesis lipídica, al aumentar la expresión de factores lipogénicos y provocar una acumulación de grandes depósitos de lípidos en las células.

Además, diversos grupos han establecido relaciones significativas gracias a mutaciones en el heterodímero CLOCK/BMAL1. Por un lado, Inouel et al. (2005), explica la regulación que ejercen dichos genes en la transcripción de enzimas clave en el metabolismo vía PPARα, como son la HMGCoA sintasa, acilCoA oxidasa y la proteína de unión celular al retinol (CRBP II).³⁶ Por otro lado, la investigación realizada por Shostak et al. (2013), apoya el posible papel del reloj del tejido adiposo blanco en la regulación de disponibilidad la energía proveniente de lípidos.²⁹ Mediante el empleo de ratones mutantes CLOCK^{Δ19} y BMAL1^{2/2}, demostraron variaciones en las

tasas de lipólisis y liberación de ácidos grasos libres y glicerol en sangre y así concluyeron que la disrupción circadiana promueve la acumulación de ácidos grasos en el tejido adiposo blanco, con el consecuente aumento de adiposidad e hipertrofia adipocítica.

4. Impacto del número de horas de sueño en metabolismo y hormonas:

En la actualidad, el estudio di@bet.es elaborado por CIBEDERM sitúa la prevalencia total de diabetes tipo 2 en España en el 13,8% (más de 5,3 millones de personas)³⁷ y la Organización Mundial de la Salud, informa de una alta prevalencia de sobrepeso y obesidad en 2014 con cifras de 39,1% y 26,5%, respectivamente.³⁸ Recientemente, se ha planteado la hipótesis de que la duración del sueño puede contribuir al desarrollo de ambas enfermedades. Además, los estudios de prevalencia de trastornos de sueño en la población general muestran que aproximadamente un 23% presenta alguna dificultad de sueño y que un 11% dice tener insomnio³⁹.

El esquema realizado por Knutson et al. (2008), plantea posibles mecanismos por los que la pérdida de horas de sueño puede contribuir al desarrollo de obesidad y diabetes (figura 4).⁴⁰ Una regulación al alza de neuronas orexigénicas puede ser el principal mecanismo vinculante, pero cabe la posibilidad de que se trate de un proceso multifactorial.

Dicho esquema plantea, por un lado, los mecanismos subyacentes a alteraciones en el metabolismo de la glucosa tras una restricción parcial del sueño, que dependen de varios factores. Cabe destacar un posible aumento de la inervación simpático-vagal de las células betapancreáticas, con la consecuente disminución de la secreción de insulina. Dichos cambios proceden de estimaciones de la variabilidad en la frecuencia cardiaca, como reflejo de un aumento del tono simpático.⁴¹

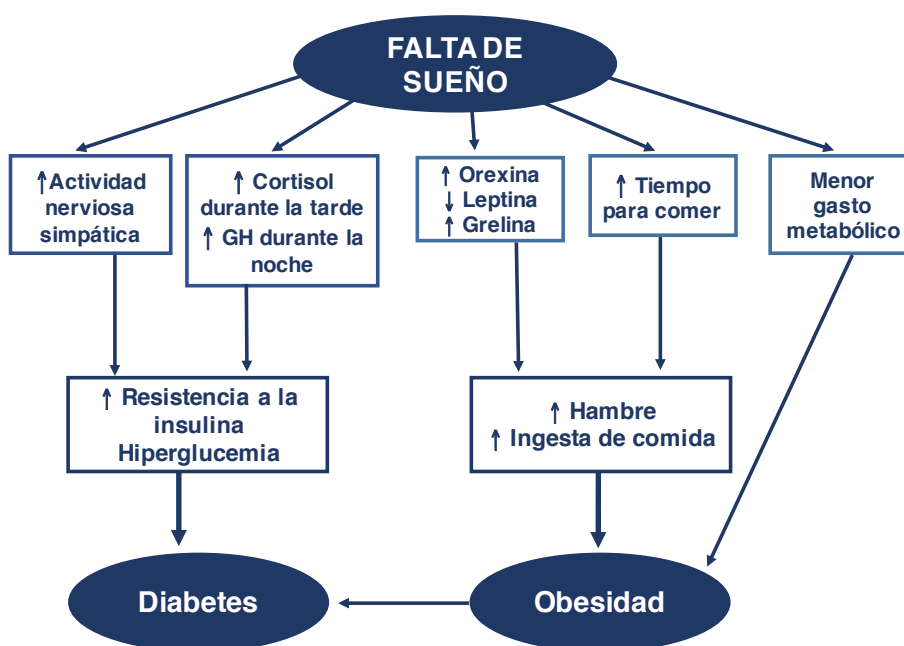


Figura 4: Esquema sobre las posibles vías por las que la pérdida de sueño conduce a la diabetes y obesidad.

Además, se ha observado que una exposición prolongada a niveles elevados de GH puede inducir a una disminución de la absorción de glucosa en el tejido muscular, resultando en hiperglucemia; por otra parte, un aumento de la concentración plasmática de cortisol durante la tarde supone una disminución de la insulinosensibilidad al día siguiente.⁴¹ Todo esto puede conducir a un aumento de la resistencia de insulina e hiperglucemia, con el consecuente aumento del riesgo de desarrollo de diabetes.

El primer estudio diseñado para examinar esta posible relación entre sueño y afectación de la función metabólica y endocrina fue llevado a cabo por Spiegel et al. (1999). 11 individuos se sometieron 6 noches a sólo 4 horas de sueño (“deuda de sueño”) seguidas de 7 noches de 12 horas de sueño (“recuperación de sueño”).⁴¹ Estos sujetos mostraron menor capacidad de utilización de glucosa y resistencia a la insulina, entre otros parámetros. En concreto, tras los seis días de deuda de sueño, la glucemia tras el desayuno se veía aumentada (pico 15mg/dL más alto), y la insulinosensibilidad se vio reducida. Esto sugiere un progresivo desarrollo de la insulinoresistencia al exponerse de manera continua a una pérdida parcial de sueño. Posteriormente, un estudio en el que se somete a individuos a 2 noches de 4 horas de sueño seguidas de 2 noches de 10 horas de reposo, completan los hallazgos encontrados al mostrar niveles matutinos de glucosa más altos y de insulina más bajos.⁴² Lo mismo ocurría en sujetos masculinos sanos sometidos durante una semana a 5 horas de sueño cada noche.⁴³

Evidencia adicional proviene de estudios epidemiológicos llevados a cabo por diversos investigadores. El estudio de cohortes prospectivas de 10 años de duración en 70.026 mujeres (Nurses’ Health Study) mostró que aquellas que notificaban duraciones de sueño de $\leq 5h$ o $\geq 9h$ presentan mayor riesgo de diagnóstico positivo de diabetes (riesgo relativo de 1,57 y de 1.47, respectivamente).⁴⁴ Otro estudio en Suecia hizo un seguimiento de 1187 individuos durante 12 años y aquellos que dormían menos de 5 horas tenían un mayor riesgo de desarrollo de diabetes.⁴⁵

El esquema de Knutson contempla también el impacto de la pérdida de sueño en las hormonas involucradas en la regulación del apetito. Tras una restricción de sueño, los niveles diurnos de leptina son menores, en contraposición a un aumento en los niveles de grelina.⁴⁶ El estudio mencionado anteriormente de Spiegel et al. (2004) describió que, tras dos noches de 4 horas de sueño, los sujetos mostraban una disminución de un 18% de leptina y un aumento de 28% de grelina.⁴² Además, se les interrogó sobre el apetito y las respuestas obtenidas ponen de manifiesto un aumento del 24% de hambre. En definitiva, los sujetos se hallaban metabólicamente dispuestos a incrementar su ingesta.

Por otro lado, la pérdida de sueño y el asociado aumento de sopor y fatiga pueden resultar en una menor actividad física y una disminución del gasto metabólico basal. Además, estar más tiempo

despierto supone mayor tiempo para comer, agravado por los posibles cambios observados en cuanto al comportamiento alimentario.⁴⁷ Tras una restricción de horas de sueño se pueden observar cambios en la dieta: se observa un aumento del consumo de calorías totales diarias, particularmente en forma de “snacks” con un alto contenido en carbohidratos y grasas.^{48,49} En definitiva, individuos sometidos a una privación importante de sueño presentan un mayor apetito, una actividad física disminuida y cambios en los hábitos alimentarios, que en conjunto supondrán una mayor predisposición a la obesidad.

La posible correlación negativa entre duración del sueño y obesidad, se evidencia en gran parte por datos epidemiológicos de aumento del índice de masa corporal (IMC) o de grasa periabdominal.⁵⁰⁻⁵¹ El estudio de cohortes prospectivas realizado en Wisconsin en 1995 plantea que la media de número de horas en cama está significativamente relacionada con el IMC en forma de Curva U, eliminando sesgos de edad y sexo, mientras que el IMC mínimo se observaba en individuos que dormían una media de 7,7 horas cada noche.⁵² En relación al número de horas aconsejadas, los hallazgos procedentes de un estudio transversal en el que se incluía a 603.519 adultos y 29.502 niños, muestra un aumento de riesgo de obesidad en adultos que dormían menos de 5 horas y niños que no superaban las 10 horas de sueño diarias.⁵³ En la misma línea, en adultos menores de 40 años de edad, con menos de 5 horas de sueño se observó un aumento del IMC de 1,8 kg/m², un aumento de la tejido adiposo subcutáneo de 42 cm² y del tejido adiposo visceral de 13 cm², en comparación con aquellos que dormían 6-7 horas.⁴⁹

Con respecto a la función endocrina, como se ha mencionado anteriormente, la **melatonina** juega un papel crucial en la inducción y mantenimiento del sueño. Experiencia en humanos sometidos a 36 h de restricción absoluta de sueño revelaron un aumento significativo de la secreción de melatonina,⁵⁴ surgiendo la hipótesis de un mecanismo compensatorio de secreción para tratar de restablecer el sueño. Sin embargo, otros experimentos en condiciones controladas de luz y postura revelaron una mayor concentración plasmática de melatonina durante el periodo de sueño frente al de vigilia.⁵⁵

En vista de que estados de insuficiente cantidad y/o calidad de sueño se han asociado con desórdenes del metabolismo energético,⁵⁶ numerosos investigadores han tratado de evaluar el efecto de la restricción de sueño sobre la función tiroidea. Estudios en roedores han puesto en evidencia una asociación entre la falta de sueño y el incremento en el consumo energético, un aumento de la ingesta y aumento de la temperatura corporal. A pesar de la similitud de estos hallazgos con un cuadro de hipertiroidismo, lo cierto es que la privación de sueño en estos animales se relaciona a una disminución en los niveles circulantes de **T₄ libre** y **T₃**, sin aumento de **TSH**,^{57,58} lo cual se asemeja más a un cuadro de hipotiroidismo central.

Estudios en humanos arrojan resultados dispares. En comparación con el conocido aumento en las concentraciones de TSH y de hormonas tiroideas durante la privación aguda de sueño, los resultados encontrados tras 14 días de restricción parcial del sueño no mostraron una activación similar del eje tiroideo humano. En los experimentos desarrollados por Kessler et al. (2013), en un grupo de individuos separados por género y sometidos a 14 días de sueño restringido (una media de aproximadamente 5,5 h diarias de sueño frente a un periodo previo de 8,5h), la concentración en suero de TSH y T₄ se vieron significativamente disminuidas, pero sólo en el grupo femenino, mientras que entre los participantes masculinos no se hallaron perturbaciones remarcables.⁵⁹

5. Perturbaciones del ciclo circadiano en la sociedad: el trabajo por turnos

El trabajo por turnos (conocido en inglés como *shift work*) es aquel que se desarrolla más allá de los horarios habituales de trabajo y/o sigue un horario irregular. El trabajo por turnos no tiene una definición universal, pero puede referirse a trabajar en turnos que se producen siempre durante la noche (turno de noche permanente) o que implican rotar entre diferentes turnos (día, tarde y noche) a lo largo del mes. La globalización de los mercados, la extensión de los horarios comerciales y el incremento de trabajadores en el sector servicios son algunas razones que justifican el aumento de incidencia de este tipo de jornada laboral en las sociedades desarrolladas.⁶⁰ Se estima que uno de cada cinco trabajadores en Europa se dedica a un empleo por turnos que implica algún tipo de trabajo nocturno.⁶¹

Cualquier turno de trabajo que requiera que un individuo permanezca despierto en un período que su reloj central asocia al sueño, tiene potencial para alterar su ritmo circadiano.

El trabajo por turnos supone una exagerada disrupción del ciclo circadiano, y diferentes estudios epidemiológicos han apuntado a una relación causal entre el trabajo por turnos y diversos problemas de salud: obesidad, trastornos digestivos, problemas cardiovasculares, desórdenes psicológicos (depresión, insomnio), accidentes laborales y cáncer, entre otros.⁶²

Trabajo por turnos y obesidad

Diversos autores han señalado una correlación entre el trabajo por turnos y una mayor incidencia de sobrepeso y obesidad, cuantificados mediante el IMC. Un completo estudio longitudinal de cohortes realizado por Suwazono et al. (2008) en trabajadores con turno de día (n = 4.328) y trabajadores con turnos alternos (n = 2.926) de una empresa de acero japonesa investigó la relación entre el horario de trabajo y el incremento en el IMC durante un período de 14 años.⁶³ El estudio arrojó como resultado un incremento significativo en el IMC de los trabajadores por turnos frente a los de horario regular. Análogamente, Morikawa et al. (2007) realizaron un estudio de cohorte longitudinal en un período de 10 años sobre 1.529 trabajadores varones japoneses y

también reportaron un aumento significativo del IMC en los trabajadores por turnos.⁶⁴

Son muchas las hipótesis para justificar este aumento de masa corporal:

1. **Escasa actividad física**: En general, este tipo de jornadas laborales son más difícilmente compaginables con la práctica de actividades deportivas y ejercicio físico.
2. **Cambios en el comportamiento alimentario**: Estos trabajadores programan sus comidas en momentos del día distintos de los habituales, resultando en un cambio en la frecuencia, cantidad y calidad de los alimentos que ingieren. Qin et al. (2003) constataron que más del 50 % de la energía total consumida por los trabajadores de turnos nocturnos se consume durante la tarde o noche,⁶⁵ momento del día en el que la digestión es menos eficiente.⁶⁶ Un factor adicional a tener en cuenta para evaluar el comportamiento alimentario es el apetito. Hasta la fecha, varios estudios han demostrado que los cambios en el ciclo de sueño/vigilia y desalineación circadiana pueden alterar las concentraciones de leptina y de grelina.^{67,68} En general, los trabajadores nocturnos ingieren un aporte calórico similar a los de turno diurno, pero tienden a realizar numerosas y pequeñas comidas y a ingerir un mayor porcentaje de carbohidratos y *snacks* de escaso valor nutricional.⁶⁹
3. **Alteraciones metabólicas**: Ulhôa et al. postularon que el comportamiento alimentario de los trabajadores por turnos no se ajusta a la predisposición natural del organismo. La respuesta endocrina ante la ingesta de lípidos y carbohidratos es dependiente de la hora del día,⁷⁰ de forma que la ingesta durante la noche va acompañada de una mayor concentración plasmática de triacilglicérols en comparación con comer durante el día. La hipótesis de Ulhôa sospecha que puede ser el resultado de una menor respuesta a insulina durante la noche. La insulina es un importante activador de la lipoproteína lipasa, una enzima encontrada en las paredes de los capilares, responsable de la hidrólisis y degradación de lípidos. La menor sensibilidad nocturna a insulina justificaría este aumento en la hipertrigliceridemia en respuesta a la ingesta lipídica. Los estudios de Al-Naimi et al. (2004) corroboran esta intolerancia a los lípidos (hipertrigliceridemia) y el desarrollo de resistencia a insulina provocado por el desajuste circadiano.⁷¹

El horario de las comidas puede afectar al RC porque los metabolitos de los alimentos sirven como sincronizadores de los relojes periféricos.⁷² Recientemente se ha sugerido que este desfase puede deberse a complejas cascadas de señalización centradas en el aumento de los ácidos grasos libres y del glucagón, que activan respectivamente los receptores PPAR α y CREB, conduciendo a una activación aberrante de otras rutas metabólicas.⁷³ La ingesta en un momento inadecuado del día podría conducir a una mala alineación entre los relojes central y periférico, ocasionando un trastorno en el metabolismo.⁷⁴

Trabajo por turnos y cáncer

Asimismo, investigaciones recientes han apuntado a una posible relación entre el trabajo por turnos y el riesgo de padecer cáncer de mama.⁷⁵⁻⁷⁷ En 2007, la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) llegó a designar el trabajo por turnos como un posible carcinógeno humano.⁷⁸

Trabajo por turnos y trastornos cardiovasculares y síndrome metabólico

Los trabajos Reutrakul y Knutson (2015) recopilaron evidencia de cómo el trabajo por turnos se ha asociado con un aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares y sus factores de riesgo.⁷⁹⁻⁸¹ Los trabajadores por turnos padecen hipertensión con mayor frecuencia que los trabajadores diurno,⁸² e incluso otro estudio reflejó anomalías en el ECG de los primeros.⁸³

En resumen, la disrupción de ciclo circadiano ocasiona trastornos en el metabolismo que conducen a alteraciones patológicas del sistema endocrino. Diversos estudios epidemiológicos han evaluado la relación entre el trabajo por turnos y los trastornos metabólicos y cardiovasculares. Un estudio realizado sobre 27.485 individuos reveló que la obesidad, niveles altos de triglicéridos y bajas concentraciones de colesterol HDL aparecen juntos con más frecuencia en los trabajadores por turnos que en los trabajadores de turno diurno, lo cual puede indicar una asociación entre el trabajo por turnos y el síndrome metabólico (SM).⁸⁴ El SM se define como un conjunto de anormalidades metabólicas (incluyendo obesidad abdominal, hiperglucemia, presión arterial alta y dislipidemia) que aumentan el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y diabetes.⁸⁵

La figura 5 recoge los factores que desencadenan la aparición de trastornos cardiometabólicos en el trabajador por turnos:

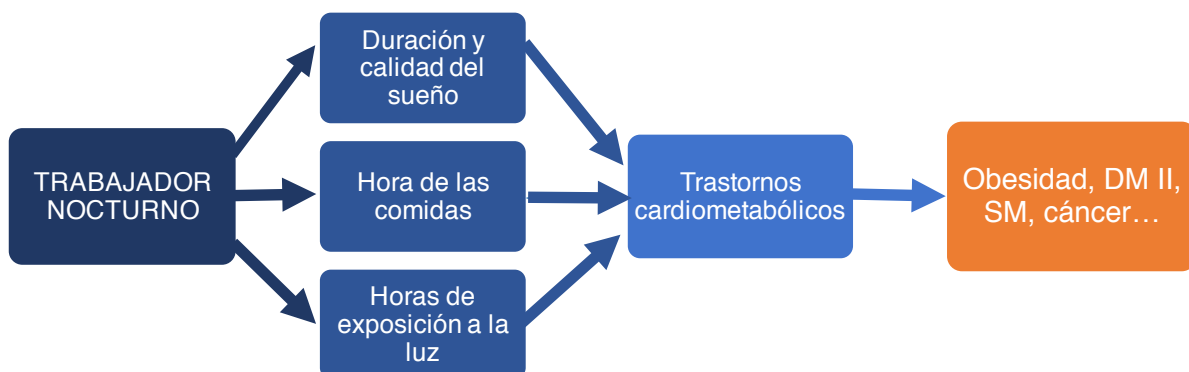


Figura 5: Impacto sobre la salud de la disrupción circadiana en el trabajador por turnos.

6. Transcriptómica y metabolómica: implicaciones en la cronofarmacología

Merece la pena remarcar que la relación entre los genes reloj y el metabolismo es bidireccional: la disrupción ambiental del RC puede desencadenar un cuadro de SM, pero también puede

emplearse el refuerzo del ciclo circadiano como estrategia terapéutica para limitar los desórdenes metabólicos. Mediante el estudio de la transcriptómica y metabolómica de los ritmos circadianos, pueden identificarse los mecanismos celulares que tienen lugar durante los procesos de vigilia y sueño, y lo que es más, comparar estos patrones con aquellos que se presentan en estados de disrupción circadiana severa (privación de sueño, trabajador por turnos, etc.). De este modo, se podría conocer más sobre la fisiopatología de la enfermedad y buscar posibles dianas terapéuticas, llegando incluso a concebir fármacos específicamente dirigidos a componentes de la cascada de activación de los genes reloj.

Una reciente y elegante revisión efectuada por Brown et al. (2016) sugiere que el estudio del transcriptoma y metaboloma circadiano abre la puerta de la cronofarmacología.⁸⁶ La cronofarmacología es la rama de la cronoterapia que aplica los principios del ritmo circadiano para determinar el momento idóneo para administración de fármacos, ya que éste puede afectar a nivel de absorción, distribución, metabolismo y excreción de xenobióticos.¹ En vista de que numerosos agentes del metabolismo de xenobióticos (transportadores, receptores, enzimas, etc) varían conforme a un esquema circadiano, podría determinarse mediante análisis rutinarios del metaboloma circadiano el momento óptimo de administración de la terapia farmacológica. En particular, la cronofarmacología ha revelado resultados esperanzadores en el ámbito de la terapia oncológica.⁸⁷

6. CONCLUSIONES

Numerosos procesos fisiológicos están influenciados por el reloj circadiano endógeno, que tiene una base anatómica (conexiones neuronales), humoral (factores endocrinos) y genética (genes reloj). A grandes rasgos, el reloj circadiano se constituye de un reloj central (ubicado en el núcleo supraquiasmático) conectado a multitud de relojes periféricos ubicados en los diferentes órganos y tejidos.

Se ha evidenciado que numerosas hormonas muestran una ritmicidad circadiana, y diferentes estudios en animales y humanos han demostrado las implicaciones de los llamados genes reloj en numerosos procesos metabólicos. El funcionamiento de este reloj interno depende así mismo, y en gran medida, de señales ambientales como la alternancia luz/oscuridad y la ingesta.

Resulta lógico inferir que la alteración del ritmo circadiano, fundamentalmente ocasionada por cambios en los patrones de sueño frecuentemente ligados a alteraciones en la conducta alimentaria, tenga consecuencias negativas en los procesos fisiológicos regulados por este reloj interno. En efecto, la disrupción circadiana ha sido significativamente asociada a un mayor riesgo de obesidad, diabetes y síndrome metabólico. Recientes estudios apuntan también a una mayor

incidencia de alteraciones cardiovasculares y cáncer. Estas asociaciones no sólo se establecen en las formas más graves de interrupción circadiana (por ejemplo, el trabajo por turnos), sino que también se observan con retrasos moderados en los tiempos de sueño y en los horarios de las comidas.

Sería interesante desde el punto de vista de la salud pública desarrollar investigaciones futuras en este tema, a fin de determinar si la manipulación de los horarios de sueño, de las comidas, o la exposición a la luz pueden ayudar a desarrollar estrategias preventivas en el manejo de diabetes, obesidad y otros trastornos metabólicos.

Yendo un paso más allá, una mejor comprensión de la función del reloj molecular en la regulación de los procesos fisiológicos permitiría el desarrollo de tratamientos específicamente dirigidos a actuar sobre este reloj interno, para mejorar la salud de los individuos expuestos a perturbaciones de su reloj circadiano endógeno. Algunos investigadores apuntan, incluso, que un mayor conocimiento del ritmo circadiano puede ser una valiosa herramienta desde el punto de vista de la cronofarmacología. Es decir, que el hecho de poder determinar en qué momento del ciclo circadiano se halla el individuo (por ejemplo, mediante el estudio del metaboloma y el transcriptoma de los genes reloj) puede emplearse como indicador para conseguir una mayor eficacia de los tratamientos.

En definitiva, los mecanismos implicados en los ciclos circadianos están estrechamente relacionados con el metabolismo, y viceversa. Un mayor entendimiento de la complejidad de estas conexiones no sólo permitirá explicar y prevenir consecuencias negativas para la salud, sino que presenta un gran potencial terapéutico mediante el diseño de compuestos que, actuando sobre elementos de este complejo reloj, permita obtener efectos metabólicos beneficiosos sobre la salud.

7. BIBLIOGRAFÍA:

1. Ferrel JM, Chiang J. Circadian rhythms in liver metabolism and disease. *Acta Pharm Sin B*. 2015;5(2):113–122.
2. Ulhôa MA, Marqueze EC, Burgos LGA, Moreno CRC. Shift Work and Endocrine Disorders. *Int J Endocrinol* 2015;826249.
3. Cipolla-Neto J, Amaral FG, Afeche SC, Tan DX, and Reiter RJ. Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. *Journal of Pineal Research*. 2014; 56(4): 371–381.
4. Brown RL, Robinson PR. Melanopsin-shedding light on the elusive circadian photopigment. *Chronobiol Int*.2004; 21(2):189-204.
5. Dibner C1, Schibler U, Albrecht U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu Rev Physiol*. 2010; 72:517-49.
6. Mrosovsky N. Locomotor activity and non-photoc influences on circadian clocks. *Biol Rev* 1996; 71: 343–72.
7. Dibner C, Schibler U, Albrecht U. The Mammalian Circadian Timing System: Organization and Coordination of Central and Peripheral Clocks. *Annu. Rev. Physiol*. 2010. 72: 517-549.
8. Schibler U. The 2008 Pittendrigh/Aschoff lecture: peripheral phase coordination in the mammalian circadian timing system. *J. Biol. Rhythms* 2009. 24:3–15.
9. Marsi S, Sassone-Corsi P. Plasticity and specificity of the circadian epigenome. *Nat Neurosci*. 2010 Nov;13(11):1324-9.
10. Lowrey PL, Takahashi JS. Genetics of circadian rhythms in Mammalian model organisms. *Adv Genet*. 2011; 74: 175-230.
11. Márquez de Prado, B. Ritmos circadianos y neurotransmisores: estudios en la corteza prefrontal de la rata.[Tesis Doctoral]. Madrid. 2004.
12. Reiter, RJ The melatonin rhythm: both clock and calendar. *Experientia*. 1993. 49(8): 654-664.
13. Benloucif S, Guico MJ, Reid KJ, Wolfe LF, L'Hermite-Balériaux M. Stability of Melatonin and Temperature as Circadian Phase Markers and Their Relation to Sleep Times in Humans. *Journal of Biological Rhythms*. 2005. 20(2):178-188

14. Gooley JJ, Chamberlain K, Smith KA, Khalsa SB, Rajaratnam SM, et al. Exposure to Room Light before Bedtime Suppresses Melatonin Onset and Shortens Melatonin Duration in Humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(3): 463-472.
15. Peschke E, Bähr I, Mühlbauer E. Melatonin and Pancreatic Islets: Interrelationships between Melatonin, Insulin and Glucagon. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013; 14 (4): 6981-7015.
16. AlBreiki, M, Middleton B, Hampton S. Is insulin insulin leton B, Hampton S. Is ight at at t in healthy sleep deprived individuals? *Proceedings of the Nutrition Society*. 2016.
17. Van Cauter, E et al.. Roles of circadian rhythmicity and sleep in human glucose regulation. *Endocr*. 1997. 18: 716–738.
18. Van Cauter E, Knutson KL. Associations between sleep loss and increased risk of obesity and diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1129: 287-304.
19. Nofzinger, EA, Buysse DJ, Miewald JM, Meltzer CC, Price JC, Sembrat RC et al. Human regional cerebral glucose metabolism during nonrapid eye movement sleep in relation to waking. *Brain*. 2002. 125: 1105–1115.
20. Van Cauter E, Blackman JD, Roland D. Modulation of glucose regulation and insulin secretion by circadian rhythmicity and sleep. *J. Clin. Invest*. 1991. 88: 934–942.
21. Velayos, JL. Medicina del Sueño: Enfoque multidisciplinario. 1ª Ed. Ed. Médica Panamericana S.A. 2009.
22. Natalucci G, Riedl S, Gleiss A, Zidek T, Frisch H. Spontaneous 24-h ghrelin secretion pattern in fasting subjects: maintenance of a meal-related pattern. *European Journal of Endocrinology*. 2005. 152 (6): 845–850
23. Weikel JC, Wichniak A, Ising M. Ghrelin promotes slow-wave sleep in humans. *The American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2003; 284 (2): 407–415.
24. Sinton CM, Fitch T, Gershenfeld HK. The effects of leptin on REM sleep and slow wave delta in rats are reversed by food deprivation. *Journal of Sleep Research*. 1999; 8 (3): 197-203.
25. Shea SA, Hilton MF, Orlova C, Ayers TR, Mantzoros CS. Independent circadian and sleep/wake regulation of adipokines and glucose in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2005. 90 (5): 2537–2544.
26. Scheer FA, Hilton MF, Mantzoros CS, Shea SA. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009. 106(11):4453-8.
27. Hastings M. Circadian clocks: regulators of endocrine and metabolic rhythms. *J Endocrinol*. 2007. 195: 187-198
28. Marcheva B, Ramsey KM, Buhr ED, Kobayashi Y, Su H, Ko CH, et al. Disruption of the clock components CLOCK and BMAL1 leads to hypoinsulinaemia and diabetes. *Nature* 2010; 466: 627-31.
29. Shostak A, Meyer-Kovac J, Oster H. Circadian regulation of lipid mobilization in white adipose tissues *Diabetes*, 2013; 62(7): 2195–2203
30. Shannon MB, Uduak SU, Martin EY. Circadian regulation of metabolism. *J Endocrinol*; August 2014; 222(2): R75–R96.
31. Doi R, Oishi K, Ishida N. CLOCK regulates circadian rhythms of hepatic glycogen synthesis through transcriptional activation of Gys2. *J Biol Chem*. (2010 Jul 16); 285(29): 22114-21.
32. Pan X, Hussain MM. Clock is important for food and circadian regulation of macronutrient absorption in mice. *J Lipid Res*. 2009; 50:1800–1813
33. Pan X, Zhang Y, Wang L, Hussain MM. Diurnal regulation of MTP and plasma triglyceride by CLOCK is mediated by SHP. *Cell Metab*. 2010; 12:174–186
34. Lamia KA, Storch KF, Weitz CJ. *Physiological significance of a peripheral tissue circadian clock*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*. 2008; 105, 15172–15177
35. Shimba S, Ishii N, Ohta Y, Ohno T, Watabe Y, Hayashi M et al. Brain and muscle Arnt-like protein-1 a component of the molecular clock, regulates adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*.2005; 102: 12071–12076
36. Inoue I, Shinoda Y, Nomura M, Takuya Awata T, Toshiyuki Matsunaga, Tsugikazu Komoda et al. CLOCK/BMAL1 is involved in Lipid Metabolism via Transactivation of the Peroxisome Proliferator-activated Receptor (PPAR) Response Element. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2005; 12(3); 169-174.
37. Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiú E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia*. 2012;55:88-93
38. Organización Mundial de la Salud (2010-2014). Global Health Observatory data repository. n/a. Recuperado de: <http://apps.who.int/gho/data/node.main.A867?lang=en>
39. Vela-Bueno A, De IM, Fernandez C. Prevalence of sleep disorders in Madrid, Spain. *Gac Sanit*. 1999; 13:441-448
40. Knutson KL, Van Cauter E. Associations between Sleep Loss and Increased Risk of Obesity and Diabetes. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2008; 1129:287-304
41. Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* 1999 Oct 23;354(9188):1435–9
42. Spiegel K, Tasali E, Penev P, Van Cauter E. Brief communication: sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med* 2004; 141:846–850.
43. Buxton OM, Pavlova M, Reid EW, Wang W, Simonson DC, Adler GK. Sleep restriction for 1 week reduces insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes*. 2010; 59:2126–33.
44. Ayas, NT, White DP, Al-Delaimy WK, Manson JE, Stampfer MJ, Speizer FE, et al. A prospective study of self-reported sleep duration and incident diabetes in women. *Diab. Care* 2003; 26: 380–384.
45. Mallon L, Broman JE, Hetta J. High incidence of diabetes in men with sleep complaints or short sleep duration: a 12-year follow-up study of a middle-aged population. *Diab. Care* 2005; 28:2762–2767.
46. Reutrakul S, Van Cauter E. Interactions between sleep, circadian function, and glucose metabolism: implications for risk and severity of diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2014. 1311: 151-173
47. Leenaars CH, Zant JC, Aussems A, Faatz V, Snackers D, Kalsbeek A. The Leeds food preference questionnaire after mild sleep restriction - A small feasibility study. *Physiol Behav*. 2016 Feb 1; 154:28-33.
48. Nedeltcheva AV, Kilkus JM, Imperial J, Kasza K, Schoeller DA, Penev PD. Sleep curtailment is accompanied by increased intake of calories from snacks. *Am J Clin Nutr*. 2009; 89:126–133.
49. Weiss A, Xu F, Storfer-Isser A, Thomas A, Ievers-Landis CE, Redline S. The association of sleep duration with adolescents' fat and carbohydrate consumption. *Sleep*. 2010; 33:1201–1209.
50. Hairston KG, Bryer-Ash M, Norris JM, Haffner S, Bowden DW, Wagenknecht LE. Sleep duration and five-year abdominal fat accumulation in a minority cohort: the IRAS family study. *Sleep*. 2010; 33:289–95

51. Sperry SD, Scully ID, Gramzow RH, Jorgensen RS. Sleep duration and waist circumference in adults: a meta-analysis. *SLEEP* 2015; 38(8): 1269–1276
52. Taheri S, Lin L, Austin D, Young T, Mignot E. Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. *PLoS Med.* 2004. 1(3): e62
53. Cappuccio FP; Taggart FM; Kandala NB; Currie A; Peile E; Stranges S et al. Meta-analysis of short sleep duration and obesity in children and adults. *SLEEP* 2008; 31(5): 619-626.
54. Salin-Pascual RJ. The effect of total sleep deprivation on plasma melatonin and cortisol in healthy human volunteers. *Sleep.* 1988; 11(4): 362-9.
55. Zeitzer JM. Plasma Melatonin Rhythms In Young and Older Humans During Sleep, Sleep Deprivation, and Wake. *Sleep.* 2007. 30(11): 1437–1443.
56. Marshall NS, Glozier N, Grunstein RR. Is sleep duration related to obesity? A critical review of the epidemiological evidence. *Sleep Med Rev.* 2008.12(4): 289-98.
57. Bergmann BM1, Everson CA, Kushida CA. Sleep deprivation in the rat: V. Energy use and mediation. *Sleep.* 1989 .12(1):31-41.
58. Everson CA, Reed HL. Pituitary and peripheral thyroid hormone responses to thyrotropin-releasing hormone during sustained sleep deprivation in freely moving rats. *Endocrinology.* 1995 Apr;136(4):1426-34.
59. Kessler L, Nedeltcheva A, Imperial J, Penev PD. Changes in serum TSH and free T4 during human sleep restriction. *Sleep.* 2010; 33(8): 1115-1118.
60. Parent-Thirion A, Vermeulen G, van Houten G, Lyly-Yrjänäinen M, Biletta I, Cabrita J, et al. Fifth European Working Conditions Survey: Overview Report. Luxembourg. 2012.
61. Harrington JM. Health effects of shift work and extended hours of work. *J Occup Environ Med.* 2001;58(1):68–72.
62. Son M, Ye BJ, Kim J-I, Kang S, Jung K-Y. Association between shift work and obesity according to body fat percentage in Korean wage workers: data from the fourth and the fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES 2008–2011). *Annals of Occupational and Environmental Medicine.* 2015; 27:32.
63. Suwazono Y1, Dochi M, Sakata K, Okubo Y, Oishi M, Tanaka K et al. A longitudinal study on the effect of shift work on weight gain in male Japanese workers. *Obesity (Silver Spring).* 2008 Aug;16(8):1887-93.
64. Morikawa Y, Nakagawa H, Miura K, Soyama Y, Ishizaki M, Kido T et al. Effect of shift work on body mass index and metabolic parameters. *Scand J Work Environ Health* 2007;33: 45–50.
65. Qin LQ, Li J, Wang Y, Wang J, Xu JY, Kaneko T. The effects of nocturnal life on endocrine circadian patterns in healthy adults. *Life Sciences.* 2003;73(19):2467–2475.
66. Holmbäck U, Forslund A, Lowden A, Forslund J, Akerstedt T, Lennernäs M et al. Endocrine responses to nocturnal eating—possible implications for night work. *European Journal of Nutrition.* 2003; 42(2):75–83.
67. Shea SA, Hilton MF, Orlova C, Ayers RT, Mantzoros CS. Independent circadian and sleep/wake regulation of adipokines and glucose in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(5): 2537-44.
68. Fogtelo AJ, Pijl H, Roelfsema F, Frölich M, Meinders AE. Impact of meal timing and frequency on the twenty-four-hour leptin rhythm. *Horm Res.* 2004; 62(2): 71-8.
69. Reeves SL, Newling-Ward E, Gissane C. The effect of shift-work on food intake and eating habits. *J Nutr Food Sci,* 2004; 34(5): 216 – 22.
70. Holmbäck U, Forslund A, Lowden A, Forslund J, Akerstedt T, Lennernäs M, et al. Endocrine responses to nocturnal eating—possible implications for night work. *Eur J Nutr.* 2003; 42(2):75-83.
71. Al-Naimi S, Hampton SM, Richard P, Tzung C, Morgan LM. Postprandial metabolic profiles following meals and snacks eaten during simulated night and day shift work. *Chronobiol Int.* 2004; 21(6): 937-47.
72. Dibner C, Schibler U, Albrecht U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu Re Physiol* 2010; 72:517–49.
73. Mukherji, A et al. Shifting the feeding of mice to the rest phase creates metabolic alterations, which, on their own, shift the peripheral circadian clocks by 12 hours. *Proc. Natl Acad. Sci.* 2015; 112(48): 6683–6690.
74. Garaulet M, Gomez-Abellan P. Timing of food intake and obesity: a novel association. *Physiol Behav* 2014; 134:44–50.
75. Davis S, Mirick DK, Stevens RG. Night shift work, light at night, and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:1557–62.
76. Grundy A, Richardson H, Burstyn I, Lohrisch C, Sen Gupta SK, Lai AS et al. Increased risk of breast cancer associated with longterm shift work in Canada. *Occup Environ Med* 2013; 70:831-8.
77. Schernhammer ES, Laden F, Speizer FE, Willett WC, Hunter DJ, Kawachi I, et al. Rotating night shifts and risk of breast cancer in women participating in the nurses' health study. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 1563–8.
78. Erren TC, Falaturi P, Morfeld P, Knauth P, Reiter RJ, Piekarski C. Shift Work and Cancer: The Evidence and the Challenge. *Deutsches Ärzteblatt International.* 2010; 107(38): 657-662.
79. Reutrakul S, Knutson KL. Consequences of Circadian Disruption on Cardiometabolic Health. *Sleep Med Clin.* 2015;10(4):455-68.
80. Brown DL, Feskanich D, Sqnchez BN, Rexrode KM, Schernhammer ES, Lisabeth LD. Rotating night shift work and the risk of ischemic stroke. *Am J Epidemiol* 2009; 169(11): 1370–7.
81. Kawachi I, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Manson JE, Speizer FE et al. Prospective study of shift work and risk of coronary heart disease in women. *Circulation* 1995; 92(11): 3178–82.
82. Sakata K, Suwazono Y, Harada H, Okubo Y, Kobayashi E, Nogawa K. The relationship between shift work and the onset of hypertension in male Japanese workers. *J Occup Environ Med* 2003; 45(9): 1002–6.
83. Murata K, Yano E, Hashimoto H, Karita K, Dakeishi M. Effects of shift work on QTc interval and blood pressure in relation to heart rate variability. *Int Arch Occup Environ Health* 2005; 78(4): 287–92.
84. Karlsson B, Knutsson A, Lindahl B. Is there an association between shift work and having a metabolic syndrome? Results from a population based study of 27 485 people. *Occup Environ Med* 2001; 58:747-752.
85. Kawada T, Otsuka T. Effect of shift work on the development of metabolic syndrome after 3 years in Japanese male workers. *Arch Environ Occup Health* 2014; 69(1): 55–61.
86. Brown SA. Circadian Metabolism: From Mechanisms to Metabolomics and Medicine. *Trends Endocrinol Metab.* 2016; 27(6): 415-2.
87. Ortiz-Tudela E, Mteyrek A, Ballesta A, Innominato PF, Lévi F. Cancer chronotherapeutics: experimental, theoretical, and clinical aspects. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2013; 217, 261–288.