

# Cronobiología y obesidad

Purificación Gómez-Abellán, Cristina Bandín, Jesús López-Mínguez, Marta Garaulet.<sup>1</sup>

Departamento de Fisiología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia.

garaulet@um.es<sup>1</sup>

## INTRODUCCIÓN

La obesidad se ha convertido en uno de los problemas más graves de salud pública en el siglo XXI y la morbilidad y mortalidad asociada a la obesidad continúa en aumento. Factores endógenos, como es la genética, y exógenos tales como la dieta y la actividad física, presentan un papel importante en el desarrollo y en el tratamiento de la obesidad.

Los ritmos circadianos (del latín *circa diem*, aproximadamente un día) son una parte tan innata de nuestras vidas que raramente les prestamos atención. El funcionamiento correcto de estos ritmos circadianos endógenos permite a los organismos predecir y anticiparse a los cambios medioambientales, así como adaptar temporalmente sus funciones conductuales y fisiológicas a estos cambios. En humanos, los hábitos sociales actuales, tales como la reducción del tiempo de sueño, la irregularidad interdiaria del sueño-vigilia causado por el *jet-lag*, el trabajo por turnos, el aumento de la exposición a la luz brillante durante la noche, o el elevado consumo de “snacks”, son todos ellos factores que actúan sobre el cerebro induciendo una pérdida de la “percepción” de los ritmos internos y externos.

Actualmente, existen estudios que sugieren que la interrupción o desincronización interna del sistema circadiano, llamada cronodisrupción (CD), puede contribuir a las complicaciones que aparecen con la obesidad, tales como dislipidemia, intolerancia a la glucosa, disfunción endotelial, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular, entre otras. La cronobiología (ciencia que estudia los cambios que presenta el individuo a lo largo del tiempo) está implicada en la mayoría de estas alteraciones. De hecho, es bastante conocido el control circadiano de la función cardiovascular, de las hormonas involucradas en el metabolismo tales como la insulina, el glucagón, la hormona del crecimiento y el cortisol, de aquellas implicadas en la obesidad, tales como la leptina y la ghrelina. Todos estos ritmos diarios pueden estar implicados en las señales de hambre y saciedad, los horarios de comidas y finalmente en el grado de obesidad.

De hecho existen otras muchas evidencias epidemiológicas de la relación existente entre obesidad y aspectos cronobiológicos. Uno de los descubrimientos más importantes es que el trabajo por turnos es un factor de riesgo independiente en el desarrollo de la obesidad. La industrialización ha dado lugar a la realización de actividades continuas de 24 horas. Esto ha causado un aumento en la proporción de la población que rutinariamente desempeña un trabajo por turnos, llegando a ser dicha proporción mayor del 20% de la población industrializada. Numerosos estudios epidemiológicos muestran que el trabajo por turnos está asociado con una mayor prevalencia de obesidad, hipertrigliceridemia, valores de HDL disminuidos, obesidad abdominal, diabetes y enfermedad cardiovascular. Además, se han encontrado resultados interesantes que relacionan los desórdenes del sueño ocasionados por el “jet-lag” con la obesidad.

Así, el “jet-lag”, aunque no es en sí mismo una enfermedad, es capaz de alterar la función normal del sistema circadiano. Es por ello, que el insomnio ocasionado por el “jet-lag” y/o el trabajo por turnos se relaciona con la obesidad y llega a representar importantes problemas sociales que necesitan asistencia médica. Otros estudios muestran la asociación entre la duración del sueño y el riesgo metabólico. Aquellos sujetos saludables que restringen a 4 horas la duración del sueño durante 6 noches consecutivas muestran una alteración en la tolerancia a la glucosa y una disminución de la respuesta de la insulina que tiene como consecuencia un aumento de la glucosa plasmática.

Quizás en un futuro no muy lejano, las recomendaciones dietéticas incluirán no sólo “qué” y “cómo” comer sino también “cuándo” debemos hacerlo. A lo largo de estas líneas trataremos de resumir los recientes descubrimientos en la cronobiología, y fisiopatología de la obesidad, realizados por nuestro grupo de investigación.

## UN RELOJ PERIFÉRICO EN EL TEJIDO ADIPOSO

En obesidad, el tejido protagonista es el tejido adiposo. El exceso de energía se acumula en este tejido, y cuando se produce una acumulación excesiva de grasa, hablamos de obesidad. Desde el punto de vista cronobiológico, el tejido

adiposo es un tejido periférico en el que se expresan genes reloj que juegan un papel fundamental en la fisiología del propio tejido, y en la fisiopatología de la obesidad. Estos genes reloj son capaces de regular la expresión rítmica de diversas sustancias bioactivas secretadas por el tejido adiposo como es la adiponectina, la leptina y la resistina, entre otras, y que afectan el metabolismo sistémico. Investigaciones recientes muestran la importancia que tiene el funcionamiento correcto de los genes reloj del tejido adiposo y el efecto de su desincronización en el desarrollo de ciertas enfermedades como es la obesidad.

En este contexto, la literatura científica actual está repleta de trabajos que proporcionan una revolución en el estudio de la biología del tejido adiposo. De hecho, muchos de los genes en el tejido adiposo muestran ritmicidad circadiana. Según estudios de microarrays aproximadamente el 25% en los seres humanos y el 50% en modelos animales de genes activos expresados en el tejido adiposo sigue un patrón diario rítmico y dependiendo del tejido, entre el 10-30% del total de genes, está controlado por el reloj circadiano molecular. Así, en un estudio realizado en plasma sanguíneo y saliva de humanos, se ha demostrado que aproximadamente el 15% de todos los metabolitos identificados están controlados por el sistema circadiano y este control es independiente del sueño y la alimentación.

En lo que se refiere a la obesidad es de crucial importancia la existencia de un reloj periférico en el tejido adiposo humano. En este sentido nuestro equipo de investigación ha descubierto que los genes reloj se expresan en diferentes localizaciones adiposas (visceral y subcutánea) en un momento determinado del día y que además esta expresión es dependiente del sexo. Además hemos demostrado que tanto los elementos negativos del reloj, *PER2* y *CRY1*, como los positivos, *CLOCK* y *BMAL1*, muestran ritmicidad circadiana en su expresión y oscilan independientemente del reloj central del organismo, del núcleo supraquiasmático (NSQ). De hecho, cuando se estudió la expresión de estos genes reloj del tejido adiposo en cultivo, es decir *ex vivo*, la ritmicidad circadiana perduró al menos durante dos ciclos circadianos después de la cirugía, lo que demuestra la existencia de un reloj periférico independiente del reloj central y capaz de actuar fuera del organismo, sin la influencia del NSQ. Los genes reloj en el tejido adiposo también pueden modular la expresión de otros genes, los denominados genes controlados por el reloj (CCG: del inglés "Clock Controlled Genes"), que no están directamente implicados en la maquinaria del reloj, pero son capaces de inducir la expresión de muchos genes diana. En este sentido nuestro propio grupo de investigación ha publicado que existen diferentes genes implicados en el metabolismo del

tejido adiposo que muestran expresión circadiana. La figura 1 representa la hora de máxima expresión de diferentes genes implicados en el metabolismo del tejido adiposo.



**Figura 1.** Orden temporal en el tejido adiposo humano, donde se muestra la hora máxima de expresión de los diferentes genes importantes en el metabolismo del tejido adiposo.

### HORARIO DE LAS COMIDAS COMO SINCRONIZADOR DEL RELOJ CIRCADIANO

El conocimiento del horario de comidas y su relación con la obesidad es un tema de rabiosa actualidad en la ciencia y en la sociedad del momento. Es interesante observar la persistencia de un patrón básico de "tres comidas al día" a través de diferentes culturas y diferentes épocas. Este patrón consiste en hacer tres tomas, una por la mañana, desayuno; otra al mediodía, comida; y otra por la noche, cena, aunque en ocasiones se incorporen otras dos tomas a media mañana y a media tarde. Es de destacar que este patrón se ha observado incluso en humanos completamente aislados del exterior a quienes se les permitía comer cuánto y cuándo quisieran. Así, prácticamente todos los sujetos estudiados eligieron comer tres veces al día a intervalos comparables a las que siguen en su vida cotidiana. De hecho, es bien sabido que un horario regular de comidas ayuda a mantener el orden temporal interno del sistema circadiano, pero la sociedad actual de 24 horas en la que vivimos hace que con frecuencia abandonemos estos patrones, no sólo por el trabajo a turnos y el *jet-lag*, sino también y sobre todo en jóvenes, debido las horas de estudio, de ocio y de placer, lo que se conoce como el "jet-lag social".

Desde el punto de vista fisiológico, una de las principales señales de apetito es el horario de la comida. A veces comemos en ciertos momentos del día simplemente porque es la hora de comer, sin sentir verdaderamente apetito.

Además, algunas obesidades se relacionan con ingestas específicas a ciertas horas del día. Así, nuestro grupo de investigación ha demostrado una asociación entre el acúmulo de grasa, en especial en el abdomen y la ingesta de grasas saturadas y azúcares simples, específicamente por la noche. Además este comportamiento alimentario se asocia con la variabilidad diaria del cortisol plasmático y con el grado de obesidad.

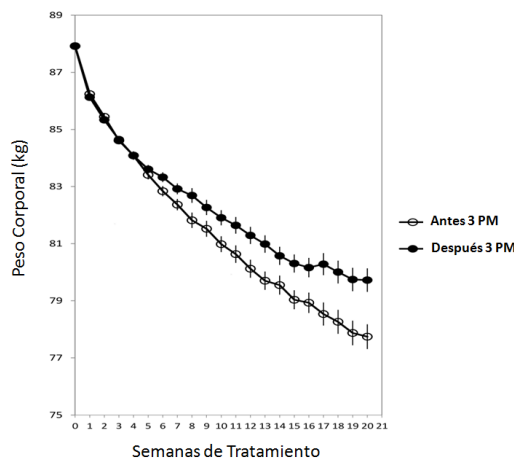
Paralelamente al incremento de la obesidad, en los últimos años la proporción de adultos que se salta el desayuno ha aumentado de un 14% a un 25%, lo cual plantea la cuestión de si podría haber una relación causal del horario de la comida en la obesidad. Así, durante años ha habido una creencia popular que defendía que saltarse el desayuno y trasladar la ingesta energética hacia la tarde-noche, suponía un aumento de la obesidad. Sin embargo, no ha sido hasta estos últimos años cuando la ciencia ha empezado a demostrar que el momento de la ingesta es un factor clave en la obesidad, independientemente de la ingesta calórica diaria.

Así, en el año 2009, los datos experimentales en animales mostraron que la inversión del ciclo de alimentación/ayuno, sin cambios en la ingesta calórica total, provocaba un aumento dramático de la ganancia de peso con una dieta de alto contenido graso, resultados que fueron confirmados en estudios posteriores usando diferentes modelos animales y diferentes diseños de estudio. También en el año 2009, datos experimentales en humanos en condiciones controladas de laboratorio (incluyendo una dieta isocalórica) mostraron que una inversión de 12-horas del ciclo ayuno/ayuno y el sueño/vigilia (comer durante la noche y ayunar durante el día) se acompañaba de una alteración de la tolerancia a la glucosa y una disminución de las concentraciones plasmáticas de la hormona de la saciedad, leptina.

Por otro lado, también cambios más sutiles en el horario de las comidas, es decir, en la distribución de la ingesta calórica durante un periodo normal de vigilia, parecía influir en el éxito de la terapia de la pérdida de peso. Por ejemplo, un reciente estudio experimental de 12 semanas de duración ha mostrado que los sujetos a los que se les asignaba una alta ingesta de calorías durante el desayuno (aprox. 700 kcal) perdían significativamente más peso que aquellos a los que se les asignaba un alto consumo de calorías durante la cena (también 700 kcal).

Un estudio que ha resultado de relevancia en este campo ha sido el estudio longitudinal realizado por nuestro grupo de investigación en colaboración con el grupo de sueño de la Universidad de Harvard, y publicado en 2013 en la

revista *International Journal of Obesity*. En él hemos demostrado que en España, el momento de la comida principal del día era predictivo de la pérdida de peso. En esta población, comer después de las tres de la tarde, resultaba en una pérdida de peso menor que la de aquellos que comían antes de las tres. Estos resultados se mostraron en 420 personas obesas y con sobrepeso durante una intervención dietética de 20 semanas y resultó que este efecto era independiente de la ingesta total de calorías (figura 2).



**Figura 2.** Evolución de pérdida de peso en comedores tempranos (antes de 15:00 h) y tardíos (después de 15:00 h) durante 20 semanas de tratamiento.

La importancia de este trabajo radica en que es el primer trabajo en demostrar que no sólo “qué” comemos sino también “cuándo” lo hacemos es decisivo en la pérdida de peso. Además, los resultados previos fueron sorprendentes ya que tanto los comedores tempranos (antes de las 15:00) como los tardíos (después) presentaron ingestas y gastos energéticos semejantes, lo que hace necesario encontrar una explicación metabólica a estos resultados, así como tratar de explicar su conexión con el horario del tejido adiposo, órgano a partir del cual se moviliza la grasa corporal en la pérdida de peso. El hecho de haber demostrado previamente la existencia de un reloj periférico en el tejido adiposo, en el que el horario de máxima expresión de los genes más relevantes difiere en los distintos momentos del día (figura 1) nos hace pensar que el horario de comida pueda afectar a la diferente movilización o acumulo de grasa en el tejido adiposo, y como consecuencia a la eficacia en la pérdida de peso.

Con el fin de profundizar en el mecanismo implicado en estos resultados, nuestro grupo de investigación ha llevado a cabo un estudio en mujeres sanas en el que se las sometía a

dos condiciones a) comer a las 13:00h y b) comer a las 16:30h, en ambas situaciones la dieta ingerida fue las mismas. Nuestros resultados preliminares muestran la existencia de cambios en el patrón circadiano de la temperatura corporal medida en la muñeca, con un aplanamiento del segundo armónico correspondiente a la hora de la siesta y también un aplanamiento del patrón de secreción de cortisol para la condición de comer tarde. Respecto a la tolerancia a la glucosa, comer tarde en la comida principal, resultó en un aumento del área bajo la curva en un 46% en comparación con EE, mostrando una menor tolerancia a la glucosa. Además comer tarde dio lugar a un cociente respiratorio menor, lo que indica una menor utilización de hidratos de carbono y también un menor gasto de energía que cuando se comía temprano.

#### **HORARIO DE LA ACTIVIDAD FÍSICA COMO SINCRONIZADOR DEL RELOJ CIRCADIANO**

Durante décadas se ha investigado el papel de la actividad física como sincronizador externo de nuestro sistema circadiano, así diversos trabajos realizados en los años 70 del pasado siglo, vinculaban la variación diurna de la presión arterial con la actividad física en humanos. Sin embargo, hasta hace poco se desconocía qué momento del día era el más adecuado para realizar actividad física con el fin de mantener una buena salud del sistema circadiano. En este sentido, nuestro grupo de investigación ha estudiado la influencia de la actividad física realizada por la mañana o por la tarde sobre la ritmicidad circadiana, mediante el estudio de la temperatura corporal, considerada un marcador para evaluar el ritmo circadiano y para identificar sus posibles trastornos.

Los participantes, todas ellas mujeres jóvenes, realizaron actividad física controlada (45 min de carrera continua) durante 7 días por la mañana y otra semana por la tarde (los resultados se compararon con una semana control en la que no se realizó actividad). Los resultados mostraron que, en base a los efectos observados en el ritmo circadiano, la realización de la actividad física intensa durante la noche podría no ser tan beneficioso como la actividad realizada durante la mañana.

#### **NUTRIGENÉTICA Y CRONOBIOLOGÍA**

La nutrigenética es una ciencia actual que se basa en la posible interacción entre genes y medio ambiente en relación a la obesidad u otras patologías asociadas a la nutrición. En general se acepta que las variantes comunes en genes candidatos para el metabolismo de lípidos, inflamación y

obesidad se asocian con valores plasmáticos alterados de biomarcadores clásicos y nuevos del síndrome metabólico.

En lo que se refiere al sistema circadiano fue en 2008, cuando Sookian y cols. y Scott y cols., publicaron por vez primera que las diferentes variantes del gen *CLOCK* se asociaban con obesidad, especialmente con la obesidad abdominal. Además, Scott y cols. (2008) confirmaron esta hipótesis al demostrar que la variante génica *CLOCK* podría desempeñar un papel en el desarrollo del síndrome metabólico, diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares.

Más tarde, nuestro propio grupo de investigación replicó estos datos en una población de norteamericana (*GOLDN*) y en una población Mediterránea del sudeste de España (*Spanish Weight Loss Population*) (*SWLP*). En ambas poblaciones, cuatro de los cinco polimorfismos de un solo nucleótido (*SNPs*) estudiados en el gen *CLOCK* se relacionaron con la obesidad, la obesidad abdominal y una mayor ingesta de energía. Por otra parte, los portadores del alelo menor (A) del *SNP* rs4580704 mostraron un riesgo disminuido (31% menor) de desarrollar diabetes y de padecer hipertensión (46% menor) que los no portadores.

En el estudio realizado en la población mediterránea española, la variación genética (C) en el *CLOCK* rs1801260, también llamado *CLOCK* 3111 T>C, se asoció con un aumento de obesidad y con una menor pérdida de peso. Además, la proporción de sujetos que dormía menos de 6 horas al día, fue mayor entre los sujetos portadores de la variante menor C de este polimorfismo que los no portadores (59% versus 41%). Es interesante la interacción observada entre las variantes del *CLOCK* y la composición en ácidos grasos de la dieta y de las membranas celulares. De hecho, se identificaron interacciones gen-dieta asociados al síndrome metabólico en el locus *CLOCK*. El efecto protector del alelo menor hacia la sensibilidad a la insulina sólo estaba presente cuando la ingesta de ácidos grasos monoinsaturados presentes en el aceite de oliva fue elevada. Estos resultados sugieren que la fuente dietética y el contenido graso de las membranas celulares están implicados en las alteraciones del sistema circadiano y síndrome metabólico.

#### **Otros polimorfismos del reloj circadiano**

Otros polimorfismos de genes reloj asociados con obesidad y con la conducta alimentaria son los descritos en el gen *PERIOD 2* (*PER2*). Diversos estudios han demostrado que los *SNPs* del *PER2* rs2304672C> G y rs4663302C> T se asocian con trastornos psicológicos, en especial depresión estacional

y trastorno bipolar. Esto nos llevó a estudiar si las conductas obesogénicas en pacientes con sobrepeso u obesidad se asociaban de igual manera con estas variantes génicas del *PER2*. Así, nuestros resultados mostraron que aquellos portadores del alelo menor del *PER2* rs2304672 presentaban una mayor obesidad abdominal, y comportamientos obesogénicos, con mayores tasas de abandono del tratamiento, de picoteo, de estrés por la dieta, se saltaban el desayuno y tendían a comer más cuando estaban aburridos, que los portadores del alelo mayor. La Figura 3 muestra las asociaciones entre las diferentes variantes genéticas en los genes reloj y la ingesta de energía y la obesidad.

Por otro lado, estas variantes genéticas en los genes reloj *CLOCK* y *PER2*, se asocian a su vez con la ingesta de energía (figura 3). Aunque su relación con la obesidad está modulada por la cantidad y tipo de grasa en la dieta. Sólo aquellos sujetos portadores del alelo de riesgo y que además ingerían una dieta alta en grasas saturadas presentaron obesidad. Sin embargo, cuando la ingesta de grasa era baja, tanto los portadores del alelo mayoritario, como los portadores del alelo de riesgo estaban delgados. Lo que demuestra que el efecto “negativo” de la variante genética sólo está presente cuando los hábitos alimentarios son inadecuados.

Nuestros resultados en *CLOCK* mostraron además que la variante rs1801260 (3111T>C) puede predecir el resultado de estrategias de reducción de peso basadas en dietas baja en energía. Así, los portadores del alelo C pueden presentar mayor grado de obesidad y más dificultad para perder peso con una dieta baja en energía. Esta dificultad para bajar de peso se observó a lo largo de todo el tratamiento, aunque fue más evidente a partir del tercer mes de tratamiento. Por último, en una publicación muy reciente hemos demostrado que la reducción del sueño, preferencias por la noche (cronotipo vespertino) y la ritmicidad circadiana de la temperatura corporal podrían estar implicados en la dificultad de pérdida de peso para el SNP *CLOCK* 3111T/C (figura 3). De hecho, la cronodisrupción se ha relacionado con una baja efectividad en los tratamientos de pérdida de peso.

Otros resultados de nuestro grupo muestran como una variante génica en *REV- ERB $\alpha$*  rs 2071427 se asocia con obesidad en dos poblaciones diferentes, una norteamericana y otra mediterránea. Este gen es considerado el nexo molecular entre el elemento positivo del reloj, que aumenta su actividad y que está constituido por el dímero *CLOCK* y *BMAL1*; y el elemento negativo (*PER* y *CRY*), que enlentece el funcionamiento del reloj. El interés de en *REV- ERB $\alpha$*  rs 2071427 radica en que su asociación con la obesidad se debe a una disminución de la actividad física, y no a un aumento de

la ingesta como sucede con la mayoría de los genes reloj. De hecho nuestros resultados son semejantes a los obtenidos en animales de experimentación que muestran que aquellos ratones que presentan una mutación en este gen, presentan una disminución en la movilidad locomotora espontánea. Otros resultados interesantes son los encontrados en *CRY1* rs2287161, elemento negativo del reloj central, cuyos ratones knock-out muestran alteraciones en la ritmicidad circadiana de este gen reloj en el hígado y como consecuencia fallos en el proceso de gluconeogénesis y en el metabolismo de glucosa.

Nosotros en humanos hemos demostrado en dos poblaciones independientes una interacción entre este polimorfismo *CRY1* rs2287161 y la ingesta de carbohidratos, para la resistencia a la insulina HOMA-IR. De hecho sólo aquellos individuos portadores del alelo de riesgo y que además toman exceso de carbohidratos presentan resistencia a la insulina. Mientras que si la ingesta de carbohidratos es baja, desaparece el riesgo en estos sujetos. Lo que demuestra la importancia de una dieta saludable, en especial en individuos con variantes génicas de riesgo.

#### RITMOS CIRCADIANOS Y PREDICCIÓN DE LA PÉRDIDA DE PESO

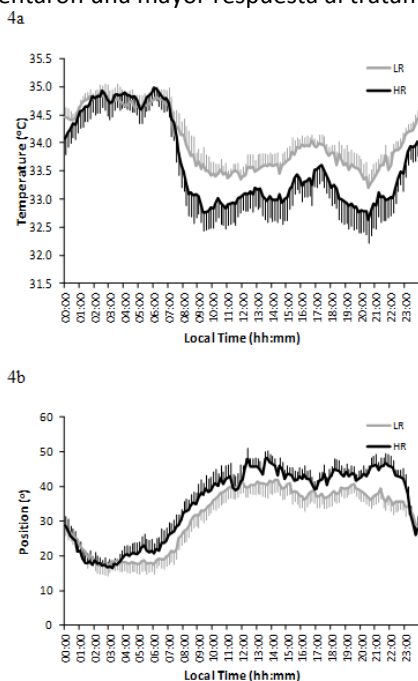
Actualmente uno de los mayores retos en los tratamientos de pérdida de peso es poder detectar factores predictores de éxito. El análisis de la interacción entre los genes, la dieta y los factores de comportamiento son actualmente algunas sugerencias tentadoras sobre la posibilidad de utilizar este enfoque como una herramienta para el éxito de dichos tratamientos. Debemos de ir hacia tratamientos personalizados. Por otro lado esta descrito que la genética está detrás de nuestra maquinaria circadiana. El polimorfismo del *CLOCK* 3111T/C se ha relacionado con anterioridad con obesidad y pérdida peso.

Con el fin de tener un mayor conocimiento sobre la relación entre los ritmos circadianos y la obesidad, nuestro grupo de investigación llevo a cabo los siguientes estudios: se determinó las posibles diferencias en la ritmicidad circadiana del polimorfismo *CLOCK* 3111T/C en mujeres con sobrepeso, mediante la evaluación de la temperatura periférica, actimetría y posición. Nuestros resultados mostraron que los pacientes con el alelo menor C presentaban alteraciones circadianas: menor amplitud y una mayor fragmentación del ritmo, un patrón circadiano menos estable, y una función circadiana debilitada significativamente, según la evaluación del índice de funcionalidad circadiana (CIF), en comparación con los sujetos TT, que mostraron perfiles del ritmo circadiano más robustos. Además los portadores C eran



menos activos, iniciando sus actividades más tarde en la mañana y presentando mayor somnolencia durante el día, mostrando una acrofase retrasada característica de los individuos vespertinos.

Posteriormente, nos planteamos si los ritmos circadianos podrían ser factores predictores de la efectividad de los tratamientos de pérdida de peso. Nuestros resultados mostraron que aquellos individuos menos respondedores a un tratamiento de pérdida de peso presentaban un patrón circadiano de temperatura periférica más aplanado, caracterizado por una menor amplitud, una mayor variabilidad intradiaria, y un índice de funcionalidad circadiana deteriorado, si los comparáramos con los individuos que presentaron una mayor respuesta al tratamiento (figura 4a). Además se encontraron diferencias significativas para los valores medios de la posición del cuerpo, presentando los bajos respondedores posiciones más tumbadas en comparación con aquellos individuos que presentaron una mayor respuesta al tratamiento (figura 4b).



**Figura 4.** Onda media de temperatura periférica (4a) y posición (4b). Datos obtenidos durante 8 días consecutivos. LR: bajos respondedores a la dieta; HR: altos respondedores a la dieta.

### LA EPIGENÉTICA Y LOS RITMOS CIRCADIANOS

La epigenética defiende que el código genético no es en sí mismo relevante en el fenotipo del individuo, sino que es la disposición en el espacio del ADN lo que hace que se expresen o no ciertos genes. Metilaciones en citosina en ciertas regiones del gen llamadas CPG (regiones del ADN donde el nucleótido de citosina se encuentra próximo al de guanina unidos por un fosfato), dan lugar a una especie de “gorros químicos” que la mayoría de las veces impiden la

expresión del gen. Lo interesante de estas metilaciones es que se producen incluso en la edad adulta, y que son consecuencia de la dieta y otras conductas. Luego si hacemos cambios en estas conductas podemos desmetilar/metilar ciertos genes y modular su expresión. La conexión entre la epigenética y la maquinaria del reloj surgió por primera vez con el estudio de Crosio y cols. quienes demostraron que la remodelación de la cromatina estaba involucrada en la expresión de los genes reloj. Estos autores mostraron que un pulso de luz, cuando se aplica a los ratones durante la noche, induce a la fosforilación de histonas en el núcleo supraquiasmático lo que implica una inducción de la traducción del gen PER1. Posteriormente, se ha indicado que las modificaciones de histonas en los promotores de genes controlados por el reloj ocurren de manera circadiana.

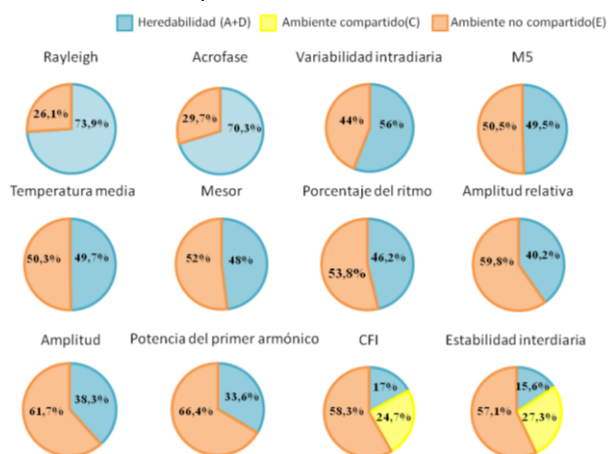
En este sentido, nuestro grupo de investigación ha demostrado por primera vez que el estado de metilación de sitios CpG (Citosina próximo a Guanina) localizados en los genes del reloj (CLOCK, BMAL1 y PER2) se asocia con el grado de obesidad, con las alteraciones propias del síndrome metabólico y con la pérdida de peso. Por ello, proponemos que el estado de metilación de los distintos sitios CpG en CLOCK y PER2 podría ser utilizado como biomarcador de éxito de pérdida de peso.

### HEREDABILIDAD DEL SISTEMA CIRCADIANO

Una vez demostrado la existencia de la asociación entre obesidad y diversas variantes de genes reloj, nos planteamos la pregunta de cuál sería la magnitud en la heredabilidad del sistema circadiano. De hecho, la alteración del sistema circadiano y su efecto sobre la salud humana es un tema emergente. Muchos estudios enlazan la cronodisrupción con patologías tales como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y la obesidad. En este sentido, el uso de modelos basados en gemelos para la evaluación de la heredabilidad del sistema circadiano es relevante para la investigación de la salud humana.

La contribución genética relativa, aditiva y no aditiva, y la de los factores ambientales compartidos y no compartidos, se puede estimar mediante modelos clásicos genéticos tales como el “modelo de ecuación estructural genético” (SEM). Para responder a nuestra pregunta, estudiamos 53 pares de gemelas 28 pares de monocigóticas y 25 dicigóticas (mellizas), y evaluamos su temperatura corporal mediante un registro continuo durante 7 días de su vida habitual. Los modelos genéticos apuntaron a una moderada a alta heredabilidad para la mayoría de los parámetros analizados, lo que sugiere una influencia genética relevante en los patrones circadianos.

Esta heredabilidad fue especialmente alta del 50 hasta un 74% en la acrofase, la estabilidad de la fase, lo que se puede traducir en que el hecho de ser matutino o vespertino, presenta un componente eminentemente genético. Sin embargo, otras características del ritmo de temperatura tales como la amplitud y la potencia del primer armónico, mostraron una tendencia no significativa a un efecto genético, siendo éste de menor magnitud, de entre el 33% y 40%. Otros factores como la estabilidad del ritmo entre los diferentes días de la semana (estabilidad interdiaria) presentaban un componente eminentemente ambiental. En la Figura 5 se representan las estimaciones generales de heredabilidad y el efecto ambiental de las diferentes variables estudiadas de la temperatura.



**Figura 5.** Estimaciones de heredabilidad y el efecto medioambiental generales para las diferentes variables estudiadas para la temperatura de la muñeca. Los gráficos circulares representan la contribución (porcentaje) de heredabilidad (A = factor genético aditivo + D = factores genéticos no aditivos), los factores ambientales compartidos (C) y los factores ambientales no compartidos (E) de las diferentes variables. CFI: Índice de Función Circadiano, M5: cinco horas de máxima temperatura. Las variables se ordenan de mayor a menor heredabilidad.

Con estos resultados podríamos asumir que, la práctica clínica podría ser útil, centrar esfuerzos en la modificación de los parámetros que dependen principalmente de las condiciones ambientales tales como la amplitud y la estabilidad interdiaria con el fin de mejorar la salud circadiana del paciente. Sin embargo, es importante observar que parámetros de temperatura relevantes tales como la fase, la estabilidad de fase del ritmo, la temperatura media y la variabilidad dentro de cada día (intradía) muestran influencias genéticas, aunque siguen siendo dependientes del medio ambiente y, por lo tanto, susceptibles de cambio a través de intervenciones externas. La presencia de estos factores genéticos apunta hacia la endogeneidad como la causa principal de la coincidencia de los ritmos de temperatura entre las hermanas monogámicas. Por lo que investigaciones futuras deberían basarse en estas conclusiones para identificar bases genéticas y tipos de

intervención relacionadas con la salud cronobiológica.

## EN CONCLUSIÓN

Los resultados de nuestro grupo muestran la asociación existente entre alteraciones del sistema circadiano y la obesidad. Cambios en los horarios de sincronizadores externos del reloj circadiano, tales como el horario de comida y de actividad física, pueden mejorar nuestra salud circadiana. De hecho los horarios de comida pueden ser factores predictores de éxito en los tratamientos dietéticos de la obesidad. Una causa posible de cronodisrupción es el fallo en los genes reloj, la presencia de ciertas variantes génicas en nuestro reloj circadiano se asocian con la obesidad o con la resistencia a la pérdida de peso. De hecho los modelos genéticos en gemelas muestran que la salud del sistema circadiano presenta un componente genético relevante (40-70%), aunque algunos parámetros están asociados con factores ambientales por lo que pueden ser modificados en la práctica clínica. Las nuevas ideas de nutrigenética muestran que aunque el código genético no es susceptible de ser modificado, el seguimiento de unas pautas dietéticas saludables puede conseguir que los efectos negativos de ciertas variantes génicas no afecten a nuestra salud. Más aún, las nuevas ideas de epigenética muestran que podemos modificar la expresión de nuestros genes con la conducta. En definitiva, aunque ciertas personas pueden presentar una predisposición genética a la cronodisrupción y a la obesidad, es importante resaltar que estas personas no están predestinadas, que si conseguimos que realicen ciertos cambios en su conducta podrán cambiar su destino, lo que abre una nueva y esperanzadora vía en el tratamiento de la obesidad.

## REFERENCIAS

Rubio-Sastre P, Gómez-Abellán P, Martínez-Nicolas A, Ordovás JM, Madrid JA, Garaulet M. Evening physical activity alters wrist temperature circadian rhythmicity. *Chronobiol Int.* 2014 Mar;31(2):276-82.

Bandín C, Martínez-Nicolas A, Ordovás JM, Madrid JA, Garaulet M. Circadian rhythmicity as a predictor of weight-loss effectiveness. *Int J Obes (Lond).* 2013 Nov 15.

Garaulet M, Smith CE, Gomez-Abellán P, Ordovás-Montañés M, Lee YC, Parnell LD, Arnett DK, Ordovás JM. REV-ERB-ALPHA circadian gene variant associates with obesity in two independent populations: Mediterranean and North American. *Mol Nutr Food Res.* 2014 Apr; 58(4):821-9.

Garaulet M, Gómez-Abellán P, Albuquerque-Béjar JJ, Lee YC, Ordovás JM, Scheer FA. Timing of food intake predicts weight loss effectiveness. *Int J Obes (Lond).* 2013 Apr; 37(4):604-11.

Gómez-Abellán P, Díez-Noguera A, Madrid JA, Luján JA, Ordovás JM, Garaulet M. Glucocorticoids affect 24 h clock genes expression in human adipose tissue explant cultures. *PLoS One.* 2012; 7(12):e50435.

- Bandín C, Martínez-Nicolas A, Ordovás JM, Ros Lucas JA, Castell P, Silvente T, Madrid JA, Garaulet M. Differences in circadian rhythmicity in CLOCK 3111T/C genetic variants in moderate obese women as assessed by thermometry, actimetry and body position. *Int J Obes (Lond)*. 2013 Aug; 37(8):1044-50.
- Milagro FI, Gómez-Abellán P, Campión J, Martínez JA, Ordovás JM, Garaulet M. CLOCK, PER2 and BMAL1 DNA methylation: association with obesity and metabolic syndrome characteristics and monounsaturated fat intake. *Chronobiol Int*. 2012 Nov; 29(9):1180-94.
- Gómez Abellán P, Gómez Santos C, Madrid JA, Milagro FI, Campion J, Martínez JA, Luján JA, Ordovás JM, Garaulet M. Site-specific circadian expression of leptin and its receptor in human adipose tissue. *Nutr Hosp*. 2011 Nov-Dec; 26(6):1394-401.
- Garaulet M, Esteban Tardido A, Lee YC, Smith CE, Parnell LD, Ordovás JM. SIRT1 and CLOCK 3111T> C combined genotype is associated with evening preference and weight loss resistance in a behavioral therapy treatment for obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2012 Nov;36(11):1436-41.
- Garaulet M, Smith CE, Hernández-González T, Lee YC, Ordovás JM. PPAR $\gamma$  Pro12Ala interacts with fat intake for obesity and weight loss in a behavioural treatment based on the Mediterranean diet. *Mol Nutr Food Res*. 2011 Dec; 55(12):1771-9.
- Gómez-Abellán P, Madrid JA, Luján JA, Frutos MD, González R, Martínez-Augustín O, de Medina FS, Ordovás JM, Garaulet M. Sexual dimorphism in clock genes expression in human adipose tissue. *Obes Surg*. 2012 Jan; 22(1):105-12.
- Garaulet M, Ordovás JM, Gómez-Abellán P, Martínez JA, Madrid JA. An approximation to the temporal order in endogenous circadian rhythms of genes implicated in human adipose tissue metabolism. *J Cell Physiol*. 2011 Aug; 226(8):2075-80.
- Garaulet M, Sánchez-Moreno C, Smith CE, Lee YC, Nicolás F, Ordovás JM. Ghrelin, sleep reduction and evening preference: relationships to CLOCK 3111 T/C SNP and weight loss. *PLoS One*. 2011 Feb 28;6(2):e17435.
- Garaulet M, Corbalán-Tutau MD, Madrid JA, Baraza JC, Parnell LD, Lee YC, Ordovás JM. PERIOD2 variants are associated with abdominal obesity, psycho-behavioral factors, and attrition in the dietary treatment of obesity. *J Am Diet Assoc*. 2010 Jun; 110(6):917-21.
- Garaulet M, Corbalán MD, Madrid JA, Morales E, Baraza JC, Lee YC, Ordovás JM. CLOCK gene is implicated in weight reduction in obese patients participating in a dietary programme based on the Mediterranean diet. *Int J Obes (Lond)*. 2010 Mar;34(3):516-23.
- Garaulet M, Lee YC, Shen J, Parnell LD, Arnett DK, Tsai MY, Lai CQ, Ordovás JM. Genetic variants in human CLOCK associate with total energy intake and cytokine sleep factors in overweight subjects (GOLDN population). *Eur J Hum Genet*. 2010 Mar; 18(3):364-9.
- Gómez-Abellán P, Gómez-Santos C, Madrid JA, Milagro FI, Campion J, Martínez JA, Ordovás JM, Garaulet M. Circadian expression of adiponectin and its receptors in human adipose tissue. *Endocrinology*. 2010 Jan; 151(1):115-22.
- Garaulet M, Lee YC, Shen J, Parnell LD, Arnett DK, Tsai MY, Lai CQ, Ordovás JM. CLOCK genetic variation and metabolic syndrome risk: modulation by monounsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr*. 2009 Dec; 90(6):1466-75.
- Gómez-Santos C, Gómez-Abellán P, Madrid JA, Hernández-Morante JJ, Luján JA, Ordovás JM, Garaulet M. Circadian rhythm of clock genes in human adipose explants. *Obesity (Silver Spring)*. 2009 Aug;17(8):1481-5.