

ORIGINAL

Efecto del polimorfismo rs10830963 MTNR1B y la composición de grasa de la dieta en la resistencia a la insulina tras la pérdida de peso durante 3 meses



Daniel Antonio de Luis^{a,b,*}, Olatz Izaola^{a,b}, David Primo^{a,b} y Rocio Aller^{a,b}

^a Centro de Investigación de Endocrinología y Nutrición Clínica, Facultad de Medicina, Valladolid, España

^b Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Universidad de Valladolid, Valladolid, España

Recibido el 14 de noviembre de 2018; aceptado el 5 de febrero de 2019

Disponible en Internet el 10 de abril de 2019

PALABRAS CLAVE

rs10830963;
Grasa de la dieta;
Dieta hipocalórica;
MTNR1B

Resumen

Antecedentes y objetivos: El alelo de riesgo (G) de la variante rs10830963 en el gen del receptor de melatonina 1 B (MTNR1B) se relaciona con la obesidad. En este trabajo evaluamos el efecto de este SNP sobre los factores de riesgo cardiovascular y la pérdida de peso secundaria a 2 dietas hipocalóricas.

Métodos: Trescientos sesenta y un sujetos obesos fueron asignados aleatoriamente durante 3 meses (dieta M: dieta hipocalórica alta en grasas monoinsaturadas vs. dieta P: dieta hipocalórica alta en grasas poliinsaturadas). Se midieron los parámetros antropométricos, glucemia en ayunas, proteína C reactiva, concentración de insulina, resistencia a la insulina (HOMA-IR), perfil de lípidos y los niveles de adipocitoquinas. Se evaluó el genotipo del polimorfismo del gen MTNR1B (rs10830963).

Resultados: Todos los parámetros antropométricos, la presión arterial sistólica y los niveles de leptina disminuyeron en todos los sujetos después de ambas dietas. Esta mejora de los parámetros antropométricos fue mayor en los no portadores del alelo G que en los portadores del alelo G. Tras la intervención con dieta M (CC vs. CG + GG), el colesterol total (delta: $-10,4 \pm 2,1$ mg/dl vs. $-6,4 \pm 1,2$ mg/dl: $p < 0,05$), colesterol LDL (delta: $-7,1 \pm 0,9$ mg/dl vs. $-2,8 \pm 0,8$ mg/dl: $p < 0,05$), insulina (delta: $-3,0 \pm 0,8$ UI/l vs. $-2,0 \pm 1,0$ UI/l: $p < 0,05$) y HOMA IR (delta: $-3,4 \pm 1,0$ unidades vs. $-2,9 \pm 0,9$ unidades: $p < 0,05$) mejoraron en los no portadores del alelo G. Tras la dieta P, en el grupo de sujetos sin alelo G, los niveles de insulina (delta: $-2,9 \pm 1,0$ UI/l vs. $-0,6 \pm 0,2$ UI/l: $p < 0,05$) y HOMA-IR (delta [CC vs. CG + GG]: $-0,8 \pm 0,2$ unidades vs. $-0,4 \pm 0,3$ unidades: $p < 0,05$) también disminuyeron.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: dadluis@yahoo.es (D.A. de Luis).

<https://doi.org/10.1016/j.endinu.2019.02.007>

2530-0164/© 2019 SEEN y SED. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

rs10830963;
Dietary fat;
Hypocaloric diet;
MTNR1B

Conclusiones: Nuestro estudio detectó una relación de la variante rs10830963 de *MTNR1B* con la pérdida de peso corporal y la modificación de la resistencia a la insulina inducida por 2 dietas hipocalóricas diferentes. Solo la dieta hipocalórica enriquecida en grasa monoinsaturada y los no portadores del alelo G mostraron un efecto significativo sobre las lipoproteínas.

© 2019 SEEN y SED. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Dietary-fat effect of the rs10830963 polymorphism in *MTNR1B* on insulin resistance in response to 3 months weight-loss diets

Abstract

Background & aims: The risk allele (G) of rs10830963 in the melatonin receptor 1 B (*MTNR1B*) gene presents an association with obesity. We study the effect of this SNP on cardiovascular risk factors and weight loss secondary to 2 hypocaloric diets.

Methods: 361 obese subjects were randomly allocated during 3 months (Diet M - high monounsaturated fat hypocaloric diet vs. Diet P - high polyunsaturated fat hypocaloric diet). Anthropometric parameters, fasting blood glucose, C-reactive protein (CRP), insulin concentration, insulin resistance (HOMA-IR), lipid profile and adipocytokines levels were measured. Genotype of *MTNR1B* gene polymorphism (rs10830963) was evaluated.

Results: All anthropometric parameters, systolic blood pressure and leptin levels decreased in all subjects after both diets. This improvement of anthropometric parameters was higher in non G allele carriers than G allele carriers. After dietary intervention with Diet M, (CC vs. CG + GG); total cholesterol (delta: -10.4 ± 2.1 mg/dl vs. -6.4 ± 1.2 mg/dl; $P < .05$), LDL-cholesterol (delta: -7.1 ± 0.9 mg/dl vs. -2.8 ± 0.8 mg/dl; $P < .05$), insulin (delta: -3.0 ± 0.8 UI/L vs. -2.0 ± 1.0 UI/L; $P < .05$) and HOMA-IR (delta: -3.4 ± 1.0 units vs. -2.9 ± 0.9 units; $P < .05$) improved in no G allele carriers. After Diet P, in the group of subjects without G allele CC, insulin levels (delta: -2.9 ± 1.0 UI/L vs. -0.6 ± 0.2 UI/L; $P < .05$) and HOMA-IR (delta (CC vs. CG + GG): -0.8 ± 0.2 units vs. -0.4 ± 0.3 units; $P < .05$) decreased, too.

Conclusions: Our study detected a relationship of rs10830963 *MTNR1B* SNP with body weight loss and insulin resistance modification induced by 2 different hypocaloric. Only monounsaturated enriched hypocaloric diet and in no-G allele carriers showed a significant effect on lipoproteins. © 2019 SEEN y SED. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Existen datos de que nuestro metabolismo está relacionado con el sistema circadiano¹. En algunos trabajos incluso se han relacionado las alteraciones del ritmo circadiano con el sobrepeso². Algunos estudios también han demostrado que el metabolismo energético es controlado básicamente a través de un marcapasos central en el sistema circadiano³ y que las alteraciones circadianas pueden inducir obesidad y complicaciones metabólicas asociadas a esta como son diabetes mellitus tipo 2, intolerancia a la glucosa, hiperlipidemia, hipertensión o enfermedad cardiovascular⁴.

La melatonina es una hormona producida por la glándula pineal que controla fundamentalmente los ritmos circadianos⁵. El efecto de la melatonina es realizado a través de 2 receptores de membrana: el receptor de melatonina 1 (MT1, codificado por *MTNR1A*) y el receptor de melatonina 2 (MT2, codificado por *MTNR1B*). *MTNR1B* es el receptor más ubicuo de ambos y se encuentra en los islotes pancreáticos, el diencéfalo y los ojos (retina). Algunos polimorfismos (polimorfismo de un único nucleótido [SNP]) localizados en genes implicados en sistemas circadianos como la melatonina se han relacionado con el sobrepeso y la obesidad⁶. Por

ejemplo, un SNP en el gen del receptor de melatonina tipo 1B (*MTNR1B*), se ha relacionado con la alteración del ritmo y la señal de la melatonina⁷. Curiosamente, esta variante genética también se ha relacionado con la diabetes mellitus tipo 2^{8,9}, dislipidemias^{10,11} y sobrepeso¹². Por otra parte, se ha demostrado que el polimorfismo rs10830963 del gen del receptor *MTNR1B* interactúa con la grasa dietética y el perfil lipídico sérico¹³.

A pesar de estas relaciones mencionadas anteriormente, las investigaciones que estudian el efecto de este polimorfismo en la respuesta a las estrategias de pérdida de peso son escasas. Goni et al.¹⁴ han demostrado que la variante rs10830963 podría estar relacionada con la pérdida de peso inducida por una restricción calórica. Los mismos autores¹⁵ han detectado una relación de esta variante genética con la respuesta lipídica después de 2 años de dieta y pérdida de peso. También se ha detectado una interacción significativa entre los genotipos de la variante rs10830963¹⁶ y la intervención dietética sobre la aparición de diabetes mellitus gestacional, en mujeres jóvenes homocigóticas para el alelo C. Finalmente, los pacientes con obesidad tratados con una dieta hipocalórica mediterránea mostraron una respuesta diferente de los niveles de insulina y resistencia a

la insulina; dichas diferencias se relacionaron con el alelo menor de este SNP¹⁷.

En este estudio, evaluamos el efecto de este SNP sobre los cambios en diferentes factores de riesgo cardiovascular y la pérdida de peso tras una dieta hipocalórica con alto contenido de grasas monoinsaturadas o una dieta hipocalórica con alto contenido de grasas poliinsaturadas en pacientes con obesidad.

Material y métodos

En este trabajo se ha reclutado a pacientes con obesidad de raza caucásica mediante un método consecutivo no probabilístico de muestreo entre los sujetos enviados por los médicos de atención primaria a las consultas de especializada. Se reclutó a 361 pacientes en la Unidad de Nutrición Clínica. Este estudio se llevó a cabo de acuerdo con las directrices establecidas en la Declaración de Helsinki, el comité local de ética aprobó todos los procedimientos y todos los sujetos dieron su consentimiento informado.

Los principales criterios de exclusión fueron: la realización de una dieta durante los 6 meses anteriores al estudio, presencia de enfermedades cardiovasculares o cerebrovasculares inestables, motivación insuficiente, así como el uso de cualquiera de los siguientes medicamentos: metformina, inhibidores de dipeptidilo tipo IV, tiazolidinediona, análogos de GLP-1, inhibidores de SGLT2, insulina, glucocorticoides, bloqueadores de los receptores de angiotensina, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, medicamentos psicoactivos, estatinas y otros medicamentos lipídicos. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: índice de masa corporal > 30 kg/m² y una edad comprendida entre 18 y 70 años.

Se recogieron muestras de sangre venosa (15 ml) en tubos tratados con EDTA, tras un período de ayuno de 10 h. La glucosa basal, la proteína C reactiva (PCR), la insulina, la resistencia a la insulina (HOMA-IR), el colesterol total, el colesterol LDL, el colesterol HDL, los triglicéridos y las adipocinas séricas (leptina, adiponectina y resistencia) se midieron al inicio del ensayo y se repitieron después de 3 meses de ambas dietas. Los parámetros antropométricos (peso, altura, circunferencia de la cintura y masa grasa por bioimpedancia), así como la presión arterial, también se midieron en ambas ocasiones. Se evaluó el genotipo del polimorfismo del gen MTNR1B (rs10830693).

Intervención dietética

Ambas dietas hipocalóricas fueron diseñadas para proporcionar entre 400 y 500 kcal/día menos que el gasto total de energía estimado individualmente. Los sujetos obesos fueron asignados aleatoriamente a una de 2 dietas durante un período de 3 meses. El porcentaje de energía derivado de hidratos de carbono, grasas y proteínas en las dietas fue: dieta P (dieta hipocalórica con alto contenido de grasas poliinsaturadas, 45,7% de hidratos de carbono, 34,4% de lípidos y 19,9% de proteínas) y dieta M (dieta hipocalórica con alto contenido de grasas monoinsaturadas: 46,6% de hidratos de carbono, 34,1% de lípidos y 19,2% de proteínas). La distribución de las grasas en la dieta P fue la siguiente: 21,8% de las grasas saturadas, 55,5% de las grasas monoinsaturadas

y 22,7% de las grasas poliinsaturadas (7 g al día de ácidos grasos ω -6, 2 g al día de ácidos grasos ω -3 y una relación ω 6/ ω 3 de 3,5). La distribución de grasas en la dieta M fue: 21,7% de grasas saturadas, 67,5% de grasas monoinsaturadas y 10,8% de grasas poliinsaturadas. El programa de ejercicios consistía en realizar ejercicio aeróbico al menos 3 veces por semana (60 min cada una). Los registros de la ingesta dietética diaria durante 3 días, incluido un día de fin de semana, se evaluaron con un programa informático (Dietosource[®], Nestle Gen, Sw). Se utilizaron como referencia las tablas nacionales de composición de alimentos¹⁸. Un investigador verificó el cumplimiento de ambas dietas cada 7 días con una llamada telefónica.

Antropometría

El peso corporal y la circunferencia de la cintura se midieron por la mañana antes del desayuno, al inicio y a los 3 meses de seguimiento. El índice de masa corporal se calculó con la fórmula (peso corporal en kg/[altura² en m]). La circunferencia de la cintura se midió en el diámetro más estrecho entre el apéndice xifoideo y la cresta ilíaca. La bioimpedancia eléctrica se utilizó para medir la composición corporal con una precisión de 50 g¹⁹. La presión arterial se midió 2 veces después de un descanso de 10 min con un esfigmógrafo de mercurio y se promediaron ambos valores (Omrom, Los Angeles, CA, EE. UU.).

Determinaciones bioquímicas

La insulina se determinó mediante radioinmunoanálisis (RIA Diagnostic Corporation, Los Angeles, CA, EE. UU.) con una sensibilidad de 0,5 mUI/l (rango normal 0,5-30 mUI/l)²⁰, los niveles de glucosa en plasma se midieron usando un método automatizado de glucosa oxidasa (Glucose analyser 2, Beckman Instruments, Fullerton, California, EE. UU.) y se calculó la resistencia a la insulina (HOMA-IR) usando estos valores²¹. Las concentraciones séricas de colesterol total y triglicéridos se determinaron mediante un ensayo colorimétrico enzimático (Technicon Instruments, Ltd., New York, N.Y., EE. UU.). El colesterol HDL se determinó enzimáticamente en el sobrenadante después de la precipitación de otras lipoproteínas con dextrano sulfato-magnesio. El colesterol LDL se calculó utilizando la fórmula de Friedewald (colesterol LDL = colesterol total - HDL colesterol - triglicéridos/5)²².

La leptina fue determinada por enzimoimmunoanálisis (ELISA) (Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Texas, EE. UU.), con un CV% 3,5%²³. La resistina fue medida por ELISA (Biovendor Laboratory, Inc. de Brno, República Checa), con un CV% 3,2%²⁴. La adiponectina fue medida por ELISA (R&D systems, Inc., Minneapolis, EE. UU.) (DRP300), con un CV% 3,8%²⁵. La PCR se determinó por inmunoturbimetría (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania), con un CV% 2,8%.

Genotipificación del polimorfismo del gen MTNR1B

El ADN genómico se extrajo de la fracción buffy coat de la sangre centrifugada mediante un kit comercial (Biorad, LA, CA, EE. UU.). Los cebadores fueron diseñados con el

programa Sequenom Assay Design v4 (SEQUENOM, Inc. San Diego, California, EE. UU.). La genotipificación del polimorfismo rs10830963 se realizó mediante el análisis en tiempo real de la reacción en cadena de la polimerasa. Esta reacción en cadena de la polimerasa se llevó a cabo con 20-25 ng de ADN genómico, 0,1-0,15 μ l de cada uno de los oligonucleótidos de fondo para rs10830963 (primer adelante: 5'- ACGTTGGGGATGCCCCCCCCAGTGATGCTAAGAAGAAT -3' y viceversa 5'- ACGTGGGATGGGGCATAGGCAGAATATTTCCC -3' en un volumen final de 2 μ l (Termociclador Lifetecnologies, LA, CA, EE. UU.). El equilibrio de Hardy-Weinberg se calculó con una prueba estadística (chi al cuadrado). La variante del gen MTNR1B estaba en equilibrio con Hardy-Weinberg ($p = 0,31$).

Análisis estadístico

La comparación de las variables categóricas se evaluó mediante la prueba de la chi al cuadrado. Las variables numéricas con distribución normal se analizaron con una prueba t de Student de 2 colas. Las variables no paramétricas se analizaron con la prueba de Wilcoxon. El análisis estadístico para evaluar la interacción entre el gen y la dieta fue realizado mediante ANCOVA. El análisis estadístico se realizó para el CG y GG combinado como grupo y el genotipo CC como segundo grupo, con un modelo dominante. El tamaño de la muestra se calculó para detectar diferencias de más de 2,5 kg en la pérdida de peso corporal con una potencia del 90% y una significación del 5% ($n = 150$ en cada grupo de dieta). Un valor $p < 0,05$ se consideró significativo. La versión 15.0 (SPSS 15, Illinois, EE. UU.) ha sido utilizada para realizar el análisis estadístico.

Resultados

Trescientos sesenta y un sujetos fueron incluidos en el estudio. La edad media fue de $49,1 \pm 6,1$ años (rango: 27-67) y el índice de masa corporal medio de $36,1 \pm 4,1$ kg/m² (rango: 31,0-39,3). Un total de 194 pacientes (54,0%) tenían el genotipo CC, 142 pacientes CG (39,3%) y 25 pacientes GG (6,7%). La edad fue similar en los 3 genotipos (CC $49,3 \pm 9,1$ años vs. CG $48,9 \pm 10,2$ años vs. GG $48,7 \pm 8,0$ años: ns).

En el grupo de 177 sujetos tratados con la dieta M (91 sujetos con genotipo CC y 86 portadores del alelo G), la evaluación basal de la ingesta nutricional mostró una ingesta calórica de $2.009,1 \pm 322,1$ kcal/día, una ingesta de hidratos de carbono de $199,2 \pm 31,3$ g/día (43,2% de las calorías), una ingesta de grasas de $64,3 \pm 12,2$ g/día (33,9% de las calorías) y una ingesta de proteínas de $78,1 \pm 17,1$ g/día (23,9% de las calorías). Durante la intervención dietética, estos pacientes alcanzaron las recomendaciones teóricas de la dieta M: 1.459,2 calorías por día (45,0% de hidratos de carbono, 34,0% de lípidos y 21,0% de proteínas). La distribución de las grasas dietéticas fue la siguiente: 20,4% de grasas saturadas, 67,8% de grasas monoinsaturadas y 11,8% de grasas poliinsaturadas.

En el grupo de 184 sujetos tratados con la dieta P (104 portadores de genotipo CC y 80 portadores del alelo G), la evaluación basal de la ingesta nutricional mostró una

ingesta calórica de $1.997,4 \pm 623,1$ kcal/día, una ingesta de hidratos de carbono de $208,1 \pm 60,9$ g/día (43,4% de las calorías), una ingesta de grasas de $82,1 \pm 31,3$ g/día (36,3% de las calorías) y una ingesta de proteínas de $88,1 \pm 32,1$ g/día (20,3% de las calorías). Durante la intervención, estos sujetos alcanzaron las recomendaciones teóricas de la dieta P: 1.453,9 calorías por día (45,3% de hidratos de carbono, 34,1% de lípidos y 20,8% de proteínas). La distribución de las grasas fue la siguiente: 20,6% de grasas saturadas, 53,9% de grasas monoinsaturadas y 23,5% de grasas poliinsaturadas (6,8 g diarios de ácidos grasos ω -6, 1,9 g diarios de ácidos grasos ω -3 y una relación ω 6/ ω 3 de 3,6).

En la [tabla 1](#) se muestran los parámetros antropométricos y las características de la presión arterial de los participantes al inicio y tras 3 meses de la intervención. En ambos genotipos, el peso corporal, el índice de masa corporal (IMC), la masa grasa, la circunferencia de la cintura y la presión arterial sistólica disminuyeron significativamente. Tras la pérdida de peso con una dieta hipocalórica rica en grasas monoinsaturadas (dieta M; CC vs. CG + GG) disminuyeron los siguientes parámetros; IMC (delta: $-0,7 \pm 1,1$ kg/m² vs. $-0,5 \pm 1,2$ kg/m²: $p < 0,05$), peso (delta: $-4,1 \pm 0,9$ kg vs. $-2,9 \pm 0,8$ kg: $p < 0,05$), la masa grasa (delta: $-3,0 \pm 0,8$ kg vs. $-2,0 \pm 1,0$ kg: $p < 0,05$) y la circunferencia de la cintura (delta: $-3,4 \pm 1,0$ cm vs. $-2,9 \pm 0,9$ cm: $p < 0,05$). La mejoría de estas variables fue mayor en los no portadores del alelo G. Tras la pérdida de peso con una dieta enriquecida en grasas poliinsaturadas (dieta P; CC vs. CG + GG), también disminuyeron los siguientes parámetros: IMC (delta: $-0,7 \pm 1,0$ kg/m² vs. $-0,2 \pm 1,1$ kg/m²: $p < 0,05$), peso (delta: $-3,7 \pm 1,0$ kg vs. $-2,5 \pm 0,9$ kg: $p < 0,05$), la masa grasa (delta: $-3,3 \pm 1,0$ kg vs. $-1,4 \pm 0,9$ kg: $p < 0,05$) y la circunferencia de la cintura (delta: $-3,8 \pm 1,0$ cm vs. $-2,6 \pm 0,8$ cm: $p < 0,05$). De la misma manera, la disminución de los parámetros antropométricos fue mayor en los no portadores del alelo G. La presión arterial sistólica mejoró tras ambas dietas hipocalóricas, independientemente del genotipo ([tabla 1](#)).

La [tabla 2](#) muestra las variables bioquímicas. Tras la pérdida de peso con la dieta M (dieta M; CC vs. CG + GG), el colesterol total (delta: $-10,4 \pm 2,1$ mg/dl vs. $-6,4 \pm 1,2$ mg/dl: $p < 0,05$), colesterol LDL (delta: $-7,1 \pm 0,9$ mg/dl vs. $-2,8 \pm 0,8$ mg/dl: $p < 0,05$), insulina (delta: $-3,0 \pm 0,8$ UI/l vs. $-2,0 \pm 1,0$ UI/l: $p < 0,05$) y HOMA-IR (delta: $-3,4 \pm 1,0$ unidades vs. $-2,9 \pm 0,9$ unidades: $p < 0,05$) mejoraron en los no portadores del alelo G. Tras la pérdida de peso con la dieta P, en el grupo de sujetos sin alelo G, los niveles de insulina (delta [CC vs. CG + GG]: $-2,9 \pm 1,0$ UI/l vs. $-0,6 \pm 0,2$ UI/l: $p < 0,05$) y HOMA-IR (delta [CC vs. CG + GG]: $-0,8 \pm 0,2$ unidades vs. $-0,4 \pm 0,3$ unidades: $p < 0,05$) también disminuyeron. En ambas genotipificaciones tratadas con dieta P, los niveles de colesterol permanecieron sin cambios.

La [tabla 3](#) muestra los niveles de adipocinas en suero. Tras la pérdida de peso con ambas dietas (M vs. P), los no portadores del alelo G mostraron una disminución significativa en los niveles de leptina (delta: $-15,1 \pm 9,1$: ng/ml vs. $-18,6 \pm 13,2$ ng/ml: $p > 0,05$). La misma mejoría de los niveles de leptina se observó en los portadores del alelo G (delta: $-19,6 \pm 9,1$ ng/ml vs. $-15,1 \pm 9,8$ ng/ml: $p > 0,05$). El efecto sobre los niveles de leptina fue independiente de

Tabla 1 Variables antropométricas (media \pm DE)

Variables	Rrs10830963											
	Dieta M (n = 177)					p tiempo genotipo genotipo \times tiempo	Dieta P (n = 184)					p tiempo genotipo genotipo \times tiempo
	CC		CG + GG		CC		CG + GG					
	Basal	3 meses	Basal	3 meses	Basal		3 meses	Basal	3 meses			
IMC	36,0 \pm 2,6	35,3 \pm 2,1 ^a	36,1 \pm 8,1	35,6 \pm 5,0 ^a	p = 0,007 p = 0,36 p = 0,01	36,1 \pm 4,4	35,4 \pm 5,1 ^a	36,0 \pm 4,2	35,6 \pm 4,1 ^a	p = 0,008 p = 0,49 p = 0,02		
Peso (kg)	96,6 \pm 11,0	92,5 \pm 9,1 ^b	97,4 \pm 13,1	94,5 \pm 12,1 ^b	p = 0,008 p = 0,33 p = 0,02	96,6 \pm 10,1	92,9 \pm 9,1 ^b	94,1 \pm 9,0	91,6 \pm 7,0 ^b	p = 0,005 p = 0,37 p = 0,002		
Masa grasa (kg)	38,8 \pm 5,1	35,8 \pm 8,0 ^c	39,5 \pm 7,0	37,6 \pm 6,1 ^c	p = 0,009 p = 0,42 p = 0,02	39,2 \pm 7,1	35,9 \pm 6,0 ^c	38,7 \pm 10,2	37,3 \pm 7,2 ^c	p = 0,007 p = 0,36 p = 0,01		
CC (cm)	113,5 \pm 6,1	110,1 \pm 4,2 ^d	112,7 \pm 6,2	109,8 \pm 3,26 ^d	p = 0,01 p = 0,59 p = 0,03	113,5 \pm 4,0	109,7 \pm 5,0 ^d	112,6 \pm 7,1	109,8 \pm 8,0 ^d	p = 0,03 p = 0,67 p = 0,03		
PAS (mmHg)	128,7 \pm 14,8	124,1 \pm 9,1 ^e	125,1 \pm 8,1	122,1 \pm 5,1 ^e	p = 0,02 p = 0,51 p = 0,03	125,9 \pm 9,8	122,3 \pm 6,0 ^e	127,4 \pm 3,2	124,4 \pm 4,0 ^e	p = 0,03 p = 0,61 p = 0,03		
PAD (mmHg)	80,1 \pm 5,1	78,0 \pm 5,0	80,8 \pm 5,1	78,6 \pm 5,1	p = 0,44 p = 0,45 p = 0,67	82,3 \pm 5,8	79,9 \pm 3,9	82,8 \pm 5,0	80,1 \pm 5,0	p = 0,56 p = 0,52 p = 0,62		

DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; CC: circunferencia de cintura.

^a IMC: diferencias estadísticas en cada grupo entre valores basales y 3 meses. No diferencias entre grupos.

^b Peso: diferencias estadísticas en cada grupo entre valores basales y 3 meses. No diferencias entre grupos.

^c Masa grasa: diferencias estadísticas en cada grupo entre valores basales y 3 meses. No diferencias entre grupos.

^d CC: diferencias estadísticas en cada grupo entre valores basales y 3 meses. No diferencias entre grupos.

^e PAS: diferencias estadísticas en cada grupo entre valores basales y 3 meses. No diferencias entre grupos.

Tabla 2 Variables bioquímicas (media \pm DE)

Variables	rs10830963										
	Dieta M (n = 177)					p tiempo genotipo genotipo \times tiempo	Dieta P (n = 184)				p tiempo genotipo genotipo \times tiempo
	CC		CG + GG				CC		CG + GG		
	Basal	3 meses	Basal	3 meses	Basal		3 meses	Basal	3 meses		
Glucosa (mg/dl)	101,6 \pm 11,1	98,6 \pm 9,1	100,3 \pm 9,1	100,1 \pm 7,1	p = 0,49 p = 0,61 p = 0,22	103,1 \pm 8,1	98,5 \pm 9,1	103,0 \pm 8,1	102,5 \pm 9,1	p = 0,51 p = 0,63 p = 0,25	
Colesterol total (mg/dl)	206,9 \pm 11,7	196,5 \pm 12,2 ^a	210,8 \pm 40,8	206,4 \pm 23,1	p = 0,01 p = 0,63 p = 0,01	205,6 \pm 28,1	200,0 \pm 12,1	195,9 \pm 10,7	193,5 \pm 10,2	p = 0,59 p = 0,66 p = 0,23	
LDL-colesterol (mg/dl)	128,4 \pm 19,1	119,3 \pm 14,4 ^b	129,9 \pm 32,1	127,1 \pm 32,1	p = 0,02 p = 0,34 p = 0,01	128,9 \pm 14,1	123,4 \pm 19,1	121,5 \pm 20,1	119,6 \pm 8,4	p = 0,52 p = 0,61 p = 0,19	
HDL-colesterol (mg/dl)	54,4 \pm 5,1	51,1 \pm 7,0	53,9 \pm 9,1	51,5 \pm 8,0	p = 0,42 p = 0,53 p = 0,11	50,4 \pm 6,0	49,9 \pm 7,0	49,5 \pm 8,0	50,1 \pm 7,2	p = 0,54 p = 0,78 p = 0,29	
Triglicéridos (mg/dl)	123,2 \pm 40,1	123,1 \pm 37,4	124,3 \pm 20,9	123,4 \pm 18,1	p = 0,69 p = 0,71 p = 0,27	134,1 \pm 21,1	122,1 \pm 18,4	135,4 \pm 16,9	127,6 \pm 13,1	p = 0,61 p = 0,80 p = 0,22	
PCR (ng/dl)	2,6 \pm 1,8	2,4 \pm 1,5	2,9 \pm 1,1	2,8 \pm 1,2	p = 0,45 p = 0,51 p = 0,11	3,1 \pm 2,0	3,2 \pm 2,2	3,7 \pm 1,1	3,1 \pm 1,4	p = 0,51 p = 0,60 p = 0,20	
Insulina (mUI/l)	14,2 \pm 5,0	12,1 \pm 3,9 ^c	11,4 \pm 4,8	11,1 \pm 6,1	p = 0,009 p = 0,21 p = 0,02	13,9 \pm 6,0	11,0 \pm 4,3 ^c	13,2 \pm 7,1	12,6 \pm 5,1	p = 0,01 p = 0,21 p = 0,00	
HOMA-IR	3,8 \pm 1,2	3,0 \pm 1,0 ^d	2,8 \pm 1,3	2,5 \pm 1,5	p = 0,01 p = 0,33 p = 0,03	3,6 \pm 2,0	2,8 \pm 1,9 ^d	3,6 \pm 1,3	3,2 \pm 1,6	p = 0,008 p = 0,12 p = 0,01	

LDL: *low density lipoprotein*; HOMA-IR: *homeostasis model assessment*; DE: desviación estándar; HDL: *high density lipoprotein*; PCR: proteína C reactiva.

^a Colesterol: diferencias estadísticas en cada grupo entre valores basales y 3 meses. No diferencias entre grupos.

^b LDL-colesterol: diferencias estadísticas en cada grupo entre valores basales y 3 meses. No diferencias entre grupos.

^c Insulina: diferencias estadísticas en cada grupo entre valores basales y 3 meses. No diferencias entre grupos.

^d HOMA-IR: diferencias estadísticas en cada grupo entre valores basales y 3 meses. No diferencias entre grupos.

Tabla 3 Niveles de adipocitoquinas séricas (media \pm DE)

Variables	rs10830963									
	Dieta M (n = 177)				P tiempo genotipo genotipo \times tiempo	Dieta P (n = 184)				P tiempo genotipo genotipo \times tiempo
	CC		CG + GG			CC		CG + GG		
	Basal	3 meses	Basal	3 meses		Basal	3 meses	Basal	3 meses	
Resistina (ng/dl)	6,0 \pm 1,2	6,1 \pm 1,1	6,6 \pm 1,8	6,3 \pm 1,3	P = 0,59 P = 0,72 P = 0,23	7,2 \pm 1,0	6,8 \pm 1,2	6,6 \pm 1,9	6,9 \pm 1,8	p = 0,72 p = 0,68 p = 0,21
Adiponectina (ng/dl)	9,8 \pm 5,1	8,5 \pm 5,5	10,5 \pm 7,0	10,3 \pm 5,3	P = 0,58 P = 0,89 P = 0,34	10,3 \pm 4,1	9,8 \pm 5,0	11,7 \pm 7,0	11,5 \pm 5,1	p = 0,51 p = 0,60 p = 0,21
Leptina (ng/dl)	36,5 \pm 13,1	21,4 \pm 11,9*	45,1 \pm 10,3	26,7 \pm 12,0*	P = 0,02 P = 0,21 P = 0,03	44,5 \pm 12,1	25,9 \pm 11,5*	41,3 \pm 8,4	26,2 \pm 7,0*	p = 0,01 p = 0,19 p = 0,02

* p < 0,05. Diferencias estadísticas en cada grupo entre valores basales y 3 meses. No diferencias entre grupos.

la intervención dietética. Los niveles de las adipocinas restantes permanecieron sin cambios.

Discusión

En este ensayo de intervención dietética a corto plazo, detectamos una interacción significativa entre la variante rs10830963 del gen MTNR1B y la ingesta de grasa en la dieta sobre los cambios en el colesterol LDL y el colesterol total. Esta variante genética del gen MTNR1B también está relacionada con la pérdida de peso corporal y la respuesta de la resistencia a la insulina. Nuestros resultados muestran que el alelo G se asoció a una menor pérdida de peso y resistencia a la insulina secundaria a ambas dietas hipocalóricas, mientras que se observó una mayor disminución del colesterol total y del colesterol LDL después de una dieta hipocalórica enriquecida monounsaturada en los no portadores del alelo G.

Muchos genes en determinados tejidos presentan un claro ciclo diurno²⁶. En este contexto, el receptor MTNR1B también está implicado en los ciclos circadianos a través de la comunicación cruzada con la hormona circulante melatonina liberada por la glándula pineal y que penetra en diferentes células²⁷. Por otra parte, el SNP rs10830963 de MTNR1B se ha asociado con la obesidad y los niveles de glucosa en ayunas en diferentes estudios transversales^{28,29}. Además, existen pocos estudios que evalúen la relación entre una intervención dietética y esta variante genética localizada en MTNR1B^{14,30}.

El sistema circadiano desempeña un papel importante en la coordinación de las vías metabólicas de los lípidos a través de la activación o represión de los genes implicados en el metabolismo, ya sea indirectamente o directamente mediante el control de otros factores de transcripción³¹. En este sentido, la melatonina es uno de los cronobióticos utilizados para sincronizar los ritmos circadianos³². En el área del metabolismo lipídico, se ha observado que la administración de melatonina puede disminuir los niveles de lípidos, tanto en estudios en humanos como en animales³³. En un estudio, la administración diaria de melatonina redujo el colesterol LDL en sujetos con síndrome metabólico³² y también en pacientes diabéticos tipo 2 mal controlados con metformina³⁴. En nuestro diseño actual, encontramos una relación entre la variante rs10830963 del gen MTNR1B y la pérdida de peso corporal relacionada con la restricción energética en sujetos obesos con ambas dietas hipocalóricas, tal como se muestra en 2 estudios anteriores^{12,17}. Los portadores del alelo G mostraron menos pérdida de peso corporal y mejoría de la insulina y HOMA-IR que los no portadores del alelo G, independientemente del tipo de dieta. Sin embargo, otros estudios³⁵⁻³⁷ no encontraron asociación entre esta variante genética del gen MTNR1B y los cambios de peso corporal después de intervenciones dietéticas prolongadas.

Los mecanismos por los cuales la variante rs10830963 afecta al metabolismo de los lípidos o la resistencia a la insulina siguen siendo desconocidos. El efecto de la grasa de la dieta sobre la expresión rítmica del ARNm de los genes reloj³⁸ o el equilibrio rítmico circadiano³⁹ también ha sido demostrado en animales. Se podría especular que el efecto de la variante genética MTNR1B sobre la dinámica

de la expresión de la melatonina podría influir en el metabolismo de las lipoproteínas. Goni et al.¹⁷ han demostrado que el consumo de grasa en la dieta modificó el efecto de la variante genética MTNR1B rs10830963 sobre los cambios en el colesterol total y en el colesterol LDL, de manera similar a nuestro estudio. Un metaanálisis también ha reportado interacciones significativas entre el genotipo MTNR1B y el consumo de grasa en los niveles de colesterol⁴⁰. Existe evidencia de que una dieta elevada en grasas podría alterar los niveles de expresión de ARNm de los genes del reloj y de los genes lipogénicos controlados por el reloj circadiano. Por ejemplo, cuando los ratones eran alimentados con una dieta rica en grasas, la expresión rítmica en el tejido hepático de estos genes estaba sobreexpresada y subexpresada⁴¹.

Grotenfelt et al.³⁰ han reportado la relación de esta variante genética con el metabolismo de la glucosa. Esta investigación mostró que entre las mujeres en riesgo de diabetes mellitus gestacional, las no portadoras del alelo G parecen beneficiarse de la intervención en el estilo de vida. El alelo de riesgo G se ha relacionado también con la disminución de la secreción de insulina en respuesta a la glucosa⁴² y la disminución de la sensibilidad a la insulina⁴³. Un estudio⁴⁴ observó que el alelo G de rs10830963 que conduce a un aumento del nivel de glucosa se asoció también a una reducción de la función de las células pancreáticas (HOMA-B). Por último, Sparso et al.⁴⁵ demostraron en sujetos con el alelo G una reducción de la supresión de la producción de glucosa hepática durante un clamp hiperinsulinémico-euglicémico.

Nuestro estudio tiene limitaciones. En primer lugar, solo analizamos un SNP del gen MTNR1B, por lo que otros SNP podrían estar relacionados con nuestras observaciones. En segundo lugar, la intervención a corto plazo puede restringir la posibilidad de detectar diferencias a largo plazo. En tercer lugar, no medimos los niveles circulantes de melatonina en la población del estudio y esto puede producir una mala interpretación de nuestros resultados. Finalmente, nuestra muestra no era necesariamente representativa de la población en general y debería ser replicada para poder ser extendida a otros grupos étnicos.

En resumen, nuestro diseño mostró la asociación del polimorfismo MTNR1B rs10830963 con la pérdida de peso corporal inducida por 2 dietas hipocalóricas diferentes y proporcionó pruebas adicionales sobre la respuesta metabólica como son la resistencia a la insulina y los niveles de insulina en ayunas.

Financiación

Sin financiación.

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado y el protocolo fue aprobado por el Comité de ética local.

Autoría

D.A. de Luis escribió el artículo.
O. Izaola realizó la evaluación nutricional.
D. Primo realizó evaluación bioquímica.
R. Aller realizó análisis estadístico.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Kumar Jha P, Challet E, Kalsbeek A. Circadian rhythms in glucose and lipid metabolism in nocturnal and diurnal mammals. *Mol Cell Endocrinol.* 2015;418:74–88.
- Shi SQ, Ansari TS, McGuinness OP, Wasserman DH, Johnson CH. Circadian disruption leads to insulin resistance and obesity. *Curr Biol.* 2013;23:372–81.
- Coomans CP, van den Berg SA, Lucassen EA, Houben T, Pronk AC, van der Spek RD, et al. The suprachiasmatic nucleus controls circadian energy metabolism and hepatic insulin sensitivity. *Diabetes.* 2013;62:1102–8.
- Gomez Abellan P, Madrid JA, Ordovas JM, Garault M. Chronobiology aspects of obesity and metabolic syndrome. *Endocrinol Nutr.* 2012;59:50–61.
- Cipolla-Neto J, Amaral FG, Afeche SC, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin, energy metabolism, and obesity: A review. *J Pineal Res.* 2014;56:371–81.
- De Luis DA, Aller R, Izaola O, Díaz Soto G, López Gómez JJ, Gómez Hoyos E, et al. Effects of a high-protein/low-carbohydrate versus a standard hypocaloric diet on weight and cardiovascular risk factors during 9 months: Role of a genetic variation in the cannabinoid receptor gene (CNR1) (G1359A polymorphism). *Ann Nutr Metab.* 2015;66:125–31.
- Tuomi T, Nagorny CLF, Singh P, Bennet H, Yu Q, Alenkvist I, et al. Increased melatonin signaling is a risk factor for type 2 diabetes. *Cell Metab.* 2016;23:1067–77.
- Moreno-Aliaga MJ, Santos JL, Marti A, Martinez JA. Does weight loss prognosis depend on genetic make-up? *Obes Rev.* 2005;6:155–68.
- Prokopenko I, Langenberg C, Florez JC, Saxena R, Soranzo N. Variants in *MTNR1B* influence fasting glucose levels. *Nat Genet.* 2009;41:77–81.
- DeMenna J, Puppala S, Chittoor G, Schneider J, Kim JY, Shaibi GQ, et al. Association of common genetic variants with diabetes and metabolic syndrome related traits in the Arizona insulin resistance registry: A focus on Mexican American families in the southwest. *Hum Hered.* 2014;78:47–58.
- Dashti HS, Follis JL, Smith CE, Tanaka T, Garaulet M, Gottlieb DJ, et al. Gene-environment interactions of circadian-related genes for cardiometabolic traits. *Diabetes Care.* 2015;38:1456–66.
- Andersson EA, Holst B, Sparso T, Grarup N, Banasik K, Holmkvist J, et al. *MTNR1B* G24E variant associates with BMI and fasting plasma glucose in the general population in studies of 22,142 Europeans. *Diabetes.* 2010;59:1539–48.
- Dashti HS, Follis JL, Smith CE, Tanaka T, Garaulet M, Gottlieb DJ, et al. Gene-environment interactions of circadian-related genes for cardiometabolic traits. *Diabetes Care.* 2015;38:1456–66.
- Goni L, Cuervo M, Milagro FI, Martínez JA. Gene-gene interplay and gene-diet interactions involving the *MTNR1B* rs10830963 variant with body weight loss. *J Nutrigenet Nutrigenomics.* 2014;7:232–42.
- De Luis DA, Pacheco D, Izaola O, Terroba MC, Cuellar L, Martín T. Clinical results and nutritional consequences of biliopancreatic diversion: three years of follow-up. *Ann Nutr Metab.* 2008;53:234–9.
- Goni L, Sun D, Heianza Y, Wang T, Huang T, Cuervo M, et al. Macronutrient-specific effect of the *MTNR1B* genotype on lipid levels in response to 2 year weight-loss diets. *J Lipid Res.* 2018;59:155–61.
- de Luis DA, Izaola O, Primo D, Aller R. Association of the rs10830963 polymorphism in melatonin receptor type 1B (*MTNR1B*) with metabolic response after weight loss secondary to a hypocaloric diet based in Mediterranean style. *Clin Nutr.* 2018;37:1563–8.
- Mataix J, Mañas M. Tablas de composición de alimentos españoles. Granada: Universidad de Granada; 2003.
- Lukaski H, Johnson PE. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr.* 1985;41:810–7.
- Duart MJ, Arroyo CO, Moreno JL. Validation of an insulin model for the reactions in RIA. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40:1161–7.
- Mathews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28:412–4.
- Friedewald WT, Levy RJ, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18:499–502.
- Suominen P. Evaluation of an enzyme immunometric assay to measure serum adiponectin concentrations. *Clin Chem.* 2004;50:219–21.
- Pfutzner A, Langefeld M, Kunt T, Lobig M. Evaluation of human resistin assays with serum from patients with type 2 diabetes and different degrees of insulin resistance. *Clin Lab.* 2003;49:571–6.
- Meier U, Gressner M. Endocrine regulation of energy metabolism: Review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin Ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem.* 2004;50:1511–25.
- Mirsky HP, Liu A, Welsh D, Kay S, Doyle F 3rd. A model of the cell autonomous mammalian circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:11107–12.
- Nagorny C, Lyssenko V. Tired of diabetes genetics? Circadian rhythms and diabetes: The *MTNR1B* Story? *Curr Diab Rep.* 2012;12:667–72.
- Kelliny C, Ekelund U, Andersen LB, Brage S, Loos RJ, Wareham NJ, et al. Common genetic determinants of glucose homeostasis in healthy children: The European Youth Heart Study. *Diabetes.* 2009;58:2939–45.
- Andersson EA, Holst B, Sparso T, Grarup N, Banasik K, Holmkvist J, et al. *MTNR1B* G24E variant associates with BMI and fasting plasma glucose in the general population in studies of 22,142 Europeans. *Diabetes.* 2010;59:1539–48.
- Grotenfelt NE, Wasenius NS, Rönö K, Laiuori H, Stach-Lempinen B, Orho-Melander M, et al. Interaction between rs10830963 polymorphism in *MTNR1B* and lifestyle intervention on occurrence of gestational diabetes. *Diabetologia.* 2016;59:1655–8.
- Gooley JJ, Chua EC. Diurnal regulation of lipid metabolism and applications of circadian lipidomics. *J Genet Genomics.* 2014;41:231–50.
- Koziróg M, Poliwczak AR, Duchnowicz P, Koter-Michalak M, Sikora J, Broncel M. Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *J Pineal Res.* 2011;50:261–6.
- Sun H, Huang F, Qu S. Melatonin: A potential intervention for hepatic steatosis. *Lipids Health Dis.* 2015;14:75–80.
- Kadhim HM, Ismail SH, Hussein KI, Bakir IH, Sahib AS, Khalaf BH, et al. Effects of melatonin and cinn on lipid profile and renal function in type 2 diabetic patients poorly controlled with metformin. *J Pineal Res.* 2006;41:189–93.
- Mirzaei K, Xu M, Qi Q, de Jonge L, Bray GA, Sacks F, et al. Variants in glucose- and circadian rhythm-related genes affect the response of energy expenditure to weight-loss diets: The POUNDS LOST Trial. *Am J Clin Nutr.* 2014;99:392–9.
- Peter I, McCaffery JM, Kelley-Hedgepeth A, Hakonarson H, Reis S, Wagenknecht LE, et al., Genetics Subgroup of the Look AHEAD Study. Association of type 2 diabetes susceptibility loci with

- one-year weight loss in the look AHEAD clinical trial. *Obes.* 2012;20:1675–82.
37. Holzapfel C, Siegrist M, Rank M, Langhof H, Grallert H, Baumert J, et al. Association of a MTNR1B gene variant with fasting glucose and HOMA-B in children and adolescents with high BMI-SDS. *Eur J Endocrinol.* 2011;164:205–12.
 38. Yanagihara H, Ando H, Hayashi Y, Obi Y, Fujimura A. High-fat feeding exerts minimal effects on rhythmic mRNA expression of clock genes in mouse peripheral tissues. *Chronobiol Int.* 2006;23:905–14.
 39. Cano P, Jimenez-Ortega V, Larrad A, Reyes Toso CF, Cardinali DP, Esquifino AI. Effect of a high-fat diet on 24-h pattern of circulating levels of prolactin, luteinizing hormone, testosterone, corticosterone, thyroid-stimulating hormone and glucose, and pineal melatonin content in rats. *Endocrine.* 2008;33:118–25.
 40. Dashti HS, Follis JL, Smith CE, Tanaka T, Garaulet M, Gottlieb DJ, et al. Gene-environment interactions of circadian-related genes for cardiometabolic traits. *Diabetes Care.* 2015;38:1456–66.
 41. Sun L, Wang Y, Song Y, Cheng XR, Xia S, Rahman MRT, et al. Resveratrol restores the circadian rhythmic disorder of lipid metabolism induced by high-fat diet in mice *Biochem. Biophys Res Commun.* 2015;458:86–91.
 42. Lyssenko V, Nagorny CL, Erdos MR, Wierup N, Jonsson A, Spégel P, et al. Common variant in MTNR1B associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired early insulin secretion. *Nat Genet.* 2009;41:82–8.
 43. Jonsson A, Ladenvall C, Ahluwalia TS. Effects of common genetic variants associated with type 2 diabetes and glycemic traits on alpha- and beta-cell function and insulin action in humans. *Diabetes.* 2013;62:2978–83.
 44. Song JY, Wang HJ, Ma J, Xu ZY, Hinney A, Hebebrand J, et al. Association of the rs10830963 polymorphism in MTNR1B with fasting glucose levels in Chinese children and adolescents. *Obes Facts.* 2011;4:197–203.
 45. Sparso T, Bonnefond A, Andersson E, Bouatia-Naji N, Holmkvist J, Wegner L, et al. G-allele of intronic rs10830963 in MTNR1B confers increased risk of impaired fasting glycemia and type 2 diabetes through an impaired glucose-stimulated insulin release: Studies involving 19,605 Europeans. *Diabetes.* 2009;58:1450–6.