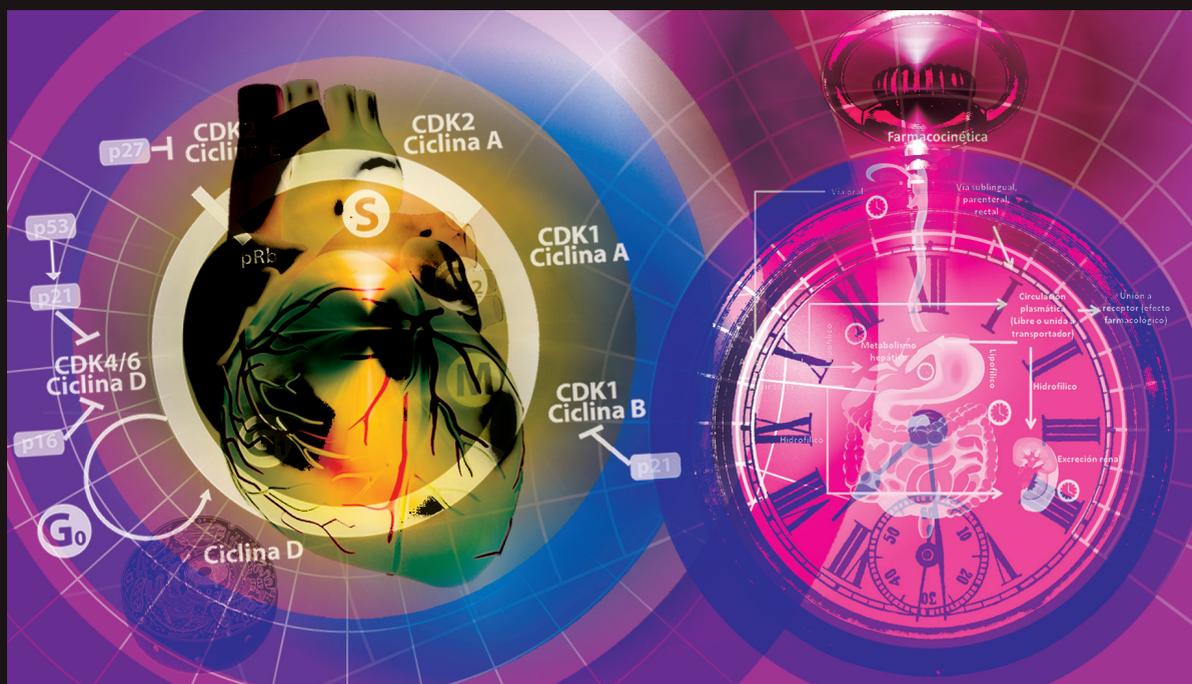


RITMOS CIRCADIANOS DE LA CÉLULA AL SER HUMANO



MARIO CABA
PABLO VALDEZ
(coordinadores)



Quehacer
científico y
tecnológico

Universidad Veracruzana

Esta obra se encuentra disponible en Acceso Abierto para copiarse, distribuirse y transmitirse con propósitos no comerciales. Todas las formas de reproducción, adaptación y/o traducción por medios mecánicos o electrónicos deberán indicar como fuente de origen a la obra y su(s) autor(es).

Se debe obtener autorización de la Universidad Veracruzana para cualquier uso comercial.

La persona o institución que distorsione, mutile o modifique el contenido de la obra será responsable por las acciones legales que genere e indemnizará a la Universidad Veracruzana por cualquier obligación que surja conforme a la legislación aplicable.

RITMOS
CIRCADIANOS
DE LA ◀ CÉLULA ◀ AL SER
HUMANO

Quehacer científico y tecnológico

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

Sara Ladrón de Guevara

Rectora

Leticia Rodríguez Audirac

Secretaria Académica

Clementina Guerrero García

Secretaria de Administración y Finanzas

Octavio Ochoa Contreras

Secretario de la Rectoría

Édgar García Valencia

Director Editorial

RITMOS
CIRCADIANOS
DE LA ◀ CÉLULA ◀ AL SER
HUMANO

MARIO CABA Y PABLO VALDEZ
(coordinadores)

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

XALAPA, VER., MÉXICO

2015

Maquetación de forros y *collage* digital de portada: Jorge Cerón Ruiz

Clasificación LC: QP84.6 R57 2015

Clasif. Dewey: 612.022

Título: Ritmos circadianos : de la célula al ser humano / Mario
Caba y Pablo Valdez (coordinadores).

Edición: Primera edición.

Pie de imprenta: Xalapa, Ver., México : Universidad Veracruzana, 2015.

Descripción física: 246 páginas : ilustraciones ; 26 cm.

Serie: Quehacer científico y tecnológico

ISBN: 9786075024202

Materias: Ritmos circadianos.

Cronobiología.

Cronofarmacología.

Autores relacionados: Caba, Mario.

Valdez, Pablo.

DGBUV 2015/47

Primera edición, 20 de noviembre de 2015

D. R. © Universidad Veracruzana

Dirección Editorial

Hidalgo núm. 9, Centro, CP 91000

Xalapa, Veracruz, México

Apartado postal 97

diredit@uv.mx

Tel./fax (01228) 8 18 59 80; 8 18 13 88

ISBN: 978-607-502-420-2

Este libro ha sido publicado con el apoyo de la Dirección General de Desarrollo Académico e Innovación Educativa de la UV, como parte del programa de Fortalecimiento de Cuerpos Académicos

Impreso en México

Printed in Mexico

CONTENIDO

Prólogo, 9

Ruud M. Buijs

Prefacio, 11

Mario Caba y Pablo Valdez

.1.

INTRODUCCIÓN

A LA CRONOBIOLOGÍA, 13

*Pablo Valdez Ramírez, Candelaria Ramírez Tule
y Aída García García*

.2.

EL SISTEMA CIRCADIANO DE LOS MAMÍFEROS, 33

Raúl Aguilar Roblero y José Luis Chávez

.3.

RITMOS CIRCADIANOS
EN EL RECIÉN NACIDO, 53

*Manuel Ángeles Castellanos, Samuel Vázquez Ruiz,
Adelina Rojas Granados, Laura Ubaldo y Carolina Escobar*

.4.

REGULACIÓN GENÉTICA, EPIGENÉTICA
Y METABÓLICA DE LOS RITMOS
CIRCADIANOS, 71

*Adrián Báez Ruiz, Vania Carmona Alcocer, Isabel Méndez
y Mauricio Díaz Muñoz*

.5.

EL CONEJO NEONATO, UN MODELO
NATURAL DE SINCRONIZACIÓN
POR ALIMENTO, 101

Mario Caba, Enrique Meza y María Luisa Moreno

.6.

ASPECTOS CRONOBIOLOGICOS
DE LA OBESIDAD Y EL SÍNDROME
METABÓLICO, 123

Roberto Salgado Delgado, Carolina Escobar y Nadia Sadari

.7.

EFFECTOS DE LA VIDA MODERNA
SOBRE LA SOMNOLENCIA.
UN ESTUDIO EN ESTUDIANTES
UNIVERSITARIOS, 147

*María del Carmen Cortés, José Ramón Eguibar
y María del Carmen Lara*

.8.

LOS CAMBIOS EN LA ATENCIÓN A LO LARGO
DEL DÍA EN EL SER HUMANO, 165

*Aída García García, Candelaria Ramírez Tule
y Pablo Valdez Ramírez*

.9.

RITMOS CIRCADIANOS Y TURNOS DE TRABAJO,
179

*Candelaria Ramírez Tule, Aída García García
y Pablo Valdez Ramírez*

.10.

RITMOS CIRCADIANOS Y LA RESPUESTA
DE NUESTRO ORGANISMO
A LOS MEDICAMENTOS, 193

*Enrique Meza, Stefan Waliszewski,
Rossana Citlali Zepeda y Mario Caba*

.11.

RITMOS CIRCADIANOS Y CÁNCER, 207

*Rossana Citlali Zepeda, Enrique Meza, Stefan Waliszewski
y Mario Caba*

.12.

RITMOS CIRCADIANOS Y ENVEJECIMIENTO:
IMPLICACIONES
PARA LA SALUD
Y LA LONGEVIDAD, 223

Lance J. Kriegsfeld y Mario Caba

PRÓLOGO

Los ritmos biológicos han sido estudiados desde hace muchos años y se ha podido demostrar su gran influencia en la vida de todas las especies de este planeta. Los de tipo estacional, por ejemplo, influyen en gran variedad de organismos, especialmente en el hemisferio norte, donde la supervivencia ante las duras condiciones climáticas que trae el invierno obliga a muchos animales a hibernar. Los ritmos estacionales, a su vez, impulsan el ciclo reproductivo, de tal manera que las crías nacen hacia el final de esta estación, lo que les ofrece las condiciones óptimas para buscar alimento durante la primavera y el verano. Del mismo modo, los ritmos de las mareas también son afectados por los ciclos de la luna alrededor de la tierra, lo que estimula la reproducción de muchos animales que viven en el mar o cerca de él.

Por otra parte, los ritmos circadianos, que son el tópico de este libro, están determinados por la diaria rotación de la tierra y los ciclos luz/oscuridad de aproximadamente 24 horas. Estos eternos ciclos han sido la causa de que todas las especies del planeta tierra hayan desarrollado genes reloj que les permiten sincronizar su vida a ritmos de 24 horas aun sin la luz del sol.

En el caso de los mamíferos los genes reloj se encuentran en todas las células, pero es en el sistema nervioso central, especialmente en el núcleo supraquiasmático –una pequeña estructura en la base del hipotálamo–, donde su expresión ha sido más estudiada. En el hipotálamo se regulan muchas funciones fundamentales de nuestro cuerpo, desde la ingesta de alimento, el control de la presión sanguínea, la regulación de la temperatura y la reproducción.

En los últimos treinta años los estudios en animales de experimentación han demostrado que el núcleo supraquiasmático o reloj biológico tiene una alta capacidad de influir en todas las funciones del ritmo diario. Este ritmo se ajusta a los cambios constantes del ciclo luz/ oscuridad a lo largo del día; al mismo tiempo que es autónomo gracias al ritmo de los genes reloj en las neuronas, que forman asas de retroalimentación entrelazadas dando como resultado un ciclo de 24 horas de actividad eléctrica neuronal, la cual se transmite a las estructuras blanco en el hipotálamo. Esta actividad rítmica en el hipotálamo del individuo le permite, por su fisiología, anticipar la conducta asociada a los ciclos de luz y oscuridad.

Anteriormente se pensaba que los ritmos de 24 horas no afectaban a la especie humana, dado que nosotros podemos prescindir casi libremente de las señales del reloj biológico. Sin embargo, ahora ha quedado claro que el comportamiento y la fisiología humana están fuertemente asociados a la influencia del reloj biológico. En la actualidad se está investigando ampliamente el hecho de que podemos ignorar las señales de nuestro reloj biológico y su impacto en el desarrollo de las enfermedades.

El presente libro tiene como objetivo presentar algunas problemáticas asociadas a las alteraciones en nuestro reloj biológico. Se muestran los resultados de investigaciones realizadas con animales que permiten aclarar los mecanismos básicos de las interacciones entre dicho reloj y los diferentes tejidos de nuestro cuerpo. Se expone un punto de vista muy certero sobre cómo los ciclos de la luz y la noche pueden influir no sólo en los patrones de sueño y aprendizaje, sino también en la fisiología de los bebés que nacen prematuramente y que crecen en las salas de los hospitales bajo una iluminación continua.

Con la información de este libro el lector podrá entender que la habilidad que los seres humanos tenemos de ignorar nuestro reloj biológico y sucumbir a los malos hábitos de mantenernos de pie y comer durante la noche, cuando el organismo indica que es tiempo de dormir, trae consecuencias irreversibles. Si ignoramos frecuentemente estas advertencias, las posibilidades de desarrollar más pronto diversas enfermedades como diabetes, hipertensión, cáncer o depresión, son mayores.

Todos aquellos que deseen conocer más acerca de los mecanismos básicos que hay detrás de estos procesos biológicos encontrarán en este libro una excelente puerta abierta.

Ruud M. Buijs

PREFACIO

Los ritmos biológicos son un tema de interés creciente, ya que además de su importancia científica cada día se desarrollan nuevas aplicaciones de este campo a la salud del ser humano. El estudio de los ritmos biológicos, específicamente de los ritmos circadianos, recibió un gran impulso dentro de las neurociencias desde que se estableció que el núcleo supraquiasmático, ubicado en la base del hipotálamo, constituye el asiento del reloj biológico. Se encontró, además, que una gran cantidad de funciones fisiológicas y de comportamiento de los mamíferos, como la conducta locomotora, la ingesta de agua y la secreción de la hormona corticosterona, está controlada por este núcleo. Sin embargo, los ritmos circadianos se presentan en la mayor parte de los seres vivos, desde organismos unicelulares hasta el ser humano, muchos de los cuales no tienen núcleo supraquiasmático. Por lo demás, algunas conductas de los mamíferos no parecen estar controladas por este núcleo, de aquí que nos preguntemos: ¿Cómo se controlan los ritmos circadianos en los organismos que no tienen núcleo supraquiasmático? ¿Cómo se regulan los comportamientos de los mamíferos cuyo funcionamiento no parece depender del núcleo supraquiasmático?

Las respuestas a estas interrogantes tienen su fundamento en la existencia de los llamados “genes reloj”, descubrimiento que ha ampliado enormemente el conocimiento de los ritmos circadianos. Estos genes se encuentran prácticamente en todas las células de los organismos vivientes, esto es, desde los unicelulares más sencillos hasta los multicelulares más complejos, incluyendo los grandes árboles conocidos como secoyas, así como en el ser humano, pasando por toda la escala filogenética.

El presente libro refleja esta complejidad y nos ofrece un panorama amplio y actual de algunos de los enfoques de estudio acerca de los ritmos circadianos, principalmente de investigadores mexicanos, quienes forman parte de grupos de investigación con amplia trayectoria científica y reconocimiento internacional en ritmos biológicos. En los doce capítulos que lo integran se describen desde los conceptos básicos de los ritmos circadianos hasta su funcionamiento en neonatos y el papel que juegan en el envejecimiento. Se exploran temas de enorme importancia para nuestra especie, tales como el metabolismo, la obesidad y el síndrome metabólico, resaltando la importancia del alimento como potente sincronizador de los ritmos circadianos. Se analizan los patrones de actividad y sobre-exposición a la luz que en la vida moderna están perturbando nuestra salud, provocando una somnolencia que afecta nuestra capacidad de atención. Un ejemplo muy evidente en donde ocurren estos trastornos son los cambios de turnos de trabajo.

Otro de los aspectos aquí abordados es la cronofarmacología, tópico que se conoce desde hace mucho tiempo y que esperamos logre establecerse en la práctica médica. Asimismo, se revisa un tema que sigue siendo de gran importancia en la actualidad, el cáncer, destacando la aplicación del conocimiento de los ritmos circadianos en la práctica clínica de esta enfermedad. Por último, se trata el tema del envejecimiento, mostrando evidencias de cómo el entendimiento de los ritmos circadianos puede ser de gran utilidad para apoyarnos en esta etapa de la vida.

Es necesario enfatizar que la mayoría de los capítulos que conforman este libro tratan los temas circadianos con un enfoque hacia nuestra especie, lo cual resulta relevante, pues hace todavía algunos años se pensaba que los ritmos circadianos eran sólo un fenómeno biológico interesante pero de poca importancia, ya que su alteración no parecía afectar la supervivencia ni la existencia del ser humano. Actualmente, como se podrá observar en estas páginas, el panorama es exactamente opuesto. Se ha encontrado que la alteración de los ritmos circadianos en el ser humano no resulta ser fatal de manera inmediata, pero sí afecta la salud a corto, mediano y largo plazo. Por lo tanto, el avance en el conocimiento de los ritmos circadianos promete ser de gran ayuda para preservar y mejorar la salud humana. Esperamos que este libro contribuya de manera decisiva a alcanzar esta meta.

*Mario Caba
Pablo Valdez*

.1.

INTRODUCCIÓN A LA CRONOBIOLOGÍA

Pablo Valdez Ramírez,¹ Candelaria Ramírez Tule² y Aída García García³

INTRODUCCIÓN

La cronobiología (de *kronos* = tiempo, *bios* = vida, *logos* = tratado) es el estudio de la adaptación de los seres vivos a las variaciones cíclicas del ambiente que ocurren como consecuencia de los movimientos de nuestro planeta. Así, la rotación de la tierra produce variaciones en la iluminación y en la temperatura ambiental cada 24 horas (día/noche). Durante el día aumenta la iluminación y la temperatura ambiental, mientras que en la noche éstas disminuyen. Por otro lado, la traslación de la tierra alrededor del sol produce alteraciones en el ambiente que se manifiestan como las estaciones del año (primavera, verano, otoño e invierno). En el verano los días son más largos y aumenta la temperatura, mientras que en el invierno los días son más cortos y la temperatura disminuye. Los seres vivos surgieron y se desarrollaron en nuestro planeta bajo la influencia de estos ciclos ambientales (ver figura 1.1).

¹ Doctor en Psicología, UANL. Profesor de tiempo completo en la Facultad de Psicología de la UANL. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 2.

² Doctora en Biología, UANL. Profesora de tiempo completo y coordinadora del Departamento de Psicofisiología en la Facultad de Psicología, UANL. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

³ Doctora en Psicología, UANL. Profesora de tiempo completo en la Facultad de Psicología de la UANL. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

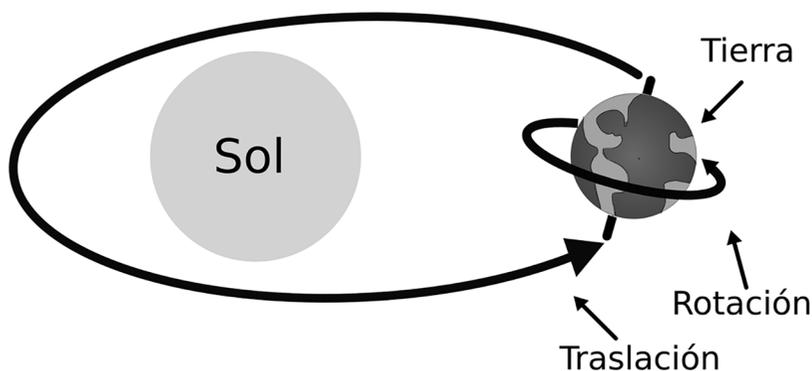


FIGURA 1.1. Rotación y traslación de la tierra.

Desde épocas remotas nuestros antepasados observaron que las plantas y los animales cambiaban durante el día. Algunas plantas florecen todos los días en la mañana, mientras que otras lo hacen por la tarde; algunos animales están activos durante el día (diurnos) y otros durante la noche (nocturnos). Esto es, desde hace mucho tiempo se observaron ciclos en la actividad de las plantas y los animales que mantienen una relación directa con los ciclos ambientales.

Por ejemplo, en la Biblia se menciona que: “Todas las cosas tienen su tiempo, hay un tiempo para todo, un tiempo para plantar y un tiempo para cosechar” (Eclesiastés 3:1-2, *La Santa Biblia*). Hasta el siglo XVIII se creía que los organismos cambiaban su actividad como una respuesta refleja a los cambios del ambiente. Sin embargo, Jean-Jacques d’Ortous de Mairan (1729/1982) llevó a cabo un experimento que cambió esta explicación. Este científico francés colocó una planta Mimosa púdica en un sitio donde no podía recibir la luz del sol. De acuerdo con la explicación refleja la planta abría sus hojas en respuesta a la luz solar y las plegaba ante la ausencia de ésta –la Mimosa abre sus hojas durante el día y las pliega durante la noche–, pero de Mairan observó que incluso cuando la planta se encontraba en un lugar oscuro seguía abriendo sus hojas durante el día y cerrándolas en la noche (ver figura 1.2), lo que significaba que la planta continuaba presentando ciclos en su actividad a pesar de que ya no estaba expuesta a los ciclos ambientales de iluminación. Esta observación fue crucial, ya que sugería que los organismos tienen un mecanismo interno, un reloj que produce ciclos en la fisiología y la actividad, y fue una prueba preliminar de que los seres vivos tienen un reloj biológico, pues la planta presentaba un ciclo de actividad a pesar de que se encontraba aislada de las variaciones ambientales.

No obstante, serían necesarios otros experimentos más para demostrar la existencia de los relojes biológicos, los cuales se llevaron a cabo en las décadas siguientes. Así, se comprobó que cuando se coloca una planta en oscuridad constante durante un período prolongado se siguen observando ciclos de actividad pero con un período diferente de 24 horas.

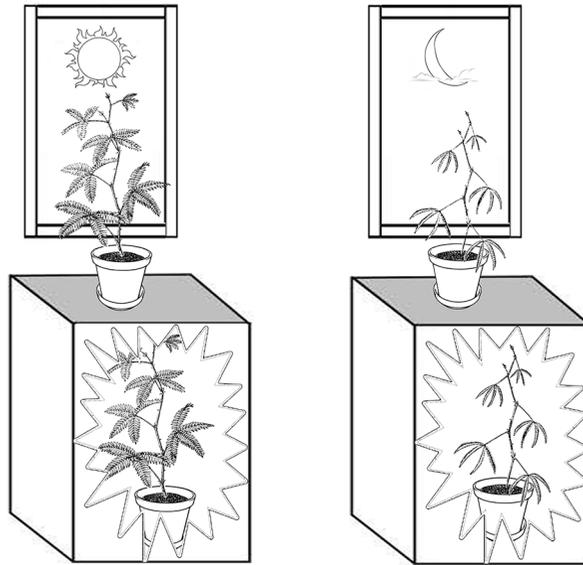


FIGURA 1.2. Experimento del científico d'Ortous de Mairan, quien colocó una planta sensitiva en un armario, lo que le permitió observar que aun en la oscuridad ésta continuaba abriendo sus hojas durante el día y cerrándolas durante noche.

Desde esas fechas hasta el presente se han llevado a cabo observaciones similares y se ha encontrado que la mayor parte de los organismos, desde las células eucariotes hasta el ser humano, presentan ritmos en su fisiología cuando se les coloca en condiciones ambientales constantes, como la luz y la temperatura (Palmer, 1976). En dichas condiciones los organismos adoptan un período de "libre curso", diferente de 24 horas, lo cual indica que estos se han adaptado a los ciclos temporales geofísicos por medio de la generación de ritmos biológicos, lo que significa que: 1) los organismos tienen un reloj interno o endógeno (del griego *endo*, dentro, y *gen*, generación, que se origina o nace en el interior), 2) el reloj biológico tiene un período diferente de 24 horas, y 3) la exposición a los ciclos de iluminación solar y de temperatura ambiental mantienen sincronizado el reloj biológico con el ciclo geofísico de 24 horas.

Los ritmos biológicos se clasifican de acuerdo con su frecuencia en: circadianos, infradianos y ultradianos. Los ritmos circadianos (del latín *circa*, alrededor de, y *dies*, día) tienen una frecuencia aproximada de un ciclo por día, esto significa un período de 20 a 28 horas; los ritmos infradianos (del latín *infra*, debajo de, y *dies*, día) contemplan una frecuencia menor de un ciclo por día, lo que significa un período mayor a 28 horas; mientras que los ritmos ultradianos (del prefijo latino *ultra*, más allá, y *dies*, día) guardan una frecuencia mayor de un ciclo por día, por lo tanto su período es menor a 20 horas (ver tabla 1.1). Los ritmos biológicos, lo mismo que cualquier fenómeno que se repite continuamente, pueden estudiarse como una onda sinusoidal, de forma similar al análisis de los sistemas físicos (ver figura 1.3).

Los ritmos circadianos son los más estudiados y serán los que se aborden en este capítulo. En las siguientes secciones se describen sus principales características.

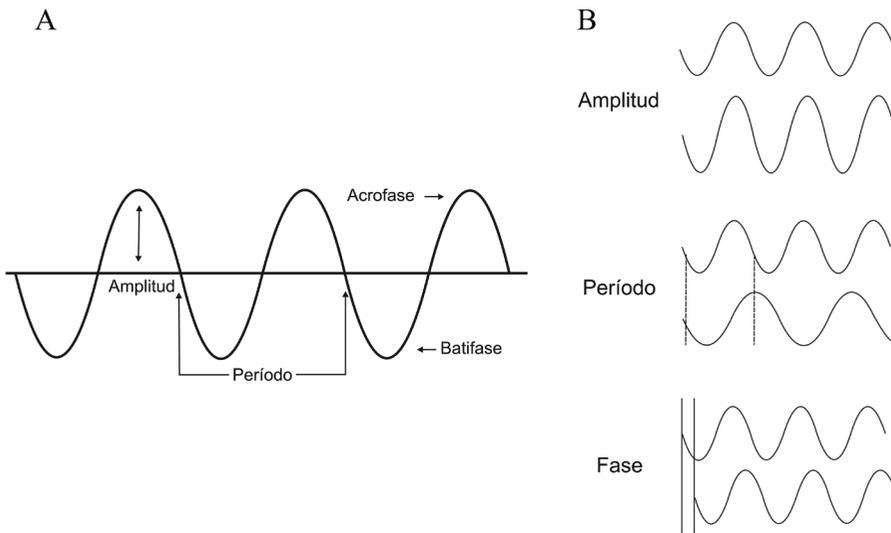


FIGURA 1.3. (A) Características de un ritmo biológico tomado como una onda sinusoidal. Una onda sinusoidal tiene las siguientes características: la *amplitud* se refiere a la intensidad de la variable que registramos, es decir, la distancia que existe entre el valor medio y el valor más alto de la onda; el *período* es la duración de la onda, es el tiempo que transcurre entre el inicio de un ciclo y el inicio del siguiente; la *frecuencia* es la cantidad de ciclos por unidad de tiempo; la *fase* se refiere al momento del ciclo con respecto al tiempo externo, y ésta puede ser la *acrofase*, momento en que la onda llega a su nivel máximo, o la *batifase*, momento en el que la onda está en su nivel mínimo. (B) Ejemplos de ritmos biológicos con diferentes amplitudes (arriba), períodos (en medio) y fases (abajo). Es posible que los ritmos biológicos presenten diferencias en estas características, de tal forma que puede haber ritmos biológicos con menor o mayor amplitud, con un período más largo o corto, o con una fase adelantada o retrasada.

TABLA 1.1 Clasificación de los ritmos biológicos

<i>Tipos</i>	<i>Subtipos</i>	<i>Funciones</i>
Circadiano ($20 \leq \tau \leq 28$ h)		Temperatura
		Procesos metabólicos
		Secreciones hormonales
		Actividad-descanso
		Sueño-vigilia
		Respuesta del sistema inmunológico
Infradiano ($\tau > 28$ h)	Circaseptadiano ($\tau \sim 7$ d)	Secreción de 17 hidrocorticosteroides
	Circamensual (circalunar) ($\tau \sim 30$ d)	Algunos componentes urinarios
	Circanual ($\tau \sim 1$ año)	Menstruación
		Ciclos reproductivos
Ultradiano ($\tau < 20$ h)	Ritmos mareales ($\tau \sim 12$ h)	Hibernación
		Gusano convoluta, Cangrejos
		Caracoles
		Almejas, Ostras
	Otros ($\tau < 12$ h)	Etapas del sueño ($\tau \sim 90$ min)
		Respiración ($\tau \sim 4$ s)
	Actividad cardiaca ($\tau \sim 1$ s)	
	Peristaltismo ($\tau \sim 4$ a 10 s)	
	Electroencefalograma ($\tau \sim 0.1$ s)	

Nota: τ = período, \sim = aproximadamente, s = segundos, min = minutos, h = horas, d = días, a = años (modificada de Reinberg, 1971).

LOS RITMOS CIRCADIANOS SON ENDÓGENOS

Los ritmos circadianos son endógenos y la mayoría de las especies se han adaptado a la ciclicidad del ambiente, produciéndose cambios genéticos pertinentes que hacen factible que cada uno de los individuos de las distintas especies nazca con la capacidad de generar y mantener ritmos en su funcionamiento. Esto implica y explica que los ritmos circadianos sean innatos. Se exponen así las principales evidencias de que estos son endógenos:

1. Persisten en condiciones constantes.
2. Se han encontrado estructuras anatómicas y procesos fisiológicos capaces de generar y mantener las oscilaciones.
3. Se han encontrado elementos genéticos y moleculares que se encargan de transmitir los ritmos a los miembros de la especie.

Enseguida se describen cada una de las evidencias mencionadas.

LOS RITMOS CIRCADIANOS PERSISTEN EN CONDICIONES CONSTANTES

La demostración de que los ritmos circadianos persisten al mantener constantes las condiciones ambientales se ha llevado a cabo con muchas especies y en muchas actividades. Se ha comprobado así que los organismos presentan un ciclo de actividad estable cercano a 24 horas. Y aunque generalmente el período depende de la especie y del individuo particular que se encuentra bajo observación, el rango de variación que predomina para todas las especies estudiadas abarca de 20 a 28 horas.

De este modo, el registro de un individuo específico tiende a adoptar un período estable con un rango de variación de minutos. A estas oscilaciones en condiciones ambientales constantes se les conoce como oscilaciones o ritmo “de libre curso”, cambios que fueron estudiados y caracterizados por Aschoff, de ahí que se les denomine como “regla de Aschoff” (Pittendrigh, 1960). Así, por ejemplo, cuando a un animal diurno se le somete a una iluminación constante, el período de su ritmo circadiano se acorta con el aumento de la intensidad de la luz. Lo contrario sucede con un animal nocturno, cuyo período se alarga cuando se aumenta la intensidad de la luz. Sin embargo, este efecto no se produce en todas las especies.

La persistencia de los ritmos circadianos en condiciones ambientales constantes no implica que esos ritmos sean independientes de las variaciones ambientales, ya que algunos cambios en el ambiente modulan el período de estos ritmos (Pittendrigh, 1974). A estos cambios en el ambiente que modulan el período o la fase de los ritmos circadianos se les ha llamado agentes sincronizantes (en alemán: *Zeitgebers*). Los principales agentes sincronizantes de estos ritmos son: el ciclo de iluminación (Edmonds & Adler, 1977; Moore-Ede et al., 1982), el ciclo de temperatura ambiental (Palmer, 1976), el ciclo de alimentación (Edmonds & Adler, 1977; Moore-Ede et al., 1982) y el ciclo de estimulación social (Aschoff, 1976; Kavanau, 1969).

Los cambios en el período o la fase de los ritmos circadianos por la influencia de un ciclo de iluminación no se llevan a cabo de inmediato, estos tardan varios días en acoplarse a las nuevas condiciones ambientales. Es decir, los ritmos biológicos no responden de forma inmediata a la presencia o ausencia de la luz, sino que la actividad va cambiando de forma gradual hasta que alcanza un nuevo período o fase de acuerdo con el nuevo ciclo de iluminación.

Los *Zeitgebers* pueden sincronizar los ritmos circadianos a períodos que van de 20 a 28 horas; a este intervalo se le conoce como rango de entrenamiento. Sin embargo, tal modulación tiene restricciones: si el ciclo de iluminación (fotoperíodo) dura menos de 20 horas o es mayor a 28 horas, el organismo actúa como si el ciclo externo no existiera, adoptando un período independiente y semejante al que se establece en condiciones ambientales constantes (adopta un ritmo de "libre curso"). Por otro lado, dentro del rango de 20 a 28 horas, la duración del período de iluminación versus la duración del período de oscuridad puede adoptar casi cualquier relación sin que se modifique el efecto sobre el ritmo. De esta forma, al exponer a un organismo con un ritmo de libre curso de 23.5 horas a un ciclo de iluminación de 26 horas, el ritmo circadiano adopta un nuevo período acorde con el fotoperíodo, ya sea de 13 horas de luz y 13 de oscuridad (LO 13:13), de 16 horas de luz por 10 de oscuridad (LO 16:10) o bien de 1 hora de luz por 25 de oscuridad (LO 1:25). Los ritmos circadianos pueden incluso sincronizarse a ciclos en los que se usan pulsos de luz muy cortos (por ejemplo, de 15 minutos) conocidos como "fotoperíodo esqueleto".

SUSTRATOS ANATÓMICOS Y FISIOLÓGICOS DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

Para identificar el sustrato anatómico y fisiológico de los ritmos circadianos se requieren evidencias de que una estructura anatómica actúa como un reloj, oscilador o marcapaso de los mismos. Para demostrarlo se han planteado tres pruebas cruciales: la eliminación del ritmo, el trasplante del ritmo y la oscilación *in vitro*.

Eliminación del ritmo

La primera prueba consiste en demostrar que la lesión de la estructura elimina los ritmos circadianos (Moore & Eichler, 1972). En las aves y en los reptiles la extirpación de la glándula pineal elimina los ritmos circadianos (Binkley, 1982).

Los ciclos de iluminación son los principales agentes sincronizantes (*Zeitgebers*) de los ritmos circadianos, por lo que desde hace mucho tiempo se trató de localizar un sustrato anatómico directamente ligado al sistema visual (Reinberg & Smolensky, 1983). En los moluscos, como *Aplysia* y *Bulla*, se ha encontrado que la respuesta de las neuronas fotosensitivas varía con un período circadiano en condiciones ambientales constantes (Aréchiga, 1974), y que la eliminación de un grupo de neuronas ubicadas en la base de la retina elimina los ritmos circadianos en la actividad motora de estos organismos. En el caso de los mamíferos, la lesión del núcleo supraquiasmático del hipotálamo elimina los ritmos circadianos (Stephan & Zucker, 1972).

Trasplante del ritmo

La segunda prueba consiste en que la estructura mantenga el período y la fase de su ritmo circadiano cuando se trasplanta a otro organismo. Esto implica que el organismo que recibe la estructura adopta el período y la fase del ritmo que tenía el organismo que donó la estructura (Drucker et al., 1984; Ralph, 1996).

Por ejemplo, en dos especies de gusanos de seda (*Hyalophora cecropia* y *Pernyi pupae*) se ha demostrado que al trasplantar el cerebro de un animal a otro se modifica el ritmo circadiano en la liberación de las hormonas que promueven la eclosión. En estas condiciones prevalece el ritmo circadiano del cerebro que se trasplanta (Truman, 1974).

Oscilaciones *in vitro*

La tercera prueba radica en demostrar que las células de la estructura mantienen oscilaciones circadianas cuando se extraen del organismo y se colocan en condiciones *in vitro*, esto es, en una solución con la composición química y la temperatura apropiadas que permiten que las células sobrevivan fuera del organismo (Green & Gillette, 1982). Actualmente se ha descubierto que cada célula, tejido, órgano o sistema puede sustentar variaciones circadianas (las que de hecho se han registrado en todos los niveles de organización de los organismos), por tanto, el sustrato fisiológico podría encontrarse a nivel celular, ya sea en la membrana o en algún otro componente subcelular (Pebusque et al., 1981). Por ejemplo, la actividad eléctrica de las neuronas de la retina de *Aplysia* y *Bulla* sigue oscilando con un período circadiano cuando se extraen de los animales y se colocan en condiciones *in vitro* (Block & Wallace, 1982; Eskin, 1974).

SUSTRATOS GENÉTICOS Y MOLECULARES DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

Los cambios bioquímicos de todas las células u organismos dependen de la temperatura: entre más alta sea ésta mayor es la velocidad de las reacciones químicas. El grado de la temperatura modula todas las reacciones químicas del organismo. Estos cambios se miden por medio de Coeficiente de temperatura (Q10), que indica el nivel de cambio en cualquier proceso biológico con un aumento de 10 grados en la temperatura.

La mayor parte de las reacciones bioquímicas cambian al doble o al triple por cada 10° de aumento en la temperatura (Q10 = 2-3). Sin embargo, cuando se aumenta 10° la temperatura ambiental en animales que no regulan su temperatura (poiquiloterms), se observa un Q10 = 0.85-1.3 en el período de sus ritmos circadianos, lo que implica que existen procesos activos que compensan los cambios; en animales que regulan su temperatura (homeoterms) se ha encontrado un Q10 = 1.2-1.4. Esto indica que los cambios en la temperatura ambiental no afectan el período de los ritmos circadianos debido a que el reloj biológico tiene un mecanismo de compensación de temperatura (Anderson et al., 1985). Es decir, el reloj sigue midiendo el tiempo de forma precisa independientemente de los cambios en la temperatura corporal (Bruce & Pittendrigh, 1956; Hastings & Sweeney, 1957).

Así mismo, se tiene información de que un grupo reducido de sustancias puede alterar el funcionamiento del reloj modificando principalmente su período, tales como el alcohol (Palmer, 1976), el litio (Kripke & Wyborne, 1980), el óxido de deuterio –agua pesada a D20– (Richter, 1977) y los inhibidores de la síntesis de proteínas (Edmunds, 1976; Jacklet, 1980). La acción de estas sustancias puede deberse más a un efecto fisiológico que a la velocidad general de las reacciones químicas, y todas ellas producen cambios en la permeabilidad de la membrana celular, los cuales pueden afectar el período del ritmo circadiano (Edmunds, 1976). Además, existen evidencias de la participación de algunas hormonas en la sincronización de los ritmos circadianos, como en el caso de los gastrópodos, donde varias hormonas modulan la actividad de las neuronas (Aréchiga et al., 1985).

De igual manera, la mayoría de las células son capaces de generar ritmos circadianos, pues se han observado ritmos circadianos *in vitro* en muchos tejidos, tales como el hígado, áreas del cerebro, incluso músculos de diferentes partes de cuerpo (Roenneberg & Mellow, 2001; Vansteensel et al., 2008). La presencia de ritmos circadianos en las células de casi todo el organismo plantea que el mecanismo generador de los

ciclos circadianos se encuentra en el interior de la célula, particularmente en los procesos genéticos. De este modo, todas las funciones de las células dependen del material genético; las moléculas de ácido desoxirribonucleico (DNA, por sus siglas en inglés) contienen la información de la especie y controlan todos los procesos químicos de la célula; los genes son segmentos del DNA que fabrican las enzimas y se encargan del funcionamiento celular, controlan el metabolismo de la célula, sintetizan las hormonas así como los neurotransmisores.

Veamos cómo ocurren estas reacciones bioquímicas. La célula está compuesta por dos estructuras básicas, el núcleo y el citoplasma. Los genes se encuentran en el núcleo y desde ahí controlan el funcionamiento de la célula, es decir, los procesos metabólicos que tienen lugar en el citoplasma. Los genes forman en el núcleo plantillas de ácido ribonucleico (RNA, por sus siglas en inglés), fenómeno llamado transcripción. El RNA que se produce en este proceso pasa al citoplasma, elaborando proteínas con una secuencia específica de aminoácidos, fenómeno llamado traducción. Las proteínas operan como enzimas que se encargan de sintetizar sustancias cruciales para el funcionamiento de las células, como el metabolismo celular, los canales de la membrana, las hormonas o los neurotransmisores (Guyton y Hall, 1997). A su vez, la actividad de los genes se regula por medio de un circuito de retroalimentación negativa, esto es, que el aumento en la producción de enzimas (proteínas) produce una disminución en la actividad del gen correspondiente; por otro lado, la disminución en la disponibilidad de una enzima produce un aumento en la actividad del gen (Harmer et al., 2001).

Con respecto a los ritmos circadianos, los genes son indispensables para producir variaciones circadianas en el organismo. Existen genes que se encargan de generar los ritmos circadianos mientras que otros controlan el período o la fase de los ritmos. En el hongo *Neurospora crassa*, el gen *wc-1* genera ritmos circadianos en la reproducción celular (Heintzen & Liu, 2007). La mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) pierde los ritmos circadianos en la eclosión y su actividad motora cuando se elimina el gen *Tim*; sin embargo, cuando se elimina el gen *Per* sigue presentando ciclos de actividad pero con períodos más largos (Hall, 2003). También se ha encontrado un gen llamado *Kai*, el cual produce la actividad circadiana de fotosensibilidad en la cianobacteria –organismo unicelular que lleva a cabo fotosíntesis– (Johnson, 2004).

Por su parte, en los mamíferos se han encontrado genes que generan los ritmos circadianos, como es el caso del gen *Clock*, *Bmal1* y *Cry*, ya que cuando se elimina uno de estos genes los animales dejan de presentar

ritmos circadianos en la actividad motora. Por otro lado, el gen *Tau* controla la duración del período, y cuando este gen se elimina se producen ritmos con períodos más cortos (22 horas) (Albrecht & Eichele, 2003). Además, estos genes participan en una interacción para modular su propia producción a través de circuitos de retroalimentación en los cuales las proteínas producidas por los genes *Clock* y *Bmal1* se acoplan a E-box y activan la producción de proteínas del gen *Rev-Erba* y de los genes *Cry* y *Per*; la proteína REB-ERBa retroalimenta positivamente la producción de más proteínas CLOCK y BMAL1, mientras que las proteínas CRY y PER, junto con la proteína CK1 ϵ / δ , retroalimentan negativamente, es decir, inhiben la producción de proteínas CLOCK Y BMAL1 (Reppert & Weaver, 2002; ver figura 1.4).

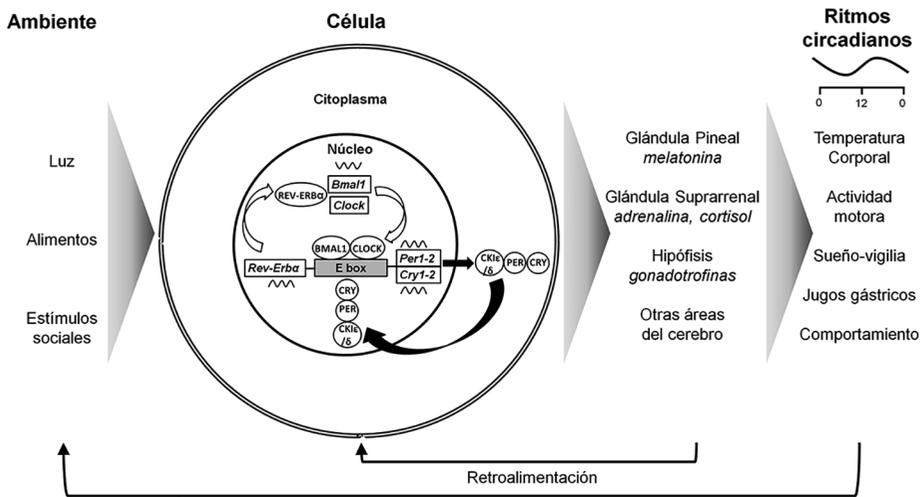


FIGURA 1.4. Factores genéticos de los ritmos circadianos de los mamíferos. Los genes que se encuentran en el núcleo de la célula producen plantillas de RNA (transcripción). Estas plantillas toman aminoácidos en el citoplasma para formar proteínas (traducción). Por medio de un circuito de retroalimentación positiva (flechas blancas) y otro de retroalimentación negativa (flechas negras) las proteínas regulan los procesos de transcripción y traducción, al mismo tiempo que modulan el metabolismo celular y la producción de neurotransmisores y hormonas, lo que a su vez produce ritmos circadianos en la temperatura corporal, la actividad motora, el ciclo de vigilia-sueño y el comportamiento. Los agentes sincronizantes (luz, alimentación, estímulos sociales) modifican los procesos de transcripción y traducción celulares.

Las proteínas traducidas por los genes mencionados controlan la expresión de los ritmos circadianos por medio de la modulación del metabolismo celular, la producción de neurotransmisores y la secreción de todas las hormonas. Los cambios en la producción de estas sustancias

producen, a su vez, oscilaciones en la actividad metabólica del organismo, así como en la temperatura corporal, la secreción hormonal, la actividad motora y el comportamiento de los seres vivos (Cermakian & Sassone-Corsi, 2002; ver figura 1.4).

El mecanismo de sincronización de los ritmos circadianos a los ciclos en el ambiente parece estar vinculado también a las proteínas que fabrican los genes que controlan los ritmos. Los cambios en el ambiente pueden modular la actividad de las proteínas o el circuito de retroalimentación de estas sustancias químicas, lo cual modifica la actividad de los genes.

SISTEMA CIRCADIANO DE LOS MAMÍFEROS

La organización funcional de los ritmos circadianos en los mamíferos incluye la vía que tiene su origen en la retina y desemboca en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (Moore & Lenn, 1972). A continuación se revisan las evidencias del funcionamiento del sistema circadiano en los mamíferos.

Núcleo supraquiasmático

La lesión de los diferentes componentes del sistema visual en los mamíferos no elimina los ritmos circadianos, así como tampoco la lesión de la vía visual primaria (retina, nervio óptico, quiasma óptico, tracto óptico, núcleo geniculado lateral del tálamo, corteza occipital) ni la lesión de la vía visual secundaria (retina, nervio óptico, colículo superior) eliminan los ritmos circadianos. El único efecto que se observó con algunas de estas lesiones es que los animales adoptaban un ritmo de libre curso, esto es lo que ocurre cuando los organismos quedan ciegos o se encuentran en oscuridad continua (Zucker et al., 1976).

En 1972 se descubrió otro componente de la vía visual en los mamíferos: la vía retinohipotalámica, compuesta por fibras (axones) que surgen de la retina y desembocan en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (Moore & Lenn, 1972). La destrucción de esta vía –a diferencia de la lesión del resto de las vías del sistema visual– termina con los ritmos circadianos en los mamíferos. Los ritmos circadianos se eliminan también cuando se lesiona el núcleo supraquiasmático (NSQ) (Moore, 1983; Stephan & Zucker, 1972; Stetson & Watson-Whitmyre, 1976; Takahashi & Zatz, 1982).

La actividad eléctrica de las neuronas del núcleo supraquiasmático sigue presentando oscilaciones con un período circadiano cuando se

extraen del organismo del individuo y se colocan en condiciones *in vitro* (van Esseveldt, Lehman & Boer, 2000). Además, cuando se trasplanta el NSQ de un animal a otro, el ritmo circadiano que predomina es el del tejido que se trasplantó (Drucker et al., 1984). Estos datos sugieren que el NSQ es un oscilador o sincronizador central de los ritmos circadianos en los mamíferos.

La lesión del NSQ elimina los ritmos en la actividad motora y en la ingestión de agua, pero no afecta el ritmo en la temperatura corporal (Krieger & Hauser, 1977). Por esta razón se ha sugerido que éste es parte de un sistema que incluye dos o más osciladores que se coordinan en la generación y mantenimiento de los ritmos circadianos (Moore-Ede et al., 1979).

Glándula pineal

Como hemos dicho, existen evidencias de la participación de algunas hormonas en la sincronización de los ritmos circadianos en distintas especies. Por ejemplo, hay varias hormonas que modulan la actividad de las neuronas y la actividad general en gastrópodos, una de ellas es la hormona neurodepresora, producida por el órgano X del tallo ocular; ésta tiene efectos inhibitorios sobre la actividad neuronal y se secreta en mayor cantidad durante el día, fase de menor actividad de los gastrópodos (esto se ha observado específicamente en el cangrejo) (Aréchiga et al., 1985).

Se ha propuesto a la glándula pineal como un posible oscilador maestro. En las aves y los reptiles esta glándula posee receptores a la luz, su ubicación en la cabeza bajo un cráneo delgado permite dicha entrada de luz. En estas especies la extirpación de la glándula pineal elimina los ritmos circadianos, sin embargo, la glándula pineal de los mamíferos no está expuesta de manera directa a la iluminación ambiental ni parece jugar el papel principal en el mantenimiento de los ritmos circadianos (Binkley, 1982).

Tanto en aves como en reptiles y mamíferos, la glándula pineal secreta la hormona melatonina, una indolamina que se deriva de un neurotransmisor: la serotonina. Ambas sustancias (melatonina y serotonina) se forman a partir del aminoácido triptófano que se encuentra en los alimentos con proteínas, como leche, carne y huevos. La concentración en la sangre de la melatonina y la N-acetiltransferasa, la enzima que sintetiza la melatonina, varía a lo largo del día, aumentando la concentración de ambas sustancias durante el período de oscuridad, indepen-

dientemente de que el organismo que se registre sea diurno o nocturno (Klein, 1974; Stephens & Binkley, 1978). La melatonina ejerce fundamentalmente una influencia inhibitoria sobre la secreción de las hormonas del eje hipotálamo-hipofisiario (Reiter, 1973), las cuales controlan la secreción de la mayor parte de las hormonas del cuerpo, por lo que las variaciones en la producción de melatonina modulan en gran medida la fisiología del organismo. Aunque la lesión de la glándula pineal no elimina todos los ritmos circadianos de los mamíferos, la influencia de la melatonina sobre el resto del cuerpo plantea la posibilidad de que la glándula pineal sea un intermediario entre el sustrato anatómico de los ritmos circadianos y la expresión de estos ritmos en los mamíferos.

Se han encontrado variaciones circadianas en muchos tejidos y órganos, así como en otras áreas cerebrales, hígado, riñones, corazón, músculos, etc. Algunos de estos órganos tienen oscilaciones circadianas y otros presentan oscilaciones ultradianas con períodos de 6-8 horas. Por tanto, el sustrato anatómico y fisiológico podría encontrarse a nivel celular, ya sea en la membrana o en algún otro componente subcelular (Pebusque et al., 1981). De ser así, el NSQ, la glándula pineal y otras estructuras funcionarían como coordinadores o marcapasos de las actividades circadianas de las distintas células y tejidos del organismo (Menaker et al., 1997). Otra posibilidad es que no exista un reloj maestro, coordinador o marcapaso central de los ritmos circadianos, sino que estos ritmos sean resultado de la actividad de un conjunto de osciladores periféricos independientes (Roenneberg & Merrow, 2001).

CIRCUITO ANATÓMICO DE LOS RITMOS CIRCADIANOS EN LOS MAMÍFEROS

Actualmente se plantea que el sistema circadiano en los mamíferos incluye un oscilador o marcapasos central, con conexiones de entrada (aférentes) que sincronizan al oscilador con el ambiente, así como con conexiones de salida (eferentes) que permiten que el oscilador module las respuestas del organismo (ver figura 1.5). Enseguida se describen estos tres componentes del sistema circadiano de los mamíferos.

Oscilador central

El principal oscilador o marcapasos central del sistema circadiano en los mamíferos son los núcleos supraquiasmáticos, los cuales se localizan en las paredes del tercer ventrículo cerebral de esta especie.

Vías de entrada (aférentes)

Las conexiones de entrada o aférentes que sincronizan al oscilador o marcapasos central con el ambiente tienen sus receptores en la retina, los que responden al nivel general de iluminación y se activan por medio de cambios químicos en un fotorreceptor específico: la melanopsina (Gooley et al., 2001). La retina se conecta con los núcleos supraquiasmáticos por medio del tracto retinohipotalámico y transmite información al oscilador acerca de la presencia o ausencia de luz, así como del nivel de iluminación que se presenta a cada momento. El tracto retinohipotalámico también se conecta con la lámina intergeniculada y de ahí con los núcleos supraquiasmáticos. Otras vías de entrada provienen de los núcleos del rafe que se encuentran en el tallo cerebral. Estas conexiones nerviosas pueden ser la base de la sincronización por medio del alimento o la actividad motora.

Vías de salida (eferentes)

En cuanto a las vías de salida se han encontrado tractos que conectan el NSQ con el área preóptica del hipotálamo; esta vía eferente se encarga de modular los ritmos circadianos en la temperatura corporal, la ingestión de agua y la conducta sexual (Moore-Ede et al., 1982). Otra de estas vías es la conexión del NSQ a la glándula pineal. El NSQ se conecta con el núcleo paraventricular hipotalámico (PVT), del cual salen fibras nerviosas que siguen por el cordón interomediolateral de la médula espinal hasta el ganglio cervical superior, de donde surgen nuevas fibras que se conectan con la glándula pineal. Recordemos que la glándula pineal secreta melatonina, la cual se libera en la oscuridad y modula la actividad de la mayor parte de las glándulas del organismo, por tanto, la secreción de adrenalina, cortisol, las hormonas hipofisarias y las hormonas sexuales, entre otras.

El NSQ tiene conexiones con la formación reticular, específicamente con el sistema reticular activador ascendente que se encarga de regular el nivel de alerta. También se conecta con los núcleos del rafe y *locus coeruleus*, los cuales participan en el inicio y mantenimiento del sueño y las etapas de éste (Mistlberger, 2005; Moore, 2007). El ciclo de vigilia-sueño en el ser humano se considera una de las expresiones fundamentales del ritmo circadiano. Este ciclo adopta un patrón ultradiano de 90-180 minutos en el recién nacido, un patrón circadiano a los 3 o 4 meses de edad que permanece en el adulto, y nuevamente un patrón ultradiano que vuelve a aparecer en el anciano (Borbély & Achermann, 1999; Corsi,

1983). Además, se ha encontrado que las variaciones circadianas en el metabolismo modulan la actividad de todo el cerebro y la mayor parte de los procesos cognoscitivos del ser humano.

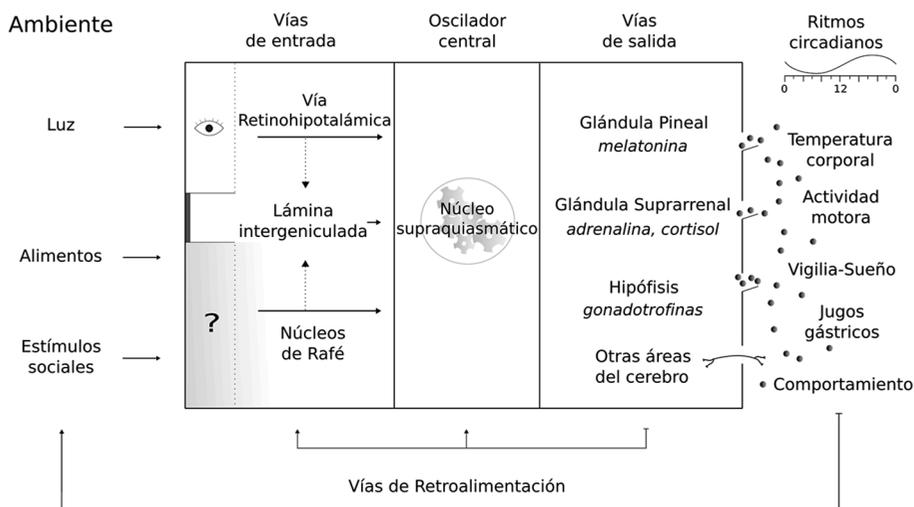


FIGURA 1.5. El sistema circadiano de los mamíferos. Este sistema está formado por un oscilador central (núcleo supraquiasmático), así como por las vías de entrada y de salida que lo comunican con el ambiente. Los ciclos ambientales (luz, alimentos y estímulos sociales) transmiten información al oscilador a través de tres vías: retinohipotalámica, núcleos del rafé y lámina intergeniculada. El oscilador controla la expresión de los ritmos circadianos por medio de la activación de varias áreas cerebrales y diversas glándulas (pineal, suprarrenal, hipófisis). Las vías nerviosas y las hormonas de estas glándulas producen las oscilaciones en la temperatura corporal, el ciclo en la actividad motora, el ciclo de vigilia-sueño, así como los ciclos en el comportamiento (tomada de Valdez, 2015).

CONCLUSIONES

La cronobiología ha aportado una gran cantidad de conocimientos acerca de las propiedades de los ritmos biológicos, en especial de los ritmos circadianos. Estos conocimientos tienen varias aplicaciones en la medicina, la salud, el trabajo y la educación. La susceptibilidad a las infecciones y enfermedades varía durante las 24 horas, lo cual puede estar vinculado con los ritmos circadianos en la fisiología, con los ritmos en el sistema inmunológico y con los ritmos en la fisiología de los microorganismos patógenos. Estos hechos también modifican la respuesta al tratamiento, de tal forma que a diferentes horas del día un fármaco puede tener diferente absorción, efecto, metabolismo y eliminación. La disciplina científica que estudia los efectos de los fármacos a distintas horas del día se conoce como cronofarmacología.

Del mismo modo, se han documentado trastornos en los ritmos circadianos de personas que tienen dificultad para acoplarse al horario geofísico del sitio en el que viven. Algunas de ellas tienen una fase adelantada, otras una fase retrasada, y hay quienes no logran responder a los agentes sincronizantes (*Zeitgebers*) como la luz, por lo que mantienen un horario irregular de actividades. Estas alteraciones pueden ocurrir debido a cambios en el horario externo, como los viajes aéreos transmeridionales (en inglés: *jet lag*, viajes de este a oeste, o viceversa, en los que se modifica el horario) o cuando la persona trabaja en turnos nocturnos o rotatorios. No solamente se han estudiado estos trastornos, sino que se han propuesto posibles soluciones o tratamientos para las personas afectadas.

REFERENCIAS

- ALBRECHT, U., & Eichele, G. (2003). The mammalian circadian clock. *Current Opinion in Genetics & Development*, 13, 271-277.
- ANDERSON, R.W., Laval-Martin, D. L., & Edmunds, L. N. Jr. (1985). Cell cycle oscillators. Temperature compensation of the circadian rhythm of cell division in *Euglena*. *Experimental Cell Research*, 157(1), 144-158.
- ARÉCHIGA, H. (1974). Circadian rhythm of sensory input in the crayfish. En F. O. Schmitt & F. G. Worden (Eds.). *The neurosciences: Third Study Program* (pp. 517-523). Cambridge: MIT Press.
- ARÉCHIGA, H., Cortes, J. L., García, U., & Rodríguez-Sosa, L. (1985). Neuroendocrine correlates of circadian rhythmicity in *crustaceans*. *American Zoologist*, 25, 265-274.
- ASCHOFF, J. (1976). Circadian systems in man and their implications. *Hospital Practice*, 11, 51-97.
- BINKLEY, S. (1982). Yearly Review. Circadian organization in mammals and birds. *Photochemistry and Photobiology*, 35, 887-890.
- BLOCK, G. D., & Wallace, S. F. (1982). Localization of a circadian pacemaker in the eye of a mollusc, *bullia*. *Science*, 217, 155-157.
- BORBÉLY, A. A., & Achermann, P. (1999). Sleep homeostasis and models of sleep regulation. *Journal of Biological Rhythms*, 14, 557-568.
- BRUCE, V. G., & Pittendrigh, C. S. (1956). Temperature independence in a unicellular "Clock". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 42, 676-682.
- CERMAKIAN, N., & Sassone-Corsi, P. (2002). Environmental stimulus perception and control of circadian clocks. *Current Opinion in Neurobiology*, 12, 359-365.
- CORSI, M. (1983). *Psicofisiología del sueño*. México: Trillas.

- DE MAIRAN, J. (1729/1982). Observation botanique. Histoire de L'Academie Royal des Sciences. En M. C. Moore-Ede, F. F. Sulzman, & C. A. Fuller (Eds.). *The Clock That Time Us* (pp. 35-36). Cambridge: Harvard University Press.
- DRUCKER, C. R., Aguilar, R. R., Garcia, H. F., Fernandez, C. F., & Bermudez, R. F. (1984). Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: Diurnal rhythm recovery of lesioned rats. *Brain Research*, 311, 353-357.
- EDMONDS, S. C., & Adler, N. T. (1977). Food and light as entrainers of circadian running activity in the rat. *Physiology & Behavior*, 18, 915-919.
- EDMUNDS, L. N. J. (1976). Models and mechanisms for endogenous timekeeping. En J. D. Palmer (Ed.). *An introduction to biological rhythms* (pp. 280-361). New York: Academic Press.
- ESKIN, A. (1974). Circadian rhythmicity in the isolated eye of aplysia. En F. O. Schmitt & F. G. Worden (Eds.). *The Neurosciences. The Third Study* (pp. 531-535). Cambridge: MIT Press.
- GOOLEY, J. J., Lu, J., Chou, T. C., Scammell, T. E., & Saper, C. B. (2001). Melanopsin in cells of origin of the retinohypothalamic tract. *Nature Neurosciencie*, 4, 1165.
- GREEN, D. J., & Gillette, R. (1982). Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat suprachiasmatic brain slice. *Brain Research*, 245, 198-200.
- GUYTON, A. C., y Hall, J. E. (1997). *Tratado de fisiología médica*. México: McGraw-Hill.
- HALL, J. C. (2003). Genetics and molecular biology of rhythms in drosophila and other insects. *Advances in Genetics*, 48, 1-280.
- HARMER, S. L., Panda, S., & Kay, S. A. (2001). Molecular bases of circadian rhythms. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 17, 215-253.
- HASTINGS, J. W., & Sweeney, B. M. (1957). On the mechanism of temperature independence in a biological clock. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 43, 804-811.
- HEINTZEN, C., & Liu, Y. (2007). The *Neurospora crassa* circadian clock. *Advances in Genetics*, 58, 25-66.
- JACKLET, J. W. (1980). Protein synthesis requirement of the Aplysia circadian clock. Tested by active and inactive derivatives of the inhibitor anisomycin. *The Journal Experimental Biology*, 85, 33-42.
- JOHNSON, C. H. (2004). Precise circadian clocks in prokaryotic cyanobacteria. *Molecular Biology*, 6, 103-110.
- KAVANAU, J. L. (1969). Influences of light on activity of the small mammals, *Peromyscus* spp., *Tamias striatus*, and *Mustela rixosa*. *Experientia*, 25(2), 208-209.

- KLEIN, D. C. (1974). Circadian rhythms in indole metabolism in the rat pineal gland. En F. O. Schmitt & F. G. Worden (Eds.), *The Neurosciences. Third Study Program* (pp. 509-515). Cambridge: The MIT Press.
- KRIEGER, D. T., & Hauser, H. (1977). Suprachiasmatic nuclear lesions do not abolish food-shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity. *Science*, 197, 398-399.
- KRIPKE, D. F., & Wyborney, V. G. (1980). Lithium slows rat circadian activity rhythms. *Life Sciences*, 26, 1319-1321.
- MENAKER, M., Moreira, L. F., & Tosini, G. (1997). Evolution of circadian organization in vertebrates. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30, 305-313.
- MISTLBERGER, R. E. (2005). Circadian regulation of sleep in mammals: Role of the suprachiasmatic nucleus. *Brain Reserch Review*, 49, 429-454.
- MOORE, R. Y. (1983). Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: The suprachiasmatic hypothalamic nucleus. *Federation Proceedings*, 42, 2783-2789.
- MOORE, R. Y. (2007). Suprachiasmatic nucleus in sleep-wake regulation. *Sleep Medicine*, 8(3), 27-33.
- MOORE, R. Y., & Eichler, V. B. (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, 42(1), 201-206.
- MOORE, R. Y., & Lenn, N. J. (1972). A retinohypothalamic projection in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 146, 1-14.
- MOORE-EDE, M. C., Sulzman, F. M., & Fuller, C. A. (1979). Circadian Organization in the Squirrel Monkey: The Internal Coupling Between Oscillators. En M. Suda, O. Hayaishi & H. Nakagawa (Eds.). *Biological Rhythms and Their Central Mechanism* (pp. 405-419). New York: Elsevier/North Holland Biomedical Press.
- MOORE-EDE, M. C., Sulzman, F. M., & Fuller, C. A. (1982). *The Clocks That Time Us*. Cambridge: Harvard University Press.
- PALMER, J. D. (1976). *An introduction to biological rhythms*. New York: Academic Press.
- PEBUSQUE, M. J., Robaglia, A. & Seite, R. (1981). Diurnal rhythm of nucleolar volume in sympathetic neurons of the rat superior cervical ganglion. *European Journal of Cell Biology*, 24(1), 128-130.
- PITTENDRIGH, C. S. (1960). Circadian Rhythms and the Circadian Organization of Living Systems. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 25, 159-184.
- PITTENDRIGH, C. S. (1974). Circadian Oscillations in Cells and the Circadian Organization of Multicellular Systems. En F. O. Schmitt & F. G. Worden

- (Eds.). *The Neurosciences. The Third Study* (pp. 437-458). Cambridge: MIT Press.
- RALPH, M. R. (1996). Circadian rhythms—mammalian aspects. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 7(6), 821-830.
- REINBERG, A., & Smolensky, M. H. (1983). *Biological rhythms and medicine: Cellular, metabolic, physiopathologic, and pharmacologic aspects*. New York: Springer-Verlag.
- REITER, R. J. (1973). Comparative physiology: Pineal gland. *Annual Review of Physiology*, 35, 305-328.
- REPPERT, S. M., & Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418, 935-941.
- RICHTER, C. P. (1977). Heavy water as a tool for study of the forces that control length of period of the 24-hour clock of the hamster. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 71, 1295-1299.
- ROENNEBERG, T., & Mellow, M. (2001). Circadian systems: Different levels of complexity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 356, 1687-1696.
- STEPHAN, F. K., & Zucker, I. (1972). Circadian Rhythms in Drinking Behavior and Locomotor Activity of Rats are Eliminated by Hypothalamic Lesions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69, 1583-1586.
- STEPHENS, J. L., & Binkley, S. (1978). Daily change in pineal N-acetyltransferase activity in a diurnal mammal, the ground squirrel. *Experientia*, 34, 1523-1524.
- STETSON, M. H. & Watson-Whitmyre, M. (1976). Nucleus suprachiasmaticus: The biological clock in the hamster? *Science*, 191(16), 197-199.
- TAKAHASHI, J. S., & Zatz, M. (1982). Regulation of circadian rhythmicity. *Science*, 217(4565), 1104-1111.
- TRUMAN, J. W. (1974). Circadian release of a prepatterned neural program in silkworms. En F. O. Schmitt & F. G. Worden (Eds.). *The Neurosciences. The Third Study* (pp. 525-529). Cambridge: MIT Press.
- VALDEZ, P. (2015). *Cronobiología. Respuestas psicofisiológicas al tiempo*. México: Trillas.
- VAN ESSEVELDT, K. E., Lehman, M. N., & Boer, G. J. (2000). The suprachiasmatic nucleus and the circadian time-keeping system revisited. *Brain Research Review*, 33, 34-77.
- VANSTEENSEL, M. J., Michel, S., & Meijer, J. H. (2008). Organization of cell and tissue circadian pacemakers: A comparison among species. *Brain Research Review*, 58, 18-47.
- ZUCKER, I., Rusak, B., & King, R. G. (1976). Neural bases for circadian rhythms in rodent behavior. *Advances in Psychobiology*, 3, 35-74.

.2.

EL SISTEMA CIRCADIANO DE LOS MAMÍFEROS

Raúl Aguilar Roblero¹ y José Luis Chávez²

INTRODUCCIÓN

Para que los seres vivos logren mantener en condiciones óptimas su equilibrio interno y su adaptación al ambiente es necesaria una adecuada coordinación de los distintos procesos vitales en el tiempo, desde el nivel molecular hasta el conductual. Al proceso fisiológico general que se encarga de esta coordinación se denomina *cronostasia* (ver figura 2.1). La cronostasia refleja una organización temporal de los procesos fisiológicos codificada en el genoma del organismo en cuestión (Aguilar & Díaz, 2010; Gruart et al., 2002).

Cuando observamos algún organismo en condiciones naturales, donde se alterna la luz y la oscuridad, se puede notar que sus diferentes funciones presentan variaciones que se repiten con mucha precisión de un día a otro. En estas condiciones decimos que el ritmo está sincronizado a algún ciclo ambiental, de tal forma que cada una de estas funciones expresa su actividad máxima o mínima a horas específicas del día, diferentes entre sí (Aschoff, 1960). Por ejemplo, en personas que despiertan a las 06:00 h y comen tres veces al día en un horario fijo la

¹ Doctor en Investigación Biomédica Básica, UNAM. Posdoctorado en la Universidad Estatal de Nueva York. Profesor de tiempo completo en la Facultad de Medicina e investigador del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM. Actualmente es el presidente de la Sociedad Mexicana de Ritmos Biológicos. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

² Técnico Académico del Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

temperatura corporal aumenta por la tarde (Gruart et al., 2002; ver figura 2.2). Cuando estas variaciones se repiten cada 24 horas pueden ser ritmos diurnos o circadianos. Se les denomina diurnos cuando ocurren en respuesta de variaciones en el ambiente, pero les llamamos ritmos circadianos cuando se ha demostrado que es el organismo quien produce la variación periódica (Halberg et al., 1959).

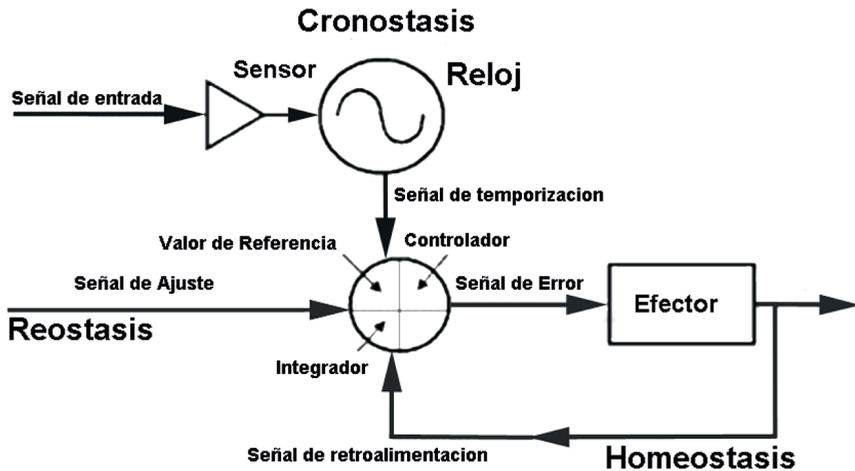


FIGURA 2.1. Sistemas generales de regulación fisiológica. Los ritmos circadianos manifiestan procesos de regulación fisiológica en el tiempo que denominamos cronostasis. Los procesos cronostáticos operan en conjunto con la homeostasis, que mantiene los parámetros fisiológicos dentro de un rango óptimo, el cual es codificado en el valor de referencia del controlador de un sistema de retroalimentación negativa. La reostasis se refiere a los procesos que permiten actualizar el valor de referencia a cambios en las necesidades del organismo o cambios en las condiciones ambientales. La cronostasis implica relojes biológicos que modifican el valor de referencia a lo largo del día o de la época del año de acuerdo con las variaciones ambientales que han operado sobre los organismos a lo largo de la evolución.

Cuando los organismos se mantienen en el laboratorio con luz u oscuridad constante, los ciclos de actividad continúan manifestándose indefinidamente en días sucesivos, pero su periodicidad se desvía ligeramente de las 24 horas. En estas condiciones decimos que los ritmos se encuentran en oscilación espontánea o libre curso (Pittendrigh & Minis, 1964). Solamente a través de estas observaciones podemos afirmar que las variaciones son ritmos circadianos (Halberg et al., 1959), y esto implica que se originan por mecanismos endógenos al organismo.

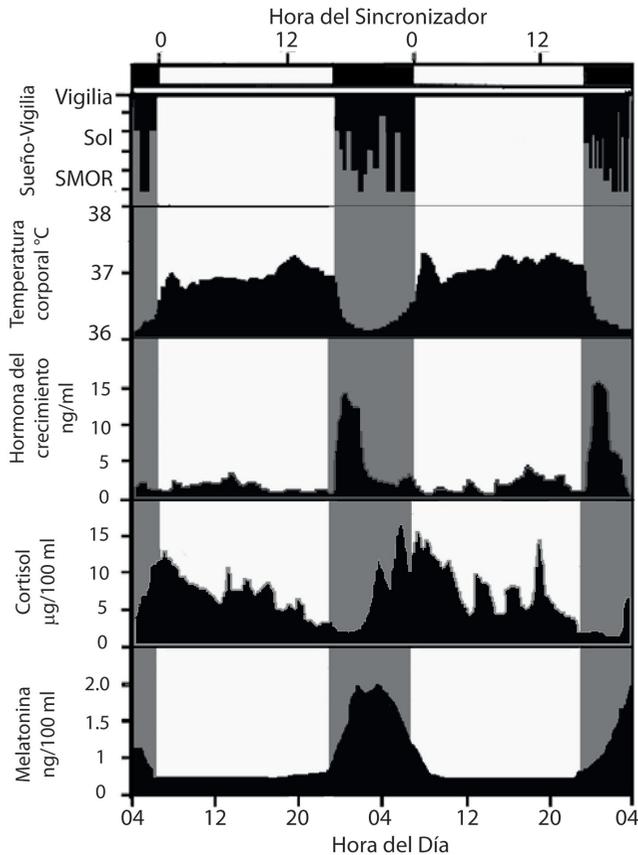


FIGURA 2.2. Ritmos circadianos en el hombre. De arriba a abajo se muestran el patrón de 48 horas de las fases de sueño-vigilia, la temperatura corporal, así como la concentración plasmática de la hormona de crecimiento, el cortisol y la melatonina. Se aprecia que las funciones del organismo no son constantes en 24 horas. La organización temporal que se observa es parte del estado de salud y sensación de bienestar del individuo.

Los ritmos circadianos se han estudiado durante los últimos cien años y se ha encontrado que se presentan en todos los organismos. Durante este lapso los conceptos para explicar la naturaleza de los ritmos biológicos se han modificado, primero se les consideró como respuestas del organismo ante las variaciones diarias del ambiente, luego como fenómenos relacionados con el aprendizaje ante señales ambientales periódicas y posteriormente como resultado de la función de uno o más relojes biológicos. En años recientes el concepto de reloj biológico fue modificado a sistema circadiano, el cual incluye diversos elementos de entrada y salida que permiten la interacción del generador de la oscilación circadiana para recibir señales tanto del medio ambiente como del organismo y, a su vez, transmitir a éste la señal de tiempo (Pittendrigh, 1981b).

CONCEPTOS BÁSICOS DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

De lo señalado anteriormente podemos concluir que los ritmos circadianos son generados por mecanismos intrínsecos al organismo, a los que podemos referirnos como el reloj biológico. En otras palabras, los ritmos circadianos son la manifestación de las funciones del reloj subyacente a cada sistema orgánico, es decir, son ritmos manifiestos. Si hacemos una analogía con un reloj de pulsera, los ritmos manifiestos son las manecillas del reloj, mientras que el reloj propiamente dicho correspondería a la maquinaria electromecánica.

Durante mucho tiempo se dependió de la observación de los ritmos manifiestos para inferir las propiedades y determinar el efecto de manipulaciones experimentales sobre los relojes circadianos. Sólo en los últimos 15 años, gracias a herramientas de genética molecular, se pudo hacer factible el estudio directo de los relojes circadianos en los seres vivos (Gruart et al., 2002). Los resultados de estos últimos experimentos han permitido validar la mayoría de las hipótesis generadas a partir de la observación de los ritmos manifiestos y, en algunos casos, corregir o desechas aquellas hipótesis que así lo requerían. En el resto de esta sección revisaremos las características fundamentales de los ritmos circadianos.

Ritmos en libre curso

Los ritmos circadianos presentan una serie de características que confirman la naturaleza adaptativa que los distingue de otros fenómenos periódicos de los organismos. La primera característica, como se mencionó anteriormente, es la persistencia en libre curso de los ritmos con un período endógeno cercano a 24 horas (Pittendrigh, 1960; ver figura 2.3). El período endógeno de los ritmos circadianos es la duración de un ciclo y se identifica con la letra griega tau (τ) seguida por el valor del período en minutos. Hay diversas formas de medir el período de un ritmo en libre curso. En la forma más sencilla tenemos que seleccionar un momento específico del ritmo en estudio que nos servirá de punto de referencia y al cual denominamos marcador de fase (Pittendrigh, 1981a). En un ritmo conductual o fisiológico, como pueden ser el ritmo de actividad en el roedor, el marcador de fase puede estar representado por el inicio o el fin de la actividad. El período se determina a través de promediar 5 ciclos sucesivos identificados con el marcador de fase. También es posible aplicar análisis matemáticos y/o estadísticos para calcular la duración del período, pero por ahora no ahondaremos en ese tema (Vega, 1993).

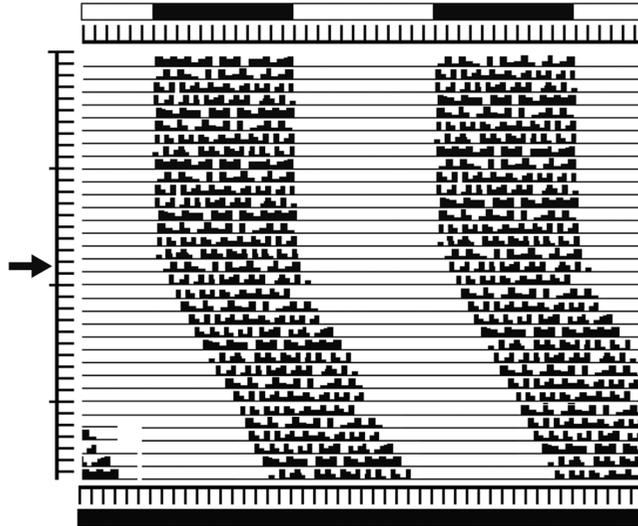


FIGURA 2.3. Ritmos circadianos sincronizados y en libre curso. En condiciones naturales los ritmos circadianos se sincronizan con fenómenos cíclicos del ambiente, como la luz o la temperatura. En el esquema se muestra la distribución de la actividad (histogramas negros) de un roedor nocturno registrado en un laboratorio bajo un ciclo de 12 horas de luz y 12 de oscuridad (indicados por las barras horizontales blancas y negras de la parte superior). Cuando el registro se continúa en ausencia de luz o con niveles de iluminación muy tenuous (flecha negra) el sujeto presenta un patrón de conducta periódico mayor a 24 horas. Este patrón se denomina libre curso y demuestra el origen endógeno de los ritmos circadianos. En este actograma cada renglón representa 48 horas de registro en días sucesivos.

Sincronización

La segunda característica se refiere a la capacidad de los ritmos circadianos para sincronizarse a diversos ciclos ambientales que presenten períodos cercanos o iguales a las 24 horas, como los ciclos diarios de luz y de temperatura (ver figura 2.3 y 2.4). El período del ciclo ambiental se identifica con la letra T. La sincronización implica que un marcador de fase de los ritmos biológicos ocurre en un momento preciso en relación a los ciclos ambientales, es decir, se establece una relación de fase estable entre el ciclo ambiental y el ritmo circadiano. Para lograr esta relación estable entre el ritmo circadiano y el ciclo ambiental es necesario que el primero alargue o acorte su período endógeno (τ) hasta igualar el período del ciclo ambiental (es decir hasta que $\tau = T$). Cuando esto ocurre, al período del ritmo sincronizado lo denominamos τ^* para distinguirlo del período en libre curso. Lo anterior se expresa también de la siguiente forma, si $\tau = T \rightarrow \tau^*$. La capacidad de sincronizarse permite a los organismos adaptarse a los cambios en el ciclo diario de luz y temperatura

que ocurren a diferentes latitudes, o bien a los cambios que ocurren en un mismo lugar a lo largo del ciclo anual (Pittendrigh, 1981b).

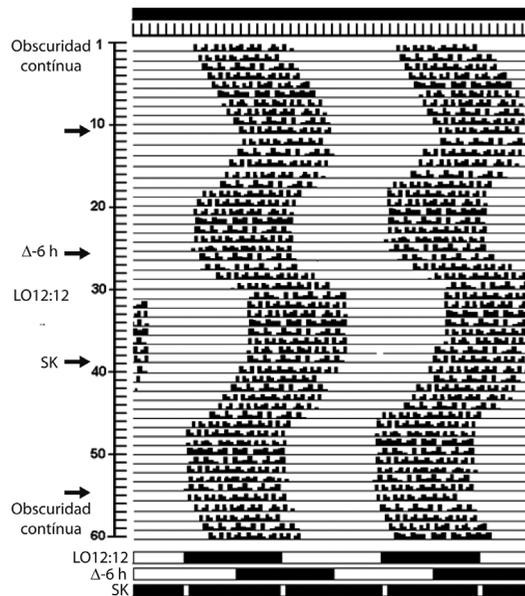


FIGURA 2.4. La sincronización de un ritmo circadiano involucra tanto que el período del ritmo sea similar al del ciclo ambiental como que el sincronizador controle la fase del ritmo endógeno (en el ejemplo, el inicio de la actividad). Se muestra un esquema del patrón de actividad de un roedor nocturno sometido a: oscuridad continua, ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (LO 12:12), un retraso de 6 horas en el ciclo de luz/oscuridad (Δ -6 h), fotoperíodo esqueleto (SK) que consiste en este caso en 11 horas de oscuridad y una de luz (cada encendido de la luz es interpretado por el organismo como la transición día-noche), y finalmente regreso a oscuridad continua. Se observa que el ritmo de actividad no se sincroniza inmediatamente después de cada cambio del ciclo de iluminación sino que cambia su período y ajusta su fase progresivamente (ciclos transitorios) hasta alcanzar el período y fase que impone el ciclo ambiental. También se ilustra que se requieren más ciclos transitorios para adelantar el reloj que para retrasarlo y que el fotoperíodo esqueleto requiere de más ciclos transitorios para ajustar al reloj circadiano que el fotoperíodo completo.

Curva de respuestas de fase

Diversos aspectos del proceso de sincronización a la luz se han estudiado a través de la curva de respuestas de fase. Ésta consiste en determinar el efecto que tienen estímulos breves de luz aplicados a diferentes momentos de un ciclo circadiano en libre curso sobre un marcador de fase del ritmo, como por ejemplo el inicio de la actividad locomotora. A diferencia del resto de las respuestas innatas en las que un estímulo de la misma intensidad y duración provoca respuestas similares cada vez que es presentado, la luz provoca diferentes respuestas en los rit-

mos circadianos dependiendo de la hora del día en que se aplique (ver figura 2.5). La curva de respuestas de fase se caracteriza por tres tipos de respuesta dependiendo de la hora de estimulación: durante el día subjetivo la luz no produce respuesta alguna; durante las primeras horas de la noche subjetiva el estímulo atrasa al reloj circadiano; mientras que hacia las últimas horas de la noche subjetiva el estímulo adelanta el reloj circadiano. Cuando un organismo se encuentra en oscuridad o luz muy tenue constante se utilizan los términos día y noche subjetiva para referirse a los períodos de actividad y descanso que se observan en estas condiciones (Daan, 2000; Pittendrigh & Daan, 1976).

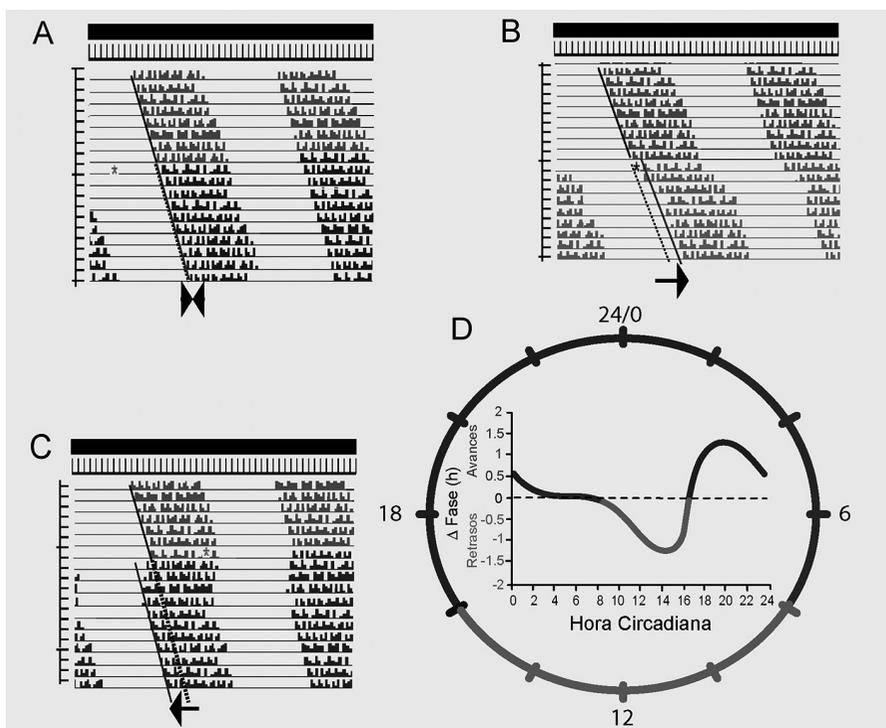


FIGURA 2.5. Curva de respuestas de fase. En la figura se esquematizan 3 registros de la actividad de un roedor nocturno obtenidos en oscuridad continua. En cada registro se aplicó un pulso de luz brillante y breve a las horas indicadas por el asterisco. Se puede observar que la respuesta del reloj circadiano varía dependiendo de la hora en que se aplicó el pulso de luz. Durante el día (subjetivo) no hubo cambios en el ritmo en libre curso, a lo que se denomina zona muerta (A); durante el inicio de la noche (subjetiva) el ritmo se retrasó (B), mientras que al final de la noche (subjetiva) el ritmo se adelantó (C). En el panel inferior derecho (D) se muestra un esquema de la curva completa de respuestas de fase. La curva y el círculo en el que se inscribe representan las horas en las que ocurre la zona muerta, los retrasos (abajo) y los avances (arriba). Se denominan día y noche subjetiva porque el sujeto está en oscuridad constante (excepto por el breve pulso de luz) y la inferencia de día y noche deriva de la conducta del sujeto en condiciones naturales. Como se ejemplifica, en un animal nocturno el día corresponde a su intervalo de reposo y la noche al de su actividad.

Compensación de temperatura

La tercera característica de los ritmos circadianos es que su período en oscilación espontánea varía muy poco o nada ante variaciones muy amplias de la temperatura, es decir, que el reloj biológico es capaz de compensar los cambios en la temperatura. Para comprender plenamente esta característica debemos comenzar recapitulando que en los seres vivos las reacciones bioquímicas de las que depende su metabolismo son reguladas por la actividad de diversas enzimas y la actividad de las enzimas depende de la temperatura en la que se encuentra el organismo. Se ha observado que las velocidades de reacción de la mayoría de las enzimas se duplican o triplican con cada aumento de 10° C en la temperatura; a este cambio expresado como un índice le llamamos Q10 (Aschoff, 1981). Los valores de Q10 para la compensación de temperatura son muy cercanos a 1. Esto sugiere un mecanismo complejo y delicadamente balanceado que articula los procesos metabólicos celulares involucrados en la generación de los ritmos circadianos, de tal forma que el período del reloj circadiano es el mismo en un amplio rango de temperaturas. El valor adaptativo de esta característica es que la medición del tiempo biológico no es afectada por los cambios en la temperatura ambiental, lo cual mantiene la precisión del reloj en animales que migran o bien ante los cambios climáticos a lo largo del año. En palabras de dos pilares de la cronobiología, Dann & Pittendrigh (1976), "el reloj biológico es un reloj para todas las estaciones" (Hernández y Massieu, 2008).

El acoplamiento

Una última característica de los ritmos circadianos (manifiestos) es que cambian su expresión cuando están expuestos en forma continua y prolongada a condiciones particulares ambientales como la luz continua, el aislamiento de señales sincronizadoras o la restricción de alimento. Estos cambios pueden ocasionar fenómenos de partición (Splitting), desincronización interna, arritmicidad, así como el fenómeno de anticipación al alimento que se presenta cuando la disponibilidad de éste ocurre en forma periódica sólo una vez al día (Aguilar, 1993a; Daan & Pittendrigh, 1976; Stephan, 1992). Se ha propuesto que los patrones observados en estas condiciones pueden deberse a que existe más de un reloj circadiano y que ciertas condiciones ambientales inducen su expresión independiente, es decir, los osciladores que componen el reloj oscilan en forma asincrónica entre sí e incluso se detienen, por lo que el organismo deja de exhibir un ritmo aparente. Estas hipótesis implican que en los organismos existen

varios osciladores que se sincronizan entre sí. A este proceso de sincronización mutua le hemos llamado acoplamiento, para distinguirlo así del proceso de sincronización que ocurre entre los osciladores endógenos y los ciclos ambientales (Aguilar et al., 2007a; Granados et al., 1995).

A partir de las características revisadas anteriormente se llegó a una propuesta general de la organización de los sistemas circadianos, cuyo esquema ha sido llamado coloquialmente como eskinograma en reconocimiento a su autor Arnold Eskin. El eskinograma permite guiar la investigación para entender los mecanismos subyacentes del sistema circadiano, así como para ubicar la evidencia experimental que continuamente se genera en el estudio de los ritmos biológicos o cronobiología (Granados et al., 1995).

EL SISTEMA CIRCADIANO

Hemos dejado claro que los procesos que regulan los ritmos circadianos involucran un sistema endógeno del organismo denominado circadiano. El sistema circadiano está formado por osciladores que sirven para medir el tiempo biológico, las vías de sincronización que ajustan la fase de los osciladores a fenómenos derivados de ciclos ambientales como el día y la noche, las vías de transmisión que comunican la fase del ciclo circadiano a los sistemas efectores para que el organismo exprese los ritmos circadianos, y los mecanismos de acoplamiento encargados de ajustar entre sí el período y la fase de los distintos osciladores del organismo (Aguilar et al., 2007a; Granados et al., 1995).

En los mamíferos el principal oscilador circadiano o reloj biológico se encuentra en el núcleo supraquiasmático (NSQ) (Moore & Eichler, 1972; Mosko & Moore, 1978; Stephan & Zucker, 1972), y ninguna otra estructura cerebral u órgano ha demostrado poseer las características necesarias para ser considerada como reloj circadiano. Además del NSQ también participan sus conexiones aferentes, que forman las vías de sincronización al ambiente, y sus conexiones eferentes, que transmiten la hora del día estimada por el NSQ al organismo. La glándula pineal y la melatonina se han propuesto como elementos involucrados en los mecanismos de acoplamiento del NSQ con otros osciladores circadianos (Aguilar y Chávez, 1995). Finalmente, mediante estudios de genética molecular ha sido posible determinar que los genes y las enzimas necesarias para generar las oscilaciones circadianas a nivel molecular se encuentran en gran número de células, además de las neuronas del NSQ, como las células de tejido y órganos periféricos, los fibroblastos y los

hepatocitos. Por tal motivo, actualmente se acepta que existen además del NSQ otros posibles osciladores en el sistema nervioso y diversos osciladores periféricos (Albrecht & Eichele, 2003; Lowrey & Takahashi, 2004; Reppert & Weaver, 2001).

El núcleo supraquiasmático

El NSQ en los mamíferos es una estructura bilateral localizada en el hipotálamo ventral anterior, es dorsal al quiasma óptico, rostral a las comisuras supraópticas y ventrolateral al tercer ventrículo. Las neuronas del NSQ son las más pequeñas del hipotálamo y están estrechamente empaquetadas (ver figura 2.6). La dimensión de este núcleo es de 950 μm en el eje longitudinal, mientras que en sus ejes dorso-ventral y medio-lateral es de 400 μm y 500 μm , respectivamente. Se ha estimado que el número de neuronas es de alrededor de 16 000 en la estructura completa, sin incluir a las células gliales (van den Pol, 1991). De acuerdo con sus características inmunohistoquímicas y estructurales, el NSQ ha sido dividido en dos regiones principales, una región dorsomedial que secreta vasopresina y una ventrolateral que contiene el péptido intestinal vasoactivo (VIP) (Card & Moore, 1991).

La evidencia para demostrar que el núcleo supraquiasmático es un oscilador del sistema circadiano se basa en que su lesión bilateral produce una desorganización del patrón circadiano de varias conductas y parámetros fisiológicos. Posteriormente se demostró que el trasplante del núcleo supraquiasmático fetal restablece el ritmo de diversas conductas en animales con lesión del NSQ; en hámsteres que presentaban una mutación caracterizada por un período circadiano endógeno de libre curso de 20 horas, se demostró que el período que restablecía el transplante de NSQ fetal correspondía al del tejido donador y no al del cerebro que recibía el transplante (Aguilar et al., 1992a; Aguilar et al., 1992b; Drucker et al., 1984). Además, la estimulación eléctrica o química del NSQ produce adelantos o retrasos en la hora que inicia el lapso de actividad (cambios de fase) durante el ciclo circadiano, similares a los provocados por pulsos de luz cuando se aplica en oscuridad constante. A nivel celular, las neuronas del NSQ presentan ritmos circadianos en su actividad eléctrica, metabólica o de expresión genómica que persisten cuando los sujetos se estudian en condiciones de iluminación constante, después de haber sido aisladas quirúrgicamente del resto del cerebro en rebanadas del NSQ *in vitro* o en neuronas de este núcleo mantenidas en cultivos organotípicos o de células disociadas (Welsh et al., 1995; Yamaguchi et

al., 2003). La capacidad de generar un patrón circadiano de actividad es inherente a cada una de las neuronas del NSQ, aunque las interacciones sinápticas dentro del núcleo parecen participar hasta cierto grado en el acoplamiento de los osciladores individuales (Albrecht & Eichele, 2003).

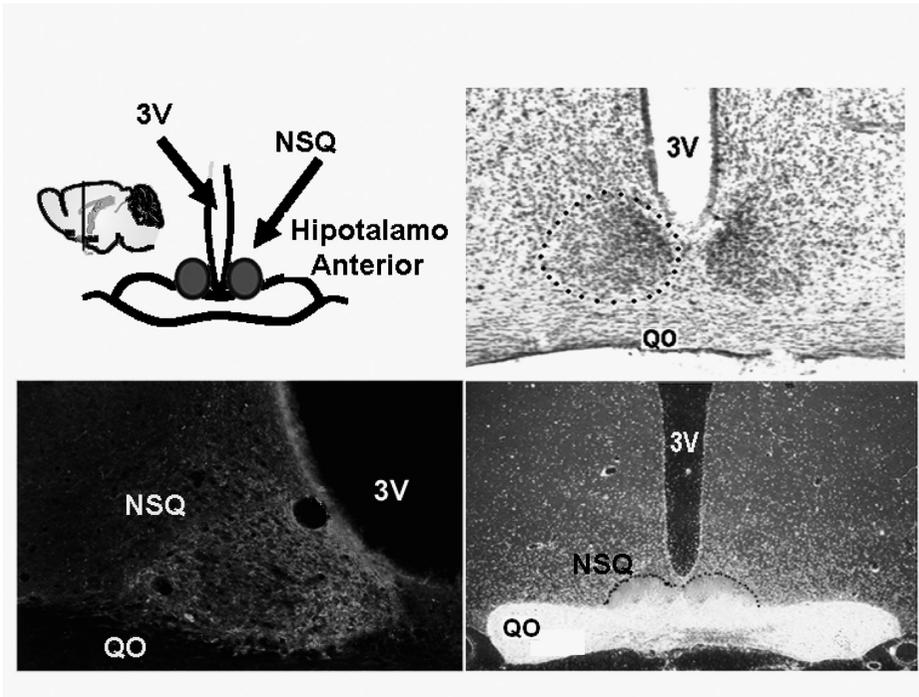


FIGURA 2.6. El principal reloj circadiano se localiza en el núcleo supraquiasmático (NSQ). Se muestra un esquema de su localización en un corte coronal (arriba izquierda), un corte teñido con violeta de cresilo (arriba derecha), un corte teñido por inmunohistoquímica contra vasopresina y péptido intestinal vasoactivo (abajo izquierda), y un corte que muestra las terminales de la vía retino-hipotalámica marcadas por autorradiografía de (^3H)-prolina inyectada en la cámara posterior del ojo. 3V: tercer ventrículo, QO: quiasma óptico.

La maquinaria celular del reloj

La maquinaria básica de la oscilación circadiana es intracelular, es decir, cada neurona del NSQ contiene un oscilador molecular constituido por asas de retroalimentación de transcripción-traducción de los genes denominados "reloj". El modelo aceptado propone que los productos dimerizados de los genes *Clock* y *Bmal-1* (CLOCK-BMAL-1) funcionan como factores de transcripción que se unen a las cajas-E en la región promotora y activan la expresión de los genes *Per*, *Cry* y *Rev-erb- α* . A su vez, el dímero de las proteínas PER-CRY inhibe la actividad promotora

de CLOCK-BMAL-1 sobre las cajas-E, e inhiben su propia transcripción (Kondratov et al., 2003). Por otra parte, la proteína REV-ERBa inhibe la transcripción de *Bmal-1* y *Clock*. Así, cuando el complejo PER-CRY inhibe a CLOCK-BMAL-1 también disminuye la expresión de *Rev-erb-a*, lo que permite de nuevo la transcripción de *Bmal-1* y *Clock* asegurando que el ciclo se repita en forma indefinida (Bunger et al., 2000). Otros genes reloj forman la familia *dec* cuyo mecanismo de acción es similar al de las familias *Per* y *Cry* (Hamaguchi et al., 2004; Honma et al., 2002; Kawamoto et al., 2004; ver figura 2.7).

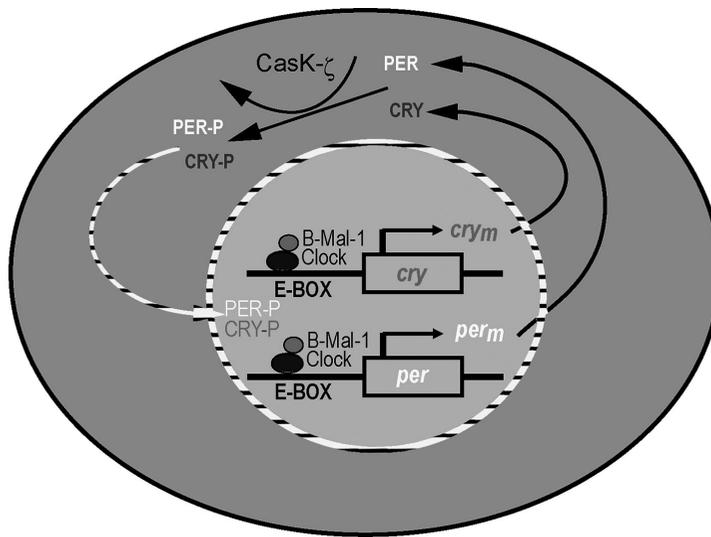


FIGURA 2.7. Esquema que ilustra el mecanismo molecular del reloj circadiano en el NSQ (la explicación está en el texto).

Estudios recientes indican que el mecanismo central del reloj no se restringe exclusivamente al oscilador molecular sino que también incluye otros elementos de señalización intracelular, como el AMP cíclico. La actividad eléctrica de las neuronas del reloj también retroalimenta al oscilador molecular amplificando la oscilación molecular que sirve de base (O'Neill et al., 2008). Estudios en mamíferos han demostrado asimismo que la excitabilidad de la membrana es un requisito crucial para la expresión robusta de los ritmos moleculares. Al evitar la generación de potenciales de acción mediante el uso de una toxina contra los canales de Na⁺ dependientes de voltaje, se observa la declinación gradual de la expresión de genes reloj y sus proteínas en neuronas del NSQ (Aguilar et al, 2008).

La sincronización a la luz

Las vías de sincronización del sistema circadiano que ajustan la fase y el período de los osciladores involucran a las conexiones aferentes del NSQ. La cantidad de luz ambiental es detectada en la retina por fotorreceptores circadianos diferentes a los que intervienen en la visión. Los fotorreceptores circadianos son un tipo especial de célula ganglionar que poseen el fotorreceptivo melanopsina (Provencio et al., 1998) y se caracterizan por tener un campo receptivo visual muy amplio y codificar la cantidad de luz. Los axones de estas células ganglionares forman el tracto retino-hipotalámico que llega a la porción ventrolateral del NSQ; la sección selectiva del tracto retino-hipotalámico impide la sincronización de los ritmos circadianos al ciclo de iluminación ambiental sin afectar la visión espacial (Morin, 2007).

Las terminales de la vía retino-hipotalámica liberan glutamato y el péptido hipofisiario activador de la adenilato ciclasa (PCAP) en las sinapsis con neuronas del NSQ. Tanto la unión del glutamato al receptor tipo NMDA como del PACAP al receptor VPAC1 producen la entrada de Ca^{2+} a las neuronas del NSQ (Aguilar et al., 2008; Mintz et al., 1999). El calcio intracelular activa diferentes vías de segundos mensajeros en forma dependiente del momento del ciclo circadiano en que se presentan los pulsos de luz, de tal forma que el sistema específico de segundos mensajeros que es activado por la entrada de calcio determina la dirección en que el reloj cambiará su fase. De acuerdo con este modelo, durante la noche subjetiva temprana el Ca^{2+} que ingresa a la neurona parece activar directamente los canales de calcio sensibles a la rianodina. La movilización de los depósitos intracelulares de Ca^{2+} conduce al retraso del reloj. Mientras que cuando los pulsos de luz se aplican en la segunda mitad de la noche subjetiva, la entrada de Ca^{2+} extracelular induce la síntesis de óxido nítrico que induce la formación de GMP cíclico; este último activa a la Proteína Kinasa G (PKG), lo cual tiene como resultado el avance del reloj. Sin embargo, aún se desconocen muchos detalles de los procesos celulares que modifican la expresión de los genes reloj para adelantar o retrasar el reloj circadiano (O'Neill et al., 2008).

Algunas colaterales del tracto retino-hipotalámico proyectan bilateralmente a una región del cuerpo geniculado lateral del tálamo llamada hojuela intergeniculada (IGL). A partir de la hojuela se origina otra aferente del NSQ denominada tracto genículo hipotalámico. Otras aferencias al supraquiasmático se originan del núcleo de rafé y el núcleo paraventricular del tálamo (PVT). Tanto la hojuela intergeniculada como el núcleo de rafé proyectan a la región ventrolateral del NSQ con fibras

que contienen neuropéptido-Y y serotonina, respectivamente (Morin, 1994). Estas aferentes también participan en ajustar el inicio de la actividad de los ritmos circadianos con el inicio de la oscuridad. Del mismo modo, se ha propuesto que la IGL puede ser un relevo –junto con el PVT– para transmitir información no-fótica hacia el NSQ, es decir, información de índole sensorial diferente a la luz, como pueden ser ruidos, temperatura o movimiento. A través de estas vías se posibilita que diversos estímulos también puedan ejercer influencia como sincronizador de los ritmos circadianos.

La glándula pineal también funciona como un modulador de la sincronización a la luz, la que a través de la secreción de melatonina informa al organismo sobre la duración del ciclo luz/oscuridad; además de ser un asa de retroalimentación negativa para el disparo neuronal en el NSQ capaz de sincronizar los ritmos (Redman et al., 1983). Al mismo tiempo, la pineal participa en el acoplamiento de osciladores circadianos, ya que en hámsteres mantenidos en luz continua brillante, la pinealectomía acelera el desarrollo de fenómeno de partición (en inglés: *Splitting*) y retarda el establecimiento de un ángulo de fase estable entre los componentes del ritmo locomotor (Aguilar y Chávez, 1995; Aguilar & Vega, 1993b).

La salida del reloj circadiano

El NSQ transmite la señal de la hora del día a los sistemas efectores para generar el orden temporal de las funciones orgánicas. Este es uno de los aspectos menos estudiados del sistema circadiano; la hipótesis más aceptada es que las eferentes nerviosas del NSQ forman las vías de salida del reloj circadiano, aunque también existen datos de que una señal química de tipo neuroendocrino podría encargarse de transmitir la señal de salida del reloj. No obstante, el primer engrane en la vía de salida del reloj circadiano consiste en convertir la oscilación molecular generada por los genes reloj a un patrón circadiano de excitabilidad neuronal (Lundkvist et al., 2005; Mellstrom et al., 2008; Nitabach et al., 2002). La movilización de Ca^{2+} desde sus depósitos intracelulares es parte del mecanismo que convierte la oscilación molecular a un patrón circadiano de excitabilidad de la membrana celular. En las neuronas del NSQ la permeabilidad de los canales intracelulares de Ca^{2+} sensibles a rianodina (RyR) está bajo el control del reloj molecular (Díaz et al., 1999). Esto conduce a un ritmo circadiano de Ca^{2+} libre intracelular en las neuronas del NSQ que no se afecta al detener la comunicación sináptica en el NSQ, pero que desapa-

rece al bloquear los RyR (Colwell, 2000; Ikeda et al., 2003). Además, se ha demostrado que la apertura o cierre de los canales RyR moviliza el Ca^{2+} y hace que éste aumente o disminuya, provocando el incremento o disminución de la frecuencia de disparo de las neuronas del NSQ (Aguilar et al., 2007b). Estas manipulaciones también modifican la expresión de los ritmos conductuales (Mercado et al., 2009) sin afectar el período o la fase del NSQ estudiado en rebanadas del NSQ de ratones transgénicos (Aguilar, datos no publicados hasta el momento).

Aunque la transmisión sináptica es en principio la vía natural de comunicación en el sistema nervioso, debido a sus características de largo plazo por su naturaleza circadiana, también se ha considerado a la transmisión química por vía neuroendocrina o por transmisión de volumen como posible mecanismo de transmisión. Existen datos que apoyan la participación de los distintos procesos de comunicación intercelular antes mencionados, por lo que lo más probable es que el proceso de transmisión de la señal de tiempo desde el oscilador hasta el resto del organismo involucre una mezcla de dichos mecanismos (Aguilar et al., 2007a).

El NSQ no proyecta hacia ninguna de las regiones involucradas directamente en el control motor, lo que sugiere que la modulación circadiana no ocurre sobre los sistemas efectores. Por el contrario, las proyecciones del NSQ se mantienen en estructuras diencefálicas que modulan diversas conductas motivadas o bien procesos de regulación homeostática. El patrón de conectividad del NSQ es congruente con el concepto de cronostasia, en el que un reloj modifica el punto de ajuste de un sistema de retroalimentación negativa para lograr la modulación de la función en el tiempo.

REFERENCIAS

- AGUILAR, R. R., Alamilla, J., Mercado, C., Camona, A. V., & Colwell, C. S. (2008). Neuronal activity in the suprachiasmatic nuclei: Cellular and molecular mechanisms. En M. L. Fanjul Moles & Aguilar Roblero (Eds.), *Comparative aspects of circadian rhythms* (pp. 185-203). India: Research Signpost.
- AGUILAR, R. R. y Chávez, J. J. L. (1995). Epífisis: la glándula pineal en la regulación de procesos endocrinos. En J. G. Ninomiya, I. Z. P. de Coronado y R. R. Aguilar (Eds.), *Fisiología humana: endocrinología y metabolismo* (pp. 411-431). México: El Manual Moderno.
- AGUILAR, R. R., & Díaz, M. M. (2010). Chronostatic adaptations in the liver to restricted feeding: The FEO as an emergent oscillator. *Sleep and Biological Rhythms*, 8, 9-17.

- AGUILAR, R. R., Drucker, C. R., & Moore, R. Y. (1992a). Behavioral and morphological studies of fetal neural transplants into SCN-lesioned rats. *Chronobiology International: The Journal of Biological and Medical Rhythm Research*, 9, 278-296.
- AGUILAR, R. R., Granados, F. D., Caldelas, I., Salazar, J. A., y Escobar, C. (2007a). Bases neurales de la cronobiología humana: el sistema circadiano distribuido. En D. Golombek (Ed.), *Cronobiología humana: ritmos y relojes biológicos en la salud y la enfermedad* (pp. 95-122). Argentina: Editorial Universitaria de Quilmes.
- AGUILAR, R. R., Mercado, C., Alamilla, J., Laville, A., & Díaz, M. M. (2007b). Ryanodine receptor Ca²⁺-release channels are an output pathway for the circadian clock in the rat suprachiasmatic nuclei. *The European Journal of Neuroscience*, 26, 575-582.
- AGUILAR, R. R., Shibata, S., Speh, J. C., Drucker, C. R., & Moore, R. Y. (1992b). Morphological and functional development of the suprachiasmatic nucleus in transplanted fetal hypothalamus. *Brain Research*, 580, 288-296.
- AGUILAR, R. R., & Vega, G. A. (1993a). Splitting of locomotor circadian rhythmicity in hamsters is facilitated by pinealectomy. *Brain Research*, 605(2), 229-236.
- AGUILAR, R. R., & Vega, G. A. (1993b). Splitting of locomotor circadian rhythmicity in hamsters is facilitate by pinialectomy. *Brain Research*, 605, 229-235.
- ALBRECHT, U., & Eichele, G. (2003). The mammalian circadian clock. *Current Opinion Genetics & Development*, 13, 271-277.
- ASCHOFF, J. (1960). Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 25, 11-28.
- ASCHOFF, J. (1981). A Survery on Biological Rhythms. En Autor (Ed.), *Biological Rhythms* (pp. 3-10). New York: Plenum Press.
- BUNGER, M. K., Wilsbacher, L. D., Moran, S. M., Clendenin, C., Radcliffe, L. A., Hogenesch, J. B., ...Bradfield, C. A. (2000). *Mop3* is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals. *Cell*, 103, 1009-1017.
- CARD, P., & Moore, Y. (1991). The organization of visual circuits influencing the circadian activity of the suprachiasmatic nucleus. En D. C. Klein, R. Y. Moore, & S. M. Reepert (Eds.), *Suprachiasmatic nucleus. The mind's clock* (pp. 51-106). New York: Oxford University Press.
- COLWELL, C. S. (2000). Circadian modulation of calcium levels in cells in the suprachiasmatic nucleus. *The European Journal of Neuroscience*, 12, 571-576.
- DAAN, S. (2000). Colin Pittendrigh, Jürgen Aschoff, and the natural entrainment of circadian systems. *Journal of Biological Rhythms*, 15, 195-207.

- DAAN, S., & Pittendrigh, C. S. (1976). A Functional Analysis of Circadian Pacemakers in Nocturnal Rodents II: The Variability of Phase Response Curves. *Journal of Comparative Physiology*, 106, 253-266.
- DÍAZ, M. M., Dent, M., Granados, F. D., Hall, A., Hernández, C. A., Harrington, M., & Aguilar, R. R. (1999). Circadian modulation of the ryanodine receptor Type 2 in the SCN of rodents. *NeuroReport*, 10(3), 481-486.
- DRUCKER, C. R., Aguilar, R. R., García, H. F., Fernández, C. F., & Bermúdez, R. F. (1984). Fetal suprachiasmatic nucleus transplants: Diurnal rhythm recovery of lesioned rats. *Brain Research*, 311, 353-357.
- GRANADOS, F. D., Salazar, J. A., Vergara, A. P., Escandón, C. J., Vega, G. A., & Aguilar, R. R. (1995). Los ritmos circádicos en mamíferos: conceptos, implicaciones y bases biológicas. En J. Velázquez Moctezuma (Ed.), *Temas selectos de neurociencias* (pp. 433-458). México: Universidad Autónoma Metropolitana.
- GRUART, I. M. A., Delgado, J. M., Escobar, C., y Aguilar, R. R. (2002). *Los relojes que controlan la vida*. México: Fondo de Cultura Económica.
- HALBERG, F., Halberg, E., Barnum, C. P., & Bittner, J. J. (1959). Physiologic 24-Hour periodicity in human beings and mice, the lighting regimen and daily routine. En R. Withrow (Ed.), *Photoperiodism and related phenomena in plants and animals*. American Association for the Advancement of Science (pp. 803-878). Washington: American Association for the Advancement of Science.
- HAMAGUCHI, H., Fujimoto, K., Kawamoto, T., Noshiro, M., Maemura, K., Takeda, N., ... Kato, Y. (2004). Expression of the gene for Dec2, a basic helix-loop-helix transcription factor, is regulated by a molecular clock system. *Biochemical Journal*, 382, 43-50.
- HERNÁNDEZ, F. K., y Massieu, L. (2008). Transporte transmembranal. En M. L. Fanjul y M. Hiriart (Eds.), *Biología funcional de los animales* (pp. 27-54). México: Siglo XXI.
- HONMA, S., Kawamoto, T., Takagi, Y., Fujimoto, K., Sato, F., Noshiro, M., Kato, Y., & Honma, K. (2002). A novel autofeedback loop of Dec1 transcription involved in circadian rhythm regulation. *Nature*, 419, 841-844.
- IKEDA, M., Sugiyama, T., Wallace, C. S., Gompf, H. S., Yoshioka, T., Miyawaki, A., & Allen, C. N. (2003). Circadian dynamics of cytosolic and nuclear Ca²⁺ in single suprachiasmatic nucleus neurons. *Neuron*, 38, 253-263.
- KAWAMOTO, T., Noshiro, M., Sato, F., Maemura, K., Takeda, N., Nagai, R., ... Kato, Y. (2004). A novel autofeedback loop of Dec1 transcription involved in circadian rhythm regulation. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 313, 117-124.

- KONDRATOV, R. V., Chernov, M. V., Kondratova, A. A., Gorbacheva, V. Y., Gudkov, A. V., & Antoch, M. P. (2003). 1BMAL1-dependent circadian oscillation of nuclear CLOCK: Posttranslational events induced by dimerization of transcriptional activators of the mammalian clock system. *Genes & Development*, *17*, 1921-1932.
- LOWREY, P. L., & Takahashi, J. S. (2004). Mammalian circadian biology: Elucidating genome-wide levels of temporal organization. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, *5*, 407-441.
- LUNDKVIST, G. B., Kwak, Y., Davis, E. K., Tei, H., & Block, G. D. (2005). A calcium flux is required for circadian rhythm generation in mammalian pacemaker neurons. *The Journal of Neuroscience*, *25*, 7682-7686.
- MELLSTROM, B., Savignac, M., Gomez, V. R., & Naranjo, J. R. (2008). Ca²⁺-operated transcriptional networks: Molecular mechanisms and in vivo models. *Physiological Review*, *88*, 421-449.
- MERCADO, C., Díaz, M. M., Alamilla, J., Valderrama, K., Morales, T. V., & Aguilar, R. R. (2009). Ryanodine-sensitive intracellular Ca²⁺ channels in rat suprachiasmatic nuclei are required for circadian clock control of behavior. *Journal of Biological Rhythms*, *24*, 203-210.
- MINTZ, E. M., Marvel, C. L., Gillespie, C. F., Price, K. M., & Albers, H. E. (1999). Activation of NMDA receptors in the suprachiasmatic nucleus produces light-like phase shifts of the circadian clock in vivo. *The Journal of Neuroscience*, *19*, 5124-5130.
- MOORE, R. Y., & Eichler, V. B. (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, *42*, 201-206.
- MORIN, L. P. (1994). The circadian visual system. *Brain Research Review*, *19*, 102-127.
- MORIN, L. P. (2007). SCN organization reconsidered. *Journal of Biological Rhythms*, *27*, 33754-33782.
- MOSKO, S., & Moore, R. Y. (1978). Neonatal suprachiasmatic nucleus ablation: Absence of functional and morphological plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *75*, 6243-6246.
- NITABACH, M. N., Blau, J., & Holmes, T. C. (2002). Electrical silencing of *Drosophila* pacemaker neurons stops the free-running circadian clock. *Cell*, *109*, 485-495.
- O'NEILL, J. S., Maywood, E. S., Chesham, J. E., Takahashi, J. S., & Hastings, M. H. (2008). cAMP-dependent signaling as a core component of the mammalian circadian pacemaker. *Science*, *320*, 949-953.
- PITTENDRIGH, C. S. (1960). Circadian Rhythms and the Circadian Organization of Living Systems. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, *25*, 159-184.

- PITTENDRIGH, C. S. (1981a). Circadian Systems: General Perspective. En J. Aschoff (Ed.), *Handbook of Behavioral Neurobiology* (pp. 57-80). New York: Plenum Press.
- PITTENDRIGH, C. S. (1981b). Circadian Systems: Entrainment. En J. Aschoff (Ed.), *Handbook of Behavioral Neurobiology. Biological Rhythms* (Capítulo 7, pp. 95-124,). New York: Plenum Press.
- PITTENDRIGH, C. S., & Daan, S. (1976). A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V. Pacemakers structure: A clock for all seasons. *Journal of Comparative Physiology*, 106, 333-355.
- PITTENDRIGH, C. S., & Minis, D. H. (1964). The Entrainment of Circadian Oscillations by Light and Their Role as Photoperiod Clocks. *American Naturalist*, 98, 261-294.
- PROVENCIO, I., Jiang, G., De Grip, W. J., Par, H. W., & Rollag, M. D. (1998). Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 340-345.
- REDMAN, J., Armstrong, S., & Ng, K. T. (1983). Free-running activity rhythms in the rat: Entrainment by melatonin. *Science*, 219, 1089-1091.
- REPPERT, S. M., & Weaver, D. R. (2001). Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annual Review of Physiology*, 63, 647-676.
- STEPHAN, F. K. (1992). Reseting of a circadian clock by food pulses. *Physiology and Behaviour*, 52, 997-1008.
- STEPHAN, F. K., & Zucker, I. (1972). Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69, 1583-1586.
- VAN DEN POL, A. N. (1991). The suprachiasmatic nucleus: Morphological and cytochemical substrates for cellular interaction. En D. C. Klein, R. Y. Moore, & S. M. Reppert (Eds.), *Suprachiasmatic nucleus. The mind's clock* (pp. 17-50). New York: Oxford University Press.
- VEGA, A. (1993). Análisis estadístico en cronobiología. *Psiquis*, 2, 139-149.
- WELSH, D. K., Logothetis, D. E., Meister, M., & Reppert, S. M. (1995). Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron*, 14, 697-706.
- YAMAGUCHI, S., Isejima, H., Matsuo, T., Okura, R., Yagita, K., Kobayashi, M., & Okamura, H. (2003). Synchronization of cellular clocks in the suprachiasmatic nucleus. *Science*, 302, 1408-1412.

RITMOS CIRCADIANOS EN EL RECIÉN NACIDO¹

*Manuel Ángeles Castellanos,² Samuel Vázquez Ruiz,³
Adelina Rojas Granados,⁴ Laura Ubaldo⁵ y Carolina Escobar⁶*

INTRODUCCIÓN

Se denomina recién nacido (RN) o neonato al niño desde el momento en que es separado de la madre hasta que cumple 28 días de vida extrauterina. Se clasifican como “recién nacidos pre-término” a los niños que nacen antes de 37 semanas de gestación (Cloherty et al., 2009), así como “recién nacidos a término” a aquellos que nacen de 37 a 42 semanas de gestación. Durante los primeros 28 días de vida extrauterina ocurre una serie de eventos adaptativos que dan lugar a modificaciones de valores en variables fisiológicas indispensables para la supervivencia del RN en un medio externo hostil; por ejemplo, el infante necesita tener la ca-

¹ Trabajo realizado con el apoyo de los Proyectos PAPIIT-UNAM IN20580, IN209712; IN 224911; CONACYT 82462.

² Doctor en Ciencias, UNAM. Profesor titular e investigador adjunto de la Facultad de Medicina, UNAM. Actualmente es secretario activo de la Sociedad Mexicana de Anatomía. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

³ Médico Cirujano, Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca. Actualmente trabaja en el Hospital General Regional de San Pedro Pochutla, Oaxaca, y en el Centro de Rehabilitación Infantil Teletón, Oaxaca.

⁴ Maestría en Ciencias de la Salud, Instituto Politécnico Nacional. Profesora de la Facultad de Medicina, UNAM.

⁵ Médico Cirujano, UNAM. Especialidad en Anestesiología, UNAM. Profesora de la Facultad de Medicina, UNAM.

⁶ Doctora en Ciencias Fisiológicas, UNAM. Profesora titular de la Facultad de Medicina, UNAM. Profesora por asignatura de la Facultad de Psicología, UNAM. Coordinadora de investigación del Departamento de Anatomía, UNAM. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

pacidad de regular su temperatura corporal así como de mantener los niveles sanguíneos de metabolitos energéticos (por ejemplo, glucosa), procesos que cuando estaba en el útero eran regulados por la madre.

De la misma manera, el RN tiene que enfrentarse y adaptarse a variaciones cíclicas ambientales, como las que ocurren en la temperatura ambiental y, principalmente, a los ciclos de luz/oscuridad (L-O). Para esto el neonato cuenta con un sistema circadiano que en el RN a término se encuentra totalmente desarrollado (Seron et al., 2001). Se considera que para la maduración adecuada del sistema circadiano es necesario que el infante se exponga a señales ambientales cíclicas, tales como el ciclo luz/oscuridad (Ariagno & Mirmiran, 2001).

El sistema que se encarga de la medición temporal biológica se conoce como circadiano y está compuesto por múltiples estructuras en el cerebro y órganos periféricos que muestran oscilaciones temporales de manera acoplada. El sistema circadiano cuenta con vías anatómico-funcionales encargadas de llevar la señal de temporalidad de los estímulos externos al reloj biológico; a estas vías de entrada de información se les conoce como vías de sincronización. La vía más relevante de sincronización es la retina, que lleva la información luminosa a través del tracto retino-hipotalámico al reloj biológico, el cual se localiza en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo. El núcleo supraquiasmático (NSQ) sincroniza a los demás osciladores del organismo a través de otras múltiples vías, que pueden ser neurales o humorales (Buijs et al., 2003; Hastings et al., 2007). Éste es considerado una pieza fundamental en el sistema circadiano, ya que su ausencia genera la pérdida de los ritmos o arritmicidad y el desacoplamiento entre los osciladores periféricos (Weaver, 1998).

El desarrollo y maduración de los componentes del sistema circadiano se dan de manera gradual y por separado; así, aunque la retina comienza su desarrollo desde la semana 20 de gestación, tenemos que es hasta los 5 años de edad que se considera totalmente madura (Seron et al., 2001). Lo anterior no descarta que desde el nacimiento ésta participe ya como una de las vías principales de sincronización. Por otro lado, el NSQ se forma a la mitad de la gestación, entre las 16 y 20 semanas (Rivkees & Hao, 2000). Para proporcionar información sobre el desarrollo del sistema circadiano en el humano se han realizado estudios anatómico funcionales en primates no humanos. A partir de estos estudios se sabe que el NSQ está presente desde finales del segundo trimestre de la gestación; además, también se ha podido determinar que el NSQ comienza a presentar oscilaciones diarias asociadas al ciclo día-noche *in utero* (Rivkees & Hao, 2000).

La función del sistema circadiano se hace evidente porque se han podido detectar ritmos circadianos en la frecuencia cardiaca y actividad pulmonar de los RN, así como a nivel de esteroidogénesis adrenal en fetos (Seron et al., 2007; Rivkees et al., 1997). También se sabe que el NSQ es sensible a la luz desde etapas muy tempranas, equivalentes en el humano a las 25 semanas de gestación (Hao & Rivkees, 1999), lo que sugiere que desde esta edad se encuentra íntegra la conectividad de la vía retino-hipotalámica hacia el NSQ. A pesar de ello, dentro del útero la sincronización del sistema circadiano es guiada por la influencia circadiana de la madre (Ohta et al., 2008).

Por otro lado, en un estudio morfológico del NSQ humano, realizado en los primeros meses de vida mediante técnicas de tinción inmunohistoquímica con anticuerpos contra la vasopresina (AVP), se pudo observar que en el momento del nacimiento el número de células que contienen AVP en el NSQ es mínimo, y que posteriormente el número de éstas aumenta considerablemente. Este aumento celular coincide con el período en el cual la ritmicidad circadiana es evidente para la mayoría de funciones fisiológicas y conductuales del infante (Swaab et al., 1985).

INFLUENCIA MATERNA EN EL DESARROLLO DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

Durante el embarazo el feto funciona como un oscilador periférico más, sólo que en el interior del útero de la madre tienen lugar señales humorales que pasan a través de la placenta para mantenerlo acoplado (ver figura 3.1). Estas señales son consideradas como una variedad de estímulos temporales no fóticos que incluyen a su vez señales nutricionales y hormonales que atraviesan la placenta (Seron et al., 2007).

Del mismo modo, se ha descrito de manera experimental que en la placenta y en el útero ocurren oscilaciones circadianas de genes reloj, llamadas así porque se expresan de manera periódica; y especialmente el gen *Per1* muestra que el útero y la decidua placentaria mantienen oscilaciones circadianas estables durante la gestación, haciendo posible que se provea al feto con otra vía de información circadiana (Akiyama et al., 2010).

En un sistema ideal, donde la madre provee de nutrientes al producto y forma parte del medio ambiente en el que el feto se desenvuelve, es lógico pensar que cualquier circunstancia que afecte directamente a la madre puede alterar al organismo *in útero* (Aagaard-Tillery et al., 2008). Es necesario hacer énfasis en la alimentación y tipo de nutrientes que

ingere la madre, ya que la exposición *in útero* de una dieta alta en grasa altera la expresión fetal de genes reloj en tejidos periféricos como el hígado (Suter et al., 2011). Estudios experimentales han demostrado que la programación de los horarios fijos de alimentación en ratas gestantes mantiene los ritmos circadianos en fetos aun si la madre tuviera lesión de NSQ (Ohta et al., 2008; Reppert et al., 1988; Nováková et al., 2010). Por lo tanto, resulta importante valorar las diversas condiciones maternas que influyen sobre el desarrollo fetal.



FIGURA 3.1. Durante el embarazo el feto funciona como un oscilador periférico más y es sincronizado por señales circadianas maternas como la melatonina, el cortisol y algunas señales metabólicas que llegan a través de la unión feto-placentaria.

Acerca de la influencia materna sobre el RN, la mayor parte de los estudios convergen al señalar el efecto negativo de problemas clínicos durante la gestación, incluyendo alteraciones metabólicas, genéticas, vasculares, autoinmunes e infecciones, las cuales afectan el crecimiento fetal y repercuten en el peso del bebé al nacer. También se ha reportado la influencia negativa de las alteraciones en el ciclo de sueño-vigilia y el estrés crónico de la madre en el RN, lo que trae como consecuencia alteraciones en el ritmo circadiano de hormonas como la melatonina y el cortisol (El-Hennamy et al., 2008).

Se sabe que un feto sano de 16-20 semanas de desarrollo presenta un ritmo de actividad locomotora y de frecuencia cardiaca con una relación estable y acoplado con el ritmo de actividad/reposo de la madre (ver figura 3.2). Sin embargo, la ausencia de una ritmicidad clara entre las semanas 20 a 24 de la gestación indica retraso en el desarrollo y crecimiento del feto (Kintraia et al., 2005).

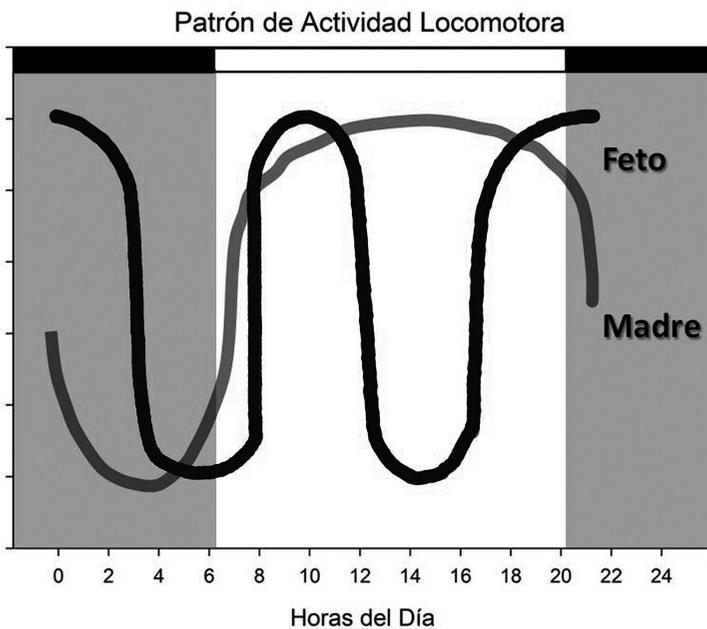


FIGURA 3.2. Gráfica que representa la correlación entre las fases de reposo y actividad del feto con respecto a las de la madre, donde se propone la existencia de una relación de fase estable entre ambos ritmos (modificada de Kintraia et al., 2005).

Por otro lado, tenemos que el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal es uno de los primeros sistemas endocrinos que se desarrolla durante la vida

fetal; la secreción de glucocorticoides es necesaria para la maduración de órganos esenciales como el pulmón y el intestino. Los niveles sanguíneos de glucocorticoides maternos aumentan durante la noche y atraviesan la placenta gracias a la saturación de la enzima 11- β hidroxilasa; esta señal hormonal materna es de suma importancia ya que los glucocorticoides en la circulación fetal contribuyen también a la adecuada maduración pulmonar (ver figura 3.3). Por lo tanto, se considera que la regulación cronobiológica del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal puede ser un mecanismo esencial para la regulación adecuada del crecimiento fetal (Kivlighan et al., 2008).

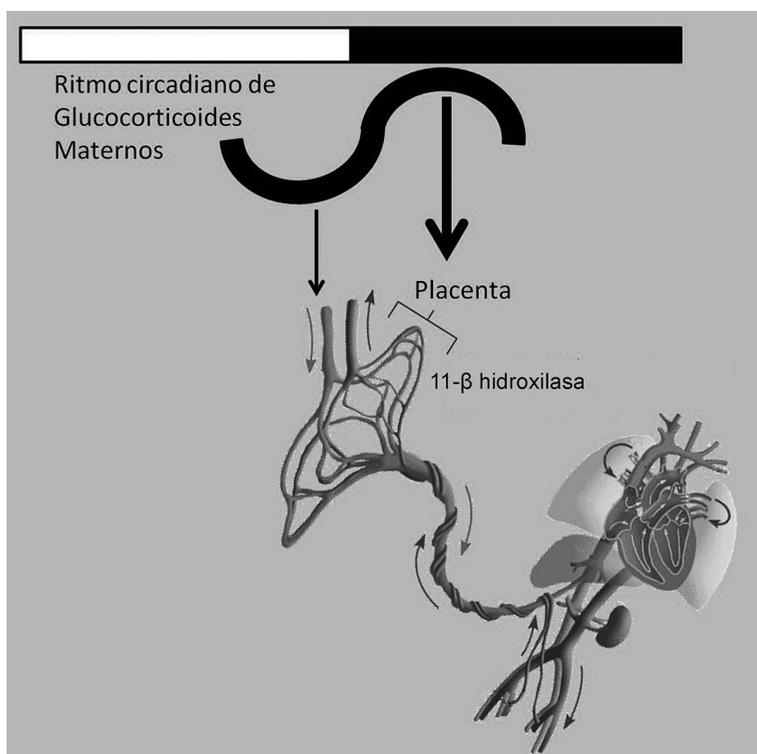


FIGURA 3.3. Modelo de transferencia de glucocorticoides de la madre al feto a través de la placenta para apoyar el desarrollo normal de los pulmones del feto. Las flechas negras verticales representan la cantidad de corticosterona transferida por la mañana (flecha delgada) o por la noche (flecha gruesa). La corticosterona fetal deriva de la madre y de la secretada por la suprarrenal fetal; esta secreción apoya el desarrollo de los órganos fetales, incluidos los pulmones.

RITMOS CIRCADIANOS EN EL RECIÉN NACIDO

La ritmicidad en los parámetros fisiológicos así como en los ritmos conductuales en los recién nacidos se ha estudiado desde principios de los

años cincuenta. Uno de los primeros estudios realizados sobre el desarrollo y maduración del ciclo sueño-vigilia en el RN es el de Kleitman & Engelmann (1953), donde los autores describen una asociación directa de la ritmicidad del ciclo sueño-vigilia con la demanda de alimentación de los recién nacidos. La observación directa de infantes durante los primeros seis meses de vida evidenció un cambio de patrones ultradianos a ciclos con períodos de alrededor de 25 horas para las ocho semanas de edad, y se observó un patrón sincronizado a 24 horas en el ciclo sueño-vigilia alrededor de las 16 semanas de edad (Henderson et al., 2010).

También se han evaluado patrones de actividad/reposo en recién nacidos, así como frecuencia cardíaca, temperatura y sueño (Weaver, 1998), pero, a pesar de esto, la caracterización de los ritmos circadianos ha sido muy complicada. Algunos estudios han revelado sólo la presencia de ritmos con períodos menores a 24 horas (ultradianos) a temprana edad (Anders & Keener, 1985; Glotzbach et al., 1995).

La expresión de ritmos circadianos en recién nacidos estudiados en la actualidad no son totalmente claros, probablemente la razón sea que el alimento y el contacto físico materno influyen en dichas variables enmascarando la detección de ritmos circadianos. Por ello existe una disyuntiva constante en este campo de la exploración cronobiológica neonatal, pues se menciona que no se encuentran ritmos circadianos presentes al nacimiento en cualquiera de las funciones que se midan, como la frecuencia cardíaca, el sueño-vigilia, la temperatura, la resistencia eléctrica de la piel y función renal. Este concepto de la falta de ritmicidad al nacimiento y el desarrollo gradual de los ritmos circadianos ha sido consistente en estudios clásicos de los recién nacidos. Gracias a la utilización de sistemas de análisis de datos más sofisticados que han permitido la descripción tanto en el feto como en el RN, recientemente se ha evidenciado la ritmicidad circadiana en funciones cardiovasculares y pulmonares de los mismos, pudiendo utilizar la función circadiana de los ritmos en el RN como un índice de valoración de un RN sano o de alto riesgo.

Los hallazgos anteriores aclaran algunas ideas sobre el desarrollo de los ritmos circadianos en los recién nacidos, por ejemplo: 1) Las diferentes funciones fisiológicas desarrollan su ritmicidad circadiana de forma independiente, 2) El ritmo circadiano de las diferentes funciones se manifiesta en distintos momentos después del nacimiento, y 3) Durante el desarrollo, la periodicidad circadiana muestra un aumento en el rango de oscilación y esto se produce en todas las funciones fisiológicas (Henderson et al., 2010; Rivkees, 2004).

Así mismo, se ha podido observar que en niños recién nacidos a término y sanos, las condiciones ambientales a las que se exponen inmediatamente después del nacimiento pueden retardar su adaptación o, por el contrario, favorecer una rápida y adecuada respuesta a los ciclos del medio externo. Un ejemplo claro de la relevancia de las condiciones ambientales fue reportado en un estudio, en donde se revela que la programación de los horarios de alimentación en recién nacidos reduce el tiempo requerido para la adaptación a un horario diurno de actividad-reposo. Dicho estudio se realizó con dos hermanos gemelos, donde a uno de ellos (el primogénito) la alimentación nocturna se le suspendió a partir de la quinta semana de nacido y sólo tuvo acceso al alimento durante el día, lo que favoreció la aparición de un ritmo circadiano de actividad/reposo estable 4 semanas después; por el contrario, en el hermano (el que nació en segundo lugar), al que se le permitió la alimentación nocturna hasta la semana 13 posparto, se retardó la aparición de una organización circadiana del ciclo sueño-vigila hasta después de la semana 27 de nacido. El estudio concluye que la manipulación de los horarios de alimentación, además del ciclo luz/oscuridad, es primordial para la organización circadiana (Lörh & Siegmund, 1999). De este modo, las señales temporales son de vital importancia para el desarrollo y la sincronización del sistema circadiano.

Por otro lado, tenemos que la alternancia de la luz es una potente e importante señal temporal para los recién nacidos, lo cual quedó demostrado en otro estudio realizado en recién nacidos sanos a los cuales se les mantuvo en condiciones de luz constante durante los primeros diez días posnatales y quienes tardaron aproximadamente 25 días después del egreso hospitalario en mostrar una organización rítmica circadiana en la conducta de actividad/reposo; este caso se comparó con otro grupo de recién nacidos a los cuales se les colocó bajo un ciclo de luz/oscuridad (12 horas de luz/12 horas de oscuridad), y quienes durante los primeros diez días posnatales mostraron una organización circadiana del ritmo actividad-reposo inmediatamente después del egreso hospitalario (Rivkees et al., 2002).

Los resultados de estos estudios revelan que el sistema circadiano después del nacimiento es totalmente funcional, que tiene la capacidad de responder y sobre todo de sincronizarse a eventos ambientales temporalmente regulares y predecibles, como en el ejemplo del alimento y la luz. En este sentido, la luz tiene efectos potenciales para la salud y el desarrollo, por lo que un ambiente de luz constante se relaciona con estrés en los infantes, manifestándose un incremento en los niveles de actividad locomotora, disminuyendo las horas de sueño, produciendo arritmicidad

y bradicardia (Mirmiran & Ariagno, 2000). Estos hallazgos se han replicado experimentalmente en roedores nocturnos, donde la presencia de luz constante induce la pérdida gradual de diversos ritmos circadianos y, en algunos casos, la aparición de ritmos de mayor frecuencia o ultradianos (Deprés-Brummer et al., 1995). En nuestro laboratorio hemos visto, además, que la exposición a la luz constante desde el nacimiento induce a una degeneración en la retina, así como a trastornos circadianos conductuales.

ADAPTACIÓN DE LOS RECIÉN NACIDOS PRETÉRMINO A EVENTOS CRONOSTÁTICOS

Con los hallazgos mencionados previamente se deduce que la adaptación fisiológica posnatal se ve comprometida por factores maternos y factores propios del desarrollo, por lo que es de suponer que las respuestas fisiológicas adaptativas en los bebés prematuros sean inadecuadas y estos tarden mayor tiempo en adaptarse (Jackson et al., 2004).

Estudios realizados con recién nacidos prematuros indican que tienen un retraso en el desarrollo de los ritmos circadianos en comparación con los recién nacidos a término (Rivkees & Hao, 2000), esto aunado a las condiciones ambientales a las que son expuestos durante el período neonatal, ya que en la mayoría de los servicios de perinatología los recién nacidos pretérmino son hospitalizados por períodos prolongados bajo condiciones de iluminación constante, ya sea luz constante o luz tenue constante, es decir, no existe una alternancia significativa en las intensidades de iluminación entre una fase de luz y una de oscuridad. Como mencionamos previamente, es muy importante exponer a los recién nacidos a eventos cíclicos externos para favorecer y estimular el desarrollo del sistema circadiano, sin embargo, por las necesidades de vigilancia intrahospitalaria del RN es difícil poder establecer este tipo de iluminación de luz/oscuridad en las unidades de cuidados intensivos neonatales.

Actualmente se han podido realizar algunos estudios donde se han examinado los efectos de la sincronización por luz en los bebés recién nacidos pretérmino. En uno de estos estudios se examinó el desarrollo del ritmo circadiano de actividad/reposo en recién nacidos pretérmino, de tal forma que un grupo de bebés fue expuesto a condiciones de luz continua y el otro grupo a ciclos de luz/oscuridad durante diez días en el hospital antes de darlos de alta. En los recién nacidos que fueron expuestos al ciclo luz/oscuridad se observó una sincronización más rápida con el medio exterior y la aparición de ritmos circadianos en el ciclo sueño-vigilia (Rivkees et al., 2002).

Con esta misma manipulación de imponer un ciclo de luz/oscuridad en recién nacidos pretérmino durante su estancia intrahospitalaria se presenta como resultado una mayor ganancia de peso, así como mayor duración de los períodos de sueño durante las 24 horas del día, a diferencia de los infantes que se mantienen en condiciones constantes de iluminación, donde se ha encontrado la presencia de patrones caóticos en el ciclo de actividad/reposo y menor ganancia de peso corporal (Mann et al., 1986). Debido a lo anterior, recientemente se ha sugerido que la exposición de los infantes a ciclos de luz/oscuridad favorece el incremento de peso y el crecimiento intrahospitalario (Brandon et al., 2002). Por lo que, considerando la dificultad para detectar y registrar ritmicidad circadiana en recién nacidos pretérmino, los mecanismos por los cuales la luz puede influir en el crecimiento de prematuros no están claros (Rivkees y Hao, 2000), ya que la ritmicidad no es aparente en recién nacidos pretérmino sino hasta después de seis semanas posteriores al nacimiento.

Estas conclusiones se han basado en registros continuos de temperatura rectal durante 48 horas y en registros continuos de actividad/reposo (Glotzbach et al., 1995; Mirmiran & Ariagno, 2000; McGraw et al., 1999). Por otro lado, hay quien afirma que se pueden evidenciar ritmos circadianos en recién nacidos pretérmino que fueron expuestos a ciclos de luz/oscuridad desde el momento del nacimiento utilizando sensores de actividad locomotora conectados a un monitor que registraba los ritmos de reposo/actividad (Rivkees, 2003).

También se ha documentado que un ambiente de luz constante puede contribuir a enfermedades del ojo en infantes prematuros (Glass et al., 1985) produciendo degeneración retiniana, pues como anteriormente se comentó, la retina es la vía principal de entrada de la señal de sincronización para el sistema circadiano, y si ésta se encuentra bajo luz constante, además de sufrir los efectos directos de la propia luz, en un principio estará estimulando de manera continua al NSQ. Se sabe que la luz constante genera un fenómeno de pérdida del ritmo circadiano en animales de experimentación, por lo que algunos investigadores proponen un programa asistencial del desarrollo de cuidados neonatales individualizados, sugiriendo que dado que el útero es oscuro los infantes pueden desarrollarse mejor en un ambiente de oscuridad que en uno de luz constante (Als et al., 1994).

En contraparte, otros autores postulan que prenatalmente el infante está expuesto a ritmos de la madre que se encuentran sincronizados al ciclo luz/oscuridad y que indirectamente el RN se sincroniza a su vez a esta señal (Reppert et al., 1988). Esto sugiere entonces que la utilización de ciclos de

luz/oscuridad inmediatamente después del nacimiento puede ser benéfica para el producto, sin embargo, la falta de más estudios clínicos experimentales en el área han generado una ausencia de consenso en cuanto a la utilización o no del ciclo de luz/oscuridad como una medida de rutina en la unidades de cuidados intensivos neonatales (UCIN). Por otro lado, el uso de condiciones de luz constante en la mayoría de los servicios de hospitalización no tiene una base científica sólida (Ariagno & Mirmiran, 2001).

Tomando en cuenta que el sistema circadiano es fundamentalmente homeostático-temporal, que influye potentemente sobre el desarrollo humano y que después del nacimiento requiere una progresiva maduración, la implementación de estudios que refuercen la biología circadiana llegará a ser un importante componente de los cuidados neonatales. Por nuestra parte, convencidos por la hipótesis de “que el establecer un ciclo luz/oscuridad a los bebés nacidos prematuramente que se encuentran en las UCIN ayuda a mejorar su evolución y a establecer patrones rítmicos fisiológicos y conductuales”, realizamos un estudio clínico-experimental con bebés recién nacidos pretérmino sanos, dividiéndolos en dos grupos:

- 1) Un grupo control que se mantuvo en condiciones de iluminación constante habitual en la UCIN.
- 2) Un grupo experimental al que se le impuso un ciclo de luz/oscuridad. Para producir la fase de oscuridad se utilizaron cascos de acrílico cubiertos con tela, como se muestra en la figura 3.4.

GRUPOS

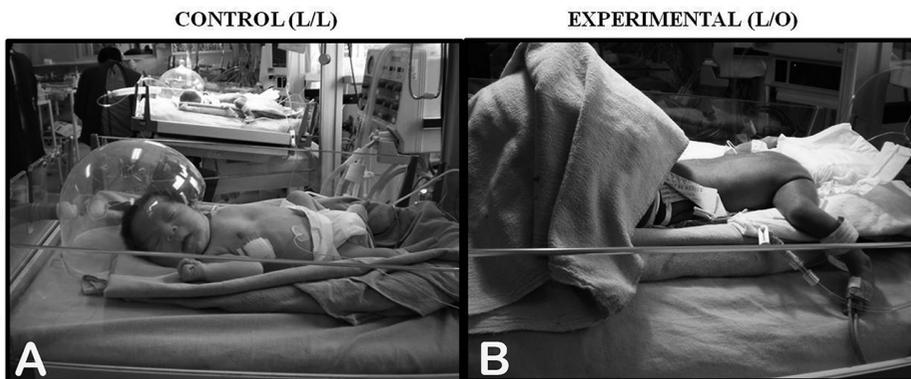


FIGURA 3.4. Fotografía donde se muestra la utilización de cascos de acrílico (A) cubiertos con tela para establecer un ciclo de luz/oscuridad (B) en recién nacidos pretérmino en la UCIN; esta medida logra una diferencia significativa en la intensidad de iluminación 250 lux durante el día y 27 lux durante la fase de oscuridad.

Esta medida permitió establecer una diferencia significativa de iluminación durante el día y durante la noche. Se realizaron evaluaciones de signos vitales así como de consumo de alimento y ganancia de peso corporal diariamente desde el día del nacimiento hasta su alta de la UCIN. Como se esperaba, en estos recién nacidos no pudimos identificar claramente un ritmo circadiano en ninguno de los parámetros evaluados, lo cual coincide con lo mencionado con anterioridad en cuanto a que durante los primeros días de nacidos los bebés sólo presentan algunos ritmos ultradianos; no obstante, en este estudio encontramos que al establecer un ciclo de luz/oscuridad los bebés tuvieron mejor tolerancia al alimento, disminución en el número de vómitos y en evacuaciones diarreas en comparación con los bebés que están en condiciones de luz constante.

Los resultados obtenidos mostraron que los bebés no perdieron peso sino que, por el contrario, la ganancia de peso corporal fue más rápida y constante (ver figura 3.5); consecuentemente estos bebés se dieron de alta hospitalaria más rápido, egresando en promedio 20 días antes que los bebés que estuvieron bajo una luz constante.

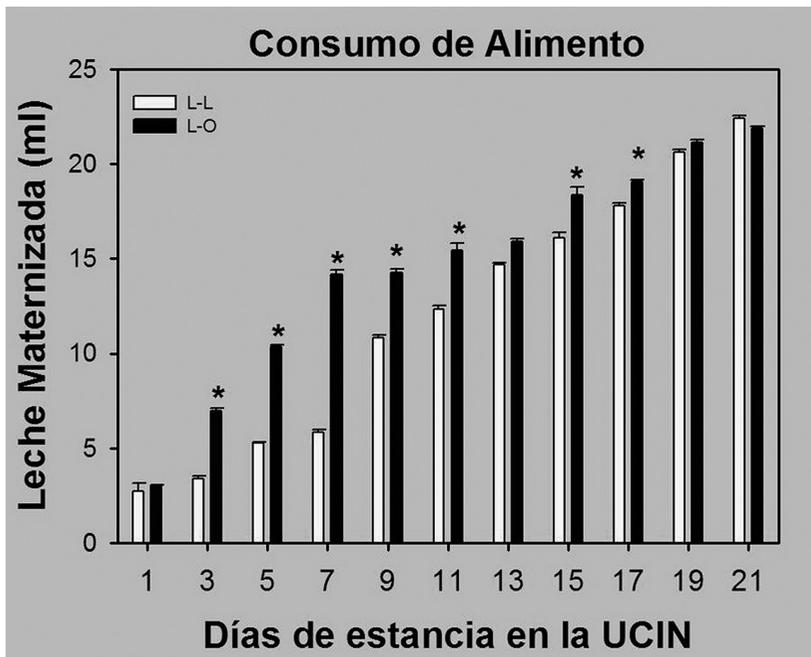


FIGURA 3.5. Gráfica donde se muestra que el grupo de recién nacidos que estuvo en condiciones de luz/oscuridad (barras negras) presentó mayor consumo de la fórmula láctea comparado con los bebés que estuvieron bajo condiciones de luz constante (barras blancas), principalmente durante los primeros 12 días.

Esto, por supuesto, es una gran ventaja porque se reduce directamente el riesgo de adquirir enfermedades nosocomiales, además de que existe un ahorro económico tanto familiar como hospitalario. Por otra parte, en las mediciones que analizamos también pudimos observar que a partir del cuarto día bajo condiciones de luz/oscuridad los bebés mostraron mejoría notable, por ejemplo, en la perfusión periférica de oxígeno, medida por pulso-oximetría, así como una mejor oxigenación en comparación con los bebés bajo condiciones de iluminación constante (ver figura 3.6). Con estos resultados hemos podido comprobar las ventajas que ofrece el ciclo de luz/oscuridad durante los primeros días después del nacimiento, por lo que proponemos que en todas las UCIN deberían revalorarse las normas internas que sugieren mantener a los bebés en condiciones de iluminación constante, así como sus ventajas y desventajas sobre la salud.

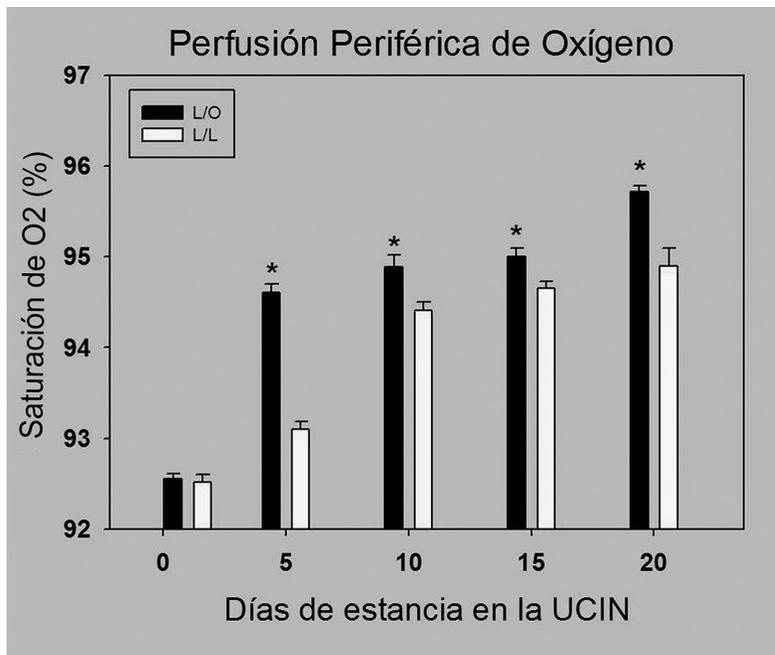


FIGURA 3.6. Gráfica donde se representa la perfusión periférica de oxígeno medida por pulso-oximetría. Se puede observar que los bebés mantenidos bajo el ciclo luz/oscuridad (barras negras) tienen una mejor oxigenación comparados con los bebés en condiciones de iluminación constante (barras blancas).

CONCLUSIONES

El conocimiento sobre fenómenos tan sutiles como el efecto del ciclo luz/oscuridad en el desarrollo y maduración de los sistemas de re-

gulación homeostática se debe ampliar con más estudios clínicos que exploren otras variables y, sobre todo, habrá que tomar en cuenta los resultados ya existentes como parte integral de la atención al recién nacido, como los ya reportados en este trabajo: que la exposición de los lactantes prematuros con un ciclo de luz/oscuridad mejora la estabilidad de la frecuencia cardiaca y la saturación de oxígeno periférico, que tienen una ganancia rápida de peso y, sobre todo, que disminuye la duración de la estancia hospitalaria. Esto último es muy importante porque no sólo el bebé llega rápidamente al lecho familiar, sino que también reduce su tiempo de exposición a enfermedades nosocomiales, al mismo tiempo que los costos económicos directos e indirectos en los servicios de salud y la familia son menores.

En un sentido más amplio podemos comentar que la utilización de los conocimientos adquiridos a través de los estudios cronobiológicos para descubrir la predisposición a determinadas enfermedades o para explorar el momento más adecuado en la administración de un tratamiento tiene un gran potencial que no se ha explotado adecuadamente. Es importante realizar diseños experimentales rigurosos en este campo que permitan demostrar las aportaciones de la cronobiología a la comunidad médica.

REFERENCIAS

- AAGAARD-TILLERY, K. M., Grove, K., Bishop, J., Ke, X., Fu, Q., McKnight, & Lane, R. H. (2008). Developmental origins of disease and determinants of chromatin structure: Maternal diet modifies the primate fetal epigenome. *Journal of Molecular Endocrinology*, 41, 91-102.
- AKIYAMA, S., Ohta, H., Watanabe, S., Moriya, T., Hariu, A., Nakahata, N., ... Yaegashi, N. (2010). The uterus sustains stable biological clock during pregnancy. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 221, 287-98.
- ALS, H., Lawhon, G., Duffy, F. H., McAnulty, G. B., Gibes-Grossman, R., & Blickman, J. G. (1994). Individualized developmental care for the very low-birth weight preterm infant. Medical and neurofunctional effects. *JAMA*, 272, 853-858.
- ANDERS, T. F., & Keener, M. (1985). Developmental course of nighttime sleep-wake patterns in full-term and premature infants during the first year of life. *Sleep*, 8, 173-92.
- ARIAGNO, R. L., & Mirmiran, M. (2001). Shedding light on the very low birth weight infant. *The Journal of Pediatrics*, 139, 476-477.

- BRANDON, D. H., Holditch-Davis, D., & Belyea, M. (2002). Preterm infants born at less than 31 weeks' gestation have improved growth in cycled light compared with continuous near darkness. *The Journal of Pediatrics*, 140, 192-199.
- BUIJS, R. M., la Fleur, S. E., Wortel, J., Van Heyningen, C., Zuiddam, L., & Mettenleiter, T. C. (2003). The suprachiasmatic nucleus balances sympathetic and parasympathetic output to peripheral organs through separate preautonomic neurons. *The Journal of Comparative Neurology*, 464, 36-48.
- CLOHERTY, J. P., Eichenwald, E. C., y Stark, A. R. (2009). *Manual de neonatología* [Sexta Edición]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- DEPRÉS-BRUMMER, P., Lévi, F., Metzger, G., & Touitou, Y. (1995). Light-induced suppression of the rat circadian system. *American Journal of Physiology*, 268, R1111-R1116.
- EL-HENNAMY, R., Mateju, K., Bendová, Z., Sosniyenko, S., & Sumová, A. (2008). Maternal control of the fetal and neonatal rat suprachiasmatic nucleus. *Journal of Biological Rhythms*, 23, 435-444.
- GLASS, P., Avery, G. B., Subramanian, K. N., Keys, M. P., Sostek, A. M., & Friendly, D. S. (1985). Effect of bright light in the hospital nursery on the incidence of retinopathy of prematurity. *The New England Journal of Medicine*, 313, 401-404.
- GLOTZBACH, S. F., Edgar, D. M., & Ariagno, R. L. (1995). Biological rhythmicity in preterm infants prior to discharge from neonatal intensive care. *Pediatrics*, 95, 231-237.
- HAO, H., & Rivkees, S. A. (1999). The biological clock of very premature primate infants is responsive to light. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96, 2426-2429.
- HASTINGS, M., O'Neill, J. S., & Maywood, E. S. (2007). Circadian clocks: Regulators of endocrine and metabolic rhythms. *Journal of Endocrinology*, 195, 187-98.
- HENDERSON, J. M., France, K. G., Owens, J. L., & Blampied, N. M. (2010). Sleeping Through the Night: The Consolidation of Self-regulated Sleep Across the First Year of Life. *Pediatrics*, 126, e1081-e1087.
- JACKSON, J. A., Wailoo, M. P., Thompson, J. R., & Petersen, S. A. (2004). Early physiological development of infants with intrauterine growth retardation. *ADC Fetal & Neonatal Edition*, 89, F46-F50.
- KINTRAIA, P. I., Zarnadze, M. G., Kintraia, N. P., & Kashakashvili, I. G. (2005). Development of daily rhythmicity in heart rate and locomotor activity in the human fetus. *Journal of Circadian Rhythms*, 3, 5.

- KIVLIGHAN, K T., DiPietro, J. A., Costigan, K. A., & Laudenslager, M. L. (2008). Diurnal rhythm of cortisol during late pregnancy: Associations with maternal psychological well-being and fetal growth. *Psychoneuroendocrinology*, 33, 1225-1235.
- KLEITMAN, N., & Engelmann, T. G. (1953). Sleep characteristics of infants. *Journal of Applied Physiology*, 6, 269-282.
- LÖRH, B., & Siegmund, R. (1999). Ultradian and circadian rhythms behavior during early infancy of sleep-wake and food-intake. *Chronobiology International*, 16, 129-148.
- MANN, N. P., Haddow, R., Stokes, L., Goodley, S., & Rutter, N. (1986). Effect of night and day on preterm infants in a newborn nursery: Randomised trial. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 293, 1265-1267.
- MCGRAW, K., Hoffmann, R., Harker, C., & Herman, J. H. (1999). The development of circadian rhythms in a human infant. *Sleep*, 22, 303-310.
- MIRMIRAN, M., & Ariagno, R. L. (2000). Influence of light in the NICU on the development of circadian rhythms in preterm infants. *Seminars in Perinatology*, 24, 247-257.
- NOVÁKOVÁ, M., Sládek, M., & Sumová, A. (2010). Exposure of pregnant rats to restricted feeding schedule synchronizes the SCN clocks of their fetuses under constant light but not under a light-dark regime. *Journal of Biological Rhythms*, 25, 350-360.
- OHTA, H., Xu, S., Moriya, T., Ligo, M., Watanabe, T., Nakahata, ...Okamura, K. (2008). Maternal feeding controls fetal biological clock. *PLOS ONE*, 3(7), e2601.
- REPPERT, S. M., Weaver, D. R., & Rivkees, S. A. (1988). Maternal communication of circadian phase to the developing mammal. *Psychoneuroendocrinology*, 13, 63-78.
- RIVKEES, S. A. (2003). Developing circadian rhythmicity in infants. *Pediatrics*, 112, 373-381.
- RIVKEES, S. A. (2004). Emergence and influences of circadian rhythmicity in infants. *Clinics in Perinatology*, 31, 217-228.
- RIVKEES, S. A., & Hao, H. (2000). Developing circadian rhythmicity. *Seminars in Perinatology*, 24, 232-242.
- RIVKEES, S. A., Hofman, P. L., Fortman, J. (1997). Newborn primate infants are entrained by low intensity lighting. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94, 292-297.
- RIVKEES, S. A., Gross, I., & Mayes, L. (2002). Influence of cycled lighting on the development of rest-activity patterns in premature infants. *Pediatric Research*, 51, 375.

- SERON, F. M., Torres, F. C., Forcelledo, M. L., & Valenzuela, G. J. (2001). The development of circadian rhythms in the fetus and neonate. *Seminars in Perinatology*, 25, 363-370.
- SERON, F. M., Valenzuela, G. J., & Torres, F. C. (2007). Circadian clocks during embryonic and fetal development. *Birth Defects Research*, 81(3), 204-214.
- SUTER, M., Bocock, P., Showalter, L., Hu, M., Shope, C., McKnight, R., ...Aagaard-Tillery, K. (2011). Epigenomics: Maternal high-fat diet exposure in utero disrupts peripheral circadian gene expression in nonhuman primates. *The FASEB Journal*, 25, 714-726.
- SWAAB, D. F., Fliers, E., Portiman, T. S. (1985). The suprachiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age, and dementia. *Brain Research*, 342, 37-44.
- WEAVER, D. R. (1998). The suprachiasmatic nucleus: A 25-year retrospective. *Journal of Biological Rhythms*, 13, 100-112.

.4.

REGULACIÓN GENÉTICA, EPIGENÉTICA Y METABÓLICA DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

*Adrián Báez Ruiz,¹ Vania Carmona Alcocer,² Isabel Méndez³
y Mauricio Díaz Muñoz⁴*

INTRODUCCIÓN

La coordinación temporal de las respuestas metabólicas y fisiológicas cobra gran importancia en el contexto evolutivo de adaptación de los seres vivos a los ciclos geofísicos de nuestro planeta. Esta adaptación permite la correcta secuencia en la expresión conductual, el mensaje

¹ Doctor en Ciencias Biomédicas, UNAM-Juriquilla. Ha colaborado en investigación en el Instituto de Neurobiología, UNAM-Juriquilla.

² Doctora en Ciencias, UNAM. Ha sido profesora por asignatura en la Facultad de Ciencias, UNAM. Actualmente cursa un posdoctorado en el Instituto de Neurobiología, UNAM-Juriquilla.

³ Doctora en Ciencias, UNAM. Investigadora asociada del Instituto de Neurobiología, UNAM-Juriquilla. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

⁴ Doctor en Investigación Biomédica Básica, UNAM. Investigador titular del Instituto de Neurobiología, UNAM-Juriquilla. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

hormonal o la activación enzimática en función de las necesidades impuestas por el ambiente. De esta forma, los organismos son capaces de “anticipar” el reto metabólico, fisiológico o conductual que se puede presentar a lo largo del ciclo luz/oscuridad. En este marco, los ritmos circadianos forman parte integral y esencial de la fisiología de la inmensa mayoría de los organismos conocidos.

Los ritmos circadianos, cuyo período de fluctuación se encuentra cercano a las 24 horas, son fenómenos convergentes que han aparecido a lo largo de la escala filogenética. Por ejemplo, se reconocen mecanismos de medición de tiempo en organismos tan variados como cianobacterias, hongos, plantas, insectos, moluscos, así como en todos los vertebrados (Harmer et al., 2001). Aunque cada uno de estos grupos representa una estrategia evolutiva diferente, todos los sistemas capaces de incorporar en su biología la facultad de medir el tiempo presentan los siguientes elementos: 1) Un componente sincronizable a las variaciones geofísicas imperantes, 2) Un dispositivo marcapaso o reloj molecular, y 3) Vías de salida que confieren especificidad fenotípica.

El desarrollo de este capítulo está centrado principalmente en describir los factores y elementos que conforman el reloj molecular (sistema de genes y sus productos transcripcionales) en mamíferos, tanto en el núcleo supraquiasmático (NSQ) como en osciladores periféricos. Estos son considerados como los principales mecanismos de regulación de los ritmos circadianos en los niveles transcripcional, epigenético y metabólico.

LA GENÉTICA DEL RELOJ MOLECULAR

La mayor parte de los procesos biológicos requieren de la activación e inactivación de ciertos genes, y las oscilaciones circadianas no son la excepción. De aquí que la maquinaria básica encargada de generar los ritmos circadianos en el NSQ sea intracelular, es decir, cada neurona funciona como un oscilador y tal oscilación se produce por las asas de retroalimentación de transcripción-traducción de los genes reloj (Ko & Takahashi, 2006). Por lo tanto, los ritmos circadianos que se observan en los organismos dependen de que se lleven a cabo de manera periódica los fenómenos tanto de transcripción –que es el flujo de la información genética de una molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA, por sus siglas en inglés) a una molécula de ácido ribonucleico (RNA, por sus siglas en inglés)– como de traducción –que es el paso de moléculas de RNA a moléculas funcionales como las proteínas (Kornberg, 2007). En este sentido, se ha identificado una serie de genes y sus respectivas proteínas

que participan en la generación de la ritmicidad circadiana a través de un asa positiva como los genes *Clock* y *Bmal*, y de un asa negativa, como los genes *Per* y *Cry*; otros genes que participan en este mecanismo son *Rev-erb-a* y *Dec*. A este conjunto de genes se les ha denominado “genes reloj” (Ko & Takahashi, 2006).

El asa de transcripción/traducción de los genes reloj se caracteriza por tener diferentes puntos de regulación de la expresión de los genes: a nivel transcripcional controlando o previniendo el reclutamiento del RNA polimerasa II; a nivel postranscripcional involucra la maduración del RNA por edición (en inglés: *Splicing*) y los arreglos a nivel de la cromatina (ver figura 4.1).

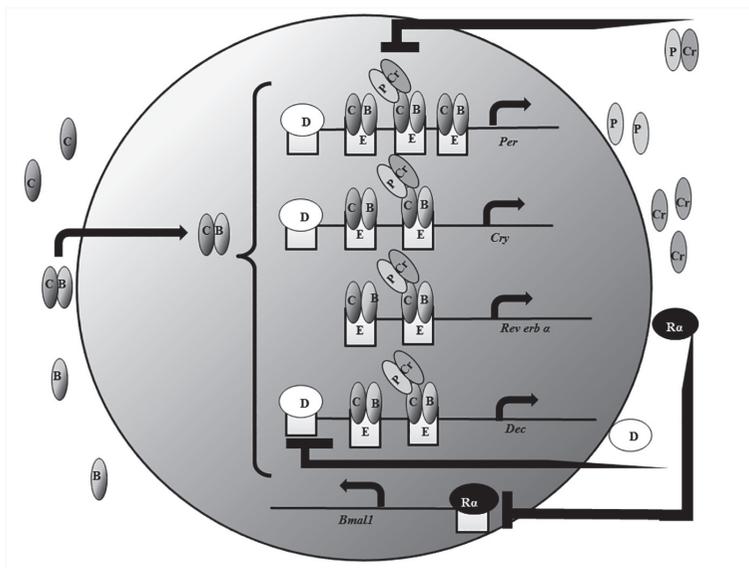


FIGURA 4.1. Regulación genética. Asa básica de transcripción/traducción de los genes reloj. Las proteínas CLOCK (C) y BMAL1 (B) activan la transcripción de los genes que contienen cajas E en su región promotora. Por su parte, las proteínas PER (P) y CRY (Cr) inhiben la transcripción de los mismos genes. DEC (D) y REV ERB α ($R\alpha$) actúan como represores.

Regulación a nivel transcripcional. Factores de transcripción

La regulación a nivel transcripcional es una pieza clave para el funcionamiento del reloj circadiano, ésta involucra la participación de factores de transcripción que son proteínas capaces de interactuar con secuencias cortas del DNA a las que se denominan regiones *cis*-reguladoras o motivos del DNA. Las regiones *cis* constan a su vez de una región proximal que sirve para el reconocimiento del RNA Polimerasa II, así como de

una distal, donde se encuentran las secuencias que interaccionan con los factores transcripcionales. Por su parte, los factores de transcripción se componen de un dominio de unión al DNA que entra en contacto con la secuencia *cis*, y un dominio de regulación transcripcional que activa o reprime la transcripción del gen (Walhout, 2006).

En el asa básica de transcripción/traducción de los genes reloj encontramos 2 factores que controlan el asa de oscilación. Así, los productos dimerizados de los genes *Clock* y *Bmal1* (CLOCK-BMAL1) (Debruyne et al., 2006) activan la transcripción de los genes *Per1*, *Per2* (Bae et al., 2001), *Cry1*, *Cry2* (Kume et al., 1999), *Dec1*, *Dec2* (Hamaguchi et al., 2004) y *Rev-erb- α* (Triqueneaux et al., 2004). A su vez, las proteínas PER-CRY reprimen tanto la actividad de CLOCK-BMAL1, ya que este dímero inhibe la transcripción de *Per* y *Cry* (Sato et al., 2006), como la transcripción de *Rev-erb- α* (Preitner et al., 2002) y de *Dec* (Hamaguchi et al., 2004).

El asa de retroalimentación negativa es necesaria para sostener la oscilación circadiana, como lo demuestran mutaciones en los genes *Per* y *Cry* (Cermakian et al., 2001). Por otra parte, los elementos como *Rev-erb- α* y *Dec* ayudan a estabilizar el ciclo. La proteína REV-ERB α también actúa como un factor de transcripción que inhibe la transcripción de *Bmal1*. Así, cuando el complejo PER-CRY reprime a CLOCK-BMAL1 disminuye la expresión de *Rev-erb- α* , lo que conduce a la transcripción de *Bmal1*, asegurando que el ciclo se repita y regulando la salida rítmica del reloj (Sato et al., 2004b). Por su parte, las proteínas DEC1 y DEC2 pueden reprimir su propia transcripción (Sato et al., 2004a), así como la transcripción de los genes *Per* y *Cry* (Hamaguchi et al., 2004).

Proteínas PER y CRY

Estas proteínas forman parte del asa de retroalimentación negativa. Para el caso de PER, en *Drosophila*, se ha caracterizado que posee un dominio PAS (Yildiz et al., 2005) que permite formar homo o heterodímeros. Una de las modificaciones postranscripcionales más importantes que sufren PER y CRY es la fosforilación por la caseína cinasa δ o ξ , lo que produce heterodímeros PER-CRY (Eide et al., 2002). Ahora se sabe que PER fosforilado es más estable, lo que permite su acumulación y formación de dímeros con CRY, por lo que se ha sugerido que la fosforilación determina la estabilidad del período de oscilación (Yagita et al., 2000; Eide et al., 2005). Por último, se ha demostrado que la formación de los heterodímeros PER-CRY previene la ubiquitinación de PER y su degradación en el citoplasma (Yagita et al., 2002).

Por su parte, CRY parece ser un fuerte represor del dímero formado por los factores de transcripción CLOCK-BMAL1 (Griffin et al., 1999). Estudios en las proteínas CRY del pez cebra han llevado a identificar al dominio RD-2b, que interactúa con el heterodímero CLOCK-BMAL1 impidiendo que se asocie con el DNA, y evitando la transcripción de los genes de salida (Hirayama et al., 2003).

Proteínas CLOCK y BMAL

Las proteínas CLOCK y BMAL1 pertenecen a una subfamilia de factores de transcripción llamados bHLH/PAS, los cuales se caracterizan por presentar un dominio HLH que consta de 2 hélices alfa conectadas por un asa de longitud variable y un dominio PAS (Kewley et al., 2004). Los factores de transcripción bHLH regulan diferentes funciones celulares, como el ciclo celular, la diferenciación celular, la respuesta al estrés y los ritmos circadianos (Massari & Murre, 2000). Esta subfamilia de proteínas se caracteriza por unir secuencias *cis*-reguladoras conocidas como “cajas E”. Se sabe que CLOCK-BMAL1 facilitan su fosforilación y su eventual translocación al núcleo (Kondratov et al., 2003).

La funcionalidad de las cajas E en el sistema circadiano

El hecho de que los genes reloj y los genes controlados por reloj presenten oscilaciones circadianas robustas llevó a proponer la existencia de secuencias *cis*-reguladoras a las que se llamó empíricamente “cajas-reloj” (Ishida, 1995). Más tarde, la evidencia apuntó a que estos elementos reguladores eran cajas E, que son secuencias de nucleótidos hexaméricas del tipo CACGTG, pudiendo ser también cajas no canónicas del tipo CANN TG (donde C es citosina, A es adenina, T es timina, G es guanina y N es cualquier nucleótido) a las cuales se pueden unir factores de transcripción del tipo BHLH/PAS, como las proteínas BMAL (Hogenesch et al., 1998) y CLOCK (Darlington et al., 1998). Hao y colaboradores (1997) describieron el primer promotor que contenía cajas E en el gen *Per* de *Drosophila* y demostraron que éstas conferían una amplitud notable al ritmo de RNAm. Posteriormente, al remover otras secuencias en el promotor observaron que el conservar la caja E era suficiente para la expresión rítmica del RNAm (Hao et al., 1999).

Para considerar a las cajas E como un elemento circadiano –ya que estas secuencias son reconocidas por toda una serie de factores transcripcionales y no sólo por las proteínas reloj (Blackwell et al., 1993)–, se ha

propuesto que dependen del contexto para su función. Por ejemplo, un estudio reveló que existe evidencia de que las secuencias que flanquean a la caja E pueden restringir el rango de factores transcripcionales que se unen a este elemento. Así, se han identificado 2 secuencias consenso: $C_{-3}A_{-2}C_{-1}G_{+1}T_{+2}G_{+3}A_{+4}$ y $T_{-3}A_{-2}C_{-1}G_{+1}T_{+2}G_{+3}A_{+4}$, las cuales facilitan la unión de CLOCK a la caja E. Este estudio sugirió que CLOCK/BMAL se une con alta afinidad a la secuencias de caja E cuando éstas tienen en su extremo 3' una C; más aún, BMAL1 se une específicamente a la mitad de la caja E cuando está flanqueada en su extremo 3' por una AGTGA. Los ensayos *in vitro* también sugirieron que CLOCK/BMAL1 se une a la secuencia (G/T)G(A/G)ACACGTGACCC. Esta información permitió conocer las secuencias potenciales, sin olvidar que las modificaciones postranscripcionales en los factores transcripcionales pueden modular la especificidad y afinidad de la proteína por estas secuencias (Hogenesch et al., 1998).

En el caso de algunos genes como *Per* se han encontrado 5 cajas E canónicas seguidas, mientras que *Per2* presenta 12 cajas no canónicas situadas a 1.07 kb corriente arriba del inicio de la transcripción (Travnickova-Bendova et al., 2002). Se ha sugerido que la presencia de múltiples cajas E tiene un efecto sumatorio sobre la activación de los genes por el complejo CLOCK-BMAL1 (Hida et al., 2000).

Una característica que debemos destacar es que las cajas E no son exclusivas de las regiones promotoras de los genes reloj; esto es importante ya que se ha descrito que algunos genes que presentan expresión rítmica tienen cajas E y su transcripción es activada por el heterodímero CLOCK-BMAL1, como en el caso de los genes *Per1* (Hida et al., 2000), *Avp* (Jin et al., 1999) y *Prokineticina2* (Cheng et al., 2002).

Genes reloj y osciladores periféricos

Los genes reloj no sólo están presentes en el NSQ. A través de diversos experimentos se ha demostrado que fragmentos de tejidos periféricos mantenidos *in vitro* expresan de manera oscilatoria los genes *Per1* y *Per2* (Yoo et al., 2004), y que órganos como el páncreas, el hígado y el tejido adiposo presentan fluctuaciones diarias en muchos de los genes involucrados en la fisiología circadiana (Mühlbauer et al., 2004; Zvonic et al., 2006). Lo anterior ha llevado a proponer que diferentes tejidos poseen la maquinaria molecular básica para comportarse como osciladores y que, por lo tanto, tienen la capacidad intrínseca de mantener su propio ritmo de 24 horas.

En este contexto, la ritmicidad circadiana que muestra una variable fisiológica se entiende como el resultado de la interacción entre el marcapasos central (NSQ) y los osciladores periféricos (Tahara et al., 2012). Así, en osciladores periféricos como el hígado, el páncreas y el tejido adiposo se ha demostrado que proteínas reloj juegan un papel importante en la regulación de las oscilaciones de genes y proteínas que participan en el metabolismo (Kornmann et al., 2007). En el hígado, por ejemplo, REV-ERB α participa en la modulación circadiana de genes involucrados en el metabolismo del colesterol y los lípidos (Martelot et al., 2009) y está implicado en la oscilación del 90% de las proteínas que muestran expresión circadiana (Kohmman et al., 2007); del mismo modo, por lo que respecta al tejido adiposo CLOCK y BMAL1 son importantes en la adipogénesis (Wang & Lazar, 2008). BMAL1 también es importante para la expresión de genes que participan en la destoxificación xenobiótica y en la conversión de especies reactivas de oxígeno, las cuales se han asociado a procesos de envejecimiento (Kondratov et al., 2006). Mutaciones en los genes *Per2* y *Clock* alteran la expresión rítmica de proteínas como la aldolasa, la arginasa y la catalasa (Reddy et al., 2006).

EPIGENÉTICA EN LOS RITMOS CIRCADIANOS

Generalidades

Las células somáticas de un organismo multicelular contienen la misma información genética, sin embargo, pueden manifestar diversos fenotipos que expresan el material genético acorde con la adaptación del sistema biológico a las condiciones ambientales. Esta expresión diferencial del genoma se debe, en gran parte, a la regulación por mecanismos epigenéticos y sustenta las bases fundamentales de la fisiología en humanos (Arrowsmith et al., 2012).

Los mecanismos epigenéticos son cambios en la expresión de genes que ocurren sin alteraciones en la secuencia del DNA e implican modificaciones covalentes del mismo y de las proteínas histonas que lo empaquetan. Estas marcas epigenéticas permiten que las células respondan a los cambios del medio ambiente. Diversos factores como la nutrición, la contaminación, el estrés y los ritmos circadianos se han asociado con modificaciones en las marcas epigenéticas. La epigenética describe estos mecanismos y provee el enlace entre la expresión génica y el medio ambiente. Así, el estilo de vida imprime marcas epigenéticas

que permanecerán por generaciones y determinarán el fenotipo celular normal. Por tanto, diferencias individuales en las modificaciones a nivel epigenético explican las variaciones en los fenotipos observadas en humanos, que no se deben a variaciones genotípicas, como sucede en gemelos homocigotos, y que pueden contribuir al desarrollo de ciertas patologías (Arrowsmith et al., 2012). Los mecanismos epigenéticos son esenciales para el crecimiento y desarrollo de los organismos, así como para la homeostasis, por lo que errores en estas modificaciones pueden llevar a estados patológicos por varias generaciones.

MECANISMOS EPIGENÉTICOS

La epigenética hace referencia a los cambios reversibles en la expresión génica que no dependen de modificaciones en la secuencia de nucleótidos del DNA, presentan un alto grado de estabilidad y son heredables, propiedades que permiten a los organismos mantener un linaje celular por muchas generaciones. Estos cambios se deben a modificaciones covalentes de la estructura del DNA o de las histonas que constituyen la estructura de la cromatina, que a su vez provocan cambios en su grado de condensación. La adaptación al medio ambiente está dada por la plasticidad del genoma, permitiendo la reprogramación celular que resulta en la formación de distintos fenotipos según los factores ambientales a los que esté expuesto el organismo (Arrowsmith et al., 2012). El control epigenético se lleva a cabo a distintos niveles: la metilación del DNA, modificaciones en las histonas y la acción de micro RNAs (miRNAs); todas ellas contribuyen a la remodelación de la cromatina.

La metilación del DNA consiste en la adición de un grupo metilo al carbono 5 del nucleótido citosina; ésta se lleva a cabo por la acción enzimática de DNA metiltransferasas (Bestor, 2000) y es la única modificación covalente endógena que se conoce hasta ahora como una marca epigenética en el genoma de los mamíferos (Costello & Plass, 2001). La metilación puede ser de dos tipos: a) *de novo*, que está presente principalmente durante la etapa de desarrollo embrionario temprano, y b) de mantenimiento, la que durante la replicación ocasiona que el DNA sea metilado en la cadena nueva en sitios opuestos a metilaciones en la cadena madre, permitiendo así que los patrones de metilación sean heredados y perpetuados en la población celular (Bestor, 2000).

La mayoría de las 5'-metilcitosinas en mamíferos están presentes en secuencias de dinucleótidos de citosina-guanina, unidos a través de enlaces fosfodiéster (5'-CpG-3') y situados principalmente en las llamadas

islas CpG, que son secuencias desde 200 pares de bases de longitud que contienen una alta frecuencia de estos dinucleótidos (>50%) (Gardiner-Garden & Frommer, 1987) y están localizadas a lo largo de todo el genoma. La metilación del DNA está directamente relacionada con el silenciamiento de genes, puesto que produce cambios conformacionales que afectan la interacción DNA-proteína y hace menos disponible la unión con factores de transcripción y correguladores (Bird, 2002).

El correcto patrón de metilación es vital para el desarrollo normal de los vertebrados y esencial para la salud de las células y los órganos. En el caso de los adultos este patrón se establece en ocasión posterior a una ola de metilación *de novo*, es específico de célula y tejido, teniendo evidencia de que ocurren cambios con la edad, sobre todo en islas CpG de regiones promotoras (Costello et al., 2001). Si los patrones de metilación no están apropiadamente establecidos o mantenidos, diversas patologías como inmunodeficiencias o cánceres podrían presentarse, y no sólo eso, también desarrollarse resistencia a fármacos o a terapias químicas (Costello et al., 2001).

Las modificaciones postraduccionales que pueden ocurrir en las proteínas histonas como mecanismos epigenéticos incluyen la acetilación, la fosforilación, la metilación y la ubiquitinación (Berger, 2007; Cheung et al., 2000). A diferencia de la acetilación, que generalmente se correlaciona con la activación transcripcional, la metilación en las histonas se asocia tanto con la activación como con la represión génica, dependiendo del sitio donde se encuentre la modificación (Martin & Zhang, 2005). La acetilación es el resultado de la acción enzimática de una familia de histonas acetiltransferasas, mientras que la metilación se lleva a cabo por distintos subtipos de histonas metiltransferasas. Estos procesos tienen su contraparte por acción de enzimas que desacetilan las histonas desacetilasas y por aquellas que quitan grupos metilo, las histonas desmetilasas. El mecanismo de remodelación de la cromatina es dinámico y puede responder al estado energético y metabólico celular, que finamente es regulado en los procesos fisiológicos (Borrelli et al., 2008). Todas estas modificaciones pueden ocurrir en uno o varios residuos pero a diferentes tiempos, y la posibilidad de combinaciones es muy amplia, confiriendo el concepto de "código epigenético" y sugiriendo que las modificaciones pueden estar acopladas funcionalmente y ocurrir en combinaciones específicas.

Los miRNAs son una clase de RNAs no codificantes que regulan la estabilidad o traducción de los transcritos de RNAm. Son moléculas pequeñas conservadas a través de la evolución que actúan como potentes silenciadores de la expresión génica, ya sea vía la represión de la traducción

o la degradación del RNAm, y están implicados en el desarrollo y enfermedades (Cheng et al., 2007). Si bien los miRNAs no modifican de manera covalente los componentes de la cromatina y su conformación, su acción es considerada como un mecanismo epigenético debido al impacto que tienen sobre la estabilidad del RNAm y sus efectos postranscripcionales.

El control epigenético en los ritmos circadianos

Una de las principales características del reloj circadiano es su fina regulación a nivel transcripcional. Debido a que gran cantidad de genes presentan expresión oscilatoria, es indudable que los mecanismos implicados en la expresión génica deben operar para asegurar una eficiente regulación a este nivel. Estos mecanismos abarcan la regulación temporal de la transcripción así como la remodelación de la cromatina (Crosio et al., 2000).

En este sentido, diversos RNAm experimentan fluctuaciones circadianas en su expresión (Duffield et al., 2002), por lo que la maquinaria del reloj tiene la capacidad intrínseca de activar o reprimir la transcripción génica. Es interesante constatar que la mayoría de los transcritos presentan expresión cíclica específica de tejido (Panda et al., 2002; Yan et al., 2008), lo que implica la presencia de reguladores específicos en la maquinaria transcripcional circadiana. Proteínas reloj actúan como factores de transcripción al formar heterodímeros y sistematizar la transcripción de los denominados genes reloj que median la salida de la actividad del reloj regulando diversas funciones del organismo, como se revisó ampliamente en la primera sección.

Además de la regulación temporal altamente especializada de la transcripción, la remodelación de la cromatina está vinculada a los ritmos circadianos (Borrelli et al., 2008; Crosio et al., 2000). En este sentido, la activación de genes controlados por el reloj, como *Clock* y *Bmal* están asociados a cambios circadianos en modificaciones de las histonas, tales como acetilación y desacetilación (Curtis et al., 2004; Etchegaray et al., 2003; Naruse et al., 2004). Estas observaciones indican que el estado de la cromatina, ya sea condensado o relajado, es estable en forma específica según el tiempo circadiano. Por tanto, la histona H3 de la cromatina es acetilada en las regiones promotoras de genes reloj como *Per1*, *Per2* y *Cry1* cuando estos genes están transcribiéndose de manera activa (Doi et al., 2006; Nakahata et al., 2008), y es dimetilada o trimetilada en los promotores de *Per1* y *Per2* (Etchegaray et al., 2006). De hecho, la proteína CLOCK participa directamente en la remodelación de la cromatina, actuando como una histona acetiltransferasa que acetila en lisina-9 y

lisina-14 a la H3 (Doi et al., 2006) y otras proteínas no histonas, pero íntimamente relacionadas con el reloj, como BMAL-1 (Hirayama et al., 2007) y el receptor de glucocorticoides (Nader et al., 2009).

Otros ejemplos de la relación de la organización de cromatina y la ritmicidad circadiana son la fosforilación de la H3 en el residuo de serina-10, que está implicada en la señalización mediada por la luz (Crosio et al., 2000), así como la acetilación de la lisina-14 (Borrelli et al., 2008). Evidencias recientes demuestran que no sólo la acetilación sino también la metilación de las histonas pueden ser de gran importancia para la función del reloj circadiano. Por ejemplo, la falta en la expresión de la metiltransferasa EZJ2 altera el mantenimiento de los ciclos circadianos (Etchegaray et al., 2006). También se observó que la trimetilación de la lisina-4 en la H3 en sitios promotores de *Per* se lleva a cabo de manera rítmica por la enzima histona metiltransferasa MLL1 (Katada & Sassone-Corsi, 2010). Más aún, el EZJ2 interacciona con CLOCK y con BMAL, aunque de manera no rítmica (Etchegaray et al., 2006), mientras que MLL1 interacciona con CLOCK y es reclutada al dímero CLOCK-BMAL de manera circadiana (Katada et al., 2010).

En contraparte, poco se sabe de las histonas desacetilasas que actuarían equilibrando la actividad de acetilasa de CLOCK. En este sentido, las sirtuínas (SIRT), que estructuralmente son diferentes a las clásicas histonas desacetilasas, tienen la propiedad de detectar el estado redox celular, ya que utilizan al NAD^+ como coenzima (Bordone & Guarente, 2005); el grupo acetilo que libera el sustrato es transferido al NAD^+ generando el producto O-acetil-ADPribosa. Dada esta dependencia del NAD^+ , las moléculas nucleares que incluyen las SIRT1 a 7 son consideradas como el enlace funcional entre el metabolismo y la estabilidad del genoma (Bellet & Sassone-Corsi, 2010). Se sabe que los ritmos circadianos están bajo control metabólico y fisiológico (Eckel-Mahan & Sassone-Corsi, 2009; Rutter et al., 2002), y más recientemente, que la reorganización de la cromatina se encuentra bajo el control del reloj, por lo que la relación entre regulación epigenética y el metabolismo celular ha sido motivo de investigaciones que han definido a la maquinaria circadiana como una interfase, privilegiada en la evolución, entre el metabolismo celular y el control epigenético (Sassone-Corsi, 2010).

La SIRT1 es una molécula clave en la modulación del metabolismo, ya que promueve la movilización de grasas del tejido adiposo y media el metabolismo energético en tejidos metabólicamente activos (Finkel et al., 2009). En la cromatina, la actividad enzimática de la SIRT1 tiene como sustrato principal las lisinas-9 y -14 de la histona H3, y la lisina-16 de la

histona H4 (Imai et al., 2000). Sin embargo, sus blancos también incluyen proteínas no histonas, como p53 y PGC-1 α (Finkel et al., 2009), lo que amplía el espectro de acción de la SIRT1 en la regulación de la fisiología de los organismos.

A la SIRT1 se le considera una molécula reostática que modula la actividad de acetilasa de CLOCK y la función circadiana, estableciéndose un vínculo molecular interesante entre ellas (Nakahata et al., 2008). Así, entonces, se encuentra asociada con CLOCK, es reclutada en promotores de genes con patrón circadiano, controla la estabilidad de proteínas reloj como PER2 (Asher et al., 2008) y su ausencia o la inhibición de su actividad conduce a alteraciones significativas del ciclo circadiano (ver figura 4.2).

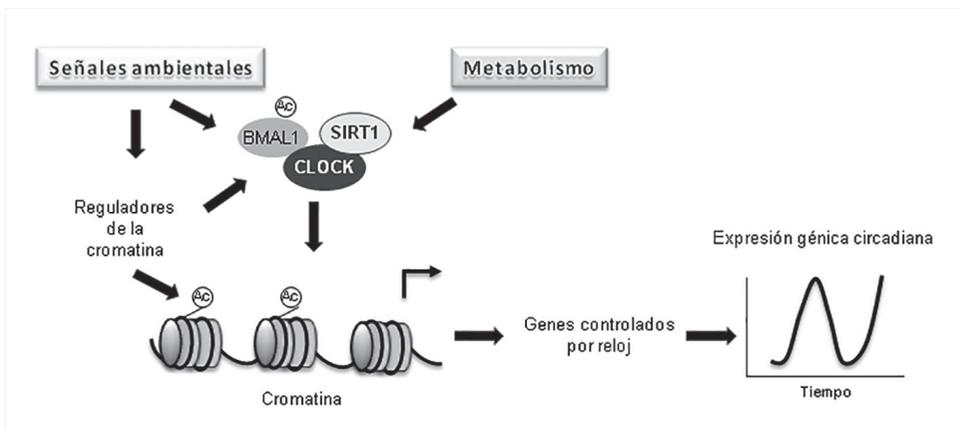


FIGURA 4.2. Regulación epigenética. La SIRT1 se asocia con el dímero CLOCK-BMAL1 formando un complejo que es reclutado, de manera circadiana, hacia promotores de genes controlados por el reloj. CLOCK actúa como una acetilasa de histonas, y la SIRT, que es regulada directamente por el estado metabólico, parece reprimir la transcripción génica a través de su actividad de desacetilasa de histonas de manera dependiente del tiempo. Las acciones concertadas de acetilasa y desacetilasa controlan la condensación y descondensación de la cromatina local a nivel de los promotores de genes circadianos, resultando en la expresión génica cíclica. Ac-grupo acetilo.

En relación con las acciones de los miRNAs, se ha observado que el miR-219 es blanco del complejo CLOCK y BMAL1, exhibe una expresión rítmica circadiana robusta y su abolición alarga el período circadiano (Cheng et al., 2007). El miR-132 es inducido por señales de sincronización fótica y podría modular la expresión de genes reloj como la transcripción de *Per1* y la proteína PER2, así como atenuar la sincronización por luz (Cheng et al., 2007). Los miRNAs pueden ser regulados por la luz y posiblemente también por el reloj molecular, ya que en modelos

in vitro de sobreexpresión de CLOCK y BMAL1 se ha observado la inducción robusta de miR-219 (Cheng et al., 2007). Sin embargo, los genes blanco que median sus efectos, tanto en el ritmo como en la sincronización del reloj, permanecen desconocidos. Por tanto, se requiere de más estudios para identificar las redes génicas a través de las cuales los miRNAs influyen en el proceso de ritmicidad biológica.

Los mecanismos epigenéticos son responsables de la integración de las señales ambientales a nivel celular, por lo que tienen un papel fundamental en enfermedades relacionadas con las dietas, el estilo de vida y la exposición ambiental a toxinas (Meaney, 2010). De tal forma que patologías como el cáncer, la inflamación y enfermedades metabólicas son estudiadas desde otra perspectiva para ser tratadas a nivel epigenético (Kelly et al., 2010).

De hecho, la alteración en los ritmos podría influenciar la salud en humanos, ya que ha sido asociada a desórdenes metabólicos, insomnio, depresión y cáncer (Bechtold et al., 2010; Sahar & Sassone-Corsi, 2009), lo que ha sido motivo de estudio en los últimos años. Queda un amplio campo de investigación en lo concerniente al impacto de los mecanismos epigenéticos capaces de modificar la expresión de los genes al responder a los cambios en el medio ambiente y su relación con el desajuste de los ritmos biológicos en estados patológicos, principalmente aquellos relacionados con el metabolismo y la proliferación celular.

METABOLISMO Y RITMOS CIRCADIANOS

El metabolismo consiste en una serie de reacciones bioquímicas que implican la transformación y asimilación de moléculas para el sostenimiento de funciones vitales, como la nutrición, el crecimiento y la reproducción. Se trata de una compleja red de eventos moleculares que se coordinan temporalmente con el reloj circadiano. En este contexto, se ha reportado que una considerable proporción de los transcritos (RNAm) expresados en mamíferos (alrededor de un 10-20%) presenta oscilaciones circadianas (Panda et al., 2002).

Así, por ejemplo, una gran cantidad de genes de rutas anabólicas y catabólicas de carbohidratos y lípidos, fosforilación oxidativa y manejo de xenobióticos, se expresan de manera circadiana en diferentes tejidos como el hígado (Akhtar et al., 2002; Reddy et al., 2006), el riñón (Kita et al., 2002), el músculo esquelético (McCarthy et al., 2007) y los tejidos adiposos blanco y pardo (Zvonic et al., 2006). Además, se ha comprobado que los mecanismos de regulación circadiana del metabolismo están directamente relacionados con el funcionamiento de los genes reloj.

Por ejemplo, el grupo de Schibler y colaboradores desarrolló un ratón transgénico que permite condicionar la expresión de *Bmal* hepático a la presencia de doxiciclina (una tetraciclina), que al interrumpir su administración provoca que un gran número de transcritos relacionados con metabolismo pierdan su ritmicidad circadiana (Kornmann et al., 2007). Con lo anterior, se puede apreciar claramente que los procesos metabólicos están íntimamente relacionados con el reloj circadiano.

Resulta importante considerar que dado que los nutrientes adquiridos en la dieta provocan cambios a nivel de expresión genética a través de sensores de ciertos metabolitos y hormonas, también la maquinaria molecular circadiana es susceptible de ser modulada por los ciclos de ayuno-alimentación. Esta condición se extiende a protocolos de sincronización por alimento que conllevan una serie de cambios y adaptaciones conductuales, metabólicas y fisiológicas ante un horario no habitual de acceso a la comida. Se ha postulado que el responsable de estas adaptaciones es el llamado Oscilador Sincronizado por Alimento (OSA), un posible reloj circadiano que no está localizado en un sólo sitio anatómico, como el NSQ, sino que corresponde a una propiedad emergente sustentada en la coordinación entre tejidos periféricos y centros cerebrales relacionados con el control de la ingesta y el manejo de nutrientes (Aguilar & Díaz, 2010).

Durante la expresión del OSA se presenta un incremento en la actividad locomotriz previo al acceso al alimento conocido como conducta anticipatoria, además de un aumento en la temperatura y altos niveles de glucocorticoides circulantes (Szentirmai et al., 2010). También se han reportado importantes cambios metabólicos y fisiológicos, como son el incremento en la actividad mitocondrial y carga energética del hígado (Báez et al., 2005), así como el aumento de ácidos grasos en la circulación (Martínez et al., 2004).

A continuación se describirán algunos de los factores que son parte esencial en la comunicación y la regulación de la homeostasis metabólica, el estado nutricional y el funcionamiento del reloj circadiano.

Nutrientes y ritmos circadianos

En los últimos años se ha reconocido que los nutrientes en la dieta son esenciales como fuentes de energía y que además juegan un papel importante como señalizadores que modulan la expresión de diferentes genes a nivel transcripcional (Dentin et al., 2006). Por ejemplo, se ha reportado que la glucosa y los ácidos grasos poli-insaturados coordinan la

inducción y supresión de genes relacionados con la glucólisis, la lipogénesis y la oxidación de ácidos grasos (Dentin et al., 2006; ver figura 4.3).

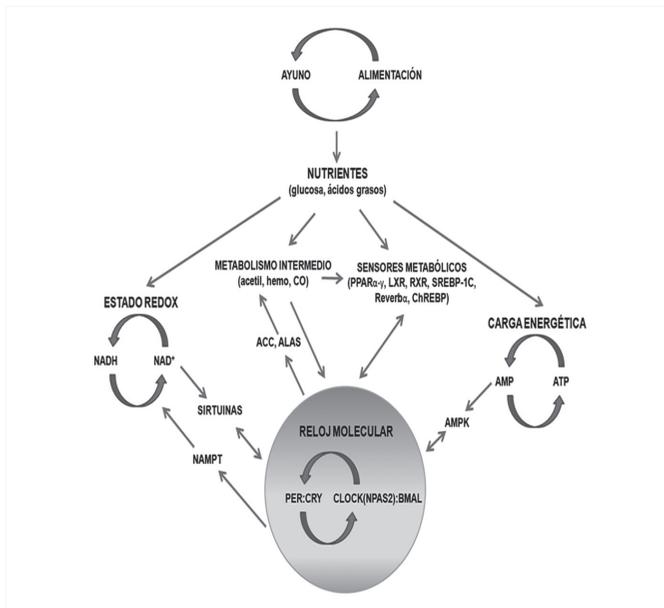


FIGURA 4.3. Regulación metabólica. Comunicación del metabolismo con el reloj molecular circadiano. La ingesta de alimento oscila en función del ciclo de ayuno-alimentación, pero además ejerce un papel como coordinador de los ritmos circadianos a través de distintos procesos metabólicos. Los macronutrientes que se obtienen de la dieta pueden funcionar como señales, ya sea mediante sensores metabólicos (receptores nucleares, factores de transcripción y co-activadores transcripcionales) o por medio del metabolismo intermedio (metabolitos como son el acetil, hemo y CO), que logran mantener una íntima relación con las asas de retroalimentación positiva y negativa de los genes reloj. El estado redox y la carga energética también son propiedades del metabolismo que cambian a lo largo del día y en función del estado nutricional, y también ejercen una importante influencia en el funcionamiento del reloj molecular. A su vez, se tiene evidencia de una regulación circadiana en la expresión de las enzimas acetil-coA carboxilasa (ACC), sintasa de ácido aminolevulínico (ALAS), nicotinamida fosforibosil transferasa (NAMPT), proteína cinasa activada por AMP (AMPK) y sirtuína, que describe una retroalimentación entre el metabolismo y la generación de los ritmos circadianos a través de los genes reloj.

La glucosa

Se tiene evidencia que los genes cuya expresión es modulada por la glucosa cuentan con una región promotora llamada ChoRE (elemento responsivo a glucosa o carbohidratos) y que el factor de transcripción denominado ChREBP (proteína de unión al elemento responsivo a carbohidratos) trabaja como sensor de este nutriente, permitiendo una coordinación entre la ingesta de alimento y la regulación de la expresión génica (Towle, 2005; Dentin et al., 2006). La secuencia ChoRE cuenta con dos cajas E, lo cual implica que no sólo la ChREBP reconoce dicha región

sino que también lo hacen los factores transcripcionales tipo bHLH, como son los genes reloj (Dentin et al., 2006).

A este respecto, se ha comprobado *in vitro* que la expresión del gen reloj *Dec1*, así como los genes de la sintasa de ácidos grasos y piruvato cinasa hepática, son estimulados con una concentración alta de glucosa o mediante la sobreexpresión de la forma activa de ChREBP, a la vez que la sobreexpresión de *Dec1* inhibe los efectos promovidos por la glucosa y la activación de ChREBP (Iizuka & Horikawa, 2008). Por otro lado, también se ha reconocido que el receptor hepático X (LXR) es un sensor de glucosa capaz de inducir la expresión de *Dec1* (Mitro et al., 2007). Adicionalmente, se ha demostrado que una inyección intraperitoneal de glucosa junto con algunos aminoácidos esenciales estimula la expresión hepática de *Per1*, *Per2* y *Dec1*, además de suprimir a *Rev-erb- α* (Oike et al., 2011).

Otras evidencias sobre el papel de la glucosa en los ritmos circadianos señalan que es capaz de funcionar como sincronizador. En ratas, una dieta rica en glucosa consumida en unas horas al día modifica la fase de actividad locomotriz, de la misma forma en que lo hace una restricción temporal de alimento (Stephan & Davidson, 1998). Sin embargo, no se sabe si este cambio de fase también implica todas las adaptaciones metabólicas mencionadas previamente durante la expresión del OSA.

Los ácidos grasos

Se cuenta con reportes diversos que señalan que hay un gran número de factores de transcripción que interconectan los ácidos grasos con la maquinaria molecular del reloj circadiano. Por ejemplo, el factor de crecimiento de fibroblastos 21 es un factor endocrino que funciona como un integrador del metabolismo y de los ritmos circadianos en humanos, capaz de responder a las oscilaciones diarias de ácidos grasos provenientes de la dieta (Yu et al., 2011). También la ChREBP es capaz de responder a la presencia de ácidos grasos (en este caso disminuyendo su actividad), aunque no se ha determinado bien si el mecanismo es debido al decremento en su expresión o a la inhibición alostérica que impide el paso de ChREBP al núcleo (Dentin et al., 2006).

De hecho, los ácidos grasos provenientes de la dieta son capaces de regular la expresión genética de elementos del metabolismo a través de los receptores activadores de la proliferación peroxisomal (PPAR) α , β y γ , el factor nuclear hepático 4, el receptor a retinoide X, el LXR y la proteína de unión al sitio responsivo a esteroides (Jump et al., 2005). En el caso de PPAR α , aunado a la inducción en su expresión por parte de los glucocorti-

coides y también por las proteínas reloj BMAL1 y CLOCK, su activación se debe a la presencia de ácidos grasos provenientes de la dieta, promoviendo, junto con otras proteínas reclutadas que funcionan como coactivadoras (entre ellas el coactivador de PPAR γ -1, PGC-1 α y RXR), la expresión de genes involucrados en el catabolismo de lípidos, así como también del gen reloj BMAL a través de secuencias promotoras responsivas a PPAR (Charoensukasi & Xu, 2010). Sin embargo, aunque se ha demostrado que hay una relación directa entre metabolismo y reloj circadiano mediada por los llamados receptores nucleares, la complejidad en la expresión de estos elementos ha impedido entender por completo cómo es que dichos factores coordinan ambos procesos. Esto se confirma en un estudio llevado a cabo en hígado, músculo esquelético y tejidos adiposo y pardo, donde se demostró que de 49 distintos receptores nucleares 25 tienen patrones de expresión circadiana propios de cada tejido (Yang et al., 2006).

Metabolitos intermediarios y ritmos circadianos

También se reconoce que distintos metabolitos intermediarios juegan un papel importante como enlace entre el metabolismo y los genes reloj. Es éste el caso del grupo funcional acetilo derivado del catabolismo de muchos macronutrientes (carbohidratos, lípidos y proteínas), el cual posteriormente puede tener varios destinos: 1) Transferirse a intermediarios que alimentan al ciclo de Krebs, 2) Participar en la molécula de acetil coenzima A (acetil-CoA) como sustrato en la biosíntesis de ácidos grasos a través de la acetil CoA carboxilasa, 3) Trabajar como grupo funcional para acetilar proteínas postraduccionalmente (Galdieri & Vancura, 2012). De esta última función se reconoce que alrededor de 200 enzimas citosólicas involucradas en una gran variedad de procesos metabólicos, como son la glucólisis, la gluconeogénesis, el ciclo de Krebs, la oxidación de ácidos grasos, el ciclo de la urea y el metabolismo del nitrógeno y del glucógeno, son moduladas en su actividad a través de acetilación (Guan & Xiong, 2011).

Pero, además, varias proteínas nucleares también son acetiladas, siendo las histonas las que mayor relevancia cobran en este caso, dado que esta modificación postraduccional juega un papel primordial en la inducción o represión de la expresión génica (Guan & Xiong, 2011), como se mencionó en la sección anterior. Del mismo modo, se reconoce que otros metabolitos intermediarios derivados del metabolismo de lípidos (colesterol, esteroides, ácidos biliares), vitamina A, hormonas liposolubles (estrógenos y glucocorticoides), grupos hemo, entre otros más, también son capaces de interactuar y retroalimentar al reloj circadiano (Green et

al., 2008). En este caso, se ha demostrado que NPAS2, considerado como proteína reloj homóloga a CLOCK, tiene como cofactor al grupo hemo, y que una vez que NPAS2 se dimeriza con BMAL, pueden ser inhibidos a su vez por el monóxido de carbono (CO) dependiendo de la dosis (Ishida et al., 2008).

Lo anterior implica, asimismo, que este gen reloj comunica el estado metabólico de los grupos hemo con el reloj molecular, ya que NPAS2 regula también la transcripción circadiana de la sintasa de ácido aminolevulínico, que es una enzima fundamental en la biosíntesis de los hemos (Green et al., 2008). Hay que considerar, por otro lado, que los grupos hemo son ligandos de REV-ERB- α , lo que indica que este tipo de metabolitos intermediarios forman parte de las asas de retroalimentación metabolismo-reloj circadiano.

Por otra parte, también se tienen evidencias que sugieren que el papel del grupo hemo como intermediario es específico de tejido, ya que en un estudio donde se probó el efecto de este metabolito sobre la ritmicidad circadiana del gen reloj *Per2*, solamente el NSQ se afectó, a diferencia del timo, el bazo y el esófago, que no resultaron perturbados (Guenthner et al., 2009). Por último, este sistema de comunicación metabolismo-reloj circadiano basado en los metabolitos hemo se ha relacionado con un posible papel al CO y al óxido nítrico (NO) en el mismo sentido, ya que la unión de grupos hemo a CLOCK inducen una sensibilidad de este gen reloj a CO y a NO, sugiriendo que estos gases son también parte de esta comunicación (Lukat-Rodgers et al., 2010).

Estado redox y ritmos circadianos

El estado redox se refiere al equilibrio entre metabolitos que aceptan y que donan electrones en función del potencial redox de la reacción bioquímica correspondiente. Este estado celular puede modularse por un equilibrio (o desequilibrio) entre moléculas que funcionan como radicales libres (siendo algunas de ellas especies reactivas de oxígeno y nitrógeno), así como por factores y enzimas antioxidantes como el glutatión, catalasa, peroxidasas, etc. (Finkel, 2003). Además, el metabolismo celular implica que el estado redox es un proceso dinámico y que, dependiendo del estado energético y nutricional, puede ser modulado hacia un estado oxidativo o reductor. Por ejemplo, se sabe que la actividad de las SIRT, así como la dimerización y estabilidad del CLOCK-BMAL y NPAS2-BMAL en su unión al DNA, son procesos dependientes del estado redox celular, ya que la presencia de formas reducidas de

cofactores de nicotina adenina dinucleótidos (NADH y NADPH) los estimula (Green et al., 2008).

A su vez, estudios recientes sobre el papel del estado redox y el reloj molecular indican que existe una regulación circadiana en la biosíntesis del cofactor NAD⁺. Por ejemplo, CLOCK-BMAL coordinan la expresión circadiana de la enzima NAMPT (nicotinamida fosforibosil transferasa), que es esencial para la síntesis de este cofactor (Peek et al., 2012). Esto sugiere que los ritmos observados en la presencia de radicales libres, el estado redox celular y la regulación del reloj molecular son procesos que se encuentran interconectados y enfatizan la importancia que existe en la comunicación entre el metabolismo y los ritmos circadianos.

Carga energética y ritmos circadianos

La ingesta de nutrientes está directamente relacionada con la síntesis de una molécula energética, el ATP, fundamental para el sostenimiento de las funciones y necesidades celulares. Sin embargo, ante la ausencia de nutrientes, el ATP es consumido y transformado a ADP y AMP (Naïmi et al., 2010). La relación $ATP + \frac{1}{2}ADP / AMP + ADP + ATP$ es conocida como carga energética y es utilizada para determinar el estado energético de una célula o tejido. Sin embargo, la relación entre estos nucleótidos es un tanto desproporcionada, ya que se sabe que el ATP es al menos unas 100 veces más abundante que el AMP, lo cual señala que pequeños cambios en la concentración de este último nucleótido puede ser detectado de manera muy sensible por la célula.

Dentro de los sensores celulares más estudiados se reconoce a la AMPK, una proteína heterotrimérica (siendo su subunidad catalítica α la encargada de la fosforilación) sensible a cambios en la carga energética, mismos que pueden ser generados en respuesta a ciclos de ayuno (aumenta la relación AMP/ATP) y alimentación (aumenta la relación ATP/AMP) (Naïmi et al., 2010). Se sabe que una vez activa, la AMPK fosforila e inactiva a la enzima acetil-CoA carboxilasa (limitante de la biosíntesis de lípidos), así como también a los factores de transcripción SREBP-1c y a ChREBP que están involucrados en la regulación del metabolismo de carbohidratos (glucólisis y gluconeogénesis) y en la síntesis de lípidos (Naïmi et al., 2010). Adicional a esto, hay evidencias que demuestran que la velocidad de degradación de los RNAm de *Per2* y *Cry1* es regulada por AMPK, dado que ésta fosforila directamente a la caseína cinasa 1 ϵ , que es responsable de la estabilidad o vida media de los transcritos de los genes reloj antes mencionados (Naïmi et al., 2010). Cabe mencionar que el papel

que tiene la AMPK como sensor energético y coordinador de los ritmos circadianos es específico de tejido, ya que se reconoce que hay dos isoformas para su subunidad α , las cuales responden de una manera distinta ante la metformina (agente farmacológico que activa a AMPK), pero que además se expresan de manera diversa en tejidos como son el hígado, músculo esquelético y tejido adiposo (Barnea et al., 2012).

Con lo antes mencionado, podemos concluir que existe una relación recíproca o bidireccional entre el metabolismo y los genes reloj, lo que señala que los ritmos circadianos son coordinadores pero, a su vez, también son coordinados por los procesos metabólicos que de manera organizada espacial y temporalmente se llevan a cabo dentro y entre nuestras células. Cabe resaltar la importancia que tiene el conocimiento de la regulación de los ritmos circadianos por parte del metabolismo, ya que actualmente se reconoce que enfermedades como la obesidad, diabetes, hipertensión u otras afines, son causadas o se relacionan con una falta de coordinación entre el reloj molecular circadiano y el metabolismo (Laposky et al., 2007).

CONCLUSIONES

La importancia de los ritmos circadianos en el plano fisiológico es bien reconocida, ya que regulan la respuesta coordinada de órganos y tejidos, así como también en el aspecto patológico, pues explican las bases moleculares y metabólicas de una gama de enfermedades. Aunque los ritmos circadianos están sustentados a nivel genético por la activación e inhibición secuencial de genes y proteínas reloj, se ha hecho evidente que el funcionamiento normal del reloj molecular implica una acción concertada y dinámica con el estado metabólico, y que es susceptible de regulación a nivel epigenético. Los mecanismos epigenéticos están íntimamente relacionados con el estado metabólico del sistema, debido a que la actividad de metilasas y acetilasas se controlan por el equilibrio entre las reacciones anabólicas y catabólicas del seno celular y en respuesta directa a influencias ambientales. Además, se debe reconocer la importancia de la coordinación entre el marcapaso central, el núcleo supraquiasmático y los osciladores periféricos.

En este contexto, actividades como la alimentación y el ejercicio ejercen funciones sincronizadoras, pues la labor metabólica que conllevan eventualmente influye en la capacidad de medición temporal del reloj molecular. En suma, la visión contemporánea del control de la fisiología circadiana implica la conjunción de mecanismos tradicionales, como la

transcripción y la traducción, así como de otros más heterodoxos que se basan en conexiones bidireccionales a vías bioquímicas, principalmente del metabolismo bioenergético y modificaciones covalentes al material genético.

REFERENCIAS

- AGUILAR, R. R., & Díaz, M. M. (2010). Chronostatic adaptations in the liver to restricted feeding: The FEO as an emergent oscillator. *Sleep and Biological Rhythms*, 8, 9-17.
- AKHTAR, R. A., Reddy, A. B., Maywood, E. S., Clayton, J. D., King, V. M., Smith, A.G., ... Kyriacou, C. P. (2002). Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus. *Current Biology: CB*, 12, 540-550.
- ARROWSMITH, C. H., Bountra, C., Fish, P. V., Lee, K., & Schapira, M. (2012). Epigenetic protein families: A new frontier for drug discovery. *Natura Review Drug Discovery*, 11, 384-400.
- ASHER, G., Gatfield, D., Stratmann, M., Reinke, H., Dibner, C., Kreppel, F., ... Schibler, U. (2008). SIRT1 Regulates Circadian Clock Gene Expression through PER2 Deacetylation. *Cell*, 134, 317-328.
- BAE, K., Jin, X., Maywood, E. S., Hastings, M. H., Reppert, S. M., & Weaver, D. R. (2001). Differential functions of mPer1, mPer2, and mPer3 in the SCN circadian clock. *Neuron*, 30, 525-536.
- BÁEZ, R. A., Escobar, C., Aguilar, R. R., Vázquez, M., & Díaz, M. M. (2005). Metabolic adaptation or liver mitochondria during restricted feeding schedules. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 289, G1015-G1023.
- BARNEA, M., Haviv, L., Gutman, R., Chapnik, N., Madar, Z., & Froy, O. (2012). Metformin affects the circadian clock and metabolic rhythms in a tissue-specific manner. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Molecular Basis of Disease*, 1822, 1796-1806.
- BECHTOLD, D. A., Gibbs, J. E., & Loudon, A. S. (2010). Circadian dysfunction in disease. *Trends Pharmacol. Science*, 31, 191-198.
- BELLET, M. M., & Sassone-Corsi, P. (2010). Mammalian circadian clock and metabolism - the epigenetic link. *Journal of Cell Science*, 123, 3837-3848.
- BERGER, S. L. (2007). The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature*, 447, 407-412.
- BESTOR, T. H. (2000). The DNA methyltransferases of mammals. *Human Molecular Genetics*, 9, 2395-2402.

- BIRD, A. (2002). DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development*, 16, 6-21.
- BLACKWELL, T. K., Huang, J., Ma, A., Kretzner, L., Alt, F. W., Eisenman, R. N., & Weintraub, H. (1993). Binding of myc proteins to canonical and noncanonical DNA sequences. *Molecular and Cellular Biology*, 13, 5216-5224.
- BORDONE, L., & Guarente, L. (2005). Calorie restriction, SIRT1 and metabolism: Understanding longevity. *Nature Review. Molecular Cell Biology*, 6, 298-305.
- BORRELLI, E., Nestler, E. J., Allis, C. D., & Sassone-Corsi, P. (2008). Decoding the epigenetic language of neuronal plasticity. *Neuron*, 60, 961-974.
- CERMAKIAN, N., Monaco, L., Pando, M. P., Dierich, A., & Sassone-Corsi, P. (2001). Altered behavioral rhythms and clock gene expression in mice with a targeted mutation in the Period1 gene. *The EMBO Journal*, 20, 3967-3974.
- CHAROENSUKSAI, P., & Xu, W. (2010). PPARs in rhythmic metabolic regulation and implications in health and disease. *PPAR Research*, 2010, 243643. <http://doi.org/10.1155/2010/243643>
- CHENG, H. M., Papp, J. W., Varlamova, O., Dziema, H., Russell, B., Curfman, J. P., ...Impey, S. (2007). microRNA modulation of circadian-clock period and entrainment. *Neuron*, 54, 813-829.
- CHENG, M. Y., Bullock, C. M., Li, C., Lee, A. G., Bermak, J. C., Belluzzi, J., ...Zhou, Q. Y. (2002). Prokineticin 2 transmits the behavioural circadian rhythm of the suprachiasmatic nucleus. *Nature*, 417, 405-410.
- CHEUNG, P., Allis, C.D., & Sassone-Corsi, P. (2000). Signaling to chromatin through histone modifications. *Cell*, 103, 263-271.
- COSTELLO, J. F., & Plass, C. (2001). Methylation matters. *Journal of Medical Genetics*, 38, 285-303.
- CROSIO, C., Cermakian, N., Allis, C. D., & Sassone-Corsi, P. (2000). Light induces chromatin modification in cells of the mammalian circadian clock. *Nature Neuroscience*, 3, 1241-1247.
- CURTIS, A. M., Seo, S., Westgate, E. J., Rudic, R. D., Smyth, E. M., Chakravarti, D., FitzGerald, G. A., & McNamara, P. (2004). Histone acetyltransferase-dependent chromatin remodeling and the vascular clock. *JBC The Journal of Biological Chemistry*, 279, 7091-7097.
- DARLINGTON, T. K., Wager-Smith, K., Ceriani, M. F., Staknis, D., Gekakis, N., Steeves, T. D., ...Kay, S. A. (1998). Closing the circadian loop: CLOCK-induced transcription of its own inhibitors per and tim. *Science*, 280, 1599-1603.
- DEBRUYNE, J. P., Noton, E., Lambert, C. M., Maywood, E. S., Weaver, D. R., & Reppert, S. M. (2006). A clock shock: Mouse CLOCK is not required for circadian oscillator function. *Neuron*, 50, 465-477.

- DENTIN, R., Denecheud, P. D., Benhamed, F., Girard, J., Postic, C. (2006). Hepatic Gene Regulation by Glucose and Polyunsaturated Fatty Acids: A Role for ChREBP. *JN The Journal of Nutrition*, 136, 1145-1149.
- DOI, M., Hirayama, J., & Sassone-Corsi, P. (2006). Circadian regulator CLOCK is a histone acetyltransferase. *Cell*, 125, 497-508.
- DUFFIELD, G. E., Best, J. D., Meurers, B. H., Bittner, A., Loros, J. J., & Dunlap, J. C. (2002). Circadian programs of transcriptional activation, signaling, and protein turnover revealed by microarray analysis of mammalian cells. *Current Biology*, 12, 551-557.
- ECKEL-MAHAN, K., & Sassone-Corsi, P. (2009). Metabolism control by the circadian clock and vice versa. *Nature Structural & Molecular Biology*, 16, 462-467.
- EIDE, E. J., Vielhaber, E. L., Hinz, W.A., & Virshup, D. M. (2002). The circadian regulatory proteins BMAL1 and cryptochromes are substrates of casein kinase Iepsilon. *The Journal of Biological Chemistry*, 277, 17248-17254.
- EIDE, E. J., Woolf, M. F., Kang, H., Woolf, P., Hurst, W., Camacho, F., ... Virshup, D. M. (2005). Control of mammalian circadian rhythm by CKIepsilon-regulated proteasome-mediated PER2 degradation. *Molecular and Cellular Biology*, 25, 2795-2807.
- ETCHEGARAY, J. P., Lee, C., Wade, P. A., & Reppert, S. M. (2003). Rhythmic histone acetylation underlies transcription in the mammalian circadian clock. *Nature*, 421, 177-182.
- ETCHEGARAY, J. P., Yang, X., DeBruyne, J. P., Peters, A. H., Weaver, D. R., Jenuwein, T., & Reppert, S. M. (2006). The polycomb group protein EZH2 is required for mammalian circadian clock function. *The Journal of Biological Chemistry*, 281, 21209-21215.
- FINKEL, T. (2003). Oxidant signals and oxidative stress. *Current Opinion in Cell Biology*, 15, 247-254.
- FINKEL, T., Deng, C. X., & Mostoslavsky, R. (2009). Recent progress in the biology and physiology of sirtuins. *Nature*, 460, 587-591.
- GALDIERI, L., & Vancura, A. (2012). Acetyl-coA carboxylase regulates global histone acetylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 287, 23865-23876.
- GARDINER-GARDEN, M., & Frommer, M. (1987). CpG islands in vertebrate genomes. *Journal of Molecular Biology*, 196, 261-282.
- GREEN, C. B., Takahashi, J. S., & Bass, J. (2008). The meter of metabolism. *Cell*, 134, 728-742.
- GRIFFIN, E. A. J., Staknis, D., & Weitz, C. J. (1999). Light-independent role of CRY1 and CRY2 in the mammalian circadian clock. *Science*, 286, 768-771.
- GUAN, K. L., & Xiong, Y. (2011). Regulation of intermediary metabolism by protein acetylation. *Trends in Biochemical Sciences*, 36, 108-115.

- GUENTHNER, C. J., Bickar, D., & Harrington, M. E. (2009). Heme reversibly damps Period2 rhythms. *Neuroscience*, 164, 832-841.
- HAMAGUCHI, H., Fujimoto, K., Kawamoto, T., Noshiro, M., Maemura, K., Takeda, N., ...Kato, Y. (2004). Expression of the gene for Dec2, a basic helix-loop-helix transcription factor, is regulated by a molecular clock system. *Biochemical Journal*, 382, 43-50.
- HAO, H., Allen, D. L., & Hardin, P. E. (1997). A circadian enhancer mediates PER-dependent mRNA cycling in *Drosophila melanogaster*. *Molecular and Cellular Biology*, 17, 3687-3693.
- HAO, H., Glossop, N. R., Lyons, L., Qiu, J., Morrish, B., Cheng, Y., Helfrich-Förster, C., & Hardin, P. (1999). The 69 bp circadian regulatory sequence (CRS) mediates per-like developmental, spatial, and circadian expression and behavioral rescue in *Drosophila*. *The Journal of Neuroscience*, 19, 987-994.
- HARMER, S. L., Panda, S., & Kay, S. A. (2001). Molecular bases of circadian rhythms. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 17, 215-253.
- HIDA, A., Koike, N., Hirose, M., Hattori, M., Sakaki, Y., & Tei, H. (2000). The human and mouse Period1 genes: Five well-conserved E-boxes additively contribute to the enhancement of mPer1 transcription. *Genomics*, 65, 224-233.
- HIRAYAMA, J., Nakamura, H., Ishikawa, T., Kobayashi, Y., & Todo, T. (2003). Functional and structural analyses of cryptochrome vertebrate CRY regions responsible for interaction with the CLOCK:BMAL1 heterodimer and its nuclear localization. *JBC The Journal of Biological Chemistry*, 278, 35620-35628.
- HIRAYAMA, J., Sahar, S., Grimaldi, B., Tamaru, T., Takamatsu, K., Nakahata, Y., & Sassone-Corsi, P. (2007). CLOCK-mediated acetylation of BMAL1 controls circadian function. *Nature*, 450, 1086-1090.
- HOGENESCH, J. B., Gu, Y. Z., Jain, S., & Bradfield, C. A. (1998). The basic-helix-loop-helix-PAS orphan MOP3 forms transcriptionally active complexes with circadian and hypoxia factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 5474-5479.
- IIZUKA, K., & Horikawa, Y. (2008). Regulation of lipogenesis via BHLHB2/Dec1 and ChREBP feedback looping. *Biochemical and Biophysical Research Communications Biochemical*, 374, 95-100.
- IMAI, S., Armstrong, C. M., Kaeberlein, & M., Guarente, L. (2000). Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature*, 403, 795-800.
- ISHIDA, M., Uhea, T., & Sagami, I. (2008). Effects of mutation in the heme domain on the transcriptional activity and DNA-binding activity of NPAS2. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 368, 292-297.

- ISHIDA, N. (1995). Molecular biological approach to the circadian clock mechanism. *Neuroscience Research*, 23, 231-240.
- JIN, X., Shearman, L. P., Weaver, D. R., Zylka, M. J., de Vries, G. J., & Reppert, S. M. (1999). A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock. *Cell*, 96, 57-68.
- JUMP, D. B., Botolin, D., Wang, Y., Xu, J., Christian, B., & Demeure, O. (2005). Fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *The Journal of Nutrition*, 135, 2503-2506.
- KATADA, S., & Sassone-Corsi, P. (2010). The histone methyltransferase MLL1 permits the oscillation of circadian gene expression. *Nature Structural & Molecular Biology*, 17, 1414-1421.
- KELLY, T. K., De Carvalho, D. D., & Jones, P. A. (2010). Epigenetic modifications as therapeutic targets. *Nature Biotechnology*, 28, 1069-1078.
- KEWLEY, R. J., Whitelaw, M. L., & Chapman-Smith, A. (2004). The mammalian basic helix-loop-helix/PAS family of transcriptional regulators. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36, 189-204.
- KITA, Y., Shiozawa, M., Jin, W., Majewski, R. R., Besharse, J. C., Greene, A. S., & Jacob, H. J. (2002). Implications of circadian gene expression in kidney, liver and the effects of fasting on pharmacogenomic studies. *Pharmacogenetics*, 12, 55-65.
- KO, C. H., & Takahashi, J. S. (2006). Molecular components of the mammalian circadian clock. *Human Molecular Genetics*, 15, R271-R277.
- KONDRATOV, R. V., Chernov, M. V., Kondratova, A. A., Gorbacheva, V. Y., Gudkov, A. V., & Antoch, M. P. (2003). BMAL1-dependent circadian oscillation of nuclear CLOCK: posttranslational events induced by dimerization of transcriptional activators of the mammalian clock system. *Genes & Development*, 17, 1921-1932.
- KONDRATOV, R. V., Kondratova, A. A., Gorbacheva, V. Y., Vykhoanets, O. V., & Antoch, M.P. (2006). Early aging and age-related pathologies in mice deficient in BMAL1, the core component of the circadian clock. *Genes & Development*, 20, 1868-1873.
- KORNBERG, R. D. (2007). The molecular basis of eukaryotic transcription. *PNAS*, 104, 12955-12961.
- KORNMANN, B., Schaad, O., Bujard, H., Takahashi, J. S., & Schibler, U. (2007). System-driven and oscillator-dependent circadian transcription in mice with a conditionally active liver clock. *PLOS Biology*, 5, e34.
- KUME, K., Zylka, M. J., Sriram, S., Shearman, L. P., Weaver, D. R., Jin, X., ... Reppert, S. M. (1999). mCRY1 and mCRY2 Are Essential Components of the Negative Limb of the Circadian Clock Feedback Loop. *Cell*, 98, 193-205.

- LAPOSKY, K. A., Ramsey, K. M., Estrada, C., Joshu, C., Kobayashi, Y., Turek, F. W., & Bass, J. (2007). High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell Metabolism*, 6, 414-421.
- LUKAT-RODGERS, G. S., Correia, C., Botuyan, M. V., Mer, G., & Rodgers, K. R. (2010). Heme-based sensing by the mammalian circadian protein CLOCK. *Inorganic Chemistry*, 49, 6349-6345.
- MARTELOT, G., Claudel, T., Gatfield, D., Schaad, O., Kornmann, B., Sasso, G. L., Moschetta, A., & Schibler, U. (2009). REV-ERBa participates in circadian SREBP signaling and bile acid homeostasis. *PLOS Biology*, 7, e1000181.
- MARTIN, C., & Zhang, Y. (2005). The diverse functions of histone lysine methylation. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 6, 838-849.
- MARTÍNEZ, M. M. T., Ángeles, C. M., Díaz, M. M., Aguilar, R. R., Mendoza, J., & Escobar, C. (2004). Dissociation between adipose tissue signals, behavior and the food-entrained oscillator. *Journal of Endocrinology*, 181, 53-63.
- MASSARI, M. E., & Murre, C. (2000). Helix-loop-helix proteins: Regulators of transcription in eucaryotic organisms. *Molecular and Cellular Biology*, 20, 429-440
- MCCARTHY, J. J., Andrews, J. L., McDearmon, E. L., Campbell, K. S., Barber, B. K., Miller, B. H., ... Esser, K. A. (2007). Identification of the circadian transcriptome in adult mouse skeletal muscle. *Physiological Genomics*, 31, 86-95.
- MEANEY, M. J. (2010). Epigenetics and the biological definition of gene x environment interactions. *Child Development*, 81, 41-79.
- MITRO, N., Mak, P. A., Vargas, L., Godio, C., Hampton, E., Molteni, V., Kreush, A., & Saez, E. (2007). The nuclear receptor LXR is a glucose sensor. *Nature*, 445, 219-223.
- MÜHLBAUER, E., Wolgast, S., Finckh, U., Peschke, D., & Peschke, E. (2004). Indication of circadian oscillations in the rat pancreas. *FEBS Letters*, 564, 91-99.
- NADER, N., Chrousos, G. P., & Kino, T. (2009). Circadian rhythm transcription factor CLOCK regulates the transcriptional activity of the glucocorticoid receptor by acetylating its hinge region lysine cluster: Potential physiological implications. *The FASEB Journal*, 23, 1572-1583.
- NAÏMI, M., Arous, C., & van Obberghen, E. (2010). Energetic cell sensors: A key to metabolic homeostasis. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 21, 75-82.
- NAKAHATA, Y., Kaluzova, M., Grimaldi, B., Sahar, S., Hirayama, J., Chen, D., ... Sassone-Corsi, P. (2008). The NAD⁺-dependent deacetylase SIRT1 modulates CLOCK-mediated chromatin remodeling and circadian control. *Cell*, 134, 329-340.
- NAKAHATA, Y., Sahar, S., Astarita, G., Kaluzova, M., & Sassone-Corsi, P. (2009). Circadian control of the NAD⁺ salvage pathway by CLOCK-SIRT1. *Science*, 324, 654-657.

- NARUSE, Y., Oh-hashii, K., Iijima, N., Naruse, M., Yoshioka, H., & Tanaka, M. (2004). Circadian and light-induced transcription of clock gene *Per1* depends on histone acetylation and deacetylation. *Molecular and Cellular Biology*, *24*, 6278-6287.
- OIKE, H., Nagai, K., Fukushima, T., Ishida, N., & Kobori, M. (2011). Feeding cues and injected nutrients induce acute expression of multiple clock genes in the mouse liver. *PLOS ONE*, *6*, e23709.
- PANDA, S., Antoch, M. P., Miller, B. H., Su, A. I., Schook, A. B., Straume, M., ... Hogenesch, J. B. (2002). Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell*, *109*, 307-320.
- PEEK, C. B., Ramsey, K. M., Marcheva, B., & Bass, J. (2012). Nutrient sensing and the circadian clock. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, *23*, 312-318.
- PREITNER, N., Damiola, F., Lopez-Molina, L., Zakany, J., Duboule, D., Albrecht, U., & Schibler, U. (2002). The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, *110*, 251-260.
- RAMSEY, K. M., Yoshino, J., Brace, C. S., Abrassart, D., Kobayashi, Y., Marcheva, B., ... Bass, J. (2009). Circadian clock feedback cycle through NAMPT-mediated NAD⁺ biosynthesis. *Science*, *324*, 651-654.
- REDDY, A. B., Karp, N. A., E. S., M., Sage, E. A., Deery, M., O'Neill, J. S., Wong, G. K., ... Hastings, M. H. (2006). Circadian orchestration of the hepatic proteome. *Current Biology*, *16*, 1107-1115.
- RUTTER, J., Reick, M., & McKnight, S. L. (2002). Metabolism and the control of circadian rhythms. *Annual Review of Biochemistry*, *71*, 307-331.
- SAHAR, S., & Sassone-Corsi, P. (2009). Metabolism and cancer: The circadian clock connection. *Nature Reviews Cancer*, *9*, 886-896.
- SASSONE-CORSI, P. (2010). Commentary: The year in circadian rhythms. *Molecular Endocrinology*, *24*, 2081-2087.
- SATO, F., Kawamoto, T., Fujimoto, K., Noshiro, M., Honda, K. K., Honma, S., Honma, K., & Kato, Y. (2004a). Functional analysis of the basic helix-loop-helix transcription factor DEC1 in circadian regulation. Interaction with BMAL1. *European Journal of Biochemistry*, *271*, 4409-4419.
- SATO, T. K., Panda, S., Miraglia, L. J., Reyes, T. M., Rudic, R. D., McNamara, P., ... Hogenesch, J. B. (2004b). A functional genomics strategy reveals *Rora* as a component of the mammalian circadian clock. *Neuron*, *43*, 527-537.
- SATO, T. K., Yamada, R. G., Ukai, H., Baggs, J. E., Miraglia, L. J., Kobayashi, T. J., ... Hogenesch, J. B. (2006). Feedback repression is required for mammalian circadian clock function. *Nature Genetics*, *38*, 312-319.

- STEPHAN, F. K., & Davidson, A. J. (1998). Glucose, but not fat, phase shifts the feeding-entrained circadian clock. *Physiology & Behavior*, *65*, 277-288.
- SZENTIRMAL, E., Kapás, L., Sun, Y., Smith, R. G., & Krueger, J. M. (2010). Restricted feeding-induced sleep, activity, and body temperature changes in normal and preproghrelin-deficient mice. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *298*, R467-477.
- TAHARA, Y., Kuroda, H., Saito, K., Nakajima, Y., Kubo, Y., Ohnishi, N., ... Shibata, S. (2012). In Vivo monitoring of peripheral circadian clocks in the mouse. *Current Biology: CB*, *22*, 1029-1034.
- TOWLE, H. C. (2005). Glucose as a regulator of eukaryotic gene transcription. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *16*, 489-494.
- TRAVNICKOVA-BENDOVA, Z., Cermakian, N., Reppert, S. M., & Sassone-Corsi, P. (2002). Bimodal regulation of mPeriod promoters by CREB-dependent signaling and CLOCK/BMAL1 activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*, 7728-7733.
- TRIQUENEAUX, G., Thenot, S., Kakizawa, T., Antoch, M. P., Safi, R., Takahashi, J. S., Delaunay, F., & Laudet, V. (2004). The orphan receptor Rev-erbalpha gene is a target of the circadian clock pacemaker. *Journal of Molecular Endocrinology*, *33*, 585-608.
- WALHOUT, A. J. (2006). Unraveling transcription regulatory networks by protein-DNA and protein-protein interaction mapping. *Genome Research*, *16*, 1445-1454.
- WANG, J., & Lazar, M. A. (2008). Bifunctional role of Rev-erbalpha in adipocyte differentiation. *Molecular and Cellular Biology*, *28*, 2213-2220.
- YAGITA, K., Tamanini, F., Yasuda, M., Hoeijmakers, J. H. J., van der Horst, G. T. J., & Okamura, H. (2002). Nucleocytoplasmic shuttling and mCRY-dependent inhibition of ubiquitylation of the mPER2 clock protein. *The EMBO Journal*, *21*, 1301-1314.
- YAGITA, K., Yamaguchi, S., Tamanini, F., van der Horst, G. T., Hoeijmakers, J. H., Yasui, A., ...Okamura, H. (2000). Dimerization and nuclear entry of mPER proteins in mammalian cells. *Genes & Development*, *14*, 1353-1363.
- YAN, J., Wang, H., Liu, Y., & Shao, C. (2008). Analysis of gene regulatory networks in the mammalian circadian rhythm. *PLOS Computational Biology*, *4*, e1000193.
- YANG, X., Downes, M., Yu, R. T., Bookout, A. L., He, W., Straume, M., Mangelsdorf, D. J., & Evans, R. M. (2006). Nuclear receptor expression links the circadian clock to metabolism. *Cell*, *126*, 801-810.
- YILDIZ, O., Doi, M., Yujnovsky, I., Cardone, L., Berndt, A., Hennig, S., ...Wolf, E. (2005). Crystal structure and interactions of the PAS repeat region of the *Drosophila* clock protein PERIOD. *Molecular Cell*, *17*, 69-82.

- YOO, S. H., Yamazaki, S., Lowrey, P. L., Shimomura, K., Ko, C. H., Buhr, E. D., ...Takahashi, J. S. (2004). PERIOD2::LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 5339-5346.
- YU, H., Xia, F., Lam, K. S., Wang, Y., Bao, Y., Zhang, J., ...Xu, A. (2011). Circadian rhythm of circulating fibroblast growth factor 21 is related to diurnal changes in fatty acids in humans. *Clinical Chemistry*, 57, 691-700.
- ZVONIC, S., Ptitsyn, A. A., Conrad, S. A., Scott, L. K., Floyd, Z. E., Kilroy, G., ...Gimble, J. M. (2006). Characterization of peripheral circadian clocks in adipose tissues. *Diabetes*, 55, 962-970.

.5.

EL CONEJO NEONATO, UN MODELO NATURAL DE SINCRONIZACIÓN POR ALIMENTO

Mario Caba¹, Enrique Meza² y María Luisa Moreno³

INTRODUCCIÓN

La vida diaria está controlada por ritmos. Para los humanos el ritmo más evidente es el ciclo sueño-vigilia, sin embargo, tenemos multitud de ritmos. En la figura 5.1 se puede observar cómo nuestra fisiología, conducta y actividades cognitivas varían a lo largo de las 24 horas. Nuestra temperatura alcanza su punto más bajo mientras dormimos, a las 04:30 h, y el punto más alto a las 19:00 h, cuando se alcanza también la presión sanguínea más elevada. Entre las 14:30-17:00 h alcanzamos nuestro mejor estado físico, ya que tenemos una mayor coordinación, un tiempo más rápido de reacción, mayor eficiencia cardiovascular y fuerza muscular. Durante la noche se suprimen los movimientos intes-

¹ Doctor en Ciencias de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Posdoctorado en Oregon National Primate Research Center. Actualmente es profesor, investigador y coordinador del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

² Doctor en Neuroetología, Universidad Veracruzana. Profesor de la Facultad de Ciencias Químicas e investigador del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

³ Estudiante del Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Veracruzana.

tinales, se secreta la hormona melatonina y dormimos. Estos cambios se repiten todos los días aproximadamente a la misma hora y por ello se llaman ritmos circadianos (del latín *circa*, cerca, y *dies*, día).

Mientras el individuo esté expuesto a las mismas condiciones medioambientales de luz/oscuridad, estos cambios circadianos continuarán ocurriendo cada día. Esto es, nuestra fisiología gira al compás del reloj, de un reloj biológico que está acoplado al ciclo luz/oscuridad. Sin embargo, la ingestión periódica de alimento es capaz de desacoplar muchos de los ritmos que normalmente están sincronizados a este ciclo, de tal manera que el comer en un horario regular impone un ritmo sobre el metabolismo que impacta al organismo tanto a nivel del sistema nervioso como en la periferia, a nivel del metabolismo y las hormonas.

En el presente capítulo analizaremos el problema de la sincronización por alimento y cómo está controlado. Primeramente se hablará sobre el núcleo supraquiasmático (NSQ), nuestro reloj biológico y la luz, su sincronizador, que además lo es principalmente de la propia naturaleza. Enseguida se describirán otro tipo de sincronizadores, enfocando nuestra atención en el alimento y en la sincronización que ocurre por la ingestión periódica del mismo. Posteriormente se tratará el tema del conejo neonato como un modelo natural de sincronización por alimento y se revisarán los estudios que apoyan esta propuesta.

LA LUZ Y NUESTRO RELOJ BIOLÓGICO

En 1972 dos grupos de investigación dirigidos por los doctores Irving Zucker (Stephan & Zucker, 1972) y Robert Moore (Moore & Eichler, 1972) postularon por primera vez que un par de pequeños núcleos cerebrales –los núcleos supraquiasmáticos– situados a los lados del tercer ventrículo, encima del quiasma óptico, en la porción anterior del hipotálamo, eran el sitio del reloj biológico de los mamíferos (ver figura 5.2).

El hipotálamo es una estructura cerebral que controla o regula numerosos procesos de nuestra vida diaria, como la temperatura corporal, la conducta sexual y reproductiva, el balance hídrico, además de los ritmos circadianos, entre otros procesos. El reloj biológico comparte similitudes con un reloj mecánico, y tiene un mecanismo, en este caso molecular, que le permite funcionar constantemente de manera autosostenida. Esto se ha demostrado con base en experimentos *in vitro* en los que se ha analizado su actividad metabólica y eléctrica (Lee et al., 2003).

En los años ochenta se estableció que el NSQ tiene un grupo de genes denominados reloj que cumplen un ciclo de transcripción/traducción

autosostenida que dura aproximadamente 24 horas. Pero no obstante su naturaleza autosostenida, de manera similar a un reloj mecánico, el NSQ necesita que “se le ajuste la hora”. Este proceso es llamado “sincronización”, esto es, el reloj necesita ajustar su funcionamiento a una hora medioambiental determinada por medio de un “sincronizador”. En los mamíferos el sincronizador más importante es la luz diaria, de este modo a través del ciclo luz/oscuridad se le indica al reloj biológico cuándo es de día y cuándo de noche. En otras palabras, se podría decir que todos los días se le indica cuándo sale el sol y cuándo deja de haber luz solar.

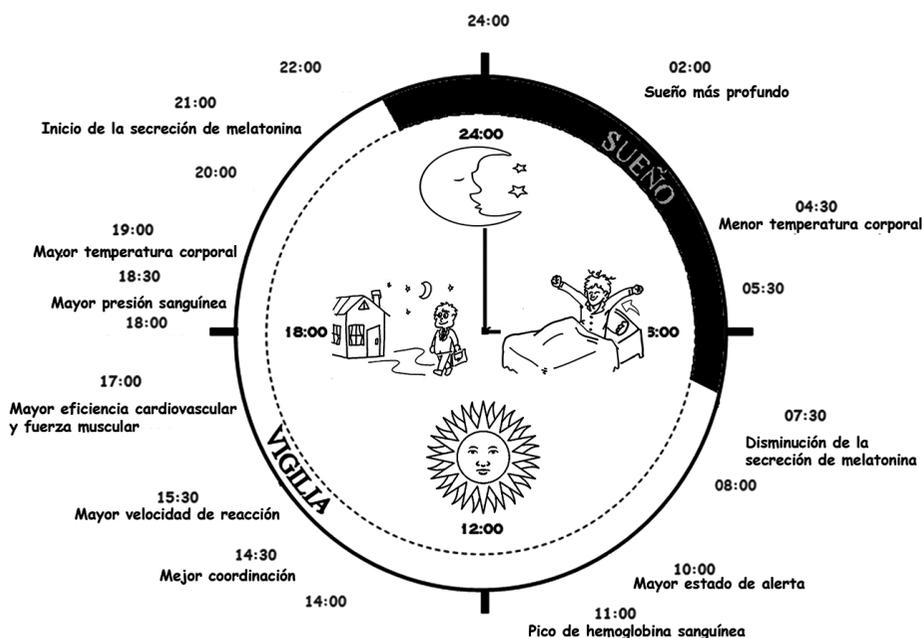


FIGURA 5.1. El ritmo de la vida. La máxima y mínima expresión de parámetros fisiológicos y conductuales coincide con determinadas horas del día o de la noche.

La acción sincronizadora de la luz sobre el NSQ se explora en el laboratorio mediante la inducción de algún marcador, como la proteína FOS, a consecuencia de un pulso de luz. Esta proteína es producto del gen *c-Fos*, que se induce rápidamente en respuesta a un estímulo particular y su expresión se utiliza comúnmente en neurociencias como un indicador de activación neuronal (ver figura 5.2).

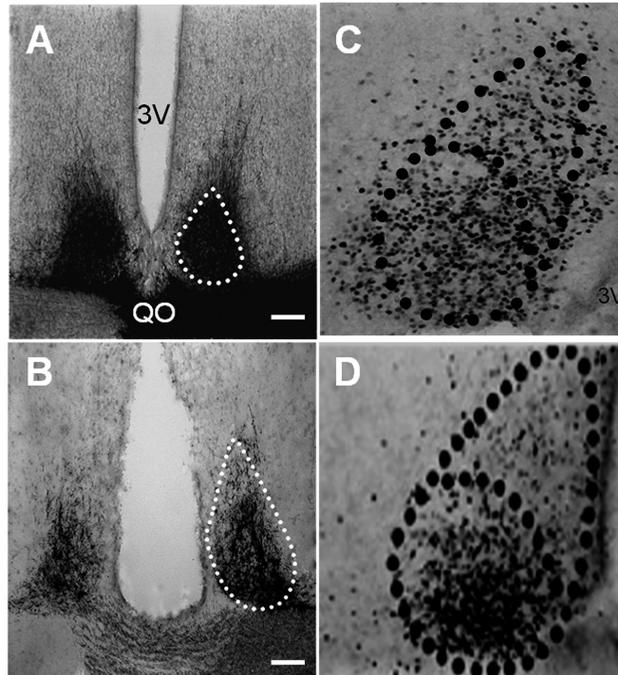


FIGURA 5.2. Núcleo supraquiasmático (NSQ) en el conejo neonato (A, C) y adulto (B, D). A la izquierda se encuentra el NSQ delimitado por fibras del tracto retinohipotalámico provenientes de la retina y visualizadas por inmunohistoquímica de β -toxina de cólera (A, B). A la derecha se encuentra el NSQ delimitado por células que expresan la proteína FOS (C, D). Nótese que en A y C la expresión se observa en todo el núcleo, mientras que en B y D hay una tendencia hacia la porción ventral. 3V: tercer ventrículo, QO: quiasma óptico, líneas punteadas delimitación del NSQ; en C y D indican la porción ventral y dorsal del núcleo. Barra de calibración = 100 μ m (modificada de Juárez et al., 2012).

La base de la actividad circadiana endógena se debe a la oscilación de un grupo de genes reloj y sus proteínas. Estos genes se descubrieron originalmente en la mosca de la fruta y posteriormente se identificaron en mamíferos. Su mecanismo de acción es motivo de intenso estudio, ya que son los “engranajes moleculares” del reloj biológico (Reppert & Weaver, 2001). En la figura 5.3 se presenta un esquema que muestra la oscilación de dos de estos genes, *Per1* y *Bmal1*. Como se puede observar oscilan en antifase y cumplen un ciclo aproximadamente cada 24 horas.

Así tenemos un reloj biológico que funciona constantemente con base en un mecanismo molecular y se sincroniza por la luz todos los días. Pero a diferencia del reloj mecánico, el reloj biológico no necesita que se le dé cuerda. Su funcionamiento es endógeno, es decir, es intrínseco a la vida del organismo (Mohawk & Takahashi, 2011). Si no se sincroniza con la luz medioambiental el NSQ continúa oscilando con un período

de aproximadamente 24 horas, pero ahora se dice que está en “libre curso”. Por lo tanto, su ritmo (endógeno) está desincronizado de la hora geográfica medioambiental.

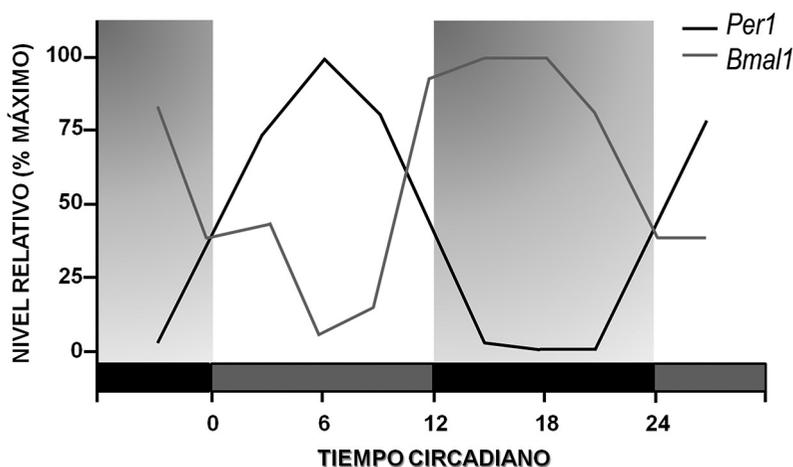


FIGURA 5.3. Representación esquemática de los genes reloj *Per1* y *Bmal1* en el núcleo supraquiasmático de la rata. Obsérvese cómo se expresan en antifase (modificada de Reppert y Weaver, 2001).

¿EL RELOJ BIOLÓGICO ES INDISPENSABLE PARA NUESTRA VIDA?

Desde su descubrimiento se estableció que la destrucción del reloj biológico acarrea consecuencias graves para el individuo, pero no letales. Precisamente, a través de lesiones del NSQ en ratas se determinó que los sujetos perdían el ritmo locomotor y de ingesta de agua (Stephan & Zucker, 1972), así como de la hormona corticosterona (Moore & Eichler, 1972). Esto es, se descubrió que además de controlar conductas específicas el NSQ también controla la secreción del sistema neuroendocrino. En general, a pesar de que este núcleo ya no esté presente, los sujetos continúan consumiendo agua, realizando conducta locomotora y secretando hormonas, pero lo hacen de manera arrítmica.

Por ejemplo, en relación con la conducta locomotora, ésta se presenta al inicio del período de actividad de los sujetos, en la noche para especies nocturnas y en el día para especies diurnas. Pero cuando a los individuos se les suprime el NSQ, la realizaban a cualquier hora a lo largo del día o de la noche. El primer hecho notable posterior a dicha lesión es que la presencia del NSQ no es indispensable para la vida,

pues los individuos aparentaban estar sanos, aunque ahora su conducta locomotora y de ingesta de agua y secreción de corticosterona era arrítmica. Y si bien la supresión del NSQ no es una amenaza inmediata para la vida, es evidente que tener conducta locomotora a cualquier hora no es normal, ya que implica un desajuste total del ciclo sueño-vigilia y un grave desajuste hormonal. Esto es, el orden conductual y fisiológico –representado en la figura 5.1– se pierde.

Así entonces, a partir principalmente del conocimiento de los genes reloj ahora sabemos que el funcionamiento normal de los ritmos circadianos es extremadamente importante para los individuos, ya que su disrupción por alteraciones de las actividades diarias, epigenéticas o genéticas se asocia a numerosas patologías, algunas de las cuales llegan a ser fatales, como el síndrome metabólico (Maury et al., 2010) y el cáncer (Sephton & Spiegel, 2003), e inclusive desórdenes afectivos (Mendlewicz, 2009).

EL ALIMENTO Y ¿OTRO RELOJ BIOLÓGICO?

Una vez establecido que el NSQ es el reloj biológico de los mamíferos se consideró que todos los ritmos circadianos estaban controlados por este núcleo. Uno de estos es el consumo de alimento. La ingestión periódica de alimento impone un ritmo metabólico y, en general, un ritmo sobre toda la fisiología del organismo, además de que está estrechamente relacionada con la actividad día-noche del individuo, ya sea diurno o nocturno.

Desde hace mucho tiempo, en 1922, Curt Ritche (como se citó en Antle & Silver, 2009) descubrió que el alimento es un sincronizador muy poderoso, ya que inclusive tiene la capacidad de desacoplar la actividad diaria de los individuos, la que normalmente está sincronizada al ciclo noche-día. En sus estudios, Ritche, en lugar de mantener a las ratas en condiciones constantes de aprovisionamiento de alimento –lo que se conoce como *ad libitum*–, les proporcionó alimento una sola vez al día durante un período restringido de tiempo, observando su ciclo de conducta locomotora con base en su acceso a una rueda giratoria. Asimismo, estudió a los sujetos en iluminación constante, a diferencia de la condición normal de luz/oscuridad, eliminando de esta manera la influencia sincronizadora del ciclo diario de iluminación.

Bajo estas condiciones, el investigador observó que después de varios días las ratas, al exponerlas al alimento una vez al día a una hora determinada, mostraban un aumento significativo en su actividad locomotora antes de la llegada del mismo. Esto se conoce actualmente como actividad anticipatoria al alimento (AAA). Posteriormente a la publicación

de Richter, este fenómeno fue escasamente estudiado; sin embargo, a partir del establecimiento del NSQ como reloj biológico, surgió el interés general por explorar el papel de dicho núcleo sobre la AAA. Las implicaciones de este fenómeno son muy importantes, ya que inicialmente se llegó a postular que esta sincronización durante la AAA implicaba la existencia de “otro” reloj biológico, en este caso sincronizable por el alimento y no por la luz, como el NSQ.

Para estudiar la sincronización por alimento, en el laboratorio generalmente se utilizan roedores a los que se les registra su ritmo diario de conducta locomotora. El proceso consiste de 4 etapas. En la primera los sujetos se mantienen en condiciones normales de laboratorio, esto es, con un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 horas y el alimento disponible *ad libitum*.

En la segunda etapa se les retira el alimento y solamente se les proporciona durante la fase de luz dos horas diarias, de 12:00-14:00 h, para que el efecto sea más evidente, ya que en dicho momento los sujetos deberían estar inactivos, generalmente durmiendo; si, por el contrario, el alimento se administrara en la noche, la conducta anticipatoria se confundiría con la actividad locomotora normal de los individuos. La respuesta de los sujetos después de varios días de estar bajo este proceso es que muestran intensa actividad locomotora unas dos o tres horas antes de la llegada del alimento, al mismo tiempo que se sincronizan otros ritmos circadianos, por ejemplo, la temperatura corporal y la secreción de la hormona corticosterona, que presentan un pico máximo de expresión durante la AAA. Estos parámetros se incrementan alrededor de 3 horas antes de la presentación del alimento durante la AAA. En la figura 5.4 se muestra un registro de actividad circadiana que se denomina actograma, en este caso se trata de actividad locomotora en la rata.

Cuando la AAA está firmemente establecida, esto es, generalmente después de dos semanas en esta condición, se pasa a la etapa 3. En ésta se deja de dar el alimento durante el día y se vuelve a la condición *ad libitum* en la que los sujetos duermen durante el día y están activos y comen durante la noche.

En la etapa 4 se retira nuevamente el alimento y los sujetos vuelven a presentar la AAA como se presentaba en la etapa 2. Este protocolo experimental en conjunto indica a los investigadores que durante la etapa 2 “se estableció un reloj” que se sincronizó por la presentación diaria de alimento a la misma hora. Dicho reloj siguió funcionando, sin ser evidente, durante la etapa 3, y vuelve a observarse en la etapa 4. Inicialmente se consideró que la AAA podría estar controlada por el NSQ por una razón muy importante: se había demostrado que el ritmo de conducta loco-

tora estaba controlado por dicho núcleo (Stephan & Zucker, 1972). Esto es, que el alimento había establecido el ritmo de AAA en el NSQ y consecuentemente este ritmo estaba bajo su control. Sin embargo, en 1977 se realizó un experimento que acabó con esta suposición y abrió una nueva era en la investigación de los ritmos circadianos.

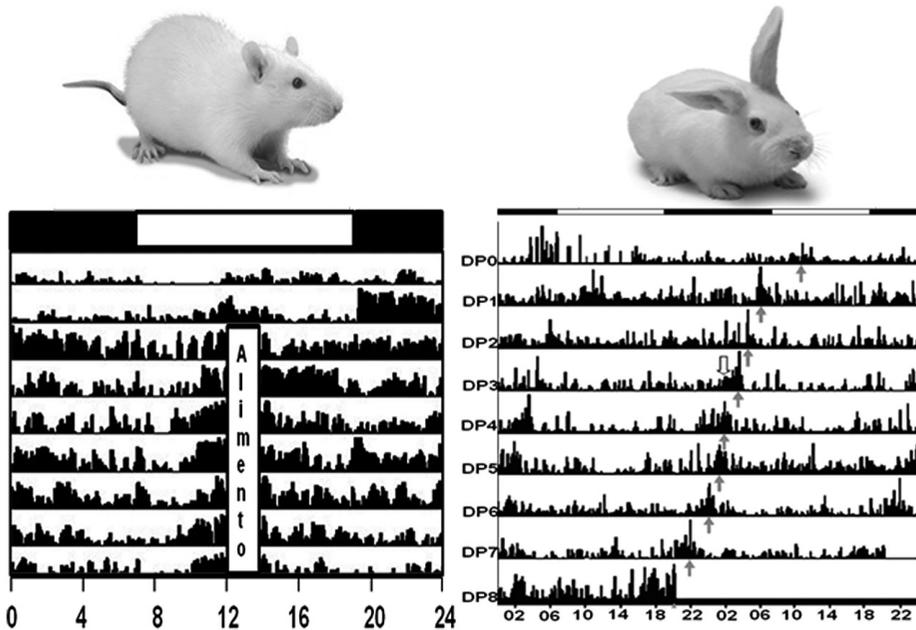


FIGURA 5.4. Registros de actividad locomotora (actogramas) de rata adulta y conejo neonato sincronizados por el alimento diario. Nótese como en ambos casos hay un aumento de actividad locomotora antes de la llegada del alimento en la rata y en el conejo (flechas grises). La flecha blanca en el actograma del conejo indica la actividad anticipatoria al alimento (AAA) tanto en la rata como en el conejo. En ambos casos, en la parte inferior se indica la hora geográfica (modificada de Caba y González-Mariscal, 2009).

Dorothy Krieger (Krieger et al., 1977) lesionó el NSQ de ratas adultas sincronizadas por alimento y descubrió, sorprendentemente, que el aumento anticipatorio en temperatura y corticosterona no se abatía por su destrucción, lo que sugería la existencia de “otro reloj”. El descubrimiento fue recibido con escepticismo por la comunidad científica, pero pronto se descubrió que las ratas adultas sincronizadas al alimento podían seguir presentando un ritmo de AAA y paralelamente otro ritmo de actividad locomotora, el ritmo controlado por el NSQ (Edmonds & Adler, 1977). Es decir, se reforzaba el planteamiento de que existe otro reloj sincronizable por el alimento que no era el del NSQ.

Con base en estas y otras evidencias se postuló la existencia de “otro reloj biológico” diferente del NSQ. No obstante, las evidencias de su funcionamiento eran pocas, así como particularmente las de su localización, suponiendo que se hallaba en el cerebro, por lo que se le llamó oscilador sincronizado por alimento (OSA) (Stephan, 1986). Actualmente, y con base en numerosos estudios, se ha establecido que la AAA es un fenómeno circadiano, ya que tiene límites de sincronización de 22-32 horas, responde a cambios de fase (en inglés: *Phase Shifts*) –esto es, que puede sincronizarse a diferentes horarios– y presenta adaptaciones graduales a dichos cambios (en inglés: *Transients*), características que definen a los fenómenos circadianos (Stephan, 2002).

BÚSQUEDA DEL OSCILADOR QUE SE SINCRONIZA POR EL ALIMENTO

Una vez que se estableció la existencia del OSA el siguiente paso fue determinar su localización. Considerando que el reloj maestro se encuentra en un *locus* bien definido, esto es, un núcleo cerebral, resultó lógico realizar una búsqueda en núcleos específicos en el cerebro. Así, principalmente con base en técnicas de lesión, se exploraron muchos núcleos y áreas en el cerebro, por ejemplo, los núcleos paraventricular, dorsomedial (NDM), ventromedial (NVM) y arcuato en el hipotálamo, así como núcleos en el tallo cerebral y otras zonas del cerebro (Davidson, 2009; Mistlberger, 2011). La búsqueda se inició en 1980 con la destrucción del NVM y continúa hasta la fecha con un intenso debate sobre las consecuencias de destruir otro núcleo hipotalámico, el NDM, y observar su participación en la sincronización por alimento.

En general, los resultados de esta estrategia de lesión han sido variables. Por ejemplo, se llegó a pensar que en los NVM y NDM estaba el oscilador o, que al menos, eran muy importantes para el mismo, pero en ambos casos los sujetos pueden seguir presentando sincronización por alimento en mayor o menor grado. Hay una enorme literatura sobre el tema matizada de acaloradas discusiones, particularmente por discrepancias metodológicas entre diversos autores (Mistlberger et al., 2009). A pesar de este panorama sí se ha llegado a una conclusión: el oscilador sincronizado por el alimento parece no estar en un determinado núcleo del cerebro, o en todo caso, quizás no se trate sólo de un oscilador.

La búsqueda del OSA nos ha enseñado mucho acerca de este fenómeno y del funcionamiento de las diferentes estructuras del cerebro. También nos ha mostrado que aunque el sistema nervioso, concretamen-

te el cerebro, tiene diversos núcleos que controlan funciones específicas, probablemente en el caso del OSA se trata de un control “disperso”, esto es, un sistema multioscilar que no necesariamente está solamente en el sistema nervioso, y que probablemente se encuentra constituido por estructuras tanto a nivel central como periférico. La investigación sobre estas últimas estructuras se inició más tarde.

RITMOS A NIVEL PERIFÉRICO Y GENES RELOJ

¿Ubicación periférica del OSA?

Hay ritmos diarios de metabolitos, hormonas y de toda la fisiología de nuestros órganos periféricos, y aunque estos ritmos son evidentes y bien conocidos desde hace mucho tiempo, sorprendentemente no se le prestó atención a su relación con la sincronización por alimento. Esto se debió principalmente a resultados negativos al lesionar la hipófisis. Debemos recordar que durante la sincronización por alimento la hormona corticosterona se sincroniza y muestra una elevación significativa durante la AAA, pero la adrenalectomía no eliminó la AAA (Stephan et al., 1979). Años después, a raíz de que no se estableció el *locus* en el cerebro, la atención se dirigió nuevamente a órganos periféricos. En esta búsqueda a nivel periférico se contó con un nuevo aliado: los genes reloj.

Como se mencionó previamente, los genes reloj están presentes en el NSQ y son el mecanismo molecular de la oscilación circadiana del mismo. El funcionamiento normal de este mecanismo es sumamente importante debido a que su disrupción por un mal funcionamiento o por destrucción del núcleo afecta los ritmos circadianos en el individuo a todos los niveles. Estudios posteriores demostraron que estos genes están presentes en otros núcleos y regiones cerebrales, y aparentemente también en todos los órganos y células del cuerpo. Aún más, a todo lo largo de la escala filogenética, desde organismos unicelulares como las bacterias hasta en nuestra especie (Reppert & Weaver, 2001).

Es muy interesante descubrir que en otras áreas del cerebro dichos genes también son rítmicos, aunque sus oscilaciones están controladas por el NSQ, que mantiene una sincronía entre ellos. La lesión del NSQ no desaparece los ritmos en otras estructuras cerebrales, pero sí afecta la sincronía entre ellos (Abe et al., 2002; Abraham et al., 2005; Meza et al., 2011). Esta desincronización también se observa a nivel periférico (Kriegsfeld et al., 2002), sin embargo, cuando a dichos individuos arrítmicos por lesión se les presenta alimento de manera periódica, los

ritmos pueden sincronizarse tanto en tejidos a nivel central como periférico (Davidson et al., 2003; Mistlberger, 2011).

El interés por estudiar la sincronización por alimento a nivel periférico adquirió amplia atención cuando se postuló que el hígado era el *locus* del OSA con base en la expresión del gen reloj *Per1* acoplado a un reportero, la luciferasa, en ratones transgénicos (Stokkan et al., 2001). En estos casos, cuando el gen reloj se expresa también lo hace la luciferasa, y su cuantificación nos indica indirectamente el ritmo circadiano de una estructura particular. Este experimento demostró una sincronización por alimento del hígado pero no del NSQ. Sin embargo, ya anteriormente se había encontrado que en el proceso de restricción de alimento existía una sincronización metabólica que persistía durante la ausencia de alimento en la fase 4 (Escobar et al., 1998). Posteriormente, este mismo grupo encontró una sincronización del hígado que mostraba una “actividad anticipatoria” metabólica a la presentación del alimento (Díaz et al., 2000). Estos experimentos, en conjunto, apoyaban la idea de que el OSA se encontraba en el sistema digestivo, muy probablemente en el hígado. A pesar de ello, estudios posteriores demostraron que un hígado cirrótico disfuncional no imposibilitaba a los sujetos mostrar AAA a nivel conductual (Escobar et al., 2002). Además, cuando se sincronizó a ratas adultas a dos períodos de alimentación en el día se demostró que la AAA se presentaba en los dos casos, pero el sistema gastrointestinal, incluyendo el hígado, se sincronizaba únicamente a un período (Davidson et al., 2003), por lo que la propuesta del OSA en un órgano del sistema digestivo fue desechada.

Actualmente la hipótesis que prevalece es que no existe un *locus* para el OSA, sino que este elusivo oscilador probablemente esté constituido por un sistema multioscilar en donde el alimento sincroniza diversas estructuras, tanto a nivel central como periférico, y en el que además participa el propio NSQ (Acosta et al., 2011). A pesar de la intensa investigación que se ha realizado sobre este tema no hay una completa comprensión del mismo y constantemente se están agregando nuevas evidencias. Una de las contribuciones al entendimiento de este problema se realiza utilizando el conejo neonato como modelo de estudio.

UN MODELO NATURAL DE SINCRONIZACIÓN POR ALIMENTO

El conejo neonato presenta una particularidad única entre los mamíferos: come –en este caso ingiere leche– una sola vez al día, llegando a

consumir el equivalente de 20-30% de su peso corporal en leche en menos de 5 minutos en el día postnatal 7 (Caba et al., 2003; ver figura 5.5).

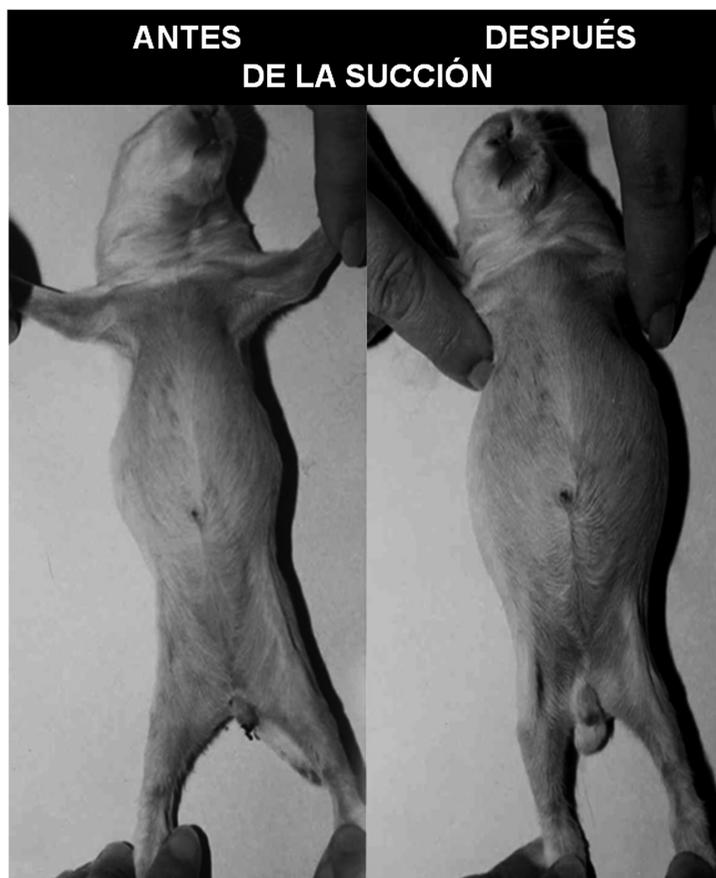


FIGURA 5.5. Conejo neonato del día postnatal 7, antes de ingerir leche y 5 minutos después. En dicho lapso ingiere entre 20-35% de su peso corporal.

Esto se conoce desde hace tiempo pero fue hasta la década de los noventa que con experimentos controlados se demostró que esta ingestión ocurre de manera circadiana (Jilge, 1995). Paralelamente la visita de la madre ocurre también de manera circadiana. En condiciones en las que se permite el libre acceso de la madre a los críos (gazapos), ella va a alimentarlos una sola vez al día (Jilge, 1995) y sincroniza su conducta locomotora al horario de amamantamiento (Meza et al., 2008; 2011). En los actogramas se observa que la llegada de la madre al nido donde están sus críos coincide con una elevación significativa anticipada de la actividad locomotora de los gazapos (ver figura 5.4). La visita periódica de la

madre impone dicho ritmo en los críos y se presenta cuando los críos son alimentados en el día o durante la noche (Caba et al., 2008; ver figura 5.4).

El protocolo básico que utilizamos para explorar la sincronización de estos sujetos es el siguiente: regularmente utilizamos críos de 7-9 días de edad y el amamantamiento se establece a las 10:00 h de la mañana o a las 02:00 h de la noche. En ambos casos se observa una sincronización de la actividad locomotora de los críos, en el día postnatal 3 en los amamantados de noche y en el 4 en los amamantados de día. Durante la visita de la madre los críos están expuestos a diferentes estímulos en el amamantamiento: termales, táctiles, feromonales y tal vez auditivos, además del alimento *per se*. Por esta razón se postuló que el conejo neonato es un modelo natural de anticipación al amamantamiento (Caba & González-Mariscal 2009).

Para determinar si el alimento pudiera ser un estímulo suficiente y necesario para la sincronización locomotora de los críos se realizó alimentación artificial infundiendo una fórmula láctea directamente al estómago de los gazapos. Los críos se separaron de su madre al nacimiento y no volvieron a tener contacto con ella. Todos los días se les infundió la fórmula, fuese en el día o en la noche, de manera similar al protocolo utilizado en los críos alimentados por su madre, en una cantidad equivalente a la que ellos normalmente ingieren (Caba et al., 2003). Se encontró que de la misma manera en que los críos son alimentados por su madre, la infusión de la fórmula fue suficiente para inducir aumento de la actividad anticipatoria en los críos (Morgado et al., 2011).

Con base en el experimento de alimentación artificial se estableció que el conejo neonato es verdaderamente un modelo natural de sincronización por alimento, y que el aumento de la actividad locomotora antes de la ingestión de alimento puede considerarse similar a la AAA que se observa en roedores adultos, como ratas y ratones. Aparte de la sincronización locomotora, la alimentación periódica en los conejos sincroniza también parámetros a nivel fisiológico y a nivel neural.

A nivel fisiológico en los gazapos se observa también una sincronización de metabolitos, como glucógeno y ácidos grasos, entre otros (Morgado et al., 2008; 2010). Además, hay una sincronización hormonal, en la que es particularmente importante la sincronización de la hormona corticosterona. En roedores bajo condiciones normales de luz/oscuridad, esta hormona normalmente presenta un pico máximo de concentración plasmática antes del inicio del período de actividad de los individuos; en el caso de los animales nocturnos, antes del inicio de la noche, como ya se mencionó, incluyendo al conejo adulto (Szeto et al., 2004). Pero en

sujetos sincronizados al alimento este pico antes de la noche desaparece o se atenúa, y ahora se observa un aumento significativo antes de la presentación del mismo (Honma et al., 1992; Moberg et al., 1975).

Como se mencionó al inicio de este capítulo, la sincronización de la corticosterona es uno de los parámetros para considerar que los sujetos están sincronizados al alimento. En los conejos neonatos encontramos que esta hormona se sincroniza, esto es, presenta un pico anticipatorio al momento de la presentación del alimento, independientemente si se proporciona durante el día (Morgado et al., 2008) o durante la noche (Morgado et al., 2010). Aún más, también observamos una sincronización de esta hormona en los sujetos con alimentación artificial, ya sea que se proporcione durante el día o en la noche (Morgado et al., 2011). No se esperaba la secreción y sincronización de corticosterona en conejos neonatos, ya que se había publicado que los conejos de esta edad están bajo un período denominado hiporresponsivo al estrés (Pradier & Dalle, 1996), similar a los críos de roedores a esa edad que no presentan secreción de corticosterona (Levine, 1994). Sin embargo, para nuestra sorpresa encontramos que los gazapos sí secretan corticosterona a esa edad y que ésta parecía estar sincronizada al momento de la succión de leche (Rovirosa et al., 2005), lo cual fue confirmado posteriormente, como ya se mencionó. Asimismo, también se observa una sincronización de estructuras cerebrales.

En el hipotálamo de los roedores varios núcleos muestran una clara sincronización al alimento (Mistlberger, 2011). En el conejo neonato estudiamos la posible sincronización a nivel cerebral explorando dos núcleos, el NDM y el NSQ (Caba et al., 2008). En este último observamos un efecto muy ligero en relación con el cambio de la hora del alimento. Básicamente es un aumento en la amplitud del ritmo tanto de la proteína PER1 como de FOS, y los análisis de ritmicidad circadiana denominados cosinor indican un cambio de fase de 2.5 h y 0.55 h, respectivamente. Sin embargo, en el núcleo dorsomedial encontramos un cambio significativo en la fase de 7.5 h con base en dichos análisis. En relación con el NSQ otros autores reportaron un cambio importante en función de la hora del alimento, pero es posible que este cambio se deba al desarrollo ontogenético de dicho núcleo (Caldelas et al., 2009; Caba & González-Mariscal, 2009). Por lo que respecta a roedores adultos se considera que el alimento no es un sincronizador del NSQ, pues no se observan cambios o estos son muy pequeños (Mistlberger, 2011). A pesar de ello, en otros núcleos hipotalámicos hay una clara sincronización, como por ejemplo con el NDM (revisión en Mistlberger, 2011), similar a lo reportado en gazapos (Caba et al., 2008).

Como se puede observar, estos núcleos hipotalámicos se comportan de manera similar en el conejo neonato y la rata adulta sincronizados por alimento. En relación con otras regiones del cerebro se considera que la presentación periódica de alimento afecta múltiples áreas y núcleos y produce activación de ellos antes, durante y/o después de la presentación del alimento, tanto en roedores adultos (Angeles et al., 2004; Mistlberger, 2011) como en el conejo (Caba et al., 2008; Caba & González-Mariscal, 2009; Morgado et al., 2011; Juárez et al., 2012).

Con base en todas estas evidencias, hasta ahora se puede concluir que el conejo neonato es un modelo natural de sincronización por alimento. Por lo demás, los resultados de los estudios en roedores adultos y en gazapos en relación con el OSA refuerzan la idea de la participación de múltiples regiones cerebrales en la sincronización por alimento. Se está entendiendo cómo está organizado este sistema multioscilar, incluso se ha sugerido que en lugar de sólo un *locus*, el OSA muy probablemente está constituido por un sistema multioscilar, como ya se mencionó, en el que participan múltiples estructuras, no sólo del sistema nervioso sino de la periferia (Mistlberger, 2011).

Pero es posible que para una mayor comprensión de este fenómeno sea necesario analizar otras áreas cerebrales que han sido escasamente o aún no exploradas. Resultaría específicamente interesante analizar las áreas que muestran actividad antes de la presentación del alimento, ya que esto sugiere su participación en el mecanismo del estado de alerta. Pero si al propio tiempo este aumento de actividad persiste después de que el sujeto ha estado en ayuno, podría sugerirse que también puede ser parte del reloj o los relojes oscilatorios que controlan este fenómeno. Esto en contraste con las áreas que muestran actividad sólo después de la presentación del alimento y que, por lo tanto, pueden formar parte del mecanismo de entrada de la información, es decir, de la sincronización. A continuación describiremos estudios recientes que involucran regiones cerebrales que muestran anticipación a la presentación del alimento y persistencia en condiciones de ayuno, los cuales pueden ser importantes para un mejor entendimiento de este fenómeno.

EL BULBO OLFATORIO Y REGIONES TELENCEFÁLICAS PARTICIPAN EN LA SINCRONIZACIÓN POR EL ALIMENTO

El bulbo olfatorio (BO), al igual que muchas otras regiones cerebrales, expresa genes reloj que oscilan manteniendo una fase en sincronía con

el NSQ (Abe et al., 2002; Granados et al., 2004). Cuando estas regiones se aíslan y se mantienen *in vitro* continúan oscilando por muy pocos ciclos. Sin embargo, este no es el caso del BO, pues se ha demostrado que puede continuar oscilando en ausencia del NSQ, aunque sí recibe influencia de dicho núcleo (Granados et al., 2004). Con base en ello se ha establecido que el BO contiene un reloj autosostenido, pero se ignora su significado funcional. Recientemente publicamos que el BO se sincroniza y muestra un aumento notable de la proteína FOS antes de la ingestión de alimento, esto es, tiene una actividad “anticipatoria” (Nolasco et al., 2012; ver figura 5.6), actividad que persiste a la hora de la alimentación en el siguiente ciclo en los sujetos alimentados a las 10:00 h y 1.5 h después en los sujetos alimentados a las 02:00 h. Un caso muy interesante ya que sugiere que el BO participa activamente en la sincronización por alimento, tanto para la anticipación como para el mecanismo oscilatorio del reloj de este fenómeno. Adicionalmente, estos experimentos fueron la primera demostración de la sincronización del BO por alimento, tanto principal como accesorio (Nolasco et al., 2012).

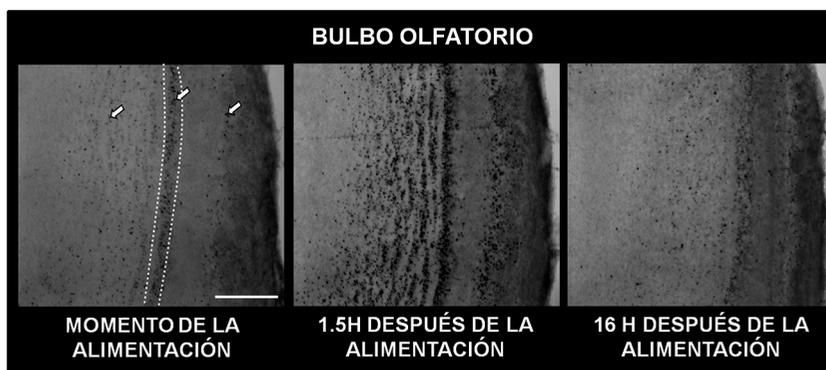


FIGURA 5.6. Expresión de la proteína FOS en el bulbo olfatorio del conejo neonato. Al momento de la succión y 1.5 h después es más alta que 16 h después de la alimentación. Barra de calibración = 100 μm (modificada de Nolasco et al., 2012).

Por otro lado, existen áreas en el cerebro anterior, en el telencéfalo, que se activan diferencialmente dependiendo de la fase del ciclo luz/oscuridad, esto es, algunas de sus poblaciones se activan cuando los sujetos están en estado de alerta (Uschakov et al., 2006). Sin embargo, no se han explorado en el contexto de la sincronización por alimento, específicamente durante la AAA, cuando los sujetos muestran un estado aumentado de alertamiento.

Con base en ello exploramos su posible activación en el proceso de sincronización por alimento en los gazapos utilizando la expresión de la proteína FOS. Encontramos que 3 áreas, el órgano vasculoso de la lámina *terminalis*, el núcleo preóptico mediano y el área preóptica medial, muestran una activación significativa al momento de la alimentación, pero no 8 horas después, y este aumento persiste cuando los sujetos están en ayuno. A diferencia de los sujetos alimentados 8 horas después, la actividad desciende en el órgano vasculoso pero no en los núcleos preópticos. Esto es interesante, ya que indica que las 3 estructuras se activan durante la AAA y que, además, la activación persiste durante el ayuno. También indica que el aumento sostenido de actividad en los núcleos preópticos durante el ayuno puede estar involucrado en mantener el estado de alerta de los individuos a consecuencia de la falta de alimento, de manera similar a lo que se observa en el sistema orexinérgico tanto de roedores adultos (Mieda et al., 2004) como en gazapos (Moreno et al., 2013). Pensamos que tanto el bulbo olfatorio como estas estructuras telencefálicas deben ser exploradas en detalle para determinar su significado funcional en relación con este paradigma experimental, pues nos ayudarían a tener una mejor comprensión del fenómeno del estado de alerta y de los osciladores involucrados en la sincronización por alimento a nivel central.

CONCLUSIONES

Durante muchos años la atención sobre los ritmos circadianos se centró en la luz, ya que es el sincronizador principal en la naturaleza. El fenómeno de la sincronización por alimento ha revolucionado el estudio de estos ritmos y ahora se está frente a un panorama en el que los sincronizadores fóticos y no fóticos, en este caso el alimento, interaccionan de una manera muy compleja. A diferencia de la sincronización fótica, se piensa que la sincronización por alimento está controlada por un sistema en el que participan múltiples estructuras, tanto del sistema nervioso como a nivel periférico. Sin embargo, es posible que exista una estructura clave mucho más importante, pero aún no se ha identificado. Ante esto, el modelo del conejo neonato ha demostrado ser útil para el estudio de la sincronización por alimento y está aportando nuevos elementos para su comprensión.

Un mejor entendimiento de este fenómeno ayudará en el tratamiento de disfunciones en las que hay una alteración de los ritmos circadianos, como por ejemplo en las personas que trabajan de noche, en las que

atraviesan varios husos horarios cuando viajan de un continente a otro, y en patologías como el síndrome metabólico e inclusive el cáncer. En todos estos problemas el alimento es un potente sincronizador que está siendo utilizado desde el punto de vista circadiano para el tratamiento de patologías, por lo que se espera que en un futuro contribuya significativamente al mejoramiento de la calidad de vida en humanos.

REFERENCIAS

- ABE, M., Herzog, E. D., Yamazaki, S., Straume, M., Tei, H., Sakaki, Y., Menaker, M., & Block, G. D. (2002). Circadian rhythms in isolated brain regions. *The Journal of Neuroscience*, 22, 350-356.
- ABRAHAM U., Prior J. L., Granados-Fuentes, D., Piwnica-Worms, D. R., & Herzog, E. D. (2005). Independent circadian oscillations of Period1 in specific brain areas *in vivo* and *in vitro*. *The Journal of Neuroscience*, 25, 8620-8626.
- ACOSTA, G. G., Yi, C. S., van der Vliet, J., Jhamandas, J. H., Panula, P., Angeles-Castellanos, ...Buijs, R. M. (2011). Interaction between hypothalamic dorsomedial nucleus and the suprachiasmatic nucleus determines intensity of food anticipatory behavior. *Proceedings of the National Academic of Sciences of the Unites States of America*, 108, 13-18.
- ANGELES, C. M., Aguilar, R. R., & Escobar, C. (2004). C-Fos expression in hypothalamic nuclei of food-entrained rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 286, R159-R165.
- ANTLE, M. C., & Silver, R. (2009). Neural basis of timing and anticipatory behaviors. *EJN European Journal of Neuroscience*, 30, 1643-1649.
- CABA, M., & González-Mariscal, G. (2009). The rabbit pup, a natural model of nursing-anticipatory activity. *EJN European Journal of Neuroscience*, 30, 1697-1706.
- CABA, M., Roviroso, M. J., & Silver, R. (2003). Suckling and genital stroking induces Fos expression in hypothalamic oxytocinergic neurons of rabbit pups. *Developmental Brain Research*, 143, 119-128.
- CABA, M., Tovar, A., Silver, R., Morgado, E., Meza, E., Zavaleta, Y., & Silver, R. (2008). Nature's food anticipatory experiment: entrainment of locomotor behavior, suprachiasmatic nucleus and dorsomedial hypothalamic nucleus by suckling in rabbit pups. *EJN European Journal of Neuroscience*, 27, 432- 443.
- CALDELAS, I., González B, Montúfar-Chaveznava, R., & Hudson, R. (2009). Endogenous clock gene expression in the suprachiasmatic nuclei of previsual newborn rabbits is entrained by nursing. *Developmental Neurobiology*, 69, 47-59.

- DAVIDSON, A. J. (2009). Lesion studies targeting food-anticipatory activity *EJN European Journal of Neuroscience*, 30, 1658-1664.
- DAVIDSON, A. J., Poole, A. S., Yamazaki, S., & Menaker, M. (2003). Is the food-entrainable oscillator in the digestive system? *Genes, Brain and Behavior*, 2, 32-39.
- DÍAZ, M. M., Vázquez, M. O., Aguilar, R. R., & Escobar, C. (2000). Anticipatory changes in liver metabolism and entrainment of insulin, glucagon, and corticosterone in food-restricted rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 279, R2048-2056.
- EDMONDS, S. C., & Adler, N. T. (1977). The multiplicity of biological oscillators in the control of circadian running activity in the rat. *Physiology & Behavior*, 18, 921-930.
- ESCOBAR, C., Díaz, M. M., Encinas, F., & Aguilar, R. R. (1998). Persistence of metabolic rhythmicity during fasting and its entrainment by restricted feeding schedules in rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 274, R1309-R1316.
- ESCOBAR, C., Mendoza, J. Y., Salazar-Juárez, A., Avila, J., Hernández-Muñoz, R., Díaz, M. M., & Aguilar, R. R. (2002). Cirrhotic rats chronically treated with CCl₄ exhibit anticipatory drinking activity to restricted feeding schedules. *Chronobiology International*, 19, 1073-1086.
- GRANADOS, F. D., Prolo, L. M., Abraham, U., & Herzog, E. D. (2004). The supra-chiasmatic nucleus entrains, but does not sustain, circadian rhythmicity in the olfactory bulb. *The Journal of Neuroscience*, 24, 615-619.
- HONMA, K. I., Noe, Y., Honma, S., Katsuno, Y., Hiroshige, T. (1992). Roles of the paraventricular catecholamines in feeding-associate corticosterone rhythm in rats. *The American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 25, E948-E955.
- JILGE, B. (1995). Ontogeny of the rabbit's circadian rhythms without an external Zeitgeber. *Physiology & Behavior*, 58, 131-140.
- JUÁREZ, C., Morgado, E., Waliszewski, S. M., Martínez, A. J., Meza, E., & Caba, M. (2012). Synchronization of PER1 protein in parabrachial nucleus in a natural model of food anticipatory activity. *EJN European Journal of Neuroscience*, 35, 1458-1465.
- KRIEGER, D. T., Hauser, H., & Krey, L. C. (1977). Suprachiasmatic nuclear lesions do not abolish food-shifted circadian adrenal and temperatura rhythmicity. *Science*, 197, 398, 399.
- KRIEGSFELD, L. J., LeSauter, J., Hamada, T., Pitts, S. M., & Silver, R. (2002). Circadian rhythms in the endocrine system. En D. W. Pfaff, A. P. Arnold, A. M. Etgen, S. E Fahrbach, & R. T. Rubin (Eds.), *Hormones, brain and behavior* (Vol. 2, Capítulo 18, pp. 33-39). New York: Academic Press.

- LEE, H, Billings, H. J., & Lehman, M. N. (2003). The suprachiasmatic nucleus: A clock of multiple components. *Journal of Biological Rhythms*, 18, 435-449.
- LEVINE, S. (1994). The ontogeny of the hypothalamic-pituitary adrenal axis. The influence of maternal factors. *Annals of New York Academy of Sciences*, 746, 275-288.
- MAURY, E., Ramsey, K. M., & Bass, J. (2010). Circadian rhythms and metabolic syndrome. *Circulation Research*, 106, 447-462.
- MENDLEWICZ, J. (2009). Disruption of the circadian timing systems: Molecular mechanisms in mood disorders. *CNS Drugs*, 23, 15-26.
- MEZA, E., Juárez, C., Morgado, E., Zavaleta, Y., & Meza, E. (2008). Brief daily suckling shifts locomotor behavior and induces PER1 protein in paraventricular and supraoptic nuclei, but not in the suprachiasmatic nucleus, of rabbit does. *EJN European Journal of Neuroscience*, 28, 1394-1403.
- MEZA, E., Waliszewski, S. M., & Caba, M. (2011). Circadian nursing induces PER1 protein in neuroendocrine tyrosine hydroxylase neurones in the rabbit doe. *Journal of Neuroendocrinology*, 23, 472-480.
- MIEDA M., Williams S. C., Sinton C. M., Richardson J. A., Sakurai T., & Yanagisawa, M. (2004). Orexin neurons function in an efferent pathway of a food-entrainable circadian oscillator in eliciting food-anticipatory activity and wakefulness. *The journal of Neuroscience*, 24, 10493-10501.
- MISTLBERGER, R. E. (2011). Neurobiology of food anticipatory circadian rhythms. *Physiology & Behavior*, 104, 535-545.
- MISTLBERGER, R. E., Buijs, R. M., Challet, E., Escobar, C., Landry, G. J., Kalsbeek, A., Pevet, P., & Shibata, S. (2009). Food anticipation in Bmal1^{-/-} and AAV-Bmal1 rescued mice: A reply to Fuller et al. *Journal of Circadian Rhythms*, 10, 1-10.
- MOBERG, G. P., Bellinger, L. L., & Mendel, V. E. (1975). Effect of meal feeding on daily rhythms of plasma corticosterone and growth hormone in the rat. *Neuroendocrinology*, 19, 160, 169.
- MOHAWK, J. A., & Takahashi, J. S. (2011). Cell autonomy and synchrony of suprachiasmatic nucleus circadian oscillators. *Trends in Neurosciences*, 34, 349-358.
- MOORE, R. Y., & Eichler, V. B. (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, 42, 201-206.
- MORENO, M. L., Meza, E, Morgado, E., Juárez, C., Ramos-Ligonio, A., Ortega, A., & Caba, M. (2013). Activation of organum vasculosum of lamina terminalis, median preoptic nucleus and medial preoptic area in anticipation of nursing in rabbit pups. *Chronobiology International*, 30, 1272-1282

- MORGADO, E., Gordon, M. K., Miñana-Solís, M. C., Meza, E., Levine, S., Escobar, C., & Caba M. (2008). Hormonal and metabolic rhythms associated with the daily scheduled nursing in rabbit pups. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 295, R690-R695.
- MORGADO, E., Juárez, C., Melo, A. I., Domínguez, B., Lehman, M. N., Escobar, C., Meza, E., & Caba, M. (2011). Artificial feeding synchronizes behavioral, hormonal, metabolic and neural parameters in mother-deprived neonatal rabbit pups. *EJN European Journal of Neuroscience*, 34, 1807-1816.
- MORGADO, E., Meza, E., Gordon, M. K., Pau, F. K. Y., Juárez, C., & Caba, M. (2010). Persistence of hormonal and metabolic rhythms during fasting in 7- to 9- day old rabbits entrained by nursing during the night. *Hormones and Behavior*, 58, 465-472.
- NOLASCO, N., Juárez, C., Morgado, E., Meza, E., & Caba, M. (2012). A circadian clock in the olfactory bulb anticipates feeding during food anticipatory activity. *PLOS ONE*, 10, e47779, 1-11.
- PRADIER, P., & Dalle, M. (1996). Effects of corticotrophin-releasing factor and vasopressin on plasma adrenocorticotropin molecular forms, aldosterone and corticosterone in young and adult rats and rabbit. *Reproduction, Fertility and Development*, 8, 111-116.
- REPPERT, S. M., & Weaver, D. R. (2001). Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Annual Review of Physiology*, 63, 647-676.
- ROVIROSA, M. J., Levine, S., Gordon, M. K., & Caba, M. (2005). Circadian rhythm of corticosterone secretion in the neonatal rabbit. *Developmental Brain Research*, 158, 92-96.
- SEPHTON, S., & Spiegel, D. (2003). Circadian disruption in cancer: A neuroendocrine-immune pathway from stress to disease? *Brain, Behavior and Immunity*, 17, 321-328.
- STEPHAN, F. K. (1986). Coupling between feeding- and light-entrainable circadian pacemakers in the rat. *Physiology & Behavior*, 38, 537-546.
- STEPHAN, F. K. (2002). The 'other' circadian system: Food as a *Zeitgeber*. *Journal of Biological Rhythms*, 17, 284-292.
- STEPHAN, F. K., Swann, J. M., & Sisk, C. L. (1979). Entrainment of circadian rhythms by feeding schedules in rats with suprachiasmatic lesions. *Behavioral and Neural Biology*, 25, 545-554.
- STEPHAN, F. K., & Zucker, I. (1972). Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proceedings of the National Academic of Sciences of the Unites States of America*, 69, 1583-1586.
- STOKKAN, A., Yamazaki, S., Tei, H., Sakaki, Y., & Menaker, M. (2001). Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science*, 291, 490-493.

- SZETO, A., Gonzales, J. A., Spitzer, S. B., Levine, J. E., Zaias, P. G., Saab, N., Schmeiderman, N., & McCabe, P. M. (2004). Circulating levels of glucocorticoid hormones in WHHL and NZW rabbits: Circadian cycle and response to repeated social encounter. *Psychoneuroendocrinology*, 29, 861-866.
- USCHAKOV, A., Gong, H., McGinty, D.Y., & Szymusiak, R. (2006). Sleep-active neurons in the preoptic area Project to the hypothalamic paraventricular nucleus and perifornical lateral hypothalamus. *EJN European Journal of Neuroscience*, 23, 3284-3296.

ASPECTOS CRONOBIOLOGICOS DE LA OBESIDAD Y EL SÍNDROME METABÓLICO

Roberto Salgado Delgado,¹ Carolina Escobar² y Nadia Sadert³

INTRODUCCIÓN

La incidencia de obesidad a nivel mundial se ha convertido en un grave y creciente problema de salud pública, alcanzando en algunos países proporciones alarmantes. Modificaciones en los hábitos alimenticios, incluyendo la cantidad, la calidad y la frecuencia de las comidas, han generado una alta ocurrencia de enfermedades relacionadas con el sobrepeso, entre ellas la diabetes, la dislipidemia y la hipertensión arterial. A este conjunto de padecimientos actualmente se le conoce con el nombre de síndrome metabólico. Hasta el momento las estrategias desarrolladas para combatir la obesidad no han sido resolutivas, por lo que es importante abordar el problema con nuevos enfoques.

¹ Doctor en Ciencias, UNAM. Profesor de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

² Doctora en Ciencias Fisiológicas, UNAM. Profesora titular de la Facultad de Medicina, UNAM. Profesora por asignatura de la Facultad de Psicología, UNAM. Coordinadora de investigación del Departamento de Anatomía, UNAM. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

³ Egresada de la Università degli Studi di Cagliari. Actualmente colabora en investigación en el Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Nuestro grupo de investigación, junto con muchos otros involucrados en el estudio de la cronobiología, hemos demostrado que nuestra fisiología se adapta continuamente a los cambios cíclicos del ambiente, sean estos diarios o estacionales. Esto ocurre gracias a la presencia de un reloj biológico que regula la expresión y actividad de enzimas y hormonas implicadas en el metabolismo así como todas las funciones homeostáticas. El reloj biológico, a su vez, transmite la señal de ritmicidad circadiana a todos los órganos y tejidos periféricos por medio de vías neuronales y hormonales para que todo el organismo funcione acoplado al ciclo externo de luz/oscuridad. Este sistema puede alterarse debido al estilo de vida moderno, que implica una baja actividad física durante el día e ingesta abundante de comida durante la noche, entre otros factores. Gracias a estudios epidemiológicos en poblaciones humanas y en modelos experimentales se ha demostrado que las alteraciones circadianas pueden ser un factor promotor de la obesidad y del síndrome metabólico. Por lo tanto, en este capítulo se resumen los hallazgos recientes que describen la relación entre el metabolismo y los ritmos circadianos y sus implicaciones para el desarrollo de síndrome metabólico y obesidad.

CUANDO EL SISTEMA CIRCADIANO FUNCIONA MAL (DESINCRONIZACIÓN)

La desincronización interna (DI) y la cronodisrupción o interrupción circadiana pueden ser definidos como una importante perturbación del orden temporal interno y, por lo tanto, de los ritmos circadianos fisiológicos, bioquímicos y conductuales. En la actualidad, el ser humano tiene la necesidad de extender la vigilia, así como modificar y hasta invertir repetidamente los ciclos normales de sueño-vigilia, ejemplo de ello es el *Jet lag* y el trabajo nocturno o rotatorio; aunque los ritmos circadianos también se alteran por otras condiciones externas, como la contaminación lumínica o la realización de actividades durante la noche, lo cual afecta la calidad y cantidad de sueño (Davis & Mirick, 2006).

En los últimos años han aparecido evidencias que señalan que la DI tiene efectos negativos sobre la salud humana, de manera que estos fenómenos inductores de DI han adquirido relevancia en los estudios cronobiológicos (Davis & Mirick, 2006; Staels, 2006). La evidencia actual sugiere que la DI provoca perfiles hormonales alterados, como los niveles de melatonina nocturna y de hormonas reproductoras, entre otras alteraciones que están estrechamente asociadas con un aumento

del riesgo a desarrollar enfermedades o el agravamiento de patologías preexistentes, como el envejecimiento prematuro, enfermedades cardiovasculares, síndrome metabólico y obesidad (Albrecht, 2012; Davis & Mirick, 2006; Froy, 2007; Mazzocchi et al., 2012; Ramsey et al., 2007).

Por lo tanto, la alteración de los ritmos circadianos puede manifestarse como un desequilibrio hormonal y de trastornos del sueño, una tendencia al cáncer, alteraciones metabólicas y reducción de la esperanza de vida (Davis & Mirick, 2006; Filipinski et al., 2003; Reppert & Weaver, 2002). En contraste, el restablecimiento de los ritmos circadianos genera bienestar y un aumento de la longevidad (Hurd & Ralph, 1998).

EL SUEÑO, EL TRABAJO POR TURNOS Y LA OBESIDAD

Numerosos estudios epidemiológicos muestran que el trabajo por turnos está asociado con una mayor prevalencia de obesidad, hipertrigliceridemia, bajos niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL), obesidad abdominal, diabetes y enfermedad cardiovascular (Ellingsen et al., 2007; Holmback et al., 2003; Karlsson et al., 2001; Nilsson et al., 2004). Además, se observa que los trabajadores por turnos presentan valores aumentados de glucosa plasmática, insulina y triglicéridos como respuesta metabólica postprandial que se asocia con la alteración de la ritmicidad circadiana de melatonina (Lund et al., 2001).

Así pues, el trabajo por turnos es un ejemplo en el que se altera la sincronía normal entre el ciclo luz/oscuridad, el sueño y la alimentación. Además, se han derivado muchos resultados interesantes relacionando los desórdenes del sueño y de la alimentación con la obesidad (Ptáček et al., 2007). Un ejemplo claro se obtuvo cuando a un grupo de estudiantes se le invirtió la actividad durante el día con su última comida entre las 19:00 y 20:00 h (actividad diurna) y a otro grupo con su última comida entre las 23:00 y 24:00 h (actividad nocturna). Después de tres semanas bajo este protocolo los estudiantes con actividad nocturna exhibieron niveles de insulina y de glucosa mucho más altos con respecto a los estudiantes diurnos (Qin et al., 2003).

Por nuestra parte, en nuestro laboratorio desarrollamos modelos de desvelo y de trabajo nocturno en roedores para modelar el estilo moderno de vida, en donde los sujetos se mantienen despiertos y activos durante la noche en lugar de dormir. Para mantener despiertos y activos a los roedores implementamos ruedas de actividad forzada en las cuales se introducen ratas diariamente al inicio del día, que para ellas es el inicio de la etapa de descanso. Estos cilindros rotan a una baja velocidad para que

las ratas coman, beban agua y descansen, pero con tal movimiento no se les permite dormir (Salgado-Delgado et al., 2008). Después de someterlas a 4 semanas de protocolo, corroboramos que las ratas desarrollaron una condición de desincronización interna con síntomas claros de síndrome metabólico (alteraciones en sus niveles de glucosa, triglicéridos, hígado graso, etc.) (Salgado et al., 2010), y a largo plazo aumentaron de peso significativamente comparadas con sus controles (Salgado et al., 2008).

Con nuestro modelo de desincronización interna observamos que la vigilia forzada lleva a que las ratas consuman mayor cantidad de comida en su fase originalmente de reposo, y que controlando los horarios de alimentación hacia la noche evitamos la desincronización a nivel conductual y mejoramos el manejo energético (Salgado et al., 2010). Estos trabajos experimentales corroboran las observaciones con poblaciones humanas y nos abren la posibilidad de explorar los mecanismos que subyacen al aumento de apetito como resultado del desvelo y la mala calidad de sueño en diversos niveles de aproximación fisiológica.

Una gran cantidad de evidencia sugiere que una corta duración del sueño se asocia con un aumento en el índice de masa corporal (IMC) y una elevada incidencia de diabetes tipo 2 (Gottlieb et al., 2005; Hasler et al., 2004; Megirian et al., 1998). Estudios clínicos han identificado también cambios en el metabolismo de energía después de pocos días de restricción parcial del sueño. Además, en las personas que duermen poco se reducen significativamente los niveles circulantes de hormonas anorexigénicas, como la leptina, y aumentan las hormonas orexigénicas, como la grelina, aumentando por lo tanto la sensación de hambre y especialmente el apetito por carbohidratos (Spiegel et al., 2004; Taheri et al., 2004).

La relación entre el IMC y el tiempo total de sueño en 24 horas mostró que los pacientes con sobrepeso (IMC 25-29.9 kg/m²) y obesidad (IMC 30-39.9 kg/m²) duermen menos que los pacientes con IMC normal. Estudios previos han reportado que los pacientes obesos están más somnolientos durante el día y tienen más probabilidades de sufrir trastornos de sueño por la noche en comparación con las personas de peso normal (Vgontzas et al., 1998). Se sugiere que una anormalidad circadiana podría ser la responsable de la somnolencia diurna observada en los pacientes obesos (Vgontzas et al., 1998). Los niveles de citoquinas por la mañana asociados con la obesidad, por ejemplo, el factor de necrosis tumoral (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6), son significativamente elevados en pacientes con apnea del sueño, y también se correlacionan significativamente con la somnolencia diurna excesiva en comparación con personas con peso normal (Vgontzas et al., 1997).

Las personas que habitualmente duermen menos de 6 o más de 9 horas por noche tienen más riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 y una menor tolerancia a la glucosa (Gottlieb et al., 2005). Se ha informado que la obesidad, niveles altos de triglicéridos y bajas concentraciones de lipoproteínas de alta densidad se presentan con mayor frecuencia en los trabajadores por turnos que en los de horarios diurnos (Karlsson et al., 2001; 2003). Del mismo modo, la duración de los turnos de trabajo está directamente relacionada con el IMC y el radio de la cintura, independiente de la edad, sexo, tabaquismo, actividad física y los niveles de educación (Di Lorenzo et al., 2003; Parkes, 2002).

INTERACCIÓN ENTRE LOS RITMOS CIRCADIANOS Y EL METABOLISMO

Muchas hormonas implicadas en el metabolismo, como la insulina (La Fleur et al., 1999), el glucagón (Ruiter et al., 2003), la adiponectina (Ando et al., 2005), corticosterona (De Boer & Van Der Gugten, 1987), la leptina y la grelina (Ahima et al., 1998; Bodosi et al., 2004), muestran una oscilación circadiana. Además de esta regulación endocrina, se sabe que el reloj circadiano regula el metabolismo y la homeostasis energética en los tejidos periféricos (Froy, 2007). Esto se consigue regulando la expresión o la actividad de las enzimas metabólicas y sistemas de transporte (Hirota & Fukada, 2004) relacionados con el metabolismo del colesterol, la regulación de aminoácidos, el ciclo del ácido cítrico y el metabolismo del glucógeno y la glucosa (Davidson et al., 2004; La Fleur et al., 1999).

Algunos ejemplos de enzimas reguladas por el reloj circadiano son la glucógeno fosforilasa (Frederiks et al., 1987), la citocromo oxidasa (Ximenes da Silva et al., 2000), la lactato deshidrogenasa (Rivera et al., 1993), la acetil-CoA carboxilasa (Fukuda & Iritani, 1991), la ácido graso sintasa, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (Fukuda & Iritani, 1991), y muchos más. Por otra parte, la lesión del núcleo supraquiasmático (NSQ) elimina las variaciones diurnas en la homeostasis de glucosa en el cuerpo (Cailotto et al., 2005), alterando no sólo los ritmos en la tasa de utilización de la glucosa sino también la producción hepática de la glucosa endógena. Del mismo modo, se ha encontrado que la captación de glucosa y la concentración de ATP en el cerebro y tejidos periféricos fluctúan en torno al ciclo circadiano (La Fleur, 2003), y también que un gran número de receptores nucleares implicados en el metabolismo de lípidos y la glucosa exhiben una expresión circadiana (Yang et al., 2006).

Actualmente se sabe que el efecto del reloj biológico sobre el metabolismo o sobre los relojes periféricos podría derivarse de la alimentación, particularmente del estado energético generado por la ingestión de alimentos y por las hormonas cuya secreción es controlada por la presencia o ausencia de los mismos. Varios estudios han identificado algunos nutrientes capaces de reajustar o regular los ritmos circadianos de la conducta y de los tejidos periféricos, entre ellos la glucosa (Stephan & Davidson, 1998), los aminoácidos (Iwanaga et al., 2005) y el sodio (Mohri et al., 2003; Waddington et al., 2007).

Los nutrientes y hormonas que regulan el metabolismo modifican los ritmos circadianos a través de la regulación en la expresión de genes reloj. Por ejemplo, en cultivos de fibroblastos Rat-1, la insulina induce la producción de ácido ribonucleico (RNA, por sus siglas en inglés) mensajero del gen reloj *Per1* (período1) (Balsalobre et al., 2000). También se ha demostrado que los glucocorticoides inducen una expresión génica circadiana en cultivos de fibroblastos Rat-1 y de forma transitoria cambian la fase de expresión de los genes circadianos en hígado, riñón y corazón (Balsalobre et al., 2000; Reddy et al., 2007).

MUTACIONES DEL RELOJ Y TRASTORNOS METABÓLICOS

El vínculo más convincente entre los trastornos metabólicos y el reloj biológico se demuestra por los fenotipos de los mutantes de genes de reloj y los *knock-out* (ver tabla 6.1). La mutación de un gen reloj, por ejemplo *Per 2* (período 2) (ratones *mPer2*^{-/-}), no muestra un ritmo de glucocorticoides, aunque la respuesta de la corticosterona a la hipoglucemia se encuentra intacta. Además, el ritmo de alimentación diurna está ausente en estos ratones mutantes de *Per 2* (*mPer2*^{-/-}), siendo su consumo similar al generado con dietas altas en grasa caracterizado por una ingesta arrítmica, por lo que estos ratones desarrollan obesidad (Yang et al., 2006). El gen *Per 2* también ha sido implicado en la regulación del ciclo celular y se sugirió que funciona como un supresor de tumores en timocitos (Fu et al., 2002). A la vez se ha visto que estos ratones presentan un aumento en la densidad ósea. Debido a que los huesos y el tejido adiposo comparten una ontogenia común es posible que estos hallazgos permitan comprender la adipogénesis.

Por otro lado, el factor de transcripción *Clock* es un componente clave del reloj circadiano. Se ha observado que los ratones mutantes de *Clock* tienen un ritmo de alimentación muy atenuado, son hiperfágicos y obesos

y desarrollan síndrome metabólico con síntomas de hiperleptinemia, hiperlipidemia, esteatosis hepática, hiperglucemia e hipoinsulinemia. Probablemente esto se deba a la alteración de genes que codifican péptidos hipotalámicos relacionados con el balance de energía, ya que se atenúan en los ratones mutantes *Clock*, lo que sugiere que este gen desempeña un papel importante en el equilibrio energético de mamíferos (Turek et al., 2005).

TABLA 6.1. Alteraciones metabólicas en ratones con mutación de genes reloj.

<i>Gen reloj</i>	<i>Función</i>	<i>Defectos metabólicos</i>
Per1	Regulador Negativo contiene dominio PAS	Aumenta la excreción de sales por la orina
Per 2	Regulador Negativo contiene dominio PAS	Altera el metabolismo de lípidos Bajo peso corporal
Clock	Regulador positivo contiene un factor transcripcional dominio bHLH-PAS	Síndrome metabólico Reducción de la presión sanguínea arterial
Bmal 1	Regulador positivo contiene un factor transcripcional dominio bHLH-PAS	Suprime la oscilación de triglicéridos y de glucosa plasmática
Cry1 y Cry2	Regulador Negativo	Hiperglisemia Hipertensión sensible a sal
Rev-erba	Receptor nuclear, regulador Negativo	Aumentan los triglicéridos en suero
Rora	Receptor nuclear, regulador positivo	Reduce los niveles de triglicéridos y HDL plasmáticos
Pgc-1 α	Co-activador transcripcional	Incrementa la sensibilidad a la insulina Altera la termogénesis

Por su parte, la pérdida de la expresión de *Bmal1* da lugar a una significativa disminución de la expresión génica de la adipogénesis y varios de los principales factores adipogénicos/lipogénicos, como los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR), la proteína 2 unida a los ácidos grasos de los adipocitos (AP2), la proteína de unión a elementos regulatorios del esteroil (SREBP-1 α), la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y la ácido graso sintasa. Además, la sobreexpresión de *Bmal1* en los adipocitos aumenta la actividad de la síntesis de lípidos. Estos resultados

indican que *Bmal1*, un regulador maestro del ritmo circadiano, también juega un papel importante en la regulación de la diferenciación del tejido adiposo y la lipogénesis en adipocitos maduros (Shimba et al., 2005).

Un estudio reciente evaluó el efecto del gen reloj *Bmal1* sobre el metabolismo y el desarrollo de obesidad, para ello ratones mutantes macho *Bmal1*^(-/-) de 5 semanas de edad y ratones *Bmal1*^(+/+) se mantuvieron en una dieta alta en grasas (HFD) durante 15 semanas. Se observó que después de este tiempo el peso corporal y la masa de tejido adiposo subcutánea y gonadal de los ratones *Bmal1*^(-/-) eran comparables a los ratones *Bmal1*^(+/+) al final del período de la dieta. Sin embargo, una exploración con resonancia magnética reveló que el peso de los órganos viscerales se redujo significativamente en los ratones *Bmal1*^(-/-), confirmando un fenotipo de envejecimiento prematuro (Hemmerlyckx et al., 2011).

Alteraciones en la homeostasis de los lípidos y glucosa se han observado también en animales con mutaciones en genes relacionados con el reloj, como *Nocturnina*, una deadenilasa implicada en la regulación post-transcripcional de la expresión génica rítmica (Green et al., 2007). Los ratones con *Nocturnina*^(-/-) tienen un comportamiento normal de alimentación, así como una ingesta de alimentos y niveles de actividad normal, pero son resistentes a la obesidad inducida por dieta grasa. Estos ratones también presentan cambios en la tolerancia de la glucosa y mejoran la sensibilidad a la insulina. Este fenotipo se debe probablemente a la falta de ritmicidad en los genes importantes para el metabolismo de lípidos, ya que dichos ratones muestran una alteración circadiana en rutas lipídicas (Green et al., 2007).

Muchos de los ratones con mutaciones en los genes de reloj presentan una alteración en el ritmo de la digestión y absorción de ácidos grasos, lo que resulta muy interesante porque podría explicar el alto índice de acumulación de grasa en estos ratones (Shimba et al., 2005; Turek et al., 2005. Ver tabla 6.1).

¿EN QUÉ FORMA EL RELOJ BIOLÓGICO EJERCE SU CONTROL SOBRE EL METABOLISMO?

Aproximadamente entre un 15% y un 30% de los genes, dependiendo del tipo de tejido, parecen mantener un ritmo de expresión guiado por los genes reloj, por ejemplo, las enzimas metabólicas Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺), Nicotinamida adenina dinucleótido reducida (NADH), acil-CoA oxidasa, 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA sintasa) y numerosos sistemas de transporte, como la

proteína transportadora de ácidos grasos, la sirtuína1 (SIRT1), y la proteína de unión al sitio D de la albúmina (DBP), que muestran ritmos circadianos (ver figura 6.1). Además, las proteínas reloj como BMAL1 y otras proteínas controladas por reloj (PPAR α y REV-ERB α) están involucradas en el metabolismo lipídico. Igualmente, BMAL1 y CLOCK están implicadas en la homeostasis de la glucosa, mientras que los genes de reloj *Clock* y *Per2* parecen asociarse con la regulación del alimento y el apetito (Froy, 2011; Yang et al., 2006).

En resumen, hay evidencia sólida para demostrar que el sistema circadiano influye sobre el metabolismo y que diferentes señales metabólicas, a su vez, hacen que este sistema se regule.

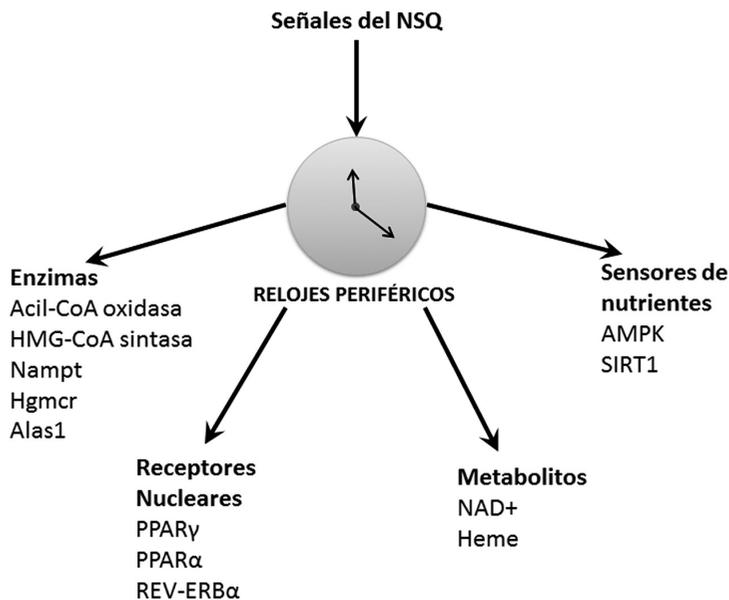


FIGURA 6.1. Regulación del metabolismo por el reloj circadiano. Los relojes periféricos como el hígado son regulados por el reloj biológico presente en el núcleo supraquiasmático (NSQ). El reloj del hígado puede regular múltiples rutas por varios mecanismos, entre los cuales se incluyen la regulación de enzimas, el control de niveles metabólicos, la interacción con sensores nutricionales y la modulación de receptores nucleares.

EL CONTROL CIRCADIANO DE LOS RECEPTORES NUCLEARES

Los receptores nucleares constituyen una superfamilia de factores de transcripción activados por ligandos que regulan varios procesos biológicos, como el crecimiento, el desarrollo, la señalización endocri-

na, la reproducción y el metabolismo energético (Sonoda et al., 2008). Algunos receptores nucleares especializados actúan como sensores de metabolitos, como las hormonas solubles en grasa, vitaminas, lípidos, oxiesteroles y ácidos biliares (ver tabla 6.2). Actualmente se postula que la expresión de varios receptores nucleares está dirigida por genes de reloj como *Clock* y *Bmal1*.

Entre estos receptores nucleares se encuentra el receptor huérfano relacionado con el ácido retinoico alfa ($ROR\alpha$) y $REV-ERB\alpha$, así como el receptor activado por proliferadores peroxisomales alfa ($PPAR\alpha$) (Oishi et al., 2005). $PPAR\alpha$ actúa como sensor de ácidos grasos poliinsaturados, regula la oxidación de ácidos grasos y la síntesis de apolipoproteínas, y es un blanco para fármacos tales como fenofibratos, los cuales disminuyen los niveles de triglicéridos en sangre (Sonoda et al., 2008). Aunque $CLOCK$ y $BMAL1$ pueden regular directamente la expresión de $PPAR\alpha$, a su vez, la proteína puede regular directamente la expresión de $BMAL1$ (Canaple et al., 2006; ver tabla 6.2). Esta regulación recíproca sugiere una relación muy estrecha entre receptores nucleares, el metabolismo y el reloj circadiano (ver figura 6.2).

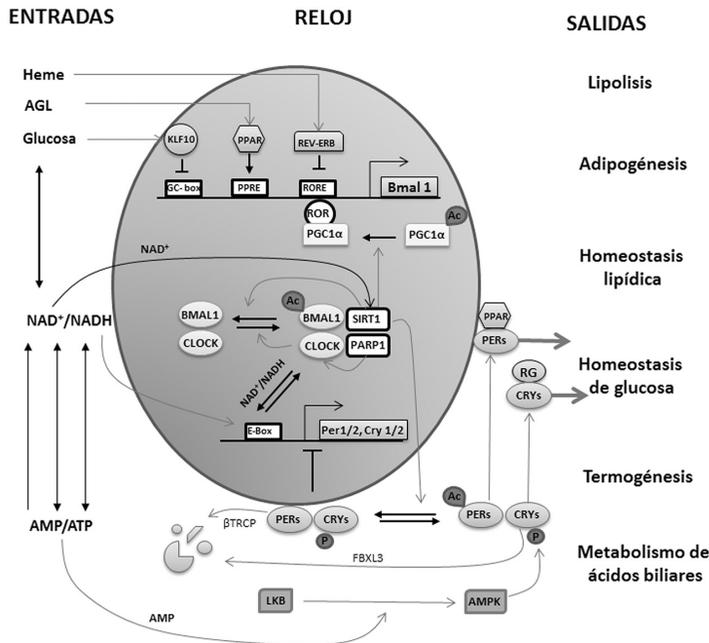


FIGURA 6.2. Reguladores metabólicos y componentes del reloj biológico. Representación esquemática de las interacciones entre señales metabólicas de entrada y reguladores metabólicos con los componentes del reloj circadiano en el hígado (modificada de Asher & Schibler, 2011).

TABLA 6.2. Ejemplos de algunos receptores nucleares relacionados con vías metabólicas y circadianas expresados en células metabólicamente activas.

CAR (NR113)	Receptor constitutivo de androstano	Juega un papel fundamental en la regulación de genes CYP en respuesta a componentes lipídicos endógenos y exógenos.
HNF4 γ (NR2A2)	Receptor del factor hepático nuclear 4 γ	Constitutivamente une ácidos grasos.
LRH1 (NR5A2)	Factor de transcripción fitoproteico	Participa en la homeostasis de esteroides, ácidos biliares y colesterol.
LXR β	Receptor de oxisterol β	Participa regulando la homeostasis de colesterol en el hígado.
PPAR α (NR1C1)	Receptor activador de la proliferación de los peroxisomas α	Estos PPARs son miembros de la subfamilia de los PPAR. Juegan un papel importante en el metabolismo de lípidos y glucosa, se han implicado en enfermedades metabólicas como la obesidad, hiperlipidemia, resistencia a la insulina y enfermedades arteriales coronarias.
PPAR γ (NR1C3)	Receptor activador de la proliferación de los peroxisomas β / δ	
PPAR δ (NR1C2)		
ROR α/β (NR1F1 y NR1F2)	Receptor nuclear de orfano RAR- α/β	Son miembros de la subfamilia de receptores nucleares de orfano ROR, implicados en el desarrollo y homeostasis celular.
REV-ERB α y β (NR1D1 y NDR1D2)	Rev-Erb α/β	Ambos miembros son expresados durante el desarrollo y la vida adulta, participando en muchas vías de la proliferación y fisiología celular.

Evidencia adicional de esta relación fue proporcionada por un estudio que implica un análisis detallado de la expresión de mRNA de 45 receptores nucleares en diversos tejidos metabólicos (Yang et al., 2006). La expresión de 25 de estos receptores, en los que se encuentran miembros de la familia PPAR (α , γ , δ) y algunos de la familia de receptores relacionados con estrógeno (ERR) (α , β , γ), son rítmicos en diferentes tejidos (ver tabla 6.2). Quizá se trate de un posible mecanismo regulador de las oscilaciones de glucosa y del metabolismo de lípidos observadas diariamente.

Otra evidencia de cómo un receptor nuclear regula la función del reloj circadiano fue establecida por estudios recientes que demuestran que las proteínas PERÍODO (PER 1, 2 y 3) se asocian físicamente con varios receptores nucleares (Costa et al., 2011; Gery et al., 2007; Grimaldi et al., 2010; Schmutz et al., 2010). Estos trabajos demostraron que PER2 interactúa con un gran número de receptores nucleares en los que se incluyen PPAR γ (Grimaldi et al., 2010), ER α (Gery et al., 2007), PPAR α , REV-ERB α , factor nuclear alfa 4 del hepatocito (HNF4 α), el receptor de la hormona tiroidea alfa (TR α), el receptor nuclear asociado 1 (NURR1) y el receptor nuclear ROR α (Schmutz et al., 2010); también se demostró que PER3 interactúa con PPAR γ (Costa et al., 2011). Estas interacciones tienen dos consecuencias probables para la interacción entre genes reloj y metabolismo: la primera es que la modulación de la expresión de genes reloj, por ejemplo, *Per2*, en coordinación con PPAR α y REV-ERB α , regule la expresión de *Bmal1*; y la segunda, que la regulación de la actividad o estabilidad de estos receptores nucleares mantenga un ajuste fino de varias rutas metabólicas (ver figura 6.2).

De todo lo anterior se concluye que la interacción de las proteínas PER con diversos receptores nucleares no sólo influye en varias rutas metabólicas (como el metabolismo de lípidos y del glucógeno), sino que también modula la expresión de genes de reloj (como *Bmal1*), necesarios para la generación y mantenimiento de los ritmos circadianos. Estas observaciones apoyan la idea de que el reloj circadiano regula el metabolismo a varios niveles y, por lo tanto, las alteraciones en los ritmos circadianos pueden repercutir en trastornos metabólicos.

SENSORES NUTRICIONALES COMO REGULADORES DEL RELOJ BIOLÓGICO

Para que el reloj circadiano pueda controlar eficientemente el metabolismo celular debe haber una vía a través de la cual la maquinaria del reloj determine el estado de energía de la célula. Existen al menos dos

proteínas que cumplen con el requisito de sensores de nutrientes y del estado energético que están relacionadas fuertemente con la maquinaria del reloj biológico, la sirtuína 1 (SIRT1) y la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) (ver figura 6.2).

El papel de SIRT1 en el metabolismo está bien estudiado (Haigis & Sinclair, 2010). SIRT1 es una desacetilasa que desacetila varias proteínas que participan en las vías metabólicas y regula la expresión génica por desacetilación de histonas. Una característica fascinante de SIRT1 es que su actividad enzimática es NAD^+ dependiente (Imai et al., 2000). Debido a que la relación NAD^+/NADH es una medida directa del estado de energía de una célula, la dependencia de SIRT1 de la NAD^+ vincula directamente el metabolismo energético celular y la desacetilación de proteínas clave. Aunque la evidencia es consistente en cultivos celulares, el papel redox en los ritmos circadianos *in vivo* ha sido recientemente estudiado.

Un trabajo muy actual observó que los ciclos de oxidación-reducción de las proteínas peroxirredoxinas, mediante la caracterización de sus oscilaciones en una variedad de organismos modelo, constituyen un marcador universal de los ritmos circadianos en todos los ámbitos de la vida. Además, se exploró la interconectividad entre estos ciclos metabólicos y la traducción de los ciclos de transcripción en el asa de retroalimentación del reloj en cada sistema. Estos resultados sugieren una íntima coevolución de los componentes del reloj con los mecanismos homeostáticos celulares de oxidación-reducción desde hace 2500 millones años (Edgar et al., 2012).

Podemos resumir que todos los procesos celulares, tales como la proliferación, la diferenciación y la muerte, son intrínsecamente dependientes del estado redox de la célula. Entre otros indicadores del flujo redox, los niveles celulares de NAD (H) desempeñan un papel predominante en la reprogramación transcripcional. Además, se sabe que las funciones fisiológicas normales de una célula se regulan en respuesta a las perturbaciones de los niveles de NAD (H) (por ejemplo, debido a alteraciones en la dieta) para mantener las condiciones homeostáticas. Las células consiguen esta homeostasis mediante la reprogramación de varios componentes que incluyen cambios en la estructura de la cromatina y su función (transcripción).

La interdependencia de los cambios en la expresión génica y NAD (H) se considera crucial para la supervivencia de una especie (por afectar la capacidad de reproducción y la longevidad). Las proteínas que se unen y usan NAD (H) como un cosustrato (tal como CtBP y PARP/sir-

tuinas, respectivamente) inducen cambios en la estructura de la cromatina y los perfiles de transcripción. De hecho, su capacidad de detectar alteraciones en los niveles de NAD (H) se ha implicado en las respuestas al estrés, el desarrollo, la homeostasis metabólica, la reproducción y el envejecimiento o las enfermedades relacionadas con la edad (Ghosh et al., 2010; Meroz & Roenneberg, 2001).

Salgado y colaboradores (2013) demostraron que NAD⁺ y Nampt pierden su ritmicidad y disminuyen su expresión cuando los animales son sometidos a un protocolo de desincronización circadiana por actividad forzada y alimentación durante su fase de descanso, dando como resultado un aumento de peso y cambios metabólicos asociados al metabolismo de lípidos y de glucosa. Recientemente, dos estudios independientes identificaron a SIRT1 como un modulador clave de la maquinaria del reloj circadiano (Nakahata, 2008). SIRT1 modula los ritmos circadianos de la desacetilación de histonas H3 y de proteínas no histónicas (BMAL1 y PER2). Así mismo, se sabe que el complejo CLOCK-BMAL1 interactúa con SIRT1 y recluta a los promotores de genes rítmicos.

Es importante destacar que la expresión de genes circadianos y la acetilación de BMAL1 se ven comprometidas en ratones con mutación específica de SIRT1 en el hígado (Nakahata, 2008). Estos hallazgos condujeron al concepto de que SIRT1 opera como un reostato de la maquinaria circadiana, modulando la amplitud y opresión de la acetilación de CLOCK y sus consecuentes ciclos de transcripción en tejidos metabólicos (Nakahata, 2008; ver figura 6.2).

SIRT1 también regula varias proteínas metabólicas. Por ejemplo, la gluconeogénesis por desacetilación y activación de PPAR γ -coactivadora α (PGC1 α) y *forkhead box O1* (FOXO1) (Schwer & Verdin, 2008). FOXO1 regula directamente la expresión de varios genes gluconeogénicos (Frescas et al., 2005), mientras que PGC1 α coactiva receptores de glucocorticoides y al factor nuclear hepático 4 α (HNF-4 α) que induce la expresión de genes gluconeogénicos (Yoon et al., 2001). SIRT1 también regula el metabolismo del colesterol por desacetilación, activando el receptor X del hígado (LXR) (Li, 2007; ver figura 6.2). LXR regula el metabolismo del colesterol por medio de la inducción de la expresión del transportador de unión al cassette de ATP-A1 (*ATP-binding cassette protein A1*; ABCA1) que participa en el flujo de colesterol desde los tejidos periféricos a la sangre. Debido a que la actividad de SIRT1 es regulada de manera circadiana, sería interesante determinar si la acetilación de los otros blancos de SIRT1 oscila de manera circadiana.

Por su parte, AMPK se activa cuando el estado energético celular es bajo, en otras palabras, cuando la relación de AMP/ATP es alta. La activación de AMPK se activa en procesos catabólicos que producen ATP y se apaga en procesos que consumen ATP. La actividad de la AMPK se encontró que era rítmica en el hígado de ratón, el hipotálamo y en fibroblastos de ratón (Lamia et al., 2009; Um et al., 2011). AMPK puede modular el reloj circadiano por fosforilación de CRY1 (Lamia et al., 2009) y la caseína quinasa 1ε (CK1ε) (Um, 2007). CK1ε juega un papel importante en la regulación de los ritmos circadianos, ya que fosforila a proteínas PER y controla su degradación (Akashi et al., 2002; Shirogane et al., 2005). Curiosamente, la activación de AMPK también conduce a un aumento en los niveles de NAD⁺ (Cantó et al., 2009). Por lo tanto, AMPK podría modular la expresión génica circadiana indirectamente a través de la activación de SIRT1 (ver figura 6.2).

LOS RITMOS CIRCADIANOS Y EL METABOLISMO DE LÍPIDOS

Ya se sabe que los ritmos biológicos están presentes en la grasa blanca del epidídimo y en el tejido adiposo pardo (Zvonic et al., 2007). Variaciones diurnas de la sensibilidad del tejido adiposo a la adrenalina induce lipólisis persistente *ex vivo*, lo que sugiere que la naturaleza intrínseca de los adipocitos exhibe una variación diurna (Suzuki et al., 1983). El transportador de la proteína 1 de los ácidos grasos (FATP1), acil-CoA sintetasa 1 (ACS1), y la proteína relacionada con la diferenciación de adipocitos (ADRP) presentan variaciones diurnas de expresión. Se sugiere que el aumento en la expresión nocturna de FATP1, ACS1 y ADRP promueve mayores índices de absorción de ácidos grasos y el almacenamiento de triglicéridos en roedores (Bray & Young, 2007).

Estudios moleculares recientes establecieron la participación de BMAL1 en la actividad y el control de la adipogénesis y del metabolismo de lípidos en los adipocitos maduros, ya que los fibroblastos embrionarios de ratones *knock-out* de *Bmal1*^(-/-) no se diferencian en adipocitos. Así mismo, un estudio exhaustivo del RNAm de los receptores nucleares en el tejido adiposo blanco y pardo, en el hígado y el músculo esquelético de ratones, revelaron que aproximadamente el 50% de los receptores nucleares conocidos muestran una expresión rítmica (Yang et al., 2006). Debido a que varios de estos receptores sensoriales, lipídicos, de vitaminas y hormonas solubles en grasa sirven como vínculos directos entre las vías de detección de nutrientes y el control circadiano

de la expresión génica, podrían ser de gran importancia en el estudio del vínculo de reciprocidad entre los ritmos circadianos y los procesos metabólicos de los lípidos.

Otro candidato importante en el vínculo entre los ritmos biológicos y el metabolismo de lípidos es REV-ERB α . Este factor de transcripción proadipogénico, cuyos niveles aumentan drásticamente durante la diferenciación de los adipocitos (Chawla & Lazar, 1993), presenta variaciones diurnas de su expresión en tejido adiposo murino (Bray & Young, 2007). Durante la diferenciación de los adipocitos, REV-ERB α ha demostrado actuar corriente abajo (en inglés: *Downstream*) del factor de diferenciación genético de PPAR α , facilitando la expresión de genes blanco de PPAR, incluyendo AP2 y C/ebp. Por el contrario, ROR α , regula la lipogénesis y la acumulación de lípidos en el músculo esquelético, siendo un regulador positivo de la expresión de *Bmal1* (Akashi & Takumi, 2005; Lau et al., 2004; Sato et al., 2004). Curiosamente, el heterodímero CLOCK-BMAL1 regula la expresión de ambos, REV-ERB α y ROR α (Preitner et al., 2002; Sato et al., 2004; Ueda et al., 2002).

Per2 también es importante en el metabolismo de lípidos, ya que inhibe el reclutamiento de PPAR γ a su promotor, específicamente en el tejido adiposo blanco (Grimaldi et al., 2010). Por lo tanto, la ausencia de *Per2* causa una remoción de la represión (resultando activación) de varios genes blanco de PPAR γ y conduce a la expresión de genes específicos del tejido adiposo pardo. Este mecanismo de regulación de la expresión de genes podría ser la responsable de que los ratones *Per2*^(-/-) tengan un metabolismo lipídico alterado (Grimaldi et al., 2010).

De este modo, PPAR γ , PPAR α , REV-ERB α , ROR α , y PGC-1 α y *Per2* son componentes clave de un oscilador circadiano que integra el reloj de los mamíferos y el metabolismo de lípidos. Esta interconexión entre los mecanismos celulares del reloj y vías lipogénicas y adipogénicas destacan los mecanismos que asocian las alteraciones en los ritmos biológicos y los trastornos metabólicos.

CONCLUSIONES

En este capítulo se destacó la influencia del sistema circadiano en la fisiología humana, observándose claramente una pronunciada actividad y temporalidad en una gran cantidad de sistemas, como el ciclo sueño-vigilia, la conducta de alimentación, el metabolismo y la actividad endocrina. El equilibrio homeostático se ve alterado por el estilo de vida que favorece el consumo elevado de alimentos, baja actividad durante

el período activo, mayor actividad en el período de descanso y un acortamiento en el período de sueño. De hecho, la alteración de los ritmos biológicos podría generar una atenuación de los ritmos circadianos de alimentación, alterar el metabolismo, aumentar la incidencia de enfermedades y reducir la esperanza de vida. Las alteraciones de los ritmos junto con los antecedentes genéticos aumentan el riesgo de desarrollar estas complicaciones de salud y, por desgracia, los ritmos circadianos en el metabolismo a menudo se pasan por alto en los tratamientos. A medida que más datos se acumulan en cuanto a la descripción de las funciones específicas mecanicistas de estos genes reloj que regulan las vías metabólicas, nuevos blancos terapéuticos están surgiendo. Es concebible que si los fármacos que modulan al reloj biológico funcionan, se podría crear un tratamiento más eficaz contra todos los trastornos metabólicos.

REFERENCIAS

- AHIMA, R., Prabakaran, D., & Flier, J. (1998). Postnatal leptin surge and regulation of circadian rhythm of leptin by feeding. Implications for energy homeostasis and neuroendocrine function. *JCI The Journal of Clinical Investigation*, 101, 1020-1027.
- AKASHI, M., & Takumi, T. (2005). The orphan nuclear receptor ROR α regulates circadian transcription of the mammalian core-clock Bmal1. *Nature Structural & Molecular Biology*, 12, 441-448.
- AKASHI, M., Tsuchiya, Y., Yoshino, T. & Nishida, E. (2002). Control of intracellular dynamics of mammalian period proteins by casein kinase I epsilon (CKIepsilon) and CKIdelta in cultured cells. *Molecular and Cellular Biology*, 22, 1693-1703.
- ALBRECHT, U. (2012). Timing to perfection: The Biology of central and peripheral circadian clocks. *Neuron*, 74, 246-260.
- ANDO, H., Yanagihara, H., Hayashi, Y., Obi, Y., Tsuruoka, S., Takamura, T., Kaneko, S. & Fujimura, A. (2005). Rhythmic messenger ribonucleic acid expression of clock genes and adipocytokines in mouse visceral adipose tissue. *Endocrinology*, 146, 5631-5636.
- ASHER, G., & Schibler, U. (2011). Crosstalk between components of circadian and metabolic cycles in mammals. *Cell Metabolism*, 13(2), 125-137.
- BALSALOBRE, A., Marcacci, L., & Schibler, U. (2000). Multiple signaling pathways elicit circadian gene expression in cultured Rat-1 fibroblasts. *Current Biology*, 10, 1291-1294.
- BODOSI, B., Gardi, J., Hajdu, I., Szentirmai, E., Obal, F. Jr., & Krueger, J. M. (2004). Rhythms of ghrelin, leptin, and sleep in rats: Effects of the normal

- diurnal cycle, restricted feeding, and sleep deprivation. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287, 1071-1079.
- BRAY, M. S., & Young, M. E. (2007). Circadian rhythms in the development of obesity: Potential role for the circadian clock within the adipocyte. *Obesity Review*, 8(2), 169-181.
- CANAPLE, L., Rambaud, J., Dkhissi-Benyahya, O., Rayet, B., Tan, N. S., Michalik, L., ...Laudet, V. (2006). Reciprocal regulation of brain and muscle Arnt-like protein 1 and peroxisome proliferator-activated receptor alpha defines a novel positive feedback loop in the rodent liver circadian clock. *Molecular Endocrinology*, 20, 1715-1727.
- CANTÓ, C., Gerhart-Hines, Z., Feige, J. N., Lagouge, M., Noriega, L., Milne, J. C., ...Auwerx, J. (2009). AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity. *Nature*, 458, 1056-1060.
- COSTA, M. J., So, A. Y., Kaasik, K., Krueger, K. C., Pillsbury, M. L., Fu, Y. H., ... Feldman, B. J. (2011). Circadian rhythm gene period 3 is an inhibitor of the adipocyte cell fate. *The Journal of Biological Chemistry*, 286, 9063-9070.
- CHAWLA, A., & Lazar, M. A. (1993). Induction of Rev-Erba, an orphan receptor encoded on the opposite strand of the thyroid hormone receptor gene, during adipocyte differentiation. *The Journal of Biological Chemistry*, 268, 16265-16269.
- DAVIDSON, A. J., Castañón, C. O., & Stephan, F. K. (2004). Daily oscillations in liver function: Diurnal vs circadian rhythmicity. *Liver International*, 24(3), 179-186.
- DAVIS, S., & Mirick, D. (2006). Circadian disruption, shift work and the risk of cancer: A summary of the evidence and studies in Seattle. *Cancer Causes Control*, 17, 539-545.
- DE BOER, S. F., & Van Der Gugten, J. (1987). Daily variations in plasma norepinephrine, adrenaline and corticosterone concentrations in rats. *Physiology and Behavior*, 40, 323-328.
- DI LORENZO, L., De Pergola, G., Zocchetti, C., L'Abbate, N., Basso, A., Pannacciulli, N., ...Soleo, L. (2003). Effect of shift work on body mass index: Results of a study performed in 319 glucose-tolerant men working in a Southern Italian industry. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 27, 1353-1358.
- EDGAR, R. S., Green, E. W., Zhao, Y., van Ooijen, G., Olmedo, M., Qin, X., ... Reddy, A. B. (2012). Peroxiredoxins are conserved markers of circadian rhythms. *Nature*, 485, 459-464.

- ELLINGSEN, T., Bener, A., & Gehani, A. (2007). Study of shift work and risk of coronary events. *The Journal of the Royal Society for the Promotion of Health*, 127, 265-267.
- FILIPSKI, E., King, V., Li, X., Granda, T., Mormont, M., Claustrat, B., Hastings, M. H., Lévi, F. (2003). Disruption of circadian coordination accelerates malignant growth in mice. *Pathologie Biologie*, 51, 216-219.
- FREDERIKS, W. M., Marx, F., & Bosch, K. S. (1987). Diurnal variation in glycogen phosphorylase activity in rat liver. *A quantitative histochemical study. European Journal of Cell Biology*, 43, 339-341.
- FRESCAS, D., Valenti, L., & Accili, D. (2005). Nuclear trapping of the forkhead transcription factor FoxO1 via Sirt-dependent deacetylation promotes expression of glucogenetic genes. *Jbc The Journal of Biological Chemistry*, 280, 20589-20595.
- FROY, O. (2007). The relationship between nutrition and circadian rhythms in mammals. *Front. Neuroendocrinology*, 28, 61-71.
- FROY, O. (2011). The circadian clock and metabolism. *Clinical Science*, 120, 65-72.
- FU, L., Pelicano, H., Liu, J., Huang, P., & Lee, C. (2002). The circadian gene Period2 plays an important role in tumor suppression and DNA damage response in vivo. *Cell*, 111.
- FUKUDA, H., & Iritani, N. (1991). Diurnal variations of lipogenic enzyme mRNA quantities in rat liver. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Lipids and Lipid Metabolism*, 1086, 261-264.
- GERY, S., Virk, R. K., Chumakov, K., Yu, A., & Koeffler, H. P. (2007). The clock gene Per2 links the circadian system to the estrogen receptor. *Oncogene*, 26, 7916-7920.
- GHOSH, S., George, S., Roy, U., Ramachandran, D., & Kolthur-Seetharam, U. (2010). NAD: A master regulator of transcription. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1799, 681-693.
- GOTTLIEB, D. J., Punjabi, N. M., Newman, A. B., Resnick, H. E., Redline, S., Baldwin, C. M., & Nieto, J. (2005). Association of sleep time with diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Archives of Internal Medicine*, 165, 8, 863-867.
- GREEN, C. B., Douris, N., Kojima, S., Strayer, C. A., Fogerty, J., Lourim, D., Keller, S. R. & Besharse, J. C. (2007). Loss of Nocturnin, a circadian deacetylase, confers resistance to hepatic steatosis and diet-induced obesity. *Proceedings of the National Academic of Sciences of The United States of America*, 104, 9888-9893.
- GRIMALDI, B., Bellet, M. M., Katada, S., Astarita, G., Hirayama, J., Amin, R. H., ...Sassone-Corsi, P. (2010). PER2 controls lipid metabolism by direct regulation of PPARgamma. *Cell Metabolism*, 12, 509-520.

- HAIGIS, M. C., & Sinclair, D. A. (2010). Mammalian sirtuins: Biological insights and disease relevance. *Annual Review of Pathology*, 5, 253-295.
- HASLER, G., Buysse, D. J., Klaghofer, R., Gamma, A., Ajdacic, V., Eich, D., Rössler, W., & Angst, J. (2004). The association between short sleep duration and obesity in young adults: A 13-year prospective study. *Sleep*, 27(04), 661-666.
- HEMMERYCKX, B., Himmelreich, U., Hoylaerts, M. F., & Lijnen, H. R. (2011). Impact of clock gene *Bmal1* deficiency on nutritionally induced obesity in mice. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 19, 659-661.
- HIROTA, T., & Fukada, Y. (2004). Resetting mechanism of central and peripheral circadian clocks in mammals. *Zoological Science*, 21, 359-368.
- HOLMBACK, U., Forslund, A., Lowden, A., Forslund, J., Akerstedt, T., Lennernas, M., Hambraeus, L., & Stridsberg, M. (2003). Endocrine responses to nocturnal eating—possible implications for night work. *European Journal of Nutrition*, 42, 75-83.
- HURD, M., & Ralph, M. (1998). The significance of circadian organization for longevity in the golden hamster. *Journal of Biological Rhythms*, 13, 430-436.
- IMAI, S., Armstrong, C. M., Kaeberlein, M., & Guarente, L. (2000). Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature*, 403, 795-800.
- IWANAGA, H., Yano, M., Miki, H., Okada, K., Azama, T., Takiguchi, S., ... Monden, M. (2005). *Per2* gene expressions in the suprachiasmatic nucleus and liver differentially respond to nutrition factors in rats. *JPEN. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 29, 157-161.
- KARLSSON, B., Knutsson, A., & Lindahl, B. (2001). Is there an association between shift work and having a metabolic syndrome? Results from a population based study of 27485 people. *Occupational of Environmental Medicine*, 58, 747-752.
- KARLSSON, B., Knutsson, A., Lindahl, B., & Alfredsson, L. (2003). Metabolic disturbances in male workers with rotating three-shift work. Results of the WOLF study. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 76, 424-430.
- LA FLEUR, S. (2003). Daily rhythms in glucose metabolism: Suprachiasmatic nucleus output to peripheral tissue. *Journal of Neuroendocrinology*, 15, 315-322.
- LA FLEUR, S., Kalsbeek, A., Wortel, J., & Buijs, R. (1999). A suprachiasmatic nucleus generated rhythm in basal glucose concentrations. *Journal of Neuroendocrinology*, 11, 643-652.
- LAMIA, K. A., Sachdeva, U. M., Di Tacchio, L., Williams, E. C., Alvarez, J. G., Egan, D. F., ...Evans, R. M. (2009). AMPK regulates the circadian clock by cryptochrome phosphorylation and degradation. *Science*, 326, 437-440.

- LAU, P., Nixon, S. J., Parton, R. G., & Muscat, G. E. O. (2004). ROR α regulates the expression of genes involved in lipid homeostasis in skeletal muscle cells: Caveolin-3 and CPT-1 are direct targets of ROR. *Journal of Biological Chemistry*, 279, 36828-36840.
- LI, X. (2007). SIRT1 deacetylates and positively regulates the nuclear receptor LXR. *Molecular Cell*, 28, 91-106.
- LUND, J., Arendt, J., Hampton, S., English, J., & Morgan, L. (2001). Postprandial hormone and metabolic responses amongst shift workers in Antarctica. *Journal of Endocrinology*, 171, 557-564.
- MAZZOCOLI, G., Paziienza, V., & Manlio, V. (2012). Clock genes and clock-controlled genes in the regulation of metabolic rhythms. *Chronobiology International*, 29, 227-251.
- MEGIRIAN, D., Dmochowski, J., & Farkas, G. (1998). Mechanism controlling sleep organization of the obese Zucker rats. *Journal of Applied Physiology*, 84, 253-256.
- MERROW, M., & Roenneberg, T. (2001). Circadian clocks: Running on redox. *Cell*, 106, 141-143.
- MOHRI, T., Emoto, N., Nonaka, H., Fukuya, H., Yagita, K., Okamura, H., & Yokoyama, M. (2003). Alterations of circadian expressions of clock genes in Dahl salt-sensitive rats fed a high-salt diet. *Hypertension*, 42, 189-194.
- NAKAHATA, Y. (2008). The NAD⁺-dependent deacetylase SIRT1 modulates CLOCK-mediated chromatin remodeling and circadian control. *Cell*, 134, 329-340.
- NILSSON, P. M., Röst, M., Engström, G., Hedblad, B., & Berglund, G. (2004). Incidence of diabetes in middle-aged men is related to sleep disturbances. *Diabetes Care*, 27, 2464-2469.
- OISHI, K., Shirai, H., & Ishida, N. (2005). CLOCK is involved in the circadian transactivation of peroxisome-proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) in mice. *The Biochemical Journal*, 386, 575-581.
- PARKES, K. (2002). Shift work and age as interactive predictors of body mass index among offshore workers. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 28, 64-71.
- PREITNER, N., Damiola, F., Lopez, M., L., Zakany, J., Duboule, D., & Albrecht, U. Schibler, U. (2002). The orphan nuclear receptor REV-ERB α controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell*, 110, 251-260.
- PTÁČEK, L., Jones, C., & Fu, Y. (2007). Novel insights from genetic and molecular characterization of the human clock. *Cold Spring Harbor Symposia of Quantitative Biology*, 72, 273-277.

- QIN, L., Li, J., Wang, Y., Wang, J., Xu, J., & Kaneko, T. (2003). The effects of nocturnal life on endocrine circadian patterns in healthy adults. *Life Science*, 73, 2467-2475.
- RAMSEY, K., Marcheva, B., Kohsaka, A., & Bass, J. (2007). The clockwork of metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 27, 219-240.
- REDDY, A. B., Maywood, E. S., Karp, N. A., King, V. M., Inoue, Y., Gonzalez, F. J., ... Hastings, M. H. (2007). Glucocorticoid signaling synchronizes the liver circadian transcriptome. *Hepatology*, 45, 1478-1488.
- REPPERT, S., & Weaver, D. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418, 935-941.
- RIVERA, C. A., Fuentes, A. X., & Díez, N. A. (1993). Circadian rhythms of serum concentrations of 12 enzymes of clinical interest. *Chronobiology International*, 10, 190-200.
- RUITER, M., La Fleur, S., van Heijningen, C., van der Vliet, J., Kalsbeek, A., & Buijs, R. (2003). The daily rhythm in plasma glucagon concentrations in the rat is modulated by the biological clock and by feeding behavior. *Diabetes*, 52, 1709-1715.
- SALGADO, D. R., Angeles, C. M., Buijs, R. M., & Escobar, C., (2008). Internal desynchronizaton in a model of night-work by torced activity in rats. *Neuroscience*, 154(3), 922-931.
- SALGADO, D. R., Angeles, C. M., Saderi, N., Buijs, R. M., & Escobar, C. (2010). Food Intake during the normal activity phase prevents obesity and circadian desynchrony in a rat model of night work. *Endocrinology*, 151, 1019-1029.
- SALGADO, D., R., Saderi, N., Basualdo, M. C., Escobar, C., Guerrero, B. N. N. & Buijs, R. M. (2013). Food intake and compulsory activity during the rest phase promotes metabolic disruption and desynchrony of liver genes in male rats. *PLOS ONE*, 8, e60052.
- SATO, T. K., Panda, S., Miraglia, L. J., Reyes, T. M., Rudic, R. D., McNamara, P., ...Hogenesch, J. B. (2004). A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock. *Neuron*, 43, 527-537.
- SCHMUTZ, I., Ripperger, J. A., Baeriswyl-Aebischer, S., & Albrecht, U. (2010). The mammalian clock component PERIOD2 coordinates circadian output by interaction with nuclear receptors. *Genes & Development*, 24, 345-357.
- SCHWER, B., & Verdin, E. (2008). Conserved metabolic regulatory functions of sirtuins. *Cell Metabolism*, 7, 104-112.
- SHIMBA, S., Ishii, N., Ohta, Y., Ohno, T., Watabe, Y., Hayashi, M., ...Tezuka, M. (2005). Brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1), a component of the molecular clock, regulates adipogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the Unites States of America*, 102, 12071-12076.

- SHIROGANE, T., Jin, J., Ang, X. L., & Harper, J. W. (2005). SCF beta-TRCP controls clock-dependent transcription via casein kinase 1-dependent degradation of the mammalian period-1 (Per1) protein. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 26863-26872.
- SONODA, J., Pei, L., & Evans, R. M. (2008). Nuclear receptors: Decoding metabolic disease. *FEBS Letters*, 582, 2-9.
- SPIEGEL, K., Tasali, E., Penev, P., & Van Cauter, E. (2004). Brief communication: sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Annals of Internal Medicine*, 141, 846-850.
- STAELS, B. (2006). When the Clock stops ticking, metabolic syndrome explodes. *Nature Medicine*, 12, 54-55.
- STEPHAN, F. K., & Davidson, A. J. (1998). Glucose, but not fat, phase shifts the feeding-entrained circadian clock. *Physiology & Behavior*, 65, 277-288.
- SUZUKI, M., Shimomura, Y., & Satoh, Y. (1983). Diurnal changes in lipolytic activity of isolated fat cells and their increased responsiveness to epinephrine and theophylline with meal feeding in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 29(4), 399-411.
- TAHERI, S., Lin, L., Austin, D., Young, T., & Mignot, E. (2004). Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. *PLOS Medicine* 1(3), e62-
- TUREK, F. W., Joshu, C., Kohsaka, A., Lin, E., Ivanova, G., Mc Dearmon, E., ... (2005). Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science*, 308, 1043-1045.
- UEDA, H. R., Chen, W., Adachi, A., Wakamatsu, H., Hayashi, S., Takasugi, T., ... Hashimoto, S. (2002). A transcription factor response element for gene expression during circadian night. *Nature*, 418, 534-539.
- UM, J. H., Pendergast, J. S., Springer, D. A., Foretz, M., Viollet, B., Brown, A., ... Chung, J. H. (2011). AMPK regulates circadian rhythms in a tissue and isoform-specific manner. *PLOS ONE*, 6(3), e18450.
- UM, J. H., Yang, S., Yamazaki, S., Kang, H., Viollet, B., Foretz, M., & Chung, J. H. (2007). Activation of 5'-AMP-activated kinase with diabetes drug metformin induces casein kinase Iepsilon (CKIepsilon)-dependent degradation of clock protein mPer2. *Journal of Biological Chemistry*, 282, 20794-20798.
- VGONTZAS, A., Bixler, E., Tan, T., Kantner, D., Martin, L., & Kales, A. (1998). Obesity without sleep apnea is associated with daytime sleepiness. *Archives of Internal Medicine*, 158, 1333-1337.
- VGONTZAS, A., Papanicolaou, D., Bixler, E., Kales, A., Tyson, K., & Chrousos, G. (1997). Elevation of plasma cytokines in disorders of excessive daytime

- sleepiness: role of sleep disturbance and obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82(5), 1313-6.
- WADDINGTON, L. E., Harbour, V. L., Barry-Shaw, J., Renteria, D. L., Robinson, B., Stewart, J., & Amir, S. (2007). Restricted access to food, but not sucrose, saccharine, or salt, synchronizes the expression of Period2 protein in the limbic forebrain. *Neuroscience*, 144, 402-411.
- XIMENES DA SILVA, A., Gendrot, G., Serviere, J., & Lavielle, M. (2000). Daily changes of cytochrome oxidase activity within the suprachiasmatic nucleus of the Syrian hamster. *Neuroscience Letters*, 286, 139-143.
- YANG, X., Downes, M., Yu, R.T., Bookout, A. L., He, W., Straume, M., Mangelsdorf, D. J. & Evans, R. M. (2006). Nuclear receptor expression links the circadian clock to metabolism. *Cell*, 126, 801-810.
- YOON, J. C., Puigserver, P., Chen, G., Donovan, J., Wu, Z., Rhee, J., ... Spiegelman, B. M. (2001). Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. *Nature*, 413, 131-138.
- ZVONIC, S., Floyd, Z. E., Mynatt, R. L., & Gimble, J. M. (2007). Circadian rhythms and the regulation of metabolic tissue function and energy homeostasis. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 15(3), 539-543.

EFECTOS DE LA VIDA MODERNA SOBRE LA SOMNOLENCIA. UN ESTUDIO EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS¹

*María del Carmen Cortés², José Ramón Eguibar³
y María del Carmen Lara⁴*

INTRODUCCIÓN

La somnolencia es la necesidad inminente de dormir y es normal cuando se acerca la hora habitual para descansar. De un 10% a 15% de la población tiene somnolencia durante el día y es más frecuente en niños en

¹ Agradecimientos: trabajo parcialmente apoyado por los proyectos VIEP-BUAP I/SAL/2013 a JRE y MCC. Los autores recibieron apoyo del PIFI-BUAP 2013. Agradecemos también la participación de los estudiantes C. Callejas y M. L. Hernández.

² Estudiante de Doctorado en Ciencias Biomédicas, UNAM. Profesora Investigadora del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

³ Doctor en Neurociencias, Instituto Politécnico Nacional. Profesor investigador y miembro del Consejo de Investigación y de Estudios de Posgrado del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

⁴ Doctora en Ciencias Médicas, UNAM. Posdoctorado en la Universidad de Yale. Profesora investigadora de la Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

edad escolar y en adultos jóvenes (Carskadon, 1990). Algunas personas presentan hipersomnolencia, esto es, somnolencia excesiva, con incapacidad para permanecer alertas y despiertas durante el día o cuando se requiere. La hipersomnolencia es un síntoma importante de algunos trastornos del sueño (Kryger et al., 2011).

El ritmo de las actividades de las personas ha cambiado con la introducción de la luz artificial, ya que ahora se pueden realizar actividades durante la noche. Esto ha ocasionado que el ciclo de sueño-vigilia en la mayoría de la población se modifique, disminuyendo el tiempo total de sueño. A lo largo del siglo XX los requerimientos de trabajo, estudios y demandas sociales ocasionaron que las personas pasaran más tiempo en vigilia, viendo la televisión, usando una computadora, ocupando turnos de trabajo con rotación de horario, gozando de reuniones sociales a altas horas de la noche o realizando compras en tiendas que permanecen abiertas las 24 horas del día. Estas actividades, que se han hecho más notables a lo largo del presente siglo, han dado como resultado una disminución del tiempo de sueño. Se estima que las personas en la época actual duermen en promedio 20% menos (aproximadamente 90 minutos) que las personas del siglo XIX (Kryger et al., 2011).

La somnolencia y la frecuencia de accidentes

En muchos casos los accidentes son atribuidos a la somnolencia de las personas. Uno de los más famosos accidentes provocado por la somnolencia del personal fue el del buque Exxon Valdez, que en 1989 representó una catástrofe ecológica de impacto mundial, ocupando titulares en prensa y televisión por el derrame de cuarenta mil toneladas de petróleo crudo en las aguas del Océano Pacífico. El accidente ocurrido se atribuyó a que la embarcación sólo contaba con una cantidad mínima de personal para un navío de 301 metros de eslora y 51 metros de manga, con una carga de 11 millones de galones de petróleo crudo. Los trabajadores tenían que laborar durante jornadas prolongadas, con períodos breves de descanso. De ahí que la causa del accidente recayera en una falla humana debido a la deficiencia de sueño del personal que operaba el navío.

Frecuentemente los accidentes automovilísticos se atribuyen también a la somnolencia excesiva diurna. La Administración Nacional de la Seguridad del Tráfico en Carretera de Estados Unidos de Norteamérica ha estimado que la fatiga y la somnolencia de los conductores están involucradas en un promedio de 56 000 accidentes al año en ese país, de los cuales un 2.5% tuvieron consecuencias fatales (Centers for Disease

Control and Prevention, 2013). En la gran mayoría de los estudios realizados a conductores de vehículos que reportan fatiga al conducir está implicada la deficiencia de sueño.

PARÁMETROS FISIOLÓGICOS DEL SUEÑO

De acuerdo con parámetros fisiológicos el sueño puede dividirse en dos estados:

1. El sueño con movimientos oculares rápidos (MOR), también referido como un estado de sueño desincronizado, paradójico o activo.
2. El sueño no MOR (NMOR), referido como un estado sincronizado de ondas lentas que comprende, en el humano, los estadios del 1 al 3 (American Academy of Sleep Medicine, 2012).

El ciclo del sueño varía en cuanto a su duración y distribución de sueño NMOR y MOR dependiendo de la especie, de la actividad realizada durante la vigilia y de la edad, entre otros factores (Kryger et al., 2011).

En condiciones normales el sueño MOR y NMOR se presentan alternadamente durante toda la noche. Cada ciclo dura aproximadamente 90 minutos y contiene 20 minutos en promedio de sueño MOR. El sueño MOR comienza con una latencia de 90 minutos después de iniciado el sueño NMOR, por lo que en un período de 8 horas de sueño se tendrán de 4 a 5 períodos de sueño MOR (Aldrich, 1999).

Enseguida se describen las características electroencefalográficas del sueño y la vigilia en el ser humano:

1. *Vigilia-atenta*. Cuando el sujeto está despierto y atento el patrón electroencefalográfico se presenta con una bajo voltaje y alta frecuencia, lo que se denomina frecuencia beta, mayor a 12 Hz (Aldrich, 1999).
2. *Vigilia-quieta*. Cuando una persona está despierta pero relajada, con los ojos cerrados, se presenta el ritmo alfa con un predominio en las frecuencias de 8 a 12 Hz en las regiones parieto-occipitales que pueden alternar con ritmo beta (mayor a 12 Hz) (Aldrich, 1999).
3. *NMOR Etapa 1*. Es la fase inicial del sueño, en la cual el umbral para despertar es bajo. Aparece ritmo theta (4 a 7 Hz). Los movimientos oculares son esporádicos y lentos y el tono muscular disminuye.

4. *NMOR Etapa 2.* Aparecen los “husos de sueño”, una actividad fusiforme con una frecuencia de 14 a 16 Hz, alternando con actividad theta. Además, aparecen también los “complejos K”.
5. *NMOR Etapa 3.* Se caracteriza por la presencia de actividad delta (0 a 4 Hz), el tono muscular es bajo y pueden aparecer movimientos oculares lentos (AASM, 2012).
6. *Sueño MOR.* En esta etapa existe una gran actividad cerebral cortical, por lo que se le denominó sueño paradójico. La actividad electroencefalográfica es rápida y de bajo voltaje; aparecen movimientos oculares rápidos, pero de manera importante hay atonía muscular ocasionalmente interrumpida por breves contracciones en las extremidades.

PATRONES CARACTERÍSTICOS DE LA ACTIVIDAD Y EL SUEÑO

Otro factor que debemos considerar dentro de este fenómeno es la hora en la que requerimos estar más alertas en nuestro trabajo y cómo nos desempeñamos en éste de acuerdo con el horario, ya que con base en nuestro ritmo circadiano y cronotipo hay personas a las que se les denomina “búhos” y a otras “alondras”.

Los “alondras” son aquellas personas con una clara preferencia para realizar sus actividades por la mañana. Por el contrario, las personas “búhos” son aquellas que prefieren trabajar más por la tarde y la noche. Esta habilidad para trabajar mejor en una hora del día está determinada, en parte, genéticamente, con una influencia de 13% a un 30%, y es sincronizada por factores sociales y ambientales, como son la exposición a la luz del sol y el trabajo, los cuales ocurren en un horario de 08:00 a 16:00 h.

Algunos estudios sobre el tema han mostrado que los estudiantes universitarios ejecutan mejor sus actividades académicas y deportivas cuando éstas se llevan a cabo a la hora pico de acuerdo con su cronotipo.

SOMNOLENCIA DEBIDA AL CRONOTIPO Y CONDICIONES SOCIALES (*JET LAG SOCIAL*)

La actividad social o *Jet lag* social es otro de los factores que produce somnolencia. En este síndrome la persona presenta una gran discrepancia entre su cronotipo y los horarios de su vida cotidiana, y generalmente concentran sus actividades en un horario de 08:00 a 16:00 h.

Tomando en consideración que las diferencias individuales en el ritmo del sueño se determinan por los antecedentes genéticos, la edad, el sexo y los factores medio ambientales, el *Jet lag* social cuantifica la diferencia que surge entre los relojes circadianos y los horarios sociales a los que está sometido el individuo, lo que da por resultado una pérdida crónica de sueño. En otras palabras, las diferencias entre el cronotipo del sujeto y el ritmo de vigilia-sueño que impone a sus actividades contribuyen a tener un déficit de sueño que impactará en patologías relacionadas con el metabolismo, específicamente aquellas relacionadas con el incremento de peso y el síndrome metabólico (Roenneberg et al., 2012). Entre más coincidan los relojes biológicos con los calendarios sociales mejor será nuestra salud, ya que se tendrá un sueño reparador y acorde con el cronotipo.

SOMNOLENCIA Y TRASTORNOS DEL SUEÑO

La somnolencia diurna es un problema que se presenta en múltiples trastornos del sueño, como son las hipersomnias (ver tabla 7.1). Dentro de las hipersomnias se encuentran el síndrome de apnea del sueño, el síndrome de movimientos periódicos de las extremidades, el síndrome de piernas inquietas y la narcolepsia (Kryger et al., 2011).

Apnea del sueño

Se refiere a las interrupciones de la respiración durante la noche que hacen que las personas despierten de forma repetida. Estas interrupciones pueden ser de dos tipos: la apnea central y la apnea obstructiva del sueño. En el caso de las apneas centrales, el mecanismo central de la función respiratoria que subyace en el tallo cerebral se encuentra alterado. En las apneas obstructivas, aunque se realiza el esfuerzo respiratorio, las vías aéreas superiores del flujo de aire se encuentran bloqueadas a nivel de la nariz, la faringe, la laringe, o bien por obstrucción debida a una lengua grande (macroglosia) que bloquea la vía aérea cuando se pierde el tono muscular durante el sueño.

Síndrome de piernas inquietas

En el síndrome de piernas inquietas el sujeto tiene sensaciones extrañas en las extremidades (parestias), como cosquilleos que disminuyen con la actividad motora y empeoran al permanecer en reposo. Generalmente se presenta en la tarde y por la noche, lo que puede perturbar gravemen-

te el sueño. El tratamiento primario está dirigido a los sistemas dopaminérgicos del sistema nervioso central, en particular a la activación de los receptores de la familia de receptores D2 (receptores de los subtipos D2, D3 y D4) (Neve, 2010).

La somnolencia es un síntoma en el cual la persona refiere la necesidad inminente de dormir durante la etapa de vigilia (Valencia et al., 2000). En ocasiones los trastornos del sueño son adecuadamente diagnosticados, pero en la mayoría de los casos no se detecta la somnolencia como un síntoma de estos trastornos sino que a la persona se le valora como poco interesada, floja o irresponsable, lo que va en detrimento de su valoración psicológica y desempeño en su escuela o trabajo (Valencia et al., 2000).

Estos episodios de somnolencia pueden ser leves, moderados o severos, y sus síntomas producen un claro problema en la persona que la padece, pues no podrá desarrollar sus actividades laborales o sociales de manera eficiente, impactando su entorno inmediato, social y económico.

TABLA 7.1. Clasificación de los trastornos del sueño.

<i>I. Insomnio</i>	<i>II. Trastornos del ciclo sueño-vigilia</i>
Dificultad para iniciar el sueño	Síndrome de retraso de la fase de sueño
Dificultad para mantenerse dormido	Síndrome de adelanto en la fase de sueño
Despertarse en la fase oscura	Cambio repentino del huso horario (jet lag) Rotaciones en los horarios de trabajo (Shift Work)
<i>III. Hipersomnias</i>	<i>IV. Parasomnias</i>
Apnea obstructiva del sueño	Movimientos periódicos de piernas durante el dormir
Apnea del sueño de origen central	Trastornos del despertar
Narcolepsia	Trastornos de la transición sueño-vigilia
Debido a medicamentos o alcohol	Trastornos conductuales durante el sueño MOR
Infecciones virales recientes	Enuresis
Hipersomnia idiopática	Sonambulismo

IMPACTO SOCIOECONÓMICO DE LA SOMNOLENCIA

La somnolencia es un padecimiento que representa pérdidas para el sector productivo. Una encuesta realizada por la Fundación Nacional de Sueño de Estados Unidos de Norteamérica estima que un 38% de los adultos reporta tener sueño durante el día y que esa somnolencia afecta sus actividades por lo menos un par de días al mes. Un 21% presenta somnolencia diurna por varios días a la semana; 43% de los sujetos entrevistados mencionaron que habían cometido errores perdiendo la secuencia de las tareas o habían sido despedidos del trabajo por no estar en condiciones óptimas para realizarlo.

El ronquido que frecuentemente antecede a la apnea obstructiva del sueño es uno de los trastornos del dormir que en mayor medida ocasiona somnolencia, y se han podido estimar los costos de accidentes automovilísticos debidos a esta causa. Se calcula que en los Estados Unidos de Norteamérica son aproximadamente 261 000 los conductores con apnea obstructiva del sueño que están en riesgo de tener un accidente automovilístico por quedarse dormidos. Con base en lo anterior se ha calculado que cada accidente automovilístico puede tener un costo promedio de \$59,000 dólares americanos, considerando el tratamiento médico, la reparación del daño al automóvil, los servicios de emergencia y la pérdida de productividad asociada a los días que se deja de laborar, así como la reducción de calidad de vida por las secuelas y la rehabilitación.

Somnolencia y desempeño académico

Se ha reportado que la reducción en la duración del tiempo destinado al dormir produce un aumento en la somnolencia y afecta el desempeño de las personas, y especialmente el desempeño académico de los estudiantes. En la etapa de la adolescencia el patrón de ciclo sueño-vigilia cambia y frecuentemente los jóvenes pasan más horas durmiendo durante el día y retrasan su horario para dormir en la noche. Esto puede deberse a que tienen que realizar tareas escolares, algún deporte, participar en actividades sociales (acudir a fiestas o antros), trabajar fuera del horario escolar, el uso de internet o de videojuegos o bien porque no mantienen una buena higiene de sueño.

En un estudio sobre los hábitos de sueño y su relación con el desempeño académico realizado por Wolfson & Carskadon (1998) a estudiantes en los estados de Rhode Island y Maryland, en los Estados Unidos de Norteamérica, se reportó que los jóvenes que tenían más problemas

en cuanto al aprovechamiento escolar dormían en promedio 25 minutos menos y se iban a la cama 40 minutos más tarde, respecto de los estudiantes con mejor promedio de calificaciones.

Deterioro de la memoria y el aprendizaje debido a la somnolencia

En la década de los setenta el científico británico Marr formuló la primera teoría de la consolidación de la memoria, proponiendo que es en el hipocampo –una estructura que se localiza en el interior de la parte medial del lóbulo temporal bajo la superficie cortical– donde se almacenan los eventos del día antes de que lleguen a la corteza cerebral, en la que son reorganizados y clasificados. Adicionalmente, planteó que el proceso de transferencia de esos eventos dependía de la actividad neuronal que sucede durante la vigilia y el sueño, con lo cual le dio una importancia fundamental a este último, etapa a la que por muchos años se le había tenido como una fase inactiva del cerebro que sólo participaba para restaurar lo “gastado” durante el día, con lo cual se sostenía una visión simplista de la función del sueño.

Estudios recientes han mostrado que el dormir juega un papel muy importante en el aprendizaje y la memoria (Stickgold & Walker, 2005). Esto es, se consolidan los eventos que aprendimos durante el día, y no sólo eso, también somos más eficaces para realizar tareas motoras, visuales o verbales a la mañana siguiente (Fischer et al., 2002). Por todo lo dicho, es muy importante evaluar si los estudiantes que presentan somnolencia tienen un sueño reparador o no debido a malos hábitos o a trastornos del dormir, como lo es el ronquido o el síndrome de piernas inquietas.

PRUEBAS ESTANDARIZADAS PARA EVALUAR LA SOMNOLENCIA

Se han desarrollado varios instrumentos para poder evaluar la somnolencia. A continuación mencionaremos algunos de ellos. La prueba de latencias múltiples de sueño fue descrita por primera vez por Carskadon y Dement (1977), y consiste en valorar la tendencia de una persona para quedarse dormida cuando se acuesta en una habitación tranquila y oscura. Así, acomodada en un lugar confortable, la persona toma 5 siestas, una cada 2 horas, y mediante un registro electroencefalográfico se mide el tiempo que tarda en quedarse dormida en cada uno de estos momentos; también se analiza el tipo de sueño que presenta, ya sea de ondas lentas

o bien con movimientos oculares rápidos. Entre más somnolencia tenga la persona más rápido se duerme durante esta prueba.

Otra prueba utilizada es la del mantenimiento de la vigilia, la cual fue diseñada por Mitler (Mitler et al., 1982). Esta prueba evalúa la capacidad de la persona para mantenerse despierta durante un período de tiempo. Para esta evaluación se coloca a la persona en una habitación tranquila y con poca luz, se le pide que permanezca sentada, con la espalda apoyada en una almohada y que trate de permanecer despierta durante 20 minutos mientras se registra la actividad cerebral. Este protocolo se repite seis veces durante el día con intervalos de dos horas, de esta forma se mide cuánto tiempo la persona puede permanecer despierta. Mientras más somnolencia tenga la persona menos tiempo puede permanecer despierta en esta prueba.

Para las dos pruebas descritas anteriormente se requieren registros polisomnográficos previos a la evaluación, durante y después de ésta, por lo que se necesita un equipo de electrofisiología, instalaciones y personal adecuado, lo que hace que los costos aumenten y no sea accesible y aplicable a grandes grupos de población.

Lo mismo sucede con la prueba de pupilometría, que consiste en la medición de los diámetros pupilares en condiciones basales, y que se realiza luego de exponer al sujeto a diferentes estímulos. Esta prueba constituye el análisis temporal de dichas respuestas. En los trastornos del sueño ocurren anomalías del sistema nervioso autónomo y las personas con hipersomnia, narcolepsia o apnea del sueño presentan más oscilaciones pupilares en la oscuridad que los individuos sanos; por lo que esta prueba puede ayudar a realizar un diagnóstico certero de la tendencia a quedarse dormido.

Se han desarrollado otros mecanismos para evaluar la somnolencia diurna, como el uso de cuestionarios estandarizados, los cuales pueden ser autoadministrados, no requieren de entrenamiento o supervisión para contestarlos ni de instalaciones especiales, por lo tanto, no son costosos, lo que permite evaluar grandes grupos de población. Entre estos cuestionarios podemos mencionar el del índice de calidad del sueño de Pittsburgh (Buysse et al., 1989) o el de la escala de somnolencia de Epworth (Johns, 1991).

La escala de Pittsburgh fue diseñada para medir la calidad de sueño el mes previo al estudio y para distinguir entre los sujetos que duermen "bien" y aquellos que duermen "mal", así como para detectar los trastornos del sueño que puedan estar afectando la calidad del mismo. La escala consta de 19 preguntas para el sujeto de estudio y 5 preguntas

para la persona que duerme con él, ya que ésta es la que frecuentemente se percata de las alteraciones del sueño de su compañero, tales como son el ronquido, los movimientos periódicos de las piernas, el hablar dormido (somniloquia), entre otras.

La escala de somnolencia de Epworth (ver tabla 7.2) es considerada el cuestionario más sencillo para evaluar somnolencia; consta de 8 preguntas solamente y de una sección de datos generales. Esta prueba evalúa el espectro de somnolencia desde un estado leve hasta uno severo (Johns, 1991).

La escala de Epworth consiste en pedirle a las personas que consideren a partir de un mes antes de la fecha de la prueba la tendencia a quedarse dormidas en situaciones de la vida diaria y contesten la pregunta seleccionando, entre una escala numérica del 0 al 3, el número que corresponda a aquella situación que mejor la represente.

El máximo puntaje que puede obtener el sujeto es de 24 puntos, siendo 0 ausencia de somnolencia y 24 una representación de somnolencia severa en el sujeto.

TABLA 7.2. Reactivos que conforman la escala de somnolencia de Epworth

Pregunta					
Sin sentirse cansado, ¿Es propenso a “cabecear” o quedarse dormido en las siguientes situaciones?					
1	Sentado leyendo	0	1	2	3
2	Viendo televisión	0	1	2	3
3	Sentado inactivo en un lugar público como cine o teatro	0	1	2	3
4	En un automóvil como pasajero en un viaje de 1 hora sin descanso	0	1	2	3
5	Descansando en la tarde	0	1	2	3
6	Sentado y platicando con alguien	0	1	2	3
7	Sentado tranquilamente después de una comida sin haber consumido bebidas alcohólicas	0	1	2	3
8	En un coche mientras está detenido unos minutos por el tráfico	0	1	2	3

ESTUDIO DEL NIVEL DE SOMNOLENCIA EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS DE LA BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

A continuación se presenta un estudio cuyo objetivo consistió en relacionar las variables académicas y la somnolencia excesiva diurna evaluada mediante la escala de somnolencia de Epworth.

Participantes

Participaron 614 estudiantes de las Facultades de Medicina, Contaduría Pública y Escuela de Biología del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), de los cuales 113 eran alumnos de la Facultad de Medicina, 282 de la Facultad de Contaduría Pública y 219 de la Escuela de Biología. La edad promedio de los estudiantes fue de 19.8 ± 1.7 años, rango de 17 a 30 años. En general, 67% fueron mujeres y 33% hombres. De la Facultad de Medicina 12% fueron mujeres y 6% hombres; de la Facultad de Contaduría, 31% mujeres y 17% hombres; por último, de la Escuela de Biología, 24% fueron mujeres y 10% hombres. El 79% sólo estudiaba y un 21% estudiaba y trabajaba.

Resultados

Se observaron diferencias entre los hombres y las mujeres de la muestra con respecto a la edad. En los hombres la edad promedio fue de 20.1 ± 1.8 años y en las de las mujeres de 19.7 ± 1.9 años (U de Mann-Whitney, $U = 579$, $P < 0.001$). Se presentaron diferencias entre los hombres y las mujeres de la Facultad de Contaduría Pública y de la Escuela de Biología, pero no de la Facultad de Medicina.

Nivel de somnolencia

De acuerdo con los puntajes obtenidos en la escala de somnolencia de Epworth se observó que un 60.6% de los estudiantes obtuvieron un puntaje que oscila entre 1 y 6, de acuerdo a esta escala, lo que significa que no muestran somnolencia; un 17.7% de ellos obtuvo un puntaje entre 7 y 8, lo cual indica que tienen somnolencia leve; mientras que un 21.5% obtuvo puntajes mayores de 8, de acuerdo a la escala de Epworth, lo que indica somnolencia excesiva diurna. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la somnolencia en los alumnos de las tres

facultades estudiadas (Kruskal-Wallis $H = 2.7$, NS). La somnolencia excesiva, con valores mayores de 8 en la escala de somnolencia de Epworth, fue de 19% en Medicina, 24.2% en Contaduría y 19.1% en Biología, lo que indica un nivel alto de somnolencia en estos estudiantes (ver figura 7.1).

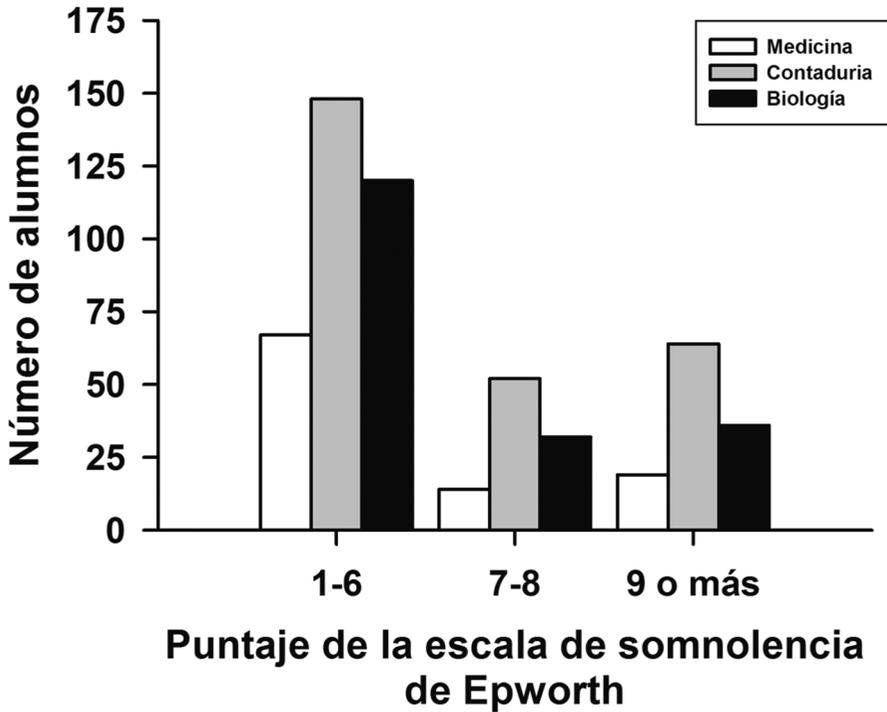


FIGURA 7.1. Puntaje obtenido en la escala de somnolencia de Epworth. Los alumnos de la Facultad de Contaduría Pública tuvieron valores de somnolencia más alta que los alumnos de las otras dos unidades académicas evaluadas.

Promedio de calificaciones

Se observaron diferencias entre los alumnos de las tres facultades en el promedio de calificaciones. Los alumnos de Medicina obtuvieron un promedio de calificaciones de 9 ± 0.6 , mientras que los alumnos de Contaduría Pública obtuvieron 8.7 ± 0.6 y los de Biología 8.2 ± 0.8 (ANOVA Kruskal-Wallis, $H = 73.8$, $p < 0.001$). Las calificaciones de los estudiantes de Medicina y de Contaduría Pública fueron diferentes a las obtenidas por los estudiantes de Biología (prueba *post hoc* de Dunn, $p < 0.05$). Este resultado no se correlaciona con el porcentaje de alumnos que trabajan.

Somnolencia y ocupación

De los estudiantes con los puntajes más altos en la escala de somnolencia de Epworth, solamente 5.1% trabaja y estudia, por lo que la somnolencia no parece ser atribuible a una carga de trabajo excesiva durante el día.

Somnolencia por género

Las mujeres obtuvieron un promedio de 6.2 ± 4 en la escala de somnolencia de Epworth y los hombres de 5.4 ± 3.6 (U de Mann-Whitney, $U = 484$, $p < 0.05$). El 15.1% de las mujeres tuvieron puntajes mayores de 8, mientras que los hombres un porcentaje de tan sólo 6.5%. Estos hallazgos fueron similares en las tres facultades. El porcentaje de mujeres con respecto al de los hombres en la Facultad de Medicina fue de 16% a 3%; en la Facultad de Contaduría Pública de 15.5% a 8.7%, y en la Escuela de Biología de 13.8% a 5.3%. En todos los casos fue estadísticamente significativa la diferencia (U de Mann-Whitney, $p < 0.05$) (ver figura 7.2).

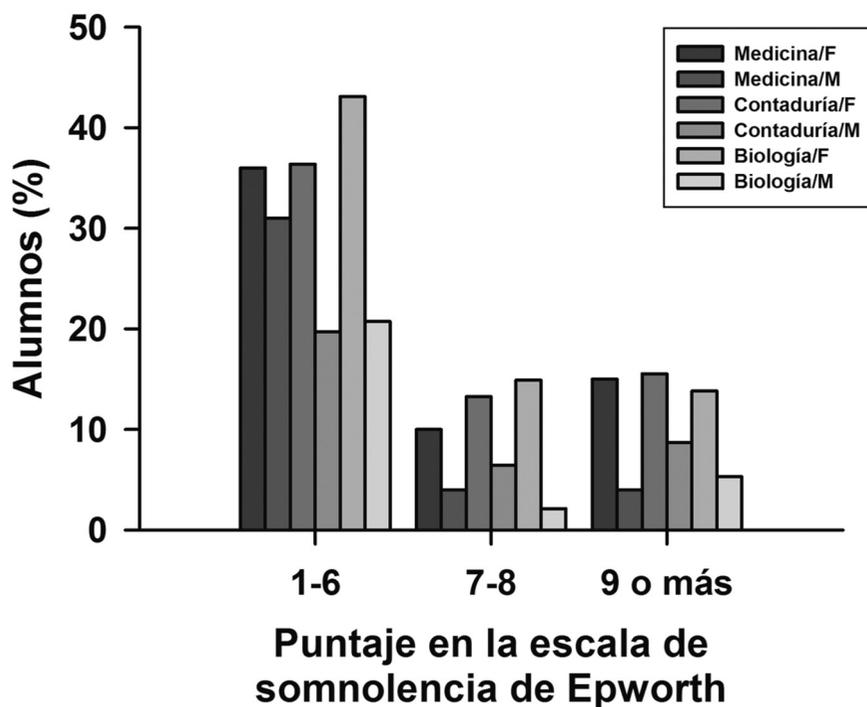


FIGURA 7.2. Puntaje obtenido en la escala de somnolencia de Epworth por facultad y por género. Las mujeres tuvieron valores de somnolencia más altos que los hombres en todas las facultades.

Discusión

La falta de estadísticas confiables sobre la incidencia de somnolencia en nuestro país nos impide diagnosticar a tiempo y, por tanto, considerar los trastornos del sueño como un problema de salud pública; contrario a los países desarrollados, donde se ha determinado que los errores humanos son la causa de la mayoría de los accidentes, los cuales oscilan entre un 60% y un 90% en la industria y en el transporte (Centers for Disease Control and Prevention, 2013). Esto se debe a que el número promedio de horas que dormimos ha disminuido en el último siglo, de hecho se ha determinado que en 1913 los niños entre 8 y 12 años de edad dormían en promedio 10.5 horas por día; en 1964 este promedio había descendido a tan sólo 9.2 horas por día, esto es, un 12% menos. Lo más importante es que la reducción de la duración del dormir significa un problema de salud pública, ya que la incidencia de somnolencia en la población general es alta (Czeisler, 2011).

Debemos considerar que aun las pérdidas modestas de sueño diario se acumulan a lo largo de la semana y ocasionan un déficit de sueño, el cual se manifiesta como un incremento de la tendencia a la somnolencia, así como también a bajos niveles de ejecución psicomotora que afectan el aprendizaje y el desempeño en las tareas motoras, particularmente en la coordinación motora fina (Kryger et al., 2011). Parece pertinente entonces difundir este tema entre la población e informarla para tratar de disminuir los problemas escolares y laborales relacionados con los trastornos del sueño.

En este punto, vale la pena mencionar que las personas que están relacionadas laboralmente con la salud pública y la seguridad muestran somnolencia alta, ya que cubren largas jornadas de trabajo y con horarios rotativos (Kryger et al., 2011). Este tipo de trabajadores y aquellos que se desempeñan en horarios variables son los más susceptibles a cometer errores relacionados directamente con la somnolencia. En ambientes de trabajo donde se requieren de niveles sustanciales de atención por seguridad, la probabilidad de accidentes crece con la tendencia biológica a quedarse dormido durante el día, siendo más probable que sucedan accidentes graves entre las 13:00 y las 15:00 horas, cuando se incrementa la tendencia a quedarse dormido (Kryger et al., 2011).

Para la mayor parte de las personas es desconocida la fisiología e higiene del sueño, así como también se ignora la relación entre somnolencia y los porcentajes de accidentes por esta causa. Por el contrario, es muy común que estos problemas sean interpretados por la sociedad como un descuido de los sujetos que se quedan dormidos en situaciones

diversas durante la vigilia, asociándolo a flojera o desinterés y no a un déficit de sueño que debería ser tratado y corregido por personal de salud capacitado.

Los estudiantes universitarios, por ejemplo, muestran diferencias importantes entre el número de horas de sueño entre semana respecto de lo que duermen el fin de semana, lo que se correlaciona positivamente con la presencia de somnolencia durante el día, esto es, en los días entre semana tienden a acumular un déficit de sueño y éste “rebota” el fin de semana, por lo que tienden a dormir más para de esta forma contrarrestar el tiempo de sueño perdido.

Ante esta problemática, el uso de cuestionarios está siendo una herramienta útil para determinar la estrecha asociación entre el incremento de la somnolencia con los horarios de trabajos rotatorios, o con manejar al amanecer, mientras que la fatiga no muestra una asociación significativa; estos estudios indican que se puede diferenciar entre las sensaciones subjetivas asociadas al déficit de sueño y sus consecuencias fisiológicas, las cuales pueden ser evaluadas por personal especializado en una clínica del sueño.

Por su parte, la práctica clínica es capaz de determinar aquellos padecimientos que se asocian con una somnolencia diurna excesiva, entre los que destacan la apnea obstructiva del sueño, que causa una ejecución física y mental deteriorada; se ha mostrado que existe una correlación estrecha entre la severidad de la apnea obstructiva del sueño y un puntaje alto en la escala de somnolencia de Epworth. Otras disomnias que se asocian a la somnolencia excesiva diurna son: la narcolepsia y el síndrome de movimientos periódicos de las piernas o de piernas inquietas –en el cual el paciente mueve reiteradamente las piernas y, en la primera mitad de la noche, tiene sensaciones como de caminar de insectos, lo que le impide dormir y altera su ciclo de sueño. Otros padecimientos más relacionados con la somnolencia son la hipersomnia idiopática, la hipersomnia postraumática o la hipersomnia recurrente, también denominada síndrome de Kleine-Levine, todas ellas de origen genético, en las cuales los pacientes afectados presentan somnolencia excesiva y períodos de sueño prolongado de hasta 18 horas diarias.

Los trastornos del sueño antes descritos se asocian a un incremento de somnolencia en el que los sujetos muestran valores de 9 o mayores en la escala de somnolencia de Epworth, por lo que, además, deben ser evaluados por la prueba de latencias múltiples de sueño empleando registros polisomnográficos, es decir, la prueba de referencia que da un diagnóstico de certeza.

En nuestra población de estudio encontramos un porcentaje importante de estudiantes con valores de 9 y mayores ($n = 116/552 = 21\%$), donde particularmente los sujetos con valores de 15 o más ($n = 13/552 = 3\%$) representan un grupo que debe ser evaluado con un estudio polisomnográfico asociado a la prueba de latencias múltiples de sueño, con el propósito de descartar un trastorno del sueño y recibir atención médica adecuada. También es importante usar cuestionarios en la población general, como la escala de somnolencia de Epworth, para detectar grupos con un alto riesgo de padecer somnolencia, como puede ser el personal que labora en el área de la salud, pilotos de aviación o trabajadores del transporte de carga, que tienen horarios que rotan o corrimientos en sus ciclos de actividad-descanso y jornadas de trabajo largas.

Sería importante llevar a cabo otro estudio para evaluar a los estudiantes de Medicina, ya que en los últimos dos años de su plan de estudios se incluyen estadías en el hospital con guardias hospitalarias durante la noche, por lo que su ciclo de sueño-vigilia cambia.

Es grave que en el país las clínicas del sueño se localizan primordialmente en el Distrito Federal y en algunos pocos estados de la República, como Nuevo León y Guadalajara; aun así, estos cuentan con un número de camas muy limitado, lo que disminuye la capacidad diagnóstica y, por tanto, que se dé un tratamiento adecuado a pacientes que tienen trastornos del sueño, incluyendo la somnolencia. No obstante, será la demanda de las personas con este padecimiento la que pueda revertir estas carencias.

CONCLUSIONES

Nuestros hallazgos muestran que en una población adulta joven de estudiantes universitarios el problema de somnolencia afecta a un 20%, con un predominio en mujeres; y que esta somnolencia no parece tener relación con su desempeño escolar ni con estudiantes que trabajan. De los alumnos afectados un 2.5% requiere de un estudio polisomnográfico, asociado a un estudio de latencias múltiples del sueño para descartar cualquier patología.

REFERENCIAS

- ALDRICH, M. S. (1999). *Sleep Medicine*. New York/Oxford: University Press.
- AMERICAN ACADEMY OF SLEEP MEDICINE (AASM). (2012). *Manual for the scoring of sleep and associated events: Rules, terminology and technical specifications*. Recuperado de <http://www.aasmnet.org/scoringmanual/default.aspx>

- BUYSSE, D. J., Reynolds, C. F., Monk, T. H., Berman, S. R., & Kupfer, D. J. (1989). The Pittsburgh sleep quality index: A new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Research*, 28, 193-213.
- CARSKADON, M. A. (1990). Patters of sleep and sleepiness in adolescents. *Pediatrician*, 17, 5-12.
- CARSKADON, M. A., & Dement, W. C. (1977). Sleepiness and Sleep State on a 90-Min Schedule. *Psychophysiology*, 14, 127-133.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (January 4, 2013). Drowsy driving – 19 States and the District of Columbia, 2009-2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, 61(51), 1033-1037.
- CZEISLER, C. A. (2011). Impact of sleepiness and sleep deficiency on public health-utility of biomarkers. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 15, S6-S8.
- FISCHER, S., Hallschmid, M., Elsner, A. L., & Born, J. (2002). Sleep forms memory for finger skills. *Proceedings of the National Academic of Sciences of the Unites States of America*, 99, 11987-11991.
- JOHNS, M. W. (1991). A new method for measuring daytime sleepiness: The Epworth sleepiness scale. *Sleep*, 14, 540-545.
- KRYGER, M. H., Roth, T., & Dement, W. C. (2011). *Principles and practice of sleep medicine*. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- MITLER, M. M., Gujavarty, K. S., & Browman, C. P. (1982). Maintenance of wakefulness test: A polysomnographic technique for evaluation treatment efficacy in patients with excessive somnolence. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 53, 658-661.
- NEVE, K. A. (Ed.). (2010). *The Dopamine Receptors* (Second ed.). Portland, USA: Humana Press.
- ROENNEBERG, T., Allebrandt, K. V., Mellow, M., & Vetter, C. (2012). Social Jetlag and Obesity. *Current Biology*, 22, 939-943.
- STICKGOLD, R., & Walker, M. P. (2005). Memory consolidation and reconsolidation: What is the role of sleep? *Trends in Neuroscience*, 28(8), 408-415.
- VALENCIA, M., Salín, R., & Pérez, R. (2000). *Trastornos del dormir*. México: McGraw-Hill/Interamericana.
- WOLFSON, A. R., & Carskadon, M. A. (1998). Sleep schedules and daytime functioning in adolescents. *Child Development*, 69(4), 875-887.

LOS CAMBIOS EN LA ATENCIÓN A LO LARGO DEL DÍA EN EL SER HUMANO

*Aída García García,¹ Candelaria Ramírez Tule²
y Pablo Valdez Ramírez³*

INTRODUCCIÓN

La mayor parte de las personas creen que son capaces de llevar a cabo cualquier actividad con la misma eficiencia a cualquier hora del día. De acuerdo con esta idea el desempeño físico o intelectual sería el mismo, sin importar la hora en que realicemos un trabajo o un examen. Sin embargo, algunos ejemplos son suficientes para poner en duda estas suposiciones.

Un atleta de alto rendimiento acostumbra entrenar a su máximo desempeño durante la mañana. Sin embargo, si la competencia es por la tarde no le será posible alcanzar el nivel obtenido en el entrenamiento. Este problema es especialmente evidente cuando el atleta tiene que competir fuera de su país, ya que en unas cuantas horas se encuentra en un sitio y horario diferentes al de su residencia de origen. Si un atleta que vive

¹ Doctora en Psicología, UANL. Profesora de tiempo completo de la Facultad de Psicología de la UANL. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

² Doctora en Biología, UANL. Profesora de tiempo completo y coordinadora del Departamento de Psicofisiología de la Facultad de Psicología, UANL. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

³ Doctor en Psicología, UANL. Profesor de tiempo completo de la Facultad de Psicología de la UANL. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 2.

en América viaja a Europa al siguiente día para participar en una competencia internacional a las 09:00 h, en realidad estará compitiendo a las 02:00 h, es decir, lo hará en el momento en que su organismo se encuentra en las condiciones biológicas de la noche, por lo que su temperatura corporal y su metabolismo estarán bajos, mientras que su somnolencia y fatiga serán altas. En estas condiciones es muy difícil que el atleta tenga un rendimiento adecuado.

Lo mismo ocurre cuando un alumno estudia por la noche, de 02:00 a 04:00 h de la madrugada, tendrá dificultades para leer el material, analizarlo y comprenderlo, por lo que le será difícil aprender sobre el tema que lee. Además, si el examen se lleva a cabo al día siguiente por la mañana, supongamos que a las 07:00 h, difícilmente obtendrá buenos resultados.

En síntesis, aunque creemos que nuestra capacidad es estable, nuestro rendimiento físico e intelectual varía a lo largo del día. Tenemos mejores y peores momentos para llevar a cabo distintos tipos de actividades. Las variaciones en el rendimiento surgen debido a que los seres humanos, como todos los organismos vivos, presentamos cambios cíclicos en nuestro funcionamiento; a estos cambios se les conoce como ritmos biológicos (Luce, 1971). Aunque existen diferentes tipos de ritmos biológicos, los ritmos más prominentes tienen un período de alrededor de un día (Halberg, 1969), a estos se les llama ritmos circadianos (*circa*, alrededor de, *dies*, día). Estos ciclos modulan la fisiología de todo el organismo (Moore-Ede et al., 1982), tanto las funciones celulares como el metabolismo, la secreción de hormonas, el ciclo de vigilia-sueño, los procesos sensoriales y motores, la actividad cerebral y el comportamiento (ver figura 8.1).

Para entender la forma en que los ritmos circadianos modifican nuestro rendimiento es necesario tomar en cuenta que las variaciones en el metabolismo corporal modulan la fisiología del cerebro, la cual modula a su vez la eficiencia de nuestros procesos cognoscitivos (intelectuales) produciendo variaciones en el rendimiento (Kleitman, 1963; ver figura 8.2).

Muchos estudios han mostrado que existen cambios en la ejecución a lo largo del día, es decir, variaciones circadianas en la capacidad de las personas para desempeñar diversas actividades o tareas (Colquhoun, 1971; Valdez, 2015). Se han encontrado variaciones circadianas en la discriminación sensorial (Lotze et al., 1999), en la destreza motora (Edwards et al., 2007), en el tiempo de reacción (Wright et al., 2002), en la percepción del tiempo (Campbell et al., 2001), en el razonamiento verbal (Monk & Carrier, 1997), en la velocidad y eficiencia para llevar a cabo operaciones aritméticas (Blake, 1967), en tareas de memoria (Folkard & Monk, 1980; Ramírez et al., 2006), en el razonamiento lógico y mate-

mático; así como en tareas que simulan la conducción de un automóvil (Lenné et al., 1997). En general, se ha encontrado que la ejecución es más eficiente en la tarde, mientras que empeora en la madrugada (Carrier & Monk, 2000; Lavie, 1980; ver figura 8.1).

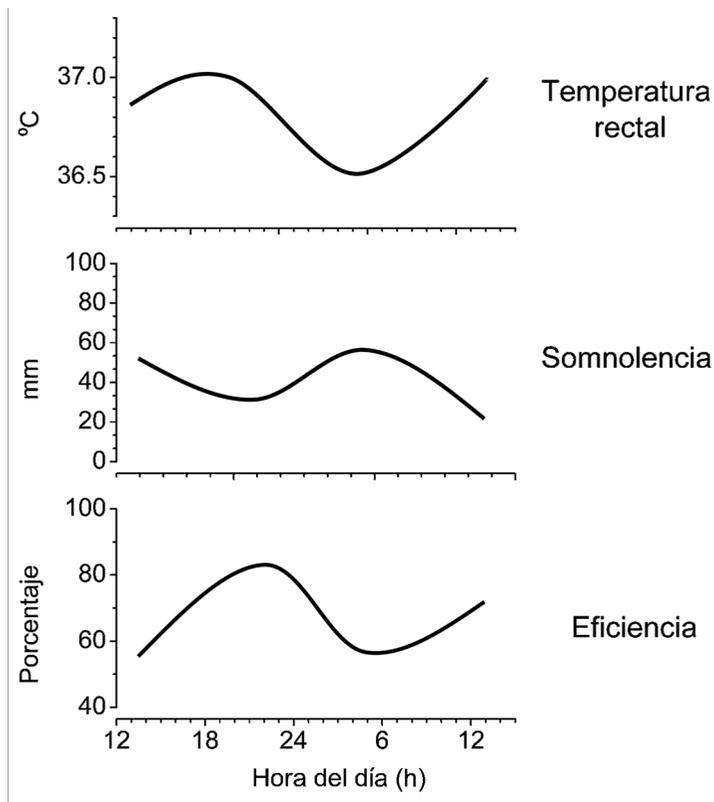


FIGURA 8.1. Ritmos circadianos en la temperatura corporal (arriba), la somnolencia (en medio) y la ejecución cognoscitiva (abajo). La temperatura corporal y la ejecución cognoscitiva aumentan durante el día y disminuyen durante la noche; la somnolencia disminuye durante el día y aumenta durante la noche.

CAMBIOS EN LOS PROCESOS NEUROPSICOLÓGICOS BÁSICOS A LO LARGO DEL DÍA

De acuerdo con lo anterior, se observan cambios en la ejecución en la mayor parte de las actividades o tareas que llevamos a cabo durante el día, lo que sugiere que existen ritmos en uno o varios procesos neuropsicológicos básicos, los cuales pueden modular el rendimiento en todas las tareas mencionadas (Valdez et al., 2005). A estos procesos se les denomina neuropsicológicos debido a que son procesos cognosci-

tivos vinculados directamente con la actividad del cerebro (Valdez et al., 2009a). Existen tres procesos neuropsicológicos básicos que pueden cumplir esta función: la atención (Valdez et al., 2005; Valdez et al., 2010), la memoria de trabajo (Ramírez et al., 2006) y las funciones ejecutivas (García et al., 2012; García et al., 2010; Ramírez et al., 2012).

En el presente capítulo analizaremos los ritmos circadianos en relación con la atención. La atención es crucial para el desempeño de todas las actividades que llevamos a cabo (Cohen & O'Donnell, 1993). Los pacientes con trastornos en la atención tienen dificultades para ejecutar todas las tareas que se les presenten (Heilman & Valenstein, 2003).

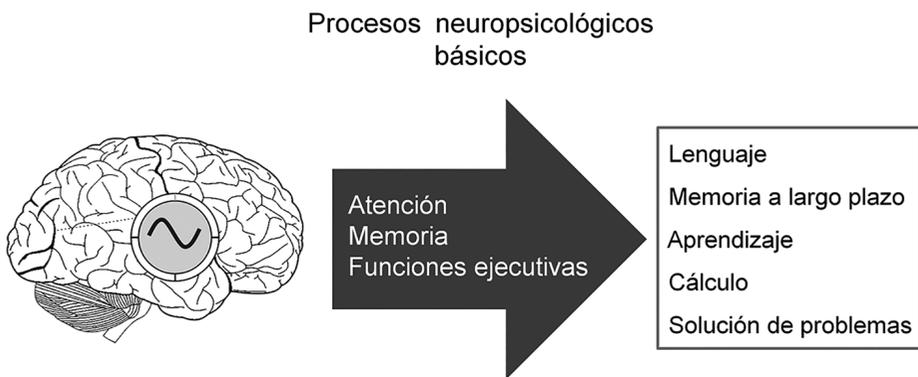


FIGURA 8.2. Ritmos circadianos en la actividad cerebral y su relación con la ejecución. El reloj biológico que se encuentra en el cerebro (izquierda) produce cambios en los procesos neuropsicológicos básicos (atención, memoria de trabajo y funciones ejecutivas) (al centro), y estas variaciones modulan el rendimiento del ser humano (derecha).

LOS COMPONENTES DE LA ATENCIÓN

La atención no es un proceso unitario, ya que está conformada por cuatro componentes: alerta tónica, alerta fásica, atención selectiva y atención sostenida (concentración) (Valdez et al., 2008a; Valdez et al., 2005; Valdez et al., 2010). Para entender el funcionamiento de la atención es necesario explicar con más detalle cada uno de estos componentes.

Alerta tónica

Se refiere al nivel de activación general que tiene una persona, que tan alerta y activa se encuentra, que tan capaz es de responder ante eventos

del ambiente, si tiene que moverse, hablar o llevar a cabo cualquier tipo de actividad motora o intelectual (ver figura 8.3).

Alerta fásica

Se define como la capacidad para responder a un cambio en el ambiente cuando estamos preparados para ello; implica estar listo para efectuar respuestas rápidas y directas a un evento, por ejemplo, nuestra eficiencia y velocidad para frenar ante un semáforo en amarillo, como señal de aviso para el rojo (ver figura 8.3).

Atención selectiva

Es la capacidad para responder a un evento específico y evitar hacerlo ante otros eventos en el ambiente. Esto implica ser capaz de filtrar información secundaria o irrelevante. Un ejemplo es nuestra capacidad para seguir una conversación con una persona específica cuando nos encontramos en una reunión social. Otro ejemplo consiste, en el caso de un alumno, en su capacidad para comprender y seguir la lección de la maestra aunque se escuchen otras voces o ruidos dentro y fuera del salón de clases (ver figura 8.3).

Atención sostenida (concentración)

La atención sostenida es la capacidad para seguir dando respuestas específicas al ambiente durante un período prolongado (minutos a horas) con el mismo nivel de eficiencia. Este componente de la atención es crucial para permanecer escuchando y comprendiendo una conferencia durante una o dos horas sin distracciones o pérdida de información (ver figura 8.3).

Cada uno de estos componentes requiere de la participación de distintos sistemas funcionales o circuitos cerebrales. El nivel de alerta tónica y fásica es regulado por el sistema reticular activador del cerebro (Sarter et al., 2001), mientras que el control de la atención selectiva y la atención sostenida requiere de la participación de un circuito cerebral cuyo eje central es el área prefrontal de la corteza cerebral (Posner & Rafal, 1987).



FIGURA 8.3. Ejemplos de los componentes de la atención en la vida cotidiana. La conducción de un automóvil requiere que la persona se mantenga activa y responda a los cambios en el ambiente; esta situación es un ejemplo de alerta tónica (arriba a la izquierda). Un ejemplo de alerta fásica es la reacción que se tiene ante las luces de un semáforo, donde en presencia de la luz amarilla (señal de aviso que aparecerá la luz roja) el conductor se prepara para frenar (arriba a la derecha). En una reunión social logramos seguir solamente la voz de una persona e ignoramos las conversaciones que se encuentran alrededor; este es un ejemplo de atención selectiva (abajo a la izquierda). Finalmente, la atención sostenida (abajo a la derecha) se usa cuando permanecemos escuchando activamente una conferencia por un período prolongado de tiempo.

Métodos para estudiar los componentes de la atención

Como muchos fenómenos naturales, las funciones neuropsicológicas no se pueden observar directamente, por lo que se necesitan indicadores específicos a través de la ejecución de tareas donde se utilizan estas funciones (Kaplan, 1988). Por ejemplo, se puede registrar la cantidad de números que se recuerdan correctamente como un indicador de memoria.

Para evaluar todos los componentes de la atención hemos utilizado una tarea de ejecución continua (Valdez et al., 2009b; Valdez et al., 2005; Valdez et al., 2010). Esta tarea consiste en presentar una serie de números al azar por medio de una computadora; los participantes tienen que presionar el número “1” cuando aparezca cualquier número, pero si aparece un “9” debe presionar el número “2”, y si aparece un

“4” después del “9” debe presionar el número “3”. Las respuestas ante cualquier número constituyen el indicador de alerta tónica; las respuestas ante el “9” se toman como indicador de atención selectiva, ya que la persona debe seleccionar una respuesta específica ante un estímulo en particular; las respuestas ante el número “4” después del “9” constituyen el indicador de alerta fásica, ya que el número “9” es la señal de aviso previa a la aparición del número “4”; mientras que los cambios en el nivel de ejecución durante el transcurso de la prueba constituyen el indicador de atención sostenida (concentración). La prueba dura 11 minutos y 42 segundos, durante este tiempo se presenta un total de 540 estímulos (ver figura 8.4).

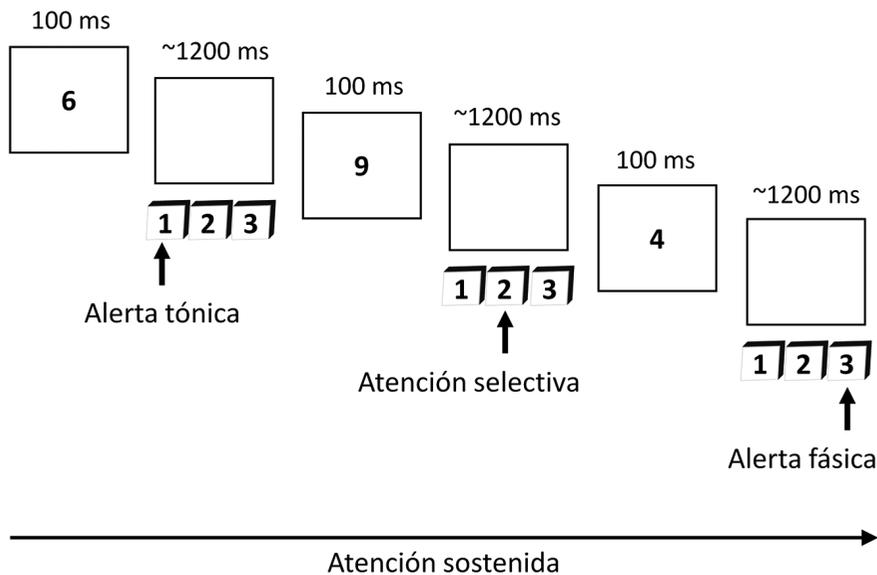


FIGURA 8.4. Tarea de Ejecución Continua (TEC). Esta tarea permite analizar los componentes de la atención.

CAMBIOS EN LOS COMPONENTES DE LA ATENCIÓN DURANTE EL DÍA

Para analizar los ritmos circadianos en la atención se usa un protocolo de rutina constante en el laboratorio (Duffy & Dijk, 2002). Este protocolo implica registrar el desempeño de la persona en condiciones controladas durante un período mayor de 24 horas. Para poder identificar los cambios en el día que dependen del reloj biológico sin la interferencia

de factores externos, es importante mantener constantes las condiciones que pueden afectar los ritmos circadianos, tales como: el nivel de iluminación y la temperatura ambiental, la ingestión de alimentos y el nivel de actividad motora de la persona que estamos registrando.

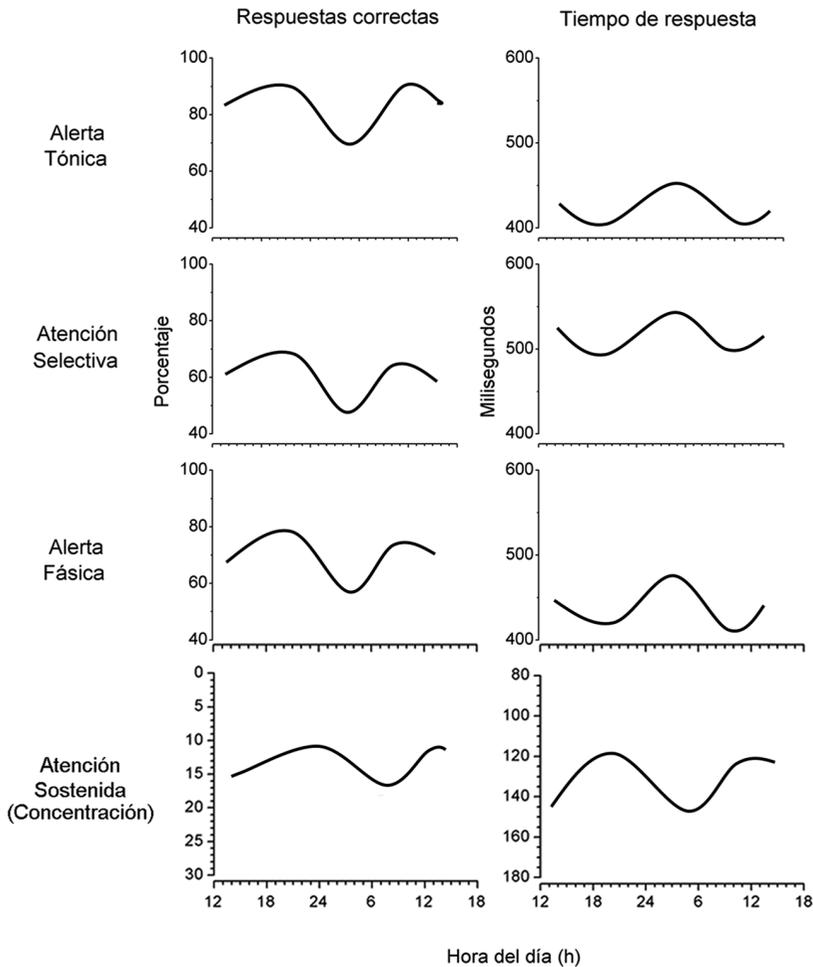


FIGURA 8.5. Ritmos circadianos en los componentes de la atención en un registro en el laboratorio por más de 24 horas. En las gráficas de la izquierda se observan las respuestas correctas y en las gráficas de la derecha el tiempo de reacción ante la prueba de ejecución continua. Las gráficas de atención sostenida (abajo) representan la estabilidad en las respuestas durante la tarea.

En estas condiciones de registro se han encontrado ritmos circadianos en alerta tónica, alerta fásica, atención selectiva y atención sostenida (concentración) (Valdez et al., 2005; Valdez et al., 2010). En los cuatro

componentes se observa una mejor eficiencia por la tarde, entre las 18:00 h y las 21:00 h (cometen menos errores y contestan más rápido), cuando la temperatura corporal es alta y la somnolencia es baja, mientras que la eficiencia en los componentes de la atención disminuye en la madrugada y primeras horas de la mañana, entre las 04:00 h y las 07:00 h (presentan más errores y tardan más tiempo en responder), cuando la temperatura corporal es baja y la somnolencia es alta. En el caso de la atención sostenida, las horas en las que se presenta el nivel más bajo ocurre más tarde que el resto de los componentes, entre las 07:00 h y las 09:00 h (ver figura 8.5), lo que indica que la persona no es capaz de mantener el mismo nivel de eficiencia a lo largo de las actividades que realiza en horarios donde habitualmente se asiste al trabajo o a la escuela. En suma, se presentan ritmos circadianos en todos los componentes de la atención.

IMPLICACIONES DE LOS RITMOS CIRCADIANOS EN LA ATENCIÓN

Los ritmos en la atención tienen repercusiones sobre muchas áreas aplicadas, como el rendimiento en el trabajo y el ámbito educativo.

Rendimiento en el trabajo

Uno de los campos donde este hallazgo tiene implicaciones inmediatas y cruciales es en el medio laboral, debido a que los horarios de trabajo pueden programarse en distintos momentos del día, tanto en el turno diurno, donde las personas tienen que despertarse y empezar a trabajar muy temprano en la mañana, como en el turno nocturno, donde la persona empieza a trabajar cuando inicia la noche, terminando su jornada al otro día por la mañana (Folkard & Monk, 1980).

Si una persona labora en un turno diurno, no estará en condiciones de procesar información durante las primeras horas de la mañana, debido a que en estas horas ocurre una disminución de su atención, tanto en la alerta tónica y fásica como en la atención selectiva y sostenida (Valdez et al., 2010). Esto se verá reflejado en su desempeño laboral en general y puede incluso promover el uso de estimulantes menores del sistema nervioso, sustancias que se encuentran en el café, bebidas energizantes, té negro o refrescos de cola (Dekker et al., 1993; Roehrs & Roth, 2008; Smith, 2002). Sin embargo, un estimulante podría aumentar el nivel de alerta tónica, pero difícilmente mejorará de forma específica el nivel de

alerta fásica o de atención selectiva. Lo que implica que posiblemente la persona reaccione más rápido a los eventos en el ambiente en general, pero cometerá errores si tiene que efectuar respuestas específicas o mantenerse trabajando por períodos prolongados.

Si la persona tiene que trabajar durante la noche, a la hora en que baja la temperatura corporal, tendrá una reducción aún mayor en algunos componentes de la atención. Durante la madrugada la persona sigue trabajando, pero se presenta una reducción importante en la eficiencia y velocidad para responder a estímulos específicos. Podemos poner como ejemplo a un conductor, ya sea de un avión, ferrocarril, automóvil, autobús de pasajeros o vehículo de transporte. En la madrugada y en las primeras horas de la mañana, cuando disminuye su temperatura corporal, estará cansado, con una baja concentración pero que aún le permitirá seguir respondiendo. En esos momentos estará notablemente reducida su eficiencia y velocidad para responder a eventos específicos (alerta fásica, atención selectiva). Podemos prever que en estas condiciones la persona seguirá conduciendo, pero existe una mayor probabilidad de que ocurra un accidente si se presenta cualquier evento inesperado en el que la persona tenga que dar respuestas específicas o tomar decisiones. Se ha reportado que los accidentes más graves o catastróficos ocurren con mayor frecuencia en la noche y en la madrugada (Costa, 1996; Reinberg & Smolensky, 1985), a las horas en que disminuye el nivel de atención de las personas; recordemos que la disminución en la atención afecta el rendimiento en todas las actividades que llevemos a cabo a esas horas del día.

Aplicaciones en la educación

Los ritmos circadianos en la atención también pueden afectar el aprendizaje escolar (Valdez et al., 2012; Valdez et al., 2008b). De acuerdo con los resultados descritos, hacia la tarde y la noche mejora el nivel de alerta tónica, fásica, atención selectiva y atención sostenida, por lo que estamos en mejores condiciones para procesar la información en actividades como leer, comprender un texto, analizar la información, resumir, llevar a cabo cálculos numéricos, etc. El mejor momento para estudiar ocurre en la noche, aproximadamente dos horas antes de empezar a dormir. Por el contrario, en las primeras horas de la mañana no estamos en las mejores condiciones para aprender; sin embargo, unas horas después podemos alcanzar niveles que nos permiten un rendimiento aceptable.

En nuestro país la mayor parte de la población escolar asiste a sus actividades en un horario matutino, entre las 07:00 h y las 08:00 h de

la mañana. Esta situación podría explicar las dificultades que los estudiantes presentan para aprender y procesar información durante las primeras horas de clase, ya que, de acuerdo a los ritmos circadianos en la atención, el peor momento para estudiar es el período que incluye la madrugada y las primeras horas de la mañana. Muchos maestros han observado que algunos alumnos no pueden participar activamente en las actividades escolares durante las primeras horas de clases, varios incluso se quedan dormidos en ese intervalo. Aunado a esto, las materias que se consideran más difíciles, como las matemáticas y el español, paradójicamente se programan en las primeras horas de la mañana. Al programarlas de esta forma se parte de la idea de que las personas se encuentran en mejores condiciones, ya que el dormir les proporcionó la recuperación y el descanso que les permite estar alertas y activos en la mañana temprano. Sin embargo, a esas horas su atención todavía se encuentra en un nivel bajo.

CONCLUSIONES

Se han encontrado ritmos circadianos en todos los componentes de la atención, tanto en alerta tónica y alerta fásica, como en atención selectiva y atención sostenida (concentración). Nuestra atención mejora durante el día, mientras que alcanza su nivel más bajo durante la noche y primeras horas de la mañana. El ritmo circadiano en la atención modula el rendimiento en todas las actividades que desempeña el ser humano, por lo que durante la noche y primeras horas de la mañana disminuye el rendimiento en el trabajo y la productividad, a la vez que se aumenta la probabilidad de errores y accidentes. Además, la disminución de la atención a estas horas del día también afecta el aprendizaje escolar. Es necesario seguir analizando los ritmos circadianos en los procesos neuropsicológicos, así como sus efectos sobre la salud, el rendimiento en el trabajo y el rendimiento escolar.

REFERENCIAS

- BLAKE, M. J. F. (1967). Time of day effects on performance in a range of task. *Psychonomic Science*, 9, 349-350.
- CAMPBELL, S. S., Murphy, P. J., & Boothroyd, C. E. (2001). Long-term time estimation is influenced by circadian phase. *Physiology & Behavior*, 72, 589-593.
- CARRIER, J., & Monk, T. H. (2000). Circadian rhythms of performance: New trends. *Chronobiology International*, 17, 719-732.

- COHEN, R. A., & O'Donnell, B. F. (1993). Models and mechanisms of attention. En R. A. Cohen, I. A. Sparling-Cohen, & I. F. O'Donne (Eds.), *The neuropsychology of attention* (pp. 177-186). New York: Plenum Press.
- COLQUHOUN, W. P. (1971). Circadian variations in mental efficiency. En Autor (Ed.), *Biological rhythms and human performance* (pp. 39-107). London: Academic Press.
- COSTA, G. (1996). The impact of shift and night work on health. *Applied Ergonomics*, 27, 9-16.
- DEKKER, D. K., Paley, M. J., Popkin, S. M., & Tepas, D. I. (1993). Locomotive engineers and their spouses: Coffee consumption, mood, and sleep reports. *Ergonomics*, 36, 233-238.
- DUFFY, J. F., & Dijk, D.-J. (2002). Getting through to circadian oscillators: Why use constant routines? *Journal of Biological Rhythms*, 17, 4-13.
- EDWARDS, B., Waterhouse, J., & Reilly, T. (2007). The effects of circadian rhythmicity and time-awake on a simple motor task. *Chronobiology International*, 24, 1109-1124.
- FOLKARD, S., & Monk, T. H. (1980). Circadian rhythms in human memory. *British Journal of Psychology*, 71, 295-307.
- GARCÍA, A., Ramírez, C., Martínez, B., & Valdez, P. (2012). Circadian rhythms in two components of executive functions: Cognitive inhibition and flexibility. *Biological Rhythm Research*, 43, 49-63.
- GARCÍA, A., Ramírez, C., & Valdez, P. (2010). Circadian variations in the capacity to adjust behavior to environmental changes. *Sleep Science*, 3, 56-60.
- HALBERG, F. (1969). Chronobiology. *Annual Review of Physiology*, 31, 675-725.
- HEILMAN, K. M., & Valenstein, E. (2003). *Clinical neuropsychology*. New York: Oxford University Press.
- KAPLAN, E. (1988). A process approach to neuropsychological assessment. En T. Boll, & B. K. Bryant (Eds.), *Clinical neuropsychology and brain function* (pp. 125-167). Washington: American Psychological Association.
- KLEITMAN, N. (1963). *Sleep and wakefulness*. Chicago: University of Chicago Press.
- LAVIE, P. (1980). The search for cycles in mental performance from Lombard to Kleitman. *Chronobiología*, 7(2), 247-256.
- LENNÉ, M. G., Triggs, T. J., & Redman, J. R. (1997). Time of day variations in driving performance. *Accident Analysis and Prevention*, 29, 431-437.
- LOTZE, M., Wittmann, M., von Steinbüchel, N., Pöppel, E., & Roenneberg, T. (1999). Daily rhythm of temporal resolution in the auditory system. *Cortex*, 35, 89-100.
- LUCE, G. G. (1971). *Biological rhythms in human and animal physiology*. New York: Dover Publications.

- MONK, T. H., & Carrier, J. (1997). Speed of mental processing in the middle of the night. *Sleep, 20*, 399-401.
- MOORE-EDE, M. C., Sulzman, F. M., & Fuller, C. A. (1982). *The clocks that time us. Physiology of the Circadian Timing System*. Cambridge: Harvard University Press.
- POSNER, M., & Rafal, R. (1987). Cognitive theories of attention and the rehabilitation of attentional deficits. En M. Meier, A. Benton, & L. Diller (Eds.), *Neuropsychological rehabilitation* (pp. 182-201). New York: Guilford Press.
- RAMÍREZ, C., García, A., & Valdez, P. (2012). Identification of circadian rhythms in cognitive inhibition and flexibility using a Stroop task. *Sleep and Biological Rhythms, 10*, 136-144.
- RAMÍREZ, C., Talamantes, J., García, A., Morales, M., Valdez, P., & Menna, B. L. (2006). Circadian rhythms in phonological and visuospatial storage components of working memory. *Biological Rhythm Research, 37*, 433-441.
- REINBERG, A., & Smolensky, M. H. (1985). Chronobiologic considerations of the Bhopal methyl isocyanate disaster. *Chronobiology International, 2*, 61-62.
- ROEHRS, T., & Roth, T. (2008). Caffeine: Sleep and daytime sleepiness. *Sleep Medicine Review, 12*, 153-162.
- SARTER, M., Givens, B., & Bruno, J. P. (2001). The cognitive neuroscience of sustained attention: Where top-down meets bottom-up. *Brain Research Review, 35*, 146-160.
- SMITH, A. (2002). Effects of caffeine on human behavior. *Food and Chemical Toxicology, 40*, 1243-1255.
- VALDEZ, P. (2015). *Cronobiología. Respuestas psicofisiológicas al tiempo*. México: Trillas.
- VALDEZ, P., Ramírez, C., & García, A. (2009a). Cronobiología del comportamiento humano. En C. H. García, M. G. Muñiz & J. Montalvo (Eds.), *Conceptos de psicología* (Vol. 2, pp. 249-271). México: Trillas.
- VALDEZ, P., Ramírez, C., & García, A. (2012). Circadian rhythms in cognitive performance: Implications for neuropsychological assessment. *ChronoPhysiology and Therapy, 2*, 81-92.
- VALDEZ, P., Ramírez, C., García, A., & Talamantes, J. (2008a). Los cambios de la atención a lo largo del día. *Ciencia, 59*, 14-23.
- VALDEZ, R. P., Ramírez, T. C., García, G. A., & Talamantes, L. J. (2009b). Ritmos circadianos en la eficiencia para responder en una tarea de ejecución continua. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta, 35*, 77-93.
- VALDEZ, P., Ramírez, C., García, A., Talamantes, J., Armijo, P., & Borrani, J. (2005). Circadian rhythms in components of attention. *Biological Rhythm Research, 36*, 57-65.

- VALDEZ, P., Ramírez, C., García, A., Talamantes, J., & Cortez, J. (2010). Circadian and homeostatic variation in sustained attention. *Chronobiology International*, 27, 393-416.
- VALDEZ, P., Reilly, T., & Waterhouse, J. (2008b). Rhythms of mental performance. *Mind, Brain and Education*, 2, 7-16.
- WRIGHT, K.P., Jr., Hull, J. T., & Czeisler, C. A. (2002). Relationship between alertness, performance, and body temperature in humans. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 283, R1370-1377.

RITMOS CIRCADIANOS Y TURNOS DE TRABAJO

*Candelaria Ramírez Tule,¹ Aída García García²
y Pablo Valdez Ramírez³*

INTRODUCCIÓN

Los seres humanos, al igual que todos los seres vivos, tienen oscilaciones regulares en sus procesos fisiológicos, las que se conocen como ritmos biológicos (Luce, 1971; Moore-Ede et al., 1982). Los ciclos que más se han estudiado son los ritmos circadianos (*circa*, cerca de, *dies*, día), los cuales tienen un período de alrededor de 24 horas (Halberg, 1969). Los ritmos circadianos modulan la mayor parte de las funciones de nuestro organismo, de tal modo que durante el día aumenta nuestra temperatura corporal, nuestro metabolismo, la secreción de jugos gástricos, de hormonas (como la adrenalina y el cortisol) y las personas se mantienen despiertas (vigilia). Mientras tanto, por la noche disminuye nuestra temperatura corporal, el metabolismo, la formación de orina y las personas duermen (Kreitzman & Foster, 2011; Luce, 1971; Reinberg & Smolensky, 1983).

Los ritmos circadianos son muy estables, sin embargo, se pueden modular por medio de agentes sincronizantes, como la iluminación (Pittendrigh, 1974), la temperatura ambiental (Palmer, 1976), la alimentación (Edmunds, 1976; Sulzman et al., 1977), el ejercicio y la estimula-

¹ Doctora en Biología, UANL. Profesora de tiempo completo y coordinadora del Departamento de Psicofisiología de la Facultad de Psicología, UANL. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

² Doctora en Psicología, UANL. Profesora de tiempo completo de la Facultad de Psicología de la UANL. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

³ Doctor en Psicología, UANL. Profesor de tiempo completo de la Facultad de Psicología de la UANL. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 2.

ción social (Aschoff, 1976; Kavanau, 1969; Minors & Waterhouse, 1986). El ciclo de iluminación es el agente sincronizante con un mayor efecto sobre la fase de los ritmos circadianos (Winfrey, 1967). Esta modulación implica que los ritmos continúan con el mismo período (alrededor de 24 horas), pero cambian la fase, esto es, se adelantan o retrasan con respecto a la hora del día.

La fase de nuestros ritmos se modifica cuando cambian los horarios de los agentes sincronizantes (Roelfsema, 1987), por ejemplo, cuando viajamos a otra parte del mundo (Haimov & Arendt, 1999; Kostreva et al., 2002) y nos trasladamos de la Ciudad de México a París, nos encontramos que el horario está adelantado 7 horas. El ciclo de iluminación (agente sincronizante) de París promueve cambios de fase en nuestros ritmos, hasta que concuerdan con el nuevo horario. La adaptación de nuestro organismo tarda aproximadamente un número de días equivalente a la cantidad de horas de modificación del horario. Esto significa que nuestros ritmos demoran al menos 7 días en adoptar una nueva fase congruente con el horario de París. Durante el período de ajuste al nuevo horario, nuestro organismo padece un síndrome que se conoce como “Síndrome de viaje transmeridional” o *Jet lag*, que incluye trastornos en el ciclo de vigilia-sueño, privación del dormir, somnolencia diurna y trastornos gastrointestinales (Arendt & Marks, 1982; Haimov & Arendt, 1999).

Los turnos de trabajo son horarios que tenemos que cumplir, por lo que modifican las horas en que podemos dormir, comer o llevar a cabo actividades sociales y recreativas. Esto plantea algunas preguntas básicas: ¿El turno de trabajo modifica la fase de los ritmos circadianos? ¿Se adaptan los trabajadores a cualquier tipo de turno?

Los turnos matutino y vespertino parecen concordar con la fase de nuestros ritmos circadianos, trabajamos en el día y dedicamos la noche para dormir. Mientras que los turnos nocturno y rotatorio tienen un horario distinto a la fase de nuestros ritmos (Åkerstedt, 1990), y trabajamos cuando el organismo está dispuesto a dormir y sabe que tenemos que hacerlo aun cuando nuestro organismo está activo. Esta discordancia entre los turnos de trabajo y los ritmos circadianos puede afectar la salud de los trabajadores, el rendimiento laboral y producir un aumento en la frecuencia de accidentes de trabajo (Smith et al., 1994).

En el presente capítulo se analiza la relación entre los ritmos circadianos y los turnos de trabajo, así como los efectos que cada uno de los turnos tiene sobre la salud de los trabajadores.

RELACIÓN ENTRE EL TURNO DE TRABAJO Y LOS RITMOS CIRCADIANOS

Para analizar la relación entre los ritmos circadianos y los turnos de trabajo es importante tomar en cuenta los cambios que ocurren en el organismo durante el día, tanto en la temperatura corporal como en el ciclo de vigilia-sueño, la somnolencia, el rendimiento intelectual (cognoscitivo), la productividad laboral y el riesgo de accidentes laborales (Valdez, 2015; Valdez et al., 2009). La figura 9.1 presenta un esquema que se usará en este capítulo para analizar la relación entre los ritmos circadianos y los turnos de trabajo. En la parte superior de dicha figura se encuentran los principales cambios en el organismo durante el día, mientras que en la parte inferior aparece un esquema de los turnos de trabajo.

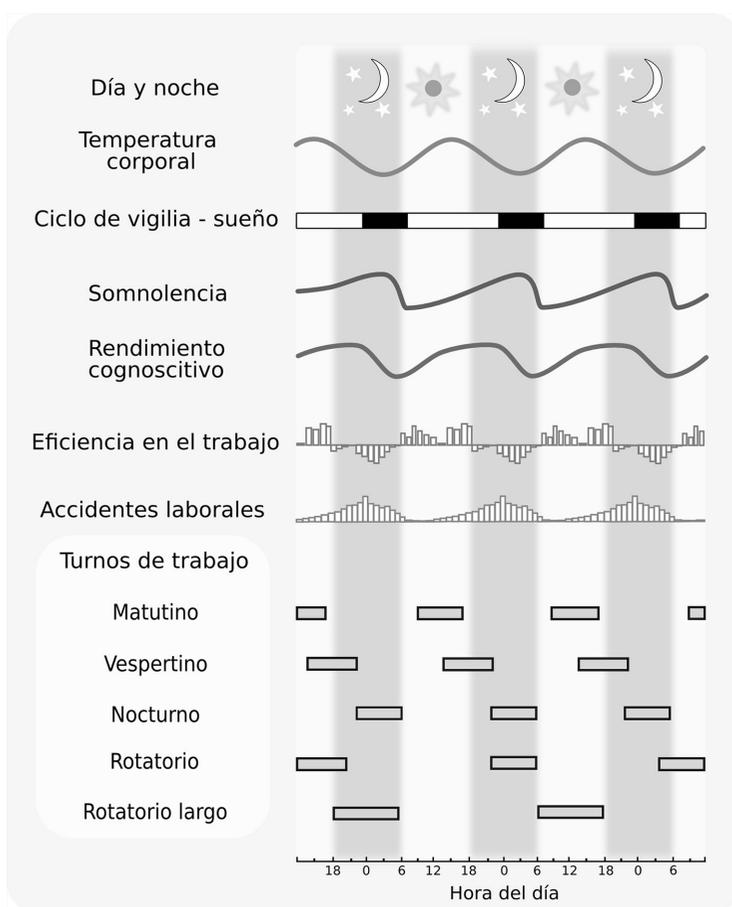


FIGURA 9.1. Relación entre los ritmos circadianos y los turnos de trabajo. En la parte superior se muestran los ritmos circadianos en la fisiología y en el comportamiento del ser humano, mientras que en la parte inferior se encuentra un esquema de cada uno de los turnos de trabajo.

Durante el transcurso de las 24 horas del día ocurren los siguientes cambios:

- En la mañana la temperatura corporal aumenta, la persona está despierta, el rendimiento cognoscitivo y la eficiencia en el trabajo aumentan, mientras que la somnolencia y el riesgo de accidentes laborales están bajos.
- A mediodía la temperatura corporal es alta, la persona está despierta, el rendimiento cognoscitivo y la eficiencia en el trabajo son altos, mientras que la somnolencia y el riesgo de accidentes laborales son bajos.
- En la tarde la temperatura corporal está en su nivel máximo, la persona está despierta, el rendimiento cognoscitivo y la eficiencia en el trabajo se encuentran en su nivel más alto, mientras que la somnolencia y el riesgo de accidentes laborales están en su nivel más bajo.
- En la noche la temperatura corporal desciende, la persona empieza a dormir, el rendimiento cognoscitivo y la eficiencia en el trabajo disminuyen, mientras que la somnolencia y el riesgo de accidentes laborales aumentan.
- En la madrugada y primeras horas de la mañana la temperatura corporal empieza a aumentar, la persona se despierta, el rendimiento cognoscitivo y la eficiencia en el trabajo están en su menor nivel, mientras que la somnolencia y el riesgo de accidentes laborales alcanzan su nivel más alto.

Es importante considerar que la fase de los ritmos circadianos se mantiene acoplada a los agentes sincronizantes del lugar geográfico en que radicamos, sin importar el turno en que trabajamos. La exposición a los agentes sincronizantes como la luz solar, ya sea los días de trabajo o de descanso, mantiene la fase de los ritmos circadianos de las personas acoplada al horario del lugar en que radican (Arendt, 2010).

En síntesis, los turnos de trabajo no cambian la fase de nuestros ritmos circadianos, por lo que las actividades de los trabajadores no concuerdan con las condiciones del organismo a cada hora del día. Por ejemplo, un trabajador que labora en el turno nocturno intentará trabajar cuando su organismo se dispone a dormir, por lo que su eficiencia en el trabajo será baja; mientras que intentará dormir cuando su organismo está activo, por lo que no logrará conciliar el sueño. En consecuencia, la falta de congruencia entre los turnos de trabajo y los ritmos circadianos

produce trastornos en la salud de los trabajadores. Enseguida se analizan los trastornos vinculados a cada turno.

TURNO MATUTINO

Como se mencionó antes, el turno matutino parece concordar con la fase de los ritmos circadianos, ya que las personas llevan a cabo sus actividades durante el día y duermen en la noche (Folkard & Tucker, 2003). Sin embargo, esto depende del horario específico en que trabajan las personas. Para cumplir un turno de 09:00 h a 17:00 h las personas tienen que levantarse entre 07:00 h y 08:00 h de la mañana, esto dependerá del tiempo que tarden en su aseo personal y en el traslado a su lugar de trabajo (Di Milia, 2006). A esa hora su temperatura corporal está baja y la somnolencia aún es alta, pues generalmente se tiene que interrumpir el dormir antes de que ocurra de forma espontánea, con lo que se reduce la duración del sueño. Esta privación parcial del mismo produce un aumento en la somnolencia diurna (Åkerstedt & Torsvall, 1985) que las personas tienden a contrarrestar por medio de la ingestión de bebidas que contienen estimulantes, como el café, el té o refrescos de cola, especialmente en la mañana (Dekker et al., 1993; Roehrs & Roth, 2008; Smith, 2002).

A pesar de que las personas despiertan temprano para ir al trabajo no se modifica la fase de sus ritmos circadianos, ya que los días de descanso (generalmente los fines de semana) sus ritmos conservan una fase retrasada, además se acuestan más tarde, despiertan más tarde y duermen más tiempo (compensan parcialmente la privación de sueño) (Valdez et al., 1996; 2003). Este turno es relativamente benigno, casi no afecta los ritmos circadianos, el efecto principal consiste en privación parcial del sueño y somnolencia diurna (Kecklund et al., 1997).

Sin embargo, el turno matutino puede producir efectos más graves cuando el horario inicia muy temprano, entre 06:00 h y 07:00 h (Folkard & Barton, 1993). Para cumplir con este horario, las personas tienen que levantarse entre las 04:00 h y las 06:00 h, en el momento en que la temperatura corporal está en su nivel más bajo, la somnolencia en su nivel más alto y el rendimiento cognoscitivo en su nivel más bajo. Con este horario la privación del sueño aumenta, lo que produce una somnolencia más severa, con una reducción en la eficiencia laboral y un aumento en el riesgo de accidentes durante el día (Kecklund & Åkerstedt, 1993). Otro problema vinculado al turno matutino es la somnolencia durante la mañana, condición que hace más probable que ocurra un accidente si

la persona tiene que conducir un automóvil para trasladarse al lugar de trabajo. El riesgo es mayor entre más temprano sea el traslado.

TURNO VESPERTINO

En este turno las personas descansan en la mañana, acuden a sus actividades en la tarde y duermen en la noche. Generalmente las personas que laboran en este turno de trabajo inician a las 14:00 h y terminan a las 22:00 h, de lunes a viernes, con descansos los fines de semana. Se van a dormir a una hora en que su organismo está listo para hacerlo y pueden despertar tarde el día siguiente, por lo que duermen la cantidad de horas que requieren para despertar descansados. Durante el día se mantienen despiertas y activas, su ejecución cognoscitiva es adecuada, lo mismo que su eficiencia y productividad, con un riesgo leve de accidentes laborales (Åkerstedt, 1990; Bjerner et al., 1955).

A pesar de que este turno no produce trastornos graves en la salud, interfiere con las actividades sociales y recreativas, ya que los demás miembros de la familia tienen un horario diferente, generalmente matutino (Grosswald, 2004; White & Keith, 1990). Además, se produce un aumento en el riesgo de accidentes automovilísticos durante el traslado del trabajador a su casa al terminar el turno, ya que tiene que conducir en la noche, cuando empieza a disminuir su temperatura corporal, aumenta la somnolencia y disminuye el rendimiento cognoscitivo.

TURNO NOCTURNO

Con el avance industrial y el crecimiento de la población las empresas y las instituciones de servicio extendieron sus horarios de producción, servicio y atención a clientes a las 24 horas del día, estableciendo así turnos nocturnos. En las naciones desarrolladas aproximadamente un 20% de la población económicamente activa trabaja en un turno nocturno, ya sea fijo o rotatorio (Carpentier y Cazamian, 1977; ver figura 9.2). En estos casos las personas trabajan en la noche y duermen durante el día. Un calendario típico inicia a las 22:00 h y termina a las 06:00 h. Los días de trabajo pueden incluir sábados y domingos, así que las personas reponen sus horas de sueño en los días de descanso, algunos días de la semana o los fines de semana.

Como mencionamos antes, solamente unas cuantas personas logran invertir la fase de sus ritmos circadianos, por lo que la mayor parte de los trabajadores de turnos nocturnos realizan sus actividades en

horas en que su organismo se encuentra en condiciones inapropiadas (Åkerstedt & Froberg, 1981; Aschoff, 1976). Por tanto, hay incompatibilidad entre el ciclo sueño-vigilia y los ritmos circadianos, lo que conlleva una serie de trastornos como los que enseguida se describen.

Cuando se inicia un turno nocturno (recordemos que esto sucede alrededor de las 22:00 h) la temperatura corporal se mantiene todavía alta, la somnolencia está baja y el rendimiento cognoscitivo es alto, por lo que la persona se encuentra en condiciones adecuadas para trabajar. Sin embargo, unas cuantas horas después su temperatura corporal empezará a descender, aumentará la somnolencia y disminuirá su rendimiento cognoscitivo –es decir, condiciones óptimas para dormir. A pesar de ello, la persona tiene que mantenerse despierta y activa. Desde ese momento hasta la madrugada y primeras horas de la mañana, el grado de somnolencia será alto, el rendimiento cognoscitivo bajo y la eficiencia laboral baja también, mientras que el riesgo de accidentes será alto (Folkard & Tucker, 2003). Esta situación, entonces, persiste al terminar el turno, por lo que el trabajador corre el riesgo de sufrir un accidente automovilístico durante su traslado a casa (Di Milia, 2006).

Generalmente, las personas que laboran turnos nocturnos intentan dormir cuando llegan a su hogar, pero en ese momento su organismo se encuentra en condiciones de estar despierto y activo. En consecuencia, tienen dificultades para conciliar el sueño, logrando dormir solamente unas cuantas horas (Åkerstedt, 2003) y tendiendo a compensar esta privación de sueño por medio de siestas (Åkerstedt & Torsvall, 1985), sin lograrlo totalmente, lo que a su vez se refleja en somnolencia durante las horas de trabajo (Torsvall & Åkerstedt, 1987).

Dormir durante el día es difícil debido a las condiciones fisiológicas de las fases del ritmo circadiano y por las condiciones ambientales y familiares que se requieren para que el trabajador concilie el sueño. Para que el trabajador pueda dormir durante el día requiere una habitación aislada de la iluminación solar y del ruido. Además, durante el día los trabajadores conviven con su familia, acuden a compras, a reuniones sociales, lo que interfiere aún más con su disposición a dormir (Costa, 2003).

Por otra parte, se ha encontrado que los trabajadores comen durante la noche, pero su organismo secreta los jugos gástricos durante el día, lo cual produce trastornos gastrointestinales (Knutsson, 2003). Se ha encontrado que una gran cantidad de personas que trabajan en el turno nocturno presentan una alta incidencia del síndrome metabólico, que incluye los siguientes síntomas: colesterol elevado, hipertensión,

resistencia a la insulina y obesidad (Szosland, 2010). Estos síntomas son factores predisponentes para padecer enfermedades cardiovasculares y *diabetes mellitus* (Karlsson et al., 2001; Knutsson, 2003). El turno nocturno también produce un aumento en la tensión emocional, irritabilidad o depresión (Ogińska et al., 1993).

A los problemas anteriores es necesario añadir los que se derivan de la restricción en la interacción social, pues hay pocas posibilidades de estar con la familia, con los amigos, de realizar actividades culturales o recreativas (Colligan & Rosa, 1990). Este aislamiento social resulta tan grave como los trastornos fisiológicos.

En resumen, se ha encontrado que la mayor parte de las personas que trabajan en un turno nocturno no invierten la fase de sus ritmos circadianos, por lo que durante el trabajo padecen somnolencia, bajo rendimiento cognoscitivo, menor eficiencia laboral y ocurre una mayor cantidad de accidentes. Asimismo, hay una mayor incidencia de trastornos gastrointestinales, metabólicos y cardiovasculares, así como ansiedad, irritabilidad y depresión. En conjunto, los trastornos mencionados producen una calidad de vida baja en las personas que laboran en turnos nocturnos.



FIGURA 9.2. Una gran cantidad de personas trabajan en turnos nocturnos, como los obreros de muy diversas ramas de la producción, operadores de transporte terrestre o aéreo de pasajeros y de carga (pilotos, operadores, aeromozas), personal de servicios médicos (doctores, enfermeras), de vigilancia (veladores, policías, agentes de tránsito, bomberos) y de limpieza.

TURNO ROTATORIO

El turno rotatorio implica trabajar en los 3 turnos antes mencionados, pero pasando de un horario a otro de acuerdo con un calendario de rotación. En algunos casos la jornada de trabajo es de 8 horas por turno, mientras que en otros de 12 horas. El tiempo que permanece la persona laborando en cada horario puede ser de meses, semanas o días. La dirección del cambio de turno puede ser hacia adelante en el tiempo (matutino, vespertino, nocturno) o en sentido inverso (nocturno, vespertino, matutino) (Barton et al., 1994; Tucker et al., 2000).

El turno rotatorio es incompatible con los ritmos circadianos, pues los cambios de turno hacen muy difícil que la persona se adapte a cada uno de los horarios en que trabaja (Costa, 1997). Este turno produce las mismas alteraciones que se observan al trabajar en un turno nocturno, pero los trastornos se mantienen aunque el trabajador esté laborando en el día. Así, se produce privación de sueño y la persona tiene dificultades para dormir independientemente del horario en que esté trabajando en ese momento. En consecuencia, ocurre somnolencia y fatiga, no solamente durante las horas de trabajo sino durante todo el tiempo que la persona está despierta (Åkerstedt, 2003).

El turno rotatorio también produce trastornos gastrointestinales, cardiovasculares, irritabilidad, ansiedad y depresión. A medida que el trabajador aumenta de edad tiene menor capacidad para adaptarse a los cambios y los trabajadores que tienen más años laborando en el turno rotatorio presentan trastornos más graves de salud (Folkard, 2008). Además, el trabajador padece aislamiento social, ya que sus horarios de trabajo no concuerdan con los horarios de la familia y el grupo social. Los trastornos son tan severos que algunos trabajadores dejan de laborar en el turno rotatorio y se pasan a un turno fijo.

El turno rotatorio también se vincula a una disminución en la eficiencia durante el trabajo y a un aumento en la frecuencia y gravedad de accidentes laborales, especialmente cuando la persona se encuentra trabajando en el horario nocturno (Loudoun, 2010). Varios accidentes graves o catástrofes han ocurrido en la noche y primeras horas de la mañana, tales como el derrame de petróleo del buque Exxon Valdez, los desastres nucleares de Three Mile Island y de Chernobyl, así como la explosión en la planta química de Bophal (Costa, 1996; Reinberg & Smolensky, 1985). Estos accidentes se han vinculado con errores humanos debidos a la somnolencia y fatiga que ocurren durante el turno nocturno.

CONCLUSIONES

Las características de los ritmos circadianos son cruciales para analizar los trastornos que ocurren al trabajar en cada uno de los turnos de trabajo. Durante la noche y primeras horas de la mañana aumenta la somnolencia y se reduce el rendimiento cognoscitivo; a estas horas disminuye la eficiencia y aumenta el riesgo de accidentes laborales. En consecuencia, las personas que trabajan en un turno nocturno o rotatorio tienen problemas de salud importantes. Aunque los turnos diurnos (matutino y vespertino) parecen compatibles con los ritmos circadianos, también se producen problemas cuando la persona tiene que trabajar o conducir un automóvil (traslado trabajo-casa o viceversa) en las primeras horas de la mañana o en la noche.

Se han planteado varias posibles estrategias para atenuar los trastornos que se producen al trabajar en un turno nocturno o rotatorio. Una estrategia consiste en diseñar calendarios de rotación que interfieran menos con los ritmos circadianos. Por ejemplo, es más difícil adelantar la fase del ritmo circadiano, por lo que los calendarios de rotación hacia atrás en el tiempo (nocturno, vespertino, matutino) producen más trastornos que un calendario hacia adelante (matutino, vespertino, nocturno).

Otra estrategia es promover cambios de fase en los ritmos circadianos de los trabajadores por medio de la luz, uno de los agentes sincronizantes de esos ritmos. Esto implica aumentar el nivel de iluminación (5000-10000 lux) en el sitio de trabajo durante la noche y aislar la habitación donde duerme el trabajador durante el día. Otra recomendación es programar el dormir y las siestas a horas que sean más compatibles con los ritmos circadianos humanos. También se han logrado algunos resultados positivos programando siestas de corta duración (15-30 minutos) durante el turno nocturno. Es importante seguir analizando las características de los ritmos circadianos en el ser humano, sus implicaciones en la salud, así como sus efectos en cada uno de los turnos de trabajo.

REFERENCIAS

- ÅKERSTEDT, T. (1990). Psychological and psychophysiological effects of shift work. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 16, 67-73.
- ÅKERSTEDT, T. (2003). Shift work and disturbed sleep/wakefulness. *Occupational Medicine*, 53, 89-94.
- ÅKERSTEDT, T., & Froberg, J. E. (1981). Night shift work effects on health and well-being. En L. Levi (Ed.), *Society, stress and disease* (pp. 76-81). Oxford: University Press.

- ÅKERSTEDT, T., & Torsvall, L. (1985). Napping in shift work. *Sleep*, 8, 105-109.
- ARENDT, J. (2010). Shift work: Coping with the biological clock. *Occupational Medicine*, 60, 10-20.
- ARENDT, J., & Marks, V. (1982). Physiological changes underlying jet lag. *British Medical Journal*, 284, 144-146.
- ASCHOFF, J. (1976). Circadian systems in man and their implications. *Hospital Practice*, 11, 51-97.
- BARTON, J., Folkard, S., Smith, L., & Poole, C. J. M. (1994). Effects on health of a change from a delaying to an advancing shift system. *Occupational and Environmental Medicine*, 51, 749-755.
- BJERNER, B., Holm, A., & Swensson, A. (1955). Diurnal variation in mental performance; a study of three-shift workers. *British Journal of Industrial Medicine*, 12, 103-110.
- CARPENTIER, J., y Cazamian, P. (1977). *El trabajo nocturno*. Ginebra: Organización Internacional del Trabajo.
- COLLIGAN, M. J., & Rosa, R. R. (1990). Shiftwork effects on social and family life. *Occupational Medicine*, 5, 315.
- COSTA, G. (1996). The impact of shift and night work on health. *Applied Ergonomics*, 27, 9-16.
- COSTA, G. (1997). The problem: Shiftwork. *Chronobiology International*, 14, 89-98.
- COSTA, G. (2003). Shift work and occupational medicine: An overview. *Occupational Medicine*, 53, 83-88.
- DEKKER, D. K., Paley, M. J., Popkin, S. M., & Tepas, D. I. (1993). Locomotive engineers and their spouses: Coffee consumption, mood, and sleep reports. *Ergonomics*, 36, 233-238.
- DI MILIA, L. (2006). Shift work, sleepiness and long distance driving. *Transportation Research Part F: Traffic Psychology and Behaviour*, 9, 278-285.
- EDMUNDS, L. N. J. (1976). Models and mechanisms for endogenous timekeeping. En J. D. Palmer (Ed.). *An introduction to biological rhythms* (pp. 280-361). New York: Academic Press.
- FOLKARD, S. (2008). Shift work, safety, and aging. *Chronobiology International*, 25, 183-198.
- FOLKARD, S., & Barton, J. (1993). Does the 'forbidden zone' for sleep onset influence morning shift sleep duration? *Ergonomics*, 36, 85-91.
- FOLKARD, S., & Tucker, P. (2003). Shift work, safety and productivity. *Occupational Medicine*, 53, 95-101.
- GROSSWALD, B. (2004). The effects of shift work on family satisfaction. *Families in Society*, 85, 413-423.
- HAIMOV, I., & Arendt, J. (1999). The prevention and treatment of jet lag. *Sleep Medicine Review*, 3, 229-240.

- HALBERG, F. (1969). Chronobiology. *Annual Review of Physiology*, 31, 675-725.
- KARLSSON, B., Knutsson, A., & Lindahl, B. (2001). Is there an association between shift work and having a metabolic syndrome? Results from a population based study of 27 485 people. *Occupational & Environmental Medicine*, 58, 747-752.
- KAVANAU, J. L. (1969). Influences of light on activity of the small mammals, *Peromyscus* spp., *Tamias striatus*, and *Mustela rixosa*. *Experientia*, 25(2), 208-209.
- KECKLUND, G., & Åkerstedt, T. (1993). Sleepiness in long distance truck driving: An ambulatory EEG study of night driving. *Ergonomics*, 36, 1007-1017.
- KECKLUND, G., Åkerstedt, T., & Lowden, A. (1997). Morning work: Effects of early rising on sleep and alertness. *Sleep*, 20, 215-223.
- KNUTSSON, A. (2003). Health disorders of shift workers. *Occupational Medicine*, 53, 103-108.
- KOSTREVA, M., McNelis, E., & Clemens, E. (2002). Using a circadian rhythms model to evaluate shift schedules. *Ergonomics*, 45, 739-763.
- KREITZMAN, L., & Foster, R. (2011). *The rhythms of life: The biological clocks that control the daily lives of every living thing*. London: Profile Books.
- LOUDOUN, J. R. (2010). Injuries sustained by young males in construction during day and night work. *Construction Management and Economics*, 28, 1313-1320.
- LUCE, G. G. (1971). *Biological rhythms in human and animal physiology*. New York: Dover Publications.
- MINORS, D. S., & Waterhouse, J. M. (1986). Circadian rhythms and their mechanisms. *Experientia*, 42, 1-13.
- MOORE-EDE, M. C., Sulzman, F. M., & Fuller, C. A. (1982). *The clocks that time us*. Cambridge: Harvard University Press.
- OGIŃSKA, H., Pokorski, J., & Ogiński, A. (1993). Gender, ageing, and shiftwork intolerance. *Ergonomics*, 36, 161-168.
- PALMER, J. D. (1976). *An introduction to biological rhythms*. New York: Academic Press.
- PITTENDRIGH, C. S. (1974). Circadian Oscillations in Cells and the Circadian Organization of Multicellular Systems. En F. O. Schmitt & F. G. Worden (Eds.). *The Neurosciences. The Third Study* (pp. 437-458). Cambridge: MIT Press.
- REINBERG, A., & Smolensky, M. H. (1983). Introduction to chronobiology. En Autor (Eds.), *Biological rhythms and medicine: Cellular, metabolic, physiopathologic, and pharmacologic aspects* (pp. 1-21). New York: Springer-Verlag.
- REINBERG, A., & Smolensky, M. H. (1985). Chronobiologic considerations of the Bhopal methyl isocyanate disaster. *Chronobiology International*, 2, 61-62.

- ROEHRS, T., & Roth, T. (2008). Caffeine: Sleep and daytime sleepiness. *Sleep Medicine Reviews*, 12, 153-162.
- ROELFSEMA, F. (1987). The influence of light on circadian rhythms. *Experientia*, 43, 7-13.
- SMITH, A. (2002). Effects of caffeine on human behavior. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 1243-1255.
- SMITH, L., Folkard, S., & Poole, C. J. (1994). Increased injuries on night shift. *Lancet*, 344, 1137-1139.
- SULZMAN, F. M., Fuller, C. A., & Moore-Ede, M. C. (1977). Feeding time synchronizes primate circadian rhythms. *Physiology & Behavior*, 18, 775-779.
- SZOSLAND, D. (2010). Shift work and metabolic syndrome, diabetes mellitus and ischaemic heart disease. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 23, 287-291.
- TORSVALL, L., & Åkerstedt, T. (1987). Sleepiness on the job: Continuously measured EEG changes in train drivers. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 66, 502-511.
- TUCKER, P., Smith, L., Macdonald, I., & Folkard, S. (2000). Effects of direction of rotation in continuous and discontinuous 8 hour shift systems. *Occupational and Environmental Medicine*, 57, 678-684.
- VALDEZ, P. (2015). *Cronobiología. Respuestas psicofisiológicas al tiempo*. México: Trillas.
- VALDEZ, P., Ramírez, C., & García, A. (1996). Delaying and extending sleep during weekends: Sleep recovery or circadian effect? *Chronobiology International*, 13, 191-198.
- VALDEZ, P., Ramírez, C., & García, A. (2003). Adjustment of the sleep-wake cycle to small (1-2h) changes in schedule. *Biological Rhythm Research*, 34(2), 145-155.
- VALDEZ, P., Ramírez, C., & García, A. (2009). Cronobiología del comportamiento humano. En C. H. García, M. G. Muñoz & J. Montalvo (Eds.), *Conceptos de psicología* (Vol. 2, pp. 249-271). México: Trillas.
- WHITE, L., & Keith, B. (1990). The effect of shift work on the quality and stability of marital relations. *Journal of Marriage and Family*, 52, 453-462.
- WINFREE, A. T. (1967). Biological rhythms and the behavior of populations of coupled oscillators. *Journal of Theoretical Biology*, 16, 15-42.

RITMOS CIRCADIANOS Y LA RESPUESTA DE NUESTRO ORGANISMO A LOS MEDICAMENTOS

*Enrique Meza,¹ Stefan Waliszewski,² Rossana Citlali Zepeda³
y Mario Caba⁴*

La interacción con un ambiente cíclico durante millones de años ha originado que los seres vivos presenten una organización temporal en procesos conductuales y fisiológicos. Esta organización es definida por

¹ Doctor en Neuroetología, Universidad Veracruzana. Profesor de la Facultad de Ciencias Químicas e investigador del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

² Doctor en Química Analítica, Universidad de Medicina de Poznan, Polonia. Profesor investigador del Instituto de Medicina Forense y del Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

³ Doctora en Ciencias Biomédicas, UNAM. Profesora del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

⁴ Doctor en Ciencias de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Posdoctorado en Oregon National Primate Research Center. Actualmente es profesor investigador y coordinador del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

la presencia de los ritmos biológicos, los cuales varían dependiendo de la especie, etapa del desarrollo y la señal ambiental que lo sincroniza. Como se ha visto en otros capítulos, los ritmos que tienen una oscilación de aproximadamente 24 horas se denominan ritmos circadianos. Estos ritmos se sincronizan principalmente por señales del medioambiente, como la temperatura y el ciclo luz/oscuridad impuesto por los movimientos de rotación de nuestro planeta. Las variaciones fisiológicas circadianas en un individuo originan que el mismo estímulo pueda generar diferentes respuestas, dependiendo de la hora del día cuando sea aplicado; veremos que la respuesta a los medicamentos que tomamos para tratar los diferentes padecimientos que nos afectan no es la excepción (Koukkari & Sothorn, 2006).

Durante siglos la medicina tradicional china ha incluido el concepto “tiempo de tratamiento” en una amplia variedad de prácticas curativas, como acupuntura, moxiterapia y administración de brebajes, entre otras, considerando la variabilidad de respuestas obtenidas como una condición temporal de las personas; a esto le llamaron “ciclo natural del paciente”, asumiendo que dicha ciclicidad está relacionada con la hora del día, día de la semana, día del ciclo menstrual, fase de la luna o estación del año. Actualmente la práctica médica, íntimamente ligada a un mundo de desarrollo científico y tecnológico acelerado, ha dejado de considerar la relevancia de los ritmos biológicos y ha pasado a los esquemas de tratamientos de “tres veces al día”, estrategias que han sido cuestionadas por pioneros del tema, quienes las han llegado a llamar “Estupidez de tres veces al día” (Koukkari & Sothorn, 2006).

Aunque el cuestionamiento sobre cuál sería la hora correcta para administrar un fármaco determinado surgió desde el año 1814 con el farmacéutico francés Julien-Joseph Virey, fue hasta siglo y medio después cuando se realizaron los primeros estudios para resolver esta incógnita y dar respuesta a la pregunta, observando los diferentes efectos y los grados de susceptibilidad a los fármacos a lo largo del día. Esto permitió el desarrollo de nuevas disciplinas dentro de la farmacología, tales como la cronofarmacología y la cronoterapia (Pandi-Perumal et al., 2008).

La cronofarmacología como disciplina emergió a mediados del siglo XX y fue en la década de los sesenta cuando en la práctica clínica se consideró por primera vez la hora del día para administrar la prednisolona, una hormona esteroidea. La cronofarmacología se puede definir como el estudio de la influencia de los ritmos biológicos sobre la respuesta a los fármacos en el organismo.

La cronoterapia, por su parte, se refiere a la interacción de los ritmos biológicos con el tratamiento para favorecer la disponibilidad del fármaco en el momento indicado del día, con el propósito de aumentar su eficacia y reducir sus efectos adversos (Shigeiro, 2007). Y si bien el conocimiento generado en este campo es amplio, la elección de la hora del día para administrar un medicamento es una práctica poco considerada en las indicaciones de los médicos. Sin embargo, los resultados de investigaciones en esta área son contundentes, lo que ha despertado el interés de la comunidad científica y las compañías farmacéuticas en destacar la importancia de la cronobiología en la terapia farmacológica (Bruguerolle et al., 2008).

En términos generales, para cumplir con su efecto terapéutico, un medicamento debe alcanzar el órgano o tejido afectado, independientemente de su vía de administración. Para ello, debe ser absorbido y distribuido desde el sitio de aplicación a todo el organismo y posteriormente ser degradado y eliminado por alguna de las rutas de excreción. En estos procesos participan varios factores internos y externos de nuestro organismo; por ejemplo, si se administra por vía oral, influye la cantidad y características del líquido con que se ingiere, la secreción de ácido clorhídrico en el estómago, el pH del tracto gastrointestinal, la intensidad del flujo sanguíneo, el tiempo de vaciado gástrico y la motilidad intestinal, entre otros elementos.

Como se ha mencionado antes, estas condiciones fisiológicas varían a lo largo del día influyendo en la actividad de los fármacos, como es el caso del acetaminofen, un fármaco antipirético y analgésico ampliamente utilizado por vía oral. Estudios experimentales realizados en personas demuestran que este fármaco es absorbido rápidamente y casi en su totalidad en el tracto gastrointestinal, logrando alcanzar una distribución uniforme en los fluidos corporales poco tiempo después de su administración oral; pero esto sólo ocurre cuando es administrado en la mañana, momento en el que su absorción y la obtención de su efecto terapéutico suceden más rápido, mientras que cuando se administra por la tarde su absorción es más lenta y su vida media se prolonga. Esto demuestra cómo las oscilaciones de procesos fisiológicas en el organismo influyen en los efectos de este medicamento (Kolawole et al., 2002).

Para comprender mejor los conceptos de la cronofarmacología se necesita conocer la interacción entre el fármaco y nuestro organismo. Después de ingerir o inyectar un medicamento en nuestro cuerpo esta interacción puede ser de dos tipos: 1) Una es propiamente la acción del fármaco sobre el órgano afectado, a la cual se le denomina "proceso far-

macodinámico”, y es el factor principal para decidir si un medicamento es el apropiado para tratar un padecimiento determinado; 2) La otra interacción está dada por las acciones que nuestro organismo ejerce sobre el fármaco y que se conocen como “procesos farmacocinéticos”, que implican los mecanismos de absorción, distribución y eliminación del fármaco a través de los diferentes mecanismos de excreción localizados principalmente en órganos como riñones, hígado y aparato digestivo. En el contexto cronobiológico estos parámetros de interacción podrían ser denominados como cronofarmacodinámicos y cronofarmacocinéticos.

CRONOFARMACODINÁMICA

Desde el punto de vista farmacodinámico, para que un fármaco cumpla su función terapéutica debe alcanzar las células diana y unirse a una estructura localizada en su membrana conocida como receptor. El grado y la intensidad de unión a su receptor influirán en el tipo y duración de la actividad farmacológica. La mayoría de los receptores son proteínas, las cuales también funcionan como sitios de unión de otros productos secretados por el propio organismo, como hormonas, neurotransmisores y metabolitos. La presencia de estas uniones impacta significativamente en la disponibilidad, degradación y eliminación de los medicamentos.

Diversos estudios han demostrado que varios receptores tienen oscilaciones a lo largo del día, principalmente por su cantidad en las células y por la intensidad de su respuesta al unirse al fármaco. Como ejemplo podemos mencionar al interferón β , el cual es una citosina con actividad antitumoral y antiviral ampliamente usado en la terapia contra el cáncer y la hepatitis (Baron et al., 1991). Durante los tratamientos con este producto los pacientes presentan reacciones secundarias, como fiebre, cefalea y leucopenia. Estudios en ratones mantenidos en condiciones de laboratorio demostraron que cuando se administraba a los animales por la mañana, antes de encender la luz, se obtenía mejor efecto que cuando se administraba por la tarde. Este fenómeno fue atribuido a la mayor cantidad de receptores a interferón en las células blanco. Sin embargo, en este estudio no se observaron cambios en la tasa de eliminación, lo cual sugiere que la variación en su efecto a lo largo del día obedece principalmente a un proceso farmacodinámico.

Un fenómeno similar fue reportado con su homólogo, el interferón α , el cual es utilizado en la terapia antiviral (Takane et al., 2002). Otro ejemplo representativo es la morfina, una droga ampliamente estudiada y que tiene múltiples efectos como analgesia, disminución de la moti-

lidad gastrointestinal, sedación e inhibición del reflejo de la micción, entre otros. Su acción analgésica es muy potente y, para inducirla, esta molécula debe unirse a un sitio específico en la célula denominado receptor opioide μ . Estudios en ratones demostraron que la disminución del dolor se prolonga cuando se administra durante la noche, en comparación con la aplicación en el día. Esta diferencia fue atribuida a la mayor cantidad del receptor, el cual en esta especie aumenta durante la noche y disminuye en el día (Yoshida et al., 2003).

CRONOFARMACOCINÉTICA

Generalmente los fármacos son administrados por una vía alejada y distante del sitio de acción donde deberán hacer su efecto, por lo que para alcanzar la célula diana tienen que ser absorbidos y transportados a través de los diferentes sistemas del organismo. Esto no sucede así con aquéllos administrados localmente, como los ungüentos o cremas. Los procesos farmacocinéticos implican la absorción, distribución, metabolismo o biotransformación y excreción del fármaco, a los que en su conjunto se les conoce como sistema ADME; en ellos participan varios elementos, desde las membranas de los sistemas de barreras que separan los compartimentos del organismo, hasta las moléculas transportadoras y enzimas involucradas en la inactivación y eliminación de estos compuestos. En la figura 10.1 se resume el proceso farmacocinético que generalmente siguen los fármacos cuando son administrados en nuestro organismo.

Diversos estudios han demostrado que cuando se administran medicamentos por vía oral hay diferencias en los procesos de absorción a lo largo del día, derivadas de la influencia de los ritmos circadianos en los procesos fisiológicos del tracto gastrointestinal. En los humanos, por ejemplo, se reporta un ritmo en la secreción gástrica con mayor producción durante la tarde. Por otra parte, el vaciado gástrico y el flujo sanguíneo al estómago son mayores durante la mañana. Estas oscilaciones apoyan las observaciones del porqué la mayoría de los fármacos presentan mayor absorción y distribución cuando se administran por la mañana. Los productos que actúan sobre el sistema cardiovascular, como la nifedipina y el propanolol, pongamos por caso, alcanzan concentraciones más altas por períodos más cortos cuando se toman por la mañana, a diferencia de cuando se les ingiere por la tarde (Hermida et al., 2008). Un fenómeno similar ocurre con los analgésicos no esteroides, como la indometacina o el ketoprofeno, los cuales logran concentraciones más altas por un período mayor de tiempo cuando se administran

entre las 07:00 h y 11:00 h que cuando se toman a cualquier otra hora del día (Tinny et al., 2012).

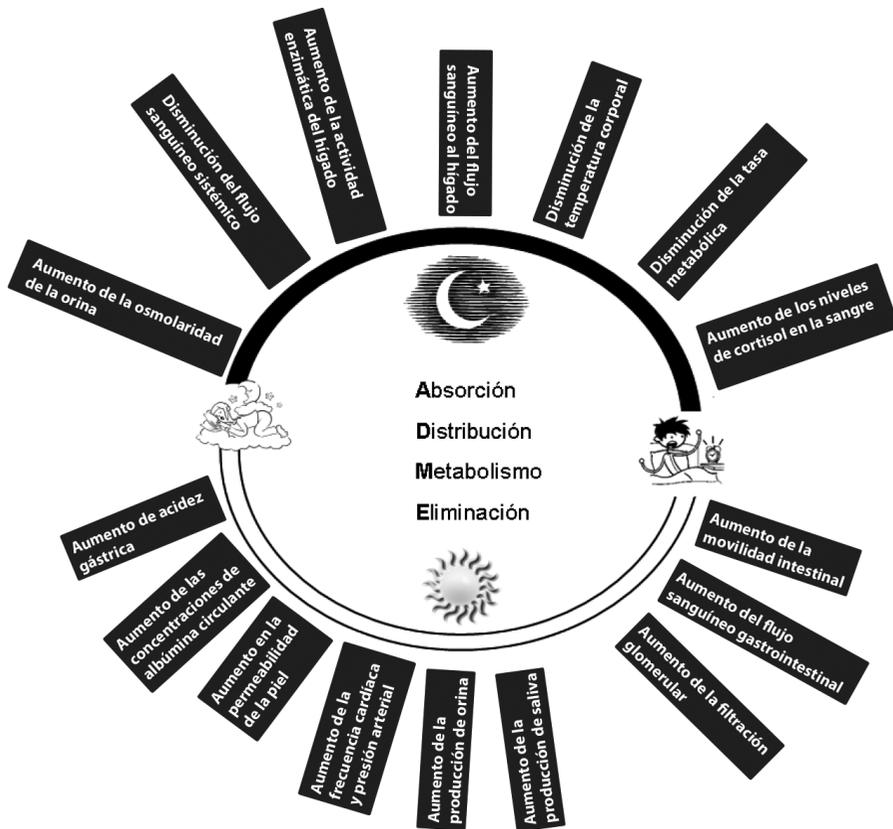


FIGURA 10.1. Representación esquemática del proceso farmacocinético de los fármacos aplicados por las diferentes vías de administración.

Por otra parte, los mecanismos de transporte de fármacos influyen significativamente en la cronofarmacocinética de los medicamentos. Su importancia radica en su capacidad para movilizar las moléculas de los fármacos hasta su sitio de acción, regulando las concentraciones circulantes en nuestro organismo para mantener el efecto terapéutico.

Después de ser absorbidos, generalmente los fármacos llegan a su sitio de acción a través del torrente circulatorio. Ya en la sangre, estos pueden unirse a alguna proteína plasmática, como la albúmina, o bien permanecer libres, de esta última manera se movilizan mejor a través de los tejidos para alcanzar su sitio de acción, favoreciendo su efecto

terapéutico. La albúmina es una proteína abundante en la sangre y la principal secuestradora de fármacos, sin embargo, la unión a esta proteína es reversible y protege al fármaco de su destrucción en el hígado y de su eliminación por la vía renal, prolongando sus concentraciones sanguíneas. Estudios en humanos han demostrado que las concentraciones de albúmina en la sangre oscilan a lo largo del día con aumentos durante la mañana y tarde, disminuyendo significativamente durante la noche y madrugada (Jubiz et al., 1972), siendo un factor importante en la farmacocinética de los medicamentos afines a ésta.

Otro factor importante en la cinética de los medicamentos es la actividad enzimática, la cual modifica la estructura de los fármacos para su degradación y eliminación; a este proceso se le conoce como biotransformación. Las reacciones de biotransformación pueden originar tres efectos: uno consiste en que los metabolitos producto del desdoblamiento enzimático se vuelvan activos; el segundo, en que el fármaco modifique su estructura pero mantenga su actividad; y el tercero es la desactivación del mismo. Casi todos los tejidos tienen la capacidad de realizar reacciones de biotransformación, no obstante, son el hígado y el tracto gastrointestinal los principales órganos involucrados en este proceso. Esto explica por qué muchos medicamentos administrados por vía oral tienen modificaciones antes de llegar al torrente circulatorio. Otros órganos como la piel, pulmones y riñones también realizan esta actividad aunque con menor participación.

Varios mecanismos enzimáticos de biotransformación se caracterizan por presentar oscilaciones circadianas e influir en los efectos del fármaco durante el tratamiento. Un ejemplo de ello es el hígado, que tiene una estructura compleja con diversas funciones importantes para la vida, destacando la desintoxicación y el metabolismo. Este órgano se caracteriza por tener oscilaciones circadianas en muchas funciones, por lo que algunos autores lo consideran como un reloj biológico independiente del reloj principal localizado en el cerebro.

Estudios moleculares demuestran que en el hígado de roedores se expresan más de 200 genes diariamente, con patrones temporales definidos, y que sus proteínas participan en la biotransformación de fármacos, transporte de moléculas a través de membranas, además de síntesis de proteínas y enzimas (Corton et al., 2012). En la figura 10.2 se representan las oscilaciones que presentan algunas condiciones fisiológicas a lo largo del día en individuos sanos.

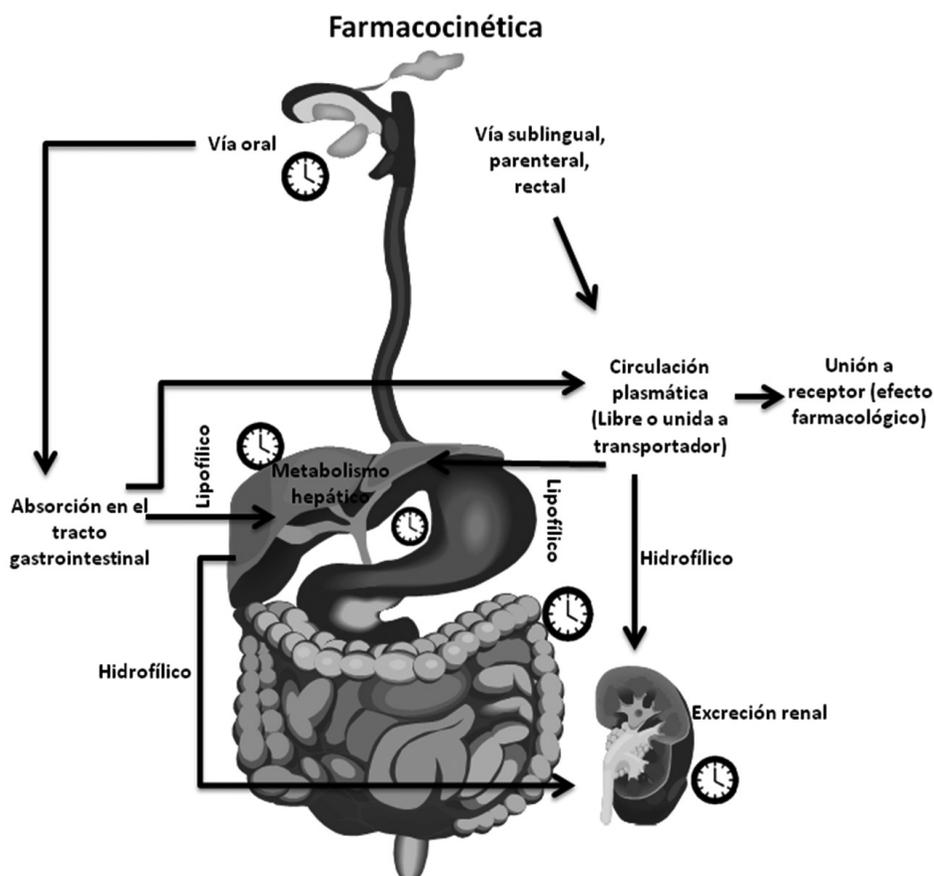


FIGURA 10.2. Representación de las variaciones diarias de algunos procesos fisiológicos implicados en la cinética de los fármacos en el humano.

CRONOTERAPIA

A la interacción entre los ritmos biológicos y los tratamientos médicos se le denomina cronoterapia, disciplina en la que se desarrollan procedimientos y protocolos terapéuticos diseñados para brindar la dosis adecuada en el tiempo apropiado para mayor eficacia de los fármacos. En la cronoterapia se toman en cuenta las oscilaciones clínicas que presentan muchas enfermedades a lo largo del día. En el esquema de la figura 10.3 se muestran las exacerbaciones de las manifestaciones clínicas o presentación de crisis agudas en diferentes patologías a lo largo del día.

Las manifestaciones clínicas de muchas enfermedades están influenciadas por los ritmos circadianos y su intensidad fluctúa a lo largo del

día. Por ejemplo, los síntomas de la úlcera péptica e intestinal se manifiestan principalmente en la noche, de manera similar que en la rinitis alérgica, que se presentan también durante la noche o temprano por la mañana; los riesgos de infarto y los trastornos cardiovasculares ocurren generalmente por la mañana, cuando empieza a incrementar la presión sanguínea; la artritis reumatoide, un padecimiento frecuente en la población, se expresa con dolores agudos por la mañana, manifestación clínica que se ha asociado con los ritmos circadianos en cuanto a las concentraciones plasmáticas de sustancias, como la proteína C reactiva e interleucina 6, que generalmente son elevadas al despertar; y, por oposición a esta última, también está la osteoartritis, en la que frecuentemente el dolor agudo se presenta en la noche, disminuyendo durante la mañana. En la figura 10.2 se representa el momento del día en el que se agudizan las manifestaciones clínicas de varias enfermedades.

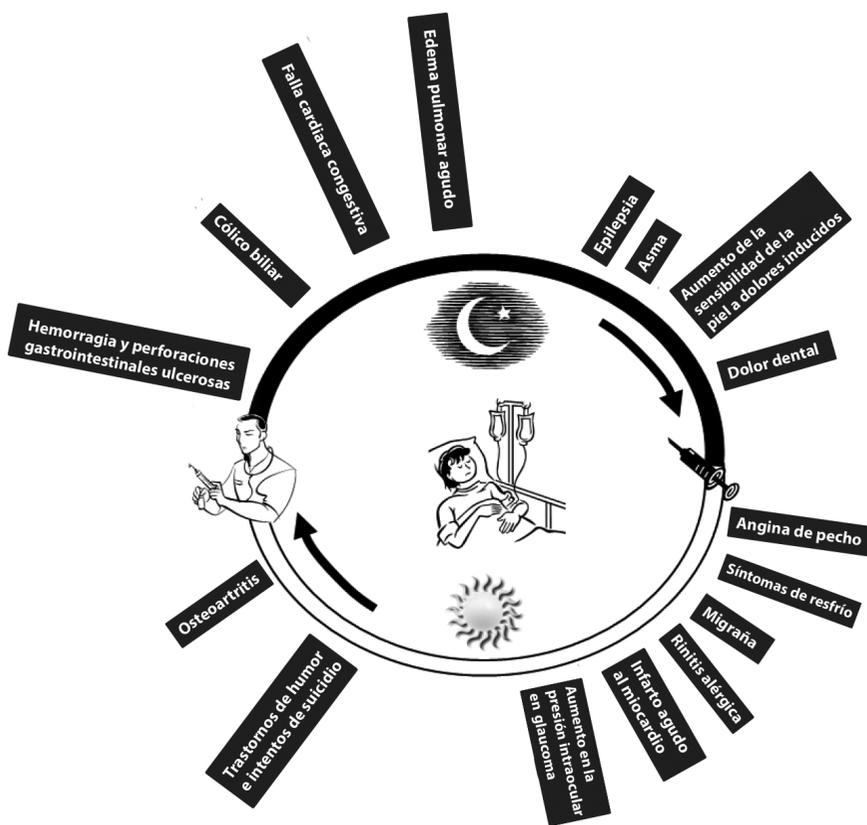


FIGURA 10.3. Variaciones a lo largo del día en la exacerbación de manifestaciones clínicas de diferentes patologías en el humano.

SISTEMA DE LIBERACIÓN EN CRONOFARMACOLOGÍA

La influencia de los ritmos biológicos sobre los efectos de los fármacos en nuestro organismo ha orientado la investigación en esta área, siempre buscando nuevos mecanismos de liberación para favorecer su efecto terapéutico y no sólo centrándose en mejorar las moléculas, presentaciones farmacéuticas o inocuidad del mismo. De esta forma, se pretende garantizar la biodisponibilidad del fármaco en el momento apropiado del día, considerando las oscilaciones diarias de los factores farmacocinéticos y farmacodinámicos involucrados en su actividad.

En este sentido, actualmente las compañías farmacéuticas están desarrollando una serie de productos con mecanismos de liberación controlada cuando son aplicados al paciente a través de diferentes vías de administración. Estos productos son conocidos como sistemas cronoterapéuticos de liberación de fármacos (siglas en inglés: CDDS) o sistemas cronotrópicos (Pawar & Awasthi, 2010), y fueron desarrollados por cuatro razones principales: a) para dar tratamientos específicos a enfermedades en las cuales los ritmos circadianos influyen considerablemente en su patología, ejemplo de ello sería el asma, padecimiento en el que se presentan cuadros agudos después de la media noche o en las mañanas; b) para evitar la degradación del fármaco en el tracto gastrointestinal cuando éste es liberado, sobre todo si su naturaleza es proteica, como las hormonas; c) para la liberación programada de hormonas, debido a que la liberación constante de hormonas exógenas puede afectar el mecanismo natural de secreción glandular de la hormona homóloga en nuestro organismo, como es el caso de la cortisona, secretada con ritmicidad circadiana por las glándulas suprarrenales, las cuales pueden inhibirse irreversiblemente por la administración continua de medicamentos desinflamatorios esteroides; y d) para controlar la liberación de fármacos que deben ser metabolizados antes de alcanzar el lugar específico de acción dentro del organismo (Nagar et al., 2010). En el esquema de la figura 10.4 se resumen los sistemas de liberación más estudiados.

Hasta el momento los sistemas propuestos son de diferentes tipos y se clasifican en:

1. Sistemas de liberación controlada por tiempo;
2. Sistemas de liberación inducida por estímulos;
3. Sistemas de liberación dependiente de estímulos externos.

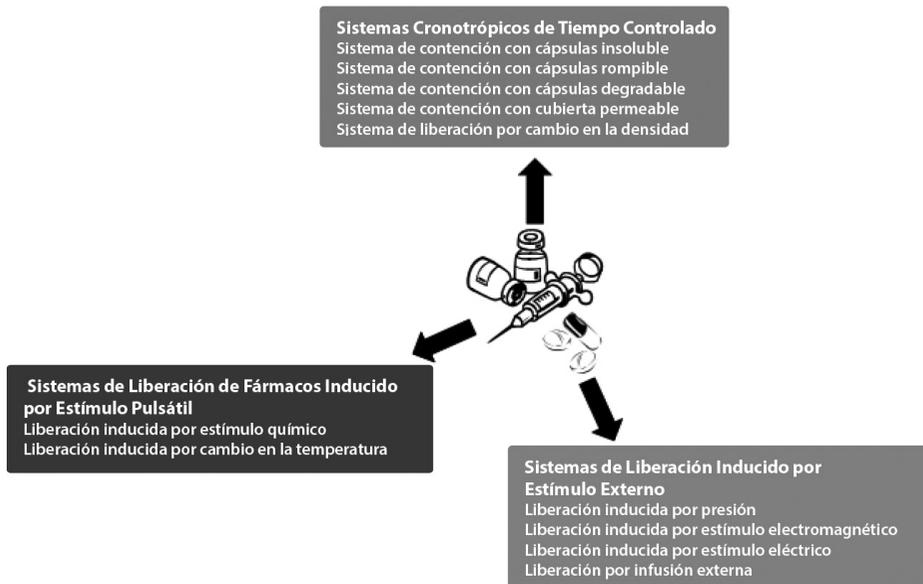


FIGURA 10.4. Esquema donde se resumen los sistemas de liberación controlada de fármacos desarrollados actualmente para su uso en cronoterapia.

En el caso de los sistemas de liberación controlada por tiempo los productos son integrados por dos elementos, uno de liberación inmediata y otro de efecto liberador retardado. En estos productos el fármaco generalmente está inmerso en agentes con solubilidad dependiente de las características fisicoquímicas del medio. Los antibióticos son los productos más usados en estos sistemas.

Respecto de los sistemas de liberación inducida por estímulos, generalmente son compuestos susceptibles a las condiciones del medio donde se encuentran, modificando su estructura y permitiendo así la liberación del fármaco. Dentro de este grupo hay los que responden a los cambios de temperatura y los que responden a los cambios químicos. Los primeros pueden ser activados por la temperatura corporal que varía de manera natural a lo largo del día, siendo así que las temperaturas más bajas las presentamos durante la mañana antes de levantarnos; también podrían ser estimulados por los cambios de temperatura inducidos durante los procesos febriles de enfermedades infecciosas.

Por su parte, los sistemas que responden a estímulos químicos generalmente pueden ser activados por cambios en el pH del medio o por sustancias liberadas durante los procesos inflamatorios, incluso

por los niveles de anticuerpos circulantes en la sangre. Un ejemplo de este sistema son los dispositivos diseñados para la liberación controlada de insulina en el organismo en pacientes con *diabetes mellitus* tipo I y II. Estos dispositivos reaccionan cuando las concentraciones de glucosa en sangre aumentan y son convertidas en ácido glucónico por la enzima glucosa-oxidasa, alterando el pH de la sangre. Una ligera disminución del pH sanguíneo modifica la estructura del sistema permitiendo la liberación de insulina. Aunque estos sistemas han sido desarrollados desde hace tres décadas aún están en investigación (Gordijo et al., 2011).

Los sistemas dependientes de estímulos externos, como su nombre lo indica, controlan la liberación de fármacos por estímulos emitidos desde el exterior del organismo. Los estímulos generalmente son campos magnéticos, ultrasónicos, eléctricos o irradiaciones, y cuando estas señales alcanzan el dispositivo lo accionan permitiendo la salida del medicamento hasta que el estímulo es eliminado.

El desarrollo de los sistemas cronotrópicos son verdaderos retos para la industria farmacéutica, debido a que además de garantizar la liberación apropiada del fármaco, los productos deben ser compatibles e inofensivos para el paciente. Además, y en razón de que la mayor parte de estos están en desarrollo o de la complejidad de su producción, actualmente su disponibilidad comercial es muy limitada, centrándose la industria farmacéutica en los de liberación retardada, principalmente (Nagar et al., 2010). Sin embargo, con los avances tecnológicos, especialmente en nanotecnología, es posible que en el futuro inmediato un gran número de pacientes sean beneficiados con estos sistemas.

CONCLUSIONES

Las condiciones ambientales a las que los seres vivos hemos estado expuestos durante millones de años han originado ajustes temporales en muchos procesos conductuales y fisiológicos. Es evidente que estas variaciones son sincronizadas por señales ambientales o, en su defecto, inducidas por factores sociales, prácticas de comportamiento, fisiológicas, reproductivas, entre otros. Es por ello que existen muchos estudios en humanos donde se demuestra una clara influencia de los ritmos circadianos sobre la respuesta a los estímulos externos, independientemente de su naturaleza física, química o nutricional. En su mayoría estos estudios son controlados y los ensayos clínicos y experimentales derivados aportan información importante para comprender la interac-

ción farmacológica entre un sistema temporalmente controlado, como lo es el cuerpo humano, y los estímulos químicos a los que éste se somete.

No obstante, las condiciones y hábitos de vida actuales son muy diferentes para la mayoría de las personas y están influenciados por factores sociales, económicos y culturales, lo que ocasiona tantas variabilidades de respuesta como combinaciones de hábitos de vida existan en los individuos. Es decir, los seres humanos hemos cambiado drásticamente los hábitos de vida, desde habitar cavernas en circunstancias de iluminación restringidas por el ciclo luz/oscuridad impuesto por la rotación de la tierra y con disponibilidad diaria limitada de alimento durante miles de años, a las condiciones actuales donde los avances científicos y tecnológicos nos proporcionan iluminación artificial, acceso a alimento a cualquier hora del día y otros muchos estímulos a los que nuestra organización de temporalidad fisiológica, en un contexto general, no se ha ajustado.

Esta situación está generando trastornos patológicos en todos los sistemas del organismo: metabólicos, neurológicos, reproductivos, y generando enfermedades como el cáncer, entre otras. En un contexto general, una prioridad dentro de la cronofarmacología, así como en otras disciplinas del área de la salud, es la prevención. Para ello se debe fomentar un ritmo de vida saludable, con prácticas diarias orientadas a mantener la cronostasia de nuestro organismo. Por otra parte, también se deben redoblar esfuerzos para ampliar los conocimientos en esta área y promover una prescripción y uso responsable de los productos farmacéuticos, considerando el efecto que ocasionan en el paciente.

REFERENCIAS

- BARON, S., Tying, S., Fleischmann, W. R., Coppenhaver, D. H., Niesel, D. W., Klimpel, G. R., Stanton, G. J., & Hughes, K. (1991). The interferons. Mechanisms of action and clinical applications. *JAMA*, 266, 1375-1383.
- BRUGUEROLLE, B., Boulamery, A., & Simon, N. (2008). Biological rhythms: a neglected factor of variability in pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97, 1099-1108.
- CORTON, J. C., Bushel, P. R., Fostel, J., & O'Lone, R. B. (2012). Sources of variance in baseline gene expression in the rodent liver. *Mutation Research*, 746, 104-112.
- GORDIJO, C. R., Koulaian, K., Shuendler, A. J., Bonifacio, L. D., Huang, H. Y., Chiang, S., Ozin, G. A., Giacca, A., & Wu, X. Y. (2011). Nanotechnology-Enabled closed loop insulin delivery device: In vitro and in vivo evalua-

- tion of glucose-regulated insulin release for diabetes control. *Advanced Functional Materials*, 21, 73-82.
- HERMIDA, R. C., Ayala, D. E., Mojón, A., & Fernández, J. R. (2008). Chronotherapy with nifedipine GITS in hypertensive patients: Improved efficacy and safety with bedtime dosing. *American Journal of Hypertension*, 21, 948-954.
- JUBIZ, W., Canterbury, J. M., Reiss, E., & Tyler, F. H. (1972). Circadian rhythm in serum parathyroid hormone concentration in human subjects: Correlation with serum calcium, phosphate, albumin, and growth hormone levels. *The Journal of Clinical Investigation*, 51, 2040-2046.
- KOLAWOLE, J. A., Chueark, P. D., & Okeniyi, S. O. (2002). Chronopharmacokinetics of acetaminophen in healthy Human Volunteer. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 27, 199-202.
- KOUKKARI, W. L., & Sothorn, R. B. (2006). *Introducing biological rhythms* (Primera ed.) New York: Springer.
- NAGAR, M., Singhai, S., Chopra, V. S., Gautam, N., & Trivedi, P. (2010). Chronotropic System; an emergin trend in drug delivery for pulsed release in chronopharmacotherapy. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2, 10-19.
- PANDI-PERUMAL, S. R., Perumal, S., Trakht, I., & Cardinali, D. P. (2008). Chronofarmacology: Principles and applications. En S. R. Pandi-Perumal, J. Verster, J. Monti, & S. Langer (Eds.), *Sleep Disorders diagnosis and therapeutics* (pp. 153-162). United Kindom: Informa Health Care.
- PAWAR, V. K., & Awasthi, R. (2010). Chronotherapy: An approach to synchronize drug delivery with circadian rhythm. *Journal of Chronotherapy and Drug Delivery*, 1, 1-8.
- SHIGEIRO, O. (2007). Cronopharmacology focused on biological clock. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 22, 3-14.
- TAKANE, H., Ohdo, S., Baba, R., Koyanagi, S., Yukawa, E., & Higuchi, S. (2002). Relationship between 24-hour rhythm in antiviral effect of interferon-beta and interferon-alpha/beta receptor expression in mice. *Japanese Journal of Pharmacology*, 90, 304-312.
- TINNY, T., Chacko, A. J., & Jose, S. (2012). Formulation development and statistical optimization of chronotherapeutic tablets of indometacin. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 39(9), 1357-1363.
- YOSHIDA, M., Ohdo, S., Takane, H., Tomiyoshi, Y., Matsuo, A., Yukawa, E., & Higuchi, S. (2003). Chronopharmacology of analgesic effect and its tolerance induced by morphine in mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 305, 1200-1205.

RITMOS CIRCADIANOS Y CÁNCER

*Rossana Citlali Zepeda,¹ Enrique Meza,² Stefan Waliszewski³
y Mario Caba⁴*

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer es una de las primeras causas de muerte a nivel mundial. Por ejemplo, estudios realizados en el 2008 estimaban que 7.6 millones de personas murieron a causa del cáncer (Ferlay et al., 2010). Los tipos de cáncer que causan un mayor número de muertes anuales son los de pulmón, estómago, hígado, colon y glándula mamaria. El término cáncer es genérico y designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del cuerpo; también se habla de “tumores malignos” o “neoplasias”. La principal característica de este padecimiento es la multiplicación rápida y anormal de células que se propagan a los tejidos adyacentes e invaden todos los órganos y tejidos del cuerpo, proceso

¹ Doctora en Ciencias Biomédicas, UNAM. Profesora del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

² Doctor en Neuroetología, Universidad Veracruzana. Profesor de la Facultad de Ciencias Químicas e investigador del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

³ Doctor en Química Analítica, Universidad de Medicina de Poznan, Polonia. Profesor investigador del Instituto de Medicina Forense y del Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

⁴ Doctor en Ciencias de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Posdoctorado en Oregon National Primate Research Center. Actualmente es profesor investigador y coordinador del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

que se conoce como metástasis (Lodish et al., 2000). La metástasis es la principal causa de muerte por cáncer.

Aunque no se conoce con exactitud la causa del cáncer, se han determinado diversos “factores de riesgo” que ayudan a explicar la predisposición a algunos tipos de cáncer. Aproximadamente 30% de las personas con cáncer presentan cinco factores de riesgo: índice de masa corporal elevado, ingesta reducida de frutas y verduras, falta de actividad física, consumo de tabaco y alcohol. Sin embargo, se considera que existe otro gran número de factores que pueden ser considerados de riesgo. Se ha observado que la alteración de la regulación de los ritmos circadianos modifica el ciclo celular (proceso que se encarga del crecimiento y de la división de las células en los organismos) e incrementa el peligro de padecer diversos tipos de cáncer.

En el 2007 la OMS y la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) elevaron el grado de carcinogénesis de trabajadores nocturnos y de aquellos que realizan guardias, de 2B (posiblemente carcinogénico para los humanos) a 2A (probablemente carcinogénico para los humanos), considerando como el agente de riesgo la alteración de la regulación de los ritmos circadianos. El reporte de IARC comprende el análisis de diversos estudios epidemiológicos de cáncer de mama, próstata, colon, recto, endometrio, vejiga, pulmón, estómago y algunos tipos de leucemia, entre otros (Straif et al., 2007; IARC, 2010).

LOS RITMOS CIRCADIANOS Y EL CICLO CELULAR

Las funciones biológicas son moduladas por ritmos que ocurren de manera periódica a lo largo del día. Entre estos, aquellos que se presentan con una frecuencia de aproximadamente 24 horas se denominan ritmos circadianos, y son los más estudiados debido a su influencia en el ciclo sueño-vigilia, la liberación de hormonas, la regulación de la temperatura corporal y el ciclo celular. Como se ha mencionado en capítulos anteriores, los ritmos circadianos son de carácter endógeno, están genéticamente determinados y son coordinados por una serie de relojes internos que se controlan de manera jerárquica por el reloj principal: el núcleo supraquiasmático (NSQ) (Dibner et al., 2010).

El mecanismo molecular de oscilación de los ritmos circadianos es regulado por procesos de síntesis de ácido ribonucleico (RNA, por sus siglas en inglés) mensajero (transcripción) y proteínas (traducción) de un grupo de genes denominados, en conjunto, genes reloj: *Bmal1*,

Per1-3, Clock, Cry1-2, Rev-erba-β y Rora, Npas2, Ck1 y Arntl (Savvidis & Koutsilieris, 2012). Los productos proteicos de estos genes son factores de transcripción que regulan su propia transcripción y la de otros genes conocidos como genes controlados por el reloj (Bozek et al., 2009; ver figura 11.1). De esta manera, las proteínas CLOCK y BMAL1 forman parte de la regulación positiva del asa, mientras que las isoformas de CRY y PER conforman la regulación negativa. La expresión de los genes reloj fluctúa de manera rítmica, sin embargo, las acrofases en algunos de ellos se presentan a diferentes horas del día, originadas por sus funciones antagónicas en la regulación circadiana (Fu & Lee., 2003; Reppert & Weaver, 2002). El mecanismo molecular en todos los tejidos es similar; las células cancerosas también tienen relojes compuestos del mismo grupo de genes reloj (Balsalobre et al., 1998; Wood et al., 2006).

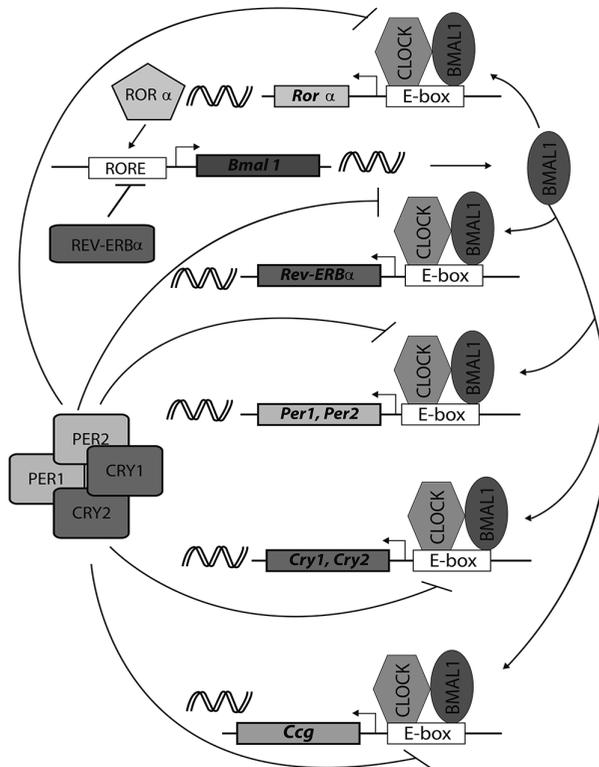


FIGURA 11.1. Mecanismo molecular de regulación de los ritmos circadianos. Los ritmos circadianos se generan en las células debido a la transcripción y traducción de los genes reloj *Bmal1, Per1-3, Clock, Cry1-2, Rev-erba-β y Rora*. El dímero formado por las proteínas BMAL1 y CLOCK regulan la transcripción de los genes *Per1-3, Cry1-2, Rev-erba-β y Rora*, mientras que el dímero formado por PER y CRY regulan de manera negativa a BMAL1-CLOCK. De la misma forma, los genes reloj regulan la transcripción de otros genes, denominados genes controlados por el reloj (*cgg*).

El ciclo celular

En células eucariotas el ciclo celular se divide en cuatro fases: G_1 , S o de duplicación de ácido desoxirribonucleico (DNA, por sus siglas en inglés) G_2 y M o mitosis, mientras que cuando las células no se están dividiendo se encuentran en fase G_0 (Borgs et al., 2009). En la mayoría de las células, independientemente del tejido que forman, la división celular se encuentra constantemente oscilando entre la duplicación del DNA y la mitosis, por lo que el ciclo celular puede ser considerado un oscilador biológico. Debido a la importancia en el desarrollo normal de los organismos, el ciclo celular cuenta con una gran cantidad de mecanismos de regulación, entre ellos los denominados puntos de control, los cuales son modulados por proteínas específicas. Dentro de las proteínas que regulan los diferentes eventos del ciclo celular se encuentran: las ciclinas, las cinasas dependientes de ciclinas (CDKs) y las proteínas inhibidoras de ciclinas cinasas (CKIs), además de los productos de los genes supresores de tumores como p53 y pRb (ver figura 11.2).

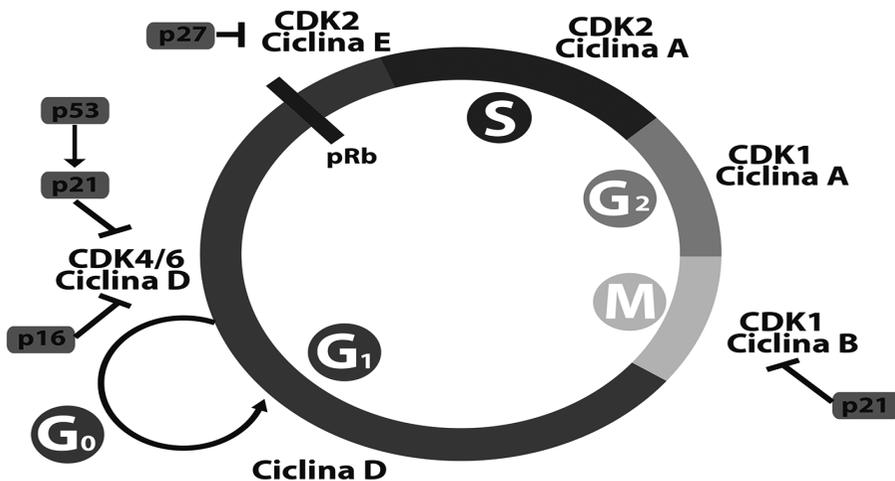


FIGURA 11.2. Ciclo celular. El ciclo celular está conformado por las fases G_1 , S (síntesis de DNA) G_2 y M (mitosis); las células que no se están dividiendo se encuentran en fase G_0 .

Existen varias teorías que tratan de explicar la relación entre los ritmos circadianos y el cáncer, las cuales involucran mecanismos celulares y moleculares que incluyen la liberación de hormonas y la regulación de

genes. Es de especial interés mencionar que los ritmos circadianos y el ciclo celular comparten características muy importantes: ambos tienen una periodicidad de alrededor de 24 horas, son procesos intrínsecos en la mayoría de las células y, a nivel molecular, ambos procesos exhiben fases secuenciales de transcripción y traducción. De igual manera, se ha observado que existen fluctuaciones con período de 24 horas en la expresión de proteínas nucleares asociadas al ciclo celular en células de tejido humano (Bjarnason & Jordan, 2000).

Desde la década de 1970 se reportó la variación circadiana de la actividad mitótica (que sirve como índice de reproducción de las células) en el duodeno de ratón (Scheving et al., 1972). Posteriormente se encontró variación circadiana en la proliferación celular a lo largo del tracto digestivo, desde el epitelio lingual hasta el rectal (Buchi et al., 1991). Observaciones similares a las encontradas en el modelo murino han sido reportadas en biopsias de mucosa oral y rectal humana tomadas a lo largo de 24 horas (Bjarnason et al., 1999; 2001). Así se ha demostrado que la proliferación de prácticamente todos los tipos celulares, tanto en ratones como en humanos, se lleva a cabo de forma circadiana.

De esta manera, la correlación entre la expresión de genes reloj y las fases específicas del ciclo celular sugirió que el reloj circadiano podría estar involucrado en el ordenamiento de los eventos del ciclo celular. En la actualidad es ampliamente aceptado que el sistema circadiano controla el tiempo de proliferación celular cuando regula la expresión de moléculas clave en el ciclo celular: reguladores de mitosis y replicación de DNA, como la enzima timidina sintetasa, las proteínas supresoras de tumores p21 y p53, las cinasas WEE-1, c-MYC, Mdm2 y Gadd45, y las ciclinas D1, B1, E, A (Fu et al., 2002; Gréchez-Cassiau et al., 2008; Gu et al., 2012; Lincoln et al., 2000; Panda et al., 2002; Storch et al., 2002; Wood et al., 2006; ver figura 11.3).

El dímero formado por las proteínas CLOCK-BMAL1 regula directamente la transcripción de *wee-1*, *c-myc* y *ciclina D1*. WEE-1 es una tirosina cinasa que fosforila a CDK1, inactivando el complejo CDK1-ciclina B, que a su vez participa en la transición de la fase G₂ a M. La proteína c-Myc sistematiza la transición de G₀ a G₁ y la ciclina D1 la transición de G₁-S. Además, la proteína p21, que regula negativamente la progresión de la fase G₁/S y se expresa rítmicamente en numerosos tejidos, es activada por ROR α e inhibida por REV-ERB α (Moretti et al., 2001).

La gran variedad de genes que codifican elementos importantes del citoesqueleto, tales como *tubb4*, *tubb3*, *tubb4* y *tubb5*, oscilan fuertemente en fase; por otra parte, el hecho de que genes implicados en la prolifera-

ción celular y la muerte celular programada (llamada apoptosis), como la ciclina D1, ciclina A, *mdm-2*, o *Gadd45a*, estén desregulados en ratones deficientes del gen reloj *Per2*, refuerza la relación entre el sistema circadiano y la regulación del ciclo celular (Fu et al., 2002).

Se ha descrito que dentro de las funciones de regulación génica que desempeña la proteína PER2 se encuentran la de actuar como regulador negativo del crecimiento celular y como supresor de tumores. Cuando se inhibe la expresión de PER2 aumenta el desarrollo de tumores y disminuye la respuesta de reparación en DNA dañado de ratones, debido a que PER2 regula la apoptosis a través de la vía de la proteína supresora de tumores p53 (Fu et al., 2002). También se ha demostrado que PER2 participa en la respuesta al daño en el DNA al regular a la cinasa AKT (Yang et al., 2012). De manera similar a PER2, la proteína PER1 interactúa con componentes cruciales en las vías de respuesta a estrés celular, incluyendo las proteínas ATM y Chk2. Por consiguiente, la sobreexpresión de PER1 o PER2 provoca la inhibición del crecimiento celular y la detención de ciclo celular, e induce apoptosis en líneas celulares (Yang et al., 2012).

Okamura y colaboradores (como se citó en Matsuo et al., 2003), utilizando un modelo de regeneración celular en el hígado de ratón –consistente en hacer una resección de una porción del órgano, el cual se regenera a partir de la porción preexistente–, demostraron que la división celular durante la regeneración presentaba oscilaciones circadianas. Este estudio reveló que las células del hígado entran en la fase G₂/M aproximadamente a la misma hora cada día sin tener en cuenta la hora del día en la que se realizó la hepatectomía parcial.

Estas propuestas también se sustentan en las observaciones realizadas en ratones dobles mutantes para las isoformas de *cry* (*cry1/cry2*), que no expresan esta proteína y tienen niveles elevados de la cinasa antimitótica WEE1 en el hígado. En consecuencia, estos ratones muestran regeneraciones hepáticas retardadas comparadas con aquellos que sí expresan a la proteína CRY, lo que se atribuye a que el dímero CLOCK-BMAL1 se une a las cajas E del promotor de *Wee1* estimulando la transcripción de este gen. De esta forma, el aumento de la proteína WEE-1 en ratón mutante de *cry* se ha descrito como la falta de inhibición del dímero CLOCK-BMAL1 por CRY (Matsuo et al., 2003).

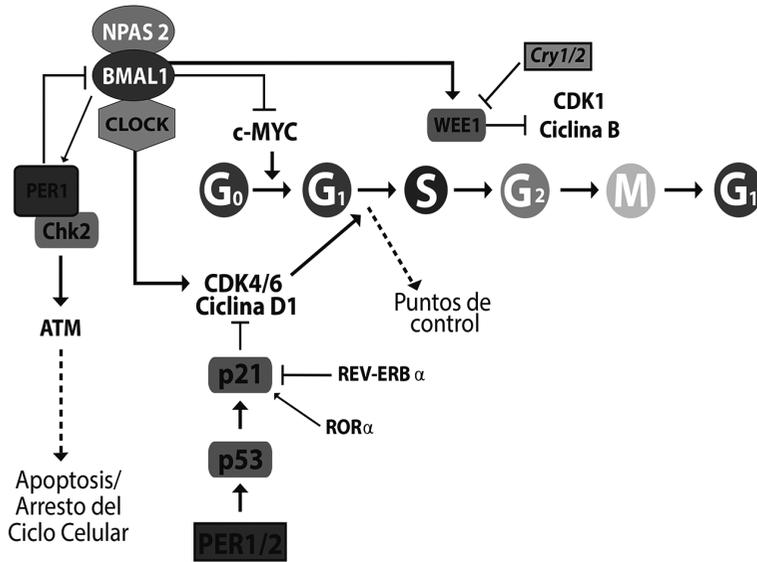


FIGURA 11.3. Relación entre el sistema circadiano y el ciclo celular. Las proteínas reloj regulan la expresión de proteínas importantes en el control del ciclo celular, como WEE-1, c-MYC y la proteína inhibidora de ciclinas cinasas p21. Además, los genes reloj participan en la regulación de la apoptosis.

INFLUENCIA DE LOS RITMOS CIRCADIANOS EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER

Una gran cantidad de estudios indica que la perturbación del sistema circadiano puede alterar el balance entre los factores que favorecen y restringen la división celular dejando a las células con mayor predisposición al cáncer (Conlon et al., 2007; Megdal et al., 2005; Vinogradova et al., 2009). La proliferación de las células tumorales sigue un patrón circadiano autónomo de división celular, el cual se conserva durante todas las etapas del crecimiento tumoral (Granda & Lévi, 2002). Sin embargo, estos patrones de proliferación celular tumoral no están en la misma fase que los de las células normales (Barbason et al., 1995, como se citó en Canaple et al., 2003).

Tanto en humanos como en modelos animales las alteraciones en los ritmos de proliferación celular parecen depender del tipo de tumor, la tasa de crecimiento y el nivel de diferenciación de las células tumorales. Sin embargo, tanto en células tumorales como en células normales de pacientes y animales experimentales se han descrito alteraciones en los ritmos circadianos de proliferación celular (Yang et al., 2009). Por otra

parte, a nivel sistémico, los pacientes con neoplasias presentan alteraciones en la temperatura corporal, síntesis de DNA, actividad enzimática en los ritmos plasmáticos de hormonas como cortisol, melatonina, prolactina, TSH, GH, LH y FSH. Estas alteraciones usualmente empeoran durante el curso de progresión del cáncer, afectando la homeostasis y cronostasia del organismo. Se ha observado que la expresión de los genes reloj en diversos tipos de cáncer está alterada, no sólo en células tumorales sino también en tejidos sanos de pacientes y en animales con neoplasias (Relles et al., 2013).

Por otra parte, en tejido hepático de pacientes con carcinoma hepatocelular, se observó asimismo que los niveles de RNA mensajero y proteína de los genes reloj *Per1*, *2*, *3*, *Cry2* y *Tim* están disminuidos, sin embargo, no se encontraron mutaciones en estos genes, por lo que se postula que puede tratarse de cambios en los mecanismos de regulación génica, los cuales probablemente inciden en la predisposición al cáncer (Lin et al., 2008).

Es interesante comentar que en la mayoría de los estudios en los que se analizan biopsias de tejido humano usualmente no se considera la hora del día en la toma de la muestra, lo que podría ser crítico en los resultados obtenidos a partir del análisis de estas muestras, debido a que tanto en tejidos normales como en el afectado la expresión de los marcadores tumorales podría fluctuar a lo largo del día.

Dentro de las muertes por neoplasias malignas el cáncer de mama es el que afecta más a las mujeres de países desarrollados. En nuestro país, el cáncer de mama ha desplazado al cáncer cérvico-uterino y se considera como el de mayor prevalencia. Estudios recientes han reportado alteraciones en la expresión de las isoformas del gen *Per* en tejidos de cáncer de mama. Las alteraciones en la expresión de *Per* en este tipo de cáncer se atribuyen, en parte, a la hipermetilación del promotor de *Per*; esta modificación epigenética se asocia con represión de la transcripción de genes.

En pacientes con cáncer de mama la expresión del gen *Per* está disminuida, y se ha sugerido que su represión se correlaciona con el aumento en la expresión del oncogén *c-erb2*, lo cual produce un fenotipo de tumores de alta agresividad (Chen et al., 2005). Sin embargo, también se han reportado variaciones genéticas en la secuencia de DNA de prácticamente todos los genes reloj en diversos tipos de cáncer, como el cáncer de mama, próstata, colorectal, carcinoma hepatocelular y linfoma No-Hodgkin, lo que sugiere que la presencia de estos polimorfismos (como se denomina a dichas variaciones genéticas) podría servir como biomarcadores para evaluar el riesgo en población sana y el pronóstico en

pacientes con cáncer (Climent et al., 2010; Dai et al., 2011; Yi et al., 2010; Zhao et al., 2012; Zhou et al., 2012; Zhu et al., 2005; 2007, 2008, 2009).

El estudio de los polimorfismos en los genes reloj y su relación con el desarrollo del cáncer cobra aún más importancia si consideramos la evidencia epidemiológica que asocia un alto riesgo de desarrollar cáncer con los hábitos laborales. Por ejemplo, las mujeres que realizan trabajos durante la noche o cambian drásticamente los turnos en las jornadas de trabajo –como es el caso de las enfermeras, aeromozas, meseras–, tienen una predisposición mayor de padecer cáncer de mama que aquellas mujeres que trabajan durante el día (Schernhammer et al., 2001). Como contraparte, se ha observado una menor incidencia de cáncer de mama en mujeres invidentes, en comparación con la población general. En estas mujeres el riesgo de padecer cáncer de mama sigue un patrón dosis-respuesta, es decir, disminuye con la severidad de la deficiencia visual. La ceguera total está asociada a un menor riesgo de desarrollo de cáncer de mama, de manera inversamente proporcional al riesgo observado en trabajadoras nocturnas, quienes están expuestas a la luz durante la noche (Flynn-Evans et al., 2009).

Este mecanismo opuesto sugiere la participación de la melatonina y de la sincronización circadiana interna, ambas dependientes de la exposición visual a la luz. La melatonina es una hormona secretada por la glándula pineal y tiene un ritmo de secreción de 24 horas. Su liberación es sincronizada por el ciclo de luz/oscuridad (L/O), con mayor secreción durante la noche. La exposición a la luz durante la noche suprime la producción de melatonina y cambia su ritmo de secreción. Por otra parte, la melatonina inhibe el crecimiento de líneas celulares derivadas de cáncer de mama y próstata (Hevia et al., 2010, Xiang et al., 2012). No se conoce aún el mecanismo exacto a través del cual la melatonina disminuye en la proliferación celular, pero se ha propuesto que, al menos en los tumores dependientes de estrógeno, la melatonina podría estar interfiriendo con las vías de señalización de esta hormona, sin afectar su producción (Dai et al., 2011).

Además de las evidencias epidemiológicas se han realizado numerosos estudios en líneas celulares y modelos animales que demuestran la participación de la maquinaria molecular circadiana en la progresión tumoral. Del mismo modo, dichos estudios han servido para proponer mecanismos que expliquen la participación del sistema circadiano en el desarrollo y progresión del cáncer (Filipski et al., 2009).

Del mismo modo, resultados en modelos animales demuestran el efecto de los genes reloj en procesos biológicos relacionados con neo-

plasias, como la proliferación celular, el control del ciclo celular, la respuesta de daño en el DNA y la apoptosis. Los modelos animales en los cuales se elimina la expresión de genes reloj muestran una mayor susceptibilidad a desarrollar tumores y cáncer (Fu & Lee., 2003; Lee et al., 2010). Ejemplo de ello es un estudio en el que se trasplantaron células cancerosas a ratones lesionados del NSQ, los cuales aumentaron la tasa de crecimiento tumoral en relación con aquellos que conservaron el NSQ intacto. De forma similar, los ratones arrítmicos por el avance de fase de 8 horas del ciclo luz/oscuridad cada 2 días exhiben tasas de crecimiento tumoral más rápidas que aquellos ratones mantenidos bajo condiciones de L/O 12/12h, es decir, 12 horas continuas de luz seguidas de 12 horas en oscuridad (Lee et al., 2010).

Conjuntamente con estas observaciones, ratones mutantes que no expresan *Per2* tienen un aumento en el desarrollo de hiperplasias y de tumores espontáneos, además de observarse alteraciones en los ritmos diarios de los niveles de RNA mensajero de los componentes reguladores del ciclo celular c-MYC y ciclina D y de β -catenina. Este mecanismo acelera la proliferación celular, lo cual sugiere que *Per2* podría estar actuando como una proteína antitumoral (Wood et al., 2008), ya que además la inyección intratumoral de PER2 disminuye el crecimiento tumoral *in vivo* en ratones de la cepa C57BL/6 (Hua et al., 2007).

Por su parte, PER1 tiene efectos contrarios en diferentes tipos de cáncer: se han reportado efectos proapoptóticos en cáncer de próstata y colon (Gery et al., 2006; Cao et al., 2009; Krugluger et al., 2007), mientras que en células de cáncer de páncreas e hígado *Per1* actúa como antiapoptótico (Sato et al., 2009; 2011). El papel diferencial de PER1 en distintos tipos celulares podría deberse a la interacción de la proteína con diversas vías de señalización o a la regulación directa de PER1 sobre la gran variedad de genes controlados por el reloj.

El sistema circadiano no sólo organiza diversos procesos biológicos, incluyendo la proliferación celular y permitiendo a los organismos adaptarse a los cambios cíclicos del ambiente, sino que además tiene un papel importante en las respuestas durante el daño del DNA. La sobreexpresión de *Per1* induce a las células de cáncer humano a la apoptosis, inducida por daño en el DNA. En contraste, la inhibición de *Per1* en células tratadas con luz UV inhibe la apoptosis. El fenotipo apoptótico de estas células ha sido asociado con la alteración de la expresión de reguladores clave en el control del ciclo celular, como ATM y Chk2. Además, se ha observado que la expresión ectópica de PER1 en diversos tipos de células de cáncer humano reduce significativamente el

crecimiento celular. Lo anterior hace aún más evidente la participación del sistema circadiano en la regulación del ciclo celular, la apoptosis y el desarrollo de cáncer (Gery et al., 2006).

Los estudios acerca de la participación de los genes reloj en la progresión tumoral han abierto la posibilidad de utilizar la manipulación de estos genes como blanco terapéutico, a la par que otros tratamientos en algunos tumores.

CONCLUSIONES

En su conjunto, los datos epidemiológicos, así como aquellos que derivan de modelos animales y de los datos originados en ensayos que utilizan líneas celulares cancerosas, han llevado a un creciente consenso de que la ritmicidad circadiana de los procesos fisiológicos y el ciclo celular se encuentran estrechamente ligados, y que la desregulación de los ritmos circadianos, cualquiera que sea su causa, afectará los mecanismos de control del ciclo celular, provocando en los individuos que los presenten una mayor predisposición a daño espontáneo en el DNA, desajustes en los puntos de control del ciclo celular y expresión de proteínas supresoras de tumores, teniendo como consecuencia una mayor susceptibilidad a diversos tipos de cáncer.

Los estudios sobre la cronobiología del cáncer antes mencionados tienen un impacto clínico al menos en tres vertientes importantes: 1) El monitoreo de marcadores tumorales, ya que la hora de realizar la toma de muestra podría determinar los niveles de marcador tumoral que se detecten y, por lo tanto, los procedimientos clínicos del paciente; 2) Los estudios de los polimorfismos y los niveles de expresión de los genes reloj pueden ser utilizados como nuevos biomarcadores auxiliares para el pronóstico de los pacientes con cáncer; 3) La cronoterapia, ya que la efectividad de los fármacos anticancerígenos radica en ejercer el mayor impacto posible en las células cancerígenas con la menor toxicidad para las células normales.

Finalmente, es importante destacar que todos los hallazgos aquí expuestos ponen al descubierto la importancia del sistema circadiano en la regulación de las funciones celulares fundamentales, como el ciclo celular, y apoyan la hipótesis de que la perturbación de la organización temporal conlleva a una mayor propensión a desarrollar cáncer.

REFERENCIAS

- BALSALOBRE, A., Damiola, F., & Schibler, U. (1998). A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell*, *93*, 929-937.
- BJARNASON, G. A., & Jordan, R. (2000). Circadian variation of cell proliferation and cell cycle protein expression in man: Clinical implications. *Progress in Cell Cycle Research*, *4*, 193-206.
- BJARNASON, G. A., Jordan, R. C., & Sothorn, R. (1999). Circadian variation in the expression of cell-cycle proteins in human oral epithelium. *The American Journal of Pathology*, *154*, 613-622.
- BJARNASON, G. A., Jordan, R. C., Wood, P. A., Li, Q., Lincoln, D. W., Sothorn, R. B., Hrushesky W. J., & Ben-David, Y. (2001). Circadian expression of clock genes in human oral mucosa and skin: association with specific cell-cycle phases. *The American Journal of Pathology*, *158*(5), 1793-1801.
- BORGS, L., Beukelaers, P., Vandenbosch, R., Belachew, S., Nguyen, L., & Malgrange, B. (2009). Cell "circadian" cycle: New role for mammalian core clock genes. *Cell Cycle*, *8*, 832-837.
- BOZEK, K., Relógio, A., Kielbasa, S. M., Heine, M., Dame, C., Kramer, A., & Herzog, H. (2009). Regulation of clock-controlled genes in mammals. *PLOS ONE*, *4*, e4882-e4482.
- BUCHI, K. N., Moore, J. G., Hrushesky, W. J. M., Sothorn, R. B., & Rubin, N. H. (1991). Circadian rhythm of cellular proliferation in the human rectal mucosa. *Gastroenterology*, *101*, 410-415.
- CANAPLE, L., Kakizawa, T., & Laudet, V. (2003). The days and nights of cancer cells. *Cancer Research*, *63*, 7545-7552.
- CAO, Q., Gery, S., Dashti, A., Yin, D., Zhou, Y., Gu, J., & Koeffler, H. P. (2009). A role for the clock gene *per1* in prostate cancer. *Cancer Research*, *69*, 7619-7625.
- CHEN, S. T., Choo, K. B., Hou, M. F., Yeh, K. T., Kuo, S. J., & Chang, J. G. (2005). Deregulated expression of the *PER1*, *PER2* and *PER3* genes in breast cancers. *Carcinogenesis*, *26*, 1241-1246.
- CLIMENT, J., Perez, L. J., Quigley, D. A., Kim, I. J., Delrosario, R., Jen, K.Y., ... Balmain, A. (2010). Deletion of the *PER3* gene on chromosome 1p36 in recurrent ER-positive breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, *28*, 3770-3778.
- CONLON, M., Lightfoot, N., & Kreiger, N. (2007). Rotating shift work and risk of prostate cancer. *Epidemiology*, *18*, 182-183.
- DAI, H., Zhang, L., Cao, M., Song, F., Zheng, H., Zhu, X., ... Chen, K. (2011). The role of polymorphisms in circadian pathway genes in breast tumorigenesis. *Breast Cancer Research and Treatment*, *127*, 531-540.
- DIBNER, C., Schibler, U., & Albrecht, U. (2010). The mammalian circadian timing system: Organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annual Review of Physiology*, *72*, 517-549.

- FERLAY, J., Shin, H. R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C. & Parkin, D. M. (2010). GLOBOCAN 2008: Cancer Incidence and Mortality Worldwide. *IARC CancerBases No. 10*, v2.0.
- FILIPSKI, E., Subramanian, P., Carrière, J., Guettier, C., Barbason, H., & Lévi, F. (2009). Circadian disruption accelerates liver carcinogenesis in mice. *Mutation Research*, 680, 95-105.
- FLYNN-EVANS, E. E., Stevens, R. G., Tabandeh, H., Schernhammer, E. S., & Lockley, S. W. (2009). Total visual blindness is protective against breast cancer. *Cancer Causes & Control*, 20, 1753-1756.
- FU, L., & Lee, C. C. (2003). The circadian clock: Pacemaker and tumour suppressor. *Nature Review Cancer*, 3, 350-361.
- FU, L., Pelicano, H., Liu, J., Huang, P., & Lee, C. (2002). The circadian gene Period2 plays an important role in tumor suppression and DNA damage response in vivo. *Cell*, 111, 41-50.
- GERY, S., Komatsu, N., Baldjyan, L., Yu, A., Koo, D., & Koeffler, H. P. (2006). The circadian gene per1 plays an important role in cell growth and DNA damage control in human cancer cells. *Molecular Cell*, 22, 375-382.
- GRANDA, T. G., & Lévi, F. (2002). Tumor-based rhythms of anticancer efficacy in experimental models. *Chronobiology International*, 19, 21-41.
- GRÉCHEZ-CASSIAU, A., Rayet, B., Guillaumond, F., Teboul, M., & Delaunay, F. (2008). The circadian clock component BMAL1 is a critical regulator of p21WAF1/CIP1 expression and hepatocyte proliferation. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(8), 4535-4542.
- GU, X., Xing, L., Shi, G., Liu, Z., Wang, X., Qu, Z., ... Xu, Y. (2012). The circadian mutation PER2 (S662G) is linked to cell cycle progression and tumorigenesis. *Cell Death Differentiation*, 19, 397-405.
- HEVIA, D., Mayo, J. C., Quiros, I., Gomez-Cordoves, C., & Sainz, R. M. (2010). Monitoring intracellular melatonin levels in human prostate normal and cancer cells by HPLC. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397, 1235-1244.
- HUA, H., Wang, Y., Wan, C., Liu, Y., Zhu, B., Wang, X., Wang, Z., & Ding, J. M. (2007). Inhibition of tumorigenesis by intratumoral delivery of the circadian gene mPer2 in C57BL/6 mice. *Cancer Gene Therapy*, 14, 815-818.
- IARC (2010). World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. Painting, Firefighting, and Shiftwork. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Vol. 98*, [displayed 30 April 2012]. Available at <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol98/mono98.pdf>
- KRUGLUGER, W., Brandstaetter, A., Kállay, E., Schueller, J., Krexner, E., Kriwanek, S., Bonner, E., & Cross, H. S. (2007). Regulation of genes of the circadian clock in human colon cancer: Reduced period-1 and dihydropyrimidine dehydrogenase transcription correlates in high-grade tumors. *Cancer Research*, 67, 7917-7922.

- LEE, S., Donehower, L. A., Herron, A. J., Moore, D. D., & Fu, L. (2010). Disrupting circadian homeostasis of sympathetic signaling promotes tumor development in mice. *PLOS ONE*, 5, e10995-e10995.
- LIN, Y. M., Chang, J. H., Yeh, K. T., Yang, M. Y., Liu T. C., Lin S. F., Su W.W., & Chang J. G. (2008). Disturbance of circadian gene expression in hepatocellular carcinoma. *Molecular Carcinogenesis*, 47, 925-933.
- LINCOLN, D. W., Hrushesky, W. J. M. & Wood, P. A. (2000). Circadian organization of thymidylate synthase activity in normal tissues: A possible basis for 5 fluorouracil chronotherapeutic advantage. *International Journal of Cancer*, 88, 479-485.
- LODISH, H., Berk, A., S., Zipursky, L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). *Molecular Cell Biology* (Cuarta ed.). New York: W. H. Freeman.
- MATSUO, T., Yamaguchi, S., Mitsui, S., Emi, A., Shimoda, F., & Okamura, H. (2003). Control mechanism of the circadian clock for timing of cell division in vivo. *Science*, 302, 255-259.
- MEGDAL, S. P., Kroenke, C. H., Laden, F., Pukkala, E., & Schernhammer, E. S. (2005). Night work and breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Cancer*, 41, 2023-2032.
- MORETTI, R. M., Marelli, M. M., Motta, M., Polizzi, D., Monestiroli, S., Pratesi, G., & Limonta, P. (2001). Activation of the orphan nuclear receptor RORalpha induces growth arrest in androgen-independent DU 145 prostate cancer cells. *Prostate*, 46, 327-335.
- PANDA, S., Antoch, M. P., Miller, B. H., Su, A. I., Schook, A. B., Straume, M., ... Hogenesch, J. B. (2002). Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell*, 109, 307-320.
- RELLES, D., Sendekci, J., Chipitsyna, G., Hyslop, T., Yeo, C. J., & Arafat, H. A. (2013). Circadian gene expression and clinicopathologic correlates in pancreatic cancer. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 17, 443-450.
- REPPERT, S. M., & Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418, 935-941.
- SATO, F., Nagata, C., Liu, Y., Suzuki, T., Kondo, J., Morohashi, S., ...Kijima, H. (2009). PERIOD1 is an anti-apoptotic factor in human pancreatic and hepatic cancer cells. *The Journal of Biochemistry*, 146, 833-838.
- SATO, F., Wu, Y., Bhawal, U. K., Liu, Y., Imaizumi, T., Morohashi, S., Kato, Y., & Kijima, H. (2011). PERIOD1 (PER1) has anti-apoptotic effects, and PER3 has pro-apoptotic effects during cisplatin (CDDP) treatment in human gingival cancer CA9-22 cells. *European Journal of Cancer*, 47, 1747-1758.
- SAVVIDIS, C., & Koutsilieris, M. (2012). Circadian rhythm disruption in cancer biology. *Molecular Medicine*, 18, 1249-1260.
- SCHERNHAMMER, E. S., Laden, F., Speizer, F. E., Walter, C., Willett, W. C., Hunter, D. J., Ichiro, K., & Colditz, G. A. (2001). Rotating night shifts and

- risk of breast cancer in women participating in the Nurses' Health Study. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 93, 1563-1568.
- SCHEVING, L. E., Burns, E. R., & Pauly, J. E. (1972). Circadian rhythms in mitotic activity and 3 H-thymidine uptake in the duodenum: Effect of isoproterenol on the mitotic rhythm. *American Journal of Anatomy*, 135, 311-317.
- STORCH, K. F., Lipan, O., Leykin, I., Viswanathan, N., Davis, F. C., Wong, W. H., & Weitz, C. J. (2002). Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart. *Nature*, 417, 78-83.
- STRAIF, K., Baan, R., Grosse, Y., Secretan, B., El Ghissassi, F., Bouvard, V., ... Coglianò, V. (2007). Carcinogenicity of shift-work, painting, and fire fighting. *The Lancet Oncology*, 8, 1065-1066.
- VINOGRADOVA, I. A., Anisimov, V. N., Bukalev, A. V., Semenchenko, A.V., & Zabezhinski, M. A. (2009). Circadian disruption induced by light-at-night accelerates aging and promotes tumorigenesis in rats. *Ageing*, 1, 855-865.
- WOOD, P. A., Du-Quiton, J., You, S., Hrushesky, W. J. (2006). Circadian clock coordinates cancer cell cycle progression, thymidylate synthase, and 5-fluorouracil therapeutic index. *Molecular Cancer Therapeutics*, 5, 2023-2033.
- WOOD, P. A., Yang, X., Taber, A., Oh, E. Y., Ansell, C., Ayers, S. E., ...Hrushesky, W. J. (2008). Period 2 mutation accelerates ApcMin/+ tumorigenesis. *Molecular Cancer Research*, 6, 1786-1793.
- XIANG, S., Mao, L., Duplessis, T., Yuan, L., Dauchy, R., Dauchy, E., ...Hill, S. M. (2012). Oscillation of clock and clock controlled genes induced by serum shock in human breast epithelial and breast cancer cells: Regulation by melatonin. *Breast Cancer*, 6, 137-150.
- YANG, X., He, X., Yang, Z., & Jabbari, E. (2012). Mammalian PER2 regulates AKT activation and DNA damage response. *Biochemistry and Cell Biology*, 90, 675-682.
- YANG, X., Wood, P. A., Ansell, C., & Hrushesky, W. J. (2009). Circadian time-dependent tumor suppressor function of period genes. *Integrative Cancer Therapies*, 8, 309-316.
- YI, C., Mu, L., De la Longrais, I. A., Sochirca, O., Arisio, R., Yu, H., ...Katsaro, D. (2010). The circadian gene NPAS2 is a novel prognostic biomarker for breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 120, 663-669.
- ZHAO, B., Lu, J., Yin, J., Liu, H., Guo, X., Yang, Y., ...Xing, J. (2012). A functional polymorphism in PER3 gene is associated with prognosis in hepatocellular carcinoma. *Liver International*, 32, 1451-1459.
- ZHOU, F., He, X., Liu, H., Zhu, Y., Jin, T., Chen, C., ...Xing, J. (2012). Functional polymorphisms of circadian positive feedback regulation genes and clinical outcome of Chinese patients with resected colorectal cancer. *Cancer*, 118, 937-946.

- ZHU, Y., Brown, H. N., Zhang, Y., Stevens, R. G., & Zheng, T. (2005). Period3 structural variation: A circadian biomarker associated with breast cancer in young women. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 14, 268-270.
- ZHU, Y., Hoffman, A. E., Fitzgerald, L. M., Kwon, E. M., Ostrander, E. A., Davis, S., Zheng, T., & Stanford, J. L. (2009). Testing the circadian gene hypothesis in prostate cancer: A population-based case-control study. *Cancer Research*, 69, 9315-9322.
- ZHU, Y., Leaderer, D., Guss, C., Brown, H. N., Zhang, Y., Boyle, P., ...Zheng, T. (2007). Ala394Thr polymorphism in the clock gene NPAS2: A circadian modifier for the risk of non-Hodgkin's lymphoma. *International Journal of Cancer*, 120, 432-435.
- ZHU, Y., Stevens, R. G., Leaderer, D., Hoffman, A., Holford, T., Zhang, Y., Brown, H. N., & Zheng, T. (2008). Non-synonymous polymorphisms in the circadian gene NPAS2 and breast cancer risk. *Breast Cancer Research and Treatment*, 107, 421-425.

RITMOS CIRCADIANOS Y ENVEJECIMIENTO: IMPLICACIONES PARA LA SALUD Y LA LONGEVIDAD

Lance J. Kriegsfeld¹ y Mario Caba²

INTRODUCCIÓN

Los individuos necesitan que los procesos conductuales y fisiológicos se coordinen a determinadas horas del día o de la noche para que se optimicen los requerimientos energéticos del funcionamiento normal y la salud del organismo, para lo cual es necesario que se preparen fisiológicamente y puedan anticipar los cambios medioambientales diarios. Con este propósito se han desarrollado evolutivamente mecanismos medidores del tiempo, concretamente los ritmos circadianos, que se sincronizan con la hora geográfica externa. En los humanos, por ejemplo, la hormona cortisol en la sangre se eleva significativamente antes de que nos despertemos para movilizar las reservas de recursos energéticos a fin de facilitar las actividades al inicio de la mañana (Weitzman et al., 1971; Van Cauter & Refetoff, 1985; Kriegsfeld & Silver, 2006).

¹ Doctor en Filosofía, Universidad de Johns Hopkins. Profesor asociado del Departamento de Psicología y del Instituto de Neurociencias Helen Wills de la Universidad de California-Berkeley.

² Doctor en Ciencias de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Posdoctorado en Oregon National Primate Research Center. Actualmente es profesor investigador y coordinador del Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 3.

La interrupción de este mecanismo medidor del tiempo tiene un impacto importante en la fisiología normal, en la salud y en la susceptibilidad a las enfermedades del individuo. Estudios en viajeros frecuentes, personas con cambios de horario de trabajo de diurno a nocturno e individuos con desórdenes del sueño, demuestran que estos sujetos presentan una mayor incidencia a una amplia variedad de patologías clínicas. Por ejemplo, el cambio en los horarios de trabajo se asocia con una alta incidencia de cáncer (Hansen, 2006; Kubo et al., 2006; O'Leary et al., 2006; Patel, 2006; Conlon et al., 2007), diabetes (Sanborn et al., 1982; Robinson et al., 1990; Poole et al., 1992; Karlsson et al., 2005; Morikawa et al., 2005), úlceras gastrointestinales (Kolmodin-Hedman & Swensson, 1975; Segawa et al., 1987; Costa, 1996; Koda et al., 2000), hipertensión y enfermedades cardiovasculares (Costa, 1996; Alstadhaug et al., 2005; Hwang & Lee, 2005; Wolk et al., 2005; Kivimaki et al., 2006), así como desórdenes cognitivos (Skipper et al., 1990; De Koninck, 1991; Leonard et al., 1998; Venuta et al., 1999; Munakata et al., 2001; Bildt & Michelsen, 2002). Aunque estos estudios en su mayoría son correlacionales, indican un papel crítico del sistema circadiano endógeno para el mantenimiento normal del funcionamiento cerebral y la fisiología de los sistemas periféricos.

Adicionalmente, conforme la edad avanza y el individuo envejece, la amplitud y precisión de los ritmos circadianos se reduce, impactando de manera negativa a la salud y acelerando la senectud (Benloucif et al., 1997; Weinert et al., 2001; Davidson et al., 2008).

SINCRONIZACIÓN Y GENERACIÓN DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

El Reloj Molecular

En mamíferos el reloj circadiano maestro se localiza en el núcleo supraquiasmático (NSQ), ubicado en la porción anterior del hipotálamo, cuya destrucción elimina la ritmicidad circadiana en fisiología y conducta (Moore & Eichler, 1972; Stephan & Zucker, 1972). El trasplante de NSQ de un donador al cerebro de un individuo arrítmico por lesión del NSQ restaura la ritmicidad circadiana (Lehman et al., 1987; Ralph et al., 1990). Sin embargo, es importante mencionar que el ritmo se recupera con el período circadiano del donador, indicando que el tejido transplantado no actúa solamente restaurando las funciones del hospedero, sino que el "reloj" está contenido en el tejido trasplantado. Evidencias posteriores

que apoyan el postulado de que el reloj está contenido en el NSQ vienen de estudios donde se demuestra que los ritmos circadianos en la actividad eléctrica persisten en el NSQ aislado y mantenido en cultivos *in vitro*. Estos estudios también confirman que no son necesarios estímulos de otras zonas cerebrales para el funcionamiento circadiano de este núcleo (Green & Gillette, 1982; Groos & Hendriks, 1982; Shibata et al., 1982).

A nivel celular los ritmos circadianos son producidos por un asa autoregulatoria negativa de transcripción/traducción de un grupo de genes conocidos como “genes reloj”, que tienen un período de aproximadamente 24 horas. Aunque el mecanismo general de la oscilación circadiana a nivel celular es común entre las especies, los componentes específicos difieren. Para una mayor claridad se describirán únicamente los componentes del asa central en mamíferos. El sistema se inicia con la dimerización (unión) de dos proteínas, CLOCK y BMAL1, que dirigen la transcripción del ácido ribonucleico mensajero (RNAm, por sus siglas en inglés) de los genes *Period* (*Per1* y *Per2*) y *Cryptochrome* (*Cry1* y *Cry2*). Su traducción provoca un incremento en los niveles de las proteínas PER y CRY que eventualmente forman dímeros que ingresan al núcleo de la célula e inhiben la transcripción inducida por CLOCK:BMAL1.

Hay otros dos elementos promotores importantes para la generación circadiana, DBP/E4BP4 y REV-ERB α /ROR. El mismo mecanismo que controla la transcripción de *Per* y *Cry* induce la producción de RNAm de Rev-Erb α y Ror. A su vez, la proteína REV-ERB α suprime la transcripción de *Bmal1* mientras la proteína ROR estimula su producción. De manera similar, el factor de transcripción DBP es regulado positivamente por el heterodímero CLOCK:BMAL1 (Ripperger & Schibler, 2006) y actúa como un importante mecanismo efector dirigiendo la transcripción rítmica de otros genes efectores a través del factor de transcripción PAR bZIP (Lavery et al., 1999). Mientras la mayoría de las investigaciones se han enfocado hasta el momento en la regulación transcripcional como un mecanismo clave que dirige los ritmos a nivel celular, los eventos transcripcionales y postraduccionales también son críticos para la coordinación de la ritmicidad circadiana y su implicación fisiológica (Baggs & Green, 2003; Kramer et al., 2003; Reddy et al., 2006).

Además del control a nivel de transcripción y traducción de la función circadiana, intervienen cinasas regulatorias que también desempeñan un papel importante en la regulación del período circadiano. Por ejemplo, hace poco más de una década se identificó una mutación circadiana denominada “tau”, que produce un acortamiento del período circadiano en hámsters sirios (Ralph & Menaker, 1988). Ahora se sabe

que el *locus* tau en el DNA está codificado por la proteína cinasa (CKIε) (Lowrey et al., 2000; Wang et al., 2007). En roedores normales CKIε fosforila la proteína PER y la “marca” para que sea degradada durante el día. Eventualmente la producción de PER sobrepasa la de CKIε y dimeriza con CRY para que entre al núcleo de la célula. La forma mutante de CKIε es incapaz de fosforilar PER, lo que produce un acortamiento del período circadiano en el ratón mutante tau debido a la entrada prematura del dímero PER-CRY al núcleo (Lowrey et al., 2000; Vielhaber et al., 2000).

Sincronización fótica

Los ritmos circadianos se sincronizan con la hora geográfica medioambiental, de tal modo que los procesos fisiológicos y conductuales estén coordinados para presentarse a la hora más apropiada del día. La señal temporal medioambiental más precisa es la salida y puesta del sol. A consecuencia de ello, los organismos han evolucionado para sincronizar su sistema circadiano interno con el ciclo luz/oscuridad. La sincronización fótica del NSQ se lleva a cabo a través del tracto retinohipotalámico que proyecta desde la retina al NSQ (Moore & Klein, 1974; Klein & Moore, 1979). Sin embargo, las células específicas para la sincronización fótica y sus fotopigmentos en la retina fueron un enigma, ya que ratones mutantes sin conos y bastones fotoreceptores presentaban una sincronización circadiana normal, a pesar de estar visualmente inhabilitados (Foster et al., 1993; Lucas et al., 1999; Van Gelder, 2001). Esto sugirió la existencia de nuevos fotoreceptores, necesarios para la sincronización circadiana.

Así, con base en diversos experimentos se identificó un subgrupo de células ganglionares retinianas responsivas a la luz, las cuales contenían un nuevo fotopigmento, la melanopsina (Berson et al., 2002; Hannibal & Fahrenkrug, 2002). Estas células ganglionares proyectan directamente al NSQ y se pensó que eran los únicos fotoreceptores necesarios para la sincronización circadiana. No obstante, ratones deficientes de melanopsina presentan sólo una disminución en la capacidad de sincronización (Panda et al., 2002; Ruby et al., 2002; Lucas et al., 2003). Esta discrepancia se resolvió utilizando ratones doblemente mutantes, tanto para melanopsina como para los fotoreceptores tradicionales de conos y bastones (Hattar et al., 2003; Panda et al., 2003). Dichos descubrimientos sugieren que los conos y bastones proyectan a células ganglionares especializadas, responsivas a la luz, las cuales transmiten esta información

fótica integrada directamente al NSQ. Así, los dos tipos de receptores probablemente funcionan de manera conjunta para sincronizar el reloj circadiano, y cualquiera de los dos tipos de fotoreceptores, en ausencia del otro, es suficiente para mantener la sincronización circadiana.

CAMBIOS EN EL SISTEMA CIRCADIANO CON LA EDAD

Conforme avanza la edad, los ritmos circadianos se hacen menos precisos y se reduce su amplitud (Li & Satinoff, 1995; Benloucif et al., 1997; Valentinuzzi et al., 1997; Weinert & Waterhouse, 1999; Davidson et al., 2008). De acuerdo con la importancia de los ritmos circadianos para el funcionamiento fisiológico normal, esta degradación de los mismos tiene el potencial de acelerar el proceso de envejecimiento y contribuir al desarrollo de una amplia gama de patologías relacionadas con la edad. Durante el envejecimiento no hay disminución en el tamaño ni en el número de células en el NSQ (Madeira et al., 1995), por lo que las investigaciones se han enfocado a investigar los cambios en la comunicación química, tanto dentro como fuera de dicho núcleo, para explorar por qué ocurre este deterioro.

En el NSQ de ratas viejas el ritmo diario del polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) y su receptor desaparece (Kawakami et al., 1997; Kalló et al., 2004). El VIP es crítico para el mantenimiento de la ritmicidad circadiana (Piggins & Cutler, 2003), por lo que los cambios en este neuropéptido son el candidato principal para la degradación circadiana conforme avanza la edad. Con base en técnicas de inmunohistoquímica, marcando las células productoras de arginina vasopresina (AVP), se encontró una reducción en el número de células de AVP en las ratas viejas, pero además, las células son más grandes en comparación con las de animales jóvenes (Rooszendaal et al., 1987). Este descubrimiento propone que alteraciones en la producción de neuropéptidos contribuyen a un deterioro de la ritmicidad en animales viejos. Adicionalmente, la amplitud del ritmo circadiano de actividad eléctrica también se reduce en los animales viejos (Satinoff et al., 1993; Watanabe et al., 1995; Nakamura et al., 2011), lo cual sugiere una comunicación deficiente dentro del propio NSQ o con sus sistemas efectores debido a alteraciones en la transmisión neuroquímica. Otra evidencia de que la degradación de los ritmos circadianos resulta del impacto del envejecimiento a nivel del NSQ proviene de estudios que demuestran que el trasplante de un NSQ de un individuo joven a un animal viejo genera un mejoramiento en numerosas fun-

ciones rítmicas, incluyendo el ritmo diurno de la hormona liberadora de corticotropinas (CRH) y ritmos en la conducta locomotora.

Por otro lado, en ratones, la disponibilidad de una rueda para correr incrementa la amplitud del ritmo espontáneo de descarga eléctrica de rebanadas de NSQ mantenidas *in vitro* (Leise et al., 2013), lo que sugiere que el ejercicio es una estrategia terapéutica para un mejoramiento de la salud del sistema circadiano en los individuos viejos. En conjunto, estos estudios revelan que el NSQ es un *locus* importante para cambios relacionados con la edad en el sistema circadiano de los roedores, y que los tratamientos enfocados a esta estructura pueden actuar para disminuir algunos de los desajustes que se observan durante el envejecimiento.

CAMBIOS RELACIONADOS CON EL ENVEJECIMIENTO EN LA SINCRONIZACIÓN CIRCADIANA

El funcionamiento fisiológico óptimo requiere que los sistemas internos estén coordinados con el tiempo geográfico externo. Los animales viejos muestran una sensibilidad reducida a la luz y consecuentemente un disturbio en la sincronización; son marcadamente menos sensibles a los efectos sincronizadores de la luz en comparación con los animales jóvenes, a pesar de que la inervación de la retina al NSQ no está alterada (Zhang et al., 1998). Esto sugiere que déficits en la sincronización resultan de alteraciones a nivel de la retina o en la sensibilidad del NSQ a la información de la retina. Sin embargo, como los ratones viejos no muestran anomalías retinianas evidentes (Oster et al., 2003), la mayor parte de la investigación se ha enfocado en el NSQ como el sitio de las alteraciones en la sincronización.

La transcripción de los genes reloj *Per1* y *Per2* se induce rápidamente por la luz, lo que hace de esta inducción un ensayo conveniente para investigar la respuesta del NSQ a un pulso de luz con base en la modificación de su fase. En comparación con los animales jóvenes, la expresión de *Per1* se ve marcadamente reducida y requiere mayor tiempo para resincronizarse de nuevo en los animales viejos (Kolker et al., 2003; Davidson et al., 2008). Además, en los animales jóvenes la disrupción del funcionamiento normal de los genes *Period* produce una disminución en la sensibilidad a la luz similar a como se observa en los animales viejos (Asai et al., 2001; Weinert et al., 2001). Esto apoya la propuesta de que, conforme avanza la edad, la desorganización temporal puede resultar, en parte, por una reducción de la sensibilidad del NSQ a la estimulación retiniana. Además de dicha reducción en la sensibilidad,

los relojes en los órganos periféricos requieren significativamente un tiempo mayor para resincronizarse después de un cambio de fase en los animales viejos (Sellix et al., 2012), lo que insinúa que una amplitud reducida en el NSQ debe resultar en una disminución de la señal eferente a las estructuras y órganos periféricos.

Una característica del envejecimiento es que el sueño se vuelve más fragmentado y los individuos seniles se despiertan más temprano que los individuos jóvenes. Así, es posible que las alteraciones inducidas por el envejecimiento en relación con la sincronización afecten la coordinación del ciclo sueño-vigilia con el medio ambiente externo. Alternativamente, un cambio en el estilo de vida conforme avanza la edad debe alterar la cantidad de luz a la que están expuestos los individuos seniles. Para explorar esta posibilidad se examinó la exposición a la luz en individuos seniles y jóvenes en relación con horarios de sueño-vigilia seleccionados por ellos mismos (Scheuermaier et al., 2010). Los individuos viejos pasan más tiempo expuestos a niveles mayores de luz que los jóvenes, lo que sugiere que la exposición a luz más brillante puede contribuir a que los individuos viejos se despierten más temprano, debido a los avances de fase en el sistema circadiano interno. Si las alteraciones voluntarias a la exposición de la luz son responsables de los avances de fase en individuos seniles, entonces este desbalance puede impactar negativamente en la salud. Si esto es cierto, puede ser de importancia clínica significativa monitorear uno mismo la intensidad y el horario de exposición a la luz para promover la longevidad conforme envejecemos.

Genes reloj y envejecimiento

Un blanco probable del envejecimiento parece ser el grupo central de genes del reloj circadiano a nivel celular. Varias evidencias indican que los cambios en el gen *Bmal1* son importantes en relación con los trastornos del envejecimiento. Por ejemplo, en el hámster senil la amplitud de la expresión diaria de *Bmal1* se reduce, disminuyendo durante la noche subjetiva, cuando debería tener su pico máximo, comparado con los animales jóvenes (Kolker et al., 2003). Los animales jóvenes transgénicos deficientes en el gen *Bmal1* son arrítmicos (Bunger et al., 2000), lo que sugiere que los defectos en la expresión de este gen que se observan con la edad pueden tener profundas implicaciones en la salud circadiana.

En apoyo a este planteamiento, los ratones deficientes en *Bmal1* tienen un período de vida reducido y desarrollan anticipadamente varias patologías que se observan en el proceso de envejecimiento, como sarcopenia,

cataratas y atrofia de los órganos, en comparación con los animales normales (Kondratov et al., 2006). El desarrollo de patologías relacionadas con la edad en estos animales indica que los ritmos circadianos normales son importantes para prevenir la degradación celular inducida por la edad. Para fundamentar este razonamiento se ha propuesto recientemente que los cambios asociados a la edad en la expresión de los genes reloj por alteraciones en el metabolismo energético pueden contribuir a un acortamiento de los extremos de los cromosomas, llamados telómeros (Kagawa, 2012). Teniendo en cuenta que muchos tejidos periféricos expresan genes reloj de manera endógena (Reppert & Weaver, 2002), el entendimiento del papel de la oscilación de estos genes en el mantenimiento de la salud celular, y en general de los órganos, ayudará en el desarrollo de estrategias para tratar patologías asociadas al envejecimiento.

EL SISTEMA CIRCADIANO Y EL ENVEJECIMIENTO REPRODUCTIVO

Históricamente se había considerado que el envejecimiento reproductivo femenino ocurre a partir de la involución de los folículos ováricos y que los cambios en los componentes centrales del eje reproductivo eran una consecuencia de la reducción en las concentraciones de estrógenos (Mandl & Shelton, 1959; Nelson et al., 1987; Richardson et al., 1987; Faddy et al., 1992). Los estudios realizados en los años noventa del siglo pasado sugieren, por su parte, que el envejecimiento también causa cambios en el cerebro que pueden preceder a los déficits a nivel del ovario (van der Schoot, 1976; Cooper et al., 1980; Sopolak & Butcher, 1982; Wise, 1982; Felicio et al., 1983; Lloyd et al., 1994; Lu et al., 1994; Nelson et al., 1995). Entonces, se propone que la transición a la menopausia resulta probablemente de una desregulación del eje reproductivo en ambos niveles, el cerebro y el ovario, al menos en roedores (Rubin, 2000). En lo que sigue de este capítulo, la atención se enfocará en el papel de la fisiología circadiana en dichos niveles.

Participación de los osciladores ováricos en el declive reproductivo

La misma maquinaria molecular que dirige los ritmos circadianos en las células del NSQ está presente en el cerebro y tejidos periféricos (Hardin, 1994; Tosini & Menaker, 1996; Sun et al., 1997; Balsalobre et al., 1998; Zylka et al., 1998; Yamazaki et al., 2000) regulando los procesos circadianos en estas estructuras (Pando et al., 2002; Schibler & Sassone-

Corsi, 2002; Guo et al., 2006). En relación con el sistema reproductivo los ovarios tienen ritmos diarios de expresión de los genes *Per1* y *Per2* (Fahrenkrug et al., 2006; Karman & Tischkau, 2006); los genes que inician la producción de esteroides oscilan de manera rítmica, sugiriendo que estos relojes locales pueden ser importantes para la función ovárica normal (Bao et al., 2003; Foster et al., 2005; Sellix & Menaker, 2010). Recientemente se ha propuesto que los relojes en el ovario pueden ser importantes para iniciar la respuesta de las señales hormonales que inician la ovulación (Sellix et al., 2010).

Actualmente una pregunta está en el aire, y plantea si las alteraciones en los genes reloj del ovario contribuyen al mantenimiento o al declive reproductivo con la edad. Dada la importancia potencial de los relojes ováricos en los procesos que desencadenan la ovulación es posible que el deterioro de los relojes ováricos con la edad y el desacople resultante de estos con las señales hormonales contribuyan a la falla ovárica.

Participación de los osciladores centrales en el declive reproductivo

Como se mencionó antes, varias líneas de evidencia sugieren que los cambios en la edad están relacionados con el NSQ (Sutin et al., 1993; Benloucif et al., 1997; Aujard et al., 2001) y son los responsables del declive en los ritmos conductuales y fisiológicos que se observan en los animales seniles (Yamazaki et al., 2002), y que estos cambios pueden contribuir a una reducción en la fertilidad. Por ejemplo, la expresión de AVP y VIP se abate en animales viejos (Roozendaal et al., 1987; Chee et al., 1988) y ambos péptidos se han implicado en el control circadiano de la ovulación (van der Beek et al., 1997; Kalsbeek & Buijs, 2002). Esto sugiere que la integridad de estas neuronas en el NSQ puede ser crítica para el mantenimiento del funcionamiento reproductivo con la edad.

Como se indicó previamente, el AVP está regulado por el grupo central de genes del engranaje circadiano a nivel molecular. Dado que este grupo de genes es uno de los blancos para el envejecimiento, es razonable especular que las interrupciones relacionadas con la edad de la función celular del NSQ tienen un impacto negativo sobre las señales circadianas eferentes de este péptido, lo cual repercute en el funcionamiento circadiano. En este sentido, es interesante observar que el RNAm de AVP en el NSQ se mantiene en animales seniles (Krajnak et al., 1998); se ha propuesto, sin embargo, que células que reciben sus proyecciones se vuelven insensibles a este péptido conforme avanza la edad, específicamente neuronas en el núcleo anteroventral periventricular (AVPV),

las cuales desempeñan un papel crítico en la iniciación de la liberación masiva de la hormona luteinizante que dispara la ovulación (Terasawa et al., 1980; Le et al., 1997; Le et al., 1999). Estas células expresan receptores de AVP del tipo V1a (Ostrowski et al., 1994) y reciben contactos sinápticos de AVP del NSQ (Watson et al., 1995). La actividad celular en las neuronas del AVPV es estimulada por la hormona estradiol en ratas jóvenes pero no en las de mediana edad (Funabashi et al., 2000), lo que refuerza la idea de que los déficits en el sistema vasopresinérgico del NSQ contribuyen al decline reproductivo.

Recientemente nosotros y otros autores hemos reportado que las neuronas del AVPV que responden al estradiol y a la estimulación por AVP para iniciar la ovulación expresan un péptido estimulador llamado kisspeptina (Vida et al., 2010; Williams et al., 2011; Smarr et al., 2012). No se ha explorado directamente si las alteraciones en las señales circadianas aferentes al sistema de la kisspeptina contribuyen a la reducción de la capacidad reproductiva con la edad, no obstante, dos estudios recientes proporcionan evidencia que sugiere esta posibilidad. Se encontró que en ratas de mediana edad el RNAm y la proteína de la kisspeptina están disminuidas al momento de la estimulación de la hormona LH por estradiol, en comparación con animales jóvenes, mientras que la administración de kisspeptina en el área preóptica de ratas de edad madura revierte dicha disminución (Neal-Perry et al., 2009; Lederman et al., 2010).

Estos descubrimientos son consistentes con la propuesta de que la reducción de las señales circadianas a las neuronas productoras de kisspeptina participan en la disminución del patrón normal de la LH que se observa durante el envejecimiento. Alternativamente, es posible que la disminución en las señales del estradiol a las células de kisspeptina del AVPV conforme avanza la edad sean las responsables de este declive. Se requieren estudios posteriores para elucidar estas posibilidades. Sin embargo, con base en estos recientes descubrimientos, es notable que la kisspeptina no sólo represente un neuropéptido clave para iniciar la ovulación, sino que parece también desempeñar un papel crítico en el paso hacia la senescencia reproductiva, lo cual enfatiza su papel en el mantenimiento de la fertilidad reproductiva.

CONCLUSIONES

Conforme avanza la edad, los genes que regulan la función circadiana a nivel celular se desorganizan, produciendo una reducción en la am-

plitud y precisión de los ritmos. También disminuye la capacidad del reloj cerebral para sincronizarse a la hora geográfica, lo que provoca una disrupción del patrón normal de sueño y una desincronía de toda la fisiología y conducta, igualmente en relación con la hora geográfica. Dada la importancia del sistema circadiano para coordinar la homeostasis, la cual asegura que los procesos centrales y periféricos se mantengan en los límites apropiados para funcionar a horas determinadas del día, esta degradación circadiana deriva en un funcionamiento subóptimo que predispone al organismo a enfermedades. El resultado final de estos déficits es una aceleración del proceso de envejecimiento en el que algunos sistemas parecen ser más vulnerables que otros.

La investigación del papel de las anomalías circadianas en el proceso de envejecimiento está aún en su infancia y constituye una enorme oportunidad para explorar dicha asociación desde el nivel genético hasta el conductual. Estudios futuros dirigidos a analizar el impacto específico del envejecimiento sobre el sistema nervioso central y la manera que la sincronización circadiana es afectada negativamente por la edad proveerán información necesaria y útil para mejorar la salud circadiana y promover la longevidad y el bienestar de los individuos conforme avanza su edad.

REFERENCIAS

- ALSTADHAUG, K. B., Salvesen, R., & Bekkelund, S. I. (2005). Seasonal variation in migraine. *Cephalalgia*, 25, 811-816.
- ASAI, M., Yoshinobu, Y., Kaneko, S., Mori, A., Nikaido, T., Moriya, T., Akiyama, M., & Shibata, S. (2001). Circadian profile of Per gene mRNA expression in the suprachiasmatic nucleus, paraventricular nucleus, and pineal body of aged rats. *Journal of Neuroscience Research*, 66, 1133-1139.
- AUJARD, F., Herzog, E. D., & Block, G. D. (2001). Circadian rhythms in firing rate of individual suprachiasmatic nucleus neurons from adult and middle-aged mice. *Neuroscience*, 106, 255-261.
- BAGGS, J. E., & Green, C. B. (2003). Nocturnin, a deadenylase in *Xenopus laevis* retina: a mechanism for posttranscriptional control of circadian-related mRNA. *Current Biology*, 13, 189-198.
- BALSALOBRE, A., Damiola, F., & Schibler, U. (1998). A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell*, 93, 929-237.
- BAO, A. M., Liu, R. Y., van Someren, E. J., Hofman, M. A., Cao, Y. X., & Zhou, J. N. (2003). Diurnal rhythm of free estradiol during the menstrual cycle. *European Journal of Endocrinology*, 148, 227-232.

- BENLOUCIF, S., Masana, M. I., & Dubocovich, M. L. (1997). Light-induced phase shifts of circadian activity rhythms and immediate early gene expression in the suprachiasmatic nucleus are attenuated in old C3H/HeN mice. *Brain Research*, 747, 34-42.
- BERSON, D. M., Dunn, F. A., & Takao, M. (2002). Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*, 295, 1070-1073.
- BILDT, C., & Michelsen, H. (2002). Gender differences in the effects from working conditions on mental health: a 4-year follow-up. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 75, 252-258.
- BUNGER, M. K., Wilsbacher, L. D., Moran, S. M., Clendenin, C., Radcliffe, L. A., Hogenesch, J. B., ...Bradfield, C. A. (2000). Mop3 is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals. *Cell*, 103, 1009-1017.
- CHEE, C. A., Roozendaal, B., Swaab, D. F., Goudsmit, E., & Mirmiran, M. (1988). Vasoactive intestinal polypeptide neuron changes in the senile rat suprachiasmatic nucleus. *Neurobiology of Aging*, 9, 307-312.
- CONLON, M., Lightfoot, N., & Kreiger, N. (2007). Rotating shift work and risk of prostate cancer. *Epidemiology*, 18, 182-183.
- COOPER, R. L., Conn, P. M., & Walker, R. F. (1980). Characterization of the LH surge in middle-aged female rats. *Biology of Reproduction*, 23, 611-615.
- COSTA, G. (1996). The impact of shift and night work on health. *Applied Ergonomics*, 27, 9-16.
- DAVIDSON, A.J., Yamazaki, S., Arble, D.M., Menaker, M., Block, G.D., 2008. Resetting of central and peripheral circadian oscillators in aged rats. *Neurobiology of Aging*, 29, 471-477.
- DE KONINCK, J. (1991). [Biological rhythms associated with sleep and psychological adjustment]. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 16, 115-122.
- FADDY, M. J., Gosden, R. G., Gougeon, A., Richardson, S. J., & Nelson, J. F. (1992). Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Human Reproduction*, 7, 1342-1346.
- FAHRENKRUG, J., Georg, B., Hannibal, J., Hindersson, P., & Gras, S. (2006). Diurnal rhythmicity of the clock genes Per1 and Per2 in the rat ovary. *Endocrinology*, 147, 3769-3776.
- FELICIO, L. S., Nelson, J. F., Gosden, R. G., & Finch, C. E. (1983). Restoration of ovulatory cycles by young ovarian grafts in aging mice: potentiation by long-term ovariectomy decreases with age. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80, 6076-6080.
- FOSTER, R. G., Argamaso, S., Coleman, S., Colwell, C. S., Lederman, A., & Provencio, I. (1993). Photoreceptors regulating circadian behavior: a mouse model. *Journal of Biological Rhythms*, 8 Suppl, S17-23.

- FOSTER, C. M., Olton, P. R., & Padmanabhan, V. (2005). Diurnal changes in FSH-regulatory peptides and their relationship to gonadotrophins in pubertal girls. *Human Reproduction*, *20*, 543-548.
- FUNABASHI, T., Shinohara, K., Mitsushima, D., & Kimura, F. (2000). Estrogen increases arginine-vasopressin V1a receptor mRNA in the preoptic area of young but not of middle-aged female rats. *Neuroscience Letters*, *285*, 205-208.
- GREEN, D. J., & Gillette, R. (1982). Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat suprachiasmatic brain slice. *Brain Research*, *245*, 198-200.
- GROOS, G., & Hendriks, J. (1982). Circadian rhythms in electrical discharge of rat suprachiasmatic neurones recorded in vitro. *Neuroscience Letters*, *34*, 283-288.
- GUO, H., Brewer, J. M., Lehman, M. N., & Bittman, E. L. (2006). Suprachiasmatic regulation of circadian rhythms of gene expression in hamster peripheral organs: effects of transplanting the pacemaker. *The Journal of Neuroscience*, *26*, 6406-6412.
- HANNIBAL, J., & Fahrenkrug, J. (2002). Melanopsin: a novel photopigment involved in the photoentrainment of the brain's biological clock? *Annals of Medicine*, *34*, 401-407.
- HANSEN, J. (2006). Risk of breast cancer after night- and shift work: current evidence and ongoing studies in Denmark. *Cancer Causes Control*, *17*, 531-537.
- HARDIN, P. E. (1994). Analysis of period mRNA cycling in *Drosophila* head and body tissues indicates that body oscillators behave differently from head oscillators. *Molecular and Cellular Biology*, *14*, 7211-7218.
- HATTAR, S., Lucas, R. J., Mrosovsky, N., Thompson, S., Douglas, R. H., Hankins, M. W., ... Yau, K. W. (2003). Melanopsin and rod-cone photoreceptive systems account for all major accessory visual functions in mice. *Nature*, *424*, 76-81.
- HWANG, S. Y., & Lee, J. H. (2005). Comparison of cardiovascular risk profile clusters among industrial workers. *Taehan Kanho Hakhoe Chi*, *35*, 1500-1507.
- KAGAWA, Y. (2012). From clock genes to telomeres in the regulation of the healthspan. *Nutrition Reviews*, *70*, 459-471.
- KALLÓ, I., Kalamatianos, T., Piggins, H. D., & Coen, C. W. (2004). Ageing and the diurnal expression of mRNAs for vasoactive intestinal peptide and for the VPAC2 and PAC1 receptors in the suprachiasmatic nucleus of male rats. *Journal of Neuroendocrinology*, *16*, 758-766.
- KALSBECK, A., & Buijs, R. M. (2002). Output pathways of the mammalian suprachiasmatic nucleus: coding circadian time by transmitter selection and specific targeting. *Cell and Tissue Research*, *309*, 109-118.

- KARLSSON, B., Alfredsson, L., Knutsson, A., Andersson, E., & Toren, K. (2005). Total mortality and cause-specific mortality of Swedish shift- and dayworkers in the pulp and paper industry in 1952-2001. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 31, 30-35.
- KARMAN, B. N., & Tischkau, S. A. (2006). Circadian clock gene expression in the ovary: Effects of luteinizing hormone. *Biology of Reproduction*, 75, 624-632.
- KAWAKAMI, F., Okamura, H., Tamada, Y., Maebayashi, Y., Fukui, K., & Ibata, Y. (1997). Loss of day-night differences in VIP mRNA levels in the supra-chiasmatic nucleus of aged rats. *Neuroscience Letters*, 222, 99-102.
- KIVIMAKI, M., Virtanen, M., Elovainio, M., Vaananen, A., Keltikangas-Jarvinen, L., & Vahtera, J. (2006). Prevalent cardiovascular disease, risk factors and selection out of shift work. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 32, 204-208.
- KLEIN, D. C., & Moore, R. Y. (1979). Pineal N-acetyltransferase and hydroxyindole-O-methyltransferase: control by the retinohypothalamic tract and the suprachiasmatic nucleus. *Brain Research*, 174, 245-262.
- KODA, S., Yasuda, N., Sugihara, Y., Ohara, H., Udo, H., Otani, T., ...Aoyama, H. (2000). [Analyses of work-relatedness of health problems among truck drivers by questionnaire survey]. *Sangyo Eiseigaku Zasshi*, 42, 6-16.
- KOLKER, D. E., Fukuyama, H., Huang, D. S., Takahashi, J. S., Horton, T. H., & Turek, F. W. (2003). Aging alters circadian and light-induced expression of clock genes in golden hamsters. *Journal of Biological Rhythms*, 18, 159-169.
- KOLMODIN-HEDMAN, B., & Swensson, A. (1975). Problems related to shift work. A field study of Swedish railroad workers with irregular work hours. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 1, 254-262.
- KONDRATOV, R.V., Kondratova, A. A., Gorbacheva, V. Y., Vykhovanets, O. V., & Antoch, M. P. (2006). Early aging and age-related pathologies in mice deficient in BMAL1, the core component of the circadian clock. *Genes & Development*, 20, 1868-1873.
- KRAJNAK, K., Kashon, M. L., Rosewell, K. L., & Wise, P. M. (1998). Aging alters the rhythmic expression of vasoactive intestinal polypeptide mRNA but not arginine vasopressin mRNA in the suprachiasmatic nuclei of female rats. *The Journal of Neuroscience*, 18, 4767-4774.
- KRAMER, C., Loros, J. J., Dunlap, J. C., & Crosthwaite, S. K. (2003). Role for anti-sense RNA in regulating circadian clock function in *Neurospora crassa*. *Nature*, 421, 948-952.
- KRIEGSFELD, L. J., & Silver, R. (2006). The regulation of neuroendocrine function: Timing is everything. *Hormones and Behavior*, 49, 557-574.
- KUBO, T., Ozasa, K., Mikami, K., Wakai, K., Fujino, Y., Watanabe, Y., ... Tamakoshi, A. (2006). Prospective cohort study of the risk of prostate can-

- cer among rotating-shift workers: findings from the Japan collaborative cohort study. *American Journal of Epidemiology*, 164, 549-555.
- LAVERY, D. J., Lopez, M. L., Margueron, R., Fleury-Olela, F., Conquet, F., Schibler, U., & Bonfils, C. (1999). Circadian expression of the steroid 15 alpha-hydroxylase (Cyp2a4) and coumarin 7-hydroxylase (Cyp2a5) genes in mouse liver is regulated by the PAR leucine zipper transcription factor DBP. *Molecular and Cellular Biology*, 19, 6488-6499.
- LE, W. W., Attardi, B., Berghorn, K. A., Blaustein, J., & Hoffman, G. E. (1997). Progesterone blockade of a luteinizing hormone surge blocks luteinizing hormone-releasing hormone Fos activation and activation of its preoptic area afferents. *Brain Research*, 778, 272-280.
- LE, W. W., Berghorn, K. A., Rassnick, S., & Hoffman, G. E. (1999). Periventricular preoptic area neurons coactivated with luteinizing hormone (LH)-releasing hormone (LHRH) neurons at the time of the LH surge are LHRH afferents. *Endocrinology*, 140, 510-519.
- LEDERMAN, M. A., Lebesgue, D., Gonzalez, V. V., Shu, J., Merhi, Z. O., Etgen, A. M., & Neal-Perry, G. (2010). Age-related LH surge dysfunction correlates with reduced responsiveness of hypothalamic anteroventral periventricular nucleus kisspeptin neurons to estradiol positive feedback in middle-aged rats. *Neuropharmacology*, 58, 314-320.
- LEHMAN, M. N., Silver, R., Gladstone, W. R., Kahn, R. M., Gibson, M., & Bittman, E.L. (1987). Circadian rhythmicity restored by neural transplant. Immunocytochemical characterization of the graft and its integration with the host brain. *The Journal of Neuroscience*, 7, 1626-1638.
- LEISE, T. L., Harrington, M. E., Molyneux, P. C., Song, I., Queenan, H., Zimmerman, E., Lall, G. S., & Biello, S. M. (2013). Voluntary exercise can strengthen the circadian system in aged mice. *AGE*, 35, 2137-2152.
- LEONARD, C., Fanning, N., Attwood, J., & Buckley, M. (1998). The effect of fatigue, sleep deprivation and onerous working hours on the physical and mental wellbeing of pre-registration house officers. *Irish Journal of Medical Science*, 167, 22-25.
- LI, H., & Satinoff, E. (1995). Changes in circadian rhythms of body temperature and sleep in old rats. *American Journal of Physiology*, 269, R208-214.
- LLOYD, J. M., Hoffman, G. E., & Wise, P.M. (1994). Decline in immediate early gene expression in gonadotropin-releasing hormone neurons during proestrus in regularly cycling, middle-aged rats. *Endocrinology*, 134, 1800-1805.
- LOWREY, P. L., Shimomura, K., Antoch, M. P., Yamazaki, S., Zemenides, P. D., Ralph, M. R., Menaker, & M., Takahashi, J. S. (2000). Positional syntenic cloning and functional characterization of the mammalian circadian mutation tau. *Science*, 288, 483-492.

- LU, J. K., Anzalone, C. R., & LaPolt, P. S. (1994). Relation of neuroendocrine function to reproductive decline during aging in the female rat. *Neurobiology of Aging*, *15*, 541-544.
- LUCAS, R. J., Freedman, M. S., Munoz, M., Garcia, F. J. M., & Foster, R. G. (1999). Regulation of the mammalian pineal by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science*, *284*, 505-507.
- LUCAS, R. J., Hattar, S., Takao, M., Berson, D. M., Foster, R. G., & Yau, K. W. (2003). Diminished pupillary light reflex at high irradiances in melanopsin-knockout mice. *Science*, *299*, 245-247.
- MADEIRA, M. D., Sousa, N., Santer, R. M., Paula-Barbosa, M. M., & Gundersen, H. J. (1995). Age and sex do not affect the volume, cell numbers, or cell size of the suprachiasmatic nucleus of the rat: an unbiased stereological study. *The Journal of Comparative Neurology*, *361*, 585-601.
- MANDL, A. M., & Shelton, M. (1959). A quantitative study of oocytes in young and old nulliparous laboratory rats. *Journal of Endocrinology*, *18*, 444-450.
- MOORE, R. Y., & Eichler, V. B. (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, *42*, 201-206.
- MOORE, R. Y., & Klein, D. C. (1974). Visual pathways and the central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Brain Research*, *71*, 17-33.
- MORIKAWA, Y., Nakagawa, H., Miura, K., Soyama, Y., Ishizaki, M., Kido, T., ... Nogawa, K. (2005). Shift work and the risk of diabetes mellitus among Japanese male factory workers. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, *31*, 179-183.
- MUNAKATA, M., Ichi, S., Nunokawa, T., Saito, Y., Ito, N., Fukudo, S., & Yoshinaga, K. (2001). Influence of night shift work on psychologic state and cardiovascular and neuroendocrine responses in healthy nurses. *Hypertension Research*, *24*, 25-31.
- NAKAMURA, T. J., Nakamura, W., Yamazaki, S., Kudo, T., Cutler, T., Colwell, C. S., & Block, G. D. (2011). Age-related decline in circadian output. *The Journal of Neuroscience*, *31*, 10201-10205.
- NEAL-Perry, G., Lebesgue, D., Lederman, M., Shu, J., Zeevalk, G. D., & Etgen, A.M. (2009). The excitatory peptide kisspeptin restores the luteinizing hormone surge and modulates amino acid neurotransmission in the medial preoptic area of middle-aged rats. *Endocrinology*, *150*, 3699-3708.
- NELSON, J. F., Bergman, M. D., Karelus, K., & Felicio, L. S. (1987). Aging of the hypothalamo-pituitary-ovarian axis: hormonal influences and cellular mechanisms. *Journal of Steroid Biochemistry*, *27*, 699-705.

- NELSON, J. F., Karelus, K., Bergman, M. D., & Felicio, L. S. (1995). Neuroendocrine involvement in aging: evidence from studies of reproductive aging and caloric restriction. *Neurobiology of Aging*, *16*, 837-843; discussion 855-856.
- O'LEARY, E. S., Schoenfeld, E. R., Stevens, R. G., Kabat, G. C., Henderson, K., Grimson, R., Gammon, M. D., & Leske, M. C. (2006). Shift work, light at night, and breast cancer on Long Island, New York. *American Journal of Epidemiology*, *164*, 358-366.
- OSTER, H., Baeriswyl, S., van der Horst, G. T., & Albrecht, U. (2003). Loss of circadian rhythmicity in aging mPer1-/-mCry2-/- mutant mice. *Genes & Development*, *17*, 1366-1379.
- OSTROWSKI, N. L., Lolait, S. J., & Young, W. S. (1994). Cellular localization of vasopressin V1a receptor messenger ribonucleic acid in adult male rat brain, pineal, and brain vasculature. *Endocrinology*, *135*, 1511-1528.
- PANDA, S., Sato, T. K., Castrucci, A. M., Rollag, M. D., DeGrip, W. J., Hogenesch, J. B., Provencio, I., & Kay, S. A. (2002). Melanopsin (Opn4) requirement for normal light-induced circadian phase shifting. *Science*, *298*, 2213-2216.
- PANDA, S., Provencio, I., Tu, D. C., Pires, S. S., Rollag, M. D., Castrucci, A. M., ...Hogenesch, J. B. (2003). Melanopsin is required for non-image-forming photic responses in blind mice. *Science*, *301*, 525-527.
- PANDO, M. P., Morse, D., Cermakian, N., & Sassone-Corsi, P. (2002). Phenotypic rescue of a peripheral clock genetic defect via SCN hierarchical dominance. *Cell*, *110*, 107-117.
- PATEL, D. (2006). Shift work, light at night and risk of breast cancer. *Occupational Medicine*, *56*, 433.
- PIGGINS, H. D., & Cutler, D. J. (2003). The roles of vasoactive intestinal polypeptide in the mammalian circadian clock. *Journal of Endocrinology*, *177*(1), 7-15.
- POOLE, C. J., Wright, A. D., & Nattrass, M. (1992). Control of diabetes mellitus in shift workers. *British Journal of Industrial Medicine*, *49*, 513-515.
- RALPH, M. R., & Menaker, M. (1988). A mutation of the circadian system in golden hamsters. *Science*, *241*, 1225-1227.
- RALPH, M. R., Foster, R. G., Davis, F. C., & Menaker, M. (1990). Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science*, *247*, 975-978.
- REDDY, A. B., Karp, N. A., Maywood, E. S., Sage, E. A., Deery, M., O'Neill, J. S., ...Hastings, M. H. (2006). Circadian orchestration of the hepatic proteome. *Current Biology*, *16*, 1107-1115.
- REPPERT, S. M., & Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, *418*, 935-941.
- RICHARDSON, S. J., Senikas, V., & Nelson, J. F. (1987). Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *65*, 1231-1237.

- RIPPERGER, J. A., & Schibler, U. (2006). Rhythmic CLOCK-BMAL1 binding to multiple E-box motifs drives circadian Dbp transcription and chromatin transitions. *Nature Genetics*, 38, 369-374.
- ROBINSON, N., Yateman, N. A., Protopapa, L. E., & Bush, L. (1990). Employment problems and diabetes. *Diabetic Medicine*, 7, 16-22.
- ROOZENDAAL, B., van Gool, W. A., Swaab, D. F., Hoogendijk, J. E., & Mirmiran, M. (1987). Changes in vasopressin cells of the rat suprachiasmatic nucleus with aging. *Brain Research*, 409, 259-264.
- RUBIN, B. S. (2000). Hypothalamic alterations and reproductive aging in female rats: evidence of altered luteinizing hormone-releasing hormone neuronal function. *Biology of Reproduction*, 63, 968-976.
- RUBY, N. F., Brennan, T. J., Xie, X., Cao, V., Franken, P., Heller, H. C., & O'Hara, B. F. (2002). Role of melanopsin in circadian responses to light. *Science*, 298, 2211-2213.
- SANBORN, C., Currie, A. C., & Bailey, C. C. (1982). Shift work: how to adjust patterns of diabetes care. *Occupational Health Nursing*, 30, 25-28.
- SATINOFF, E., Li, H., Tchong, T. K., Liu, C., McArthur, A. J., Medanic, M., & Gillette, M. U. (1993). Do the suprachiasmatic nuclei oscillate in old rats as they do in young ones? *American Journal of Physiology*, 265, R1216-22.
- SCHEUERMAIER, K., Laffan, A. M., & Duffy, J. F. (2010). Light exposure patterns in healthy older and young adults. *Journal of Biological Rhythms*, 25, 113-122.
- SCHIBLER, U., & Sassone-Corsi, P. (2002). A web of circadian pacemakers. *Cell*, 111, 919-922.
- SEGAWA, K., Nakazawa, S., Tsukamoto, Y., Kurita, Y., Goto, H., Fukui, A., & Takano, K. (1987). Peptic ulcer is prevalent among shift workers. *Digestive Diseases and Sciences*, 32, 449-453.
- SELLIX, M. T., Evans, J. A., Leise, T. L., Castanon-Cervantes, O., Hill, D. D., DeLisser, P., ... Davidson, A. J. (2012). Aging differentially affects the re-entrainment response of central and peripheral circadian oscillators. *The Journal of Neuroscience*, 32, 16193-16202.
- SELLIX, M. T., & Menaker, M. (2010). Circadian clocks in the ovary. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 21, 628-636.
- SELLIX, M. T., Yoshikawa, T., & Menaker, M. (2010). A circadian egg timer gates ovulation. *Current Biology*, 20, R266-267.
- SHIBATA, S., Oomura, Y., Kita, H., & Hattori, K. (1982). Circadian rhythmic changes of neuronal activity in the suprachiasmatic nucleus of the rat hypothalamic slice. *Brain Research*, 247, 154-158.
- SKIPPER, J. K., Jr., Jung, F. D., & Coffey, L. C. (1990). Nurses and shiftwork: effects on physical health and mental depression. *Journal of Advanced Nursing*, 15, 835-842.

- SMARR, B. L., Morris, E., & De la Iglesia, H. O. (2012). The dorsomedial supra-chiasmatic nucleus times circadian expression of Kiss1 and the luteinizing hormone surge. *Endocrinology*, *153*, 2839-2850.
- SOPELAK, V. M., & Butcher, R. L. (1982). Contribution of the ovary versus hypothalamus-pituitary to termination of estrous cycles in aging rats using ovarian transplants. *Biology of Reproduction*, *27*, 29-37.
- STEPHAN, F. K., & Zucker, I. (1972). Rat drinking rhythms: central visual pathways and endocrine factors mediating responsiveness to environmental illumination. *Physiology & Behavior*, *8*, 315-326.
- SUN, Z. S., Albrecht, U., Zhuchenko, O., Bailey, J., Eichele, G., & Lee, C. C. (1997). RIGUI, a putative mammalian ortholog of the Drosophila period gene. *Cell*, *90*, 1003-1011.
- SUTIN, E. L., Dement, W. C., Heller, H. C., & Kilduff, T. S. (1993). Light-induced gene expression in the suprachiasmatic nucleus of young and aging rats. *Neurobiology of Aging*, *14*, 441-446.
- TERASAWA, E., Wiegand, S. J., & Bridson, W. E. (1980). A role for medial preoptic nucleus on afternoon of proestrus in female rats. *The American Journal of Physiology*, *238*, E533-39.
- TOSINI, G., & Menaker, M. (1996). Circadian rhythms in cultured mammalian retina. *Science*, *272*, 419-421.
- VALENTINUZZI, V. S., Scarbrough, K., Takahashi, J. S., & Turek, F. W. (1997). Effects of aging on the circadian rhythm of wheel-running activity in C57BL/6 mice. *American Journal of Physiology*, *273*, R1957-1964.
- VAN Cauter, E., & Refetoff, S. (1985). Multifactorial control of the 24-hour secretory profiles of pituitary hormones. *Journal of Endocrinological Investigation*, *8*, 381-391.
- VAN der Beek, E. M., Wiegant, V. M., van Oudheusden, H. J., van der Donk, H. A., van den Hurk, R., & Buijs, R. M. (1997). Synaptic contacts between gonadotropin-releasing hormone-containing fibers and neurons in the suprachiasmatic nucleus and perichiasmatic area: an anatomical substrate for feedback regulation? *Brain Research*, *755*, 101-111.
- VAN der Schoot, P. (1976). Changing pro-oestrous surges of luteinizing hormone in ageing 5-day cyclic rats. *Journal of Endocrinology*, *69*, 287-288.
- VAN Gelder, R. N. (2001). Non-visual ocular photoreception. *Ophthalmic Genetics*, *22*, 195-205.
- VENUTA, M., Barzaghi, L., Cavalieri, C., Gamberoni, T., & Guaraldi, G. P. (1999). [Effects of shift work on the quality of sleep and psychological health based on a sample of professional nurses]. *Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia*, *21*, 221-225.

- VIDA, B., Deli, L., Hrabovszky, E., Kalamatianos, T., Caraty, A., Coen, C. W., Liposits, Z., & Kalló, I. (2010). Evidence for suprachiasmatic vasopressin neurones innervating kisspeptin neurones in the rostral periventricular area of the mouse brain: regulation by oestrogen. *Journal of Neuroendocrinology*, *22*, 1032-1039.
- VIELHABER, E., Eide, E., Rivers, A., Gao, Z. H., & Virshup, D. M. (2000). Nuclear entry of the circadian regulator mPER1 is controlled by mammalian casein kinase I epsilon. *Molecular and Cellular Biology*, *20*, 4888-4899.
- WANG, H., Ko, C. H., Koletar, M. M., Ralph, M. R., & Yeomans, J. (2007). Casein kinase I epsilon gene transfer into the suprachiasmatic nucleus via electroporation lengthens circadian periods of tau mutant hamsters. *The European Journal of Neuroscience*, *25*, 3359-3366.
- WATANABE, A., Shibata, S., & Watanabe, S. (1995). Circadian rhythm of spontaneous neuronal activity in the suprachiasmatic nucleus of old hamster in vitro. *Brain Research*, *695*, 237-239.
- WATSON, R. E., Jr., Langub, M. C., Jr., Engle, M. G., & Maley, B. E. (1995). Estrogen-receptive neurons in the anteroventral periventricular nucleus are synaptic targets of the suprachiasmatic nucleus and peri-suprachiasmatic region. *Brain Research*, *689*, 254-264.
- WEINERT, D., & Waterhouse, J. (1999). Daily activity and body temperature rhythms do not change simultaneously with age in laboratory mice. *Physiology & Behavior*, *66*, 605-612.
- WEINERT, H., Weinert, D., Schurov, I., Maywood, E. S., & Hastings, M. H. (2001). Impaired expression of the mPer2 circadian clock gene in the suprachiasmatic nuclei of aging mice. *Chronobiology International*, *18*, 559-565.
- WEITZMAN, E. D., Fukushima, D., Nogeire, C., Roffwarg, H., Gallagher, T. F., & Hellman, L. (1971). Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *33*, 14-22.
- WILLIAMS, W. P. 3rd, Jarjisian, S. G., Mikkelsen, J. D., & Kriegsfeld, L. J. (2011). Circadian control of kisspeptin and a gated GnRH response mediate the preovulatory luteinizing hormone surge. *Endocrinology*, *152*, 595-606.
- WISE, P. M. (1982). Alterations in the proestrous pattern of median eminence LHRH, serum LH, FSH, estradiol and progesterone concentrations in middle-aged rats. *Life Sciences*, *31*, 165-173.
- WOLK, R., Gami, A. S., Garcia-Touchard, A., & Somers, V. K. (2005). Sleep and cardiovascular disease. *Current Problems in Cardiology*, *30*, 625-662.
- YAMAZAKI, S., Numano, R., Abe, M., Hida, A., Takahashi, R., Ueda, M., ... Tei, H. (2000). Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science*, *288*, 682-685.

- YAMAZAKI, S., Straume, M., Tei, H., Sakaki, Y., Menaker, M., & Block, G. D. (2002). Effects of aging on central and peripheral mammalian clocks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 10801-10806.
- ZHANG, Y., Brainard, G. C., Zee, P. C., Pinto, L. H., Takahashi, J. S., & Turek, F. W. (1998). Effects of aging on lens transmittance and retinal input to the suprachiasmatic nucleus in golden hamsters. *Neuroscience Letters*, 258, 167-170.
- ZYLKA, M. J., Shearman, L. P., Weaver, D. R., Reppert, S. M. (1998). Three period homologs in mammals: differential light responses in the suprachiasmatic circadian clock and oscillating transcripts outside of brain. *Neuron*, 20, 1103-1110.

Siendo rectora de la Universidad Veracruzana
la doctora Sara Ladrón de Guevara,
RITMOS CIRCADIANOS. DE LA CÉLULA AL SER HUMANO,
de Mario Caba y Pablo Valdez (coordinadores),
se terminó de imprimir en noviembre de 2015
en los talleres de Proagraf, S. A. de C. V.,
avenida 20 de Noviembre núm. 649, col. Badillo, CP 91190,
Xalapa, Veracruz, México. Tel. (01228) 8906204.
La edición fue impresa en papel bond de 90 g
y los forros en cartulina sulfatada de 14 pts.
En su composición se usaron tipos Palatino.

Los ritmos biológicos están en toda la naturaleza, pero sus características particulares de duración y hora de su mayor expresión varían ampliamente entre las especies. En humanos el ritmo más evidente es el ciclo sueño-vigilia; toda nuestra fisiología y funciones están asociados a este ciclo. Así, algunas hormonas se secretan al despertar, como los glucocorticoides, mientras que otras se secretan al dormir, como la melatonina. Estos ritmos se denominan circadianos, ya que se repiten con un período de aproximadamente 24 horas y están controlados a nivel celular por un grupo de genes llamados reloj. El presente libro es resultado del trabajo de investigación sobre ritmos circadianos de cuatro cuerpos académicos y 3 grupos de trabajo de la UNAM. Los temas van desde aspectos básicos hasta ritmos en el recién nacido, a nivel metabólico, conductual, en el envejecimiento y en procesos patológicos como el cáncer. Se ilustra la gran importancia que tienen los ritmos circadianos para nuestra vida diaria así como las graves consecuencias que su alteración puede ocasionar.

Mario Caba. Biólogo, Universidad Veracruzana. Maestría y Doctorado en Biología de la Reproducción en el CIRA-Universidad Autónoma de Tlaxcala y Postdoctorado en el Oregon National Primate Research Center en EE.UU. Estudia ritmos circadianos en el conejo, contribuyendo a que se reconozca al conejo neonato como un modelo natural de sincronización por alimento y al conocimiento de las bases neuroendocrinas de la conducta maternal. Actualmente es Nivel III del Sistema Nacional de Investigadores.

Pablo Valdez. Psicólogo, Universidad Nacional Autónoma de México. Maestría y Doctorado en la Universidad Autónoma de Nuevo León. Estudia la cronobiología del comportamiento humano, específicamente los ritmos circadianos en los procesos cognoscitivos, así como los efectos de los cambios de horario en el ciclo de sueño-vigilia. Actualmente es Nivel II en el Sistema Nacional de Investigadores..



Universidad Veracruzana
Dirección Editorial

