

## El ritmo circadiano. Base molecular. Aspecto clínicos y Laborales\*

Drs. Román Arreaza-Cardier, Román Arreaza Padilla

Invitados de cortesía

En todos los organismos vivos, desde las bacterias hasta los humanos, opera un reloj biológico sincronizado a 24 horas/día. Este reloj interior controla una gran variedad de funciones bioquímicas que se llaman fluctuaciones de ciclos, incluidos el del comportamiento, el del sueño y la actividad, que colectivamente se les llaman los ritmos *circadianos* (del latín: *circadia* = alrededor del día).

El conocimiento completo del genoma, vegetal en *Arabidopsis thaliana*, en insectos del género *Drosophila* (mosca de las frutas) y en ratones de laboratorio, han llevado a un mejor conocimiento de las regulaciones fisiológicas y metabólicas, inducidas por la fotoperiodicidad del ritmo circadiano en plantas y animales. Se ha comenzado a entender que ambos organismos comparten los mecanismos moleculares del procesamiento de la luz en el ciclo día/noche. Dos trabajos publicados simultáneamente en el número del mes de noviembre de 1998 en *Science* por Somers y Thresjer (1), identificaron las moléculas fotosensitivas, que llamaron fotorreceptores (proteínas heptahelicales, receptores por acoplamiento transmembrana) que actúan como intermediarios entre los factores ambientales y la “maquinaria del reloj” circadiano.

El primer trabajo resalta el papel de los fotorreceptores en *Arabidopsis thaliana* que detectan las bandas azul y roja de la luz, las dos longitudes de ondas primarias absorbidas por los vegetales, mientras que el segundo destaca el papel de un fotorreceptor en el ratón, en particular el *Criptocromo* (Cry-2) un tipo de fotorreceptor descrito primero en *Arabidopsis* (2).

Estos estudios unidos en conjunción con los realizados en *Drosophila melanogaster* que también es portadora de Cry-2 sugiere que, el metabolismo de la luz, al menos en parte, ha sido conservado a través de la evolución de muchas especies, incluso del primate humano.

En 1979, Seymour Benzer y col. (3) identificaron a un solo gen capaz de afectar el ritmo circadiano en *Drosophila*, pero no fue hasta 1984 que estos mismos autores descubren el primer gen circadiano llamado periodo (per), clonado en *Drosophila*. Este hallazgo fue seguido por el de un segundo gen circadiano, en un hongo, *Neurospora*, llamado frecuencia (frq), (4), y en 1995 clonaron un segundo gen en *Drosophila*, denominado eterno (en inglés *timeless*) (*tim*) (5,6).

Muchos grupos de investigadores rastrean en el genoma del ratón y en el humano, tratando de encontrar en los mamíferos homólogos de estos llamados genes circadianos. Se cree que comprendiendo mejor estos y otros hallazgos genéticos se pueda no sólo manipular el ciclo sueño/alerta en el humano, sino también otros aspectos fisiológicos. Muchos investigadores trataron infructuosamente de clonar homólogos en mamíferos, lo cual no estuvo carente de dificultades. En efecto, una mutación espontánea en el hamster dorado, llamado *tau* que ha sido relacionada con la ritmicidad circadiana (7), no ha podido ser más ampliamente estudiada dado que el hamster no es un modelo genéticamente viable, por no estar incluido en los proyectos de genomas.

El hecho de que esta mutación no haya sido tan estable como los que se logran en *Drosophila* o en *Neurospora*, la hizo más interesante para los genetistas. Takahshi y col. (8), volviendo a los trabajos originales de Benzer ha logrado clonaciones

\*Trabajo presentado en la sesión del día jueves 04-10-2001.

en el ratón, tan estables como las que se obtienen en vegetales, insectos y hongos. Los trabajos de Takahashi (*mutante tau*) parten del mapa del genoma del ratón completado en 1996 y en los trabajos previos de Vitaterna (9).

A partir de estos trabajos, nuevos hallazgos se han desencadenado, incluidos los cryptocromos en mamíferos y los adicionales genes período, *Per1*, *Per2* y *Per3* y una nueva vía metabólica en la que ellos se intercalan (10). Otros hallazgos han demostrado evidentes relaciones conservativas en la evolución, entre *Drosophila*, *Arabidopsis thaliana* y mamíferos, relacionados con el reloj biológico.

El mutante *tau* ha sido, indiscutiblemente, uno de los modelos animales transgénicos más significativo para el estudio de los ritmos circadianos en mamíferos. La identificación de la causa de la mutación *tau* ofrece a los investigadores una nueva herramienta para entender los relojes biológicos en seres humanos, como también un objetivo potencial para drogas que controlen el reloj biológico.

El interés en el ritmo circadiano es múltiple, no solamente por aplicaciones prácticas que derivan de su conocimiento, sino también, porque abre una ventana al conocimiento de la filogenia de muchos seres vivos, muestra muchas homologías entre animales, cianobacterias, hongos, insectos y plantas, pero al mismo tiempo, sugiere que las especies han evolucionado independientes una de otras.

Una variedad de moléculas similares juegan un papel en la conducción del ritmo diario, los mismos genes son utilizados en diferentes vías dentro del mecanismo; por ejemplo: *Drosophila* y ratones. En la mosca de las frutas *ciclo* (también llamado BMAL) y reloj (*clock*) comienza el ciclo produciendo un complejo de productos proteicos *clock*/BMAL que activan su transcripción por lo genes *per* y *tim* para producir PER/TIM. Como parte de un lazo por *feedback* negativo, el complejo PER/TIM se mueve hacia el *nucleus* supraquiasmático en la parte anterior del hipotálamo, donde igual como si fuera un reloj, suprime el complejo CLOCK/BMAL, entonces se transcribe ampliamente, de nuevo, a partir de *per* y *tim*.

El ciclo circadiano en *Drosophila* comparte fuertes similitudes con el de los mamíferos: el gen *per*, por sí mismo, la regulación CLOCK y BMAL de *per*, y un gen llamado *tau* en el hamster y el ratón y *doble-tim* (*dbt*) en las moscas, *tau* y *dbt* producen la misma enzima, casein quinasa I\* (CKI\*). En

ambos casos, se supone que los genes producen péptidos que ayudan en el ciclo circadiano controlando la acumulación de PER y acelerando su degradación (11). Además, CKI\* juega un papel importante en el ritmo circadiano de *Drosophila*, distinto de *tau*, en el hamster (7), codificando la misma proteína *dbt*. El hecho es, que existiendo los mismos genes en el ratón y la mosca estos contribuyen potentemente en su biología.

Los investigadores, se han centrado en estudios del ciclo circadiano en mamíferos; se han descubierto dos genes adicionales *per*, un posiblemente más complicado papel para *tim* y posiblemente diferentes acciones para los *Cryptocromos* (Cry).

En los mamíferos Cry-1 y Cry-2, parecen ser reguladores transcripcionales que están incluidos en "la maquinaria" del reloj y tienen el papel de absorber y procesar la luz; el único gen *Cry* conocido en *Drosophila* parece estar integrado a los organismos procesadores de la luz, algo parecido a los *Cry* de las plantas.

Un trabajo recientemente de Michael Rosbach (12), demuestra que *Cry* es el único fotorreceptor en las moscas, a través del cual se regulan los ritmos de la luz. Cuando un animal es expuesto a luz constante e intensa, el reloj interno se confunde, perdiendo por completo el sentido del día y la noche. Las moscas de la fruta presentan la misma reacción y se predice que los seres humanos respondan en forma semejante. Sin embargo, en los laboratorios de Rosbach hay una cepa de *Drosophila* mutante transgénica que mantiene su reloj cuando son bombardeadas con luz intensa ininterrumpida.

Los experimentos de Rosbach y sus colegas, indican que el *Cry* llamado dCRY de la mosca es la única molécula fotorreceptora a través del cual la luz regula el ritmo circadiano en *Drosophila*, el reloj biológico universal y exacto de 24 horas que gobierna el sueño y vigila, el descanso y la actividad, la temperatura corporal, el rendimiento cardíaco y muchas otras funciones.

Según Rosbach, la aplicación de los resultados sobre la fotosensibilidad circadiana de las moscas de la fruta a los mamíferos es problemática, en estos momentos, porque todavía no se ha identificado un fotorreceptor circadiano en los mamíferos. Las moléculas de *Cry* en mamíferos, parecen estar implicadas en un mecanismo de reloj central más que en la detección de la luz (13).

En el humano, los perfiles de las secreciones

hormonales representan un buen modelo para el estudio del sistema circadiano, las variaciones hormonales diurnas generalmente reflejan la modulación, a través del día, de secreciones pulsátiles a intervalos de 1 ó 2 horas, por señales ocurridas en períodos cercanos a las 24 horas y resulta de un sistema interno regulador del tiempo (reloj circadiano) con la homeostasis sueño/alerta y varios factores ambientales, incluido el ciclo luz/oscuridad, cambios periódicos en los niveles de actividad y el esquema alimenticio. Esta organización temporal es alterada en muchas condiciones fisiopatológicas como el envejecimiento, pérdida del sueño, horarios o trabajos nocturnos, viajes en avión, desórdenes afectivos y enfermedades endocrinas. Estímulos tanto fotónicos como no fotónicos pueden afectar la regulación circadiana y el patrón de secreción hormonal diurna. Apropriados estímulos del tiempo, pueden inducir fases de adelanto o retraso en el reloj circadiano, de acuerdo con la administración del tiempo. Efectos pulsátiles de la luz y de la oscuridad han sido descritos en humanos (14). El ejercicio físico, la melatonina y agonistas, las benzodiazepinas e hipnóticos también influyen. Estos resultados abren nuevas perspectivas en el tratamiento que involucran una variada patología por la disregulación de la ritmicidad circadiana (15).

El oscilador circadiano en los mamíferos, localizado en el *nucleus* supraquiasmático del hipotálamo anterior, sirve como la fuente principal de información temporal rítmica para virtualmente todos los procesos fisiológicos en el organismo, incluso la expresión alterna de sueño y vigilia. Los recientes estudios, en modelos animales y en humanos, han demostrado que la modulación del sueño y la vigilia mediada por el reloj circadiano, independiente de otros factores, alerta y vigilancia en la fase diurna del ciclo, y la del sueño, facilita y procesa en la fase opuesta. La ventaja de la adaptación al sincronizar los comportamientos de sueño/vigilia con los cambios diarios en el ambiente externo está clara. Pero en un mundo moderno donde el constreñimiento de tiempo es menos importante, el reloj circadiano impone límites rígidos en el cronómetro sueño/vigilia que se percibe cada vez más como limitación en la actuación humana. Este conflicto está bajo los “desórdenes” del sueño que producen el retraso circadiano en los viajes largos en aviones con motor de reacción y del trasnocho por el trabajo nocturno, problemas que no son realmente enfermedad en absoluto, pero que en cambio reflejan la función normal de ritmo circadiano

que cronometra en el contexto de demandas extraordinarias en planificación del dormir y de la vigilia. Cualquiera que sea la clasificación apropiada del fenómeno, el retraso por el viaje largo en avión de motor de reacción e insomnio del trabajo nocturno representan problemas sociales importantes que merecen atención de salud pública y de la atención médica. El ciclo circadiano continuará produciendo tensión en miles de personas diariamente. Los efectos de los viajes largos en aviones a reacción, pueden tener efectos en la eficacia del comportamiento profesional, en el comercio, la política e incluso en los deportes profesionales.

Los millones de obreros, en todo el mundo, que regularmente intentan trabajar por la noche y dormir durante el día, con frecuencia sufren disrupción crónica del sueño. El aspecto más importante de la fisiología del ciclo circadiano humano es que limita la adaptación a los horarios extremos inherentes en el trabajo nocturno y en los viajes largos en aviones con motores a reacción. La exposición a la luz del sol para el trabajador nocturno, o para los viajeros al llegar a su destino, resulta en el restablecimiento del reloj biológico al tiempo medioambiental. Problemas prácticos limitan la aplicación de iluminación artificial a todas las escenas de trabajo nocturno, sin embargo, el papel de que un agente cronobiótico farmacológico sería capaz de lograr el mismo extremo es potencialmente muy grande.

Estudios prospectivos concuerdan en los hallazgos de la literatura que indican que los trabajos en horarios nocturnos deben evitarse, pero que sí son necesarios, ciertas medidas y descansos, parecen estar asociados con menos accidentes laborales y lesiones (16).

Existen evidencias de que las funciones del sueño incluyen la restauración del almacenamiento de energía en el cerebro y la consolidación de la memoria. El ritmo circadiano que cronometra el sistema cerebro transmisor (SCT) está envuelto en la variación diaria de casi cualquier variable fisiológica y psicológica evaluada así desde lejos. Las perturbaciones del SCT pueden ser observadas clínicamente por su influencia en el ciclo del dormir-vigilia, secreción de hormonas, temperatura del cuerpo, y actividad locomotora. A la luz de la prevención, diagnóstico, y herramientas terapéuticas ahora disponibles, una nueva ronda de estudios en la psiquiatría del sistema cronobiológico parece justificada y necesaria (17).

## REFERENCIAS

1. Somers DA, Thresjer RJ. Photoreceptors. *Science* 1998;282:1488-1494.
2. Amad M, Cashmore AR. Cryptochrome 2 in *Arabidopsis thaliana*: As photo-receptor. *Nature* 1991;366:162-166.
3. Reddy P, McClung CR, Benzer S. Molecular analysis of the period locus in *Drosophila melanogaster* and identification of a transcript involved in biological rhythmus. *Cell* 1984;38:701-710.
4. McLudg CR, Reddy P, Benzer S. The *Neurospora* clock gene frequency shares a secuencia element with the *Drosophila* clock gene period. *Nature* 1989;333:558-562.
5. Meyer MP, Benzer S. Positional cloning and secuencia analysis of the *Drosophila* clock gene timeless. *Science* 1995;270:805-808.
6. Lewis R. Chronobiology researchers say their field's time has come (Editorial). *The Scientist* 1995;9(24):14.
7. Ralph MR, Menaker M. Mutation of the circadian system in golden hamster. *Science* 1988;241:1225-1227.
8. King DP, Zaho AM, Sangoram LD, Wilsbacher M, Tanaka MP, Anotch TDL, et al. Positional cloning of de mouse circadian Clock gene. *Cell* 1997;89:641-653.
9. Vitatema MH, Steeves MH, Takanaka MP. Mutagenesis and mapping of mouse gene Clock, esencial for circadian science behavior. *Science* 1994;264:719-725.
10. Antoch MP, Komhauser JM, Sangoram AM. Functional identification of mouse circadian Clock gene by transgenic BAC rescue. *Cell* 1997;89:655-667.
11. Lowrey PL, Zaho AM, Tacahashi JS. Positional syntenic cloning and functional characterization of the mamalian circadian mutation tau. *Science* 2000;288:483-491.
12. Rosbach M. Web master/rosbach@hhmi.org.
13. Rosbach M, Takahashi JS. Clockwork genes, discoveries in biological times. 2000 Holiday Lectures on Science Classroom via satellite and simultaneous webcast. Howard Hughes Medical Institute. www.holidaylectures.org
14. Copinschi G, Spiegel K, Leproult R, Van Cauter D. Pathophysiology of human circadian rhythmus. *Novartis Found Symp* 2000;227:143-157.
15. Richardson G, Tate B. Hormonal and pharmacological manipulation of the circadian clock: Recent developments and future strategies. *Sleep* 2000;23(Suppl 3):77-85.
16. Frank AL. Injuries related to shiftwork. *Am J Prev Med* 2000;Suppl 18(4):33-36.
17. Kunz D, Herrmann WM. Sleep-wake cycle, sleep-related disturbances, and sleep disorders: A chronological approach. *Compr Psychiatry* 2000;Suppl 41(2):104-115.

---

...viene de la pág. 30

**Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría**

Dirección:

Avda. Libertador, Edif. La Línea, Piso 9, Ofic. 93 A.  
Entre esquinas Las Palmas y Acacias.

**Sociedad Venezolana de Salud Pública**

Dirección:

Esquinas Reducto a Glorieta, Edif. Don Germán,  
piso 1, Ofic. 3-A.

**Sociedad Venezolana de Sexología Médica**

Dirección:

Parque Central Edf. Mohedano, nivel 1 consultorio  
106.

**Sociedad Venezolana de Tisiología, Neumonología y Cirugía del Tórax**

Dirección:

Instituto Nacional de Tuberculosis, El Algodonal.  
Antímano.

**Sociedad Venezolana de Urología**

Dirección:

Avda. José Ma. Vargas, Torre Colegio de Médicos,  
Piso 3, Urb. Santa Fe Norte.

**Sociedad Venezolana de Hematología**

Dirección:

Avda. José Ma. Vargas, Torre Colegio de Médicos,  
piso 2 Ofic. 2-E Urb. Santa Fe Norte.

**Sociedad Venezolana de Nefrología**

Dirección:

Avda. Principal de Colinas de Bello Monte cruce  
con Avda. Lincoln, Centro Comercial Bello Monte,  
Piso 11, Ofic. L.