



Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas
Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas
Universidad de la República, Diciembre de 2024



ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE EL SISTEMA CIRCADIANO Y LA DEPRESIÓN

Doctoranda: Mag. Valentina Paz

Directoras:

Dra. Ana Silva (Directora)

Dra. Bettina Tassino (Codirectora)

Dra. Victoria Garfield (Codirectora)

Comisión de Asesoramiento y Seguimiento:

Dr. Pablo Torterolo

Dr. Bernardo Bertoni

Dra. Victoria Gradin

Tribunal:

Dr. Pablo Torterolo (Presidente)

Dr. Francisco Romo-Nava (Vocal)

Dra. Victoria Gradin (Vocal)



Agradecimientos

A Ana Silva y Bettina Tassino, por aceptarme en su maravilloso grupo de investigación, por las enseñanzas, los consejos, las risas y por ser un modelo a seguir como científicas.

A Victoria Garfield, por siempre estar presente para transmitirme sus conocimientos, recibirme en los viajes y abrirme las puertas a conocer un mundo académico asombroso.

A PEDECIBA, por la excelente formación.

A los integrantes del tribunal, por dedicar su tiempo a la lectura de esta tesis.

A la Comisión de Asesoramiento y Seguimiento, por sus sugerencias y acompañamiento durante estos años.

Al Grupo Cronobiología, por los aprendizajes y la compañía.

Al Laboratorio de Neurociencias y la Sección Etología, por darme un espacio para desarrollar mi tesis.

Al MRC Unit for Lifelong Health and Ageing, University College London, por permitirme formar parte y por las discusiones académicas.

Al Department of Pharmacology and Therapeutics, University of Liverpool, por integrarme a su increíble y diverso grupo.

A la Facultad de Psicología, por ser mi casa de estudios, mi lugar de trabajo y mi lugar de pertenencia.

Al Instituto de Psicología Clínica y el Programa de Psicopatología, por facilitar mi desarrollo académico y las charlas de pasillo siempre necesarias.

A la Dirección de Licenciatura y la Comisión de Carrera, por sumarme a aportar en la mejora de la formación en psicología.

A la Policlínica Psicológica del Hospital de Clínicas, por abrirme las puertas para desarrollar mi faceta clínica.

A la Revista Psicología, Conocimiento y Sociedad, por confiar en mi trabajo.

A mis estudiantes de la Facultad de Psicología, por motivarme a seguir perfeccionándome.

A mis estudiantes de TFG, por elegirme para acompañarlos en el cierre de sus procesos formativos.

A ITRAPSI, por ser un grupo maravilloso que tengo el privilegio de cosupervisar.

A los participantes de los estudios y la coordinación de END-SODRE, porque sin ustedes esta tesis no sería posible.

A UKB, sus participantes e investigadores.

A la CAP, ANII, CSIC, PEDECIBA y otros apoyos, por el apoyo económico.

Al CIBPsi, por ser mi primer impulso para seguir este camino y por permitirme utilizar el laboratorio para la recolección de datos.

A la SUAMOC, por los aprendizajes clínicos.

Al Center for Genomic Medicine, Harvard Medical School, por recibirme con las puertas abiertas y permitirme cumplir un sueño.

A Hassan Dashti, por los aprendizajes, la amabilidad y las oportunidades.

A Natalia Coirolo, Stephen Burgess, Marcus Richards, Dylan Williams y otros coautores, por los aportes académicos.

A Antoine Salzmänn y Albert Henry, por el apoyo en los análisis de MR.

A Alfonso Pérez, por la creación de la página web para la convocatoria de participantes.

A Laura Nozar, por el diseño de los afiches para la convocatoria de participantes.

A María Victoria Pena y equipo, por el increíble audiovisual.

A Cecilia Casaravilla, por los análisis de las muestras hormonales.

A Amparo Martínez, por elegirme como tutora y la colaboración en el primer estudio de esta tesis.

A Agustín Laguardia, Betania Martínez, Luna Perla y Micaela De Mori, por los aportes en el segundo estudio de esta tesis.

A Victoria Gradin, por iniciarme en este mundo hermoso de la investigación.

A Álvaro Cabana, por pensar en mi crecimiento académico y por el apoyo en los análisis estadísticos.

A Graciela Plachot, por la confianza y la escucha.

A Silvana Contino y Pablo Casal, por el apoyo constante.

A Alejandra Alcuri, por cuidar mi salud mental durante este proceso.

A Diego Fábregas, por ayudarme a perfeccionar mi inglés y por el espacio de desahogo.

A Gabriela Fernández, por ser mi compañera de ruta en este camino y siempre estar dispuesta a ayudar.

A Lucía Fernández, por las risas, las salidas y el apoyo.

A Eliana Nicolaisen, por estar siempre presente, incluso a la distancia.

A Martina Genta, porque siempre estuvo y creyó en mí, incluso en los momentos más difíciles.

A Antonella Arrieta, Dimara Curbelo, Julieta Castillo y Mariana Marchesano, porque sin ustedes este recorrido nunca hubiera sido el mismo.

A Anaclara Gerosa, Dahiana Fitipalde, Diego Cuevasanta, Dinorah de León, Gabriela García y Germán Cipriani, por ser psicólogos maravillosos con quienes tuve el placer de coincidir en este camino.

A Claudio Rey, Ernestina Collado, Manuel Rivero, Marcelo Otón, Mauricio Díaz, Patricia Berriolo y Stefany Horta, por los inicios.

A Agustina Ferreira, Daniel Pena, Ignacio Gonella, Mayra Garrido, Rafael Boullosa y todos mis amigos, por siempre estar.

A Camila Coates, Carolina Gilardi, Giorgina Tucci y Giselle Cardoso, por crecer juntas.

A Mary De los santos, por pensar en mi bienestar.

A Silvia Graiño, Esther Graiño, Mercedes Graiño, Yolanda Gadea, Julio Esteche y Diego Esteche, por integrarme a su maravillosa familia.

A mis padres, por siempre creer en mí y demostrarme lo orgullosos que están de mis logros.

A mis hermanos, sobrinos y cuñados, por acompañarme y recordarme quién soy.

A Nicolás Esteche, por elegirme para compartir la vida, por todo lo que hemos logrado juntos y por impulsarme a alcanzar nuevas metas.

Resumen

Introducción

El sistema circadiano controla los ritmos endógenos de diversas funciones corporales. La alteración de este sistema se ha asociado con múltiples trastornos mentales, entre ellos la depresión. Sin embargo, no se ha establecido con precisión cuáles son las alteraciones circadianas más fuertemente asociadas con la depresión, cómo interactúan y si el vínculo con este trastorno es de naturaleza causal. Con el objetivo de lograr una comprensión más profunda del vínculo entre el sistema circadiano y la depresión, esta tesis se propuso los siguientes objetivos generales: i) investigar la asociación entre los ritmos circadianos y los síntomas depresivos en jóvenes uruguayos; ii) explorar la existencia de una asociación causal bidireccional entre los ritmos circadianos y la depresión en adultos del Reino Unido.

Métodos

Para responder al primer objetivo se estudió a los jóvenes uruguayos como un modelo de estudio particular por su extrema vespertinidad, utilizando entrevistas psicológicas, métodos subjetivos (instrumentos de autorreporte) y métodos objetivos (actimetría, muestras hormonales y de temperatura corporal). Para responder al segundo objetivo, se revisaron los criterios utilizados en estudios de aleatorización mendeliana para seleccionar instrumentos genéticos de rasgos de sueño y se estudió a 408.480 adultos del UK Biobank utilizando aleatorización mendeliana.

Resultados

Respecto al primer objetivo, se evidenció una asociación entre los ritmos circadianos y los síntomas depresivos en los jóvenes uruguayos, destacando la tendencia hacia la vespertinidad, la calidad y duración de sueño deficientes, y la presencia de síntomas de

insomnio. Respecto al segundo objetivo, se evidenció una asociación causal bidireccional entre la depresión y los síntomas de insomnio en la cohorte del UK Biobank, así como evidencia sugerente de una asociación causal entre la matutinidad y menores probabilidades de depresión, y de un efecto de la depresión sobre una menor duración de sueño.

Conclusiones

Este trabajo constituye una contribución sustancial a la comprensión del vínculo entre el sistema circadiano y la depresión, abordando esta relación de manera integral mediante la aplicación de enfoques metodológicos diversos y el estudio de poblaciones particulares. Asimismo, esta tesis permite un mayor conocimiento de los procesos patogénicos que caracterizan a la depresión, identificando posibles marcadores de este trastorno que podrían facilitar el desarrollo de estrategias más eficaces para su prevención, diagnóstico y tratamiento.

Abstract

Introduction

The circadian system regulates the endogenous rhythms of various bodily functions. Disruption of this system has been associated with multiple mental health disorders, including depression. However, it remains unclear which circadian alterations are most strongly associated with depression, how they interact, and whether they are causally related. With the aim of achieving a more in-depth understanding of the relationship between the circadian system and depression, this thesis had the following overarching aims: (i) to investigate the association between circadian rhythms and depressive symptoms in Uruguayan youth and (ii) to explore the bidirectional causal association between circadian rhythms and depression in adults from the United Kingdom.

Methods

To address the first aim, this study focused on Uruguayan youth as a special model due to their extreme eveningness. The approach included psychological interviews, subjective methods (self-report instruments), and objective methods (actigraphy, hormonal samples, and body temperature measurements). To address the second aim, the criteria used in Mendelian randomisation studies for selecting genetic instruments of sleep traits were reviewed, and 408,480 adults from the UK Biobank were analysed using Mendelian randomisation.

Results

First, an association between circadian rhythms and depressive symptoms was observed in Uruguayan youth, highlighting their eveningness, poor sleep quality and duration, and

the presence of insomnia symptoms. Second, a bidirectional causal association between depression and insomnia symptoms was found in the UK Biobank cohort. Additionally, suggestive evidence indicated a causal association between morningness and lower odds of depression, as well as between depression and shorter sleep duration.

Conclusions

This thesis represents an important contribution to understanding the relationship between the circadian system and depression, addressing this link comprehensively by applying diverse methodological approaches and studying specific populations. Furthermore, this research enhances our knowledge of the pathogenic processes underlying depression, identifying potential markers of this disorder that could aid in developing more effective strategies for its prevention, diagnosis, and treatment.

Publicaciones

Publicaciones basadas en el trabajo de esta tesis

1. Paz, V., Coirolo, N., Tassino, B. & Silva, A. (2023). Associations between circadian, sleep, and mood disturbances in Uruguayan dance students. *Sleep Science Practice*, 7 (11).
<https://doi.org/10.1186/s41606-023-00093-1>
2. Paz, V., Dashti, H. S., Burgess, S., & Garfield, V. (2023). Selection of genetic instruments in Mendelian randomisation studies of sleep traits. *Sleep Medicine*, 112 (2). 342-351.
<https://doi.org/10.1016/j.sleep.2023.10.036>
3. Paz, V., Williams, D. M., Richards, M., Tassino, B., Silva, A., & Garfield, V. (2024). Association between circadian rhythms, sleep, and depression: a bidirectional Mendelian randomisation study in the UK Biobank. *medRxiv*
<https://doi.org/10.1101/2024.12.08.24318680>; en revisión en *European Psychiatry*.

Publicaciones derivadas del trabajo colaborativo relacionado con esta tesis

1. Paz, V., Dashti, H. S., & Garfield, V. (2023). Is there an association between daytime napping, cognitive function, and brain volume? A Mendelian randomization study in the UK Biobank. *Sleep health*, 9 (5), 786-793. <https://doi.org/10.1016/j.sleh.2023.05.002>

2. Wilcox, H., Paz, V., Saxena, R., Winkelman, J. W., Garfield, V., & Dashti, H. S. (2024). The Role of Circadian Rhythms and Sleep in Anorexia Nervosa. *JAMA Network Open*, 7(1).
<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.50358>
3. Paz, V., Wilcox, H., Goodman, M., Wang, H., Garfield, V., Saxena, R., & Dashti, H. S. (2025). Associations of a multidimensional polygenic sleep health score and a sleep lifestyle index on health outcomes and their interaction in a clinical biobank. *medRxiv*.
<https://doi.org/10.1101/2024.02.06.24302416>; aceptado en *Sleep Health*.
4. Goodman, M. O., Faquih, T., Paz, V., Nagarajan, P., Lane, J. M., Spitzer, B., ... & Wang, H. (2025). Genome-wide association analysis of composite sleep health scores in 413,904 individuals. *Communications Biology*, 8(1), 115.

Abreviaturas

ADN: ácido desoxirribonucleico

AUCg: área bajo la curva con respecto al nivel basal

AvSD: duración de sueño promedio semanal

BDI: inventario de depresión de Beck

CAR: respuesta de cortisol al despertar

DASS: escala de depresión (D), ansiedad (A) y estrés (S)

DLMO: inicio de la secreción de melatonina en condiciones de luz tenue

END-SODRE: Escuelas de Formación Artística, Ministerio de Educación y Cultura, Uruguay

GWAS: estudios de asociación del genoma completo

IC: intervalos de confianza

ISI: índice de gravedad del insomnio

IV: variabilidad intraciclo

IVW: regresión ponderada por la varianza inversa

L5: media de actividad en las 5 horas menos activas

L5c: punto medio de las 5 horas menos activas

LD: desequilibrio de ligamiento

M10: media de actividad en las 10 horas más activas

M10c: punto medio de las 10 horas más activas

MAF: frecuencia del alelo menor

MCTQ: cuestionario de cronotipo de Munich

MEQ: cuestionario de matutinidad-vespertinidad

MINI: entrevista neuropsiquiátrica internacional

MR: aleatorización mendeliana

MSFsc: punto medio del sueño en días libres corregido por la deuda de sueño acumulada en días laborales

NREM: sueño no-REM o sueño de ondas lentas

OR: odd ratio

PSQI: índice de calidad del sueño de Pittsburgh

RA: amplitud relativa

REM: sueño de movimientos oculares rápidos o sueño paradójico

RCT: ensayo controlado aleatorizado

SHAPS: escala de placer Snaith Hamilton para anhedonia

SJL: jetlag social

SNP: polimorfismo de nucleótido único

STAI: cuestionario de ansiedad estado (S) - rasgo (T)

UKB: UK Biobank

WME: estimador de mediana ponderada

Índice

Marco contextual	16
Antecedentes	19
1. Ritmos circadianos	19
1.1. Ciclo sueño-vigilia	21
1.2. Ritmos hormonales: melatonina y cortisol	25
1.3. Temperatura corporal	26
1.4. Alteraciones de los ritmos circadianos	27
2. Depresión	29
2.1. Epidemiología	30
2.3. Tratamientos	33
3. Relación entre los ritmos circadianos y la depresión	35
3.1. Abordajes metodológicos	38
3.1.1. Evaluación a través de instrumentos subjetivos	39
3.1.2. Evaluación a través de instrumentos objetivos	41
3.1.3. Evaluación a través de datos genéticos: aleatorización mendeliana	42
4. Puntos de partida y limitaciones de la evidencia actual	46
Hipótesis, objetivos y estrategia de investigación	49
Capítulo I: Asociación entre los ritmos circadianos y los síntomas depresivos	51
Sección I: Caracterización de los ritmos circadianos de jóvenes con sintomatología depresiva	52
Objetivo	52
Métodos	52
Resultados	64
Discusión	85
Conclusiones	91
Sección II: Ritmos circadianos y síntomas depresivos en estudiantes de danza que entrenan en turnos	93
Objetivo	93
Métodos	93
Resultados	96
Discusión	101
Conclusiones	104
Capítulo II: Asociación causal entre los ritmos circadianos y la depresión	106
Sección I: Selección de instrumentos genéticos en estudios de aleatorización mendeliana de rasgos de sueño	107
Objetivo	107
Introducción	107
Criterios utilizados para seleccionar los instrumentos genéticos	110
Conclusiones	127
Sección II: Asociación entre los ritmos circadianos y la depresión: un estudio de	

aleatorización mendeliana bidireccional en el UK Biobank	128
Objetivo	128
Métodos	128
Resultados	140
Discusión	148
Conclusiones	154
Discusión general	155
Perspectivas generales	162
Conclusiones generales	166
Referencias	167
Anexos	190

Listado de figuras

Figura 1. Ritmos de melatonina, cortisol y temperatura corporal	38
Figura 2. Diagrama de la aleatorización mendeliana	45
Figura 3. Etapas del estudio	55
Figura 4. Patrones de sueño	68
Figura 5. Caracterización circadiana	71
Figura 6. Actogramas	73
Figura 7. Ritmo actividad-reposo	74
Figura 8. Robustez y fragmentación del ritmo	75
Figura 9. Fase circadiana evaluada a partir del registro actimétrico	77
Figura 10. Fase circadiana evaluada a partir del DLMO	79
Figura 11. Temperatura periférica	81
Figura 12. Respuesta de cortisol al despertar (CAR)	84
Figura 13. Síntomas depresivos y calidad del sueño entre turnos	97
Figura 14. Heatmap de los componentes del PSQI	98
Figura 15. Predicción del modelo lineal para los síntomas depresivos	100
Figura 16. Diagrama de flujo con los aspectos principales a considerar	109
Figura 17. Asociaciones entre matutinidad y depresión	142
Figura 18. Asociaciones entre duración de sueño y depresión	143
Figura 19. Asociaciones entre insomnio y depresión	145
Figura 20. Asociaciones entre matutinidad, duración de sueño, insomnio y ansiedad	147

Listado de tablas

Tabla 1. Caracterización sociodemográfica	58
Tabla 2. Caracterización psicológica	65
Tabla 3. Correlación entre el BDI y el resto de las escalas psicológicas	66
Tabla 4. Patrones de sueño	67
Tabla 5. Caracterización circadiana	70
Tabla 6. Ritmo actividad-reposo	78
Tabla 7. Temperatura periférica	80
Tabla 8. Respuesta de cortisol al despertar (CAR)	82
Tabla 9. Características demográficas, cronobiológicas y de sueño entre los turnos	94
Tabla 10. Tabla de ANOVA para los modelos de regresión	99
Tabla 11. GWAS de fenotipos asociados al sueño desde el año 2016	113
Tabla 12. Métricas de fuerza total y promedio de Liu. et al. (2022)	124
Tabla 13. Resumen de los instrumentos genéticos	134
Tabla 14. Características de la muestra	140

Marco contextual

“Porque el tiempo, sin duda, está en todos lados. Hasta dentro nuestro”

Diego Golombek (2007).

Desde hace varias décadas, la cronobiología investiga cómo los ritmos circadianos impactan en la salud mental, destacando su papel en el desarrollo y mantenimiento de trastornos como la depresión mayor (en adelante, “depresión”). La depresión es un trastorno altamente prevalente y la principal causa de discapacidad a nivel mundial. Sin embargo, aún quedan muchas preguntas sin responder sobre el rol del sistema circadiano en la etiología de este trastorno. Por ejemplo, aún se investigan cuáles son las alteraciones circadianas más estrechamente relacionadas con la depresión, así como la manera en que interactúan entre sí. A su vez, todavía se desconoce si la depresión causa alteraciones en los ritmos circadianos y/o si las alteraciones del sistema circadiano llevan al desarrollo del trastorno. Con el objetivo de abordar estas cuestiones, la presente tesis tiene como objetivos generales: I) investigar la asociación entre los ritmos circadianos y los síntomas depresivos en jóvenes uruguayos; II) explorar la existencia de una asociación causal bidireccional entre los ritmos circadianos y la depresión en adultos del Reino Unido.

La presente tesis comienza con la presentación de los antecedentes generales de la temática. Se definen los ritmos circadianos y la depresión, y se presenta evidencia de su relación, destacando los diversos abordajes metodológicos utilizados para comprender este vínculo. A continuación, se describen los puntos de partida de la tesis y las limitaciones de la evidencia actual. Luego, se exponen las hipótesis, los objetivos y la estrategia de investigación. Posteriormente, se desarrollan los dos capítulos de resultados de esta tesis:

I) Asociación entre los ritmos circadianos y los síntomas depresivos; II) Asociación causal entre los ritmos circadianos y la depresión. La tesis finaliza con una discusión general seguida de las perspectivas y conclusiones generales. Finalmente, se presentan las referencias, así como otras actividades asociadas al trabajo de tesis y los artículos publicados que la conforman.

Esta tesis se enmarca en el grupo de investigación “Cronobiología” liderado por las Dras. Ana Silva y Bettina Tassino. Este grupo está formado por 20 investigadores y estudiantes de grado y posgrado de diversas instituciones que analizan diferentes aspectos de los ritmos biológicos. Sus objetivos son contribuir a la investigación cronobiológica a nivel global y enfatizar la importancia de incorporar aspectos cronobiológicos en la formulación de políticas públicas nacionales. A su vez, esta tesis se enmarca en el trabajo realizado bajo la supervisión de la Dra. Victoria Garfield de la Universidad de Liverpool (Reino Unido) quien cuenta con amplia trayectoria en la investigación del rol del sueño en la salud a partir de herramientas de epidemiología genética y bases epidemiológicas a gran escala.

Los resultados de esta tesis fueron difundidos en diversos eventos académicos y no académicos, así como en distintos medios de comunicación. La difusión de este trabajo incluyó eventos en Uruguay, Reino Unido, Estados Unidos, Brasil y Puerto Rico. La realización de este trabajo también contribuyó en la formación de recursos humanos, ya que a partir de este se dictaron diversos cursos sobre la temática, se coordinó la realización de seminarios de investigación mensuales, y se supervisaron proyectos de investigación y trabajos finales de grado. Además, los estudios presentados en el capítulo I (sección II) y el capítulo II (sección I) fueron publicados en revistas científicas arbitradas (Sleep Science and Practice y Sleep Medicine, respectivamente), mientras que

el estudio del capítulo II (sección II) se encuentra en revisión en una revista científica arbitrada (Molecular Psychiatry). Estos estudios se realizaron en colaboración con investigadores de la Universidad de la República (Uruguay), Universidad de Liverpool, University College London, Universidad de Cambridge (Reino Unido) y Universidad de Harvard (Estados Unidos).

La realización de esta tesis fue posible gracias al apoyo de la Universidad de la República a través de una beca de la Comisión Académica de Posgrados y el financiamiento de la Comisión Sectorial de Investigación Científica, así como al apoyo económico de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación y del Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas. A su vez, esta tesis se realizó en el marco de mi desempeño como Asistente en Régimen de Dedicación Total del Instituto de Psicología Clínica de la Facultad de Psicología de la Universidad de la República.

Antecedentes

1. Ritmos circadianos

La mayoría de los organismos vivos cuentan con osciladores que regulan diversos procesos biológicos, que abarcan desde actividades celulares hasta conductuales. Algunos de estos osciladores siguen patrones regulares, lo que se conoce como ritmos biológicos. Cuando estos ritmos tienen un período menor a 24 horas se denominan ultradianos, si el período es mayor se denominan infradianos y cuando es cercano a este período se les denomina circadianos [1]. Los ritmos circadianos se consideran una adaptación a la alternancia entre el día y la noche, resultado de la rotación de la tierra sobre su eje. Estos ritmos son endógenos, lo que significa que persisten incluso en ausencia de señales ambientales. Aunque son robustos frente a cambios en el entorno, también dependen de claves ambientales para sincronizarse y anticiparse a sus cambios. Los ritmos circadianos están presentes en la mayoría de los seres vivos, lo que resalta su valor adaptativo [2].

En los seres humanos, el sistema circadiano que regula los ritmos circadianos, se compone de un oscilador central, ubicado en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo, y de osciladores periféricos que se encuentran en diversos tejidos [3]. El funcionamiento de este sistema se basa en un bucle de retroalimentación negativa entre los genes reloj y las proteínas que producen, lo cual les permite regular su propia transcripción. En particular, en el núcleo celular, los factores de transcripción CLOCK y BMAL1 promueven la transcripción diaria de los genes reloj (Per1-3 y Cry1/2). Las proteínas resultantes (PER y CRY) se ensamblan en complejos que afectan la actividad de estos factores de transcripción mediante un mecanismo de retroalimentación negativa durante la noche, lo que bloquea su

propia transcripción. Este ciclo molecular central se estabiliza a través de varios bucles adicionales, lo que permite una oscilación autosostenida [4].

El reloj central regula los ritmos circadianos mediante la coordinación directa (a través de señales nerviosas) o indirecta (regulando el comportamiento o la temperatura corporal) de los osciladores periféricos [5]. Aunque el reloj maestro coordina la dinámica temporal de estos osciladores, no todos los ritmos presentarán la misma fase. Por ejemplo, las variables catabólicas, como el desempeño psicomotor y las funciones cardiorrespiratorias, alcanzan sus valores máximos durante el día, mientras que las variables anabólicas, relacionadas con la reparación y el crecimiento, son más activas durante la noche. Este mecanismo de coordinación temporal permite al organismo estar mejor preparado para llevar a cabo diferentes funciones y comportamientos en distintos momentos del día [6].

La luz es la principal señal temporizadora o "zeitgeber" (dador de tiempo) del sistema circadiano [2]. Esta señal se origina en las células ganglionares de la retina, que son fotosensibles debido a la presencia del fotopigmento melanopsina. Las proyecciones llegan a los núcleos supraquiasmáticos a través de la vía retino-hipotalámica, permitiendo que estos ajusten su período y fase al ciclo de luz-oscuridad, y que transmitan esta información al resto del organismo [7, 8]. El impacto de la luz sobre el sistema circadiano varía en función de su intensidad, longitud de onda, duración y momento de la exposición [9]. Otros factores ambientales también pueden actuar como temporizadores, como las demandas sociales, la alimentación o el ejercicio físico [10]. Por ejemplo, se ha demostrado que realizar ejercicio en momentos apropiados puede favorecer la salud circadiana y, en última instancia, la salud general [11].

1.1. Ciclo sueño-vigilia

El ciclo sueño-vigilia es uno de los ritmos circadianos más conspicuos. El sueño se define como un estado comportamental caracterizado por una disminución de la actividad muscular, un aumento del umbral de reacción a estímulos externos y la adopción de una postura que favorece la conservación de calor, reduciendo la interacción con el entorno [12]. En los seres humanos, este ciclo está regulado por la interacción de dos procesos: el proceso homeostático (proceso S) y el proceso circadiano (proceso C). El proceso homeostático controla la presión de sueño a lo largo del día, aumentando durante la vigilia y disminuyendo una vez que se concilia el sueño [13]. La presión del sueño aumenta principalmente debido a la acumulación de adenosina durante la vigilia, la cual se une a receptores en las células del cerebro basal anterior, donde se localizan estructuras clave en la regulación del sueño [14].

Por su parte, el proceso circadiano regula la temporalidad del sueño, así como otros ritmos fisiológicos clave en el ciclo sueño-vigilia, como la secreción hormonal y la temperatura corporal [13]. La máxima propensión circadiana al sueño se produce normalmente entre las 03:00 y las 05:00, cerca del momento del nadir de la temperatura corporal. El proceso C dependería del sistema circadiano. Este proceso también dependería de los sistemas activadores y somnogénicos así como el proceso S [6, 15]. Aunque los procesos del sueño y los circadianos están interrelacionados, también son, en cierta medida, independientes [13]. No obstante, separarlos no es sencillo, ya que los desórdenes circadianos suelen ir acompañados de alteraciones en el sueño [16]. En esta tesis, se emplearán instrumentos que permiten evaluar los patrones de sueño, incluyendo su duración y calidad, así como

otros ritmos de forma independiente, pero en el entendido de que están intrínsecamente conectados y que la evaluación del sueño implica necesariamente considerar que es un ritmo circadiano. Por lo tanto, a lo largo de esta tesis, cuando se hace referencia a los “ritmos circadianos” se entiende que el ciclo sueño-vigilia es uno de estos ritmos.

Aunque en este trabajo no se evaluará la arquitectura del sueño, es importante mencionar que en los mamíferos el sueño se caracteriza por patrones específicos de actividad muscular, movimientos oculares y actividad electroencefalográfica. Estos patrones permiten identificar sus dos estados comportamentales: el sueño de movimientos oculares rápidos (REM, por las siglas en inglés de Rapid Eye Movements), también llamado sueño paradójico, y el sueño No-REM (NREM, por las siglas en inglés de Non-Rapid Eye Movements) o sueño de ondas lentas [17]. En los adultos, el ciclo del sueño comienza con el sueño NREM compuesto por tres fases. La fase N1, caracterizada por ondas de baja amplitud en el rango theta (4-7 Hz) evaluadas mediante electroencefalografía y una duración breve, que marca la transición entre la vigilia y el sueño. Luego, sigue la fase N2 en la cual aparecen los husos del sueño y los complejos K (patrones de actividad neural de corta duración que pueden observarse mediante electroencefalografía). La fase N3 es la etapa en la que se experimenta el sueño más profundo, caracterizada por ondas delta (1-3 Hz). Finalmente, en la fase REM se observa una actividad cerebral similar a la vigilia, movimientos oculares rápidos y una disminución del tono muscular [18, 19].

El sueño es un comportamiento que ha perdurado a lo largo de la evolución, y los seres humanos dedican aproximadamente un tercio de su vida a dormir, lo que demuestra su importancia. Aunque se han sugerido múltiples funciones para los procesos que tienen lugar durante el sueño, todavía no se ha alcanzado un consenso. Entre las funciones

propuestas se encuentra la llamada “inmovilidad adaptativa” que refiere a la inhibición en la búsqueda de alimentos y recursos durante las fases del ciclo luz-oscuridad menos favorables, optimizando el uso de energía y mejorando la eficiencia de otras funciones que ocurren durante el sueño. Entre estas funciones se incluyen la recuperación de reservas energéticas, la eliminación de productos tóxicos acumulados durante la vigilia y el adecuado mantenimiento de las sinapsis [20–22].

El sueño se puede describir en función de varias dimensiones. Algunas de las dimensiones más relevantes del sueño incluyen su duración, calidad y ubicación temporal [23]. Los estudios han demostrado que estas dimensiones específicas del sueño son moderadamente heredables, con investigaciones en gemelos que estiman que entre el 30 y el 50% de su variabilidad está determinada genéticamente, mientras que los estudios de asociación del genoma completo (GWAS, por las siglas en inglés de Genome-wide association studies), que emplean métodos contemporáneos de genética molecular, estiman que la heredabilidad varía entre el 8 y el 22% [24]. La duración de sueño se define como la cantidad total de sueño obtenida en 24 horas y varía durante la ontogenia [23]. Los bebés y los niños pasan gran parte de su tiempo durmiendo, lo que tiende a estabilizarse en la edad adulta. Los jóvenes y los adultos necesitan entre 7 y 9 horas de sueño, mientras que los adultos mayores deben dormir entre 7 y 8 horas por noche [25]. Aunque un sueño saludable implicaría respetar estas duraciones, en los últimos 100 años se ha reportado una disminución de la duración del sueño debido a una menor exposición a luz natural durante el día y una mayor exposición a la iluminación artificial en la noche [26].

La calidad del sueño es un constructo complejo de definir que incluye tanto aspectos subjetivos como objetivos [27]. La calidad de sueño subjetiva refleja el grado de

satisfacción del individuo con su descanso [28], mientras que la calidad de sueño objetiva se define como una medida basada en el análisis de diversos parámetros del sueño que pueden evaluarse de manera objetiva [27]. Entre estas dimensiones se incluyen la eficiencia del sueño, su latencia, los despertares nocturnos, el porcentaje de tiempo que se pasa en cada fase de sueño, la presencia de siestas, entre otros [29]. El insomnio está intrínsecamente vinculado con la calidad de sueño ya que se caracteriza por alteraciones en la continuidad del sueño, incluyendo despertares tempranos, dificultad para conciliar el sueño y mantenerse dormido, junto con una sensación de sueño no reparador y de mala calidad [30]. El trastorno de insomnio por su parte requiere la presencia de estos síntomas durante al menos tres noches a la semana por al menos tres meses, y un malestar considerable para el sujeto y/o un deterioro en su funcionamiento. Un tercio de los adultos experimenta síntomas de insomnio, de los cuales entre un 6 y 10 % cumple con todos los criterios para el trastorno de insomnio [31].

En lo que refiere a la ubicación del sueño, se reconoce que existen diferencias individuales en la expresión de los ritmos circadianos y su sincronización con el entorno. Estas diferencias contribuyen a determinar la ubicación temporal de las actividades diarias de cada persona, lo que se conoce como cronotipo [32]. Este se distribuye en un continuo que va desde quienes ubican la mayoría de sus actividades durante la tarde-noche y alcanzan su máximo rendimiento físico y mental al final del día (conocidos como "búhos"), hasta aquellos que lo hacen por las mañanas y logran su mejor rendimiento en las primeras horas del día (conocidos como "alondras"). El cronotipo refleja un estado más que un rasgo estable, ya que refleja la fase de sincronización con sus cualidades dinámicas [32]. El cronotipo varía a lo largo del desarrollo, mostrando un retraso significativo en la adolescencia, y también presenta diferencias según el sexo [33]. El retraso en la

adolescencia se debe a cambios en el sistema circadiano, influenciados por variaciones hormonales propias de esta etapa de la vida. Estos cambios prolongan el período endógeno y alteran la sensibilidad a los sincronizadores circadianos [34]. Estudios previos en niños, adolescentes y jóvenes uruguayos muestran algunos de los valores más extremos de vespertinidad reportados hasta la fecha [35–38], incluso en comparación con poblaciones socioculturales similares [39].

1.2. Ritmos hormonales: melatonina y cortisol

La melatonina es una hormona sintetizada en la glándula pineal que presenta un ritmo diario característico. Conocida como la "hormona de la noche", sus concentraciones son bajas durante el día, pero aumentan tras el atardecer y se mantienen elevadas durante la noche. La luz controla la producción rítmica de esta hormona y, al mismo tiempo, inhibe su síntesis [6, 40]. Por ello, el inicio de la secreción de melatonina en condiciones de luz tenue (DLMO, por las siglas en inglés de Dim-Light Melatonin Onset) se considera un indicador objetivo del inicio de la noche biológica interna. De hecho, el DLMO es la herramienta más efectiva para evaluar los cambios en la fase circadiana en respuesta a las modulaciones provocadas por los "zeitgebers" ambientales [41, 42]. Además, la melatonina actúa como un sincronizador interno, regulando no solo la fase de otros ritmos circadianos, sino también la relación de fase y la fuerza de acoplamiento entre múltiples osciladores circadianos [43, 44]. Así, la melatonina se distribuye por el torrente sanguíneo a lo largo del organismo, actuando como una "mensajera del tiempo" para los osciladores periféricos [40].

El cortisol, una hormona producida por la glándula suprarrenal, también sigue un ritmo de ~ 24 hs [45]. Sus niveles alcanzan su punto máximo por la mañana, disminuyen a lo largo del día y alcanzan un mínimo a medianoche. La mayoría de las personas alcanzan la concentración máxima de cortisol entre 20 y 45 minutos después de despertar. Debido a su incremento cerca del inicio de la actividad diurna, esta hormona se considera un indicador confiable del comienzo de la vigilia [46]. La respuesta de cortisol al despertar (CAR, por las siglas en inglés de Cortisol Awakening Response), se define como el cambio en la concentración de cortisol que ocurre durante la primera hora después del despertar [47, 48]. Esta respuesta señala el funcionamiento del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal, con valores elevados indicando la activación neuroendocrina necesaria para preparar al organismo para actuar frente los desafíos del día que comienza [49].

1.3. Temperatura corporal

La temperatura corporal es otra manifestación del sistema circadiano, cuyas oscilaciones diurnas fueron reportadas por primera vez en el siglo XIX [50, 51]. Luego, Aschoff y Heise (1972) [52] exploraron sistemáticamente la temperatura corporal y concluyeron que la producción de calor sigue un ritmo circadiano que está adelantado 1,2 hs con respecto al ritmo de la pérdida de calor, con la temperatura corporal aumentando cuando la producción de calor supera la pérdida. La temperatura corporal normal se considera que es de 37 °C; sin embargo, se observa una amplia variación interindividual. La temperatura media diaria puede diferir en 0,5 °C. El nadir en la temperatura corporal suele ocurrir alrededor de las 4 a.m., mientras que el pico máximo se registra aproximadamente a las 6 p.m. [53].

Las condiciones ambientales, como la temperatura, el movimiento del aire, la humedad, la luz solar y el abrigo, son determinantes importantes de la pérdida de calor [54]. En este sentido, es importante destacar que existen diferencias en la medición de la temperatura corporal entre los sitios considerados como mediciones de la temperatura corporal central, como la medición rectal, y los sitios no centrales (temperatura periférica), como la boca o las axilas. Los primeros suelen proporcionar mediciones de temperatura más altas que los segundos, debido a los procesos de disipación de calor que ocurren en la superficie del cuerpo [55].

1.4. Alteraciones de los ritmos circadianos

Los ritmos circadianos impactan directamente en la salud y la enfermedad [56]. Un reloj circadiano funcional y sincronizado promueve la salud. Por ejemplo, una mayor regularidad diaria en los ritmos sociales (ej. en las interacciones sociales, los horarios de comidas) se asocia con una función circadiana más robusta [57]. Por otra parte, desafíos transitorios al sistema circadiano, como el jetlag al viajar, cuando se experimentan de forma crónica pueden derivar en una disrupción circadiana. La disrupción circadiana es un término amplio que abarca muchas entidades. Se define como la consecuencia de un desafío temporal u otras perturbaciones sobre el sistema circadiano, la cual puede manifestarse en distintos niveles organizacionales, como el molecular, celular, sistémico u organizmico, así como en la interacción entre estos niveles [58].

Una forma de alteración circadiana es el jetlag social, concepto introducido por Wittmann y colaboradores (2006) [59]. Este constructo surge de la observación del nivel de tensión que las restricciones del tiempo social imponen sobre el sistema circadiano. A partir del

análisis de diarios de sueño de una amplia muestra de participantes, los autores identificaron un patrón en los días libres que se asemejaba a los cambios en la ubicación del sueño que suceden cuando las personas viajan. Como consecuencia de este descubrimiento, se desarrolló el concepto de jetlag social, que permite describir y cuantificar la diferencia entre el reloj biológico y el reloj social de un individuo. Su cálculo se basa en la diferencia absoluta entre los puntos medios del sueño en días laborables y días libres, considerándose que valores superiores a 20 minutos superan el límite tolerable [60]. No obstante, aproximadamente un 46% de la población presenta valores superiores a una hora [32]. El jetlag social es un factor de estrés crónico que somete al organismo a una sobrecarga alostática [61]. Por consiguiente, no resulta sorprendente su asociación con múltiples problemas de salud [62]. En particular, el jetlag social se ha asociado con mayor prevalencia de tabaquismo [59], hábitos alimenticios menos saludables, así como un incremento en el riesgo de desarrollar trastornos metabólicos y obesidad [62].

En este sentido, varios estudios han evidenciado que las alteraciones circadianas provocadas por los viajes entre zonas horarias, el jetlag social, la exposición a luz artificial por la noche y el trabajo por turnos son fundamentales en la patogénesis de múltiples enfermedades, entre los que se incluyen trastornos del sueño, inflamación crónica, trastornos metabólicos, enfermedades cardiovasculares, alteraciones en las respuestas inmunes, enfermedades neurodegenerativas y cáncer [63]. A su vez, duraciones de sueño inadecuadas se asocian con un mayor riesgo de presentar enfermedades coronarias, diabetes, obesidad y mortalidad en general [64], y una baja calidad de sueño se asocia con hipertensión y dislipidemia (concentración elevada de colesterol y/o triglicéridos) [65]. La vespertinidad también se asocia a resultados de salud desfavorables como la presencia de hipertensión, asma, diabetes, infertilidad y muerte prematura [66]. A

destacar, varios trastornos psiquiátricos, incluido los trastornos de ansiedad, psicóticos, relacionados con sustancias, alimenticios, bipolares y depresivos, entre los que se encuentra la depresión, se asocian con desregulaciones del sistema circadiano [56, 67, 68].

2. Depresión

La depresión se caracteriza por un estado de ánimo bajo y/o pérdida de interés o placer en la mayoría de las actividades, casi todos los días. Las personas con depresión también pueden experimentar sentimientos intensos de inutilidad o culpa, dificultad para concentrarse o tomar decisiones, cambios en el peso y la actividad psicomotora, insomnio o hipersomnia, fatiga, pérdida de energía, pensamientos recurrentes de muerte o suicidio, e incluso planes concretos para llevarlo a cabo. El diagnóstico de depresión requiere que al menos cinco de estos síntomas estén presentes durante un período de dos semanas, representando un cambio significativo en el funcionamiento habitual de la persona. La severidad de la depresión puede variar entre leve, moderada o grave, dependiendo del número e intensidad de los síntomas y del impacto en la vida diaria. Un episodio depresivo puede ser único (depresión de episodio único) o repetirse en el tiempo (depresión recurrente) [31]. Además de su repercusión en la salud de las personas, la depresión puede afectar múltiples áreas de la vida, como el hogar, el trabajo, las relaciones y los estudios [69] y ocasionar considerables costos económicos a la sociedad [69, 70].

Si bien el diagnóstico de la depresión debe ser realizado por un profesional especializado, existen varios inventarios diseñados para detectar la sintomatología depresiva. El Inventario de Depresión de Beck (BDI, por las siglas en inglés de Beck Depression Inventory) es una herramienta ampliamente utilizada para la evaluación de la gravedad de

la sintomatología depresiva que presenta buenos niveles de fiabilidad y validez. Consta de 21 ítems que evalúan los síntomas en las últimas dos semanas, utilizando una escala Likert de 4 puntos (de 0 a 3). Los puntajes varían entre 0 y 63, con puntuaciones más altas indicando mayor gravedad y un puntaje ≥ 14 sugiriendo sintomatología clínica. A su vez, el puntaje puede interpretarse según categorías de severidad (depresión mínima: 0-13 puntos; depresión leve: 14-19 puntos; depresión moderada: 20-28 puntos y; depresión severa: 29-63 puntos) [71, 72].

2.1. Epidemiología

La depresión es un trastorno de alta prevalencia que afecta a más de 100 millones de personas en el mundo [73], con los jóvenes representando el grupo etario de mayor prevalencia [74]. Este trastorno es la principal causa de discapacidad a nivel global [75], representando el 40,5% de los años de vida perdidos debido a discapacidad o muerte prematura [76]. La prevalencia de vida de la depresión varía entre el 2% y el 21%, con las tasas más altas registradas en países europeos [77]. Aunque no hay datos oficiales sobre su prevalencia en Uruguay, la Administración de los Servicios de Salud del Estado reportó en 2018 que los trastornos del estado de ánimo, incluida la depresión, fueron la principal causa de consultas en salud mental, siendo la depresión la primera causa de internación [78]. La depresión es aproximadamente dos veces más frecuente en mujeres que en varones [31], y suele comenzar en la adolescencia o la adultez temprana [79].

Este trastorno impacta profundamente la calidad de vida y el funcionamiento de los individuos [69, 80]. En particular, la depresión afecta el funcionamiento interpersonal y se asocia con la evitación social, lo que restringe tanto las oportunidades sociales como el

desarrollo de habilidades interpersonales [81–83]. Este trastorno también incrementa el riesgo de padecer diversas enfermedades [84] y presenta una elevada comorbilidad con los trastornos de ansiedad, ya que el 45,7% de las personas con depresión presentan antecedentes de algún trastorno de ansiedad [73]. A su vez, la depresión está fuertemente vinculada al suicidio, estimándose que el riesgo de suicidio es 21 veces superior en personas con depresión en comparación a la población general [85, 86], un problema especialmente relevante en Uruguay, que cuenta con una de las tasas más altas de suicidio en la región [78].

2.2. Etiología

Si bien las causas exactas de la depresión no están completamente claras, se sabe que es el resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales [87]. La heredabilidad de la depresión, según estudios con gemelos, se estima en ~37%. No obstante, los GWAS estiman una heredabilidad de ~9% [88]. En cuanto a los factores ambientales, experiencias traumáticas como abusos o pérdidas importantes aumentan el riesgo de desarrollar depresión [69]. En este sentido, un estudio sobre los factores de riesgo de la depresión reveló que este trastorno está estrechamente relacionado con diversas experiencias de abuso, tanto actuales como pasadas [89].

Históricamente, la “hipótesis de la monoamina” ha sido una de las explicaciones más respaldadas acerca de la etiología de la depresión. Esta teoría plantea que la depresión está relacionada con una reducción en la actividad sináptica de los sistemas serotoninérgicos y/o noradrenérgicos [90]. Como consecuencia, los antidepresivos más utilizados actúan incrementando la transmisión de monoaminas, ya sea inhibiendo su

recaptación, como es el caso de los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, o impidiendo su degradación, como ocurre con los inhibidores de la monoamino oxidasa [91]. Sin embargo, una revisión sistemática reciente plantea que no hay evidencia consistente de una asociación entre la serotonina y la depresión, ni respaldo para la hipótesis de que la depresión sea causada por una disminución en la actividad o las concentraciones de serotonina [92]. Además de las monoaminas, investigaciones sugieren que la dopamina, el glutamato, el ácido gamma-aminobutírico, la acetilcolina, y los neuropéptidos, desempeñan un papel clave en la fisiopatología de la depresión [93]. En esta línea, se ha propuesto que la hormona concentradora de melanina (neuromodulador peptídico sintetizado por neuronas del hipotálamo) estaría involucrada en la fisiopatología de la depresión [94]. A su vez, se ha propuesto que una posible disfunción del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal estaría implicada en el desarrollo de este trastorno [95].

También se han desarrollado varios modelos cronobiológicos para comprender la depresión. El "modelo de coincidencia interna", propuesto por Wehr y Wirz-Justice (1980) [96], sostiene que la diferencia de fase entre el reloj circadiano y el ciclo de sueño-vigilia es depresogénica. Esto podría ocurrir porque las personas con depresión suelen dormir en momentos que no son adecuados para su reloj biológico. Esta hipótesis se basa en estudios que muestran que adelantar el sueño puede mejorar el estado de ánimo. Además, la depresión podría surgir cuando otros ritmos circadianos, como la melatonina y la temperatura corporal, también se desincronizan. Otro modelo propuesto por Borbély (1987) [97], quien desarrolló el modelo de los dos procesos de regulación del sueño, sugiere que en la depresión el proceso homeostático del sueño no alcanza niveles normales durante la vigilia, lo que resulta en mayor latencia del sueño, alteraciones en el sueño NREM y una reducción en la latencia del sueño REM. Este modelo encuentra apoyo en la evidencia que

indica que la privación del sueño puede tener un efecto antidepresivo [98]. Por último, la hipótesis de los ritmos sociales en la depresión, propuesta por Ehlers y colaboradores [99] a fines de los años 80, plantea que alteraciones en los ritmos sociales pueden desincronizar los ritmos circadianos, contribuyendo al desarrollo de la depresión. Cambios como la alteración de horarios de comidas o actividades laborales en momentos inadecuados para el reloj biológico afectarían negativamente el estado de ánimo.

2.3. Tratamientos

En términos de tratamiento, la depresión leve suele tratarse con psicoterapia, intervenciones de apoyo y psicoeducación; en casos moderados se recomienda una combinación de psicoterapia y fármacos, y para los casos graves, se emplean tratamientos adicionales más invasivos [100]. Entre las psicoterapias más comúnmente empleadas se destacan la terapia interpersonal, la terapia psicodinámica y la terapia cognitivo-conductual. De todas ellas, esta última es una de las que ha demostrado mayor eficacia para el tratamiento de la depresión [79]. Sobre los tratamientos psicofarmacológicos, la mayoría de los antidepresivos desarrollados en los últimos 50 años se han centrado en la neurobiología de los sistemas monoaminérgicos, siendo los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina los psicofármacos más utilizados [91]. La agomelatina, un antidepresivo comercializado en Europa desde 2009, fue el primero en incorporar un mecanismo de acción no monoaminérgico, específicamente diseñado para resincronizar los ritmos biológicos alterados mediante su acción como agonista de los receptores melatoninérgicos MT1 y MT2 [101]. Además, el uso clínico de la ketamina para el tratamiento de la depresión está en aumento [102]. Para la depresión severa, además de los tratamientos psicofarmacológicos, se utilizan otros tratamientos

como la terapia electroconvulsiva, la estimulación magnética transcraneal, la estimulación del nervio vago, la estimulación cerebral profunda [79, 103] o la cingulotomía anterior en casos extremos [104].

Además de los tratamientos clásicos, se han desarrollado diversas cronoterapias para el tratamiento de la depresión [105, 106]. El objetivo de la cronoterapia es optimizar las intervenciones terapéuticas considerando los ritmos circadianos y el ciclo sueño-vigilia [107]. Estas terapias pueden emplearse de manera combinada, tanto entre sí como junto con antidepresivos u otras estrategias, para potenciar los resultados clínicos. A la fecha la evidencia es consistente en cuanto a la efectividad de diversas cronoterapias en el tratamiento de la depresión, entre las que se incluyen la fototerapia, la terapia de sueño, y la terapia interpersonal y de ritmos sociales [105, 106]. También existe evidencia de que la terapia cognitivo-conductual para el insomnio, el tratamiento de primera línea para el insomnio crónico, también podría ser útil para reducir los síntomas depresivos [108].

A pesar de la existencia de estos tratamientos, se ha informado que aproximadamente el 50% de los casos no logran una remisión completa luego del primer tratamiento. Además, las disfunciones cognitivas y la anhedonia, características de este trastorno, dificultan la adherencia de los pacientes a las intervenciones. Como resultado, en muchos casos los síntomas solo remiten de manera parcial o algunas áreas de la vida del paciente continúan afectadas tras el tratamiento [79, 109]. A su vez, más del 75% de las personas en países de ingresos bajos y medios no reciben tratamiento. Las principales barreras incluyen la falta de inversión en salud mental, la escasez de profesionales capacitados y el estigma asociado a los trastornos mentales [69, 110].

3. Relación entre los ritmos circadianos y la depresión

La relación entre la depresión y los ritmos circadianos ha captado un creciente interés en la investigación de la salud mental. La evidencia actual indica que las alteraciones en los ritmos circadianos desempeñan un papel central en la patogénesis de la depresión, influyendo tanto en la aparición como en la gravedad de sus síntomas. Estas perturbaciones no solo pueden predisponer o precipitar el trastorno, sino también perpetuarlo, lo que se asocia con peores resultados, como una mayor gravedad de los síntomas y un mayor riesgo de suicidio. Además, estas alteraciones suelen persistir a lo largo de las distintas fases del trastorno, contribuyendo a una mayor resistencia al tratamiento, con tasas más altas de abandono y una menor respuesta [111–113]. La estabilización de estos ritmos mediante tratamientos cronobiológicos ha demostrado mejoras en la sintomatología [105, 106]. Esto sugiere que el estudio del sistema circadiano y los mecanismos implicados en la regulación del sueño podría proporcionar claves esenciales para comprender la etiología de la depresión.

En cuanto al sueño, se estima que hasta el 90% de las personas con depresión reportan problemas de sueño [114]. Estas alteraciones pueden manifestarse de manera heterogénea, abarcando insomnio, hipersomnia, fatiga, déficit en la duración y calidad de sueño, cambios en su arquitectura (ej. disminución de la latencia del sueño REM), entre otras [113, 115]. Los problemas de sueño también se reconocen como uno de los síntomas residuales más comunes, persistiendo incluso después de la remisión de los síntomas emocionales [116, 117]. Entre las perturbaciones de sueño reportadas se encuentran tanto duraciones de sueño cortas como largas [118–120]. Además, existe una amplia evidencia que respalda una asociación bidireccional entre una mala calidad del sueño y la depresión

[121]. Los síntomas depresivos son más prevalentes en personas con mala calidad del sueño [122], y la gran mayoría de quienes padecen depresión reportan una calidad deficiente [114]. Por otra parte, el insomnio ha sido históricamente considerado un epifenómeno de la depresión; sin embargo, estudios longitudinales recientes sugieren que es un factor de riesgo para el desarrollo de este trastorno [123, 124]. Estas alteraciones están estrechamente vinculadas entre sí. Por ejemplo, el déficit en la duración del sueño se considera una dimensión de la mala calidad del sueño, y se ve directamente afectada por la presencia de insomnio.

Las alteraciones en los ritmos circadianos están profundamente conectadas con la depresión. Factores ambientales que inducen desincronización circadiana, como el trabajo nocturno, el jetlag y la exposición a luz artificial durante la noche, se han vinculado con un aumento en los síntomas depresivos [63, 125]. Por otra parte, se ha reportado una variación circadiana del estado de ánimo en personas con depresión, siendo común que la mayoría de los pacientes presenten un estado de ánimo más bajo por la mañana [126]. A su vez, la vespertinidad se ha asociado con una mayor probabilidad de reportar síntomas depresivos, una mayor gravedad de los síntomas y un diagnóstico de depresión tanto en jóvenes como en adultos. Estos hallazgos han sido replicados en estudios realizados en diferentes contextos culturales [127–129]. Por otra parte, en personas con depresión, los tipos vespertinos muestran una mayor severidad de los síntomas, un riesgo más elevado de suicidio y mayores dificultades en su vida diaria [130–132]. Se han planteado como posibles mediadores de esta relación una reducción en la respuesta a la recompensa y al afecto positivo, junto con procesos desadaptativos de regulación emocional [127]. Sin embargo, el vínculo entre la depresión y el jetlag social, que es más pronunciado en individuos vespertinos, presenta resultados inconsistentes en la literatura [133].

En relación a la melatonina, a finales de la década del 70' tres grupos de investigación independientes reportaron niveles nocturnos de melatonina más bajos en pacientes con depresión [134–136]. Este hallazgo llevó a la formulación del "síndrome de melatonina baja" en pacientes con este trastorno [137]. Sin embargo, estudios posteriores también demostraron aumentos en los niveles absolutos de melatonina nocturna en estos pacientes [138–141], así como niveles similares a lo largo del día [142]. Una revisión de Tonon y colaboradores (2021) [143] destaca que la melatonina podría afectar el estado de ánimo a través de la regulación de la fisiología y el comportamiento en múltiples niveles, incluyendo su rol en el metabolismo, la inmunidad, la neurotransmisión y la homeostasis celular. Respecto al inicio de su secreción, aunque se esperaría un atraso en personas con depresión en este indicador debido a la asociación entre este trastorno y la vespertinidad, los estudios han arrojado resultados contradictorios. Algunos estudios han reportado un adelanto de fase [144], otros un retraso [145] y otros no evidencian diferencias [146] al comparar sujetos con este trastorno con controles. No obstante, la eficacia antidepresiva de tratamientos farmacológicos como la agomelatina sugiere la posible participación de la melatonina en la fisiopatología del trastorno [101]. Con respecto al cortisol, aunque algunos estudios en modelos animales muestran que la inducción de estrés se asocia con elevados niveles de glucocorticoides y la presencia de un fenotipo similar a la depresión [147], los estudios en humanos presentan resultados inconsistentes. En relación a la CAR, estudios han reportado tanto aumentos [148–153] como disminuciones en personas con depresión [154–156]. Estas discrepancias podrían estar relacionadas con la severidad de la depresión, ya que algunos estudios investigan personas con un diagnóstico de depresión, mientras que otros se centran en personas con depresión subclínica [49, 157]. Por último, la desregulación en la temperatura corporal es una de las alteraciones circadianas más

ampliamente documentadas en la depresión. En particular, se ha observado una elevación de la temperatura corporal, particularmente durante la noche [126, 158, 159] (Figura 1).

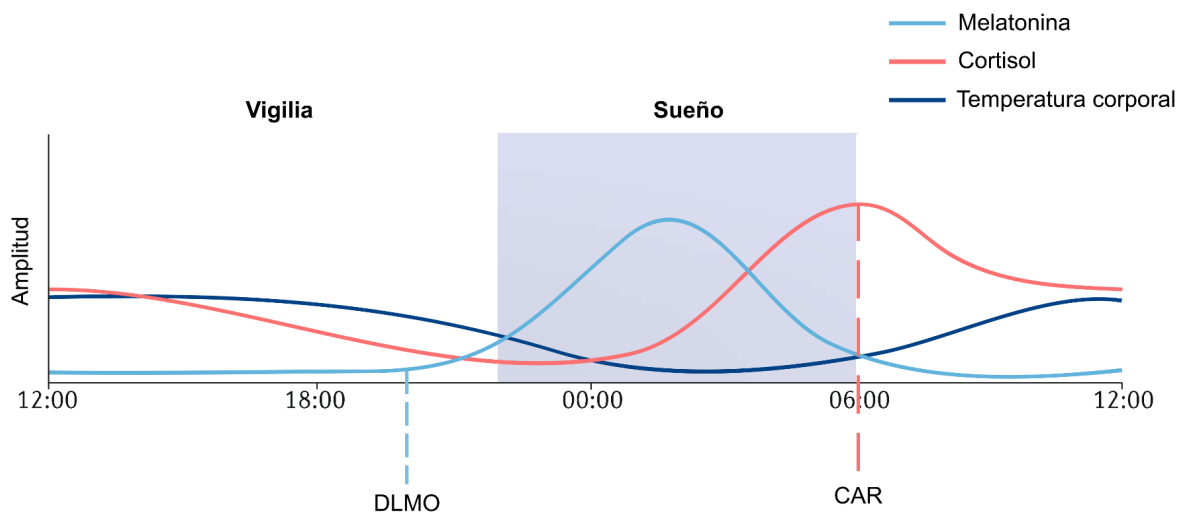


Figura 1. Ritmos de melatonina, cortisol y temperatura corporal. Imagen adaptada de Logan y McClung (2019) [160].

En conclusión, las alteraciones observadas en los ritmos circadianos en personas con depresión sugieren una disfunción del sistema circadiano. Debido a que el control de estos ritmos es complejo, aún no está claro si las alteraciones observadas son causadas por alteraciones en el reloj maestro, en los relojes periféricos o en el comportamiento, afectando por ejemplo la exposición a la luz y los zeitgebers sociales [112, 161].

3.1. Abordajes metodológicos

Muchas de las investigaciones acerca del vínculo entre los ritmos circadianos, el sueño y la depresión utilizan métodos no experimentales (ej. observacionales), analizando los fenómenos tal como ocurren de forma natural, sin intervenir directamente en las variables estudiadas. Para ello se utilizan medidas subjetivas y objetivas que permiten analizar los

ritmos circadianos en los seres humanos, posibilitando, por ejemplo, la comparación de estas entre diferentes grupos [42]. No obstante, estos estudios presentan limitaciones para establecer conclusiones sobre causalidad como la dificultad de descartar la influencia de factores no evaluados y la posibilidad de causalidad inversa [162]. Por ejemplo, diversos estudios han mostrado que las personas vespertinas reportan más síntomas depresivos que aquellas matutinas [127–129]. Sin embargo, esto podría deberse a factores de confusión (como factores de riesgo comunes entre la vespertinidad y la depresión que no se han analizado) o a la causalidad inversa (por ejemplo, la depresión podría modificar las preferencias circadianas). Por ello, a la fecha, no está claro si las asociaciones observadas son causales. Estas limitaciones pueden mitigarse mediante el análisis de datos genéticos utilizando herramientas de la epidemiología genética como la aleatorización mendeliana (MR, por las siglas en inglés de Mendelian Randomisation) [162].

3.1.1. Evaluación a través de instrumentos subjetivos

Entre las medidas subjetivas para evaluar los patrones de sueño se encuentran los diarios de sueño y los cuestionarios de autorreporte. Los diarios de sueño son registros diarios que incluyen información sobre los patrones de sueño. También es útil incluir detalles sobre otros comportamientos, como la ingesta de alimentos y medicamentos, el consumo de estimulantes, el uso de dispositivos electrónicos y la práctica de ejercicio físico [163]. Por otra parte, un cuestionario de autoinforme es una herramienta de evaluación en la que las personas responden a una serie de preguntas (ítems) sobre sus propias experiencias, comportamientos, pensamientos o emociones. En este tipo de cuestionarios, los individuos proporcionan información directa sobre sí mismos, sin la intervención de un evaluador, lo cual permite obtener información de índole subjetiva [163].

Uno de los índices de autoinforme más utilizados para evaluar la calidad de sueño es el Índice de Calidad del Sueño de Pittsburgh (PSQI, por las siglas en inglés de Pittsburgh Sleep Quality Index), una escala de autoinforme de 19 ítems que se agrupan en 7 componentes (calidad subjetiva, latencia, duración, eficiencia, perturbaciones, utilización de medicación y disfunción diurna) que evalúan la calidad de sueño en el último mes. Los siete componentes se basan en áreas evaluadas rutinariamente en entrevistas clínicas con pacientes que presentan quejas sobre el ciclo sueño-vigilia. El PSQI tiene una escala de cuatro puntos, que va de 0 a 3, con un puntaje total > 5 indicando mala calidad de sueño [164]. Este cuestionario presenta buenos niveles de fiabilidad y validez [165]. En el caso del insomnio, este puede evaluarse mediante instrumentos como el Índice de Gravedad del Insomnio (ISI, por las siglas en inglés de Insomnia Severity Index). El ISI es un instrumento breve de siete ítems que mide la percepción del paciente sobre la gravedad de su insomnio en las últimas 2 semanas, con un puntaje ≥ 15 indicando insomnio clínicamente significativo [166]. El ISI es un instrumento fiable para medir la gravedad del insomnio y presenta una buena concordancia con la evaluación clínica [167].

El Cuestionario de Cronotipo de Munich (MCTQ, por las siglas en inglés de Munich Chronotype Questionnaire) evalúa la ubicación del sueño, en particular la hora de inicio y final diferenciando entre días laborables y libres. A partir de estos parámetros se puede estimar el cronotipo, la duración de sueño promedio semanal y el jetlag social como indicador del grado de tensión que las restricciones del tiempo social ejercen sobre el sistema circadiano [168]. Por otro lado, el Cuestionario de Matutinidad-Vespertinidad (MEQ, por las siglas en inglés de Morningness-Eveningness Questionnaire) explora la preferencia temporal para realizar una serie de actividades cotidianas en las últimas semanas con un mayor puntaje indicando preferencias más matutinas [169]. A pesar de

que estos cuestionarios reflejan hábitos y preferencias respectivamente, presentan excelentes niveles de fiabilidad, así como buena fiabilidad test-retest y validez convergente [170].

Las medidas subjetivas son económicas, fáciles de administrar y de analizar, pero presentan algunas limitaciones. Por ejemplo, existe la posibilidad de que se produzcan errores de registro, ya que las personas pueden no comunicar con exactitud sus comportamientos y/o preferencias, tener patrones de sueño irregulares que dificultan la estimación o no proporcionar un informe veraz si tienen comportamientos atípicos. Es por esto que se recomienda su uso en conjunto con medidas objetivas [163].

3.1.2. Evaluación a través de instrumentos objetivos

Las medidas objetivas, que sirven para confirmar los datos obtenidos a través de instrumentos subjetivos, incluyen, entre otras, la polisomnografía, la actimetría, la recolección de muestras para la determinación de los ritmos hormonales y el registro de temperatura corporal [42]. La polisomnografía se basa en el registro de diversos procesos fisiológicos, como los movimientos oculares, las ondas cerebrales, la frecuencia cardíaca y la respiración durante la noche, con el fin de evaluar el ciclo sueño-vigilia y diagnosticar trastornos relacionados con el sueño. Esta técnica es el "estándar de oro" para el diagnóstico de algunos desórdenes del sueño. Sin embargo, este procedimiento puede resultar costoso, incómodo y, al ser invasivo, puede alterar las rutinas normales de sueño [171]. Por esta razón, la actimetría se presenta como una alternativa más práctica y ecológica que ha sido ampliamente validada en diversas poblaciones y permite registrar datos por varios días o semanas. La actimetría es un equipo portátil que se lleva convencionalmente en la muñeca de la mano no dominante y registra de manera continua

la actividad locomotora a través de un acelerómetro y la exposición a la luz a través de un fotosensor permitiendo obtener parámetros de los ritmos de actividad/reposo [42, 172].

La evaluación de los ritmos hormonales puede realizarse mediante la recolección de muestras de plasma, orina, saliva, entre otros fluidos [42]. Por ejemplo, para determinar el DLMO, se pueden medir los niveles de melatonina a partir de muestreos seriados de saliva durante varias horas alrededor del momento esperado para el inicio de secreción. Un aspecto crítico es que el sujeto debe permanecer en condiciones de iluminación tenue (< 30 lux) durante todo el período de muestreo y no realizar ejercicio físico [41, 173, 174]. Para la determinación de la CAR, las muestras de cortisol deben recolectarse inmediatamente después del despertar y posteriormente en intervalos definidos, usualmente durante la primera hora tras el despertar [47].

La temperatura corporal en seres humanos se puede monitorear con termómetros especializados, sistemas de biomonitorio que se ingieren y permanecen en el sistema digestivo por unos pocos días, o el uso de registradores de datos (data loggers). Un registrador de datos muy conveniente es el sensor de temperatura ThermoChron iButton (Maxim Integrated Products, EE.UU) ya que es un dispositivo pequeño de fácil colocación y no invasivo [175]. Este dispositivo ha demostrado ser un instrumento con buena validez y fiabilidad para la medición de la temperatura corporal en humanos en el contexto de estudios cronobiológicos [176]. Es importante destacar que mientras algunos estudios reportan una buena correlación entre las medidas subjetivas y objetivas [170], varios estudios muestran una correlación baja o moderada [171-175].

3.1.3. Evaluación a través de datos genéticos: aleatorización mendeliana

La MR es un método estadístico utilizado en epidemiología genética para estudiar relaciones causales entre factores de riesgo y resultados (por ejemplo, la susceptibilidad a la depresión) [162, 177]. Este método no solo permite establecer si las asociaciones estudiadas son causales, sino también su magnitud y dirección [178, 179]. La MR se basa en el uso de variantes genéticas comunes (presentes en al menos el 1% de la población), generalmente polimorfismo de nucleótido único (SNP, por las siglas en inglés de Single-nucleotide Polymorphism), como variables instrumentales para examinar la relación entre un factor de riesgo y un resultado. Los SNP son cambios entre dos bases en una secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN) que, si difieren entre dos individuos, pueden conducir a variaciones fenotípicas. De este modo, es posible usar SNP asociados con un fenotipo específico a través de GWAS, en lugar de utilizar el factor de riesgo en sí mismo, para estudiar su asociación con un resultado de salud [162, 177].

Los GWAS son estudios en los cuales se examinan millones de variantes genéticas en una muestra grande de individuos para determinar su asociación con fenotipos específicos (ej. rasgos o enfermedades). La proliferación de los GWAS en la última década, gracias a las innovaciones recientes en biotecnología que permiten caracterizar variantes genéticas y fenotípicas con gran precisión, ha permitido la creciente identificación de variantes genéticas asociadas con diferentes fenotipos y su utilización en los estudios de MR [178]. Por ejemplo, los últimos GWAS en identificar variantes genéticas asociadas con los ritmos circadianos, incluyendo el sueño, han reportado 84 loci asociados con la duración del sueño [180], 554 con el insomnio [181], 344 con la matutinidad [182], 119 con las siestas [183], entre otros. Incluso, en un estudio asociado a esta tesis se reportaron 369 loci asociados al sueño multidimensional (entendido como un constructo que abarca diversos rasgos del sueño) [184]. Aunque cada año surgen nuevos GWAS que reportan variantes

genéticas que pueden ser utilizadas para los estudios de MR, la selección de instrumentos genéticos adecuados para realizar este tipo de estudios puede ser un desafío [185]. Aunque existen diversas guías para llevar a cabo este tipo de estudios [179, 185, 186], su adopción en investigaciones que emplean variantes genéticas asociadas a los ritmos circadianos, incluyendo el sueño, ha sido limitada. En consecuencia, los autores han recurrido a distintos enfoques para seleccionar los instrumentos genéticos.

La MR se basa en la concepción de que existen bajas probabilidades de que las variantes genéticas, que se presentan desde el nacimiento y a lo largo de toda la vida, estén asociadas con factores de confusión comunes. Esta noción surge a partir del conocimiento de que los genotipos transferidos de padres a hijos son independientes entre sí ya que cada alelo (de dos posibles) se asigna aleatoriamente durante la meiosis y se transmite durante la formación de gametos (segunda ley de Mendel). En este contexto, la aleatorización sirve para superar el problema de los factores de confusión, de forma similar al diseño del ensayo controlado aleatorizado (RCT, por las siglas en inglés de Randomized Controlled Trial), ya que los genotipos se distribuyen aleatoriamente en la población y, en teoría, solo deberían estar asociados a un rasgo específico (aunque, en la práctica, la mayoría de los rasgos complejos siguen, de hecho, un modelo de herencia poligénica). En la práctica, cuando se examinan variantes genéticas, se realizan análisis de asociación para confirmar que no están asociados a factores de confusión. A su vez, la MR se basa en el conocimiento de que ya que el ADN genómico se transcribe a ARN mensajero y luego es traducido a una proteína (dogma central de la biología molecular) por lo que el fenotipo no puede preceder al genotipo [162]. Debido a que la MR supera dos limitaciones clave de la epidemiología clásica (la presencia de factores de confusión y la causalidad inversa), se sugiere que permite hacer inferencias causales. Sin embargo, a partir de la evidencia que

surge de los estudios de MR, es fundamental emplear otros métodos causales que permitan la replicación y triangulación de los hallazgos antes de explorar los mecanismos biológicos subyacentes a los efectos observados. La MR también se basa en tres supuestos o asunciones básicas para garantizar una asociación causal fiable. En primer lugar, debe existir una asociación entre el instrumento genético y el factor de riesgo. En segundo lugar, el instrumento genético solo puede afectar al resultado a través del factor de riesgo. En tercer lugar, no deben interferir factores de confusión en la asociación SNP-resultado [179] (Figura 2).

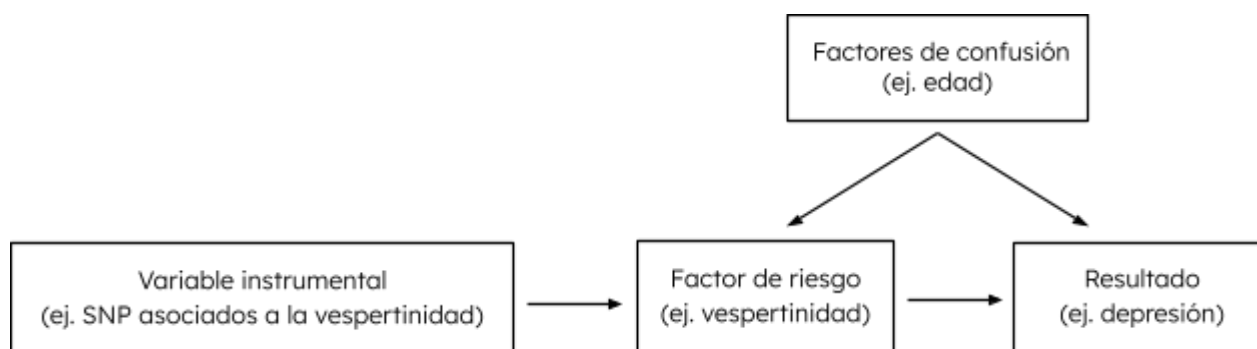


Figura 2. Diagrama de la aleatorización mendeliana. La variable instrumental (SNP) es específica para el factor de riesgo y no está asociada con factores de confusión. Esto implica que cualquier asociación observada entre la variable instrumental y el resultado se debe al factor de riesgo. Se utiliza como ejemplo la asociación entre la vespertinidad y la depresión.

En las últimas décadas la epidemiología genética ha contribuido a ampliar la comprensión de los factores de riesgo modificables de diversas enfermedades. En este sentido, el número de estudios de MR publicados ha crecido de forma exponencial, pasando de un artículo en 2003 a más de 3000 publicaciones en 2023 [187]. El uso de la MR para investigar la asociación entre los ritmos circadianos y diversos resultados de salud, entre los que se encuentra la depresión, también ha aumentado considerablemente. No obstante, este

campo de estudio es aún relativamente nuevo, y los resultados reportados hasta el momento acerca de la asociación entre los ritmos circadianos y la depresión son variados. Es importante señalar que la mayoría de estos estudios evalúan las variables circadianas a través de preguntas de autoinforme.

En lo que respecta a las preferencias circadianas, algunos estudios han encontrado que el riesgo de depresión es menor en personas con cronotipo matutino [188, 189]. Además, trabajos recientes han revelado que la corta duración del sueño tiene un efecto sobre el riesgo de depresión [190] y han reportado asociaciones bidireccionales entre la duración del sueño y la depresión [180]. Algunos estudios también han documentado un efecto de los síntomas de insomnio sobre los síntomas depresivos [191] y el riesgo de depresión [190, 192–194] así como asociaciones bidireccionales entre la depresión y el insomnio [195–199]. Por otro lado, se han observado asociaciones bidireccionales entre la depresión y las siestas diurnas [190, 200], así como que la depresión incrementa el riesgo de apnea del sueño [201] y otros trastornos relacionados con el sueño [202]. Sin embargo, hay estudios que no han hallado asociaciones causales entre las alteraciones en los ritmos circadianos y la depresión [190, 203–205]. Los pocos estudios realizados hasta la fecha, junto con el gran potencial de esta metodología, subrayan la necesidad de seguir explorando estas asociaciones a través de la MR.

4. Puntos de partida y limitaciones de la evidencia actual

El sistema circadiano controla el ritmo endógeno de distintas funciones fisiológicas, bioquímicas y comportamentales que se sincronizan con el ciclo luz-oscuridad. En los seres humanos, el ritmo circadiano comportamental más conspicuo es el ciclo sueño-vigilia. Se utilizan diferentes señales biológicas para evaluar los ritmos circadianos,

incluyendo hormonas como la melatonina y el cortisol, así como el ritmo de temperatura corporal. La presencia de alteraciones en estos ritmos se relaciona con diversos trastornos de salud mental, entre los que se encuentra la depresión.

La depresión es uno de los trastornos más prevalentes en la actualidad y es considerada la principal causa de discapacidad a nivel mundial. Sin embargo, sus causas y mecanismos neurobiológicos aún no se conocen cabalmente, y los tratamientos existentes todavía son parcialmente efectivos. Desde hace varias décadas, la cronobiología investiga cómo los ritmos circadianos se asocian con la depresión, destacando su papel en el desarrollo y mantenimiento de este trastorno. Entre ellos, se ha mostrado que la vespertinidad se asocia con un mayor riesgo de depresión, se ha sugerido que el insomnio no solo sería una consecuencia del trastorno sino también un factor de riesgo, y que tanto duraciones cortas como largas de sueño se asocian con este trastorno. Incluso, han surgido múltiples modelos cronobiológicos para comprender la depresión y cronoterapias que han mostrado resultados prometedores en la disminución de la sintomatología depresiva.

Aunque los avances en el conocimiento de la conexión entre el reloj circadiano y la depresión han sido importantes, persisten múltiples interrogantes por responder. Por ejemplo, todavía se investiga cuáles son las alteraciones circadianas más fuertemente vinculadas con la depresión y en qué medida cada factor circadiano influye de manera independiente o interactúa con otros. Además, muchos de los estudios realizados se han desarrollado en condiciones controladas de laboratorio, lo que limita la aplicabilidad de sus hallazgos en contextos reales. A su vez, todavía no es claro si las asociaciones observadas entre los ritmos circadianos y la depresión son de naturaleza causal, ya que la

mayoría de los estudios en este campo son observacionales. Este tipo de estudios, aunque valiosos, están limitados por la imposibilidad de descartar factores de confusión residuales y por la posibilidad de causalidad inversa. Por último, se ha subrayado la necesidad de integrar diferentes abordajes metodológicos para lograr una comprensión más integrativa del vínculo entre los ritmos circadianos y la depresión.

Hipótesis, objetivos y estrategia de investigación

Hipótesis general:

La depresión está asociada con alteraciones de los ritmos circadianos en jóvenes uruguayos y en adultos del Reino Unido.

Esta hipótesis se pone a prueba a través de los siguientes objetivos generales:

1. Investigar la asociación entre los ritmos circadianos y los síntomas depresivos en jóvenes uruguayos.
2. Explorar la existencia de una asociación causal bidireccional entre los ritmos circadianos y la depresión en adultos del Reino Unido.
3. Estudiar el vínculo entre los ritmos circadianos y la depresión integrando diversos abordajes metodológicos.

Para alcanzar estos objetivos, la tesis se organiza en dos capítulos:

Capítulo I. Se enfoca en el análisis de jóvenes uruguayos, como un modelo de estudio particular por su extrema vespertinidad, utilizando tanto instrumentos subjetivos como objetivos, para poner a prueba la hipótesis de trabajo I:

Los jóvenes con síntomas depresivos presentarán una mayor alteración en sus patrones de sueño (peor calidad, menor duración y mayor insomnio), una fase circadiana más tardía,

una menor robustez del ritmo y alteraciones metabólicas más marcadas (mayor temperatura periférica y mayor cortisol al despertar) en comparación con los participantes del grupo control.

Capítulo II. Se enfoca en el análisis de una muestra de más de 400.000 adultos del UK Biobank (UKB) mediante el uso de aleatorización mendeliana para poner a prueba la hipótesis de trabajo II:

La vespertinidad, el déficit en la duración del sueño y el insomnio se asocian de manera causal bidireccional con la depresión.

Capítulo I: Asociación entre los ritmos circadianos y los síntomas depresivos

En el marco de la hipótesis de que la depresión está asociada con alteraciones de los ritmos circadianos, este capítulo se enfoca en una población de jóvenes uruguayos como un modelo de estudio particular por su extrema vespertinidad. Se investiga la relación entre los ritmos circadianos y los síntomas depresivos, y se utilizan instrumentos subjetivos y objetivos para explorar de manera integral estas asociaciones.

Esta hipótesis se pone a prueba a través de los siguientes objetivos específicos:

1. Comparar los factores circadianos, los patrones de sueño y los ritmos actividad-reposo, hormonales y de la temperatura corporal entre estudiantes y egresados universitarios con síntomas depresivos y un grupo control (sección I).
2. Analizar la relación entre los factores circadianos, el turno de entrenamiento y la sintomatología depresiva en una muestra de estudiantes de nivel terciario de danza cuyo sistema circadiano se ve desafiado por entrenar en turnos extremos (sección II).

Sección I: Caracterización de los ritmos circadianos de jóvenes con síntomatología depresiva

Objetivo

Comparar los factores circadianos, los patrones de sueño y los ritmos actividad-reposo, hormonales y de la temperatura corporal entre estudiantes y egresados universitarios con síntomas depresivos y un grupo control.

Métodos

Consideraciones éticas

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Psicología de la Universidad de la República (marzo de 2021) de acuerdo a la normativa vigente sobre investigación con seres humanos (Decreto CM/515) y a la Declaración de Helsinki [206].

Participantes

La convocatoria a participantes voluntarios en esta investigación estuvo dirigida a estudiantes y egresados universitarios entre 18 y 35 años de edad, residentes de Montevideo y el área metropolitana, Uruguay. Los criterios de exclusión utilizados fueron: a) trabajar en la noche o en régimen rotativo; b) haber viajado en avión a través de varios husos horarios en la última semana; c) tener un desorden endocrino (ej. enfermedad de Cushing, enfermedad de Addison); d) consumir corticoides por vía oral; e) consumir medicación psiquiátrica en el último mes; f) estar cursando un embarazo; g) estar

transitando un cambio vital importante (ej. duelo, separación, mudanza, cambio de trabajo). Los criterios a) y b) fueron incluidos porque los regímenes laborales nocturnos y rotativos, así como el jetlag, afectan considerablemente los ritmos circadianos. Los criterios c), d) y f) se incorporaron debido a que estas enfermedades endocrinas, el uso de corticoides y el embarazo pueden alterar la secreción de las hormonas que se analizan en el estudio. Finalmente, los criterios e) y g) se incluyeron debido a que el uso de medicación psiquiátrica, así como los cambios vitales significativos, pueden provocar cambios en el estado de ánimo y en los patrones de sueño.

Convocatoria

El estudio fue anunciado a través de los canales de comunicación de la Universidad de la República y redes sociales. Adicionalmente, se implementó un muestreo en cadena o por conexiones, también conocido como "bola de nieve" [207]. Las personas interesadas en participar accedieron a una página web creada específicamente para este estudio, alojada en el servidor de la Facultad de Ciencias de la Universidad de la República (<http://estudioscronobiologia.fcien.edu.uy/>). La seguridad y confidencialidad de la base de datos fue resguardada por el equipo de informática de dicha facultad. En esta página web, las personas interesadas en participar accedieron a la hoja de información del estudio y a una descripción de los criterios de inclusión y exclusión. En caso de participar, firmaron un consentimiento informado en línea y completaron un formulario ([click aquí para acceder al formulario](#)) donde fueron solicitados datos de contacto, información sociodemográfica y de salud. Este formulario también incluyó preguntas para verificar el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión. Finalmente, los voluntarios completaron el Inventario de depresión de Beck (BDI, versión II) [208, 209]. En base a la información extraída del formulario, se contactó a todos los voluntarios que obtuvieron un puntaje ≥ 14 en el BDI,

así como a aquellos con un puntaje < 14 , emparejados por edad, género y mano hábil. Además, se verificó que cumplieran con los criterios establecidos, se corroboraron sus datos y se les invitó formalmente a participar en el estudio.

Etapas del estudio

La recolección de datos se organizó en tres etapas: I) evaluación psicológica, circadiana y de los patrones de sueño (entrevista y escalas de autorreporte), II) seguimiento del ritmo actividad-reposo (actimetría) y III) caracterización hormonal (melatonina y cortisol) y de la temperatura corporal periférica. La primera etapa se realizó con cada participante de manera individual en la Facultad de Psicología de la Universidad de la República ($n=39$) o en el domicilio/lugar de trabajo de los participantes (siempre que se encontraran en solitario) ($n=12$), de acuerdo con su preferencia. Esta etapa, de 1 h de duración en promedio, se realizó los días lunes, martes o miércoles. En la segunda etapa los participantes utilizaron un actímetro durante 10 días consecutivos (de miércoles a sábado). En la tercera etapa, los participantes asistieron en grupos de 5 a 14 personas a una sesión presencial que se llevó a cabo de sábado a domingo en dos hoteles de Montevideo, con los cuales la Universidad de la República tiene convenio. En el primer hotel se recolectaron datos de 24 personas, mientras que en el segundo hotel de 27. La recolección de datos del estudio se llevó adelante entre mayo de 2021 y noviembre de 2022, concentrándose en otoño y primavera para evitar las estaciones más extremas, ya que el fotoperíodo puede afectar los ritmos circadianos, el sueño y el estado de ánimo [210] (Figura 3).



Figura 3. Etapas del estudio. La recolección de datos se organizó en tres etapas: I) evaluación psicológica, circadiana y de los patrones de sueño, II) seguimiento del ritmo actividad-reposo y III) caracterización hormonal y de la temperatura corporal periférica. Ver detalle de los instrumentos empleados en las secciones correspondientes. El siguiente audiovisual, desarrollado como parte de esta tesis, ilustra de manera general el protocolo aplicado en cada etapa del estudio: <https://youtu.be/ONwYzgVMRM4>.

1. Evaluación psicológica, circadiana y de los patrones de sueño

Luego del repaso de la hoja de información y de la firma del consentimiento informado, se realizó una entrevista psicológica estructurada denominada “Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional” (MINI, por las siglas en inglés de MINI International Neuropsychiatric Interview) [211] en su versión adaptada al español [212] para evaluar la presencia de trastornos psiquiátricos. La MINI es una entrevista diagnóstica estructurada de breve duración que explora los principales trastornos psiquiátricos del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales [213] y la Clasificación Internacional de Enfermedades [214], sistemas nosológicos reconocidos a nivel mundial. A todos los participantes que presentaron síntomas psiquiátricos se les recomendó que buscaran asistencia en su prestador de salud y quienes estuvieron interesados fueron derivados para recibir atención psicológica.

Al finalizar con la entrevista se les solicitó a los participantes que completaran las siguientes escalas circadianas y de sueño: 1) el MEQ [169, 215]; 2) el MCTQ para estimar el cronotipo como el punto medio del sueño en días libres corregido por la deuda de sueño acumulada en días laborales (MSFsc, por las siglas en inglés de midpoint of sleep on free days corrected for sleep debt accumulated on workdays), el jetlag social (S JL, por las siglas en inglés de social jetlag) como la diferencia absoluta entre los puntos medios del sueño en días laborales y libres, y la duración de sueño promedio semanal (AvSD, por las siglas en inglés de average sleep duration) estimada a partir del inicio y el final del sueño en días laborales y libres [32, 168]; 3) el PSQI [164, 216]; y 4) el ISI [166, 217] (detalles en 3.1.1. evaluación a través de instrumentos subjetivos).

Finalmente, los participantes completaron nuevamente el BDI, seguido por la siguiente serie de escalas psicológicas: 1) Escala de placer Snaith Hamilton para anhedonia (SHAPS, por las siglas en inglés de Snaith-Hamilton Pleasure Scale) que evalúa la capacidad hedónica durante los últimos días con un puntaje > 3 indicando un puntaje “anormal” [218, 219]; 2) Escala de depresión, ansiedad y estrés (DASS, por las siglas en inglés de Depression Anxiety Stress Scale) que evalúa la severidad de estados de depresión (DASS-D), ansiedad (DASS-A) y estrés (DASS-S) durante la semana anterior con mayores puntajes indicando mayor severidad (diferenciando entre severidad normal, leve, moderada, severa y extremadamente severa) [220, 221]; y 3) Cuestionario de ansiedad estado/rasgo (STAI, por las siglas en inglés de State-Trait Anxiety Inventory) que evalúa el nivel de ansiedad en el momento (subescala estado, STAI-S) y la predisposición general a responder de manera ansiosa (subescala rasgo, STAI-T), con mayores puntajes indicando mayor severidad [222, 223]. Todas las escalas fueron administradas en una tablet en su versión en idioma español ([click aquí para acceder al formulario](#)).

Los participantes que cumplieron los criterios diagnósticos para un trastorno depresivo mayor según la MINI y obtuvieron un puntaje ≥ 14 en el BDI conformaron el grupo con síntomas depresivos y los participantes que no cumplieron los criterios diagnósticos para ninguno de los trastornos evaluados según la MINI y obtuvieron un puntaje < 14 en el BDI conformaron el grupo control. A aquellos participantes que asistieron a la entrevista pero no cumplían con los criterios de inclusión/exclusión para ninguno de los grupos ($n=6$), se les explicó el motivo por el cual no podían participar del estudio y se les entregó un agradecimiento por su participación.

La muestra final estuvo compuesta por 51 participantes (rango de edad: 18-34 años, 82,4% mujeres), 22 del grupo con síntomas depresivos y 29 del grupo control. Ambos grupos no se diferenciaron en edad, género, nivel educativo, nivel educativo de la madre (indicador del nivel socioeconómico) y trabajo ($p>0,05$). La caracterización sociodemográfica de estos participantes se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización sociodemográfica

	Grupo control	Grupo con síntomas depresivos	Significancia (valor p)	Tamaño del efecto
n	29	22		
Edad (años)	25,00 ± 5,93	24,00 ± 5,93	0,59	0,08
Género (F/M)	24/5	18/4	0,93	0,01
Trabajo (no/sí)	10/19	11/11	0,26	0,16
Nivel educativo ^a	69,0%	77,3%	0,82	0,13
Nivel educativo de la madre ^a	10,3%	22,7%	0,71	0,25

Los valores se expresan como mediana ± desviación media absoluta. ^a Se presenta el porcentaje de quienes tenían estudios terciarios/universitarios incompletos.

2. Evaluación del ritmo actividad-reposo

En esta etapa los participantes utilizaron un actímetro GENEActiv Original (Activinsights Ltd) durante 10 días, configurados para registrar a una frecuencia de 10 Hz. Se les indicaba

a los participantes que debían utilizar el dispositivo las 24 hs en la mano no hábil y no taparlo para que registrara correctamente la exposición a la luz. Los datos se extrajeron utilizando el software de GENEactiv y se convirtieron en intervalos (*epoch*) de 1 min. De este software se obtuvieron los datos correspondientes a cada intervalo, incluyendo la media de los niveles de exposición a la luz y la suma de las magnitudes vectoriales de la actividad en los tres ejes (x, y, z) según la siguiente ecuación: $\Sigma [(x^2+y^2+z^2)^{1/2}-1g]$. Los valores de actividad se expresaron en unidades de aceleración basadas en la gravedad. Los datos fueron examinados visualmente y se eliminaron los intervalos que indicaban que el participante se había retirado el actímetro. Los datos de un participante tuvieron que ser descartados porque no se registraron correctamente.

Los datos de actimetría se analizaron con el Software Integrado de Cronobiología El Temps (Antoni Díez-Noguera, Barcelona, CA, España). Utilizando el análisis de cosinor [224], los valores obtenidos se ajustaron a una función sinusoidal (coseno) [225, 226]. Un ajuste significativo a la función coseno indica que los registros corresponden a una actividad rítmica con un período de 24 horas. A partir de este ajuste, se extrajeron variables paramétricas como la acrofase (momento en el que la función alcanza su valor máximo). También se realizaron análisis de forma de onda (waveform) de la actividad graficada en función del tiempo, para estimar las siguientes variables no paramétricas: la media de actividad en las 10 horas más activas (M10), la media de actividad en las 5 horas menos activas (L5), el punto medio de las 10 horas más activas (M10c) y el punto medio de las 5 horas menos activas (L5c) [225]. A su vez, se calculó la amplitud relativa (RA), alternativa no paramétrica de la amplitud que se considera un indicador de la robustez del ritmo y se calcula como la $M10 - L5 / M10 + L5$, con valores más cercanos a 1 indicando mayor robustez [227]. Por último, se calculó la variabilidad intraciclo (IV) que cuantifica la

fragmentación del ritmo dentro de un mismo día, reflejando cuán estable o irregular es la alternancia entre actividad y reposo en 24 horas, con valores más cercanos a 1 indicando mayor fragmentación, lo que podría indicar patrones de sueño irregulares, la ocurrencia de somnolencia diurna y/o despertares nocturnos [228].

3. Medidas hormonales y de la temperatura corporal

En esta etapa, se invitó a los participantes a una instancia de recolección de muestras de saliva para la determinación cuantitativa de los niveles de melatonina y cortisol así como el registro de temperatura corporal durante la noche (2 participantes no pudieron asistir). Se estimó el período de ovulación de las participantes en base al inicio de su última menstruación para que no coincidiera con la asistencia a esta fase del estudio ya que la ovulación puede afectar la CAR [229]. Sin embargo, no se recopiló información sobre la fase del ciclo en la que se encontraban las participantes al momento de la toma de muestras, excepto en relación con la ovulación. Previo a la llegada de los participantes, las habitaciones del hotel fueron ambientadas para la recolección de datos. En particular, se controló que la intensidad de la iluminación fuera < 30 lux y que las luces no pudieran encenderse. También se desactivaron los equipos de aclimatación térmica y la televisión. En algunas habitaciones fue colocado un dispositivo de registro continuo (cada 1 min) de temperatura ambiente e iluminación (HOBO-MicroDAQ: UA-002-08). Cada habitación estuvo provista de una fuente de iluminación tenue, una radio con audiolibros y un teléfono fijo para que los participantes pudieran comunicarse con el equipo de investigación en caso de ser necesario. Los participantes debieron evitar el consumo de ciertos alimentos, como chocolate, bananas y algunas frutas, durante las 24 horas anteriores al estudio, ya que estos pueden influir en la secreción de melatonina y siguiendo las indicaciones de Salimetrics™.

Los participantes llegaron al hotel a las 17:00, donde se les asignó una habitación individual con baño privado y se les explicó en detalle las actividades a realizar. En particular, se les indicó que durante el período de colecta de muestras no realizaran ejercicio físico, fumaran, se lavaran los dientes o consumieran alimentos distintos a los otorgados por el equipo de investigación. Durante su estadía se les otorgaron tres colaciones pequeñas bajas en azúcar, acidez y cafeína adaptadas a sus preferencias/restricciones alimentarias para ser ingeridas inmediatamente a su entrega (19:15, 21:15 y 00:15) alejadas del momento de recolección de las muestras.

Luego de responder una serie de preguntas acerca de su día ([click aquí para acceder al formulario](#)), a los participantes se les colocó un sensor Thermochron iButton (#DS1921H-F5, Maxim Integrated Products, EE.UU) en la zona lateral del tórax, aproximadamente a 5 cm de la axila, para registrar su temperatura periférica hasta las 09:00 del día siguiente. El sensor permite medir la temperatura en un rango de 15 a 46°C, con una precisión de 1°C y una resolución de 0,125°C. Los sensores se configuraron para registrar datos cada 1 min. Los datos almacenados fueron transferidos a una computadora personal mediante un adaptador utilizando el software OneWire Viewer (versión 4.1.0, Maxim Integrated Products, EE.UU). Posteriormente, los datos fueron examinados visualmente, eliminando aquellos intervalos en los que se detectó que el participante había retirado el sensor y se recortaron los datos al intervalo comprendido entre las 19:00 y las 07:00.

A las 18:00 comenzó el protocolo de recolección de muestras de saliva para la determinación cuantitativa de melatonina. De cada participante se tomaron muestras seriadas cada 1 h entre las 18:00 y las 24:00 en condiciones de reposo y luz tenue (< 30 lux),

siguiendo las recomendaciones de Lewy y colaboradores [41, 173]. Luego de recolectada la última muestra los participantes quedaron habilitados a prender las luces, utilizar sus dispositivos electrónicos y lavarse los dientes. Al día siguiente fueron despertados alrededor de las 07:45 para iniciar la recolección de muestras de saliva para la determinación de los niveles de cortisol. Es relevante mencionar que la CAR no se ve afectada por el hecho de que la persona se despierte espontáneamente o con un despertador [230]. De cada participante se tomaron muestras a las 08:00 (tiempo 1), 08:30 (tiempo 2) y 08:45 (tiempo 3) para calcular la CAR, siguiendo a Steptoe y Serwinski (2016) [47]. Todas las muestras fueron recolectadas utilizando tubos plásticos de 1,5 ml. Luego de finalizada la recolección de muestras se retiraron los sensores de temperatura y se solicitó a los participantes completar una encuesta de satisfacción anónima acerca de su experiencia en el estudio. Aproximadamente el 94% de los participantes manifestaron que participarían nuevamente de un estudio con similares características. Al finalizar se les entregó un agradecimiento por su participación y fueron invitados a desayunar en la recepción del hotel.

Todas las muestras fueron almacenadas a -80°C en la Facultad de Ciencias (Universidad de la República) y luego llevadas al Laboratorio de Inmunología del Instituto de Higiene (Facultad de Química/Facultad de Ciencias, Universidad de la República), donde se almacenaron a -20°C antes de llevarse a cabo las pruebas. Previo a su análisis, las muestras se centrifugaron a 1500 g por 15 min. Los niveles de las hormonas se cuantificaron por hora para el caso de la melatonina (pg/ml) y por tiempo para el caso del cortisol ($\mu\text{g/dL}$) mediante kits de ELISA de competencia (#1-3402 para melatonina y #1-3002 para cortisol; Salimetrics™), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los análisis de todas las muestras fueron realizadas en forma conjunta por la misma persona durante 3

días consecutivos, combinando muestras de personas de los dos grupos en cada placa de ELISA. Las curvas de respuesta a la concentración obtenidas fueron indistinguibles de las proporcionadas por el fabricante, al igual que los valores de IC10 (concentración que inhibe el 10% de la señal de absorbancia observada en ausencia de la hormona), empleados como indicadores de la sensibilidad del ensayo. Esto valida el uso del valor de sensibilidad analítica reportado por el fabricante, que es de 1,37 pg/ml para la melatonina y de 0,007 µg/dL para el cortisol.

A partir de la cuantificación de los niveles de melatonina por hora, se estimó el DLMO siguiendo la metodología detallada en trabajos previos del Grupo Cronobiología [231, 232]. En primer lugar, se definió el umbral individual como el valor que supera en 2 desviaciones estándar el promedio de los valores anteriores. Posteriormente, se realizó un ajuste cuadrático a las concentraciones de melatonina por hora, lo que permitió interpolar el DLMO como el punto en el que se supera dicho umbral individual. En el caso del cortisol se calcularon los valores promedios a las 08:00, 08:30 y 08:45 y el área bajo la curva con respecto al nivel basal (AUCg, por las siglas en inglés de Area Under the Curve with respect to ground) para estimar la producción total de cortisol durante los primeros 45 minutos después de despertar [233].

Análisis estadísticos

Los valores se expresan como media $\pm$ desvío estándar y se utiliza la prueba t de Student para muestras independientes cuando se cumplen los criterios de normalidad y homocedasticidad, calculando el tamaño del efecto mediante el d de Cohen para evaluar las diferencias entre el grupo control y el grupo con síntomas depresivos. En caso de que estos criterios no se cumplan, los valores se expresan como mediana $\pm$ desviación media

absoluta y se aplica la prueba U de Mann-Whitney, con el tamaño del efecto calculado a través del coeficiente r . La correlación de Pearson se emplea cuando ambas variables cumplen los criterios de normalidad y homocedasticidad, mientras que la correlación de Spearman se utiliza cuando al menos una variable no los cumple. Para las variables categóricas, se utiliza la prueba de Chi-Cuadrado y el w de Cohen para las diferencias de frecuencia. Considerando que la mayoría de las variables actimétricas no cumplían los criterios de normalidad y homocedasticidad, y con objetivos comparativos, se utiliza exclusivamente estadística no paramétrica. El nivel de significancia estadística se establece en $p < 0,05$. Para todas las variables analizadas, se excluyen los outliers extremos definidos como valores fuera de los límites $Q1 - 3 \times IQR$ o $Q3 + 3 \times IQR$, siendo $Q1$ el primer cuartil, $Q3$ el tercer cuartil y IQR el rango intercuartil. En los gráficos de dispersión, el error se visualiza mediante intervalos de confianza (IC, por las siglas en inglés de Confidence Intervals). Para todos los análisis estadísticos se utiliza el software R Studio, versión 2024.04.2 [234].

Resultados

Síntomas emocionales

El puntaje del BDI promedio para todos los sujetos fue de 13,73 puntos, con un rango de 0 a 43 puntos. El grupo con síntomas depresivos estuvo compuesto por 4 participantes (18,2%) con síntomas leves, 12 (54,5%) con síntomas moderados y 6 (27,3%) con síntomas severos, de acuerdo con los puntos de corte propuestos para el BDI. El grupo con síntomas depresivos reportó mayor estado emocional depresivo (DASS-D), más anhedonia (SHAPS), síntomas de ansiedad estado (STAI-S), síntomas de ansiedad rasgo (STAI-T), estado emocional ansioso (DASS-A) y estado emocional de estrés (DASS-S) que el grupo control. El grupo control presentó síntomas dentro del rango “normal” para todas las subescalas del

DASS y para el SHAPS. Por otra parte, el grupo con síntomas depresivos presentó síntomas moderados para el DASS-D y el DASS-S, síntomas severos para el DASS-A y un puntaje “anormal” para el SHAPS (Tabla 2).

Tabla 2. Caracterización psicológica

	Grupo control	Grupo con síntomas depresivos	W	Significancia (valor p)	Tamaño del efecto
BDI ^a	4,00 ± 4,45	23,50 ± 5,19	0,00	<0,001 ***	0,85
DASS-D	2,00 ± 2,97	16,00 ± 7,41	17,50	<0,001 ***	0,81
SHAPS	0,00 ± 0,00	3,50 ± 2,97	89,00	<0,001 ***	0,60
STAI-S	27,50 ± 5,93	36,00 ± 7,41	65,50	<0,001 ***	0,63
STAI-T	30,50 ± 7,41	50,00 ± 6,67	19,50	<0,001 ***	0,80
DASS-A	2,00 ± 2,97	15,00 ± 10,38	67,50	<0,001 ***	0,64
DASS-S	6,00 ± 5,93	24,00 ± 8,90	54,00	<0,001 ***	0,68

Los valores se expresan como mediana ± desviación media absoluta. ‘***’ denota un valor $p < 0.001$.

^a Se presentan los valores para el BDI ya que se utilizó este inventario para la conformación de los grupos.

Todas las escalas correlacionaron positivamente con la severidad de los síntomas depresivos evaluada con el BDI. Estos resultados evidencian que la conformación de los grupos, basada en la entrevista psicológica semiestructurada y el BDI, se realizó de manera adecuada (Tabla 3).

Tabla 3. Correlación entre el BDI y el resto de las escalas psicológicas

		DASS-D	SHAPS	STAI-S	STAI-T	DASS-A	DASS-S
BDI	r_s	0,92	0,66	0,70	0,86	0,65	0,80
	p	<0,001 ***	<0,001 ***	<0,001 ***	<0,001 ***	<0,001 ***	<0,001 ***

‘***’ denota un valor $p < 0.001$.

Patrones de sueño

La duración de sueño semanal promedio (AvSD) para todos los sujetos fue de 7,39 h, con un rango de 4,55 a 10,72 h. El grupo con síntomas depresivos reportó menor AvSD que el grupo control. La AvSD en el grupo control se encuentra dentro del rango esperado para este grupo etario (> 7 h), mientras que en el grupo con síntomas depresivos no alcanza ese valor umbral. La AvSD se correlacionó negativamente con el puntaje del BDI ($r_s = -0,27$, $p = 0,05$) (Tabla 4 y Figura 4 A).

La severidad de los síntomas de insomnio (ISI) promedio para todos los sujetos fue de 9,96 puntos, con un rango de 0 a 23 puntos. El grupo con síntomas depresivos reportó mayor puntaje del ISI (mayor severidad) que el grupo control. El grupo control presenta síntomas no significativos (puntajes del 0 al 7) mientras que el grupo con síntomas depresivos presenta síntomas subclínicos (puntajes del 8 al 14), pero en el límite superior de la categoría (puntajes ≥ 14 se consideran insomnio clínico). El puntaje del ISI se correlacionó positivamente con el puntaje del BDI ($r_s = 0,77$, $p < 0,001$) (Tabla 4 y Figura 4 B). A su vez, el puntaje del ISI se correlacionó negativamente con la AvSD ($r_s = -0,30$, $p = 0,04$).

Por último, la calidad de sueño (PSQI) promedio para todos los sujetos fue de 7,04 puntos, con un rango de 1 a 14 puntos. El grupo con síntomas depresivos reportó mayor puntaje del PSQI (peor calidad) que el grupo control. Ambos grupos presentan una mala calidad de

sueño (puntaje > 5) evaluada mediante el puntaje global del PSQI (Tabla 4 y Figura 4 C). El componente del PSQI en el que el grupo control presentó mayores dificultades fue la latencia del sueño, mientras que en el grupo con síntomas depresivos fue la disfunción diurna. El puntaje del PSQI se correlacionó positivamente con el puntaje del BDI ($r_s=0,67$, $p<0,001$) (Tabla 4 y Figura 4 D). Por último, el puntaje del PSQI se correlacionó negativamente con la AvSD ($r_s=-0,40$, $p=0,004$) y positivamente con el puntaje del ISI ($r_s=0,77$, $p<0,001$).

Tabla 4. Patrones de sueño

	Grupo control	Grupo con síntomas depresivos	W / t	Significancia (valor p)	Tamaño del efecto
AvSD (MCTQ)	7,80 ± 0,36	6,91 ± 2,06	434,00	0,03*	0,31
ISI	5,00 ± 5,19	14,00 ± 5,19	97,50	<0,001 ***	0,54
PSQI	5,21 ± 2,77	9,45 ± 2,69	-5,50 (t)	<0,001 ***	1,55

Los valores se expresan como media ± desvío estándar o como mediana ± desviación media absoluta. ‘*’ denota un valor $p<0,05$, ‘***’ denota un valor $p<0,001$.

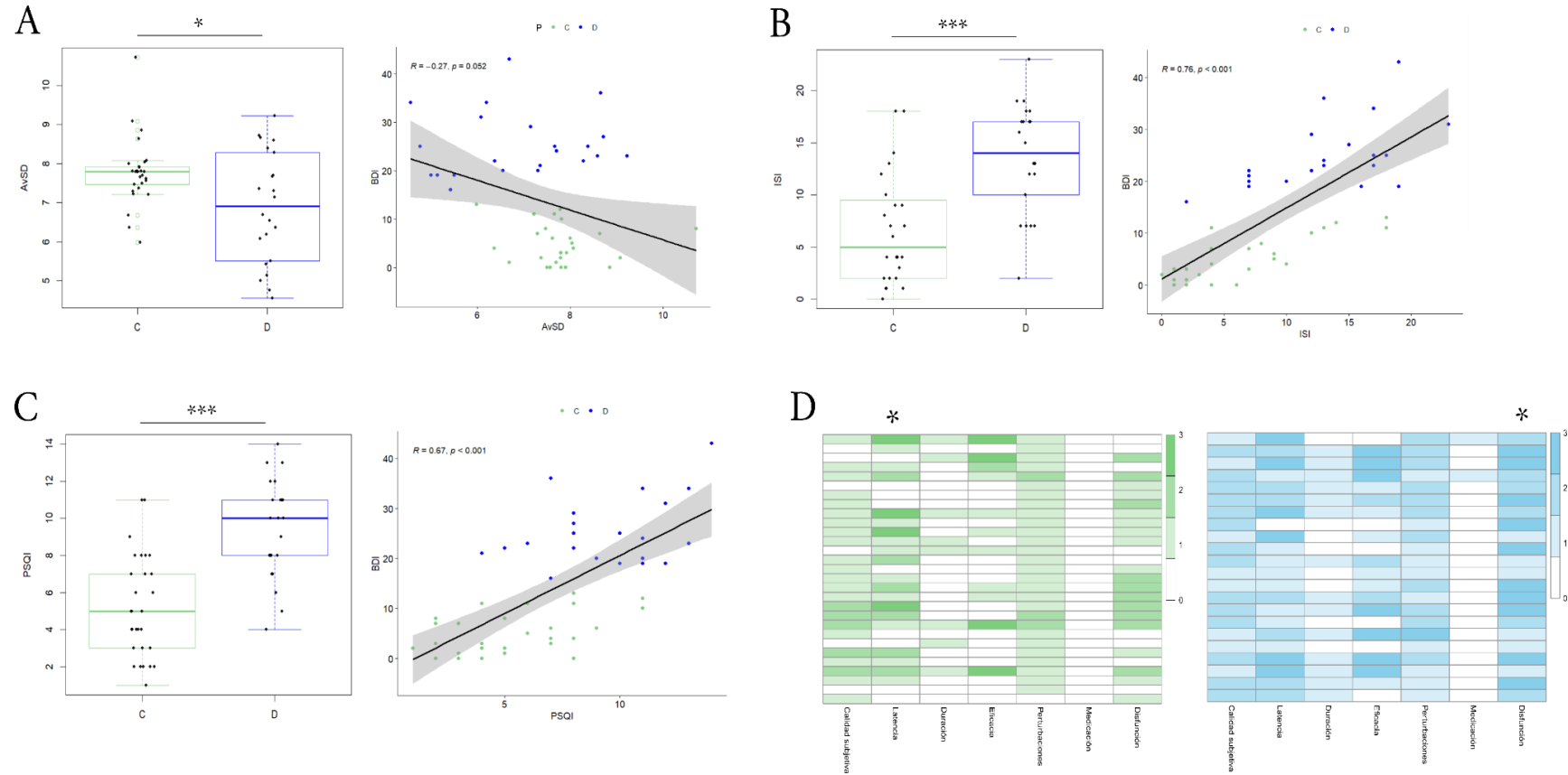


Figura 4. Patrones de sueño. Diferencias entre grupos y correlación con la severidad de los síntomas depresivos para (A) la duración de sueño (AvSD), (B) la severidad de los síntomas de insomnio (ISI) y (C) la calidad de sueño (PSQI). (D) Componentes del PSQI según grupo. Los componentes se muestran en columnas y los participantes en filas. Los colores más intensos representan puntuaciones más altas en la escala likert del PSQI, lo que indica mayores dificultades. C: grupo control (verde), D: grupo con síntomas depresivos (azul). '*' denota un valor $p < 0,05$, '***' denota un valor $p < 0,001$.

Preferencias circadianas, cronotipo y jetlag social

El promedio de las preferencias circadianas (MEQ) para todos los sujetos fue de 48,24 puntos, con un rango de 22 a 65 puntos. El grupo con síntomas depresivos reportó un menor puntaje del MEQ (preferencias más vespertinas) que el grupo control, aunque ambos grupos reportaron preferencias intermedias. El puntaje del MEQ se correlacionó negativamente con el puntaje del BDI ($r_s=-0,47$, $p<0,001$) (Tabla 5 y Figura 5 A). A su vez, el puntaje del MEQ se correlacionó negativamente con el puntaje del ISI ($r_s=-0,48$, $p<0,001$). Sin embargo, no se encontraron asociaciones entre el puntaje del MEQ y la AvSD ($r_s=0,10$, $p=0,49$), ni el puntaje del PSQI ($r=-0,22$, $p=0,12$).

El punto medio de sueño (MSFsc) promedio para todos los sujetos fue a las 05:14, con un rango de 02:04 a 10:01. De acuerdo a lo esperado, el MSFsc correlacionó negativamente con el puntaje del MEQ ($r_s=-0,76$, $p<0,001$). El grupo con síntomas depresivos presentó un MSFsc 1,23 h más tardío (atraso de fase) en comparación al grupo control. El MSFsc correlacionó positivamente con el puntaje del BDI ($r_s=0,41$, $p=0,003$) (Tabla 5 y Figura 5 B). También, el MSFsc correlacionó positivamente con el puntaje del ISI ($r_s=0,48$, $p<0,001$). Sin embargo, no se encontraron asociaciones entre el MSFsc y la AvSD ($r_s=0,13$, $p=0,38$), ni el puntaje del PSQI ($r=0,23$, $p=0,11$).

El jetlag social (SJL) promedio para todos los sujetos fue de 1,34 h, con un rango de -0,04 a 3,50 h. No se encontraron diferencias en el SJL entre los grupos ni una correlación entre el puntaje del BDI y el SJL ($r=0,20$; $p=0,29$). Ambos grupos presentaron un SJL mayor a 1 h. Presentaron un SJL > 2 h un total de 7 participantes (3 del grupo control y 4 del grupo con síntomas depresivos). Solo 1 participante, perteneciente al grupo control, presentó un SJL negativo (Tabla 5 y Figura 5 C). De acuerdo a lo esperado, el SJL se correlacionó

positivamente con el MSFsc ($r=0,39$, $p=0,03$). Sin embargo, no se encontraron asociaciones entre el SJL y el puntaje del MEQ ($r=-0,30$, $p=0,12$), la AvSD ($r_s=-0,19$, $p=0,31$), el puntaje del ISI ($r_s=0,24$, $p=0,22$), ni el puntaje del PSQI ($r=0,21$, $p=0,27$).

Tabla 5. Caracterización circadiana

	Grupo control	Grupo con síntomas depresivos	t	Significancia (valor p)	Tamaño del efecto
MEQ	55,00 ± 8,90	42,50 ± 14,08	463,50	0,006**	0,39
MSFsc (MCTQ) (h)	04:38 ± 01:37	06:01 ± 02:10	-2,58	0,01**	0,73
SJL (MCTQ)	1,20 ± 0,82	1,47 ± 0,97	-0,85	0,40	0,30

Los valores se expresan como media ± desvío estándar. '**' denota un valor $p \leq 0,01$.

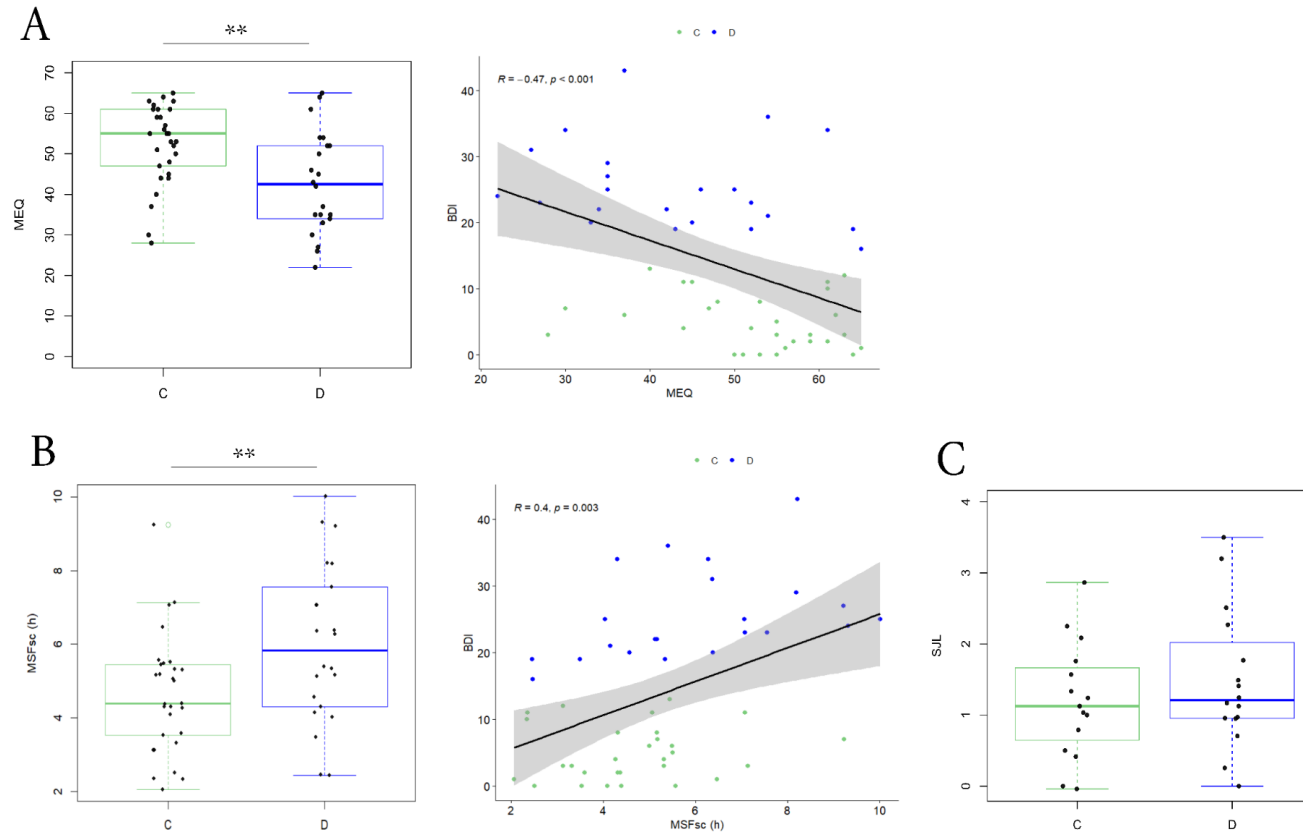


Figura 5. Caracterización circadiana. (A) Diferencias entre grupos y correlación con la severidad de los síntomas depresivos para las preferencias circadianas (MEQ) y (B) el cronotipo (MSFsc). (C) Diferencias entre grupos para el jetlag social (SJL). C: grupo control (verde), D: grupo con síntomas depresivos (azul). ‘**’ denota un valor $p \leq 0,01$.

Ritmo actividad-reposo

En todos los participantes se encontró un ritmo actividad-reposo que se ajusta significativamente al cosinor con un período de 24 hs (en todos los casos $p < 0,02$). En la Figura 6 se observan los actogramas de participantes representativos del grupo control ($n=2$) y del grupo con síntomas depresivos ($n=2$). Los actogramas de participantes del grupo control muestran mayor contraste entre los momentos de actividad y de reposo en comparación con los actogramas de participantes del grupo con síntomas depresivos, que además exhiben una amplia variabilidad. Por ejemplo, el participante #1 del grupo con síntomas depresivos muestra niveles de actividad más intensos, duraderos y organizados que el participante #2 del mismo grupo y durante el reposo ambos presentan niveles de actividad más intensos que los participantes del grupo control. También se percibe que en ambos participantes del grupo control y en el participante #1 del grupo con síntomas depresivos el comienzo y el final del descanso ocurre diariamente en horas similares (con excepción de algún fin de semana), lo que no se visualiza en el participante #2 del grupo con síntomas depresivos. Se evidencia una tendencia a mayores niveles de actividad a primeras horas del período activo en el grupo control que no es evidente en los participantes del grupo con síntomas depresivos.

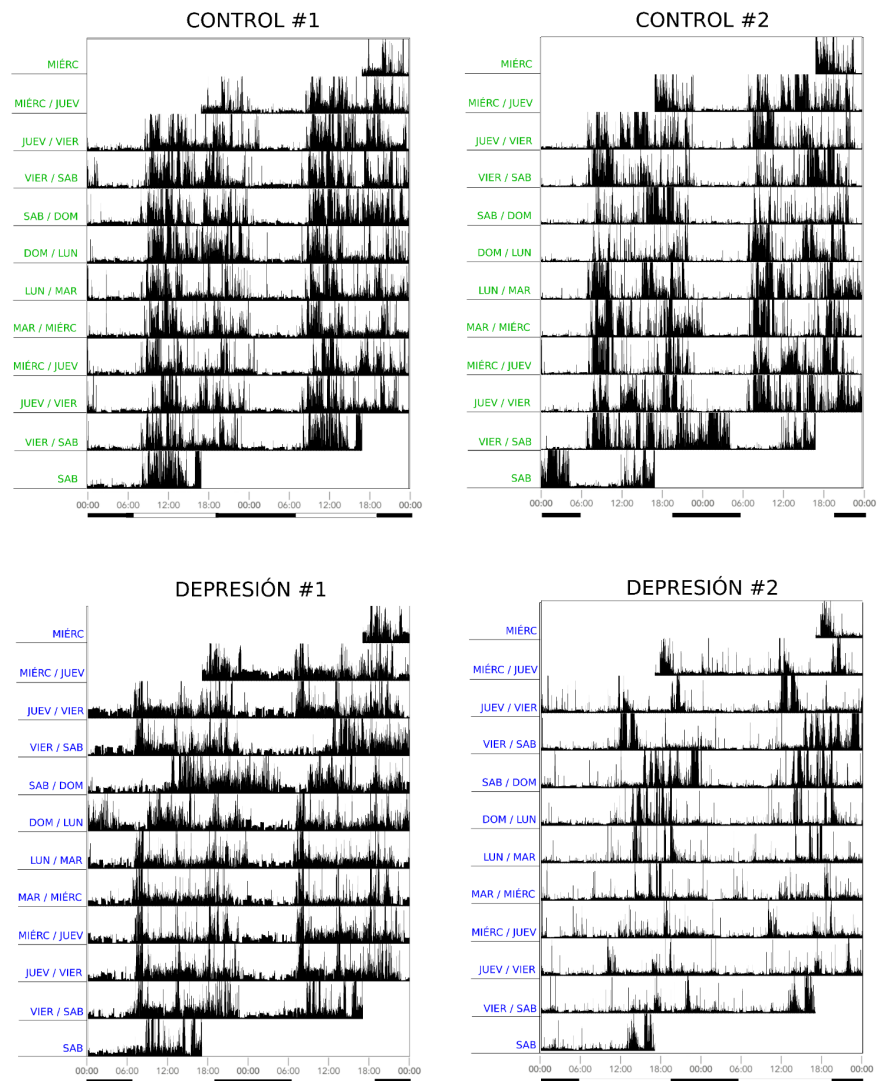


Figura 6. Actogramas. Se presentan los actogramas del ritmo actividad-reposo durante los 10 días consecutivos de registro (7 días laborales y 3 de fines de semana) de 2 participantes representativos del grupo control (en verde) y 2 del grupo con síntomas depresivos (en azul). La barra inferior indica el día (blanco) y la noche (negro) en base al promedio de la salida y la puesta de sol de los días en que los datos fueron recabados (primera columna otoño y segunda columna primavera). C: grupo control, D: grupo con síntomas depresivos.

A partir de los datos actimétricos se constató que el promedio de actividad en las 10 horas más activas (M10) para todos los sujetos fue de 42,71 g*min, con un rango de 25,39 a 63,75 g*min. No se encontraron diferencias en M10 entre los grupos ni una correlación entre el M10 y el puntaje del BDI ($r_s=-0,10$, $p=0,50$) (Tabla 6 y Figura 7 A).

Por otra parte, el promedio de la actividad en las 5 horas menos activas (L5) para todos los sujetos fue de 10,71 g*min, con un rango de 5,30 a 25,12 g*min. El grupo con síntomas depresivos mostró mayor L5 que el grupo control. Se encontró una correlación marginal positiva entre el L5 y el puntaje del BDI ($r_s=0,25$, $p=0,08$) (Tabla 6 y Figura 7 B).

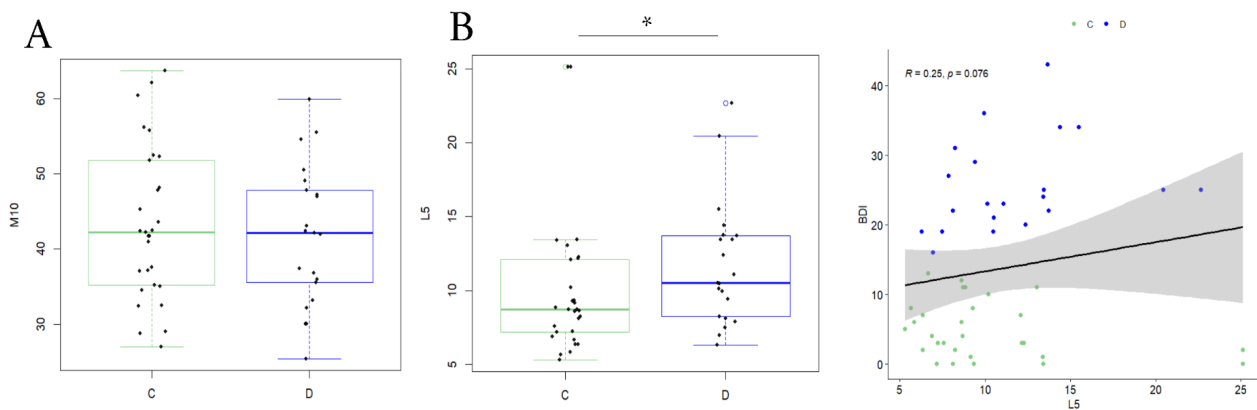


Figura 7. Ritmo actividad-reposo. (A) Diferencias entre grupos para la actividad media del periodo de 10 h más activo (M10), (B) Diferencias entre grupos y correlación con la severidad de los síntomas depresivos para la actividad media del periodo de 5 h menos activo (L5). C: grupo control (verde), D: grupo con síntomas depresivos (azul). ‘*’ denota un valor $p \leq 0,05$.

La amplitud relativa (RA) promedio fue de 0,60, con un rango de 0,26 a 0,79. El grupo con síntomas depresivos mostró menor RA que el grupo control. La RA se correlacionó negativamente con el puntaje del BDI ($r_s=-0,32$, $p=0,02$) (Tabla 6 y Figura 8 A). También se

encontró una correlación marginal positiva entre la RA y el M10 ($r_s=0,26$, $p=0,07$) y una correlación negativa entre la RA y el L5 ($r_s=-0,77$, $p<0,001$).

La variabilidad intraciclo (IV) promedio para todos los sujetos fue de 0,40, con un rango de 0,25 a 0,67. No se encontraron diferencias en la IV entre los grupos ni una correlación entre la IV y el puntaje del BDI ($r_s=-0,19$, $p=0,19$) (Tabla 6 y Figura 8 B).

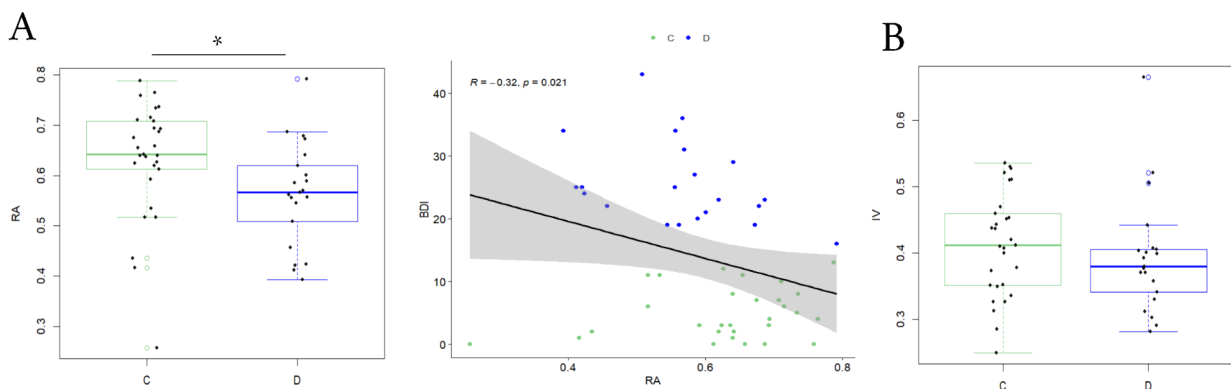


Figura 8. Robustez y fragmentación del ritmo. (A) Diferencias entre grupos y correlación con la severidad de los síntomas depresivos para la amplitud relativa (RA, indicador de la robustez del ritmo). (B) Diferencias entre grupos para la variabilidad intraciclo (IV, indicador de la fragmentación del ritmo). C: grupo control (verde), D: grupo con síntomas depresivos (azul). ‘*’ denota un valor $p \leq 0,05$.

La acrofase promedio para todos los sujetos fue de 16:20, con un rango de 13:09 a 22:05. El grupo con síntomas depresivos presentó una acrofase más tardía (atraso de fase) que el grupo control. La acrofase correlacionó positivamente con el puntaje del BDI ($r_s=0,46$, $p<0,001$) (Tabla 6 y Figura 9 A). A su vez, la acrofase se correlacionó negativamente con el puntaje del MEQ ($r_s=-0,69$, $p<0,001$), y positivamente con el MSFsc ($r_s=0,70$, $p<0,001$).

El punto medio de las 10 horas más activas (M10c) para todos los sujetos fue de 16:02, con un rango de 12:01 a 21:21. El grupo con síntomas depresivos presentó un M10c más tardío (atraso de fase) que el grupo control. Se encontró una correlación marginal positiva entre M10c y el puntaje del BDI ($r_s=0,28$, $p=0,051$) (Tabla 6 y Figura 9 B). A su vez, se encontró una correlación negativa entre el M10c y el puntaje del MEQ ($r_s=-0,51$, $p<0,001$). Se encontró una correlación positiva entre el M10c y el MSFsc ($r_s=0,46$, $p<0,001$), y entre el M10c y la acrofase ($r_s=0,86$, $p<0,001$).

El punto medio de las 5 horas menos activas (L5c) para todos los sujetos fue de 04:47, con un rango de 02:26 a 10:19. Sin embargo, no se encontraron diferencias en L5c entre los grupos ni una correlación entre L5c y el puntaje del BDI ($r_s=0,11$, $p=0,43$). Se destaca que el grupo con síntomas depresivos presenta mayor variabilidad en L5c que el grupo control (Tabla 6 y Figura 9 C). Se encontró una correlación negativa entre el L5c y el puntaje del MEQ ($r_s=-0,60$, $p<0,001$). También se encontró una correlación positiva entre el L5c y el MSFsc ($r_s=0,66$, $p<0,001$), el M10c ($r_s=0,47$, $p<0,001$), y la acrofase ($r_s=0,62$, $p<0,001$).

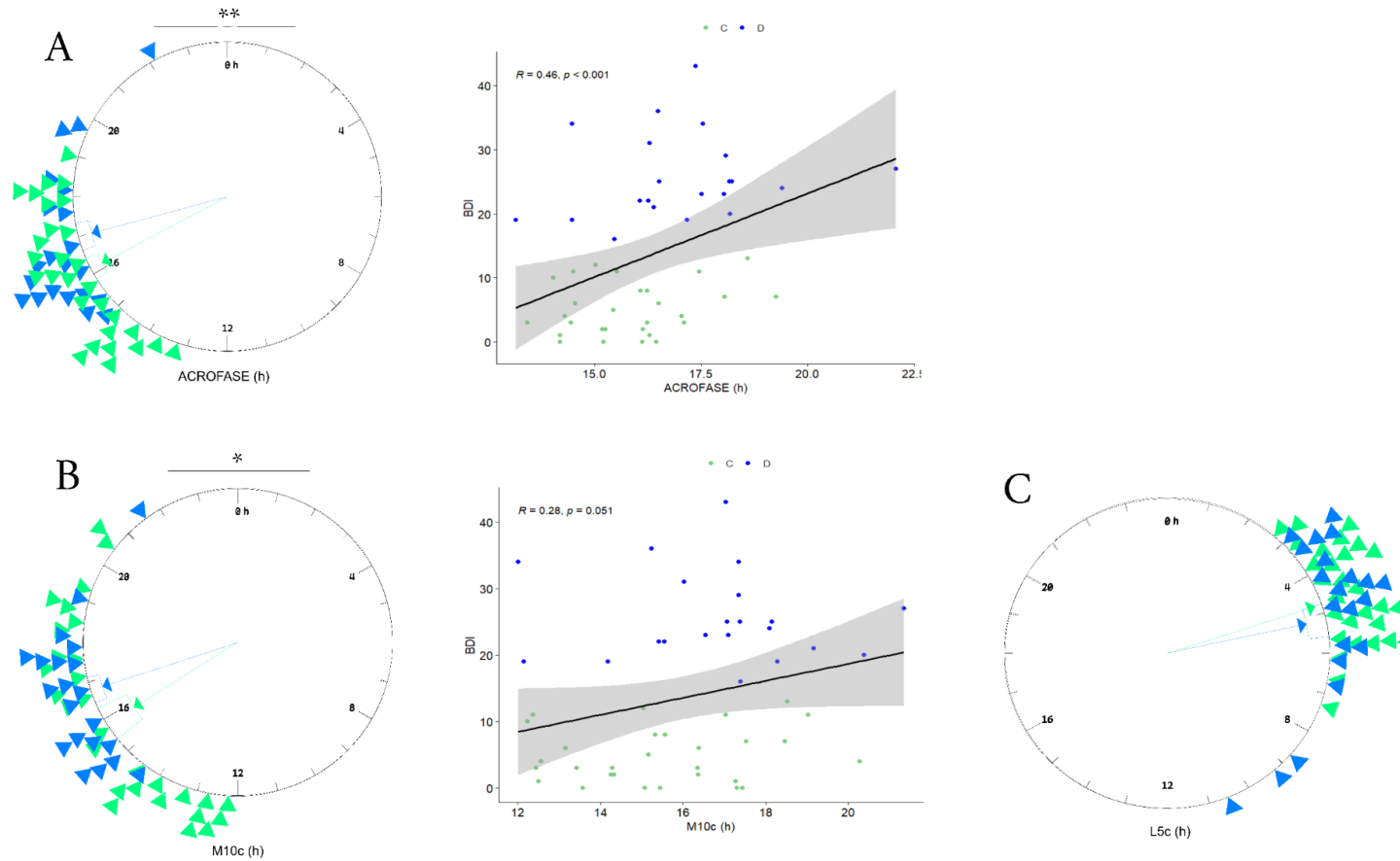


Figura 9. Fase circadiana evaluada a partir del registro actimétrico. Diferencias entre grupos y correlación con la severidad de los síntomas depresivos para (A) la acrofase y (B) el punto medio de las 10 horas más activas (M10c). (C) Diferencias entre grupos para el punto medio de las 5 horas menos activas (L5c). Las diferencias entre grupos se muestran con gráficos de rayleigh. C: grupo control (verde), D: grupo con síntomas depresivos (azul). ‘*’ denota un valor $p \leq 0,05$, ‘**’ denota un valor $p \leq 0,01$.

Tabla 6. Ritmo actividad-reposo

	Grupo control	Grupo con síntomas depresivos	W	Significancia (valor p)	Tamaño del efecto
M10 (g*min)	42,21 ± 10,63	42,14 ± 9,79	327,00	0,69	0,06
L5 (g*min)	8,69 ± 2,66	10,50 ± 4,33	196,00	0,03*	0,30
RA	0,64 ± 0,07	0,57 ± 0,09	437,00	0,009**	0,37
IV	0,41 ± 0,09	0,38 ± 0,04	377,00	0,16	0,20
Acrofase (h)	16:05 ± 01:26	17:11 ± 01:21	169,50	0,01**	0,38
M10c (h)	15:20 ± 02:49	17:05 ± 01:35	203,00	0,05*	0,28
L5c (h)	04:41 ± 01:10	04:54 ± 01:20	282,00	0,67	0,06

Los valores se expresan como mediana ± desviación media absoluta. '*' denota un valor $p \leq 0,05$, '**' denota un valor $p \leq 0,01$.

Fase circadiana (DLMO)

El inicio de la secreción de melatonina (DLMO) promedio para todos los sujetos fue a las 20:21, con un rango de 18:15 a 23:29. Sin embargo, no se encontraron diferencias en el DLMO entre los grupos (grupo control = 20:13 ± 01:40, grupo con síntomas depresivos = 20:34 ± 01:16, $t = -0,68$, $p = 0,50$, $d = 0,23$) ni una asociación con el puntaje del BDI ($r_s = 0,13$, $p = 0,45$) (Figura 10 A). Tampoco se encontró una asociación entre el DLMO y el puntaje del MEQ ($r = -0,15$, $p = 0,39$), el MSFsc ($r = 0,07$, $p = 0,66$), el M10c ($r_s = 0,14$, $p = 0,42$), el L5c ($r_s = 0,15$, $p = 0,38$), ni la acrofase ($r_s = 0,12$, $p = 0,48$).

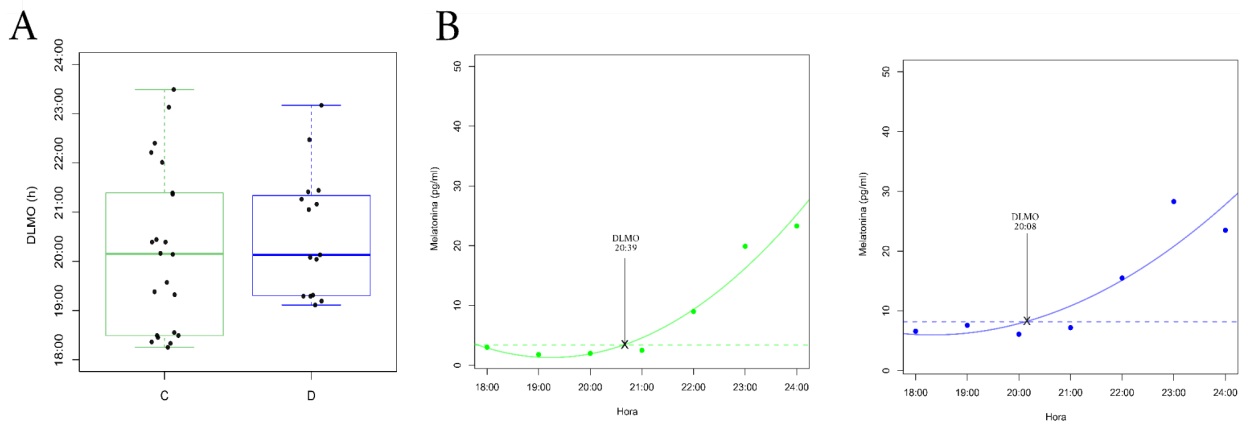


Figura 10. Fase circadiana evaluada a partir del DLMO. (A) Diferencias entre grupos en el DLMO. (B) Niveles absolutos de melatonina de 18:00 a 24:00 de 2 participantes representativos del grupo control y del grupo con síntomas depresivos. Los datos se ajustaron a una curva cuadrática (línea continua). La línea discontinua indica el umbral individual del DLMO, que se estima como el tiempo de intersección de ambas líneas. C: grupo control (verde), D: grupo con síntomas depresivos (azul).

Temperatura periférica

La temperatura periférica promedio para todos los sujetos fue de 35,26 °C, con un rango de 33,45 a 36,32 °C. En cuanto a la temperatura ambiente, la mínima temperatura fue de 19,00 °C y la máxima de 26,00 °C. No se encontraron diferencias en la temperatura periférica promedio ($t=-0,84$, $p=0,41$, $d=0,25$), mínima ($t=0,77$, $p=0,44$, $d=0,23$), máxima ($t=-1,41$, $p=0,16$, $d=0,43$) ni Δ min-max ($t=1,36$, $p=0,18$, $d=0,41$) entre los grupos.

Al no encontrar las diferencias esperadas entre los grupos entre las 19:00 y las 07:00, se decidió analizar la ventana temporal alrededor del momento del nadir del ritmo de temperatura corporal (03:00 a 05:00). El grupo con síntomas depresivos presentó una mayor temperatura máxima en esta ventana que el grupo control. A su vez, el puntaje del BDI se correlacionó positivamente con la temperatura máxima ($r_s=0,36$, $p=0,015$). No se

encontraron diferencias en la temperatura periférica promedio, mínima, ni Δ min-max entre los grupos en esta ventana temporal (Tabla 7 y Figura 11).

Tabla 7. Temperatura periférica

	Grupo control	Grupo con síntomas depresivos	t	Significancia (valor p)	Tamaño del efecto
03:00 a 05:00					
Promedio (°C)	35,19 ± 0,65	35,37 ± 0,73	-0,91	0,37	0,27
Mínima (°C)	34,26 ± 1,01	34,38 ± 1,19	-0,36	0,72	0,11
Máxima (°C)	35,85 ± 0,44	36,12 ± 0,40	-2,09	0,04*	0,63
Mínima - Máxima (°C)	-1,59 ± 0,86	-1,74 ± 1,14	0,48	0,63	0,15

Los valores se expresan como media ± desvío estándar. ** denota un valor $p < 0,05$.

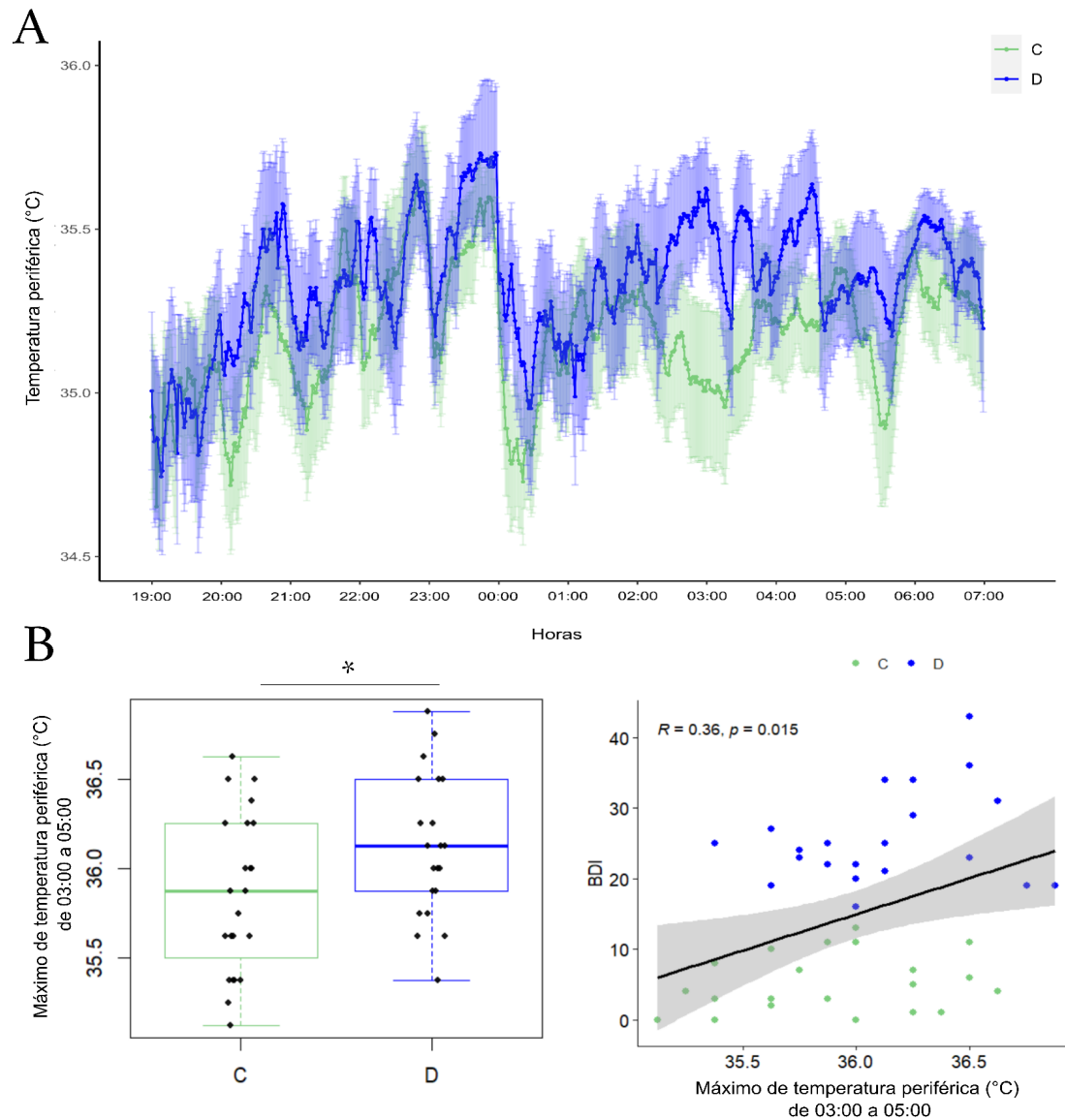


Figura 11. Temperatura periférica. (A) Promedio de temperatura periférica de 19:00 a 07:00 por grupos. La barra de error denota el error estándar de la media. (B) Diferencias entre grupos y correlación con la severidad de los síntomas depresivos para el promedio de la temperatura periférica registrada de 03:00 a 05:00. C: grupo control (verde), D: grupo con síntomas depresivos (azul). ‘*’ denota un valor $p \leq 0,05$.

Respuesta de cortisol al despertar

El nivel de cortisol total estimado en base al área bajo la curva (AUCg) promedio para todos los sujetos fue de 17,49 µg/dL (rango de 2,85 a 41,18 µg/dL). El grupo con síntomas depresivos presentó menor nivel de cortisol total que el grupo control (Tabla 8 y Figura 12 A). No se encontró una correlación entre el nivel de cortisol total y el puntaje del BDI ($r_s=-0,24$, $p=0,10$). El nivel de cortisol promedio a las 08:00 (T1) fue de 0,31 µg/dL (rango de 0,02 a 0,97 µg/dL); a las 08:30 (T2) de 0,44 µg/dL (rango de 0,07 a 1,02 µg/dL); y a las 08:45 (T3) de 0,39 µg/dL (rango de 0,06 a 0,98 µg/dL). El grupo con síntomas depresivos presentó menores niveles de cortisol que el grupo control en T1 (Tabla 8 y Figura 12 B). Se evidenció una asociación marginal con menores niveles de cortisol en T2 y en T3 en el grupo con síntomas depresivos en comparación al grupo control (Tabla 8 y Figura 12 C). El puntaje del BDI correlacionó negativamente con el nivel de cortisol en T1 ($r_s=-0,34$, $p=0,018$), pero no mostró asociación con T2 ($r_s=-0,21$, $p=0,15$) ni T3 ($r_s=-0,14$, $p=0,34$). También se encontró una correlación negativa entre el nivel de cortisol en T1 y el puntaje del ISI ($r_s=-0,42$, $p=0,004$), y el puntaje del PSQI ($r_s=-0,42$, $p=0,002$).

Tabla 8. Respuesta de cortisol al despertar (CAR)

	Grupo control	Grupo con síntomas depresivos	W	Significancia (valor p)	Tamaño del efecto
AUCg (µg/dL)	18,19 ± 10,62	14,03 ± 4,56	397,50	0,04*	0,30
T1 - 08:00 h (µg/dL)	0,37 ± 0,24	0,23 ± 0,15	396,00	0,04*	0,30
T2 - 08:30 h (µg/dL)	0,48 ± 0,28	0,36 ± 0,15	389,00	0,06 ⁺	0,27
T3 - 08:45 h (µg/dL)	0,43 ± 0,19	0,30 ± 0,19	382,50	0,08 ⁺	0,26

Los valores se expresan como mediana $\pm$ desviación media absoluta. '*' denota un valor $p \leq 0,05$, '+' denota un valor $p \leq 0,10$.

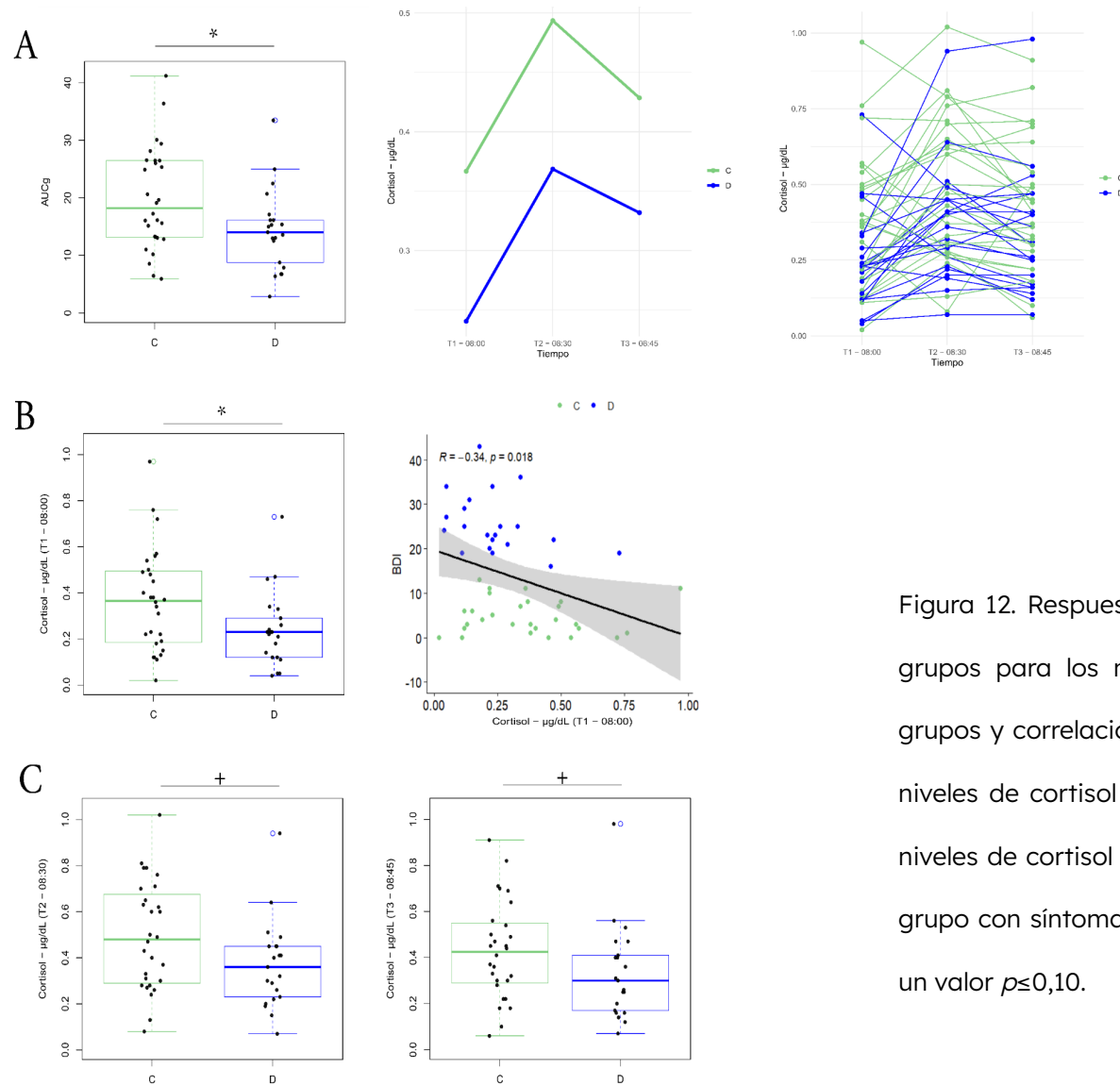


Figura 12. Respuesta de cortisol al despertar (CAR). (A) Diferencias entre grupos para los niveles de cortisol total (AUCg). (B) Diferencias entre grupos y correlación con la severidad de los síntomas depresivos para los niveles de cortisol a las 08:00 (T1). (C) Diferencias entre grupos para los niveles de cortisol a las 08:30 (T2) y 08:45 (T3). C: grupo control (verde), D: grupo con síntomas depresivos (azul). ‘*’ denota un valor $p \leq 0,05$, ‘+’ denota un valor $p \leq 0,10$.

Discusión

El objetivo de la sección I del capítulo I fue comparar los ritmos circadianos de un grupo de jóvenes uruguayos con síntomas depresivos y un grupo control así como relacionar la severidad de los síntomas con las variables relevadas. Es pertinente señalar que aunque múltiples estudios han indagado el vínculo entre el sistema circadiano y la depresión, suelen centrarse en el estudio de solo algunas variables circadianas [122, 128, 130, 141, 144, 145, 148, 235]. Por este motivo, a pesar de lo reducido de la muestra para extrapolar resultados generales, lo valioso de este estudio es la utilización de una batería diversa de instrumentos subjetivos y objetivos que permiten analizar en forma integral asociaciones previamente analizadas por separado.

La conformación de los grupos de estudio se basó en la presencia de los síntomas depresivos, evaluados mediante la MINI y el BDI. Los participantes del grupo con síntomas depresivos presentaron síntomas de diversa gravedad (leves, moderados y severos) con mayor anhedonia, estados emocionales depresivos, ansiosos y de estrés, así como niveles más elevados de ansiedad tanto estado como rasgo, en comparación con el grupo control. Una vez más, destacar que el uso de diversos instrumentos de valoración psicológica a una misma población de estudio permiten confirmar la consistencia de los resultados obtenidos. Estos resultados destacan la precisión de la evaluación psicológica, que permitió establecer una clara diferenciación entre los grupos. La separación basada en la MINI y el BDI demostró ser confiable para identificar diferencias clínicas significativas.

En relación a los patrones de sueño, y en línea con la hipótesis, el grupo con síntomas depresivos presentó menor duración de sueño semanal promedio que el grupo control, y

esta duración fue menor a la recomendada para su franja etaria [25]. Estos hallazgos se alinean con la frecuente sensación de fatiga y/o falta de energía reportada por personas con depresión [31]. El grupo con síntomas depresivos también reportó mayor severidad de los síntomas de insomnio y peor calidad de sueño que el grupo control. Respecto a su calidad, el componente que más contribuyó a la mala calidad del sueño reportada por los participantes de este grupo fue la disfunción diurna. Numerosos estudios respaldan una asociación entre la calidad del sueño y la severidad de la depresión [121], observando que los síntomas depresivos son más prevalentes en quienes reportan un sueño de baja calidad [122]. Además, se ha reportado que la mayoría de las personas con depresión manifiestan insatisfacción con la calidad de su descanso [114]. En este sentido, un metaanálisis destacó que intervenciones dirigidas a mejorar la higiene del sueño podrían reducir la depresión [236].

Los participantes con síntomas depresivos reportaron preferencias más vespertinas que el grupo control. Este resultado es consistente con el atraso de fase observado también al estimar su cronotipo mediante el MSFsc y al calcular tanto la acrofase como el M10c mediante actimetría. El vínculo entre depresión y preferencias circadianas (MEQ) ha sido ampliamente reportado, con estudios que muestran que las personas vespertinas son más propensas a presentar síntomas depresivos que las matutinas [128]. En esta línea, una investigación realizada con estudiantes de medicina mexicanos señaló que tener preferencias vespertinas está asociado con una mayor probabilidad de experimentar un episodio depresivo [237]. Asimismo, la asociación entre cronotipos tardíos y la depresión está ampliamente respaldada por estudios transversales, y cuenta con evidencia preliminar de estudios longitudinales [127]). Algunos autores sugieren que una menor respuesta a la recompensa, un afecto positivo reducido y desregulación emocional podrían mediar la

relación entre el cronotipo tardío y la depresión [127]. También se han reportado retrasos de fase asociados a la sintomatología depresiva utilizando teléfonos inteligentes y otros dispositivos portátiles [238, 239].

Resulta llamativo que otros indicadores objetivos de fase, como el L5c y el DLMO, no hayan mostrado diferencias significativas entre los grupos. En el caso del L5c, este resultado es particularmente inesperado, ya que se encontraron las asociaciones esperadas con el MEQ, el MSFsc, el M10c y la acrofase. Además, un estudio reciente realizado en una muestra de 64.353 participantes del UKB identificó un L5c más tardío en personas con depresión en comparación con un grupo control [240]. Por su parte, no se encontró el atraso de fase esperado al analizar el DLMO. Más de 50 años de investigaciones sobre la relación entre el DLMO y la depresión han arrojado resultados inconsistentes. La falta de consenso en los hallazgos podría deberse a la heterogeneidad de la depresión [241–243], así como a la diversidad en las metodologías empleadas para medir los niveles de melatonina [143]. En esta línea, un estudio reciente planteó que el DLMO puede estimarse a partir de la predicción del ritmo de temperatura corporal utilizando datos de actimetría y modelos matemáticos. Basándose en esta estimación, los autores reportaron que las alteraciones en la fase circadiana preceden causalmente a los síntomas del estado de ánimo en pacientes con trastornos afectivos. Aunque este enfoque permitió analizar las asociaciones durante un promedio de 290 días, lo cual no sería posible utilizando el método tradicional de recolección de muestras, que es costoso y exige condiciones estrictamente controladas, es debatible si realmente se está analizando la fase circadiana [244]. A pesar de la falta de consenso, hubiera sido deseable poder afirmar que el DLMO, el cual es considerado el mejor indicador del ritmo circadiano endógeno, puede utilizarse de manera confiable como marcador de la depresión. No obstante, con base en la evidencia actual y los resultados de

esta tesis, se sugiere considerar otros indicadores de fase más accesibles y con mayor respaldo empírico sobre su asociación con la depresión como marcadores de este trastorno.

Aunque los participantes con síntomas depresivos tuvieron preferencias circadianas y cronotipos más tardíos que el grupo control, no se encontraron diferencias en el SJL entre los grupos. Este resultado no fue del todo inesperado, ya que estudios previos en poblaciones con síntomas depresivos subclínicos no encontraron una asociación significativa entre el jetlag social y la severidad de la depresión [245]. Además, una revisión sistemática reciente plantea que la asociación entre el jetlag social y la depresión es inconsistente en la literatura. Los autores de esta revisión señalan que, pese a que la evidencia no es consistente, ciertos comportamientos de afrontamiento del malestar psicológico, como la rumiación, el uso de medicación y el consumo de sustancias, podrían alterar el sueño y aumentar el jetlag social [133]. Es igualmente interesante que se pueda disociar la influencia de dos parámetros fuertemente correlacionados entre sí como el MSFsc y el SJL.

Respecto al ritmo actividad-reposo, el grupo con síntomas depresivos mostró mayor niveles de actividad durante sus horas menos activas (mayor L5) que el grupo control, pero no presentó diferencias considerables en las horas de mayor actividad (M10). Este comportamiento explica que los participantes con síntomas depresivos presenten menor amplitud relativa (RA) que el grupo control, ya que este parámetro es un indicador del contraste entre la actividad diurna y el descanso nocturno [227]. Este resultado sigue estudios previos que han reportado una menor amplitud relativa en personas con depresión en comparación a individuos sin el trastorno [246–248]. No obstante, no se

encontraron diferencias en la IV, indicador de la fragmentación del ritmo. Este resultado es llamativo considerando que un mayor IV puede ser atribuible, por ejemplo, a la ocurrencia de somnolencia diurna y/o despertares nocturnos [228]. Aunque no se encontraron diferencias entre grupos en la fragmentación del ritmo, sí se evidenció una peor calidad de sueño y mayor severidad en los síntomas de insomnio en el grupo con síntomas depresivos en comparación con el grupo control.

Cabe resaltar que también se evidenció que el grupo con síntomas depresivos presentó mayor temperatura periférica máxima en el momento del nadir del ritmo de temperatura corporal. La elevación de la temperatura corporal durante la noche representa una de las alteraciones circadianas más documentadas en la depresión [126, 158, 159]. Incluso, se ha reportado que la remisión del trastorno se asocia a una normalización en el ritmo de temperatura [249]. Posiblemente si se estudiara a una muestra de participantes con diagnóstico de depresión y mayor severidad de los síntomas se identificaría un aumento de la temperatura periférica más allá de la ventana temporal de 03:00 a 05:00. Este aumento podría deberse a que las personas con depresión tienen dificultades para mantener el sueño, lo que provoca que se despierten a lo largo de la noche.

Por último, contrario a lo esperado, se encontró un menor nivel de cortisol total en el grupo con síntomas depresivos en comparación al grupo control, en particular próximo al despertar. La depresión se ha relacionado tanto con aumentos como con reducciones en los niveles de la CAR [49, 157]. Sin embargo, el cortisol elevado se asocia con el estrés [250] (factor de riesgo de la depresión) [251] y algunos estudios en modelos animales han reportado que este aumenta los glucocorticoides y genera comportamientos similares a los depresivos en seres humanos [147]. Por ello, se esperaba encontrar un aumento de la CAR

en el grupo con depresión en comparación al grupo control. Considerando que esta respuesta neuroendocrina se reconoce como necesaria para preparar al organismo para enfrentar los desafíos del día que inicia, algunos autores sugieren que niveles bajos podrían indicar una desregulación de este mecanismo [157], lo que afectaría la capacidad de las personas con depresión para recuperarse de eventos estresantes [154].

Fortalezas y limitaciones

Entre las fortalezas del estudio se destaca la integración de instrumentos subjetivos y objetivos validados, así como la realización de entrevistas clínicas. En particular, se subraya la recolección de las muestras y el registro continuo de temperatura durante la noche en condiciones controladas. No obstante, el estudio presenta una serie de limitaciones importantes de mencionar. Primero, el tamaño de la muestra, la convocatoria dirigida específicamente a estudiantes universitarios y egresados, junto con la predominancia de participantes del género femenino, limitan la generalización de los resultados. Segundo, el BDI incluye una pregunta acerca de cambios en el patrón de sueño, se deberían corroborar los resultados excluyendo dicho ítem para la conformación de los grupos. Tercero, el grupo control incluyó participantes que podían tener historia de trastornos de salud mental, lo que puede haber afectado los resultados. Cuarto, considerando que estudios previos han identificado asociaciones en forma de U entre la duración del sueño y la depresión sería recomendable realizar análisis no lineales para estudiar esta asociación e incluir el estudio de las siestas. Quinto, los datos actimétricos se recopilaban durante 10 días, lo que limitó la inclusión de varios días libres. Futuros estudios deberían contemplar el registro de un mayor número de días no laborables. Sexto, no se realizaron análisis de la exposición a la luz solar medida mediante actimetría; es imperante considerar esta información ya que la luz es la principal señal temporizadora del sistema circadiano. Séptimo, los horarios de

toma de muestras fueron iguales para todos los participantes, impidiendo calcular el DLMO en participantes cuya secreción de melatonina probablemente iniciaba luego de las 24:00. Octavo, se registró la temperatura periférica; futuros estudios deberían estudiar el ritmo de temperatura corporal central en estos sujetos. Noveno, no se dispone de información sobre otros sincronizadores, como los hábitos alimenticios y sociales, que podrían influir en los parámetros evaluados. Por último, al tratarse de un estudio observacional, no es posible inferir causalidad.

Conclusiones

Los resultados presentados en esta sección respaldan la hipótesis de que la depresión está asociada con alteraciones de los ritmos circadianos en jóvenes uruguayos. En particular, los participantes con síntomas depresivos reportaron peor calidad y menor duración de sueño, mayor severidad del insomnio, preferencias más vespertinas, un atraso de fase en base a algunos de las variables evaluadas, mayor actividad durante las horas menos activas, menor robustez del ritmo, mayor temperatura en el momento del nadir y menor nivel de cortisol en comparación al grupo control. Los resultados obtenidos permiten identificar posibles marcadores de la depresión y sugieren que el inicio de la secreción de melatonina, el jetlag social y la variabilidad intraciclo no serían relevantes, al menos en la población estudiada. Estos resultados no solo respaldan hallazgos previos, sino que también aportan nueva evidencia sobre una población previamente no estudiada, como los jóvenes uruguayos con síntomas depresivos. Estudiar a esta población es de particular relevancia, ya que la depresión suele manifestarse en la adolescencia o la adultez temprana, lo que convierte a esta etapa en una ventana de oportunidad única para implementar estrategias

de prevención. Los resultados subrayan la importancia de los ritmos circadianos en la depresión, lo que podría tener repercusiones importantes para su prevención, diagnóstico y tratamiento.

Sección II: Ritmos circadianos y síntomas depresivos en estudiantes de danza que entrenan en turnos

Publicación asociada: Paz, V., Coirolo, N., Tassino, B. & Silva, A. (2023). Associations between circadian, sleep, and mood disturbances in Uruguayan dance students. *Sleep Science Practice*, 7 (11). <https://doi.org/10.1186/s41606-023-00093-1>

Objetivo

Analizar la relación entre los factores circadianos, el turno de entrenamiento y la sintomatología depresiva en una muestra de estudiantes de nivel terciario de danza cuyo sistema circadiano se ve desafiado por entrenar en turnos extremos.

Métodos

Consideraciones éticas

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Psicología de la Universidad de la República de acuerdo a la normativa vigente sobre investigación con seres humanos (Decreto CM/515) y a la Declaración de Helsinki [206]. Todos los voluntarios firmaron un consentimiento informado antes de participar.

Participantes

La convocatoria a participantes voluntarios en esta investigación estuvo dirigida a estudiantes de danza de un programa público de formación profesional de cuatro años en danza contemporánea y folclórica (Escuelas de Formación Artística, END-SODRE,

Ministerio de Educación y Cultura, Uruguay). Los estudiantes asisten a clases de lunes a viernes, de marzo a diciembre. Los estudiantes de primer y segundo año asisten al turno nocturno (20:00 a 24:00), mientras que los de tercer y cuarto año asisten al turno matutino (08:30 a 12:30). Esta organización por turnos permite maximizar el uso de la infraestructura y los estudiantes no pueden elegir su turno. Los criterios de exclusión utilizados fueron: a) consumir medicación psiquiátrica; b) usar despertadores durante los fines de semana; c) no completar en su totalidad todas las escalas administradas. Los participantes fueron invitados personalmente a participar mediante folletos informativos. Finalmente, participaron del estudio un subconjunto de 26 participantes (18-28 años, 80,8% mujeres) previamente reportados por Coirolo et al. 2020 [252], Coirolo et al. 2022 [231] y Estevan et al. 2023 [253], de los cuales 9 asistían al turno matutino y 17 al turno nocturno. La caracterización demográfica, cronobiológica y del sueño de estos participantes se presenta en la Tabla 9.

n	Total 26	Morning-shift 9	Night-shift 17	p-value	Cohen's w/d
Gender (F/M)	21/5	7/2	14/3	1.00 ns	0.06
Age (years)	22.27 ± 2.43 (min: 18, max: 28)	22.78 ± 2.17	22.00 ± 2.57	0.45 ns	0.32
MSFsc (MCTQ) ^a	05:43 ± 01:35 (min: 02:11, max: 07:47)	05:10 ± 01:36	06:00 ± 01:33	0.21 ns	0.53
SJL (MCTQ) ^b	1.58 ± 1.45 (min: -1.26, max: 3.75)	2.12 ± 1.24	1.30 ± 1.51	0.18 ns	0.57
AvSD (MCTQ) ^c	7.10 ± 1.31 (min: 4.55, max: 10.36)	7.12 ± 0.70	7.09 ± 1.56	0.96 ns	0.02

Los valores se reportan como media ± DE. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para variables discretas y la prueba t para muestras independientes para variables continuas. Los tamaños del efecto se calcularon como w de Cohen para las diferencias de frecuencia y d de Cohen para las diferencias en las medias entre grupos. ^a MSFsc: punto medio de sueño en días libres corregido por la deuda de sueño acumulada en días laborales (presentado en formato militar); ^b SJL: la diferencia absoluta entre los puntos medios de sueño en días de laborales y libres; ^c AvSD: duración promedio del sueño estimada a partir del inicio y final del sueño en días laborales y libres. MSFsc y SJL se correlacionaron como se esperaba (correlación de Pearson $r=0,52$, $p=0,006$); cuanto más tardó el cronotipo, mayor el SJL.

Tabla 9. Características demográficas, cronobiológicas y de sueño entre los turnos. Figura extraída de Paz, Coirolo, Tassino & Silva (2023) [254]

Instrumentos

Se recolectaron datos demográficos a través de un breve cuestionario aplicado al inicio de la evaluación. Para la caracterización cronobiológica de los participantes (MSFsc, SJL y AvSD) se utilizó el MCTQ [32, 168]. Adicionalmente, los participantes completaron el BDI (versión II) [208, 209] y el PSQI [164, 216] (detalles en 3.1.1. evaluación a través de instrumentos subjetivos). Todas las escalas fueron administradas en sus versiones en español y completadas durante el horario escolar en formato papel. Los datos se recolectaron en agosto de 2019.

Análisis estadísticos

Para los análisis estadísticos se utilizó el software R Studio versión 2022.12.0 [255]. Se utilizó un modelo de regresión lineal (paquete “*lm*”) para explorar la influencia del turno, SJL, MSFsc, AvSD y PSQI sobre el BDI. El modelo fue seleccionado mediante el método “*best subsets*”. Este método se basa en realizar regresiones paso a paso para encontrar el subconjunto de variables independientes que mejor explica la variable dependiente [256]. Se utilizó la regresión hacia adelante (*forward stepwise regression*), que consiste en añadir iterativamente los predictores que más contribuyen hasta que la mejora ya no sea estadísticamente significativa. El modelo con el mayor R^2 ajustado fue seleccionado.

Además, se graficaron e inspeccionaron los residuos para detectar posibles desviaciones en la normalidad o la homocedasticidad. La media de los residuos estuvo cerca de cero, y las pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y de heterocedasticidad (Non-Constant Error

Variance Test) no mostraron evidencia de no normalidad ($p>0,05$) ni de heterocedasticidad ($p>0,05$), respectivamente. Los tamaños del efecto se calcularon utilizando el método de eta cuadrado parcial (η^2). Las variables explicativas continuas (MSFsc y AvSD) se centraron en la media y se estandarizaron. Se utilizó la función *emtrends* para estimar las pendientes de las líneas ajustadas, con un nivel de confianza del 95%. A lo largo del texto, los valores se presentan como media $\pm$ desviación estándar en las estadísticas descriptivas. El nivel de significancia estadística se estableció en $p<0,05$.

Resultados

Al comparar el MSFsc, el SJL y la AvSD entre los turnos no se encontraron diferencias significativas. El puntaje del BDI promedio para todos los sujetos fue de $7,15 \pm 3,62$, con un rango de 0 a 14 puntos (turno matutino: $6,56 \pm 3,24$; turno nocturno: $7,47 \pm 3,86$). El puntaje del PSQI promedio para todos los sujetos fue de $6,77 \pm 2,67$, con un rango de 3 a 12 puntos (turno matutino: $6,78 \pm 2,11$; turno nocturno: $6,76 \pm 2,99$). Estos resultados mostraron que los participantes estaban mínimamente deprimidos (puntuación media < 14 según las categorías del BDI), mientras que su calidad subjetiva del sueño era pobre (puntuación media > 5). No se encontraron diferencias significativas en el BDI y el PSQI entre turnos ($p=0,55$, $p=0,99$, respectivamente) (Figura 13).

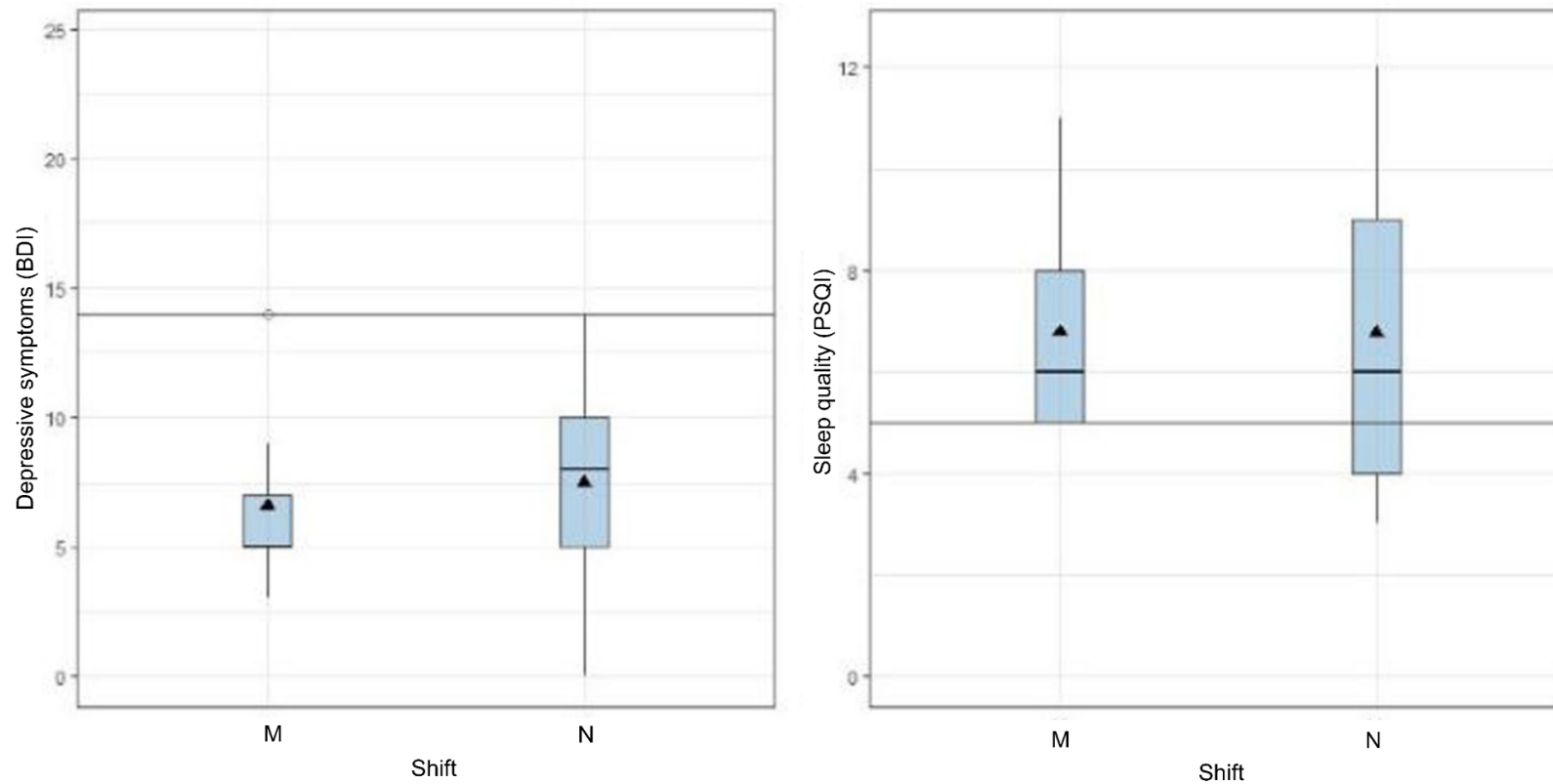


Figura 13. Síntomas depresivos y calidad del sueño entre turnos. Los triángulos denotan la media. La línea horizontal en ambos gráficos representa el punto de referencia para considerar los síntomas depresivos como más que mínimos ($BDI \geq 14$) y la calidad del sueño como mala ($PSQI > 5$). Figura extraída de Paz, Coirolo, Tassino & Silva (2023) [254]

El componente del PSQI en el que los participantes reportaron mayores dificultades fue la latencia del sueño, seguido por la calidad subjetiva y las perturbaciones del sueño (Figura 14).



Figura 14. Heatmap de los componentes del PSQI. Los siete componentes se muestran en columnas y los participantes en filas. Los colores más fuertes representan puntuaciones más altas en la escala de Likert del PSQI, lo que indica mayores dificultades. Figura extraída de Paz, Coirolo, Tassino & Silva (2023) [254]

Se encontró una asociación significativa del PSQI y el BDI ($F_{(1,21)}=20,656$, $p<0,001$, $\eta^2=0,50$), con un aumento de los síntomas depresivos a medida que la calidad del sueño empeoraba. Además, se encontró una interacción marginal entre la AvSD y el turno ($F_{(1,21)}=4,064$, $p=0,057$, $\eta^2=0,16$) (Tabla 10). Según el análisis de la pendiente, para los participantes del turno matutino, la pendiente de la AvSD fue negativa y diferente de cero ($\beta=-2,515$, $95\%CI=-4,680$, $-0,345$), mientras que para los participantes del turno nocturno, la pendiente de la AvSD fue negativa pero no diferente de cero ($\beta=-0,295$, $95\%CI=-1,570$, $0,984$) (ver Figura 15). Las demás interacciones no fueron significativas.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-value	P value	η^2
PSQI	1	141.402	141.402	20.656	<0.001***	0.50
MSFsc*AvSD	1	4.604	4.604	0.673	0.421	0.03
PSQI*AvSD	1	9.809	9.809	1.433	0.245	0.06
AvSD*Shift	1	27.817	27.817	4.064	0.057*	0.16
Residuals	21	143.753	6.845	-	-	
Adjusted R ²	0.48					

"" denotes p -values <0.10 """" denotes p -values <0.001. η^2 = partial eta-squared. MSFsc and AvSD were mean-centered and standardized. PSQI: sleep quality; MSFsc: midpoint of sleep on free days corrected; AvSD: average sleep duration estimated from sleep onset and end on work and free days. SJL was not a relevant variable in the model based on the best subsets method

Tabla 10. Tabla de ANOVA para los modelos de regresión. Figura extraída de Paz, Coirolo, Tassino & Silva (2023) [254]

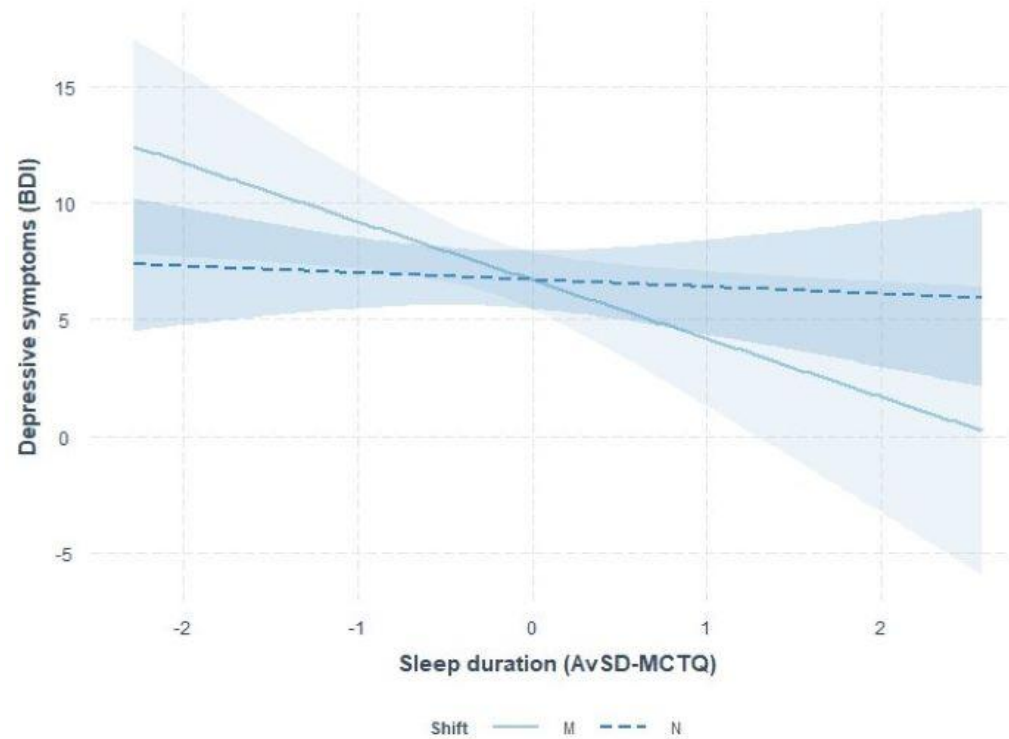


Figura 15. Predicción del modelo lineal para los síntomas depresivos. La duración del sueño interactuó con el turno para explicar los síntomas depresivos, y los participantes del turno matutino mostraron síntomas depresivos más elevados a medida que disminuía la duración del sueño. La AvSD se centró en la media y se estandarizó. El área sombreada refleja los IC del 95%. M= turno matutino, N= turno nocturno. Figura extraída de Paz, Coirolo, Tassino & Silva (2023) [254]

Discusión

El objetivo de la sección II del capítulo I fue evaluar la asociación entre factores circadianos y el turno de entrenamiento con la sintomatología depresiva en una muestra de jóvenes bailarines uruguayos. Estos bailarines pertenecen a una población más amplia estudiada anteriormente por el equipo de investigación, en la que se ha reportado cronotipos tardíos, un elevado jetlag social, pero una duración de sueño adecuada. En esta población quienes asistían al turno de la mañana exhibieron cronotipos más matutinos, adelanto en la fase del inicio de secreción de melatonina y mayor jetlag social en comparación con aquellos que asistían al turno nocturno [231, 252, 253, 257]. En esta tesis, no se observaron diferencias significativas entre los turnos en los parámetros evaluados, lo cual podría explicarse por el tamaño reducido de la submuestra. Los turnos extremos de entrenamiento, junto con los patrones circadianos y de sueño característicos de esta población, crearon el escenario perfecto para estudiar la interacción entre estos factores y sus influencia sobre los síntomas depresivos. El presente estudio aporta nueva evidencia sobre el funcionamiento de la depresión porque la sintomatología depresiva en esta población de bailarines fue mínima mientras que la calidad de sueño fue mala. Sin embargo, a pesar de que los síntomas depresivos reportados fueron mínimos, su severidad aumentó a medida que empeoraba la calidad del sueño en todos los participantes, y a medida que disminuye la duración del sueño, pero solo en los bailarines del turno matutino.

En este estudio, los participantes reportaron una baja calidad del sueño, siendo la latencia para conciliar el sueño el componente que más contribuyó, seguido por la calidad subjetiva y las perturbaciones nocturnas. Aunque la duración del sueño es una dimensión clave para evaluar su calidad [27], los efectos restauradores del sueño también dependen de otros

aspectos además de su duración. En línea con esto, el componente de duración del sueño del PSQI no fue un factor central para explicar la mala calidad del sueño reportada por los participantes. Además, los bailarines informaron una duración de sueño semanal promedio adecuada para su rango etario [25]. Aunque estos resultados podrían parecer contradictorios, representan una oportunidad para investigar factores que suelen interactuar y son difíciles de desentrañar. Además, pocos estudios han examinado cómo se ve afectado el sueño en bailarines, población especialmente vulnerable a alteraciones del sueño. Un estudio de Fietze et al. (2009) [258] reportó déficits en la eficiencia y duración del sueño en esta población antes de presentarse a una función.

Los participantes también presentaron cronotipos tardíos, en línea con investigaciones previas en población uruguaya [35–38], así como niveles de jetlag social considerados problemáticos [60]. Factores como el uso de tecnología antes de dormir, episodios de vigilia nocturna o la realización de actividad física intensa durante el período de inicio de secreción de melatonina, podrían contribuir a retrasar la fase y/o incrementar la perturbación circadiana en esta población, llevando a una calidad del sueño deteriorada. Aunque el jetlag social fue elevado entre los participantes, no emergió como una variable relevante para incluir como predictor de los síntomas depresivos, siguiendo lo reportado en estudios previos [133, 245].

En relación con la sintomatología depresiva, los participantes reportaron síntomas depresivos mínimos [208]. Este resultado contradice la hipótesis general y resulta inesperado, ya que estudios previos han mostrado una alta prevalencia de la depresión entre estudiantes universitarios [259] y atletas [260]. Además, la depresión se ha asociado de manera consistente con el cronotipo tardío [129]. Una posible explicación de este

resultado radica en el efecto protector del ejercicio físico regular en los síntomas depresivos [261]. En este sentido, la práctica constante de la danza podría estar reduciendo el impacto de las alteraciones circadianas y del sueño sobre la salud mental de los bailarines. Aunque los síntomas fueron mínimos, y en línea con la hipótesis general, se observó un aumento en su severidad a medida que la calidad del sueño se deterioraba. Como se mencionó en la sección anterior, este hallazgo sigue lo reportado en estudios previos [121]. Se pueden especular diversos mecanismos para explicar esta relación, incluyendo la influencia del cronotipo tardío de los bailarines, el uso de tecnología o la actividad física [121, 262].

A su vez, surgió una asociación marginal interesante entre la duración del sueño y el turno en relación con la severidad de los síntomas depresivos. En este estudio, los participantes del turno matutino, pero no los del turno nocturno, presentaron síntomas depresivos más severos a medida que disminuye la duración del sueño. Aunque en promedio el déficit de sueño no representó un problema para los bailarines en ninguno de los turnos, una duración de sueño inferior a la recomendada podría estar vinculada a la desincronía circadiana. Sin embargo, este hallazgo debe interpretarse con cautela, ya que no alcanzó los niveles convencionales de significancia estadística.

Fortalezas y limitaciones

Entre las fortalezas del estudio se destaca su enfoque en una población de bailarines como un modelo único para explorar el funcionamiento del reloj biológico en la vida cotidiana junto con la realización de un modelo predictivo para analizar la influencia de factores circadianos y el turno de entrenamiento en la sintomatología depresiva. Sin embargo, este estudio también presenta varias limitaciones, en su mayoría derivadas de su diseño ecológico y de haberse realizado en una población específica, en la que no se

controlaron algunas variables influyentes. Primero, el tamaño de la muestra fue relativamente pequeño, lo que condujo a asociaciones frágiles que probablemente no se pueden extrapolar a otras poblaciones, y más del 80% de las participantes eran de género femenino. Sin embargo, al controlar por género en el modelo, los resultados se mantuvieron. Segundo, solo se utilizaron cuestionarios autoinformados; futuros estudios deberían combinar medidas objetivas y subjetivas. Tercero, no se diferenció entre las puntuaciones del PSQI en días laborables y días libres, lo que pudo haber influido en los resultados. Cuarto, no se tuvo en cuenta las siestas al medir la duración del sueño. Quinto, no se recogieron datos sobre las actividades diarias de los estudiantes; por lo tanto, se carece de información sobre otros sincronizadores (como los hábitos alimenticios) que podrían impactar en el sistema circadiano y estado emocional de esta población de bailarines. Sexto, la naturaleza observacional del estudio impide hacer inferencias sobre causalidad. Finalmente, el objetivo de este estudio fue estudiar a una población específica de estudiantes de danza que entrenan en turnos extremos, lo que llevó a no captar participantes con síntomas depresivos elevados.

Conclusiones

Los resultados presentados en esta sección respaldan la hipótesis de que la depresión está asociada con alteraciones de los ritmos circadianos, ya que incluso síntomas depresivos mínimos se asocian con dichas alteraciones. A modo de resumen los resultados muestran que incluso en bailarines con mala calidad del sueño pero sin depresión, estas variables están inextricablemente vinculadas; los síntomas depresivos dependen de la interacción entre la duración del sueño y el turno de entrenamiento; y el cronotipo y el jetlag social no parecen ser variables relevantes para comprender el estado de ánimo de estos bailarines.

Los hallazgos aportan evidencia novedosa sobre el impacto de la interacción de diversos factores en los síntomas depresivos de una población de bailarines que entrenan en turnos extremos. Sería interesante que futuros estudios replicaran estos hallazgos en otros atletas susceptibles a trastornos del sueño y emocionales, como aquellos que viajan frecuentemente a nivel internacional para competiciones. Asimismo, futuros trabajos deberían centrarse en comprender los mecanismos subyacentes al vínculo entre el sistema circadiano y la depresión.

Capítulo II: Asociación causal entre los ritmos circadianos y la depresión

En el marco de la hipótesis de que la vespertinidad, el déficit en la duración de sueño y el insomnio se asocian de manera causal bidireccional con la depresión, en este capítulo se utiliza MR como herramienta estadística para estudiar relaciones causales en una muestra de más de 400.000 adultos del UKB, una base de datos biomédica que recoge información sobre la salud de individuos en el Reino Unido.

Esta hipótesis se pone a prueba a través de los siguientes objetivos específicos:

1. Revisar los criterios utilizados para seleccionar instrumentos genéticos en estudios de MR sobre rasgos de sueño, para identificar los principales aspectos a considerar en el proceso de selección (sección I).
2. Explorar la existencia de una asociación causal bidireccional entre los ritmos circadianos y la depresión utilizando MR (sección II).

Sección I: Selección de instrumentos genéticos en estudios de aleatorización mendeliana de rasgos de sueño

Publicación asociada: Paz, V., Dashti, H. S., Burgess, S., & Garfield, V. (2023). Selection of genetic instruments in Mendelian randomisation studies of sleep traits. *Sleep Medicine*, 112 (2). 342-351. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2023.10.036>

Objetivo

Revisar los criterios utilizados para seleccionar instrumentos genéticos en estudios de MR sobre rasgos de sueño, para identificar los principales aspectos a considerar en el proceso de selección.

Introducción

En esta sección del capítulo II se exploran por primera vez los criterios utilizados para la selección de instrumentos en estudios de MR sobre rasgos del sueño, discutiendo cómo esta elección impacta el análisis y algunos pasos importantes en el proceso de selección. Aunque existen varias guías para la realización de estudios de MR [179, 185, 186], estas no se han adoptado ampliamente en el campo de la epidemiología del sueño. Por ello, los investigadores que utilizan instrumentos genéticos para los rasgos del sueño en el contexto de estudios de MR han seguido enfoques diversos en el proceso de selección. Antes de continuar, es importante resaltar que el proceso de selección siempre dependerá del objetivo de la investigación y del factor de riesgo específico bajo estudio, y que, si bien esta sección se centra en los estudios de MR sobre rasgos del sueño, muchos de los aspectos discutidos aquí son aplicables a otros fenotipos. Además, es necesario mencionar

que aunque la MR ha sido particularmente útil para comprender el papel causal de los fenotipos del sueño en varios resultados de salud, también deben emplearse otros métodos causales con fines de replicación y triangulación [263]. A continuación se presentarán los criterios comúnmente utilizados para seleccionar instrumentos genéticos en estudios de MR para rasgos del sueño (Figura 16).

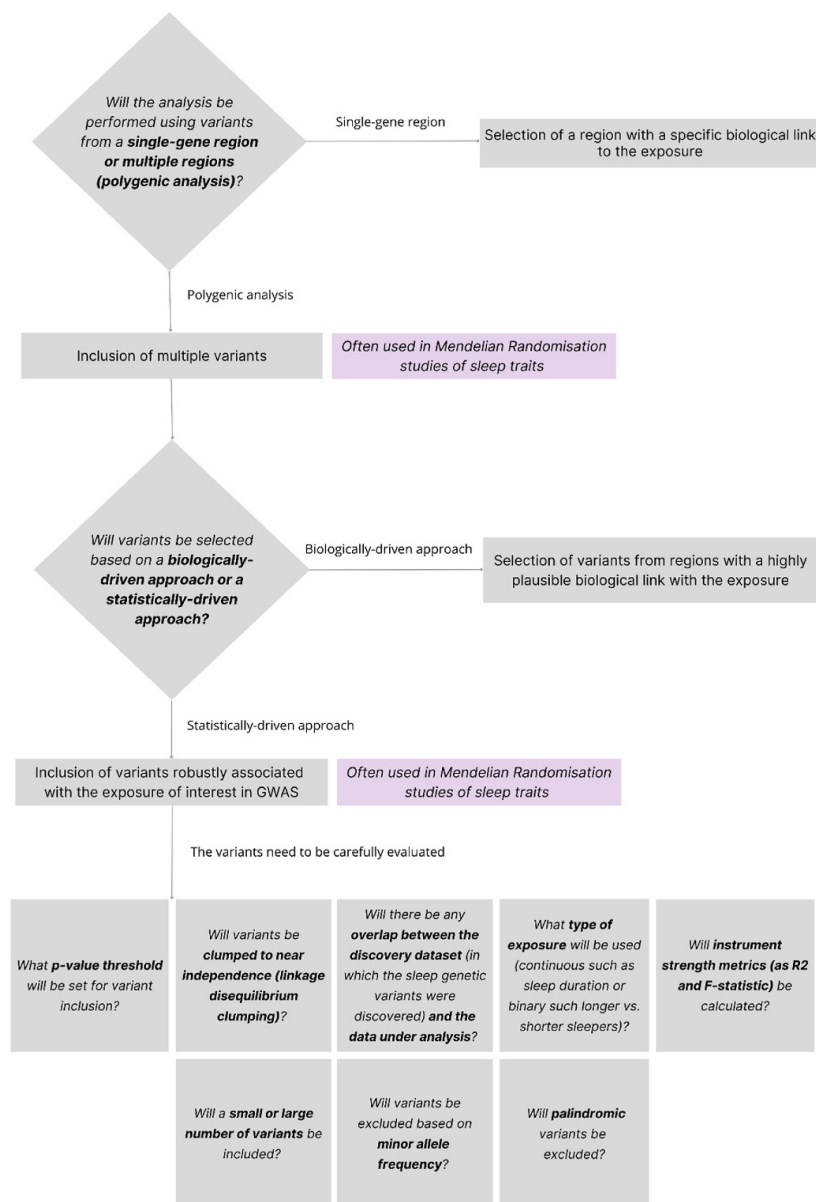


Figura 16. Diagrama de flujo con los aspectos principales a considerar. Se presentan los aspectos claves a tomar en consideración al seleccionar instrumentos genéticos del sueño en estudios de MR. Figura extraída de Paz, Dashti, Burgess & Garfield (2023) [264]

Criterios utilizados para seleccionar los instrumentos genéticos

Análisis de una región génica única vs. análisis poligénico

El primer paso en la selección de instrumentos es decidir si el análisis se llevará a cabo utilizando variantes de una única región génica o de múltiples regiones (análisis poligénico). Cuando se ha identificado que una región específica tiene un vínculo biológico particular con el factor de riesgo, la selección generalmente se centra en estas variantes [179]. Este enfoque tiene la ventaja de la especificidad, lo que hace que el estudio de MR sea más plausible [265]. Sin embargo, para factores de riesgo complejos como el sueño, ninguna región génica única codifica este factor de riesgo [266]. De hecho, numerosos GWAS sobre el sueño en adultos han identificado múltiples variantes genéticas, lo que indica que el sueño es un rasgo altamente poligénico. Por ejemplo, en un estudio reciente, se reportaron 554 loci de riesgo asociados con el insomnio [181]. Por lo tanto, el análisis poligénico se utiliza con frecuencia en los estudios de MR sobre rasgos del sueño.

El análisis poligénico supone la inclusión de múltiples variantes [179]. Si todas las variantes son instrumentos válidos, se maximiza el poder estadístico, ya que cada SNP contribuye de forma incremental en los niveles del biomarcador [185, 265]. En el caso del sueño, ya que las variantes genéticas comunes individuales tienen efectos pequeños, el enfoque poligénico generalmente tiene mayor potencia para detectar un efecto que el enfoque de una región génica única [179].

Análisis poligénico: enfoque basado en la biología vs. enfoque basado en la estadística

En un análisis poligénico, se puede optar por uno de dos enfoques para seleccionar las variantes genéticas: un enfoque basado en la biología o uno basado en la estadística [179]. El enfoque biológico implica seleccionar variantes de regiones con un vínculo biológico altamente plausible con el factor de riesgo de interés [179, 185]. La ventaja de este enfoque es que estos instrumentos pueden ser menos susceptibles a la pleiotropía horizontal (fenómeno en el cual la variante genética influye en el resultado de manera independiente del factor de riesgo) [185]. Sin embargo, la comprensión biológica rara vez es infalible [179], y la base biológica del sueño en humanos no está completamente comprendida [267]. Por ello, la selección de instrumentos suele realizarse utilizando un enfoque basado en la estadística [268] o una combinación de ambos enfoques [179].

El enfoque basado en la estadística aprovecha la creciente disponibilidad de SNP asociados con factores de riesgo específicos en GWAS [185]. Por esta razón, los autores tienden a buscar el GWAS más reciente y amplio disponible, y seleccionar SNP que estén robustamente asociados con el factor de riesgo de interés (primer supuesto de MR). Sin embargo, no debe asumirse que el estudio más reciente y amplio siempre proporcionará los mejores instrumentos. Por ejemplo, la mayoría de los GWAS publicados sobre rasgos del sueño se han realizado en muestras europeas y no realizan análisis según el sexo. No obstante, algunos GWAS se han realizado en otros grupos, incluidos hispanos, latinoamericanos [269] y muestras multiancestrales [180, 270–274]. Además, algunos han empleado análisis estratificados por sexo para estudiar la apnea obstructiva del sueño y el insomnio, ya que estos trastornos presentan un marcado dimorfismo sexual en su prevalencia [270, 275]. Sin embargo, es necesario investigar más para comprender con

mayor profundidad las diferencias relacionadas con el sexo en el sueño, las cuales se han asociado con la influencia de las hormonas sexuales en su regulación, entre otros [276].

Al usar un enfoque basado en estadística, es crucial evaluar cuidadosamente los SNP reportados. Brevemente, algunos criterios importantes para la selección de instrumentos, descritos en mayor detalle más adelante, incluyen: a) evaluar el número de variantes a incorporar, su valor p , la frecuencia del alelo menor (MAF, por las siglas en inglés de Minor Allele Frequency) y si son palindrómicas; b) seleccionar variantes independientes; c) evitar la superposición de muestras entre el GWAS en el que se descubrieron las variantes y los datos bajo estudio (cuando sea posible); d) priorizar GWAS con fenotipos bien medidos/definidos y determinar si usar un factor de riesgo continuo o binario; e) elegir variantes basándose en su fuerza total y promedio; y f) considerar factores de confusión en la relación entre el instrumento genético y el resultado. Si los instrumentos no son adecuados, podrían seleccionarse de un GWAS diferente, lo que incluso podría implicar optar por uno más antiguo. Además, combinar los SNP en un solo instrumento es otra opción si varios estudios reportan variantes adecuadas. Siempre que sea posible, se recomienda seleccionar SNP que luego de reportarse se hayan confirmado en otra cohorte, ya que es más probable que sean confiables.

En la Tabla 11 se presentan los GWAS más recientes sobre fenotipos del sueño (para una lista detallada de los SNP reportados en los GWAS, ver la Tabla Suplementaria 1 asociada a este trabajo en anexos). Cabe destacar que algunos rasgos del sueño aún carecen de instrumentos robustos. Este es el caso de la calidad del sueño y el sueño multidimensional [23, 277].

Tabla 11. GWAS de fenotipos asociados al sueño desde el año 2016.

Author (year ^a) [reference]	Phenotype	Phenotype measurement	N	Ancestry	Number of novel SNPs	Number of replicated SNPs from previous studies	Examples of health outcomes studied using these instruments
Cade et al. (2016) [68]	Obstructive sleep apnea	Apnea monitors and polysomnography	12,558	Hispanic/ Latino Americans	1 + 1 suggestive ($P < 5 \times 10^{-7}$) (Apnea-hypopnea index)/1 + 4 suggestive (Respiratory event duration)/2 suggestive (Sleep Sp O2)	–	Cancer [28]
Hu et al. (2016) [104]	Morningness	Self-reported questions	89,283	European	15	–	Inflammatory bowel disease [22]
Jones et al. (2016) [105]	Morningness and sleep duration	Self-reported question	128,266	European (validation in Koreans)	10 (morningness) + 2 suggestive ($P < 1 \times 10^{-4}$)/3 (sleep duration)	3 + 1 suggestive from Lane et al. (2016) (morningness)	Caffeine consumption [60]
Lane et al. (2016) [106]	Chronotype	Self-reported question	100,420	European	12	–	–
Hammerschlag et al. (2017) [75]	Insomnia symptoms	Self-reported question validated with questionnaires and a structured interview	113,006	European	11 + 2 suggestive ($P < 2 \times 10^{-3}$)	1 + 1 suggestive from Lane et al. (2017)	Caffeine consumption [60]; Peptic ulcer disease [40]
Lane et al. (2017) [107]	Sleep duration, insomnia symptoms, excessive daytime sleepiness & composite sleep trait ^b	Self-reported questions	112,586	European	1 + 3 suggestive ($P < 5 \times 10^{-7}$) (sleep duration)/5 + 3 suggestive (insomnia symptoms)/3 + 7 suggestive (excessive daytime sleepiness)/3	1 suggestive from Jones et al. (2016) (sleep duration)/3 from Jones et al. (2016) & Lane et al. (2016) (composite sleep trait)	–
Schormair et al. (2017) [108]	Restless legs syndrome	Interviews and self- reported question	110,851	European	19	1 from Lane et al. (2017)	Parkinson's disease [53]; Essential tremor [109]
Chen et al. (2018) [69]	Obstructive sleep apnea	Polysomnography	19,733	Multi- ancestry	23 suggestive ($P < 1.0 \times 10^{-6}$) (Apnea-Hypopnea Index total)/10 suggestive (Apnea-Hypopnea Index- Non-Rapid Eye Movement)/7 suggestive (Apnea-Hypopnea Index- Rapid Eye Movement).	1 suggestive from Cade et al. (2016) (Apnea-Hypopnea Index total)	Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Neurodegenerative diseases [24]; Parkinson's disease [57]
Doherty et al. (2018) [91]	Sleep duration	Accelerometer data	91,105	European	7	1 from Lane et al. (2017)	–
Ferguson et al. (2018) [110]	Low relative amplitude	Accelerometer data	71,500	European	3	–	–
Stein et al. (2018) [73]	Insomnia disorder	Questionnaire	17,651	Multi- ancestry	4 + 8 suggestive ($P < 1 \times 10^{-6}$)	–	–
Dashti et al. (2019) [6]	Sleep duration	Self-reported question supported by accelerometer data	446,118	European	77	1 from Jones et al. (2019)	Alzheimer's disease [17, 111]; Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Atrial fibrillation [41]; Cancer [59,112]; Cardiovascular diseases [15]; COVID-19 [44]; Dietary intake [16]; Fracture [58]; Glycated hemoglobin [30]; Heart failure [41]; Heel bone mineral density [20]; Intracranial aneurysm and Aneurysmal subarachnoid hemorrhage [55]; Ischemic stroke [113]; Longevity [50]; Major depressive disorder [111]; Metabolomic traits [18]; Migraine [114]; Osteoarthritis [33]; Parkinson's disease [57]; Periodontal disease [43]; Renal function [32]; Stroke [37]
Jansen et al. (2019) [8]	Insomnia symptoms	Self-reported question	1,331,010	European	243	5 from Jones et al. (2016, 2019), Lane et al. (2017) & Doherty et al. (2018)	Asthma [29]; Body composition [52]; Cancer [35,51]; Cardiovascular conditions [31,39];

Author (year ^a) [reference]	Phenotype	Phenotype measurement	N	Ancestry	Number of novel SNPs	Number of replicated SNPs from previous studies	Examples of health outcomes studied using these instruments
Jones et al. (2019) [7]	Morningness	Self-reported question	697,828	European	344	7 from Hu et al. (2016), Lane et al. (2016, 2017) & Jones et al. (2016)	Depressive symptoms [42]; Fracture [58]; Hypertension [115]; Intracranial aneurysm and Aneurysmal subarachnoid hemorrhage [55]; Longevity [50]; Major depressive disorder [116]; Metabolomic traits [18]; Migraine [23]; Osteoarthritis [33]; Pain diagnoses [19]; Subjective well-being [42]; Suicidal behavior [46] Alzheimer's disease [17, 111]; Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Cancer [36, 51,112]; COVID-19 [44]; Depressive symptoms [34]; Food intake [26]; Fracture [58]; General anxiety disorder [34]; General wellbeing [34]; Glycated hemoglobin [30]; Heel bone mineral density [20]; Inflammatory bowel disease [22]; Ischemic stroke [113]; Major depressive disorder [25, 34,111]; Metabolomic traits [18]; Migraine [114]; Neurodegenerative diseases [24]; Parkinson's disease [57]
Jones et al. (2019) [117]	Sleep traits derived by accelerometer data	Accelerometer data	85,670	European	9 (sleep duration)/1 (sleep midpoint)/4 (sleep efficiency)/20 (number of sleep episodes).	2 from Lane et al. (2017) & Doherty et al. (2018) (sleep duration)/1 from Lane et al. (2017) (sleep efficiency)/1 from Jansen et al. (2019) (number of sleep episodes).	Alzheimer's disease [17, 111]; Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Cancer [36]; Major depressive disorder [111]; Neurodegenerative diseases [24]; Parkinson's disease [57]
Lane et al. (2019) [93]	Insomnia symptoms	Self-reported question	453,379	European	51	6 from Lane et al. (2017), Doherty et al. (2018) & Jansen et al. (2019)	Alzheimer's disease [17, 111]; Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Cancer [112]; COVID-19 [44]; Heel bone mineral density [20]; Inflammatory bowel disease [22]; Ischemic stroke [113]; Major depressive disorder [111]; Migraine [114]; Neurodegenerative diseases [24]; Pain diagnoses [19]; Parkinson's disease [57]
Wang et al. (2019) [118]	Daytime sleepiness	Self-reported question	452,071	European	40	2 from Jones et al. (2016) & Jansen et al. (2019)	Alzheimer's disease [17]; Amyotrophic lateral sclerosis [57]; COVID-19 [44]; Glycated hemoglobin [30]; Heel bone mineral density [20]; Inflammatory bowel disease [22]; Migraine [114]; Neurodegenerative diseases [24]; Parkinson's disease [57]
Campos et al. (2020) [119]	Snoring	Self-reported question	408,000	European	41	–	Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Atrial fibrillation [54]; Body mass index [54]; Fracture [58]; Major depressive

Author (year ²) [reference]	Phenotype	Phenotype measurement	N	Ancestry	Number of novel SNPs	Number of replicated SNPs from previous studies	Examples of health outcomes studied using these instruments
Didriksen et al. (2020) [120]	Restless legs syndrome	Clinical diagnosis and questionnaire	480,982	European	3 + 2 suggestive at ($P < 7 \times 10^{-7}$)	20 from Lane et al. (2017) & Schormair et al. (2017)	disorder [56]; Parkinson's disease [57]
Farias Tempaku et al. (2020) [70]	Obstructive sleep apnea	Polysomnography	1074	Multi-ancestry	2 + 21 suggestive ($P < 5 \times 10^{-6}$)	–	–
Song et al. (2020) [90]	Insomnia disorder	Electronic health records	18,055	European	1	–	–
Dashti et al. (2021) [121]	Daytime napping	Self-reported question	452,633	European	119	4 from Jones et al. (2016, 2019) & Jansen et al. (2019)	COVID-19 [44]; Dietary intake [16]; Glycated hemoglobin [30]; Inflammatory bowel disease [22]; Migraine [114]
Khoury et al. (2021) [71]	Sleep quality	Questionnaire	2868	Multi-ancestry	3 + 11 suggestive ($P \leq 5 \times 10^{-7}$)	–	–
Strausz et al. (2021) [122]	Obstructive sleep apnea	Electronic health records	217,955	European	5	–	Atrial fibrillation [21]
Yao et al. (2022) [123]	Sleep health score ³	Self-reported questions	336,463	European	31	1 from Lane et al. (2017)	–
Watanabe et al. (2022) [65]	Insomnia symptoms	Self-reported questions	2,365,010	European	364	190 from Jansen et al. (2019), Lane et al. (2017, 2019) & Hammerschlag et al. (2017)	Sepsis [124]
Austin-Zimmerman et al. (2023) [74]	Sleep duration	Self-reported questions	493,142	Multi-ancestry	71 (short sleep duration)	13 (short sleep duration) + 1 (long sleep duration) from Gottlieb et al. (2015) & Song et al. (2020)	–

¹ Se informan estudios desde 2016 porque en ese momento hubo una proliferación de GWAS sobre fenotipos del sueño (anteriormente, la mayoría de los estudios se realizaban sobre el síndrome de piernas inquietas). ² Rasgo compuesto de la duración del sueño, síntomas de insomnio, somnolencia excesiva durante el día y cronotipo. ³ Evaluación general de la duración del sueño, ronquidos, síntomas de insomnio, cronotipo y somnolencia diurna.

Figura extraída de Paz, Dashti, Burgess & Garfield (2023) [264]

Valor p

Un enfoque estadístico común, y generalmente el primer paso en los estudios de MR, consiste en evaluar el nivel de significancia estadística de las variantes genéticas asociadas con el factor de riesgo de interés e incluir todas las variantes que cumplan un determinado nivel de significancia. El umbral convencional es $p < 5 \times 10^{-8}$ [179]. Este umbral equivale a $p < 0,05$ cuando se corrige por pruebas múltiples mediante la corrección de Bonferroni para todos los SNP en el genoma humano y, por ello, se denomina "nivel de significancia a escala genómica". Se ha demostrado que el uso de este umbral conduce a resultados robustos [278]. No obstante, debido a la aparición reciente de GWAS con muestras más grandes, que han sido posibles gracias al acceso a grandes bases de datos, se han propuesto cambios para disminuir la probabilidad de asociaciones falso-positivas, sugiriendo un umbral más estricto de $p < 5 \times 10^{-9}$. Sin embargo, los estudios más recientes de MR sobre rasgos del sueño han seleccionado variantes utilizando el umbral tradicional [279–282].

En el campo del sueño, algunos de los primeros GWAS publicados identificaron variantes genéticas asociadas con el síndrome de piernas inquietas, un trastorno neurológico que causa movimientos involuntarios de las piernas durante el sueño [283, 284]. Recientemente, un GWAS reportó que algunas de las variantes previamente asociadas con este síndrome no alcanzaron significancia a nivel genómico, destacando la importancia de usar umbrales más estrictos [285]. Aunque es importante considerar el umbral del valor p, este no es el único factor a tener en cuenta al seleccionar variantes para un estudio de MR. Las siguientes secciones analizarán otros pasos necesarios para evaluar si las variantes son instrumentos genéticos válidos.

Agrupamiento por desequilibrio de ligamiento

El desequilibrio de ligamiento (LD, por las siglas en inglés de Linkage Disequilibrium) se refiere a la correlación entre SNP en diferentes posiciones, un fenómeno que ocurre debido a la proximidad física de las variantes en el cromosoma [286]. En los GWAS, las variantes reportadas a menudo se "agrupan" para alcanzar una independencia aproximada utilizando umbrales basados en la distancia o en la correlación [268].

El enfoque basado en la distancia consiste en seleccionar variantes que estén separadas por una cierta distancia (generalmente 500.000 pares de bases = 500 kilobases). Por otro lado, el enfoque basado en la correlación incluye solo aquellas variantes que están correlacionadas bajo un umbral determinado (habitualmente $r^2 < 0,01$, $0,1$ o $0,2$) [268]. Aplicando este enfoque, Broberg et al. (2021) (19), en su estudio sobre la asociación entre el insomnio y el dolor, usaron un umbral primario de $r^2 = 0,6$ y un umbral secundario de $r^2 = 0,1$. Por su parte, Culel et al. (2021) [287] y Zhou et al. (2021) [197] agruparon variantes genéticas utilizando ambos criterios, considerando un $r^2 < 0,001$ y una distancia de 10.000 kb, un enfoque más conservador.

Es crucial considerar el LD al seleccionar las variantes, ya que podría violar los supuestos fundamentales de la MR. Las variantes genéticas correlacionadas con las variantes seleccionadas podrían tener efectos en factores de riesgo competidores. Herramientas como LDkit (un software con interfaz gráfica) o PLINK (un conjunto de herramientas de código abierto en C/C++) pueden utilizarse para calcular el LD [288, 289]. Probar la

asociación de posibles factores de confusión en las variantes podría reducir las preocupaciones sobre inferencias inválidas debido al LD [268].

Superposición de muestras

Al seleccionar un GWAS, es fundamental comprender en detalle la muestra analizada, ya que el uso de variantes genéticas descubiertas en la misma muestra que los datos bajo estudio puede generar un sesgo conocido como "maldición del ganador" (en inglés "winner's curse"). Este sesgo implica una sobreestimación de la variante más fuerte en los datos analizados [290]. Generalmente, esta sobreestimación ocurre cuando las asociaciones con los factores de confusión son más fuertes de lo esperado por azar. Por lo tanto, una superposición entre la muestra en la que se descubrieron las variantes genéticas y los datos bajo análisis puede sobreestimar las asociaciones entre variantes y resultados, conduciendo a falsos positivos [268]. Para abordar este problema, Liu et al. (2022) [280] excluyeron los participantes del UKB de su muestra de pacientes con COVID-19, ya que sus factores de riesgo (fenotipos de sueño y circadianos) se derivaron de esta misma base de datos.

La situación ideal para evitar este sesgo es contar con dos conjuntos de datos no superpuestos, conocido como "MR de dos muestras" (en inglés "Two-sample MR") [179]. MR-Base, una plataforma que integra una base de datos con resultados de GWAS con una interfaz de programación de aplicaciones, una aplicación web y paquetes de R, permite automatizar este tipo de análisis [291]. Sin embargo, no siempre se dispone de conjuntos de datos diferentes con el tamaño muestral necesario para realizar el análisis de MR.

Para mitigar los posibles problemas asociados con la superposición de muestras, existen varias alternativas que buscan equilibrar el riesgo de estimaciones imprecisas [268]. Una opción es calcular el sesgo debido a la superposición de muestras, lo cual puede realizarse mediante las fórmulas propuestas por Burgess, Davies y Thompson (2016) [292]. Henry et al. (2019) [293] implementan este método en su estudio de MR sobre el impacto de la duración del sueño en la cognición. En otro estudio sobre la asociación del insomnio con síntomas depresivos y bienestar subjetivo, Zhou et al. (2021) [197] también calcularon el sesgo por superposición de muestras, encontrando que este oscilaba entre el 3 y el 14%.

Otra solución es realizar el análisis de MR utilizando un instrumento genético reducido replicado en una cohorte independiente. Este enfoque puede ser una buena alternativa como análisis de sensibilidad para estudios que no pueden evitar la superposición de muestras. En un estudio de MR asociado a esta tesis, que examinó la asociación entre la siesta diurna habitual (utilizando 92 SNP), la función cognitiva y el volumen cerebral, se replicaron los hallazgos con un instrumento reducido de 17 SNP replicado en una cohorte independiente ("23andMe"), sin superposición con la muestra analítica del UKB [294]. Los análisis adicionales con este instrumento reducido fueron, en gran medida, consistentes con los hallazgos principales. De mi conocimiento, no existen otros estudios que hayan utilizado este enfoque con instrumentos genéticos de rasgos de sueño. Sin embargo, un estudio que investigó la relación entre la glucemia y la función cognitiva, la estructura cerebral y la incidencia de demencia utilizó un instrumento genético reducido para diabetes a fin de evitar el sesgo de "maldición del ganador" [295].

Tipo de factores de riesgo

Al decidir qué GWAS seleccionar, es crucial priorizar fenotipos bien medidos y definidos para identificar los instrumentos genéticos. Un aspecto clave a considerar es si el fenotipo se midió utilizando datos autoinformados o un método objetivo (por ejemplo, datos derivados de actimetría). Muchos de los GWAS sobre rasgos de sueño disponibles se basan en preguntas autoinformadas, pero algunos han utilizado y/o se han replicado con datos derivados de actimetría, polisomnografía o registros médicos electrónicos [270, 296, 297]. Además, aquellos que utilizan datos autoinformados a veces tienen el respaldo de medidas objetivas. Por ejemplo, Dashti et al. (2019) [92] probaron si los 78 loci encontrados para la duración habitual del sueño autoinformada (usando una pregunta sobre las horas de sueño) en su GWAS también estaban asociados con estimaciones de sueño derivadas de actimetría. Otro estudio de Dashti et al. (2019) [203] encontró que las variantes también eran válidas cuando la duración del sueño se determinaba por los horarios de acostarse y despertarse. Idealmente, se deben seleccionar los instrumentos genéticos descubiertos y replicados en función de datos objetivos.

Es fundamental también entender cómo se analizó el factor de riesgo. Por ejemplo, Lane et al. (2019) [191] realizaron dos GWAS paralelos para los síntomas frecuentes y cualquier síntoma de insomnio en función de las respuestas de los participantes a la pregunta “¿Tiene problemas para quedarse dormido por la noche o se despierta a media noche?”. Para el insomnio frecuente, consideraron a los participantes que respondieron “generalmente” como casos y “nunca/raramente” como controles, excluyendo a quienes respondieron “a veces”. Para cualquier síntoma de insomnio, consideraron como casos a los que respondieron “algunas veces” o “generalmente” y como controles a los que

respondieron “nunca/raramente”. Por el contrario, un GWAS de Jansen et al. (2019) [198], usando la misma pregunta, definieron los casos de insomnio como los participantes que respondieron “generalmente”, mientras que los que respondieron “nunca/raramente” o “a veces” fueron considerados controles. En este ejemplo, los síntomas de insomnio se analizan de tres formas diferentes usando la misma pregunta subyacente. Comprender cómo se midió el factor de riesgo es crucial para interpretar adecuadamente los resultados.

Otro aspecto crucial en la selección de los instrumentos genéticos es si el factor de riesgo es continuo o binario. Está bien establecido que las medidas continuas deben usarse cuando sea posible en estudios de MR [298]. Sin embargo, el uso de factores de riesgo continuos tiene la limitación de que, a veces, los estudios de MR buscan probar si un trastorno particular (por ejemplo, el trastorno de insomnio) podría estar relacionado causalmente con un resultado específico. Además, algunos rasgos de sueño se consideran a menudo binarios: cronotipo (matutino vs. vespertino), siestas (frecuente vs. infrecuente), y duración (corta vs. larga), entre otros. En el caso de usar un factor de riesgo binario, es importante ser consciente de sus limitaciones. El artículo de Burgess y Labrecque (2018) [298] explica que el problema surge cuando se utiliza un factor de riesgo binario que dicotomiza una variable continua (por ejemplo, el sueño corto/largo que proviene de la duración del sueño dicotomizada). En los casos de estudios de MR que usan estos tipos de factores de riesgo, los resultados deben conceptualizarse en términos del factor de riesgo continuo subyacente.

Métricas de fuerza total (R^2) y fuerza promedio (estadístico F)

La selección de instrumentos genéticos se lleva a cabo con frecuencia considerando el tamaño del efecto de cada variante para evitar el sesgo de instrumentos débiles. Este sesgo puede ocurrir cuando los instrumentos genéticos explican una proporción pequeña de la varianza en el factor de riesgo. Los instrumentos débiles pueden conducir a resultados no robustos y sesgar las estimaciones hacia la estimación observacional [299].

Algunos de los indicadores de efecto más comúnmente utilizados son la proporción de la varianza fenotípica explicada por todos los SNP significativos (R^2) y el estadístico F obtenido al realizar una regresión lineal multivariable del factor de riesgo sobre el instrumento genético [186]. El R^2 proporciona información sobre la fuerza total de la variante genética, y generalmente, cuanto mayor sea, mejor. Swerdlow et al. (2016) [186] argumentan que el R^2 es el indicador de efecto más útil cuando se seleccionan instrumentos genéticos para el análisis de MR. Sin embargo, el estadístico F proporciona información sobre la fuerza promedio del instrumento, con un $F > 10$ indicando que es poco probable que ocurra un sesgo considerable por instrumentos débiles [299].

Existen varias opciones para obtener los estadísticos F. Si están disponibles los datos a nivel individual para el factor de riesgo, se puede realizar una “regresión con datos a nivel individual” (en inglés “individual-level data regression”). Sin embargo, si no se disponen de estos datos y se puede obtener el R^2 del factor de riesgo del GWAS, se puede usar el método Cragg-Donald para calcular el estadístico F (95). Este método utiliza el R^2 , el tamaño de la muestra (n) y el número de instrumentos (k) para calcular el estadístico ($F = (n - k - 1 / k) (R^2 / (1 - R^2))$) [268]. Liu et al. (2021) [300] utilizaron esta fórmula, reportando

un estadístico F de 143,24 en su estudio sobre la asociación entre el insomnio y las enfermedades cardiovasculares.

Cuando el R^2 es desconocido, se puede usar el método “t-statistic summary-level” ($F=\beta^2/SE^2$). En este caso, el estadístico F será una aproximación porque utiliza el tamaño de la muestra del GWAS de descubrimiento, no el de los datos bajo análisis. Finalmente, el paquete R “MendelianRandomization” permite calcular el estadístico F [301].

Número de SNP

Los estudios de MR que incluyen grandes números de variantes genéticas están en rápido aumento. Este crecimiento está relacionado con la proliferación de los GWAS y el deseo de obtener estimaciones más precisas. Sin embargo, como se discutió previamente, no todas las variantes son instrumentos válidos [302], y un conjunto amplio de instrumentos genéticos no siempre es mejor [179]. Seleccionar un gran número de variantes podría llevar a un R^2 más grande, pero a un estadístico F más débil y a mayores probabilidades de incluir variantes pleiotrópicas, lo que violaría un supuesto central de la MR. Incluir más variantes también permite el uso de métodos más robustos, incluidos análisis de sensibilidad comunes como la prueba MR-Egger. Por el contrario, menos variantes llevarán a un R^2 más bajo, pero potencialmente a un mayor estadístico F, lo que podría resultar en un instrumento con poder insuficiente [302].

Para entender cómo la fuerza del instrumento depende del número de SNP, se presenta el estudio de Liu et al. (2022) [279] sobre la relación entre los rasgos de sueño y la hemoglobina glicosilada (HbA1c) (Tabla 12). En este estudio, los estadísticos F para todos

los factores de riesgo fueron superiores a 10 (lo que indica una fuerza promedio adecuada), mientras que el R^2 osciló entre el 0,06 y el 2,09%. En el caso de la duración del sueño largo, incluir menos variantes ($n=5$) condujo a una baja fuerza total ($R^2=0,06\%$) pero a una buena fuerza promedio (estadístico $F=41$).

Information of the discovery GWAS						Two-sample MR		
Author (year) [reference]	Trait	n	Cohort	nSNPs identified	R^2	nSNPs merged	R^{2a}	F-statistics ^b
Jansen et al. (2019) [8]	Insomnia symptoms	1,331,010	UKB/23andMe	248	2.60 %	179	0.55 %	41
Dashti et al. (2019) [92]	Sleep duration	446,118	UKB	78	0.69 %	54	0.49 %	41
Dashti et al. (2019) [92]	Short sleep duration	411,934	UKB	27	–	20	0.13 %	27
Dashti et al. (2019) [92]	Long sleep duration	339,926	UKB	8	–	5	0.06 %	41
Wang et al. (2019) [118]	Daytime sleepiness	452,071	UKB	37	–	26	0.25 %	44
Dashti et al. (2021) [121]	Daytime napping	993,966	UKB/23andMe	108	1.10 %	71	0.56 %	79
Jones et al. (2019) [7]	Chronotype	697,828	UKB/23andMe	351	–	250	2.09 %	60

GWAS: Genome-wide association studies; nSNPs: number of single-nucleotide polymorphism; UKB: UK Biobank.

^a R^2 was calculated via $\text{Sum}(R^2_i) = K \cdot F_i / (N - K - 1 + K \cdot F_i)$, $K = 1$, $F_i = \text{BetaXGi}^2 / \text{seBetaXGi}^2$ (BetaXGi and seBetaXGi were obtained from the discovery GWAS).

^b F statistic was calculated via the Cragg-Donald method.

Tabla 12. Métricas de fuerza total y promedio de Liu. et al. (2022). Figura extraída de Paz, Dashti, Burgess & Garfield (2023) [264]

Frecuencia alélica menor (MAF) y variantes palindrómicas

La MAF es la proporción de alelos menores para un SNP en particular en una población específica [268]. En otras palabras, es la frecuencia con la que ocurre el segundo alelo más común. Generalmente, los GWAS identifican variantes comunes [303]; sin embargo, a veces se incluyen SNP con una distribución amplia de MAF. Algunos estudios de MR excluyen variantes con MAF baja, ya que las estimaciones causales de esas variantes pueden tener una baja precisión [302, 304]. Por ejemplo, Chen et al. (2021) [305] decidieron eliminar las variantes con $MAF < 1\%$ en su estudio sobre la asociación entre los rasgos de sueño y la baja densidad mineral ósea. No obstante, excluir variantes con baja MAF podría significar eliminar variantes asociadas con el factor de riesgo de interés. Por ejemplo, variantes de baja frecuencia en PERIOD3 se han asociado con el cronotipo [182] y el trastorno familiar de avance de fase [306].

Otro problema potencial son las variantes palindrómicas, que pueden introducir ambigüedad en la identificación del alelo de efecto. Un SNP palindrómico ocurre cuando los dos alelos posibles son pares de bases complementarias [291]. Se debe tener especial cuidado con las variantes palindrómicas, ya que los estudios pueden reportar los efectos del mismo SNP informando uno con alelos A/G y otro con alelos T/C. En esos casos, la ambigüedad puede identificarse si se informa la frecuencia del alelo de efecto y la MAF es sustancialmente inferior al 50% [307]. Por ejemplo, si un SNP específico tiene alelos A/T, con la frecuencia del alelo A siendo 0,11 en el GWAS y 0,91 en los datos bajo estudio (ambos codificando el alelo como el alelo de efecto) y ambos estudios tienen el mismo origen étnico, esto significa que los autores utilizaron referencias diferentes. En este caso, es necesario cambiar la dirección del efecto en el GWAS de descubrimiento o en la muestra analítica, un procedimiento denominado "armonización de variantes" [291].

Sin embargo, si no es posible verificar que los alelos están correctamente orientados, puede ser necesario tomar algunas precauciones [268]. Existen opciones para abordar este problema: reemplazar las variantes con proxies adecuadas de LD no palindrómicas, realizar análisis de sensibilidad para evaluar el impacto de estas variantes en los resultados o excluirlas [307]. Por ejemplo, en un estudio de Alimenti et al. (2021) [308] sobre el vínculo entre la duración del sueño, las siestas y la composición de macronutrientes, se excluyeron los SNP palindrómicos con MAF cercanos a 0,50 y los instrumentos palindrómicos restantes se alinearon según su MAF.

Factores de confusión

El tercer supuesto de MR establece que la asociación entre la variante genética y el resultado no debe estar sesgada por factores de confusión [309]. Las violaciones de este supuesto pueden deberse a por lo menos dos motivos. Una es la confusión por ancestría, la cual puede suceder si los SNP asociados con el factor de riesgo tienen frecuencias más altas/bajas en diferentes ancestrías y, además, las diferencias culturales afectan al resultado. Si esto sucede podría controlarse restringiendo la muestra a una única ancestría y/o ajustando los análisis por componentes principales de ancestría [268].

Una segunda fuente de confusión ocurre si los SNP asociados con el factor de riesgo de interés también están asociados con factores de confusión comunes en la relación estudiada. Una de las ventajas de MR es que aprovecha el hecho de que los genotipos generalmente no están asociados con factores de confusión. Sin embargo, tales asociaciones pueden ocurrir, especialmente cuando se utilizan instrumentos débiles o muestras pequeñas [268]. Por lo tanto, es importante probar si los instrumentos genéticos están asociados con los factores de confusión de la relación factor de riesgo-resultado [162].

Para abordar este problema, los autores deben primero identificar los factores de confusión comunes previamente reportados entre sus factores de riesgo y resultados. Por ejemplo, en el caso de la asociación entre la apnea obstructiva del sueño y la hipertensión, se proponen como dos de los principales factores de confusión en esta relación potencial al peso y la edad [310]. Para la asociación entre la duración del sueño y la mortalidad,

algunos autores han argumentado que la depresión es probablemente un factor de confusión de esta relación [311]. Por lo tanto, es esencial que, independientemente del factor de riesgo de interés, se revise la literatura para identificar los factores de confusión a considerar. Luego, se debe probar estadísticamente las asociaciones entre el instrumento genético y las variables reportadas en la literatura como posibles factores de confusión en la asociación factor de riesgo-resultado. Esto es crucial ya que la MR tiene como objetivo proporcionar estimaciones causales que no estén sesgadas por factores de confusión [268]. En el estudio de MR realizado por Henry et al. (2019) [293], los autores exploraron la validez de sus instrumentos probando las asociaciones con posibles factores de confusión como el sexo, la edad, el nivel educativo y el uso de medicamentos inductores del sueño.

Conclusiones

El objetivo de la sección I del capítulo II fue explorar los criterios utilizados para seleccionar instrumentos genéticos para los rasgos del sueño en el contexto de estudios de MR, discutiendo cómo la elección del instrumento impacta en el análisis. También se presentaron los GWAS de fenotipos del sueño publicados desde 2016 y se discutieron los estudios de MR que han utilizado instrumentos genéticos del sueño hasta la fecha. En este trabajo se destacó que la selección del instrumento es la decisión más importante al diseñar un estudio de MR y que esta se vuelve aún más crucial a medida que aumenta el número de variantes genéticas del sueño descubiertas en los GWAS. Se espera que este trabajo ayude a los investigadores a diseñar estudios de MR sólidos que continúen arrojando luz sobre el papel causal del sueño en diversos resultados de salud.

Sección II: Asociación entre los ritmos circadianos y la depresión: un estudio de aleatorización mendeliana bidireccional en el UK Biobank

Publicación asociada: Paz, V., Williams, D. M., Richards, M., Tassino, B., Silva, A., & Garfield, V. (2024). Association between circadian rhythms, sleep, and depression: a bidirectional Mendelian randomisation study in the UK Biobank. *medRxiv*
<https://doi.org/10.1101/2024.12.08.24318680>; en revisión en Molecular Psychiatry.

Objetivo

Explorar la existencia de una asociación causal bidireccional entre los ritmos circadianos y la depresión utilizando MR.

Métodos

Participantes

Los participantes del estudio provienen del UKB (proyecto #68232), una base de datos biomédica a gran escala que contiene datos fenotípicos y genéticos de más de 500.000 participantes de la población del Reino Unido, con edades entre 40 y 69 años al momento de la convocatoria (2006 a 2010) [312]. Se utilizaron datos de hasta 408.480 individuos británicos “blancos” definidos genéticamente (“white british” según la categoría de UKB), con datos fenotípicos y genotípicos de calidad. La edad media de los participantes fue de $56,9 \pm 8,0$ años, el 54,0% eran mujeres y el 19,9% pertenecían al quintil socioeconómico más bajo (Tabla 14).

Diseño del estudio

Este estudio utilizó un diseño denominado "Pseudo MR de dos muestras" (en inglés "Pseudo Two-sample MR") para estimar las asociaciones bidireccionales entre las variables circadianas y de sueño, la depresión y la ansiedad. Para ello, se utilizó una combinación de estimaciones de asociación genética derivadas de los datos individuales del UKB y estadísticas de GWAS, algunas de las cuales analizaron solo datos del UKB y otras que analizaron el UKB junto con otras bases de datos. Este estudio siguió las directrices "Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology Using Mendelian Randomization" [313].

Genotipificación y control de calidad

Un total de 487.409 participantes del UKB fueron genotipados utilizando una de dos arrays genómicas personalizadas imputadas con una combinación de los paneles de referencia UK10K, 1000 Genomes Fase 3 y el Haplotype Reference Consortium, lo que resultó en datos de 93.095.623 variantes autosómicas [314]. Luego, se aplicó un control de calidad adicional a nivel de variante y se excluyeron las variantes genéticas con valor de prueba exacta de Fisher $<0,3$, MAF $<1\%$, y una "missing call rate" $\geq 5\%$.

Los participantes fueron excluidos si tenían heterocigosidad excesiva o mínima, más de 10 posibles parientes de tercer grado según la matriz de parentesco, no daban el consentimiento para extraer su ADN, existían discrepancias entre el sexo autoinformado y el genético, faltaba información para el control de calidad o tenían ascendencia no europea [315] (según la ascendencia autoinformada y la similitud con su "ascendencia

genética" [316], según un análisis de componentes principales de su genotipo) (ver Lu et al. 2002 para las diferencias entre raza, etnia y ascendencia [317]).

Selección de instrumentos genéticos

Con el objetivo de analizar algunas de las dimensiones más relevantes del sueño (ubicación temporal, duración y calidad) [23], se seleccionaron instrumentos genéticos para la matutinidad, la duración del sueño y los síntomas de insomnio. La matutinidad se instrumentó utilizando variantes genéticas independientes (con un umbral de LD $r^2 \leq 0.3$) provenientes de un GWAS realizado por Jones et al. (2019) [182]. Las variantes fueron descubiertas en 697.828 participantes europeos utilizando datos del UKB y estadísticas de un GWAS realizado con datos de 23andMe (se utilizan solo las estadísticas del UKB). En la cohorte del UKB, se evaluaron las preferencias circadianas a partir de la pregunta "¿Se considera usted...?" administrada en el reclutamiento, con respuestas posibles de "Más vespertino que matutino" y "Definitivamente vespertino" codificadas como controles, y "Definitivamente matutino" y "Más matutino que vespertino" codificadas como casos ("No lo sabe" y "Prefiere no contestar" se codificaron como faltantes). Del total de encuestados, el 23,9% se identificó como "Definitivamente matutino", el 32,2% como "Más matutino que vespertino", el 25,6% como "Más vespertino que matutino", el 8,0% como "Definitivamente vespertino", y el 10,3% como "No lo sabe". De las 351 variantes descubiertas, se utilizaron 148.

La duración del sueño se instrumentó utilizando variantes genéticas independientes (con un umbral de LD $r^2 < 0.05$ y 1 Mb) descubiertas en un GWAS realizado en 2019 con 446.118 participantes europeos del UKB [203], que explicaron el 0,69% de la varianza en la duración

del sueño. Estas variantes se asociaron con la pregunta "¿Cuántas horas de sueño obtiene cada 24 horas? (incluyendo siestas)" administrada al momento del reclutamiento, con respuestas en incrementos horarios (los autores excluyeron respuestas <3 h o >18 h y las respuestas "No lo sabe" y "Prefiere no contestar" se codificaron como faltantes). Los autores reportaron una duración promedio del sueño de 7,2 horas. De las 78 variantes descubiertas, se utilizaron 74.

Los síntomas de insomnio fueron instrumentados utilizando 29 variantes genéticas independientes de un GWAS a gran escala previamente publicado [191]. Estas variantes fueron descubiertas en 453.379 participantes europeos del UKB, explicando el 1,0% de la varianza, basándose en la pregunta "¿Tiene problemas para quedarse dormido por la noche o se despierta en medio de la noche?" administrada al momento del reclutamiento, con posibles respuestas "Nunca/raramente" definidas como controles y "A veces" y "Usualmente" definidas como casos ("Prefiere no contestar" se codificó como faltante). Si los participantes pedían ayuda, se les mostraba el mensaje "si esto varía mucho, conteste esta pregunta en relación con las últimas 4 semanas". Del total de encuestados del UKB, el 23,9% respondió "Nunca/raramente" y el 76,1% "A veces" o "Usualmente". Los autores también realizaron otro GWAS para los síntomas frecuentes de insomnio que no se utilizaron aquí, ya que se decidió utilizar el GWAS de Jansen et al. (2019) [198] debido a su definición de casos y controles.

Los síntomas frecuentes de insomnio fueron instrumentados utilizando variantes genéticas independientes (con un umbral de LD $r^2 \leq 0,6$ y >250 kb) descubiertas en el GWAS de Jansen et al. (2019) [198]. Estas variantes fueron descubiertas en 1.331.010 participantes europeos del UKB y 23andMe combinadas y explicaron el 2,6% de la varianza. Las variantes

genéticas principales mostraron efectos concordantes en ambas muestras. Para los participantes del UKB, se utilizó la misma pregunta empleada en el GWAS de Lane et al. (2019) [191]. Las respuestas "Nunca/raramente" y "A veces" fueron definidas como controles, y "Usualmente" como casos. Para los participantes de 23andMe, los casos de insomnio fueron definidos como aquellos que afirmaron haber sido diagnosticados por un médico, tratados por insomnio, diagnosticados con trastornos del sueño, tener problemas frecuentes para quedarse dormidos por la noche, o haber usado medicación prescrita para dormir. Los controles fueron aquellos que no proporcionaron respuestas afirmativas o inciertas (por ejemplo, "No lo sé"; "No estoy seguro") a los problemas mencionados anteriormente, ni habían sido diagnosticados con narcolepsia, apnea del sueño, síndrome de piernas inquietas, trastorno de estrés postraumático, autismo o asperger. La prevalencia de insomnio fue del 28,3% en la muestra del UKB, del 30,5% en la muestra de 23andMe, y del 29,9% en la muestra combinada. De las 248 variantes descubiertas, se utilizaron 215.

La depresión se instrumentó utilizando variantes genéticas independientes descubiertas en dos GWAS a gran escala para aumentar el número de variantes válidas, siguiendo los criterios de la revisión presentada en la sección anterior. Wray et al. (2018) [318] realizaron un meta-análisis genómico en 480.359 europeos de siete cohortes diferentes (incluido el UKB), explicando el 1,9% de la varianza (con un umbral de LD $r^2 < 0.1$). Los casos (28,2%) se definieron como aquellos con un diagnóstico de depresión establecido mediante instrumentos diagnósticos estructurados de evaluaciones realizadas por entrevistadores entrenados, síntomas autoinformados, diagnóstico, tratamiento o registros médicos. Los controles (71,8%) fueron seleccionados aleatoriamente de la población, asegurándose de que no tuvieran historia de depresión. Las variantes de Howard et al. (2019) [319] fueron descubiertas en un meta-análisis genómico de 807.553 europeos de tres estudios a gran

escala (con un umbral de LD $r^2 < 0.1$ y 3 Mb). El análisis incluyó la cohorte 23andMe_307k [320], el UKB [321], y la cohorte PGC_139k [318] (se usaron solo las estadísticas del UKB). El fenotipo de la depresión incluyó depresión probable basado en síntomas depresivos autoinformados con discapacidad asociada, depresión identificada a partir de registros de hospitalización y la autoinformación de búsqueda de ayuda por problemas relacionados con nervios, ansiedad, tensión o depresión. Los controles representaron el 69,5% de la muestra total, mientras que los casos fueron el 30,5%. De las 146 variantes descubiertas, se utilizaron 39 variantes.

Siguiendo las directrices de la revisión presentada en la sección anterior [264], se seleccionaron los instrumentos genéticos para la matutinidad, la duración del sueño y los síntomas de insomnio (Tabla 13 y Tabla Suplementaria 1 asociada a este trabajo en anexos). Los instrumentos genéticos para la depresión fueron seleccionados siguiendo los mismos criterios. En particular, se excluyeron variantes correlacionadas utilizando LD con $r^2 < 0,01$ dentro de 250 kb. Solo se incluyeron variantes significativas ($p < 5 \times 10^{-8}$). Se excluyeron los instrumentos débiles, evaluados mediante las estadísticas F [299] utilizando la fórmula Cragg-Donald [268] o el método "t-statistic summary-level" cuando el R^2 era desconocido [264]. También se armonizaron las variantes genéticas. No se excluyeron variantes palindrómicas, ya que se utiliza principalmente una sola muestra. Finalmente, se calculó el posible sesgo debido a muestras superpuestas. Para calcularlo, se utilizó una calculadora en línea disponible en <https://sb452.shinyapps.io/overlap/> [292], asumiendo un 100% de superposición de muestras. Se estima que los sesgos fueron pequeños para todos los resultados analizados (valor absoluto de los sesgos $\leq 0,001$) con tasa de error tipo 1 = 0,05 (Tabla Suplementaria 2 asociada a este trabajo en anexos).

Tabla 13. Resumen de los instrumentos genéticos.

Autor (año) [referencia]	Fenotipo	Medición del fenotipo	N	Cohorte	nSNPs identificados	nSNPs seleccionados	Estadístico F ¹
Jones et al. (2019) [182]	Matutinidad	Do you consider yourself to be?: “more evening than morning” and “definitely evening” (controles) vs “definitely morning” and “more morning than evening” (casos)	697 828	UKB & 23andMe	351	148	47,7
Dashti et al. (2019) [203]	Duración de sueño	About how many hours sleep do you get in every 24 h? (please include naps) en incrementos de una hora	446 118	UKB	78	74	38,3
Lane et al. (2019) [191]	Síntomas de insomnio (alguno)	Do you have trouble falling asleep at night or do you wake up in the middle of the night?” (previous four weeks): “never/rarely” (controles) vs “sometimes” and “usually” (casos)	453 379	UKB	29	29	142,3
Jansen et al. (2019)	Síntomas de insomnio	Do you have trouble falling asleep at night or do you wake up in the middle of the night?” (previous	1 331 010	UKB & 23andMe	248	215	50,7

[198]	(frecuentes)	four weeks): “never/rarely” and “sometimes”					
		(controles) vs “usually” (casos)					
Wray et al.				UKB,			
(2018) [318]			480 359	deCODE,			
& Howard	Depresión	Diagnóstico clínico y medidas autoinformadas	/ 807	GenScotland,			
et al. (2019)			553	GERA,	44 / 102	27 / 12	38,9
[319]				iPSYCH,			
				23andMe &			
				PGC / UKB,			
				23andMe &			
				PGC			

¹ Las estadísticas F se calcularon utilizando la fórmula de Cragg-Donald para todos los instrumentos, excepto para la mañana y la depresión, para los cuales se calcularon utilizando el método de resumen de la ‘t-estadística’.

Figura extraída de Paz, Williams, Richards, Tassino, Silva & Garfield (2024) [322]

Variables circadianas y del sueño

Se seleccionaron los resultados para la matutinidad, la duración del sueño y los síntomas de insomnio en función de fenotipos similares a los factores de riesgo. Para la matutinidad, se utilizaron las mismas preguntas y categorías que Jones et al. (2019) [182]. Para la duración del sueño, se utilizó la pregunta de Dashti et al. (2019) [203], con respuestas en incrementos horarios, excluyendo los valores extremos de <2h o >12h según la distribución de respuestas. Para los síntomas de insomnio, se adoptó la misma pregunta y categorías del UKB que Lane et al. (2019) [191] para los síntomas de insomnio, y Jansen et al. (2019) [198] para los síntomas frecuentes de insomnio.

Variables de depresión

Para la depresión, se decidió de manera pragmática utilizar dos fenotipos: "diagnóstico" (resultado primario) y "diagnóstico o tratamiento" (resultado secundario). La categoría de diagnóstico estuvo compuesta por participantes que respondieron afirmativamente a la pregunta "¿Ha sido diagnosticado con uno o más de los siguientes problemas de salud mental por un profesional, aunque no lo tenga actualmente?: depresión", además de los participantes con depresión primaria o secundaria (leve, moderado, grave o recurrente sin síntomas psicóticos) identificada a partir de los registros hospitalarios.

La categoría de diagnóstico y tratamiento estuvo compuesta por participantes en la categoría de diagnóstico más aquellos que habían consumido alguna vez sustancias (medicación prescrita durante al menos dos semanas, medicación no prescrita más de una vez o drogas o alcohol más de una vez) o realizado ciertas actividades más de una vez (psicoterapia, asesoramiento, u otras actividades terapéuticas como mindfulness, yoga o clases de arte) para hacer frente a los

síntomas de la depresión (sentimientos prolongados de tristeza y/o anhedonia). Se incluyó este resultado secundario para aumentar la proporción de casos con el objetivo de replicar los resultados. Sin embargo, esta variable es menos precisa para evaluar la depresión en comparación con la primaria, ya que abarca un espectro amplio de estrategias terapéuticas para manejar los síntomas depresivos.

Variables de ansiedad

Considerando la comorbilidad entre depresión y ansiedad [73, 323], y el hecho de que Howard et al. (2019) [319] utilizaron un fenotipo que incluía conductas de búsqueda de ayuda relacionadas con la ansiedad, también se analizaron dos resultados relacionados con este fenotipo. Sin embargo, no se realizaron análisis bidireccionales ya que los SNP relacionados con la ansiedad no se han replicado con significación a nivel genómico [324].

La categoría de síntomas mixtos de ansiedad-depresión estuvo compuesta por participantes que respondieron afirmativamente a al menos una de las siguientes preguntas: “¿Alguna vez ha consultado a un médico general por nervios, ansiedad, tensión o depresión?” y “¿Alguna vez ha consultado a un psiquiatra por nervios, ansiedad, tensión o depresión?”. La categoría de trastornos de ansiedad estuvo compuesta por participantes que respondieron afirmativamente a la pregunta: “¿Ha sido diagnosticado con uno o más de los siguientes problemas de salud mental por un profesional, aunque no lo tenga actualmente?: “ansiedad, nervios o trastorno de ansiedad generalizada”. Esta categoría también incluyó a participantes con diagnóstico primario o secundario de trastorno de ansiedad generalizada identificado a partir de los registros hospitalarios.

1. Análisis principales

Se realizaron regresiones logísticas entre cada una de las variantes genéticas y los resultados (excepto para la duración del sueño como resultado, en cuyo caso se realizaron regresiones lineales), ajustando por 10 componentes principales para minimizar problemas de confusión residual por estratificación poblacional (para los análisis de depresión hacia la matutinidad, el insomnio y la duración del sueño, se corroboró que al ajustar por trastornos de ansiedad, los resultados se mantuvieran igual). Se implementó el análisis de regresión ponderada por la varianza inversa (IVW, por sus siglas en inglés de Inverse-variance weighting). El IVW, también conocido como “MR convencional”, estima el efecto de un factor de riesgo (por ejemplo, depresión) sobre un resultado (por ejemplo, insomnio) tomando un promedio de la relación entre variante y resultado ($\text{SNP} \rightarrow Y$) y variante y factor de riesgo ($\text{SNP} \rightarrow X$), calculada mediante los principios de un meta-análisis de efectos fijos [325].

También se implementaron análisis de sensibilidad estándar, incluyendo MR-Egger y el Estimador de Mediana Ponderada (WME). La regresión MR-Egger arroja un término de intercepto para denotar la presencia o ausencia de pleiotropía horizontal desequilibrada, y su estimador tiene en cuenta esta pleiotropía [302], mientras que el WME puede dar estimaciones más robustas cuando hasta el 50% de las variantes genéticas tienen pesos inválidos. Se examinó la consistencia en los tamaños de efecto y la superposición de los IC del 95% [326]. Los resultados se expresan como “odds ratios” (OR), que deben interpretarse como las probabilidades de tener el resultado por cada aumento de 1 logaritmo en las probabilidades del factor de riesgo. Solo para la duración del sueño como resultado, los resultados se expresan como coeficientes beta no estandarizados, los cuales deben interpretarse como diferencias en el resultado por cada

aumento de 1 unidad del factor de riesgo. Los análisis se realizaron utilizando PLINK 2.0 y el paquete "MendelianRandomization" [301] para R Studio versión 2022.02.0 [255].

2. Análisis adicionales

Siguiendo el mismo enfoque que para los análisis principales, se probó la asociación entre los factores de riesgo circadianos y de sueño con los resultados de síntomas mixtos de ansiedad-depresión y trastornos de ansiedad.

3. Prueba de supuestos de MR

a. Existe una asociación entre el instrumento genético y el factor de riesgo instrumentado (GWAS robusto): las variantes instrumentadas han sido asociadas de manera robusta con los fenotipos en los GWAS recientes.

b. No existe una asociación entre los instrumentos genéticos y el resultado más allá del factor de riesgo en estudio (sin pleiotropía horizontal): se implementaron análisis de sensibilidad con MR-Egger y WME para probar este supuesto.

c. No interfieren factores de confusión en la asociación SNP-resultado (por ejemplo debido a estratificación poblacional, apareamiento asortativo o efectos dinásticos): una forma directa de probar este supuesto es examinar las asociaciones entre los SNP y los factores de confusión comunes en la relación estudiada. Así, se realizaron regresiones de varias covariables sobre los principales instrumentos utilizando una corrección de pruebas múltiples de Bonferroni de $0,05/n_{\text{SNP}}$. La lista de covariables seleccionadas se basó en la literatura reciente [327–329] e incluyó edad, sexo (femenino, masculino), años de educación universitaria completa, nivel

socioeconómico (quintiles de privación de Townsend), estado de tabaquismo (nunca o anterior vs. fumador actual), estado de consumo de alcohol (nunca o anterior vs. consumidor actual), índice de masa corporal (kg/m²) y actividad física (días de actividad moderada por más de 10 minutos).

Resultados

Tabla 14. Características de la muestra.

Covariables	
Edad (media/DE)	56,9 (8,0)
Sexo (% femenino)	54,0%
Townsend - quintil más deprivado (%)	19,9%
Años de educación completos (media/DE)	14,8 (5,1)
Fumar - Actual (%)	10,1%
Consumir alcohol - Actual (%)	93,3%
índice de masa corporal - kg/m ² (media/DE)	27,2 (4,3)
Actividad física moderada - días (media/DE)	3,6 (2,3)
Variables	
Matutinidad - Definitivamente matutino/Más matutino que vespertino (%)	56,2%
Duración de sueño - horas (media/DE)	7,2 (1,1)
Síntomas de insomnio (alguno) - A veces/Usualmente (%)	76,2%
Síntomas de insomnio (frecuentes) - Usualmente (%)	28,6%

Depresión (diagnóstico) (%)	5,6%
Depresión (diagnóstico/tratamiento) (%)	12,5%
Síntomas mixtos de ansiedad y depresión (%)	34,9%
Trastornos de ansiedad (%)	1,9%

DE: Desviación estándar. Nota: Los porcentajes representan el número de casos. El 4,8% de los participantes tienen tanto "depresión (diagnóstico)" como "síntomas mixtos de ansiedad y depresión"; el 8,5% de los participantes tienen tanto "depresión (diagnóstico/tratamiento)" como "síntomas mixtos de ansiedad y depresión"; el 0,002% de los participantes tienen tanto "depresión (diagnóstico)" como "trastornos de ansiedad"; el 1,2% de los participantes tienen tanto "depresión (diagnóstico/tratamiento)" como "trastornos de ansiedad"; el 1,3% de los participantes tienen tanto "síntomas mixtos de ansiedad y depresión" como "trastornos de ansiedad".

Figura extraída de Paz, Williams, Richards, Tassino, Silva & Garfield (2024) [322]

1. Resultados principales de MR

1.1. Asociaciones entre la matutinidad y la depresión

No se encontraron asociaciones entre la matutinidad predicha genéticamente y el diagnóstico de depresión (OR=0,96, IC del 95%=0,87; 1,06) (Figura 17a, Tablas Suplementarias 3 y 7 asociadas a este trabajo en anexos). Se encontraron asociaciones entre la matutinidad predicha genéticamente y menores probabilidades de tener un diagnóstico o tratamiento de depresión solo con el WME (OR=0,89, IC del 95%=0,80; 0,98) (Figura 17b, Tablas Suplementarias 3 y 7 asociadas a este trabajo en anexos). No se encontraron asociaciones entre la depresión predicha genéticamente y la matutinidad (OR=1,01, IC del 95%=0,90; 1,14) (Figura 17c, Tablas Suplementarias 3 y 7 asociadas a este trabajo en anexos).

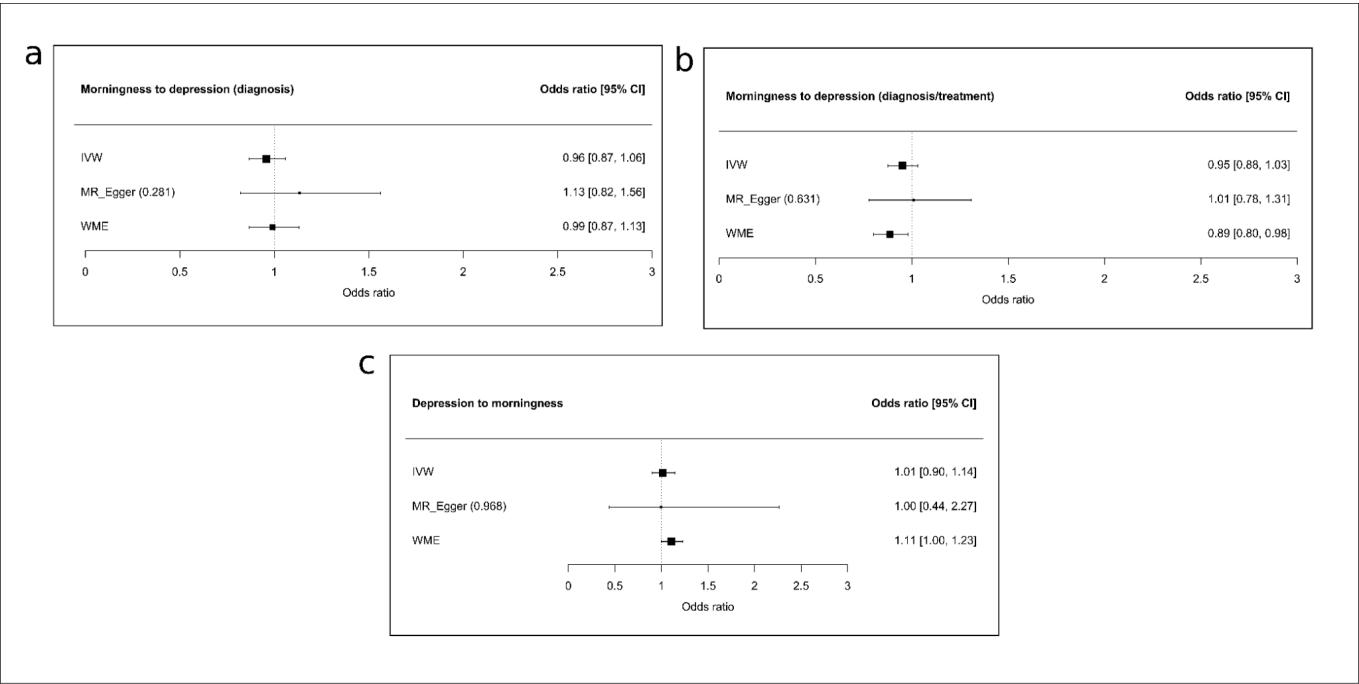


Figura 17. Asociaciones entre matutinidad y depresión. a) Matutinidad a depresión (diagnóstico). b) Matutinidad a depresión (diagnóstico y tratamiento). c) Depresión a matutinidad. IVW: regresión ponderada por la varianza inversa; WME: estimador de mediana ponderada; 95% IC: intervalo de confianza del 95%. Odds ratio: probabilidades de tener el resultado por un incremento de 1 log-odd en el factor de riesgo. Figura extraída de Paz, Williams, Richards, Tassino, Silva & Garfield (2024) [322]

1.2. Asociaciones entre la duración del sueño y la depresión

No se encontraron asociaciones entre la duración del sueño predicha genéticamente y el diagnóstico de depresión (OR=0,97, IC del 95%=0,80; 1,18) (Figura 18a y Tablas Suplementarias 4 y 7 asociadas a este trabajo en anexos) ni entre la duración del sueño y el diagnóstico o tratamiento de la depresión (OR=0,94, IC del 95%=0,80; 1.10) (Figura 18b y Tablas Suplementarias 4 y 7 asociadas a este trabajo en anexos). Los resultados mostraron una asociación entre la depresión predicha genéticamente y una menor duración del sueño solo con el WME (β =-4,67 minutos, IC del 95%=-7,44; -1,89) (Figura 18c y Tablas Suplementarias 4 y 7 asociadas a este trabajo en anexos).

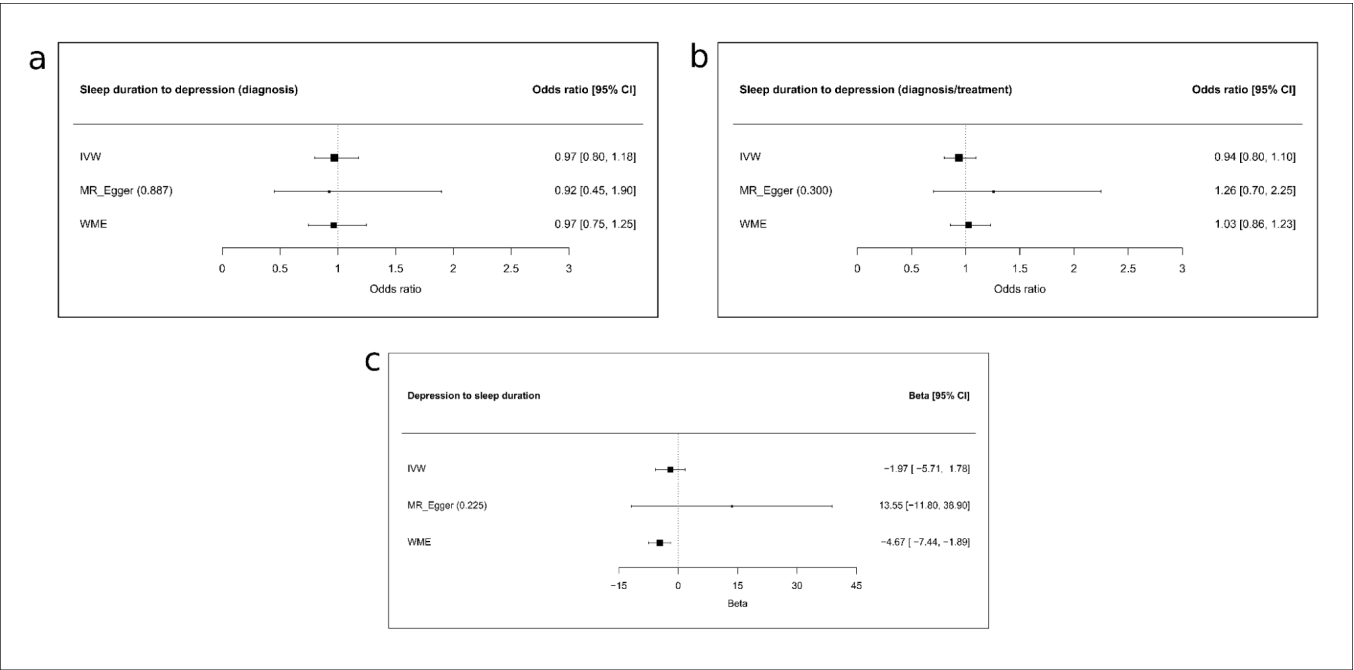


Figura 18. Asociaciones entre duración de sueño y depresión. a) Duración de sueño a depresión (diagnóstico). b) Duración de sueño a depresión (diagnóstico y tratamiento). c) Depresión a duración de sueño. IVW: regresión ponderada por la varianza inversa; WME: estimador de mediana ponderada; 95% IC: intervalo de confianza del 95%. Odds ratio: probabilidades de tener el resultado por un incremento de 1 log-odd en el factor de riesgo. Beta (coeficiente beta no estandarizado): diferencias en el resultado por cada aumento de 1 unidad en el factor de riesgo. Figura extraída de Paz, Williams, Richards, Tassino, Silva & Garfield (2024) [322]

1.3. Asociaciones entre los síntomas de insomnio y la depresión

No se encontraron asociaciones entre los síntomas de insomnio predichos genéticamente y el diagnóstico de depresión (OR=0,94, IC del 95%=0,80; 1,10) ni entre los síntomas de insomnio y el diagnóstico o tratamiento de la depresión (OR=0,96, IC del 95%=0,83; 1,10) (Figura 19a y 19b y Tablas Suplementarias 5 y 7 asociadas a este trabajo en anexos). La depresión predicha genéticamente se asoció con mayores probabilidades de tener síntomas de insomnio (OR=1,22, IC del 95%=1,11; 1,34). El análisis MR-Egger indicó que no había pleiotropía horizontal desequilibrada (valores P del intercepto de MR-Egger > 0,05). La pendiente de MR-Egger no fue

coherente con la estimación de IVW en cuanto a la dirección. Sin embargo, la estimación de WME fue coherente en cuanto a la dirección y el tamaño (Figura 19c y Tablas Suplementarias 5 y 7 asociadas a este trabajo en anexos).

Los síntomas de insomnio frecuentes predichos genéticamente se asociaron con mayores probabilidades de tener un diagnóstico de depresión (OR=1,14, IC del 95%=1,10; 1,19) (Figura 19d y Tablas Suplementarias 6 y 7 asociadas a este trabajo en anexos) y con el diagnóstico o tratamiento de la depresión (OR=1,10, IC del 95%=1,06; 1,14) (Figura 19e y Tablas Suplementarias 6 y 7 asociadas a este trabajo en anexos). Además, la depresión predicha genéticamente se asoció con mayores probabilidades de tener síntomas de insomnio frecuentes (OR=1,30, IC del 95%=1,19; 1,42) (Figura 19f y Tablas Suplementarias 6 y 7 asociadas a este trabajo en anexos). Tanto los enfoques de MR-Egger como WME indicaron que no había pleiotropía horizontal desequilibrada (valores P del intercepto de MR-Egger $\geq 0,05$) y fueron consistentes en cuanto a la dirección y el tamaño (aunque el resultado de “diagnóstico o tratamiento” de MR-Egger no fue coherente en cuanto a la dirección).

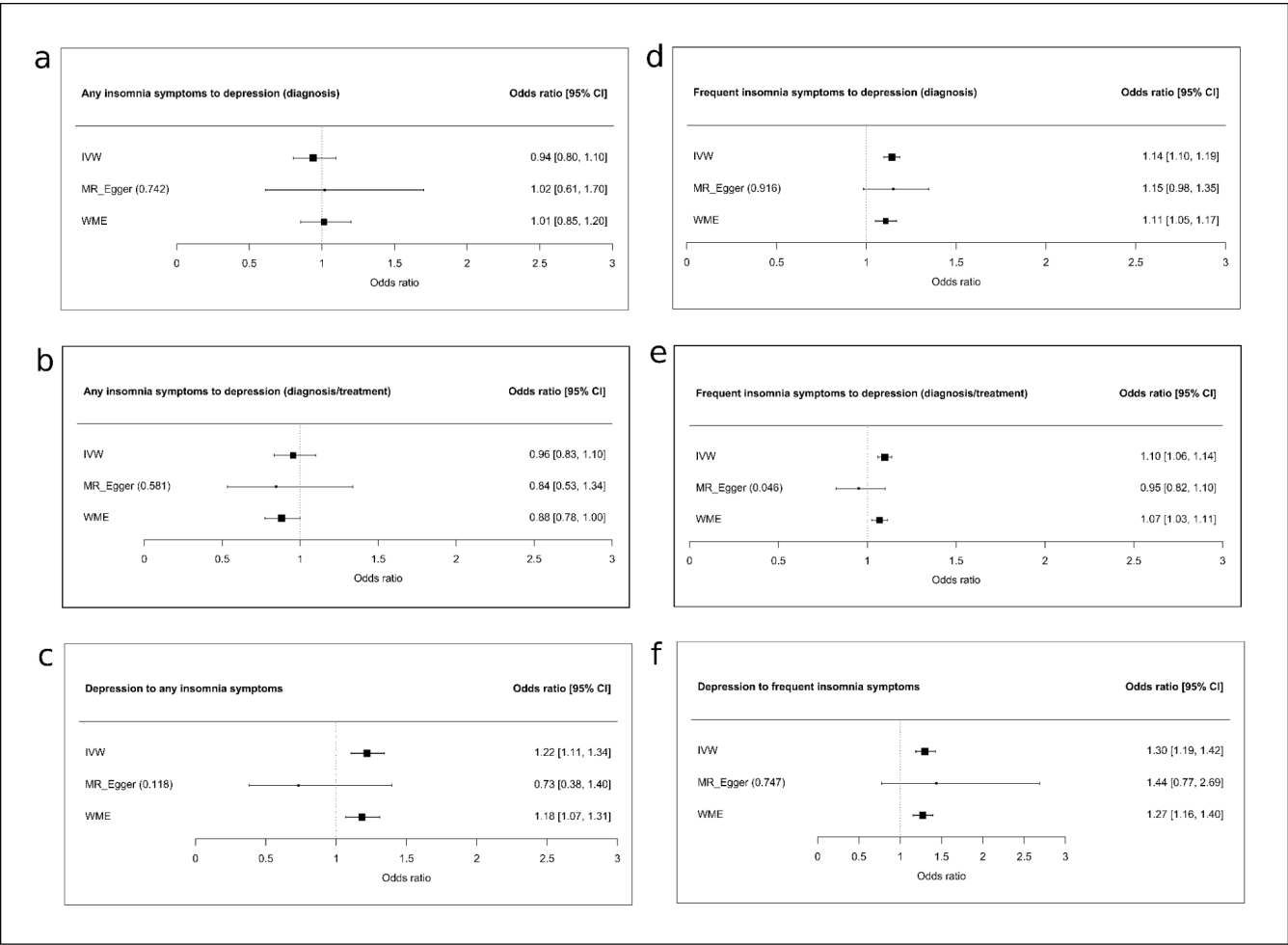


Figura 19. Asociaciones entre insomnio y depresión. a) Síntomas de insomnio a depresión (diagnóstico). b) Síntomas de insomnio a depresión (diagnóstico y tratamiento). c) Depresión a síntomas de insomnio. d) Síntomas de insomnio frecuentes a depresión (diagnóstico). e) Síntomas de insomnio frecuentes a depresión (diagnóstico y tratamiento). f) Depresión a síntomas de insomnio frecuentes. IVW: regresión ponderada por la varianza inversa; WME: estimador de mediana ponderada; 95% IC: intervalo de confianza del 95%. Odds ratio: probabilidades de tener el resultado por un incremento de 1 log-odd en el factor de riesgo. Figura extraída de Paz, Williams, Richards, Tassino, Silva & Garfield (2024) [322]

1.4. Resultados adicionales de MR

1.4.1. Asociaciones entre la matutinidad, la duración del sueño, el insomnio y los resultados de ansiedad (síntomas mixtos de ansiedad-depresión y trastornos de ansiedad)

No se encontraron asociaciones entre la matutinidad predicha genéticamente ($OR=0,97$, IC del 95%=0,91; 1,03) o la duración del sueño predicha genéticamente ($OR=0,87$, IC del 95%=0,75; 1,00) y los síntomas mixtos de ansiedad-depresión (Figura 20a y Figura 20b y Tablas Suplementarias 3-6 asociadas a este trabajo en anexos). Los resultados mostraron que los síntomas de insomnio predichos genéticamente se asociaron con mayores probabilidades de tener síntomas mixtos de ansiedad-depresión ($OR=1,19$, IC del 95%=1,08; 1,32). Tanto los enfoques de MR-Egger como WME indicaron que no había pleiotropía horizontal desequilibrada (valores p del intercepto de MR-Egger $> 0,05$). La pendiente de MR-Egger no fue coherente con la estimación de IVW, pero la estimación de WME sí lo fue (Figura 20c y Tablas Suplementarias 3-6 asociadas a este trabajo en anexo). Los síntomas frecuentes de insomnio predichos genéticamente se asociaron con mayores probabilidades de tener síntomas mixtos de ansiedad-depresión ($OR=1,20$, IC del 95%=1,17; 1,23). El enfoque de MR-Egger fue consistente en cuanto a la dirección. Sin embargo, el valor p del intercepto fue de 0,007, por lo que se realizó un análisis de eliminación de un solo valor atípico [330]. El análisis no sugirió una influencia indebida de valores atípicos individuales ni sesgo sistémico (Tabla Suplementaria 3-6 asociadas a este trabajo en anexo). La estimación de WME fue consistente en cuanto a la dirección y el tamaño (Figura 20d y Tablas Suplementarias 3-6 asociadas a este trabajo en anexo).

No se encontraron asociaciones entre la matutinidad predicha genéticamente ($OR=0,92$, IC del 95%=0,78; 1,09) (Figura 20e y Tablas Suplementarias 3-6 asociadas a este trabajo en anexo), la duración del sueño ($OR=1,09$, IC del 95%=0,80; 1,47) (Figura 20f y Tablas Suplementarias 3-6 asociadas a este trabajo en anexo), los síntomas de insomnio ($OR=1,03$, IC del 95%=0,82; 1,29) (Figura 20g y Tablas Suplementarias 3-6 asociadas a este trabajo en anexo) o los síntomas frecuentes de insomnio ($OR=1,02$, IC del 95%=0,95; 1,10) (Figura 20h y Tablas Suplementarias 3-6 asociadas a este trabajo en anexo) con los trastornos de ansiedad.

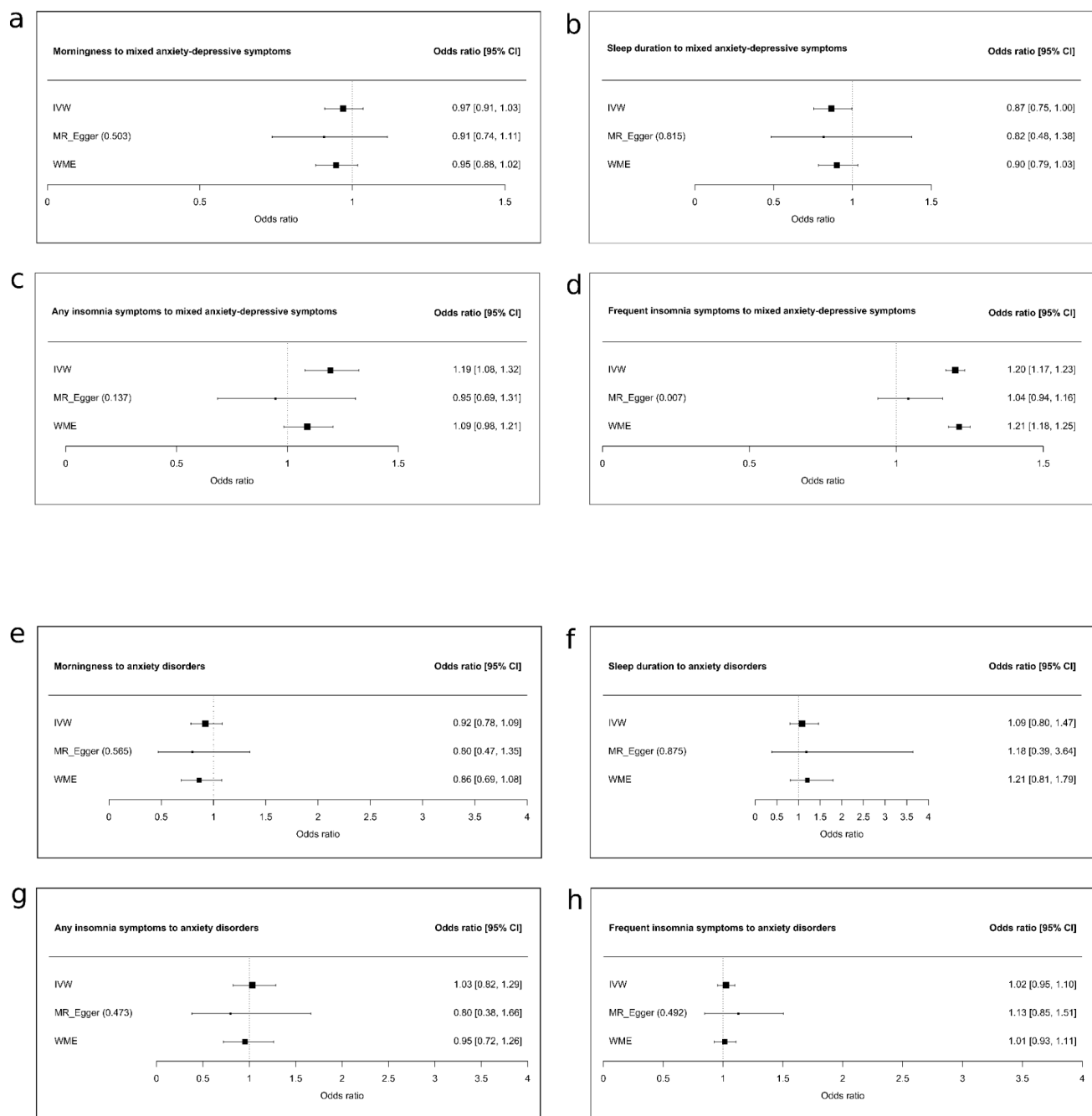


Figura 20. Asociaciones entre matutinidad, duración de sueño, insomnio y ansiedad. a) Matutinidad a síntomas mixtos de ansiedad-depresión. b) Duración del sueño a síntomas mixtos de ansiedad-depresión. c) Síntomas de insomnio a síntomas mixtos de ansiedad-depresión. d) Síntomas de insomnio frecuentes a síntomas mixtos de ansiedad-depresión. e) Matutinidad a trastornos de ansiedad. f) Duración del sueño a trastornos de ansiedad. g) Síntoma de insomnio a trastornos de ansiedad. h) Síntomas de insomnio frecuentes a trastornos de ansiedad. IVW: regresión ponderada por la varianza inversa; WME: estimador de mediana ponderada; 95% IC: intervalo de confianza del 95%. Odds ratio: probabilidades de tener el

resultado por un incremento de 1 log-odd en el factor de riesgo. Figura extraída de Paz, Williams, Richards, Tassino, Silva & Garfield (2024) [322]

1.4.2. Prueba del supuesto III de la MR

Después de las correcciones de Bonferroni, se observó que varias variantes genéticas se asociaron con algunas covariables (especialmente con la educación y el índice de masa corporal) (Tabla Suplementaria 9 asociada a este trabajo en anexo).

Discusión

En la sección II del capítulo II se investigó la asociación entre varios fenotipos circadianos y de sueño con la depresión utilizando MR. Se encontró una asociación causal bidireccional entre la depresión y el insomnio, y evidencias sugerentes de un efecto de la matutinidad en menores probabilidades de depresión y de la depresión en una menor duración del sueño. También se demostró que el insomnio confiere un efecto causal sobre los síntomas mixtos de ansiedad-depresión, mientras que no se encontraron asociaciones entre los rasgos circadianos y del sueño con los trastornos de ansiedad. En contra de la visión predominante de que las alteraciones del ritmo circadiano son una consecuencia secundaria de la depresión, este estudio sigue la evidencia actual que sugiere que estos factores desempeñan un papel causal más influyente en el trastorno [124].

El hallazgo principal demostró asociaciones bidireccionales entre la depresión y el insomnio, siguiendo estudios previos de cohorte [116, 331] y de MR [195–199]. En particular, se encontró que el insomnio frecuente, pero no los síntomas de insomnio en general, confiere un efecto causal sobre la depresión. Actualmente, se acepta ampliamente que el insomnio es un factor de riesgo para el desarrollo de la depresión [116], como lo confirman metaanálisis de estudios

longitudinales [332, 333]. En el UKB, un reciente análisis de aprendizaje automático encontró que uno de los mejores predictores de la depresión son los síntomas de insomnio [240]. Sin embargo, a pesar de los avances en el campo, cómo el insomnio lleva a la depresión aún no está claro. Riemann et al. (2012) [334] señalan a la inestabilidad del sueño REM como una posible explicación. Los autores sugieren que la fragmentación del sueño en esta fase en individuos con insomnio dificulta que los procesos de regulación emocional nocturna se lleven adelante correctamente y, cuando el insomnio se vuelve frecuente, aumenta las respuestas a estímulos negativos facilitando el desarrollo de la depresión. Esta teoría está respaldada por estudios experimentales que muestran que la privación de sueño inducida altera el procesamiento de la información emocional [335, 336]. Otros estudios han propuesto que el insomnio y la privación de sueño pueden conducir a desregulaciones en los sistemas de estrés e inflamación, factores neurotróficos cerebrales y en la neurotransmisión monoaminérgica, glutamatérgica y orexinérgica, contribuyendo a las desregulaciones del estado de ánimo [337].

También se encontró que la depresión confiere un efecto causal sobre los síntomas de insomnio tanto generales como frecuentes. El insomnio ha sido reconocido durante mucho tiempo como un síntoma fundamental de la depresión [31]. Estudios observacionales previos [117, 331] y de MR [195–199] han encontrado que la depresión aumenta el riesgo de insomnio subsecuente, lo cual es común en esta población [338]. Notablemente, en contraste con algunos estudios previos de MR [195, 196], se encontró que la depresión ejerce un efecto mayor sobre el insomnio que viceversa. De interés, investigaciones han revelado mecanismos genéticos y neurobiológicos compartidos entre la depresión y el insomnio [195, 196, 339], lo que ha llevado a la propuesta de que la etiología del insomnio está más estrechamente asociada con los procesos biológicos que se encuentran en los trastornos psiquiátricos, como la depresión, en lugar de aquellos involucrados en la regulación de los ciclos sueño-vigilia [267].

Los resultados también indican evidencia parcial de una asociación entre la matutinidad y menores probabilidades de depresión, pero no hay evidencia de un efecto de la depresión genéticamente predicha sobre la matutinidad. Numerosos estudios transversales han informado que los tipos matutinos son menos propensos a presentar síntomas depresivos, depresión diagnosticada y uso de antidepresivos que los tipos vespertinos [127]. Además, Jones et al. (2019) [182] reportaron una correlación genética negativa entre la matutinidad y el diagnóstico de depresión. Sin embargo, la direccionalidad de esta asociación sigue siendo incierta [340]. Algunos estudios de MR han encontrado evidencia robusta [188, 189] y parcial [182, 199] de que la matutinidad disminuye el riesgo de depresión. Sin embargo, otros estudios de MR no han encontrado asociaciones causales entre la matutinidad y la depresión [190, 204]. Un estudio reciente ha sugerido causalidad de las alteraciones de la fase circadiana a los síntomas del estado de ánimo utilizando la entropía de transferencia, un método de inferencia causal no lineal [244]. Además, un GWAS reciente propone que la inercia del sueño impulsa la asociación entre los tipos vespertinos y trastornos psiquiátricos como la depresión [341].

También se observó un efecto sugerente de la depresión sobre la menor duración del sueño, mientras que no se encontraron asociaciones entre la duración del sueño genéticamente predicha y la depresión. En línea con los resultados, Sun et al. (2022) [199] observaron una asociación inversa sugerente de la depresión con la duración del sueño utilizando MR. Además, un estudio prospectivo de tres años encontró que los adultos mayores con depresión incidente tenían más probabilidades de pasar de una duración del sueño adecuada a una duración más corta del sueño [342]. Adicionalmente, tanto estudios genéticos [203] como no genéticos [328] han revelado asociaciones entre la duración del sueño y la depresión. Se requiere un examen más detallado de esta asociación, ya que estudios previos han identificado asociaciones en forma de “U” entre la duración del sueño y la depresión [203, 343], las cuales no pudieron ser

evaluadas en este trabajo debido a que los métodos no lineales de MR pueden derivar en resultados sesgados [344].

Los resultados adicionales mostraron que los síntomas de insomnio, tanto generales como frecuentes, se asociaron con mayores probabilidades de presentar síntomas mixtos de ansiedad-depresión, mientras que no se encontraron asociaciones con los otros fenotipos circadianos estudiados. Estos resultados respaldan los hallazgos principales; el insomnio es el rasgo más fuertemente asociado con la depresión (incluso cuando se mide junto con síntomas de ansiedad). Notablemente, tanto los síntomas de insomnio generales como frecuentes ejercen una influencia sobre los síntomas mixtos de ansiedad-depresión, mientras que solo los síntomas frecuentes confieren un efecto causal sobre la depresión. Se especula que esto podría atribuirse al hecho de que el resultado es más matizado, lo que permite observar el efecto incluso con síntomas leves de insomnio. Además, no se encontró evidencia de un efecto de los rasgos circadianos sobre los trastornos de ansiedad, lo que implica una asociación única con la depresión que no se replica cuando el resultado solo incluye ansiedad. Existe una considerable literatura que documenta problemas circadianos y del sueño en individuos con trastornos de ansiedad [345–347]. Sin embargo, la mayoría de estos estudios fueron de naturaleza observacional, lo que impide inferir causalidad. En el caso del insomnio, un metaanálisis de estudios longitudinales indicó que aumenta el riesgo de trastornos de ansiedad [332], lo cual es consistente con un estudio reciente de MR [348]. En este estudio no se observa esta asociación, lo que puede deberse a discrepancias en la forma en que se midió la ansiedad. La falta de asociación entre la matutinidad y la ansiedad sigue la literatura previa, incluidos los estudios de MR [127, 188], así como la asociación entre la duración del sueño y los trastornos de ansiedad [348]. Considerando que la ansiedad aún carece de instrumentos robustos para realizar análisis de MR, futuros estudios deberían evaluar su efecto sobre los rasgos circadianos y del sueño.

A pesar de la amplia evidencia observacional que vincula la depresión con los ritmos circadianos, las asociaciones causales consistentes han sido difíciles de establecer. Por lo tanto, es relevante que se hayan encontrado asociaciones causales bidireccionales entre la depresión y los síntomas de insomnio. Estas asociaciones son robustas a pesar de que se basan únicamente en una estimación de los síntomas de insomnio obtenida mediante una sola pregunta autoinformada, y son específicas, ya que se confirmaron para los síntomas de insomnio, pero no para la matutinidad o la duración del sueño. Por lo tanto, es importante señalar que uno de los desafíos persistentes en el campo de la cronobiología es la distinción entre rasgos; por ejemplo, el despertar precoz, una característica clásica del insomnio [349] (así como de la depresión [350]), podría interpretarse erróneamente como una preferencia matutina. Futuras investigaciones deberían explorar si los distintos componentes del insomnio están causalmente relacionados con la depresión y estudiar en profundidad los mecanismos que llevan a estas asociaciones.

Finalmente, se corroboraron los tres supuestos centrales de la MR para validar los hallazgos. Se instrumentaron las mejores variantes genéticas disponibles (supuesto I), se implementaron análisis de sensibilidad para verificar la pleiotropía horizontal (supuesto II) y se realizaron regresiones entre los instrumentos genéticos y los factores de confusión no observados (supuesto III). En relación con este último supuesto, se encontró que algunas de las variantes instrumentadas estaban asociadas con factores de confusión comunes. Estas asociaciones requieren un examen más detallado, ya que podrían estar relacionadas con la naturaleza poligénica de los rasgos analizados y/o podrían constituir pleiotropía vertical en lugar de horizontal. La investigación futura deberá explorar si alguno de los SNP presenta pleiotropía vertical mediante análisis de MR de mediación [351].

Fortalezas y limitaciones

Las fortalezas del estudio incluyen el uso de MR, lo que reduce el sesgo por factores de confusión o causalidad inversa, un tamaño muestral grande que garantiza suficiente potencia, la selección cuidadosa de los instrumentos genéticos en base a la revisión presentada en la sección anterior, y la evaluación de varios fenotipos circadianos, del sueño, de depresión y de ansiedad. Sin embargo, también se deben reconocer las limitaciones del estudio. En primer lugar, ya que los participantes del UKB son más saludables que la población general, los hallazgos pueden no aplicarse a individuos con comorbilidades significativas [352]. En segundo lugar, la muestra se limitó a europeos, ya que las variantes genéticas fueron descubiertas en esta población; futuros trabajos deben examinar estas asociaciones genéticas en grupos étnicos diversos para generalizar los resultados y promover la equidad en salud. En tercer lugar, los voluntarios tenían entre 40 y 69 años, por lo que los resultados no pueden generalizarse a otros grupos de edad. Futuros trabajos deberían estudiar si estos hallazgos se replican en otros grupos etarios. En cuarto lugar, la mayoría de los factores de riesgo analizados fueron binarios, lo que presenta algunas limitaciones [298]. En quinto lugar, los fenotipos circadianos y del sueño fueron evaluados mediante preguntas autoinformadas, lo que subraya la necesidad de replicar los resultados utilizando medidas objetivas, como los datos derivados de actimetría, cuando esto sea posible. En sexto lugar, se encontró que varias variantes genéticas estaban vinculadas a factores de confusión, y no podemos descartar la posibilidad de otros factores no evaluados. Finalmente, la depresión es un trastorno altamente heterogéneo [241–243], lo que resalta la necesidad de examinar sus subtipos (por ejemplo, típica vs. atípica; leve, moderada y grave; episódica, recurrente vs. persistente).

Conclusiones

Los resultados presentados en esta sección respaldan la hipótesis de que el insomnio se asocia de manera causal bidireccional con la depresión y, aunque no apoyan una relación bidireccional entre este trastorno y la vespertinidad, sugieren una relación entre la matutinidad y menores probabilidades de depresión. Además, los hallazgos no respaldan la hipótesis de una asociación bidireccional entre la depresión y un déficit en la duración de sueño, pero sugieren un efecto de la depresión sobre una menor duración de sueño. Estos resultados ofrecen evidencia novedosa sobre la asociación entre el sistema circadiano y la depresión, lo que mejora la comprensión de los procesos patogénicos involucrados en este trastorno. Futuros estudios deberían centrarse en los subtipos de depresión y otros ritmos circadianos, y replicar estos hallazgos utilizando otras bases de datos y métodos. Finalmente, cabe destacar que, según mi conocimiento, este es el primer estudio realizado en Uruguay que utiliza MR, lo cual representa un avance metodológico en el ámbito local.

Discusión general

El trabajo realizado en esta tesis utilizó una combinación de abordajes metodológicos, con el objetivo de lograr una comprensión más profunda del vínculo entre los ritmos circadianos y la depresión. Los resultados refrendan la hipótesis de que la depresión se relaciona con alteraciones en los ritmos circadianos, destacando entre éstas la tendencia hacia la vespertinidad, la calidad y duración de sueño deficientes, y la presencia de síntomas de insomnio. A su vez, se refrendó la hipótesis de la asociación causal entre la depresión y el insomnio, evidenciándose que esta relación es bidireccional. También, se comprobó parcialmente la hipótesis de un vínculo causal entre la depresión y la vespertinidad, ya que se encontró evidencia que sugiere una asociación entre la matutinidad y menores probabilidades de depresión. Finalmente, se refrendó parcialmente la hipótesis de una asociación causal entre la depresión y un déficit en la duración de sueño, ya que la depresión tuvo un efecto en una menor duración de sueño.

Cabe destacar que, de nuestro conocimiento, la sección I del capítulo I constituye el primer estudio en aplicar una batería tan extensa de instrumentos cronobiológicos para caracterizar los ritmos circadianos en jóvenes con síntomas depresivos. La aplicación de estos instrumentos permite discernir cuáles son las alteraciones circadianas más fuertemente asociadas con la depresión diferenciándolas de aquellas cuya relación con este trastorno no es evidente. Sumado a esto, el análisis de bailarines sometidos a entrenamientos en turnos extremos, abordado en la sección II del capítulo I, ofrece un cuasi-experimento natural que permite desentrañar cómo interactúan los factores circadianos sobre los síntomas depresivos. Por otra parte, la sección I del capítulo II representó un avance metodológico en el área de la epidemiología del sueño al identificar los criterios empleados en estudios de MR sobre rasgos relacionados con el sueño, lo que proporciona herramientas útiles para diseñar investigaciones

más robustas en este campo. Por último, la última sección de esta tesis se centró en el análisis de una base de datos biomédica a gran escala y en el uso de herramientas analíticas avanzadas para esclarecer la existencia de una posible asociación causal bidireccional entre los ritmos circadianos y la depresión.

El hallazgo más consistente que resulta de los dos capítulos de esta tesis fue la asociación entre la depresión y una calidad de sueño empobrecida con síntomas de insomnio. En primer lugar, se evidenció que los jóvenes con síntomas depresivos reportaron una mala calidad de sueño, con la disfunción diurna como el componente más afectado, y síntomas de insomnio cercanos al umbral del insomnio clínico. A su vez, la severidad de los síntomas depresivos se incrementó a medida que empeoró la calidad de sueño y aumentó la gravedad del insomnio. En segundo lugar, aunque los síntomas depresivos en la población de bailarines estudiada fueron mínimos, se evidenció una mayor severidad asociada a una peor calidad del sueño. Por último, se encontró una asociación causal bidireccional robusta entre la depresión y los síntomas de insomnio al evaluar a una muestra de 408.480 individuos del UKB. Un posible mecanismo mediador de la asociación entre una baja calidad de sueño y la depresión es la rumia [353, 354], tendencia a focalizar la atención y analizar repetitivamente experiencias emocionales negativas del pasado [355]. En esta línea, un estudio realizado en jóvenes estadounidenses encontró que la mala calidad del sueño se asocia con una mayor dificultad para desvincular la atención de estímulos negativos, lo que incrementa los síntomas depresivos, lo que a su vez podría empobrecer la calidad de sueño [356]. Aunque el hallazgo de una asociación entre la depresión y un sueño de mala calidad se basa principalmente en el análisis de datos subjetivos, un metaanálisis reciente reporta dicha asociación utilizando actimetría [357]. Además, en los jóvenes con síntomas depresivos también se encontró una menor amplitud relativa en comparación al grupo control en base a los datos actimétricos. La amplitud relativa se considera una medida indirecta de la influencia de las alteraciones de la

actividad diurna y el sueño nocturno, incluyendo por ejemplo enlentecimiento diurno, la presencia de siestas e inquietud durante la noche [358]. Este resultado destaca el valor de este indicador objetivo y económico con amplio potencial de uso clínico [359].

Por otra parte, resulta de los dos capítulos de esta tesis una asociación entre la depresión y la vespertinidad. Por un lado, se encontró que el grupo con síntomas depresivos reportó preferencias más vespertinas que el grupo control. Por otro lado, se evidenció una asociación causal parcial entre la matutinidad y menores probabilidades de depresión. Estos hallazgos sugieren que la bien documentada asociación entre la vespertinidad y la depresión es de naturaleza causal, y sugieren que, al menos en el contexto de los horarios sociales modernos, ser un tipo matutino puede ser más beneficioso para la salud mental. Posibles mecanismos asociados a la relación entre la depresión y las preferencias matutinas incluyen una mejor alineación con los horarios típicos de trabajo-descanso y una mayor exposición diaria a la luz [210, 360]. En esta línea, un RCT demostró que adelantar el horario de sueño en los tipos vespertinos conduce a una disminución de los síntomas depresivos [361].

En los jóvenes con sintomatología depresiva también se encontró un retraso de fase con otros indicadores subjetivos (MSFsc) y objetivos (acrofase y M10c), además de las preferencias. Sin embargo, en los bailarines, el cronotipo no emergió como un indicador de fase relevante para predecir la sintomatología depresiva y tampoco se encontraron diferencias en parámetros como el L5c (indicador objetivo del MSFsc) y el DLMO entre los jóvenes con sintomatología depresiva y el grupo control. Cabe señalar que no se identificaron asociaciones significativas del DLMO con las preferencias circadianas, el cronotipo, la acrofase y el M10c. En esta línea, un estudio previo realizado en la población de bailarinas del END-SODRE identificó una correlación entre el DLMO y el MSFsc solo en estudiantes que asistían al turno nocturno, pero no en aquellos que asistían al turno matutino, quienes presentaban un elevado jetlag social [231]. En conjunto estos hallazgos

sugieren que, en presencia de alteraciones circadianas significativas, el DLMO podría perder su función como indicador de fase, probablemente debido a una alteración en el patrón temporal de su síntesis.

Otro aspecto a resaltar de los resultados, es que no se encontró una asociación entre la depresión y el jetlag social en ninguna de las poblaciones de jóvenes uruguayos estudiada. Algunos autores sugieren que la vespertinidad llevaría a peores resultados de salud mental, entre los que se incluyen los síntomas depresivos, debido al jetlag social [362]. Los jóvenes, quienes presentan una inclinación natural hacia horarios de sueño tardíos [33], se enfrentan al desafío de adaptarse a las demandas académicas y laborales típicamente matutinas, lo que genera un constante desajuste en su sistema circadiano que podría ponerlos en riesgo de depresión. Sin embargo, los resultados de esta tesis contradicen esta hipótesis y respaldan que la vespertinidad en sí misma se asocia a la depresión.

El déficit en la duración del sueño también fue una dimensión relevante para comprender la depresión. Por un lado, los jóvenes con síntomas depresivos reportaron menor duración de sueño semanal promedio que el grupo control, y esta duración fue menor a la esperada para este grupo etario [25]. Asimismo, aunque en los bailarines la duración del sueño fue adecuada para su edad, se evidenció una asociación marginal con quienes asistían al turno matutino presentando síntomas depresivos más severos a medida que disminuía la duración del sueño. Finalmente, se encontró evidencia sugerente de una asociación causal entre la depresión y una menor duración de sueño. Investigaciones previas han reportado menores duraciones de sueño en personas con depresión [118–120]. También se ha demostrado que una corta duración del sueño incrementa el riesgo de depresión [120] y que la falta de sueño afecta los procesos de regulación emocional, elevando las emociones negativas [363]. Por lo que los resultados de la

presente tesis siguen lo reportado previamente acerca de la asociación entre la depresión y la duración de sueño.

Es importante resaltar que estos resultados surgen del estudio de dos poblaciones disímiles en cuanto a edad y contexto sociocultural. Por un lado, el capítulo I se centró en dos poblaciones de jóvenes uruguayos que se distinguían por su sintomatología depresiva (sección I) o por su organización en turnos de entrenamiento (sección II), configurando un cuasi-experimento natural que permitió estudiar a jóvenes con extrema vespertinidad. Por otro lado, el capítulo II se enfocó en una población adulta (con una edad promedio de 57 años) del Reino Unido. Es imperante hacer esta aclaración ya que, como se mencionó anteriormente, los ritmos circadianos y los patrones de sueño son influidos por múltiples factores que interaccionan, incluyendo la edad, el estilo de vida, diversos factores sociales y la cultura en la que está inserta el individuo. En esta línea, los hábitos culturales de la población uruguaya, como los horarios de cena tardíos y el consumo de estimulantes en horas nocturnas, contrastan significativamente con los hábitos de la población del Reino Unido. Resalta aún más entonces la consistencia de los resultados a través de los distintos modelos de estudio. Por último, se destaca que los resultados emergen del análisis de datos subjetivos, objetivos, genéticos y de registros hospitalarios que permitieron obtener una perspectiva más completa sobre la relación entre los ritmos circadianos y la depresión.

Fortalezas y limitaciones

Esta tesis se destaca por la realización de cuatro estudios originales que integran una amplia variedad de abordajes metodológicos, combinando datos de cuestionarios de autorreporte, actimetría, muestras hormonales, registros de temperatura, información genética, entrevistas e historias clínicas. En el capítulo I, se estudian dos poblaciones de jóvenes que constituyen

modelos de estudio valiosos debido a su extrema versatilidad y distintos niveles de sintomatología depresiva. En el capítulo II, se exploran datos de una población de adultos, centrando el análisis en individuos con diagnóstico de depresión. Además, este capítulo incluye una revisión metodológica crucial para comprender el estado del arte sobre el uso de MR en estudios de rasgos del sueño y su asociación con diversos resultados de salud. No son frecuentes los estudios que combinan investigaciones con modelos ecológicos que configuran escenarios cuasi-experimentales con estudios epidemiológicos; sin embargo, esta conjunción permite superar las limitaciones inherentes a cada enfoque por separado, enriqueciendo de manera sustancial el análisis y las conclusiones obtenidas.

La tesis presenta varias limitaciones que también deben ser señaladas. En el capítulo I, se trabajó con muestras relativamente pequeñas, predominantemente del género femenino. El tamaño muestral del primer estudio se vio influenciado por los recursos económicos disponibles para cubrir los costos asociados al alojamiento de los participantes y la compra de los kits de análisis de las muestras. El tamaño de la muestra del segundo estudio se debió a que se analizó solo a la submuestra de bailarines previamente estudiados [231, 252, 253] que cumplían con los criterios de inclusión. En cuanto al género de los participantes, investigaciones previas muestran que las mujeres tienden a participar más en estudios de esta índole [364]. Además, no se recabaron datos sobre otros posibles sincronizadores, como los hábitos alimenticios y sociales, que podrían haber influido en las variables estudiadas. Por otra parte, debido a la naturaleza de estos estudios, no es posible inferir causalidad a partir de los hallazgos. En relación al capítulo II, a pesar de que la sección II permitió realizar inferencias causales y se centró en una muestra de casi medio millón de personas, también presenta limitaciones relacionadas con la naturaleza de la muestra y la herramienta estadística utilizada (ver limitaciones en el capítulo correspondiente). Finalmente, la revisión metodológica incluyó estudios de MR que abordan una amplia gama de rasgos relacionados con el sueño,

incluyendo trastornos del sueño, patrones de sueño y variables circadianas, lo que puede representar una limitación al momento de realizar comparaciones entre los estudios incluidos.

Perspectivas generales

La presente tesis aportó evidencia acerca de la asociación entre diversas alteraciones en los ritmos circadianos y la depresión. Sin embargo, persisten interrogantes que deben seguir explorándose en investigaciones futuras. Por un lado, es fundamental continuar explorando los datos obtenidos en el estudio presentado en el capítulo I (sección I) de esta tesis. En esta línea, una perspectiva futura es utilizar modelos predictivos para analizar cuál de los parámetros estudiados predice mejor la sintomatología depresiva. También, es necesario seguir estudiando los ritmos de cortisol y temperatura corporal, utilizando el momento de máxima secreción de cortisol y de temperatura corporal como indicador de fase. Además, es necesario estudiar los patrones de sueño a partir de los datos actimétricos y comparar estos resultados con la información obtenida con los otros instrumentos. Asimismo, es necesario profundizar en el procesamiento de la actimetría a partir de la información obtenida de los diarios de sueño con paquetes disponibles en R como ggR. A partir de los hallazgos asociados al insomnio también sería interesante estudiar qué síntomas emocionales y factores circadianos predicen los síntomas de insomnio en esta población de jóvenes uruguayos.

Siguiendo lo mencionado anteriormente, surge la necesidad de determinar si las asociaciones causales encontradas entre el insomnio y la depresión se replican en otros grupos étnicos. Por otra parte, se debe indagar si los distintos componentes del insomnio, como las dificultades para iniciar y mantener el sueño o el despertar precoz, están causalmente relacionados con la depresión utilizando herramientas como la MR, así como analizar en detalle los mecanismos subyacentes a estas asociaciones. También se debería estudiar el vínculo entre la depresión y la hipersomnia, síntoma diagnóstico para este trastorno. En cuanto a la duración del sueño, resulta pertinente explorar su relación con la depresión utilizando métodos no lineales e investigando el rol de las siestas. Asimismo, se necesitan estudios de dosis-respuesta que examinen el efecto del sueño en el estado de ánimo, con el fin de determinar el umbral de

déficit en la calidad o duración a partir del cual se generan perturbaciones emocionales y si estas se acumulan con el tiempo [119].

Respecto a los abordajes metodológicos, sería valioso recopilar datos de actimetría, ritmos hormonales y temperatura corporal durante períodos más prolongados, comparando patrones entre días laborables y fines de semana. En cuanto a los ritmos hormonales, es necesario continuar investigando la relación entre la depresión y la CAR, debido a su potencial como marcador fisiológico relevante, particularmente si se logra integrar la evidencia disponible hasta el momento. Asimismo, resulta crucial analizar los datos recabados de exposición a la luz, principal señal sincronizadora del sistema circadiano [2]. Sin embargo, es importante considerar las limitaciones de los actímetros GENEactiv, como su ubicación en la muñeca y su bajo rendimiento bajo los 100 lux [365]. En este sentido, sería ideal utilizar sensores colocados cerca de los ojos para medir con mayor precisión la luz que alcanza las retinas. Además, se podría explorar el impacto de la composición espectral de la luz en la sintomatología depresiva, considerando que la fototerapia es un tratamiento cronobiológico utilizado en depresión [366]. También sería relevante examinar el papel de los husos horarios, ya que en países como Uruguay, el desfase entre el huso adoptado y su ubicación geográfica genera discrepancias entre la luz natural y los patrones de sueño. Futuras investigaciones también deberían profundizar en el impacto de otros sincronizadores, como los hábitos sociales, alimenticios y el ejercicio físico.

Aunque en esta tesis se estudiaron grupos con diferentes niveles de severidad en la sintomatología depresiva, es esencial estudiar esta relación desde una perspectiva dimensional. Tradicionalmente, los trastornos mentales han sido conceptualizados como entidades categóricas, definidas de manera dicotómica [31, 367]. Actualmente este paradigma está cambiando e iniciativas como el “Research Domain Criteria” (National Institute of Mental

Health, Estados Unidos) proponen estudiar la psicopatología como un gradiente de severidad [368]. De interés, entre los constructos que propone dicha iniciativa se encuentran los ritmos circadianos. También, es importante estudiar si los ritmos circadianos influyen de manera diferencial en personas con sintomatología típica vs. atípica y episódica, recurrente o persistente. También sería pertinente estudiar las fluctuaciones diarias y a lo largo del tiempo en la sintomatología depresiva, ya que muchos pacientes con depresión presentan un estado de ánimo más bajo en las mañanas [126]. Para este propósito, protocolos como la Evaluación Ecológica Momentánea ofrecen una herramienta valiosa, ya que capturan emociones en tiempo real y en el contexto en el que suceden, proporcionando un importante nivel de validez ecológica [369]. A su vez, es crucial seguir investigando el papel de la ansiedad en esta relación, debido a su elevada comorbilidad con la depresión [73, 323], así como estudiar los factores psicobiológicos subyacentes tanto a la depresión como a la ansiedad. Además, es necesario examinar el papel de mecanismos cognitivos como la rumia en la relación entre los ritmos circadianos y la depresión.

A destacar, apoyados en la extensa evidencia que vincula la depresión con interrupciones circadianas, Carpenter y colaboradores propusieron en 2021 la existencia de un nuevo subtipo de depresión denominado "depresión circadiana". Según los autores, este subtipo incluiría a aquellos pacientes cuya sintomatología surge como consecuencia de la disregulación circadiana, lo que los convertiría en un grupo objetivo para los tratamientos cronobiológicos [370]. Resulta crucial recabar más evidencia que respalde o refute la existencia de este subtipo, ya que podría implicar un cambio radical en la forma en que comprendemos la relación entre el sistema circadiano y la depresión. Por otra parte, los episodios depresivos pueden presentar características particulares que los distinguen de su forma clásica, como la presencia de características melancólicas, mixtas, de inicio en el periparto, o con un patrón estacional, entre otras. En particular, la depresión con patrón estacional ha sido ampliamente estudiada desde

la cronobiología debido a su estrecha relación con el sistema circadiano [371]. No obstante, la depresión posparto ha sido relegada, a pesar de que las alteraciones del sueño durante este período están estrechamente relacionadas con carencias en el vínculo materno-infantil, en el cuidado del bebé, así como con dificultades emocionales o de comportamiento en el niño [372]. En colaboración con diversos miembros del Grupo Cronobiología y como responsable junto a la Mag. Antonella Arrieta, se propone investigar los factores psicológicos, sociales y circadianos asociados a la depresión posparto y el estrés postnatal en un proyecto futuro. Por último, con el objetivo de consolidar la prolífica colaboración que se mantiene con la Dra. Garfield y en colaboración con Somvai Ltd., se propone investigar el impacto de las siestas en la salud y el bienestar psicológico de trabajadores de turnos rotativos.

Conclusiones generales

Esta tesis constituye un aporte significativo al estudio de la relación entre el sistema circadiano y la depresión, abordando este vínculo de manera integral mediante el uso de enfoques metodológicos diversos y poblaciones de estudio particulares. Los hallazgos obtenidos subrayan que la depresión, un trastorno altamente prevalente y la principal causa de discapacidad a nivel global, está profundamente asociada con alteraciones circadianas. Estos resultados fortalecen la comprensión de los procesos patogénicos subyacentes a este trastorno y contribuyen a la identificación de marcadores que pueden ser utilizados para su prevención, diagnóstico y tratamiento. En este sentido, se espera que esta tesis tenga un impacto en diversas áreas, como las neurociencias, la epidemiología, la psicología y la psiquiatría.

Considerando la extrema vespertinidad de los jóvenes y que la depresión suele manifestarse en esta etapa de la vida, estos hallazgos resaltan la necesidad de protocolizar la evaluación de los ritmos circadianos en la práctica clínica para prevenir el desarrollo del trastorno. En este sentido, se destaca que algunas de las variables que mejor explican la sintomatología depresiva, como las perturbaciones en la calidad del sueño y la vespertinidad, pueden evaluarse mediante herramientas simples, como cuestionarios de autoinforme. La integración de estas medidas prácticas y de bajo costo en los protocolos clínicos podría contribuir a la detección precoz y el manejo del trastorno, previniendo así la cronificación de los síntomas.

En este contexto, el Grupo Cronobiología está liderando iniciativas orientadas a incorporar la perspectiva circadiana en la práctica clínica y el diseño de políticas públicas fundamentadas en evidencia científica. En resumen, en esta tesis se investigó de manera integral la compleja relación entre el sistema circadiano y la depresión, poniendo de relieve la necesidad de traducir el conocimiento generado desde la cronobiología en el diseño de estrategias de salud pública.

Referencias

- [1] Halberg F. Chronobiology. Annu. Rev. Physiol, 1969, pp. 675–725.
- [2] Aschoff J. Circadian rhythms in man: a self-sustained oscillator with an inherent frequency underlies human 24-hour periodicity. Science 1965; 148: 1427–1432.
- [3] Moore-Ede MC, Sulzman FM, Fuller CA. The Clocks That Time Us: Physiology of the Circadian Timing System. Harvard University Press, 1982.
- [4] Paranjpe DA, Sharma VK. Evolution of temporal order in living organisms. J Circadian Rhythms 2005; 3: 7.
- [5] Brown SA, Azzi A. Peripheral Circadian Oscillators in Mammals. In: Kramer A, Mellow M (eds) Circadian Clocks. Berlin, Heidelberg: Springer, pp. 45–66.
- [6] Golombek D. Cronobiología humana. Universidad Nacional de Quilmes, 2007.
- [7] Berson DM, Dunn FA, Takao M. Phototransduction by Retinal Ganglion Cells That Set the Circadian Clock. Science 2002; 295: 1070–1073.
- [8] Hattar S, Liao H-W, Takao M, et al. Melanopsin-Containing Retinal Ganglion Cells: Architecture, Projections, and Intrinsic Photosensitivity. Science 2002; 295: 1065–1070.
- [9] Gooley JJ. Light Resetting and Entrainment of Human Circadian Rhythms. In: Kumar V (ed) Biological Timekeeping: Clocks, Rhythms and Behaviour. New Delhi: Springer India, pp. 297–313.
- [10] Mistlberger RE, Skene DJ. Nonphotic Entrainment in Humans? J Biol Rhythms 2005; 20: 339–352.
- [11] Lewis P, Korf HW, Kuffer L, et al. Exercise time cues (zeitgebers) for human circadian systems can foster health and improve performance: a systematic review. BMJ Open Sport Exerc Med 2018; 4: e000443.
- [12] Carskadon MA, Dement WC. Normal Human Sleep: An Overview. In: Principles and practice of sleep medicine. St. Louis: Elsevier Saunders, 2011, pp. 16–26.
- [13] Borbely AA. A Two Process Model of Sleep Regulation. Hum Neurobiol 1982; 1: 195–204.
- [14] McCarley RW. Neurobiology of REM and NREM sleep. Sleep Med 2007; 8: 302–330.
- [15] Mishima K. Circadian Regulation of Sleep. In: Circadian Clocks: Role in Health and Disease. Springer, 2016.
- [16] Abbott SM, Reid KJ, Zee PC. Circadian Rhythm Sleep-Wake Disorders. Psychiatr Clin North Am 2015; 38: 805–823.
- [17] Aserinsky E, Kleitman N. Regularly Occurring Periods of Eye Motility, and Concomitant Phenomena, During Sleep. Science 1953; 118: 273–274.
- [18] Pace-Schott EF. The Neurobiology of Dreaming. In: Principles and Practice of Sleep Medicine. Elsevier, pp. 563–575.

- [19] Dement W, Kleitman N. The relation of eye movements during sleep to dream activity: An objective method for the study of dreaming. *J Exp Psychol* 1957; 53: 339–346.
- [20] Rechtschaffen A. Current Perspectives on the Function of Sleep. *Perspect Biol Med* 1998; 41: 359–390.
- [21] Siegel JM. Clues to the functions of mammalian sleep. *Nature* 2005; 437: 1264–1271.
- [22] Siegel JM. Sleep in Animals: A State of Adaptive Inactivity. *Princ Pract Sleep Med* 2011; 5: 126–138.
- [23] Buysse DJ. Sleep Health: Can We Define It? Does It Matter? *Sleep* 2014; 37: 9–17.
- [24] Madrid-Valero JJ, Gregory AM. Behaviour genetics and sleep: A narrative review of the last decade of quantitative and molecular genetic research in humans. *Sleep Med Rev* 2023; 69: 101769.
- [25] Hirshkowitz M, Whiton K, Albert SM, et al. National Sleep Foundation’s sleep time duration recommendations: methodology and results summary. *Sleep Health* 2015; 1: 40–43.
- [26] Czeisler CA. Perspective: Casting light on sleep deficiency. *Nature* 2013; 497: S13–S13.
- [27] Mendonça F, Mostafa SS, Morgado-Dias F, et al. A Review of Approaches for Sleep Quality Analysis. *IEEE Access* 2019; 7: 24527–24546.
- [28] Nelson KL, Davis JE, Corbett CF. Sleep quality: An evolutionary concept analysis. *Nurs Forum (Auckl)* 2022; 57: 144–151.
- [29] Ohayon M, Wickwire EM, Hirshkowitz M, et al. National Sleep Foundation’s sleep quality recommendations: first report. *Sleep Health* 2017; 3: 6–19.
- [30] Ahn DH. Insomnia: Causes and Diagnosis. *Hanyang Med Rev* 2013; 33: 203.
- [31] American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (5th ed.). Washington DC: American Psychiatric Association, 2013.
- [32] Roenneberg T, Pilz LK, Zerbini G, et al. Chronotype and Social Jetlag: A (Self-) Critical Review. *Biology* 2019; 8: 54.
- [33] Adan A, Archer SN, Hidalgo MP, et al. Circadian Typology: A Comprehensive Review. *Chronobiol Int* 2012; 29: 1153–1175.
- [34] Tarokh L, Short M, Crowley SJ, et al. Sleep and Circadian Rhythms in Adolescence. *Curr Sleep Med Rep* 2019; 5: 181–192.
- [35] Olivera A, Estevan I, Tassinio B, et al. Epidemiology of sleep patterns and circadian typology in uruguayan children: The contribution of school shifts. *Sleep Med X* 2024; 7: 100099.
- [36] Silva A, Estevan I, Tassinio B. Psicología del Tiempo: Una introducción a la temporalidad en las ciencias del comportamiento - Fundación de Cultura Universitaria. Montevideo: Biblioteca Plural-UDELAR, <https://fcu.edu.uy/fcu/libros/varios/psicologia-del-tiempo-una-introduccion-a-la-temporalidad-en-las-ciencias-del-comportamiento/> (2020, accessed 21 December 2024).

- [37] Tassino B, Horta S, Santana N, et al. Extreme late chronotypes and social jetlag challenged by Antarctic conditions in a population of university students from Uruguay. *Sleep Sci* 2016; 9: 20–28.
- [38] Estevan I, Silva A, Vetter C, et al. Short Sleep Duration and Extremely Delayed Chronotypes in Uruguayan Youth: The Role of School Start Times and Social Constraints. *J Biol Rhythms* 2020; 35: 391–404.
- [39] Randler C. Morningness-Eveningness Comparison in Adolescents from Different Countries around the World. *Chronobiol Int* 2008; 25: 1017–1028.
- [40] Cassone VM. Melatonin's Role in Vertebrate Circadian Rhythms. *Chronobiol Int* 1998; 15: 457–473.
- [41] Lewy AJ, Cutler NL, Sack RL. The Endogenous Melatonin Profile as a Marker for Circadian Phase Position. *J Biol Rhythms* 1999; 14: 227–236.
- [42] Hofstra WA, De Weerd AW. How to assess circadian rhythm in humans: A review of literature. *Epilepsy Behav* 2008; 13: 438–444.
- [43] Armstrong SM. Melatonin: the internal zeitgeber of mammals? *Pineal Res. Rev.*, 1989, pp. 157–202.
- [44] Redman JR. Circadian entrainment and phase shifting in mammals with melatonin. *Journal of Biological Rhythms*, 1997, pp. 581–587.
- [45] O'Byrne NA, Yuen F, Butt WZ, et al. Sleep and circadian regulation of cortisol: A short review. *Curr Opin Endocr Metab Res* 2021; 18: 178–186.
- [46] Rose RM, Kreuz LE, Holaday JW, et al. Diurnal variation of plasma testosterone and cortisol. *J Endocrinol* 1972; 54: 177–178.
- [47] Steptoe A, Serwinski B. Cortisol Awakening Response. In: *Stress: Concepts, Cognition, Emotion, and Behavior*. Elsevier, pp. 277–283.
- [48] Clow A, Thorn L, Evans P, et al. The Awakening Cortisol Response: Methodological Issues and Significance. *Stress* 2004; 7: 29–37.
- [49] Chida Y, Steptoe A. Cortisol awakening response and psychosocial factors: A systematic review and meta-analysis. *Biol Psychol* 2009; 80: 265–278.
- [50] Davy J. *Researches Physiological and Anatomical*. London: Smith, Elder and Co., 1839.
- [51] Ogle W. On the diurnal variations in the temperature of the human body in health. *St George's Hosp Rep*, 1866, pp. 221–245.
- [52] Aschoff J, Heise A. Thermal conductance in man: its dependence on time of day and on ambient temperature. In: *Advances in Climatic Physiology*. Tokio: Igako Shoin, 1972, pp. 334–348.
- [53] Del Bene VE. Temperature. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW (eds) *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. Boston: Butterworths, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK331/> (1990, accessed 22 December 2024).
- [54] Kräuchi K. How is the circadian rhythm of core body temperature regulated? *Clin*

Auton Res 2002; 12: 147–149.

- [55] Geneva II, Cuzzo B, Fazili T, et al. Normal Body Temperature: A Systematic Review. *Open Forum Infect Dis* 2019; 6: ofz032.
- [56] Kelly RM, Healy U, Sreenan S, et al. Clocks in the clinic: circadian rhythms in health and disease. *Postgrad Med J* 2018; 94: 653–658.
- [57] Monk TH, Petrie SR, Hayes AJ, et al. Regularity of daily life in relation to personality, age, gender, sleep quality and circadian rhythms. *J Sleep Res* 1994; 3: 196–205.
- [58] Vetter C. Circadian disruption: What do we actually mean? *Eur J Neurosci* 2020; 51: 531–550.
- [59] Wittmann M, Dinich J, Mellow M, et al. Social Jetlag: Misalignment of Biological and Social Time. *Chronobiol Int* 2006; 23: 497–509.
- [60] Korman M, Tkachev V, Reis C, et al. COVID-19-mandated social restrictions unveil the impact of social time pressure on sleep and body clock. *Sci Rep* 2020; 10: 22225.
- [61] Karatsoreos IN, McEwen BS. Psychobiological allostasis: resistance, resilience and vulnerability. *Trends Cogn Sci* 2011; 15: 576–584.
- [62] Caliandro R, Streng AA, van Kerkhof LWM, et al. Social Jetlag and Related Risks for Human Health: A Timely Review. *Nutrients* 2021; 13: 4543.
- [63] Lee H-J. Chronobiology, the Future of Medicine. *Chronobiol Med* 2019; 1: 1–2.
- [64] Chaput J-P, Dutil C, Featherstone R, et al. Sleep duration and health in adults: an overview of systematic reviews. *Appl Physiol Nutr Metab* 2020; 45: S218–S231.
- [65] Bin YS. Is Sleep Quality More Important than Sleep Duration for Public Health? *Sleep* 2016; 39: 1629–1630.
- [66] Partonen T. Chronotype and Health Outcomes. *Curr Sleep Med Rep* 2015; 1: 205–211.
- [67] Abad VC, Guilleminault C. Sleep and psychiatry. *Dialogues Clin Neurosci* 2005; 7: 291–303.
- [68] Kumar S, Srivastava M, Ansari S. Chronobiology and Its Psychiatric Relevance. *Indian J Sleep Med* 2024; 19: 48–53.
- [69] World Health Organization. Depressive disorder (depression), https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression/?gad_source=1&gclid=CjwKCAiA65m7BhAwEiwAAgu4JGbAkYZG5B86omEBrBAyyt0FCnzcvV-VfewKA-fPs-k2v-up81_rbRoC7kMQAvD_BwE (2023).
- [70] Greenberg PE, Fournier A-A, Sisitsky T, et al. The Economic Burden of Adults with Major Depressive Disorder in the United States (2010 and 2018). *PharmacoEconomics* 2021; 39: 653–665.
- [71] Beck AT, Steer RA, Brown GK. Manual for the Beck Depression Inventory-II.
- [72] Gebrie M. An Analysis of Beck Depression Inventory 2nd Edition (BDI-II). *Glob J Endocrinol Metab*; 2. Epub ahead of print 5 July 2018. DOI:

- [73] Kessler RC, Sampson NA, Berglund P, et al. Anxious and non-anxious major depressive disorder in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Epidemiol Psychiatr Sci* 2015; 24: 210–226.
- [74] National Institute of Mental Health. Major Depression, <https://www.nimh.nih.gov/health/statistics/major-depression> (2023, accessed 22 December 2024).
- [75] Friedrich MJ. Depression Is the Leading Cause of Disability Around the World. *JAMA* 2017; 317: 1517.
- [76] Salleh MR. The Burden of Mental Illness: An Emerging Global Disaster. *J Clin Health Sci* 2018; 3: 5.
- [77] Gutiérrez-Rojas L, Porras-Segovia A, Dunne H, et al. Prevalence and correlates of major depressive disorder: a systematic review. *Braz J Psychiatry* 2020; 42: 657–672.
- [78] Ministerio de Salud Pública. Plan Nacional de Salud Mental 2020 - 2027.
- [79] Ebmeier KP, Donaghey C, Steele JD. Recent developments and current controversies in depression. *The Lancet* 2006; 367: 153–167.
- [80] Whiteford HA, Ferrari AJ, Degenhardt L, et al. The Global Burden of Mental, Neurological and Substance Use Disorders: An Analysis from the Global Burden of Disease Study 2010. *PLOS ONE* 2015; 10: e0116820.
- [81] Kupferberg A, Bicks L, Hasler G. Social functioning in major depressive disorder. *Neurosci Biobehav Rev* 2016; 69: 313–332.
- [82] Uriarte-Gaspari L, Acuña A, Morales S, et al. Who do I want in my team: Social avoidance of high qualified partners in depression and social anxiety. *J Affect Disord Rep* 2022; 10: 100402.
- [83] Fernández-Theoduloz G, Paz V, Nicolaisen-Sobesky E, et al. Social avoidance in depression: A study using a social decision-making task. *J Abnorm Psychol* 2019; 128: 234–244.
- [84] Bica T, Castelló R, Toussaint LL, et al. Depression as a Risk Factor of Organic Diseases: An International Integrative Review. *J Nurs Scholarsh* 2017; 49: 389–399.
- [85] Miret M, Ayuso-Mateos JL, Sanchez-Moreno J, et al. Depressive disorders and suicide: Epidemiology, risk factors, and burden. *Neurosci Biobehav Rev* 2013; 37: 2372–2374.
- [86] Navío Acosta M, Pérez Sola V. Depresión y suicidio 2020: Documento estratégico para la promoción de la Salud Mental.
- [87] Cerdá M, Sagdeo A, Johnson J, et al. Genetic and environmental influences on psychiatric comorbidity: A systematic review. *J Affect Disord* 2010; 126: 14–38.
- [88] McIntosh AM, Sullivan PF, Lewis CM. Uncovering the Genetic Architecture of Major Depression. *Neuron* 2019; 102: 91–103.
- [89] Romo-Nava F, Bobadilla-Espinosa RI, Tafoya SA, et al. Major depressive disorder in

Mexican medical students and associated factors: A focus on current and past abuse experiences. *J Affect Disord* 2019; 245: 834–840.

- [90] Mulinari S. Monoamine Theories of Depression: Historical Impact on Biomedical Research. *J Hist Neurosci* 2012; 21: 366–392.
- [91] Celano CM, Freudenreich O, Fernandez-Robles C, et al. Depressogenic effects of medications: a review. *Dialogues Clin Neurosci* 2011; 13: 109–125.
- [92] Moncrieff J, Cooper RE, Stockmann T, et al. The serotonin theory of depression: a systematic umbrella review of the evidence. *Mol Psychiatry* 2023; 28: 3243–3256.
- [93] Lanni C, Govoni S, Lucchelli A, et al. Depression and antidepressants: molecular and cellular aspects. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66: 2985–3008.
- [94] Torterolo P, Scorza C, Urbanavicius J, et al. Avances en el estudio de la neurobiología de la depresión: rol de la hormona concentradora de melanina. *Rev Méd Urug* 2014; 30: 128–136.
- [95] Menke A. The HPA Axis as Target for Depression. *Curr Neuropharmacol* 2024; 22: 904–915.
- [96] Wehr TA, Wirz-Justice A. Internal coincidence model for sleep deprivation and depression. *Sleep*, 1980, p. 33.
- [97] Borbély AA. The S-deficiency hypothesis of depression and the two-process model of sleep regulation. *Pharmacopsychiatry*, 1987, pp. 23–29.
- [98] Hemminger U-M, Hemminger-Spernal J, Krieg J-C. Sleep deprivation in depression. *Expert Rev Neurother* 2010; 10: 1101–1115.
- [99] Ehlers CL. Social Zeitgebers and Biological Rhythms: A Unified Approach to Understanding the Etiology of Depression. *Arch Gen Psychiatry* 1988; 45: 948.
- [100] National Institute for Health and Clinical Excellence. Depression in adults: recognition and management, <https://www.nice.org.uk/guidance/cg90> (2009, accessed 22 December 2024).
- [101] De Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaër E, et al. Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 628–642.
- [102] Corrigan A, Pickering G. Ketamine and depression: a narrative review. *Drug Des Devel Ther* 2019; Volume 13: 3051–3067.
- [103] Pandurangi AK, Fernicola-Bledowski C, Bledowski J. Brain stimulation therapies for psychiatric disorders: The first decade of the new millennium—A review. *Asian J Psychiatry* 2012; 5: 3–10.
- [104] Steele JD, Christmas D, Eljamel MS, et al. Anterior Cingulotomy for Major Depression: Clinical Outcome and Relationship to Lesion Characteristics. *Biol Psychiatry* 2008; 63: 670–677.
- [105] Cunningham JEA, Stamp JA, Shapiro CM. Sleep and major depressive disorder: a review of non-pharmacological chronotherapeutic treatments for unipolar depression.

Sleep Med 2019; 61: 6–18.

- [106] Geoffroy PA, Palagini L. Biological rhythms and chronotherapeutics in depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2021; 106: 110158.
- [107] Cardinali DP, Brown GM, Pandi-Perumal SR. Chronotherapy. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier, pp. 357–370.
- [108] Asarnow LD, Manber R. Cognitive Behavioral Therapy for Insomnia in Depression. *Sleep Med Clin* 2019; 14: 177–184.
- [109] Fava M, Kendler KS. Major Depressive Disorder. *Neuron* 2000; 28: 335–341.
- [110] Evans-Lacko S, Aguilar-Gaxiola S, Al-Hamzawi A, et al. Socio-economic variations in the mental health treatment gap for people with anxiety, mood, and substance use disorders: results from the WHO World Mental Health (WMH) surveys. *Psychol Med* 2018; 48: 1560–1571.
- [111] Zaki NFW, Spence DW, BaHammam AS, et al. Chronobiological theories of mood disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2018; 268: 107–118.
- [112] Germain A, Kupfer DJ. Circadian rhythm disturbances in depression. *Hum Psychopharmacol Clin Exp* 2008; 23: 571–585.
- [113] Mirchandaney R, Asarnow LD, Kaplan KA. Recent advances in sleep and depression. *Curr Opin Psychiatry* 2023; 36: 34–40.
- [114] Tsuno N, Besset A, Ritchie K. Sleep and Depression. *J Clin Psychiatry* 2005; 66: 19685.
- [115] Pandi-Perumal SR, Monti JM, Burman D, et al. Clarifying the role of sleep in depression: A narrative review. *Psychiatry Res* 2020; 291: 113239.
- [116] Franzen PL, Buysse DJ. Sleep disturbances and depression: risk relationships for subsequent depression and therapeutic implications. *Dialogues Clin Neurosci* 2008; 10: 473–481.
- [117] Van Mill JG, Hoogendijk WJG, Vogelzangs N, et al. Insomnia and Sleep Duration in a Large Cohort of Patients With Major Depressive Disorder and Anxiety Disorders. *J Clin Psychiatry* 2010; 71: 239–246.
- [118] Li X, Wei J, Zhang X, et al. Relationship between night-sleep duration and risk for depression among middle-aged and older people: A dose-response meta-analysis. *Front Physiol* 2023; 14: 1085091.
- [119] Short MA, Booth SA, Omar O, et al. The relationship between sleep duration and mood in adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev* 2020; 52: 101311.
- [120] Zhai L, Zhang H, Zhang D. Sleep duration and depression among adults: a meta-analysis of prospective studies. *Depress Anxiety* 2015; 32: 664–670.
- [121] Dinis J, Bragança M. Quality of Sleep and Depression in College Students: A Systematic Review. *Sleep Sci* 2018; 11: 290–301.
- [122] Wilson KT, Bohnert AE, Ambrose A, et al. Social, behavioral, and sleep characteristics

associated with depression symptoms among undergraduate students at a women's college: a cross-sectional depression survey, 2012. *BMC Womens Health* 2014; 14: 8.

- [123] Perlis ML, Posner D, Riemann D, et al. Insomnia. *The Lancet* 2022; 400: 1047–1060.
- [124] Fang H, Tu S, Sheng J, et al. Depression in sleep disturbance: A review on a bidirectional relationship, mechanisms and treatment. *J Cell Mol Med* 2019; 23: 2324–2332.
- [125] Burns AC, Windred DP, Rutter MK, et al. Day and night light exposure are associated with psychiatric disorders: an objective light study in >85,000 people. *Nat Ment Health* 2023; 1: 853–862.
- [126] Wirz-Justice A. Diurnal variation of depressive symptoms. *Dialogues Clin Neurosci* 2008; 10: 337–343.
- [127] Kivelä L, Papadopoulos MR, Antypa N. Chronotype and Psychiatric Disorders. *Curr Sleep Med Rep* 2018; 4: 94–103.
- [128] Kitamura S, Hida A, Watanabe M, et al. Evening preference is related to the incidence of depressive states independent of sleep-wake conditions. *Chronobiol Int* 2010; 27: 1797–1812.
- [129] Hidalgo MP, Caumo W, Posser M, et al. Relationship between depressive mood and chronotype in healthy subjects: Depressive mood and chronotype. *Psychiatry Clin Neurosci* 2009; 63: 283–290.
- [130] Chan JWY, Lam SP, Li SX, et al. Eveningness and Insomnia: Independent Risk Factors of Nonremission in Major Depressive Disorder. *Sleep* 2014; 37: 911–917.
- [131] Bahk Y-C, Han E, Lee S-H. Biological rhythm differences and suicidal ideation in patients with major depressive disorder. *J Affect Disord* 2014; 168: 294–297.
- [132] Gaspar-Barba E, Calati R, Cruz-Fuentes CS, et al. Depressive symptomatology is influenced by chronotypes. *J Affect Disord* 2009; 119: 100–106.
- [133] Henderson SEM, Brady EM, Robertson N. Associations between social jetlag and mental health in young people: A systematic review. *Chronobiol Int* 2019; 36: 1316–1333.
- [134] Wirz-Justice A, Arendt J. Diurnal, menstrual cycle, and seasonal indole rhythms in man and their modification in affective disorders. *Biol Psychiatry Today* 1979; 294–302.
- [135] Wetterberg L. Clinical Importance of Melatonin. In: *Progress in Brain Research*. Elsevier, pp. 539–547.
- [136] Mendlewicz J, Linkowski P, Branchey L, et al. Abnormal 24 hour pattern of melatonin secretion in depression. *The Lancet* 1979; 314: 1362.
- [137] Beck-Friis J, Kjellman BF, Aperia B, et al. Serum melatonin in relation to clinical variables in patients with major depressive disorder and a hypothesis of a low melatonin syndrome. *Acta Psychiatr Scand* 1985; 71: 319–330.
- [138] Szymanska A, Rabe-Jablonska J, Karasek M. Diurnal profile of melatonin concentrations in patients with major depression: relationship to the clinical manifestation and antidepressant treatment. *Neuroendocrinol Lett*.

- [139] Thompson C, Franey C, Arendt J, et al. A Comparison of Melatonin Secretion in Depressed Patients and Normal Subjects. *Br J Psychiatry* 1988; 152: 260–265.
- [140] Rabe-Jabłońska J, Szymańska A. Diurnal profile of melatonin secretion in the acute phase of major depression and in remission. *Med Sci Monit* 2001; 946–952.
- [141] Bouwmans MEJ, Bos EH, Booij SH, et al. Intra- and inter-individual variability of longitudinal daytime melatonin secretion patterns in depressed and non-depressed individuals. *Chronobiol Int* 2015; 32: 441–446.
- [142] Carvalho LA, Gorenstein C, Moreno RA, et al. Melatonin levels in drug-free patients with major depression from the southern hemisphere. *Psychoneuroendocrinology* 2006; 31: 761–768.
- [143] Tonon AC, Pilz LK, Markus RP, et al. Melatonin and Depression: A Translational Perspective From Animal Models to Clinical Studies. *Front Psychiatry* 2021; 12: 638981.
- [144] Coleman MY, McGlashan EM, Vdafar P, et al. Advanced melatonin onset relative to sleep in women with unmedicated major depressive disorder. *Chronobiol Int* 2019; 36: 1373–1383.
- [145] Robillard R, Carpenter JS, Rogers NL, et al. Circadian rhythms and psychiatric profiles in young adults with unipolar depressive disorders. *Transl Psychiatry* 2018; 8: 213.
- [146] Hasler BP, Buysse DJ, Kupfer DJ, et al. Phase relationships between core body temperature, melatonin, and sleep are associated with depression severity: Further evidence for circadian misalignment in non-seasonal depression. *Psychiatry Res* 2010; 178: 205–207.
- [147] Becker M, Pinhasov A, Ornoy A. Animal Models of Depression: What Can They Teach Us about the Human Disease? *Diagnostics* 2021; 11: 123.
- [148] Dienes KA, Hazel NA, Hammen CL. Cortisol secretion in depressed, and at-risk adults. *Psychoneuroendocrinology* 2013; 38: 927–940.
- [149] Vreeburg SA, Hoogendijk WJG, van Pelt J, et al. Major Depressive Disorder and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activity: Results From a Large Cohort Study. *Arch Gen Psychiatry* 2009; 66: 617.
- [150] Ulrike S, Reinhold L, Dirk H. Major depression in young girls is related to altered cortisol awakening response. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2013; 22: 379–384.
- [151] Bhagwagar Z, Hafizi S, Cowen PJ. Increase in Concentration of Waking Salivary Cortisol in Recovered Patients With Depression. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 1890–1891.
- [152] Bhagwagar Z, Hafizi S, Cowen PJ. Increased salivary cortisol after waking in depression. *Psychopharmacology (Berl)* 2005; 182: 54–57.
- [153] Aubry J-M, Jermann F, Gex-Fabry M, et al. The cortisol awakening response in patients remitted from depression. *J Psychiatr Res* 2010; 44: 1199–1204.
- [154] Hsiao F-H, Yang T-T, Ho RTH, et al. The self-perceived symptom distress and health-related conditions associated with morning to evening diurnal cortisol patterns in outpatients with major depressive disorder. *Psychoneuroendocrinology* 2010; 35:

- [155] Stetler C, Miller GE. Blunted Cortisol Response to Awakening in Mild to Moderate Depression: Regulatory Influences of Sleep Patterns and Social Contacts. *J Abnorm Psychol* 2005; 114: 697–705.
- [156] Huber TJ, Issa K, Schik G, et al. The cortisol awakening response is blunted in psychotherapy inpatients suffering from depression. *Psychoneuroendocrinology* 2006; 31: 900–904.
- [157] Dedovic K, Ngiam J. The cortisol awakening response and major depression: examining the evidence. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2015; 1181.
- [158] Soria V, Urretavizcaya M. Ritmos circadianos y depresión. *Actas Esp Psiquiatr* 2009; 37: 222–232.
- [159] Avery DH, Wildschiødtz G, Rafaelsen OJ. Nocturnal temperature in affective disorder. *J Affect Disord* 1982; 4: 61–71.
- [160] Logan RW, McClung CA. Rhythms of life: circadian disruption and brain disorders across the lifespan. *Nat Rev Neurosci* 2019; 20: 49–65.
- [161] De Leeuw M, Verhoeve SI, Van Der Wee NJA, et al. The role of the circadian system in the etiology of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 2023; 153: 105383.
- [162] Davey Smith G, Ebrahim S. ‘Mendelian randomization’: can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease?*. *Int J Epidemiol* 2003; 32: 1–22.
- [163] Ibáñez V, Silva J, Cauli O. A survey on sleep questionnaires and diaries. *Sleep Med* 2018; 42: 90–96.
- [164] Buysse DJ, Reynolds CF, Monk TH, et al. The Pittsburgh sleep quality index: A new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res* 1989; 28: 193–213.
- [165] Mollayeva T, Thurairajah P, Burton K, et al. The Pittsburgh sleep quality index as a screening tool for sleep dysfunction in clinical and non-clinical samples: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev* 2016; 25: 52–73.
- [166] Morin C. *Insomnia: Psychological assessment and management*. New York: Guilford Press, 1993.
- [167] Bastien C. Validation of the Insomnia Severity Index as an outcome measure for insomnia research. *Sleep Med* 2001; 2: 297–307.
- [168] Roenneberg T, Wirz-Justice A, Mrosovsky M. Life between Clocks: Daily Temporal Patterns of Human Chronotypes. *J Biol Rhythms* 2003; 18: 80–90.
- [169] Horne JA, Östberg O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol* 1976; 4: 97–110.
- [170] Di Milia L, Adan A, Natale V, et al. Reviewing the Psychometric Properties of Contemporary Circadian Typology Measures. *Chronobiol Int* 2013; 30: 1261–1271.

- [171] Rundo JV, Downey R. Polysomnography. In: Handbook of Clinical Neurology. Elsevier, pp. 381–392.
- [172] Grandner MA, Rosenberger ME. Actigraphic sleep tracking and wearables: Historical context, scientific applications and guidelines, limitations, and considerations for commercial sleep devices. In: Sleep and Health. Elsevier, pp. 147–157.
- [173] Lewy AJ, Sack RL. The Dim Light Melatonin Onset as a Marker for Circadian Phase Position. *Chronobiol Int* 1989; 6: 93–102.
- [174] Pandi-Perumal SR, Smits M, Spence W, et al. Dim light melatonin onset (DLMO): A tool for the analysis of circadian phase in human sleep and chronobiological disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007; 31: 1–11.
- [175] Refinetti R. Circadian rhythmicity of body temperature and metabolism. *Temperature* 2020; 7: 321–362.
- [176] Hasselberg MJ, McMahon J, Parker K. The validity, reliability, and utility of the iButton® for measurement of body temperature circadian rhythms in sleep/wake research. *Sleep Med* 2013; 14: 5–11.
- [177] Lawlor DA, Harbord RM, Sterne JAC, et al. Mendelian randomization: Using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology. *Stat Med* 2008; 27: 1133–1163.
- [178] Evans DM, Davey Smith G. Mendelian Randomization: New Applications in the Coming Age of Hypothesis-Free Causality. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2015; 16: 327–350.
- [179] Burgess S, Davey Smith G, Davies NM, et al. Guidelines for performing Mendelian randomization investigations. *Wellcome Open Res* 2020; 4: 186.
- [180] Austin-Zimmerman I, Levey DF, Giannakopoulou O, et al. Genome-wide association studies and cross-population meta-analyses investigating short and long sleep duration. *Nat Commun* 2023; 14: 6059.
- [181] Watanabe K, Jansen PR, Savage JE, et al. Genome-wide meta-analysis of insomnia prioritizes genes associated with metabolic and psychiatric pathways. *Nat Genet* 2022; 54: 1125–1132.
- [182] Jones SE, Lane JM, Wood AR, et al. Genome-wide association analyses of chronotype in 697,828 individuals provides insights into circadian rhythms. *Nat Commun* 2019; 10: 343.
- [183] Dashti HS, Daghlas I, Lane JM, et al. Genetic determinants of daytime napping and effects on cardiometabolic health. *Nat Commun* 2021; 12: 900.
- [184] Goodman M, Faquih T, Paz V, et al. Genome-wide association analysis of composite sleep health scores in 413,904 individuals. Preprint, medRxiv. Epub ahead of print 3 February 2024. DOI: 10.1101/2024.02.02.24302211.
- [185] Haycock PC, Burgess S, Wade KH, et al. Best (but oft-forgotten) practices: the design, analysis, and interpretation of Mendelian randomization studies. *Am J Clin Nutr* 2016; 103: 965–978.

- [186] Swerdlow DI, Kuchenbaecker KB, Shah S, et al. Selecting instruments for Mendelian randomization in the wake of genome-wide association studies. *Int J Epidemiol* 2016; 45: 1600–1616.
- [187] Stender S, Gellert-Kristensen H, Smith GD. Reclaiming mendelian randomization from the deluge of papers and misleading findings. *Lipids Health Dis* 2024; 23: 286.
- [188] O’Loughlin J, Casanova F, Jones SE, et al. Using Mendelian Randomisation methods to understand whether diurnal preference is causally related to mental health. *Mol Psychiatry* 2021; 26: 6305–6316.
- [189] Daghlis I, Lane JM, Saxena R, et al. Genetically Proxied Diurnal Preference, Sleep Timing, and Risk of Major Depressive Disorder. *JAMA Psychiatry* 2021; 78: 903.
- [190] Qiu-Qiang Z, Wei-Wei Y, Shan-Shu H, et al. Mendelian randomization of individual sleep traits associated with major depressive disorder. *J Affect Disord* 2024; 365: 105–111.
- [191] Lane JM, Jones SE, Dashti HS, et al. Biological and clinical insights from genetics of insomnia symptoms. *Nat Genet* 2019; 51: 387–393.
- [192] Nassan M, Daghlis I, Winkelman JW, et al. Genetic evidence for a potential causal relationship between insomnia symptoms and suicidal behavior: a Mendelian randomization study. *Neuropsychopharmacology*. Epub ahead of print 10 May 2022. DOI: 10.1038/s41386-022-01319-z.
- [193] He M, Zhou J, Li X, et al. Investigating the causal effects of smoking, sleep, and BMI on major depressive disorder and bipolar disorder: a univariable and multivariable two-sample Mendelian randomization study. *Front Psychiatry* 2023; 14: 1206657.
- [194] Gibson MJ, Lawlor DA, Millard LAC. Identifying the potential causal role of insomnia symptoms on 11,409 health-related outcomes: a phenome-wide Mendelian randomisation analysis in UK Biobank. *BMC Med* 2023; 21: 128.
- [195] Baranova A, Cao H, Zhang F. Shared genetic liability and causal effects between major depressive disorder and insomnia. *Hum Mol Genet* 2022; 31: 1336–1345.
- [196] Cai L, Bao Y, Fu X, et al. Causal links between major depressive disorder and insomnia: A Mendelian randomisation study. *Gene* 2021; 768: 145271.
- [197] Zhou F, Guo Y, Wang Z, et al. Assessing the causal associations of insomnia with depressive symptoms and subjective well-being: a bidirectional Mendelian randomization study. *Sleep Med* 2021; 87: 85–91.
- [198] Jansen PR, Watanabe K, Stringer S, et al. Genome-wide analysis of insomnia in 1,331,010 individuals identifies new risk loci and functional pathways. *Nat Genet* 2019; 51: 394–403.
- [199] Sun X, Liu B, Liu S, et al. Sleep disturbance and psychiatric disorders: a bidirectional Mendelian randomisation study. *Epidemiol Psychiatr Sci* 2022; 31: e26.
- [200] Choi KW, Stein MB, Nishimi KM, et al. An Exposure-Wide and Mendelian Randomization Approach to Identifying Modifiable Factors for the Prevention of Depression. *Am J Psychiatry* 2020; 177: 944–954.

- [201] Chen G, Xie J, Liu W, et al. Association between depression and sleep apnoea: a Mendelian randomisation study. *ERJ Open Res* 2022; 8: 00394–02021.
- [202] Mulugeta A, Zhou A, King C, et al. Association between major depressive disorder and multiple disease outcomes: a phenome-wide Mendelian randomisation study in the UK Biobank. *Mol Psychiatry* 2020; 25: 1469–1476.
- [203] Dashti HS, Jones SE, Wood AR, et al. Genome-wide association study identifies genetic loci for self-reported habitual sleep duration supported by accelerometer-derived estimates. *Nat Commun* 2019; 10: 1100.
- [204] Hu Y, Shmygelska A, Tran D, et al. GWAS of 89,283 individuals identifies genetic variants associated with self-reporting of being a morning person. *Nat Commun* 2016; 7: 10448.
- [205] Gao X, Meng L-X, Ma K-L, et al. The bidirectional causal relationships of insomnia with five major psychiatric disorders: A Mendelian randomization study. *Eur Psychiatry* 2019; 60: 79–85.
- [206] World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA* 2013; 310: 2191.
- [207] Naderifar M, Goli H, Ghaljaie F. Snowball Sampling: A Purposeful Method of Sampling in Qualitative Research. *Strides Dev Med Educ*; 14. Epub ahead of print 30 September 2017. DOI: 10.5812/sdme.67670.
- [208] Beck AT, Steer RA, Brown GK. Beck depression inventory (BDI-II). Pearson; 10.
- [209] Sanz J, Perdigón AL, Vázquez C. Adaptación española del Inventario para la Depresión de Beck-II (BDI-II): 2. Propiedades psicométricas en población general. *CLÍNICA SALUD* 2003; 34.
- [210] LeGates TA, Fernandez DC, Hattar S. Light as a central modulator of circadian rhythms, sleep and affect. *Nat Rev Neurosci* 2014; 15: 443–454.
- [211] Lecrubier Y, Sheehan D, Weiller E, et al. The Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI). A short diagnostic structured interview: reliability and validity according to the CIDI. *Eur Psychiatry* 1997; 12: 224–231.
- [212] Ferrando L, Bobes J, Gibert J, et al. MINI Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional.
- [213] American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed.). Washington DC: American Psychiatric Association, 1994.
- [214] World Health Organization. ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders: Diagnostic Criteria for Research.
- [215] Adan A, Almirall H. Adaptation and standardization of a Spanish version of the morningness-eveningness questionnaire: Individual differences. *Personal Individ Differ* 1990; 11: 1123–1130.
- [216] Jiménez-Genchi A. Confiabilidad y análisis factorial de la versión en español del índice de calidad de sueño de Pittsburgh en pacientes psiquiátricos. 144.
- [217] Ministerio de Sanidad y Política Social, España. Guía de Práctica Clínica para el

- [218] Fresán A, Berlanga C. Traducción al español y validación de la Escala de Placer Snaith-Hamilton para Anhedonia (shaps): Translation into Spanish and validation of the Snaith-Hamilton Pleasure Scale (SHAPS) for anhedonia. *Actas Esp Psiquiatr* 2013; 41: 227–231.
- [219] Snaith RP, Hamilton M, Morley S, et al. A Scale for the Assessment of Hedonic Tone the Snaith-Hamilton Pleasure Scale. *Br J Psychiatry* 1995; 167: 99–103.
- [220] Daza P, Novy DM, Stanley MA, et al. The Depression Anxiety Stress Scale-21: Spanish Translation and Validation With a Hispanic Sample. *J Psychopathol Behav Assess* 2002; 24: 195–205.
- [221] Lovibond & Lovibond. Manual for the depression anxiety stress scales.
- [222] Guillén-Riquelme A, Buela-Casal G. Actualización psicométrica y funcionamiento diferencial de los ítems en el State Trait Anxiety Inventory (STAI). *Psicothema* 2011; 23: 510–515.
- [223] Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE. Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (Self Evaluation Questionnaire). *Consult Psychol* 1971; 22: 1–24.
- [224] Halberg F, Tong YL, Johnson EA. Circadian System Phase — An Aspect of Temporal Morphology; Procedures and Illustrative Examples. In: Von Mayersbach H (ed) *The Cellular Aspects of Biorhythms*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 20–48.
- [225] Gonçalves, Adamowicz T, Louzada FM, et al. A fresh look at the use of nonparametric analysis in actimetry. *Sleep Med Rev* 2015; 20: 84–91.
- [226] Refinetti R, Cornélissen G, Halberg F. Procedures for numerical analysis of circadian rhythms. *Biol Rhythm Res* 2007; 38: 275–325.
- [227] Van Someren EJW, Kessler A, Mirmiran M, et al. Indirect bright light improves circadian rest-activity rhythm disturbances in demented patients. *Biol Psychiatry* 1997; 41: 955–963.
- [228] Gonçalves BSB, Cavalcanti PRA, Tavares GR, et al. Nonparametric methods in actigraphy: An update. *Sleep Sci* 2014; 7: 158–164.
- [229] Stalder T, Kirschbaum C, Kudielka BM, et al. Assessment of the cortisol awakening response: Expert consensus guidelines. *Psychoneuroendocrinology* 2016; 63: 414–432.
- [230] Fries E, Dettenborn L, Kirschbaum C. The cortisol awakening response (CAR): Facts and future directions. *Int J Psychophysiol* 2009; 72: 67–73.
- [231] Coirolo N, Casaravilla C, Tassinio B, et al. Evaluation of environmental, social, and behavioral modulations of the circadian phase of dancers trained in shifts. *iScience* 2022; 25: 104676.
- [232] Silva A, Simón D, Pannunzio B, et al. Chronotype-Dependent Changes in Sleep Habits Associated with Dim Light Melatonin Onset in the Antarctic Summer. *Clocks Sleep* 2019; 1: 352–366.

- [233] Platje E, Vermeiren RRJM, Branje SJT, et al. Long-term stability of the cortisol awakening response over adolescence. *Psychoneuroendocrinology* 2013; 38: 271–280.
- [234] RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R., <http://www.rstudio.com/> (2024).
- [235] Selvi Y, Boysan M, Kandeger A, et al. Heterogeneity of sleep quality in relation to circadian preferences and depressive symptomatology among major depressive patients. *J Affect Disord* 2018; 235: 242–249.
- [236] Gee B, Orchard F, Clarke E, et al. The effect of non-pharmacological sleep interventions on depression symptoms: A meta-analysis of randomised controlled trials. *Sleep Med Rev* 2019; 43: 118–128.
- [237] Romo-Nava F, Tafoya SA, Gutiérrez-Soriano J, et al. The association between chronotype and perceived academic stress to depression in medical students. *Chronobiol Int* 2016; 33: 1359–1368.
- [238] Lim D, Jeong J, Song YM, et al. Accurately predicting mood episodes in mood disorder patients using wearable sleep and circadian rhythm features. *Npj Digit Med* 2024; 7: 324.
- [239] Zhang Y, Folarin AA, Sun S, et al. Longitudinal Assessment of Seasonal Impacts and Depression Associations on Circadian Rhythm Using Multimodal Wearable Sensing: Retrospective Analysis. *J Med Internet Res* 2024; 26: e55302.
- [240] Lyall LM, Sangha N, Zhu X, et al. Subjective and objective sleep and circadian parameters as predictors of depression-related outcomes: A machine learning approach in UK Biobank. *J Affect Disord* 2023; 335: 83–94.
- [241] Cai N, Choi KW, Fried EI. Reviewing the genetics of heterogeneity in depression: operationalizations, manifestations and etiologies. *Hum Mol Genet* 2020; 29: R10–R18.
- [242] Fried E. Moving forward: how depression heterogeneity hinders progress in treatment and research. *Expert Rev Neurother* 2017; 17: 423–425.
- [243] Østergaard SD, Jensen SOW, Bech P. The heterogeneity of the depressive syndrome: when numbers get serious: Discussion paper. *Acta Psychiatr Scand* 2011; 124: 495–496.
- [244] Song YM, Jeong J, De Los Reyes AA, et al. Causal dynamics of sleep, circadian rhythm, and mood symptoms in patients with major depression and bipolar disorder: insights from longitudinal wearable device data. *eBioMedicine* 2024; 103: 105094.
- [245] Schimitt R, Levandovski R, Hidalgo MPL. Relations between social rhythm, sleep phase, and minor psychiatric symptoms in healthy workers. *Biol Rhythm Res* 2013; 44: 403–409.
- [246] Difrancesco S, Lamers F, Riese H, et al. Sleep, circadian rhythm, and physical activity patterns in depressive and anxiety disorders: A 2-week ambulatory assessment study. *Depress Anxiety* 2019; 36: 975–986.
- [247] Pye J, Phillips AJ, Cain SW, et al. Irregular sleep-wake patterns in older adults with current or remitted depression. *J Affect Disord* 2021; 281: 431–437.

- [248] Lyall LM, Wyse CA, Graham N, et al. Association of disrupted circadian rhythmicity with mood disorders, subjective wellbeing, and cognitive function: a cross-sectional study of 91 105 participants from the UK Biobank. *Lancet Psychiatry* 2018; 5: 507–514.
- [249] Szuba MP, Guze BH, Baxter LR. Electroconvulsive therapy increases circadian amplitude and lowers core body temperature in depressed subjects. *Biol Psychiatry* 1997; 42: 1130–1137.
- [250] Lee DY, Kim E, Choi MH. Technical and clinical aspects of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. *BMB Rep* 2015; 48: 209–216.
- [251] Hammen C. Stress and Depression. *Annu Rev Clin Psychol* 2005; 1: 293–319.
- [252] Coirolo N, Silva A, Tassinio B. The impact of training shifts in dancers' chronotype and sleep patterns. *Sleep Sci*. Epub ahead of print 2020. DOI: 10.5935/1984-0063.20200010.
- [253] Estevan I, Coirolo N, Tassinio B, et al. The Influence of Light and Physical Activity on the Timing and Duration of Sleep: Insights from a Natural Model of Dance Training in Shifts. *Clocks Sleep* 2023; 5: 47–61.
- [254] Paz V, Coirolo N, Tassinio B, et al. Associations between circadian, sleep, and mood disturbances in Uruguayan dance students. *Sleep Sci Pract* 2023; 7: 11.
- [255] RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R., <http://www.rstudio.com/> (2022).
- [256] Kassambara A. Machine Learning Essentials: Practical Guide in R. STHDA, 2018.
- [257] Marchesano M, Coirolo N, Tassinio B, et al. Impact of training-shift change on chronotype and social jetlag: a longitudinal study on dancers. *Biol Rhythm Res* 2023; 54: 664–671.
- [258] Fietze I, Strauch J, Holzhausen M, et al. Sleep quality in professional ballet dancers. *Chronobiol Int* 2009; 26: 1249–1262.
- [259] Ibrahim AK, Kelly SJ, Adams CE, et al. A systematic review of studies of depression prevalence in university students. *J Psychiatr Res* 2013; 47: 391–400.
- [260] Wolanin A, Gross M, Hong E. Depression in Athletes: Prevalence and Risk Factors. *Curr Sports Med Rep* 2015; 14: 56–60.
- [261] Firth J, Solmi M, Wootton RE, et al. A meta-review of “lifestyle psychiatry”: the role of exercise, smoking, diet and sleep in the prevention and treatment of mental disorders. *World Psychiatry* 2020; 19: 360–380.
- [262] Feng Q, Zhang Q, Du Y, et al. Associations of Physical Activity, Screen Time with Depression, Anxiety and Sleep Quality among Chinese College Freshmen. *PLoS ONE* 2014; 9: e100914.
- [263] Lawlor DA, Tilling K, Davey Smith G. Triangulation in aetiological epidemiology. *Int J Epidemiol* 2017; dyw314.
- [264] Paz V, Dashti HS, Burgess S, et al. Selection of genetic instruments in Mendelian randomisation studies of sleep traits. *Sleep Med* 2023; 112: 342–351.

- [265] Brion M-JA, Shakhbazov K, Visscher PM. Calculating statistical power in Mendelian randomization studies. *Int J Epidemiol* 2013; 42: 1497–1501.
- [266] Dauvilliers Y, Maret S, Tafti M. Genetics of normal and pathological sleep in humans. *Sleep Med Rev* 2005; 9: 91–100.
- [267] Lane JM, Qian J, Mignot E, et al. Genetics of circadian rhythms and sleep in human health and disease. *Nat Rev Genet* 2023; 24: 4–20.
- [268] Burgess S, Thompson SG. *Mendelian Randomization: Methods for Causal Inference Using Genetic Variants*. CRC Press, 2021.
- [269] Cade BE, Chen H, Stilp AM, et al. Genetic Associations with Obstructive Sleep Apnea Traits in Hispanic/Latino Americans. *Am J Respir Crit Care Med* 2016; 194: 886–897.
- [270] Chen H, Cade BE, Gleason KJ, et al. Multiethnic Meta-Analysis Identifies RAI1 as a Possible Obstructive Sleep Apnea-related Quantitative Trait Locus in Men. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2018; 58: 391–401.
- [271] Farias Tempaku P, Leite Santoro M, Bittencourt L, et al. Genome-wide association study reveals two novel risk alleles for incident obstructive sleep apnea in the EPISONO cohort. *Sleep Med* 2020; 66: 24–32.
- [272] Khoury S, Wang Q-P, Parisien M, et al. Multi-ethnic GWAS and meta-analysis of sleep quality identify MPP6 as a novel gene that functions in sleep center neurons. *Sleep* 2021; 44: zsaa211.
- [273] Scammell BH, Tchao C, Song Y, et al. Multi-ancestry genome-wide analysis identifies shared genetic effects and common genetic variants for self-reported sleep duration. *Hum Mol Genet* 2023; 32: 2797–2807.
- [274] Stein MB, McCarthy MJ, Chen C-Y, et al. Genome-wide analysis of insomnia disorder. *Mol Psychiatry* 2018; 23: 2238–2250.
- [275] Hammerschlag AR, Stringer S, de Leeuw CA, et al. Genome-wide association analysis of insomnia complaints identifies risk genes and genetic overlap with psychiatric and metabolic traits. *Nat Genet* 2017; 49: 1584–1592.
- [276] Mong JA, Cusmano DM. Sex differences in sleep: impact of biological sex and sex steroids. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 2016; 371: 20150110.
- [277] Wallace ML, Buysse DJ, Redline S, et al. Multidimensional Sleep and Mortality in Older Adults: A Machine-Learning Comparison With Other Risk Factors. *J Gerontol Ser A* 2019; 74: 1903–1909.
- [278] Chen Z, Boehnke M, Wen X, et al. Revisiting the genome-wide significance threshold for common variant GWAS.
- [279] Liu J, Richmond RC, Bowden J, et al. Assessing the Causal Role of Sleep Traits on Glycated Hemoglobin: A Mendelian Randomization Study. *Diabetes Care* 2022; 45: 772–781.
- [280] Liu Z, Luo Y, Su Y, et al. Associations of sleep and circadian phenotypes with COVID-19 susceptibility and hospitalization: an observational cohort study based on the UK

Biobank and a two-sample Mendelian randomization study. *Sleep* 2022; zsac003.

- [281] Chen F, Wen W, Long J, et al. Mendelian randomization analyses of 23 known and suspected risk factors and biomarkers for breast cancer overall and by molecular subtypes. *Int J Cancer* 2022; 151: 372–380.
- [282] Chen Y, Li C, Cheng S, et al. The Causal Relationships Between Sleep-related Phenotypes and Body Composition: A Mendelian Randomized Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2022; dgac234.
- [283] Stefansson H, Rye DB, Hicks A, et al. A Genetic Risk Factor for Periodic Limb Movements in Sleep. *N Engl J Med* 2007; 357: 639–647.
- [284] Winkelmann J, Schormair B, Lichtner P, et al. Genome-wide association study of restless legs syndrome identifies common variants in three genomic regions. *Nat Genet* 2007; 39: 1000–1006.
- [285] Schormair B, Zhao C, Salminen AV, et al. Reassessment of candidate gene studies for idiopathic restless legs syndrome in a large genome-wide association study dataset of European ancestry. *Sleep* 2022; 45: zsac098.
- [286] Smith GD, Ebrahim S. ‘Mendelian randomization’: can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? *Int J Epidemiol* 2003; 32: 1–22.
- [287] Cullell N, Cárcel-Márquez J, Gallego-Fábrega C, et al. Sleep/wake cycle alterations as a cause of neurodegenerative diseases: A Mendelian randomization study. *Neurobiol Aging* 2021; 106: 320.e1–320.e12.
- [288] Chang CC, Chow CC, Tellier LC, et al. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience* 2015; 4: 7.
- [289] Tang Y, Li Z, Wang C, et al. LDkit: a parallel computing toolkit for linkage disequilibrium analysis. *BMC Bioinformatics* 2020; 21: 461.
- [290] Taylor AE, Davies NM, Ware JJ, et al. Mendelian randomization in health research: Using appropriate genetic variants and avoiding biased estimates. *Econ Hum Biol* 2014; 13: 99–106.
- [291] Hemani G, Zheng J, Elsworth B, et al. The MR-Base platform supports systematic causal inference across the human phenome. *eLife* 2018; 7: e34408.
- [292] Burgess S, Davies NM, Thompson SG. Bias due to participant overlap in two-sample Mendelian randomization. *Genet Epidemiol* 2016; 40: 597–608.
- [293] Henry A, Katsoulis M, Masi S, et al. The relationship between sleep duration, cognition and dementia: a Mendelian randomization study. *Int J Epidemiol* 2019; 48: 849–860.
- [294] Paz V, Dashti HS, Garfield V. Is there an association between daytime napping, cognitive function, and brain volume? A Mendelian randomization study in the UK Biobank. *Sleep Health* 2023; S235272182300089X.
- [295] Garfield V, Farmaki A-E, Fatemifar G, et al. Relationship Between Glycemia and Cognitive Function, Structural Brain Outcomes, and Dementia: A Mendelian

Randomization Study in the UK Biobank. *Diabetes* 2021; 70: 2313–2321.

- [296] Song W, Torous J, Kossowsky J, et al. Genome-wide association analysis of insomnia using data from Partners Biobank. *Sci Rep* 2020; 10: 6928.
- [297] Doherty A, Smith-Byrne K, Ferreira T, et al. GWAS identifies 14 loci for device-measured physical activity and sleep duration. *Nat Commun* 2018; 9: 5257.
- [298] Burgess S, Labrecque JA. Mendelian randomization with a binary exposure variable: interpretation and presentation of causal estimates. *Eur J Epidemiol* 2018; 33: 947–952.
- [299] Burgess S, Thompson SG, CRP CHD Genetics Collaboration. Avoiding bias from weak instruments in Mendelian randomization studies. *Int J Epidemiol* 2011; 40: 755–764.
- [300] LiuRIOD3, variant causes a circadian phenotype and is associ, Liu X, et al. Genetically Predicted Insomnia in Relation to 14 Cardiovascular Conditions and 17 Cardiometabolic Risk Factors: A Mendelian Randomization Study. *J Am Heart Assoc* 2021; 10: e020187.
- [301] Yavorska OO, Burgess S. MendelianRandomization: an R package for performing Mendelian randomization analyses using summarized data. *Int J Epidemiol* 2017; 46: 1734–1739.
- [302] Bowden J, Davey Smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression. *Int J Epidemiol* 2015; 44: 512–525.
- [303] Dehghan A. Genome-Wide Association Studies. In: Evangelou E (ed) *Genetic Epidemiology*. New York, NY: Springer New York, pp. 37–49.
- [304] Tabangin ME, Woo JG, Martin LJ. The effect of minor allele frequency on the likelihood of obtaining false positives. *BMC Proc* 2009; 3: S41.
- [305] Chen J, Zhang J, So HC, et al. Association of Sleep Traits and Heel Bone Mineral Density: Observational and Mendelian Randomization Studies. *J Bone Miner Res* 2021; 36: 2184–2192.
- [306] Zhang L, Hirano A, Hsu P-K, et al. A PERIOD3 variant causes a circadian phenotype and is associated with a seasonal mood trait. *Proc Natl Acad Sci*; 113. Epub ahead of print 15 March 2016. DOI: 10.1073/pnas.1600039113.
- [307] Hartwig FP, Davies NM, Hemani G, et al. Two-sample Mendelian randomization: avoiding the downsides of a powerful, widely applicable but potentially fallible technique. *Int J Epidemiol* 2016; 45: 1717–1726.
- [308] Alimenti K, Chen A, Saxena R, et al. Habitual Sleep Duration, Daytime Napping, and Dietary Intake: A Mendelian Randomization Study. *Curr Dev Nutr* 2021; 5: nzab019.
- [309] Davies NM, Holmes MV, Davey Smith G. Reading Mendelian randomisation studies: a guide, glossary, and checklist for clinicians. *BMJ* 2018; k601.
- [310] Feng J, Chen B-Y. Prevalence and incidence of hypertension in obstructive sleep apnea patients and the relationship between obstructive sleep apnea and its confounders. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 1464–1468.

- [311] Grandner MA, Drummond SPA. Who are the long sleepers? Towards an understanding of the mortality relationship. *Sleep Med Rev* 2007; 11: 341–360.
- [312] Sudlow C, Gallacher J, Allen N, et al. UK Biobank: An Open Access Resource for Identifying the Causes of a Wide Range of Complex Diseases of Middle and Old Age. *PLOS Med* 2015; 12: e1001779.
- [313] Skrivankova VW, Richmond RC, Woolf BAR, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology Using Mendelian Randomization: The STROBE-MR Statement. *JAMA* 2021; 326: 1614.
- [314] Bycroft C, Freeman C, Petkova D, et al. The UK Biobank resource with deep phenotyping and genomic data. *Nature* 2018; 562: 203–209.
- [315] Turner S, Armstrong LL, Bradford Y, et al. Quality Control Procedures for Genome-Wide Association Studies. *Curr Protoc Hum Genet*; 68. Epub ahead of print January 2011. DOI: 10.1002/0471142905.hg0119s68.
- [316] Constantinescu A-E, Mitchell RE, Zheng J, et al. A framework for research into continental ancestry groups of the UK Biobank. *Hum Genomics* 2022; 16: 3.
- [317] Lu C, Ahmed R, Lamri A, et al. Use of race, ethnicity, and ancestry data in health research. *PLOS Glob Public Health* 2022; 2: e0001060.
- [318] Wray NR, Ripke S, Mattheisen M, et al. Genome-wide association analyses identify 44 risk variants and refine the genetic architecture of major depression. *Nat Genet* 2018; 50: 668–681.
- [319] Howard DM, Adams MJ, Clarke T-K, et al. Genome-wide meta-analysis of depression identifies 102 independent variants and highlights the importance of the prefrontal brain regions. *Nat Neurosci* 2019; 22: 343–352.
- [320] Hyde CL, Nagle MW, Tian C, et al. Identification of 15 genetic loci associated with risk of major depression in individuals of European descent. *Nat Genet* 2016; 48: 1031–1036.
- [321] Howard DM, Adams MJ, Shirali M, et al. Genome-wide association study of depression phenotypes in UK Biobank identifies variants in excitatory synaptic pathways. *Nat Commun* 2018; 9: 1470.
- [322] Paz V, Williams DM, Richards M, et al. Association between circadian rhythms, sleep, and depression: a bidirectional Mendelian randomisation study in the UK Biobank. Epub ahead of print 10 December 2024. DOI: 10.1101/2024.12.08.24318680.
- [323] Saha S, Lim CCW, Cannon DL, et al. Co-morbidity between mood and anxiety disorders: A systematic review and meta-analysis. *Depress Anxiety* 2021; 38: 286–306.
- [324] Van Der Walt K, Campbell M, Stein DJ, et al. Systematic review of genome-wide association studies of anxiety disorders and neuroticism. *World J Biol Psychiatry* 2023; 24: 280–291.
- [325] Burgess S, Bowden J. Integrating summarized data from multiple genetic variants in Mendelian randomization: bias and coverage properties of inverse-variance weighted methods. *ArXiv151204486 Stat*, <http://arxiv.org/abs/1512.04486> (2015, accessed 31 August 2021).

- [326] Bowden J, Smith GD, Haycock PC, et al. Consistent Estimation in Mendelian Randomization with Some Invalid Instruments Using a Weighted Median Estimator. *Genet Epidemiol* 2016; 40: 304–314.
- [327] Merikanto I, Kronholm E, Peltonen M, et al. Circadian preference links to depression in general adult population. *J Affect Disord* 2015; 188: 143–148.
- [328] Sun Y, Shi L, Bao Y, et al. The bidirectional relationship between sleep duration and depression in community-dwelling middle-aged and elderly individuals: evidence from a longitudinal study. *Sleep Med* 2018; 52: 221–229.
- [329] Taylor DJ, Lichstein KL, Durrence HH, et al. Epidemiology of Insomnia, Depression, and Anxiety. *Sleep* 2005; 28: 1457–1464.
- [330] Burgess S, Thompson SG. Interpreting findings from Mendelian randomization using the MR-Egger method. *Eur J Epidemiol* 2017; 32: 377–389.
- [331] Roberts RE, Duong HT. Depression and insomnia among adolescents: A prospective perspective. *J Affect Disord* 2013; 148: 66–71.
- [332] Hertenstein E, Feige B, Gmeiner T, et al. Insomnia as a predictor of mental disorders: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev* 2019; 43: 96–105.
- [333] Li L, Wu C, Gan Y, et al. Insomnia and the risk of depression: a meta-analysis of prospective cohort studies. *BMC Psychiatry* 2016; 16: 375.
- [334] Riemann D, Spiegelhalder K, Nissen C, et al. REM Sleep Instability – A New Pathway for Insomnia? *Pharmacopsychiatry* 2012; s-0031-1299721.
- [335] Franzen PL, Siegle GJ, Buysse DJ. Relationships between affect, vigilance, and sleepiness following sleep deprivation. *J Sleep Res* 2008; 17: 34–41.
- [336] Franzen PL, Buysse DJ, Dahl RE, et al. Sleep deprivation alters pupillary reactivity to emotional stimuli in healthy young adults. *Biol Psychol* 2009; 80: 300–305.
- [337] Palagini L, Bastien CH, Marazziti D, et al. The key role of insomnia and sleep loss in the dysregulation of multiple systems involved in mood disorders: A proposed model. *J Sleep Res* 2019; 28: e12841.
- [338] Yates WR, Mitchell J, Rush AJ, et al. Clinical features of depressed outpatients with and without co-occurring general medical conditions in STAR*D. *Gen Hosp Psychiatry* 2004; 26: 421–429.
- [339] Bagherzadeh-Azbari S, Khazaie H, Zarei M, et al. Neuroimaging insights into the link between depression and Insomnia: A systematic review. *J Affect Disord* 2019; 258: 133–143.
- [340] Bauducco S, Richardson C, Gradisar M. Chronotype, circadian rhythms and mood. *Curr Opin Psychol* 2020; 34: 77–83.
- [341] Burns A, Sinnott-Armstrong N, Daghlas I, et al. Sleep inertia, not chronotype, is a marker of circadian misalignment and a risk factor for psychiatric disorders: genetic and epidemiological evidence. *Sleep Med* 2024; 115: S64.
- [342] Chen H-C, Chou P. Predictors of Change in Self-Reported Sleep Duration in

Community-Dwelling Older Adults: The Shih-Pai Sleep Study, Taiwan. *Sci Rep* 2017; 7: 4729.

- [343] Dong L, Xie Y, Zou X. Association between sleep duration and depression in US adults: A cross-sectional study. *J Affect Disord* 2022; 296: 183–188.
- [344] Wade KH, Hamilton FW, Carslake D, et al. Challenges in undertaking nonlinear Mendelian randomization. *Obesity* 2023; 31: 2887–2890.
- [345] Mellman TA. Sleep and Anxiety Disorders. *Psychiatr Clin North Am* 2006; 29: 1047–1058.
- [346] Uhde TW, Cortese BM, Vedeniapin A. Anxiety and sleep problems: Emerging concepts and theoretical treatment implications. *Curr Psychiatry Rep* 2009; 11: 269–276.
- [347] Cox RC, Olatunji BO. A systematic review of sleep disturbance in anxiety and related disorders. *J Anxiety Disord* 2016; 37: 104–129.
- [348] Zhou F, Li S, Xu H. Insomnia, sleep duration, and risk of anxiety: A two-sample Mendelian randomization study. *J Psychiatr Res* 2022; 155: 219–225.
- [349] Riemann D, Nissen C, Palagini L, et al. The neurobiology, investigation, and treatment of chronic insomnia. *Lancet Neurol* 2015; 14: 547–558.
- [350] Richard IH, Lyness JM. An Overview of Depression. In: Jests DV, Friedman JH (eds) *Psychiatry for Neurologists*. Totowa, NJ: Humana Press, pp. 33–41.
- [351] Carter AR, Sanderson E, Hammerton G, et al. Mendelian randomisation for mediation analysis: current methods and challenges for implementation. *Eur J Epidemiol* 2021; 36: 465–478.
- [352] Fry A, Littlejohns TJ, Sudlow C, et al. Comparison of Sociodemographic and Health-Related Characteristics of UK Biobank Participants With Those of the General Population. *Am J Epidemiol* 2017; 186: 1026–1034.
- [353] Wang T, Li M, Xu S, et al. The relationship between sleep quality and depression: Critical roles of reflective and brooding rumination and sleep-related cognition. *Psychol Health Med* 2023; 28: 955–963.
- [354] Slavish DC, Graham-Engeland JE. Rumination mediates the relationships between depressed mood and both sleep quality and self-reported health in young adults. *J Behav Med* 2015; 38: 204–213.
- [355] Nolen-Hoeksema S, Wisco BE, Lyubomirsky S. Rethinking Rumination. *Perspect Psychol Sci* 2008; 3: 400–424.
- [356] Michael Vanderlind W, Beevers CG, Sherman SM, et al. Sleep and sadness: exploring the relation among sleep, cognitive control, and depressive symptoms in young adults. *Sleep Med* 2014; 15: 144–149.
- [357] Ho FY-Y, Poon C-Y, Wong VW-H, et al. Actigraphic monitoring of sleep and circadian rest-activity rhythm in individuals with major depressive disorder or depressive symptoms: A meta-analysis. *J Affect Disord* 2024; 361: 224–244.
- [358] Quera Salva M, Hartley S, Barbot F, et al. Circadian Rhythms, Melatonin and Depression. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 1459–1470.

- [359] Feng H, Yang L, Ai S, et al. Association between accelerometer-measured amplitude of rest-activity rhythm and future health risk: a prospective cohort study of the UK Biobank. *Lancet Healthy Longev* 2023; 4: e200–e210.
- [360] Baron KG, Reid KJ. Circadian misalignment and health. *Int Rev Psychiatry* 2014; 26: 139–154.
- [361] Facer-Childs ER, Middleton B, Skene DJ, et al. Resetting the late timing of ‘night owls’ has a positive impact on mental health and performance. *Sleep Med* 2019; 60: 236–247.
- [362] Taylor BJ, Hasler BP. Chronotype and Mental Health: Recent Advances. *Curr Psychiatry Rep* 2018; 20: 59.
- [363] Watling J, Pawlik B, Scott K, et al. Sleep Loss and Affective Functioning: More Than Just Mood. *Behav Sleep Med* 2017; 15: 394–409.
- [364] Rosenthal R, Rosnow RL. *Artifacts in Behavioral Research*. Oxford University Press, USA, 2009.
- [365] Stone JE, McGlashan EM, Facer-Childs ER, et al. Accuracy of the GENEActiv Device for Measuring Light Exposure in Sleep and Circadian Research. *Clocks Sleep* 2020; 2: 143–152.
- [366] Terman M, Terman JS. Light Therapy for Seasonal and Nonseasonal Depression: Efficacy, Protocol, Safety, and Side Effects. *CNS Spectr* 2005; 10: 647–663.
- [367] World Health Organization. ICD-11: International classification of diseases (11th revision).
- [368] Insel TR. The NIMH Research Domain Criteria (RDoC) Project: Precision Medicine for Psychiatry. *Am J Psychiatry* 2014; 171: 395–397.
- [369] Shiffman S, Stone AA, Hufford MR. Ecological Momentary Assessment. *Annu Rev Clin Psychol* 2008; 4: 1–32.
- [370] Carpenter JS, Crouse JJ, Scott EM, et al. Circadian depression: A mood disorder phenotype. *Neurosci Biobehav Rev* 2021; 126: 79–101.
- [371] Lewy AJ, Emens JS, Songer JB, et al. Winter Depression: Integrating Mood, Circadian Rhythms, and the Sleep/Wake and Light/Dark Cycles into a Bio-Psycho-Social-Environmental Model. *Sleep Med Clin* 2009; 4: 285–299.
- [372] Okun ML. Disturbed Sleep and Postpartum Depression. *Curr Psychiatry Rep* 2016; 18: 66.

Anexos

A continuación se presenta el material suplementario y actividades relacionadas al trabajo de tesis.

Material suplementario

Capítulo II, sección I:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389945723004148?via%3Dihub#appsec1>

Capítulo II, sección II:

https://docs.google.com/spreadsheets/d/1mS7mOwc6zwDum9fEx7i0LSLAfcrcQ_QHrTNfyaz8D8I/edit?usp=sharing

Contratos honorarios

1. Honorary Research Fellow, Department of Pharmacology and Therapeutics, University of Liverpool, United Kingdom (2024 - a la fecha).
2. Honorary Research Assistant, MRC Unit for Lifelong Health and Ageing at UCL, Institute of Cardiovascular Sciences, Faculty of Population Health Sciences, University College London, London, United Kingdom (2020 - a la fecha).

Proyectos

1. Cronobiología traslacional y su integración a la salud y las políticas públicas. Responsables: Ana Silva y Bettina Tassino. Financiamiento: Fondo Ciudadanía y Conocimiento, Comisión Sectorial de Investigación Científica, UDELAR (2024 - a la fecha)
2. Cronobiología traslacional: de la mesada a la práctica clínica. Responsables: Ana Silva y Bettina Tassino. Financiamiento: Espacio Interdisciplinario, UDELAR (2023 - a la fecha)

Presentaciones

Presentaciones orales

1. Jornadas de Salud Circadiana, Uruguay (2024)
2. Medicina Circadiana en Uruguay: el comienzo de un camino, Grupo Cronobiología, UDELAR, Uruguay (2023)
3. Jornadas de la Sociedad de Neurociencias del Uruguay (2023)
4. Virtual Institute for Temporal Ethology Meetings (2023) (seminario organizado por Till Roenneberg, reconocido experto en Cronobiología a nivel mundial)
5. Dashti's Lab meeting, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, United States (2023)
6. Saxena's lab weekly meeting, Center for Genomic Medicine, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, United States (2023)
7. Mendel's Coffee Club, University College London, United Kingdom (2022)
8. Mental Ageing Meeting, University College London, United Kingdom (2021)
9. Jornada interdisciplinaria de Ciencias Cognitivas, Uruguay (2021)

Presentaciones en formato póster

1. Society for Research on Biological Rhythms Meeting, Puerto Rico (2024)
2. 6th International Mendelian Randomization Conference, United Kingdom (2024)
3. Sao Paulo School of Advance Science on Ecology of Human Sleep and Biological Rhythms, Universidad de Sao Paulo, Brasil (2022)
4. III Congreso Nacional de Biociencias, Uruguay (2022)
5. XVI Latin American Symposium on Chronobiology (2021)
6. London Genetics Network Annual Meeting, United Kingdom (2021)

Formación académica

Pasantías

1. Center for Genomic Medicine, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, United States (Marzo 2023).
2. MRC Unit for Lifelong Health and Ageing at UCL, Institute of Cardiovascular Sciences, Faculty of Population Health Sciences, University College London, London, United Kingdom (Julio - Octubre, 2021).

Escuelas

1. Sao Paulo School of Advance Science on Ecology of Human Sleep and Biological Rhythms, Universidad de Sao Paulo, Brasil (2022). Carga horaria: 68 h.
2. University of Colorado Sleep and Circadian Summer School, University of Colorado, United States (2020). Carga horaria: 6 h.

Cursos

1. Circadian Medicine Course, Society for Research on Biological Rhythms, Puerto Rico (2024). Carga horaria: 6,75 h.
2. Logistic regressions, University College London, United Kingdom (2021). Carga horaria: 7 h.
3. Workshop How to publish High-Quality Research, Sociedad Uruguaya de Ciencias Cognitivas y del Comportamiento, Uruguay (2021). Carga horaria: 4 h.
4. Mendelian Randomisation Course, Cambridge University, United Kingdom (2020). Carga horaria: 9 h.

Becas y apoyos económicos

1. Sistema Nacional de Investigadores, Agencia Nacional de Investigación e Innovación (2024-a la fecha). Nivel iniciación.
2. 6th International Mendelian Randomization Conference (2024). Apoyo económico de £500.
3. Régimen de Dedicación Total, UDELAR (2023-a la fecha).
4. Becas de apoyo a docentes para estudios de posgrado en la UDELAR - Doctorado, Comisión Académica de Posgrado (2021 - 2023).
5. III Congreso Nacional de Biociencia (2022). Beca del 50% de la inscripción.
6. Sao Paulo School of Advance Science on Ecology of Human Sleep and Biological Rhythms, Universidad de Sao Paulo, Brasil (2022). Apoyo económico (pasaje y alojamiento).
7. Movilidad e Intercambios Académicos, Comisión Sectorial de Investigación Científica (2021, 2023, 2024).
8. Becas de movilidad de tipo capacitación, Agencia Nacional de Investigación e Innovación (2020).
9. Llamado pasantías de corta duración para estudiantes, PEDECIBA (2020)

Revisiones para revistas arbitradas

Comité Editorial

1. Psicología, Conocimiento y Sociedad (2023-a la fecha)

Revisiones

1. Sleep Medicine (2024)
2. Cerebral Cortex (2023)
3. Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento (2023)

4. BMC Geriatrics (2023, junto a la Dra. Garfield)
5. Genetics and Molecular Biology (2023, junto a la Dra. Garfield)
6. Psicología, Conocimiento y Sociedad (2021)

Desarrollos

1. Apoyo en el diseño de página web para la convocatoria de participantes y la recolección de datos (<http://estudioscronobiologia.fcien.edu.uy/>)
2. Paquete de análisis de datos “MRPipeline” (<https://github.com/asalzy/MRPipeline>)
3. Audiovisual “Métodos de investigación en Cronobiología” (<https://youtu.be/ONwYzgVMM4>)

Aprendizajes metodológicos

1. Aleatorización Mendeliana
2. Sistema operativo UNIX
3. Software El Temps
4. Software PLINK
5. Lenguaje de programación BASH

Formación de recursos humanos

Supervisión de proyectos

1. Calidad de sueño y rumia: el rol de la resiliencia como modulador (2022). Proyecto PAIE. Supervisión: Gabriela Fernández y Valentina Paz. Estudiantes: Nicolás Barretto, Vanessa García, Amparo Martínez, Cecilia Misol, María Eugenia Ortega, Catalina Suarez, Jezebel Mercadal y Emilia Sugo. Artículo en revisión en Current Psychology.

Supervisión de Trabajos Finales de Grado, Licenciatura en Psicología

1. Abordaje del Trastorno de Insomnio desde la Terapia Cognitivo-Conductual (2023).
Estudiante: Germán Rodríguez.
2. Depresión clínica y tratamiento con intervenciones en el estilo de vida (2023). Estudiante:
Joaquín Guillén Arriola.
3. Uso excesivo de pantallas, repercusiones en el sistema circadiano y sus consecuencias a
nivel emocional (2022-2023). Estudiante: Natalia Larrondo.
4. Revisión sistemática acerca de la asociación entre calidad de sueño y rumia (2022-2023).
Estudiante: Amparo Martínez.
5. Cronotipos, hábitos de sueño y depresión (2021-2022). Estudiante: Lorena Pasanante.

Revisión de Trabajos Finales de Grado, Licenciatura en Psicología

1. Incidencia de la cronobiología en el consumo de alcohol, tabaco y cannabis en adolescentes
institucionalizados en un liceo de Montevideo (2023). Estudiante: Brian Steve Flores Amaro.
Supervisores: Daniel Camparo Ávila y Paul Ruiz.

Cursos y clases dictados

1. Salud circadiana: de la investigación básica a la práctica clínica (2024). Docentes
responsables: Ana Silva, Bettina Tassino, José Pedro Arcos y Fernanda Blasina. Asistentes:
Julieta Castillo, Mariana Marchesano y Valentina Paz. Curso para las Maestrías PEDECIBA,
PROINBIO, Maestría en Ciencias Cognitivas, Maestrías de la Facultad de Psicología
(UDELAR).
2. Ciencias cognitivas y del comportamiento, Articulación de Saberes VI: Diálogos y ámbitos
interdisciplinarios (2024). Docentes responsables: Alejandra Carboni y Rossana Perrone.
Curso de la Licenciatura en Psicología (UDELAR). Invitada a dictar una clase.

3. Modelos transdiagnósticos para la comprensión de la psicopatología en jóvenes (2023, 2024). Docente responsable: Gabriela Fernández. Curso de la Licenciatura en Psicología (UDELAR). Invitada a dictar dos clases.
4. Aproximación a la Neurobiología de la Depresión y Ansiedad (2023). Docentes responsables: Victoria Gradin y Jessika Urbanavicius. Asistentes: Valentina Paz. Curso para las Maestrías PEDECIBA, Maestría en Ciencias Cognitivas, Maestrías de la Facultad de Psicología (UDELAR) y estudiantes avanzados de grado.
5. Ritmos biológicos, sueño y comportamiento humano. Docentes: Cecilia Madriaga, Ignacio Estevan, Andrés Olivera y Valentina Paz (2020). Curso de Formación Permanente.

Organización de seminarios de investigación mensuales

1. Mendel 's Coffee Club, University College London, United Kingdom (2023 - a la fecha). Responsables: Victoria Garfield, Alba Fernandez-Sanles y Valentina Paz.
2. Grupo Cronobiología, UDELAR (2021-2023). Responsables: Ignacio Estevan, Guillermo Valiño y Valentina Paz.

Divulgación

Artículos

1. Paz, V., Dashti, H. S., & Garfield, V. (2023). Napping may be beneficial for your brain - here's how. The Conversation.

Charlas

1. Colegio y Liceo Clara Jackson de Heber, Uruguay (2023)
2. Fundación Nélide Emir Giacoya Varela, Uruguay (2022)
3. Colegio Seminario, Uruguay (2022)

4. Liceo IBO, Uruguay (2022)

Entrevistas en medios de comunicación

1. El País, Uruguay
2. Sobreciencia, TV Ciudad, Uruguay
3. La Diaria, Uruguay
4. No toquen nada, Radio DelSol, Uruguay
5. Radio Cultura, Uruguay
6. Relatos, TV Ciudad, Uruguay
7. Buen Vivir, Canal 4, Uruguay
8. Soñar, Radio Urbana, Uruguay
9. Canal de Youtube del Dr. Anselmo Flores Andrade, México
10. Radio City, Ecuador
11. El detalle de las notas de prensa asociadas al artículo “Is there an association between daytime napping, cognitive function, and brain volume? A Mendelian randomization study in the UK Biobank” se puede ver aquí: <https://www.altmetric.com/details/150300654>. Se destacan notas en la BBC, CNN, The Guardian, The Times y CBS News.

BRIEF REPORT

Open Access



Associations between circadian, sleep, and mood disturbances in Uruguayan dance students

Valentina Paz^{1,2}, Natalia Coirolo¹, Bettina Tassino^{1,3} and Ana Silva^{1,4*}

Abstract

Background Current evidence supports associations between circadian, sleep, and mood disturbances. However, it is still debated to what extent different chronobiological and mood variables act independently or in synergy to impact health.

Methods This study assesses how these variables interact to affect depressive symptoms and sleep quality in 26 Uruguayan dancers (age=22.27±2.43) training in the morning ($n=9$) or in the night shift ($n=17$). Participants completed the Munich Chronotype Questionnaire, the Pittsburgh Sleep Quality Index, and the Beck Depression Inventory-II.

Results Participants reported high social jetlag (1.58 ± 1.45 h), late chronotypes ($05:43\pm01:35$), and poor sleep quality (6.77 ± 2.67), while adequate sleep duration (7.10 ± 1.31 h) and minimal depression (7.15 ± 3.62), without differences across shifts. Depressive symptoms increased as sleep quality worsened ($F(1,21)=20.66$, $p<0.001$, $\eta^2=0.50$). In addition, we found a marginal interaction between sleep duration and the shift to explain depressive mood ($F(1,21)=4.06$, $p=0.057$, $\eta^2=0.16$), with participants in the morning shift showing higher depressive symptoms with decreased sleep duration. Furthermore, sleep quality deteriorated as social jetlag increased ($F(1,20)=14.82$, $p=0.001$, $\eta^2=0.43$), particularly in more depressed individuals ($F(1,20)=24.09$, $p<0.001$, $\eta^2=0.55$).

Conclusions Our findings indicate that social, circadian, sleep, and mood variables are inextricably linked in this population of dancers.

Keywords Dancers, Shifts, Sleep, Depressive symptoms, Social jetlag, Chronotype

Introduction

The circadian system controls the endogenous rhythms of different body functions, being the sleep-wake cycle the most conspicuous human circadian rhythm (Aschoff, 1965). Social demands interfere with the sleep-wake cycle and can lead to a discrepancy between social and biological time. This discrepancy, called social jetlag (SJL), is used as a proxy of the amount of strain on the circadian system exerted by social timing constraints, and it is worse in late chronotypes. Youngsters usually must fit their late sleep schedules, driven by their natural tendency to eveningness, with early school/work timings. This constant adjustment puts them at risk of

*Correspondence:

Ana Silva
asilva@fcien.edu.uy

¹ Grupo Cronobiología, Comisión Sectorial de Investigación Científica, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

² Instituto de Psicología Clínica, Facultad de Psicología, Universidad de la República, Tristán Narvaja 1674, Montevideo, Uruguay

³ Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay

⁴ Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay



© The Author(s) 2023. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

circadian misalignment and sleep disruptions (Wittmann et al. 2006). The combination of SJL and eveningness has documented detrimental effects on sleep health, but it is still debated which is the main influential factor or whether specific traits interact with them (Roenneberg et al. 2019). Engaging in physical activity can also adjust the circadian system, and exercising at appropriate times may promote chronobiological homeostasis, preventing circadian disruption (Lewis et al. 2018).

Sleep can be characterized by its duration, timing, and quality (Chaput and Shiau 2019). Sleep quality, conceived as an individual's satisfaction with one's sleep (Ohayon et al. 2017), can also be constrained by social pressures. In line with this, applying a chronotype-adjusted schedule in shift workers improves their sleep quality and decreases their SJL (Vetter et al. 2015). Therefore, it is not the chronotype *per se* but working out-of-phase with respect to the individual chronotype that explains low sleep quality. In addition, sleep quality is restrained by sleep duration, with people with short and long sleep durations being the most likely to report poor sleep quality (Bin 2016).

Sleep and circadian rhythm disturbances frequently occur in depression, the most prevalent mental disorder and the leading cause of disability to date. Sleep disturbances can precipitate or exacerbate depression and increase resistance to treatment (Zaki et al. 2018). Both short and long sleep durations have been associated with a higher risk of depression (Zhai et al. 2015). In addition, the association between depression and chronotype has been extensively reported, with studies showing that evening types are more prone to report depressive symptoms (Hidalgo et al. 2009). However, the relationship between SJL and depression is less consistent (Henderson et al. 2019).

A large amount of evidence supports a bidirectional association between sleep quality and depression (Dinis and Bragança 2018). Depressive symptoms are more prevalent in poor sleepers (Wilson et al. 2014), and the vast majority of people with depression complain about sleep quality (Tsuno et al. 2005). Furthermore, studies among university students have found that poor sleep quality was associated with depression and vice versa. Chronotype, the use of technology, and physical activity have been reported to influence this association (Dinis and Bragança 2018; Feng et al. 2014).

To contribute to the study of the multidirectional associations between social, circadian, sleep, and mood variables, it is imperative to find advantageous models that allow disentangling the effects of each component. Young Uruguayans emerge as an interesting model because they

are extremely late-oriented and exhibit strong misalignment (Coirolo et al. 2020; Estevan et al. 2020; Estevan et al. 2021; Silva et al. 2019; Tassinio et al. 2016). In fact, previous studies on Uruguayan youngsters show some of the most extreme late chronotype values reported so far, even when compared with similar sociocultural populations (Randler 2008), and more than one h of SJL, which is currently considered above the tolerable limit (Korman et al. 2020). Moreover, dancers, as competitive athletes who undergo long periods of training and high pressure, are especially vulnerable to sleep and mood disturbances. However, only a few studies examined how sleep is altered in dancers, reporting sleep efficiency and duration deficits before a premiere (Fietze et al. 2009). This study stands on previous work evaluating changes in the biological clock's function and the sleep patterns of Uruguayan dancers trained in shifts (Coirolo et al. 2020; Coirolo et al. 2022; Estevan et al. 2023). In this same model system, we aimed to investigate how social, chronobiological, and psychological factors interact to affect depressive symptoms and sleep quality.

Materials and methods

Participants

Dance students from a four-year training public program for professional contemporary and folkloric dance (Escuelas de Formación Artística, END-SODRE, Ministerio de Educación y Cultura, Uruguay) were personally invited to participate in this study through informational flyers. This program begins each year in March and ends in December. First and second-year students attend the night shift (20:00 to 24:00), and third and fourth-year students attend the morning shift (08:30 to 12:30) from Monday to Friday. This organization in shifts allows the maximization of the school infrastructure usage, and students cannot select their shifts.

Twenty-six participants attending either the morning ($n=9$) or night ($n=17$) shift (a subset of the participants previously reported (Coirolo et al. 2020; Coirolo et al. 2022; Estevan et al. 2023)) fulfilled the inclusion criteria to participate in this study. Inclusion criteria involved not taking psychiatric medication, not using alarm clocks during weekends, and having complete information in the selected questionnaires. Participants did not significantly differ in gender and age across shifts (Table 1). The data was collected in August 2019 (wintertime in the southern hemisphere) during school time. This work was conducted following the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the Research Ethics Committee from the School of Psychology (Universidad de la República). Written informed consent was obtained from all the participants.

Table 1 Demographic, chronobiological, and sleep characteristics between shifts

n	Total 26	Morning-shift 9	Night-shift 17	p-value	Cohen's w/d
Gender (F/M)	21/5	7/2	14/3	1.00 ns	0.06
Age (years)	22.27 ± 2.43 (min: 18, max: 28)	22.78 ± 2.17	22.00 ± 2.57	0.45 ns	0.32
MSFsc (MCTQ) ^a	05:43 ± 01:35 (min: 02:11, max: 07:47)	05:10 ± 01:36	06:00 ± 01:33	0.21 ns	0.53
SJL (MCTQ) ^b	1.58 ± 1.45 (min: -1.26, max: 3.75)	2.12 ± 1.24	1.30 ± 1.51	0.18 ns	0.57
AvSD (MCTQ) ^c	7.10 ± 1.31 (min: 4.55, max: 10.36)	7.12 ± 0.70	7.09 ± 1.56	0.96 ns	0.02

Values are reported as mean ± SD. Fisher's exact test for discrete variables and Independent-samples t-test for continuous variables. Effect sizes were calculated as Cohen's w for frequency differences and Cohen's d for differences in means between groups. ^aMSFsc: midpoint of sleep on free days corrected (presented in military format); ^bSJL: the absolute difference between the midpoints of sleep on work and free days; ^cAvSD: average sleep duration estimated from sleep onset and end on work and free days. MSFsc and SJL correlated as expected (Pearson's correlation $r=0.52$, $p=0.006$); the later the chronotype, the higher the SJL.

Instruments

Demographic data were collected through a short questionnaire applied at the beginning of the assessment. The chronobiological characterization of participants was assessed using the Munich Chronotype Questionnaire (MCTQ) (Roenneberg et al. 2003). Chronotype was assessed as the midpoint of sleep on free days corrected for sleep debt accumulated on workdays (MSFsc) (Roenneberg et al. 2004), and SJL as the absolute difference between the midpoints of sleep on work and free days (Wittmann et al. 2006). Average sleep duration (AvSD) was estimated from sleep onset and end on work and free days. Participants additionally completed the Beck Depression Inventory-II (BDI) (Beck et al. 1996) and the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) (Buysse et al. 1989). BDI and PSQI have a four-point scale ranging from 0 to 3, with higher scores representing worse severity (BDI mean scoring >14 represents significant depressive symptoms, and PSQI mean scoring >5 represents poor sleep quality). All scales were administered in their Spanish versions and fulfilled during school time.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using RStudio version 2022.12.0. Linear regression models (R package "lm") were used to explore the influence of shift, SJL, MSFsc, AvSD, and PSQI on BDI and the influence of shift, SJL, MSFsc, AvSD, and BDI on PSQI. The models were selected using the best subsets method. This method relies on stepwise regression to find the subset of independent variables that best explains the outcome (Kassambara 2018). We used the forward stepwise regression, which implies iteratively adding the most contributive predictors until the improvement is no longer statistically significant. The model with the higher adjusted R^2 was selected for each outcome.

Furthermore, the residuals were plotted and inspected for deviations in normality or homoscedasticity. In both models, the mean of the residuals was close to zero, and the Shapiro-Wilk test and the Non-Constant Error Variance Test did not show evidence of non-normality ($p>0.05$), and non-constant variance ($p>0.05$), respectively. Effect sizes were calculated using the partial eta-squared method (η^2). Continuous explanatory variables (MSFsc and AvSD) were mean-centered and standardized. The emtrends and sim_slopes functions were used for estimating the slopes of fitted lines, with a 0.95 confidence level. Throughout the text, values are presented as mean ± standard deviation in descriptive statistics. The statistical significance level was set at $p<0.05$.

Results

Twenty-six dancers (18-28 years old, 80.8% women) trained at END-SODRE, Uruguay, participated in this study. The demographic, chronobiological, and sleep characterization of these dancers is presented in Table 1. Participants' MSFsc, SJL, and AvSD were not significantly different between shifts. Dancers showed a mean BDI of 7.15 ± 3.62 (min: 0, max: 14; morning shift: 6.56 ± 3.24 ; night shift: 7.47 ± 3.86) and a mean PSQI of 6.77 ± 2.67 (min: 3, max: 12; morning shift: 6.78 ± 2.11 ; night-shift: 6.76 ± 2.99). These results showed that participants were minimally depressed (mean scoring <14) while their subjective sleep quality was poor (mean scoring >5). Participants' BDI and PSQI were not significantly different between shifts ($p=0.55$, $p=0.99$, respectively) (Fig. 1).

The PSQI component in which the participants reported worse difficulties was sleep latency, followed by subjective quality and disturbances (Fig. 2).

Variables associated with depressive symptomatology

A significant effect of PSQI on BDI was found ($F_{(1,21)}=20.656$, $p<0.001$, $\eta^2=0.50$), with depressive

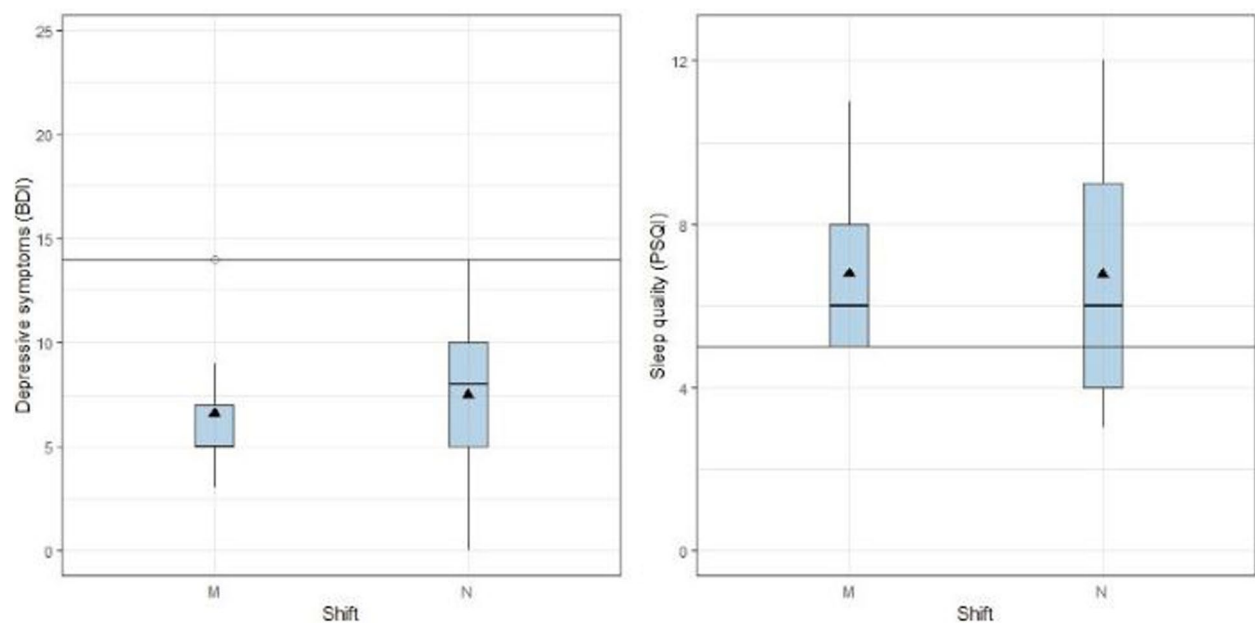


Fig. 1 Boxplots of outcome variables: depressive symptoms (BDI) and sleep quality (PSQI) between shifts

Notes: Triangles denote the mean. The horizontal line in both plots represents the reference point for considering depressive symptoms as more than minimal (BDI > 14) and sleep quality as poor (PSQI > 5)

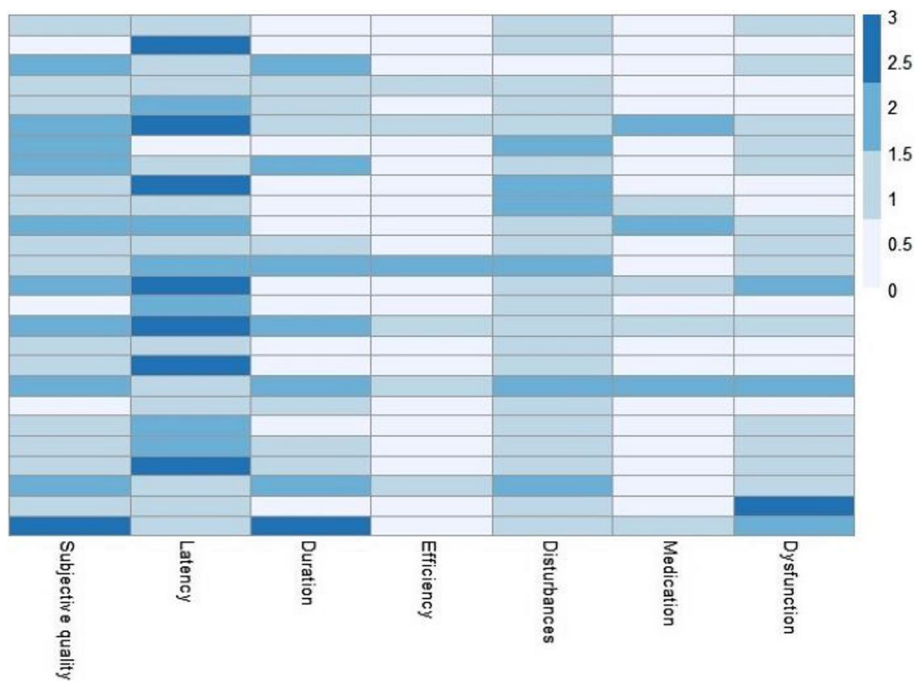


Fig. 2 Heatmap of PSQI components

Notes: The seven components are displayed on columns, and participants are displayed on rows. Stronger colors represent higher scores on the PSQI Likert scale, indicating greater difficulties

Table 2 ANOVA table for the regression model with depressive symptomatology as the dependent variable

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-value	P value	η^2
PSQI	1	141.402	141.402	20.656	<0.001***	0.50
MSFsc*AvSD	1	4.604	4.604	0.673	0.421	0.03
PSQI*AvSD	1	9.809	9.809	1.433	0.245	0.06
AvSD*Shift	1	27.817	27.817	4.064	0.057*	0.16
Residuals	21	143.753	6.845	-	-	
Adjusted R ²	0.48					

** denotes p -values <0.10 **** denotes p -values <0.001. η^2 = partial eta-squared. MSFsc and AvSD were mean-centered and standardized. PSQI: sleep quality; MSFsc: midpoint of sleep on free days corrected; AvSD: average sleep duration estimated from sleep onset and end on work and free days. SJL was not a relevant variable in the model based on the best subsets method

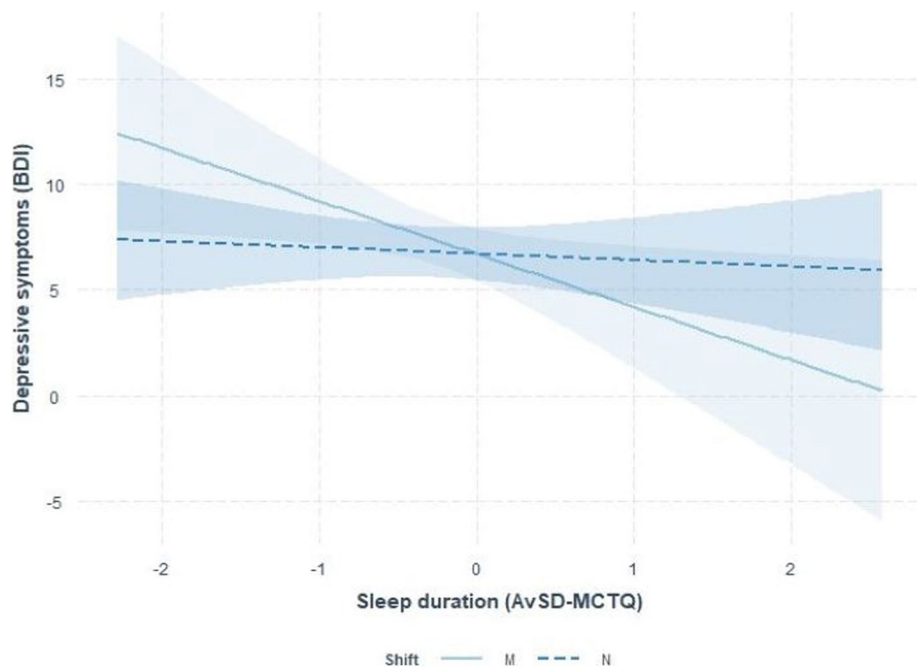


Fig. 3 Prediction from the linear model for depressive symptoms across sleep duration by shift

Notes: Sleep duration interacted with the shift to explain depressive symptoms, with participants in the morning shift showing higher depressive symptoms with decreased sleep duration. AvSD was mean-centered and standardized. The shaded area reflects 95% confidence intervals. M= morning shift, N= night shift

symptoms increasing as sleep quality worsened. In addition, a marginal interaction was found between AvSD and shift ($F_{(1,21)}=4.064, p=0.057, \eta^2=0.16$) (Table 2). According to the slope analysis, for participants in the morning shift, the slope of AvSD was negative and different from zero ($\beta=-2.515, 95\%CI=-4.680, -0.345$), while for participants in the night shift, the slope of AvSD was negative but not different from zero ($\beta=-0.295, 95\%CI=-1.570, 0.984$) (Fig. 3). This means that only for participants in the morning shift, depressive symptoms

increased as sleep duration decreased. The remaining interactions were not significant.

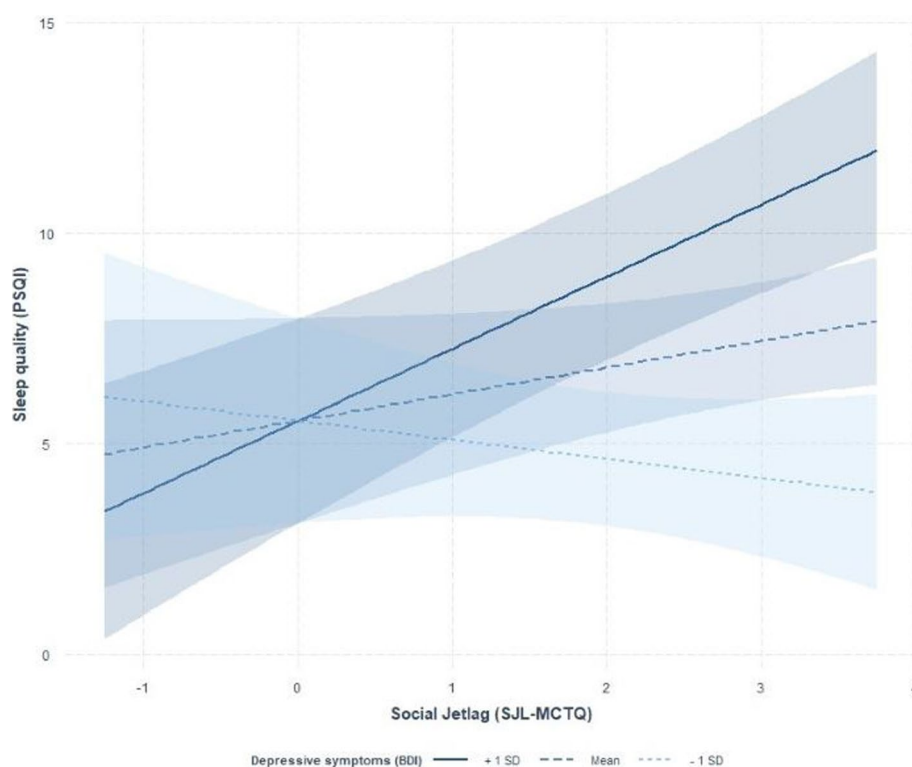
Variables associated with sleep quality

A significant main effect of SJL on PSQI was found ($F_{(1,20)}=14.822, p=0.001, \eta^2=0.43$). In addition, a significant interaction was found between SJL and BDI ($F_{(1,20)}=24.099, p<0.001, \eta^2=0.55$) (Table 3). Results were similar when correcting the formula of social jetlag for sleep debt (Jankowski 2017).

Table 3 ANOVA table for the regression model with sleep quality as the dependent variable

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F-value	P value	η^2
SJL	1	41.774	41.774	14.822	0.001**	0.43
Shift	1	3.233	3.233	1.147	0.297	0.05
SJL*BDI	1	67.922	67.922	24.099	<0.001***	0.55
Shift*MSFsc	2	9.317	4.658	1.653	0.217	0.14
Residuals	20	56.370	2.818	-	-	
Adjusted R ²	0.61					

*** denotes p-values <0.05, ** denotes p-values <0.001. η^2 = partial eta-squared. MSFsc was mean-centered and standardized. SJL: the absolute difference between the midpoints of sleep on work and free days; BDI: depressive symptoms; MSFsc: midpoint of sleep on free days corrected. AvSD was not a relevant variable to include in the model based on the best subsets method

**Fig. 4** Prediction from the linear model for sleep quality across social jetlag by depressive symptoms

Notes: Social jetlag interacted with depressive symptoms to explain sleep quality; the higher the depressive symptoms, the stronger the effect of social jetlag on sleep quality. Only three participants had a negative SJL. The shaded area reflects 95% confidence intervals

According to the slope analysis, for lower depressive symptoms (-1 SD from the mean=3.54), the slope of SJL was negative but not different from zero ($\beta=-0.42$, 95%CI=-1.20, 0.35, $p=0.27$). On the contrary, for average (7.15) and higher ($+1$ SD from the mean=10.78) depressive symptoms, the slope of SJL was positive and different from zero ($\beta=0.67$, 95%CI=0.01, 1.33, $p=0.05$; $\beta=1.76$, 95%CI=0.84, 2.69, $p\leq 0.01$ respectively; Fig. 4). This means that the higher the depressive symptomatology, the stronger the effect of SJL on sleep quality, with worse sleep quality as SJL increases. The remaining effects and interactions were not significant.

Discussion

Although several previous reports have described crossed associations among shifts, sleep, misalignment, chronotype, and depression (e.g. Selvi et al. 2018; Choi et al. 2019), it is still unclear to what extent each variable acts independently or interacts with the others. To comprehensively analyze these associations, we took advantage of the peculiar characteristics of dancers being trained in shifts, who are extremely late-oriented, have a strong misalignment, but do not show sleep duration deficits (Coirolo et al. 2020). We showed that: 1) despite

participants' lateness, dancers exhibited low depressive symptoms, and neither depression nor sleep quality were affected by chronotype; 2) dancers had a poor sleep quality, and SJL was strongly associated with its worsening, while chronotype and sleep duration were irrelevant; 3) depressive symptoms depended on the interaction between sleep duration and shift; and 4) sleep quality and depression were strongly linked.

College students and athletes are typically at risk of having sleep problems. Several reports have documented sleep deprivation in these populations (Bolin 2019) and poor sleep quality (Dinis and Bragança 2018; Fietze et al. 2009). Our study population, college dance students, exhibited the expected poor sleep quality. However, despite the great challenge dance training entails, these dancers documented an adequate sleep duration. On the other hand, depression is prevalent in college students (Ibrahim et al. 2013) and is associated with eveningness (Hidalgo et al. 2009). In this context, the participant's low depressive symptomatology was unexpected. However, exercise has been reported as an effective treatment for depression and circadian disruption (Firth et al. 2020); thus, it may protect dancers from the deleterious effect of late chronotype and lead them to adequate sleep duration.

One of the most striking features of these dancers is that they trained either early in the morning or very late in the evening. These participants belong to a larger population in which it has been reported that those attending the morning shift have earlier chronotypes and sleep timing (Coirolo et al. 2020), advanced dim-light melatonin onset, and higher SJL (Coirolo et al. 2022) compared with night-shift dancers. Probably because of the reduced number of our subsample, many of these features were not observed, nor did we find that depression or sleep quality were shift-dependent.

Depression and sleep

The consequences of having poor sleep quality are many, including a profound impact on mental health (Dinis and Bragança 2018). Numerous studies support an association between sleep quality and depression severity, whereby depressive symptoms are more prevalent in poor sleepers (Wilson et al. 2014). Moreover, a recent meta-analysis showed that interventions for sleep hygiene could reduce depression (Gee et al. 2019). Several mechanisms underlying the connection between sleep quality and depressive mood may be speculated. Some authors have argued that chronotype could influence this association, while others point toward the use of technology or physical activity (Dinis and Bragança 2018; Feng et al. 2014). Our results confirmed these previous reports by showing a

bidirectional association between poor sleep quality and depressive symptom severity.

SJL was very high among participants, but we found that it was not a relevant variable to include as a predictor of depressive symptoms in our model. This result was not that unexpected, given that it has been argued that the association between SJL and depression is inconsistent (Henderson et al. 2019). Moreover, we found that depression symptoms were quite low among participants and sleep duration adequate, and neither of them differed between the shifts. However, an interesting marginal association emerged from the influence of sleep duration and shift on depressive symptom severity. Morning-shift participants, but not night-shift ones, showed higher depressive symptoms as sleep duration decreased. Previous studies have shown that short sleep duration increases the risk of depression (Zhai et al. 2015). Short sleep durations are also known to affect mood regulation processes and increase negative emotions (Watling et al. 2017). Although sleep deficit was not an issue for dancers on either shift on average, we observed an association between sleep duration and depressive symptomatology in morning-shift dancers, in which short sleep was likely associated with misalignment. However, this finding should be taken with caution as it did not reach conventional levels of statistical significance.

Misalignment associated with sleep quality

Sleep quality was evaluated with one of the most cited indexes to assess this construct, the PSQI (Buysse et al. 1989). This instrument allows deriving different components. In our sample, the component of PSQI that contributed the most to the poor sleep quality reported by participants was sleep latency, followed by subjective quality and disturbances. Usually, sleep duration is a major dimension for measuring sleep quality (Mendonça et al. 2019). Nonetheless, the restorative effects of sleep also depend on other aspects besides its duration (Hirshkowitz et al. 2015). In line with this, we found that PSQI component sleep duration was not a core factor to explain the poor sleep quality reported by our participants. Furthermore, these dancers reported poor sleep quality but an adequate sleep duration measured by the MCTQ.

Consistent with past findings, we confirmed that sleep quality was influenced by SJL (Kang et al. 2021), indicating that sleep occurring in a different circadian window on work and free days may lead to poorer sleep quality. Previous studies have highlighted that in college students, sleep habits are constantly shifting between weekdays and weekends to meet the demands of college life, disrupting sleep or lessening their quality (Buboltz et al. 2001). Moreover, we found that SJL interacted with depressive

symptomatology to explain sleep quality in these dancers. In particular, we found that the most severe symptoms of depression are associated with the greatest effect of SJL on sleep quality. Importantly, this effect was found even when the higher scores of depressive symptoms among participants corresponded to minimally depressed individuals (Beck et al. 1996).

Circadian misalignment is a chronic stress factor that renders the organism an allostatic overload (Karatsoreos and McEwen 2011). Thus, it is not surprising that it is linked to various health problems (Caliandro et al. 2021). Interestingly, previous studies in populations with minor or sub-clinical depressive symptoms did not find an association between SJL and depression severity (Schmitt et al. 2013). However, we showed that in dancers training in shifts, the additive effect of depressive symptoms and SJL adversely affect sleep quality. This result provides an excellent example of how circadian disruption and mood can have deleterious effects on sleep.

We did not find that sleep duration was a relevant variable to include as a regressor of sleep quality. These dancers who reported a good sleep duration on average presented a strong misalignment and poor sleep quality. These conditions that seem contradictory can also be an opportunity to test factors that usually interact and are difficult to disentangle. We demonstrated that the poor sleep quality observed in these adequate sleepers could be explained by sleep latency. Other factors such as the use of technology before sleeping, several wake episodes at night, or intense physical activity at the dim light melatonin onset time window could also collaborate to increase the high circadian disruption in this dancer population, leading to a deteriorated sleep quality.

Limitations

This study has several limitations, most of them derived from being an ecological study on a particular population in which influential variables were not controlled. First, the sample size was relatively small, which led to fragile associations that most likely cannot be extrapolated to other populations, and more than 80% of participants were women. Regardless, when controlling for gender in the models, the results remained the same. Second, the observational nature of the study precludes inference about causality. Third, we only used self-reported questionnaires; future studies combining objective and subjective measures should be performed. Fourth, we did not differentiate between PSQI scores on work and free days, which may have affected our results. Fifth, we did not take into account naps when measuring sleep duration. Sixth, we did not collect data regarding the daily activities of students; thus, we lacked information about other synchronizers (such as dietary habits) that could

influence their circadian system and emotional state. Finally, we aimed to study the END-SODRE population, which led to not capturing participants with severe depressive symptoms.

Conclusions

Using dance training in shifts as an advantageous real-world model, we assessed the interplay of social, chronobiological, and mood variables influencing depressive symptoms and sleep quality. The unique characteristics of these dancers, being extremely late-oriented, having strong circadian disruption and poor sleep quality but not reporting sleep duration deficits or high depressive symptoms, created the perfect setting to explore how these factors interact. We found that a) circadian misalignment predicted the poor sleep quality dancers displayed; b) although participants had poor sleep quality but not depression, these variables were inextricably linked; c) despite participants were not sleep deprived or depressed, the shorter the sleep duration, the higher the depressive mood in morning-shift dancers; d) social jetlag did not predict dancers' depressive symptomatology, but the higher the symptoms the stronger the effect of circadian misalignment on sleep quality. Our findings contribute novel evidence on the impact of the interaction of diverse factors on mood and sleep quality in the daily life of a normal population of dancers. It would be interesting for future studies to replicate these findings among other athletes susceptible to sleep and emotional disruptions as those who frequently travel internationally for competitions. Future work shall focus on understanding the mechanisms behind these effects in developing depression and poor sleep quality.

Abbreviations

SJL	Social jetlag
MCTQ	Munich chronotype questionnaire
MSFsc	Midpoint of Sleep on free days (corrected for sleep debt accumulated on workdays)
AvSD	Average sleep duration
BDI	Beck depression inventory
PSQI	Pittsburgh sleep quality index

Acknowledgments

We thank all the dancers of the END-SODRE who volunteered as participants in this study and Martín Inthamoussou (Director of the School of Performing Arts, SODRE), Andrea Salazar, and Emiliano D'Agostino (Coordinators of the END-SODRE) for their support and logistic help. We are very grateful to Micaela De Mori, Agustín Laguardia, Betania Martínez, and Luna Perla for their help in data collection and pre-processing. We finally thank Álvaro Cabana for his suggestions on the statistics and Victoria Garfield for the suggestions and English proofreading.

Authors' contributions

VP: conceptualization; data curation; formal analysis; methodology; visualization; writing (original draft, review & editing). NC: conceptualization; data curation; investigation; methodology; writing (review & editing). BT:

conceptualization; funding acquisition; investigation; methodology; supervision; writing (review & editing). AS: conceptualization; funding acquisition; investigation; methodology; supervision; writing (review & editing). All authors approved the final manuscript.

Funding

This research was funded by Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC, Udelar, Uruguay) and Comisión Académica de Posgrados (CAP, Udelar, Uruguay).

Availability of data and materials

The datasets generated and analyzed during the current study are available in the OSF repository (<https://osf.io/pkw28/>).

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Research Ethics Committee, School of Psychology, Universidad de la República. Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Received: 21 August 2023 Accepted: 27 October 2023

Published online: 10 December 2023

References

- Aschoff J. Circadian rhythms in man: a self-sustained oscillator with an inherent frequency underlies human 24-hour periodicity. *Science*. 1965;148:1427–32.
- Beck AT, Steer RA, Ball R, Ranieri WF. Comparison of beck depression inventories-IA and-II in psychiatric outpatients. *J Pers Assess*. 1996;67:588–97. https://doi.org/10.1207/s15327752jpa6703_13.
- Beck AT, Steer RA, Brown GK. Beck depression inventory (BDI-II). Pearson 1996;10.
- Bin YS. Is Sleep quality more important than sleep duration for public health? *Sleep*. 2016;39:1629–30. <https://doi.org/10.5665/sleep.6078>.
- Bolin DJ. Sleep deprivation and its contribution to mood and performance deterioration in college athletes. *Curr Sports Med Rep*. 2019;18:305–10. <https://doi.org/10.1249/JSR.0000000000000621>.
- Buboltz WC, Brown F, Soper B. Sleep habits and patterns of college students: a preliminary study. *J Am Coll Health*. 2001;50:131–5. <https://doi.org/10.1080/07448480109596017>.
- Buyse DJ, Reynolds CF, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh sleep quality index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res*. 1989;28:193–213. [https://doi.org/10.1016/0165-1781\(89\)90047-4](https://doi.org/10.1016/0165-1781(89)90047-4).
- Caliandro R, Streng AA, van Kerkhof LWM, van der Horst GTJ, Chaves I. Social jetlag and related risks for human health: a timely review. *Nutrients*. 2021;13:4543. <https://doi.org/10.3390/nu13124543>.
- Chaput J-P, Shiao J. Routinely assessing patients' sleep health is time well spent. *Prev Med Rep*. 2019;14:100851. <https://doi.org/10.1016/j.pmedr.2019.100851>.
- Choi HJ, Lee YJ, Yoo YJ, Cho YW, Moon H-J. The effects of chronotype and social jetlag on medical students. *Sleep Biol Rhythms*. 2019;17:269–76. <https://doi.org/10.1007/s41105-018-00198-6>.
- Coirolo N, Casaravilla C, Tassinio B, Silva A. Evaluation of environmental, social, and behavioral modulations of the circadian phase of dancers trained in shifts. *IScience*. 2022;25:104676. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104676>.
- Coirolo N, Silva A, Tassinio B. The impact of training shifts in dancers' chronotype and sleep patterns. *Sleep Sci*. 2020. <https://doi.org/10.5935/1984-0063.20200010>.
- Dinis J, Bragança M. Quality of sleep and depression in college students: a systematic review. *Sleep Sci*. 2018;11:290–301. <https://doi.org/10.5935/1984-0063.20180045>.
- Estevan I, Coirolo N, Tassinio B, Silva A. The influence of light and physical activity on the timing and duration of sleep: insights from a natural model of dance training in shifts. *Clocks Sleep*. 2023;5:47–61. <https://doi.org/10.3390/clockssleep5010006>.
- Estevan I, Sardi R, Tejera AC, Silva A, Tassinio B. Should I study or should I go (to sleep)? The influence of test schedule on the sleep behavior of undergraduates and its association with performance. *PLOS ONE*. 2021;16:e0247104. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247104>.
- Estevan I, Silva A, Vetter C, Tassinio B. Short sleep duration and extremely delayed chronotypes in uruguayan youth: the role of school start times and social constraints. *J Biol Rhythms*. 2020;35:391–404. <https://doi.org/10.1177/0748730420927601>.
- Feng Q, Zhang Q, Du Y, Ye Y, He Q. Associations of physical activity, screen time with depression, anxiety and sleep quality among Chinese college freshmen. *PLoS ONE*. 2014;9:e100914. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100914>.
- Fietze I, Strauch J, Holzhausen M, Glos M, Theobald C, Lehnkering H, et al. Sleep quality in professional ballet dancers. *Chronobiol Int*. 2009;26:1249–62. <https://doi.org/10.3109/07420520903221319>.
- Firth J, Solmi M, Wootton RE, Vancampfort D, Schuch FB, Hoare E, et al. A meta-review of "lifestyle psychiatry": the role of exercise, smoking, diet and sleep in the prevention and treatment of mental disorders. *World Psychiatry*. 2020;19:360–80. <https://doi.org/10.1002/wps.20773>.
- Gee B, Orchard F, Clarke E, Joy A, Clarke T, Reynolds S. The effect of non-pharmacological sleep interventions on depression symptoms: A meta-analysis of randomised controlled trials. *Sleep Med Rev*. 2019;43:118–28. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2018.09.004>.
- Henderson SEM, Brady EM, Robertson N. Associations between social jetlag and mental health in young people: A systematic review. *Chronobiol Int*. 2019;36:1316–33. <https://doi.org/10.1080/07420528.2019.1636813>.
- Hidalgo MP, Caumo W, Posser M, Coccaro SB, Camozzato AL, Chaves MLF. Relationship between depressive mood and chronotype in healthy subjects: Depressive mood and chronotype. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2009;63:283–90. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1819.2009.01965.x>.
- Hirshkowitz M, Whiton K, Albert SM, Alessi C, Bruni O, DonCarlos L, et al. National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: methodology and results summary. *Sleep Health*. 2015;1:40–3. <https://doi.org/10.1016/j.sleh.2014.12.010>.
- Ibrahim AK, Kelly SJ, Adams CE, Glazebrook C. A systematic review of studies of depression prevalence in university students. *J Psychiatr Res*. 2013;47:391–400. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2012.11.015>.
- Jankowski KS. Social jet lag: Sleep-corrected formula. *Chronobiol Int*. 2017;34:531–5. <https://doi.org/10.1080/07420528.2017.1299162>.
- Kang H, Lee M, Jang SJ. The impact of social jetlag on sleep quality among nurses: a cross-sectional survey. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18:47. <https://doi.org/10.3390/ijerph18010047>.
- Karatsoreos IN, McEwen BS. Psychobiological allostasis: resistance, resilience and vulnerability. *Trends Cogn Sci*. 2011;15:576–84. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2011.10.005>.
- Kassambara A. Machine Learning Essentials: Practical Guide in R. STHDA; 2018.
- Korman M, Tkachev V, Reis C, Komada Y, Kitamura S, Gubin D, et al. COVID-19-mandated social restrictions unveil the impact of social time pressure on sleep and body clock. *Sci Rep*. 2020;10:22225. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79299-7>.
- Lewis P, Korf HW, Kuffer L, Groß JV, Erren TC. Exercise time cues (zeitgebers) for human circadian systems can foster health and improve performance: a systematic review. *BMJ Open Sport Exerc Med*. 2018;4:e000443. <https://doi.org/10.1136/bmjsem-2018-000443>.
- Mendonça F, Mostafa SS, Morgado-Dias F, Ravelo-García AG, Penzel T. A Review of Approaches for Sleep Quality Analysis. *IEEE Access*. 2019;7:24527–46. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2019.2900345>.
- Ohayon M, Wickwire EM, Hirshkowitz M, Albert SM, Avidan A, Daly FJ, et al. National sleep foundation's sleep quality recommendations: first report. *Sleep Health*. 2017;3:6–19. <https://doi.org/10.1016/j.sleh.2016.11.006>.
- Randler C. Morningness-eveningness comparison in adolescents from different countries around the World. *Chronobiol Int*. 2008;25:1017–28. <https://doi.org/10.1080/07420520802551519>.

- Roenneberg T, Kuehnle T, Pramstaller PP, Ricken J, Havel M, Guth A, et al. A marker for the end of adolescence. *Curr Biol*. 2004;14:R1038–9. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.11.039>.
- Roenneberg T, Pilz LK, Zerbini G, Winnebeck EC. Chronotype and Social Jetlag: a (Self-) critical review. *Biology*. 2019;8:54. <https://doi.org/10.3390/biology8030054>.
- Roenneberg T, Wirz-Justice A, Mellow M. Life between clocks: daily temporal patterns of human chronotypes. *J Biol Rhythms*. 2003;18:80–90. <https://doi.org/10.1177/0748730402239679>.
- Schmitt R, Levandovski R, Hidalgo MPL. Relations between social rhythm, sleep phase, and minor psychiatric symptoms in healthy workers. *Biol Rhythm Res*. 2013;44:403–9. <https://doi.org/10.1080/09291016.2012.692256>.
- Selvi Y, Boysan M, Kandeger A, Uygur OF, Sayin AA, Akbaba N, et al. Heterogeneity of sleep quality in relation to circadian preferences and depressive symptomatology among major depressive patients. *J Affect Disord*. 2018;235:242–9. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.02.018>.
- 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;1:352–66. <https://doi.org/10.3390/clockssleep1030029>.
- Tassinio B, Horta S, Santana N, Levandovski R, Silva A. Extreme late chronotypes and social jetlag challenged by Antarctic conditions in a population of university students from Uruguay. *Sleep Sci*. 2016;9:20–8. <https://doi.org/10.1016/j.slsci.2016.01.002>.
- Tsuno N, Besset A, Ritchie K. Sleep and depression. *J Clin Psychiatry*. 2005;66:19685. <https://doi.org/10.4088/JCP.v66n1008>.
- Vetter C, Fischer D, Matera JL, Roenneberg T. Aligning work and circadian time in shift workers improves sleep and reduces circadian disruption. *Curr Biol*. 2015;25:907–11. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.01.064>.
- Watling J, Pawlik B, Scott K, Booth S, Short MA. Sleep loss and affective functioning: more than just mood. *Behav Sleep Med*. 2017;15:394–409. <https://doi.org/10.1080/15402002.2016.1141770>.
- Wilson KT, Bohnert AE, Ambrose A, Davis DY, Jones DM, Magee MJ. Social, behavioral, and sleep characteristics associated with depression symptoms among undergraduate students at a women's college: a cross-sectional depression survey, 2012. *BMC Womens Health*. 2014;14:8. <https://doi.org/10.1186/1472-6874-14-8>.
- Wittmann M, Dinich J, Mellow M, Roenneberg T. Social jetlag: misalignment of biological and social time. *Chronobiol Int*. 2006;23:497–509. <https://doi.org/10.1080/07420520500545979>.
- Zaki NFW, Spence DW, BaHammam AS, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP, Brown GM. Chronobiological theories of mood disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2018;268:107–18. <https://doi.org/10.1007/s00406-017-0835-5>.
- Zhai L, Zhang H, Zhang D. Sleep duration and depression among adults: a meta-analysis of prospective studies. *Depress Anxiety*. 2015;32:664–70. <https://doi.org/10.1002/da.22386>.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions





Selection of genetic instruments in Mendelian randomisation studies of sleep traits

Valentina Paz^{a,b,*}, Hassan S. Dashti^{c,d,e}, Stephen Burgess^{f,g}, Victoria Garfield^b

^a Instituto de Psicología Clínica, Facultad de Psicología, Universidad de la República, Tristán Narvaja, 1674, Montevideo, 11200, Uruguay

^b MRC Unit for Lifelong Health & Ageing, Institute of Cardiovascular Science, University College London, 1-19 Torrington Place, London, WC1E 7HB, UK

^c Center for Genomic Medicine, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, 185 Cambridge Street, Boston, MA, 02114, USA

^d Broad Institute, 415 Main Street, Cambridge, MA, 02142, USA

^e Department of Anesthesia, Critical Care and Pain Medicine, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, 55 Fruit Street, Edwards 4-410C, Boston, MA, 02114, USA

^f MRC Biostatistics Unit, University of Cambridge, Forvie Site, Robinson Way, Cambridge, CB2 0SR, UK

^g Department of Public Health and Primary Care, University of Cambridge, Forvie Site, Robinson Way, Cambridge, CB2 0SR, UK

ARTICLE INFO

Keywords:

Genetic epidemiology
Sleep genetic variants
Review

ABSTRACT

This review explores the criteria used for the selection of genetic instruments of sleep traits in the context of Mendelian randomisation studies. This work was motivated by the fact that instrument selection is the most important decision when designing a Mendelian randomisation study. As far as we are aware, no review has sought to address this to date, even though the number of these studies is growing rapidly. The review is divided into the following sections which are essential for genetic instrument selection: 1) Single-gene region vs polygenic analysis; 2) Polygenic analysis: biologically-vs statistically-driven approaches; 3) P-value; 4) Linkage disequilibrium clumping; 5) Sample overlap; 6) Type of exposure; 7) Total (R^2) and average strength (F-statistic) metrics; 8) Number of single-nucleotide polymorphisms; 9) Minor allele frequency and palindromic variants; 10) Confounding. Our main aim is to discuss how instrumental choice impacts analysis and compare the strategies that Mendelian randomisation studies of sleep traits have used. We hope that our review will enable more researchers to take a more considered approach when selecting genetic instruments for sleep exposures.

1. Introduction

Sleep is a complex phenotype regulated by homeostatic and circadian processes [1] and characterised by multiple dimensions such as duration, quality and timing or chronotype [2]. Studies have shown that these specific sleep traits are moderately heritable, with twin studies estimating that between 44 and 50 % of their variability is genetically determined [3,4], while SNP-based heritability studies have shown that heritability of self-reported traits ranges from 5 to 15 % [5–8]. Moreover, these dimensions have been consistently associated with several adverse health outcomes. For example, inadequate sleep duration, poor quality, and inappropriate timing are associated with adverse health consequences [9]. However, as most research has used observational epidemiology to study these associations, whether these links are causal remained elusive until very recently.

Mendelian randomisation (MR) is a method that uses genetic variants to assess causal relationships [10]. The MR method addresses two questions: whether an observational association between an exposure and an outcome is causal alongside the magnitude of this effect [11,12]. MR is increasingly used to overcome some limitations of traditional observational epidemiology, such as unmeasured confounding and reverse causality [10], and the analysis is facilitated by MR packages, such as the widely used “MendelianRandomization” package for the R open-source software environment [13] or the “mrrobust” Stata package [14]. Recently, numerous MR studies examined the causal relationship between genetic instruments of sleep traits and different health outcomes [15–60].

In the context of MR, a genetic variant can be considered an instrumental variable (IV) for a given exposure if it satisfies the following assumptions: i) it is associated robustly with the exposure of interest, ii)

Abbreviations: GWAS, Genome-wide association studies; IV, Instrumental variable; LD, Linkage disequilibrium; MAF, Minor allele frequency; MR, Mendelian randomisation; SNP, Single-nucleotide polymorphism; UKB, UK Biobank.

* Corresponding author. Tristán Narvaja 1674, Montevideo, 11200, Uruguay

E-mail addresses: vpaz@psico.edu.uy, v.paz@ucl.ac.uk (V. Paz).

<https://doi.org/10.1016/j.sleep.2023.10.036>

Received 17 May 2023; Received in revised form 22 October 2023; Accepted 30 October 2023

Available online 2 November 2023

1389-9457/© 2023 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

it does not influence the outcome through a pathway other than the exposure (horizontal pleiotropy) and iii) it is not associated with the outcome due to confounding [12]. Genetic variants used as IVs in MR are usually single-nucleotide polymorphisms (SNPs), a common variation at a single position of DNA sequence [10].

MR studies have steadily grown as genetic variants reliably associated with different exposures have increased over the last decade, thanks to genome-wide association studies (GWAS) [11]. GWA studies now test millions of genetic variants for their association with a given trait. Thus, finding genetic polymorphisms to use in an MR study is becoming more feasible. However, selecting optimal genetic instruments can be challenging [61].

Although several guides exist for conducting MR studies [12,61,62], these are not widely adopted in the field of epidemiology of sleep; thus authors using genetic instruments for sleep traits have taken different approaches to the selection process. This review explores the criteria used for instrument selection in MR studies of sleep traits, discussing how this choice impacts analysis and some steps in the selection process that are often overlooked. We aim to demonstrate the importance of a careful selection of instruments to conduct an MR study. Nonetheless, it is worth mentioning that the selection process will always depend on the aim of the research and the specific exposure under study, and while we focus on MR studies of sleep traits, many of the issues discussed here apply to other behavioral phenotypes as well. In addition, even though MR has been particularly useful for understanding the causal role of sleep phenotypes on several health outcomes, other causal methods must also be used for replication and triangulation purposes. A summary of the main points to consider when selecting sleep genetic instruments in MR is presented in Fig. 1.

2. Criteria used to select genetic instruments in MR for sleep traits

2.1. Single-gene region vs. polygenic analysis

The first step in instrument selection is to decide whether the analysis will be performed using variants from a single gene region or multiple regions (a polygenic analysis). When a particular region has been reported to have a specific biological link to the exposure, the selection usually focuses on these variants [12]. This approach has the advantage of specificity, leading to a more plausible MR [63]. However, for complex risk factors such as sleep, no single gene region encodes this risk factor [64]. In fact, numerous genomic variants have been discovered by sleep GWAS in adults, indicating that sleep is a highly polygenic trait. For example, for insomnia, 554 risk loci have been reported in a recent study [65]. Thus, a polygenic analysis is often used in MR studies of sleep traits.

A polygenic analysis supposes the inclusion of multiple variants [12]. If the variants are all valid instruments, power is maximised because each SNP contributes incrementally to affect levels of the biomarker [61, 63]. In the case of sleep, as common individual genetic variants confer small effects, the polygenic approach will typically have greater power to detect a causal effect than the single gene region approach [12].

2.2. Polygenic analysis: biologically-driven vs statistically-driven approach

For a polygenic analysis, one of two approaches may be chosen for selecting genetic variants: a biologically-driven or a statistically-driven approach [12]. The former implies selecting variants from regions with a highly plausible biological link with the exposure of interest [12, 61]. The advantage of this approach is that these instruments may be less susceptible to horizontal pleiotropy [61]. However, biological understanding is rarely infallible [12], and the biological basis of sleep in humans is not fully understood [66]. Thus, instrument selection is often performed using a statistically-driven approach [67] or a combination of

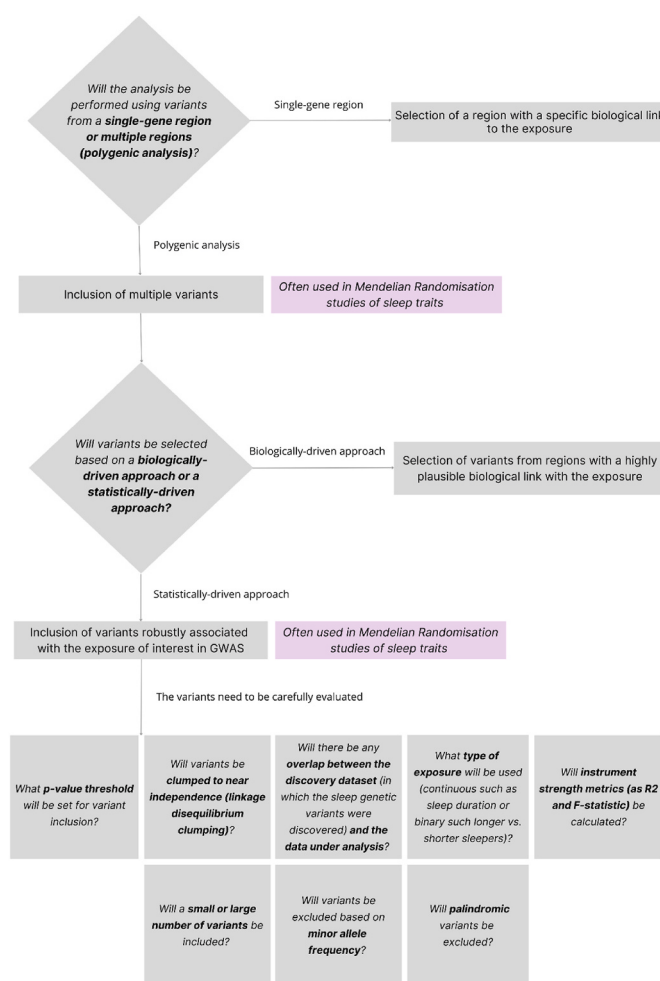


Fig. 1. Flowchart with the main points to consider when selecting sleep genetic instruments in MR.

both approaches [12].

The statistically-driven approach exploits the increasing availability of SNPs associated with specific exposures in GWAS [61]. For this reason, authors tend to search for the latest and largest GWA study available and select SNPs robustly associated with the exposure of interest (MR assumption 1). However, it is important not to assume that the latest and largest study will always yield the best instruments. For example, most published GWAS of sleep traits have been performed in European samples and are also not sex-specific. Nonetheless, some GWAS have been performed in other ethnic groups, including Hispanic/Latino Americans [68] and multi-ancestry samples [69–74]. Furthermore, some have employed sex-stratified analyses for obstructive sleep apnea and insomnia, which display marked sexual dimorphism in disease prevalence [69,75]. However, further work is needed to better understand sex-related sleep differences, which have been associated with the influence of sex hormones on sleep regulation but have been understudied [76].

When using a statistically-driven approach, it is crucial to evaluate the reported SNPs carefully. Briefly, as described more thoroughly in the review, some important criteria for instrument selection include: 1) evaluating the number of variants to incorporate and their p-value, minor allele frequency (MAF) and whether they are palindromic; 2) selecting independent variants; 3) avoiding sample overlap between the discovery GWAS and the data under study (where possible); 4) prioritisation of GWAS with well-measured/defined phenotypes and determine whether to use a continuous or a binary exposure; 5) choosing variants based on their total and average strength and; 6) taking into

account confounders of the genetic instrument-outcome relationship. If the instruments are not suitable, they could be selected from a different GWA study, which could even mean choosing them from an older one. In addition, combining the SNPs into a single instrument is another option if various studies report adequate variants. Where possible, it is best practice to choose SNPs found both in the discovery dataset and in a replication cohort, as these are likely to be more reliable.

In Table 1, we present the latest GWAS of sleep phenotypes (for a detailed list of SNPs reported in the GWAS see Supplementary Table 1). Of note is that some sleep traits are still lacking robust instruments. This is the case of sleep quality and multidimensional sleep (whereby rather than a series of single separate characteristics, sleep is thought of as a multidimensional construct with domains including regularity, satisfaction, alertness/sleepiness, timing, efficiency, and duration, among others) [77,78].

2.3. P-value

A common statistical approach, and usually the first step in MR studies, is to evaluate the level of statistical significance of the genetic variants associated with the exposure of interest and to include all variants at a given level of significance. The conventional threshold is $p < 5 \times 10^{-8}$ [12]. This threshold is the equivalent of $p < 0.05$ when corrected for the multiple testing based on performing a Bonferroni correction for all the independent common SNPs across the human genome and thus, it is referred to as “genome-wide level of significance”. Using this threshold has been shown to lead to robust results [79]. Nonetheless, given the more recent mega-GWAS because of access to large biobanks, there have been proposals to change it to $p < 5 \times 10^{-9}$ to decrease the chances of false-positive associations. However, the latest MR studies of sleep traits have selected variants using the traditional threshold [30,44,51,52].

In the field of sleep, some of the first GWAS published discovered genetic variants for restless leg syndrome, a neurological disorder that causes involuntary leg movements during sleep [80,81]. Recently, a large GWAS reported that some of the variants previously associated with restless leg syndrome did not reach genome-wide significance, emphasising the need for stringent thresholds [82]. Even though it is important to consider the p-value threshold, this is not the only factor to consider when selecting variants for an MR study. The following sections will discuss other steps to assess whether variants are valid genetic instruments.

2.4. Linkage disequilibrium clumping

Linkage disequilibrium refers to the correlation between SNPs at different positions. This phenomenon occurs because of the physical proximity of variants on the chromosome [10]. In GWAS, the reported variants are often ‘clumped’ to near independence using distance-based or correlation-based thresholds [67].

The distance-based approach consists of pruning the variants to include those separated by a certain distance (usually 500,000 base pairs = 500 kilobases). In the correlation-based approach, only variants that are correlated at a certain threshold (usually $r^2 < 0.01$, 0.1 or 0.2) are included [67]. Implementing the correlation-based approach, Broberg et al. (2021) [19], in their study about the association between insomnia and pain, decided to use an $r^2 = 0.6$ as their primary threshold and an $r^2 = 0.1$ as their secondary threshold. Culel et al. (2021) [24] and Zhou et al. (2021) [42] clumped genetic variants considering both approaches, an $r^2 < 0.001$ and a kb = 10,000 distance, which is more conservative.

It is important to consider LD when selecting the variants as it could violate core MR assumptions. Genetic variants that are correlated with the variants used may have effects on competing risk factors. The LDkit (a graphical user interface software) or PLINK (open-source C/C++ toolset) could be used for calculating linkage disequilibrium [83,84].

Testing the association of potential confounders of the variants could reduce concerns about making invalid inferences due to LD [67].

2.5. Sample overlap

When selecting a GWA study, it is essential to understand in detail the sample studied. This is because when using genetic variants discovered in the analytical sample, a bias called “winner’s curse” may occur. This bias implies overestimating the strongest variant in the data under analysis [85]. An overestimation will generally occur when the associations with confounders are stronger than expected by chance. Thus, an overlap between the genetic variant discovery dataset and the data under analysis may overestimate the variant–outcome associations and lead to false-positive results [67]. To overcome this issue, Liu et al. (2022) [44] excluded data from participants in the UKB from their COVID-19 outcome dataset since their exposures (sleep and circadian phenotypes) were derived from this biobank.

The ideal situation to avoid this bias is having two non-overlapping datasets, what is called “Two-sample MR” [12]. MR-Base, a platform that integrates a database of GWAS results with an application programming interface, a web application and R packages, allows the automation of two-sample MR [86]. However, different datasets are not always available with the data or sample size necessary to perform the analysis. To mitigate potential issues with sample overlap, there are several alternatives thought to balance the risk of an imprecise estimation [67]. One option is to calculate the bias due to sample overlap, which can be done with the formulae from Burgess, Davies & Thompson (2016) [87]. Henry et al. (2019) [45] did this in their MR study about the impact of sleep duration on cognitive outcomes. In their study about the association of insomnia with depressive symptoms and subjective well-being, Zhou et al. (2021) [42] also calculated sample overlap finding a bias ranging from 3 % to 14 %.

Another possible solution is to perform the MR analysis using a reduced genetic instrument replicated in an independent cohort, which could be a good option as a sensitivity analysis for studies that are unable to bypass sample overlap. In our own MR study, which examined the association between genetically-instrumented habitual daytime napping (using 92 SNPs) and cognitive function and brain volume, we replicated our findings using a reduced instrument consisting of 17 SNPs that were replicated in an independent cohort (23andMe) with no sample overlap with UKB (our analytical sample) [88]. Additional analyses with this reduced instrument were largely consistent with our main findings. We are unaware of other studies using genetic instruments of sleep traits taking this approach. However, a study which investigated the relationship between glycaemia and cognitive function, brain structure and incident dementia, used a reduced genetic instrument for diabetes to avoid the “winner’s curse” bias [89].

2.6. Type of exposure

When deciding which GWA study to select, it is important to prioritise well-measured/defined phenotypes used for identifying the genetic instruments. One aspect to consider is whether the phenotype was measured using self-reported data or an objective method (e.g. accelerometer-derived data). Many of the GWAS of sleep traits available are based on self-report questions, but some used and/or have been replicated with accelerometer-derived data, polysomnography or electronic medical records [69,90,91]. Moreover, those using self-reported data sometimes have support from objective measures. For example, Dashti et al. (2019) [92] tested whether the 78 loci found for self-reported habitual sleep duration (using a question on hours of sleep) in their GWA study were also associated with accelerometer-derived sleep estimates. Another study by Dashti et al. (2019) [27] found that the variants were also valid when sleep duration was determined by bed and wake times. Ideally, genetic instruments discovered and replicated based on objective data should be selected.

Table 1

Genome-wide association studies of sleep phenotypes since 2016.

Author (year ^a) [reference]	Phenotype	Phenotype measurement	N	Ancestry	Number of novel SNPs	Number of replicated SNPs from previous studies	Examples of health outcomes studied using these instruments
Cade et al. (2016) [68]	Obstructive sleep apnea	Apnea monitors and polysomnography	12,558	Hispanic/ Latino Americans	1 + 1 suggestive ($P < 5 \times 10^{-7}$) (Apnea–hypopnea index)/1 + 4 suggestive (Respiratory event duration)/2 suggestive (Sleep Sp O ₂)	–	Cancer [28]
Hu et al. (2016) [104]	Morningness	Self-reported questions	89,283	European	15	–	Inflammatory bowel disease [22]
Jones et al. (2016) [105]	Morningness and sleep duration	Self-reported question	128,266	European (validation in Koreans)	10 (morningness) + 2 suggestive ($P < 1 \times 10^{-4}$)/3 (sleep duration)	3 + 1 suggestive from Lane et al. (2016) (morningness)	Caffeine consumption [60]
Lane et al. (2016) [106]	Chronotype	Self-reported question	100,420	European	12	–	–
Hammerschlag et al. (2017) [75]	Insomnia symptoms	Self-reported question validated with questionnaires and a structured interview	113,006	European	11 + 2 suggestive ($P < 2 \times 10^{-3}$)	1 + 1 suggestive from Lane et al. (2017)	Caffeine consumption [60]; Peptic ulcer disease [40]
Lane et al. (2017) [107]	Sleep duration, insomnia symptoms, excessive daytime sleepiness & composite sleep trait ^b	Self-reported questions	112,586	European	1 + 3 suggestive ($P < 5 \times 10^{-7}$) (sleep duration)/5 + 3 suggestive (insomnia symptoms)/3 + 7 suggestive (excessive daytime sleepiness)/3 (composite sleep trait)	1 suggestive from Jones et al. (2016) (sleep duration)/3 from Jones et al. (2016) & Lane et al. (2016) (composite sleep trait)	–
Schormair et al. (2017) [108]	Restless legs syndrome	Interviews and self- reported question	110,851	European	19	1 from Lane et al. (2017)	Parkinson's disease [53]; Essential tremor [109]
Chen et al. (2018) [69]	Obstructive sleep apnea	Polysomnography	19,733	Multi- ancestry	23 suggestive ($P < 1.0 \times 10^{-6}$) (Apnea–Hypopnea Index total)/10 suggestive (Apnea–Hypopnea Index- Non-Rapid Eye Movement)/7 suggestive (Apnea–Hypopnea Index- Rapid Eye Movement).	1 suggestive from Cade et al. (2016) (Apnea–Hypopnea Index total)	Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Neurodegenerative diseases [24]; Parkinson's disease [57]
Doherty et al. (2018) [91]	Sleep duration	Accelerometer data	91,105	European	7	1 from Lane et al. (2017)	–
Ferguson et al. (2018) [110]	Low relative amplitude	Accelerometer data	71,500	European	3	–	–
Stein et al. (2018) [73]	Insomnia disorder	Questionnaire	17,651	Multi- ancestry	4 + 8 suggestive ($P < 1 \times 10^{-6}$)	–	–
Dashti et al. (2019) [6]	Sleep duration	Self-reported question supported by accelerometer data	446,118	European	77	1 from Jones et al. (2019)	Alzheimer's disease [17, 111]; Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Atrial fibrillation [41]; Cancer [59,112]; Cardiovascular diseases [15]; COVID-19 [44]; Dietary intake [16]; Fracture [58]; Glycated hemoglobin [30]; Heart failure [41]; Heel bone mineral density [20]; Intracranial aneurysm and Aneurysmal subarachnoid hemorrhage [55]; Ischemic stroke [113]; Longevity [50]; Major depressive disorder [111]; Metabolomic traits [18]; Migraine [114]; Osteoarthritis [33]; Parkinson's disease [57]; Periodontal disease [43]; Renal function [32]; Stroke [37]
Jansen et al. (2019) [8]	Insomnia symptoms	Self-reported question	1,331,010	European	243	5 from Jones et al. (2016, 2019), Lane et al. (2017) & Doherty et al. (2018)	Asthma [29]; Body composition [52]; Cancer [35,51]; Cardiovascular conditions [31,39];

(continued on next page)

Table 1 (continued)

Author (year ^a) [reference]	Phenotype	Phenotype measurement	N	Ancestry	Number of novel SNPs	Number of replicated SNPs from previous studies	Examples of health outcomes studied using these instruments
Jones et al. (2019) [7]	Morningness	Self-reported question	697,828	European	344	7 from Hu et al. (2016), Lane et al. (2016, 2017) & Jones et al. (2016)	Depressive symptoms [42]; Fracture [58]; Hypertension [115]; Intracranial aneurysm and Aneurysmal subarachnoid hemorrhage [55]; Longevity [50]; Major depressive disorder [116]; Metabolomic traits [18]; Migraine [23]; Osteoarthritis [33]; Pain diagnoses [19]; Subjective well-being [42]; Suicidal behavior [46] Alzheimer's disease [17, 111]; Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Cancer [36, 51,112]; COVID-19 [44]; Depressive symptoms [34]; Food intake [26]; Fracture [58]; General anxiety disorder [34]; General wellbeing [34]; Glycated hemoglobin [30]; Heel bone mineral density [20]; Inflammatory bowel disease [22]; Ischemic stroke [113]; Major depressive disorder [25, 34,111]; Metabolomic traits [18]; Migraine [114]; Neurodegenerative diseases [24]; Parkinson's disease [57]
Jones et al. (2019) [117]	Sleep traits derived by accelerometer data	Accelerometer data	85,670	European	9 (sleep duration)/1 (sleep midpoint)/4 (sleep efficiency)/20 (number of sleep episodes).	2 from Lane et al. (2017) & Doherty et al. (2018) (sleep duration)/1 from Lane et al. (2017) (sleep efficiency)/1 from Jansen et al. (2019) (number of sleep episodes).	Alzheimer's disease [17, 111]; Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Cancer [36]; Major depressive disorder [111]; Neurodegenerative diseases [24]; Parkinson's disease [57]
Lane et al. (2019) [93]	Insomnia symptoms	Self-reported question	453,379	European	51	6 from Lane et al. (2017), Doherty et al. (2018) & Jansen et al. (2019)	Alzheimer's disease [17, 111]; Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Cancer [112]; COVID-19 [44]; Heel bone mineral density [20]; Inflammatory bowel disease [22]; Ischemic stroke [113]; Major depressive disorder [111]; Migraine [114]; Neurodegenerative diseases [24]; Pain diagnoses [19]; Parkinson's disease [57]
Wang et al. (2019) [118]	Daytime sleepiness	Self-reported question	452,071	European	40	2 from Jones et al. (2016) & Jansen et al. (2019)	Alzheimer's disease [17]; Amyotrophic lateral sclerosis [57]; COVID-19 [44]; Glycated hemoglobin [30]; Heel bone mineral density [20]; Inflammatory bowel disease [22]; Migraine [114]; Neurodegenerative diseases [24]; Parkinson's disease [57]
Campos et al. (2020) [119]	Snoring	Self-reported question	408,000	European	41	–	Amyotrophic lateral sclerosis [57]; Atrial fibrillation [54]; Body mass index [54]; Fracture [58]; Major depressive

(continued on next page)

Table 1 (continued)

Author (year ^a) [reference]	Phenotype	Phenotype measurement	N	Ancestry	Number of novel SNPs	Number of replicated SNPs from previous studies	Examples of health outcomes studied using these instruments
Didriksen et al. (2020) [120]	Restless legs syndrome	Clinical diagnosis and questionnaire	480,982	European	3 + 2 suggestive at ($P < 7 \times 10^{-7}$)	20 from Lane et al. (2017) & Schormair et al. (2017)	disorder [56]; Parkinson's disease [57]
Farias Tempaku et al. (2020) [70]	Obstructive sleep apnea	Polysomnography	1074	Multi-ancestry	2 + 21 suggestive ($P < 5 \times 10^{-6}$)	–	–
Song et al. (2020) [90]	Insomnia disorder	Electronic health records	18,055	European	1	–	–
Dashti et al. (2021) [121]	Daytime napping	Self-reported question	452,633	European	119	4 from Jones et al. (2016, 2019) & Jansen et al. (2019)	COVID-19 [44]; Dietary intake [16]; Glycated hemoglobin [30]; Inflammatory bowel disease [22]; Migraine [114]
Khoury et al. (2021) [71]	Sleep quality	Questionnaire	2868	Multi-ancestry	3 + 11 suggestive ($P \leq 5 \times 10^{-7}$)	–	–
Strausz et al. (2021) [122]	Obstructive sleep apnea	Electronic health records	217,955	European	5	–	Atrial fibrillation [21]
Yao et al. (2022) [123]	Sleep health score ^c	Self-reported questions	336,463	European	31	1 from Lane et al. (2017)	–
Watanabe et al. (2022) [65]	Insomnia symptoms	Self-reported questions	2,365,010	European	364	190 from Jansen et al. (2019), Lane et al. (2017, 2019) & Hammerschlag et al. (2017)	Sepsis [124]
Austin-Zimmerman et al. (2023) [74]	Sleep duration	Self-reported questions	493,142	Multi-ancestry	71 (short sleep duration)	13 (short sleep duration) + 1 (long sleep duration) from Gottlieb et al. (2015) & Song et al. (2020)	–

^a We reported studies since 2016 because at that time there was a proliferation of GWAS of sleep phenotypes (previously most studies were done on restless legs syndrome).

^b Composite trait of sleep duration, insomnia symptoms, excessive daytime sleepiness and chronotype.

^c Overall assessment of sleep duration, snoring, insomnia symptoms, chronotype, and daytime dozing.

Moreover, it is essential to understand how the exposure was analysed. For example, Lane et al. (2019) [93] performed two parallel GWAS for frequent and any insomnia symptoms based on participants' responses to the question "Do you have trouble falling asleep at night, or do you wake up in the middle of the night?". For frequent insomnia, they considered participants who responded "usually" as cases and "never/rarely" as controls, with those reporting "sometimes" being excluded. For any insomnia, they considered participants who responded "sometimes" or "usually" as cases and "never/rarely" as controls. On the contrary, a GWA study by Jansen et al. (2019) [8], using the same question, defined insomnia cases as participants who answered "usually", while participants who answered "never/rarely" or "sometimes" were defined as controls. In this example, insomnia symptoms are analysed in three different ways using the same underlying question. Understanding how the exposure was measured is crucial for adequately interpreting results.

Another crucial aspect of genetic instrument selection is whether the exposure is continuous or binary. It is well-established that continuous measures should be used where possible in MR [94]. However, using continuous exposures has the caveat that sometimes MR studies aim to test whether a particular disease status (e.g., insomnia) might be causally related to a specific outcome. Furthermore, some sleep traits are often considered binary: chronotype (evening vs. morning types), napping (frequent vs. infrequent nappers), and duration (longer vs. shorter sleepers), amongst others. In the case of using a binary exposure, it is important to be aware of its limitations. Burgess and Labrecque's paper (2018) [94] explained that the problem arises when using a binary exposure that dichotomises a continuous variable (e.g. short/long sleep arises from dichotomised sleep duration). In the cases of MR studies using these types of exposures, the results should be conceptualised in

terms of the underlying continuous risk factor.

2.7. Total (R^2) and average strength (F -statistic) metrics

Selection of genetic instruments is often conducted by considering each variant's effect size to avoid weak-instrument bias. This bias can occur when the genetic instruments explain a small proportion of the variance in the exposure. Weak instruments may lead to non-robust results and bias the estimates towards the confounded observational estimate [95].

Some of the most commonly used effect indicators are the proportion of the phenotypic variance explained by all of the genome-wide significant SNPs (R^2) and the F -statistic obtained from regressing the exposure on the genetic instrument (in a multivariable linear regression) [62]. The R^2 provides information about the total strength of the genetic variant, and usually, the larger, the better. Swerdlow et al. (2016) [62] argue that the R^2 is the most useful effect metric when selecting genetic instruments for MR analysis. However, the F -statistic provides information about the average strength of the instrument, with an $F > 10$ indicating that substantial weak instrument bias is unlikely [95].

Several options for obtaining F -statistics are available. If individual-level data are available for the exposure, the 'Individual-level data regression' approach can be performed. However, if individual-level data are not available and the R^2 from the exposure GWA study is obtainable, the Cragg-Donald F -statistic method may be used [95]. This method uses the R^2 , sample size (n), and the number of instruments (k) to calculate the statistic ($F = (n - k - 1/k) (R^2 / (1 - R^2))$) [67]. Liu et al. (2021) [31] used this formula reporting a F -statistic of 143.24 in their study about the association between genetically-instrumented insomnia and cardiovascular diseases. When the R^2 is unknown, the 't-statistic'

summary-level method can be used ($F = \beta^2/SE^2$). In this case, the F-statistic will be an approximation because it uses the sample size for the discovery GWA study, not the one from the data under analysis. Finally, the “MendelianRandomization” R package allows the calculation of the F-statistic [13].

2.8. Number of SNPs

MR studies including large numbers of genetic variants are rapidly increasing. This growth is related to the proliferation of GWAS and the desire to obtain more precise estimates. However, as previously discussed, not all variants are valid IVs [96], and an enlarged set of genetic instruments is not always better [12]. Selecting a large number of variants could lead to a larger R^2 but a weaker F-statistic and greater chances of including pleiotropic variants, violating a core MR assumption. Including more variants also allows the use of more robust methods, including common sensitivity analyses such as the MR-Egger test. On the contrary, fewer variants will lead to a lower R^2 but potentially a greater F-statistic, which could lead to an instrument with insufficient power [96].

To understand how the strength of the instrument depends on the number of SNPs, we present Liu et al. (2022) [30] study on the relationship between sleep traits and glycated haemoglobin -HbA1c- (see Table 2). In this study, the F-statistic for all exposures was higher than 10 (which indicates an appropriate average strength), while the R^2 ranged between 0.06 and 2.09 %. In the case of long sleep duration, including fewer variants (five) lead to a low total strength ($R^2 = 0.06$ %) and a good average strength (F-statistic = 41).

2.9. Minor allele frequency and palindromic variants

MAF is the proportion of minor alleles for a specific SNP in a given population [67]. In other words, it is the frequency at which the second most common allele occurs. Usually, GWAS identify common variants [97]; however, SNPs with a wide distribution of MAFs can sometimes be included. Some MR studies exclude variants with a low MAF because causal estimates from those variants may have low precision [96,98]. For example, Chen et al. (2021) [20] decided to remove variants with a $MAF < 1$ % in their study about the association between sleep traits and low bone mineral density. However, excluding variants with low MAF could mean removing variants associated with the exposure of interest. For example, low-frequency variants in *PERIOD3* have been associated with chronotype [7] and familial advanced sleep phase syndrome [99].

Another potential problem is palindromic variants because they can introduce ambiguity into the identification of the effect allele. A palindromic SNP occurs when the two possible alleles are complementary base pairs [86]. Additional care should be taken with palindromic variants because studies might report effects of the same SNP using different strands (e.g. a study reports an SNP with A/G alleles and another with T/C alleles). In those cases, the ambiguity can be identified if the effect allele frequency is reported and the MAF is substantially

below 50 % [100]. For example, if a specific SNP has alleles A/T, with allele A frequency being 0.11 in the GWA study and 0.91 in the data under study (both coding this allele as the effect allele) and both studies have the same ethnic origin, this means that authors used different reference strands. In this case, it is necessary to switch the direction of the effect in either the discovery GWA study or the analytical sample, a procedure called “variant harmonisation” [86].

However, if it is not possible to verify that alleles are correctly orientated, it may be necessary to take some precautions [67]. There are options to deal with this problem: replace the variants with suitable, non-palindromic linkage disequilibrium proxies, perform sensitivity analyses to evaluate the impact of these variants on the results or exclude them [100]. For example, in a study by Alimenti et al. (2021) [16] about causal links between habitual sleep duration/napping and macronutrient composition palindromic SNPs with MAF close to 0.50 were excluded and the remaining palindromic instruments were aligned based on their MAF.

2.10. Confounding

The third MR assumption states that the genetic variant-outcome association is unconfounded [101]. Violations of this assumption could be due to at least two different types of confounding. One is confounding by ancestry (e.g., if SNPs associated with sleep duration have higher/lower frequencies in different ancestry groups in the sample under study and additionally, cultural differences have an impact on the outcome under study), which could be controlled by restricting the sample to a single ancestry group, and/or adjusting for principal components of ancestry. A second source of confounding occurs if SNPs associated with the exposure of interest are also associated with common confounders of the relationship under study. One of the advantages of MR is that it exploits the fact that genotypes are not generally associated with confounders. However, such associations may occur, especially when using weak instruments or small samples [67]. Thus, it is important to test whether the genetic instruments are associated with confounders of the exposure-outcome relationship [10].

To address this issue, authors must first identify common confounders previously reported between their exposures and outcomes. For example, in the case of the association between obstructive sleep apnea and hypertension, weight and age are proposed as two of the main confounding factors in this putative relationship [102]. For the long sleep-mortality association, some authors have argued that depression is most likely to confound this relationship [103]. Therefore, it is essential that, regardless of the exposure of interest, a literature review is carried out to identify the confounders to be considered.

Then, authors often statistically test associations between their genetic instrument and variables reported in the literature as potential confounders in the exposure-outcome association. This is crucial as MR aims to give causal estimates that are not biased due to confounding [67]. In the MR study performed by Henry et al. (2019) [45], the authors explored the validity of their instruments by testing associations of

Table 2
Instrument strength metrics from Liu et al. (2022).

Information of the discovery GWAS						Two-sample MR		
Author (year) [reference]	Trait	n	Cohort	nSNPs identified	R^2	nSNPs merged	R^{2a}	F-statistics ^b
Jansen et al. (2019) [8]	Insomnia symptoms	1,331,010	UKB/23andMe	248	2.60 %	179	0.55 %	41
Dashti et al. (2019) [92]	Sleep duration	446,118	UKB	78	0.69 %	54	0.49 %	41
Dashti et al. (2019) [92]	Short sleep duration	411,934	UKB	27	–	20	0.13 %	27
Dashti et al. (2019) [92]	Long sleep duration	339,926	UKB	8	–	5	0.06 %	41
Wang et al. (2019) [118]	Daytime sleepiness	452,071	UKB	37	–	26	0.25 %	44
Dashti et al. (2021) [121]	Daytime napping	993,966	UKB/23andMe	108	1.10 %	71	0.56 %	79
Jones et al. (2019) [7]	Chronotype	697,828	UKB/23andMe	351	–	250	2.09 %	60

GWAS: Genome-wide association studies; nSNPs: number of single-nucleotide polymorphism; UKB: UK Biobank.

^a R^2 was calculated via $\text{Sum}(R^2_i) = K \cdot F_i / (N - K + 1 + K \cdot F_i)$, $K = 1$, $F_i = \text{BetaXG}_i^2 / \text{seBetaXG}_i^2$ (BetaXG_i and seBetaXG_i were obtained from the discovery GWAS).

^b F statistic was calculated via the Cragg-Donald method.

potential confounders (such as sex, age, educational attainment and use of sleep-inducing medication) with their sleep duration genetic score.

3. Conclusions

In this article, we explored the criteria used for selecting genetic instruments for sleep traits in the context of MR, discussing how instrumental choice impacts analysis. We also presented GWAS of sleep phenotypes since 2016 and discussed MR studies using genetic sleep instruments to date. We are convinced that instrument selection is the most important decision when designing an MR study and that this is becoming even more important as the number of sleep genetic variants found in GWAS increases. We hope this review will aid researchers in designing robust MR studies and continue to elucidate our understanding of the causal role of sleep on health outcomes.

Author contributorship

VP wrote the review, and HSD, SB, and VG made suggestions and additions to the text. All authors approved the final version of the manuscript.

Declaration of competing interest

Authors declare none.

Acknowledgements

Valentina Paz was supported by Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA, MEC-UdelaR, Uruguay), Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII, Uruguay) [grant number MOV_CA_2020_1_163153], Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC, UdelaR, Uruguay), Comisión Académica de Posgrados (CAP, UdelaR, Uruguay). Hassan S. Dashti was supported by the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI, United States) [grant number R00HL153795]. Stephen Burgess was supported by the United Kingdom Research and Innovation Medical Research Council (United Kingdom) [grant number MC_UU_00002/7] and the National Institute for Health Research Cambridge Biomedical Research Centre (United Kingdom) [grant number BRC-1215-20014]. Victoria Garfield was supported by the Professor David Matthews Non-Clinical Fellowship from the Diabetes Research and Wellness Foundation (United Kingdom) [grant number SCA/01/NCF/22], and a grant from Diabetes UK (United Kingdom) [grant number 15/0005250] and the British Heart Foundation (United Kingdom) [grant number SP/16/6/32726]. The views expressed are those of the authors and not necessarily those of the National Institute for Health Research or the Department of Health and Social Care.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2023.10.036>.

References

- [1] Borbely AA. A two process model of sleep regulation. 1982. p. 11.
- [2] Chaput J-P, Shiao J. Routinely assessing patients' sleep health is time well spent. *Prev Med Rep* 2019;14:100851. <https://doi.org/10.1016/j.pmedr.2019.100851>.
- [3] 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. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsw048>.
- [4] Kocavska D, Barclay NL, Bramer WM, Gehrman PR, Van Someren EJW. Heritability of sleep duration and quality: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev* 2021;59:101448. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2021.101448>.
- [5] Garfield V. Sleep duration: a review of genome-wide association studies (GWAS) in adults from 2007 to 2020. *Sleep Med Rev* 2021;56:101413. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2020.101413>.
- [6] Dashti HS, Jones SE, Wood AR, Lane JM, Van Hees VT, Wang H, et al. Genome-wide association study identifies genetic loci for self-reported habitual sleep duration supported by accelerometer-derived estimates. *Nat Commun* 2019;10:1100. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08917-4>.
- [7] Jones SE, Lane JM, Wood AR, van Hees VT, Tyrrell J, Beaumont RN, et al. Genome-wide association analyses of chronotype in 697,828 individuals provides insights into circadian rhythms. *Nat Commun* 2019;10:343. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-08259-7>.
- [8] Jansen PR, Watanabe K, Stringer S, Skene N, Bryois J, Hammerschlag AR, et al. Genome-wide analysis of insomnia in 1,331,010 individuals identifies new risk loci and functional pathways. *Nat Genet* 2019;51:394–403. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0333-3>.
- [9] Medic G, Wille M, Hemels M. Short- and long-term health consequences of sleep disruption. *Nat Sci Sleep* 2017;9:151–61. <https://doi.org/10.2147/NSS.S134864>.
- [10] Smith GD, Ebrahim S. 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? *Int J Epidemiol* 2003;32:1–22. <https://doi.org/10.1093/ije/dyg070>.
- [11] Evans DM, Davey Smith G. Mendelian randomization: new applications in the coming age of hypothesis-free causality. *Annu Rev Genom Hum Genet* 2015;16:327–50. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-090314-050016>.
- [12] Burgess S, Davey Smith G, Davies NM, Dudbridge F, Gill D, Glymour MM, et al. Guidelines for performing Mendelian randomization investigations. *Wellcome Open Res* 2020;4:186. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.15555.2>.
- [13] Yavorska OO, Burgess S. MendelianRandomization: an R package for performing Mendelian randomization analyses using summarized data. *Int J Epidemiol* 2017;46:1734–9. <https://doi.org/10.1093/ije/dyx034>.
- [14] Spiller W, Davies NM, Palmer TM. Software application profile: mrrobust—a tool for performing two-sample summary Mendelian randomization analyses. *Int J Epidemiol* 2019;48:684–90. <https://doi.org/10.1093/ije/dyy195>.
- [15] Ai S, Zhang J, Zhao G, Wang N, Li G, So H-C, et al. Causal associations of short and long sleep durations with 12 cardiovascular diseases: linear and nonlinear Mendelian randomization analyses in UK Biobank. *Eur Heart J* 2021;42:3349–57. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab170>.
- [16] Alimonti K, Chen A, Saxena R, Dashti HS. Habitual sleep duration, daytime napping, and dietary intake: a mendelian randomization study. *Curr Dev Nutr* 2021;5:nzab019. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzab019>.
- [17] Anderson EL, Richmond RC, Jones SE, Hemani G, Wade KH, Dashti HS, et al. Is disrupted sleep a risk factor for Alzheimer's disease? Evidence from a two-sample Mendelian randomization analysis. *Int J Epidemiol* 2021;50:817–28. <https://doi.org/10.1093/ije/dyaa183>.
- [18] Bos MM, Gouding NJ, Lee MA, Hofman A, Bot M, Pool R, et al. Investigating the relationships between unfavourable habitual sleep and metabolomic traits: evidence from multi-cohort multivariable regression and Mendelian randomization analyses. *BMC Med* 2021;19:69. <https://doi.org/10.1186/s12916-021-01939-0>.
- [19] Broberg M, Karjalainen J, FinnGen, Ollila HM. Mendelian randomization highlights insomnia as a risk factor for pain diagnoses. *Sleep* 2021;44:zsab025. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsab025>.
- [20] Chen J, Zhang J, So HC, Ai S, Wang N, Tan X, et al. Association of sleep traits and heel bone mineral density: observational and mendelian randomization studies. *J Bone Miner Res* 2021;36:2184–92. <https://doi.org/10.1002/jbmr.4406>.
- [21] Chen L, Sun X, He Y, Lu Y, Zheng L. Obstructive sleep apnea and atrial fibrillation: insights from a bidirectional Mendelian randomization study. *BMC Med Genom* 2022;15:28. <https://doi.org/10.1186/s12920-022-01180-5>.
- [22] Chen M, Peng W-Y, Tang T-C, Zheng H. Differential sleep traits have No causal effect on inflammatory bowel diseases: a mendelian randomization study. *Front Pharmacol* 2021;12:763649. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.763649>.
- [23] Chu S, Wu Z, Wu J, Qian Y. Association between insomnia and migraine risk: a case-control and bidirectional mendelian randomization study. *Pharmacogenomics Personalized Med* 2021;14:971–6. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S305780>.
- [24] Cullell N, Cárcel-Márquez J, Gallego-Fábrega C, Muño E, Lluçà-Carol L, Lledós M, et al. Sleep/wake cycle alterations as a cause of neurodegenerative diseases: a Mendelian randomization study. *Neurobiol Aging* 2021;106:320.e1–320.e12. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2021.05.008>.
- [25] Daghlas I, Lane JM, Saxena R, Vetter C. Genetically proxied diurnal preference, sleep timing, and risk of major depressive disorder. *JAMA Psychiatr* 2021;78:903. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2021.0959>.
- [26] Dashti HS, Chen A, Daghlas I, Saxena R. Morning diurnal preference and food intake: a Mendelian randomization study. *Am J Clin Nutr* 2020;112:1348–57. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa219>.
- [27] Dashti HS, Redline S, Saxena R. Polygenic risk score identifies associations between sleep duration and diseases determined from an electronic medical record biobank. *Sleep* 2019;42. <https://doi.org/10.1093/sleep/zyz247>.
- [28] Gao X-L, Jia Z-M, Zhao F-F, An D-D, Wang B, Cheng E-J, et al. Obstructive sleep apnea syndrome and causal relationship with female breast cancer: a mendelian randomization study. *Aging* 2020;12:4082–92. <https://doi.org/10.18632/aging.102725>.
- [29] Kim DJ, Ha T-W, Jung HU, Baek EJ, Lee WJ, Kim HK, et al. Characterisation of insomnia as an environmental risk factor for asthma via Mendelian randomization and gene environment interaction. *Sci Rep* 2021;11:21813. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01291-6>.
- [30] Liu J, Richmond RC, Bowden J, Barry C, Dashti HS, Daghlas I, et al. Assessing the causal role of sleep traits on glycated hemoglobin: a mendelian randomization study. *Diabetes Care* 2022;45:772–81. <https://doi.org/10.2337/dc21-0089>.

- [31] Liu X, Li C, Sun X, Yu Y, Si S, Hou L, et al. Genetically predicted insomnia in relation to 14 cardiovascular conditions and 17 cardiometabolic risk factors: a mendelian randomization study. *J Am Heart Assoc* 2021;10:e020187. <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.020187>.
- [32] Mazidi M, Shekoohi N, Katsiki N, Banach M. Longer sleep duration may negatively affect renal function. *Int Urol Nephrol* 2021;53:325–32. <https://doi.org/10.1007/s11255-020-02624-6>.
- [33] Ni J, Zhou W, Cen H, Chen G, Huang J, Yin K, et al. Evidence for causal effects of sleep disturbances on risk for osteoarthritis: a univariable and multivariable Mendelian randomization study. *Osteoarthritis Cartilage* 2022;30:443–50. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2021.11.021>.
- [34] O'Loughlin J, Casanova F, Jones SE, Hagenaars SP, Beaumont RN, Freathy RM, et al. Using Mendelian Randomisation methods to understand whether diurnal preference is causally related to mental health. *Mol Psychiatr* 2021;26:6305–16. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01157-3>.
- [35] Shen J, Zhou H, Liu J, Zhang Y, Zhou T, Chen G, et al. Genetic liability to insomnia and Lung cancer risk: a mendelian randomization analysis. *Front Genet* 2021;12:756908. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.756908>.
- [36] Sun X, Ye D, Jiang M, Qian Y, Mao Y. Genetically proxied morning chronotype was associated with a reduced risk of prostate cancer. *Sleep* 2021;44:zsab104. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsab104>.
- [37] Titova OE, Yuan S, Baron JA, Lindberg E, Michaëlsson K, Larsson SC. Sleep-disordered breathing-related symptoms and risk of stroke: cohort study and Mendelian randomization analysis. *J Neurol* 2022;269:2460–8. <https://doi.org/10.1007/s00415-021-10824-y>.
- [38] Yu M, Du Y, Liu K, Liang X, Huang C, He R, et al. Sleep duration and auditory hallucinations: genetic correlation and two-sample Mendelian randomization study. *J Affect Disord* 2021;291:409–14. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2021.04.038>.
- [39] Yuan S, Mason AM, Burgess S, Larsson SC. Genetic liability to insomnia in relation to cardiovascular diseases: A Mendelian randomisation study. *Eur J Epidemiol* 2021;36:393–400. <https://doi.org/10.1007/s10654-021-00737-5>.
- [40] Zha L-F, Dong J-T, Wang J-L, Chen Q-W, Wu J-F, Zhou Y-C, et al. Effects of insomnia on peptic ulcer disease using mendelian randomization. *Oxid Med Cell Longev* 2021;2021:1–11. <https://doi.org/10.1155/2021/2216314>.
- [41] Zhao J, Yang F, Zhuo C, Wang Q, Qu Z, Wang Q, et al. Association of sleep duration with atrial fibrillation and heart failure: a mendelian randomization analysis. *Front Genet* 2021;12:583658. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.583658>.
- [42] Zhou F, Guo Y, Wang Z, Liu S, Xu H. Assessing the causal associations of insomnia with depressive symptoms and subjective well-being: a bidirectional Mendelian randomization study. *Sleep Med* 2021;87:85–91. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2021.08.025>.
- [43] Zhou F, Liu Z, Guo Y, Xu H. Association of short sleep with risk of periodontal disease: a meta-analysis and Mendelian randomization study. *J Clin Periodontol* 2021;48:1076–84. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13483>.
- [44] Liu Z, Luo Y, Su Y, Wei Z, Li R, He L, et al. Associations of sleep and circadian phenotypes with COVID-19 susceptibility and hospitalization: an observational cohort study based on the UK Biobank and a two-sample Mendelian randomization study. *Sleep* 2022;zsac003. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsac003>.
- [45] Henry A, Katsoulis M, Masi S, Fatemifar G, Denaxas S, Acosta D, et al. The relationship between sleep duration, cognition and dementia: a Mendelian randomization study. *Int J Epidemiol* 2019;48:849–60. <https://doi.org/10.1093/ije/dyz071>.
- [46] Nassan M, Daghlis I, Winkelman JW, Dashti HS, International Suicide Genetics Consortium, Saxena R. Genetic evidence for a potential causal relationship between insomnia symptoms and suicidal behavior: a Mendelian randomization study. *Neuropsychopharmacology* 2022. <https://doi.org/10.1038/s41386-022-01319-z>.
- [47] Paz V, Dashti HS, Garfield V. Is there an association between daytime napping, cognitive function and brain volume? A Mendelian randomisation study in the UK Biobank. *Prepr MedRxiv* 2022. <https://doi.org/10.1101/2021.09.28.21264215>.
- [48] Baranova A, Cao H, Zhang F. Shared genetic liability and causal effects between major depressive disorder and insomnia. *Hum Mol Genet* 2022;31:1336–45. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddab328>.
- [49] van Oort S, Beulens JWJ, van Ballegooijen AJ, Handoko ML, Larsson SC. Modifiable lifestyle factors and heart failure: a Mendelian randomization study. *Am Heart J* 2020;227:64–73. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2020.06.007>.
- [50] van Oort S, Beulens JWJ, Ballegooijen AJ, Burgess S, Larsson SC. Cardiovascular risk factors and lifestyle behaviours in relation to longevity: a Mendelian randomization study. *J Intern Med* 2021;289:232–43. <https://doi.org/10.1111/joim.13196>.
- [51] Chen F, Wen W, Long J, Shu X, Yang Y, Shu X, et al. Mendelian randomization analyses of 23 known and suspected risk factors and biomarkers for breast cancer overall and by molecular subtypes. *Int J Cancer* 2022;151:372–80. <https://doi.org/10.1002/ijc.34026>.
- [52] Chen Y, Li C, Cheng S, Pan C, Zhang H, Zhang J, et al. The causal relationships between sleep-related phenotypes and body composition: a mendelian randomized study. *J Clin Endocrinol Metab* 2022;dgac234. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgac234>.
- [53] Estiari MA, Senkevich K, Yu E, Varghaei P, Krohn L, Bandres-Ciga S, et al. Lack of causal effects or genetic correlation between restless legs syndrome and Parkinson's disease. *Mov Disord* 2021;36:1967. <https://doi.org/10.1002/mds.28640>. –72.
- [54] Ardissono M, Reddy RK, Slob EAW, Patel KHK, Ryan DK, Gill D, et al. Sleep disordered breathing, obesity and atrial fibrillation: a mendelian randomisation study. *Genes* 2022;13:104. <https://doi.org/10.3390/genes13010104>.
- [55] Karhunen V, Bakker MK, Ruigrok YM, Gill D, Larsson SC. Modifiable risk factors for intracranial aneurysm and aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a mendelian randomization study. *J Am Heart Assoc* 2021;10:e022277. <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.022277>.
- [56] Chen G, Xie J, Liu W, Liang T, Liao X, Liao W, et al. Association between depression and sleep apnoea: a Mendelian randomisation study. *ERJ Open Res* 2022;8:394–2021. <https://doi.org/10.1183/23120541.00394-2021>.
- [57] Di H, Zhu Y, Xia W, Meng X, Zhang M, Xu M, et al. Bidirectional Mendelian randomization to explore the causal relationships between Sleep traits, Parkinson's disease and Amyotrophic lateral sclerosis. *Sleep Med* 2022;96:42–9. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2022.03.024>.
- [58] Qian Y, Xia J, Liu K-Q, Xu L, Xie S-Y, Chen G-B, et al. Observational and genetic evidence highlight the association of human sleep behaviors with the incidence of fracture. *Commun Biol* 2021;4:1339. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02861-0>.
- [59] Titova OE, Michaëlsson K, Vithayathil M, Mason AM, Kar S, Burgess S, et al. Sleep duration and risk of overall and 22 site-specific cancers: a Mendelian randomization study. *Int J Cancer* 2021;148:914–20. <https://doi.org/10.1002/ijc.33286>.
- [60] Treur JL, Gibson M, Taylor AE, Rogers PJ, Munafo MR. Investigating genetic correlations and causal effects between caffeine consumption and sleep behaviours. *J Sleep Res* 2018;27:e12695. <https://doi.org/10.1111/jsr.12695>.
- [61] Haycock PC, Burgess S, Wade KH, Bowden J, Relton C, Davey Smith G. Best (but oft-forgotten) practices: the design, analysis, and interpretation of Mendelian randomization studies. *Am J Clin Nutr* 2016;103:965–78. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.118216>.
- [62] Swerdlow DJ, Kuchenbaecker KB, Shah S, Sofat R, Holmes MV, White J, et al. Selecting instruments for Mendelian randomization in the wake of genome-wide association studies. *Int J Epidemiol* 2016;45:1600–16. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw088>.
- [63] Brion M-JA, Shakhbazov K, Visscher PM. Calculating statistical power in Mendelian randomization studies. *Int J Epidemiol* 2013;42:1497–501. <https://doi.org/10.1093/ije/dyt179>.
- [64] Dauvilliers Y, Maret S, Tafti M. Genetics of normal and pathological sleep in humans. *Sleep Med Rev* 2005;9:91–100. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2004.06.001>.
- [65] Watanabe K, Jansen PR, Savage JE, Nandakumar P, Wang X, et al., 23andMe Research Team. Genome-wide meta-analysis of insomnia prioritizes genes associated with metabolic and psychiatric pathways. *Nat Genet* 2022;54:1125–32. <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01124-w>.
- [66] Lane JM, Qian J, Mignot E, Redline S, Scheer FAJL, Saxena R. Genetics of circadian rhythms and sleep in human health and disease. *Nat Rev Genet* 2023;24:4–20. <https://doi.org/10.1038/s41576-022-00519-z>.
- [67] Burgess S, Thompson SG. Mendelian randomization: methods for causal inference using genetic variants. *CRC Press*; 2021.
- [68] Cade BE, Chen H, Stilp AM, Gleason KJ, Sofer T, Ancoli-Israel S, et al. Genetic associations with obstructive sleep apnea traits in hispanic/latino Americans. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;194:886–97. <https://doi.org/10.1164/rccm.201512-2431OC>.
- [69] Chen H, Cade BE, Gleason KJ, Bjornes AC, Stilp AM, Sofer T, et al. Multiethnic meta-analysis identifies RAI1 as a possible obstructive sleep apnea-related quantitative trait locus in men. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2018;58:391–401. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2017.0237OC>.
- [70] Farias Tempaku P, Leite Santoro M, Bittencourt L, D'Almeida V, Iole Belangero S, Tufik S. Genome-wide association study reveals two novel risk alleles for incident obstructive sleep apnea in the EPISONO cohort. *Sleep Med* 2020;66:24–32. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2019.08.003>.
- [71] Khoury S, Wang Q-P, Parisien M, Gris P, Bortsov AV, Linnstaedt SD, et al. Multi-ethnic GWAS and meta-analysis of sleep quality identify MPP6 as a novel gene that functions in sleep center neurons. *Sleep* 2021;44:zsaa211. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsaa211>.
- [72] Scammell BH, Tchao C, Song Y, Nishiyama T, Louie TL, Dashti HS, et al. Multi-ancestry genome-wide analysis identifies shared genetic effects and common genetic variants for self-reported sleep duration. *Hum Mol Genet* 2023;32:2797–807. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddad101>.
- [73] Stein MB, McCarthy MJ, Chen C-Y, Jain S, Gelernter J, He F, et al. Genome-wide analysis of insomnia disorder. *Mol Psychiatr* 2018;23:2238–50. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0033-5>.
- [74] Austin-Zimmerman I, Levey DF, Giannakopoulou O, Deak JD, Galimberti M, Adhikari K, et al. Genome-wide association studies and cross-population meta-analyses investigating short and long sleep duration. *Nat Commun* 2023;14:6059. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41249-y>.
- [75] Hammerschlag AR, Stringer S, de Leeuw CA, Snickers S, Taskesen E, Watanabe K, et al. Genome-wide association analysis of insomnia complaints identifies risk genes and genetic overlap with psychiatric and metabolic traits. *Nat Genet* 2017;49:1584–92. <https://doi.org/10.1038/ng.3888>.
- [76] Mong JA, Cusmano DM. Sex differences in sleep: impact of biological sex and sex steroids. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 2016;371:20150110. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0110>.
- [77] Buysse DJ. Sleep health: can we define it? Does it matter? *Sleep* 2014;37:9–17. <https://doi.org/10.5665/sleep.3298>.
- [78] Wallace ML, Buysse DJ, Redline S, Stone KL, Ensrud K, Leng Y, et al. Multidimensional sleep and mortality in older adults: a machine-learning

- comparison with other risk factors. *J Gerontol Ser A* 2019;74:1903. <https://doi.org/10.1093/gerona/glz044>. –9.
- [79] Chen Z, Boehnke M, Wen X, Mukherjee B. Revisiting the genome-wide significance threshold for common variant GWAS. 2021.
- [80] Stefansson H, Rye DB, Hicks A, Petursson H, Ingason A, Thorgeirsson TE, et al. A genetic risk factor for periodic limb movements in sleep. *N Engl J Med* 2007;357:639–47. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa072743>.
- [81] Winkelmann J, Schormair B, Lichtner P, Ripke S, Xiong L, Jalilzadeh S, et al. Genome-wide association study of restless legs syndrome identifies common variants in three genomic regions. *Nat Genet* 2007;39:1000–6. <https://doi.org/10.1038/ng2099>.
- [82] Schormair B, Zhao C, Salminen AV, Oexle K, Winkelmann J, International EURLS-GENE Consortium. Reassessment of candidate gene studies for idiopathic restless legs syndrome in a large genome-wide association study dataset of European ancestry. *Sleep* 2022;45:zsac098. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsac098>.
- [83] Chang CC, Chow CC, Tellier LC, Vattikuti S, Purcell SM, Lee JJ. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience* 2015;4:7. <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0047-8>.
- [84] Tang Y, Li Z, Wang C, Liu Y, Yu H, Wang A, et al. LDkit: a parallel computing toolkit for linkage disequilibrium analysis. *BMC Bioinf* 2020;21:461. <https://doi.org/10.1186/s12859-020-03754-5>.
- [85] Taylor AE, Davies NM, Ware JJ, VanderWeele T, Smith GD, Munafò MR. Mendelian randomization in health research: using appropriate genetic variants and avoiding biased estimates. *Econ Hum Biol* 2014;13:99–106. <https://doi.org/10.1016/j.ehb.2013.12.002>.
- [86] Hemani G, Zheng J, Elsworth B, Wade KH, Haberland V, Baird D, et al. The MR-Base platform supports systematic causal inference across the human phenome. *Elife* 2018;7:e34408. <https://doi.org/10.7554/eLife.34408>.
- [87] Burgess S, Davies NM, Thompson SG. Bias due to participant overlap in two-sample Mendelian randomization. *Genet Epidemiol* 2016;40:597–608. <https://doi.org/10.1002/gepi.21998>.
- [88] Paz V, Dashti HS, Garfield V. Is there an association between daytime napping, cognitive function, and brain volume? A Mendelian randomization study in the UK Biobank. *Sleep Health* 2023. <https://doi.org/10.1016/j.sleh.2023.05.002>. S235272182300089X.
- [89] Garfield V, Farmaki A-E, Fatemifar G, Eastwood SV, Mathur R, Rentsch CT, et al. Relationship between glycemia and cognitive function, structural brain outcomes, and dementia: a mendelian randomization study in the UK biobank. *Diabetes* 2021;70:2313–21. <https://doi.org/10.2337/db20-0895>.
- [90] Song W, Torous J, Kossowsky J, Chen C-Y, Huang H, Wright A. Genome-wide association analysis of insomnia using data from Partners Biobank. *Sci Rep* 2020;10:6928. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63792-0>.
- [91] Doherty A, Smith-Byrne K, Ferreira T, Holmes MV, Holmes C, Pulit SL, et al. GWAS identifies 14 loci for device-measured physical activity and sleep duration. *Nat Commun* 2018;9:5257. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07743-4>.
- [92] Dashti HS, Jones SE, Wood AR, Lane JM, van Hees VT, Wang H, et al. Genome-wide association study identifies genetic loci for self-reported habitual sleep duration supported by accelerometer-derived estimates. *Nat Commun* 2019;10:1100. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08917-4>.
- [93] HUNT All In Sleep, Lane JM, Jones SE, Dashti HS, Wood AR, Aragam KG, et al. Biological and clinical insights from genetics of insomnia symptoms. *Nat Genet* 2019;51:387–93. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0361-7>.
- [94] Burgess S, Labrecque JA. Mendelian randomization with a binary exposure variable: interpretation and presentation of causal estimates. *Eur J Epidemiol* 2018;33:947–52. <https://doi.org/10.1007/s10654-018-0424-6>.
- [95] Burgess S, Thompson SG, CRP CHD Genetics Collaboration. Avoiding bias from weak instruments in Mendelian randomization studies. *Int J Epidemiol* 2011;40:755–64. <https://doi.org/10.1093/ije/dyr036>.
- [96] Bowden J, Davey Smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression. *Int J Epidemiol* 2015;44:512–25. <https://doi.org/10.1093/ije/dyv080>.
- [97] Dehghan A. Genome-wide association studies. In: Evangelou E, editor. *Genet. Epidemiol*, vol. 1793. New York, NY: Springer New York; 2018. p. 37–49. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7868-7_4.
- [98] Tabangin ME, Woo JG, Martin LJ. The effect of minor allele frequency on the likelihood of obtaining false positives. *BMC Proc* 2009;3:S41. <https://doi.org/10.1186/1753-6561-3-S7-S41>.
- [99] Zhang L, Hirano A, Hsu P-K, Jones CR, Sakai N, Okuro M, et al. A PERIOD3 variant causes a circadian phenotype and is associated with a seasonal mood trait. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113. <https://doi.org/10.1073/pnas.1600039113>.
- [100] Hartwig FP, Davies NM, Hemani G, Davey Smith G. Two-sample Mendelian randomization: avoiding the downsides of a powerful, widely applicable but potentially fallible technique. *Int J Epidemiol* 2016;45:1717–26. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw028>.
- [101] Davies NM, Holmes MV, Davey Smith G. Reading Mendelian randomisation studies: a guide, glossary, and checklist for clinicians. *BMJ* 2018;k601. <https://doi.org/10.1136/bmj.k601>.
- [102] Feng J, Chen B-Y. Prevalence and incidence of hypertension in obstructive sleep apnea patients and the relationship between obstructive sleep apnea and its confounders. *Chin Med J* 2009;122:1464–8.
- [103] Grandner MA, Drummond SPA. Who are the long sleepers? Towards an understanding of the mortality relationship. *Sleep Med Rev* 2007;11:341–60. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2007.03.010>.
- [104] Hu Y, Shmygelska A, Tran D, Eriksson N, Tung JY, Hinds DA. GWAS of 89,283 individuals identifies genetic variants associated with self-reporting of being a morning person. *Nat Commun* 2016;7:10448. <https://doi.org/10.1038/ncomms10448>.
- [105] Jones SE, Tyrrell J, Wood AR, Beaumont RN, Ruth KS, Tuke MA, et al. Genome-wide association analyses in 128,266 individuals identifies new morningness and sleep duration loci. *PLoS Genet* 2016;12:e1006125. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006125>.
- [106] 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. <https://doi.org/10.1038/ncomms10889>.
- [107] Lane JM, Liang J, Vlasac I, Anderson SG, Bechtold DA, Bowden J, et al. Genome-wide association analyses of sleep disturbance traits identify new loci and highlight shared genetics with neuropsychiatric and metabolic traits. *Nat Genet* 2017;49:274–81. <https://doi.org/10.1038/ng.3749>.
- [108] Schormair B, Zhao C, Bell S, Tilch E, Salminen AV, Pütz B, et al. Identification of novel risk loci for restless legs syndrome in genome-wide association studies in individuals of European ancestry: a meta-analysis. *Lancet Neurol* 2017;16:898–907. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30327-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30327-7).
- [109] Liao C, Houle G, He Q, Laporte AD, Girard SL, Dion PA, et al. Investigating the association and causal relationship between restless legs syndrome and essential tremor. *Parkinsonism Relat Disorders* 2019;61:238–40. <https://doi.org/10.1016/j.parkrelidis.2018.10.022>.
- [110] Ferguson A, Lyall LM, Ward J, Strawbridge RJ, Cullen B, Graham N, et al. Genome-wide association study of circadian rhythmicity in 71,500 UK biobank participants and polygenic association with mood instability. *EBioMedicine* 2018;35:279–87. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.08.004>.
- [111] Huang J, Zuber V, Matthews PM, Elliott P, Tzoulaki J, Dehghan A. Sleep, major depressive disorder, and Alzheimer disease: a Mendelian randomization study. *Neurology* 2020;95:e1963–70. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000010463>.
- [112] Richmond RC, Anderson EL, Dashti HS, Jones SE, Lane JM, Strand LB, et al. Investigating causal relations between sleep traits and risk of breast cancer in women: Mendelian randomisation study. *BMJ* 2019;12327. <https://doi.org/10.1136/bmj.12327>.
- [113] Cai H, Liang J, Liu Z, Fang L, Zheng J, Xu J, et al. Causal effects of sleep traits on ischemic stroke and its subtypes: a mendelian randomization study. *Nat Sci Sleep* 2020;12:783–90. <https://doi.org/10.2147/NSS.S265946>.
- [114] Daghas I, Vgontzas A, Guo Y, Chasman DI, International Headache Genetics Consortium, Saxena R, et al. Habitual sleep disturbances and migraine: a Mendelian randomization study. *Ann Clin Transl Neurol* 2020;7:2370–80. <https://doi.org/10.1002/acn3.51228>.
- [115] van Oort S, Beulens JWW, van Ballegooijen AJ, Grobbee DE, Larsson SC. Association of cardiovascular risk factors and lifestyle behaviors with hypertension: a mendelian randomization study. *Hypertension* 2020;76:1971. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15761>. –9.
- [116] Cai L, Bao Y, Fu X, Cao H, Baranova A, Zhang X, et al. Causal links between major depressive disorder and insomnia: a Mendelian randomisation study. *Gene* 2021;768:145271. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145271>.
- [117] Jones SE, van Hees VT, Mazzotti DR, Marques-Vidal P, Sabia S, van der Spek A, et al. Genetic studies of accelerometer-based sleep measures yield new insights into human sleep behaviour. *Nat Commun* 2019;10:1585. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09576-1>.
- [118] Wang H, Lane JM, Jones SE, Dashti HS, Ollila HM, Wood AR, et al. Genome-wide association analysis of self-reported daytime sleepiness identifies 42 loci that suggest biological subtypes. *Nat Commun* 2019;10:3503. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11456-7>.
- [119] Campos AI, García-Marín LM, Byrne EM, Martin NG, Cuéllar-Partida G, Rentería ME. Insights into the aetiology of snoring from observational and genetic investigations in the UK Biobank. *Nat Commun* 2020;11:817. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14625-1>.
- [120] Didriksen M, Nawaz MS, Dowsett J, Bell S, Erikstrup C, Pedersen OB, et al. Large genome-wide association study identifies three novel risk variants for restless legs syndrome. *Commun Biol* 2020;3:703. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01430-1>.
- [121] Dashti HS, Daghas I, Lane JM, Huang Y, Udler MS, Wang H, et al. Genetic determinants of daytime napping and effects on cardiometabolic health. *Nat Commun* 2021;12:900. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20585-3>.
- [122] Strausz S, Ruotsalainen S, Ollila HM, Karjalainen J, Kiiskinen T, Reeve M, et al. Genetic analysis of obstructive sleep apnoea discovers a strong association with cardiometabolic health. *Eur Respir J* 2021;57:2003091. <https://doi.org/10.1183/13993003.03091-2020>.
- [123] Yao Y, Jia Y, Wen Y, Cheng B, Cheng S, Liu L, et al. Genome-wide association study and genetic correlation scan provide insights into its genetic architecture of sleep health score in the UK biobank cohort. *Nat Sci Sleep* 2022;14:1–12. <https://doi.org/10.2147/NSS.S326818>.
- [124] Thorkildsen MS, Gustad LT, Mohus RM, Burgess S, Nilsen TIL, Damås JK, et al. Association of genetically predicted insomnia with risk of sepsis: a mendelian randomization study. *JAMA Psychiatr* 2023;80:1061. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2023.2717>.

ASSOCIATION BETWEEN CIRCADIAN RHYTHMS, SLEEP, AND DEPRESSION: A BIDIRECTIONAL MENDELIAN RANDOMISATION STUDY IN THE UK BIOBANK

Running title: “Causal Links: Circadian System and Depression”

Valentina Paz, MSc.^{1, 2, 3, 4 *}; Dylan M Williams, PhD.³; Marcus Richards, PhD.³; Bettina Tassino,
PhD.^{2, 5}; Ana Silva, PhD.^{2, 6} & Victoria Garfield, PhD.^{3, 4}

1. Instituto de Psicología Clínica, Facultad de Psicología, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
2. Grupo Cronobiología, Comisión Sectorial de Investigación Científica, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
3. MRC Unit for Lifelong Health and Ageing at UCL, Institute of Cardiovascular Sciences, Faculty of Population Health Sciences, University College London, London, United Kingdom.
4. Department of Pharmacology and Therapeutics, University of Liverpool.
5. Sección Etología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
6. Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

*Corresponding author:

Valentina Paz

Tristan Narvaja 1674, Montevideo, 11200, Uruguay

E-mail: vpaz@psico.edu.uy; v.paz@ucl.ac.uk

Telephone: +598 (2) 400 85 55-300

Abstract

Increasing evidence links circadian and sleep disruptions with depression, though whether they are causally related remains unclear. This study used Mendelian randomization (MR) with exposures instrumented using genome-wide genetic variants and data from the UK Biobank (n=408 480; mean age=56.9 years) to explore causal associations between circadian and sleep traits, and depression. We conducted bidirectional MR analyses between morningness, sleep duration, insomnia symptoms, and depression, and secondary unidirectional analyses with circadian and sleep traits as exposures and mixed anxiety-depressive symptoms and anxiety disorders as outcomes. Using inverse-variance weighting and sensitivity analyses for horizontal pleiotropy (MR-Egger and Weighted Median Estimator), we found suggestive associations between morningness and lower odds of depression (diagnosis and treatment: OR=0.89, 95%CI=0.80, 0.98), and depression and shorter sleep duration (β =-4.67 minutes, 95%CI=-7.44; -1.89). Depression showed an effect on insomnia (any symptoms: OR=1.22, 95%CI=1.11; 1.34; frequent symptoms: OR=1.30, 95%CI=1.19; 1.42), while frequent insomnia was associated with increased odds of depression (diagnosis: OR=1.14, 95%CI=1.10; 1.19; diagnosis and treatment: OR=1.10, 95%CI=1.06; 1.14). Insomnia also had an effect on mixed anxiety-depressive symptoms (any symptoms: OR=1.19, 95%CI=1.08, 1.32; frequent symptoms: OR=1.20, 95%CI=1.17, 1.23), but no associations were found between the exposures and anxiety disorders. These findings shed light on the causal links between the circadian system and depression.

Keywords: Circadian system; Sleep; Depression; Anxiety; Mendelian randomisation.

Introduction

The circadian system controls the endogenous rhythmic activity of numerous physiological functions in humans, the sleep-wake cycle being the most evident circadian rhythm [1]. Sleep is a complex behaviour characterised by multiple dimensions. Some of the most important dimensions of sleep are timing, the placement of sleep within the 24-hour day; duration, defined as the total amount of sleep obtained over 24 hours [2]; and quality, understood as the self-satisfaction with sleep [3]. Circadian disruption, considered the consequence of a temporal challenge or other perturbations in the circadian system [4], is a critical factor in numerous circadian and sleep disorders and has been linked to several adverse health outcomes, including cardiovascular, metabolic, and mental disorders [5].

Depression, a prevalent mental disorder and the leading cause of years of life lost due to disability worldwide, is characterized by persistent low mood, anhedonia, and high comorbidity with anxiety disorders [6]. This disorder is often associated with circadian and sleep disturbances [7–9]. These disturbances usually persist across different phases of the disorder and contribute to increased treatment resistance [8]. Moreover, sleep problems are recognized as a vegetative sign of depression [10] and one of its most common residual symptoms [11]. The association between depression and circadian preferences, the preference to time daily activities including sleep used as an estimate of circadian phase, has been extensively reported in cross-sectional studies, which indicate that evening types are more prone to depression [12–14]. Epidemiological research further suggests that both short and long sleep durations are associated with depression [15], and short sleep often persists even after the remission of emotional symptoms [16]. Insomnia —characterized by disturbances in sleep continuity, including early morning awakenings, difficulty falling asleep and staying asleep, and non-restorative or poor-quality sleep— has been historically considered an epiphenomenon of depression. However, recent longitudinal studies suggest that insomnia is a risk

factor for the development of the disorder [17,18]. However, the causal nature of these associations remains elusive [19].

Mendelian randomisation (MR), which uses genetic variants to help assess causality, could be used to address these questions [20]. Regarding the association between circadian preferences and depression, some studies found that the risk of depression is lower in morning individuals [21,22]. Moreover, recent work has revealed that short sleep duration has an effect on the risk of depression [23] and bidirectional associations between sleep duration and depression using MR [24]. Studies also reported evidence of an effect of insomnia symptoms on depressive symptoms [25] and risk of depression [23,26–28] and bidirectional associations between insomnia and depression [29–33]. However, other studies have not found causal associations between circadian and sleep traits and depression, such as duration [34], morningness [23,35] or insomnia [36].

Considering that this field of study is still in development and that results reported to date are ambiguous, it is crucial to investigate whether the association between circadian preferences and sleep patterns and depression might be causal, and if so, to determine the directionality of this association. Furthermore, considering the comorbidity between depression and anxiety [6], this study aims to elucidate the role of anxiety in these associations. Specifically, the present study examines whether circadian and sleep phenotypes are causally associated with depression.

Materials and Methods

Sample

Study participants were from the UK Biobank (UKB) cohort, described in detail elsewhere [37]. The UKB is a large-scale biomedical database containing phenotypic and genetic data available for over 500 000 participants from the general United Kingdom population aged between 40 and 69 at recruitment (2006 to 2010). We used data on up to 408 480 white British individuals (genetically

defined) from the UKB with quality-controlled genotype and phenotype data available. The mean age of participants was 56.9 ± 8.0 years, 54.0% were female, and 19.9% were in the most deprived socioeconomic quintile (Table 2 for full sample characteristics).

Study design

This study used a pseudo two-sample MR design to estimate bidirectional associations between circadian and sleep traits, and depression and anxiety. Thus, we used a combination of genetic association estimates that we derived from individual-level UKB data and GWAS summary statistics, some of which analysed only UKB data, and others that analysed UKB alongside other datasets. This study followed the STROBE-MR reporting guidelines [38].

Genotyping and quality control

487 409 UKB participants were genotyped using one of two customised genome-wide arrays imputed to a combination of the UK10K, 1000 Genomes Phase 3, and the Haplotype Reference Consortium (HRC) reference panels, which resulted in data on 93 095 623 autosomal variants [39]. We then applied additional variant-level quality control (QC) and excluded genetic variants with Fisher's exact test <0.3 , minor allele frequency (MAF) $<1\%$, and a missing call rate of $\geq 5\%$.

Participants were excluded if they had excessive or minimal heterozygosity, more than 10 putative third-degree relatives as per the kinship matrix, no consent to extract DNA, sex mismatches between self-reported and genetic sex, missing QC information and non-European ancestry (based on self-reported ancestry and the similarity with their "genetic ancestry" [40], as per a principal component analysis of their genotype) (see Lu et al. 2002 [41] for the differences between race, ethnicity, and ancestry).

Selection of genetic instruments

Morningness was instrumented using independent genetic variants (at LD cut-off $r^2 \leq 0.3$) from a GWAS by Jones et al. (2019) [42]. The variants were discovered in 697 828 European participants using data from the UKB cohort and summary statistics from a GWAS performed with 23andMe data (we used only UKB summary statistics). In the UKB cohort, circadian preferences was assessed based on the question “Do you consider yourself to be?” administered at baseline, with possible responses “More evening than morning” and “Definitely evening” coded as controls and “Definitely morning” and “More morning than evening” coded as cases (“Do not know” and “Prefer not to answer” responses were coded as missing). Of the respondents, 23.9% identified as “Definitely morning”, 32.2% as “More morning than evening”, 25.6% as “More evening than morning”, 8.0% as “Definitely evening”, and 10.3% as “Do not know”. Of the 351 variants discovered, we used 148.

Sleep duration was instrumented using independent genetic variants (at LD cut-off $r^2 < 0.05$ and 1 Mb) discovered in a 2019 GWAS of 446 118 UKB European participants [34], which explained 0.69% of the variance in sleep duration. These variants were associated with the question “About how many hours sleep do you get in every 24 h? (please include naps)” administered at baseline, with responses in hourly increments (authors excluded responses $< 3h$ or $> 18h$ and, “Do not know” and “Prefer not to answer” responses were coded as missing). The authors reported a mean self-reported habitual sleep duration of 7.2 hours. Of the 78 variants discovered, we used 74.

Any insomnia symptoms were instrumented using 29 independent genetic variants from a previously published large-scale GWAS [25]. These variants were discovered in 453 379 UKB European participants, explaining 1.0% of the variance, based on the question “Do you have trouble falling asleep at night or do you wake up in the middle of the night?” administered at baseline, with possible responses “Never/rarely” defined as controls and “Sometimes” and “Usually” defined as cases (“Prefer not to answer” responses were coded as missing). If the participants asked for help, they were shown the message “if this varies a lot, answer this question in relation to the last 4

weeks”. Of the UKB respondents, 23.9% responded “Never/rarely” and 76.1% “Sometimes” or “Usually”. The authors also performed another GWAS for frequent insomnia symptoms not used here, as we decided to use Jansen et al.'s (2019) GWAS due to how cases and controls were defined [32].

Frequent insomnia symptoms were instrumented using independent genetic variants (at LD cut-off $r^2 \leq 0.6$ and >250 kb) discovered in the GWAS of Jansen et al. (2019) [32]. These variants were discovered in 1 331 010 European participants from the UKB and 23andMe cohorts combined and explained 2.6% of the variance. The lead genetic variants showed concordant effects in both samples. For UKB participants, the same question used in the GWAS by Lane et al. (2019) was employed. Responses “Never/rarely” and “Sometimes” were defined as controls and “Usually” as cases. For 23andMe participants, insomnia cases were defined as those who affirmed being told by a doctor, diagnosed or treated for insomnia, diagnosed with sleep disturbances, routinely having trouble getting to sleep at night, or ever taking prescription sleep aids. Controls were defined as those who did not provide a positive or uncertain response (e.g. "I don't know"; "I am not sure") to any of the issues listed above, nor were diagnosed with Narcolepsy, Sleep apnea, Restless leg syndrome, Post-traumatic stress disorder, Autism, or Asperger. The prevalence of insomnia was 28.3% in the UKB sample, 30.5% in 23andMe, and 29.9% in the combined sample. Of the 248 variants discovered, we used 215.

Depression was instrumented using independent genetic variants discovered in two large-scale GWAS [43,44] to increase the number of valid variants following criteria from our recent review [45]. Wray et al. (2018) [44] conducted a genome-wide meta-analysis of 480 359 Europeans from seven different cohorts (including UKB), explaining 1.9% of the variance (at LD cut-off $r^2 < 0.1$). Cases (28.2%) were defined as those with an MDD diagnosis established using structured diagnostic instruments from assessments by trained interviewers, self-reported symptoms, diagnosis or treatment, or medical records. Controls (71.8%) were screened for the absence of lifetime Major

Depressive Disorder (MDD) and randomly selected from the population. Variants from Howard et al. (2019) [43] were discovered in a genome-wide meta-analysis of 807 553 Europeans from three large studies (LD cut-off $r^2 < 0.1$ and 3 Mb). The analysis included the 23andMe_307k cohort [46], the UKB cohort [47], and the PGC_139k cohort [44] (we used only UKB summary statistics). The depression phenotype included probable MDD based on self-reported depressive symptoms with associated impairment, MDD identified from hospital admission records and self-reported help-seeking for problems with nerves, anxiety, tension, or depression. Controls were 69.5% of the total sample, while cases were 30.5%. Of the 146 variants discovered, we used 39 variants.

Following guidance from our recent review of selection of sleep genetic instruments [45], we selected genetic instruments for morningness, sleep duration, and insomnia symptoms (Table 1 and Supplementary Table 1). Genetic instruments for depression were selected following the same criteria. In particular, we excluded correlated variants using linkage disequilibrium (LD) clumping with $r^2 < 0.01$ within 250kb. We only included genome-wide significant ($p < 5 \times 10^{-8}$) variants. We excluded weak instruments, as assessed by the F-statistics ($F > 10$ indicates that substantial weak instrument bias is unlikely [48]) using the Cragg-Donald formula ($F = (n - k - 1/k) (R^2 / (1 - R^2))$) [49] (k = number of instruments) or the ‘t-statistic’ summary-level method when the R^2 was unknown [45]. We also harmonised the genetic variants between the exposure GWAS and our outcome sample by aligning effect alleles. We did not exclude palindromic variants because we mostly used a single sample. Finally, we calculated the potential bias due to overlapping samples. This bias implies overestimating the strongest variant in the data under analysis when using genetic variants discovered in the analytical sample [50]. We used an online calculator available at <https://sb452.shinyapps.io/overlap/> [51] assuming 100% sample overlap. We estimated that the biases were small for all outcomes analysed (absolute value of biases ≤ 0.001) with type-1 error rate = 0.05 (Supplementary Table 2).

Table 1. Summary of genetic instruments.

Author (year) [reference]	Phenotype	Phenotype measurement	N	Cohorts	nSNPs identified	nSNPs selected	F-statistic ¹
Jones et al. (2019) [39]	Morningness	Do you consider yourself to be?: “more evening than morning” and “definitely evening” (controls) vs “definitely morning” and “more morning than evening” (cases)	697 828	UKB & 23andMe	351	148	47.7
Dashti et al. (2019) [31]	Sleep duration	About how many hours sleep do you get in every 24 h? (please include naps) in hour increments	446 118	UKB	78	74	38.3
Lane et al. (2019) [25]	Any insomnia symptoms	Do you have trouble falling asleep at night or do you wake up in the middle of the night?” (previous four weeks):	453 379	UKB	29	29	142.3

“never/rarely” (controls) vs “sometimes” and “usually” (cases)							
Jansen et al. (2019) [26]	Frequent insomnia symptoms	Do you have trouble falling asleep at night or do you wake up in the middle of the night?” (previous four weeks):	1 331 010	UKB & 23andMe	248	215	50.7
		“never/rarely” and “sometimes” (controls) vs “usually” (cases)					
Wray et al. (2018) [40] & Howard et al. (2019) [41]	Depression	Clinical diagnosis and self-reported measures	480 359 / 807 553	UKB, deCODE, GenScotland, GERA, iPSYCH, 23andMe & PGC / UKB, 23andMe & PGC	44 / 102	27 / 12	38.9

¹ The *F*-statistics were calculated using the Cragg-Donald formula for all instruments, except for morningness and depression, for which they were calculated using the ‘*t*-statistic’ summary-level method.

Circadian and sleep measures

We selected our morningness, sleep duration, and insomnia symptoms outcomes using phenotypes similar to our exposures. For morningness, we used the same questions and categories as Jones et al. (2019) [42]. For sleep duration, we used the same question as Dashti et al. (2019) [34] with responses in hourly increments. Based on our sleep duration distribution, we excluded extreme responses of <2h or >12h. For any and frequent insomnia symptoms, we used the same UKB question and categories as Lane et al. (2019) [25] and Jansen et al. (2019) [32], respectively.

Depression measures

For depression, we pragmatically decided to use two phenotypes: “diagnosis” (primary outcome for depression) and “diagnosis or treatment” (secondary outcome for depression). The diagnosis category was composed of participants who had answered yes to the question “Have you been diagnosed with one or more of the following mental health problems by a professional, even if you don't have it currently?: depression” plus participants with primary or secondary MDD (mild, moderate, severe or recurrent without psychotic symptoms) identified from hospital inpatient records.

The diagnosis and treatment category was composed of participants in the diagnosis category plus those who have ever taken substances (prescribed medication for at least two weeks, unprescribed medication more than once or drugs or alcohol more than once) or undertaken certain activities more than once (therapies such as psychotherapy, counselling, group therapy or cognitive-behavioural therapy or other therapeutic activities such as mindfulness, yoga or art classes) to cope with symptoms of depression (prolonged feelings of sadness and/or anhedonia). We included this secondary outcome to increase the proportion of cases with the aim of replicating our results. However, this outcome is less precise in assessing depression compared to the primary outcome, as it encompasses a broad spectrum of therapeutic strategies to manage depressive symptoms.

Anxiety measures

Considering the comorbidity between depression and anxiety [6] and the fact that the genetic variants discovered for depression by Howard et al. (2019) [43] were based on a phenotype that included self-reported help-seeking for problems with nerves, anxiety, tension, or depression, we also analysed two outcomes related to anxiety. We did not conduct bidirectional analyses with anxiety since the SNPs discovered to date have not been replicated at the genome-wide level of significance [52].

The mixed anxiety-depressive symptoms outcome was composed of participants who had answered yes to at least one of the following questions: “Have you ever seen a general practitioner (GP) for nerves, anxiety, tension or depression?” and “Have you ever seen a psychiatrist for nerves, anxiety, tension or depression?”.

The anxiety disorders outcome was composed of participants who had answered yes to the question, “Have you been diagnosed with one or more of the following mental health problems by a professional, even if you don't have it currently?: “anxiety, nerves or generalised anxiety disorder”. This category also included participants with primary or secondary “Generalised anxiety disorder” identified from hospital inpatient records.

Statistical analyses

i. Main analyses

We performed logistic regression between each of the genetic variants and our outcomes (for sleep duration as an outcome we performed linear regressions), adjusting for ten principal components to minimise issues of residual confounding by population stratification (for the analyses of depression to morningness, insomnia, and sleep duration, we corroborated that when adjusting for anxiety

disorders the results remained the same). Inverse-variance weighting (IVW) MR was implemented. The IVW, also known as ‘conventional MR’ estimates the effect of an exposure (e.g., depression) on a given outcome (e.g., insomnia) by taking an average of the genetic variants’ ratio of variant-outcome (SNP→Y) to variant-exposure (SNP→X) association, which is calculated using the principles of a fixed-effects meta-analysis [53]. We also implemented standard sensitivity analyses, including MR-Egger and the Weighted Median Estimator (WME). MR-Egger regression yields an intercept term to denote the presence or absence of unbalanced horizontal pleiotropy and its estimand accounts for this pleiotropy [54], while the WME can give more robust estimates when up to 50% of the genetic variants have invalid weights. Consistency in effect sizes and overlap of 95% confidence intervals (CI) were examined [55]. Results are expressed as odds ratios, which should be interpreted as odds of having the outcome for 1-log-odd of increase in the exposure. Only for sleep duration as an outcome, results are expressed as unstandardised beta coefficients, which should be interpreted as differences in the outcome for every 1-unit increase in the exposure. Analyses were performed using PLINK 2.0 and the “MendelianRandomization” package [56] for R studio version 2022.02.0.

ii. Additional analyses

Following the same approach as for our main analyses, we tested the association between our circadian and sleep exposures and mixed anxiety-depressive symptoms, and anxiety disorders as outcomes.

iii. Testing of MR assumptions

a. Associations between the genetic instrument and exposure instrumented (GWAS robust): variants instrumented have been robustly associated with our phenotypes in recent large-scale GWAS.

b. No association between genetic instruments and the outcome other than via the exposure under study (no horizontal pleiotropy): we implemented MR-Egger and WME sensitivity analyses to test this assumption.

c. No confounding of the SNP-outcome associations (e.g. confounding by population stratification, assortative mating or dynastic effects): we regressed several covariates on our main instruments using a Bonferroni multiple testing correction of $0.05/n\text{SNPs}$. The list of covariates we selected was based on recent literature [57–59] and included age, sex (female, male), years of full-time education, deprivation (Townsend deprivation quintiles), smoking status (never or previous vs. current smoker), alcohol status (never or previous vs current consumer), body mass index (BMI) (kg/m^2) and, physical activity (days of moderate activity for more than 10 minutes).

Results

Table 2. Sample characteristics.

Covariates	
Age (mean/SD)	56.9 (8.0)
Sex (%female)	54.0%
Townsend - most deprived quintile (%)	19.9%
Years of full-time education (mean/SD)	14.8 (5.1)
Ever smoking - Current (%)	10.1%
Alcohol consumption - Current (%)	93.3%
Body Mass Index - kg/m^2 (mean/SD)	27.2 (4.3)

Moderate physical activity - days (mean/SD)	3.6 (2.3)
---	-----------

Outcome variables

Morningness - Definitely morning/More morning than evening (%)	56.2%
Sleep duration - hours (mean/SD)	7.2 (1.1)
Any insomnia symptoms - Sometimes/Usually (%)	76.2%
Frequent insomnia symptoms - Usually (%)	28.6%
Depression (diagnosis) (%)	5.6%
Depression (diagnosis/treatment) (%)	12.5%
Mixed anxiety-depressive symptoms (%)	34.9%
Anxiety disorders (%)	1.9%

SD: Standard deviation. Note: Percentages represent the number of cases. 4.8% of participants have both “depression (diagnosis)” and “mixed anxiety-depressive symptoms”; 8.5% of participants have both “depression (diagnosis/treatment)” and “mixed anxiety-depressive symptoms”; 0.002% of participants have both “depression (diagnosis)” and “anxiety disorders”; 1.2% of participants have both “depression (diagnosis/treatment)” and “anxiety disorders”; 1.3% of participants have both “mixed anxiety-depressive symptoms” and “anxiety disorders”.

Main MR results

Associations between morningness and depression

No associations were found between genetically predicted morningness and diagnosis of depression (OR=0.96, 95%CI=0.87; 1.06) (Figure 1a, Supplementary Tables 3 & 7). Associations were found between genetically predicted morningness and lower odds of having a diagnosis or treatment of depression only with the WME (OR=0.89, 95%CI=0.80; 0.98) (Figure 1b, Supplementary Tables 3 & 7). No associations were found between genetically predicted depression and morningness (OR=1.01, 95%CI=0.90; 1.14) (Figure 1c, Supplementary Tables 3 & 7).

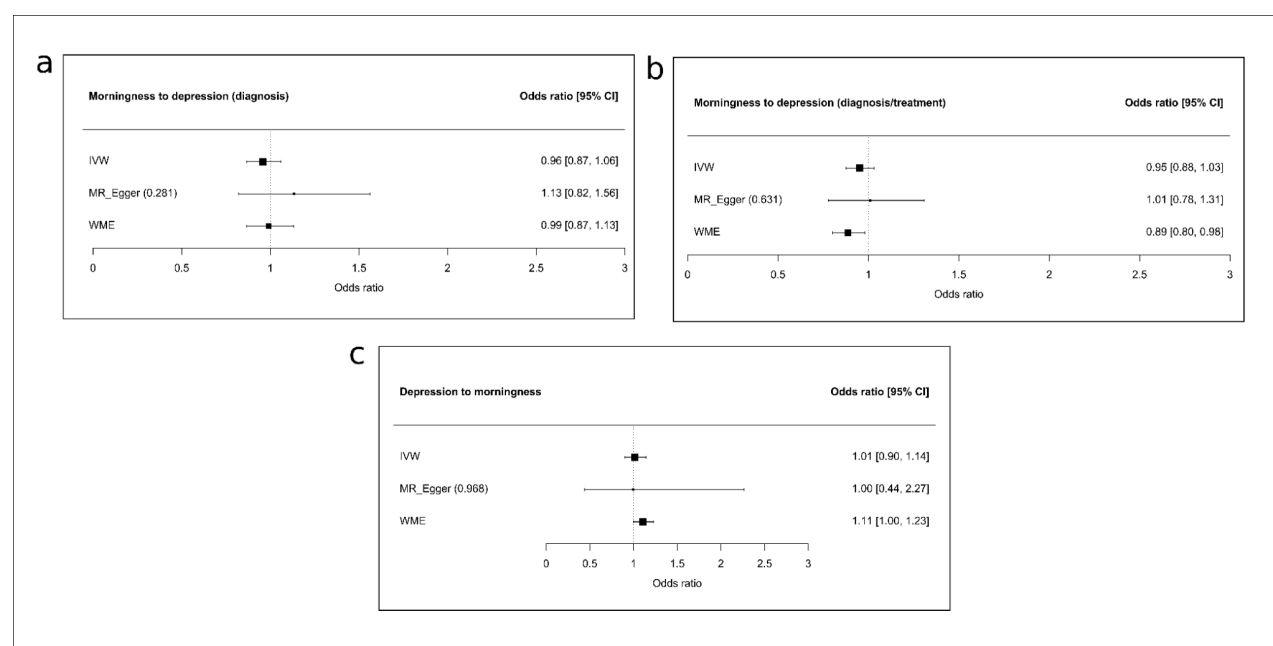


Figure 1. Associations between morningness and depression, including sensitivity analyses. a) Morningness to depression (diagnosis). b) Morningness to depression (diagnosis and treatment). c) Depression to morningness. IVW, inverse-variance weighting; WME, weighted median estimator; 95% CI, 95% confidence interval. Odds ratio: odds of having the outcome for 1-log-odd of increase in the exposure.

Associations between sleep duration and depression

No associations were found between genetically predicted sleep duration and diagnosis of depression (OR=0.97, 95%CI=0.80; 1.18) (Figure 2a, Supplementary Tables 4 & 7) or diagnosis or

treatment of depression (OR=0.94, 95%CI=0.80; 1.10) (Figure 2b, Supplementary Tables 4 & 7). Results showed an association between genetically predicted depression and shorter sleep duration only with the WME (β =-4.67 minutes, 95%CI=-7.44; -1.89) (Figure 2c, Supplementary Tables 4 & 7).

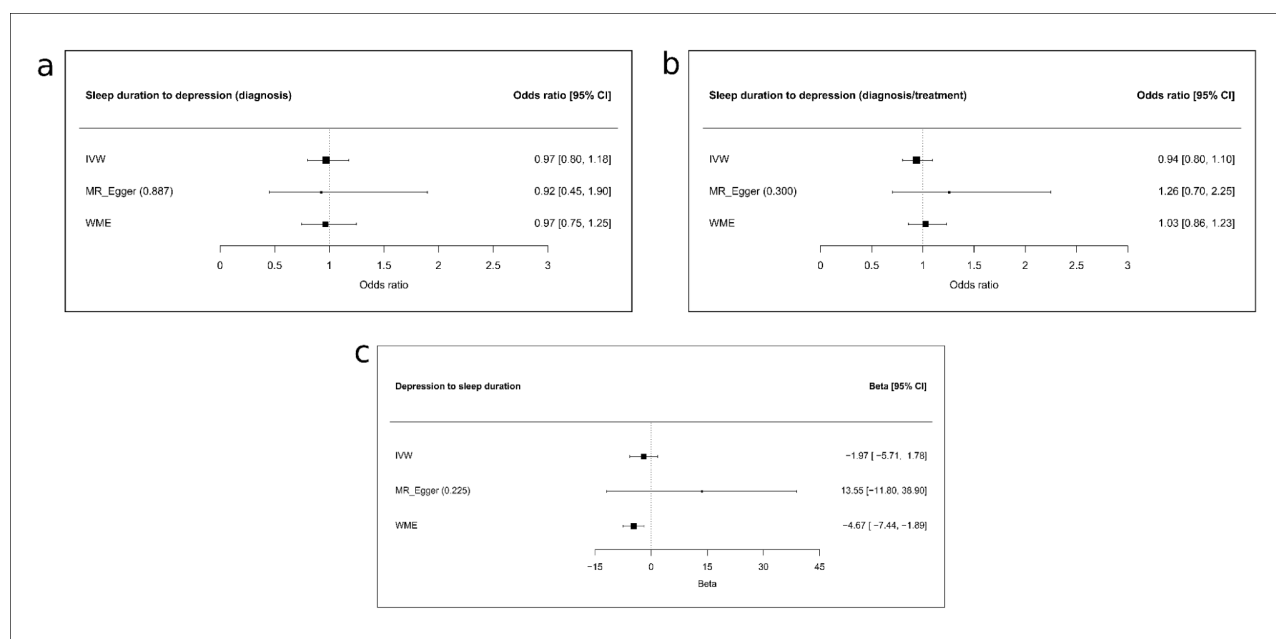


Figure 2. Associations between sleep duration and depression, including sensitivity analyses. a) Sleep duration to depression (diagnosis). b) Sleep duration to depression (diagnosis and treatment). c) Depression to sleep duration. IVW, inverse-variance weighting; WME, weighted median estimator; 95% CI, 95% confidence interval. Odds ratio: odds of having the outcome for 1-log-odd of increase in the exposure. Beta (unstandardised beta coefficient): differences in the outcome for every 1-unit increase in the exposure.

Associations between insomnia symptoms and depression

No associations were found between genetically predicted any insomnia symptoms and diagnosis of depression (OR=0.94, 95%CI=0.80; 1.10) or diagnosis or treatment of depression (OR=0.96, 95%CI=0.83; 1.10) (Figure 3a & 3b, Supplementary Tables 5 & 7). Genetically predicted depression was associated with higher odds of having any insomnia symptoms (OR=1.22,

95%CI=1.11; 1.34). MR-Egger indicated no unbalanced horizontal pleiotropy (MR-Egger intercept P-values > 0.05). The MR-Egger slope was not directionally consistent with the IVW estimate. However, the WME estimate was consistent in terms of direction and size (Figure 3c, Supplementary Tables 5 & 7).

Genetically predicted frequent insomnia symptoms were associated with higher odds of having a diagnosis of depression (OR=1.14, 95%CI=1.10; 1.19) (Figure 3d, Supplementary Tables 6 & 7) and diagnosis or treatment of depression (OR=1.10, 95%CI=1.06; 1.14) (Figure 3e, Supplementary Tables 6 & 7), and genetically predicted depression was associated with higher odds of having frequent insomnia symptoms (OR=1.30, 95%CI=1.19; 1.42) (Figure 3f, Supplementary Tables 6 & 7). Both MR-Egger and WME approaches indicated no unbalanced horizontal pleiotropy (MR-Egger intercept P-values $\geq$ 0.05) and were consistent in terms of direction and size (although the “diagnosis or treatment” result from the MR-Egger was not directionally consistent).

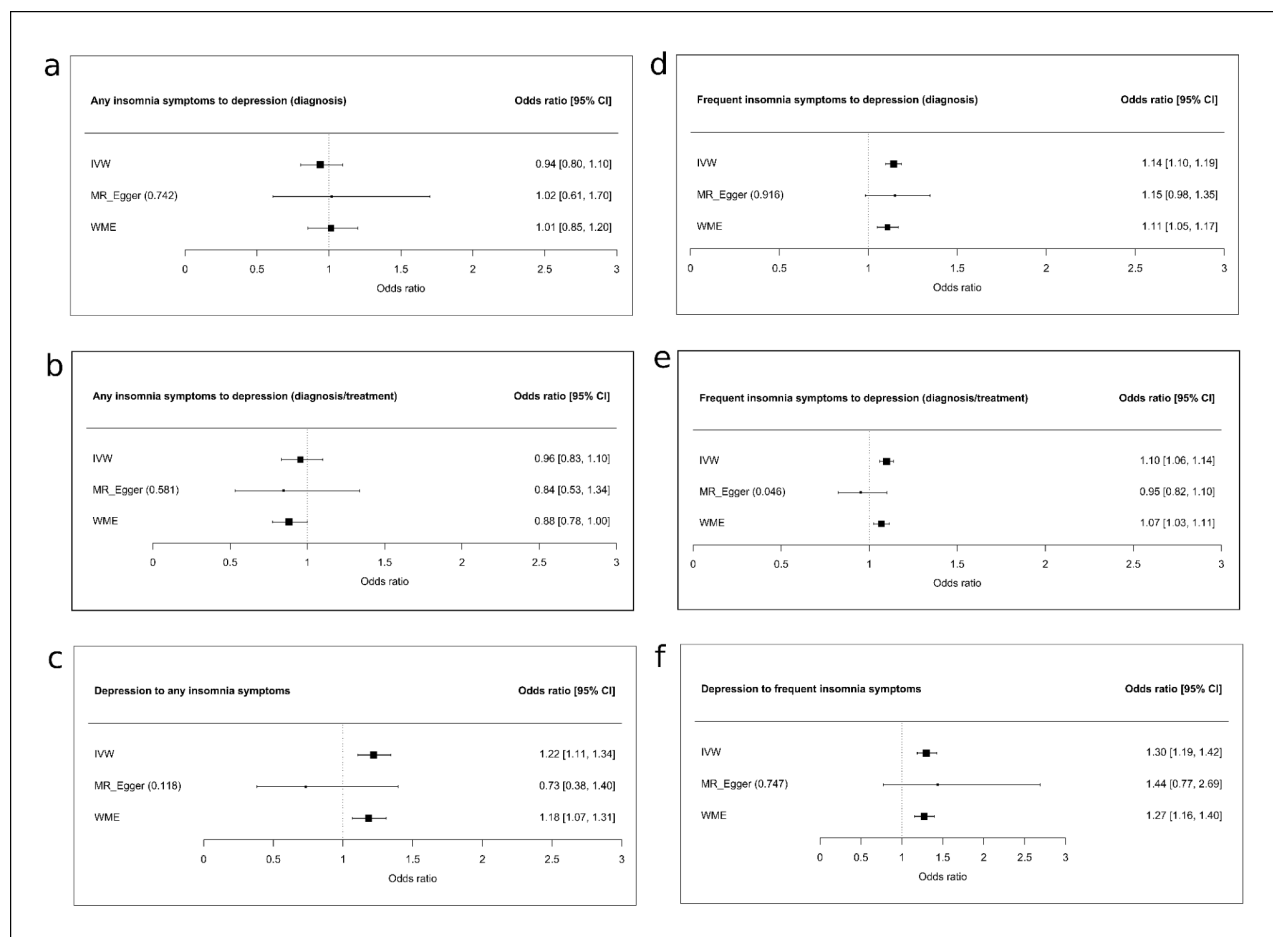


Figure 3. Associations between insomnia and depression, including sensitivity analyses. a) Any insomnia symptoms to depression (diagnosis). b) Any insomnia symptoms to depression (diagnosis and treatment). c) Depression to any insomnia symptoms. d) Frequent insomnia symptoms to depression (diagnosis). e) Frequent insomnia symptoms to depression (diagnosis and treatment). f) Depression to frequent insomnia symptoms. IVW, inverse-variance weighting; WME, weighted median estimator; 95% CI, 95% confidence interval. Odds ratio: odds of having the outcome for 1-log-odd of increase in the exposure.

Additional MR results

Associations between morningness, sleep duration, insomnia and anxiety outcomes (mixed anxiety-depressive symptoms and anxiety disorders)

No associations were found between genetically predicted morningness ($OR=0.97$, $95\%CI=0.91$; 1.03) or genetically predicted sleep duration ($OR=0.87$, $95\%CI=0.75$; 1.00) and mixed anxiety-depressive symptoms (Figure 4a & Figure 4b, Supplementary Table 3-6). Results showed that genetically predicted any insomnia symptoms were associated with higher odds of having mixed anxiety-depressive symptoms ($OR=1.19$, $95\%CI=1.08$; 1.32). Both MR-Egger and WME approaches indicated no unbalanced horizontal pleiotropy (MR-Egger intercept P-values > 0.05). The MR-Egger slope was not directionally consistent with the IVW estimate, but the WME estimate was (Figure 4c, Supplementary Table 3-6). Genetically predicted frequent insomnia symptoms were associated with higher odds of having mixed anxiety-depressive symptoms ($OR=1.20$, $95\%CI=1.17$; 1.23). The MR-Egger approach was consistent in terms of direction. However, the intercept p-value was 0.007 ; thus, we performed a leave-one-out analysis [60]. The analysis did not suggest undue influence by single outliers or systemic bias (Supplementary Table 8). WME estimate was consistent in terms of direction and size (Figure 4d, Supplementary Table 3-6). No associations were found between genetically predicted morningness ($OR=0.92$, $95\%CI=0.78$; 1.09) (Figure 4e, Supplementary Table 3-6), sleep duration ($OR=1.09$, $95\%CI=0.80$; 1.47) (Figure 4f, Supplementary Table 3-6), any insomnia symptoms ($OR=1.03$, $95\%CI=0.82$; 1.29) (Figure 4g, Supplementary Table 3-6) or frequent insomnia symptoms ($OR=1.02$, $95\%CI=0.95$; 1.10) (Figure 4h, Supplementary Table 3-6) with anxiety disorders.

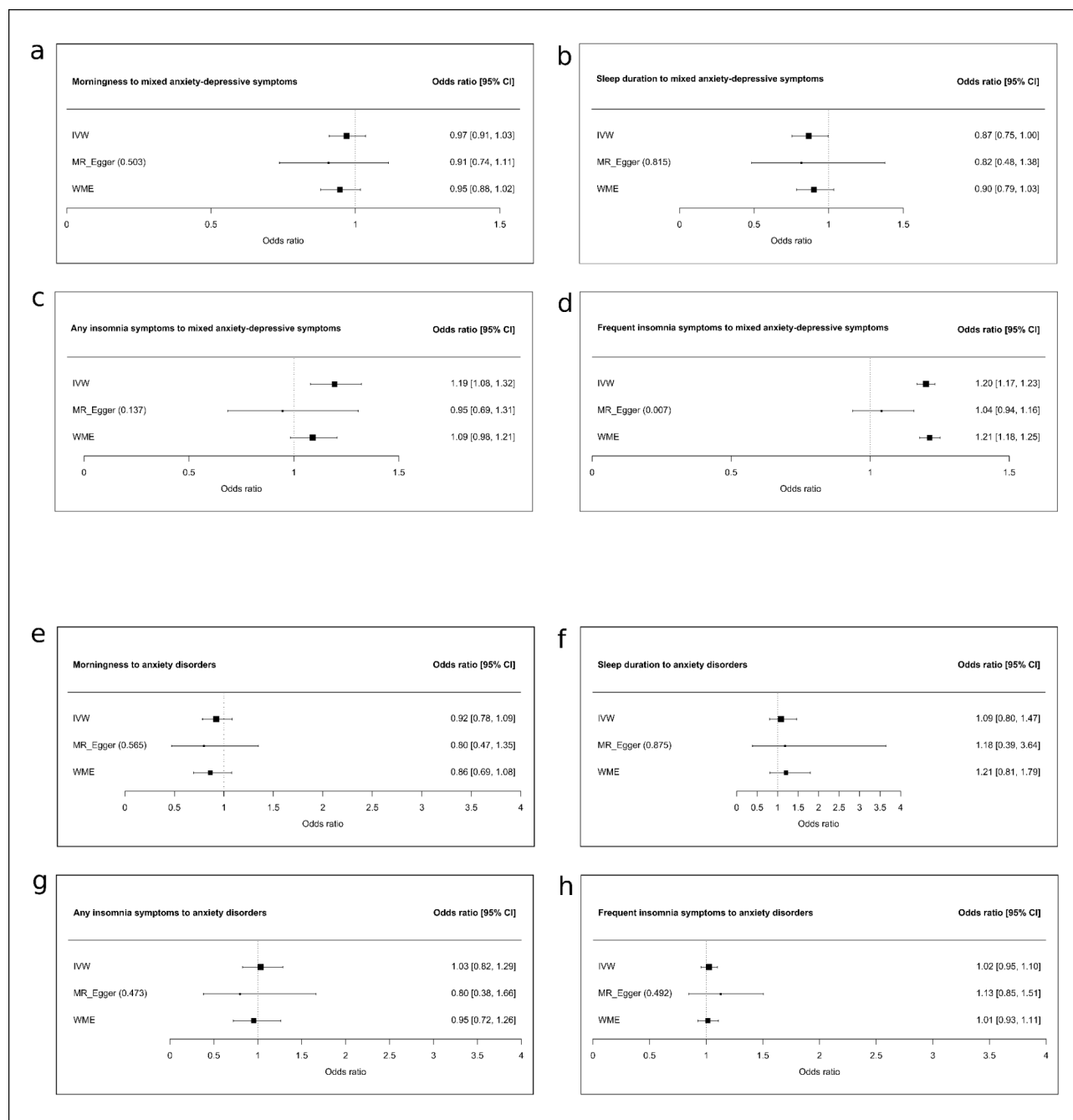


Figure 4. Associations between any insomnia, frequent insomnia, morningness, sleep duration and anxiety outcomes, including sensitivity analyses. a) Morningness to mixed anxiety-depressive symptoms. b) Sleep duration to mixed anxiety-depressive symptoms. c) Any insomnia symptoms to mixed anxiety-depressive symptoms. d) Frequent insomnia symptoms to mixed anxiety-depressive symptoms. e) Morningness to anxiety disorders. f) Sleep duration to anxiety disorders. g) Any insomnia symptoms to anxiety disorders. h) Frequent insomnia symptoms to anxiety disorders. IVW, inverse-variance weighting; WME, weighted median estimator; 95% CI, 95% confidence interval. Odds ratio: odds of having the outcome for 1-log-odd of increase in the exposure.

Testing MR Assumption III

After Bonferroni corrections, we observed that several genetic variants were associated with some covariates (especially with education and BMI) (Supplementary Table 9).

Discussion

The present study investigated the association between several circadian and sleep phenotypes and depression using a comprehensive Mendelian randomisation design. We found a causal bidirectional association between depression and insomnia, and suggestive evidence of an effect of morningness on lower odds of depression, and of depression on shorter sleep duration. We also demonstrated that insomnia confers an effect on mixed anxiety-depressive symptoms, while no associations were found between the circadian and sleep traits studied and anxiety disorders. Contrary to the predominant view of circadian rhythm disruptions only as a secondary consequence of depression, this study follows current evidence suggesting a more influential, causal role of these traits on this condition [18].

Our main finding demonstrated bidirectional associations between depression and insomnia following previous cohort [11,61] and MR studies [29–33]. Notably, we found that frequent insomnia, but not any insomnia symptoms, confers an effect on depression. Nowadays, it is widely accepted that insomnia is a risk factor for the development of depression [11], as confirmed by meta-analyses of longitudinal studies [62,63]. In the UKB, a recent machine learning analysis found that one of the best predictors of depression are insomnia symptoms [64]. However, despite advances in the field, the pathway from insomnia to depression is still unclear. Riemann et al. (2012) [65] point towards rapid eye movement (REM) sleep instability. The authors suggest that REM fragmentation in individuals with insomnia impedes correct overnight emotional regulation

processes and, when it becomes frequent, heightens responses to negative stimuli and facilitates the development of depression. This theory is supported by experimental studies showing that induced sleep deprivation alters the processing of emotional information [66,67]. Other studies have proposed that insomnia and sleep deprivation may lead to dysregulations in the stress and inflammatory systems, brain neurotrophic factors and monoaminergic, glutamatergic and orexinergic neurotransmission, contributing to mood dysregulations [68].

We also found that depression confers an effect on any and frequent insomnia symptoms. Insomnia has long been recognised as a vegetative sign of depression [10]. Previous observational [16,61] and MR studies [29–33] have found that depression increases the risk of subsequent insomnia, which is a common complaint in this population [69]. Notably, in contrast to some previous MR studies [29,30], we found that depression exerts a larger effect on insomnia than vice-versa. Interestingly, research has revealed shared genetic and neurobiological mechanisms among these conditions [29,30,70], leading to the proposal that the aetiology of insomnia is even more closely associated with biological processes found in psychiatric disorders, such as depression, rather than those involved in regulating sleep-wake cycles [71].

Our results also indicate suggestive evidence of an association between morningness and lower odds of depression but no evidence of an effect of genetically predicted depression on morningness. Numerous cross-sectional studies have reported that morning types are less prone to depressive symptoms, diagnosed depression and antidepressant use than evening types [12]. Accordingly, a randomised clinical trial demonstrated that shifting sleep timing to early hours in evening types leads to lower depressive symptoms [72]. Further, Jones et al. (2019) [42] reported a negative genetic correlation between morningness and diagnosis of depression. However, the directionality of this association is still unclear [73]. Some MR studies have found robust [21,22] and suggestive evidence [33,42] that morningness decreases the risk of depression. However, other MR studies have not found causal associations between morningness and depression [23,35]. A recent study has

suggested causality from circadian phase disturbances to mood symptoms using transfer entropy, a non-linear causal inference method [74]. Possible mechanisms for the association between diurnal preferences and depression include better alignment with typical work-rest schedules and higher daily light exposure [75,76]. Moreover, a recent cross-sectional analysis and genome-wide association study have proposed that sleep inertia drives the association of evening types with psychiatric disorders such as depression [77]. Our findings support the well-documented association between eveningness and depression [12–14], and suggest that, at least in the context of modern social schedules, being a morning type may be more beneficial for mental health.

A suggestive effect of depression on shorter sleep duration was also found, while no associations were found between genetically predicted sleep duration and depression. In line with our results, Sun et al. (2022) [33] observed a suggestive inverse association of depression with sleep duration using MR. Moreover, a three-year prospective study found that older adults with incident depression were more likely to shift from an adequate sleep duration to shorter sleep duration [78]. Additionally, both genetic [34] and non-genetic [58] studies have revealed associations between sleep duration and depression. A more thorough examination of this association is warranted since prior studies have identified U-shaped associations between sleep duration and depression [34,79], which could not be assessed in this work due to the potential for biased results from nonlinear MR methods [80].

Additional results showed that any and frequent insomnia symptoms were associated with higher odds of having mixed anxiety-depressive symptoms, while no associations were found with the other circadian and sleep phenotypes studied. These results support our main findings; insomnia is the trait more strongly associated with depression (even when it is measured mixed with anxiety symptoms). Notably, both any and frequent insomnia symptoms exert an influence on mixed broad anxiety-depressive symptoms, while only frequent symptoms confer an effect on depression. We speculate that this could be attributed to the outcome being more nuanced, allowing for the effect to

be observed even with mild insomnia symptoms. Moreover, we did not find evidence of an effect of circadian and sleep traits on anxiety disorders, implying a unique association with depression that is not replicated when the outcome includes only anxiety. There is considerable literature documenting circadian and sleep problems in individuals with anxiety disorders [81–83]. However, most of these studies were observational in nature, precluding causal inference. In the case of insomnia, a meta-analysis of longitudinal studies indicated that it increased the risk of anxiety disorders [62], which is consistent with a recent MR study [84]. We did not observe this association, which may be due to discrepancies in how anxiety was measured. The lack of association between morningness and anxiety follows previous literature, including MR studies [12,85], as well as the association between sleep duration and anxiety disorders [84]. Considering that anxiety still lacks robust instruments to perform MR analyses, future studies should assess its effect on circadian and sleep traits.

Despite substantial observational evidence linking depression with circadian and sleep traits [12–15,17,18], consistent causal associations have been difficult to establish. It is thus noteworthy that we found bidirectional causal associations between depression and insomnia symptoms. These associations are robust even though they rely on an estimation of insomnia symptoms based solely on one self-reported question, and they are specific as they were confirmed for insomnia symptoms but not for morningness or sleep duration. Therefore, it is important to note that a persistent challenge in the chronobiological field is the distinction between traits; for example, early morning awakening, a classic feature of insomnia [86] (as well as depression [87]), might be misinterpreted as a morning preference. Future research should explore whether distinct components of insomnia are causally related to depression and performing in-depth explorations into the mechanisms driving these associations.

Finally, the three core MR assumptions were corroborated to validate our findings. We instrumented the best genetic variants available (assumption I), implemented sensitivity analyses to check

horizontal pleiotropy (assumption II), and performed regressions between our genetic instruments and unobserved confounders (assumption III). Regarding this last assumption, we found that some of the variants instrumented were associated with common confounders. These associations warrant further examination, as they could be related to the traits being polygenic in nature and/or may constitute vertical rather than horizontal pleiotropy. Future research shall explore whether any of the SNPs are vertically pleiotropic by conducting MR mediation analyses [88].

Strengths and limitations

The study's strengths include using an MR approach, which reduces bias due to confounding and reverse causality, a large sample size that ensures sufficient power, carefully selecting genetic instruments [45], and assessing several circadian, sleep and depression phenotypes. However, limitations should also be acknowledged. First, given that UKB participants are healthier than the general population, the findings may not apply to individuals with significant comorbidities [89]. Second, the sample was restricted to white Europeans, as the genetic variants were discovered in this population; future work should examine these genetic associations in diverse racial and ethnic groups for generalisation and to promote health equity. Third, volunteers were 40-69 years old; thus, our results cannot be generalised to other age groups. Fourth, most of our exposures were binary, which has some limitations [90]. Fifth, the circadian and sleep phenotypes were assessed using self-reported questions, emphasising the need for replication using objective measures such as accelerometer-derived data when possible. Sixth, we found that several genetic variants were linked to confounders, and we cannot rule out the possibility of other confounding factors. Last, depression is a highly heterogeneous condition [91,92], underscoring the need to examine its subtypes (e.g., typical and atypical; mild, moderate and severe; episodic, recurrent and persistent).

Conclusions

In conclusion, this MR study offers novel evidence of causal associations between circadian rhythms, sleep, and depression through the analysis of multiple phenotypes. Notably, the findings demonstrate bidirectional causal associations between depression and insomnia, as well as suggestive evidence linking morningness with lower odds of depression and an effect of depression on sleep deprivation. These findings provide insights into the association between the circadian system and depression, enhancing our understanding of the etiopathogenic processes involved in this condition. Future studies should focus on depressive subtypes and other circadian and sleep traits, and replicate these findings using other datasets and methods.

Acknowledgements

This research has been conducted using the UK Biobank Resource under Application Number 68232. This work uses data provided by patients and collected by the NHS as part of their care and support. We thank all UKB researchers and volunteers. We thank Albert Henry for his suggestions on analyses. VP was supported by Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA, MEC-UdelaR, Uruguay), Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII, Uruguay) [grant number MOV_CA_2020_1_163153], Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC, UdelaR, Uruguay) and, Comisión Académica de Posgrados (CAP, UdelaR, Uruguay). MR is funded by the UK Medical Research Council (grants MC_UU_00019/1 and 3). BT and AS were supported by Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC, UdelaR, Uruguay) [grant number 883158]. VG was supported by the Professor David Matthews Non-Clinical Fellowship from the Diabetes Research and Wellness Foundation (United Kingdom) [grant number SCA/01/NCF/22].

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethics approval

UKB participants had given written informed consent and ethical approval for the study was granted by the North West Haydock Research Ethics Committee of the UK's Health Research Authority.

References

- [1] Aschoff J. A self-sustained oscillator with an inherent frequency underlies human 24-hour periodicity. 1965;148:7.
- [2] Buysse DJ. Sleep Health: Can We Define It? Does It Matter? Sleep 2014;37:9–17. <https://doi.org/10.5665/sleep.3298>.
- [3] Nelson KL, Davis JE, Corbett CF. Sleep quality: An evolutionary concept analysis. Nurs Forum (Auckl) 2022;57:144–51. <https://doi.org/10.1111/nuf.12659>.
- [4] Vetter C. Circadian disruption: What do we actually mean? Eur J Neurosci 2020;51:531–50. <https://doi.org/10.1111/ejn.14255>.
- [5] Medic G, Wille M, Hemels M. Short- and long-term health consequences of sleep disruption. Nat Sci Sleep 2017;Volume 9:151–61. <https://doi.org/10.2147/NSS.S134864>.
- [6] Saha S, Lim CCW, Cannon DL, Burton L, Bremner M, Cosgrove P, et al. Co-morbidity between mood and anxiety disorders: A systematic review and meta-analysis. Depress Anxiety 2021;38:286–306. <https://doi.org/10.1002/da.23113>.
- [7] World Health Organization. Depression 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression> (accessed January 31, 2023).
- [8] Zaki NFW, Spence DW, BaHammam AS, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP, Brown GM. Chronobiological theories of mood disorder. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 2018;268:107–18. <https://doi.org/10.1007/s00406-017-0835-5>.
- [9] Whiteford HA, Ferrari AJ, Degenhardt L, Feigin V, Vos T. The Global Burden of Mental, Neurological and Substance Use Disorders: An Analysis from the Global Burden of Disease Study 2010. PLOS ONE 2015;10:e0116820. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116820>.
- [10] American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (5th ed.). Washington DC: American Psychiatric Association; 2013.
- [11] Franzen PL, Buysse DJ. Sleep disturbances and depression: risk relationships for subsequent depression and therapeutic implications. Dialogues Clin Neurosci 2008;10:473–81. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2008.10.4/plfranzen>.
- [12] Kivelä L, Papadopoulos MR, Antypa N. Chronotype and Psychiatric Disorders. Curr Sleep Med Rep 2018;4:94–103. <https://doi.org/10.1007/s40675-018-0113-8>.
- [13] Hidalgo MP, Caumo W, Posser M, Coccato SB, Camozzato AL, Chaves MLF. Relationship between depressive mood and chronotype in healthy subjects: Depressive mood and chronotype. Psychiatry Clin Neurosci 2009;63:283–90. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1819.2009.01965.x>.
- [14] Kitamura S, Hida A, Watanabe M, Enomoto M, Aritake-Okada S, Moriguchi Y, et al. Evening preference is related to the incidence of depressive states independent of sleep-wake conditions. Chronobiol Int 2010;27:1797–812. <https://doi.org/10.3109/07420528.2010.516705>.
- [15] Zhai L, Zhang H, Zhang D. Sleep duration and depression among adults: a meta-analysis of prospective studies. Depress Anxiety 2015;32:664–70. <https://doi.org/10.1002/da.22386>.
- [16] Van Mill JG, Hoogendijk WJG, Vogelzangs N, Van Dyck R, Penninx BWJH. Insomnia and Sleep Duration in a Large Cohort of Patients With Major Depressive Disorder and

- Anxiety Disorders. *J Clin Psychiatry* 2010;71:239–46.
<https://doi.org/10.4088/JCP.09m05218gry>.
- [17] Perlis ML, Posner D, Riemann D, Bastien CH, Teel J, Thase M. Insomnia. *The Lancet* 2022;400:1047–60. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00879-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00879-0).
 - [18] Fang H, Tu S, Sheng J, Shao A. Depression in sleep disturbance: A review on a bidirectional relationship, mechanisms and treatment. *J Cell Mol Med* 2019;23:2324–32. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14170>.
 - [19] Köhler CA, Evangelou E, Stubbs B, Solmi M, Veronese N, Belbasis L, et al. Mapping risk factors for depression across the lifespan: An umbrella review of evidence from meta-analyses and Mendelian randomization studies. *J Psychiatr Res* 2018;103:189–207. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.05.020>.
 - [20] Smith GD, Ebrahim S. ‘Mendelian randomization’: can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? *Int J Epidemiol* 2003;32:1–22. <https://doi.org/10.1093/ije/dyg070>.
 - [21] O’Loughlin J, Casanova F, Jones SE, Hagenaars SP, Beaumont RN, Freathy RM, et al. Using Mendelian Randomisation methods to understand whether diurnal preference is causally related to mental health. *Mol Psychiatry* 2021;26:6305–16. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01157-3>.
 - [22] Daghlas I, Lane JM, Saxena R, Vetter C. Genetically Proxied Diurnal Preference, Sleep Timing, and Risk of Major Depressive Disorder. *JAMA Psychiatry* 2021;78:903. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2021.0959>.
 - [23] Qiu-Qiang Z, Wei-Wei Y, Shan-Shu H, Yi-Ran L. Mendelian randomization of individual sleep traits associated with major depressive disorder. *J Affect Disord* 2024;365:105–11. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2024.08.068>.
 - [24] Austin-Zimmerman I, Levey DF, Giannakopoulou O, Deak JD, Galimberti M, Adhikari K, et al. Genome-wide association studies and cross-population meta-analyses investigating short and long sleep duration. *Nat Commun* 2023;14:6059. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41249-y>.
 - [25] Lane JM, Jones SE, Dashti HS, Wood AR, Aragam KG, van Hees VT, et al. Biological and clinical insights from genetics of insomnia symptoms. *Nat Genet* 2019;51:387–93. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0361-7>.
 - [26] Nassan M, Daghlas I, Winkelman JW, Dashti HS, International Suicide Genetics Consortium, Saxena R. Genetic evidence for a potential causal relationship between insomnia symptoms and suicidal behavior: a Mendelian randomization study. *Neuropsychopharmacology* 2022. <https://doi.org/10.1038/s41386-022-01319-z>.
 - [27] He M, Zhou J, Li X, Wang R. Investigating the causal effects of smoking, sleep, and BMI on major depressive disorder and bipolar disorder: a univariable and multivariable two-sample Mendelian randomization study. *Front Psychiatry* 2023;14:1206657. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2023.1206657>.
 - [28] Gibson MJ, Lawlor DA, Millard LAC. Identifying the potential causal role of insomnia symptoms on 11,409 health-related outcomes: a phenome-wide Mendelian randomisation analysis in UK Biobank. *BMC Med* 2023;21:128. <https://doi.org/10.1186/s12916-023-02832-8>.
 - [29] Baranova A, Cao H, Zhang F. Shared genetic liability and causal effects between major depressive disorder and insomnia. *Hum Mol Genet* 2022;31:1336–45. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddab328>.
 - [30] Cai L, Bao Y, Fu X, Cao H, Baranova A, Zhang X, et al. Causal links between major depressive disorder and insomnia: A Mendelian randomisation study. *Gene* 2021;768:145271. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145271>.
 - [31] Zhou F, Guo Y, Wang Z, Liu S, Xu H. Assessing the causal associations of insomnia with depressive symptoms and subjective well-being: a bidirectional Mendelian randomization study. *Sleep Med* 2021;87:85–91. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2021.08.025>.

- [32] Jansen PR, Watanabe K, Stringer S, Skene N, Bryois J, Hammerschlag AR, et al. Genome-wide analysis of insomnia in 1,331,010 individuals identifies new risk loci and functional pathways. *Nat Genet* 2019;51:394–403. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0333-3>.
- [33] Sun X, Liu B, Liu S, Wu DJH, Wang J, Qian Y, et al. Sleep disturbance and psychiatric disorders: a bidirectional Mendelian randomisation study. *Epidemiol Psychiatr Sci* 2022;31:e26. <https://doi.org/10.1017/S2045796021000810>.
- [34] Dashti HS, Jones SE, Wood AR, Lane JM, van Hees VT, Wang H, et al. Genome-wide association study identifies genetic loci for self-reported habitual sleep duration supported by accelerometer-derived estimates. *Nat Commun* 2019;10:1100. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08917-4>.
- [35] Hu Y, Shmygelska A, Tran D, Eriksson N, Tung JY, Hinds DA. GWAS of 89,283 individuals identifies genetic variants associated with self-reporting of being a morning person. *Nat Commun* 2016;7:10448. <https://doi.org/10.1038/ncomms10448>.
- [36] Gao X, Meng L-X, Ma K-L, Liang J, Wang H, Gao Q, et al. The bidirectional causal relationships of insomnia with five major psychiatric disorders: A Mendelian randomization study. *Eur Psychiatry* 2019;60:79–85. <https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2019.05.004>.
- [37] Sudlow C, Gallacher J, Allen N, Beral V, Burton P, Danesh J, et al. UK Biobank: An Open Access Resource for Identifying the Causes of a Wide Range of Complex Diseases of Middle and Old Age. *PLOS Med* 2015;12:e1001779. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001779>.
- [38] Skrivankova VW, Richmond RC, Woolf BAR, Yarmolinsky J, Davies NM, Swanson SA, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology Using Mendelian Randomization: The STROBE-MR Statement. *JAMA* 2021;326:1614. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.18236>.
- [39] Bycroft C, Freeman C, Petkova D, Band G, Elliott LT, Sharp K, et al. The UK Biobank resource with deep phenotyping and genomic data. *Nature* 2018;562:203–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0579-z>.
- [40] Constantinescu A-E, Mitchell RE, Zheng J, Bull CJ, Timpson NJ, Amulic B, et al. A framework for research into continental ancestry groups of the UK Biobank. *Hum Genomics* 2022;16:3. <https://doi.org/10.1186/s40246-022-00380-5>.
- [41] Lu C, Ahmed R, Lamri A, Anand SS. Use of race, ethnicity, and ancestry data in health research. *PLOS Glob Public Health* 2022;2:e0001060. <https://doi.org/10.1371/journal.pgph.0001060>.
- [42] Jones SE, Lane JM, Wood AR, van Hees VT, Tyrrell J, Beaumont RN, et al. Genome-wide association analyses of chronotype in 697,828 individuals provides insights into circadian rhythms. *Nat Commun* 2019;10:343. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-08259-7>.
- [43] Howard DM, Adams MJ, Clarke T-K, Hafferty JD, Gibson J, Shirali M, et al. Genome-wide meta-analysis of depression identifies 102 independent variants and highlights the importance of the prefrontal brain regions. *Nat Neurosci* 2019;22:343–52. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0326-7>.
- [44] Wray NR, Ripke S, Mattheisen M, Trzaskowski M, Byrne EM, Abdellaoui A, et al. Genome-wide association analyses identify 44 risk variants and refine the genetic architecture of major depression. *Nat Genet* 2018;50:668–81. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0090-3>.
- [45] Paz V, Dashti HS, Burgess S, Garfield V. Selection of genetic instruments in Mendelian randomisation studies of sleep traits. *Sleep Med* 2023;112:342–51. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2023.10.036>.
- [46] Hyde CL, Nagle MW, Tian C, Chen X, Paciga SA, Wendland JR, et al. Identification of 15 genetic loci associated with risk of major depression in individuals of European descent. *Nat Genet* 2016;48:1031–6. <https://doi.org/10.1038/ng.3623>.

- [47] Howard DM, Adams MJ, Shiri M, Clarke T-K, Marioni RE, Davies G, et al. Genome-wide association study of depression phenotypes in UK Biobank identifies variants in excitatory synaptic pathways. *Nat Commun* 2018;9:1470. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03819-3>.
- [48] Burgess S, Thompson SG, CRP CHD Genetics Collaboration. Avoiding bias from weak instruments in Mendelian randomization studies. *Int J Epidemiol* 2011;40:755–64. <https://doi.org/10.1093/ije/dyr036>.
- [49] Burgess S, Thompson SG. Mendelian Randomization: Methods for Causal Inference Using Genetic Variants. CRC Press; 2021.
- [50] Taylor AE, Davies NM, Ware JJ, VanderWeele T, Smith GD, Munafò MR. Mendelian randomization in health research: Using appropriate genetic variants and avoiding biased estimates. *Econ Hum Biol* 2014;13:99–106. <https://doi.org/10.1016/j.ehb.2013.12.002>.
- [51] Burgess S, Davies NM, Thompson SG. Bias due to participant overlap in two-sample Mendelian randomization. *Genet Epidemiol* 2016;40:597–608. <https://doi.org/10.1002/gepi.21998>.
- [52] Van Der Walt K, Campbell M, Stein DJ, Dalvie S. Systematic review of genome-wide association studies of anxiety disorders and neuroticism. *World J Biol Psychiatry* 2023;24:280–91. <https://doi.org/10.1080/15622975.2022.2099970>.
- [53] Burgess S, Bowden J. Integrating summarized data from multiple genetic variants in Mendelian randomization: bias and coverage properties of inverse-variance weighted methods. *ArXiv151204486 Stat* 2015.
- [54] Bowden J, Davey Smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression. *Int J Epidemiol* 2015;44:512–25. <https://doi.org/10.1093/ije/dyv080>.
- [55] Bowden J, Smith GD, Haycock PC, Burgess S. Consistent Estimation in Mendelian Randomization with Some Invalid Instruments Using a Weighted Median Estimator. *Genet Epidemiol* 2016;40:304–14. <https://doi.org/10.1002/gepi.21965>.
- [56] Yavorska OO, Burgess S. MendelianRandomization: an R package for performing Mendelian randomization analyses using summarized data. *Int J Epidemiol* 2017;46:1734–9. <https://doi.org/10.1093/ije/dyx034>.
- [57] Merikanto I, Kronholm E, Peltonen M, Laatikainen T, Vartiainen E, Partonen T. Circadian preference links to depression in general adult population. *J Affect Disord* 2015;188:143–8. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.08.061>.
- [58] Sun Y, Shi L, Bao Y, Sun Y, Shi J, Lu L. The bidirectional relationship between sleep duration and depression in community-dwelling middle-aged and elderly individuals: evidence from a longitudinal study. *Sleep Med* 2018;52:221–9. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2018.03.011>.
- [59] Taylor DJ, Lichstein KL, Durrence HH, Reidel BW, Bush AJ. Epidemiology of Insomnia, Depression, and Anxiety. *Sleep* 2005;28:1457–64. <https://doi.org/10.1093/sleep/28.11.1457>.
- [60] Burgess S, Thompson SG. Interpreting findings from Mendelian randomization using the MR-Egger method. *Eur J Epidemiol* 2017;32:377–89. <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0255-x>.
- [61] Roberts RE, Duong HT. Depression and insomnia among adolescents: A prospective perspective. *J Affect Disord* 2013;148:66–71. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2012.11.049>.
- [62] Hertenstein E, Feige B, Gmeiner T, Kienzler C, Spiegelhalder K, Johann A, et al. Insomnia as a predictor of mental disorders: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev* 2019;43:96–105. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2018.10.006>.
- [63] Li L, Wu C, Gan Y, Qu X, Lu Z. Insomnia and the risk of depression: a meta-analysis of prospective cohort studies. *BMC Psychiatry* 2016;16:375. <https://doi.org/10.1186/s12888-016-1075-3>.
- [64] Lyall LM, Sangha N, Zhu X, Lyall DM, Ward J, Strawbridge RJ, et al. Subjective and objective sleep and circadian parameters as predictors of depression-related outcomes: A

- machine learning approach in UK Biobank. *J Affect Disord* 2023;335:83–94. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2023.04.138>.
- [65] Riemann D, Spiegelhalder K, Nissen C, Hirscher V, Baglioni C, Feige B. REM Sleep Instability – A New Pathway for Insomnia? *Pharmacopsychiatry* 2012;s-0031-1299721. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1299721>.
- [66] Franzen PL, Siegle GJ, Buysse DJ. Relationships between affect, vigilance, and sleepiness following sleep deprivation. *J Sleep Res* 2008;17:34–41. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2008.00635.x>.
- [67] Franzen PL, Buysse DJ, Dahl RE, Thompson W, Siegle GJ. Sleep deprivation alters pupillary reactivity to emotional stimuli in healthy young adults. *Biol Psychol* 2009;80:300–5. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2008.10.010>.
- [68] Palagini L, Bastien CH, Marazziti D, Ellis JG, Riemann D. The key role of insomnia and sleep loss in the dysregulation of multiple systems involved in mood disorders: A proposed model. *J Sleep Res* 2019;28:e12841. <https://doi.org/10.1111/jsr.12841>.
- [69] Yates WR, Mitchell J, Rush AJ, Trivedi MH, Wisniewski SR, Warden D, et al. Clinical features of depressed outpatients with and without co-occurring general medical conditions in STAR*D. *Gen Hosp Psychiatry* 2004;26:421–9. <https://doi.org/10.1016/j.genhosppsych.2004.06.008>.
- [70] Bagherzadeh-Azbari S, Khazaie H, Zarei M, Spiegelhalder K, Walter M, Leerssen J, et al. Neuroimaging insights into the link between depression and Insomnia: A systematic review. *J Affect Disord* 2019;258:133–43. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2019.07.089>.
- [71] Lane JM, Qian J, Mignot E, Redline S, Scheer FAJL, Saxena R. Genetics of circadian rhythms and sleep in human health and disease. *Nat Rev Genet* 2023;24:4–20. <https://doi.org/10.1038/s41576-022-00519-z>.
- [72] Facer-Childs ER, Middleton B, Skene DJ, Bagshaw AP. Resetting the late timing of ‘night owls’ has a positive impact on mental health and performance. *Sleep Med* 2019;60:236–47. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2019.05.001>.
- [73] Bauducco S, Richardson C, Gradisar M. Chronotype, circadian rhythms and mood. *Curr Opin Psychol* 2020;34:77–83. <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2019.09.002>.
- [74] Song YM, Jeong J, De Los Reyes AA, Lim D, Cho C-H, Yeom JW, et al. Causal dynamics of sleep, circadian rhythm, and mood symptoms in patients with major depression and bipolar disorder: insights from longitudinal wearable device data. *eBioMedicine* 2024;103:105094. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2024.105094>.
- [75] LeGates TA, Fernandez DC, Hattar S. Light as a central modulator of circadian rhythms, sleep and affect. *Nat Rev Neurosci* 2014;15:443–54. <https://doi.org/10.1038/nrn3743>.
- [76] Baron KG, Reid KJ. Circadian misalignment and health. *Int Rev Psychiatry* 2014;26:139–54. <https://doi.org/10.3109/09540261.2014.911149>.
- [77] Burns A, Sinnott-Armstrong N, Daghlas I, Windred D, Phillips A, Cain S, et al. Sleep inertia, not chronotype, is a marker of circadian misalignment and a risk factor for psychiatric disorders: genetic and epidemiological evidence. *Sleep Med* 2024;115:S64. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2023.11.210>.
- [78] Chen H-C, Chou P. Predictors of Change in Self-Reported Sleep Duration in Community-Dwelling Older Adults: The Shih-Pai Sleep Study, Taiwan. *Sci Rep* 2017;7:4729. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04932-x>.
- [79] Dong L, Xie Y, Zou X. Association between sleep duration and depression in US adults: A cross-sectional study. *J Affect Disord* 2022;296:183–8. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2021.09.075>.
- [80] Wade KH, Hamilton FW, Carslake D, Sattar N, Davey Smith G, Timpson NJ. Challenges in undertaking nonlinear Mendelian randomization. *Obesity* 2023;31:2887–90. <https://doi.org/10.1002/oby.23927>.
- [81] Mellman TA. Sleep and Anxiety Disorders. *Psychiatr Clin North Am* 2006;29:1047–58. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2006.08.005>.
- [82] Uhde TW, Cortese BM, Vedeniapin A. Anxiety and sleep problems: Emerging concepts

- and theoretical treatment implications. *Curr Psychiatry Rep* 2009;11:269–76.
<https://doi.org/10.1007/s11920-009-0039-4>.
- [83] Cox RC, Olatunji BO. A systematic review of sleep disturbance in anxiety and related disorders. *J Anxiety Disord* 2016;37:104–29.
<https://doi.org/10.1016/j.janxdis.2015.12.001>.
- [84] Zhou F, Li S, Xu H. Insomnia, sleep duration, and risk of anxiety: A two-sample Mendelian randomization study. *J Psychiatr Res* 2022;155:219–25.
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2022.08.012>.
- [85] O’Loughlin J, Casanova F, Jones SE, Hagenaars SP, Beaumont RN, Freathy RM, et al. Using Mendelian Randomisation methods to understand whether diurnal preference is causally related to mental health. *Mol Psychiatry* 2021;26:6305–16.
<https://doi.org/10.1038/s41380-021-01157-3>.
- [86] Riemann D, Nissen C, Palagini L, Otte A, Perlis ML, Spiegelhalder K. The neurobiology, investigation, and treatment of chronic insomnia. *Lancet Neurol* 2015;14:547–58. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00021-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00021-6).
- [87] Richard IH, Lyness JM. An Overview of Depression. In: Jests DV, Friedman JH, editors. *Psychiatry Neurol.*, Totowa, NJ: Humana Press; 2006, p. 33–41.
https://doi.org/10.1007/978-1-59259-960-8_4.
- [88] Carter AR, Sanderson E, Hammerton G, Richmond RC, Davey Smith G, Heron J, et al. Mendelian randomisation for mediation analysis: current methods and challenges for implementation. *Eur J Epidemiol* 2021;36:465–78.
<https://doi.org/10.1007/s10654-021-00757-1>.
- [89] Fry A, Littlejohns TJ, Sudlow C, Doherty N, Adamska L, Sprosen T, et al. Comparison of Sociodemographic and Health-Related Characteristics of UK Biobank Participants With Those of the General Population. *Am J Epidemiol* 2017;186:1026–34.
<https://doi.org/10.1093/aje/kwx246>.
- [90] Burgess S, Labrecque JA. Mendelian randomization with a binary exposure variable: interpretation and presentation of causal estimates. *Eur J Epidemiol* 2018;33:947–52.
<https://doi.org/10.1007/s10654-018-0424-6>.
- [91] Cai N, Choi KW, Fried EI. Reviewing the genetics of heterogeneity in depression: operationalizations, manifestations and etiologies. *Hum Mol Genet* 2020;29:R10–8.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa115>.
- [92] Fried E. Moving forward: how depression heterogeneity hinders progress in treatment and research. *Expert Rev Neurother* 2017;17:423–5.
<https://doi.org/10.1080/14737175.2017.1307737>