

MÁSTER OFICIAL EN NUTRICIÓN Y METABOLISMO

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

**EL CRONOTIPO INFLUYE EN LA CALIDAD
DE LA DIETA Y EN LOS NIVELES DE LA 6-
SULFATOXIMELATONINA EN ADULTOS
JÓVENES SANOS: UN ESTUDIO PILOTO**

AUTORA: MARÍA DIEZ HERNÁNDEZ

TUTORA: DRA. MARÍA FERNANDA ZERÓN RUGERIO

Departamento de Nutrición, Ciencias de la Alimentación y Gastronomía
Campus de la Alimentación de Torribera
Universidad de Barcelona

Septiembre 2022

RESUMEN

Introducción. Los individuos presentamos diferencias individuales en el perfil de melatonina, en el tiempo de sueño y en las preferencias por un momento determinado del día. Estas variaciones individuales dependen del cronotipo del individuo y, estudios anteriores han relacionado el cronotipo vespertino con mayor dificultad para iniciar y mantener el sueño. Además, el tipo de cronotipo también es un determinante de la salud de las personas, relacionándose con la obesidad y otras enfermedades metabólicas, así como con variaciones en el consumo dietético.

Objetivo. Estudiar la influencia del cronotipo en las concentraciones de 6-sulfatoximelatonina (6-SMT), en los parámetros del sueño y en la calidad y composición de la dieta en adultos jóvenes.

Metodología. Se realizó un estudio cuasi – experimental con 37 adultos jóvenes (20 – 35 años) a los que se recogieron datos sociodemográficos, antropométricos, dietéticos y cronobiológicos (incluyendo: el cronotipo, la calidad del sueño mediante actigrafía y la concentración de 6-SMT en orina de 20:00 a 23:00 y de 23:00 a 07:00). Se asumió una confianza del 95%, considerando un valor de significancia estadística de $p < 0,05$.

Resultados. Nuestros resultados revelaron que los individuos con un cronotipo matutino presentan mayores niveles de 6-sulfatoximelatonina en el periodo de 20:00 a 23:00 ($p = 0,022$), tienen una mejor calidad de la dieta ($p = 0,013$) y presentan menos jet-lag social ($p = 0,016$), en comparación con los vespertinos. Además, se encontró una asociación significativa entre un mayor consumo de pescados y mariscos y los niveles de 6-SMT de 20:00 a 23:00 ($p = 0,026$), mientras que un menor consumo de mantequillas y margarinas se asoció con niveles mayores de 6-SMT de 23:00 a 07:00 ($p = 0,040$).

Conclusión. El cronotipo influye en la calidad de la dieta y en los niveles de 6-sulfatoximelatonina en adultos jóvenes.

Palabras clave: Cronotipo, 6-sulfatoximelatonina, Dieta Mediterránea, ingesta dietética.

ABSTRACT

Introduction. Humans present individual differences in the melatonin profile, in the sleep time and in the preferences for a certain moment of the day. These individual variations depend on the individual's chronotype, and previous studies have linked the evening chronotype with greater difficulty in initiating and maintaining sleep. In addition, the type of chronotype is also a determinant of people's health, being related to obesity and other metabolic diseases, as well as variations in dietary consumption.

Objective. To study the influence of chronotype on 6-sulfatoxymelatonin (6-SMT) concentrations, sleep parameters, and diet quality and composition in young adults.

Methodology. A quasi-experimental study was carried out with 37 young adults (20-35 years old) to whom sociodemographic, anthropometric, dietary and chronobiological data were collected (including: chronotype, sleep quality by means of actigraphy and the concentration of 6-SMT in urine from 8:00 p.m. to 11:00 p.m. and from 11:00 p.m. to 7:00 a.m.). A confidence level of 95% was assumed, considering a value of statistical significance of $p < 0.05$.

Results. Our results revealed that individuals with a morning chronotype have higher levels of 6-sulfatoxymelatonin in the period from 8:00 p.m. to 11:00 p.m. ($p = 0.022$), have a better diet quality ($p = 0.013$) and have less jet -social lag ($p = 0.016$), compared to evening lag. In addition, a significant association was found between a higher consumption of fish and shellfish and 6-SMT levels from 8:00 p.m. to 11:00 p.m. ($p = 0.026$), while a lower consumption of butters and margarines was associated with higher levels. of 6-SMT from 23:00 to 07:00 ($p = 0.040$).

Conclusion. Chronotype influences diet quality and 6-sulfatoxymelatonin levels in young adults.

Keywords: Chronotype, 6-sulfatoxymelatonin, Mediterranean Diet, dietary intake.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
2. OBJETIVOS	8
3. MATERIAL Y MÉTODOS	9
3.1 Diseño y población del estudio	9
3.2 Aspecto éticos.....	9
3.3 Métodos y técnicas de recolección	9
3.3.1 Cuestionarios e instrumentos de medición	10
3.4 Análisis estadístico.....	13
4. RESULTADOS	14
4.1 Características de la muestra	14
4.2 Relación entre el cronotipo y las concentraciones de 6-SMT	14
4.3 Análisis de los parámetros de calidad del sueño según el cronotipo	15
4.4 Comparación de la ingesta dietética entre matutinos y vespertinos.....	15
4.5 Relación entre las concentraciones de 6-SMT y la ingesta dietética	17
5. DISCUSIÓN	20
6. CONCLUSIONES.....	24
7. BIBLIOGRAFÍA	25

1. INTRODUCCIÓN

La ritmicidad circadiana en los seres humanos está representada por un fenotipo complejo derivado de múltiples factores genéticos que definen el cronotipo (1). El cronotipo es una manifestación conductual de nuestro sistema circadiano y se refiere a las diferencias individuales en el perfil de melatonina, en el tiempo de sueño y en las preferencias por un momento determinado del día (2,3). Cabe señalar que el sistema circadiano, también conocido como reloj biológico, está compuesto por un reloj central ubicado en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, y por una serie de relojes periféricos que se encargan de producir ritmos de aproximadamente 24h, conocidos como ritmos circadianos. Prácticamente todas las células de nuestro cuerpo tienen un reloj periférico, de tal forma que el reloj biológico es capaz de organizar y coordinar temporalmente nuestra conducta y fisiología en función de la hora del día (4). Así, los seres humanos hemos evolucionado para estar despiertos y comer de día, cuando hay luz. Mientras tanto, por la noche estamos fisiológicamente preparados para dormir y ayunar.

A pesar de ello, existe una variación individual en el funcionamiento de nuestro reloj biológico impulsada por el cronotipo que define nuestras preferencias por la hora del día, el tiempo de sueño – vigilia y la activación mental – física durante un período de 24 horas. (2,5,6). Es así como las personas con un cronotipo matutino prefieren despertarse temprano por la mañana y se sienten más activas durante las primeras horas del día; mientras que los individuos con un cronotipo vespertino prefieren despertarse e ir a dormir más tarde y, por lo general, se sienten más activos al final de la tarde o por la noche (3,7).

Aunque el cronotipo se puede evaluar de diferentes maneras, el inicio de la melatonina con luz tenue (DLMO, *por sus siglas en inglés*) es el mejor marcador para determinarlo, ya que el DLMO tiene una relación significativa con el inicio del período del sueño en humanos, considerándose el estándar de oro. El DLMO se determina como el momento en el que los niveles de melatonina aumentan por encima del umbral establecido, que generalmente ocurre 2 – 3 horas antes del inicio habitual del sueño nocturno (8,9) y se puede obtener a partir de muestras de saliva; sin embargo, no siempre es posible medirlo porque el procedimiento es complejo y costoso (10). Por tanto, el cronotipo también se

puede evaluar mediante el uso de cuestionarios validados, entre los que se encuentra el Cuestionario del Cronotipo de Múnich (8–10).

Como se ha mencionado anteriormente, los diferentes cronotipos también difieren en el perfil de melatonina. La melatonina es una hormona producida en la glándula pineal durante la noche en condiciones normales de luz/oscuridad (11). Esta hormona se considera el principal modulador hormonal del ciclo sueño – vigilia y actúa como una señal de oscuridad para los relojes periféricos. Además, sigue un patrón circadiano con niveles bajos durante el día que aumentan por la noche para promover el inicio del sueño (11,12). En humanos, la melatonina endógena se produce exclusivamente a partir de triptófano de la dieta, pero solo un 1 – 2% de este triptófano se convierte en melatonina a través de la vía de la serotonina. La melatonina biosintetizada y la melatonina de la dieta, se metabolizan y se excretan en orina como 6-sulfatoximelatonina (6-SMT), un metabolito de la melatonina (12,13). Los niveles de melatonina difieren entre cronotipos matutino y vespertino debido a que los matutinos tienen un avance en la fase del ritmo de secreción de melatonina en comparación con los vespertinos (1).

Además de la hora de dormir y del perfil de secreción de melatonina, el cronotipo también puede influir en la calidad del sueño. Así, diversos estudios han demostrado que los individuos que presentan un cronotipo vespertino muestran mayor dificultad para iniciar y mantener el sueño, y son más propensos a sufrir pesadillas que los matutinos (1,3). De acuerdo con Pilz et al (14) esto puede deberse a que durante la semana los vespertinos tienen que adaptarse a unos horarios sociales que están desfasados respecto al ritmo de su reloj biológico y, por tanto, suelen acumular una deuda de sueño durante la semana. Lo interesante es que durante los fines de semana, donde los vespertinos tienen la oportunidad de dormir más, alcanzan los mismos niveles de calidad del sueño que los matutinos (14).

También es interesante destacar que el cronotipo es un determinante de la salud de las personas (15). Es así como Kutson y sus colaboradores (15) apuntaron que la vespertinidad era un predictor de mortalidad por todas las causas, comparado con la matutinidad. Asimismo, a la vespertinidad se le conoce como un factor de riesgo para la obesidad (16–18). Entre los principales mecanismos

que sustentan la estrecha relación que tienen la vespertinidad y la obesidad, se encuentra el desfase circadiano; el cual es una condición caracterizada por la falta de sincronía entre el reloj biológico y los ritmos de luz y oscuridad que suceden durante el día. En condiciones ambulatorias, este desfase suele determinarse a través del jet lag social, que es un marcador que fue propuesto por Wittman et al (19). De acuerdo con los investigadores, el jet lag social es una condición caracterizada por el desfase horario y la deuda de sueño acumulada durante los días laborables. Cabe señalar que el jet lag social acusa, en mayor medida, a los jóvenes ya que, a esta edad, el cronotipo suele ser más vespertino y, en consecuencia, son quienes suelen presentar mayor deuda de sueño como resultado de su adaptación a unos horarios sociales más matutinos (6,19). Entre las consecuencias más estudiadas del desfase circadiano se encuentran la resistencia a la insulina y la intolerancia postprandial a la glucosa (5). De hecho, es bien conocido que el jet lag social se asocia con la obesidad y otras enfermedades metabólicas como la diabetes tipo 2 (20).

Además, no se puede obviar el papel que juega la alimentación en la relación vespertinidad y obesidad. De hecho, estudios observacionales han hallado que el cronotipo vespertino está potencialmente relacionado con el retraso en la hora de las comidas, la irregularidad en los horarios de las comidas y en la omisión de comidas; en particular, la omisión del desayuno, que puede ser debido a la falta de tiempo para comer durante el día o a la falta del hambre por la mañana. Además, los individuos vespertinos presentan hábitos dietéticos poco saludables relacionados con la obesidad, ya que presentan una mayor ingesta de bebidas energéticas, bebidas alcohólicas, azucaradas y con cafeína, así como una mayor ingesta de energía de las grasas (21–23). Por el contrario, los matutinos muestran un mayor consumo dietético después de despertarse y un menor consumo cerca de la hora de acostarse, y se asocian con un índice de masa corporal (IMC) más bajo (21).

El sueño es otro factor que puede tener un impacto importante en la relación vespertinidad y alimentación (24). De hecho, estos dos comportamientos pueden influirse mutuamente; de tal manera que la falta de sueño afecta negativamente a la ingesta dietética, y la dieta puede influir en el sueño a través de la melatonina y su biosíntesis a partir del triptófano (12,24). Entre otros mecanismos, se ha

postulado que la restricción del sueño aumenta la ingesta de alimentos a través de: cambios en la hormonas relacionadas con el apetito, principalmente grelina y leptina; una mayor actividad neuronal en respuesta a los estímulos alimentarios, aumentando la ingesta de alimentos a través de mecanismo hedónicos; proporcionando horas extendidas de vigilia, presentando oportunidades adicionales para comer; o bien, retrasando el horario de las comidas (25).

Debido a la asociación existente entre la cantidad y calidad de la dieta, los parámetros del sueño y los diferentes cronotipos, decidimos estudiar si la calidad y composición de la dieta, los parámetros del sueño y los niveles de melatonina son determinados por el cronotipo en adultos jóvenes.

2. OBJETIVOS

Objetivo general. Estudiar si el cronotipo influye en las concentraciones de 6-SMT, en los parámetros del sueño y en la calidad y composición de la dieta en adultos jóvenes sanos.

Objetivos específicos:

- Identificar las diferencias en la concentración de 6-SMT en función del cronotipo.
- Estudiar las diferencias en la calidad del sueño en función del cronotipo.
- Analizar las diferencias en la calidad y la composición de la dieta en función del cronotipo.
- Investigar la posible asociación entre la concentración de 6-SMT y la calidad y composición nutricional de la dieta.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Diseño y población del estudio

Se reclutaron adultos jóvenes (entre 20 y 35 años) en Barcelona y su área Metropolitana, para participar en un estudio de intervención nutricional en el que se estudia el impacto del consumo de un alimento sobre la calidad del sueño. Cabe señalar que para la ejecución de este trabajo de investigación se utilizaron los datos recogidos durante la visita basal del estudio, en la cual aún no se había iniciado la intervención del proyecto piloto. Por tanto, el diseño de este estudio es cuasi – experimental.

Los criterios de inclusión al estudio fueron: tener entre 20 y 35 años de edad, un IMC entre 19 y 26 kg/m², practicar un nivel de ejercicio moderado y no tener antecedentes recientes de cambio de peso superior a 2,3 kg en los 3 meses anteriores. Se excluyeron del estudio aquellos individuos diagnosticados con alguna enfermedad aguda crónica, fumadores, con restricciones alimentarias o dietas específicas, trabajadores por turnos, así como aquellos que no quisieran participar en el estudio o no pudieran dar un consentimiento informado por escrito.

3.2 Aspectos éticos

Antes de ser incluidos en el estudio, todos los participantes firmaron el consentimiento informado. Además, el estudio se realizó bajo las directrices de las Buenas Prácticas Clínicas en Investigación y de la Declaración de Helsinki, así como también fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Barcelona (IRB00003099).

3.3 Métodos y técnicas de recolección

Los datos de este trabajo de investigación se obtuvieron durante la visita basal del estudio, en la que se recogieron los datos sociodemográficos de cada participante y se evaluó el peso, la talla, el IMC, la ingesta dietética y el cronotipo de los participantes. Además, se evaluó la calidad de sueño de los participantes mediante actigrafía. Para ello, se entregó a cada participante un actímetro (ActTrust, Condor, Brasil) que llevaron en la muñeca de la mano no dominante

durante 7 días consecutivos. Todos los participantes fueron instruidos sobre los cuidados del actímetro y, además, se les indicó que debían mantener sus horarios habituales de sueño durante el tiempo que llevaran el actímetro. Asimismo, a cada participante se le entregó un registro de alimentos para la valoración de la ingesta dietética durante el período del estudio. Finalmente, para determinar la concentración de 6-SMT en orina, se le entregó a los participantes el material necesario para recoger dos muestras de orina la noche antes de devolver el actímetro.

3.3.1 Cuestionarios e instrumentos de medición

Parámetros antropométricos

El peso corporal fue medido en kilogramos mediante un analizador de composición corporal InBody 120 (Biospace, Seúl, Korea), con los participantes en ropa ligera y sin zapatos. La altura se midió en centímetros mediante un estadiómetro Seca® 217 (Seca, Hamburgo, Alemania) y se registró con una precisión de 0,1cm. A partir de estos datos se calculó el IMC como el peso dividido por la altura en metros cuadrados (kg/m^2).

Ingesta dietética

La ingesta dietética fue evaluada mediante un registro alimentario de 7 días consecutivos. Para ello, una nutricionista instruyó a los participantes sobre cómo debían realizar los registros, anotando el tipo de alimento o bebida consumido, el tipo de cocción, las cantidades, así como la marca de los alimentos, cuando fuera posible. Además, se les instó a registrar el lugar y la hora en la que se daba la comida. Cabe señalar que todos los registros se revisaron con los sujetos, para evitar omisiones de alimentos y corroborar lo que habían anotado.

Posteriormente, los registros se procesaron en el Programa de Cálculo Nutricional Profesional (PCN Pro) Versión 1.0 (26). Este programa nos permitió calcular el aporte promedio de energía (kcal) y nutrientes, incluyendo: hidratos de carbono, fibra dietética, proteína total y lípidos. El aporte promedio de nutrientes se calculó en gramos y, adicionalmente, se calculó el porcentaje del valor calórico total (% VCT) que aportaban los macronutrientes.

Además, se evaluó la calidad de la dieta mediante el cuestionario que determina la Adherencia a la Dieta Mediterránea del estudio *Prevención con dieta Mediterránea* (PREDIMED) (27). Este cuestionario valora hábitos como el consumo diario de frutas y verduras, el consumo regular de legumbres y pescados o la elección de aceite de oliva como principal grasa de consumo. Cada ítem se puntúa según si la respuesta del individuo a la pregunta cumple (1) o no cumple (0) con las recomendaciones de la Dieta Mediterránea. Según este cuestionario, se puede clasificar la adherencia a la Dieta Mediterránea como: “baja” (0 – 5 puntos), “media” (6 – 9 puntos) o “alta” (más de 10 puntos).

Cronotipo

Esta variable se evaluó mediante el Cuestionario de Cronotipo de Múnich (28), que permitió estimar el punto medio de sueño (MPS, *por sus siglas en inglés*) de cada participante utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{MPS (hora local)} = [(\text{Hora de despertar} - \text{Hora de dormir})/2] + \text{Hora de dormir}$$

Es importante mencionar que cuánto más tardía es la hora del MPS, más vespertina será la persona. Además, se utilizó la mediana del MPS para clasificar a la población de estudio en “matutinos” (MPS < 4:51h) o “vespertinos” (MPS > 4:51h).

Además, a partir del MPS entre semana y fines de semana, se calculó el jet lag social utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Jet lag social (h)} = \text{MPS}_{\text{Fin de semana}} - \text{MPS}_{\text{Entre semana}}$$

Cabe señalar que todos los análisis se llevaron a cabo utilizando el jet lag social en valor absoluto (19), donde cuanto mayor es el valor, mayor es el jet lag social.

Cuantificación de la concentración de 6-SMT en orina

La concentración de 6-SMT se cuantificó en nanogramos por miligramo de creatinina (ng/mg creatinina). Para ello, a cada voluntario se le entregaron dos botes de recolección de orina de 2L, de tal forma que, la noche antes de devolver el actímetro, pudieran realizar la recolección de la muestra como se indica a continuación:

- Bote 1: debían recolectar toda la orina entre las 20:00 – 23:00.

- Bote 2: debían recolectar toda la orina producida entre las 23:00 – 7:00. En este caso, se les instó a todos los participantes a recoger cualquier micción nocturna, así como la primera orina del día.

Ambas muestras de orina se almacenaron a 4°C hasta su entrega y, tras su recepción en el laboratorio, fueron alicuotadas y congeladas a -80°C hasta que fueron analizadas.

Las muestras de orina fueron analizadas utilizando el kit de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) para la detección de 6-SMT en orina (IBL, Tecan, Alemania) (29). Cabe señalar que el procedimiento que se utilizó para la cuantificación del metabolito fue el especificado por el fabricante. Seguidamente, se determinaron las concentraciones de creatinina utilizando el método de Jaffe (30), para después corregir las concentraciones del metabolito, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{6-SMT (ng/mg creatinina)} = \frac{\text{concentración de 6-SMT (ng/mL)}}{\text{creatinina (mg/mL)}}$$

Calidad del sueño

La calidad del sueño se determinó para cada participante utilizando actimetría, la cual es una técnica no invasiva que ha sido validada para medir los parámetros del sueño en condiciones ambulatorias (31). Como se mencionó anteriormente, los participantes llevaron un actímetro ActTrust (Condor Instruments, Brasil) en la muñeca no dominante durante 7 días consecutivos. Los participantes fueron instruidos sobre los cuidados de los dispositivos, que solo podrían quitarse para bañarse, ducharse o nadar. Cabe señalar que el dispositivo estaba programado para registrar la actividad motora, la exposición a la luz y la temperatura de la muñeca, cada minuto durante el periodo del estudio. Al final del periodo del estudio, los voluntarios devolvieron el actímetro al laboratorio y los datos fueron descargados y procesados en el programa ActStudio (CONDOR, Brasil). Seguidamente, utilizando la metodología establecida por Cambras et al (32), se definió el periodo de sueño como la actividad motora en el periodo de oscuridad. Una vez definido el periodo de sueño, se calculó para cada voluntario el promedio de la hora de dormir y despertar, el tiempo total del sueño y el tiempo

total que el individuo pasaba en la cama. Finalmente, a partir de estas variables se estimaron los parámetros relacionados con la calidad del sueño, que son:

- Latencia del sueño: tiempo transcurrido (en minutos) desde que se apagan las luces mientras el individuo intenta dormir, hasta el momento en que realmente se queda dormido (33).
- Eficiencia: se refiere al porcentaje del tiempo total en la cama que el individuo realmente duerme (33).
- Fragmentación: se define por el número de despertares y tiempo (en minutos) de vigilia – intrasueño (WASO, por sus siglas en inglés) (33).

3.4 Análisis estadístico

La distribución de las variables se confirmó mediante histogramas y gráficos Q-Q, donde todas las variables presentaron una distribución normal excepto las concentraciones de 6-SMT. Las frecuencias de las variables continuas se expresan con la media y la desviación estándar (SD), mientras que las variables categóricas se describieron con proporciones. Posteriormente, se analizaron las diferencias en las concentraciones de 6-SMT, la calidad del sueño y la ingesta dietética en función del cronotipo (matutino o vespertino). Cabe señalar que las diferencias entre variables no paramétricas (6-SMT) se analizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney, mientras que las medias de las variables paramétricas se compararon a partir del modelo lineal general ajustado por edad y género. Además, se utilizó la prueba de Chi² para comparar las diferencias entre variables cualitativas. Finalmente, se utilizaron las correlaciones de Spearman para estudiar la asociación entre las concentraciones de 6-SMT y la ingesta dietética.

Se asumió una confianza del 95%, considerando un valor de significancia estadística de $P < 0,05$. Los datos fueron analizados con el programa SPSS versión 27.0.1 (IBM SPSS Statistics).

4. RESULTADOS

4.1 Características de la muestra

En este estudio se incluyeron un total de 37 participantes de $24,9 \pm 3,9$ años de edad, entre los cuales predominó el género femenino con una frecuencia del 86,5%. Respecto al IMC, el 100% de los participantes eran normopeso ($20,77 \pm 2,02\text{kg/m}^2$). En cuanto al cronotipo, cabe señalar que, del total de individuos, 18 se clasificaron como matutinos (48,6%) y 19 como vespertinos (51,4%).

4.2 Relación entre el cronotipo y las concentraciones de 6-SMT

Seguidamente se analizaron las diferencias en las concentraciones de 6-SMT en función del cronotipo (**Figura 1**). Se encontró que la concentración de 6-SMT entre las 20:00 y las 23:00 (**Figura 1a**) fue mayor en el cronotipo matutino ($6,1 \pm 7,7$ ng/mg de creatinina) en comparación con el cronotipo vespertino ($4,0 \pm 3,4$ ng/mg de creatinina), alcanzando la significación estadística ($p = 0,022$). Respecto a la concentración de 6-SMT entre las 23:00 – 07:00, observamos que ésta fue similar entre cronotipos ($p = 0,558$) (**Figura 1b**).

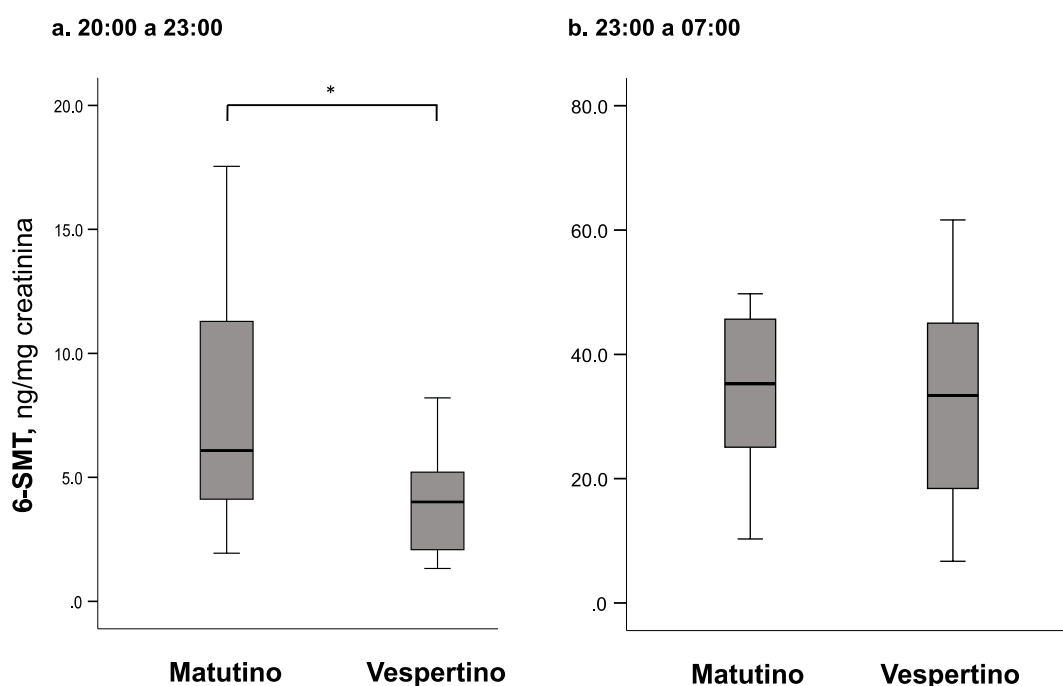


Figura 1. Comparación de las concentraciones de 6-sulfatoximelatonina (6-SMT) en función del cronotipo. Los valores representados son medianas y rango intercuartílico. Las concentraciones de 6-SMT se compararon entre grupos mediante la prueba de U de Mann-Whitney. *P-valor <0,05.

4.3 Análisis de los parámetros de calidad del sueño según el cronotipo

Respecto a los parámetros relacionados con el sueño y su calidad, se encontró que los participantes que presentaron un cronotipo matutino se acostaron casi una hora antes que los vespertinos ($23:31 \pm 0:44$ vs $0:24 \pm 0:46$, $p = 0,005$). Asimismo, la hora de levantarse difirió significativamente entre grupos, de tal forma que los matutinos se levantaron aproximadamente 4 horas antes que los vespertinos ($7:34 \pm 0:39$ vs $11:56 \pm 0:37$, $p = 0,001$). Además, se observó que, en comparación con los matutinos, los vespertinos presentaron mayor jet lag social ($p = 0,016$). Sin embargo, a pesar de las diferencias encontradas entre cronotipos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los parámetros relacionados con la calidad del sueño (**Tabla 1**).

Tabla 1. Comparación de los parámetros de calidad del sueño en función del cronotipo.

	Matutino	Vespertino	P-valor
	Media \pm SD	Media \pm SD	
Hora de acostarse, hh:mm	23:31 \pm 0:44	0:24 \pm 0:46	0,005
Hora de levantarse, hh:mm	7:34 \pm 0:39	11:56 \pm 0:37	0,001
Jet-lag social, h	1,03 \pm 0,50	1,45 \pm 0,67	0,016
Duración del sueño, h	7,40 \pm 0,73	7,31 \pm 0,51	0,809
Latencia, minutos	8,22 \pm 5,15	6,65 \pm 2,96	0,206
Eficiencia, %	92,07 \pm 2,95	91,11 \pm 3,78	0,440
WASO, minutos	16:48 \pm 11:35	7:55 \pm 17:52	0,281
Despertares, n	6,97 \pm 2,65	8,56 \pm 4,39	0,214

WASO, tiempo vigilia-intrasueño; SD, desviación estándar. Los valores se expresan como la media \pm SD. Las diferencias se analizaron mediante el modelo general, ajustado por edad y género. Los valores estadísticamente significativos se muestran en negrita, con un P-valor $< 0,05$.

4.4 Comparación de la ingesta dietética entre matutinos y vespertinos

En línea con lo anterior, se observó que la ingesta de energía y nutrientes fue similar entre grupos (**Tabla 2**). Asimismo, tampoco se encontraron diferencias

estadísticamente significativas en cuanto al consumo diario de fibra o el tipo de ácidos grasos. Sin embargo, nuestros resultados revelaron que los matutinos tenían una mayor calidad de dieta, en comparación con los vespertinos ($p = 0,013$).

Tabla 2. Diferencias en la composición nutricional de la dieta en los cronotipos matutino y vespertino.

	Matutino	Vespertino	P-valor
	Media \pm SD	Media \pm SD	
Energía, kcal/día	1583,7 \pm 419,4	1625,2 \pm 228,3	0,830
Hidratos de carbono, % VCT	41,8 \pm 5,8	42,8 \pm 5,9	0,803
Fibra, g/día	23,5 \pm 4,5	22,3 \pm 8,0	0,548
Lípidos, % VCT	38,0 \pm 5,2	38,7 \pm 5,6	0,706
Ácidos grasos monoinsaturados, g/día	26,0 \pm 8,4	25,3 \pm 6,5	0,618
Ácidos grasos poliinsaturados, g/día	9,4 \pm 3,1	9,5 \pm 2,8	0,886
Ácidos grasos saturados, g/día	21,2 \pm 7,9	23,0 \pm 5,8	0,527
Proteína, % VCT	18,8 \pm 3,5	17,5 \pm 2,8	0,172
Proteína animal, g/día	43,1 \pm 26,2	40,6 \pm 21,4	0,470
Proteína vegetal, g/día	31,0 \pm 10,6	26,7 \pm 10,6	0,111
Calidad de la dieta, puntos	10,3 \pm 1,2	8,5 \pm 2,2	0,013

VCT, Valor calórico total; SD, desviación estándar. Los valores se expresan como la media \pm SD. Las diferencias se analizaron mediante el modelo lineal generalizado, ajustado por edad y género. Los valores estadísticamente significativos se muestran en negrita, con un P-valor $< 0,05$.

Seguidamente, se analizaron las diferencias en el consumo de los alimentos que caracterizan a la Dieta Mediterránea en función del cronotipo (**Figura 2**). En este sentido, observamos diferencias significativas en la frecuencia de consumo de verduras y hortalizas, así como en el consumo de pescados y mariscos. Concretamente, nuestros resultados apuntan que, mientras la mayoría de los matutinos (94,4%) consumen verduras y hortalizas, tan solo un tercio de los vespertinos (36,8%) lo hace ($p < 0,001$). Respecto al consumo de pescados y

mariscos, se observó que el 50% de los matutinos cumplieron con la ingesta recomendada de estos alimentos, mientras que solo un 5,3% de los vespertinos cumple con esta recomendación ($p = 0,002$).

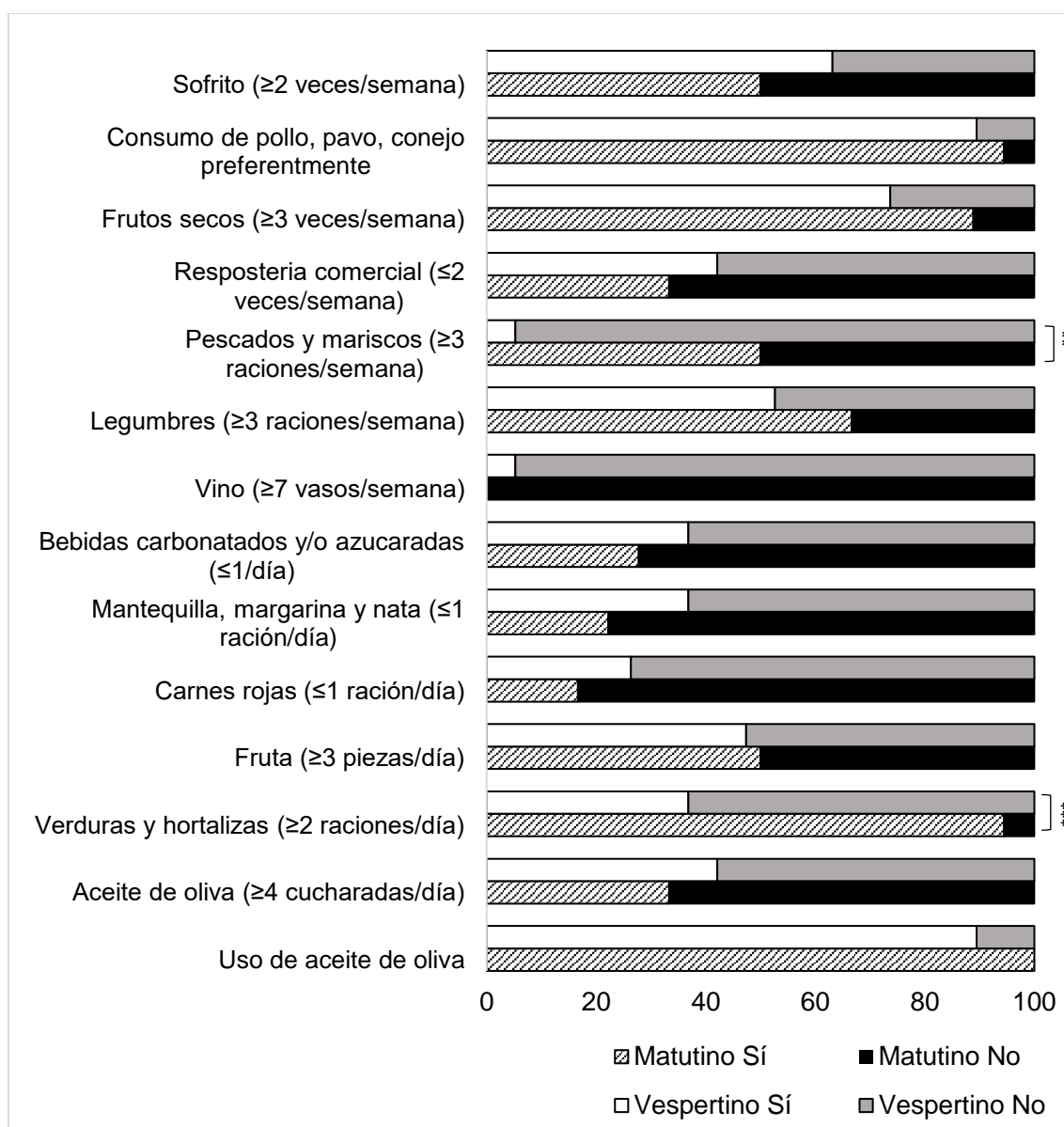


Figura 2. Diferencias en el consumo de alimentos que caracterizan a la Dieta Mediterránea en función del cronotipo (vespertino o matutino). Los datos presentan el porcentaje de individuos que consume cada grupo de alimentos según el cronotipo al que pertenece. ** P-valor <0,01 *** P-valor <0,001.

4.5 Relación entre las concentraciones de 6-SMT y la ingesta dietética

Posteriormente, considerando que la ingesta dietética puede tener un impacto en la producción endógena de melatonina, se analizaron las correlaciones entre

las concentraciones de 6-SMT y la ingesta dietética (**Tabla 3**). Sin embargo, no se observó una asociación estadísticamente significativa entre las concentraciones de 6-SMT y la ingesta de energía o nutrientes.

Tabla 3. Correlaciones entre las concentraciones de 6-SMT y la composición nutricional de la dieta.

	6-SMT		6-SMT	
	20:00 a 23:00		23:00 a 07:00	
	r	P-valor	r	P-valor
Energía, kcal/día	0,070	0,688	-0,158	0,351
Hidratos de carbono, % VCT	0,112	0,523	0,110	0,517
Fibra, g/día	0,222	0,200	0,104	0,539
Lípidos, % VCT	-0,640	0,714	-0,161	0,340
Ácidos grasos monoinsaturados, g/día	0,064	0,713	-0,298	0,073
Ácidos grasos poliinsaturados, g/día	-0,045	0,796	-0,012	0,946
Ácidos grasos saturados, g/día	0,032	0,857	-0,130	0,443
Proteína, % VCT	-0,014	0,938	-0,161	0,340
Proteína animal, g/día	0,095	0,589	-0,244	0,150
Proteína vegetal, g/día	0,094	0,591	0,146	0,375
Calidad de la dieta, puntos	0,172	0,322	0,076	0,657

6-SMT, 6-sulfatoximelatonina; VCT, Valor calórico total. La tabla muestra el coeficiente de correlación de Spearman (r).

Respecto a la calidad de la dieta y los alimentos que caracterizan a la Dieta Mediterránea, se observó que el consumo regular (>3 raciones/semana) de pescados y mariscos se asoció significativamente con la concentración de 6-SMT de 20:00 – 23:00 (**Figura 4**). En este sentido, nuestros resultados revelaron que aquellos participantes que consumieron pescado de forma regular obtuvieron concentraciones más altas de 6-SMT ($6,76 \pm 10,83$ ng/mg creatinina) en comparación con aquellos individuos que no cumplieron con esta recomendación ($4,12 \pm 3,51$ ng/mg creatinina) ($p = 0,026$). Además, se observó una tendencia entre el consumo diario de 2 o más raciones/día de verduras y

hortalizas y las concentraciones de 6-SMT de las 20:00 a las 23:00. De igual forma, aquellos participantes que cumplieron con la recomendación de consumo de verduras mostraron concentraciones más altas de 6-SMT ($5,66 \pm 6,91$ ng/mg creatinina) de las 20:00 a las 23:00 en comparación con quienes no lo hacían ($3,65 \pm 3,27$ ng/mg creatinina).

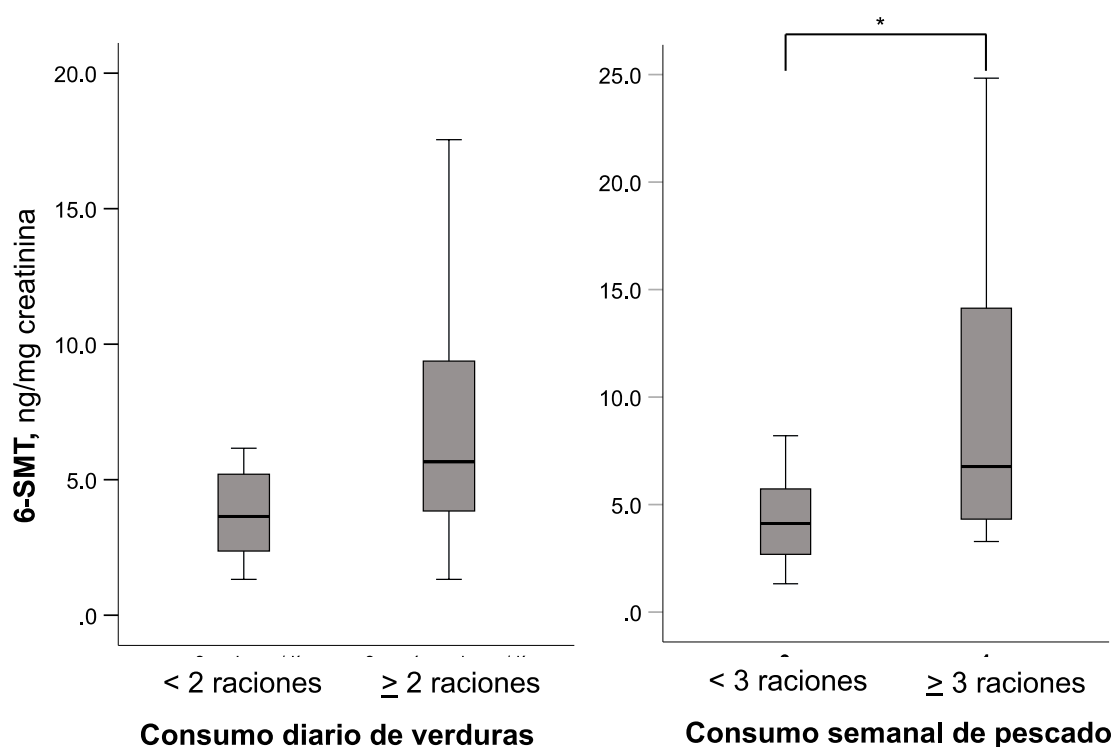


Figura 4. Comparación de las concentraciones de 6-sulfatoximelatonina (6-SMT) de 20:00 a 23:00 en función del cumplimiento de las recomendaciones de la Dieta Mediterránea. Los valores representados son medianas y rango intercuartílico. Las concentraciones de 6-SMT se compararon entre grupos mediante la prueba de U de Mann-Whitney. *P-valor <0,05.

Respecto a las concentraciones de 6-SMT de 23:00 a 07:00 y su relación con la calidad de la dieta, se observó que consumir menos de 1 ración/día de mantequilla, margarina y nata, se asoció de forma significativa con una mayor concentración del metabolito ($36,81 \pm 20,37$ ng/mg creatinina) en comparación con los que tienen este hábito ($24,04 \pm 11,56$ ng/mg creatinina) ($p = 0,040$) (Figura 5).

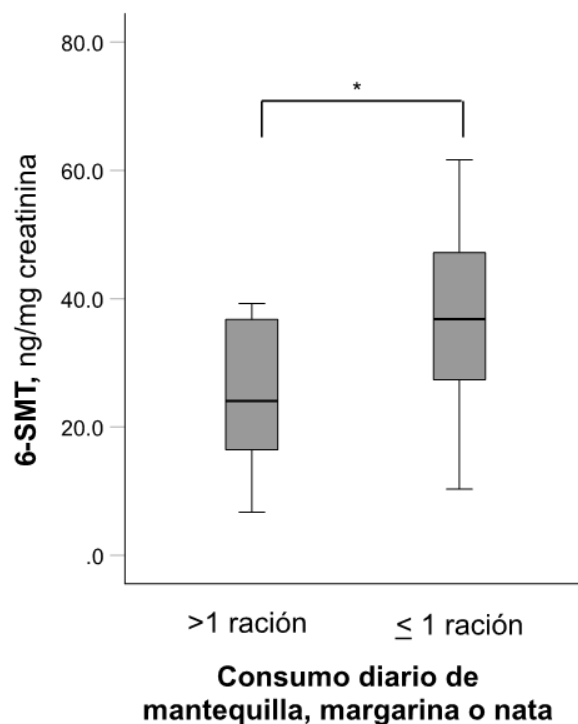


Figura 5. Comparación de las concentraciones de 6-sulfatoximelatonina (6-SMT) de 23:00 a las 07:00 en función del cumplimiento de las recomendaciones de la Dieta Mediterránea. Los valores representados son medianas y rango intercuartílico. Las concentraciones de 6-SMT se compararon entre grupos mediante la prueba de U de Mann-Whitney. *P-valor <0,05.

5. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación demuestran que, en adultos jóvenes, el cronotipo se asocia con las concentraciones de 6-SMT en el período comprendido entre las 20:00 y las 23:00, así como una mejor calidad de la dieta. De esta manera, observamos que los individuos que presentan un cronotipo matutino tienen concentraciones mayores de 6-SMT y, además, tienen una mayor adherencia a la Dieta Mediterránea. Cabe señalar que el patrón dietético mediterráneo está compuesto por una variedad de grupos de alimentos que son fuentes dietéticas de triptófano, serotonina y melatonina, y su consumo podría influir en la síntesis de melatonina y, por tanto, en la excreción de su metabolito, la 6-SMT (11,12).

En esta línea, nuestros resultados apuntan que los individuos que cumplen con las recomendaciones de consumo de pescado (>3 veces por semana) presentan valores mayores de 6-SMT en el período comprendido entre las 20:00 y las

23:00. Un hábito que, de acuerdo con nuestros resultados, es más frecuente entre los matutinos. Es importante señalar que los pescados y mariscos son fuentes dietéticas de triptófano, un precursor para la síntesis de melatonina (34). El triptófano es un aminoácido esencial y, por tanto, los humanos solo lo obtenemos a partir de la ingesta de alimentos. La biosíntesis de melatonina a partir del triptófano se inicia por acción de la triptófano hidroxilasa que convierte el triptófano en 5-hidroxitriptófano, que es convertido en serotonina a partir de la triptófano carboxilasa. Seguidamente, la aralquilamina N-acetiltransferasa produce N-acetilserotonina que es la que genera la melatonina por a la acción de la N-acetilserotonina metiltransferasa (35). Cabe señalar que una reducción de la ingesta de triptófano conduce a una marcada disminución de la producción de melatonina (36) y esto explicaría, en parte, que los vespertinos presenten menores niveles de 6-SMT en comparación con los matutinos, ya que el consumo de pescados y mariscos fue menor en los individuos con un cronotipo vespertino.

Por otra parte, hay autores que postulan que la relación hallada entre el consumo adecuado de pescado y la síntesis de 6-SMT podría ser debida a los ácidos grasos omega-3. En esta línea, diferentes estudios han mencionado la importancia de estos ácidos grasos en la modulación de la actividad de la glándula pineal en términos de síntesis de melatonina (37). Además, el ácido docosahexaenoico constituye una gran parte de las grasas de la glándula pineal y se cree que esta glándula puede estar regulada sinérgicamente por los omega-3 (38). Un estudio realizado en hámsteres que presentaban deficiencia de omega-3 mostraron un nivel más bajo de melatonina por la noche en comparación con el grupo control, quienes no tenían deficiencia de omega-3 (39). Mientras tanto, en humanos, un metaanálisis determinó que los niños con niveles más altos de omega-3 tenían menos trastornos del sueño (40). Sin embargo, se necesitan más estudios que expliquen cómo es que el consumo de pescado influye en la síntesis de melatonina.

Otro hábito alimentario que se asoció con concentraciones mayores de 6-SMT, fue el consumo diario de 2 o más raciones de verdura. Al respecto, es importante señalar que las verduras también son fuentes de serotonina y melatonina, y podrían promover la biosíntesis de melatonina y, como consecuencia, una mayor

excreción de su metabolito urinario, la 6-SMT. De hecho, un estudio de intervención demostró que la ingesta diaria de vegetales que contienen melatonina como, por ejemplo, el tomate, aumenta las concentraciones de 6-SMT en la primera orina de la mañana (41), aunque en nuestro estudio no se alcanzó la significación estadística y el aumento de la 6-SMT se produjo en la orina de las 20:00h a las 23:00h.

En esta misma línea, se conoce que, en modelos animales, la deficiencia de folato altera drásticamente la secreción de melatonina (42). De acuerdo con Fournier I., et al (42), esto puede explicarse porque el paso final de la síntesis de melatonina es la metilación de la N-acetil-serotonina, con S-adenosilmetionina como donante de metilo proporcionado por una ruta metabólica que involucra aminoácidos que contienen azufre (homocisteína y metionina). Debido a que la remodelación de la homocisteína en metionina requiere folato (42), es posible que la asociación entre la ingesta de verduras y la 6-SMT sea debido a la metionina y al folato presentes en las verduras.

En referencia a otros hábitos que caracterizan a la Dieta Mediterránea y su asociación con las concentraciones de 6-SMT nuestros resultados apuntan que un bajo consumo (<1 ración/día) de mantequilla, margarina y nata, en el período de las 23:00 a las 07:00, se asocia con mayores niveles de 6-SMT. Es posible que al consumir menos estos alimentos, la fuente principal de grasa sea el aceite de oliva y, por tanto, más ingesta de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados. Aunque nuestro estudio es el primero y se necesitan más estudios.

Respecto a las correlaciones entre la calidad y la composición nutricional de la dieta y los niveles de 6-SMT, se observó que las concentraciones del metabolito no se correlacionan con ningún nutriente, aunque observamos una ligera tendencia entre los ácidos grasos monoinsaturados y la 6-SMT. En concordancia con nuestros hallazgos, Schernhammer et al (43) evaluaron las posibles asociaciones entre la ingesta total de energía y nutrientes y los niveles de 6-SMT en mujeres sanas, y postularon que no hallaron ninguna asociación significativa entre ellos. En nuestro estudio, los resultados son preliminares y el tamaño muestral era pequeño, por tanto, hacen falta más estudios para elucidar el papel de la composición de la dieta en la concentración de 6-SMT.

Por otra parte, en el presente estudio se encontró que los matutinos presentaron mayores niveles de 6-SMT de 20:00h a 23:00h en comparación con los vespertinos. Estos resultados eran de esperar debido a que la secreción de la melatonina en matutinos se produce antes que en los individuos vespertinos (44) y, por tanto, es probable que por este motivo presenten mayor cantidad del metabolito entre las 20:00h y las 23:00h. Además, el hecho de que el cronotipo matutino segregue antes la melatonina y que esta hormona dé la señal de inducción del sueño antes que en los vespertinos (44), explica que los matutinos se acostaran antes que los vespertinos. Sin embargo, estas diferencias en la concentración de 6-SMT no se observaron cuando se recogió la orina en el periodo comprendido entre las 23:00 y las 07:00. Esto es debido a que, durante ese período, ambos cronotipos secretan las cantidades máximas de melatonina, que se producen por la noche una vez iniciado el sueño. Por tanto, estos hallazgos sugieren que la cantidad de 6-SMT producida en el periodo de las 20:00 a las 23:00 podría ser utilizada como marcador del cronotipo en lugar del DLMO. Cabe señalar que la determinación de la 6-SMT se puede realizar en condiciones ambulatorias, a un menor coste y de manera más sencilla (44).

Finalmente, en línea con otros estudios, nuestros resultados sugieren que los vespertinos se adhieren menos a la dieta Mediterránea en comparación con los matutinos. Esta relación está impulsada por un mayor consumo de grupos de alimentos típicamente mediterráneos, reportados en los sujetos matutinos del presente estudio, tales como verduras, frutas, pescados y mariscos. Estos hallazgos concuerdan con estudios anteriores, donde se observó una mayor adherencia a la Dieta Mediterránea en sujetos con cronotipo matutino (45–47). Además, un estudio realizado en adultos italianos y un estudio español mostraron una mayor adherencia a la Dieta Mediterránea en el cronotipo matutino debido a un mayor consumo de frutas, verduras, legumbres y aceite de oliva (48,49). Asimismo, estudios anteriores han observado que los individuos que presentan un mayor jet lag social muestran una menor adherencia a la Dieta Mediterránea, que se asocia con una menor ingesta de frutas y verduras; y, además, presentan un IMC más alto (45). Estos hallazgos están en línea con nuestros resultados, debido a que hemos observado que los vespertinos también

presentan un mayor jet lag social, menor adherencia a la Dieta Mediterránea y menor consumo de verduras y hortalizas, en comparación con los matutinos.

Los resultados de este estudio deben considerarse junto con las limitaciones del estudio. Las principales limitaciones del estudio fueron el bajo tamaño muestral, de manera que los datos obtenidos no son del todo representativos de la población; y que los datos provienen de un estudio observacional. Otra limitación es que las ingestas dietéticas y la evaluación del cronotipo se basaron únicamente en datos autoinformados.

6. CONCLUSIONES

El cronotipo influye en la calidad de la dieta y en los niveles del metabolito de la melatonina, la 6-SMT, en adultos jóvenes. De manera que podemos concluir que:

- Las concentraciones de 6-SMT en el periodo de las 20:00h a las 23:00h son diferentes en función del cronotipo, y estos niveles son superiores en individuos que presentan un cronotipo matutino.
- La calidad de la dieta también está influida por el cronotipo, donde los matutinos presentan una mayor adherencia a la Dieta Mediterránea y, además, siguen con mayor frecuencia las recomendaciones de ingesta dietética de grupos de alimentos como pescados y mariscos, así como verduras y hortalizas.
- Los vespertinos presentan mayor jet lag social y esto puede explicar su baja calidad de la dieta en comparación con los matutinos.
- La composición nutricional de la ingesta es muy similar en ambos cronotipos y no se correlaciona con los niveles de la 6-SMT.
- Los niveles de 6-SMT en el periodo de 20:00 a 23:00 son mayores con el consumo de 3 o más raciones semanales de pescado y marisco. La ingesta de 2 o más raciones de verduras y hortalizas diarias se relacionan ligeramente con la 6-SMT.
- En el periodo de 23:00 a 07:00, los niveles de 6-SMT se relacionan con el consumo de 1 ración o menos de mantequilla, margarina y nata; siendo la

concentración del metabolito mayor cuando se siguen las recomendaciones de consumo de este grupo de alimentos.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Montaruli A, Castelli L, Mulè A, Scurati R, Esposito F, Galasso L, et al. Biological Rhythm and Chronotype: New Perspectives in Health. *Biomolecules*. 2021;11(4):487.
2. Lane JM, Vlasac I, Anderson SG, Kyle SD, Dixon WG, Bechtold DA, et al. Genome-wide association analysis identifies novel loci for chronotype in 100,420 individuals from the UK Biobank. *Nat Commun*. 2016;7:10889.
3. Randler C, Schredl M, Göritz AS. Chronotype, Sleep Behavior, and the Big Five Personality Factors. *SAGE Open*. 2017;7(3):1–9.
4. Honma S. The mammalian circadian system: a hierarchical multi-oscillator structure for generating circadian rhythm. *J Physiol Sci*. 2018;68(3):207–219.
5. Potter GDM, Skene DJ, Arendt J, Cade JE, Grant PJ, Hardie LJ. Circadian Rhythm and Sleep Disruption: Causes, Metabolic Consequences, and Countermeasures. *Endocr Rev*. 2016;37(6):584-608.
6. Roenneberg T, Merrow M. The Circadian Clock and Human Health. *Curr Biol*. 2016;26(10):R432–R443.
7. Kalmbach DA, Schneider LD, Cheung J, Bertrand SJ, Kariharan T, Pack AI, et al. Genetic Basis of Chronotype in Humans: Insights From Three Landmark GWAS. *Sleep*. 2017;40(2):zsw048.
8. Ruiz FS, Beijamini F, Beale AD, Gonçalves B da SB, Vartanian D, Taporoski TP, et al. Early chronotype with advanced activity rhythms and dim light melatonin onset in a rural population. *J Pineal Res*. 2020;69(3):e12675.
9. Silva A, Simón D, Pannunzio B, Casaravilla C, Díaz Á, Tassinio B. Chronotype-Dependent Changes in Sleep Habits Associated with Dim Light Melatonin Onset in the Antarctic Summer. *Clocks Sleep*. 2019;1(3):352-366.

10. Kantermann T, Sung H, Burgess HJ. Comparing the Morningness-Eveningness Questionnaire and Munich ChronoType Questionnaire to the Dim Light Melatonin Onset. *J Biol Rhythms*. 2015;30(5):449-453.
11. Kennaway DJ. Melatonin rich foods in our diet: food for thought or wishful thinking? *Food Funct*. 2020;11(11):9359–9369.
12. Zuraikat FM, Wood RA, Barragán R, St-Onge MP. Sleep and Diet: Mounting Evidence of a Cyclical Relationship. *Annu Rev Nutr*. 2021;41:309–332.
13. St-Onge MP, Mikic A, Pietrolungo CE. Effects of Diet on Sleep Quality. *Adv Nutr*. 2016;7(5):938-949.
14. Pilz LK, Keller LK, Lenssen D, Roenneberg T. Time to rethink sleep quality: PSQI scores reflect sleep quality on workdays. *Sleep*. 2018;41(5):1-8.
15. Knutson KL, von Schantz M. Associations between chronotype, morbidity and mortality in the UK Biobank cohort. *Chronobiol Int*. 2018;35(8):1045–1053.
16. Arora T, Taheri S. Associations among late chronotype, body mass index and dietary behaviors in young adolescents. *Int J Obes*. 2015;39(1):39–44.
17. Vera B, Dashti HS, Gómez-Abellán P, Hernández-Martínez AM, Esteban A, Scheer FAJL, et al. Modifiable lifestyle behaviors, but not a genetic risk score, associate with metabolic syndrome in evening chronotypes. *Sci Rep*. 2018;8(1): 945.
18. Maukonen M, Kanerva N, Partonen T, Männistö S. Chronotype and energy intake timing in relation to changes in anthropometrics: a 7-year follow-up study in adults. *Chronobiol Int*. 2019;36(1):27–41.
19. Wittmann M, Dinich J, Merrow M, Roenneberg T. Social Jetlag: Misalignment of Biological and Social Time. *Chronobiol Int*. 2006;23(1–2):497–509.
20. Parsons MJ, Moffitt TE, Gregory AM, Goldman-Mellor S, Nolan PM, Poulton R, et al. Social jetlag, obesity and metabolic disorder: investigation in a cohort study. *Int J Obes*. 2015;39(5):842–848.

21. Xiao Q, Garaulet M, Scheer FAJL. Meal timing and obesity; interactions with macronutrient intake and chronotype. *Int J Obes (Lond)*. 2019;43(9):1701-1711.
22. Almoosawi S, Vingeliene S, Gachon F, Voortman T, Palla L, Johnston JD, et al. Chronotype: Implications for Epidemiologic Studies on Chrono-Nutrition and Cardiometabolic Health. *Adv Nutr*. 2019;10(1):30-42.
23. Henry CJ, Kaur B, Quek RYC. Chrononutrition in the management of diabetes. *Nutr Diabetes*. 2020;10(1):6.
24. Binks H, Vincent GE, Gupta C, Irwin C, Khalesi S. Effects of Diet on Sleep: A Narrative Review. *Nutrients*. 2020;12(4):936.
25. Chaput JP, St-Onge MP. Increased food intake by insufficient sleep in humans: Are we jumping the gun on the hormonal explanation? *Front Endocrinol*. 2014;5:116.
26. Dipòsit Digital de la Universitat de Barcelona: Programa de Càlcul Nutricional Professional (PCN Pro) [Internet]. Available from: <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/44329?locale=es>
27. Martínez-González MA, García-Arellano A, Toledo E, Salas-Salvadó J, Buil-Cosiales P, Corella D, et al. A 14-Item Mediterranean Diet Assessment Tool and Obesity Indexes among High-Risk Subjects: The PREDIMED Trial. *PLoS ONE*. 2012;7(8):e43134.
28. Roenneberg T, Wirz-Justice A, Mrosovsky M. Life between clocks: Daily temporal patterns of human chronotypes. *J Biol Rhythms*. 2003;18(1):80–90.
29. Melatonin-Sulfate Urine ELISA (6-Hydroxymelatonin Sulphate, 6-Sulfatoxymelatonin) [Internet]. Available from: <https://www.ibl-international.com/en/6-hydroxymelatonin-sulphate-melatoninsulfat-elisa>
30. Larsen K. Creatinine assay by a reaction-kinetic principle. *Clin Chim Acta*. 1972;41:209–17.
31. Ortiz-Tudela E, Martínez-Nicolas A, Albares J, Segarra F, Campos M, Estivill E, et al. Ambulatory Circadian Monitoring (ACM) based on

- Thermometry, motor Activity and body Position (TAP): A comparison with polysomnography. *Physiol Behav.* 2014;126:30–38.
32. Cambras T, Castro-Marrero J, Zaragoza MC, Díez-Noguera A, Alegre J. Circadian rhythm abnormalities and autonomic dysfunction in patients with Chronic Fatigue Syndrome/Myalgic Encephalomyelitis. *PLoS ONE.* 2018;13(6):e0198106.
 33. Shrivastava D, Jung S, Saadat M, Sirohi R, Crewson K. How to interpret the results of a sleep study. *J Community Hosp Intern Med Perspect.* 2014;4(5):24983.
 34. Mendivil CO. Dietary Fish, Fish Nutrients, and Immune Function: A Review. *Front Nutr.* 2021;7:617652.
 35. Xie X, Ding D, Bai D, Zhu Y, Sun W, Sun Y, et al. Melatonin biosynthesis pathways in nature and its production in engineered microorganisms. *Synth Syst Biotechnol.* 2022;7(1):544–553.
 36. Zhao D, Yu Y, Shen Y, Liu Q, Zhao Z, Sharma R, et al. Melatonin synthesis and function: Evolutionary history in animals and plants. *Front Endocrinol.* 2019;10:249.
 37. Zaouali-Ajina M, Gharib A, Durand G, Gazzah N, Claustrat B, Gharib C, et al. Dietary Docosahexaenoic Acid-Enriched Phospholipids Normalize Urinary Melatonin Excretion in Adult (n-3) Polyunsaturated Fatty Acid-Deficient Rats. *J Nutr.* 1999;129(11):2074–2080.
 38. Catalá A. The function of very long chain polyunsaturated fatty acids in the pineal gland. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801(2):95–99.
 39. Laviolle M, Champeil-Potokar G, Alessandri JM, Balasse L, Guesnet P, Papillon C, et al. An (n-3) polyunsaturated fatty acid-deficient diet disturbs daily locomotor activity, melatonin rhythm, and striatal dopamine in Syrian hamsters. *J Nutr.* 2008;138(9):1719–1724.
 40. Dai Y, Liu J, Dai Y, Liu J. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid and sleep: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials and longitudinal studies. *Nutr Rev.* 2021;79(8):847–868.

41. Oba S, Nakamura K, Sahashi Y, Hattori A, Nagata C. Consumption of vegetables alters morning urinary 6-sulfatoxymelatonin concentration. *J Pineal Res.* 2008;45(1):17–23.
42. Fournier I, Ploye F, Cottet-Emard JM, Brun J, Claustrat B. Folate Deficiency Alters Melatonin Secretion in Rats. *J Nutr.* 2002;132(9):2781–2784.
43. Schernhammer ES, Feskanich D, Niu C, Dopfel R, Holmes MD, Hankinson SE. Dietary correlates of urinary 6-sulfatoxymelatonin concentrations in the Nurses' Health Study cohorts. *Am J Clin Nutr.* 2009;90(4):975-985.
44. Instituto Internacional de la Melatonina. Funciones de la melatonina pineal. Instituto Internacional de la Melatonina [Internet]. [cited 2022 Jul 17]. Available from: <https://institutodemelatonina.com/2-funciones-de-la-melatonina-pineal/>
45. Zerón-Ruggerio MF, Cambras T, Izquierdo-Pulido M. Social Jet Lag Associates Negatively with the Adherence to the Mediterranean Diet and Body Mass Index among Young Adults. *Nutrients.* 2019;11(8):1756.
46. Naja F, Hasan H, Khadem SH, Buanq MA, Al-Mulla HK, Aljassmi AK, et al. Adherence to the Mediterranean Diet and Its Association With Sleep Quality and Chronotype Among Youth: A Cross-Sectional Study. *Front Nutr.* 2022;8:805955.
47. Muscogiuri G, Barrea L, Aprano S, Framondi L, di Matteo R, Laudisio D, et al. Chronotype and Adherence to the Mediterranean Diet in Obesity: Results from the Opera Prevention Project. *Nutrients* 2020;12(5):1354.
48. Lotti S, Pagliai G, Asensi MT, Giangrandi I, Colombini B, Sofi F, et al. Morning chronotype is associated with higher adherence to the Mediterranean diet in a sample of Italian adults. *Nutr, Metab Cardiovasc Dis.* 2022;32(9):2086-2092.
49. Rodríguez-Muñoz PM, Carmona-Torres JM, Rivera-Picón C, Fabbian F, Manfredini R, Rodríguez-Borrego MA, et al. Associations between Chronotype, Adherence to the Mediterranean Diet and Sexual Opinion among University Students. *Nutrients* 2020;12(6):1900.