



Universidad de Concepción
Facultad Farmacia

**DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE ANALITOS
METABÓLICOS EN LA DISRUPCIÓN DEL RITMO
CIRCADIANO POR HORARIO DE INVIERNO
POR MARTÍN IGNACIO VÁSQUEZ MÉNDEZ**

Trabajo de Investigación de Internado en sector salud presentado en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción para optar al título profesional de Bioquímico

Profesional Guía

Dra. Estefanía Nova Lamperti
Departamento de Bioquímica Clínica
e Inmunología
Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción

Profesional centro de práctica

Bq. Benilde Ríffo
Laboratorio clínico Prevegen

Abril, 2023

Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento

© 2023, Martín Ignacio Vásquez Méndez

Esta tesis ha sido realizada en el Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología de la Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.

Profesor Guía

Dra, Estefanía Nova Lamperti
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

Comisión Evaluadora:

Dr. Gonzalo Patricio Labarca Trucios

Klgo. Mario Henríquez Beltrán

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Darwin, Pilar y Constanza por su amor, paciencia y por todo el apoyo que me han dado en todo este proceso.

A la Dra. Estefanía Nova Lamperti, por su dedicación y paciencia, también por su colaboración en cada momento de consulta. Muchas gracias por su guía e inspiración.

Al laboratorio clínico Prevegen, por abrirme sus puertas en esta etapa de mi camino profesional, especialmente al Bq. Jorge Buchert por su paciencia y mentoría, también, a las Bq. Rita Cerro y Bq. Benilde Rizzo por su apoyo integral en esta última etapa.

Por último, agradecer a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción por convertirse en mi segundo hogar y verme crecer en la persona que soy hoy.

ÍNDICE.

AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 CICLO CIRCADIANO	1
1.2 CICLO CIRCADIANO Y METABOLISMO GLUCÍDICO.....	6
1.3 CICLO CIRCADIANO Y METABOLISMO LIPÍDICO.....	9
1.4 CICLO CIRCADIANO Y VITAMINA D	11
1.5 CICLO CIRCADIANO Y CORTISOL.....	12
1.6 CICLO CIRCADIANO Y TIROTROPINA.....	13
1.7 CAMBIO DE HORA, COMO AGENTE DISRUPTOR DEL CICLO CIRCADIANO	14
2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	17
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	18
4. HIPOTESIS.....	19
5. OBJETIVO GENERAL.....	20
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
7. METODOLOGÍA	22
7.1 SELECCIÓN MUESTRAL.....	22
7.2 TOMA DE MUESTRA.....	22
7.3 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.....	23
7.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	24
9.RESULTADOS	25
9.1 DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DEL PERFIL GLUCÍDICO PARA GRUPOS TEMPRANO, TARDÍO Y EN CONJUNTO	26
9.2 DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO PARA GRUPOS TEMPRANO, TARDÍO Y EN CONJUNTO.	29
9.3 DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE TSH PARA GRUPOS TEMPRANO, TARDÍO Y EN CONJUNTO.	32

9.4 DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE VITAMINA 25-OH D PARA GRUPOS TEMPRANO, TARDÍO Y EN CONJUNTO.	34
9.5 DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE CORTISOL PARA GRUPOS TEMPRANO, TARDÍO Y EN CONJUNTO.....	36
9.6 DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE GRUPO TEMPRANO Y TARDÍO CON RESPECTO A LA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DEL PERFIL GLUCÍDICO	38
9.8 DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE GRUPO TEMPRANO Y TARDÍO CON RESPECTO A LA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO	42
9.8 DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE GRUPO TEMPRANO Y TARDÍO CON RESPECTO A LA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DE TSH	47
9.9 DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE GRUPO TEMPRANO Y TARDÍO CON RESPECTO A LA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DE VITAMINA 25-OH D.....	50
9.10 DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE GRUPO TEMPRANO Y TARDÍO CON RESPECTO A LA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DE CORTISOL	53
10. DISCUSIÓN	56
11. CONCLUSIONES.....	60
12. PROYECCIONES	60
ANEXO:1 CONSENTIMIENTO INFORMADO	61
ANEXO 2: BIOSEGURDAD	71
ANEXO 3: CONTROL DE CALIDAD DE ANALITOS MEBÓLICOS	72
BIBLIOGRAFÍA.....	79

INDICE DE FIGURAS.

Figura.1	Determinación de la variación del perfil glucídico.....	28
Figura.2	Determinación de la variación del perfil lipidico	31
Figura.3	Determinación de la variación de TSH	33
Figura.4	Determinación de la variación de vitamina 25-OH D.....	35
Figura.5	Determinación de la variación de cortisol	37
Figura.6	Determinación de la variación de grupos temprano y tardío con respecto a la variación de perfil glucídico	41
Figura.7	Determinación de la variación de grupos temprano y tardío con respecto a la variación del perfil lipídico.....	46
Figura.8	Determinación de la variación de grupos temprano y tardío con respecto a la variación de TSH.....	49
Figura.9	Determinación de la variación de grupos temprano y tardío con respecto a la variación de vitamina 25-OH D	52
Figura.10	Determinación de la variación de grupos temprano y tardío con respecto a la variación de cortisol	55
Figura.11	Gráfica levey-jenning glucosa	72
Figura.12	Gráfica levey-jenning HDL	73
Figura.13	Gráfica levey-jenning Colesterol.	74
Figura.14	Gráfica levey jenning Triglicéridos	75
Figura.15	Gráfica levey-jenning Insulina	76
Figura.26	Gráfica levey-jenning Vitamina 25-OH D	77
Figura.21	Gráfica levey-jenning TSH	78

RESUMEN

Introducción: El ciclo circadiano o “reloj biológico”, se refiere a los cambios de tipo moleculares, conductuales y psicológicos en un ciclo de 24 horas. La disrupción del ciclo circadiano por diversas causas ha sido asociada con la alteración de parámetros físicos, metabólicos y psicológicos en el ser humano. El cambio de horario es un agente disruptor del ciclo circadiano, asociándose a un incremento de alteraciones cardiometabólicas. A la fecha, se desconocen las alteraciones metabólicas causadas por el cambio de horario de verano a invierno en población chilena.

Objetivo: Determinar los principales analitos metabólicos que se alteran con la disrupción del ritmo circadiano ocasionado por el horario de invierno en un grupo de estudio de 30 jóvenes sin comorbilidades.

Metodología: Se reclutará a hombres voluntarios entre 18 y 24 años, a los cuales se les colectará suero sanguíneo primeramente una semana anterior, una semana posterior y dos semanas posterior al cambio de horario de invierno 2022, para su posterior análisis mediante inmunoensayos quimiolumincentes y química clínica con el fin de medir analitos metabólicos (vitamina D, Insulina, Cortisol, TSH, perfil lipídico y glucosa)

Resultados: En el trabajo presente se obtuvo que a consecuencia de la disrupción circadiana ocasionado por el cambio de horario de invierno provocó la variación de la vitamina 25-OH D, glucosa y también de triglicéridos, pero solo estos dos últimos de manera tardía, también se observó una variación en el colesterol total pero solo al analizarse de manera global en el grupo en conjunto, sin embargo los analitos metabólicos: Insulina, HDL, LDL, cortisol y TSH no mostraron una variación con respecto a la disrupción circadiana.

Conclusiones: La disrupción del ritmo circadiano ocasionada por el cambio de horario de invierno provoca la variación de analitos metabólicos como es el caso de vitamina 25-OH D y triglicéridos

INTRODUCCIÓN

1.1 CICLO CIRCADIANO

El termino circadiano proviene de dos palabras del latín, *Circa* (aproximado, cerca) y *dies* (día), lo que significa un día. El ritmo circadiano también es conocido como el “reloj biológico” y se refiere a los cambios de tipo moleculares, conductuales y psicológicos en un ciclo de 24 horas (Poggiogalle et al.,2018). De esta manera podemos dividir al reloj circadiano en dos partes: El reloj central, el cual reside en el núcleo supraquiasmático (SCN) del hipotálamo y que recibe las señales de luz, y el reloj periférico que reside en varios tejidos del cuerpo, cumpliendo una función especial según cada tejido (Froy, O. 2011).

El reloj central regula el metabolismo a través de factores difusibles (principalmente cortisol y melatonina) como también mediante proyecciones sinápticas. Los tejidos periféricos integran estas señales provenientes del reloj central mediante factores ambientales y conductuales como es el caso del sueño, la actividad física, la luz y la alimentación (Serin, Y. 2019). Los ritmos intracelulares autónomos se mantienen a nivel molecular mediante genes y proteínas que forman un bucle de retroalimentación transcripcional-traslacional (TTFL). El TTFL opera en un ciclo de 24 horas, activando una cascada rítmica de

eventos transcripcionales y post-transcripcionales que involucran miles de genes objetivos (Poggiogalle et al., 2018).

El tiempo (fase) de cada ritmo circadiano está determinado por varios factores externos en un proceso conocido como arrastre (Poggiogalle et al., 2018). El ritmo del reloj central es arrastrado principalmente por la luz, mientras tanto que los ritmos en los tejidos periféricos provienen de la integración de las señales del reloj central y factores externos como dormir, alimentarse, luz, actividad física y metabolitos (Serin, Y. 2011).

El reloj circadiano influye en casi todos los aspectos de la fisiología y comportamiento, incluyendo ciclos de sueño, actividad cardiovascular, sistema endocrino, fisiología del tracto gastrointestinal y metabolismo hepático. El SCN envía señales a los osciladores periféricos en orden de prevenir la amortiguación del ritmo circadiano. La fracción de transcripciones expresadas cíclicamente en cada tejido periférico oscila entre el 5% y el 20% de la población total y la gran mayoría de estos genes son específicos del tejido (Serin, Y. 2011).

En mamíferos, los relojes circadianos autónomos celulares son generados por un bucle de retroalimentación autorregulado compuesto por activadores transcripcionales, CLOCK y BMAL1, y sus genes target, Period y Cryptochrome, que se acumulan rítmicamente y forman un complejo represor que interactúan con CLOCK-BMAL1, para inhibir su propia transcripción. Este bucle está regulado post-transcripcionalmente por las quinasas de caseína (CK1 ϵ y CK1 δ),

que se dirigen a las proteínas PER para su degradación a través del complejo ubiquitina ligasa SCF / β -TrCP, y por la quinasa AMP, que se dirige a las proteínas CRY para su degradación a través del complejo de ubiquitina ligasa SCF / FBXL3 por el proteosoma 26s (Bass & Takahashi, 2010).

El reloj circadiano molecular es autosostenido, lo que significa que puede funcionar en ausencia de señales externas, pero a menudo arrastrado con factores ambientales externas que se conocen como *zeitgebers*, estos por ejemplo la luz, los horarios de comidas, los ciclos de sueño y la actividad física pueden interrumpir los ritmos circadianos y provocar un desajuste entre los ritmos circadianos en el cuerpo y el entorno externo, llamado desalineación circadiana (Poggiogalle et al. 2018).

La desalineación induce cambios en el reloj circadiano molecular, incluidos los cambios en las características de la expresión génica del reloj, y la atenuación de la amplitud del ritmo o el cambio de la hora de máxima expresión génica (Serin, Y, 2019). De esta manera es importante destacar que la disrupción del ritmo circadiano perjudican el metabolismo e influyen la patogénesis de las enfermedades metabólicas, por ejemplo un episodio agudo de desalineación circadiana puede aumentar los niveles de glucosa postprandial en un 11-21% (Scheer et al., 2009). Así la desalienación circadiana inducida por la exposición a la luz inoportuna, el sueño o la ingesta de alimentos a horas inapropiadas emporaran el control glucémico y afectan negativamente a los factores

involucrados en el equilibrio energético y la pérdida de peso, aumentando el riesgo de diabetes tipo 2 y la obesidad (Poggiogalle et al, 2018).

En seres humanos, las mutaciones en los relojes circadianos se han asociado con trastornos del sueño del ritmo circadiano, el trastorno familiar de la fase avanzada del sueño (FASPD) es un trastorno circadiano del sueño con tiempos de sueño habituales que son ajenos a la norma social (Auger et al., 2015). Una de las causas identificada de FASPD fue una mutación sin sentido (S662G) en el gen PER2 [5]. Otro tipo menos comprendido, pero más común, de trastorno del sueño del ritmo circadiano, con una prevalencia estimada de casi el 10% en la población general, es el trastorno de la fase retardada del sueño (DSPD). Se caracteriza como un tipo de insomnio con tiempos inconsistentes y desplazados del sueño en comparación con la norma social (Auger et al., 2015). Se han descrito casos familiares de DSPD, lo que sugiere que la herencia mendeliana de DSPD puede existir con polimorfismos los genes CLOCK o PER3 (Jagannath et al., 2017).

Mutaciones en el reloj circadiano también predispone a roedores al síndrome metabólico. El reloj controla el metabolismo directamente mediante la conducción de programas transcripcionales para ciertas vías metabólicas. Por ejemplo, PER2, controla el metabolismo de los lípidos mediante la regulación directa del receptor activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR γ) y las enzimas limitantes de la velocidad mitocondrial (Jagannath et al., 2017) La interrupción de

CLOCK y BMAL1 también se ha asociado con obesidad, hiperinsulinemia y diabetes (Toh et al., 2001). También existe un control indirecto del reloj que ocurre a través de su regulación del comportamiento, la ingesta de alimentos y la oscilación de hormonas como la insulina, el glucagón, el péptido YY, el péptido similar al glucagón 1, la corticosterona, la leptina y la grelina (Grimaldi et al., 2010).

1.2 CICLO CIRCADIANO Y METABOLISMO GLUCÍDICO.

En el ritmo de 24 horas es fundamental la correcta ingesta de alimentos con el objetivo de proveer las necesidades energéticas, y almacenar parte de estas con el fin de ser utilizadas en periodos de ayuno. En los organismos competentes en el ritmo circadiano, el oscilador circadiano inherente programa un ciclo natural de alimentación y ayuno que ocurre con una periodicidad de 24 horas (Bass & Takahashi, 2010) La alteración de este control circadiano o de su coordinación en relación con el ciclo ambiental / conductual, como en el trabajo por turnos, comer tarde o debido a cambios genéticos, resulta en un control alterado de la glucosa y un mayor riesgo de diabetes tipo 2. Por lo tanto, una comprensión profunda de los mecanismos subyacentes a la regulación de la glucosa por el sistema circadiano y su alteración puede ayudar en el desarrollo de intervenciones terapéuticas contra las consecuencias perjudiciales para la salud de la interrupción circadiana (Froy O., 2010).

Se ha reconocido que, en sujetos humanos sanos, hay un ritmo diurno en la tolerancia a la glucosa. La glucosa oral, las infusiones intravenosas de glucosa y las comidas idénticas dan como resultado una elevación significativamente mayor de la glucosa plasmática (es decir, una menor tolerancia a la glucosa) por la noche que por la mañana (Van Cauter, Polonsky & Scheen, 1997). También se han observado ritmos diurnos similares en roedores, como en ratones y ratas.

Sin embargo, debido a que son nocturnos (es decir, activos por la noche), tienen una menor tolerancia a la glucosa durante el día (fase de reposo) que durante la noche (fase activa) (La Fleur et al., 2001). Hay múltiples factores que podrían contribuir a la reducción de la tolerancia a la glucosa, incluida la disminución de la sensibilidad a la insulina, la producción excesiva de glucosa hepática (HGP) y la disminución de la función de las células beta. Estudios han demostrado que, en humanos sanos, tanto la sensibilidad a la insulina como la respuesta de las células beta a la glucosa son más bajas en la cena que en el desayuno (Froy. O., 2010). El HGP matutino elevado antes del desayuno podría deberse a un ayuno prolongado durante la noche y el aumento resultante de hormonas contrarreguladoras (por ejemplo, cortisol, hormonas de crecimiento, norepinefrina) y / o debido a una modulación circadiana de HGP como lo sugieren los estudios con roedores (Van couter, Polonsky & Scheen, 1997).

Con respecto a los carbohidratos ingeridos por la dieta, existe evidencia que demuestra que existe regulación circadiana en la digestión y absorción de carbohidratos. Por ejemplo, la producción de enzimas requeridas para la digestión de carbohidratos sigue un ritmo circadiano al igual que los transportadores necesarios para la absorción de carbohidratos (Pácha & Sumová, 2013). Por otro lado, los enterocitos absorben monosacáridos de la luz intestinal utilizando transportadores como el transportador de glucosa dependiente de sodio (SGLT1/2), GLUT5 y GLUT3. La función de estos transportadores depende directa o indirectamente de los ritmos circadianos.

(Voight et al., 2019). De hecho, los ratones que tienen una mutación en el reloj circadiano molecular en el gen CLOCK no muestran fluctuaciones circadianas en SglT1, Glut2 o Glut5 (Pan & Hussain, 2009).

1.3 CICLO CIRCADIANO Y METABOLISMO LIPÍDICO.

La homeostasis metabólica es un componente esencial que regula el metabolismo energético, especialmente en los tejidos adiposos. El tejido adiposo es el órgano central metabólico que regula la homeostasis energética de todo el cuerpo. De esta manera el tejido adiposo secreta varias hormonas, citoquinas y metabolitos (llamados como adipoquinas) que controlan el balance sistémico energético regulando las señales de apetito desde el sistema nervioso central como también la actividad metabólica de los tejidos periféricos (Young & McGinnis, 2016).

Con respecto al metabolismo lipídico se ha demostrado que el sistema circadiano regula varios pasos limitantes de la velocidad en las vías del metabolismo de los lípidos tanto a nivel de genes como de proteínas en roedores, pero se sabe muy poco sobre la regulación circadiana en humanos del metabolismo de los lípidos (Reinke & Asher, 2016, Poggiogalle et al 2018).

Algunos estudios han examinado los ritmos diurnos en el colesterol y sus subcomponentes en humanos, con resultados contradictorios, por ejemplo, En respuesta a una sola comida, un ensayo informó que los triglicéridos posprandiales fueron más bajos, mientras que los niveles de colesterol total, LDL-C, HDL-C y apolipoproteína fueron más altos, cuando se comió una sola comida durante el día (13:00 h) en comparación con una sola comida en la noche (1:00), (Romon et al., 1997). Al examinar los ritmos de 24 horas, dos estudios en adultos

Europeos caucásicos informaron ritmos de colesterol total y LDL con amplitudes mínimas entre 6–7 mg / dl y 10% (Sennels et al., 2015, Van Kerkhof et al., 2015) mientras que los ensayos en adultos españoles e indios informaron amplitudes más grandes de 20-30% en colesterol total y LDL [19,20]. Para el HDL-C, la evidencia de un ritmo diurno es mixta: los ensayos en españoles e Indios encontraron evidencia de un ritmo de amplitud muy pequeña (2-4%) (Rivera-Coll et al., 1994, Singh et al., 2015) , mientras que los dos ensayos en caucásicos informaron que no existe ritmo (Sennels et al., 2015, Van Kerkhof et al., 2015). Por otro lado, la mayoría de los estudios coinciden en que los triglicéridos exhiben un ritmo diurno (Sennels et al., 2015, Rivera-Coll et al., 1994) con niveles que varían hasta en un 33-63% durante el día.

Los estudios de enfoque circadiano revelan que una mayor fracción de lípidos comprende la regulación circadiana que cualquier otra clase de metabolitos de plasma. En un estudio metabolómico en 10 hombres demostraron que el 15% de los metabolitos plasmáticos exhiben ritmos circadianos y que el 80% de estos compuestos rítmicos son metabolitos lipídicos (Dallmann et al., 2012). La mayoría de las especies lipídicas alcanzaron sus niveles máximos entre media mañana y mediodía. La mayoría de los lípidos que exhibieron variación circadiana fueron triglicéridos y diglicéridos. Por comparación, las fosfatidilcolinas alcanzaron su punto máximo por la noche, mientras que el LDL no mostró ritmo circadiano (aunque los valores se mantuvieron más altos durante el día (Poggiogalle et al., 2018).

1.4 CICLO CIRCADIANO Y VITAMINA D

Estudios sugieren que la vitamina D se relaciona con el ritmo circadiano y el ciclo de sueño-vigilia (Wirz-Justice, Skene & Münch, 2020). Se ha informado sobre la presencia del receptor de vitamina D en áreas del tronco encefálico que se sabe que son células marcapasos que desempeñan un papel importante en la primera etapa del sueño y el mantenimiento del sueño (Muscogiuri et al., 2019) . También se ha observado en estudios como el de *Young S et al 2017*, donde encontró una relación significativa entre la deficiencia sérica de vitamina D y la mala calidad de sueño. Además, otro estudio, reveló en jugadores de fútbol profesional un ritmo anual circadiano (circanual) significativo de vitamina D con una acrofase en invierno, mientras que también se observó que el cortisol y la testosterona mostraron ritmos circanuales significativos, con una acrofase durante el invierno en el caso del cortisol, y durante el verano en el caso de la testosterona (Lombardi et al., 2017).

1.5 CICLO CIRCADIANO Y CORTISOL

Se sabe actualmente que la cantidad y frecuencia de la secreción de cortisol es regulada mediante el ciclo circadiano. La concentración de cortisol en circulación alcanza su peak justo antes de despertar en la mañana y gradualmente decae durante el día, llegando su nivel más bajo durante el sueño después de medianoche (Poggiogalle et al. 2018).

Se ha demostrado que el reloj circadiano puede controlar la secreción fisiológica de glucocorticoides endógenos circadianos (GC), en modelos *in vivo* animales y humanos, y además controlar la respuesta fisiológica diaria a los GC endógenos, a través de la activación de diferentes mecanismos inhibidores de la función del receptor GC, en modelos animales *in vitro* y humanos. Por otro lado, se ha encontrado que los GC sincronizan la expresión del reloj circadiano en modelos de células animales *in vitro*, humanas y modelos animales *in vivo* (Negri et al., 2020).

1.6 CICLO CIRCADIANO Y TIROTROPINA

La tirotropina (TSH) es la variable de control funcional más importante de la glándula tiroides. La secreción por la hipófisis anterior es controlada por factores hipotalámicos y los efectos inhibidores de las hormonas tiroideas. La TSH es secretada con un ritmo circadiano pronunciado y aumenta bruscamente por la tarde alrededor de las 8 p.m. Alcanzando un máximo entre la media noche y las 4 a.m. Desde entonces, se genera un descenso continuado hasta llegar a un mínimo en horas de la tarde. Por otro lado, cambios fisiopatológicos como el hipertiroidismo o el hipotiroidismo conducen a una alteración del ritmo circadiano, en ambas situaciones se mantiene la secreción pulsátil de TSH, aunque la amplitud puede aplanarse en caso del hipertiroidismo y aumentar en caso de hipotiroidismo (Brabant, G., 1998).

1.7 CAMBIO DE HORA COMO AGENTE DISRUPTOR DEL CICLO CIRCADIANO

El daylight saving time (DST) o cambio de hora, se refiere a la práctica de ajustar la hora del reloj local en periodo de verano. Este proceso se le atribuye a Benjamin Franklin en 1784, pero no fue hasta 1916 que el DST se adoptó en Gran Bretaña debido a los costos de la energía durante la guerra (Manfredini et al., 2018).

Sin embargo, bajo la premisa de que los relojes circadianos utilizan la luz del día para arrastrarse al entorno del organismo. El arrastre es suficientemente exacto que los humanos se ajustan a la progresión este-oeste del amanecer dentro de una zona horaria determinada. Aunque la estacionalidad en los seres humanos ha disminuido drásticamente en los países industrializados en los últimos 60 años. El DST podría constituir un factor adicional para la disociación de la biología humana de las estaciones (Voight et al., 2019).

Con respecto al fin del DST, o la transición a horario de invierno, en el estudio de Harrison, Y 2012. En el cual se estudiaron los hábitos de sueño de 120 personas a través de relojes medidores de actividad y cuestionarios que los participantes se demoraban aproximadamente 5 días en ajustarse a las nuevas horas de sueño, durmiendo menos tiempo los participantes que habitaban dormir más y durmiendo más tiempo los participantes que habitaban dormir

menos, sin embargo, con una disminución de la eficiencia de sueño, especialmente para los que habituaban dormir menos tiempo (Oster et al, 2006).

Por otro lado, se ha informado una mayor incidencia de infartos agudos al miocardio (AMI) después del DST, que ha sido más pronunciado en las mujeres. Se sabe que la ocurrencia de eventos cardiovasculares exhibe patrones temporales que varían a lo largo de las 24 horas del día. Estos patrones coinciden con la variación temporal en los mecanismos fisiopatológicos que desencadenan eventos cardiovasculares y los cambios fisiológicos en los ritmos corporales (Manfredini et al, 2018). Se ha estimado que la tasa de incidencia de aparición del AMI es un 40% más alta en el período matutino que durante el resto del día, y casi el 28% de las AMI matutinas (que representan aproximadamente el 9% de todas las AMI) son atribuibles al exceso matutino (Cohen et al., 1997).

Además, el efecto del estrés en el estado cardíaco, vascular y hemostático humano parece ser rítmico circadiano, siendo los efectos mayores por la mañana. Se ha sugerido que una respuesta cardiovascular exagerada a los desafíos conductuales como un factor potencial que aumenta el riesgo de hipertensión y enfermedades cardiovasculares. Por lo tanto, las personas que exhiben grandes aumentos en la presión arterial durante el estrés psicológico agudo están en riesgo de aterosclerosis, probablemente secundaria al daño endotelial por un aumento de la presión arterial, a través del aumento de la turbulencia del flujo y

una posterior liberación de citoquinas inflamatorias y pro-aterogénicas (Hadlow et al., 2013).

Por otro lado, existe evidencia acumulada que sugiere que los ritmos circadianos aberrantes de cortisol pueden estar asociados con trastornos físicos y psicológicos, como la depresión, el trastorno de estrés postraumático) y el cáncer. También se han propuesto consecuencias clínicas del trastorno estacional del cortisol, como el trastorno afectivo estacional (TAE). No está claro si esto pudiese estar relacionado al DST y a su vez en el desalineamiento en el ritmo circadiano de cortisol lo que abre un debate sobre los posibles efectos perjudiciales (Cohen et al., 1997).

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Existe una inconsistencia entre la evidencia que respalda el cambio de horario debido al ahorro energético y los efectos sobre la salud humana, siendo el más significativo el alza de infartos agudos al miocardio, más aún, se desconoce si existen cambios en analitos metabólicos tales como Vitamina 25-OH, perfil glucídico, perfil lipídico, TSH y cortisol como consecuencia a la disrupción del ritmo circadiano debido al horario de invierno.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los principales analitos metabólicos de un grupo conformado por Vitamina 25-OH, perfil glucídico, perfil lipídico, TSH y cortisol que se ven alterados con la disrupción del ritmo circadiano ocasionado por el horario de invierno?

4. HIPOTESIS

La disrupción del ritmo circadiano ocasionado por el horario de invierno altera analitos metabólicos asociados con el metabolismo glucídico y el cortisol.

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar la variación estadística de analitos metabólicos de un grupo conformado por Vitamina 25-OH, perfil glucídico, perfil lipídico, TSH y cortisol por la disrupción del ritmo circadiano ocasionado por el horario de invierno en un grupo de estudio de 30 jóvenes sin comorbilidades.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.- Describir una cohorte estudio, una semana previa y una o dos semanas posteriores al cambio de horario de invierno del año 2022.

2.- Determinar la concentración de analitos metabólicos de un grupo formado por Vitamina 25-OH, perfil glucídico, perfil lipídico, TSH y cortisol en un grupo de estudio, una semana previa al cambio de horario y una o dos semanas posteriores al cambio de horario de invierno del año 2022.

3.- Analizar estadísticamente mediante T-test y Two way anova la variación de los niveles de los analitos metabólicos de un grupo formado por Vitamina 25-OH, perfil glucídico, perfil lipídico, TSH y cortisol entre una semana previa al cambio de horario y una o dos semanas posteriores al cambio de horario de invierno del año 2022.

7. METODOLOGÍA

7.1 SELECCIÓN MUESTRAL

Se utilizará como criterio de inclusión: i) hombres jóvenes voluntarios universitarios de entre 18 y 24 años ii) Estudiantes de una carrera de salud de una universidad privada de Los ángeles, Chile. iii) que cursen primer, segundo, tercer y cuarto año de estudio universitario matriculados en los años, 2019, 2020, 2021 y 2022.

Además se dividirán en grupos los cuales serán: i) grupo temprano, cuyos participantes tendrán su toma de muestra una semana previa al cambio de horario y una semana posterior al cambio de horario. ii) grupo tardío, cuyos participantes tendrán su toma de muestra una semana previa al cambio de horario y una semana posterior al cambio de horario. iii) grupo en conjunto, cuyos participantes será el conjunto total de los participantes del estudio.

7.2 TOMA DE MUESTRA

Los participantes serán citados para dos tomas de muestra de sangre, la primera previa al cambio de horario y la segunda una o dos semanas posteriores al cambio de horario según el grupo asignado, además, se solicitará la toma de muestra de un tubo sin anticoagulante de tapa amarilla o roja con sistema de tubos llenados al vacío y aguja estéril, por punción en la vena de su brazo. El

lugar de la toma de muestra será en la clínica Kinésica de la UST sede Los Ángeles, entre las 8:30 am y 10:30 am. Las muestras serán rotuladas indicando el código del paciente y fecha correspondiente a través de un adhesivo para ser separado el suero y para luego ser trasladadas a la Universidad de Concepción en cadena de frío por el equipo investigador inmediatamente luego del procedimiento. El procedimiento para la toma de muestra de sangre se realizará en ayuno 12 horas de ayuno, por un enfermero.

7.3 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Para la determinación en suero de los analitos: Vitamina 25-OH D, insulina, TSH y cortisol se utilizará el instrumento analítico clínico de inmunoensayos quimioluminiscentes Maglumi® 800 de Snibe diagnostic™, se adjuntan las cartas de levey-jenning 20 días anteriores al procesamiento de muestra en anexo cuando corresponda.

Para la determinación en suero de la glicemia y perfil lipídico(Colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos) se utilizará el analizador de química clínica automático Biossays 240 Plus® de Snibe diagnostic™, se adjuntan las cartas de levey-jenning 20 días anteriores al procesamiento de muestra en anexo cuando correspondan

7.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizará el análisis estadístico utilizando el software estadístico Prism graphpad, en el cual analizará mediante un T-test pareado las diferencias entre Pre/post toma de muestras para los grupos temprano y tardío contemplando un valor de $p < 0.05$. Para el análisis de la variación entre los grupos tempranos y tardíos se realizará el test 2way ANOVA, también contemplando un valor de $p < 0.05$

9.RESULTADOS

En el siguiente apartado se describirán los resultados obtenidos con respecto a la determinación de la variación de analitos metabólicos: Glucosa, HDL , LDL, colesterol, triglicéridos, insulina, cortisol, TSH y vitamina 25-OH D de los participantes del estudio a los cuales se dividió en grupos temprano o tardío según si su toma de muestra fue una semana antes y una semana posterior al cambio de horario de invierno del año 2022 para el grupo temprano; y una semana anterior y dos semanas posteriores para el grupo tardío. Además, se describirá los resultados obtenidos al comparar la variación entre los grupo temprano y tardío.

9.1 DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DEL PERFIL GLUCÍDICO PARA GRUPOS TEMPRANO, TARDÍO Y EN CONJUNTO

Se determinó mediante la recolección de suero y su posterior determinación analítica la concentración de los analitos metabólicos correspondiente al perfil glucídico: glucosa e insulina, separándolo por grupos, los cuales corresponden al grupo temprano, cuyas toma de muestras fueron realizadas una semana antes y una semana después al cambio de horario de invierno, y el grupo tardío, cuyas tomas de muestras fueron realizadas una semana antes y dos semanas posteriores al cambio de horario de invierno. Además, se presentan datos del grupo en conjunto, el cual abarca los dos últimos grupos en su totalidad.

Se realizó el test estadístico T-test pareado con el fin de observar el cambio de los analitos metabólicos correspondientes al perfil glucídico a consecuencia de la interrupción de ritmo circadiano por el cambio de horario de invierno del año 2022. Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico T-Test pareado, se muestra que para el caso de la glucosa del grupo en conjunto Fig.(1A), se observa un valor de P de 0,0015, lo cual es menor a 0,05 indicando una significancia en el decrecimiento entre pre y post al cambio de horario. No se observaron cambios significativos para los niveles de insulina.

Con respecto a los resultados del T-test pareado relacionados al grupo temprano se muestra que para el caso de los analitos metabólicos glucosa e insulina Fig.(1C) y (1D), se obtuvieron un valor de P de 0,4992 y 0,1012, respectivamente,

siendo éstos mayores a 0,05 demostrando que las diferencias obtenidas entre el pre y post no son significativas.

En relación los resultados correspondientes al grupo tardío que fueron obtenidos utilizando el test estadístico T-Test pareado, se muestra que para el caso del analito metabólico glucosa Fig.(1E), se muestra un valor de P de 0,0010, lo cual es menor a 0,05 indicando una significancia en el decrecimiento de pre y post al cambio de horario para el grupo tardío. Con respecto a la insulina Fig.(1F), el T-Test pareado arrojó un valor de P de 0,2891 lo que es mayor a 0,05 , demostrando que no existe significancia en la variación del pre y post al cambio de horario para el grupo tardío.

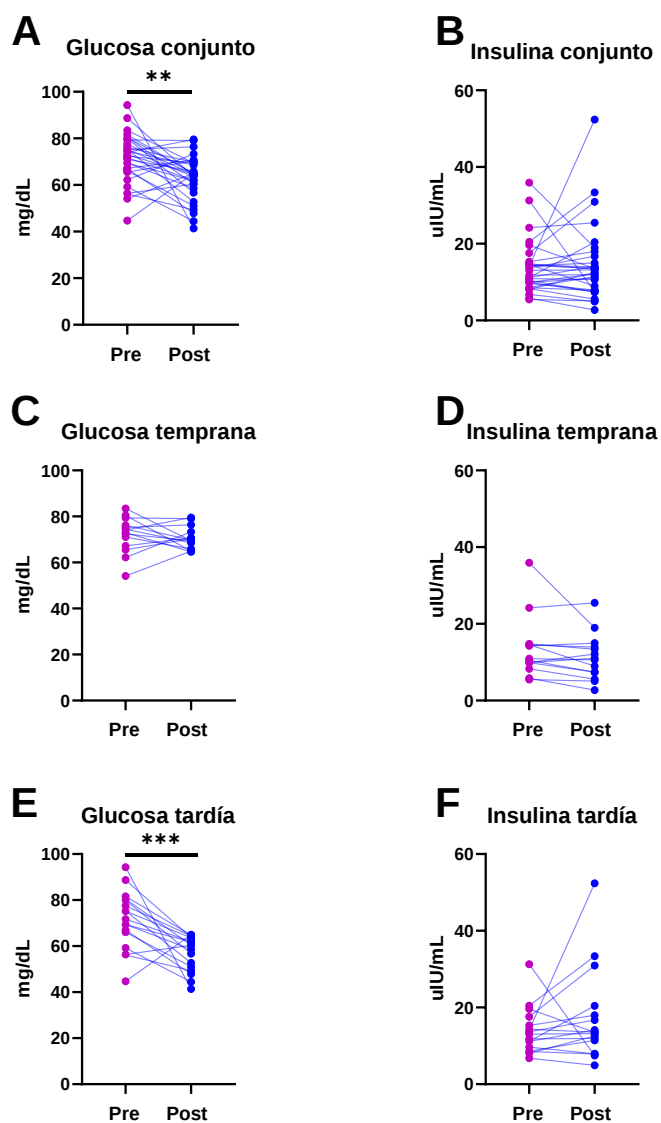


Figura. 1: Determinación de variación del perfil glucídico. Mediciones de A) glucosa e B) insulina del grupo en conjunto; mediciones de C) glucosa e D) insulina del grupo temprano; mediciones de E) glucosa e F) insulina del grupo tardío. Resultados obtenidos por T-test en gráfico de símbolos y líneas donde ** es $p < 0,01$ y *** es $p < 0,001$.

9.2 DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO PARA GRUPOS TEMPRANO, TARDÍO Y EN CONJUNTO.

Se determinó mediante la recolección de suero y su posterior determinación analítica la concentración de los analitos metabólicos correspondiente al perfil lipídico: Colesterol, LDL, HDL y triglicéridos, separándolo por grupos los cuales corresponden al grupo temprano cuyas tomas de muestras fueron realizadas una semana antes y una semana después al cambio de horario de invierno, el grupo tardío cuyas tomas de muestras fueron realizadas una semana antes y dos semanas posteriores al cambio de horario de invierno y el grupo en conjunto que abarca los dos últimos grupos en su totalidad. Para lo cual se realizó el test estadístico T-test pareado con el fin de observar el cambio de los analitos metabólicos correspondientes al perfil lipídico a consecuencia de la disrupción de ritmo circadiano por el cambio de horario de invierno del año 2022.

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico T-Test pareado para el grupo en conjunto, se muestra que para el caso de los analitos metabólicos Colesterol Fig. (2A), HDL Fig. (2B) , LDL Fig. (2C) y triglicéridos Fig. (2D) obtuvieron un valor de P: 0,0287; 0,3511; 0,1120; 0,0151 respectivamente, en el caso del HDL y LDL siendo estos mayores a 0,05 demostrando que las diferencias obtenidas entre el pre y post no son significativas. Mientras tanto con respecto a colesterol y triglicéridos obtuvieron valores menores que 0,05

indicando un aumento significativo de la concentración de triglicéridos y colesterol en suero en el post con respecto al tiempo pre cambio de horario.

Con respecto a los resultados correspondientes al grupo temprano obtenidos utilizando el test estadístico T-Test pareado, se muestra que para el caso de los analitos metabólicos Colesterol Fig. (2E), HDL Fig. (2F), LDL Fig. (2G) y triglicéridos Fig. (2H) obtuvieron un valor de P: 0,1001; 0,2927; 0,1676; 0,3378 respectivamente siendo estos mayores a 0,05 demostrando que las diferencias obtenidas entre el pre y post no son significativas.

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico T-Test pareado, se muestra que para el caso de los analitos metabólicos Colesterol Fig. (2I), HDL Fig. (2J) y Fig. LDL (2K), obtuvieron un valor de P: 0,1446; 0,7745; 0,3177 respectivamente siendo estos mayores a 0,05 demostrando que las diferencias obtenidas entre el pre y post no son significativas. Con respecto a los triglicéridos Fig. (2L), el T-Test pareado arrojó un valor de P: 0,0114, siendo menor que 0,05 indicando un aumento significativo de la concentración de triglicéridos en suero en el post con respecto al pre cambio de horario.

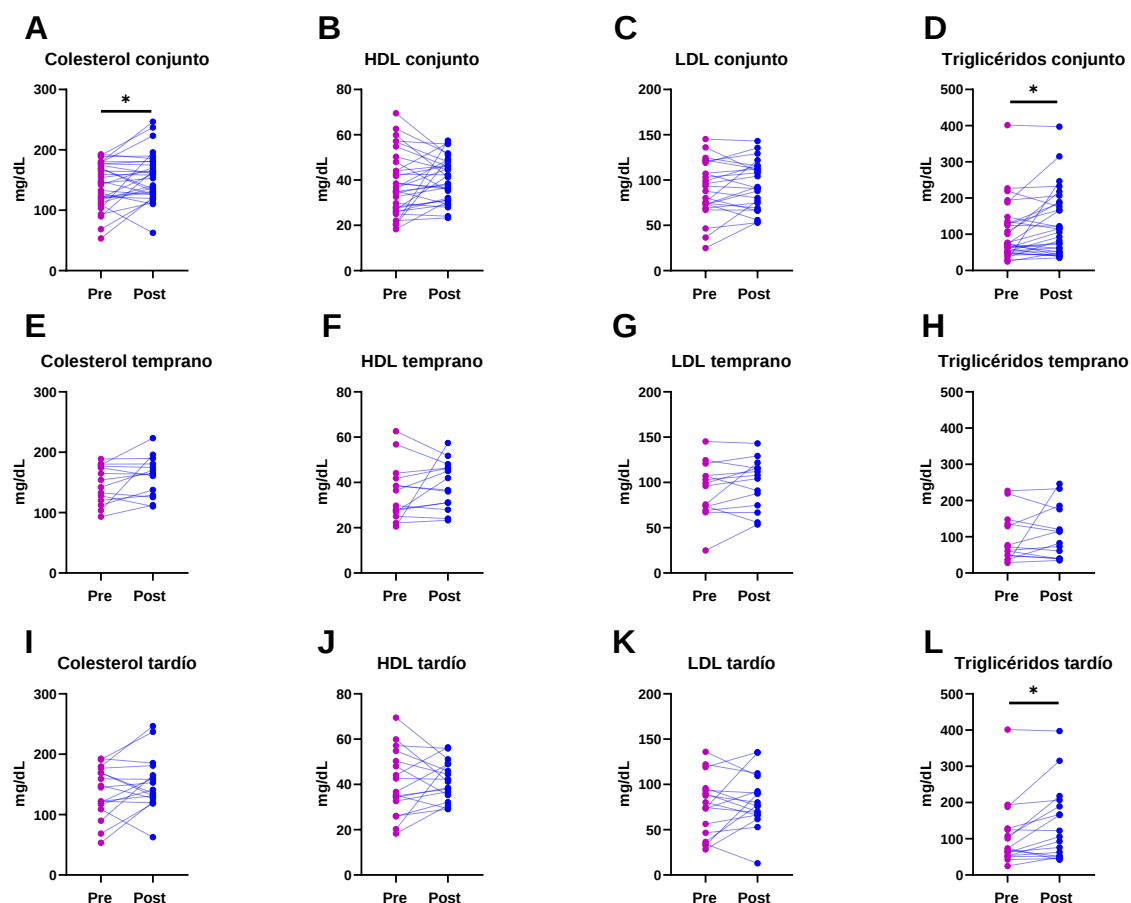


Figura. 2 Determinación de la variación de perfil lipídico. Mediciones de perfil lipídico: A) Colesterol, b) HDL, C) LDL y D) triglicéridos del grupo en conjunto; mediciones de perfil lipídico: E) Colesterol, F) HDL, G) LDL y H) triglicéridos del grupo temprano y mediciones de perfil lipídico: I) Colesterol, J) HDL, K) LDL y L) triglicéridos del grupo tardío. Resultados obtenidos por T-test en gráfico de símbolos y líneas donde * es $P < 0,1$.

9.3 DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE TSH PARA GRUPOS TEMPRANO, TARDÍO Y EN CONJUNTO.

Se determinó mediante la recolección de suero y su posterior determinación analítica la concentración de TSH, separándolo por grupos ya mencionados.

Según los resultados obtenidos del test estadístico T-test pareado con respecto a la TSH se obtuvo que para el grupo en conjunto Fig. (3A) arrojó un valor de P de 0,1063, siendo mayor a 0,05 demostrando que las diferencias obtenidas entre el pre y post no son significativas, de la misma forma con respecto a los grupos temprano Fig. (3B) y tardío Fig.(3C) se obtuvo un valor de P de 0,3404 y 0,071 respectivamente, siendo estos mayores también a 0,05 demostrando que las diferencias obtenidas entre los tiempos pre y post cambio de horario no fueron significativas.

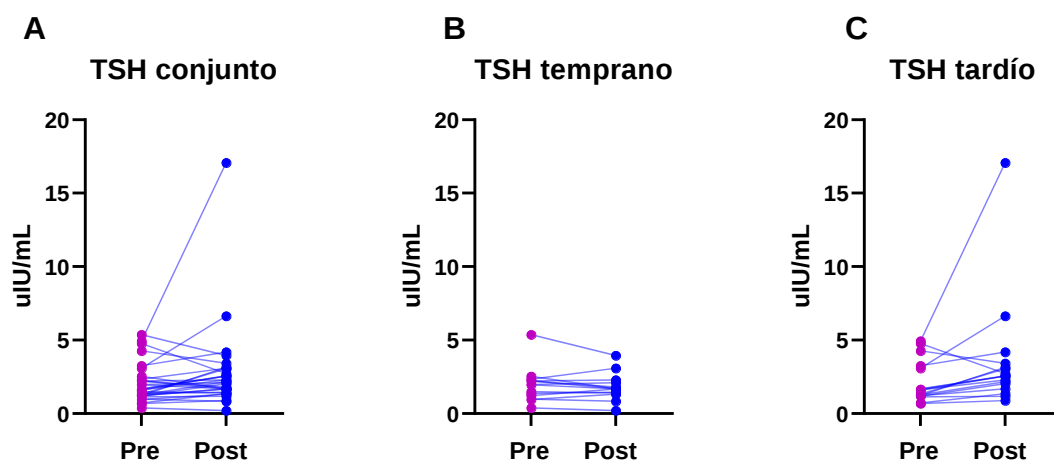


Figura. 3 Determinación de la variación de TSH. A) Mediciones de TSH del grupo en conjunto; B) Mediciones de TSH del grupo temprano; C) Mediciones de TSH del grupo tardío. Resultados obtenidos por T-test en grafico de símbolos y líneas.

9.4 DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE VITAMINA 25-OH D PARA GRUPOS TEMPRANO, TARDÍO Y EN CONJUNTO.

Se determinó mediante la recolección de suero y su posterior determinación analítica la concentración de vitamina 25-OH D, separándolo por grupos ya mencionados.

Según los resultados obtenidos del test estadístico T-test pareado con respecto a la Vitamina 25-OH D se obtuvo que para el grupo en conjunto Fig. (4A) arrojó un valor de P de $<0,0001$, siendo menor que 0,05 indicando un aumento muy significativo de la concentración de vitamina 25-OH D en suero en el post con respecto al pre cambio de horario. Con respecto a los grupos temprano Fig. (4B) y tardío Fig. (4C) se obtuvo un valor de valor de P de 0,0006 y 0,0024, respectivamente, siendo estos menores a 0,05 demostrando que las diferencias obtenidas entre los tiempos pre y post cambio de horario fueron significativas.

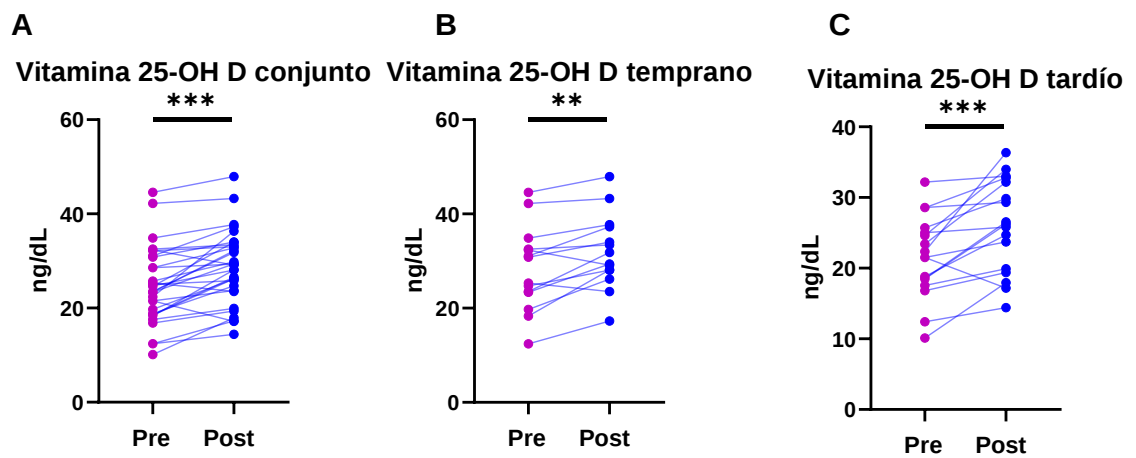


Figura. 4 Determinación de la variación de vitamina 25-OH D. Mediciones de vitamina 25-OH D del grupo en conjunto; B) mediciones de vitamina 25-OH D del grupo temprano; C) mediciones de vitamina 25-OH D del grupo tardío. Resultados obtenidos de T-test en grafico de símbolos y líneas donde ** es $P < 0,01$ y *** es $P < 0,001$.

9.5 DETERMINACIÓN DE LA VARIACIÓN DE CORTISOL PARA GRUPOS TEMPRANO, TARDÍO Y EN CONJUNTO.

Se determinó mediante la recolección de suero y su posterior determinación analítica la concentración de cortisol, separándolo por grupos.

Según los resultados obtenidos del test estadístico T-test pareado con respecto a la cortisol se obtuvo que para el grupo en conjunto Fig. (5A) arrojó un valor de P de 0,1173, siendo mayor a 0,05 demostrando que las diferencias obtenidas entre el pre y post no son significativas, de la misma forma con respecto a los grupos temprano Fig. (5B) y tardío Fig.(5C) se obtuvo un valor de P de 0,3501 y 0,2266 respectivamente, siendo estos mayores también a 0,05 demostrando que las diferencias obtenidas entre los tiempos pre y post cambio de horario no fueron significativas.

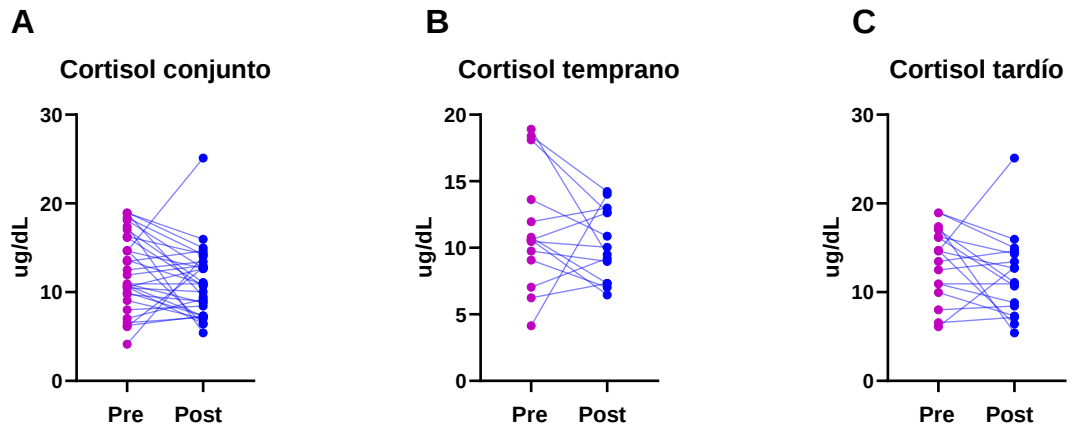


Figura. 5 Determinación de la variación de cortisol. A) Mediciones de cortisol del grupo en conjunto; B) mediciones de cortisol del grupo temprano; C) mediciones de cortisol del grupo tardío. Resultados obtenidos de T-test en grafico de símbolos y líneas.

9.6 DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE GRUPO TEMPRANO Y TARDÍO CON RESPECTO A LA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DEL PERFIL GLUCÍDICO

Se determinó mediante la recolección de suero y su posterior determinación analítica la concentración del perfil glucídico una semana anterior y una o dos semanas posteriores al cambio de invierno del año 2022, para luego utilizar el software estadístico Prism Graphpad con la función de 2 way anova, ubicando en las filas los diferentes grupos (Temprano y tardío) y en las columnas los tiempos pre y post al cambio de horario correspondiendo a la concentración de glucosa o insulina.

Glucosa

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico Two way anova, se muestra que para la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas es decir, la interacción entre el grupo temprano y tardío, dio un valor de P de 0.0046, siendo menor a 0,05 lo que indica que existe una diferencia significativa en las medias de los diferentes grupos Fig.(6A)

En el caso de la fuente de variación del factor de las columnas, es decir, la hipótesis nula es que no existen diferencias en las medias de los diferentes

tiempos, pre y post, dio un valor de valor de P de 0.0018, siendo menor que 0,05; lo que indica que existe una diferencia significativa entre los diferentes tiempos pre y post cambio de horario. Fig.(6A)

Con respecto a la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas y las columnas, es decir, la interacción entre el grupo temprano o tardío con respecto a la diferencia de tiempo Pre y Post, dio un valor de P de 0.0110, siendo menor a 0,05 lo que indica que existe una interacción significativa entre los grupos temprano y tardío con respecto a los tiempos pre y post cambio de horario de invierno. Fig.(6A)

Insulina

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico Two way anova, se muestra que para la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas es decir, la interacción entre el grupo temprano y tardío, dio un valor de P de 0.2345, siendo mayor a 0,05 lo que indica que no existe una diferencia significativa en las medias de los diferentes grupos Fig.(6B)

En el caso de la fuente de variación del factor de las columnas, es decir, la hipótesis nula es que no existen diferencias en las medias de los diferentes tiempos, pre y post, dio un valor de P de 0.7735, siendo mayor que 0,05; lo que indica que no existe una diferencia significativa entre los diferentes tiempo pre y post cambio de horario. Fig.(6B).

Con respecto a la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas y las columnas, es decir, la interacción entre el grupo temprano o tardío con respecto a las diferencia de tiempo Pre y Post, dio un valor de P de 0.1451, siendo mayor a 0,05 lo que indica que existe una interacción significativa entre los grupos temprano y tardío con respecto a los tiempos pre y post cambio de horario de invierno. Fig.(6B)

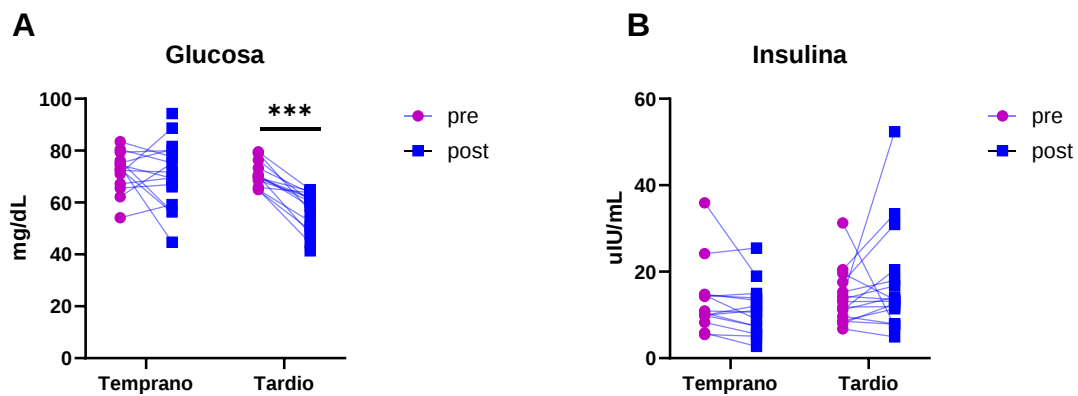


Figura. 6 Determinación de la variación de los grupos temprano y tardío según la variación de los niveles de glucosa e insulina. Donde A) corresponde a la s mediciones de glucosa y B) las mediciones de insulina. Resultados obtenidos de un two way anova en gráfico de líneas y puntos donde *** $p < 0,001$.

9.8 DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE GRUPO TEMPRANO Y TARDÍO CON RESPECTO A LA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO

Se determinó mediante la recolección de suero y su posterior determinación analítica la concentración de colesterol una semana anterior y una o dos semanas posteriores al cambio de invierno del año 2022, para luego utilizar el software estadístico Prism Graphpad con la función de 2 way anova, ubicando en las filas los diferentes grupos (Temprano y tardío) y en las columnas los tiempos pre y post al cambio de horario correspondiendo a la concentración de colesterol.

Colesterol

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico Two way anova, se muestra que para la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas, es decir, la interacción entre el grupo temprano y tardío, dio un valor de P de 0.4896, siendo mayor a 0,05 lo que indica que no existe una diferencia significativa en las medias de los diferentes grupos Fig.(7A)

En el caso de la fuente de variación del factor de las columnas, es decir, la hipótesis nula es que no existen diferencias en las medias de los diferentes tiempos, pre y post, dio un valor de P de 0.0394, siendo menor que 0,05; lo que indica que existe una diferencia significativa entre los diferentes tiempo pre y post cambio de horario. Fig.(7A)

Con respecto a la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas y las columnas, es decir, la interacción entre el grupo temprano o tardío con respecto a las diferencias de tiempo Pre y Post, dio un valor de P de 0.9525, siendo mayor a 0,05 lo que indica que existe una interacción significativa entre los grupos temprano y tardío con respecto a los tiempos pre y post cambio de horario de invierno. Fig.(7A)

HDL

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico Two way anova, se muestra que para la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas, es decir, la interacción entre el grupo temprano y tardío, dio un valor de P de 0.3320, siendo mayor a 0,05 lo que indica que no existe una diferencia significativa en las medias de los diferentes grupos Fig.(7B)

En el caso de la fuente de variación del factor de las columnas, es decir, la hipótesis nula es que no existen diferencias en las medias de los diferentes tiempos, pre y post, dio un valor de P de 0.3371, siendo mayor que 0,05; lo que indica que no existe una diferencia significativa entre los diferentes tiempo pre y post cambio de horario. Fig.(/B)

Con respecto a la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas y las columnas, es decir, la interacción entre el grupo temprano o tardío con respecto a las diferencia de tiempo Pre y Post, dio un valor de P de 0.5688, siendo mayor a 0,05 lo que indica que existe una interacción significativa entre

los grupos temprano y tardío con respecto a los tiempos pre y post cambio de horario de invierno. Fig.(7B)

LDL

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico Two way anova, se muestra que para la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas, es decir, la interacción entre el grupo temprano y tardío, dio un valor de P de 0.1211, siendo mayor a 0,05 lo que indica que no existe una diferencia significativa en las medias de los diferentes grupos Fig.(7C)

En el caso de la fuente de variación del factor de las columnas, es decir, la hipótesis nula es que no existen diferencias en las medias de los diferentes tiempos, pre y post, dio un valor de P value de 0.1457, siendo mayor que 0,05; lo que indica que no existe una diferencia significativa entre los diferentes tiempo pre y post cambio de horario. Fig.(7C)

Con respecto a la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas y las columnas, es decir, la interacción entre el grupo temprano o tardío con respecto a las diferencia de tiempo Pre y Post, dio un P value de 0.9596, siendo mayor a 0,05 lo que indica que existe una interacción significativa entre los grupos temprano y tardío con respecto a los tiempos pre y post cambio de horario de invierno. Fig.(7C)

Triglicéridos

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico Two way anova, se muestra que para la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas es decir, la interacción entre el grupo temprano y tardío, dio un P value de 0.5077, siendo mayor a 0,05 lo que indica que no existe una diferencia significativa en las medias de los diferentes grupos Fig.(7D)

En el caso de la fuente de variación del factor de las columnas, es decir, la hipótesis nula es que no existen diferencias en las medias de los diferentes tiempos, pre y post, dio un valor de P value de 0.0250, siendo menor que 0,05; lo que indica que existe una diferencia significativa entre los diferentes tiempo pre y post cambio de horario. Fig.(7D)

Con respecto a la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas y las columnas, es decir, la interacción entre el grupo temprano o tardío con respecto a las diferencia de tiempo Pre y Post, dio un P value de 0.4692, siendo mayor a 0,05 lo que indica que existe una interacción significativa entre los grupos temprano y tardío con respecto a los tiempos pre y post cambio de horario de invierno. Fig.(7D)

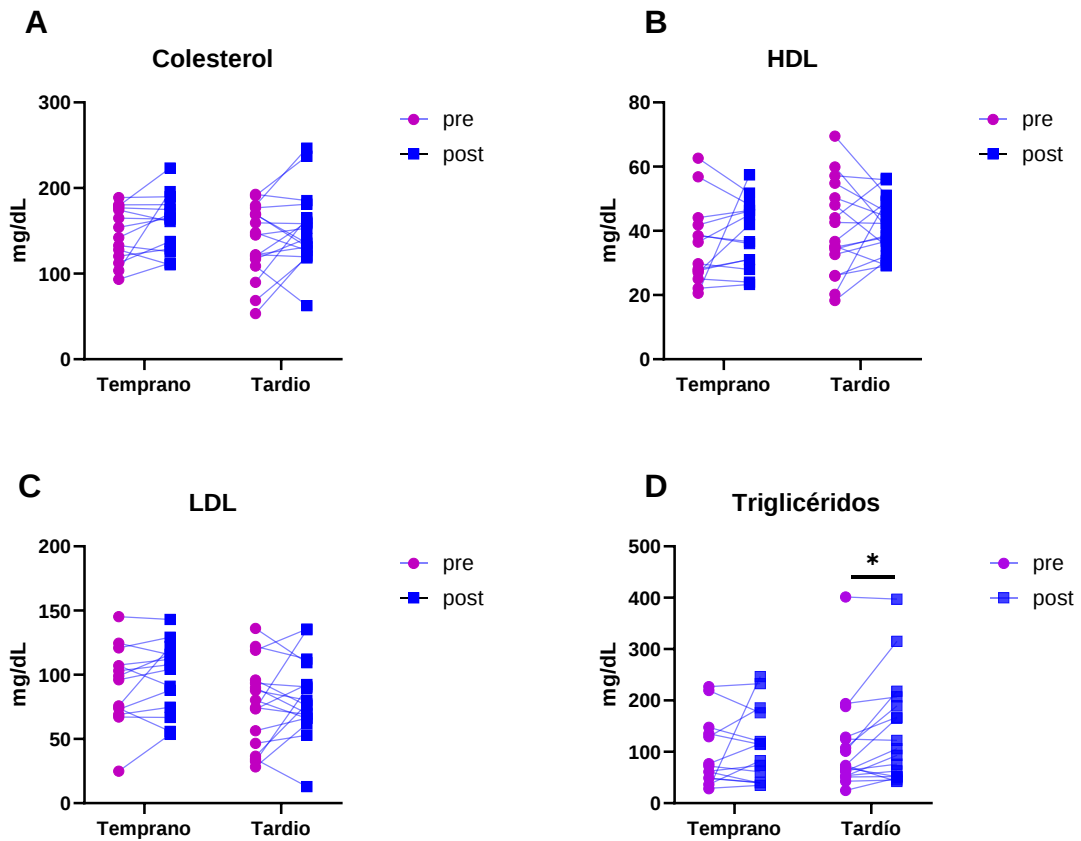


Figura. 7 Determinación de la variación de grupos temprano y tardío con respecto a la variación de perfil lipídico. Donde A) corresponde a las mediciones de colesterol, B) las mediciones de HDL, C) las mediciones de LDL y D) las mediciones de triglicéridos. Resultados obtenidos de un two way anova en grafico de símbolos y líneas.

9.8 DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE GRUPO TEMPRANO Y TARDÍO CON RESPECTO A LA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DE TSH

Se determinó mediante la recolección de suero y su posterior determinación analítica la concentración de TSH una semana anterior y una o dos semanas posteriores al cambio de invierno del año 2022, para luego utilizar el software estadístico Prism Graphpad con la función de 2 way anova, ubicando en las filas los diferentes grupos (Temprano y tardío) y en las columnas los tiempos pre y post al cambio de horario correspondiendo a la concentración de TSH.

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico Two way anova, se muestra que para la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas es decir, la interacción entre el grupo temprano y tardío, dio un P value de 0.1962, siendo mayor a 0,05 lo que indica que no existe una diferencia significativa en las medias de los diferentes grupos Fig.(8)

En el caso de la fuente de variación del factor de las columnas, es decir, la hipótesis nula es que no existen diferencias en las medias de los diferentes tiempos, pre y post, dio un valor de P value de 0,1422 siendo mayor que 0,05; lo que indica que no existe una diferencia significativa entre los diferentes tiempos pre y post cambio de horario. Fig.(8)

Con respecto a la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas y las columnas, es decir, la interacción entre el grupo temprano o tardío con respecto a las diferencias de tiempo Pre y Post, dio un P value de 0.0864, siendo mayor a 0,05 lo que indica que existe una interacción significativa entre los grupos temprano y tardío con respecto a los tiempos pre y post cambio de horario de invierno. Fig.(8)

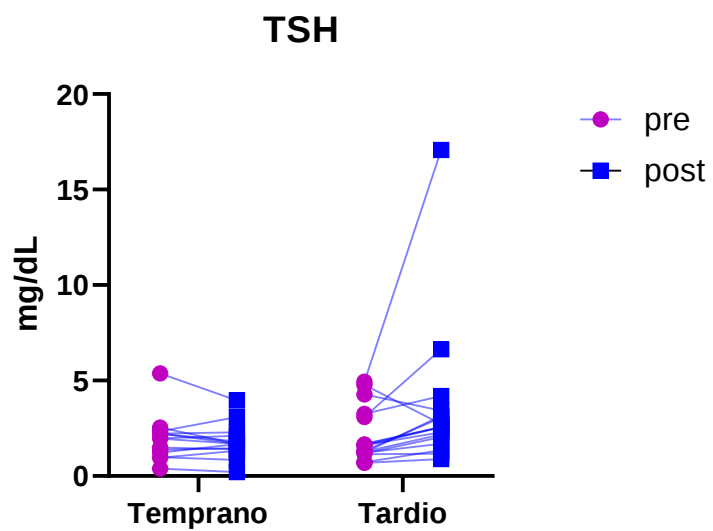


Figura. 8 Determinación de la variación de grupos temprano y tardío con respecto a la variación de TSH. Resultados obtenidos de un two way anova en gráfico de líneas y puntos.

9.9 DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE GRUPO TEMPRANO Y TARDÍO CON RESPECTO A LA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DE VITAMINA 25-OH D

Se determinó mediante la recolección de suero y su posterior determinación analítica la concentración de vitamina 25-OH D una semana anterior y una o dos semanas posteriores al cambio de invierno del año 2022, para luego utilizar el software estadístico Prism Graphpad con la función de Two way anova, ubicando en las filas los diferentes grupos (Temprano y tardío) y en las columnas los tiempos pre y post al cambio de horario correspondiendo a la concentración de vitamina 25-OH D.

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico Two way anova, se muestra que para la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas es decir, la interacción entre el grupo temprano y tardío, dio un P value de 0.0242, siendo menor a 0,05 lo que indica que existe una diferencia significativa en las medias de los diferentes grupos Fig.(9)

En el caso de la fuente de variación del factor de las columnas, es decir, la hipótesis nula es que no existen diferencias en las medias de los diferentes tiempos, pre y post, dio un valor de P value <0.0001 siendo menor que 0,05; lo que indica que existe una diferencia significativa entre los diferentes tiempos pre y post cambio de horario. Fig.(9)

Con respecto a la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas y las columnas, es decir, la interacción entre el grupo temprano o tardío con respecto a las diferencias de tiempo Pre y Post, dio un P value de 0.5649, siendo mayor a 0,05 lo que indica que existe una interacción significativa entre los grupos temprano y tardío con respecto a los tiempos pre y post cambio de horario de invierno. Fig.(9)

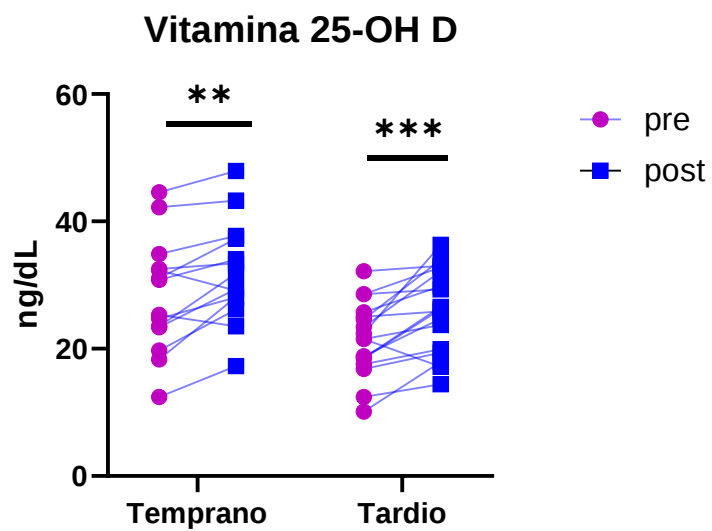


Figura. 9 Determinación de la variación de grupos temprano y tardío con respecto a la variación de vitamina 25-OH. Resultados obtenidos de un two way anova en gráfico de líneas y puntos. Donde ** es $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$

9.10 DETERMINACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE GRUPO TEMPRANO Y TARDÍO CON RESPECTO A LA VARIACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DE CORTISOL

Se determinó mediante la recolección de suero y su posterior determinación analítica la concentración de cortisol una semana anterior y una o dos semanas posteriores al cambio de invierno del año 2022, para luego utilizar el software estadístico Prism Graphpad con la función de Two way anova, ubicando en las filas los diferentes grupos (Temprano y tardío) y en las columnas los tiempos pre y post al cambio de horario correspondiendo a la concentración de cortisol.

Según los resultados obtenidos utilizando el test estadístico Two way anova, se muestra que para la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas es decir, la interacción entre el grupo temprano y tardío, dio un P value de 0.1007, siendo mayor a 0,05 lo que indica que no existe una diferencia significativa en las medias de los diferentes grupos Fig.(10)

En el caso de la fuente de variación del factor de las columnas, es decir, la hipótesis nula es que no existen diferencias en las medias de los diferentes tiempos, pre y post, dio un valor de P de 0,2503 siendo mayor que 0,05; lo que indica que no existe una diferencia significativa entre los diferentes tiempos pre y post cambio de horario. Fig. (10)

Con respecto a la fuente de variación correspondiente a la interacción entre las filas y las columnas, es decir, la interacción entre el grupo temprano o tardío con respecto a las diferencias de tiempo Pre y Post, dio un P value de 0,7344, siendo mayor a 0,05 lo que indica que no existe una interacción significativa entre los grupos temprano y tardío con respecto a los tiempos pre y post cambio de horario de invierno. Fig. (10)

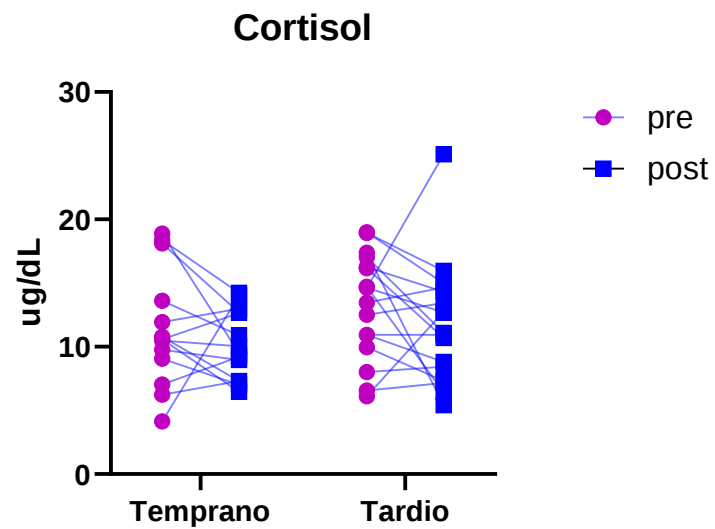


Figura. 14 Determinación de la variación de grupos temprano y tardío con respecto a la variación de cortisol. Resultados obtenidos de un two way anova en gráfico de símbolos y puntos.

10. DISCUSIÓN

Aunque la disrupción circadiana debido al cambio de horario no esté perfectamente descrita en humanos, hay puntos interesantes al discutir. Asumiendo el cambio de horario como un agente más en la disrupción circadiana con respecto al metabolismo glucídico, sabemos por bibliografía que la tolerancia a la glucosa, la secreción de insulina y la glucosa postprandial responden a un ritmo diurno, ritmo circadiano, y que a su vez se ven afectados por la disrupción de éste mismo. En los resultados obtenidos, comenzando por las comparaciones pareadas, se observa que no existe una variación significativa para el caso de la insulina, caso que se mantendría para cada grupo por separado (temprano y tardío). Sin embargo, en el caso de la glucosa si logra un cambio muy significativo para ambos grupos, manteniéndose para el grupo tardío y perdiéndose para el grupo temprano. Según Morris *et al.*, 2015, aunque la secreción de insulina y la tolerancia a la glucosa se ven afectadas por el desalineamiento del ritmo circadiano, la insulina y la glucosa en ayuno no se ven afectados por este desalineamiento. Esto con respecto a los resultados obtenidos en este estudio, coinciden en relación a la insulina, sin embargo, el nuestro estudio mostró que la glucosa en ayuno varía con respecto a la disrupción del ritmo circadiano debido al cambio de horario, pero de manera tardía, ya que este efecto no logró observarse para el grupo temprano.

Primeramente, se pudiese pensar que la glucosa pudiese verse afectada tardíamente con respecto al cambio de horario, pero si analizamos detalladamente los valores obtenidos, en el caso del grupo tardío los valores de los participantes llegan a ser seriamente disminuidos (sugiriendo en algunos casos hipoglicemia debido a la gran cantidad de valores inferiores a 70 mg/dL). Podemos corroborar que no es un error en la etapa analítica, según el reporte del el anexo 3. Fig (15), donde se muestran las Tablas de Levey-Jenning, en donde se describe la concentración del control de glucosa normal y patológico 20 días anteriores a la medición de glucosa de este estudio, y se demuestra que existe un control de calidad que valida estas mediciones. Por lo cual se sugiere poder repetir estas mediciones en un estudio posterior, y así descartar una mala práctica preanalítica.

Con respecto al perfil lipídico se sabe por bibliografía E. Poggiogalle *et al.*, 2017, que actualmente existen aún muchas interrogantes con respecto a su relación con el ritmo circadiano y más un si específicamente los analitos colesterol total, HDL y LDL se ve afectado por la disrupción circadiana. Según los resultados obtenidos en el t-test que comprendía los valores obtenidos de ambos grupos (temprano y tardío), se mostró que los colesteroles HDL y LDL no tuvieron variaciones significativas y que ésto se mantuvo cuando se analizó a los grupos por separado, sin embargo, al analizar el colesterol para el grupo en conjunto se

observa una diferencia significativa del pre al post cambio de horario, diferencia que no se logra observar al analizarse en los grupos temprano y tardío por separado. Con respecto a los triglicéridos, los resultados mostraron una variación significativa al analizarse en conjunto a ambos grupos y solo se mantuvo en el grupo tardío, además de esto, al realizar el test estadístico two way anova, se mostró que la diferencia entre los tiempos Pre y Post fue significativa también para triglicéridos siendo esto discordante con el estudio realizado por E. Ribeiro *et al.*, 1998, quienes analizaron la disrupción circadiana en participantes con simulación de trabajo por turnos, donde analizaron sus niveles de triglicéridos y no observaron diferencias significativas.

Con respecto al cortisol, se sabe por bibliografía O. Froy *et al* 2011.,, que éste depende directamente del ritmo circadiano, y que además se ve afectado por la disrupción de éste mismo. Existe además evidencia acumulada que sugiere que los ritmos circadianos aberrantes de cortisol pueden estar asociados con trastornos físicos y psicológicos, como la depresión, el trastorno de estrés postraumático y el cáncer. Con respecto a los resultados del t-test obtenidos a partir de ambos grupos (temprano y tardío) no mostró diferencias significativas, manteniéndose esto al analizar a ambos grupos por separado. Lo que concuerda con el estudio de N. Hadlow *et al.*, 2014, quienes estudiaron la variación en suero

de cortisol según el cambio de horario y el cambio de estaciones donde no observaron diferencias significativas.

Con respecto a la vitamina D, existe poca información bibliográfica que relacione el ritmo circadiano y la vitamina D, pero por ejemplo en el estudio de YS, Jung *et al.*, 2017, describe que existe una relación entre la mala calidad de sueño y la deficiencia sérica de vitamina D. En otro estudio liderado por G. Lombardi *et al.*, 2017, donde se estudió en jugadores de fútbol profesional las fluctuaciones de vitamina D durante las estaciones. se encontró que los jugadores exhibía un ritmo circa-anual con una acrofase en verano. Por lo observado en los resultados del t-test que comprendía los datos de los participantes de ambos grupos (temprano y tardío) se mostró una variación significativa que aumentaba de pre al post con respecto al cambio de horario, que se mantuvo de la misma manera tanto para los grupos temprano y tardío por separado.

En relación con la TSH, por bibliografía G. Brabant *et al.*, 1998, se expuso que ésta se rige por un ritmo circadiano y que también enfermedades asociadas como el hipotiroidismo y el hipertiroidismo pueden afectar en una alteración del ritmo circadiano, sin embargo, por lo observado en los resultados de t-test en los cuales se utilizaron los datos provenientes de ambos grupos (temprano y tardío), se observa que no hubo una variación significativa en conjunto y en ambos grupos por separado.

11. CONCLUSIONES

La disrupción del ritmo circadiano ocasionada por el cambio de horario de invierno provoca la variación de analitos metabólicos como es el caso de glucosa, vitamina 25-OH D y triglicéridos.

12. PROYECCIONES

Diseñar un estudio analítico de un mayor número muestral que no conlleve una separación muestral por grupos de tiempos, sino permitirse a cada participante tener sus mediciones de metabolitos en cada tiempo post cambio de horario, con el fin de corroborar analitos que tuvieron significancia en grupo en conjunto pero que no la tuvieron en sus grupos por separado.

ANEXO:1 CONSENTIMIENTO INFORMADO

RESUMEN

La investigación que se pretende realizar es un proyecto titulado: Efectos en los patrones circadianos del ciclo sueño vigilia, salud mental, cardiovascular, estilos de vida y calidad de vida provocados por los cambios de hora de invierno y verano en estudiantes de una carrera de la salud de una Universidad Privada de la ciudad de Los Ángeles. Estudio observacional, prospectivo con evaluación previa y posterior al cambio de hora en Chile continental. La población corresponderá a 30 hombres jóvenes voluntarios universitarios de entre 18 y 24 años estudiantes de una carrera de salud de la UST, sede los Ángeles, que cursen primer, segundo, tercer y cuarto año de estudio universitario matriculados en los años, 2019 ,2020,2021 y 2022. Los investigadores a cargo del proyecto corresponden a académicos de la Universidad Santo Tomás sede Los Ángeles y Profesional Médico: Klgo Mario Henríquez Beltrán, Dr. Gonzalo Labarca Trucios, Dra. Estefanía Nova Lamperti, Klga Rocío Sanhueza Roa y Klga Carolina González Escobar. Este formulario de consentimiento informado tiene la finalidad de ayudarle a tomar la decisión de participar en este estudio de investigación. Léalo minuciosamente, y discuta cualquier inquietud que tenga con el investigador responsable a cargo del estudio, o alguno de sus colaboradores. Igualmente, si lo consideranecesario puede discutir su participación en la investigación con su familia o cercanos antes de tomar la decisión.

En este trabajo se propone determinar Efectos en los patrones circadianos del ciclo sueño vigilia, salud mental, cardiovascular, estilos de vida y calidad de vida provocados

por los cambios de hora de invierno y verano en estudiantes de una carrera de la salud de una Universidad Privada de la ciudad de Los Ángeles

TITULO: EFECTOS EN LOS PATRONES CIRCADIANOS DEL CICLO SUEÑO VIGILIA, SALUD MENTAL, SALUD CARDIOVASCULAR, ESTILOS DE VIDA Y CALIDAD DE VIDA PROVOCADOS POR LOS CAMBIOS DE HORA DE INVIERNO Y VERANO EN ESTUDIANTES DE UNA CARRERA DE LA SALUD DE UNA UNIVERSIDAD PRIVADA DE LA CIUDAD DE LOS ÁNGELES

INVESTIGADORES RESPONSABLES.

Klgo Mario Henríquez Beltrán.

PATROCINANTES

Universidad Santo Tomás sede Los Ángeles y Universidad de Concepción sede Concepción.

SEÑOR PARTICIPANTE: ES NUESTRO DEBER INFORMAR A USTED:

- 1.- Que su participación en este estudio es voluntaria y que su negativa a participar no influirá en la relación sostenida hasta este momento con la Universidad Santo Tomás. Además, tiene la libertad para decidir si quiere retirarse en cualquier momento, solo comunicando su decisión al investigador responsable.
- 2.- Que la información obtenida será usada únicamente con el propósito de esta investigación, será confidencial y se guardarán registros en una memoria externa, la cual tendrá acceso únicamente los investigadores responsables y colaboradores del

proyecto.

3.- Que, si en el futuro la información de usted obtenida fuera usada para otra investigación, se solicitará nuevamente su autorización por medio de otro consentimiento informado.

4.- Que usted no recibirá aportes económicos por su participación ni se le cobrarán las evaluaciones que se le realicen mientras sea participe de esta investigación. Sin embargo, los beneficios que usted podría obtener constan en: Orientación en cuanto a los resultados obtenidos desde los cuestionarios respondidos, así como sugerencias de derivación médica en caso de que sea necesario.

5.- Que los posibles riesgos de este procedimiento incluyen: Los riesgos potenciales o molestias en el procedimiento corresponden a las propias de una toma de muestra, en donde en algunos casos Ud. podrá sentir un pequeño ardor al momento de la punción. Al finalizar la extracción de la sangre, en algunos casos Ud. podrá tener un pequeño sangrado que cesará a los pocos minutos y casualmente se pueden producir un pequeño hematoma (moretón) que desaparecerá a los pocos días. si esto ocurriese ud podrá contactar al investigador responsable quien lo derivará Al enfermero, dentro de las 48 horas para ser atendido, en relación con las otras variables del estudio, No existe riesgo identificado para la salud, ya que en este estudio no se administrará ningún medicamento o realizará algún procedimiento que pueda significar riesgo para usted. La toma de muestra se realizará en un recinto que será desinfectado para cada participante y el enfermero utilizará equipo de protección personal y será testeado para COVID-19 regularmente

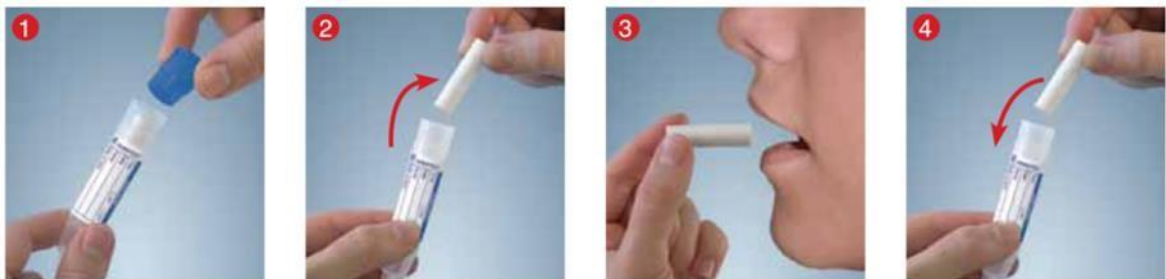
Procedimientos:

Toma de muestra Sanguínea: Los participantes serán citados para dos tomas de muestra de sangre, se solicitará la toma de muestra de saliva para medición de las variables de melatonina y cortisol en sangre (10 ml por vez, 1 tubo sin anticoagulante color tapa amarillo o rojo y 2 tubo con EDTA color tapa lila /por paciente), con sistema de tubos llenados al vacío y aguja estéril, por punción en la vena de su brazo. Este procedimiento será realizado por el enfermero y colaborador del proyecto Diego Lillo. El lugar de la toma de muestra será en la clínica Kinésica de la UST sede Los Ángeles, entre las 8:30 am y 10:30 am. Las muestras serán rotuladas indicando el código del paciente y fecha correspondiente a través de un adhesivo para luego ser trasladadas a la Universidad de Concepción por el equipo investigador inmediatamente luego del procedimiento. El procedimiento para la toma de muestra de sangre se realizará en ayuno 12 horas de ayuno, por un enfermero.

Toma de muestras de saliva: Se solicitará la toma de muestra de saliva para medición de las variables de melatonina y cortisol en sangre. El procedimiento para la toma de muestra será realizado por cada paciente en sus hogares, previa instrucciones y demostraciones. Cada paciente deberá recolectar 1 ml de saliva por cada tubo cada 30 minutos por 3 horas, para recolectar un total de 7 muestras. Estas horas son elegidas como las 3 horas previas al sueño habitual, las cuales serán sugeridas con base al diario de sueño de cada paciente.

Indicaciones del procedimiento: Para esto, se abrirá el tubo Salivette y se extraerá la torunda. Luego, se introducirá la torunda en la boca del participante, el cual deberá mover la mandíbula durante 60 segundos para estimular la salivación. Luego, la torunda impregnada de saliva será de vuelta en el tubo Salivette. Las muestras serán rotuladas

indicando el código del paciente y fecha correspondiente a través de un adhesivo que será entregado a cada paciente, una vez terminado este procedimiento de 7 muestras, el paciente deberá guardar las muestras de saliva en el congelador del refrigerador de cada participante en una porta muestra que se les entregará. Al día siguiente estas deberán ser llevadas a la UST sede Los Ángeles, ya que ese día entregarán las muestras de saliva y se les realizará la toma de muestra de sangre, para luego ser almacenadas en un refrigerador portátil (-20 grados) para vehículos, esto permitirá transportarles hacia el laboratorio de bioquímica y farmacia de la Universidad de Concepción (sede Concepción). Este procedimiento será realizado en cada evaluación. Los datos personales del paciente sólo serán conocidos por el investigador responsable. Los tubos serán transportados a la Universidad de Concepción bajo riguroso cumplimiento de medidas de bioseguridad reguladas. El material biológico remanente será eliminado según las normas establecidas por la misma Universidad (MATPEL).



Holter de presión: Se utilizará el Holter de Presión Contec ABPM50 ® Evaluación de 24 horas modalidad MAPA, esto permitirá registrar la presión arterial por un período de 24 horas, mientras la persona realiza su vida en forma normal. Se efectúa mediante un

manguito de presión que se coloca alrededor del brazo y un grabador liviano que va sujeto a la cintura o alrededor del tronco (ver imagen de referencia). Las indicaciones son las siguientes;

1. La presión arterial se tomará automáticamente en los intervalos de tiempo programados (cada minuto durante el día y cada 30 minutos en la noche)
2. Los resultados se guardarán automáticamente y no es necesario anotarlos.
3. Durante la toma de presión art, debe mantenerse el brazo en posición relajada.
4. El manguito no debe moverse. En caso de que se mueva, volver a colocar como se indica a la izquierda.
5. El registrador debe mantenerse seco. No es posible mojarse o meterse en saunas con el registrador.
6. Llevar el registrador puede afectar al funcionamiento de otros aparatos o a la conducción de un vehículo.
7. Para obtener tomas de presión arterial representativas, es necesario llevar una vida cotidiana normal

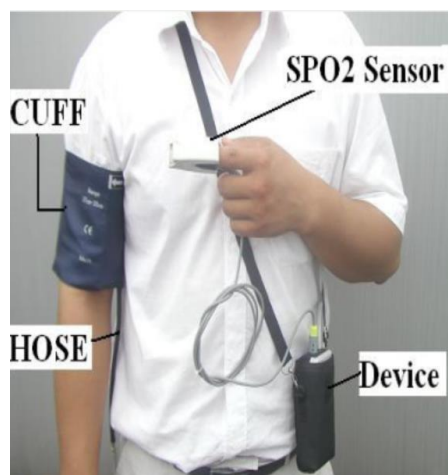


Imagen de referencia uso de Holter de presión

Los investigadores responsables de este estudio estarán disponibles para ayudarle, ante cualquier inquietud que surja antes, durante o después de la investigación, puede contactarse al teléfono (43) 2524360 o correo electrónico mariohenriquezbe@santotomas.cl.

6.- La duración de este estudio será de 6 meses, contando desde el periodo de diseño, aprobación por comité de ética, toma de datos y análisis. Puntualmente, y basados en una evaluación piloto realizada por los investigadores responsables, las evaluaciones pre y post basadas en los cuestionarios que será aplicado de manera presencial (si la situación sanitaria lo amerita se tiene contemplado cambiarla a formato online) tendrán una duración aproximada entre 30 - 45 minutos.

EVALUACIONES PRE Y POST

Todas las evaluaciones se harán a través de cuestionarios presenciales. Se preguntará sobre información generales, sociodemográficos y de salud actual. Para esto se construirá un instrumento de auto reporte. Además, se medirán las siguientes variables utilizando cuestionario y/o instrumentos validados.

1. Niveles de Melatonina y Cortisol en sangre, a través de análisis de sangre.
2. Niveles de Melatonina a través de muestra de saliva.
3. Hábitos alimentarios, a través de la encuesta de hábitos alimentarios de Duran y Cols.
4. Presión arterial, a través del examen HOLTER DE PRESIÓN.
5. Cronotipo, a través del cuestionario Matutinidad y Vespertinidad de Horne y Östberg (MEQ).
6. Insomnio, a través del índice de severidad del insomnio ISI.

7. Calidad del sueño, a través del cuestionario internacional Índice de Pittsburgh (PSQI).
8. Nivel de actividad física a través de cuestionario G-pac
9. Salud mental a través de cuestionario ansiedad y depresión
10. Patrones circadianos del ciclo sueño-vigilia (Actigrafía ACT-TRUST-CONDOR).

Plan de Evaluación

El proyecto de investigación tendrá una duración de 6 meses, en donde se realizará una evaluación previa al cambio de horario de invierno y posterior al cambio de horario de verano, para luego repetir el mismo procedimiento durante el cambio de horario de verano. La evaluación consistirá en

- 1) Exámen de sangre;
- 2) Muestra de saliva
- 3) Cuestionarios escritos de forma presencial;
- 4) Examen holter de presión arterial;
- 5) Examen de actigrafía.

7.- Los resultados de esta investigación pueden ser publicados, sin identificar a los participantes, en medios de difusión con objetivos académicos.

8.- Usted será informado de cualquier hallazgo derivado de su participación en la investigación, que pueda cambiar su decisión de continuar en este estudio. El investigador puede retirarlo de esta investigación sin necesidad de su consentimiento si estima que es de riesgo para usted continuar en él.

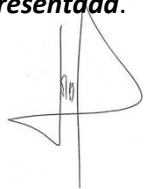
9.- Este estudio fue revisado por el Comité Ético Científico, Universidad Santo Tomás.

En caso de consultas sobre sus derechos como sujeto del estudio, puede dirigirse al teléfono (43) 253 6640 o al correo electrónico comitedeeticacs@santotomas.cl

10.- Al firmar a continuación acepta que:

- Leyó este formulario de consentimiento.
- Se le ha explicado el propósito de esta investigación, los procedimientos, los riesgos, los beneficios y los derechos que le asisten y que se puede retirar de esta en el momento que lo desee.
- No renuncia a ningún derecho que le asista.
- Asiente este documento, voluntariamente, sin ser forzada/o a hacerlo.
- Al momento de la firma, recibirá una copia firmada y fechada de este formulario de consentimiento.

****Este cuestionario fue hecho para ser presentado al comité de ética, siguiendo el formato institucional sin embargo será entregado en formato online a los participantes. Se mantendrá fielmente toda la información presentada.***



FIRMA DEL INVESTIGADOR
USUARIO

O PROFESIONAL RESPONSABLE

FIRMA DEL

O

REPRESENTANTE LEGAL

Nombre: Mario Henríquez Beltrán

Nombre:

RUT: 16676509-9

RUT:

ANEXO 2: BIOSEGURDAD

Debido a la utilización de muestras biológicas para esta investigación, se tomarán las medidas de seguridad necesarias para evitar cualquier accidente y contaminación con ellas. Los procedimientos que se realizarán serán llevados a cabo con elementos de protección personal (delantal y guantes). Los materiales ocupados serán desechados en los contenedores correspondientes y previamente inactivados por una solución de hipoclorito de sodio al 0.5%. En caso de accidente se seguirá el protocolo que entrega MATPEL para el manejo de accidentes con material de riesgo biológico de la universidad de concepción

ANEXO 3: CONTROL DE CALIDAD DE ANALITOS MEBÓLICOS

Figura.1 Gráfica levey-jenning glucosa

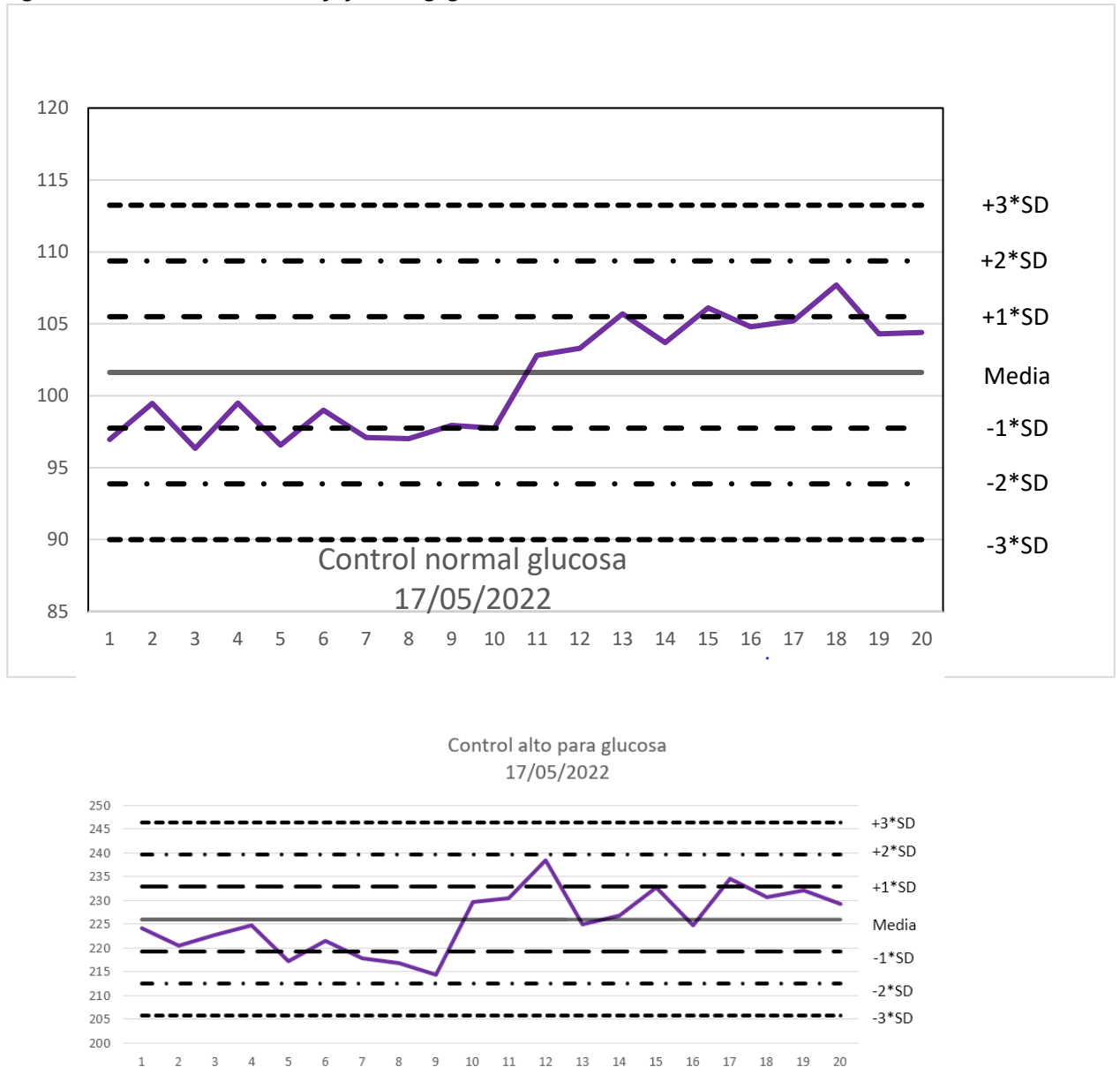


Fig.(15) En la siguiente figura se muestran los gráficos de levey-jennings correspondientes a los niveles alto y normal de glucosa en laboratorio prevegen.

Figura.2 Gráfica levey-jenning HDL.

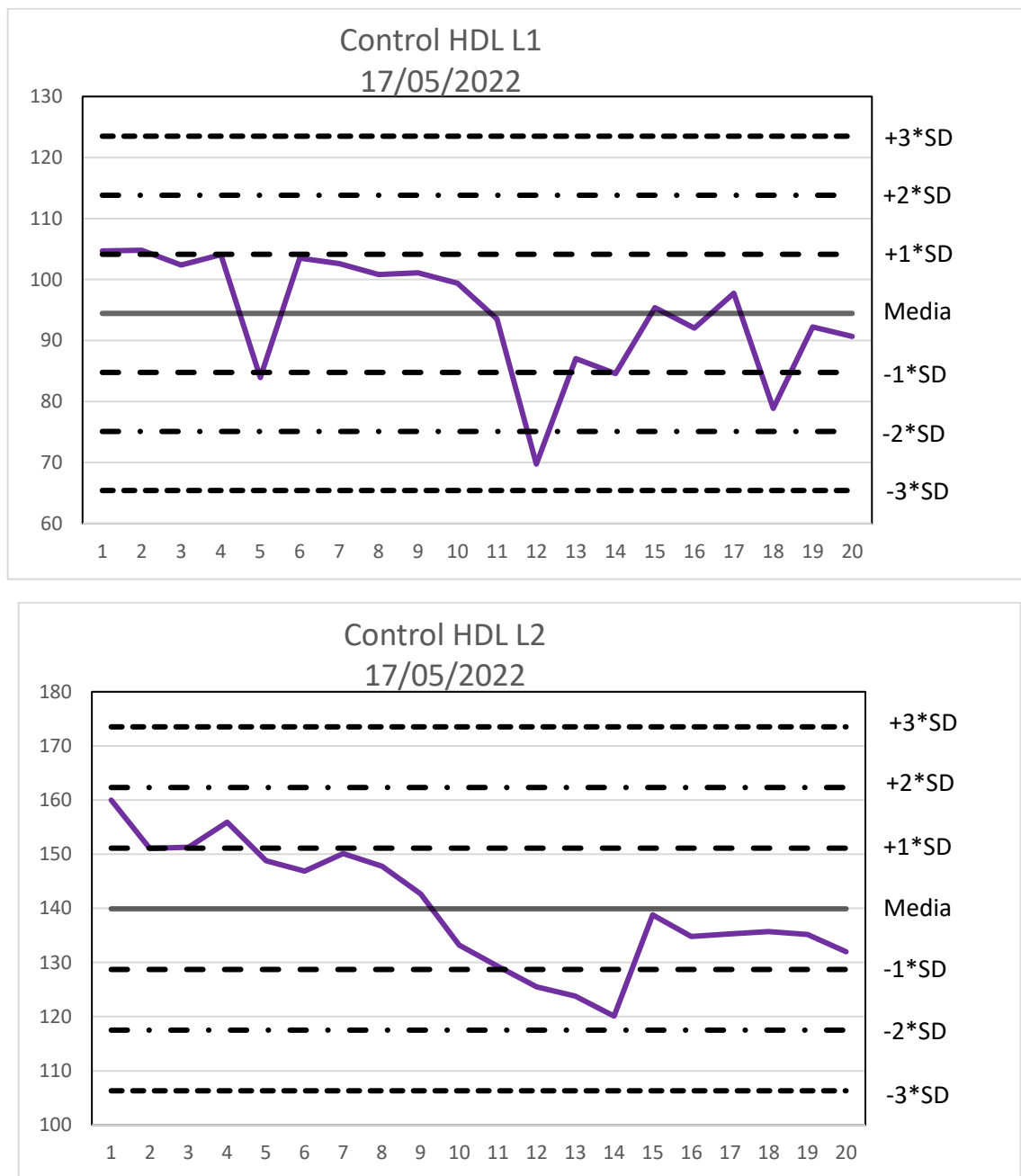


Fig.(16) En la siguiente figura se muestran los gráficos de levey-jennings correspondientes a los niveles L1 y L2 de HDL en laboratorio Prevegen.

Figura.3 Gráfica levey-jenning Colesterol.

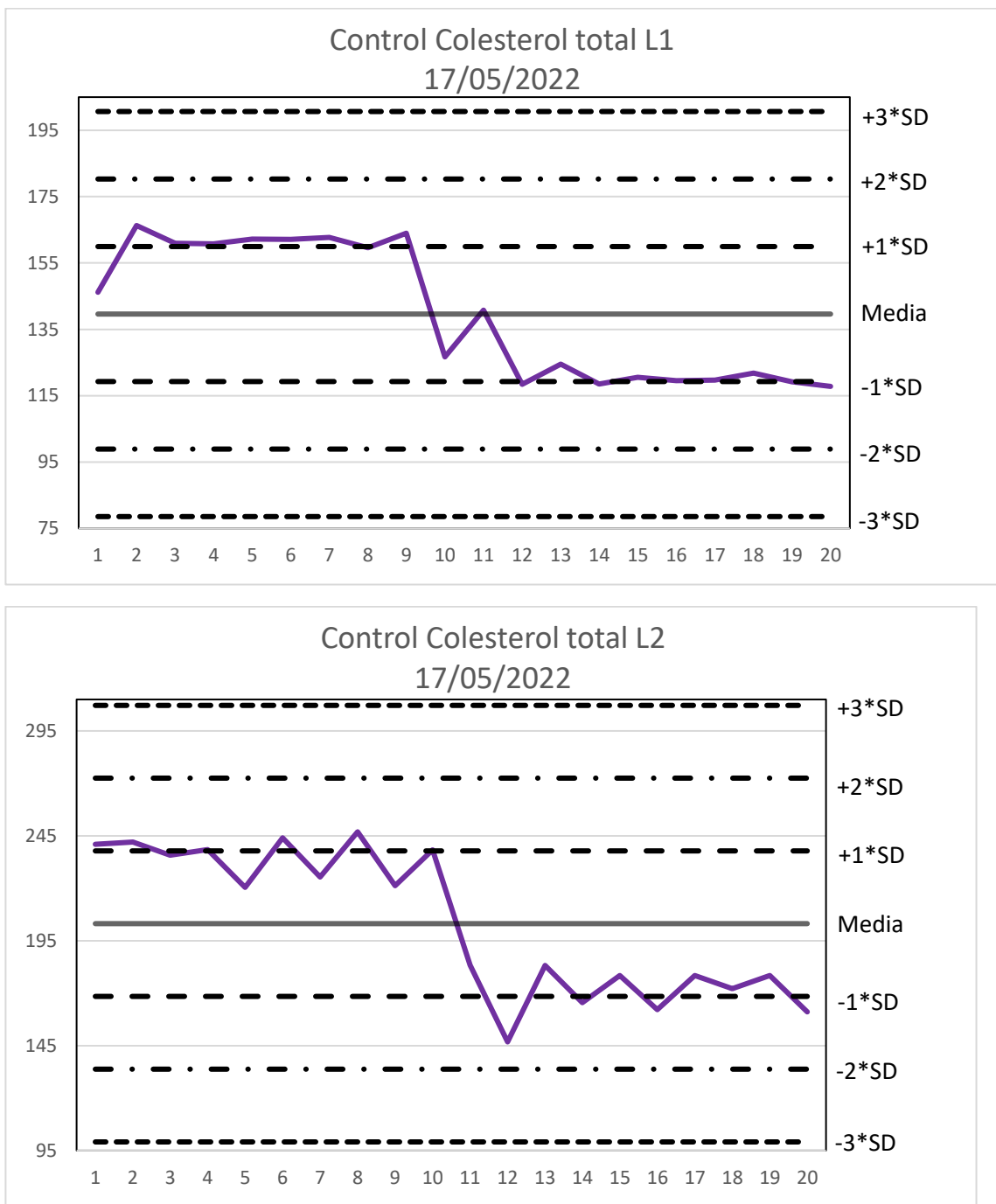


Fig.(17) En la siguiente figura se muestran los gráficos de levey-jennings correspondientes a los niveles L1 y L2 de Colesterol total en laboratorio Prevegen.

Figura.4 Gráfica levey jenning Triglicéridos

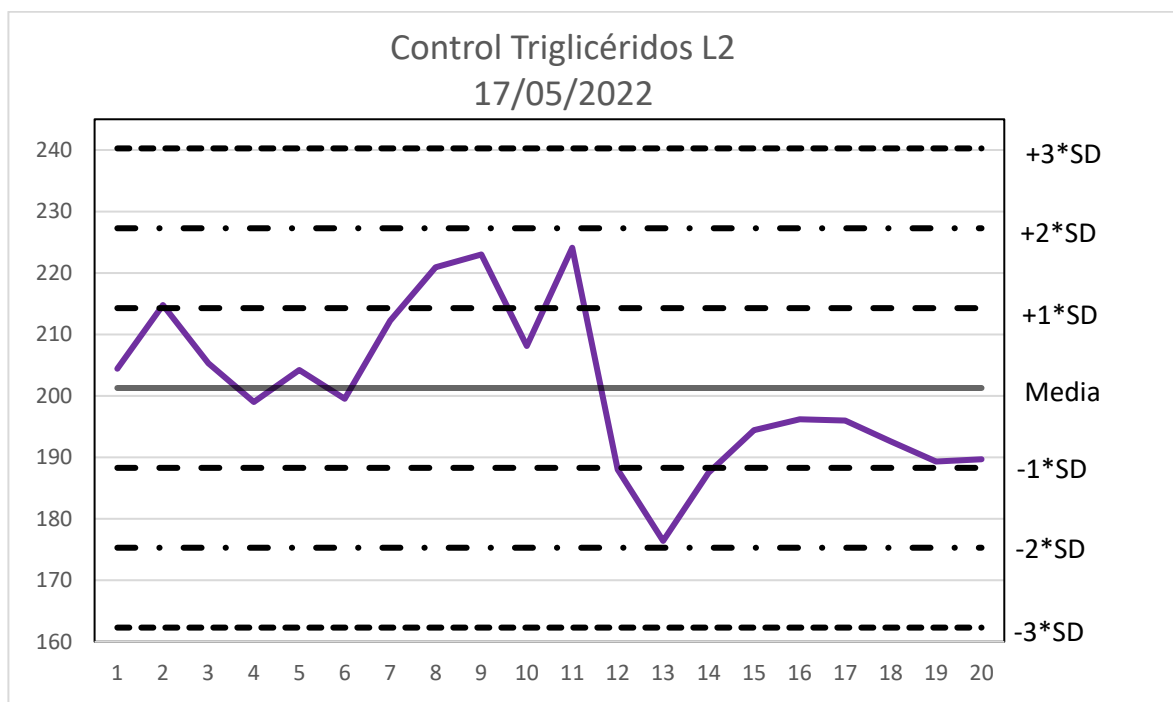
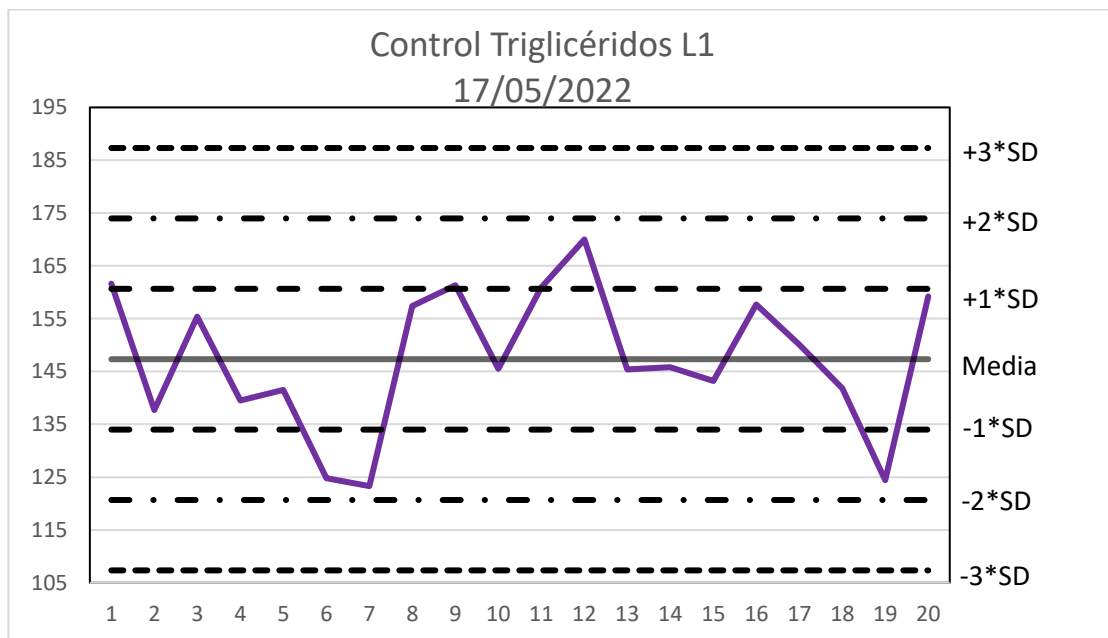


Fig.(17) En la siguiente figura se muestran los gráficos de levey-jennings correspondientes a los niveles L1 y L2 de Triglicéridos total en laboratorio Prevegen.

Figura.5 Gráfica levey-jenning Insulina

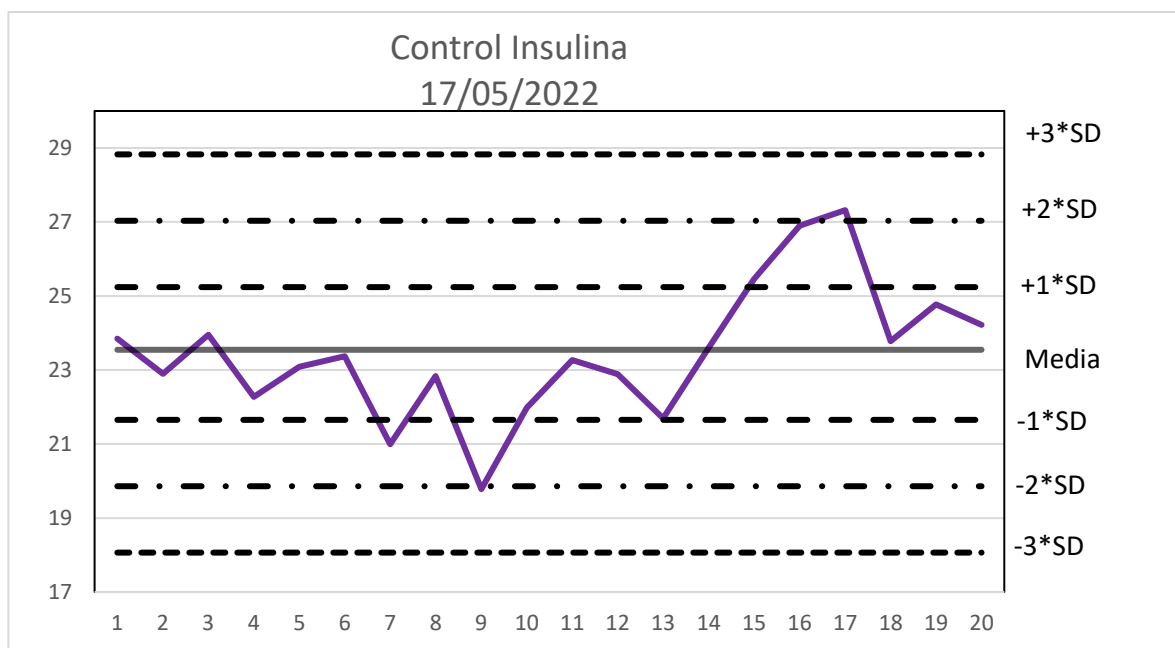


Fig.(19) En la siguiente figura se muestra el gráfico de levey-jennings correspondiente a Insulina en laboratorio Prevegen.

Figura.6 Gráfica levey-jenning Vitamina 25-OH D

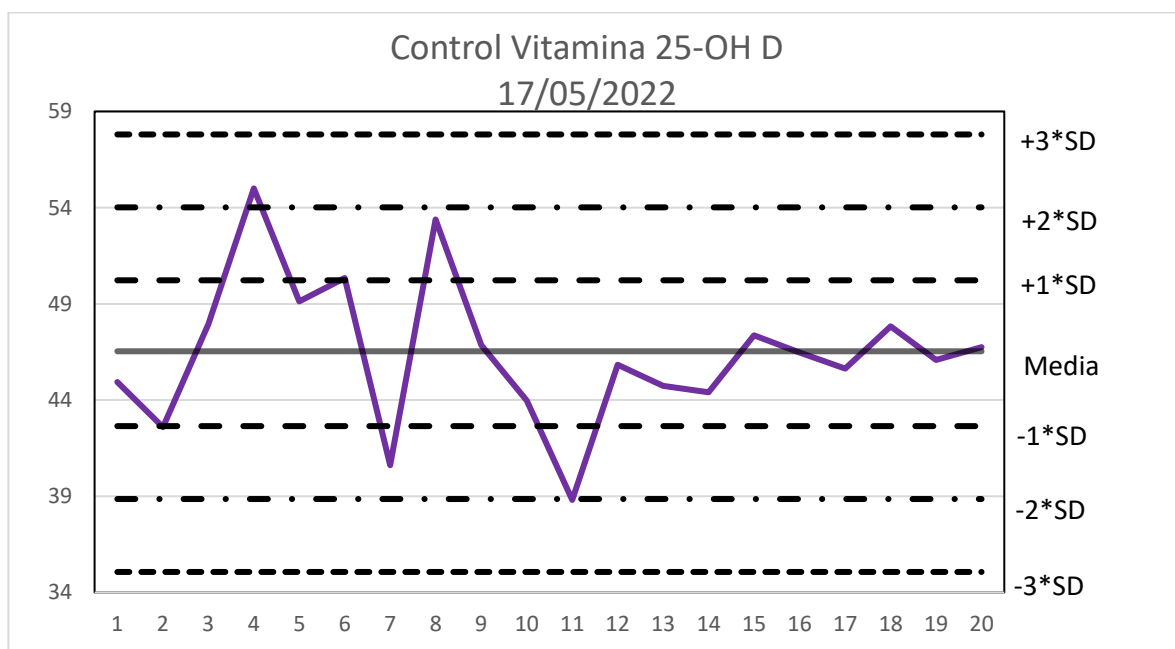


Fig.(20) En la siguiente figura se muestra el gráfico de levey-jennings correspondiente a Vitamina 25-OH D en laboratorio Prevegen.

Figura.7 Gráfica levey-jenning TSH

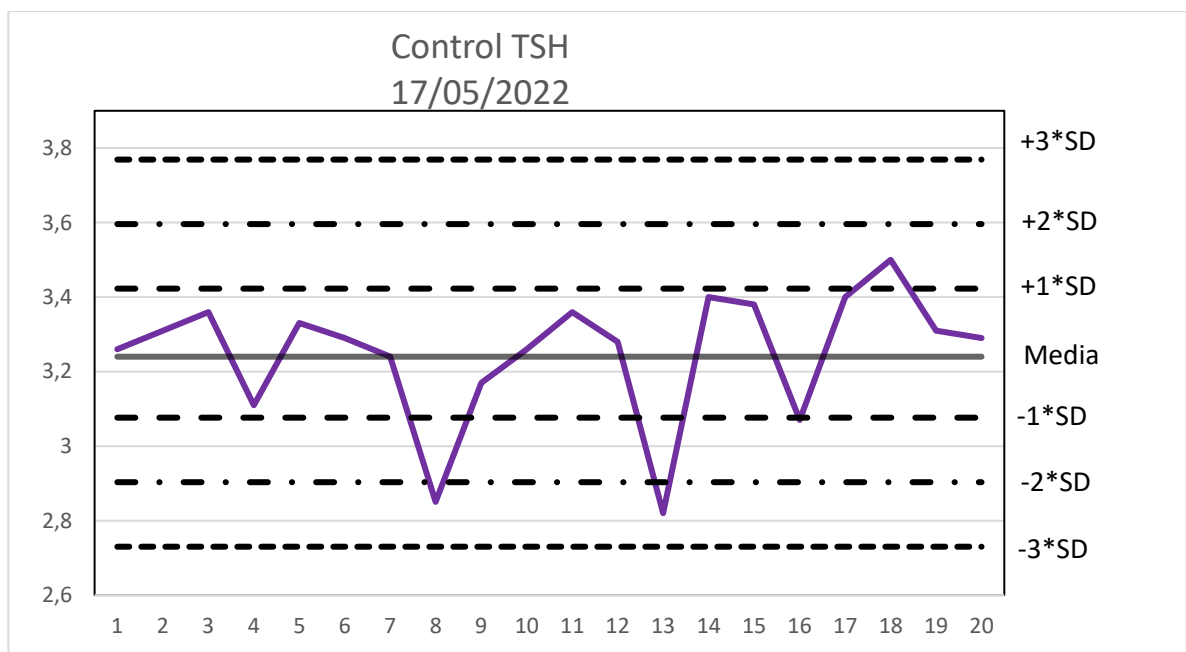


Figura 21 Gráfico de levey-jennings correspondiente a TSH en laboratorio Prevegen.

BIBLIOGRAFÍA

- Auger, R. R., Burgess, H. J., Emens, J. S., Deriy, L. V., Thomas, S. M., & Sharkey, K. M. (2015). Clinical Practice Guideline for the Treatment of Intrinsic Circadian Rhythm Sleep-Wake Disorders: Advanced Sleep-Wake Phase Disorder (ASWPD), Delayed Sleep-Wake Phase Disorder (DSWPD), Non-24-Hour Sleep-Wake Rhythm Disorder (N24SWD), and Irregular Sleep-Wake Rhythm Disorder (ISWRD). An Update for 2015. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 11(10), 1199–1236.
<https://doi.org/10.5664/jcsm.5100>
- Bass, J., & Takahashi, J. S. (2010). Circadian Integration of Metabolism and Energetics. *Science*, 330(6009), 1349–1354.
<https://doi.org/10.1126/science.1195027>
- Brabant, G. (1998). Pulsatile und zirkadiane TSH-Sekretion.
<https://doi.org/10.1007/s001080050223>
- Cohen, M. C., Rohtla, K. M., Lavery, C. E., Muller, J. E., & Mittleman, M. A. (1997). Meta-Analysis of the Morning Excess of Acute Myocardial Infarction and Sudden Cardiac Death. *American Journal of Cardiology*, 79(11), 1512–1516. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(97\)00181-1](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(97)00181-1)
- Dallmann, R., Viola, A. U., Tarokh, L., Cajochen, C., & Brown, S. S. (2012). The human circadian metabolome. *Proceedings of the National Academy of*

Sciences of the United States of America, 109(7), 2625–2629.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1114410109>

Froy, O. (2010). Metabolism and Circadian Rhythms—Implications for Obesity.

Endocrine Reviews, 31(1), 1–24. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0014>

Froy, O. (2011). The circadian clock and metabolism. *Clinical Science*, 120(2),

65–72. <https://doi.org/10.1042/cs20100327>

Grimaldi, B., Bellet, M. M., Katada, S., Astarita, G., Hirayama, J., Amin, R.,

Granneman, J. G., Piomelli, D., Leff, T., & Sassone-Corsi, P. (2010).

PER2 Controls Lipid Metabolism by Direct Regulation of PPAR γ . *Cell*

Metabolism, 12(5), 509–520. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.10.005>

Hadlow, N., Brown, S. J., Wardrop, R., & Henley, D. (2014). The effects of

season, daylight saving and time of sunrise on serum cortisol in a large

population. *Chronobiology International*, 31(2), 243–251.

<https://doi.org/10.3109/07420528.2013.844162>

Jagannath, A., Taylor, L. W., Wakaf, Z., Vasudevan, S. R., & Foster, R. G.

(2017). The genetics of circadian rhythms, sleep and health. *Human*

Molecular Genetics, 26(R2), R128–R138.

<https://doi.org/10.1093/hmg/ddx240>

Jung, Y. M., Chae, C., Kim, Y., Son, J. S., Kim, C. Y., Park, H. J., Lee, J. Y.,

Shin, Y. H., & Kwak, H. (2017). The relationship between serum vitamin

D levels and sleep quality in fixed day indoor field workers in the

electronics manufacturing industry in Korea. *Annals of Occupational and*

Environmental Medicine, 29(1). [https://doi.org/10.1186/s40557-017-0187-](https://doi.org/10.1186/s40557-017-0187-7)

7

La Fleur, S. E., Kalsbeek, A., Wortel, J., Fekkes, M. L., & Buijs, R. M. (2001). A Daily Rhythm in Glucose Tolerance. *Diabetes*, 50(6), 1237–1243.

<https://doi.org/10.2337/diabetes.50.6.1237>

Lombardi, G., Vitale, J. A., Logoluso, S., Logoluso, G., Cocco, N., Cocco, G., Cocco, A., & Banfi, G. (2017). Circannual rhythm of plasmatic vitamin D levels and the association with markers of psychophysical stress in a cohort of Italian professional soccer players. *Chronobiology International*, 34(4), 471–479. <https://doi.org/10.1080/07420528.2017.1297820>

Longo, V. D., & Panda, S. (2016). Fasting, Circadian Rhythms, and Time-Restricted Feeding in Healthy Lifespan. *Cell Metabolism*, 23(6), 1048–1059. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.06.001>

Manfredini, R., Fabbian, F., Cappadona, R., & Modesti, P. A. (2018). Daylight saving time, circadian rhythms, and cardiovascular health. *Internal and Emergency Medicine*, 13(5), 641–646. <https://doi.org/10.1007/s11739-018-1900-4>

McGinnis, G. R., & Young, M. E. (2016). Circadian regulation of metabolic homeostasis: causes and consequences. *Nature and Science of Sleep*, 163. <https://doi.org/10.2147/nss.s78946>

Morris, C. G., Yang, J., Garcia, J. I., Myers, S., Bozzi, I., Wang, W., Buxton, O. M., Shea, S., & Scheer, F. A. (2015). Endogenous circadian system and

circadian misalignment impact glucose tolerance via separate mechanisms in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(17).
<https://doi.org/10.1073/pnas.1418955112>

Muscogiuri, G., Barrea, L., Scannapieco, M., Di Somma, C., Scacchi, M., Aimaretti, G., Savastano, S., Colao, A., & Marzullo, P. (2019). The lullaby of the sun: the role of vitamin D in sleep disturbance. *Sleep Medicine*, 54, 262–265. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2018.10.033>

Negri, M., Pivonello, C., Simeoli, C., Di Gennaro, G., Venneri, M. A., Sciarra, F., Ferrigno, R., De Angelis, C., Sbardella, E., De Martino, M. C., Colao, A., Isidori, A. M., & Pivonello, R. (2021). Cortisol Circadian Rhythm and Insulin Resistance in Muscle: Effect of Dosing and Timing of Hydrocortisone Exposure on Insulin Sensitivity in Synchronized Muscle Cells. *Neuroendocrinology*, 111(10), 1005–1028.
<https://doi.org/10.1159/000512685>

Oster, H., Damerow, S., Kiessling, S., Jakubcakova, V., Abraham, D., Tian, J., Hoffmann, M. C., & Eichele, G. (2006). The circadian rhythm of glucocorticoids is regulated by a gating mechanism residing in the adrenal cortical clock. *Cell Metabolism*, 4(2), 163–173.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.07.002>

- Pácha, J., & Sumová, A. (2013). Circadian regulation of epithelial functions in the intestine. *Acta Physiologica*, 208(1), 11–24.
<https://doi.org/10.1111/apha.12090>
- Pan, X., & Hussain, M. M. (2009). Clock is important for food and circadian regulation of macronutrient absorption in mice. *Journal of Lipid Research*, 50(9), 1800–1813. <https://doi.org/10.1194/jlr.m900085-jlr200>
- Poggiogalle, E., Jamshed, H., & Peterson, C. M. (2017). Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. *Metabolism-clinical and Experimental*, 84, 11–27. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.11.017>
- Qian, J., & Scheer, F. A. (2016). Circadian System and Glucose Metabolism: Implications for Physiology and Disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 27(5), 282–293. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.03.005>
- Reinke, H., & Asher, G. (2016). Circadian Clock Control of Liver Metabolic Functions. *Gastroenterology*, 150(3), 574–580.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.11.043>
- Ribeiro, D., Hampton, S. M., Morgan, L. M., Deacon, S., & Arendt, J. (1998). Altered postprandial hormone and metabolic responses in a simulated shift work environment. *Journal of Endocrinology*, 158(3), 305–310.
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1580305>
- Rijo-Ferreira, F., & Takahashi, J. S. (2019). Genomics of circadian rhythms in health and disease. *Genome Medicine*, 11(1).
<https://doi.org/10.1186/s13073-019-0704-0>

- Rivera-Coll, A., Fuentes-Arderiu, X., & Díez-Noguera, A. (1994). Circadian rhythmic variations in serum concentrations of clinically important lipids. *Clinical Chemistry*, 40(8), 1549–1553.
<https://doi.org/10.1093/clinchem/40.8.1549>
- Romon, M., Fur, C. L., Lebel, P., Edme, J., Fruchart, J., & Dallongeville, J. (1997). Circadian variation of postprandial lipemia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 65(4), 934–940. <https://doi.org/10.1093/ajcn/65.4.934>
- Sennels, H. P., Jørgensen, H. L., & Fahrenkrug, J. (2015). Diurnal changes of biochemical metabolic markers in healthy young males – the Bispebjerg study of diurnal variations. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 75(8), 686–692.
<https://doi.org/10.3109/00365513.2015.1080385>
- Serin, Y., & Tek, N. A. (2019). Effect of Circadian Rhythm on Metabolic Processes and the Regulation of Energy Balance. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 74(4), 322–330. <https://doi.org/10.1159/000500071>
- Singh, R., Sharma, S., Singh, A., & Cornelissen, G. (2016). Circadian Time Structure of Circulating Plasma Lipid Components in Healthy Indians of Different Age Groups. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 31(2), 215–223. <https://doi.org/10.1007/s12291-015-0519-8>
- Toh, K. L., Jones, C. W., He, Y., Eide, E. J., Hinz, W. A., Virshup, D. M., Ptáček, L. J., & Fu, Y. (2001). An hPer2 phosphorylation site mutation in familial

advanced sleep phase syndrome. *Science*, 291(5506), 1040–1043.

<https://doi.org/10.1126/science.1057499>

Van Cauter, E., Polonsky, K. S., & Scheen, A. (1997). Roles of Circadian

Rhythmicity and Sleep in Human Glucose Regulation*. *Endocrine*

Reviews, 18(5), 716–738. <https://doi.org/10.1210/edrv.18.5.0317>

Van Kerkhof, L. W. M., Van Dycke, K. C. G., Jansen, E. H., Beekhof, P., Van

Oostrom, C. T. M., Ruskovska, T., Velickova, N., Kamcev, N., Pennings,

J. L. A., Van Steeg, H., & Rodenburg, W. (2015). Diurnal Variation of

Hormonal and Lipid Biomarkers in a Molecular Epidemiology-Like Setting.

PLOS ONE, 10(8), e0135652.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135652>

Voigt, R. M., Forsyth, C. B., & Keshavarzian, A. (2019). Circadian rhythms: a

regulator of gastrointestinal health and dysfunction. *Expert Review of*

Gastroenterology & Hepatology, 13(5), 411–424.

<https://doi.org/10.1080/17474124.2019.1595588>

Wirz-Justice, A., Skene, D. J., & Münch, M. (2020). The relevance of daylight for

humans. *Biochemical Pharmacology*, 114304.

<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114304>