



<https://doi.org/10.24245/mim.v38i3.7079>

# Relojes circadianos y ayuno prolongado: potencial terapéutico en el tratamiento de las enfermedades metabólicas

## Circadian clocks and prolonged fasting: Therapeutic potential in the treatment of metabolic diseases.

María Fernández-De La Torre,<sup>1</sup> Paola Hernández-Díaz,<sup>1</sup> Julio Aspe-Viñolas,<sup>1</sup> Miguel Ahumada-Ayala<sup>1,2</sup>

### Resumen

Los ritmos circadianos son fenómenos biológicos que se repiten de forma cíclica cada 24 horas, en sincronía con el movimiento rotatorio de la Tierra. Son responsables de la armonía de diversas funciones fisiológicas y permiten conservar la homeostasia anticipando la respuesta metabólica ante diversos eventos recurrentes. Los osciladores circadianos son regulados por mecanismos genéticos intracelulares. El reloj circadiano central se encuentra en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo y está en sincronía con los relojes circadianos periféricos, localizados en el resto de los tejidos. Existen señales externas denominadas gatillos o *zeitgebers*, que permiten la sincronización y armonía de los relojes circadianos. El *zeitgeber* principal del reloj central es la alternancia de los periodos de luz/oscuridad. Mientras que el horario y composición de los alimentos, los periodos de sueño y la actividad física son *zeitgebers* con acción predominante sobre los relojes periféricos. El estilo de vida moderno, con el incremento del uso de las pantallas electrónicas emisoras de luz azul, los horarios laborales nocturnos, las dietas altas en grasa y los patrones irregulares en los horarios de alimentación puede interferir con la correcta alineación de los relojes circadianos. La desincronía circadiana crónica participa en la patogénesis de las enfermedades metabólicas, como la diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión arterial sistémica, el síndrome metabólico y la obesidad. El ayuno nocturno prolongado es una herramienta para ajustar los relojes circadianos. Una ventana de alimentación reducida, con periodos de ingesta calórica regular, permite una respuesta metabólica oportuna en óptima sincronía con los relojes circadianos. El alineamiento de los relojes circadianos es un instrumento coadyuvante potencial para prevenir y tratar las enfermedades metabólicas.

**PALABRAS CLAVE:** Relojes circadianos; ritmos circadianos; enfermedades metabólicas.

### Abstract

Circadian rhythms are biological phenomena, occurring in almost all living species, which are cyclically repeated every 24 hours, in synchrony with earth rotation. They provide rhythmicity to many physiological functions and make it possible to anticipate the most appropriate metabolic response to recurrent events, while maintaining homeostasis. Circadian rhythms are controlled by sophisticated intracellular molecular mechanisms. The central or master clock is located in the suprachiasmatic nuclei and it is synchronized with the peripheral clocks located in most other tissues. There are external clues or *zeitgebers*, that allow the synchronization and harmony of circadian clocks. The main *zeitgeber* of the central clock are the light-dark periods. While the composition and schedule of the diet, sleep periods, and physical activity are *zeitgebers* acting mainly on peripheral clocks. Modern lifestyle characterized by increased use of electronic screens emitting blue-light, night-time working shifts, high-fat diets,

<sup>1</sup> Departamentos de Medicina y Bioquímica. Facultad Mexicana de Medicina, Universidad La Salle, Ciudad de México.

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Interna y Endocrinología, Hospital Ángeles Pedregal, Ciudad de México.

**Recibido:** 16 de noviembre 2021

**Aceptado:** 29 de noviembre 2021

### Correspondencia

Miguel Ahumada Ayala  
ahumadam1@hotmail.com

### Este artículo debe citarse como:

Fernández-De La Torre M, Hernández-Díaz P, Aspe-Viñolas J, Ahumada-Ayala M. Relojes circadianos y ayuno prolongado: potencial terapéutico en el tratamiento de las enfermedades metabólicas. Med Int Méx 2022; 38 (3): 649-664.

and irregular eating patterns may directly interfere with the harmonious functioning of circadian clocks. Chronic circadian desynchrony is possibly involved in the pathogenesis of metabolic diseases such as type 2 diabetes mellitus, systemic hypertension, metabolic syndrome and obesity. Prolonged nocturnal fasting can be used as a tool for adjusting circadian clocks, a reduced feeding-time window with regular caloric intake allow a timely metabolic response which is in synchrony with circadian genes. Aligning of circadian clocks represents a potential ancillary method for preventing and treating metabolic diseases.

**KEYWORDS:** Circadian clocks; Circadian rhythms; Metabolic diseases.

## LOS RELOJES CIRCADIANOS

En la naturaleza existen numerosos fenómenos biológicos que se repiten en ciclos de aproximadamente 24 horas, se dice que estos procesos tienen un ritmo circadiano. Su nombre deriva del latín *circa*, alrededor y *diem*, día, alrededor del día.<sup>1</sup> Los eventos circadianos se observan en la mayoría de las especies y están determinados por el movimiento rotatorio de la Tierra.<sup>1</sup> Varios factores ambientales determinan la sincronización de estos ritmos circadianos fisiológicos y metabólicos.

El factor principal que regula estos ciclos es la alternancia de luz-oscuridad del día y la noche. En contraste con las respuestas fisiológicas reactivas que ocurren ante estímulos esporádicos, el objetivo principal de los ciclos circadianos es permitir al cuerpo humano anticipar los sucesos recurrentes cada 24 horas, para que coincidan con ajustes fisiológicos oportunos que permitan mantener la homeostasia metabólica y energética.<sup>2</sup>

Los ritmos circadianos se controlan por un reloj central y por una serie de relojes periféricos tejido-específicos. El reloj central, también conocido como reloj maestro,<sup>3</sup> está en los dos

núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo anterior, cada uno está conformado por aproximadamente 10,000 neuronas.<sup>1,4</sup> Estos núcleos se encuentran arriba del quiasma óptico y reciben información de vías aferentes originadas en los fotorreceptores (conos y bastones) y las células ganglionares de la retina. Estas células secretan melanopsina, un fotopigmento que interpreta la luz azul convirtiéndola en un estímulo nervioso.<sup>5</sup>

Aunque los eventos circadianos son conocidos desde hace muchos años, no se habían descrito los mecanismos a través de los cuales se controla su ciclicidad. La descripción de la biología molecular de los procesos que determinan los ritmos circadianos, a partir de estudios realizados en la mosca de la fruta, por Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash y Michael W Young, fue reconocida con el premio Nobel de Fisiología y Medicina en 2017.<sup>6</sup> Los procesos circadianos se correlacionan con variaciones en la transcripción de varios genes circadianos y de la traducción de sus correspondientes proteínas en ciclos de aproximadamente 24 horas. Los osciladores circadianos están dentro de las células individuales y tienen la capacidad de responder de forma específica a señales externas, permitiendo armonizar fenómenos fisiológicos, como los patrones de sueño, la temperatura corporal, la



liberación hormonal, la presión arterial y las vías metabólicas.

### Reloj central

El reloj central está integrado por un grupo de genes, en conjunto denominados CLOCK (de las siglas en inglés *Circadian Locomotor Output Cycles Kaput*). El primero de estos genes fue descrito en la mosca de la fruta *Drosophila*<sup>7</sup> y se denominó gen PER (*Period*). Los genes circadianos codifican proteínas que actúan como factores de transcripción y que tienen la capacidad de reprimir su propia transcripción estableciendo varios circuitos de retroalimentación negativa. Durante la mañana las proteínas CLOCK y BMAL1 (*Brain and Muscle ARNT-Like 1*) forman un heterodímero que se une a una secuencia de ADN llamada caja E, que está en la región promotora de los genes que codifican para las proteínas PER, CRY (*Cryptochrome*), REV-ERB $\alpha$  (*Nuclear receptor subfamily 1 group D member*) y ROR- $\alpha$  (*RAR-related orphan receptor alpha*). Esto resulta en la producción de mayor cantidad de estas proteínas en la etapa diurna y se considera la “rama positiva” del asa de retroalimentación genética. Durante la tarde y las primeras horas de la noche las proteínas PER y CRY se asocian, formando un heterodímero y son fosforiladas por las enzimas caseína cinasa (CKI) y AMP cinasa (AMPK). Una vez fosforiladas, estas proteínas pueden ingresar al núcleo y unirse a CLOCK y BMAL1 inhibiéndolas, integrando la “rama negativa” de las asas primarias de retroalimentación de los genes circadianos, mediante la cual PER y CRY inhiben su propia transcripción. Durante la madrugada PER y CRY son dirigidas hacia su degradación proteosomal dependiente de ubiquitina, de manera que al eliminar la represión de los genes reloj se da inicio a un nuevo ciclo circadiano.<sup>8-14</sup> **Figura 1A**

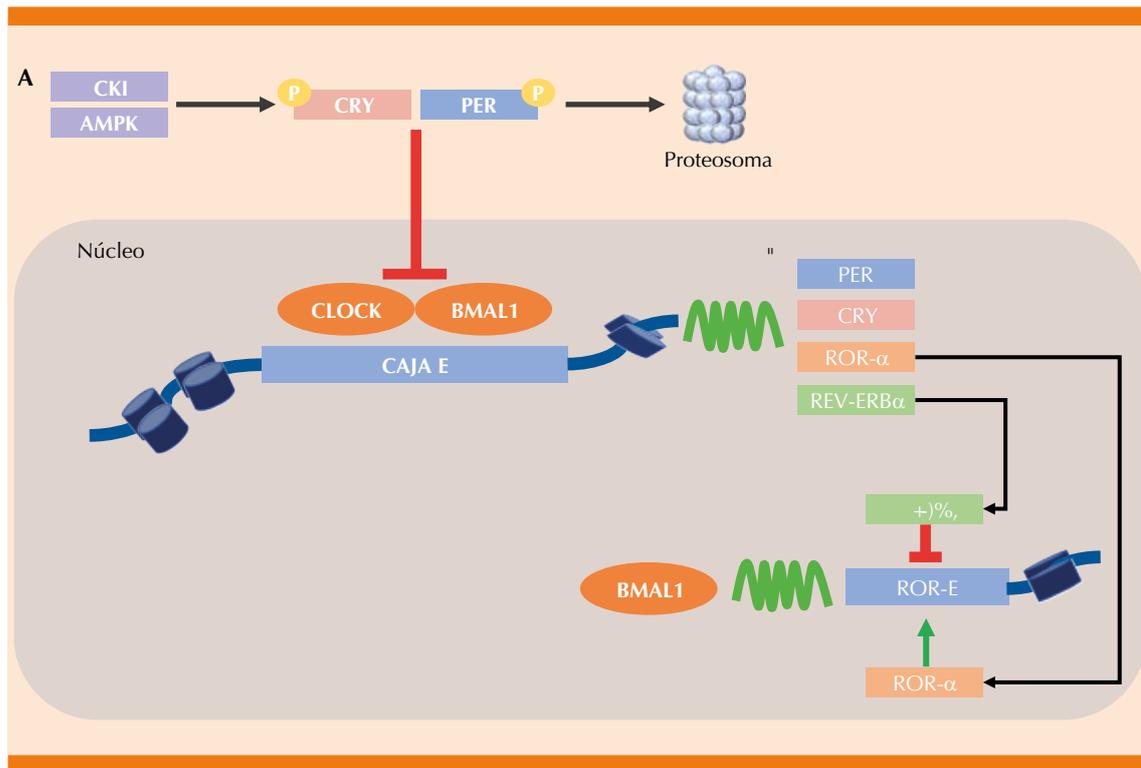
Además de las asas primarias, existen asas y mecanismos secundarios de regulación de los genes del

reloj central. La transcripción del gen BMAL1 es regulado negativamente por el represor REV-ERB $\alpha$  y positivamente por ROR- $\alpha$ . Estas proteínas compiten para unirse al elemento regulatorio RORE (*ROR response elements*) que es una secuencia genómica que regula la transcripción del RNAm de la proteína BMAL1<sup>15</sup> (**Figura 1B**). También se han descrito modificaciones postraduccionales de las proteínas del reloj central que pueden regular su propia transcripción, como la desacetilación de BMAL1 o PER2 a través de Sirtuina 1 (SIRT1).<sup>13</sup> Los genes de los relojes circadianos también son susceptibles a modificaciones epigenéticas (modificaciones covalentes del ADN o sus histonas que pueden resultar en la activación o inhibición de su transcripción).<sup>16</sup> **Figura 2**

La actividad de estos relojes circadianos es fuertemente influenciada por eventos relacionados con la rotación de nuestro planeta sobre su propio eje, estableciendo un ciclo constante y repetitivo de luz-oscuridad que determina a su vez el ritmo sueño-vigilia. Los eventos externos que dan las señales a los genes osciladores internos se han llamado *zeitgebers* o gatillos. El principal *zeitgeber* del reloj central es la luz, que tiene efecto en los fotorreceptores retinianos que transmiten esta información como estímulos nerviosos a los núcleos supraquiasmáticos. Estos núcleos envían información por vías nerviosas y humorales a prácticamente todos los tejidos corporales que están dotados de relojes periféricos tejido-específicos.<sup>17</sup>

Directamente derivado del *zeitgeber* principal, existen otros activadores del reloj central y de los relojes periféricos, por ejemplo, la ingesta de alimentos que requiere el estado de vigilia y determina un ritmo para los eventos metabólicos y hormonales que ocurren en el posprandio, la etapa posabsortiva y el ayuno.<sup>17</sup>

A diferencia del efecto “reactivo” a la ingesta de alimentos, como es la liberación de insuli-



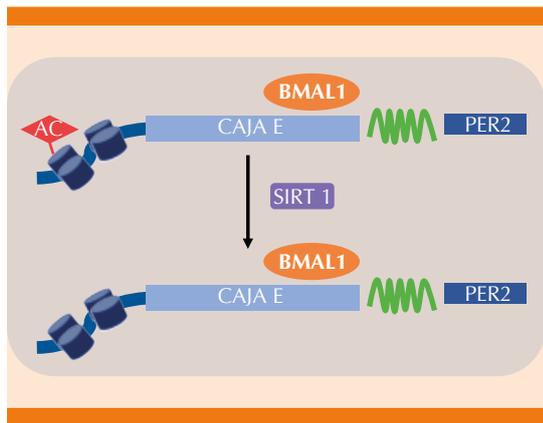
**Figura 1. A.** Reloj central: asa primaria: durante la mañana CLOCK y BMAL1 se asocian formando un heterodímero que se une a la caja reguladora E, que es una secuencia de ADN de la región promotora que codifica para las proteínas PER, CRY, REV-ERB $\alpha$  y ROR- $\alpha$ . Esto activa la transcripción de los ARN mensajeros correspondientes y la traducción de estas proteínas. En la tarde PER y CRY se asocian y son fosforiladas por CKI y AMPK. El fósforo añadido les permite ingresar al núcleo y unirse a CLOCK y BMAL1 resultando en la inhibición de las mismas. Esto bloquea la producción de estas proteínas completando un asa de retroalimentación negativa. Durante la madrugada PER y CRY son dirigidas a la degradación proteosómica dependiente de ubiquitina, preparando la maquinaria de estos genes para repetir el ciclo al día siguiente. **B.** Reloj central: asa secundaria: la secuencia RORE que facilita la transcripción de BMAL1 es regulada en forma competitiva por un represor REV-ERB $\alpha$  y un estimulador ROR $\alpha$ . El balance entre estas dos proteínas determina la actividad de RORE y consecuentemente la producción de BMAL1.

CLOCK: *Circadian Locomotor Output Cycles Kaput*; BMAL1: *Brain and Muscle ARNT-Like*; PER: *Period*; CRY: *Cryptochrome*; CKI: *Caseína cinasa*; REV-ERB $\alpha$ : *nuclear receptor subfamily 1 group D member 1*; ROR- $\alpha$ : *RAR-related orphan receptor alpha*; RORE: *ROR response elements*.

na, los relojes circadianos pueden anticipar los eventos que ocurren cada 24 horas en nuestra vida cotidiana, preparando a nuestro organismo metabólica y hormonalmente para responder apropiadamente a las demandas diferentes de cada una de estas etapas.

### Relojes periféricos

El reloj central es capaz de enviar señales humorales y nerviosas para modificar la actividad de ciertos genes, ubicados en prácticamente todos los tejidos, que son llamados relojes periféricos y



**Figura 2.** Existe un nivel adicional en la regulación de los genes del reloj central, a través de modificaciones postraduccionales de las proteínas implicadas, que pueden modificar su propia transcripción. El mecanismo más estudiado es la desacetilación de BMAL1 o PER2 por SIRT1. SIRT1: sirtuina 1.

que responden a la información procedente del reloj central, con modificaciones circadianas en los procesos de transcripción y traducción de un elevado porcentaje de su proteoma. La sincronía de los *zeitgebers* con los relojes centrales y periféricos permite que éstos trabajen en armonía para anticipar y regular los procesos metabólicos.

Cualquier distorsión de las actividades previstas por los relojes circadianos ocasionaría la desalineación y potencial pérdida de eficiencia de las actividades fisiológicas o metabólicas, como ocurre en los trabajos de guardia nocturna, el cambio de husos horarios en viajes intercontinentales (*jet lag*), las variaciones en la composición o en el horario de la alimentación y las modificaciones del horario de las actividades físicas o ejercicio. La pérdida de la armonía de los genes circadianos centrales o periféricos puede facilitar la aparición de trastornos metabólicos, como la obesidad, la resistencia insulínica, la diabetes mellitus tipo 2, la dislipidemia y los estados proinflamatorios.<sup>1</sup>

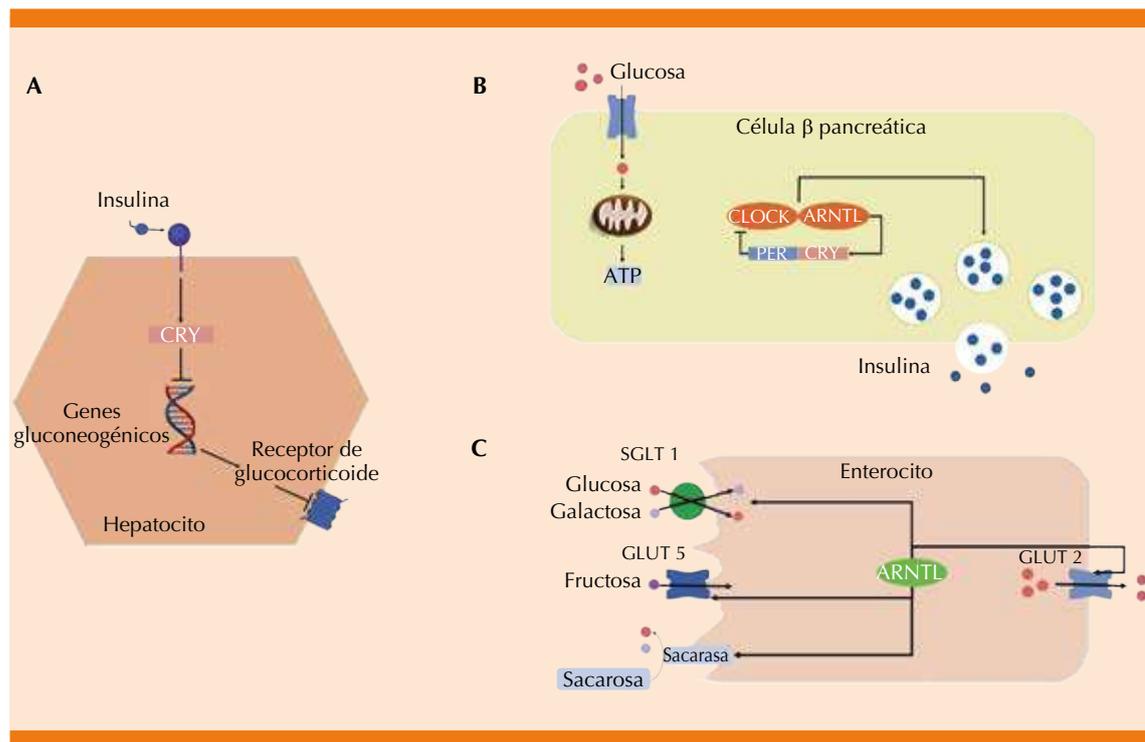
A continuación, enumeramos algunos de los principales eventos con inducción circadiana en los relojes periféricos. **Figura 3**

### Reloj periférico hepático

La función principal del reloj circadiano hepático es mantener la euglucemia y la actividad lipogénica de forma apropiada a las circunstancias externas, que dependen en gran medida de los ciclos luz-oscuridad y sueño-vigilia. El contenido calórico de la dieta es uno de los principales *zeitgebers* de este reloj periférico. Los alimentos con alto contenido energético se metabolizan de manera más eficiente durante la mañana, debido principalmente a la activación de las vías metabólicas dependientes de insulina. En esta misma etapa los genes gluconeogénicos resultan inhibidos por la interacción de la proteína CRY con el receptor de glucocorticoides acoplado a la proteína G.<sup>18,19</sup> Resulta evidente que las alteraciones en la composición de la dieta o del horario de alimentación pueden perturbar la sincronía de los relojes circadianos y el procesamiento metabólico.

### Reloj periférico muscular

El músculo esquelético exhibe un ritmo circadiano en la expresión de diversas proteínas que están implicadas directamente con su actividad metabólica. La máxima capacidad oxidativa en las mitocondrias musculares ocurre durante la tarde y disminuye considerablemente por la noche.<sup>20</sup> Este mismo ritmo se observa en cuanto a su sensibilidad a la insulina, que es mayor durante el día que durante la noche. Están en desarrollo numerosos estudios destinados a utilizar los conocimientos derivados de los relojes circadianos para establecer el horario óptimo para realizar actividades físicas y su posible efecto terapéutico.<sup>21</sup>



**Figura 3.** Relojes periféricos. **A.** Hepático: regula la glucemia y la actividad lipogénica para sincronizarlas con los ritmos circadianos (luz-oscuridad; posprandio y ayuno). Los genes gluconeogénicos son inhibidos por la proteína CRY que se une al receptor de glucocorticoides acoplado a proteínas G. **B.** Pancreático: recibe información proveniente del reloj central del núcleo supraquiasmático. Los genes CLOCK y BMAL1, presentes durante el día, se encargan de la activación de la biosíntesis, transporte y secreción de la insulina. **C.** Intestinal: su principal *zeitgeber* es la ingesta de alimentos. El gen principal es ARNTL, que regula la expresión de los transportadores de los carbohidratos. ARNTL: *Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1*.

### Reloj periférico intestinal

El reloj circadiano intestinal está localizado en las células de la mucosa intestinal.<sup>22,23</sup> Su principal gatillo o *zeitgeber* es la ingesta de alimentos y tiene como objetivo regular la motilidad intestinal y la absorción de nutrientes.<sup>24</sup> El análogo del gen BMAL1 del oscilador circadiano en la mucosa intestinal es el gen ARNTL que funciona como su reloj periférico. Su principal función parece ser regular la expresión de los transportadores intestinales de los carbohidratos, de esta manera el intestino puede adecuar su capacidad de absorción con la etapa en la que se espera que haya mayor la ingesta de nutrientes.<sup>25</sup>

### Reloj periférico pancreático

La actividad del páncreas endocrino también está sometida a la regulación por un reloj periférico circadiano que recibe información proveniente del reloj central del núcleo supraquiasmático. Los estudios en modelos murinos han demostrado que existe un ritmo circadiano de la secreción de insulina,<sup>26</sup> que es independiente de la respuesta reactiva de las células beta a los secretagogos habituales de la insulina. Los genes CLOCK y BMAL1 presentes durante el día se encargan de la activación de la biosíntesis, transporte y secreción de la insulina.<sup>27,28,29</sup> El reloj circadiano pancreático permite, al igual que el



hepático, procesar mayor número de nutrientes durante las primeras horas de la mañana y es menos eficiente durante el horario nocturno, estos datos sustentan la prescripción de dietas basadas en el ayuno nocturno prolongado.

### EFFECTOS DE LA DISRUPCIÓN CIRCADIANA EN EL METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS

Los relojes circadianos tienen una influencia importante en el metabolismo lipídico, ya que determinan, al igual que en el caso de otros nutrientes, el ritmo de la absorción, síntesis y oxidación de estos metabolitos. La regulación circadiana del metabolismo de los lípidos en el hígado se ha estudiado en especies murinas en las que se ha demostrado que al inicio de la noche se promueve la oxidación de los ácidos grasos.<sup>30</sup>

El metabolismo lipídico exhibe un patrón rítmico y se ve afectado seriamente cuando se propicia pérdida de la armonía circadiana, este desalineamiento puede conducir a esteatosis hepática. En modelos murinos, cuya fase de mayor actividad se da en la noche, se observó la expresión de PPAR $\alpha$ /PGC-1 (*Peroxisome proliferator-activated receptor alpha/Activated Receptor  $\gamma$  Coactivator-1*) al inicio de la ingesta calórica nocturna, lo que prepara metabólicamente al animal con la energía suficiente para los requerimientos de la fase de mayor actividad física.<sup>31</sup> El regulador metabólico PGC-1 $\alpha$  se expresa de forma circadiana y coactiva a los genes de la familia ROR, por lo que su papel en la transcripción de genes de los relojes periféricos es esencial para mantener su ritmicidad. Los hepatocitos aislados con ausencia de PGC1- $\alpha$  sufrieron disfunción en sus funciones autonómicas, ritmos metabólicos y regulación de la temperatura.<sup>32</sup>

En modelos murinos, algunas enzimas implicadas en la síntesis de colesterol y ácidos biliares, como la 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A

reductasa (HMGCoA) y la enzima colesterol 7 $\alpha$ -hidroxilasa (CYP7A1), son reguladas al alza por los relojes circadianos, principalmente en el periodo correspondiente a la máxima ingesta de alimentos.<sup>32</sup>

El reloj periférico del tejido adiposo blanco armoniza los procesos de lipólisis-lipogénesis para que su actividad sea congruente con los periodos de ingesta o restricción del alimento. Es así como la lipólisis se activa durante la restricción del alimento, en contraste, las enzimas lipogénicas se activan durante los periodos de mayor ingesta de nutrientes.

La interrupción del ritmo circadiano secundario a la ingesta de alimentos fuera de horario ocasiona la disfunción en el manejo de los nutrientes lipídicos,<sup>33</sup> lo cual puede generar hipertriglicéridemia, ya que se pierde la sincronía entre la ingesta de grasa y la capacidad de metabolizar eficientemente sus componentes.

Las personas con patrones de sueño irregular, como los que trabajan por guardias nocturnas, son más susceptibles a padecer dislipidemia, estas personas, además de tener un periodo de sueño alterado, también suelen consumir alimentos durante la noche, lo que puede ocasionar incremento de los triglicéridos y ácidos grasos libres en plasma.<sup>33,34</sup>

Por otro lado, el reloj periférico del tejido adiposo blanco también es regulado por genes CLOCK, esto se ha demostrado para la lipasa sensible a hormonas que es una enzima crítica en la regulación de la lipólisis.<sup>35</sup> En el reloj periférico del tejido adiposo blanco, la lipólisis tiene su mayor actividad durante el periodo de restricción de alimentos y, en cambio, la capacidad máxima de la síntesis de los ácidos grasos y de los triglicéridos ocurre en el periodo de ingesta de alimentos. La lipogénesis es estimulada durante la etapa diurna.<sup>30</sup>

Los periodos de alimentación-ayuno funcionan como *zeitgebers*<sup>17</sup> de los relojes periféricos, en consecuencia, las personas con patrones de alimentación y sueño irregulares pueden ser más susceptibles a padecer dislipidemia, obesidad, intolerancia a carbohidratos o diabetes mellitus tipo 2.

### Efectos de la interrupción circadiana en el metabolismo de los carbohidratos

La tolerancia a la glucosa y la secreción de insulina están reguladas predominantemente por relojes periféricos, que son más activos al inicio del día y muestran tendencia a disminuir al finalizar la luz diurna. La mayor capacidad de sintetizar y secretar insulina es anticipada para el día, mientras que el nadir de su secreción se da durante la noche.

La irregularidad circadiana puede ocasionar resistencia insulínica, como se ve en trabajadores con turnos laborales nocturnos o en personas con horario de sueño reducido. La ingesta alta en calorías durante la noche, asociada con la irregularidad en los periodos de alimentación, produce desincronización circadiana, cuyo efecto es nocivo sobre la armonía de los relojes periféricos implicados en la regulación del metabolismo de los carbohidratos.<sup>34</sup>

Al estudiar el efecto de la exposición a la luz en la noche en voluntarios sanos, se encontró que ésta disminuye la sensibilidad a la insulina, la resistencia insulínica resultante puede ocasionar hiperglucemia. Las pantallas emisoras de luz azul, como la pantalla de una computadora, teléfono inteligente o videojuegos, también pueden ocasionar este efecto dañino.<sup>36</sup>

La melatonina es una hormona secretada por la glándula pineal, que tiene su concentración y actividad máxima durante los periodos de sueño-oscurecimiento y resulta inhibida ante la exposición a

la luz.<sup>37</sup> Una de las funciones de la melatonina en roedores es inhibir la secreción de insulina por las células  $\beta$ , mediante la interacción con sus receptores de superficie MT1 o MT2, pero en humanos esta función aún no se ha dilucidado totalmente.<sup>38</sup> Un estudio reveló que los sujetos expuestos a restricción del sueño mostraron disminución en la tolerancia a la glucosa por la secreción inadecuada de insulina pancreática, incrementando el riesgo de enfermedades, como la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad.<sup>39</sup>

Los datos expresados anteriormente nos permiten concluir que idealmente, la ingesta máxima de carbohidratos y calorías debería corresponder al primer alimento de la mañana, ya que en las primeras horas del día se tiene mayor capacidad para procesar correctamente los nutrientes.

En los planes terapéuticos de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 se recomendaría que la mayor ingesta de carbohidratos, de preferencia los de bajo índice glucémico, fueran en la mañana y se redujeran durante la tarde, permitiendo de esta manera una mejor sincronía con la secreción tónica de insulina y del péptido similar a glucagón 1 (GLP-1), las cargas de nutrientes se reducen durante el resto del día y deberían ser nulas durante la noche.

El papel decisivo de los relojes circadianos en la regulación metabólica se confirmó mediante los estudios en humanos con mutaciones de los genes CLOCK, que tienen susceptibilidad a la obesidad, resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2. Se encontraron polimorfismos en el gen BMAL1 en pacientes con diabetes mellitus tipo 2,<sup>40</sup> haplotipos del gen CLOCK en pacientes obesos<sup>41</sup> y polimorfismos de CRY2 en pacientes con concentraciones elevadas de glucosa en ayuno.<sup>42</sup>

La interrupción del sueño en trabajadores nocturnos ocasiona mayor secreción de cortisol



durante la noche, alterando el ritmo circadiano en la secreción de esta hormona, lo que puede inducir intolerancia a carbohidratos y aumento de la glucosa posprandial y de ayuno.<sup>43</sup> Esta interrupción circadiana de la secreción de cortisol afecta notablemente a los relojes periféricos, incluyendo menor sensibilidad a la insulina en músculo esquelético,<sup>44</sup> el hígado invierte el manejo nocturno del metabolismo de los carbohidratos incrementando la gluconeogénesis y suprimiendo la gluconeogénesis, estos efectos asincrónicos, aunados a la comentada disminución de la capacidad de las células  $\beta$  pancreáticas para secretar insulina durante el periodo nocturno, pueden ocasionar resistencia periférica a la acciones de la insulina.<sup>45</sup>

Los estudios realizados en modelos murinos a nivel molecular confirmaron que la disrupción circadiana es capaz de alterar la expresión de genes y proteínas del metabolismo de los carbohidratos, tal es el caso del transportador de glucosa Scl2, del receptor de insulina IRS2 y de las enzimas clave en la regulación del metabolismo de los carbohidratos, como la piruvato cinasa y la piruvato deshidrogenasa.<sup>45</sup>

Los efectos agudos más relevantes de la desalineación circadiana en el metabolismo de los carbohidratos son la disminución de la expresión de los transportadores de glucosa, las enzimas de la glucólisis y el aumento en las enzimas glucogénicas que condicionan mayor almacenamiento de glucógeno en el periodo de restricción del sueño, mientras que también se observó aumento en la gluconeogénesis en el periodo diurno.<sup>45</sup> En conclusión, la restricción del sueño ocasiona un patrón alterado del metabolismo caracterizado por mayor almacenamiento hepático de glucógeno en el periodo nocturno, alteración en el gasto energético y cambios en la conducta alimentaria que favorecen la ingesta de comidas altas en carbohidratos y genera alteraciones significativas del metabolismo de

la glucosa. Todas estas anomalías incrementan la propensión a padecer resistencia insulínica, obesidad y diabetes mellitus tipo 2.

### Influencia de los relojes circadianos en la aparición de sobrepeso y obesidad

De acuerdo con las estadísticas de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2018-2019, más del 75% de la población adulta mexicana de las áreas urbanas y rurales de todas las regiones del país tienen sobrepeso u obesidad.<sup>46</sup> En los últimos años se ha evidenciado la importante participación de la irregularidad circadiana en la génesis de la obesidad y actualmente se acepta que esta irregularidad es un factor de riesgo de estas afecciones, por lo que es fundamental el estudio de nuevos blancos terapéuticos dirigidos a restablecer su armonía.

La irregularidad circadiana puede propiciar sobrepeso y obesidad a través de múltiples mecanismos, uno de los principales es la alteración en la concentración de leptina en sangre.<sup>47</sup> Cuando los ritmos circadianos están bien alineados, la leptina se secreta de forma pulsátil por el tejido adiposo y tiene su cenit durante el sueño, de lo que resulta la inhibición nocturna del apetito.<sup>48</sup> En un estudio realizado por investigadores de la Universidad de Harvard en voluntarios sanos que fueron sometidos a restricción del sueño, se observó que estos individuos tuvieron un estado de hiperfagia, disminución de las concentraciones nocturnas de leptina y aumento de la hormona orexigénica grelina, además, se observó un cambio en la conducta alimentaria hacia dietas de alto contenido calórico.<sup>48</sup> Se ha observado que la desincronización circadiana modifica inapropiadamente el metabolismo intermediario ocasionando depósitos excesivos de glucógeno y grasa en el hígado, incremento de la lipogénesis en tejido adiposo blanco y secreción asincrónica de insulina.<sup>49</sup>

Las concentraciones plasmáticas de adiponectina en sujetos no obesos muestran un ciclo rítmico de 24 horas,<sup>50</sup> se ha observado que los pacientes obesos no muestran este ciclo y tienen concentraciones disminuidas de adiponectina, presumiblemente por mal funcionamiento de los genes circadianos que controlan la producción de esta proteína.<sup>51,52</sup> La disminución de la actividad y ciclicidad de la adiponectina ocasiona la pérdida de las acciones benéficas de esta adipocina en el metabolismo lipídico y de la sensibilidad insulínica. La adiponectina activa a PPAR $\alpha$ , este factor se expresa en las células con elevada capacidad de oxidar ácidos grasos (hepatocitos, cardiomiocitos, rabiomiocitos). En el hígado, la activación de PPAR $\alpha$  induce la expresión de las proteínas del transporte de los ácidos grasos y de las enzimas de la  $\beta$ -oxidación; en el intestino también induce la expresión de las proteínas transportadoras de los ácidos grasos; por lo que la adiponectina aumenta la oxidación de los ácidos grasos y el gasto de energía vía activación del PPAR $\alpha$ . Esto llevaría a la disminución en el contenido muscular y hepático de triglicéridos y, por tanto, al incremento en la sensibilidad a la insulina. Asimismo, se ha informado que la adiponectina es capaz de inhibir los eventos iniciales de la aparición de las lesiones aterosclerosas en la pared arterial.<sup>53</sup> En consecuencia, la disminución de las acciones de esta adipocina podría ocasionar efectos nocivos en el metabolismo intermediario e incrementar la incidencia de las enfermedades crónico-degenerativas.

Diversos estudios han demostrado que la obesidad y la dislipidemia aterogénica, caracterizada por hipertrigliceridemia, disminución del colesterol asociado con las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y el predominio de las lipoproteínas de baja densidad pequeñas y densas, se observan con mayor frecuencia en trabajadores con jornadas de trabajo nocturno, en comparación con los trabajadores con jornadas diurnas.<sup>54</sup>

Existe evidencia experimental que confirma la existencia de una relación inversa entre la restricción del sueño y el índice de masa corporal (IMC), como se mencionó anteriormente, la privación del sueño es un factor de riesgo del aumento en el IMC.<sup>55</sup>

### **EL AYUNO PROLONGADO COMO SINCRONIZADOR DE LOS RELOJES CIRCADIANOS**

El ayuno nocturno prolongado es un método terapéutico potencialmente útil en el manejo de las enfermedades metabólicas. En efecto, diversos estudios han señalado la utilidad de prolongar el periodo de ayuno como un método coadyuvante al tratamiento farmacológico de los trastornos metabólicos, que incluyen la diabetes, el sobrepeso, la obesidad y la dislipidemia.<sup>56,57</sup>

Si se reduce la ventana de alimentación a un periodo de aproximadamente 8 horas y consecuentemente se amplía la ventana de ayuno a 16 horas, incluyendo estas últimas al menos 8 horas de sueño, pueden alinearse los ritmos circadianos, prevenir las enfermedades metabólicas e inclusive revertirlas si ya están presentes.<sup>58</sup> El tratamiento farmacológico dirigido a los relojes circadianos como principal blanco terapéutico aún está en estudio, por lo que en la actualidad solo es posible armonizar los relojes circadianos a través de modificaciones en el estilo de vida, como el horario de la alimentación, la programación correcta de la actividad física y las horas de sueño. En efecto, ahora se han confirmado las bases moleculares de la tradicional recomendación familiar de llevar una vida ordenada en horarios, costumbres alimentarias, sueño y ejercicio.

Diversos estudios han demostrado las ventajas del ayuno prolongado, que reduce la resistencia insulínica, la grasa abdominal y visceral, la concentración de triglicéridos en sangre, la presión arterial y el estrés oxidativo.<sup>59</sup> Este



tipo de régimen de alimentación permite una buena sincronía entre el aporte de nutrientes, la secreción de insulina y la sensibilidad periférica a la misma, de lo que resulta el aumento en la tolerancia a la glucosa. La armonía de los relojes circadianos también ha demostrado ser capaz de inducir una importante mejoría en la calidad del sueño, la memoria, la capacidad de concentración y el estado de alerta durante el día. Los marcadores inflamatorios disminuyen e inclusive se han observado efectos benéficos en enfermedades como el asma bronquial.<sup>57,60,61,62</sup>

Los efectos metabólicos del ayuno nocturno prolongado están en armonía con la actividad anticipatoria circadiana de los relojes que regulan el metabolismo intermediario. Estos eventos permiten programar respuestas metabólicas. Entre los señalizadores implicados están la vía mTOR (*Mammalian target of rapamycin*) y AMPK, en respuesta a concentraciones de glucosa. Durante el periodo de ingesta calórica, se inhibe AMPK, mientras que se activa la vía mTOR, que actúa fosforilando a la caseína cinasa 1 (CKI) y a la glucógeno sintasa cinasa 3 (GSK3), enzimas que promueven la activación del anabolismo durante el periodo de consumo calórico. En contraste con lo anterior, durante la ventana de ayuno se activa el señalizador AMPK. Las acciones reguladoras inducidas por AMPK pueden entenderse como un bloqueo de las vías anabólicas consumidoras de energía y una activación de las vías catabólicas generadoras de ATP, principalmente a partir de los lípidos. En músculo esquelético el AMPK activa la oxidación de los ácidos grasos y la biogénesis mitocondrial. Se ha sugerido que el AMPK tienen un papel sincronizador de numerosos genes controlados por los relojes circadianos periféricos.<sup>63,64</sup> Un estudio realizado en células en cultivo de modelos murinos mostraron que las células con restricción de glucosa activaron las concentraciones de AMPK y disminuyeron la expresión de CRY1 y del heterodímero CLOCK:BMAL1.<sup>65</sup>

Establecer un horario determinado para la ingesta calórica promueve la transcripción rítmica de genes implicados en el metabolismo, favoreciendo un patrón anticipatorio que resulta en un mejor aprovechamiento metabólico. En modelos murinos con ausencia de genes CRY se observó un patrón irregular en la ingesta calórica y los procesos de transcripción génica. Sin embargo, al someterlos a una alimentación restringida en el tiempo, estos procesos mostraron el restablecimiento del patrón rítmico, mediante la transcripción de algunos genes con la capacidad de reestablecer parcialmente el balance de la deficiencia de CRY.<sup>56</sup>

Los beneficios metabólicos asociados con el ayuno prolongado obedecen a modificaciones circadianas en diversos órganos.

En el hígado, el ayuno prolongado resulta en el agotamiento de la reserva de glucógeno, con lo que la producción de glucosa depende de la activación de la gluconeogénesis. El mayor flujo de los ácidos grasos que llegan al hígado procedentes del tejido adiposo blanco incrementa la  $\beta$ -oxidación de éstos generando acetil-CoA, que es un activador alostérico de la enzima piruvato carboxilasa que regula positivamente el flujo gluconeogénico. Este proceso asegura el aporte de glucosa al sistema nervioso central y otros tejidos no dependientes de insulina. También favorece la expresión del CYP7A que redirige el colesterol hacia la producción de ácidos biliares.<sup>56,57,66</sup>

El ayuno prolongado activa la lipólisis por favorecer la actividad de la lipasa tisular en tejido adiposo blanco, con el objetivo de exportar ácidos grasos para la oxidación de su cadena lateral, generando acetil-CoA y cuerpos cetónicos. Esto facilita la combustión de lípidos a expensas de menor oxidación de los carbohidratos.

En el tejido adiposo marrón se activa la generación de energía calorífica a partir de la

oxidación de los ácidos grasos. La termogénesis se incrementa en este tejido ya que sus abundantes mitocondrias muestran desacoplamiento de la fosforilación oxidativa con la cadena de transporte electrónico, debido a la expresión en este tejido de la proteína UCP-1 (*Uncoupling protein 1*), de esta manera el tejido adiposo marrón es incapaz de sintetizar ATP, con lo que la energía se disipa en forma de calor.<sup>57</sup> La activación de estas células inducida por el ayuno prolongado tiene un efecto favorable, ya que reduce el sobrepeso y la resistencia insulínica.

Los ácidos grasos que se liberan del tejido adiposo son señalizadores de PPAR- $\alpha$  y del factor de transcripción 4, ambos promueven la secreción del factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF21).<sup>66</sup> Este mecanismo podría explicar la prolongación de la vida de modelos murinos sometidos a ayuno prolongado. Asimismo, existe la hipótesis de que el ayuno puede retrasar el envejecimiento de los animales experimentales, ya que activa la producción de ciertas proteínas como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF).<sup>67-70</sup>

El ayuno prolongado puede incrementar la resistencia contra el estrés oxidativo, iónico, traumático y proteotóxico.<sup>71</sup> Numerosos estudios han confirmado que la exposición repetida a periodos de ayuno prolongado (ayuno intermitente) genera una respuesta adaptativa que incluye incremento en la expresión de proteínas antioxidantes, facilitación de la reparación del ADN, aumento de la biogénesis mitocondrial, autofagia de proteínas dañadas y disminución de los marcadores inflamatorios.<sup>72</sup>

La prescripción de una dieta para armonizar los relojes circadianos se fundamenta en alargar el periodo de ayuno (idealmente 16 horas) y reducir la ventana de alimentación (idealmente

8 horas). Durante la primera etapa del tratamiento, el nuevo ritmo de alimentación debería mantenerse durante los 7 días de la semana. El contenido de los alimentos recomendados para consumir durante la ventana de alimentación debe ser balanceado, asegurando un adecuado aporte proteico, sin otra recomendación específica, excepto evitar episodios de ingesta compulsiva de alimentos con alto contenido calórico (bebidas azucaradas, comida chatarra, galletas, chocolates, etc.).<sup>73,74</sup> Además del evidente objetivo de reducción de peso, este tipo de régimen dietario resulta en una mejor alineación de los procesos metabólicos con los relojes circadianos.

En un estudio realizado en Alabama<sup>69</sup> en voluntarios sanos con intervalo de edad de 20 a 45 años se observó que después de un periodo de 5 semanas con un régimen de ayuno prolongado disminuyó la glucemia de ayuno, así como el área bajo la curva de la glucemia posprandial. Asimismo, se incrementó la concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato matutino resultando en disminución del estrés oxidativo y de los estímulos orexigénicos.<sup>69</sup>

En otros estudios realizados en modelos murinos las dietas de ayuno prolongado generaron resultados satisfactorios al reducir la obesidad, diabetes, dislipidemia y la incidencia de cáncer.<sup>72</sup>

A pesar de los múltiples beneficios que se han observado con el tratamiento basado en ayuno prolongado, al igual que en todos los métodos terapéuticos, pueden ocurrir algunos efectos adversos, que generalmente se observan exclusivamente al inicio del tratamiento, como irritabilidad, episodios de apetito compulsivo e irritación del tubo digestivo ocasionado por hipersecreción ácida que podrían requerir tratamiento complementario con ansiolíticos, antiseoretos o ambos.



## CONCLUSIONES

En la época contemporánea, se ha incrementado la morbilidad y mortalidad asociadas con enfermedades metabólicas, como la diabetes y la obesidad. Algunos de los factores que podrían explicar este incremento son las dietas hipercalóricas con alto contenido graso, el consumo de bebidas azucaradas y el sedentarismo. Es muy probable que también la desincronización de los relojes circadianos tenga un papel importante en la patogénesis de la interrupción metabólica. Numerosos trabajos han demostrado que las jornadas laborales nocturnas, la privación crónica del sueño, la exposición a la luz de determinadas longitudes de onda por la noche, como la luz azul emitida por dispositivos electrónicos, tabletas o teléfonos inteligentes y los viajes a través de distintos husos horarios ocasionan una desalineación circadiana y esto se correlaciona con el incremento del índice de masa corporal y con la aparición de resistencia a la insulina y de diabetes mellitus tipo 2.

La descripción de las bases moleculares de las variaciones circadianas de la transcripción y traducción proteica que se observan en el reloj maestro del núcleo supraquiasmático y en los relojes periféricos subordinados a éste nos permite diseñar nuevas estrategias terapéuticas complementarias, destinadas a la distribución correcta de los nutrientes, la modificación de los patrones del ritmo sueño-vigilia, el establecimiento de un horario óptimo para las actividades físicas, que permita el realineamiento o sincronización de los relojes circadianos. Estas modificaciones en el estilo de vida potencialmente tendrán un efecto terapéutico positivo al reducir la incidencia y severidad de las enfermedades crónico-degenerativas. El objetivo de estas adecuaciones al estilo de vida es alinear lo mejor posible las actividades humanas con las adaptaciones metabólicas inducidas por la actividad anticipada de los relojes circadianos. Asimismo, se están

diseñando fármacos que aún se encuentran en fases tempranas de investigación, dirigidos a modular directamente la actividad de las proteínas implicadas en los relojes circadianos.

Una de las estrategias mejor estudiadas para sincronizar los relojes circadianos son los programas de alimentación con periodos de ayuno prolongados y la reducción de la ventana de alimentación. Estos programas dietarios ofrecen significativos beneficios metabólicos incluyendo la reducción ponderal, la mejoría de la sensibilidad a la insulina y el retraso en la aparición de la diabetes mellitus tipo 2. Entre las ventajas de estos planes de alimentación, está que el contenido nutricional no tiene que alterarse en forma significativa, por lo que el apego del paciente es relativamente sencillo y de bajo costo. Cualquier tratamiento nutricional requiere una vigilancia constante, se debe complementar con un programa de actividad física, de preferencia durante las primeras horas de la mañana y evitar “atracos” compulsivos aún dentro de la ventana de alimentación. La recompensa es importante, ya que además de la reducción de peso, la calidad del sueño mejora y se fortalecen algunas funciones intelectuales que requieren concentración y memoria. Debe tomarse en cuenta que al inicio del tratamiento puede haber periodos de ansiedad, cefalea, irritación del tubo digestivo que pueden requerir un manejo terapéutico adicional.<sup>74</sup>

## REFERENCIAS

1. Allada R, Bass J. Circadian mechanisms in medicine. *N Engl J Med* 2021; 384 (6): 550-561. doi: 10.1056/NEJMra1802337.
2. Castellanos MÁ, Escobar C. De la cronobiología a la cronomedicina. *Rev Fac Med Univ Nac Auton Mex* 2016; 59 (2): 15-23.
3. Klein DC, Moore RY, Reppert SM, editors. *Suprachiasmatic nucleus: The mind's clock*. New York: Oxford University Press; 1991.
4. Ralph MR, Foster RG, Davis FC, Menaker M. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period.

- Science 1990; 247 (4945): 975-978. doi: 10.1126/science.2305266.
5. Provencio I, Rodriguez IR, Jiang G, Hayes WP, Moreira EF, Rollag MD. A novel human opsin in the inner retina. *J Neurosci* 2000; 20 (2): 600-605. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-02-00600.2000.
  6. Ibañez, C. Discoveries of molecular mechanisms controlling the circadian rhythm. NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach AB 2021. Sun. 24 Oct 2021. <<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2017>>.
  7. Konopka RJ, Benzer S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971; 68 (9): 2112-6. doi: 10.1073/pnas.68.9.2112.
  8. Takahashi JS. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nat Rev Genet* 2017; 18 (3): 164-179. doi: 10.1038/nrg.2016.150.
  9. Grimaldi B, Bellet MM, Katada S, Astarita G, Hirayama J, Amin RH, Granneman JG, Piomelli D, Leff T, Sassone-Corsi P. PER2 controls lipid metabolism by direct regulation of PPAR $\gamma$ . *Cell Metab* 2010; 12 (5): 509-520. doi: 10.1016/j.cmet.2010.10.005.
  10. Han DH, Lee YJ, Kim K, Kim CJ, Cho S. Modulation of glucocorticoid receptor induction properties by core circadian clock proteins. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 383 (1-2): 170-180. doi: 10.1016/j.mce.2013.12.013.
  11. Kriebs A, Jordan SD, Soto E, Henriksson E, Sandate CR, Vaughan ME, Chan AB, Duglan D, Papp SJ, Huber AL, Aftian ME, Yu RT, Zhao X, Downes M, Evans RM, Lamia KA. Circadian repressors CRY1 and CRY2 broadly interact with nuclear receptors and modulate transcriptional activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114 (33): 8776-8781. doi: 10.1073/pnas.1704955114.
  12. Schmutz I, Ripperger JA, Baeriswyl-Aebischer S, Albrecht U. The mammalian clock component PERIOD2 coordinates circadian output by interaction with nuclear receptors. *Genes Dev* 2010; 24 (4): 345-357. doi: 10.1101/gad.564110.
  13. Asher G, Gatfield D, Stratmann M, Reinke H, Dibner C, Kreppele F, Mostoslavsky R, Alt FW, Schibler U. SIRT1 regulates circadian clock gene expression through PER2 deacetylation. *Cell* 2008; 134 (2): 317-328. doi: 10.1016/j.cell.2008.06.050.
  14. Nakahata Y, Kaluzova M, Grimaldi B, Sahar S, Hirayama J, Chen D, Guarente LP, Sassone-Corsi P. The NAD $^{+}$ -dependent deacetylase SIRT1 modulates CLOCK-mediated chromatin remodeling and circadian control. *Cell* 2008; 134 (2): 329-340. doi: 10.1016/j.cell.2008.07.002.
  15. Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 2002; 418 (6901): 935-941. doi: 10.1038/nature00965.
  16. Reinke H, Asher G. Crosstalk between metabolism and circadian clocks. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019; 20 (4): 227-241. doi: 10.1038/s41580-018-0096-9.
  17. Stephan FK. The "other" circadian system: food as a Zeitgeber. *J Biol Rhythms* 2002; 17 (4): 284-292. doi: 10.1177/074873040201700402.
  18. Lamia KA, Papp SJ, Yu RT, Barish GD, Uhlenhaut NH, Jonker JW, Downes M, Evans RM. Cryptochromes mediate rhythmic repression of the glucocorticoid receptor. *Nature* 2011; 480 (7378): 552-6. doi: 10.1038/nature10700.
  19. Zhang EE, Liu Y, Dentin R, Pongsawakul PY, Liu AC, Hirota T, Nusinow DA, Sun X, Landais S, Kodama Y, Brenner DA, Montminy M, Kay SA. Cryptochrome mediates circadian regulation of cAMP signaling and hepatic gluconeogenesis. *Nat Med* 2010; 16 (10): 1152-1156. doi: 10.1038/nm.2214.
  20. Dollet L, Pendergrast LA, Zierath JR. The role of the molecular circadian clock in human energy homeostasis. *Curr Opin Lipidol* 2021; 32 (1): 16-23. doi: 10.1097/MOL.0000000000000722.
  21. Gabriel BM, Zierath JR. Circadian rhythms and exercise-resetting the clock in metabolic disease. *Nat Rev Endocrinol* 2019; 15 (4): 197-206. doi: 10.1038/s41574-018-0150-x.
  22. Scheving LA. Biological clocks and the digestive system. *Gastroenterology* 2000; 119 (2): 536-549. doi: 10.1053/gast.2000.9305
  23. Scheving LE, Tsai TH, Scheving LA. Chronobiology of the intestinal tract of the mouse. *Am J Anat* 1983; 168 (4): 433-465. doi: 10.1002/aja.1001680405.
  24. Hoogerwerf WA. Role of clock genes in gastrointestinal motility. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299 (3): G549-555. doi: 10.1152/ajpgi.00147.2010.
  25. Iwashina I, Mochizuki K, Inamochi Y, Goda T. Clock genes regulate the feeding schedule-dependent diurnal rhythm changes in hexose transporter gene expressions through the binding of BMAL1 to the promoter/enhancer and transcribed regions. *J Nutr Biochem* 2011; 22 (4): 334-343. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.02.012
  26. Peschke E, Peschke D. Evidence for a circadian rhythm of insulin release from perfused rat pancreatic islets. *Diabetologia* 1998; 41 (9): 1085-92. doi: 10.1007/s001250051034.
  27. MarcheVA B, Ramsey KM, Buhr ED, Kobayashi Y, Su H, Ko CH, Ivanova G, Omura C, Mo S, Viaterna MH, Lopez JP, Philipson LH, Bradfield CA, Crosby SD, JeBailey L, Wang X, Takahashi JS, Bass J. Disruption of the clock components CLOCK and BMAL1 leads to hypoinsulinaemia and diabetes. *Nature* 2010; 466 (7306): 627-631. doi: 10.1038/nature09253.
  28. Sadacca LA, Lamia KA, deLemos AS, Blum B, Weitz CJ. An intrinsic circadian clock of the pancreas is required for normal insulin release and glucose homeostasis in mice. *Diabetologia* 2011; 54 (1): 120-124. doi: 10.1007/s00125-010-1920-8.
  29. Yang X, Downes M, Yu RT, Bookout AL, He W, Straume M, Mangelsdorf DJ, Evans RM. Nuclear receptor expression links the circadian clock to metabolism. *Cell* 2006; 126 (4): 801-810. doi: 10.1016/j.cell.2006.06.050.
  30. Li MD, Li CM, Wang Z. The role of circadian clocks in metabolic disease. *Yale J Biol Med* 2012; 85 (3): 387-401.
  31. Liu C, Li S, Liu T, Borjigin J, Lin JD. Transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$  integrates the mammalian clock and energy



- metabolism. *Nature* 2007; 447 (7143): 477-481. doi: 10.1038/nature05767.
32. Gooley JJ. Circadian regulation of lipid metabolism. *Proc Nutr Soc* 2016; 75 (4): 440-450. doi: 10.1017/S0029665116000288.
  33. Sookoian S, Gemma C, Fernández Gianotti T, Burgueño A, Alvarez A, González CD, Pirola CJ. Effects of rotating shift work on biomarkers of metabolic syndrome and inflammation. *J Intern Med* 2007; 261 (3): 285-292. doi: 10.1111/j.1365-2796.2007.01766.x.
  34. Mohd Azmi NAS, Juliana N, Mohd Fahmi Teng NI, Azmani S, Das S, Effendy N. Consequences of circadian disruption in shift workers on chrononutrition and their psychosocial well-being. *Int J Environ Res Public Health* 2020; 17 (6): 2043. doi: 10.3390/ijerph17062043.
  35. Shostak A, Meyer-Kovac J, Oster H. Circadian regulation of lipid mobilization in white adipose tissues. *Diabetes* 2013; 62 (7): 2195-2203. doi: 10.2337/db12-1449.
  36. Cheung IN, Zee PC, Shalman D, Malkani RG, Kang J, Reid KJ. Morning and evening blue-enriched light exposure alters metabolic function in normal weight adults. *PLoS One* 2016; 11 (5): e0155601. doi: 10.1371/journal.pone.0155601.
  37. Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev* 2005; 9 (1): 11-24. doi: 10.1016/j.smrv.2004.08.001.
  38. Ramracheya RD, Muller DS, Squires PE, Brereton H, Sugden D, Huang GC, Amiel SA, Jones PM, Persaud SJ. Function and expression of melatonin receptors on human pancreatic islets. *J Pineal Res* 2008; 44 (3): 273-9. doi: 10.1111/j.1600-079X.2007.00523.x.
  39. Buxton OM, Cain SW, O'Connor SP, Porter JH, Duffy JF, Wang W, Czeisler CA, Shea SA. Adverse metabolic consequences in humans of prolonged sleep restriction combined with circadian disruption. *Sci Transl Med* 2012; 4 (129): 129ra43. doi: 10.1126/scitranslmed.3003200.
  40. Woon PY, Kaisaki PJ, Bragança J, Bihoreau MT, Levy JC, Farrall M, Ganguier D. Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like (BMAL1) is associated with susceptibility to hypertension and type 2 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104 (36): 14412-14417. doi: 10.1073/pnas.0703247104.
  41. Sookoian S, Gemma C, Gianotti TF, Burgueño A, Castaño G, Pirola CJ. Genetic variants of Clock transcription factor are associated with individual susceptibility to obesity. *Am J Clin Nutr* 2008; 87 (6): 1606-1615. doi: 10.1093/ajcn/87.6.1606.
  42. Dupuis J, et al. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet* 2010; 42 (2): 105-116. doi: 10.1038/ng.520.
  43. Oosterman JE, Wopereis S, Kalsbeek A. The circadian clock, shift work, and tissue-specific insulin resistance. *Endocrinology* 2020; 161 (12): bqaa180. doi: 10.1210/endo/bqaa180.
  44. Wefers J, van Moorsel D, Hansen J, Connell NJ, Havekes B, Hoeks J, et al. Circadian misalignment induces fatty acid metabolism gene profiles and compromises insulin sensitivity in human skeletal muscle. *Proceed Nat Acad Sci USA* 2018; 115 (30): 7789-7794. <https://doi.org/10.1073/pnas.1722295115>.
  45. Barclay JL, Husse J, Bode B, Naujokat N, Meyer-Kovac J, Schmid SM, Lehnert H, Oster H. Circadian desynchrony promotes metabolic disruption in a mouse model of shiftwork. *PLoS One* 2012; 7 (5): e37150. doi: 10.1371/journal.pone.0037150.
  46. Shamah-Levy T, Vielma-Orozco E, Heredia-Hernández O, Romero-Martínez M, Mojica-Cuevas J, Cuevas-Nasu L, Santaella-Castell JA, Rivera-Dommarco J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19: Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2020.
  47. Janeckova R. The role of leptin in human physiology and pathophysiology. *Physiol Res* 2001; 50 (5): 443-59.
  48. Mullington JM, Chan JL, Van Dongen HP, Szuba MP, Samaras J, Price NJ, Meier-Ewert HK, Dinges DF, Mantzoros CS. Sleep loss reduces diurnal rhythm amplitude of leptin in healthy men. *J Neuroendocrinol* 2003; 15 (9): 851-854. doi: 10.1046/j.1365-2826.2003.01069.x.
  49. Maury E. Off the clock: From circadian disruption to metabolic disease. *Int J Mol Sci* 2019; 20 (7): 1597. doi: 10.3390/ijms20071597.
  50. Calvani M, Scarfone A, Granato L, Mora EV, Nanni G, Castagneto M, Greco AV, Manco M, Mingrone G. Restoration of adiponectin pulsatility in severely obese subjects after weight loss. *Diabetes* 2004; 53 (4): 939-947. doi: 10.2337/diabetes.53.4.939.
  51. Yildiz BO, Suchard MA, Wong ML, McCann SM, Licinio J. Alterations in the dynamics of circulating ghrelin, adiponectin, and leptin in human obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 (28): 10434-10439. doi: 10.1073/pnas.0403465101.
  52. Palomer X, Pérez A, Blanco-Vaca F. Adiponectin: a new link between obesity, insulin resistance and cardiovascular disease. *Med Clin (Barc)* 2005; 124 (10): 388-395. doi: 10.1157/13072576.
  53. Ando H, Yanagihara H, Hayashi Y, Obi Y, Tsuruoka S, Takamura T, et al. Rhythmic messenger ribonucleic acid expression of clock genes and adipocytokines in mouse visceral adipose tissue. *Endocrinology* 2005; 146 (12): 5631-5636. doi: 10.1210/en.2005-0771.
  54. Karlsson BH, Knutsson AK, Lindahl BO, Alfredsson LS. Metabolic disturbances in male workers with rotating three-shift work. Results of the WOLF study. *Int Arch Occup Environ Health* 2003; 76 (6): 424-430. doi: 10.1007/s00420-003-0440-y.
  55. Vorona RD, Winn MP, Babineau TW, Eng BP, Feldman HR, Ware JC. Overweight and obese patients in a primary care population report less sleep than patients with a normal body mass index. *Arch Intern Med* 2005; 165 (1): 25-30. doi: 10.1001/archinte.165.1.25.

56. Longo VD, Panda S. Fasting, Circadian rhythms, and time-restricted feeding in healthy lifespan. *Cell Metab* 2016; 23 (6): 1048-1059. doi: 10.1016/j.cmet.2016.06.001.
57. Hatori M, Vollmers C, Zarrinpar A, DiTacchio L, Bushong EA, Gill S, Leblanc M, Chaix A, Joens M, Fitzpatrick JA, Ellisman MH, Panda S. Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet. *Cell Metab* 2012; 15 (6): 848-60. doi: 10.1016/j.cmet.2012.04.019.
58. Chaix A, Zarrinpar A, Miu P, Panda S. Time-restricted feeding is a preventive and therapeutic intervention against diverse nutritional challenges. *Cell Metab* 2014; 20 (6): 991-1005. doi: 10.1016/j.cmet.2014.11.001.
59. Harvie MN, Pegington M, Mattson MP, Frystyk J, Dillon B, Evans G, Cuzick J, Jebb SA, Martin B, Cutler RG, Son TG, Maudsley S, Carlson OD, Egan JM, Flyvbjerg A, Howell A. The effects of intermittent or continuous energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers: a randomized trial in young overweight women. *Int J Obes (Lond)* 2011; 35 (5): 714-727. doi: 10.1038/ijo.2010.171.
60. Johnson JB, Summer W, Cutler RG, Martin B, Hyun DH, Dixit VD, Pearson M, Nassar M, Telljohann R, Maudsley S, Carlson O, John S, Laub DR, Mattson MP. Alternate day calorie restriction improves clinical findings and reduces markers of oxidative stress and inflammation in overweight adults with moderate asthma. *Free Radic Biol Med* 2007; 42 (5): 665-674. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.12.005.
61. Barnosky AR, Hoddy KK, Unterman TG, Varady KA. Intermittent fasting vs daily calorie restriction for type 2 diabetes prevention: a review of human findings. *Transl Res* 2014; 164 (4): 302-311. doi: 10.1016/j.trsl.2014.05.013.
62. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger: Principios de Bioquímica*. 4ª ed. Omega, 2009.
63. Inoki K, Kim J, Guan KL. AMPK and mTOR in cellular energy homeostasis and drug targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2012; 52: 381-400. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010611-134537.
64. Zheng X, Sehgal A. AKT and TOR signaling set the pace of the circadian pacemaker. *Curr Biol* 2010; 20 (13): 1203-8. doi: 10.1016/j.cub.2010.05.027.
65. Lamia KA, Sachdeva UM, DiTacchio L, Williams EC, Alvarez JG, Egan DF, Vasquez DS, Juguilon H, Panda S, Shaw RJ, Thompson CB, Evans RM. AMPK regulates the circadian clock by cryptochrome phosphorylation and degradation. *Science* 2009; 326 (5951): 437-440. doi: 10.1126/science.1172156.
66. Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, Ding X, Gautron L, Parameswara V, Li Y, Goetz R, Mohammadi M, Esser V, Elmquist JK, Gerard RD, Burgess SC, Hammer RE, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA. Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metab* 2007; 5 (6): 415-425. doi: 10.1016/j.cmet.2007.05.003.
67. Froy O, Miskin R. Effect of feeding regimens on circadian rhythms: implications for aging and longevity. *Aging (Albany NY)* 2010; 2 (1): 7-27. doi: 10.18632/aging.100116.
68. de Cabo R, Mattson MP. Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease. *N Engl J Med* 2019; 381 (26): 2541-2551. doi: 10.1056/NEJMra1905136.
69. Jamshed H, Beyl RA, Della Manna DL, Yang ES, Ravussin E, Peterson CM. Early time-restricted feeding improves 24-hour glucose levels and affects markers of the circadian clock, aging, and autophagy in humans. *Nutrients* 2019; 11 (6): 1234. doi: 10.3390/nu11061234.
70. Longo VD, Mattson MP. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metab* 2014; 19 (2): 181-192. doi: 10.1016/j.cmet.2013.12.008.
71. Speakman JR, Mitchell SE. Caloric restriction. *Mol Aspects Med* 2011; 32 (3): 159-221. doi: 10.1016/j.mam.2011.07.001.
72. Mattson MP, Arumugam TV. Hallmarks of brain aging: Adaptive and pathological modification by metabolic states. *Cell Metab* 2018; 27 (6): 1176-1199. doi: 10.1016/j.cmet.2018.05.011.
73. Moro T, Tinsley G, Bianco A, Marcolin G, Pacelli QF, Battaglia G, et al. Effects of eight weeks of time-restricted feeding (16/8) on basal metabolism, maximal strength, body composition, inflammation, and cardiovascular risk factors in resistance-trained males. *J Transl Med* 2016; 14 (1): 290.
74. Anton SD, Moehl K, Donahoo WT, Marosi K, Lee SA, Mainous AG 3rd, Leeuwenburgh C, Mattson MP. Flipping the metabolic switch: Understanding and applying the health benefits of fasting. *Obesity (Silver Spring)* 2018; 26 (2): 254-268. doi: 10.1002/oby.22065.